บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

โครงสร้างของเนื้อสัตว์

กล้ามเนื้อที่นำมาเป็นอาหารส่วนมากเป็นกล้ามเนื้อชนิดกล้ามเนื้อลาย (striated muscle) ซึ่งจากการสรุปลักษณะโครงสร้างเนื้อสัตว์ของ Wong (1989) และ Cassen (1987) กล้ามเนื้อลายประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fibers) เรียงตัวขนานตามความยาวของมัดกล้ามเนื้อ และมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) หุ้มอยู่โดยรอบมัดกล้ามเนื้อและเส้นใยกล้ามเนื้อ ในแต่ละเส้นใยกล้ามเนื้อมีผนังเซลที่เรียกว่า sarcolemma หุ้ม โดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน endomysium หุ้มทับอีกชั้นหนึ่ง เส้นใยกล้ามเนื้อประมาณ 20-40 เส้น รวมตัวเป็นมัดกล้ามเนื้อพื้นฐาน (primary bundle) และมัดกล้ามเนื้อพื้นฐานจำนวนไม่แน่นอนจะรวมตัวกันเป็นมัดกล้ามเนื้อรอง (secondary bundle) ซึ่งมัดกล้ามเนื้อทั้งสองมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน perimysium หุ้มอยู่ และท้ายสุดมัดกล้ามเนื้อรองจำนวนต่างๆ กันก็จะรวมตัวกันเป็นกล้ามเนื้อมัดใหญ่ที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดหนา epimysium หุ้มอยู่ชั้นนอกสุด

เมื่อพิจารณาภายในโครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ Cassen (1987) สรุปว่าในสารแขวนลอยภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ (sarcoplasm) มีเนื้อเยื่อลักษณะเส้นทรงกระบอกบางยาวเรียกว่า myofibrils เรียงตัวขนานอยู่ตลอดทั้งความยาวเซลกล้ามเนื้อ ซึ่งเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง จะเห็นเป็นแถบ A-band ที่มืด และแถบ I-band ซึ่งเป็นแถบสว่าง สลับกันตลอดความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยมีเส้น Z-line กั้นอยู่ใน I-band ส่วนบริเวณแถบสว่างกึ่งกลางของ A-band ที่เรียก H-zone มีเส้นสีดำที่เรียกว่า M-line อยู่บริเวณกึ่งกลาง ช่วงระหว่าง Z-line 2 เส้น เป็นที่รู้จักกันในชื่อ sarcomere ซึ่งเป็นหน่วยย่อยพื้นฐานของเส้นใยกล้ามเนื้อ จากการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่าภายใน myofibrils ประกอบด้วยสายของโปรตีน 2 ชนิด คือ actin ที่เป็นสายบาง และ myosin ที่เป็นสายหนา เรียงซ้อนเหลื่อมกันในโครงสร้าง 6 เหลี่ยม โดยช่วงของสาย actin จะมองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเป็นแถบสว่าง I-band และช่วงที่มีการซ้อนเหลื่อมกันจะมองเห็นเป็นแถบมืด A-band รอบๆ sacomere ของแต่ละ myofibrils ประกอบด้วย sarcoplasmic reticulum และ transverse tubules ซึ่งทำหน้าที่ร่วมกันในการเก็บและควบคุมการปล่อยแคลเซียมอิออน ที่มีความสำคัญต่อการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆอีกเช่น mitochondria ทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงาน และ lysosome เป็นแหล่งเก็บเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับการบ่ม (tenderization หรือ aging) เป็นต้น

องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อ

ในกล้ามเนื้อที่นำมาเป็นอาหารประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน น้ำ และ เกลือแร่ ซึ่งมีสมบัติต่างๆดังต่อไปนี้

โปรตีน มีประมาณ 50-95 % ของของแข็งอินทรีย์ (organic solid) ในกล้ามเนื้อ (Pomeranz, 1985) โปรตีนกล้ามเนื้อแบ่งตามลักษณะโครงสร้างและหน้าที่เป็น 3 ประเภทได้แก่ sarcoplasmic proteins, myofibrillar proteins และ โปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

sarcoplasmic proteins มีประมาณ 25-80 % ของโปรตีนทั้งหมดในกล้ามเนื้อ (Fennema et al., 1973) เป็นโปรตีนที่สามารถสกัดหรือละลายได้ในน้ำหรือสารละลายเกลือเจือจางที่มีค่า ionic strength น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 ประกอบด้วย myoglobins, hemoglobin และเอนไซม์ hemoglobin ในกล้ามเนื้อสัตว์มีชีวิตทำหน้าที่นำออกซิเจนเข้าสู่กล้ามเนื้อ และ myoglobin ที่อยู่ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อจึงรับออกซิเจนจาก hemoglobin เพื่อนำมาใช้เผาผลาญพลังงานใน TCA cycle (tricarboxylic acid cycle) ต่อไป โปรตีนทั้งสองชนิดนี้เป็นรงควัตถุให้สีแดงในเนื้อสัตว์ ส่วนเอนไซม์ในกล้ามเนื้อ Neurath and Bailey (1954) รายงานว่าพบเอนไซม์มากกว่า 50 ชนิดใน sarcoplasm เอนไซม์ที่พบส่วนมากมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเกิดไกลโคไลซิส (glycolysis) โปรตีนชนิดนี้โดยมากพบทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ของกลไกดังกล่าว เอนไซม์เหล่านี้โดยมากจัดแบ่งกลุ่มตาม pH ที่เหมาะสมในการทำงานเป็น 3 กลุ่ม คือ alkaline protease, calcium-activated neutral protease และ acidic protease แต่เนื่องจากภาวะในกล้ามเนื้อสัตว์หลังฆ่ามีภาวะเป็นกรด เอนไซม์กลุ่มหลังจึงมีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

myofibrillar proteins ประกอบด้วย myosin 54 % และ actin 27 % เรียงตัวตามโครงสร้างที่กล่าวในช่วงโครงสร้างของเนื้อสัตว์ ส่วนโปรตีนที่เหลือเป็น regulatory proteins ซึ่งประกอบด้วย tropomyosin, troponin, C-protein, M-protein และ actinin (Bendall, 1969; Forrest et al.,1975) Lee (1983) สรุปสมบัติของ myosin และ actin ไว้ดังนี้ myosin มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 500,000 และมีลักษณะโมเลกุลเป็นเส้นที่มีส่วนหัวและส่วนหาง myosin สามารถทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ (ATPase) ซึ่งสามารถสลาย adenosine triphosphate (ATP) เป็น adenosine diphosphate และ inorganic phosphate ได้พลังงานออกมา การทำงานในลักษณะดังกล่าวมีความสำคัญในการหดตัวของกล้ามเนื้อ และสามารถเร่งได้ด้วยแคลเซียมอิออน และยับยั้งได้ด้วยแมกนีเซียมอิออน myosin สามารถถูกย่อยได้ด้วย proteolytic enzyme เช่น trypsin หรือ chymotrypsin ซึ่งจะแยก myosin ออกเป็น heavy meromyosin และ light meromyosin ซึ่ง heavy meromyosin มีลักษณะการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว และเป็นส่วนที่ทำหน้าที่จับกับ actin ส่วน actin มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 60,000 และมีรูปแบบอยู่ 2 ลักษณะคือ G-actin ที่มีลักษณะกลม ซึ่งสามารถเกิด

polymerize เป็นสายยาวที่เป็นอีกลักษณะ เรียกลักษณะที่สองว่า F-actin ซึ่ง F-actin กับ myosin เมื่อมาอยู่รวมกันจะเรียกว่า Actomyosin โดย F-actin และ myosin จะแยกจากกันเมื่อมี ATP เพิ่มขึ้นภายในกล้ามเนื้อ

<u>โปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน</u> มีอยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ 2-8 % ของโปรตีนกล้ามเนื้อทั้งหมดถึงแม้ว่าจะพบได้ในปริมาณเล็กน้อยแต่ทำหน้าที่สำคัญคือเป็นกรอบโครงสร้าง (framework) ของกล้ามเนื้อ โดยหุ้มรอบเส้นใยกล้ามเนื้อ มัดกล้ามเนื้อ และกล้ามเนื้อทั้งหมด โปรตีนชนิดนี้พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งปกติมีลักษณะประกอบด้วยเซลเนื้อเยื่อเกี่ยวพันกับวัตถุภายนอกเซล (extracellular substances) วัตถุภายนอกเซลนี้มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งมีชนิดต่างๆกันตั้งแต่วุ้นเหลวจนถึงเส้นใยที่แข็งแรง โปรตีนที่พบคือ reticulin, collagen และ elastin โดย collagen และ elastin เป็นชนิดโปรตีนหลักที่พบ

collagen เป็นโปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหลักที่พบในเนื้อสัตว์โดยเฉพาะในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีสีขาว และมีความสำคัญต่อความนุ่ม และความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 300,000 เป็นสายโครงสร้างที่ประกอบจาก tropocollagen หลายหน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ cross-linkage เป็นสายยาว ชนิดของพันธะ cross-linkage จะเปลี่ยนเป็นชนิดที่แข็งแรงและสามารถทนความร้อนได้มากขึ้นเมื่ออายุสัตว์เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ที่มีอายุมากมีความเหนียว (toughness) มากขึ้น การกระจายตัวของ collagen ไม่สม่ำเสมอในทุกกล้ามเนื้อ โดยกล้ามเนื้อที่ทำงานมากมีปริมาณ collagen สูงกว่ากล้ามเนื้อที่ทำงานน้อยกว่า เมื่อนำ collagen มาให้ความร้อนชื้น จะทำให้เกิดการพองตัวและอ่อนนุ่มลง และกลายเป็น gelatin ซึ่งทำให้เนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ที่ให้ความร้อนเป็นเวลานานอ่อนนุ่มลง

elastin พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ได้น้อย และมีลักษณะคล้ายยาง (rubbery) ซึ่งการที่ elastin มีลักษณะยืดหยุ่นคล้ายยางได้ จำเป็นต้องมีความชื้นอยู่ประมาณ 40 % และเนื่องจากโปรตีนชนิดนี้มีสีเหลือง เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีโปรตีนชนิดนี้จึงมักเรียกกันว่า yellow connective tissues พบมากในกล้ามเนื้อสะโพก (rump) ของวัว ใน elastin พันธะของโปรตีนจับกันอย่างสุ่ม (random) ซึ่งพันธะดังกล่าวไม่สามารถสลายได้โดยความร้อนแม้อุณหภูมิสูงถึง 150 $^{\circ}$C (Bandman, 1987) จึงทำให้เมื่อนำกล้ามเนื้อที่มีปริมาณ elastin สูงมาให้ความร้อนแม้เป็นเวลานานเนื้อสัมผัสก็ยังคงลักษณะความเหนียวอยู่

<u>น้ำ</u> ทำหน้าที่เป็นตัวกลาง (fluid medium) ในการเคลื่อนย้าย สารอาหาร ออกซิเจน พลังงาน ฮอร์โมน และ ของเสียเข้าและออกจากเซลกล้ามเนื้อ เป็นส่วนประกอบที่มีปริมาณมากที่สุดของเนื้อเยื่อ ในเนื้อไม่ติดมัน (lean meat) จะมีมากถึง 76 % ของเนื้อเยื่อทั้งหมด (Pedersen, 1987) น้ำในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่อยู่ในโครงสร้างของ myofibrils จากการศึกษาของ Scopes (1970) quoted in Fennema et al. (1973) ระบุว่าใน myofibrils ก่อนเกิดการหดตัวมีน้ำอยู่ 84 % และมีปริมาตร 75 %

ของเส้นใยกล้ามเนื้อ ส่วนน้ำอีก 16 % ที่เหลือจะเป็นน้ำรอบเส้นใยกล้ามเนื้อ จากการศึกษาที่ผ่านมา น้ำในเนื้อเยื่อแบ่งออกเป็นชนิดต่างๆ (Honikel and Hamm, 1994) ได้แก่ constitutional water, interfacial water และ bulk water

constitutional water มีอยู่ประมาณ 0.1 % ของน้ำทั้งหมด (0.5 กรัมต่อโปรตีน 100 กรัม) เป็นน้ำชั้นแรกที่ติดกับผิวโปรตีนและจับอยู่ที่ผิวอย่างแน่นหนา Pederson (1987) สรุปว่า แรงที่ทำให้น้ำจับกับโมเลกุลของโปรตีนเกิดจากประจุบวกและลบของโมเลกุลน้ำซึ่งดึงดูดกับผิวโปรตีนด้วยแรง non-covalent force ชนิด hydrogen bond และ hydrophobic attraction โครงสร้างพื้นฐานของโปรตีนในเนื้อสัตว์ เช่น myosin และ tropomyosin จะมีกรดอะมิโนที่เป็นกรดและด่างที่ทราบกันว่ามีประจุไฟฟ้าอยู่บนโมเลกุล ซึ่งเป็นส่วนที่จับกับโมเลกุลของน้ำ น้ำชนิดนี้ไม่เปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็งแม้ที่อุณหภูมิ -70 °C (Fennema et al., 1973)

interfacial water มีอยู่ประมาณ 5-10 % ของน้ำทั้งหมด และมีการเคลื่อนที่ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับ bulk water เนื่องจากอยู่ในระยะห่างที่ยังมีผลจากประจุไฟฟ้าของผิวโปรตีนอยู่ (Hamm, 1975) interfacial water จับอยู่ที่ผิวของโปรตีนเป็นชั้นๆถัดจาก constitutional water และอยู่ในรอยแยกระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อ แรงดึงดูดจากประจุผิวโปรตีนทำให้ลดการเคลื่อนที่ ความดันไอ และจุดเยือกแข็ง บางส่วนของน้ำชนิดนี้จะสามารถอยู่ในสถานะของเหลวแม้อุณหภูมิต่ำกว่า -20 °C

bulk water หรือที่รู้จักกันในชื่อน้ำอิสระ (free water) มีอยู่ประมาณ 90-95 % เป็นน้ำที่อยู่ชั้นนอกสุด และเชื่อว่าไม่มีผลกระทบจากแรงกระทำจากประจุของโปรตีน แต่สามารถอยู่ภายในเนื้อสัตว์ได้ด้วย capillary force (Honikel and Hamm, 1994) น้ำชนิดนี้เปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็งได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งที่ใช้ในทางการค้า (-18 °C) และใช้พิจารณาในแง่ของการเสียน้ำหนักของผลิตภัณฑ์จากการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็ง

ไขมัน ทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงาน เป็นส่วนประกอบของผนังเซล และมีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบฮอร์โมนและการดูดซึมวิตามินในสัตว์ ไขมันในกล้ามเนื้อเกิดจากการสะสมของเซลไขมัน (adipocytes) ที่เกิดจาก mesenchyme cells ที่มักพบบริเวณเส้นเลือดขนาดเล็ก Bloom และ Fawcett (1975) สรุปว่าเซลไขมันมีขนาดใหญ่ ลักษณะมันวาว และมีลักษณะเป็นทรงกลม พบได้ทั้ง แบบกระจายตัวเดี่ยวและเป็นกลุ่มในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหลวมๆ โดยเฉพาะบริเวณใกล้กับเส้นเลือด เซลไขมันไขมันนี้จะสะสมเป็น adipose tissue อยู่บริเวณ perimysium นอกเส้นใยกล้ามเนื้อ (Cassens, 1987) อยู่ติดกับโครงสร้างผนังเซล หรือเป็นหยดไขมันอิสระในเส้นใยกล้ามเนื้อ (Bell, 1909) ไขมันดังกล่าวจะเกิดขึ้นตลอดเวลาและมีการสะสมทั้งในกล้ามเนื้อและในช่องท้อง ซึ่งร่างกายสัตว์นำไปใช้ได้เมื่อมีพลังงานไม่เพียงพอ

ไขมันในกล้ามเนื้อมี 0.56-3.36 % ของน้ำหนัก (Lawrie,1966) ประกอบด้วย phospholipids, triglycerides, free fatty acids และ sterols จากการศึกษาในอดีตพบว่า phospholipids และ triglycerides มีบทบาทต่อคุณภาพของอาหารแช่เยือกแข็งด้านการเกิดกลิ่นหืน triglycerides มี 90 % ของไขมันในเนื้อสัตว์ทั้งหมด (Hornstein, Crowe, and Heimberg, 1961; Hornstein, Crowe, and Hiner, 1968; O'Keefe, Wellington, Mattick, and Stouffer, 1968) Fennema et al. (1973) ระบุว่า phospholipids พวก neutral lipids (เช่น triglycerides) และ sterols จะอยู่ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ และ Dungan (1987) ระบุว่า ไขมันจะแทรกอยู่ระหว่างกล้ามเนื้อ ภายในกล้ามเนื้อใน adipose tissue ในเนื้อเยื่อระบบประสาท และในเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่ง phospholipids ในเนื้อเยื่อสัตว์ทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของเซลและผนังเซล เมื่อสัมผัสกับอากาศจะทำให้เกิดการเปลี่ยนสี กลิ่น และ กลิ่นรส อีกทั้งความร้อนสามารถเร่งการเปลี่ยนแปลงนี้ ทำให้เกิดกลิ่นแปลกปลอม เช่น fishy odor หรือ warmed over flavor (Dugan, 1987)

<u>เกลือแร่</u> เป็นองค์ประกอบที่พบมากถึง 90 ชนิดในกล้ามเนื้อ แต่มีเพียง 26 ชนิดที่เป็นเกลือแร่ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตสัตว์ (Merkel, 1987) เกลือแร่ที่มีจำนวนมากคือ โซเดียม โปแตสเซียม แมกนีเซียม และ แคลเซียม (Fennema et al., 1973) โซเดียม โปแตสเซียม และคลอไรด์ มักพบได้ทั้งในเนื้อเยื่อและของเหลวในสิ่งมีชีวิต โปแตสเซียมส่วนมากอยู่ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ ส่วนโซเดียมและคลอไรด์ อยู่ในของเหลวภายนอกเส้นใยกล้ามเนื้อ ในระหว่างการเก็บเนื้อสัตว์ พบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำมีเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเกิดเนื่องจาก การแลกเปลี่ยนอิออนระหว่าง divalent cation (ที่จับอยู่กับหมู่ที่มีประจุลบ 2 หมู่ของโปรตีนกล้ามเนื้อ 2 โมเลกุลที่อยู่ใกล้กัน) กับ monovalent cation ซึ่ง monovalent cation นี้มักเป็น โซเดียม หรือโปแตสเซียม (Merkel, 1987) ซึ่งการแลกเปลี่ยนอิออนนี้ทำให้โปรตีนที่อยู่ใกล้กันสามารถแยกออกจากกันได้มากขึ้น เกิดพื้นที่ให้น้ำเข้ามาได้มากขึ้น ส่วนแมกนีเซียมทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของ myoglobin ที่เป็นรงควัตถุให้สีแดงที่เป็นสีของผลิตภัณฑ์เนื้อ ส่วนแคลเซียมเป็นเกลือแร่สำคัญที่มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ เนื่องจากจะมีส่วนเร่งการทำงานในลักษณะเอนไซม์ ATPase ของ actomyosin ซึ่งมีผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อและลดความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์ลง

<u>ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity) ของโปรตีนกล้ามเนื้อ</u>

ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์เนื่องจากมีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ด้านความนุ่ม และความชุ่มน้ำ ความสามารถในการอุ้มน้ำ หมายถึง ความสามารถในการจับน้ำทั้งหมดหรือบางส่วนของน้ำที่เป็นของเนื้อเยื่อเดิมหรือน้ำที่เติมเพิ่มเข้าไป บทบาทของ myofibrils ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำสามารถแยกพิจารณาได้ตามประเด็นต่างๆ (Pedersen,

1987) คือ ลักษณะการกักน้ำของ myofibrillar proteins ผลของพันธะระหว่าง myofilaments และผลของเกลือ ดังต่อไปนี้

ลักษณะการกักน้ำของ myofibrillar proteins น้ำในเนื้อส่วนมากอยู่ภายในโครงสร้างที่แข็งแรงของ myofibrils โดย myofibrils คิดเป็น 85 % ของปริมาตรเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งหมด ปริมาตรของ myofibrils จึงมีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ โดยน้ำที่อยู่ในโครงสร้างเป็นผลเนื่องจากแรงจากประจุของโปรตีน เมื่อค่า pH เปลี่ยนแปลงในช่วง 4.5-7 จะพบว่าเนื้อมีความสามารถอุ้มน้ำต่ำสุดที่ pH 5.0-5.1 ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ระหว่างค่า isoelectric point ของ myofibrillar proteins (actin 4.7, myosin 5.4) ซึ่งแสดงว่าที่ pH ดังกล่าวประจุสุทธิของ myofibrillar proteins มีค่าต่ำที่สุด และเมื่อเปลี่ยนค่า pH สูงขึ้น หรือต่ำลงจะมีผลให้ประจุสุทธิมีค่าเป็นลบ และบวกตามลำดับ ซึ่งประจุดังกล่าวทำให้เกิดการผลักกันระหว่างโปรตีน และเพิ่มปริมาตรของ myofibrillar proteins แต่อย่างไรก็ดีการเพิ่มปริมาตรจะจำกัดด้วย Z-line และ M-line ที่มีลักษณะไม่ยืดหยุ่น อีกทั้งในกล้ามเนื้อที่ไม่ผ่านการลดขนาด เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่หุ้มอยู่โดยรอบจะมีส่วนลดการขยายปริมาตรดังกล่าว

ผลของพันธะระหว่าง myofilaments หลังจากสัตว์ตายจะพบว่า pH ภายในกล้ามเนื้อลดลงและเกิด rigor mortis ซึ่งลดปริมาณน้ำภายใน myofibrils จาก 80 % เป็น 60 %ของปริมาณน้ำทั้งหมดในเนื้อ จำนวนพันธะที่เกิดระหว่าง myofilaments ในช่วง rigor mortis จะขึ้นกับภาวะของกล้ามเนื้อ ถ้า rigor mortis เกิดขณะกล้ามเนื้อหดตัวอยู่แล้ว พันธะระหว่าง myofilaments จะยิ่งเกิดมากขึ้น แต่ถ้าเส้นใยกล้ามเนื้อยืดตัว จะทำให้ myofilaments ซ้อนกันน้อยลง จึงเกิดพันธะระหว่าง rigor mortis น้อยลง ความสามารถในการอุ้มน้ำก่อนและหลัง rigor mortis ของกล้ามเนื้อที่ยืดตัวจึงไม่ต่างกันมาก แต่ในกล้ามเนื้อที่หดตัว การเกิดพันธะระหว่าง rigor mortis มากขึ้นและมีผลลดความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อมากขึ้น

ผลของเกลือ ความสามารถในการอุ้มน้ำจะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมเกลือแกง และเกลืออื่นๆอีกหลายชนิด เนื่องจากการจับตัวของประจุลบของเกลือกับประจุบวกของหมู่อะมิโนของโปรตีน ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างสายโปรตีนให้แยกตัวออกห่างกันมากขึ้น จึงมีพื้นที่ให้น้ำเข้ามาได้มากและมีความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้น และเกลือมีผลให้ isoelectric point เลื่อนลงสู่ pH ที่ต่ำลง ซึ่งเทคนิคนี้มักใช้ในการเตรียม emulsion และการ curing เนื่องจากเกลือทำให้น้ำจับกับ myofibrillar proteins เพิ่มขึ้น เกลือที่มีลักษณะเฉพาะกลุ่มหนึ่งคือ sodium pyrophosphate และ sodium tripolyphosphate ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างคล้าย ATP จะทำหน้าที่คล้าย ATP ในการคลายพันธะระหว่าง actin และ myosin ซึ่งส่งผลให้ความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นด้วย

จากการศึกษาในอดีตถึงปัจจุบัน ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเกี่ยวกับผลของรูปแบบของน้ำในกล้ามเนื้อต่อความสามารถในการอุ้มน้ำที่วัดด้วยวิธีทางกายภาพ และขณะนี้ยังไม่สามารถบอกถึงรูปร่างลักษณะที่แน่นอนของน้ำที่ถูกกักอยู่ในโครงสร้างเนื้อสัตว์ได้ เนื่องจากปริมาณน้ำที่ถูกกักที่วัดได้ยังไม่แน่นอนและขึ้นอยู่กับวิธีในการวัด ปัจจุบันจึงเข้าใจการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์ได้น้อยมาก (Honikel and Hamm, 1994) โดยสรุปแล้วการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการอุ้มน้ำจะพิจารณาจากน้ำที่ถูกกักอยู่ในโครงสร้างของเนื้อเยื่อ และไม่มีความเกี่ยวข้องกับน้ำประเภท constitutional water และ interfacial water ข้างต้น วิธีต่างๆในการวัดความสามารถในการอุ้มน้ำได้ถูกสรุปไว้อย่างดีโดย Honikel และ Hamm (1994) ซึ่งโดยสรุปสามารถแบ่งวิธีวัดได้เป็น 3 วิธีหลักๆ คือ การไม่ใช้แรงผลักดันน้ำออกนอกเนื้อเยื่อ (applying no force) การใช้แรงผลักดันทางกล (applying external mechanical force) และการใช้แรงผลักดันทางความร้อน (applying themal force) ซึ่งขอเว้นการกล่าวถึงรายละเอียดในที่นี้

<u>การเกิดไกลโคไลซิส การเกิด rigor mortis และการคลายตัวของกล้ามเนื้อ</u>

<u>การเกิดไกลโคไลซิส</u> เมื่อสัตว์ตาย การหมุนเวียนโลหิตจะหยุดลงส่งผลให้ไม่มีการนำออกซิเจนเข้าสู่กล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อจึงต้องอาศัยพลังงานจากกระบวนการเมตาบอลิซึมแบบไม่มีออกซิเจน (anaerobic condition) โดยเปลี่ยนไกลโคเจนเป็นกรดแลคติคเพื่อให้ได้พลังงาน เรียกกระบวนการเปลี่ยนแปลงนี้ว่า ไกลโคไลซิส (glycolysis) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแลคติคส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีตามมา ได้แก่ การลดลงของ pH ของของเหลวภายในกล้ามเนื้อ และปริมาณ ค่า pH ที่ลดลงมีผลให้ผิวของ sarcoplasmic reticulum แปลงสภาพและปลดปล่อยแคลเซียมอิออนออกสู่ sarcoplasm ได้มากขึ้น แคลเซียมอิออนมีความสามารถกระตุ้นการทำงานของ ATPase เมื่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้ปริมาณ ATP ในกล้ามเนื้อลดลงอย่างรวดเร็ว

<u>การเกิด rigor mortis</u> Greaser, Cassens, Briskey และ Hoekstra (1969) พบว่าความสามารถในการจับแคลเซียมของ sarcoplasmic reticulum ลดลงเมื่อเวลาหลังจากการฆ่าเพิ่มขึ้น และเป็นผลลดปริมาณ ATP ที่กล่าวในตอนต้น เกิดการเชื่อมพันธะระหว่าง actin และ myosin อย่างแน่นหนาและไม่สามารถคลายออกจากกันได้ เนื่องจากปริมาณ ATP ลดลงจนไม่สามารถคลายพันธะระหว่าง actin และ myosin ได้ ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวแข็ง เรียกภาวะการหดตัวแข็งของกล้ามเนื้อหลังการฆ่าดังกล่าวว่าการเกิด rigor mortis อีกทั้งในกล้ามเนื้อ การปล่อยแคลเซียมอิออนจาก sarcoplasmic reticulum จะเกิดมากขึ้นเมื่อลดอุณหภูมิลงในช่วง 0-10 $^{\circ}$C ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวอย่างรุนแรงและรวดเร็วกว่าเมื่อเกิด rigor mortis ที่อุณหภูมิสูงกว่านี้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหดตัวนี้จะแข็งและเหนียวมากกว่าปกติ เรียกการหดตัวที่เกิดอย่างรุนแรงในช่วงอุณหภูมินี้ว่า cold shortening อย่างไรก็

ดี กล้ามเนื้อที่เกิด cold shortening สามารถคลายตัวได้อีกครั้งเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 11 °C ที่ pH สูงกว่า 6.5 และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของกล้ามเนื้อ พบว่ากล้ามเนื้อแดงเกิด cold shortening ได้เร็วกว่ากล้ามเนื้อขาว (Gault, 1992)

<u>การคลายตัวของกล้ามเนื้อหลัง rigor mortis</u> เมื่อทิ้งกล้ามเนื้อที่หดตัวจาก rigor mortis ไว้ระยะหนึ่ง จะพบว่ากล้ามเนื้อที่หดตัวแข็งนี้คลายตัว (resolution) อีกครั้งหนึ่ง Martin และ Whitaker (1968) ระบุว่า resolution เกิดจากการย่อยสลายของโปรตีนโดยเอนไซม์ cathepsins ที่ปล่อยจาก lysosome Lawrie (1966) คาดว่าการปลดปล่อย cathepsins เกิดจากการแตกของผนัง lysosome ซึ่งเป็น lipoprotein จากผลการลด pH ในช่วงการเกิด glycolysis Weidemann, Kaess และ Carruthers (1967) พบว่าระหว่างการคลายตัว เมื่อพิจารณาจาก electron micrograph พบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อวัวเกิดการแยกออกจากกันที่บริเวณ Z-line และ actin กับ myosin เลื่อนเข้าซ้อนทับกันได้มากขึ้น จึงคาดว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่บริเวณ Z-line และลดความแข็งแรงของพันธะระหว่าง actin และ myosin ลง ต่อมามีผู้วิจัยหลายท่าน (Davey and Dickson, 1970; Davey and Gilbert, 1969; Fukazawa, Briskey, Takahashi and Yasui, 1969) สรุปว่าการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อจากการคลายตัว เกิดจากการที่พันธะระหว่าง actin กับบริเวณรอยต่อของ Z-line ลดความแข็งแรงลง Pederson (1987) ตั้งสมมติฐานว่า resolution หลัง rigor mortis ทำให้เกิดที่ว่างระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ เป็นผลให้โมเลกุลของน้ำแทรกเข้ามาได้มากขึ้น จึงเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเยื่อได้เล็กน้อย

Wong (1989) อธิบายว่า protease ในกล้ามเนื้อแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ alkaline protease, acidic protease และ neutral protease ซึ่งชนิดแรกคาดว่าไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์นี้เนื่องจากกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตายมีภาวะเป็นกรดสูง จึงทำให้กลุ่มที่ 2 และ 3 เป็นที่สนใจในงานวิจัยโดยทั่วไป เอนไซม์ในสองกลุ่มหลังนี้มีทั้ง exopepsidase (cathepsins A, C และ H) และ endopepsidase (cathepsins B, D และ L) ซึ่งชนิด B และ D ทำหน้าที่ย่อย myosin และ actin ให้เป็นสายเล็กลง และมี pH เหมาะสมของ cathepsins B และ D ที่ 5.2 และ 4.0 ตามลำดับ Bodwell และ Pearson (1964) และ Martins และ Whitaker (1968) รายงานว่าสามารถแยก cathepsins ชนิด A, B, C และ D ได้จากกล้ามเนื้อไก่

<u>การแช่เยือกแข็งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์</u>

การแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการถนอมอาหารที่มนุษย์รู้จักมาเป็นเวลานาน และนับได้ว่าเป็นการถนอมอาหารที่ให้ลักษณะและคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับอาหารสดมากที่สุด เมื่อดึงพลังงานความร้อนออกจากอาหาร อุณหภูมิอาหารจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึง 0 ถึง -2 °C น้ำในอาหารจะ

เกิดการก่อตัวของผลึกเกิดเป็นจุดศูนย์กลางผลึก (nuclei) เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า nucleation ซึ่งจะปลดปล่อยพลังงานออกมาทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นเล็กน้อย ที่จุดนี้เรียกว่าการเกิด supercooling และเมื่อดึงพลังงานความร้อนของอาหารออกในอัตราเดิมต่อไป อาหารจะลดอุณหภูมิอย่างช้าๆระยะหนึ่ง เนื่องจากเกิดการขยายตัวของผลึกน้ำแข็ง (crystal growth) และเกิด nucleation ไปพร้อมๆกัน จนน้ำในส่วน bulk water เปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งหมด อัตราการลดอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำแข็งมีความสามารถในการนำความร้อนได้ดีกว่าน้ำถึงประมาณ 4 เท่า ในระหว่างที่อุณหภูมิของระบบลดลงเร็วอีกครั้งหนึ่งนี้ จะเกิดการตกผลึกของตัวถูกละลายในอาหาร ทำให้การลดอุณหภูมิเป็นไปอย่างช้าๆแล้วเปลี่ยนเป็นเร็วอีกครั้งสลับกันเป็นระยะๆ ตามจุดเยือกแข็งของตัวถูกละลายแต่ละชนิด ซึ่งเรียกแต่ละจุดนี้ว่า eutectic point อัตราการแช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็วจะเกิดการนำพลังงานความร้อนออกจากอาหารอย่างฉับพลัน ส่งผลให้เกิด nuclei และเป็นผลึกน้ำแข็งจำนวนมากกระจายตัวอยู่ทั่วไปตลอดทั้งชิ้นอาหาร และขนาดของผลึกเล็กเมื่อเทียบกับการแช่เยือกแข็งที่อัตราการแช่เยือกแข็งต่ำกว่า ผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ที่เกิดในการแช่เยือกแข็งแบบช้าทำให้คุณภาพบางประการของอาหารด้อยลงจากผลของการทำลายโครงสร้างของผนังเซล เป็นผลให้การเสียน้ำจากเซลอาหารระหว่างการละลายน้ำแข็งในรูปของ drip loss เพิ่มมากขึ้นและเกิดการเสียสารอาหารที่ละลายได้ในน้ำมากขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นการพัฒนากระบวนการแช่เยือกแข็งในทางอุตสาหกรรมจึงมุ่งไปทางการแช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็ว

<u>การเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัตว์จากการแช่เยือกแข็ง</u> โดยทั่วไปกล้ามเนื้อจะมีจุดเยือกแข็งในช่วง -0.8 ถึง -1 $^{\circ}$C และในการแช่เยือกแข็ง การลดอุณหภูมิจาก -1 ถึง -5 $^{\circ}$C เป็นช่วงที่มีการเกิด nucleation มากที่สุด Daudin (1992) ระบุว่าที่อุณหภูมิ -18 $^{\circ}$C น้ำในเนื้อวัวที่เปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็งได้จะเปลี่ยนเป็นน้ำแข็ง 99 % และสำหรับกล้ามเนื้อไก่ deFremery, Klose และ Sayre (1977) ระบุว่าผลึกน้ำแข็งเริ่มก่อตัวที่อุณหภูมิ -3 $^{\circ}$C และเพิ่มจำนวนและขนาดอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิ -7 $^{\circ}$C และเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่านี้ จะมีอัตราการลดลงของอุณหภูมิเพิ่มมากขึ้น สัดส่วนของน้ำที่ถูกแช่เยือกแข็งในกล้ามเนื้อไก่แปรตามอุณหภูมิ คือ 74, 83, 88 และ 89 % ของน้ำทั้งหมดที่อุณหภูมิ -5, -10, -20 และ -30 $^{\circ}$C ตามลำดับ และจุด eutectic สุดท้ายอยู่ในช่วง -50 ถึง -60 $^{\circ}$C แต่ที่อุณหภูมินี้ก็ยังเหลือน้ำที่ไม่เปลี่ยนเป็นน้ำแข็งอยู่ประมาณ 8-10 %

ภาวะเนื้อสัตว์ที่นำมาแช่เยือกแข็งมีผลต่อตำแหน่งของผลึกน้ำแข็งในเนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อที่แช่เยือกแข็งก่อนเกิด rigor mortis พบว่าน้ำแข็งมีปริมาณประมาณ 60 % ของพื้นที่ทั้งหมดในเส้นใยกล้ามเนื้อ และสำหรับกล้ามเนื้อที่เกิด rigor mortis แล้ว พบประมาณ 40 % ซึ่งเมื่อนำกล้ามเนื้อภาวะก่อนเกิด rigor mortis มาแช่เยือกแข็งมักพบว่า ไม่ว่าอัตราเร็วในการแช่เยือกแข็งจะมากหรือน้อย ผลึกน้ำแข็งจะเกิดบริเวณภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งสันนิษฐานว่า เกิดจากในภาวะดังกล่าวนี้ ของเหลวบริเวณภายนอกเส้นใยกล้ามเนื้อมีจุดเยือกแข็งต่ำกว่าภายใน sarcoplasm (Fennema

et al., 1973) Marsh, Woodhams และ Leet (1968) ระบุว่าการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งอย่างรวดเร็วของกล้ามเนื้อก่อนเกิด rigor mortis ทำให้เกิดปัญหาด้าน cold shortening และ thaw rigor และลดความสามารถในการอุ้มน้ำ ปัญหานี้แก้ได้โดยการแช่เยือกแข็งแบบช้าเพื่อให้กล้ามเนื้อบางส่วนอยู่ที่ภาวะเยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งเล็กน้อย ซึ่งที่อุณหภูมินี้อัตราการเกิดไกลโคไลซิสจะสูง แต่จากการแข็งตัวบางส่วนทำให้ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อ การหดตัวจึงเกิดได้น้อยลง สำหรับกล้ามเนื้อที่แช่เยือกแข็งหลัง rigor mortis ตำแหน่งของผลึกน้ำแข็งกำหนดด้วยอัตราเร็วในการแช่เยือกแข็ง โดยของเหลวภายนอกเส้นใยกล้ามเนื้อเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็งก่อนพวกที่อยู่ข้างในเพราะของเหลวภายนอกเส้นใยกล้ามเนื้อมีความเข้มข้นต่ำกว่า (Forrest et al.,1975) ในกรณีการแช่เยือกแข็งแบบช้าผลึกน้ำแข็งที่ก่อตัวก่อนทางด้านนอกเส้นใยกล้ามเนื้อจะดึงน้ำออกจากเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยความแตกต่างของ Osmotic pressure ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ภายนอกและของเหลวภายในเส้นใยกล้ามเนื้อเข้มข้นขึ้น จึงเกิดการแปลงสภาพของโปรตีนและเป็นปัจจัยต่อการลดความสามารถในการละลายของโปรตีน และความยืดหยุ่นของเนื้อหลังละลาย น้ำแข็งด้านนอกเส้นใยกล้ามเนื้อที่ขยายปริมาตรขึ้นจะดันผนังเส้นใยกล้ามเนื้อ และส่งผลทำลายโครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ ขณะที่การแช่เยือกแข็งที่มีอัตราเร็วสูงเป็นผลให้ผลึกน้ำแข็งก่อตัวภายใน sarcoplasm และผลึกกระจายตัวอย่างทั่วถึงตลอดทั้ง เส้นใยกล้ามเนื้อ และไม่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้าง (Desrosier and Desrosier, 1977)

สีของผลิตภัณฑ์เยือกแข็งจะขึ้นกับอัตราการแช่เยือกแข็ง ผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่เป็นผลให้แสงผ่านทะลุกระทบรงควัตถุของเนื้อสัตว์ เช่น deoxymyoglobin จึงทำให้เห็นเป็นสีแดง ขณะที่ผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กที่เกิดจากการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว จะกระเจิง (scatter) แสงออกโดยรอบทำให้เห็นเป็นลักษณะขุ่นขาว Jul (1984) ระบุว่าที่อัตราการแช่เยือกแข็งมากกว่า 1.0 เซนติเมตรต่อชั่วโมง จะทำให้สีผิวผลิตภัณฑ์ไก่เยือกแข็งอ่อนลง

Ono (1970) รายงานว่าเมื่อนำเอนไซม์ cathepsins มาผ่านการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็ง พบว่ากิจกรรม (activity) ของเอนไซม์ดังกล่าวเพิ่มขึ้น รายละเอียดเบื้องลึกเกี่ยวกับกลไก ความสัมพันธ์เชิงคณิตศาสตร์ และการพิจารณาเชิงเคมีฟิสิกส์ของการเกิดผลึกน้ำแข็ง (nucleation) นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้สรุปไว้เป็นอย่างดี (Blanshard and Franks, 1987; Calvelo, 1981; Reid, 1983) ส่วนผลของการแช่เยือกแข็งต่อสารอาหารต่างๆได้สรุปไว้โดย Zinck (1984) และขอเว้นในการกล่าวถึงในที่นี้

การเพิ่ม ionic strength จากการเพิ่มความเข้มข้นของของเหลวภายในเส้นใยกล้ามเนื้อจากการแช่เยือกแข็งแบบช้าทำให้ myofibrillar proteins เปลี่ยนโครงสร้างเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลาย ทำให้ความนุ่มลดลง โปรตีนแปลงสภาพ (deFremery, Klose and Sayre, 1977) ซึ่งวัดได้จากการสกัดเนื้อเยื่อบดด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 % ภาวะไม่ละลายของโปรตีน (protein insolubilization) มีความสำคัญในกรณีนำเนื้อสัตว์หลังแช่เยือกแข็งแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์

ประเภท emulsion ความมากน้อยของภาวะไม่ละลายของโปรตีนขึ้นกับ พันธุ์สัตว์ ภาวะของเนื้อก่อนแช่เยือกแข็ง อัตราการแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิในการเก็บรักษา และเวลาในการเก็บรักษา โดยทั่วไปโปรตีน actomyosin ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีกจะเกิดภาวะไม่ละลายช้ากว่าโปรตีนกล้ามเนื้อปลา และกล้ามเนื้อก่อนการเกิด rigor mortis เกิดภาวะไม่ละลายที่อัตราช้ากว่ากล้ามเนื้อที่ผ่านภาวะดังกล่าว แต่พบว่าระหว่างละลายน้ำแข็ง กล้ามเนื้อที่แช่เยือกแข็งก่อนเกิด rigor mortis จะหดตัว ทำให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้น้อยกว่ากล้ามเนื้อที่แช่เยือกแข็งหลังเกิด rigor mortis จากการศึกษาของ Huber และ Stadelman (1970a) เกี่ยวกับการละลายของโปรตีนเนื้อไก่ที่แช่เยือกแข็งและละลายทันที โดยเปรียบเทียบการแช่เยือกแข็งด้วยลมเย็น -10 °C กับการใช้ไนโตรเจนเหลวพบว่าการละลายของ myofibrillar proteins ของผลิตภัณฑ์ที่แช่เยือกแข็งด้วยไนโตรเจนเหลวต่ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huber และ Stadelman (1970b) ในกรณีเนื้อไก่งวง Awad, Powrie และ Fennema (1968, 1969) คาดว่าการไม่ละลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อแช่เยือกแข็งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาของสารอินทรีย์บางชนิดที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (เช่น aldehyde) หรือ free radical intermediate ต่อ myofibrillar proteins งานวิจัยของ Buttkus (1967) และ Kwon, Menzel และ Olcott (1965) แสดงให้เห็นว่า malonaldehyde ที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันอิสระไม่อิ่มตัว จะทำปฏิกิริยากับ myosin เกิดเป็น aldehyde-protein complex ที่ลดการละลายของโปรตีนลง

<u>การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์จากการแช่เยือกแข็ง</u> Fennema et al. (1973) ระบุว่าอายุการเก็บของอาหารประเภทเนื้อสัตว์เมื่อพิจารณาในแง่ของจุลินทรีย์จะขึ้นกับ จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน pH ของเนื้อ ขนาดของผลิตภัณฑ์(อัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตร) และภาวะการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาช่วงระหว่างการตัดแต่งซาก กล้ามเนื้อของสัตว์ปีกจะปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์พวก psychrotrophic หลายชนิด (Lawrie, 1966) โดยจะเจริญจากบริเวณผิวหนังก่อนแล้วจึงเจริญต่อในกล้ามเนื้อ (Adamcic and Clark, 1970) แบคทีเรียทั่วไปที่ทำให้อาหารประเภทเนื้อสัตว์เน่าเสียคือ *Proteus, Achromobacter* และ *Pseudomonas* ซึ่งยังชีพด้วยสายเปปไทด์ กรดอะมิโน และน้ำตาลใน sarcoplasm (Rampton, Pearson, Price, Hasegawa and Lechowich, 1970) จากการสรุปของ Desrosier (1970) และของ Desrosier และ Desrosier (1977) ว่า จุลินทรีย์ส่วนมากเจริญไม่ได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 °C อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันว่ายีสต์บางชนิดเจริญได้บนซับเสตรทที่ไม่ถูกแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำถึง -9 °C และโดยทั่วไปยีสต์และราเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าแบคทีเรีย การแช่เยือกแข็งแบบช้ามีผลลดจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่อยู่ในภาวะ vegetative cells ในขณะที่สปอร์มักไม่ถูกทำลายด้วยการแช่เยือกแข็ง การแช่เยือกแข็งมีผลลดประชากรจุลินทรีย์ลดลงอย่างมากในช่วงการแช่เยือกแข็งและมีผลลดประชากรต่อในอัตราต่ำกว่าระหว่างเก็บที่อุณหภูมิเยือกแข็ง การแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งแบคทีเรียที่อยู่ในรูป vegetative cells ซ้ำอีกรอบมีผลในการ

ทำลายแบคทีเรียมากขึ้น Daudin (1992) กล่าวว่า การแช่เยือกแข็งแบบช้ามีผลทำลายโครงสร้างเซลจุลินทรีย์จากการที่ ionic strength ของของเหลวในเซลเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการแปลงสภาพของผนังเซลและเอนไซม์ โดยเรียงลำดับความไวต่อการถูกทำลายด้วยการแช่เยือกแข็งจากน้อยไปมาก ได้ดังนี้ 1.) สปอร์ของ *Clostridium* และ *Bacillus* รวมถึง vegetative cell ของ *Micrococcus Staphylococcus* และ *Streptococcus* 2.)แบคทีเรียชนิดแกรมบวก เช่น *Stapphylococcus aureus* ที่ก่อให้เกิดภาวะอาหารเป็นพิษ 3.) แบคทีเรียชนิดแกรมลบ เช่น *Enterobacteriaceae* และ *Pseudomonas* แต่เมื่อพิจารณาโดยรวมแล้ว ผลการลดจุลินทรีย์ของการแช่เยือกแข็งมีน้อยมาก เช่นในเนื้อวัว (Rosset, 1982) ที่ผ่านการลดอุณหภูมิจนถึง -30 $^{\circ}$C สามารถลดจำนวนได้เพียง 0.5-10 $\log_{10}$

<u>วิธีการแช่เยือกแข็งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์</u> จากการสรุปของนักวิทยาศาสตร์ทางอาหารหลายท่าน (Fellows, 1990; Fennema, Powrie and Marth, 1973; Forrest et al., 1975) สามารถแยกวิธีการแช่เยือกแข็งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ออกเป็นหลายวิธี ได้แก่ การแช่เยือกแข็งแบบอากาศนิ่ง (Still air freezing) การแช่เยือกแข็งโดยใช้แผ่นโลหะเย็น (Plate freezing) การแช่เยือกแข็งแบบลมเป่า (Air blast freezing) การแช่เยือกแข็งแบบจุ่มหรือพ่นด้วยของเหลว (Liquid immersion or spray freezing) และการแช่เยือกแข็งแบบไครโอจินิค (Cryogenic freezing)

<u>การแช่เยือกแข็งแบบอากาศนิ่ง</u> (still air freezing หรือ sharp freezing) อาศัยอากาศเป็นตัวกลางถ่ายโอนความร้อนออกจากผลิตภัณฑ์อย่างช้าๆ โดยไม่มีการเพิ่มการไหลวนของอากาศโดยรอบ ในทางการค้าใช้ช่วงอุณหภูมิ -10 ถึง -30 $^{\circ}$C การแช่เยือกแข็งโดยช่องแช่เยือกแข็งของตู้เย็นตามบ้านก็จัดว่าอยู่ในวิธีนี้ เนื่องจากความสามารถในการนำความร้อนออกอย่างช้านี้เองทำให้ไม่ใช้วิธีนี้ในเวลาต่อมา ผลิตภัณฑ์ที่เคยใช้แช่เยือกแข็งด้วยวิธีนี้มีตั้งแต่ผลิตภัณฑ์แปรรูปชิ้นเล็กจนถึงซากสัตว์ที่ไม่ผ่านการแปรรูป

<u>การแช่เยือกแข็งโดยใช้แผ่นโลหะเย็น</u> (Plate freezing) เป็นการแช่เยือกแข็งที่อาศัยการถ่ายโอนความร้อนด้วยการนำความร้อนของโลหะ โดยนำผลิตภัณฑ์ประกบด้วยแผ่นโลหะเย็นที่มีสารทำความเย็นไหลอยู่ภายใน อุณหภูมิที่ใช้ในทางการค้าอยู่ในช่วง -10 ถึง -30 $^{\circ}$C วิธีนี้เหมาะกับผลิตภัณฑ์ชิ้นบางและต้องการให้มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมแบนเรียบ การนำความร้อนของโลหะที่ดีกว่าของอากาศนี้เองที่ทำให้วิธีนี้มีอัตราการแช่เยือกแข็งเร็วกว่าวิธีแรก บางครั้งจะใช้การเพิ่มการไหลวนของอากาศเย็นโดยรอบเข้าช่วยแลกเปลี่ยนความร้อนกับอาหารด้วย

<u>การแช่เยือกแข็งแบบลมเป่า</u> (Air-blast freezing) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอุตสาหกรรมแช่เยือกแข็งไก่สด อาศัยอากาศที่เคลื่อนที่ด้วยพัดลมเป็นตัวพาความร้อนออก ทำให้เพิ่มอัตราการแช่เยือกแข็งได้มากเมื่อเทียบกับการแช่เยือกแข็งแบบอากาศนิ่ง แต่การเพิ่มความเร็วของอากาศจะเพิ่มค่าใช้จ่ายและมีปัญหาด้านการเกิด freezer burn ในผลิตภัณฑ์ที่มิได้บรรจุ (Campbel and Urbain, 1987; Desrosier and Desrosier, 1977) ช่วงความเร็วลมที่ใช้คือ 30-

1070 เมตรต่อนาที ที่อุณหภูมิช่วง -10 ถึง -40 °C และที่พบโดยทั่วไปคือ 760 เมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ -30 °C deFremery , Klose และ Sayre (1977) ระบุว่าความเร็วลม 1500 ฟุตต่อนาที ช่วงอุณหภูมิ -30 ถึง -40 °C จะทำให้สัตว์ปีกแช่เยือกแข็งมีสีผิวอ่อนและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยทั่วไป ในการแช่เยือกแข็งวิธีนี้จะนำผลิตภัณฑ์วางเรียงซ้อนกันเป็นชั้นบนรถเข็น โดยเว้นระยะห่างระหว่างชั้นให้อากาศไหลผ่านได้ แล้วนำเข้าห้องแช่เยือกแข็ง หรือกรณีอุโมงค์แช่เยือกแข็ง จะเรียงผลิตภัณฑ์บนสายพานตะแกรงเหล็กที่เคลื่อนที่ผ่านอุโมงค์ และเนื่องจากสีผิวขาวครีมที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคสามารถมองเห็นได้เพียงที่ความหนา 2-3 มิลลิเมตร จึงมีผู้ผลิตหลายรายใช้วิธีนี้เพียงเพื่อแช่เยือกแข็งที่เปลือกนอก แล้วนำไปแช่เยือกแข็งด้วยวิธีที่ช้าแต่ประหยัดกว่าโดยสมบูรณ์ภายหลัง

<u>การแช่เยือกแข็งแบบจุ่มหรือพ่นด้วยของเหลว</u> (Liquid immersion or spray freezing) เป็นวิธีที่นิยมมากเช่นกันในอุตสาหกรรมสัตว์ปีก ผลิตภัณฑ์จะบรรจุในถุงพลาสติกปิดผนึกเพื่อป้องกันสารให้ความเย็นเข้าภายในผลิตภัณฑ์ แล้วผ่านลงในอ่างของเหลวที่มีสารให้ความเย็นบรรจุอยู่ โดยใช้รถยก หรือสายพาน หรืออาจนำผลิตภัณฑ์ผ่านห้องแช่เยือกแข็งที่มีของเหลวพ่นลงมา เมื่อแช่เยือกแข็งแล้ว พ่นล้างด้วยน้ำเย็น ของเหลวที่นำมาใช้แลกเปลี่ยนความร้อนกับอาหารต้องไม่เป็นพิษ ไม่แพง ความหนืดต่ำ จุดเยือกแข็งต่ำ นำความร้อนดี ในทางอุตสาหกรรมใช้ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ กลีเซอรอล และ ไกลคอล (propylene glycol) แต่โซเดียมคลอไรด์กัดกร่อนอุปกรณ์ที่เป็นโลหะ ส่วนกลีเซอรอล และ ไกลคอล มีปัญหาด้านการเสียสารละลายที่ให้ความเย็นไปกับผลิตภัณฑ์เนื่องจากความหนืด และการรั่วซึมของภาชนะบรรจุที่หุ้มรอบผลิตภัณฑ์ ทำให้วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมในเวลาต่อมาเมื่อเทียบกับการแช่เยือกแข็งแบบอื่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่มักใช้วิธีแช่เยือกแข็งนี้คือ สัตว์ปีกทั้งตัวบรรจุถุงพลาสติก

วิธีแช่เยือกแข็งทั้ง 4 วิธีที่กล่าวมารวมเรียกว่าวิธีแช่เยือกแข็งทางกล (Mechanical freezing) ซึ่งระบบทำความเย็นอาศัยการระเหย (evaporation) และการควบแน่น (condensation) ของสารทำความเย็นต่างๆ (เช่น R.12 , R.502 หรือ Freeon) ถ่ายโอนพลังงานความร้อนออกจากอาหารหรืออาจมีตัวกลางอื่นสัมผัสและถ่ายโอนความร้อนออกจากอาหารโดยตรง เช่นอากาศเย็นในกรณีของ air-blast freezing ซึ่งใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ทั่วไปแต่มักไม่ใช้กับผักผลไม้สดเพราะอัตราการแช่เยือกแข็งช้า ผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ที่เคลื่อนย้ายออกบริเวณภายนอกเซลมีผลทำลายผนังเซล ซึ่งผนังเซลของผักผลไม้สดประกอบด้วยเซลลูโลสซึ่งไม่มีความยืดหยุ่น จึงทำให้โครงสร้างเซลถูกทำลายได้มากขึ้น

<u>การแช่เยือกแข็งแบบไครโอจินิค</u> (Cryogenic freezing) Drake, Kline และ Vesper (1966) ให้ความหมายคำว่าไครโอจินิค (cryogenic) ว่าเป็นภาวะเกี่ยวกับอุณหภูมิต่ำ องค์กร National Bureau of Standards ที่เมือง Colorado กำหนดช่วงอุณหภูมิของ ไครโอจินิค ว่า ต้องต่ำกว่า -50 °C แต่เฉพาะทางอาหาร Tressler (1968) และ Sebranek (1982) ให้ความหมายของการแช่เยือกแข็งแบบ

ไครโอจินิคไว้ว่าเป็นการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิโดยทั่วไปต่ำกว่า -60 °C โดยใช้ก๊าซเหลว เช่น ไนโตรเจนเหลว หรือ ใช้ก๊าซในสถานะของแข็ง เช่นคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นสารทำความเย็น องค์ประกอบสำคัญสำหรับการแช่เยือกแข็งแบบไครโอจินิคได้แก่ เครื่องแช่เยือกแข็ง และสารทำความเย็นหรือสารไครโอเจน (cryogen) ซึ่งกล่าวในรายละเอียดหัวข้อต่อไป

สารทำความเย็นที่ใช้ในกระบวนการแช่เยือกแข็งแบบไครโอจินิค จากประวัติการแช่เยือกแข็งแบบไครโอจินิค พบว่ามีการใช้สารทำความเย็นอยู่ 4 ชนิดด้วยกัน คือ nitrous oxide, R502, R12, คาร์บอนไดออกไซด์ และไนโตรเจนเหลว

Nitrous oxide เริ่มใช้ในช่วงหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 ในระดับ pilot plant ที่กำลังการผลิต 1 ตัน/ชั่วโมง โดยศึกษาการแช่เยือกแข็งผักและผลไม้หลายชนิด และมีการนำก๊าซกลับมาใช้ใหม่ (recover) ซึ่งขณะนั้นพบว่าลดเวลาแช่เยือกแข็งลงได้ถึง 10 เท่าเมื่อเทียบกับวิธีแช่เยือกแข็งทางกล แต่สารทำความเย็นชนิดนี้มีปัญหาด้านความซับซ้อนของเครื่องมือและราคาที่ค่อนข้างสูง จึงทำให้การศึกษาหยุดอยู่แค่ระดับ pilot plant เท่านั้น (Mackinney, 1946 quoted in Tressler, 1968)

R.502 และ R.12 R.502 คือสารผสมระหว่าง chlorodifluoromethane ($CHClF_2$) 48.8 % กับ chlorodifluorotrifluoroethane ($CClF_2CF_3$) 51.2 % และ R.12 คือ dichlorofluoromethane Trauberman (1966) กล่าวว่าการใช้สารทำความเย็นประเภทนี้ช่วยลดค่าใช้จ่ายได้เมื่อเทียบกับการใช้ไนโตรเจนเหลวหรือการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ Astrom และ Lascelles (1976) สรุปว่า R.12 ประหยัดมากกว่าและลดการเกิด thermal shock ในอาหารหลายชนิด และเชื่อว่าสามารถนำกลับมาใช้ได้ใหม่ได้ถึง 99 % โดยอัตราการผลิตอยู่ในช่วง 500-9000 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และ FDA ได้รับรองกระบวนการแช่เยือกแข็งโดยสารทำความเย็นชนิดนี้ จึงมีการใช้ R.12 อย่างกว้างขวางในแถบยุโรป แต่ปัจจุบันกระแสอนุรักษ์สภาวะแวดล้อมมีส่วนผลักดันให้ลดการใช้สารทั้งสองชนิดนี้ เนื่องจากพบการรั่วของ R.12 ออกสู่บรรยากาศถึง 2 ตันต่ออาทิตย์ในผู้ผลิตอาหารรายใหญ่ (Miller, 1991) และยังอาจมีปัญหาด้านการตกค้างของสารทำความเย็น จนมีการกำหนดมาตรฐานความปลอดภัยในบางประเทศไว้ที่ระดับ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Fellows, 1990) การใช้สารทำความเย็นชนิดนี้จึงลดลงในเวลาต่อมา และถูกห้ามใช้โดยเด็ดขาดทั่วโลกในปี 1996

คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นส่วนประกอบส่วนน้อยของบรรยากาศ การผลิตระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ได้จากการแยกก๊าซธรรมชาติ การผลิตคาร์บอนไดออกไซด์เหลวทำได้จากการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความดัน 1200 psia และเมื่อนำออกจากภาชนะบรรจุ ความดันจะลดลงอย่างรวดเร็วและเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งทันที โดยปกติที่ความดันบรรยากาศจะไม่พบคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะของเหลว การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ให้ความเย็นแก่อาหารจึงทำได้ 2 วิธีคือ วิธีแรกฉีดพ่นคาร์บอนไดออกไซด์เหลวลงบนอาหารโดยตรง และวิธีที่ 2 ให้ความเย็นด้วย

คาร์บอนไดออกไซด์แข็ง ซึ่งโดยทั่วไป คาร์บอนไดออกไซด์เหลว 2 ส่วนจะกลายเป็นเกล็ดคาร์บอนไดออกไซด์ 1 ส่วนโดยประมาณ คาร์บอนไดออกไซด์เหลวเก็บในถังที่ความดัน 15-20 bars มีจุดเดือดที่ความดันบรรยากาศ -78.9 °C ข้อดีต่างๆของสารทำความเย็นชนิดนี้เมื่อเปรียบเทียบกับไนโตรเจนเหลว คือ มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ มีการเสียในช่วงการเก็บรักษาและการถ่ายย้ายน้อยกว่า มีผลดีในบางผลิตภัณฑ์ที่ต้องการรสชาติของกรดคาร์บอนิค เช่นในผลิตภัณฑ์อัดก๊าซ operating cost ต่ำกว่า ภาวะการเกิด thermal shock น้อยกว่า ค่าใช้จ่ายในการสร้างโรงงานและการกระจายสินค้าต่ำกว่า

ไนโตรเจนเหลว ไนโตรเจนเป็นก๊าซที่มีความเฉื่อยสูง มีการนำมาใช้มากในการเก็บรักษาอาหารแบบปรับสภาวะในภาชนะบรรจุ (modified atmospheric storage) ปัจจุบันมีการผลิตในอุตสาหกรรมแยกก๊าซจากบรรยากาศเนื่องจากเป็นส่วนประกอบหลักประมาณ 79 % ของบรรยากาศ ไนโตรเจนเหลวมีจุดเดือดประมาณ -190 ถึง -177 °C มีข้อดีต่างๆเมื่อเปรียบเทียบกับคาร์บอนไดออกไซด์ คือ นำความร้อนออกจากอาหารได้มากกว่า ปลอดภัยในการปฏิบัติงานมากกว่าเพราะเป็นส่วนประกอบหลักของอากาศจึงไม่เป็นพิษ และมีความหนาแน่นน้อยกว่าบรรยากาศทำให้ระบายออกได้อย่างรวดเร็วในกรณีที่เกิดการรั่วไหลออกสู่ภายนอก มีความเฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยามากกว่า ค่าการละลายของก๊าซในส่วนประกอบที่เป็นของเหลวของผลิตภัณฑ์ต่ำกว่า ไม่มีรสชาติของกรดคาร์บอนิค และไม่ทำให้ pH ของผลิตภัณฑ์ต่ำลง

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในภาวะเยือกแข็ง

Calvelo (1981) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดระหว่างเก็บรักษาเนื้อสัตว์ในภาวะเยือกแข็ง ได้แก่ การแปลงสภาพของโปรตีน การเกิดผลึกใหม่ (recrystalization) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และ การระเหิดของน้ำแข็ง เป็นที่ทราบกันว่าการเก็บเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิเยือกแข็งในบรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำไม่ดีพอจะทำให้เกิดผิวที่เสียน้ำจนแห้งแข็งและสีคล้ำ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า freezer burn ซึ่งเกิดจากการระเหิดของน้ำแข็งที่ผิวผลิตภัณฑ์เมื่อความดันไอสูงกว่าอากาศแวดล้อมภายนอก และมีส่วนนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องจากความเข้มข้นของเกลือแร่ที่มีผลเร่งปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น (Daudin, 1992) เมื่อศึกษาจุลกายวิภาค พบว่าบริเวณที่เกิด freezer burn มีช่องว่างลักษณะคล้ายฟองน้ำจำนวนมากที่เคยเป็นที่อยู่ของผลึกน้ำแข็ง ช่องว่างจะขยายตัวเนื่องจากการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อและมัดกล้ามเนื้อ ระหว่างการเสียน้ำเส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณผิวที่เกิด freezer burn จะหดตัวเข้าอัดกันแน่นที่ชั้นลึกลงไปของกล้ามเนื้อ ทำให้เกิดช่องว่างที่เคยเป็นตำแหน่งของเส้นใยกล้ามเนื้อ ความลึกของช่องว่างจะขึ้นกับอุณหภูมิในการเก็บ ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นความลึกจะเพิ่มตามไปด้วย ช่องว่างนี้เองเป็นปัจจัยให้ลดการสะท้อนของแสง ทำให้สีของผลิตภัณฑ์คล้ำลง (Kraess, 1961; Kraess and Weidemann, 1961;

Kraess and Weidemann, 1967) อัตราการเกิด freezer burn ขึ้นกับ ความแตกต่างระหว่างความดันไอของน้ำแข็งกับความดันไอของบรรยากาศภายนอก ความเร็วลม อัตราการแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิการเก็บที่ภาวะเยือกแข็ง และสภาพของกล้ามเนื้อ Campbell และ Urbain (1987) ระบุว่าการเกิด freezer burn ป้องกันได้ด้วยการบรรจุผลิตภัณฑ์ในภาชนะที่กันการซึมผ่านของความชื้นในลักษณะแนบติดกับผิวผลิตภัณฑ์ หรือเคลือบผิวผลิตภัณฑ์ด้วยน้ำแข็ง (glazing)

ภาวะอุณหภูมิแปรปรวน (fluctuation) ระหว่างเก็บผลิตภัณฑ์เยือกแข็ง จะส่งผลให้ขนาดของผลึกน้ำแข็งขยายตัว และทำให้การเสียของเหลวระหว่างละลายน้ำแข็งเพิ่มขึ้น ซึ่งมักเกิดที่อุณหภูมิสูงกว่า -10 °C เนื่องจากผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กจะมีความเสถียรน้อยกว่าผลึกขนาดใหญ่ และมักจะเคลื่อนย้ายไปรวมตัวกับผลึกขนาดใหญ่ หรือรวมตัวกับผลึกขนาดเล็กด้วยกันเป็นผลึกขนาดใหญ่ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Oswald ripening Blanshard และ Franks (1987) ระบุว่าเนื้อเยื่อที่มีผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วจากการแช่เยือกแข็งแบบเร็วมีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของผลึกสูง ผลึกจึงไม่เสถียร และเกิดการเคลื่อนที่รวมตัวกับผลึกอื่น ทำให้สารละลายที่ไม่ถูกแช่เยือกแข็งมีค่า ionic strength เพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดการแปลงสภาพของโปรตีน ดังนั้นข้อดีจากการแช่เยือกแข็งที่อัตราเร็วสูงอาจถูกรบกวนได้โดยง่ายในช่วงเก็บรักษา นอกจากนั้นภาวะอุณหภูมิแปรปรวนยังทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งสะสม เป็นฝ้าขาวที่ผิวภายในของภาชนะบรรจุ ผลึกเหล่านี้จะละลายระหว่างการละลายน้ำแข็ง ดังนั้นเมื่อเวลาเก็บเพิ่มขึ้นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จึงมักเสียน้ำจากการละลายน้ำแข็งเพิ่มขึ้นด้วย (Awad, Powrie and Fennema, 1968)

จากการศึกษาผลของเวลาเก็บต่อความนุ่มในเนื้อไก่โดย Miller และ May (1965) พบว่า เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -18 หรือ -26 °C ที่เวลา 1 อาทิตย์กับ 1 เดือน คุณภาพเนื้อไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่เวลาการเก็บดังกล่าวเนื้อมีค่าความนุ่มมากกว่าตัวอย่างที่เก็บ 3 และ 6 เดือน และเมื่อเก็บที่ -35 °C ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสดีกว่าที่-18 หรือ -26 °C สอดคล้องกับความเห็นของ Desrosier และ Desrosier (1977) ที่ระบุว่าเมื่อเก็บที่อุณหภูมิสูง จะเกิดการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรส สี การเสียสารอาหาร และเนื้อสัมผัส สูงกว่าการเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

ด้านการเปลี่ยนแปลงทางเคมี Forrest et al. (1975) รายงานว่า ปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆในเนื้อสัตว์ดำเนินอยู่ตลอดเวลาที่อุณหภูมิเยือกแข็งเพียงแต่อยู่ในอัตราช้ากว่า การเปลี่ยนแปลงส่วนมากหยุดได้เมื่ออุณหภูมิลดลงถึง -80 °C แต่ไม่สามารถทำได้ทางการค้าเนื่องจากเหตุผลด้านเศรษฐศาสตร์ การเกิดกลิ่นหืนในช่วงการเก็บรักษาเกิดจากปฏิกิริยา 2 ชนิดคือ 1.) lipolysis เป็นปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ไฮโดรไลส์ glycerides และ phospholipids และปลดปล่อยกรดไขมันอิสระออกมา ปฏิกิริยานี้เกิดจากเอนไซม์ lipase ของเส้นใยกล้ามเนื้อ หรือจากจุลินทรีย์ที่เจริญช่วงก่อนการแช่เยือกแข็ง 2.) ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน เป็นปฏิกิริยาที่เร่งด้วย free radical ทำให้เกิดสารประเภท aldehydes และ ketones ปฏิกิริยาทั้งสองประเภทที่กล่าวมาอาจชลอไว้ได้โดยการลดอุณหภูมิเก็บ แต่อย่างไรก็ตาม แม้ที่อุณหภูมิ -20 °C ก็ยังตรวจพบปฏิกิริยานี้ได้ Awad, Powrie

และ Fennema (1968, 1969) รายงานว่าการเกิดกลิ่นหืนในกล้ามเนื้อระหว่างการเก็บในภาวะเยือกแข็งเกิดจากการเพิ่มขึ้นและสะสมของสารประเภท carbonyls Campbell และ Turkki (1967) พบว่ากล้ามเนื้อไก่งวงมีกรดไขมันประเภท C 18:2 และ C 20:4 มาก ส่วน deFremery, Klose และ Sayre (1977) พบว่าการเก็บเนื้อไก่ที่ -10 °C ทำให้ปริมาณ phospholipids ลดลงถึง 60 % และปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดไขมันอิสระจะขึ้นกับ ระยะเวลาหลังการฆ่า พันธุ์สัตว์ และชนิดของกล้ามเนื้อ (Lovern and Olley, 1962) Davidkova และ Khan (1967) พบว่ากล้ามเนื้อไก่สดมีกรดไขมันอิสระอยู่เพียงเล็กน้อย แต่เมื่อแช่เยือกแข็งและเก็บเป็นเวลา 2 ปี ที่อุณหภูมิ -80 °C ตรวจพบกรดไขมันอิสระ 100 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิ -10 °C พบถึง 390 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม กรดไขมันอิสระที่สะสมเพิ่มขึ้นนี้เกิดจากการไฮโดรไลส์ phospholipids ของเอนไซม์ ประมาณ 70 % และอีก 30 % มาจาก triglycerides ซึ่งเอนไซม์ที่เป็นปัจจัยคือ lecithinase ที่ยังทำงานได้ในภาวะเยือกแข็ง

โดยปกติแล้วเกลือถ้ามีโลหะหนัก เช่นเหล็กหรือทองแดงเจือปนอยู่จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบอาจมีอายุการเก็บในภาวะเยือกแข็งค่อนข้างจำกัด เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการ cure หรือ รมควัน นอกจากนั้นเนื้อสัตว์ปีกที่ทำให้สุกบางส่วนจะเสีย fresh cook flavor ระหว่างการเก็บรักษา และเกิด warmed over flavor หรือกลิ่นหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และเมื่อให้ความร้อนจนสุกเต็มที่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวยิ่งเกิดได้มาก แต่ถ้าเนื้อที่สุกบางส่วนมีซอส หรือ gravy ที่มีส่วนผสมของแป้ง (เช่นแป้งถั่วเหลือง) เคลือบอยู่ อายุการเก็บจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากแป้งมีผลในการป้องกันการเกิดกลิ่นหืน (Urbain and Campbell, 1987)

Davidek และ Khan (1968) รายงานว่าในภาวะแช่เย็น ATP จะเปลี่ยนไปเป็น IMP (inosine 5 monophosphate) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสเนื้อ (meatiness) และ น้ำต้มเนื้อ (brothiness) ซึ่งเป็นที่ต้องการ แต่เมื่อเก็บที่ 0 °C เป็นเวลา 1-2 อาทิตย์ IMP จะเปลี่ยนสภาพเป็น hypoxanthine ซึ่งเป็นสารให้รสขม พบว่าการแช่เยือกแข็งสามารถลดการสลายตัวของ IMP ได้ โดยสำหรับเนื้อไก่ที่ภาวะ -5 °C ระยะเวลา 5-10 อาทิตย์ IMP ลดลง 75 % แต่ที่ -80 °C 60 อาทิตย์ จะลดลงเพียง 10 % เมื่อพิจารณาด้าน pH โดยปกติเมื่อเวลาการเก็บผ่านไป pH จะมีค่าสูงขึ้นซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ที่ลดความสามารถในการอุ้มน้ำและความนุ่มเป็นผลให้เกิดการเจือจางของไฮโดรเจนอิออน แต่ถ้าเป็นกรณีเนื้อก่อนการเกิด rigor mortis เมื่อเวลาการเก็บผ่านไป pH จะเปลี่ยนในทิศตรงข้ามคือลดลง เนื่องจากยังมีปฏิกิริยาไกลโคไลซิสดำเนินอยู่จึงมีการสะสมของกรดแลคติค ดังนั้นการเปลี่ยน pH ระหว่างการเก็บรักษาภาวะเยือกแข็งจะขึ้นกับ อุณหภูมิในการเก็บ ความบริสุทธิ์ของเกลือ สภาวะของเนื้อก่อนแช่เยือกแข็ง ความสามารถในการเป็น buffer ของโปรตีน และ บทบาทของเอนไซม์

การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในภาวะเยือกแข็ง

โดยทั่วไป อุณหภูมิต่ำกว่า -10 °C หยุดการเจริญของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ได้ (Forrest et al., 1975) และจะหยุดโดยสมบูรณ์ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -80 °C แต่ในทางปฏิบัติทำไม่ได้เนื่องจากค่าใช้จ่ายสูงมาก Daudin (1992) ระบุว่า กิจกรรมการเผาผลาญพลังงานของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคจะหยุดที่อุณหภูมิ 3 °C และที่อุณหภูมิ -10 และ -12 °C สามารถหยุดการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิด รวมทั้ง ยีสต์และราส่วนมากได้ตามลำดับ ดังนั้นการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ -18 °C เป็นภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ถูกฆ่าได้โดยการเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 °C ที่ระยะเวลาเพียงพอ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง ionic strength ของของเหลวภายในเซล เช่น การทำลาย *Trichinella spiralis* larvae จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิต่ำกว่า -18 °C การเก็บที่ -18 °C นาน 20 วันถือว่าเพียงพอที่จะลดความเสี่ยงสำหรับผู้บริโภค (Zimmermann, Olson, Sandoval and Rust, 1985) Harder (1979) ระบุว่าจุลินทรีย์จำพวก Staphylococcus และ Flavotacterium บาง species ทนอุณหภูมิต่ำได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

การละลายน้ำแข็งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เยือกแข็ง

James และ Bailey (1984) ให้ความหมายของการละลายน้ำแข็งสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เยือกแข็งไว้ว่า เป็นการเปลี่ยนสถานะของน้ำแข็งในเนื้อเยื่อเป็นน้ำอย่างสมบูรณ์ ซึ่งโดยทั่วไปจะมีอุณหภูมิสูงกว่า -1 °C Daudin (1992) แบ่งประเภทการละลายน้ำแข็งสำหรับผลิตภัณฑ์เยือกแข็งออกเป็น 2 วิธีหลักๆ คือ การละลายโดยให้ความร้อนจากภายนอก และการละลายโดยให้ความร้อนจากภายใน

การละลายโดยให้ความร้อนจากภายนอก ละลายน้ำแข็งโดยใช้ตัวกลางในการนำความร้อนต่างๆกัน James และ Bailey (1984) สรุปว่าวิธีละลายประเภทนี้ไว้ว่าได้แก่ การละลายด้วยอากาศนิ่ง อากาศเคลื่อนที่ การใช้ผิวโลหะ การใช้น้ำ และการใช้ไอน้ำที่ความดันสุญญากาศ การละลายควรทำภายในภาชนะบรรจุเดิมของผลิตภัณฑ์ขณะเยือกแข็งเพื่อลดการเสียน้ำ เวลาที่ใช้สำหรับการละลายน้ำแข็งวิธีนี้ขึ้นกับ อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ ความจุความร้อนของผลิตภัณฑ์ ขนาดของผลิตภัณฑ์ ธรรมชาติของตัวกลางที่ใช้แลกเปลี่ยนความร้อน อุณหภูมิของตัวกลาง และการเคลื่อนที่ของตัวกลาง (Forrest et al., 1975) ลักษณะอุณหภูมิ (temperature profile) ของการละลายวิธีนี้แตกต่างจากการแช่เยือกแข็ง กล่าวคือ ในระหว่างการแช่เยือกแข็งการนำความร้อนจากภายในออกสู่ภายนอกเกิดอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเมื่อน้ำเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็งที่ผิวผลิตภัณฑ์จะมีความสามารถในการนำความร้อนเพิ่มขึ้นจึงนำความร้อนออกจากภายในผลิตภัณฑ์ได้อย่างรวดเร็ว ในทางกลับกันการละลายน้ำแข็ง เมื่อน้ำแข็งที่บริเวณผิวเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลว ความสามารถในการนำความ

ร้อนลดลงถึง 4 เท่า จึงทำหน้าที่เป็นฉนวนในการนำความร้อนเข้าสู่ภายในผลิตภัณฑ์ อีกทั้งปกติในการละลายน้ำแข็งไม่สามารถเพิ่มผลต่างของอุณหภูมิ (temperature gradient) ได้มากเหมือนที่ทำได้ระหว่างการแช่เยือกแข็ง เนื่องจากเหตุผลด้านความปลอดภัยจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผิวผลิตภัณฑ์ จึงทำให้การละลายน้ำแข็งทำได้ช้ากว่าการเกิดผลึกน้ำแข็งระหว่างการแช่เยือกแข็งที่ผลต่างอุณหภูมิเดียวกัน

<u>การละลายโดยการเกิดความร้อนจากภายใน</u> การทำให้เกิดพลังงานความร้อนจากภายในชิ้นผลิตภัณฑ์ทำได้หลายวิธี ได้แก่ dielectric thawing, resistive thawing และ microwave thawing (James and Bailey, 1984) การละลายส่วนใหญ่กระทำโดยผู้บริโภค ปัจจุบันวิธีที่ใช้มากในทางปฏิบัติได้แก่การละลายด้วยคลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นการใช้สนามแม่เหล็กที่ความถี่ 2450 MHz ทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของโมเลกุลจากการเปลี่ยนตำแหน่งขั้วของน้ำกลับไปมาอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความร้อนขึ้นจากภายใน การละลายวิธีนี้ใช้เวลาน้อย แต่มีข้อจำกัดด้านความสามารถในการทะลุทะลวงผ่านของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในชิ้นอาหาร เนื่องจากมีการลดลงในรูปแบบ exponential เมื่อความหนาของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ทำให้บริเวณผิวมีอุณหภูมิสูงกว่าภายใน อีกทั้งน้ำส่วนที่มีสถานะเป็นของเหลว มีความสามารถในการรับพลังงานได้ดีกว่าน้ำแข็ง การละลายด้วยไมโครเวฟจึงมักเกิดที่ผิวก่อน และเป็นผลให้การละลายผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชิ้นใหญ่เกิดการสุกที่บริเวณผิวขณะที่ภายในยังมีผลึกน้ำแข็งอยู่ Sale ในปี 1973 (อ้างถึงใน Daudin, 1992) รายงานผลการละลายชิ้นเนื้อขนาด 8 กิโลกรัม หนา 12 เซนติเมตร ด้วยคลื่นไมโครเวฟ ว่า ที่ความหนา 2 เซนติเมตรจากผิวการละลายเกิดอย่างสมบูรณ์ก่อน และเมื่อละลายต่อไปจะทำให้เนื้อส่วนนี้สุกขณะที่ภายในยังไม่ละลาย และสรุปว่าวิธีนี้สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หากต้องการละลายให้อุณหภูมิที่ผิวไม่สูงเกิน 20 $^{\circ}$C ต้องมีความหนาไม่เกิด 5 เซนติเมตร Jul (1984) มีความเห็นว่าการให้ความร้อนวิธีนี้น่าจะเหมาะสำหรับใช้เพิ่มอุณหภูมิอาหารแช่เยือกแข็งให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งเล็กน้อย (tempering) ซึ่งมีข้อดีต่อการประกอบอาหาร (reconstitution) ในขั้นต่อไปคือ ลดเวลาการประกอบอาหารและลดการเสียน้ำ ทำให้ความร้อนกระจายทั่วถึง ป้องกันการเกิดจุดที่ไม่ได้รับความร้อน และลดขนาดชิ้นอาหารได้ง่าย (Harder,1979)

<u>ผลของการละลายน้ำแข็งต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เยือกแข็ง</u> ผลของการละลายมักไม่ได้รับความสนใจจากผู้วิจัยมากนัก เนื่องจากเป็นการปฏิบัติหลังจากผลิตภัณฑ์ถึงมือผู้บริโภคแล้ว Forrest et al. (1975) มีความเห็นว่า การละลายน้ำแข็งทำความเสียหายต่อกล้ามเนื้อได้มากกว่าการแช่เยือกแข็งจาก 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกเกิดเพราะการละลายน้ำแข็งทำได้ช้ากว่าการแช่เยือกแข็งที่ผลต่างอุณหภูมิที่เท่ากันจากเหตุผลข้างต้น ปัจจัยที่สองคือ ระหว่างการละลายอุณหภูมิจะเพิ่มสูงอย่างรวดเร็วจนถึงจุดเยือกแข็ง แล้วจะคงที่อยู่ที่อุณหภูมินี้ระยะหนึ่งซึ่งระหว่างนี้ ทำให้มีโอกาสมากที่จะเกิดการรวมตัวเป็นผลึกน้ำแข็งใหม่ที่มีขนาดใหญ่ และเร่งการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากการเพิ่ม ionic

strength และการอยู่ที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน Calvelo (1981) สรุปว่าการละลายน้ำแข็งทำให้เกิด การเสียน้ำ (exudate loss) การเจริญของจุลินทรีย์ การเสียน้ำจากการระเหย และการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ผลของการละลายต่อปริมาณน้ำที่เสียขึ้นกับตำแหน่งของผลึกน้ำแข็งว่าอยู่ภายในหรือภายนอกเส้นใยกล้ามเนื้อกล้ามเนื้อ Awad, Powrie และ Fennema (1968, 1969) รายงานว่าของเหลวที่ได้จากการละลายเนื้อสัตว์ประกอบด้วย โปรตีน สายเปปไทด์ กรดอะมิโน กรดแลคติค purine วิตามิน B รวม และเกลืออีกหลายชนิด Daudin (1992) ระบุว่าการเปลี่ยนลักษณะโปรตีนและโครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อจากการแช่เยือกแข็งเป็นผลให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อลดลง ดังนั้นระหว่างการละลายน้ำแข็งจึงไม่สามารถดูดซึมน้ำกลับได้ ซึ่งจะเห็นได้ชัดในช่วงทำให้สุกที่จะทำให้เนื้อเสียน้ำได้มากกว่าเนื้อที่ไม่ผ่านการแช่เยือกแข็งประมาณ 2 % อย่างไรก็ตาม ความเห็นขัดแย้งเรื่องผลของการละลายต่อการเสียน้ำ มีให้เห็นอยู่โดยทั่วไป เช่น James และ Bailey (1984) ระบุว่าผลของการละลายน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อสัตว์ไม่แน่ชัด และ Anon และ Calvelo (1980) ไม่พบผลของอัตราการละลายต่อการเสียน้ำของเนื้อวัวเมื่ออัตราการละลายมากกว่า 30 นาที สำหรับการเพิ่มอุณหภูมิจาก -7 °C เป็น -1 °C James et al. ในปี 1983 (อ้างถึงใน Daudin, 1992) แสดงให้เห็นว่าอัตราการละลายในทางการค้าไม่มีผลต่อปริมาณน้ำที่เสียจากการละลายหรือจากการทำให้สุก ส่วนความเห็นของ Jul (1984) ที่สนับสนุนการละลายอย่างช้าๆในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ด้วยเหตุผลที่ว่าทำให้มีเวลาที่ทำให้น้ำดูดซึมกลับเข้าสู่ตำแหน่งเดิมในเนื้อเยื่อมากขึ้น จากภาวะสรุปที่แตกต่างกันนี้ทำให้มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาในรายละเอียดด้านการละลายน้ำแข็งสำหรับผลิตภัณฑ์เยือกแข็งต่อไป

<u>ผลการละลายน้ำแข็งต่อจุลินทรีย์</u> Daudin (1992) อธิบายว่า การละลายน้ำแข็งมีผลในการทำลายจุลินทรีย์โดยการทำลายเกิดมากที่ช่วงอุณหภูมิ -7 ถึง -1 °C อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตสามารถกลับมามีกิจกรรมการเผาผลาญ (metabolic activity) ที่ผิวของผลิตภัณฑ์ได้ทันทีหลังละลายแล้ว เนื่องด้วยสารอาหารที่มีอยู่มากมายในของเหลวที่ได้จากการละลาย (กรดอะมิโน สายเปปไทด์ เกลือแร่) ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ การละลายน้ำแข็งจะทำให้อุณหภูมิที่ผิวอยู่สูงกว่า 0 °C เป็นเวลานาน โดยเฉพาะในเนื้อขนาดชิ้นใหญ่อุณหภูมิจะอยู่ที่ 10-15 °C เป็นเวลาหลายชั่วโมง (James and Bailey, 1984) ซึ่งเหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ การละลายจึงควรลดอุณหภูมิที่ผิวให้ใกล้ 0 °C มากที่สุด ซึ่งทำได้โดยการละลายในตู้เย็น (Campbell and Urbain, 1987; Jul, 1984) Harder (1979) รายงานว่าอาหารแช่เยือกแข็งที่ทำให้สุกบางส่วนเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องมากกว่า 6-8 ชั่วโมง อาจตรวจพบว่ามีจุลินทรีย์ชนิด *Staphylococci* ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษเจริญอยู่

การให้ความร้อนผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

รูปแบบของการให้ความร้อนต่อผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ นักวิทยาศาสตร์หลายท่าน (Campbell and Urbain, 1987; Forrest et at., 1975; Harder, 1979; Laroche, 1992) สรุปวิธีให้ความร้อนเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ไว้ต่างๆกันได้แก่ การนำความร้อน การพาความร้อน การแผ่รังสี และการใช้คลื่นไมโครเวฟ

การนำความร้อน (conduction) เป็นการถ่ายโอนความร้อนจากบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงไปยังบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำโดยไม่มีการเคลื่อนที่ของตัวกลางความร้อนเข้าช่วย และเป็นการถ่ายโอนความร้อนแบบเดียวเท่านั้นที่เกิดภายในชิ้นเนื้อสัตว์หรืออาหารที่เป็นของแข็ง

การพาความร้อน (convection) เป็นการถ่ายโอนความร้อนในตัวกลางที่เป็นของไหล ของไหลมีการเคลื่อนที่ทั้งโดยธรรมชาติหรือถูกผลักดันจากภายนอก (เช่นการกวน) เพื่อถ่ายโอนความร้อนแก่อาหารที่เป็นของแข็ง วิธีการให้ความร้อนที่จัดในประเภทนี้ได้แก่ การต้ม (boiling) การลวก (blanching) การนึ่ง (steam cooking) อากาศชื้น (pot roast) และการทอด (molten fat or oil frying)

การแผ่รังสี (radiation) เป็นการถ่ายโอนความร้อนจากการแผ่รังสีของคลื่นรังสีอินฟราเรด (infrared) ที่ปล่อยจากวัตถุร้อนและดูดซับโดยวัตถุเย็น วิธีการให้ความร้อนที่จัดในประเภทนี้ได้แก่ การย่าง (grilling) การอบโดยเปิดฝา (broiling)

คลื่นไมโครเวฟ (microwave) ดังที่กล่าวในช่วงการละลายน้ำแข็ง การให้ความร้อนวิธีนี้เป็นการชักนำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลน้ำภายในชิ้นอาหารด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความถี่ 2450 MHz ซึ่งทำให้เกิดพลังงานความร้อนอย่างรวดเร็วกว่าวิธีดั้งเดิมข้างต้น แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดด้านการทะลุทะลวงผ่านของคลื่นไมโครเวฟที่ไม่สามารถเข้าได้เกิน 3 นิ้วในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ วิธีนี้ปกติไม่ทำให้เกิดลักษณะผิวผลิตภัณฑ์ที่เป็นสีน้ำตาล ซึ่งเป็นที่ต้องการของอาหารบางชนิดอันเนื่องจากการพาความร้อนที่ผิวออกไปยังบรรยากาศรอบๆผลิตภัณฑ์ ภายในเตาอบ ทำให้อุณหภูมิผิวผลิตภัณฑ์ไม่สูงเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล การให้ความร้อนแบบนี้มีค่าใช้จ่ายด้านการลงทุนและการปฏิบัติงานสูงในระดับอุตสาหกรรม

ผลของการให้ความร้อนเนื้อสัตว์ ลักษณะทางกายภาพที่เป็นผลจากการได้รับพลังงานความร้อนที่สังเกตเห็นได้ในเนื้อสัตว์สุกคือ ปริมาตรลดลง เสียน้ำ ส่งผลให้เนื้อสุกมีลักษณะแข็งกว่าเนื้อดิบ (Sims and Bailey, 1992) ระหว่างการให้ความร้อน กล้ามเนื้อจะมีค่าแรงเฉือน (shear value) เพิ่มขึ้นที่ 2 ช่วงอุณหภูมิ คือ 45-50 $^{\circ}$C ซึ่งเกิดจากการตกตะกอน (coagulate) ของ myofibril กับ 65-70 $^{\circ}$C ซึ่งเกิดจากการหดตัวของ collagen เป็นผลให้เกิดแรงดันให้ myofibrils เข้าชิดและจับตัวแข็งยิ่งขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไป ค่าแรงเฉือนจะลดลงซึ่งคาดว่าเกิดจากการสลาย (degradation) ของ

denatured collagen (Ledward, 1979) จึงเห็นว่าลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อสุกขึ้นกับทั้ง myofibrillar proteins และ collagen เมื่อพิจารณาที่ช่วงอุณหภูมิ 45-50 °C actin และ myosin จะแปลงสภาพเป็นเจลแข็งอยู่ภายในแผ่นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน endomysium ที่เป็น collagen ซึ่งยังไม่ได้รับผลกระทบจากความร้อนและเป็นชั้นบังคับการพองตัวของ actin และ myosin ขณะรับความร้อน ดังนั้นการเสียน้ำในช่วงอุณหภูมินี้จึงเกิดได้น้อย แต่ที่ช่วงอุณหภูมิ 65-70 °C ชั้น collagen ของ perimysium หดตัวและเสียสภาพ เกิดเป็นเส้นใยใสพอง ทำให้เกิดแรงกระทำต่อเนื้อเยื่อที่หุ้มอยู่ จึงเกิดการเสียน้ำได้มากที่ช่วงอุณหภูมินี้ แต่จากการศึกษาของ Bouton, Harris และ Shorthose (1976) พบว่าจะสังเกตเห็นการหดตัวอีกครั้งที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 °C ซึ่งผู้วิจัยระบุว่าเป็นการหดตัวที่เกิดจากอันตรกิริยา (interaction) ของ myofibrillar proteins และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน งานวิจัยของ Schock, Harrison และ Anderson (1970) และของ Shafer, Harrison และ Anderson (1973) แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนชื้นในการทำให้สุกจะทำให้ผลิตภัณฑ์เสียความชื้นได้มากกว่าการให้ความร้อนแห้ง ซึ่งเกิดจากการก่อตัวของเปลือกแข็งภายนอก (crust) ที่เกิดจากการให้ความร้อนแห้ง ป้องกันการเสียความชื้นออกจากด้านในของผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการอุ้มน้ำเกิดจากการเปลี่ยนโครงสร้างเนื้อเยื่อระหว่างการให้ความร้อน การลดความสามารถในการอุ้มน้ำพบได้เมื่ออุณหภูมิของเนื้อสูงกว่า 40 °C (Wierbicki, Tiede and Burrell, 1963) แต่ระยะเวลาการให้ความร้อนไม่มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ

Laroche (1992) ระบุว่าเมื่อให้ความร้อน collagen ในสารละลายจะหดตัวเหลือความยาวเพียง 75 % ที่อุณหภูมิ 55-70 °C และเมื่อให้ความร้อนชื้นเป็นเวลานานหรือที่อุณหภูมิสูงขึ้น collagen จะละลายมากขึ้นกลายเป็น gelatin ออกมาทำให้น้ำที่ปลดปล่อยออกจากเนื้อเยื่อในขั้นตอนการให้ความร้อนมีลักษณะข้นหนืด ส่วนการละลายของ myofibrillar proteins จะลดลงอย่างรวดเร็วที่ 55-60 °C แต่ในกรณีของ sarcoplasmic proteins การละลายจะเริ่มลดอย่างช้าๆที่ 40 °C และแม้ที่ 100 °C ก็ยังสามารถละลายได้อยู่ การเปลี่ยนสีของกล้ามเนื้อสุกเริ่มที่ 40 °C จากการตกตะกอนของ myoglobin และการแปลงสภาพของโปรตีนอื่นๆ เกิดการก่อตัวของ ferrihaemachrome ขณะที่ส่วนต่างๆของ myoglobin เริ่มถูกทำลายเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยเริ่มจากการแปลงสภาพของ globin และการทำลายพันธะ heam-globin และในที่สุดทำลายนิวเคลียสของ heam Schock, Harrison และ Anderson (1970) อธิบายว่าถ้าให้ความร้อนเนื้อจนมีอุณหภูมิสูงกว่า 90 °C จะเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลทั้ง caramelization และ Mailard's reaction ระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโนซึ่งทำให้เกิดสีน้ำตาลบนผิวของผลิตภัณฑ์สุก Wong (1989) รายงานสรุปถึงผลการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างพื้นฐานของโปรตีนชนิดต่างๆจากการให้ความร้อน ซึ่งละเอียดเกินกว่าจะเสนอในที่นี้

ได้มีงานวิจัยจำนวนหนึ่งศึกษาการเปลี่ยนโครงสร้างของเนื้อเยื่อระหว่างการให้ความร้อน โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน จากการศึกษาของ Hearne, Penfield และ Goertz

(1978) พบว่าการให้ความร้อนทำลายโครงสร้างบริเวณ Z-line แต่การวิจัยของ Chrystall (1970) และของ Leander, Hedrick, Brown และ White (1980) รายงานผลตรงข้ามคือที่ Z-line ยังคงมีสภาพที่ดีอยู่ แต่พบว่าบริเวณระหว่าง myofibril มีขนาดใหญ่ขึ้น ความยาวของ sarcomere ลดลง A-band หายไป และเกิดการแตกของ myofibril ที่แนวของ Z-line ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะขึ้นกับอายุสัตว์และรูปแบบการให้ความร้อน (Hsieh, Cornforth, Pearson and Hooper, 1980)

ด้านการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ในกล้ามเนื้อที่มีไขมันสูงจะมีค่าความร้อนจำเพาะต่ำ เป็นผลให้ความร้อนที่ต้องการในการเพิ่มอุณหภูมิลดลง (Forrest et al., 1975) และการให้ความร้อนจะเพิ่มอัตราส่วนของกรดไขมันอิสระชนิดไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวมากขึ้น (Janicki and Appledorf, 1974) อันเนื่องจากการแตกตัวของ triglycerides จากพลังงานความร้อน Laroche (1992) สรุปปฏิกิริยาที่มีผลต่อกลิ่นรสจากการให้ความร้อนคือ 1.)autoxidation, hydrolysis, dehydration และ decarboxylation ของส่วนประกอบที่เป็นไขมัน กรดไขมันอิสระ lactone และ ketones 2.)ปฏิกิริยาที่มีผลต่อคาร์โบไฮเดรตที่ให้กลิ่นรส 3.) ปฏิกิริยา Mailard และ 4.)ปฏิกิริยาอื่นๆที่เกิดภายในและระหว่างโมเลกุลของ ammonia, hydrogensulphide, mercaptans, ... etc.

<u>ผลของการให้ความร้อนต่อจุลินทรีย์</u>

ในแง่จุลินทรีย์ การให้ความร้อนเป็นวิธีที่มักใช้ในการถนอมอาหาร เกิดการทำลายจุลินทรีย์ และเอนไซม์ที่ทำให้อาหารประเภทเนื้อสัตว์เสื่อมเสีย ซึ่งมีลักษณะตรงข้ามกับการใช้ความเย็นที่มุ่งเน้นการลดหรือหยุดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว การใช้ความร้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สามารถแบ่งได้เป็น 2 ระดับ (Forrest et al., 1975) คือความร้อนปานกลาง ช่วงอุณหภูมิ 58-75 $^{\circ}$C (pasteurization) โดยมุ่งทำลายเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค อายุของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านความร้อนชนิดนี้จะสามารถอยู่ได้นานที่อุณหภูมิต่ำ เช่น อาหารสำเร็จรูปแช่เยือกแข็ง ส่วนการให้ความร้อนอีกวิธีมุ่งทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยความร้อนสูงมากกว่า 100 $^{\circ}$C (sterilization) สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้ที่อุณหภูมิห้อง เช่นอาหารกระป๋อง ในด้านการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ จากการสรุปของ Mullin (1995) จากงานวิจัยในช่วง 50 ปีที่ผ่านมาอย่างละเอียด เกี่ยวกับผลการทำลายของคลื่นไมโครเวฟต่อจุลินทรีย์ พบว่าโดยสรุปแล้วไม่พบผลของคลื่นไมโครเวฟโดยตรงต่อการลดลงของจุลินทรีย์ หากแต่มีเพียงผลของการให้ความร้อนของน้ำโดยรอบที่ได้รับพลังงานคลื่นไมโครเวฟในการทำลายจุลินทรีย์เท่านั้น