บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

เซลเม็ดเลือด

เซลเม็ดเลือด มีอยู่ในเลือด 35-45 % โดยปริมาตร ประกอบด้วยเซลเม็ดเลือดแดง 4.5-5.5 ล้านเซลต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเม็ดเลือดขาว 5,000-8,000 เซลต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มีโปรตีน 35 % โดยน้ำหนัก โปรตีนดังกล่าวนี้มี hemoglobin เป็นองค์ประกอบอยู่ 86 % โดยน้ำหนัก และที่เหลือเป็น stroma protein 14 % โดยน้ำหนัก (Grant, 1980)

Haemoglobin มีน้ำหนักโมเลกุล 68,000 daltons ประกอบด้วยสาย polypeptide 4 สาย ได้แก่ alpha-chain 2 สาย (141 หน่วย) และ beta-chain 2 สาย (146 หน่วย) เรียงตัวกันเป็นรูปทรงกลม แต่ละสาย polypeptide ประกอบด้วยกลุ่มของ heme อยู่ในช่องว่างตรงกลาง ซึ่งเป็นส่วนที่เรียกว่า non-polar residue โดยเฉลี่ยแล้ว hemoglobin 1 โมเลกุล ประกอบด้วย globin 94 %โดยน้ำหนัก และ heme 6% โดยน้ำหนัก โดยแต่ละ heme ประกอบด้วย ธาตุเหล็ก 9 % โดยน้ำหนัก เมื่อ hemoglobin ได้รับความร้อน โปรตีน globin จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (denaturation) heme จะหลุดออกจากส่วนของโปรตีน และถูกออกซิไดซ์ไปเป็น hemin ซึ่งให้สีน้ำตาลดำ (Tybor, Dill และ Landmann, 1975) โปรตีน globin ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่สำคัญ และแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับร่างกาย แม้ว่าจะมีกรดอะมิโน methionine และ isoleucine ต่ำกว่ามาตรฐาน แต่กรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้ก็พบได้ในอาหารทั่วไป (Grant, 1980)

การแยกเม็ดเลือดแดงจากเลือด

การแยกเม็ดเลือดแดง เริ่มจากการเก็บรวบรวมเลือดด้วยวิธีที่ถูกต้องตามสุขลักษณะ โดยใช้มีดที่มีรูกลวงซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว แทงที่คอสัตว์เพื่อตัดเส้นเลือดใหญ่ เลือดจะไหลผ่านท่อที่ติดกับมีด ลงสู่ภาชนะสะอาดที่เตรียมไว้ จากนั้นเติมสารละลาย sodium citrate 0.5% โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1 ส่วน ต่อ เลือด 9 ส่วนทันที เพื่อป้องกันการตกตะกอนของเลือด (Tybor, Dill และ Landmann, 1975) กลไกการเกิดปฏิกริยาเกิดขึ้นโดย sodium citrate จะแตกตัวให้ citrate ion ซึ่งทำปฏิกิริยากับ calcium ion ได้ calcium citrate ทำให้ไม่มี calcium ion อิสระเหลือพอที่จะทำปฏิกิริยากับ prothrombin จนเกิดเป็น thrombin ได้ ในขั้นตอนนี้จะมีการควบคุมคุณภาพโดยให้สัตวแพทย์ตรวจสอบ จากนั้นแยกพลาสมาจากเซลเม็ดเลือด โดยใช้เครื่อง blood plasma separator หรือเครื่อง centrifuge ที่อุณหภูมิไม่เกิน 10°C ความเร่ง 3,000-5,000 g (Autio และคณะ, 1984)

การใช้เอนไซม์ proteases ในการย่อยสลายโปรตีน

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ proteases เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตและปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพราะปฏิกิริยาไม่รุนแรง ทำให้คงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้มากกว่าการย่อยสลายด้วยกรดและด่าง (Petersen, 1981) ปฏิกิริยาของเอนไซม์เกิดที่ตำแหน่งพันธะ peptide ของสาย polypeptides ร่วมกับการเติม hydrogen ion และ hydroxy ion ที่ปลายอิสระใหม่ เอนไซม์ที่ใช้ทางการค้าในปัจจุบันอยู่ในรูปของเหลว หรือ อัดเม็ด ซึ่งสะดวกต่อการนำไปใช้ สำหรับเอนไซม์ที่ใช้ในทางอาหารถ้ามาจากจุลินทรีย์ ต้องเป็นจุลินทรีย์ชนิดไม่ทำให้เกิดโรค และได้รับการยอมรับจาก FAO/WHO (Novo Industri, 1984a) โดยทั่วไปแล้วแบ่งเอนไซม์ proteases เป็น 2 ประเภท ตามตำแหน่งพันธะ peptide ที่ถูกย่อย คือ exopeptidases จะย่อยพันธะ peptide ตรงปลาย สายด้าน N-terminal และ C-terminal ของสาย polypeptide เข้ามา กับ endopeptidases ย่อยพันธะ peptide ภายในสาย polypeptide แบบสุ่มหรือแบบจำเพาะ จนกระทั่งได้ peptide เป็นสายเล็กๆ (Stauffer, 1989) เอนไซม์ proteases ที่สำคัญในอุตสาหกรรม ส่วนใหญ่เป็นประเภท endopeptidases ซึ่งแบ่งได้

เป็น 4 กลุ่ม ตามตำแหน่งการเกิดของปฏิกิริยา (Ward, 1983) ดังนี้คือ

Serine proteases มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 25,000-30,000 daltons มีกรดอะมิโน serine อยู่ที่ active sites ของเอนไซม์ มี optimum pH ของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 7-11 และ optimum temperature ที่ 60°C เอนไซม์ชนิดนี้ยับยั้งได้ด้วยสาร diisopropyl fluorophosphate (DFP) ตัวอย่างได้แก่ trypsin และ subtilisin

Neutral proteases มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 35,000-45,000 daltons มีอะตอมของโลหะ ซึ่งมักเป็นสังกะสี เป็นหมู่ prosthetic มี optimum pH ของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 7-8 แต่มีความเสถียรระหว่าง pH 5-10 และมี optimum temperature 60°C และเมื่อมี calcium ion เป็นองค์ประกอบ จะมีความเสถียรเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ thermolysin และ Neutrase®

Aspartic proteinases มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 30,000-40,000 daltons มี optimum pH ที่ 3-4 มีความคงทนต่อ DFP แต่ยับยั้งได้ด้วยสารประกอบ diazopeptones เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ pepsin ซึ่งจะมีกรดอะมิโน aspartic อยู่ที่บริเวณ active sites

Cysteine proteinases เอนไซม์กลุ่มนี้มี optimum pH ที่ 7 มีกรดอะมิโน cystein ที่ active site ของโมเลกุล และยับยั้งได้ด้วยสารที่มีหมู่ sulfhydryl เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ papain และ bromelin

นอกจากนี้ ประสิทธิภาพของเอนไซม์ยังขึ้นกับ activity ของเอนไซม์ ซึ่งแปรตามปัจจัยต่อไปนี้ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยา อุณหภูมิ pH สารยับยั้ง และชนิดของ substrates ผู้ผลิตเอนไซม์ทางการค้าจึงพยายามผลิตเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกว้างและมีประสิทธิภาพในการย่อย substrates สูง ในการศึกษาชนิดของเอนไซม์ ที่ใช้ย่อยสลายโปรตีนจากเม็ดเลือดแดงนั้น Kilara (1985) รายงานว่า เอนไซม์กลุ่ม serine proteases ซึ่งได้จาก Bacillus licheniformis มีประสิทธิภาพ ในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงสูงที่สุดถึง 160 % และในกลุ่ม neutral proteases ซึ่งได้จาก Bacillus subtilis มีประสิทธิภาพ 135 % เมื่อเปรียบเทียบโดยคิด activity ของ

papain เป็น 100%

Nakamura และคณะ (1986) ได้ศึกษาการย่อยสลายโปรตีน จากเม็ดเลือดแดงสุกร ด้วยเอนไซม์ proteases ที่มาจากแหล่งต่างๆ ดังนี้ serine proteases จาก Bacillus licheniformis , neutral proteases จาก Bacillus subtilis กับ Aspergillus oryzae และ papain จากมะละกอ โดยใช้ภาวะในการย่อยสลายที่ optimum condition ของแต่ละเอนไซม์ เป็นเวลา 300 นาที พบว่า เอนไซม์ serine proteases มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงสูงสุด เนื่องจากตรวจพบ trichloroacetic acid(TCA) soluble nitrogen ในโปรตีนไฮโดรไลเซทถึง 350 mg %โดยปริมาตร ในขณะที่พบปริมาณ TCA soluble nitrogen ในโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากเอนไซม์ neutral proteases เพียง 90-140 mg% โดยปริมาตร นอกจากนี้ได้ศึกษาความสามารถในการกำจัด heme ออกจากโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยใช้ค่า heme ที่เหลืออยู่ในโปรตีนไฮโดรไลเซทเป็นเกณฑ์ (heme content recovery) พบว่า serine proteases สามารถกำจัด heme ได้มากที่สุด เนื่องจากตรวจพบค่า heme content recovery ของโปรตีนไฮโดรไลเซทเพียง 1.7 % แต่ตรวจพบในโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จาก neutral proteases 77-82.1%

Novo Industri (1983) รายงานว่า เอนไซม์ Alcalase® 0.6L (serine proteases) ซึ่งเตรียมจาก Bacillus licheniformis เหมาะสมที่จะใช้ย่อยสลายโปรตีนจากเม็ดเลือดแดง เอนไซม์ที่เป็นองค์ประกอบหลักใน Alcalase^{R} 0.6L คือ subtilisin Carlsberg ซึ่งเป็น endopeptidases ในกลุ่มของ serine proteases เอนไซม์ดังกล่าวนี้มี optimum pH ที่ 8-9 เสถียรที่ pH 5-10 (25 ^{o}C) มีค่า pI 9.4 optimum temperature 60 ^{o}C น้ำหนักโมเลกุล 27,300 daltons เป็น monopolypeptide ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 274 หน่วย เนื่องจากไม่มีกรดอะมิโน cystein จึงไม่มีพันธะ disulfide ภายในสาย มี serine หน่วยที่ 221 histidine หน่วยที่ 64 และ aspartic หน่วยที่ 32 เป็น active site เอนไซม์ยับยั้งได้ด้วยสารที่ทำปฏิกิริยากับ serine เช่น DFP และ phenyl-methylsulphonyl fluoride (PMSF) Alcalase ® ย่อยพันธะเปปไทด์ได้เกือบทุกชนิด แต่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนที่มีกรดอะมิโนพวก hydrophobic ดีกว่า

Petersen (1981) และ Ward (1983) รายงานการใช้ประโยชน์เอนไซม์ proteases ในอุตสาหกรรมอาหารไว้หลายรูปแบบ อย่างแรกได้แก่การใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทในระดับอุตสาหกรรม อาทิ ไฮโดรไลเซทจากถั่วเหลือง ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในรูปแบบ ซ๊อสถั่วเหลือง ใช้เป็นโปรตีนเสริมในเครื่องดื่ม และในผลิตภัณฑ์เนื้อ ไฮโดรไลเซทจากเจลาติน ใช้เป็นสารเพิ่มความข้นหนืด ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ลูกกวาด และขนมหวานบางชนิด ไฮโดรไลเซทจากเลือด ใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ และอาหารสัตว์ ไฮโดรไลเซทจาก casein และ whey มีสมบัติการละลาย และรสชาติที่ดีเหมาะสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มและเนื้อสัตว์ meat protein recovery สกัดได้จากเนื้อติดกระดูก และเศษเนื้อจากการตัดแต่งเนื้อชิ้นใหญ่ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและซุป น้ำปลาเป็นไฮโดรไลเซทจากปลา ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นรสผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ

นอกจากการใช้ประโยชน์ในการผลิตไฮโดรไลเซทแล้ว proteases ยังมีที่ใช้โดยตรงอย่างกว้างขวางอีกด้วย กล่าวคือ ใช้ rennin ในการผลิตเนยแข็งชนิดต่างๆ ในอุตสาหกรรมขนมอบ proteases ช่วยปรับปรุงคุณภาพของแป้ง dough สำหรับขนมปัง และโดนัท ให้มีความยืดหยุ่น และขึ้นรูปได้ดีไม่ฉีกขาดง่าย อุตสาหกรรมเบียร์ ใช้เอนไซม์ papain หรือ neutrase ย่อยโปรตีนโมเลกุลใหญ่ที่แขวนลอยในเบียร์หลังจากผ่านกระบวนการหมักให้เล็กลงทำให้เบียร์ใสขึ้น อุตสาหกรรมสารซักฟอกใช้ alkaline proteases ผสมลงในสารซักฟอก เพื่อย่อยสลายคราบโปรตีนที่เกาะติดเนื้อผ้า อุตสาหกรรมฟอกหนังใช้ alkaline protease ช่วยทำให้หนังสัตว์นุ่ม ยืดหยุ่น โดยเอนไซม์จะย่อยสารพวก collagen และ elastin จนได้สาย polypeptides ที่สั้น

นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้ว proteases ยังมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมประเภทอื่นอีก ได้แก่ papain และ neutral proteasesใช้ในการผลิตโปรตีนเซลเดียวและสารสกัดจากยีสต์ pepsin และ papainใช้ในกระบวนการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ neutral และ alkaline proteases ใช้ในการทำความสะอาด membrane filter ของเครื่องมือต่างๆ

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดโดยใช้เอนไซม์ในการย่อยสลาย

Hald และคณะ (1981) ผลิต โปรตีนไฮโดรไลเซทโดยนำเลือดสุกรที่สะอาด เติมสารละลาย trisodium citrate 40 % โดยปริมาตร เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด ปั่นแยกพลาสมาออกโดยใช้เครื่อง centrifuge เม็ดเลือดแดงที่ได้มาทำให้เซลแตกโดยเติมน้ำให้ได้ความเข้มข้นของโปรตีนเป็น 8 % โดยปริมาตร จากนั้นย่อยสลายด้วย Alcalase® 0.6L (activity 46.4 Anson unit ต่อกิโลกรัมโปรตีน ระหว่างย่อยสลาย ปรับอุณหภูมิเป็น 55°C pH 8.5 ควบคุม pH ให้คงที่ด้วยวิธี thermostatic pH-stat เมื่อค่า DH ของไฮโดรไลเซทถึง 18.1% หยุดปฏิกิริยาโดยปรับ pH เป็น 4 ด้วยกรด hydrochloric แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C 60 นาที นำไปปั่นแยกตะกอนออก จากนั้นปรับ pH เป็น 3 ด้วย sodium hydroxide แล้วกำจัด สี และกลิ่นแปลกปลอมด้วย activated carbon นำไปปั่นแยกอีกครั้งเพื่อกำจัด activated carbon ออก แล้วทำให้เข้มข้นด้วยวิธี reverse osmosis ที่อุณหภูมิ 30°C ปรับ pH อีกครั้งให้เป็น 7 ก่อนทำแห้ง โดยวิธี spray drying ได้ผลผลิตของไฮโดรไลเซท 63.9% ไฮโดรไลเซทที่ได้เป็นสารเชื่อมที่เหมาะสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก และ luncheon meat โดยใช้ร่วมกับพลาสมา

Drepper (1981) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดสุกร โดยเริ่มด้วยการทำให้เซลแตกด้วยน้ำ จากนั้นย่อยสลายโปรตีนบางส่วนด้วยเอนไซม์ Rohm Fungal Proteinase S® ซึ่งได้จาก Aspergillus oryzae การย่อยสลายทำ ที่ pH 4.0 อุณหภูมิ 50 °C ไฮโดรไลเซทที่ได้ไม่มีรสขม มีกรดอะมิโน lysine สูงถึง 10.2 % arginine 3.3 % threonine 3.1 % isoleucine 0.17 % และมีกรดอะมิโนที่มี sulfur เป็นองค์ประกอบ 1.5 %โดยปริมาตร

Swan (1982) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต ไฮโดรไลเซทจากเม็ดเลือดแดงของโคและกระบือ ในระดับอุตสาหกรรมโดยใช้เอนไซม์ Alcalase® ซึ่งเป็น alkaline proteases ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 55 °C ใช้เวลา 50-90 นาที ได้ไฮโดรไลเซทที่มีค่าที่มี DH 18% จากนั้นแยกขนาดโมเลกุลโปรตีนด้วยวิธี ultrafiltration โดยให้ molecular cut off 3,000 daltons พบว่าไฮโดรไลเซทแช่เยือกแข็ง มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าชนิดผงและการใช้ร่วมกับพลาสมา มีความเหมาะสมสำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภท

ไส้กรอกและแฮมมากยิ่งขึ้น

Regnier (1983) ผลิต โปรตีนไฮโดรไลเซท โดยนำเม็ดเลือดแดงที่ได้จากการปั่นแยกพลาสมาออก เติมน้ำ 200-300% เพื่อให้เซลแตก ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alcalase® หยุดปฏิกิริยา โดยการเติมกรด แล้ว กำจัดสีและกลิ่นด้วย activated carbon และทำให้เข้มข้นด้วยการระเหยหรือ reverse osmosis จากนั้นทำแห้งด้วยวิธี spray drying พบว่าเลือด 1000 ลิตร ให้โปรตีนไฮโดรไลเซท 104 กิโลกรัม ประกอบด้วย โปรตีน 80.4 % ไขมัน 0.1 % เถ้า 16.5 % Fe 0.0087 % Na 0.0054 %โดยปริมาตร จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 300 โคโลนี/กรัม และตรวจไม่พบ Escherichia coli

Delaitre, Lorient และ Bourgeois (1984) ศึกษากระบวนการกำจัดสีจากเม็ดเลือดแดงโดยวิธี acidified acetone เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ Alcalase® การย่อยสลายเม็ดเลือดแดงทำที่ อุณหภูมิ 55°C, pH 8.5 ควบคุม pH ด้วย thermostatic pH-stat ไฮโดรไลเซทที่ได้มีค่า DH 18-24 % มีปริมาณ heme เหลืออยู่ในโปรตีน 8% โดยน้ำหนัก ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบในไฮโดรไลเซทที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

NOVO Industri (1984b) ได้รายงานการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยนำเม็ดเลือดแดงมาเจือจางด้วยน้ำ 300 %โดยปริมาตร เพื่อทำให้เซลแตก แล้วย่อยสลายด้วยเอนไซม์ alcalase® (serine proteases, activitiy 24 AU/กิโลกรัมโปรตีน) ที่ pH 8.5, 55°C จนได้ไฮโดรไลเซทที่มีค่า DH 18-20% หยุดปฏิกิริยาโดยปรับ pH เป็น 4 ด้วยกรด hydrochloric แล้วให้ความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 30 นาที ไฮโดรไลเซทที่ได้เป็นของเหลวใสสีน้ำตาลอ่อน หลังกำจัดตะกอนของ heme โดยการปั่นแยก กำจัดสีและกลิ่นด้วย activated carbon แล้วนำไปรวมกับพลาสมา เพื่อนำไปทำแห้งต่อไป NOVO แนะนำเพิ่มเติมว่า ขณะย่อยสลาย ควรควบคุม pH ให้ได้ประมาณ 8.5 โดยใช้เครื่องมือ thermostatic pH-stat ใช้ความเข้มข้นของเลือด 8% โดยปริมาตร ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4% โดยปริมาตร หรือให้ได้ activity อยู่ในช่วง 6-60 AU/กิโลกรัมโปรตีน ถ้าใช้เอนไซม์น้อยเกินไป จะใช้เวลาในการย่อยสลายนาน กำจัดสีได้ไม่ดีพอ และผลผลิตต่ำ ถ้าไฮโดรไลเซทมีค่า DH ต่ำกว่า 18% และกลิ่นรสไม่ดีถ้า DH มีค่ามากกว่า 20 %

Nakamura และคณะ (1986) ศึกษากระบวนการย่อยสลาย และกำจัดสีเม็ดเลือดแดงด้วยเอนไซม์ ต่างชนิดกัน พบว่า serine proteases มีความสามารถในการย่อย

สลายดีกว่า neutral proteases ภาวะเหมาะสมในการย่อยสลายที่สรุปได้คือ ความเข้มข้น substrates 5 %โดยปริมาตร ปริมาณเอนไซม์ 4 % ต่อน้ำหนักโปรตีน (activity ประมาณ 2,000 AU/กรัมโปรตีน) ในการผลิตในระดับ pilot scale พบว่าได้ผลผลิต 56% ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นผงสีขาว ดูดความชื้นได้ง่าย รสเค็ม และขมเล็กน้อย และประกอบไปด้วย polypeptides ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำในช่วง 1,000-2,000 มากกว่า 40 ชนิด

Duarte และคณะ(1988) ศึกษาการย่อยสลายเลือดโคโดยใช้ papain (850 IU/gm) โดยควบคุม pH ให้คงที่ ด้วย thermostatic pH-stat เขารายงานภาวะที่ดีที่สุดดังนี้ คือ อุณหภูมิ 56^{o}C, pH 8.0 ความเข้มข้น substrates 7.5%โดยปริมาตร เอนไซม์ 4 %ต่อน้ำหนักโปรตีน ที่ภาวะดังกล่าวได้ไฮโดรไลเซทที่มีค่า DH สูงสุดเพียง 13% เนื่องจากการเกิด structural rearrangements ของ peptide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ทำให้ activity ของเอนไซม์ลดลง นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังได้ทดลองย่อยสลายเม็ดเลือดแดงโดยไม่ควบคุม pH พบว่าต้องใช้เวลาถึง 3 เท่าของวิธี thermostatic pH-stat จึงจะได้ค่า DH ตามต้องการ

Dondero และคณะ (1990) ศึกษาการย่อยสลายและกำจัดสี ferrimin (blood cell concentrate ทางการค้า) ด้วยเอนไซม์ milezyme APG®(alcalase protease ได้จาก Bacillus licheniformis) พบว่าภาวะที่ดีที่สุดคือ อุณหภูมิ 61^{o}C pH 9.3 ความเข้มข้น substrates 8.0 %โดยปริมาตร ปริมาณเอนไซม์ 2.5 % ต่อน้ำหนักโปรตีน ได้ไฮโดรไลเซทที่มีค่า DH 18 % จากนั้นกำจัดสีด้วย activated carbon 1%โดยปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที สามารถกำจัด hemeได้ 57.5 % ได้ผลผลิต 66.24 % protein recovery 57.84 % เหล็ก 0.0204 %โดยปริมาตร จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 1500 โคโลนี/กรัม ตรวจพบ coliforms และ staphylococcus น้อยกว่า 3 โคโลนี/กรัม

Degree of hydrolysis

ดัชนีซึ่งใช้อธิบายปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน ด้วยเอนไซม์ คือค่า degree of hydrolysis (DH) การติดตามค่า DH ทำได้หลายวิธี ขึ้นกับชนิดของไฮโดรไลเซท ความสะดวกเหมาะสมของนักวิจัย และยังขึ้นกับระดับความละเอียดและเที่ยงตรงที่ต้องการด้วย วิธีที่

นิยมใช้ในปัจจุบันได้แก่ การวัดปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ การวัดปริมาณกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้น และการวัดปริมาณด่าง

การวัดปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ทำโดยอาศัยหลักการที่ว่า ระหว่างการเกิดปฏิกิริยาโปรตีนถูกย่อยสลายไปเป็น polypeptides และกรดอะมิโน ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเซทจึงลดลง ขณะที่ปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น การวัดปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่จึงเป็นดัชนีที่ใช้ติดตามความก้าวหน้าของกระบวนการ hydrolysis ได้ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใช้วิธี Kjeldahl, UV absorbance,Folin-Lowry Color Development, Bicinchroninic acid, และ วิธี Coomasie Brilliant G 240 Stauffer(1989) อธิบายว่า ค่า DH ในกรณีนี้ หมายถึง

$$DH = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด}} \times 100$$

การวัดปริมาณกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นในไฮโดรไลเซท ส่วนใหญ่ใช้ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี ระหว่างกรดอะมิโนกับสารเคมีบางชนิด ปฏิกิริยาที่รู้จักกันดีได้แก่ colorimetric ninhydrin reaction, trinitrobenzenesulfonic, fluorometric reaction ซึ่งสารที่ทำให้เกิดสีได้แก่ fluorescamine, O-phthalaldehyde ความหมายของค่า DH สำหรับวิธีนี้คือ

$$DH = \frac{\text{จำนวนพันธะเปปไทด์ที่แตกออก}}{\text{จำนวนพันธะเปปไทด์ทั้งหมด}} \times 100$$

จำนวนพันธะเปปไทด์ทั้งหมดในโปรตีน คือผลรวมของมิลลิโมลกรดอะมิโนใน 1 กรัมโปรตีน (ปริมาณโปรตีนทั้งหมดวิเคราะห์โดยวิธี Kjeldahl, Nx6.25) ส่วนจำนวนพันธะ peptide ที่แตกออก คำนวณได้จากการวิเคราะห์ หมู่ alpha amino ในไฮโดรไลเซท (Adler และ Nissen, 1986)

การวัดปริมาณด่างที่ใช้ในไฮโดรไลเซททำโดยอาศัยหลักการที่ว่า ระหว่างการย่อยสลายโปรตีนไปเป็น peptide และกรดอะมิโน ในสารละลายที่มี pH มากกว่า 7.5 หมู่อะมิโนที่ N-terminal จะรับโปรตรอนได้น้อยลง ขณะที่หมู่คาร์บอกซิล ของ C-terminal ให้โปรตรอนได้เต็มที่ ซึ่งจะทำให้ pH ของไฮโดรไลเซทลดลง ทำให้ activity ของเอนไซม์ลดลงด้วย ดังนั้นจึงต้องมีการเติมด่างอย่างต่อเนื่อง เพื่อรักษาระดับของ pH ให้เป็นไปตามต้องการ โดยทั่วไปจะใช้ sodium hydroxide และ calcium hydroxide (Adler และ Nissen, 1986) เรียกวิธีนี้ว่า pH-stat method เครื่องมือประกอบด้วย pH meter, เครื่องบันทึก และเครื่องควบคุม pH Jacobsen และคณะ(1976) คำนวณค่า DH จากปริมาณด่างที่ใช้ระหว่างปฏิกิริยา โดยจำนวนพันธะเปปไทด์ที่แตกออก เป็นสัดส่วนกับปริมาณด่างที่ใช้ไป ความสัมพันธ์มีดังนี้

$$DH = B \times \frac{N_b}{M_b} \times \frac{1}{\alpha} \times \frac{1}{h_{tot}} \times 100$$

B = ปริมาณด่างที่ใช้ (ลิตร)

N_b = normality ของด่าง

M_b = มวลของโปรตีน (กิโลกรัม)

$\frac{1}{\alpha}$ = ค่า calibration สำหรับ pH-stat ที่ pH 8.5, อุณหภูมิ 50-55 ^{o}C, มีค่าเท่ากับ 1.04

h_{tot} = จำนวนพันธะ peptide ในโปรตีน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 8.3 สมมูล ต่อกิโลกรัมโปรตีน

นอกเหนือจากการติดตามค่า DH จากวิธีดังกล่าว Duarte และคณะ (1988) ศึกษาความสัมพันธ์ของค่า DH กับจุดเยือกแข็งของไฮโดรไลเซทที่เกิดขึ้นระหว่างปฏิกิริยา พบว่าค่า DH ที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับการลดของอุณหภูมิเยือกแข็งของโปรตีนไฮโดรไลเซท เขาสรุปว่าการวัดอุณหภูมิเยือกแข็ง เป็นวิธีที่เหมาะสมในการติดตามการย่อยสลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและ ไกล้เคียง กับผลที่ได้จากวิธีวัดปริมาณด่าง

การกำจัดสีที่เกิดจากยีมด้วยวิธีดูดซับ

การดูดซับ (adsorption) เป็นวิธีที่ใช้กำจัดสิ่งเจือปนในสารละลาย โดยให้ไปเกาะที่ผิวของตัวดูดซับ การดูดซับ เป็นผลจากแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของตัวดูดซับ (adsorbent) กับสารที่ถูกดูดซับ (adsorbate) ตัวดูดซับที่ใช้ในอุตสาหกรรมมีหลายชนิด ได้แก่ activated carbon, silica gel, carboxy methyl cellulose (CMC) และ sodium alginate activated carbon เป็นสารที่มีความสามารถในการดูดซับสูง ราคาไม่แพง การดูดซับโดย activated carbon เกิดขึ้นจากแรงทางกายภาพ ชนิด Van der Waals force, covalent bond และ hydrogen bond โดยทั่วไป ผิวหน้าของ activated carbon บริสุทธิ์ มีลักษณะเป็นโมเลกุลไม่มีขั้ว จึงดูดซับโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว เช่น กรดอะมิโน และ polypeptide ที่มีสมบัติ hydrophobic ได้ดี activated carbon แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ gas-phase adsorbents และ liguid-phase adsorbents ซึ่งประเภทหลัง นิยมใช้กำจัดสี หรือสิ่งเจือปนในสารละลาย มีทั้งชนิดเม็ด (granule) และ ผง (powder) ในอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้ในรูปผง โดยเติมลงในของเหลวและกวนระยะหนึ่ง แล้วกรองออก ปริมาณที่ใช้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์อาหาร ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับสีได้ดีคือ สารที่ถูกดูดซับต้องมีสมบัติ hydrophobic หรือ aromatic มีขนาดโมเลกุลใหญ่ และละลายน้ำได้น้อย ส่วนสมบัติของ ตัวดูดซับที่สำคัญได้แก่ พื้นที่ผิวของรูพรุน ขนาดของรูพรุน วิธีการผลิต และวัตถุดิบที่ใช้ ปฏิกิริยาการดูดซับที่ดีขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างได้แก่ ปริมาณตัวทำปฏิกิริยา (reactants) อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ อัตราเร็วในการดูดซับจะสูงในช่วงแรก และจะลดลง เมื่อเวลาผ่านไปจนถึงจุดสมดุลย์ ความสัมพันธ์ของการกำจัดสีกับปริมาณตัวทำปฏิกิริยา อุณหภูมิ และเวลา เป็นกราฟ logarithmic (Garten, Nat, และ Weiss, 1957, Bernadin, 1976, Hutchins, 1980)

Sato, Hayakawa และ Hayakawa (1981) ศึกษาการแยกโปรตีน globin จากเม็ดเลือดแดงโดยใช้หลักการ ion exchange ตัวดูดซับที่ใช้คือ CMC ซึ่งมีประจุเป็นลบ ระหว่างปฏิกิริยาเติม hydrochloric 0.01 M เพื่อแยกฮีมออกจากโปรตีน globin ทำให้โปรตีน globin มีประจุบวก และจับกับ CMC ส่วน heme จะหลุดออกจากส่วนของ globin และรวมกับ chloride ion ภาวะที่ใช้คือ pH 3.06, CMC 0.96 %

โดยน้ำหนักโปรตีน สามารถกำจัดheme ได้ 97.4 % ได้ protein recovery 41 %

Novo Industri (1984b) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือด และใช้ activated carbon powder เพื่อกำจัดสีของ heme ที่ตกค้าง และกลิ่นที่ไม่ดีออกจากไฮโดรไลเซท โดยแนะนำให้ใช้ปริมาณ 100 กรัมต่อกิโลกรัมโปรตีน pH 4.5-5.0 อุณหภูมิ 55°C เวลา 60 นาที กำจัด activated carbon powder ออกโดยการกรองบนแผ่นกรองที่เคลือบด้วย diatomaceous earth

Lee และคณะ (1990) ผลิตโปรตีน globin จากเลือดโคโดยใช้ sodium alginate ซึ่งมีหมู่ carboxy ของกรด uronic จากโพลีเมอร์สายหนึ่ง และหมู่ vicinal hydroxy ของโพลีเมอร์อีกสาย พบว่า sodium alginate ที่ใช้มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนอิออน มากกว่า CMC ถึง 4 เท่า heme จะรวมตัวกับ alginate และตกตะกอน ส่วนโปรตีน globin ละลายอยู่ในส่วนของเหลว ภาวะที่ใช้คือ pH 2.25 NaCl 0.348 % โดยปริมาตร alginate 0.107 %โดยปริมาตร สามารถกำจัด heme ได้ถึง 97.6 % และได้ protein recovery 64.9 %

สมบัติทางกายภาพและสมบัติด้านการใช้งานของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือด

Swan และ Catcheside (1983) ศึกษาสมบัติการใช้งานของไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงโค พบว่า ละลายน้ำได้ดี เกิดฟองได้ดีแต่ไม่เสถียร และรสขมเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 % เมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในปริมาณ 1.8 % เปรียบเทียบกับ sodium caseinate และ soy protein isolate พบว่าไส้กรอกที่มีไฮโดรไลเซทมีการสูญเสียความชื้น และไขมัน ต่ำกว่าโปรตีนชนิดอื่น ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภคทั่วไป แสดงว่าคุณภาพ ในด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส และความชุ่มน้ำดีกว่าตัวอย่างอื่นเล็กน้อย

Delaitre และคณะ (1984) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเม็ดเลือดแดงโค โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ alcalase® 0.6L ที่ pH 8.5 อุณหภูมิ 55 °C ได้ไฮโดรไลเซทที่มีค่า DH 18-24% ละลายในน้ำได้เกือบ 100%โดยปริมาตร ทุกๆ pH และที่มี sodium chloride 0 ถึง 2 M ขณะที่โปรตีนกลอบบินซึ่งผลิตด้วยวิธี acidified

acetone ละลายน้ำที่ภาวะเดียวกันได้เพียง 18 ถึง 55 % โดยปริมาตรเท่านั้น ด้านการเกิดฟองของไฮโดรไลเซทพบว่า เกิดฟองได้ดี ทุกๆ pH แต่ความเสถียรของฟองและความสามารถในการป้องกันการรวมตัวของฟองลดลง เมื่อสาย polypeptide สั้นลง ส่วนสมบัติด้านการ emulsifier ไขมันไม่ดีนัก เนื่องจากเกิดครีมได้ในกระบวนการผลิต emulsion

Nakamura และคณะ (1986) ศึกษาสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดสุกรพันธุ์ Randres ที่ย่อยสลายและกำจัดสีด้วยเอนไซม์ alcalase® 0.6L เมื่อใช้เอนไซม์ 4 % ต่อน้ำหนักโปรตีน ปริมาณโปรตีน 9%โดยปริมาตร พบว่าไฮโดรไลเซทที่ได้ ละลายน้ำได้ 100% เกิดฟองได้ 83 ถึง 90 ml ที่ pH 3 ถึง 8 แต่ไม่เสถียร ไม่มีสมบัติเป็น emulsifier และไม่ช่วยในการเกิดเจล

<u>การใช้ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือด</u>

ในอุตสาหกรรม ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือด เป็นแหล่งโปรตีนและปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภท อุตสาหกรรมที่มีศักยภาพในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดมากที่สุด ได้แก่ อุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในลักษณะ blood emulsion ที่ทำหน้าที่เป็นสารเชื่อม และ emulsifier ในไส้กรอกชนิดต่างๆ (Wismer and Pederson, 1978) Hald และคณะ(1981) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดเป็นส่วนผสมใน curing brine 10-20 % ที่ pH 7.5 เพื่อผลิตแฮม นอกจากนี้ ยังใช้ร่วมกับพลาสมาในการเตรียม fat emulsion สำหรับไส้กรอกและ luncheon meat Nakamura และคณะ (1986) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเม็ดเลือดแดง 0.5% ใน cooked ham 2.5 %ในไส้กรอกหมู 2.5 % และ 2.5 % ในแฮมเบอเกอร์ และสรุปว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเลือดที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แล้วมีคุณค่าทางโภชนาการ และมีแนวโน้มในการทดแทนแหล่งโปรตีนในปัจจุบัน ซึ่งมีราคาแพงและหายากขึ้น นอกจากที่กล่าวมาแล้ว ยังอาจใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์ขนมอบ เช่น ขนมปัง ขนมปังกรอบและอาหารว่างที่มีคาร์โบไฮเดรตในปริมาณสูงได้ดีอีกด้วย (Hald และคณะ, 1981)

ลูกชิ้น

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อสัตว์ เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส และวัตถุเจือปนอาหารอื่น โดยการนำมาบดผสมกันอย่างละเอียด จนรวมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วทำให้เป็นรูปร่างตามต้องการ จากนั้นต้มจนสุก คุณลักษณะที่ต้องการของลูกชิ้น คือ สี ต้องสม่ำเสมอตามลักษณะเนื้อสัตว์ที่ใช้ทำ กลิ่นหอม ปราศจากกลิ่นแปลกปลอม รสดี และลักษณะเนื้อละเอียดแน่น เป็นเนื้อเดียวกันไม่ยุ่ย ไม่ควรมีฟองอากาศ โดยทั่วไปประกอบด้วยโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 14 (Nx6.25) ไขมัน โดยเฉพาะในลูกชิ้นไก่ต้องไม่เกินร้อยละ 4 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2533)

กระบวนการผลิตลูกชิ้น ประกอบด้วยขั้นตอน การลดขนาด และสกัดโปรตีน การขึ้นรูป และการเกิดเจลของโปรตีน เมื่อได้รับความร้อน การลดขนาดทำได้หลายระดับ ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ถ้าเป็นลูกชิ้นไก่ จะลดขนาดถึงขั้นละเอียด และทำให้เกิด emulsion และเจลด้วย (Girard และคณะ, 1992) การสกัดโปรตีน มีความสำคัญกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยปัจจัยที่มีผลกับการสกัดโปรตีน ได้แก่ เกลือ และฟอสเฟต ซึ่งจะช่วยในการสกัดและแยก actomyosin เป็น actin และ myosin และทำให้โปรตีนเกิดการพองตัวดูดกลืนน้ำได้ดีขึ้น (Hoogenkamp,1989)

สมบัติการเกิดเจลของลูกชิ้น

เนื้อสัมผัสของลูกชิ้น จัดได้ว่าเป็นคุณภาพที่สำคัญ และขึ้นกับสมบัติด้านการเกิดเจลของโปรตีน Cheftel, Cuq และ Lorient (1981), Autio และคณะ (1984) อธิบายกลไกของการเกิดเจลด้วยความร้อน ดังนี้คือ ในขั้นแรกโปรตีนโมเลกุลเกิดการคลายกลียว (unfolding) หรือการแยกออก(dissociation)ในระดับจตุรภูมิ (quaternary structure) เป็น หน่วยย่อย หรือ monomer จากนั้นจึงรวมตัวกันใหม่โดยในระยะแรกจะเป็นการรวมตัวกันเป็นลักษณะทรงกลม (globular) ที่ละลายน้ำได้ ภาวะนี้เกิดที่อุณหภูมิ 45-50 ^{o}C จากนั้น เชื่อมต่อกันจนมีลักษณะเป็นสาย fibrous ซึ่งขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 80 ^{o}C โดยสมบัติด้านการละลายลดลง สาย peptide มีโครงสร้างที่ใหญ่ขึ้นจนเป็นโครงสร้างตาข่ายในที่สุด การรวมตัวกันของโปรตีนเกิดขึ้นเนื่องจากความสมดุลย์ของ protein-protein interaction และ

protein-solvent interaction และเกิดจากแรงดึงดูด (attractive force) และแรงผลักกัน (repulsive force) ในระหว่างสาย ชนิดของปฏิกิริยาและพันธะมีทั้ง hydrophobic interaction, electrostatic interaction, hydrogen bonding และ disulfide crosslinks

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพและการเกิดเจลของโปรตีน ได้แก่ ชนิด และความเข้มข้นของโปรตีน อุณหภูมิ pH และ ionic strength Hermansson และ Hermansson (1982) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของโปรตีน pH เกลือ sodium chloride ต่อโครงสร้างและคุณภาพเจลที่ได้จากพลาสมา โดยใช้กล้องจุลทัศน์อีเลคตรอน และ Instron Universal Testing Machine เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบ เขารายงานไว้ว่า โครงสร้างเจลที่เกิดที่ 92 ^{O}C ซึ่งสูงกว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเกิดเจล (77 ^{O}C) ทำให้มีลักษณะหยาบ แน่น ไม่หยืดหยุ่นเนื่องจากที่อุณหภูมิสูง เกิดแรง protein-protein interaction มากขึ้น ทำให้เจลหดตัว และเกิดการแตกแยกในบางส่วน สมบัติของเจลด้านการดูดกลืนน้ำจึงสูญเสียไป นอกจากนี้พบว่าการเติมเกลือ sodium chloride ที่ pH 9 ทำให้ได้เจลที่แน่นแต่ยืดหยุ่นไม่ดี ที่ pH 7 การเติมเกลือไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากที่ pH นี้ โปรตีนมีการรวมตัวกันมากอยู่แล้ว

Cheftel และคณะ (1981) ได้รายงานถึงปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของเจลว่า ความเข้มข้นของโปรตีนสูงให้เจลที่มีโครงสร้างแข็งแรง และเกิดเจลได้ในช่วง pH ที่กว้างกว่า เนื่องจากมีพันธะ disulfide และ hydrophobic มากกว่าแรงผลักกันที่เกิดจากปริมาณประจุที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อโปรตีนมีค่า pH ที่ต่างจาก pI มากๆ ชนิดของโปรตีนมีผลกับการเกิดเจล โดยโปรตีนที่มีกรดอะมิโนชนิด hydrophobic มากกว่า 35% ได้แก่ hemoglobin, catalase, egg albumin และ urease ทำให้ pH ในการเกิดเจลเปลี่ยนแปลง เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเหล่านี้เปลี่ยนแปลง และการเพิ่มอุณหภูมิอย่างช้าๆ ทำให้ได้เจลที่เป็นเนื้อเดียวกัน ละเอียด และสม่ำเสมอ เนื่องจากสาย polypeptides มีโอกาสที่จะจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ การให้ความร้อนที่เร็วเกินไป ทำให้โปรตีนรวมตัวกันอย่างหยาบ เจลที่ได้จะมีลักษณะขุ่น มีความยืดหยุ่นต่ำ และไม่เสถียร

Autio และคณะ (1984) ศึกษาผลของ อุณหภูมิ ชนิดโปรตีน ความเข้มข้นของเกลือ และ โปรตีน ต่อสมบัติของเจลที่ได้จากเม็ดเลือดแดงโค พบว่า ที่ความเข้มข้นโปรตีน 4.7%

โดยปริมาตร pH 5.7 โปรตีนจากเม็ดเลือดแดงโคมีค่า gel strength 12.2 millinewton สูงกว่าเจลจากเม็ดเลือดแดงสุกรซึ่งมีค่า 4 millinewton นอกจากนี้พบว่า ที่ 60 ^{o}C ค่า gel strength สูงเพียง 28 millinewton ต่ำกว่าที่ 95 ^{o}C ที่มีค่า 72 milinewton แสดงว่าที่อุณหภูมิสูงได้เจลที่แข็งแรงกว่า pH ในการเกิดเจลของโปรตีนจากเม็ดเลือดแดงทั้งสองชนิดเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของเกลือ และ โปรตีน เนื่องจากการเกิด protein-protein reactions สูงที่ pH ต่ำๆ และเมื่อเปรียบเทียบคุณภาพของเจลที่ได้กับเจลของพลาสมา พบว่าเจลของโปรตีนเม็ดเลือดแดงเป็นเจลที่นุ่มกว่า มีความยืดหยุ่นต่ำ แต่ดูดกลืนน้ำได้ดีกว่า

Foegeding และ Lanier (1989) ได้กล่าวถึงการใช้โปรตีนได้แก่ albumin และ fibrinogen เพิ่มประสิทธิภาพ ของโปรตีนกล้ามเนื้อในการสร้างโครงสร้างตาข่ายในขั้นตอนการเกิดเจลว่า ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสดีขึ้น โดยปฏิกิริยาจากโปรตีนเหล่านี้เกิดได้หลายวิธี ได้แก่ เกิดเจลร่วมกับโปรตีนกล้ามเนื้อ เกิดเจลขึ้นเองโดยธรรมชาติ และไม่สามารถเกิดเจลได้เลยแต่แขวนลอยอยู่ในช่องว่างของโครงสร้างตาข่ายของโปรตีนกล้ามเนื้อ นอกจากนี้โปรตีนแต่ละชนิดเมื่อใช้ร่วมกับโปรตีนกล้ามเนื้อ ก็จะได้เจลที่มีคุณภาพแตกต่างกัน กล่าวคือ โปรตีนผสมระหว่าง myosin กับ fibrinogen (ในปริมาณ 3 mg/ml เท่ากัน) ได้เจลที่แข็งแรงกว่าโปรตีนผสม myosin กับ albumin (ในปริมาณ 3 และ 6 mg/ml ตามลำดับ) และอุณหภูมิในการเกิดเจลของโปรตีนแต่ละชนิดแตกต่างกัน myosin และ fibrinogen เกิดเจลที่ 50^{o}C ขณะที่ albumin เกิดเจลที่ 85 ^{o}C