การเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา

Gelation of Fish Muscle Proteins

จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล

สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทนำ

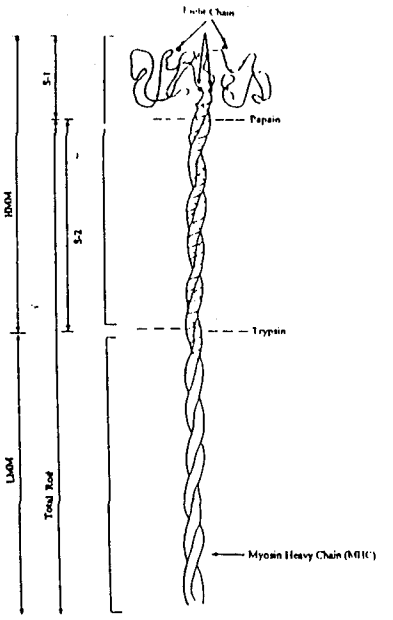
ซูริมิคือ เนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง (washing) และสะเด็ดน้ำ (dewatering) เพื่อกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีน (sarcoplasmic proteins) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ออก เพื่อทำให้มัยโอฟิบริลลาร์โปรตีน (myofibrillar proteins) เข้มข้นมากขึ้น เหตุผลหลักในการกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีน คือ โปรตีนเหล่านี้ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดเจล นอกจากนี้เอ็นไซม์ที่อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อโดยเฉพาะโปรติเนสซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่สามารถเร่งการย่อยสลายโปรตีน และมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการเกิดเจลได้ จึงทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของซูริมิที่ปนเปื้อนด้วยเอ็นไซม์ชนิดนี้ไม่มีความเหนียวยืดหยุ่นและมีคุณภาพต่ำ

การเกิดเจลของซูริมิจัดเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional property) ที่สำคัญประการหนึ่ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสหลากหลายชนิดที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ดังนั้น คุณภาพและราคาซื้อขายของซูริมิจึงแบ่งตามคุณภาพเจลที่ได้ ความเข้าใจเกี่ยวกับองค์ประกอบในเชิงชีวเคมีของซูริมิ และกลไกในการเกิดเจลจึงเป็นความรู้พื้นฐานสำคัญ อันจะนำไปสู่การพัฒนากระบวนการผลิตและการควบคุมคุณภาพของซูริมิและผลิตภัณฑ์จากซูริมิให้เหมาะสม

องค์ประกอบของมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีน

โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีน คือ มัยโอซิน (myosin) แอคติน (actin) โทรโปมัยโอซิน (tropomyosin) โทรโปนินเชิงซ้อน (troponin complex) และโปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการยืดหดตัวของกล้ามเนื้ออื่นๆ เช่น แอคตินิน (actinins) เอ็ม-โปรตีน (M-proteins) ซี-โปรตีน (C-proteins) และอื่นๆ มัยโอซินมีปริมาณคิดเป็น 43 เปอร์เซ็นต์ของมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนทั้งหมด มัยโอซินเป็นโมเลกุลสายยาวขนาดใหญ่ซึ่งมีขนาดประมาณ 500,000 ดาลตัน (dalton) ประกอบด้วยโปรตีน 2 หน่วยย่อย (subunit) คือ myosin heavy chain (MHC) และ myosin light chain (MLC) ดังแสดงในรูปที่ 1. MHC แบ่งออกเป็นส่วนหัวซึ่งมีรูปร่างเป็นก้อนกลม เรียกว่า globular head และส่วนหาง ซึ่งเป็นโพลีเปปไทด์สายยาว ส่วนหางของ MHC 2 สายจะพันรอบซึ่งกันและกัน เกิดเป็นโครงสร้างแอลฟา-ฮีลิกซ์(α-helix) ซึ่งมีลักษณะเป็นแท่ง (rod shape) ดังแสดงในรูปที่ 1. แต่ละสายของ MHC มีขนาด 200,000 ดาลตัน สำหรับ myosin light chain ประกอบด้วยโปรตีน 4 หน่วยย่อย ซึ่งแต่ละหน่วยมีขนาดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ คือ อยู่ระหว่าง 16,000 - 27,500 ดาลตัน (Bechtel, 1986)

เมื่อมัยโอซินถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ trypsin จะทำให้โมเลกุลถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของ heavy meromyosin (HMM) ซึ่งประกอบด้วยส่วน globular head และส่วนต้นของสายแอลฟา-ฮีลิกซ์ ส่วนที่ 2 คือ light meromyosin (LMM) ซึ่งเป็นส่วนที่เหลือของแท่งแอลฟา-ฮีลิกซ์ทั้งหมดดังแสดงในรูปที่ 1. เมื่อนำส่วนของ HMM มาย่อยต่อด้วยเอ็นไซม์ปาเปน (papain) เกิดเป็นส่วนย่อย เอส-1 (S-1) และ เอส-2 (S-2) ซึ่งคือส่วนก้อนกลมของ globular head และส่วนแท่งตอนต้น ตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 2. องค์ประกอบของมัยโอซินและองค์ประกอบอื่นๆ ของมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนสามารถแสดงดังในตารางที่ 1.



รูปที่ 1. โครงสร้างของมัยโอซินและหน่วยย่อย (subfragments) ต่าง ๆ

กลไกการเกิดเจลของซูริมิ

ปรากฏการณ์ที่โปรตีนเรียงตัวประสานกันอย่างมีแบบแผน เกิดเป็นโครงสร้างร่างแห 3 มิติ โดยมีโมเลกุลของน้ำระหว่างร่างแหเหล่านั้น เรียกว่า การเกิดเจล (gelation) เจลที่ได้มีความสามารถอุ้มน้ำได้ดี ทำให้เกิดเนื้อสัมผัสมีความยืดหยุ่น ความสามารถในการเกิดเจลเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของซูริมิ โดยซูริมิที่ดีควรมีเนื้อสัมผัสที่ยืดหยุ่นสูง

เกลือเป็นส่วนผสมที่จำเป็นในการเกิดเจลของซูริมิ ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบหลักของซูริมิ คือ มัยโอฟิบริลลาร์โปรตีน ซึ่งละลายได้ดีในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ (0.6 โมลลาร์) นอกจากนี้ เกลือยังลดเสถียรภาพจากแรงดึงดูดทางประจุระหว่างโมเลกุลของมัยโอฟิบริลลาร์ลง ทำให้โปรตีนแผ่ตัวออกบางส่วน เมื่อซูริมิบดผสมกับเกลือและน้ำได้ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า "เพส" (paste) เมื่อนำเพสไปให้ความร้อนจึงเกิดการเปลี่ยนสภาวะเป็นเจล

ในองค์ประกอบทั้งหมดของมัยโอฟิบริลลาร์-โปรตีน มัยโอซินเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่มีผลต่อการเกิดเจล (Asghar, Samejima and Yasui, 1985) การแผ่ตัวออกของโครงสร้างมัยโอซินแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำๆ โดยมัยโอซินจากปลามีความคงตัวต่ออุณหภูมิ (thermal stability) น้อยกว่าจากสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอันเนื่องมาจากอุณหภูมิสูง (thermal denaturation)

ตารางที่ 1. องค์ประกอบหลักของมัยโอฟีบริลลาร์โปรตีน

Protein or subfragment	Amount of total protein(%)	Molecular weight (Dalton)	No. of subunits	α-helical content(%)
Myosin	43	500,000	2	57
Myosin heavy chain		400,000	2	
Myosin light chain				
Light chain-1		25,000	1	
Light chain-2		20,000	1	
Light chain-3		16,000	1	
Rocl		220,000	2	90
LMM		140,000	2	90-94
HMM		340,000	2	46
S-1		115,000		33
S-2		62,000	2	87
Actin 22		42,000		
Tropomyosin	5	65,000-70,000	2	
α-chain		34,000		
β-chain		36,000		
Troponins	5		3	
Troponin-C		17,000-18,000	1	
Troponin-I		20,000	1	
Troponin-T		30,00	1	

ที่มา : Modified from Asghar, Samejima and Yasui (1985)

และอุณหภูมิต่ำ (freeze denaturation) จึงเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าสัตว์เลือดอุ่น การสูญเสียโครงสร้างดั้งเดิมของมัยโอซินสกัดจากกระต่ายเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 62°ซ. ในขณะที่มัยโอซินจากปลาคาร์พสูญเสียโครงสร้างที่อุณหภูมิ 52°ซ. (Akahane et al., 1985) สำหรับการสูญเสียโครงสร้างดั้งเดิมของแอคตินเป็นไปในลักษณะเดียวกันคือของกระต่ายและปลาคาร์พเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 82 และ 75°ซ. ตามลำดับ และได้มีรายงานว่า ปลาที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำเย็นมากเท่าไร มัยโอซินจะมีความคงตัวต่อความร้อนน้อยเท่านั้น การสูญเสียโครงสร้างดั้งเดิมของมัยโอซินนั้น สามารถติดตามได้จากการสูญเสีย ATPase activity ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างบริเวณ globular head และยังสามารถติดตามได้จากการสูญเสียโครงสร้างแอลฟา-ฮีลิกซ์ในส่วนที่เป็นแท่ง (Ogawa et al.,

1993)

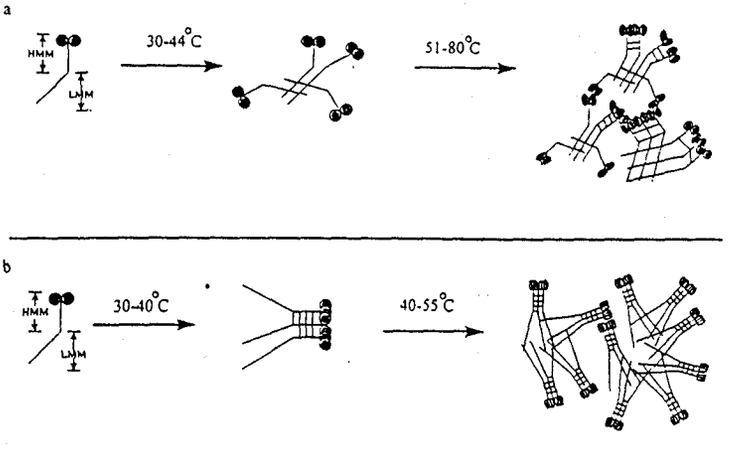
เมื่อพิจารณาเฉพาะโมเลกุลของมัยโอซิน พบว่า myosin light chain ได้มีผลต่อการเกิดเจล องค์ประกอบที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลของโมเลกุลมัยโอซินคือ MHC (Samejima et al., 1984; Chan, Gill and Paulson, 1992 a, b) Yongsawatdigul, Park and Kolbe (1997) ศึกษาความยืดหยุ่นของเจลพบว่า ความยืดหยุ่นของซูริมิเจลจาก Pacific whiting มีค่าแปรผันตามปริมาณ MHC ซูริมิที่ผลิตจากปลาที่มีเอ็นไซม์โปรตีเนส (endogenous proteinases) อยู่ในกล้ามเนื้อเป็นจำนวนมากมักจะเกิดปัญหาทำให้เจลมีลักษณะยุ่ยเละ เนื่องจากเอ็นไซม์เหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายของมัยโอซิน โดยใช้ MHC เป็นสารตั้งต้น (substrate) ได้เป็นอย่างดี

แอคตินนั้นไม่มีคุณสมบัติในการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้าง 3 มิติ แต่อย่างไรก็ตาม Yasui, Ishioroshi and Samejima (1980) พบว่า ตัวอย่างเจลที่มีส่วนผสมระหว่างมัยโอซินและแอคตินมีค่าความแข็งมากกว่าตัวอย่างที่มีมัยโอซินแต่เพียงอย่างเดียว จึงถือว่าแอคตินมีผลส่งเสริม (synergistic effect) ความแข็งของเจล Yasui, Ishioroshi and Samejima (1982) พบว่า ศึกษาความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นของสารละลายเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลลาร์ และ pH 6.0 อัตราส่วนโดยมวลสาร (โมล) ระหว่างมัยโอซินต่อแอคตินที่ทำให้ได้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุดคือ 2.7 ต่อ 1 ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนต่อน้ำหนัก 15 ต่อ 1 synergistic effect ของแอคติน เกิดจากการรวมตัวระหว่าง เอฟ-แอคติน และมัยโอซินบางส่วนเกิดเป็นแอคโตมัยโอซิน (actomyosin) ซึ่งเป็นตัวเชื่อมโยง (crosslinker) กับมัยโอซินที่เหลืออยู่ในรูปอิสระ และทำให้เกิดโครงสร้างเจลที่แข็งแรง สำหรับโทรโปนินและโทรโปมัยโอซินนั้นไม่มีผลต่อการเกิดเจลของแอคโตมัยโอซิน (Samejima, Ishioroshi and Yasui, 1982) ทั้งนี้เนื่องจาก โทรโปมัยโอซินเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้สูง จึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านโครงสร้าง และไม่เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงตาข่ายร่างแห

ส่วนแท่งของมัยโอซินที่เป็นเกลียวแอลฟา-ฮีลิกซ์ มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างตาข่าย (Samejima, Ishioroshi and Yasui, 1981) ค่าความแข็งของเจลที่เตรียมจากส่วนของเกลียวแอลฟา-ฮีลิกซ์ มีค่าสูงกว่าเจลที่ได้จาก เอส-1 หรือส่วนของ globular head โครงสร้างตัวอย่างที่เตรียมจาก เอส-1 เป็นลักษณะคล้ายการต่อเรียงกันของลูกค้าประจำ (bead-like structure) ซึ่งไม่เกิดเป็นร่างแห ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นตะกอนโปรตีน (curd) มากกว่าเป็นเจล ซึ่งแสดงว่า เอส-1 ไม่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจล ส่วนเจลที่เกิดจากแท่งแอลฟา-ฮีลิกซ์ มีลักษณะเนื้อสัมผัส และ โครงสร้างใกล้เคียงกับเจลที่เตรียมจากมัยโอซิน ดังนั้นส่วนแท่งของโมโลกุลมัยโอซินจึงเป็นบริเวณที่เกิดการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล (intermolecular) เกิดเป็นโครงสร้าง 3 มิติของเจล Ishioroshi et al (1981) ศึกษาการเกิดเจลในส่วน HMM เปรียบเทียบกับส่วน LMM และพบว่า HMM เกิดเจลที่แข็งแรงน้อยกว่า LMM แต่มีความแข็งแรงมากกว่าเจลที่เตรียมจาก เอส-1

นอกจากนี้เจลที่เกิดจาก LMM มีความแข็งแรงใกล้เคียงกับตัวอย่างที่เตรียมจากส่วนแท่ง ผลการทดลองเหล่านี้ชี้ชัดว่า ส่วนแท่งที่มีโครงสร้างแอลฟา-ฮีลิกซ์ มีความสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างและลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิ

Sano et al (1990 a, b) รายงานว่า มัยโอซินจากปลาคาร์พเริ่มจัดเรียงตัวเป็นร่างแหที่อุณหภูมิ 30-45 °ซ. โดยเกิดจากส่วนของ LMM เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 °ซ. บริเวณ HMM โดยเฉพาะส่วน globular head นั้นจะเกาะตัวรวมกันด้วยแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกเนื่องจากบริเวณดังกล่าวมีกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำอยู่เป็นจำนวนมาก (Sano et al., 1990 b) นอกจากนี้ Sano et al (1990 b) พบว่า HMM ไม่สามารถเกิดเจลได้ในขณะที่ LMM สามารถเกิดการเรียงตัวเป็นร่างแหซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Samejima, Ishioroshi and Yasui (1981) ที่กล่าวมาข้างต้น อย่างไรก็ตาม Taguchi et al (1987) ได้เสนอกลไกการเกิดเจลที่แตกต่างออกไปกล่าวคือ การจัดเรียงตัวของ HMM โดยเฉพาะในส่วนของ เอส-1 เกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 30-40 °ซ. และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 50 °ซ. ส่วนของ LMM เริ่มคลายตัวออกจากกันและจัดเรียงเป็นร่างแห ข้อเสนอดังกล่าวสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Gill and Conway (1989) ซึ่งรายงานว่า ส่วนแท่งของมัยโอซินซึ่งสกัดจากปลา cod คลายตัวออกทำให้กรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic amino acids) เป็นตัวออกสู่ภายนอกและเกิดแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกระหว่างสายมัยโอซินที่อุณหภูมิ 40-50 °ซ. นอกจากนี้ Chan, Gill and Paulson (1993) พบว่าการจับตัวของมัยโอซินจากปลา cod และ herring เริ่มต้นที่บริเวณ HMM S-2 ที่อุณหภูมิ 30-40 °ซ. ส่วนของ LMM เริ่มจับตัวเป็นร่างแหที่อุณหภูมิ 40-50 °ซ. กล่าวโดยสรุปคือ กลไกการเกิดเจลที่นำเสนอโดย Sano et al (1990 a, b) นั้น HMM รวมตัวกันในช่วงอุณหภูมิต่ำ (30-40 °ซ.) และการคลายตัวของเกลียวแอลฟา-ฮีลิกซ์ เกิดในช่วงอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง (40-50°ซ.) ในขณะที่นักวิจัยกลุ่มอื่นๆ เสนอกลไกในทางตรงกันข้าม ความแตกต่างระหว่างสองกลไกนี้สามารถเปรียบเทียบดังแสดงในรูปที่ 2.



รูปที่ 2.
กลไกการเกิดเจลของมัยโอซิน

ที่มา : (a) Sano et al (1990)
(b) Chan, Gill and Paulson (1993)

การเปลยนแปลงโครงสร้าง (denaturation) และการจับตัวรวมกัน (aggregation) ของมัยโอซิน แตกต่างตามชนิดของปลา เช่น ปลา trout เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของมัยโอซินที่อุณหภูมิ 25, 34 และ 40°ซ. ในขณะที่ปลา horse mackerel เกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 44°ซ. เท่านั้น (Ogawa et al., 1993) การเกิด aggregation ของมัยโอซินก็เช่นกัน Chan, Gill and Paulson (1992 a) พบว่า MHC ของปลา cod และ silver hake มีความสามารถในการรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่ (polymer) ได้มากกว่าปลา herring นอกจากนี้ยังพบว่า ความสามารถในการแผ่ตัวออกของโมเลกุลมัยโอซินและการจับตัวรวมกันของปลาทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกัน โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ ปลา cod silver hake และ herring (Chan, Gill and Paulson 1992 b) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของมัยโอซินที่แตกต่างกันนี้ มีผลทำให้ความสามารถในการเกิดเจลของปลาทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันด้วย โดยมัยโอซินของปลา cod และ silver hake สามารถเกิดเจลได้ดีกว่าปลา herring (Gill et al., 1992) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าคุณสมบัติเฉพาะของมัยโอซินจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ควรทำความเข้าใจ และควรใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกสรรชนิดของปลาเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ

พันธะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของซูริมิ

สำหรับพันธะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนจากเนื้อปลามีอยู่หลายชนิด พันธะหลัก คือ แรงดึงดูดไฮโดรโฟบิก ซึ่งเกิดจากแรงดึงดูดระหว่างกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic amino acids) อันเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของโมเลกุลมัยโอซิน แรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกจะเกิดมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะ การคลายตัวของกลุ่มอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำจะเกิดได้มากที่อุณหภูมิสูง (Howe et al., 1994) พันธะที่มีบทบาทในการเกิดเจลของซูริมิอีกชนิดหนึ่ง คือ พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide linkages) ซึ่งเป็นพันธะโควาเลนท์ประเภทหนึ่ง มีค่าพลังงานพันธะในช่วง 330-380 kJ/mol (Cheftel, Cuq and Lorient, 1985) ดังนั้นพันธะนี้จึงมีความแข็งแรงมากกว่าแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิก กรดอะมิโนที่สามารถสร้างพันธะประเภทนี้คือ กรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl group,-SH) เช่น ซิสตีอีน (cysteine) Samejima, Ishioroshi and Yasui (1981) พบว่า ส่วน globular head ของมัยโอซิน หรือ เอส-1 เป็นบริเวณที่มีกลุ่มซัลไฮดริลมาก การเชื่อมต่อของ globular head ระหว่างโมเลกุลมัยโอซินจึงสันนิษฐานได้ว่าเกิดจากพันธะไดซัลไฟด์ เมื่อนำเจลนั้นมาทำให้เย็น ความแข็งของเจลเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากบทบาทของพันธะไฮโดรเจนซึ่งเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นการตรวจวัดคุณภาพทางเนื้อสัมผัสของเจลโดยเฉพาะเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบคุณภาพจำเป็นต้องวิเคราะห์ที่อุณหภูมิคงที่ ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักจะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง (NFI, 1991)

พันธะโควาเลนท์ที่เกิดจากการเชื่อมโยงระหว่างกลุ่มแกมมา-คาร์บอกซีเอไมด์ (γ-carboxyamide) ของกรดอะมิโนกลูทามีน (glutamine) และกลุ่มเอพซิลอน-อะมิโน (ε-amino) ของกรดอะมิโนไลซีน (lysine) มีบทบาทสำคัญต่อเนื้อ-

สัมผัสของซูริมิเจล (Kamath et al., 1992) เนื่องจาก พันธะโควาเลนท์มีค่าพลังงานพันธะที่สูง การเพิ่มพันธะชนิดนี้จึงมีผลให้เจลที่ได้มีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นสูง การเชื่อมโยงระหว่างกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้เกิดจากการทำงานของเอ็นไซม์ทรานกลูทามิเนส (transglutaminase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อปลาตามธรรมชาติ (endogenous enzyme) ปริมาณของเอ็นไซม์มีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด (Araki and Seki 1993) การเพิ่มพันธะ ε-(γ-glutamyl)-lysine สามารถทำได้โดยบ่มซูริมิที่อุณหภูมิที่เหมาะสมก่อนนำไปทำให้สุก ซึ่งเรียกกระบวนการดังกล่าวว่า "setting" หรือ "ซูวาริ (suwari)" นอกจากปริมาณทรานกลูทามิเนสแล้ว การเปิดตัวออกของมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเกิดพันธะ ε-(γ-glutamyl)-lysine กล่าวคือ มัยโอฟิบริลลาร์โปรตีน โดยเฉพาะมัยโอซินจะต้องคลายตัวออกเพื่อให้กลุ่มแกมมา-คาร์บอกซีเอไมด์ของกรดอะมิโนกลูทามีน และกลุ่มเอพซิลอน-อะมิโนของกรดอะมิโนไลซีน ออกสู่ภายนอกและเกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล ดังนั้นซูริมิที่จะทำให้เกิด setting จึงต้องบดผสมเกลือให้เป็นเพส (paste) ก่อนนำไปบ่ม เนื่องจากเกลือสามารถละลายมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีน และทำให้โปรตีนคลายตัวออกในระดับหนึ่ง นอกจากนี้อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มจะต้องเหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของมัยโอซิน โดยต้องไม่สูงเกินไปจนเกิดการเสียโครงสร้างดั้งเดิม(denature) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดซูวาริแตกต่างตามแต่ชนิดของปลา ขึ้นอยู่กับความคงตัวต่ออุณหภูมิของมัยโอซินดังกล่าวข้างต้น ซูริมิที่ผลิตจากปลา Alaska pollock มีค่าความแข็งของเจล เพิ่มขึ้นเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25°ซ. เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง (Numakura et al., 1985) ในขณะที่อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับซูริมิที่ผลิตจากปลา Atlantic croaker blue whiting และ hoki คือที่อุณหภูมิ 40 °ซ. (Kamath et al., 1992; MacDonald, Stevens and Lanier, 1994) เป็นที่น่าสังเกตว่า ปลาที่อาศัยในเขตกระแสน้ำอุ่นจะต้องการบ่มที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากจำเป็นต้องใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูงในการเหนี่ยวนำให้โปรตีนคลายตัวและเปิดโครงสร้างออก ลักษณะเด่นของเอ็นไซม์ทรานกลูตามิเนสที่อยู่ในปลาคือ จำเป็นต้องมี Ca^{2+} ในการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นการเพิ่ม Ca^{2+} ในรูปของเกลือแคลเซียมชนิดต่างๆ ในซูริมิที่มี endogenous transglutaminase อาจเป็นวิธีที่ช่วยให้เจลมีความแข็งและยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น

การเพิ่มพันธะโควาเลนท์ γ-(ε-glutamyl)-lysine อาจทำได้โดยการเติมเอ็นไซม์ทรานกลูทามิเนสที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ (microbial transglutaminase) สายพันธุ์ *Streptoverticillium mobaraense* ค่าความแข็งของซูริมิเจลที่ผลิตจากปลา Alaska pollock เพิ่มขึ้นประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมเอ็นไซม์ทรานกลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ในปริมาณ 1 ยูนิต/กรัมโปรตีน และบ่มที่อุณหภูมิ 30 °ซ. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Sakamoto et al., 1995) นอกจากนี้ Seguro et al (1995) พบว่า ค่าความแข็งของซูริมิเจลจากปลา Alaska pollock มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเติมทรานกลูทามิเนส 0.03 เปอร์เซ็นต์ และบ่มที่อุณหภูมิ 45 °ซ. เป็น

เวลา 30 นาที แต่หากบ่มที่อุณหภูมิ 10 °ซ. จะต้องใช้เวลาถึง 8 ชั่วโมง เพื่อที่จะได้ความแข็งของเจลใกล้เคียงกับที่อุณหภูมิ 45 °ซ. ลักษณะพิเศษของเอ็นไซม์ทรานกลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ที่แตกต่างจากเอ็นไซม์ทรานกลูทามิเนสที่พบตามธรรมชาติในเนื้อปลา คือ เอ็นไซม์ทรานกลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ไม่ใช้ Ca^{2+} ในการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นปริมาณ Ca^{2+} ในตัวอย่างจึงไม่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมโยงมัยโอซิน (cross-linking).

บทสรุป

มัยโอซินเป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีนกล้ามเนื้อที่มีผลต่อการเจลของซูริมิ กลไกในการเกิดเจลของมัยโอซินอาจแตกต่างขึ้นอยู่กับชนิดของปลา เนื่องจากเกิดการสูญเสียโครงสร้างดั้งเดิม (denaturation) และการรวมตัวกัน (aggregation) ของมัยโอซินและมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน พันธะที่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของซูริมิเจล คือ แรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกเนื่องจากกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic interaction) พันธะไฮโดรเจน และพันธะไดซัลไฟด์ นอกจากนี้การเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของ MHC ด้วยพันธะโคเวาเลนท์ระหว่างกลูทามีนและไลซีนเนื่องจากการเร่งปฏิกิริยาของทรานกลูทามิเนส ซึ่งผลทำให้ได้เจลมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นด้วย

บรรณานุกรม

Akahane, T., Chihara, S., Niki, T., Sano T., Tsuchiya, T., Noguchi, S.F., Ookami, H. and Matsumoto, J. 1985. Differential scanning calorimetric studies on thermal behaviors of myofibrillar proteins. *Bull Jap. Soc Sci. Fish.* 51 : 1841-1846.

Araki, H. and Seki, N. 1993. Comparison of reactivity of tranglutaminase to various fish actomyosins. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 59: 711-716.

Asghar, A., Samejima, K. and Yasui, T. 1985. Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products. CRC Crit. Rev. *Food Sci. Nutri.* 22(1) : 27-106.

Bechtel, P.J. 1986. Muscle development and contractile proteins. *In* Muscle as Food, P.J. Bechtel (Ed.), p.2-31. Academic Press, *Inc.*, Orlando, FL.

Chan, J.K., Gill, T.A. and Paulson, A.T. 1992a. Cross-linking of myosin heavy chains from cod herring and silver hake during thermal setting. *J. Food Sci.* 57: 906-912.

_____. 1992b. The dynamic of thermal denaturation of fish myosins. *Food Research Inter.* 25: 117-123.

_____. 1993. Thermal aggregation of myosin subfragments form cod and gerring. *J. Food Sci.* 58: 1057-1061, 1069.

Cheftel, J.D., Cuq, J.L. and Lorient, D. 1985. Amino acids, peptides, and proteins. *In* Food Chemistry 2nd., O.R. Fennema. p. 245-370. *Marcel Dekker, Inc.*, New York.

Gill. T.A. and Conway, J.T. 1989. Thermal aggregation of cod muscle proteins using 1- ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide as a zero-length cross-linker. *Agric. Biol Chem.* 53: 2553 -2562.

Gill, T.A., Chan, J.K., Phonchareon, K.F. and Paulson, A.T. 1992. Effect of salf concentration and temperature on heat-induced aggregation and gelation of fish myosin. *Food Research Inter.* 25: 333-341.

Howe, J.R., Hamann, D.D., Lanier, T.C. and Park, J.W. 1994. Fracture of Alaska pollock gels in water : effect of minced muscle processing and test temperature. *J. Food Sci.* 59: 777-780.

Ishioroshi, M., Samejima, K., Arie, Y. and Yasui, T. 1981. Further studies on the roles of the head and tail regions of the myosin molecule in heat-induced gelation. *J. Food Sci.* 47: 114-120,124.

Kamath, G.G., Lanier, T.C., Foegeding, E.A. and Hamann, D.D. 1992. Non disulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in "setting" of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 16: 151-172.

MacDonald, G.A., Stevens, J. and Lanier, T.C. 1994. Characterization of New Zealand hoki and Southern blue whiting surimi compared to Alaska pollock surimi. *J. Food. Aquat. Food Prod. Technol.* 3(1): 19-38.

NFI. 1991. A manual of standard methods for measuring and specifying the properties of surimi. *In* : Lanier, T.C., Hart, K. and Martin, R.E. (Eds.), *University of North Carolina* Sea Grant College Program, Raleigh, NC.

Numakura, T., Seki, N., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T., Takama, K. and Arai, K. 1985. Cross-linking reaction of myosin in the fish paste during setting (suwari). *Nippon Suisan Gakkaishi.* 53: 1559-1565.

Ogawa, M., Ehara, T., Tamiya, T. and Tsuchiya, T. 1993. Thermal stability of fish myosin. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B(3) : 517-521.

Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Toiguchi, S., Seguro, K., Soeda, T. and Motoki, M. 1995. Gel strength enchancement by addition of microbial transglutaminase during onshore surimi manufacture. *J. Food Sci.* 60:300-304.

Samejima, K., Ishioroshi, M. and Yasui, T. 1981. Relative role of the head and the tail portions of the molecule in heat-induced gelation of myosin. *J. Food Sci.* 46: 1412-1418.

———————. 1982. Heat induced gelling properties of actomyosin: effect of tropomyosin and tropomyosin and troponin. *Agric. Biol Chem.* 46: 353-540.

Samejima, K., Yamauchi, H., Asghar, A. and Yasui, T. 1984. Role of myosin heavy chains from rabbit skeletal muscle in the heat induced gelation mechanism. *Agric. Biol Chem.* 48: 2225-2232.

Sano, T., Noguchi, S.F., Matsumoto, J.J. and Tsuchiya, T. 1990 a. Effect of ionic strength dynamic viscoelastic behavior of myosin during thermal gelation. *J. Food Sci.* 55: 51-54, 70.

———————. 1990 b. Thermal gelation characteristics of myosin subfragments. *J. Food Sci.* 55: 55-58, 70.

Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka, T., Toiguchi, S. and Motoki, M. 1995. Microbial tranglutaminase and ε-(γ-glutamyl) lysine cross-link effects on elastic properties of kamaboko gels. *J. Food Sci.* 60: 305-311.

Taguchi, T., Ishizaka, M., Tanaka, M., Nakashima, Y. and Amano, K. 1987. Protein-protein interaction of fish myosin fragment. *J. Food Sci.* 52: 1103-1104.

Yasui, T., Ishioroshi, M. and Samejima, K. 1980. Heat-induced gelation of myosin in the presence of actin. *J. Food Biochem.* 4: 61-78.

———————. 1982. Effect of actomyosin on heat-induced gelation of myosin. *Agric. Biol Chem.* 46: 1049-1059.

Yongsawatdigul, J., Park, J.W. and Kolbe, E. 1997. Degradation kinetics of myosin heavy chain of Pacific whiting surimi. *J. Food Sci.* 62: 724-728.