Research Article

Received: July 7, 2020; Accepted: November 11, 2020

ผลของการใช้ความดันสูงร่วมกับสารเติมแต่งต่อการเกิดเจลซูริมิปลาทรายแดงที่ลดปริมาณเกลือ

Effect of High-Pressure Processing and Additives on Gelation of Low Salt Threadfin Bream Surimi

บุษยภัค บัวศักดิ์ชัย, ภัทิรา สุดเลิศ และวรางคณา สมพงษ์*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Boodsayapuk Buasakchai, Phatthira Sutloet and Warangkana Sompongse*

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Center, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120

บทคัดย่อ

เจลซูริมิที่เติมเกลือปริมาณต่ำมีแนวโน้มทำให้เกิดเจลที่ไม่แข็งแรงเพราะโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อละลายออกมาได้น้อยลง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ความดันสูง (0 และ 150 MPa) ร่วมกับการเติมซีสตีนหรือ MTGase (ร้อยละ 0.1 และ 0.2) ต่อการเกิดเจลซูริมิปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) ที่ลดปริมาณเกลือ (ร้อยละ 0.5) พบว่าตัวอย่างเจลที่เติมสารเติมแต่งทั้ง 2 ชนิด และผ่านความดันสูงมีค่าความแข็งแรงของเจลและความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างที่เติมซีสตีนร้อยละ 0.1 และ 0.2 และผ่านความดันสูงไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าดังกล่าว ในตัวอย่างที่เติม MTGase และผ่านความดันสูงพบว่าค่าความขาวมีค่าสูงขึ้นและไมโอซินสายหนักมีรูปแบบที่เปลี่ยนไปเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความดันสูง นอกจากนี้ค่าความแข็งแรงของเจลและความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และมีค่าสูงที่สุดในตัวอย่างที่เติม MTGase ร้อยละ 0.2 และผ่านความดันสูง ซึ่งมีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น 9 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยการเติมสารเติมแต่งทั้ง 2 ชนิด ร่วมกับการใช้ความดันสูงสามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดเจลซูริมิที่มีปริมาณเกลือต่ำได้จากการเกิดพันธะไดซัลไฟด์และพันธะโควาเลนต์ที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : ซูริมิ; ความดันสูง; เจลที่มีปริมาณเกลือต่ำ; ซีสตีน; เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส

Abstract

Surimi gels with a low salt concentration tend to be poor gel structure because the myofibrillar protein is not adequately solubilized. The objective of this study was to investigate the

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** warang@tu.ac.th

doi: 10.14456/tstj.2021.67

combined effect of high-pressure processing (HPP: 0 and 150 MPa) and cystine or MTGase (0.1 and 0.2 %) addition on gelation of low salt (0.5 %) threadfin bream (*Nemipterus hexodon*) surimi. The addition of each additive with HPP improved gel strength and water holding capacity. There were no significant differences between the pressurized samples and the addition of cystine (0.1 and 0.2 %). The pressurized samples with MTGase had a higher whiteness value, and changes in the pattern of myosin heavy chain were observed when compared with the non-pressurized samples. The pressurized samples and addition of MTGase remarkably increased gel strength and water holding capacity. The pressurized samples with MTGase 0.2 % showed the highest values in gel strength and water holding capacity, which higher 9 times than that of the control. The addition of both additives with HPP improved gelation of low salt surimi by increasing disulfide and non-disulfide covalent bonding.

Keywords: surimi; high pressure; low salt gel; cystine; transglutaminase

1. บทนำ

ซูริมิ (Surimi) เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบดที่ผ่านกรรมวิธีการล้างด้วยน้ำเพื่อกำจัดไขมันและองค์ประกอบอื่นที่ละลายน้ำได้และบีบเนื้อปลาเพื่อไล่น้ำส่วนเกินออกให้เหลือโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ (myofibrillar protein) ประกอบด้วยไมโอซินประมาณร้อยละ 50 ของเนื้อปลาทั้งหมด ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดเจลของเนื้อปลาโดยทั่วไป การผลิตเจลจากซูริมิจะเติมเกลือร้อยละ 2 ถึง 3 ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่ส่งผลให้โปรตีนแสดงสมบัติทางเคมีกายภาพ ได้ผลิตภัณฑ์เจลโปรตีนที่มีลักษณะสมบัติที่ดี [1] เช่น การเกิดเจล การอุ้มน้ำ แต่การบริโภคเกลือปริมาณสูงทำให้ความดันโลหิตสูง และส่งผลให้เกิดปัญหากับหัวใจและหลอดเลือด [2] จึงมีการวิจัยด้านอาหารเพื่อลดปริมาณเกลือในผลิตภัณฑ์ที่มากเกินไป อย่างไรก็ตาม การเติมเกลือปริมาณต่ำมีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดเจลที่มีโครงสร้างไม่แข็งแรง เพราะทำให้โปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อละลายออกมาได้น้อยลง [3]

การใช้ความดันสูงเป็นกระบวนการแปรรูปที่ใช้ในการปรับปรุงการเกิดเจลของไมโอซินและซูริมิที่มีปริมาณเกลือต่ำได้ และทำให้โครงข่ายเจลโปรตีนมีความยืดหยุ่นและคงตัวมากขึ้น เนื่องจากการใช้ความดันสูงทำให้หมู่ซัลฟ์ไฮดริลถูกเผยออกมาด้านนอก และกระตุ้นการรวมตัวของโปรตีน จึงส่งผลให้เจลมีความคงตัวสูงจากการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ และเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนและอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำระหว่างโปรตีนเพิ่มขึ้น [3,4] แต่การใช้ความดันสูงเพียงอย่างเดียวไม่สามารถปรับปรุงสมบัติของเจลไมโอซินและซูริมิที่มีปริมาณเกลือต่ำให้ดีตามที่ต้องการ จึงต้องเติมสารเติมแต่งร่วมด้วยเพื่อทำให้การเกิดเจลมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ซีสตีนเป็นสารเติมแต่งชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงประสิทธิภาพการเกิดเจลของซูริมิ เนื่องจากซีสตีนช่วยเพิ่มการสร้างพันธะไดซัลไฟด์จากการเกิดออกซิเดชันของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่อยู่ในไมโอซิน [5-7] ส่งผลให้ความสามารถในการจับน้ำ และสมบัติเชิงกลของเจลซูริมิปลาอลาสก้าพอลล็อคที่มีความ

เข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ต่ำได้รับการปรับปรุงให้ดีขึ้น [4] นอกจากนี้พบว่าการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (MTGase) ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามพันธะระหว่างโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ของ glutamyl-lysine เจลซูริมิจึงมีสมบัติด้านเนื้อสัมผัสดีขึ้น [8]

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อศึกษาผลของการใช้ความดันสูงร่วมกับการเติมซีสตีนหรือ MTGase ต่อการเกิดเจลของซูริมิปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) ที่ลดปริมาณเกลือ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สารเคมีและวัตถุดิบ

เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase, MTGase) ยี่ห้อ ProtiAct® TG-RA จาก บริษัท รามา โปรดั๊กชั่น จำกัด (ประเทศไทย) และซีสตีน (L-cystine) ยี่ห้อ HIMEDIA จาก ห้างหุ้นส่วน M&P IMPEX Limited Partnership (ประเทศจีน)

ซูริมิปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) เกรด SA ซื้อจาก บริษัท อันดามัน ซูริมิ อินดัสทรี จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร และเก็บที่อุณหภูมิ -18±2 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้

2.2 การศึกษาปริมาณของสารเติมแต่งที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลซูริมิที่ลดปริมาณเกลือ

2.2.1 การเตรียมเจลซูริมิที่ผ่านความดันสูง

ละลายซูริมิแช่เยือกแข็งโดยการเก็บรักษาที่ห้องแช่เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 x 1 x 1 เซนติเมตร สับผสมซูริมิที่หั่นเป็นลูกเต๋า โดยเติมเกลือร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักเนื้อปลา จากนั้นเติมสารเติมแต่ง 2 ชนิด ได้แก่ ซีสตีน และ MTGase โดยแปรปริมาณของสารเติมแต่งชนิดละ 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0, 0.1 หรือ 0.2 โดยน้ำหนักเนื้อปลา (ตารางที่ 1) และปรับปริมาณความชื้นให้ได้ร้อยละ 80 จากนั้นอัดซูริมิเพสใส่ไส้เซลลูโลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร และนำไปให้ความดันสูงที่ 0 หรือ 150 MPa เป็นเวลา 15 นาที นำเจลซูริมิที่ผ่านและไม่ผ่านความดันไปเซตเจลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปทำให้เย็นในอ่างน้ำผสมน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่ห้องแช่เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

Table 1 Samples coding the name of different treatments

Codes	Pressure (MPa)	Additives	Concentrations of additives (%)
Con	0		
C1		Cystine	0.1
C2			0.2
T1		MTGase	0.1
T2			0.2
Con-150	150		
C1-150		Cystine	0.1
C2-150			0.2
T1-150		MTGase	0.1
T2-150			0.2

2.2.2 การวิเคราะห์ค่าความขาว

ตัดตัวอย่างเจลให้มีความยาว 25 มิลลิเมตร ใส่ถ้วยแก้วควอทซ์ แล้ววางบนเครื่องวัดค่าสี (HunterLab รุ่น ColorFlex CX2687, USA) โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงมาตรฐาน D65 มุมตกกระทบ 10 องศา อ่านค่าความสว่าง (L*) ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) จากนั้นคำนวณหาค่าความขาวดังสมการ ความขาว = 100 -$[(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$ [9]

2.2.3 การวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล

ตัดตัวอย่างเจลให้มีความยาว 25 มิลลิเมตร วิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจลโดยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Stable Micro Systems, TA-XT2i, UK) ที่ติดตั้งหัววัด spherical probe (P/5s) อ่านค่าแรงที่ทำให้เจลแตก ระยะทางในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเจล และคำนวณค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) [10]

2.2.4 การวิเคราะห์ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำของเจล

ตัดตัวอย่างเจลซูริมิให้มีขนาด 0.5x1.0x0.5 เซนติเมตร แล้วชั่งน้ำหนักเจลเริ่มต้น จากนั้นวางตัวอย่างระหว่างกระดาษกรองโดยวางกระดาษกรองด้านล่าง 1 ชิ้น ด้านบน 1 ชิ้น แล้วใช้ตุ้มน้ำหนักมาตรฐานหนัก 5 กิโลกรัม ทับเป็นเวลา 2 นาที ชั่งน้ำหนักเจลหลังทับ คำนวณค่าร้อยละการสูญเสียน้ำดังสมการ การสูญเสียน้ำ (ร้อยละ) = [(น้ำหนักเจลก่อนทับ – น้ำหนักเจลหลังทับ) ÷ น้ำหนักเจลก่อนทับ] x 100 [10]

2.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมด

วิเคราะห์หมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดโดยทำให้ตัวอย่างเจล 0.5 กรัม เป็นเนื้อเดียวกันกับบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร (0.2 โมลาร์ Tris-HCl พีเอช 8.0) จากนั้นเติมตัวอย่างที่ผ่านการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใน Tris-HCl buffer (พีเอช 6.8) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย urea 8 โมลาร์ SDS ร้อยละ 2 และ ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) 10 มิลลิโมลาร์ นำสารผสมที่ได้ปริมาตร 4 มิลลิลิตร มาเติม DTNB (5, 5′-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 412 นาโนเมตร คำนวณปริมาณหมู่ซัลไฮฟ์ดริลทั้งหมดด้วยการหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยค่า สัมประสิทธิ์การดูดแสงเชิงโมล (EM = 13,600 โมลาร์ต่อเซนติเมตร) [11] วิเคราะห์ปริมาณหมู่ซัลไฮฟ์ดริลทั้งหมด 3 ซ้ำ [10]

2.2.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบหน่วยย่อยของโปรตีน

วิเคราะห์องค์ประกอบหน่วยย่อยของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE [9]

3. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนแบบ randomized complete block design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ โดยทดลอง 3 ซ้ำ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ค่าความขาว

รูปที่ 1 แสดงค่าความขาวของเจลซูริมิ พบว่าค่าความขาวของตัวอย่างที่ผ่านความดันสูงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างชนิดเดียวกันที่ไม่

ผ่านความดันสูง ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cando และคณะ [3] และ Uresti และคณะ [12] ที่พบว่าค่าความขาวของตัวอย่างเจลที่ผ่านความดันสูงมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการรวมตัวของโปรตีนจากการเชื่อมข้ามพันธะที่เพิ่มขึ้น ทำให้โครงสร้างเจลแน่นมากขึ้น และเกิดการสะท้อนแสงมากขึ้น จึงส่งผลให้ค่า L* เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้พบว่าค่าความขาวมีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (มากกว่า 75) ซึ่งถือว่าเป็นค่าที่ยอมรับได้ [13]

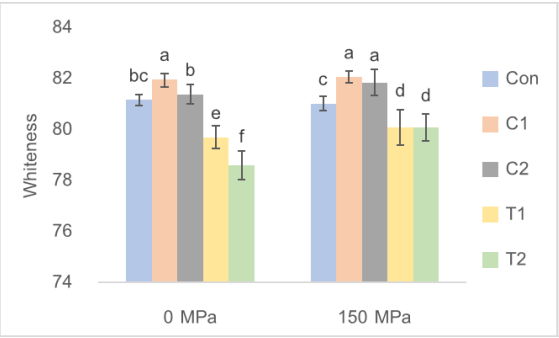

Figure 1 Whiteness of non-pressurized and pressurized surimi gels with different additives. Different letters on each bar indicate significant differences ($p < 0.05$). Samples coding name is the same as in Table 1.

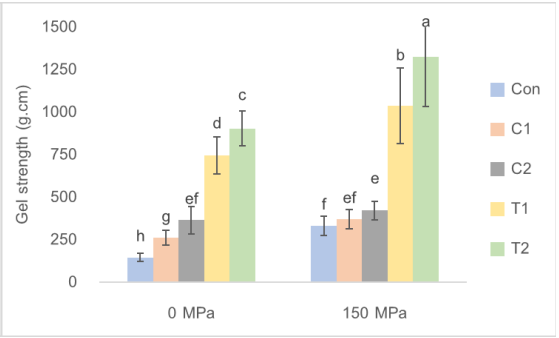

Figure 2 Gel strength of non-pressurized and pressurized surimi gels with different additives. Different letters on each bar indicate significant differences ($p < 0.05$). Samples coding name is the same as in Table 1.

3.2 ค่าความแข็งแรงของเจล

รูปที่ 2 แสดงค่าความแข็งแรงของเจล พบว่าตัวอย่างที่เติมสารเติมแต่งทั้งหมดมีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีสารเติมแต่ง เมื่อพิจารณาชนิดของสารเติมแต่งเพียงอย่างเดียวโดยไม่คำนึงผลของความดันสูง พบว่าเจลที่เติมซีสตีนและ MTGase มีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มระดับของสารเติมแต่ง นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างทั้งหมด (ไม่มีสารเติมแต่ง เติมซีสตีน และเติม MTGase) ที่ผ่านความดันสูง มีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความดันสูง และมีค่าสูงที่สุดในตัวอย่าง T2-150 ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cando และคณะ [5,6] ที่พบว่าเจลของซูริมิปลาอลาสก้าพอลล็อคที่มีปริมาณเกลือต่ำมีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อเติมซีสตีนหรือ MTGase และผ่านความดันสูง ซึ่งเป็นผลมาจากการส่งเสริมการเกิดพันธะไดซัลไฟด์และพันธะ ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide ตามลำดับ ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการใช้ความดันสูงสามารถปรับปรุงสมบัติเจลซูริมิให้ดีขึ้น เนื่องจากความดันสูงทำให้โปรตีนคลายตัวมากขึ้นและส่งเสริมการเชื่อมข้ามพันธะของโปรตีนตามที่ Cando และคณะ [3,5,6] ได้อธิบายไว้ อย่างไรก็ตาม ตัวอย่าง C1-150 และ C2-150 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของซีสตีนที่ร้อยละ 0.1 เพียงพอต่อการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล

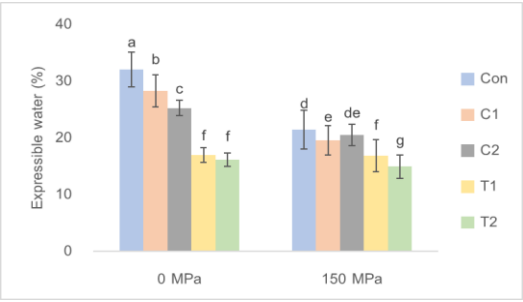

Figure 3 Expressible water of non-pressurized and pressurized surimi gels with different additives. Different letters on each bar indicate significant differences ($p < 0.05$). Samples coding name is the same as in Table 1.

3.3 ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำของเจล

รูปที่ 3 แสดงค่าร้อยละการสูญเสียน้ำของเจล พบว่าตัวอย่างที่เติมสารเติมแต่งทั้งหมดมีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำของเจลลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีสารเติมแต่ง ผลดังกล่าวสอดคล้องกับค่าความแข็งแรงของเจลที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 2) เมื่อพิจารณาถึงชนิดของสารเติมแต่งเพียงอย่างเดียว โดยไม่คำนึงผลของความดันสูง พบว่าเจลที่เติมซีสตีน (C1 และ C2) มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำลดลง และลดลงมากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับของซีสตีนจากร้อยละ 0.1 เป็น 0.2 ซึ่งอาจเกิดจากซีสตีนช่วยเพิ่มการสร้างพันธะไดซัลไฟด์จากการเกิดออกซิเดชันของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่อยู่ในไมโอซิน [5-7] ส่งผลให้เจลมีความแข็งแรง จึงทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลเพิ่มขึ้น สำหรับตัวอย่างเจลที่เติม MTGase พบว่าค่าร้อยละการสูญเสียน้ำลดลงอย่างมาก ซึ่งผลดังกล่าวอาจเกิดจากการสร้างพันธะโควาเลนต์ที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์ของ ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide ที่เชื่อมประสานระหว่างโปรตีน ทำให้เจลมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น [14] และเมื่อพิจารณาการใช้ความดันสูงเพียงอย่างเดียว พบว่า เจลที่ผ่านความดันสูงมีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม เป็นผลมาจากความดันสูงเหนี่ยวนำให้โปรตีนคลายตัว ทำให้เผยส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกมา ผลดังกล่าวทำให้อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้ระบบน้ำในโปรตีนมีความคงตัว [15] นอกจากนี้การคลายตัวของโปรตีนทำให้เผยหมู่ที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ทำให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลน้ำและสร้างส่วนที่เก็บกักน้ำขึ้นใหม่ [16]

3.4 ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมด

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมด โดยการลดลงของปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดอาจเกิดจากการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ [3] ผลการทดลองพบว่าเมื่อนำตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีสารเติมแต่งไปผ่านความดันสูง ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดลดลงจาก 18.08 เหลือ 16.76 โมล/10^5 กรัมโปรตีน ซึ่งเกิดจากความดันสูงทำให้หมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่ฝังอยู่เผยออกมามากขึ้น และเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์มากขึ้นในขั้นตอนการปรุงสุกเจล [3] ผลดังกล่าวสอดคล้องกับค่าความแข็งแรงของเจลที่เพิ่มขึ้นและค่าร้อยละการสูญเสียน้ำของเจลที่ลดลงในตัวอย่างควบคุม

เมื่อพิจารณาถึงชนิดของสารเติมแต่งเพียงอย่างเดียว พบว่าตัวอย่างเจลที่เติมซีสตีนที่ผ่านและไม่ผ่านความดัน มีปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งอาจเป็นผลจากซีสตีนเป็นรีดิวซิงเอเจนต์ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธะไดซัลไฟด์ที่ผันกลับได้ [15] เมื่อพิจารณาตัวอย่างที่เติม MTGase พบว่าตัวอย่าง T1 มีปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (จาก 18.08 เป็น 16.57 โมล/10^5 กรัมโปรตีน) แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเจลเกิดพันธะได

ซัลไฟด์ได้เล็กน้อย และเมื่อผ่านความดันสูง (T1-150) พบว่ามีปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความดัน (จาก 16.57 เป็น 17.07 โมล/10^5 กรัมโปรตีน) นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของตัวอย่าง T2 และ T2-150 เนื่องจากการเติม MTGase ส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามพันธะระหว่างโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ของ glutamyl-lysine [8] ซึ่งช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล ดังนั้นหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เผยออกมาอาจไม่สามารถเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์จากการเกิดพันธะโควาเลนต์ที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์นี้

Table 2 The total sulfhydryl content of non-pressurized and pressurized surimi gels with different additives

Samples codes	Total sulfhydryl (mol/10^5 g protein)
Con	18.08±1.49 [a]
C1	4.56±0.85 [e]
C2	4.36±0.56 [ef]
T1	16.57±0.49 [c]
T2	18.17±0.92 [a]
Con-150	16.76±0.55 [bc]
C1-150	5.04±0.39 [d]
C2-150	4.02±0.14 [f]
T1-150	17.07±0.71 [b]
T2-150	18.09±0.43 [a]

Letters of a-f indicate significant differences ($p < 0.05$). Values are mean ± SD, n = 3. Samples coding name is the same as in Table 1.

3.5 องค์ประกอบหน่วยย่อยของโปรตีน

รูปที่ 4 แสดงรูปแบบของโปรตีน โดยโปรตีนที่มีความสำคัญ ได้แก่ ไมโอซินสายหนัก (myosin heavy chain, MHC) และแอกติน ผลการทดลองพบว่าความเข้มของแถบ MHC และแอกตินของตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีสารเติมแต่งทั้งสองความเข้มข้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน เมื่อนำตัวอย่างเจลที่เติมสารเติมแต่งทั้ง 2 ชนิด ไปผ่านความดัน พบว่าตัวอย่างมีความเข้มของแถบ MHC มากกว่าเจลที่ไม่ผ่านความดัน ซึ่งเป็นผลจากการที่ความดันสูงทำให้โปรตีนคลายตัวมากขึ้น จึงเผยหมู่ซัลฟ์ไฮดริลและเกิดพันธะไดซัลไฟด์มากขึ้น ดังนั้นเมื่ออยู่ในสภาวะรีดิวส์จึงทำให้แถบของ MHC เข้มกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านความดัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของสารเติมแต่งพบว่าความเข้มของแถบ MHC ตัวอย่างเจลที่เติม MTGase ทั้งที่ไม่ผ่านและผ่านความดันสูงนั้น มีความเข้มของแถบ MHC หายไป และเจลที่เติม MTGase ร้อยละ 0.2 มีความเข้มของแถบ MHC น้อยกว่าร้อยละ 0.1 ซึ่งเป็นผลจากการเกิดพอลิเมอร์ของ MHC ที่เพิ่มขึ้นจากพันธะ ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide ทำให้เกิดโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลสูงที่ไม่สามารถผ่านลงมาในเนื้อเจล โดยติดอยู่ด้านบนของแถบเจล ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้แถบ MHC มีความเข้มน้อยกว่า

นอกจากนี้แถบความเข้มของ MHC ที่หายไปในตัวอย่างที่เติม MTGase ในตัวอย่างเจลที่ไม่ผ่านและผ่านความดันสูง แสดงถึงการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ที่น้อยมาก เนื่องจากในสภาวะรีดิวซ์ที่มี β-mercaptoethanol สามารถทำลายพันธะไดซัลไฟด์และทำให้เห็นแถบของ MHC ที่มากขึ้น สอดคล้องกับปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดในตารางที่ 2 ซึ่งเป็นผลจาก MTGase และ TGase ภายในเนื้อปลาทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดพันธะดังกล่าวก่อนหน้าที่จะเกิดพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดในช่วงอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ดังนั้นหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาจึงเข้าถึงกันได้ยากขึ้นและเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์ได้น้อยลง [1,14]

4. สรุป

การใช้ความดันสูงร่วมกับการเติมสารเติมแต่งสามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดเจลของซูริมิปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) ที่ลดปริมาณเกลือ โดยตัวอย่างเจลที่เติมซีสตีนร้อยละ 0.1 และ 0.2 และผ่านความดันสูงมีสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจลที่ไม่ต่างกัน และเจลที่เติม MTGase พบว่ามีสมบัติด้านเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นอย่างชัดเจน โดยตัวอย่างที่เติม MTGase ร้อยละ 0.2 และผ่านความดันสูงมีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น 9 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

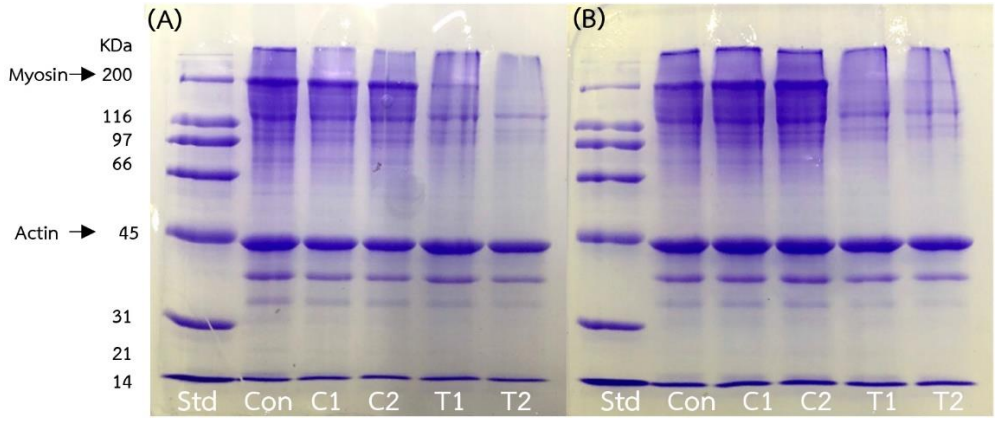

Figure 4 The protein pattern of non-pressurized and pressurized surimi gels with different additives; (A) non-pressurized samples, (B) pressurized samples; Samples coding name are the same as in Table 1 and Std: standard protein, Con: control, C1: cystine 0.1 %, C2: cystine 0.2 %, T1: MTGase 0.1 %, and T2: MTGase 0.2 %.

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่จัดสรรงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2562 ในการสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อระดับบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปีงบประมาณ 2561 ตามบันทึกข้อตกลงเลขที่ 18/2561 ในการสนับสนุนทุนการศึกษา และขอขอบคุณ บริษัท รามา โปรดั๊กชั่น จำกัด (ประเทศไทย) ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส

6. References

[1] Thongruang, J., 2001, Surimi, Chulalongkorn University Press, Bangkok, 338 p. (in Thai)

[2] European Food Safety Authority, 2005, EFSA Provides Advice on Adverse Effects of Sodium, Available Source: https://www.efsa.europa.eu/en/news/efsa-provides-advice-adverse-effects-sodium, January 1, 2020.

[3] Cando, D., Herranz, B., Borderías, A.J. and Moreno, H.M., 2015, Effect of high pressure on reduced sodium chloride surimi gels, Food Hydrocoll. 51: 176-187.

[4] Wang, J., Li, Z., Zheng, B., Zhang, Y. and Guo, Z., 2019, Effect of ultra-high pressure on the structure and gelling properties of low salt golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myosin, LWT Food Sci. Technol. 100: 381-390.

[5] Cando, D., Borderias, A. J. and Moreno, H.M., 2016, Combined effect of amino acids and microbial transglutaminase on gelation of low salt surimi content under high pressure processing, Innov. Food Sci. Emerg. 36: 10-17.

[6] Cando, D., Moreno, H.M., Borderías, A.J., and Skara, T., 2016, Combined effect of high hydrostatic pressure and lysine or cystine addition in low- grade surimi gelation with low salt content, Food Bioprocess Tech. 9: 1391-1398.

[7] Chen, X., Chen, C.G., Zhou, Y.Z., Li, P.J., Ma, F., Nishiumi, T. and Suzuki, A., 2014, Effects of high pressure processing on the thermal gelling properties of chicken breast myosin containing κ-carrageenan, Food Hydrocoll. 40: 262-272.

[8] Zhu, Z., Lanier, T.C., Farkas, B.E. and Li, B., 2014, Transglutaminase and high pressure effects on heat-induced gelation of Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi, J. Food Eng. 131: 154-160.

[9] Sutloet, P. and Sompongse, W., 2014, Use of edible seaweed extracts from *Solieria robusta* in fish ball gel, Thai Sci. Technol. J. 22(1): 67-78. (in Thai)

[10] Sutloet, P., Sompongse, W. and Morioka, K., 2019, Gel-forming ability of Rohu as affected by egg white powder addition, Food Sci. Nutr. 10: 985-996.

[11] Sompongse, W., Itoh, Y. and Obatake, A., 1996, Role of SH in the polymerization of myosin heavy chain during ice storage of carp actomyosin, Fish. Sci. 62: 110-113.

[12] Uresti, R.M., Velazquez, G., Vazquez, M., Ramírez, J.A., and Torres, J.A., 2006, Effects of combining microbial trans glutaminase and high pressure processing treatments on the mechanical properties of heat- induced gels prepared from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*), Food Chem. 94: 202-209.

[13] Yang, Z., Wang, W., Wang, H. and Ye, Q., 2014, Effects of a highly resistant rice starch and pre- incubation temperatures on the physicochemical properties of surimi gel from grass carp (*Ctenopharyn Odon Idellus*), Food Chem. 145: 212-219.

[14] Yongsawatdigul, J., Worratao, A. and Park, J.W., 2002, Effect of endogenous transglutaminase on threadfin bream surimi gelation, J. Food Sci. 67: 3258-3263.

[15] Park, J.W., 2000, Surimi and Surimi Seafood, Marcel Dekker, Inc., New York.

[16] Cheftel, J.C. and Culioli, J., 1997, Effects of high pressure on meat: A review, Meat Sci. 46: 211-236.