

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อสมบัติการเกิดเจล และการเชื่อมประสานของโปรตีนกลั่นเนื่องจากสัณฐานน้ำชนิดต่างๆ
ผู้เขียน	นางสาวอัจฉรา ธรรมทินนะ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่ระดับต่างๆ ต่อการเชื่อมประสานโปรตีน และสมบัติของเจลจากกุ้งขาว ปลาตาหวาน และปลาปากคม ซึ่งใช้หัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หรือ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที พบว่าค่าแรงเฉาะทะลุของเจลจากสัณฐานน้ำทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามไม่มีการเปลี่ยนแปลงระยะทางก่อนเฉาะทะลุของเจลจากกุ้งขาว โดยทั่วไปเจลที่ใช้หัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่าเจลที่ใช้หัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่เจลจากกุ้งขาวที่ใช้หัวที่อุณหภูมิปานกลาง (25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) ตามด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่าเจลจากกุ้งขาวที่ใช้หัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) การตรวจสอบรูปแบบโปรตีนโดยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟลีสิส พบว่าไมโอซินเส้นหนักมีการเชื่อมประสานเพิ่มขึ้นเมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ โดยผลการเพิ่มความแข็งแรงของเจลขึ้นกับอุณหภูมิการใช้หัว โครงสร้างทางจุลภาคของเจลที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ มีลักษณะละเอียดมากกว่าและมีช่องว่างขนาดเล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเจลที่ไม่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์โดยไม่คำนึงถึงสภาวะการใช้หัว ดังนั้นอุณหภูมิในการใช้หัวมีบทบาทสำคัญต่อสมบัติของเจลจากสัณฐานน้ำทั้ง 3 ชนิดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์

จากการศึกษาสมบัติของเจลจากสัณฐานน้ำทั้ง 3 ชนิดที่เติมและไม่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่ระดับ 0.6 ยูนิตต่อกรัม ในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลาต่างๆ พบว่าเจลจากสัณฐานน้ำทั้ง 3 ชนิดมีค่าแรงเฉาะทะลุและระยะทางก่อนเฉาะทะลุลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ส่งผลให้ค่าแรงเฉาะทะลุและระยะทางก่อนเฉาะทะลุเพิ่มขึ้นโดยไม่คำนึงถึงระยะเวลาการเก็บรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ปริมาณของเหลวที่ได้จากการ

บิ๊ปอัดเพิ่มขึ้นส่วนค่าค่าความขาวลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษา ในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 วันพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+} -ATPase ลดลง ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ Mg^{2+} -EGTA-ATPase เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase และ Mg^{2+} -ATPase โดยกล้ามเนื้อปลาปากคมมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดและปริมาณฟอรั่มลดีไฮด์มีค่าสูงสุดในปลาปากคมเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่น ดังนั้นระยะเวลาในการเก็บรักษาจัดเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมี-กายภาพ และความสามารถในการเกิดเจลของสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิดโดยไม่คำนึงถึงการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์

จากการศึกษาผลของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ต่อการเชื่อมประสานของแอกโตไมโอซินธรรมชาติด้วยวิธีการตัดแปรโดยความร้อน ฟอรั่มลดีไฮด์ และการย่อยสลาย พบว่าพันธะไดซัลไฟด์และปริมาณหมู่ไฮโดรโฟบิกบริเวณพื้นผิวเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด สอดคล้องกับการลดลงของปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดริลของแอกโตไมโอซินธรรมชาติเมื่อผ่านการให้ความร้อน การเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ส่งผลให้เพิ่มการเชื่อมประสานของแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด ในขณะที่การตัดแปรสภาพแอกโตไมโอซินธรรมชาติด้วยฟอรั่มลดีไฮด์ในสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิดส่งผลให้โปรตีนสูญเสียการละลาย ซึ่งสอดคล้องกับการเชื่อมประสานของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น การเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ สามารถช่วยในการเชื่อมประสานของโปรตีนจากสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นการเติมเอนไซม์ทรานส์-กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์สามารถเพิ่มการเชื่อมประสานของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่ผ่านการตัดแปรสภาพด้วยฟอรั่มลดีไฮด์ ในขณะที่การย่อยสลายของแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด มีผลยับยั้งการเชื่อมประสานของโปรตีนโดยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส แอกโตไมโอซินซึ่งมีระดับของการย่อยสลายร้อยละ 5-30 ไม่สามารถเกิดการเชื่อมประสานโดยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ดังนั้นการตัดแปรสภาพโมเลกุลของแอกโตไมโอซินธรรมชาติ ส่งผลต่อกิจกรรมการเชื่อมประสานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ และการย่อยสลายของโปรตีนซึ่งสัมพันธ์กับความขาวสายเปปไทด์มีบทบาทสำคัญต่อการเชื่อมประสานโดยเอนไซม์ ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์

Thesis Title	Effects of Microbial Transglutaminase on Gelling Property and Protein Cross-linking of Different Marine Fish and Shrimp
Author	Miss Atchara Tammatinna
Major Program	Food Technology
Academic Year	2006

ABSTRACT

Effects of microbial transglutaminase (MTGase) at different levels on protein cross-linking and the properties of gels from white shrimp (*Penaeus vannamei*), bigeye snapper (*Priacanthus tayanus*) and lizardfish (*Saurida undosquamis*) mince set at 25°C for 2 h or 40°C for 30 min, prior to heating at 90°C for 20 min were studied. Breaking force of gels from all species increased with increasing MTGase amount added ($p < 0.05$). However, no changes in deformation of white shrimp gel were noticeable ($p > 0.05$). Generally, gels prepared by setting at 40°C exhibited the greater breaking force than those set at 25°C. On the other hand, white shrimp gel with prior setting at medium temperature (25°C for 2 h) prior to heating at 90°C for 20 min showed the higher breaking force than did that with prior setting at high temperature (40°C for 30 min) ($p < 0.05$). Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoretic study revealed that myosin heavy chain (MHC) underwent polymerization to a higher extent in the presence of MTGase, but the strengthening effect on gel was dependent on setting temperature. Regardless of setting condition, microstructure of gel added with MTGase was finer with a smaller void, compared with that of gel without MTGase. Therefore, setting temperature affected the property of gels added with MTGase.

Gel-forming ability of mince from all species stored in ice for different times and prepared under different setting with and without MTGase at level 0.6 units/g was elucidated. Breaking force and deformation of all gels decreased as the storage time of raw material increased ($p < 0.05$). However, superior breaking force and deformation of gel added with MTGase to those without MTGase addition were observed irrespective of storage time. Expressible moisture content increased, whereas whiteness decreased with the extended storage ($p < 0.05$). During iced storage of 10 days, Ca²⁺-ATPase activity decreased, whereas Mg²⁺-EGTA-

ATPase activity increased. However, no marked changes in Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase and Mg^{2+} -ATPase activities were observed. Among all species tested, lizardfish muscle was most susceptible to those changes. Formaldehyde was produced to a higher extent in lizardfish, compared to other species. Therefore, storage time was found to be crucial factors determining the changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of all species during iced storage, irrespective of MTGase addition.

Effect of MTGase in cross-linking of natural actomyosin (NAM) from all species subjected to preheating, formaldehyde modification and proteolysis was investigated. The increases in disulfide bonds and surface hydrophobicity with the concomitant decrease in sulfhydryl group content were found in preheated NAM. However, the addition of MTGase still increased the cross-linking of NAM from all species. NAM modified by formaldehyde from all species had the loss in protein solubility, which was associated with increased cross-linking of protein. MTGase was able to induce the cross-linking of NAM from all species, regardless of formaldehyde modification. Thus, cross-linking of NAM modified by formaldehyde was partially achieved by the addition of MTGase. However, hydrolysis of NAM substantially decreased the cross-linking induced by MTGase in all species. NAM with the degrees of hydrolysis of 5-30% was not cross-linked induced by MTGase. The results suggested that the modification of NAM molecules affected cross-linking activity of MTGase to some extent. Protein degradation associated with peptide chain length played a crucial role in cross-linking induced by MTGase.