บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ซูริมิ (Surimi)

ซูริมิ หมายถึง ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากการเอาเนื้อปลาสดมาสับหรือบดให้ละเอียด ล้างด้วยน้ำเพื่อกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีน ไขมัน เลือด และสารที่ให้กลิ่นคาวออก แล้วบีบน้ำ และคัดแยกสิ่งปลอมปน เช่น เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เกล็ดปลา ก้างปลา หลังจากนั้นเติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน (cryoprotectant) ในระหว่างการแช่แข็ง เช่น น้ำตาล สารฟอสเฟต ก่อนนำไปแช่แข็ง ซูริมิใช้เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่ให้ลักษณะเจลที่ยืดหยุ่น เช่น คามาโบโกะ ชิกูวา ไส้กรอก ลูกชิ้นปลา เนื้อปูเทียม เป็นต้น

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 935/2533) จะใช้คำว่า เนื้อปลาบด (ซูริมิ) เยือกแข็ง หรือเนื้อปลาบดเยือกแข็ง ซึ่งหมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำปลาสดที่ผ่านการตัดหัว ควักไส้ มาผ่านกรรมวิธีแยกเนื้อปลาซึ่งจะได้เนื้อปลาบด จากนั้นนำเนื้อปลาบดมาล้างน้ำผ่านกรรมวิธีบีบน้ำ แล้วผสมกับวัตถุเจือปนอาหาร นวดให้เข้ากันและเหนียว ทำเป็นก้อนรูปสี่เหลี่ยมหรือรูปอื่น ๆ นำไปผ่านกรรมวิธีเยือกแข็งโดยให้มีระยะเวลาการเกิดผลึกน้ำแข็งอย่างรวดเร็ว แล้วจึงลดอุณหภูมิที่บริเวณจุดกึ่งกลางของผลิตภัณฑ์ให้ต่ำกว่า –18 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำไปเก็บรักษาโดยควบคุมอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ไว้ที่ –18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่าให้สม่ำเสมอตลอดเวลาการเก็บรักษา ซูริมิที่ผลิตได้ต้องมีจุลินทรีย์ได้ไม่เกินที่กำหนด ดังต่อไปนี้ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^7 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม เชื้อเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) และ สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ปราศจากเชื้อซาโมเนลลา (*Salmonella* spp.) และเชื้อวิบริโอ โคลีรา (*Vibrio cholerae*) นอกจากนี้จะต้องมีค่าความเหนียวของผลิตภัณฑ์ และค่าความเป็นกรดด่างเป็นไปตามมาตรฐาน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2533)

ซูริมิ เป็นอาหารยอดนิยมในตลาดต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น แคนาดา ออสเตรเลีย เป็นต้น ทั้งนี้เพราะซูริมิ หรือเนื้อปลาบดเป็นอาหารโปรตีน มีปริมาณโคเลสเตอรอลต่ำ ปราศจากกลิ่นคาว และไม่มีก้าง ซูริมิที่ผลิตได้ส่วนใหญ่เน้นเพื่อการส่งออก ข้อมูลการส่งออกภายในระยะเวลา 5 ปี (พ.ศ. 2541-2545) แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ข้อมูลการส่งออกผลิตภัณฑ์ซูริมิระหว่างปี พ.ศ. 2541-2545

ปีการผลิต	ปริมาณการส่งออก (ตัน)	มูลค่าการส่งออก (พันบาท)
2541	39,439	4,014,883
2542	60,064	5,188,692
2543	63,108	5,363,096
2544	69,230	6,006,910
2545	72,844	6,182,676

ที่มา: สำนักงานเทคโนโลยีสารสนเทศ กรมศุลกากร (2546)

ปัจจุบันประเทศไทย ผลิตซูริมิจากปลาทะเลได้ปีละ 40,000 – 85,000 ตัน โดยผลิตจากปลาทรายแดง (threadfin breams) เป็นหลัก แหล่งที่อยู่อาศัยที่ชุกชุมของปลาทรายแดง คือ แถบน่านน้ำชายฝั่งตื้น ๆ จากทะเลอันดามันไปถึงชายฝั่งของเวียดนาม ส่วนปลาตาโต (bigeyes) และปลาจวด (croakers) ก็เป็นที่นิยมในการนำมาผลิตซูริมิในระดับอุตสาหกรรมเช่นกัน ซึ่งพบในแถบมหาสมุทรแอตแลนติก อินเดีย และแปซิฟิก (Holmes และคณะ, 1992) ปัจจุบันพบว่า ปริมาณปลาทรายแดง ในแหล่งน้ำดังกล่าวมีปริมาณลดลง และต้องนำเข้าจากแหล่งจับที่ไกลออกไป เช่น น่านน้ำของอินโดนีเซีย ซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพด้านความสดของปลาที่ไม่มีความสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังพบว่า ปลาทรายแดงที่จับได้มีขนาดเล็กลง โดยมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 30 กรัม/ตัว แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยกำลังขาดแคลนวัตถุดิบหลักที่ใช้ผลิตซูริมิอย่างรุนแรงในอนาคตอันใกล้นี้ (อุดม สุนทรวิภาต และคณะ, 2530)

จากแนวโน้มการขาดแคลนวัตถุดิบดังกล่าวสำหรับอุตสาหกรรมผลิตซูริมิของประเทศไทย ส่งผลให้นักวิจัยไทยเริ่มสนใจศึกษาวัตถุดิบแหล่งใหม่ ซึ่งจากสถิติผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในปี 2537 พบว่า ประเทศไทยสามารถผลิตสัตว์น้ำจืดได้ทั้งหมด 170,427 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,896.6 ล้านบาท (ฝ่ายสถิติและสารสนเทศการประมง, 2540) ต่อมาในปี 2542 ประเทศไทยมีแนวโน้มผลิตสัตว์น้ำจืดได้สูงขึ้นคือ สามารถผลิตสัตว์น้ำจืดได้ทั้งหมด 252,612 ตัน คิดเป็นมูลค่า 7,953.1 ล้านบาท (ฝ่ายสถิติและสารสนเทศการประมง, 2545) จึงน่าเป็นไปได้ที่จะนำปลาน้ำจืดภายในประเทศ เช่น ปลานิล ปลาดุกลูกผสม (บิ๊กอุย) และปลาทับทิม มาผลิตซูริมิทดแทนปลาจากแหล่งน้ำเค็ม เนื่องจากมีปริมาณมาก และสามารถเพาะเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี โดยปลานิล (tilapia) เป็นปลาน้ำจืดชนิดแรกที่ได้ทำการศึกษาเพื่อทดแทนปลาทรายแดง

(Somboonyarithi, 1990) นอกจากปลานิลแล้ว ยังมีปลาน้ำจืดชนิดอื่นอีกที่สามารถนำมาผลิตเป็นซูริมิได้ เช่น ปลาดุก (catfish) และ ปลาทับทิม (ruby tilapia) เป็นต้น

ปลาทับทิม

มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* x *O. placidus* เป็นปลาสายพันธุ์ผสมระหว่าง Nile Tilapia และ Black Tilapia โดยในปี พ.ศ. 2508 องค์มกุฎราชกุมารแห่งญี่ปุ่นได้ทูลเกล้า ฯ ถวายพันธุ์ปลาชนิดหนึ่ง ซึ่งมีต้นกำเนิดจากลุ่มแม่น้ำไนล์ ในทวีปแอฟริกา แด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และพระองค์ทรงนำมาเพาะขยายพันธุ์แต่ภายในพระราชวังสวนจิตรลดา จนได้ผลเป็นอย่างดี และได้แจกจ่ายปลาชนิดนี้แก่กรมประมง ในชื่อของ ปลานิลจิตรลดา ต่อมาเครือเจริญโภคภัณฑ์ได้ดำเนินการพัฒนาปรับปรุงสายพันธ์ปลานิลจิตรลดา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 เพื่อให้สามารถเลี้ยงในน้ำกร่อยร่วมกับกุ้งกุลาดำได้ โดยคัดเลือกสายพันธุ์ปลาในตระกูลเดียวกันจากทั่วโลกที่มีลักษณะเด่นคือ สายพันธุ์จากอเมริกา อิสราเอล และไต้หวัน นำมาผสมข้ามพันธุ์กัน (เครือเจริญโภคภัณฑ์, 2542)

ปลาทับทิม มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว กินอาหารเก่ง ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และมีความต้านทานต่อโรคสัตว์น้ำต่าง ๆ ได้ดี สามารถเลี้ยงได้ทั้งในน้ำกร่อยระดับความเค็ม 15-25 ส่วนต่อพันส่วน ซึ่งทำให้คุณภาพเนื้อปลาทับทิมคงความแน่น นุ่ม หอม หวาน ตามลักษณะทางพันธุกรรมปลาทับทิมเอง การเลี้ยงในบ่อดินเขตน้ำกร่อย เช่น พื้นที่บ่อเลี้ยงกุ้งเดิม สามารถลงลูกปลาทับทิมขนาด 0.2 กรัม ความหนาแน่น 60 ตัวต่อตารางเมตร อนุบาลจนได้ขนาด 30 กรัม แล้วย้ายไปเลี้ยงในบ่อดินน้ำกร่อย ในอัตราความหนาแน่น 2-5 ตัวต่อตารางเมตร ทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณอากาศในน้ำในบ่อหรือย้ายไปเลี้ยงในกระชัง ในอัตราความหนาแน่น 50-100 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร จะได้ผลผลิต 1-2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ในบ่อดิน หรือ 25-50 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร ในกระชัง เลี้ยงจนได้ขนาด 500 กรัม อัตราการเจริญเติบโตในบ่อดิน 3 กรัม/ตัว/วัน และในกระชัง 5 กรัม/ตัว/วัน อัตราแลกเนื้อไม่มากกว่า 1.5 โดยมีอัตราการให้อาหาร ดังตารางที่ 2.2 โดยวิธีการหว่านกระจายทั่วบ่อ หรือทั่วกระชัง ให้ปลาทุกตัวได้กินอย่างสม่ำเสมอ โดยให้อาหารเหลือลอยน้ำได้ไม่เกิน 5 นาที (เครือเจริญโภคภัณฑ์, 2542)

ปลาทับทิมเป็นเนื้อปลาที่มีคุณภาพสูง รสชาติดี มีปริมาณโคเลสเตอรอลต่ำ แต่อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ช่วยลดการสะสมของไขมันในหลอดเลือด และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่เกี่ยวกับหัวใจ โดยเฉพาะโรคเส้นเลือดตีบตันและโรคความดันโลหิตสูงได้เป็นอย่างดี

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2 การให้อาหารปลาทับทิม ของเครือเจริญโภคภัณฑ์

ขนาดปลาทับทิม (กรัม)	เบอร์อาหาร	จำนวนมื้อต่อวัน	% อาหารต่อน้ำหนักตัวปลา
0.2-2	9041	5-6	50
2-10	9961	5-6	10
10-30	9950	3-5	8-6
30-200	9951	3-5	5-4
200-500	9952	3-5	3

ที่มา: เครือเจริญโภคภัณฑ์ (2542)

ปลาทับทิมมีคุณลักษณะพิเศษที่เหมาะสมต่อการผลิตซูริมิ เนื่องจากมีปริมาณกล้ามเนื้อบริโภคได้ต่อน้ำหนักตัวสูงถึง 40 % มีส่วนหัวเล็ก โครงกระดูกเล็ก ก้างน้อย เนื้อมีสีขาว เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด แน่น เนื้อหวาน ให้รสชาติดี มีไขมันต่ำมาก จึงปราศจากกลิ่นที่เกิดจากไขมันในตัวปลา แต่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า- 3 ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายสูงกว่าปลาน้ำจืดและปลาน้ำกร่อยตามธรรมชาติประมาณ 4 เท่า (Charoen Pokphand Group, 1999)

2.2 กระบวนการผลิตซูริมิ (Surimi processing)

สำหรับกระบวนการผลิตซูริมิมีขั้นตอนการผลิตดังรูปที่ 2.1 ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการผลิตที่สำคัญ คือการตัดหัวและควักไส้ การแยกเนื้อปลาออกจากก้าง การล้างเนื้อปลาบด การกรองสิ่งแปลกปลอมออกจากเนื้อปลาบด การบีบน้ำส่วนเกิน การผสมเนื้อปลาบดด้วยสาร cryoprotectant การแช่เยือกแข็ง และการเก็บรักษา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมกระบวนการผลิตในแต่ละขั้นตอน เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ซูริมิที่มีคุณภาพดี ที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค กระบวนการผลิตซูริมิโดยพื้นฐานมีดังนี้

2.2.1 การเตรียมปลา (Preprocess handling of fish)

การนำปลาสดมาแปรรูปเป็นซูริมิที่มีคุณภาพดี เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคต้องคำนึงถึงความสดของปลา ฤดูกาลที่จับ และขนาดของปลา

รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตซูริมิ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสดของปลา เพื่อรักษาความสดของปลาก่อนการแปรรูป ควรเก็บปลาไว้ในน้ำแข็ง หรือห้องเย็น อุณหภูมิต่ำกว่า 5 °C ระยะเวลาในการเก็บไม่ควรเกิน 24 – 48 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาด้วย โดย Somboonyarithi (1990) รายงานว่า ซูริมิที่ผลิตจากปลานิล *Tilapia nilotica* ที่ผ่านการเก็บในน้ำแข็ง (0±2 °C) เป็นเวลา 4 วัน ก่อนนำมาแปรรูป ความแข็งแรงของเจล (gel strength) และความสามารถในการพับ (folding test) ที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ผ่านการเก็บ 1 วัน นอกจากนี้พบว่าคะแนนทางประสาทสัมผัส (sensory score) เป็นที่ยอมรับด้วย ดังนั้นเพื่อให้ได้คุณภาพ

ของซูริมิที่ผลิตจากปลานิลที่ดี ควรผลิตจากปลาที่ผ่านการเก็บไม่เกิน 4 วัน นอกจากนี้ผลงานวิจัยของ MacDonald และคณะ (1990) และจากรายงานของ Hall และ Ahmad (1997) แสดงให้เห็นว่าซูริมิที่ทำจากปลา hoki (*Macruronus novaezelandiae* Hector) ที่ผ่านการแช่เย็นเก็บไว้ 10 วันก่อนการแปรรูป จะยังคงให้คุณลักษณะการเกิดเจลที่ดีเช่นกัน

ฤดูกาลที่จับ พบว่า การจับปลาในฤดูวางไข่ เนื้อปลาจะมี pH สูง มีปริมาณน้ำในเนื้อสูง และโปรตีนต่ำ ทำให้ความแข็งแรงของเจลต่ำ ไม่เป็นที่ต้องการ

ขนาดของปลา มีผลต่อร้อยละของผลผลิตที่ได้ ถ้าปลามีขนาดใหญ่จะได้ร้อยละของผลผลิตสูงกว่าปลาขนาดเล็ก

2.2.2 การตัดหัวและควักไส้ (Heading and Gutting)

เนื่องจากส่วนของเครื่องในปลา ประกอบด้วย เอนไซม์ย่อยโปรตีน 3 กลุ่ม คือ lysosomal proteinase, alkaline proteinase และ neutral proteinase เอนไซม์ที่สำคัญคือ alkaline proteinase ซึ่งพบในเครื่องในปลา เช่น ตับ ไต ลำไส้ การปนเปื้อนจากส่วนต่าง ๆ เหล่านี้ มีผลทำให้คุณภาพของซูริมิลดลง (Haard, 1994)

2.2.3 การแยกเนื้อปลาออกจากก้างและหนัง (Flesh separation and mincing)

ปัจจัยที่สำคัญในการแยกเนื้อปลาบดคือ การเลือกขนาดรูของลูกกลิ้งทรงกระบอกของเครื่องแยกเนื้อปลา (deboner) ซึ่งมีช่วงระหว่าง 1-5 มิลลิลิตร เนื่องจากจะมีผลต่อ yield ที่ได้

2.2.4 การล้างเนื้อปลาบด (Washing minced flesh)

ในขั้นตอนการล้างเนื้อปลาบดมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดสิ่งที่ไม่ต้องการออกไป เช่น โปรตีนที่ละลายน้ำได้ เอนไซม์ เลือด ไขมัน เพื่อให้มีความเข้มข้นของ actin และ myosin สูงขึ้น ช่วยให้เกิดเจลที่ดี เป็นที่สังเกตว่าการล้างเนื้อปลาบดควรล้างในน้ำเย็นอุณหภูมิประมาณ 5–10 ^{o}C ประมาณ 3 – 4 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 10 นาที พร้อมด้วยการกวนอย่างสม่ำเสมอ อัตราส่วนของเนื้อ : น้ำ คือ 1:4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาด้วย โดย Gopakumar และคณะ (1992) พบว่าซูริมิที่เตรียมจากปลา

barracuda (*Sphyraena* spp.) ปลา tilapia (*Oreochromis mossambicus*) และปลา threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) ที่ผ่านการล้างด้วยอัตราส่วนเนื้อ : น้ำ คือ 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 2 นาที ล้างจำนวน 2 ครั้ง จะเป็นวิธีการล้างที่เหมาะสมที่สุดสำหรับปลาทั้ง 3 ชนิด โดยการล้าง 2 ครั้งแรกด้วยน้ำเย็นเพื่อกำจัดโปรตีนประเภทซาร์โคพลาสมิกเอนไซม์ เลือด ไขมัน และ haem compound ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิด lipid oxidation ออก Huang และคณะ (1998) พบว่าการล้างเนื้อปลาบดและเจลโปรตีนจะสามารถลดการเกิด lipid oxidation ได้ถึงร้อยละ 50 ซึ่งการล้างทำให้ความเข้มข้นของ actin และ myosin สูงขึ้น ช่วยเพิ่ม gel strength ของซูริมิ นอกจากนี้การล้างยังช่วยปรับปรุงสี และกลิ่นรสอีกด้วย โดยเฉพาะปลาน้ำจืดที่มี off-flavor ที่เรียกว่า "soil flavor" (Wang และคณะ, 2001) ส่วนน้ำสุดท้ายควรล้างด้วยน้ำเกลือ (0.1–0.3 % NaCl) เพื่อกำจัดน้ำส่วนเกินออกไปบางส่วน ก่อนนำไปบีบน้ำออกในขั้นตอนต่อไป (Pigott และ Tucker, 1990; Hall และ Ahmad, 1997; Luo และคณะ, 2001) ปัจจัยที่มีผลต่อการล้างที่ควรพิจารณา เช่น

จำนวนครั้งในการล้างและเวลาที่ใช้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ องค์ประกอบของปลา ความสด และชนิดของปลา

คุณภาพของน้ำที่ใช้ล้าง มีความสำคัญต่อคุณภาพของซูริมิมาก เช่น

- ความกระด้างของน้ำ ถ้าน้ำมี ionic strength สูง จะง่ายในการกำจัดน้ำออกจากเนื้อ แต่ถ้าน้ำมี ionic strength ต่ำ การบีบน้ำออกจากเนื้อปลาจะทำได้ยาก
- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดย pH ของน้ำล้างควรปรับให้เท่ากับเนื้อปลา ประมาณ 6.5–7.0 เพื่อให้สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสูงขึ้น
- อุณหภูมิ ควรอยู่ในช่วง 3–10 ^{o}C

2.2.5 การแยกน้ำออกจากเนื้อปลาบด (Dewatering)

ขั้นตอนนี้เป็นการกำจัดน้ำออกโดยใช้ screw press หรือ hydraulic press โดยให้ความชื้นสุดท้ายในเนื้อปลาประมาณ 80–85 %

2.2.6 การผสมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน (Blending of cryoprotectant)

สารที่นำมาผสมคือ น้ำตาลซูโครส 4 % ซอร์บิทอล 4 % และฟอสเฟต 0.3 % (โดยในขั้นตอนการผสมต้องควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 ^{o}C) ผสมเป็นเวลา 3–5 นาที

2.2.7 การแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษา (Freezing and storing)

ผลิตภัณฑ์ซูริมิที่ได้จะมีปริมาณความชื้นสุดท้าย 75–80 % จากนั้นจะบรรจุเนื้อซูริมิในถุงโพลีเอทิลีน (PE) และแช่เยือกแข็งทันที จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า –20 ^{o}C

จากขั้นตอนต่าง ๆ ในกระบวนการผลิตซูริมิ จะพบว่าขั้นตอนต่าง ๆ มีผลให้ซูริมิมีคุณลักษณะ และองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างจากปลา หรือเนื้อปลาบด โดยมีคุณลักษณะที่สำคัญคือมีเนื้อสีขาวและกลิ่นคาวปลาต่ำ มีปริมาณโปรตีนสูง และมีปริมาณโคเลสเตอรอลต่ำ (19.7mg/100g) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโคเลสเตอรอลในกุ้ง (151.1 mg/100g) ปู (41.7 mg/100g) และปลา Alaska pollock (29.7 mg/100g) (Rattagool และ Ralston, 1988)

2.3 ลักษณะการเกิดเจลโดยการให้ความร้อน

กล้ามเนื้อปลาประกอบด้วยโปรตีน 3 ชนิดคือ myofibrillar proteins sarcoplasmic proteins และ stroma proteins ซึ่งคิดเป็น 65-80 18-20 และ 3-5 % ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ในการผลิตซูริมิเนื้อปลาจะต้องผ่านการล้างหลายขั้นตอนเพื่อกำจัด sarcoplasmic proteins และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ออก เนื่องจากโปรตีนเหล่านี้ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดเจล นอกจากนี้องค์ประกอบอื่น ๆ เช่น เลือด เอนไซม์ และไขมันอาจขัดขวางการเกิดเจลก็ถูกกำจัดออกไปด้วย ทำให้ซูริมิที่ได้ประกอบด้วย myofibrillar proteins เป็นส่วนใหญ่ myofibrillar protein ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลคือ myosin (ประมาณ 50-60 เปอร์เซนต์ของ myofibrillar protein ทั้งหมด) และ actin (ประมาณ 20 เปอร์เซนต์ของ myofibrillar protein ทั้งหมด) ซึ่งจะรวมตัวกันเป็น complex ที่เรียกว่า “actomyosin, AM” ในช่วงที่มีการบดผสมกับเกลือ 2-3 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก (Shahidi, 1994) จากรายงานของ An และคณะ (1996) พบว่า myosin เป็นโปรตีนที่มีบทบาทต่อการเกิดเจลมากที่สุด โดย myosin ประกอบด้วย amino acid ที่เป็น hydrophilic เป็นส่วนใหญ่ และประมาณ 80 เปอร์เซนต์ของ amino acid เป็น basic และ acidic amino acid ที่ pH ปกติของซูริมิ (pH~6.5-7.0) โมเลกุลโปรตีนจะมี amino acid ที่มีประจุรวมเป็นประจุบวกหรือประจุลบที่บริเวณพื้นผิวโมเลกุลของโปรตีน (molecular surface) โดย carboxyl group ใน glutamic acid และ aspartic acid จะแสดงประจุลบ (COO^{-}) ในขณะที่ amino group ใน lysine และ arginine จะแสดงประจุบวก (NH_3^{+}) ทำให้เกิดแรงดึงดูดกันระหว่างประจุที่แตกต่างกัน เกิดเป็นแรงยึดเหนี่ยวที่เรียกว่า intermolecular salt-linkage หรือที่เรียกว่า ionic linkage ขึ้น มีผลให้ myofibrillar proteins รวมตัวกัน

(aggregation) ในลักษณะ protein-protein interaction จากภาวะดังกล่าวทำให้ซูริมิไม่สามารถละลายน้ำได้ (Niwa, 1992; Lanier, 2000) แต่เป็นที่ทราบกันดีว่า myofibrillar proteins สามารถละลายได้ดีในสารละลายเกลือ ดังนั้นการเติมเกลือในขั้นตอนการเตรียมเจลซูริมิทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ ionic strength ลดเสถียรภาพจากแรงดึงดูดทางประจุ (intermolecular salt-linkage) ระหว่างโมเลกุลของ myofibrillar protein ลง ทำให้ M-lines และ Z-bands ใน myofibrillar structure แยกออกจากกัน ทำให้โปรตีนคลายตัวออก (unfolding) หมุนหมู่ที่สามารถทำปฏิกิริยาได้ให้ปรากฏขึ้นบนผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีน เกิดเป็น actomyosin network ที่มีการจัดเรียงตัวของ peptide chain อย่างมีอิสระ เรียกว่า "viscous sol" (Pan, 1990; Pigott และ Tucker, 1990; Lee, 1994)

การให้ความร้อนแก่ sol ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของ peptide chain จาก irreversibly transforms เป็น ordered state เรียกกลไกที่เกิด irreversible transition นี้ว่า "setting" การ setting มีขั้นตอนที่แตกต่างกัน 3 แบบ (Lee, 1994) คือ

- cold setting เกิดที่อุณหภูมิต่ำ (0-4 °C) หรืออุณหภูมิห้อง (22-25 °C) เนื่องจากไม่มีความร้อนมาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงต้องการเวลาในการ setting ที่นาน การ setting แบบนี้ไม่มีการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ค่า gel strength ที่ได้จึงขึ้นอยู่กับเวลาและชนิดของแรงยึดเหนี่ยวที่เกี่ยวข้องในโครงร่าง ซึ่งแรงยึดเหนี่ยวที่กล่าวถึงส่วนใหญ่คือ hydrogen bonding ส่งผลให้ลักษณะเจลที่ได้มีลักษณะมันวาว (glassy) และโปร่งใส (translucent) เอนไซม์ transglutaminase (TGase) มีบทบาทมากต่อการ setting ประเภทนี้

- partial-heat setting เกิดที่ช่วงอุณหภูมิ 40-50 °C โดยเกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนบางส่วน ดังนั้นการ setting จึงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาในกระบวนการผลิต แรงยึดเหนี่ยวที่เกี่ยวข้องคือ hydrophobic interaction นอกจากนี้ยังมี S-S bonds และ hydrogen bonding เจลที่ได้จะมีลักษณะขาวขุ่น ทึบแสง (opaque)

- full-heat setting เกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80-95 °C เป็นเวลา 20-40 นาที ในขั้นตอนนี้โปรตีนจะสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนอย่างสมบูรณ์ แรงยึดเหนี่ยวที่เกี่ยวข้องคือ hydrophobic interaction และ S-S bonds แต่จากรายงานของ Luo และคณะ (2001) รายงานว่าเวลาที่ใช้สำหรับ full-heat setting ไม่ใช่ปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่า gel strength ของซูริมิจากปลา carp กล่าวคือการให้ความร้อนในช่วง 70-90 °C นาน 15-45 นาที ให้ผลค่า gel strength ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อย่างไรก็ตาม การเตรียมเจลโดยไม่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำก่อน (setting step) ส่งผลให้เจลมีความแข็งแรงต่ำ กล่าวคือ เจลที่ผ่านการให้ความร้อนแบบ full-heat setting หรือการให้ความร้อนแก่เจลที่อุณหภูมิสูงโดยทันที อัตราของการรวมตัว (aggregation) ของโมเลกุลโปรตีนที่เร็วกว่าการเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) การคลายตัว (unfolding) ของโมเลกุลโปรตีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวของโมเลกุลโปรตีนที่ไม่เป็นระเบียบ (randomed network) ให้เจลที่มีลักษณะ coagulum เจลมีความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ต่ำ เมื่อเก็บไว้ เกิดปรากฏการณ์การขับน้ำ (syneresis) ส่งผลให้คุณภาพเจลที่ได้ต่ำ ดังนั้นเพื่อให้เจลมีค่า gel strength (ความแข็งแรงของเจล) และ elasticity (ความยืดหยุ่น) เพิ่มขึ้น จึงนิยมให้ความร้อนแบบ partial-heat setting ในขั้นแรก (setting step) และแบบ full-heat setting ในขั้นที่สอง (heating step) เรียกการให้ความร้อนแบบนี้ว่า 2-step heating การเตรียมเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำในครั้งแรกก่อน (ประมาณ 25-50°C) เพื่อให้เกิดโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (ordered network) ก่อนนำไปให้ความร้อนครั้งที่ 2 เพื่อทำให้โปรตีนเกิดการรวมตัวกัน (aggregation) เป็นการเพิ่มความแน่นเนื้อให้แก่เจล ได้เจลที่สมบูรณ์ ซึ่งการเตรียมเจลในลักษณะนี้ มีอัตราการรวมตัว (aggregation) ที่ช้าเมื่อเทียบกับอัตราการ denature ของโปรตีน เพื่อให้เกิดโครงสร้างของเจลที่เป็นระเบียบมากขึ้น (Luo และคณะ, 2001; de Jong และ Koppelman, 2002) ซึ่งกระบวนการนี้นิยมใช้ในปลา Alaska pollock (Fukuda และคณะ, 2001) ปลา carp (Luo และคณะ, 2001) ปลา lizardfish (Benjakul, Visessanguan และ Tucksuban 2003)

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการเกิดเจลประกอบด้วยกลไกสำคัญ 2 ขั้นตอนคือ denaturation และ aggregation (Stone และ Stanley, 1992; Matsumura และ Mori, 1997) โดย denaturation เป็นขั้นตอนที่มีการเปลี่ยนแปลงที่เรียกว่า conformation changes จากการได้รับความร้อน โมเลกุลของโปรตีนจะมีการสูญเสียสภาพไปเพียงบางส่วน ทำให้โปรตีน actomyosin (AM) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลเกิดการคลายตัว (unfolding) การคลายตัวของ AM เกิดที่ช่วงอุณหภูมิแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา (Ogawa และคณะ, 1995) โดย AM ในปลา tilapia (Ogawa และคณะ, 1999) และปลา Indian major carp เช่น Rugu Mrigal และ Catla (Sankar และ Ramachandran, 2002) ปลา silver hake และปลา mackerel (Belibagli และคณะ, 2003) เริ่มคลายตัวที่อุณหภูมิ 40 °C หรือสูงกว่า แสดงว่าที่อุณหภูมิต่ำ จะไม่ส่งผลให้เกิดการ denature ของ native AM ของปลาทั้ง 4 ชนิด เนื่องจากโครงสร้าง α-helical ในส่วนหางของ myosin มีความคงตัวต่อความร้อนสูง ดังนั้นความสามารถทนต่อความร้อนได้ดีของโครงสร้าง α-helical (tight α-helix) ทำให้ myosin ยังคงสภาพ nature

state (folding) ขณะที่ AM ในปลา threadfin bream จะเริ่มเสียสภาพที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 °C และ aggregation ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C (Yongsawadigul และ Park, 2003)

เมื่อศึกษาการสูญเสียโครงสร้าง (denature) ของ myosin ด้วยวิธี differential scanning calorimetry (DSC) พบว่า myosin จากปลา tilapia (*Oreochromis aureus*) จะเกิดการ denature ที่อุณหภูมิ 52 °C (Park และ Lanier, 1989) ส่วนในปลา threadfin bream (*Nemipterus bleekeri*) myosin จะเกิดการ denature ที่อุณหภูมิ 36.5 และ 47 °C (Yongsawadigul และ Park, 2003)

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) และการรวมตัวกัน (aggregation) ของโครงสร้าง myosin แตกต่างกันตามชนิดของปลา นอกจากนี้อุณหภูมิของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ก็มีผลด้วย มีรายงานว่าปลาที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำอุ่น myosin จะมีความคงตัวต่อความร้อน (thermal stability) มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำเย็น (Matsumoto และ Noguchi, 1992; Zhang และคณะ, 2001)

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดเจลโดยการให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิต่ำ ประมาณ 30-40 °C ทำให้ actomyosin (AM) หรือ myosin เริ่มคลายตัวออก และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น myosin คลายตัวอย่างสมบูรณ์ (denature) ทำให้หมู่ไม่ชอบน้ำ (non-polar amino acid) เช่น tyrosyl residual และหมู่ซัลไฮดริล (SH-group) เช่น cysteine residual ปรากฏขึ้นที่บริเวณผิวของโมเลกุลโปรตีน เกิดแรงยึดเหนี่ยวประเภท hydrophobic interaction และ S-S bond ทำให้โมเลกุลโปรตีนรวมตัวกันอย่างช้า ๆ (aggregation) เกิดเป็นโครงร่างตาข่าย (networks) จากรายงานพบว่า การเกิดเจลที่อุณหภูมิต่ำ (30-40 °C) เกิดจากอันตรกิริยาระหว่าง tail portions ของ myosin molecule ซึ่งมีเอนไซม์ endogenous TGase มาเกี่ยวข้อง แรงยึดเหนี่ยวที่พบคือ S-S bond และ covalent bond เมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่า 40 °C จะเกิดอันตรกิริยาระหว่าง hydrophobic amino acid เนื่องจากการที่เกิด unfolding ของโปรตีนที่ head portions ทำให้เกิดเป็นเจลขึ้น (An และคณะ, 1996) Niwa (1992) รายงานว่าทั้งส่วน head and tail region สามารถเกิด non-covalent และ cross-linking ระหว่าง myosin จนรวมกลุ่มกันด้วย hydrophobic interaction ในขณะที่ S-S bond ระหว่าง myofibrillar protein ปรากฏเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 °C ทำให้โครงสร้างเจลแข็งมากขึ้น

กลไกการเกิด disulfide bond ระหว่าง heating step สามารถอธิบายได้โดยในระหว่างการเก็บรักษาเจลซูริมิที่อุณหภูมิต่ำ จะเกิด oxidation ของ SH-group เพื่อ form myosin heavy

chain (MHC) dimers ระหว่าง myosin rod portions จากนั้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C จะเกิดการ polymerize ผ่าน S-S bond ระหว่าง myosin subfragment-1 (S-1) portions (Stone และ Stanley, 1992)

Chan และคณะ (1992) ศึกษา cross-linking ของ MHC จากปลา cod ปลา herring และ ปลา silver hake ระหว่าง thermal setting โดยใช้ SDS-PAGE ในการตรวจติดตามพบว่า cross-linking ability ของ MHC จากปลาทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกัน โดย herring MHC สร้าง small polymer ส่วน cod และ silver hake สร้างทั้ง small และ large polymer (n>6) โดยพบว่า MHC เป็นโปรตีนหลักที่จะสร้าง polymerized complex ระหว่างการให้ความร้อน ส่วน low molecular weight myofibrillar protein (troponins, tropomyosin และ myosin light chain) จะไม่เกิด cross-linking

2.4 พันธะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของซูริมิ

พันธะหลัก ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดเจลในซูริมิคือ

2.4.1 พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonds) มีความสำคัญในการยึดจับน้ำ (bound water stabilization) ภายในเจล โดยโมเลกุลของน้ำภายในเจลเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนที่มีขั้ว (polar amino acid) ซึ่งปรากฏอยู่ตรงบริเวณผิวของโมเลกุลโปรตีนในระหว่างการให้ความร้อน

2.4.2 แรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) เกิดจากแรงดึงดูดระหว่างกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acid) จะเกิดได้ดีเมื่ออยู่ในภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ทั้งนี้เป็นเพราะ การเกิดปฏิกิริยาเป็นแบบดูดความร้อน โดยมีรายงานว่า ถ้าโปรตีนมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำมากกว่า 31.5 เปอร์เซ็นต์ จะให้เจลที่มีลักษณะ coagulum

2.4.3 พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide linkages) เป็นพันธะโควาเลนต์ชนิดหนึ่ง มีความแข็งแรงมากกว่าแรงไฮโดรโฟบิก เกิดได้ดีเมื่อให้ความร้อนมากกว่า 40 °C โดย S-S bond มีความสำคัญต่อการเกิดเจลของโปรตีน กรดอะมิโนที่สามารถสร้างพันธะนี้คือ กรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล เช่น ซิสติอีน (cysteine)

ดังนั้น จึงสรุปความสัมพันธ์ระหว่างพันธะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจล ภาวะการให้ความร้อนทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน และเกิดการคลายตัวของ native protein

จนในที่สุดเกิดการจัดเรียงตัวใหม่กลายเป็นเจล สามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรก การเกิด spherical aggregate ผ่าน hydrophobic interaction ทำให้โปรตีนมีลักษณะขุ่น ต่อมาเสริมความแน่นเนื้อ (stiffening) ให้แก่เจล โดย sulfhydryl-disulfide reaction ขั้นตอนท้ายสุด เพิ่ม elasticity ให้แก่เจลด้วย hydrogen bonds โดยการ cooling (Mine, 1995)

2.5 การประเมินคุณภาพของเจลซูริมิ

การประเมินคุณภาพของเจลซูริมิส่วนใหญ่จะประเมินจากคุณลักษณะการเกิดเจล (gelation characteristic) กล่าวคือจะพิจารณาจาก

2.5.1 ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) มีหน่วยเป็นกรัม.เซนติเมตร (g.cm) ซึ่งจะบอกถึงสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจล ซึ่งสัมพันธ์กับคุณภาพของเจลซูริมิ ถ้าเจลที่ได้มีความแข็งแรงสูง แสดงว่าเจลสามารถอุ้มน้ำได้ดี ค่าความแข็งแรงของเจลสามารถคำนวณได้จากการนำค่าแรง หรือค่าความแข็งของเจล (force) ซึ่งเป็นน้ำหนักที่กดจนกระทั่งผิวหน้าของเจลซูริมิแตกออก มีหน่วยเป็นกรัม (g) คูณกับค่าความลึก หรือระยะทางก่อนเจลแตก (deformation) หรือค่าความยืดหยุ่นของเจล มีหน่วยเป็นเซนติเมตร (cm.) Kim และ Park (2000) ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างค่า force และ shear stress (X_1) และความสัมพันธ์ระหว่างค่า deformation และ shear strain (X_2) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{Force} = 5.433X_1 + 90.239$$

$$\text{Deformation} = 0.266X_2 + 0.345$$

ซึ่งค่า shear stress จะบอกถึงแรงต้านของเจลในด้านความแข็ง (hardness) ส่วนค่า shear strain จะบอกถึงความสามารถในการยึดเกาะของเจล (cohesiveness)

2.5.2 ความสามารถในการพับ (folding test) เป็นเกณฑ์สำหรับประเมินคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิอีกวิธีหนึ่ง (ตารางที่ 2.3) (Lanier, 1992; Park, 2000) การวัดคุณภาพเจลโดยการพับจะบ่งถึงความสามารถในการยึดเกาะของเจล โดยเจลที่มีความสามารถยึดเกาะกันดีจะมีความสามารถในการพับสูง

2.5.3 การวัดค่า expressible water โดยเปอร์เซนต์ของ expressible water ที่วัดได้สามารถใช้เป็นตัววัดความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลได้ (water holding capacity, WHC) โดยเปอร์เซนต์ของน้ำที่สกัดออกได้น้อย (expressible water ต่ำ) แสดงว่าเจลมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี นั่นคือ มีค่า WHC ที่สูง (Remirez และคณะ, 2002)

ตารางที่ 2.3 เกณฑ์การวัดคุณภาพของเจลโดยวิธีการพับ

วิธีพับและลักษณะการแตกของตัวอย่าง (ตัวอย่างหนา 3 mm.)	ระดับความเหนียวของเจล	ระดับคุณภาพของเจล
พับแผ่นตัวอย่าง ให้มีขนาด 1 ใน 4 ของขนาดเดิม โดยตัวอย่างหลังพับไม่แตก	ดีมาก	AA
พับแผ่นตัวอย่าง ให้มีขนาด 1 ใน 2 ของขนาดเดิม โดยตัวอย่างหลังพับไม่แตก	ปานกลาง	A
พับแผ่นตัวอย่าง ให้มีขนาด 1 ใน 2 ของขนาดเดิม โดยตัวอย่างหลังพับแตกปริเล็กน้อย	พอใช้	B
พับแผ่นตัวอย่าง ให้มีขนาด 1 ใน 2 ของขนาดเดิม โดยตัวอย่างหลังพับแตกทันที	ไม่มีความเหนียว	C
แผ่นตัวอย่างแตกทันที(โดยไม่ต้องพับ) เมื่อใช้นิ้วกด	ไม่มีความเหนียว	D

ที่มา: Lanier (1992)

2.5.4 การวัดค่าสี การวัดค่าสีระบบ CIE L*a*b* ใช้รายงานค่า lighness (L*), redness (+a*) / greenness (-a*) และ yellowness (+b*) / blueness (-b*) ของเจล สีของซูริมิโดยทั่วไปค่า L* จะสูงกว่า 50 ส่วนทั้งค่า a* และ b* จะเป็น (+) และใกล้เคียง 0 Park (1995) รายงานว่า ค่าสีที่ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ

2.5.4.1 *ปริมาณความชื้นในตัวอย่างหรือปริมาณน้ำที่เติม* การเติมน้ำในขั้นตอนการเตรียมเจลมีผลต่อค่า L* และ b* ($p<0.05$) กล่าวคือเมื่อความชื้นของเจลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า L* เพิ่มขึ้น และค่า b* จะลดลง ทำให้ตัวอย่างเจลที่วัดได้ดูขาวกว่าปกติ ส่วนค่า a* มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

2.5.4.2 *ขนาดของเจล* กล่าวคือ ในกรณีที่ไม่เติมน้ำ เจลที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ (30 มิลลิเมตร) จะดูสว่างกว่าเจลที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็ก (19 มิลลิเมตร) แต่หลังจากเติมน้ำ เจลขนาดเล็กจะดูสว่างกว่า และค่า b* ของเจลขนาดเล็ก จะมีค่าสูงกว่าเจลขนาดใหญ่ ($P<0.05$)

2.5.4.3 *อุณหภูมิในการให้ความร้อนเพื่อเกิดเจล* จะมีผลต่อค่า L* และ b* พบว่าการ setting แบบ 2-step heating จะให้ค่า L* ที่เพิ่มขึ้น ส่วนค่า a* ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

2.5.4.4 *อุณหภูมิของเจลก่อนนำมาทดสอบ* จะมีผลต่อค่า L* ($p<0.05$) เท่านั้น โดยเจลที่วัดที่อุณหภูมิห้อง (25 ^{o}C) จะให้ความสว่างมากกว่า และมีค่า a* น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการวัดเจลที่อุณหภูมิต่ำ (5^{o}C)

Chen และคณะ (1997) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของค่า a* ของ kamaboko สัมพันธ์กับการ denature ของ metmyoglobin ที่เกิดขึ้นระหว่างการให้ความร้อน นอกจากนี้การเพิ่มระยะเวลาในขั้นตอนการล้าง ก็สามารถลดค่า b* ได้

2.6 ปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า gel forming ability ของเจลซูริมิ

ค่า gel forming ability ของเจลซูริมิที่วัดได้ จะแตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ

2.6.1 ชนิดของปลา โดยปลาต่างชนิดกันจะให้ค่า gel strength ที่แตกต่างกัน ดังรายงานวิจัยของ อรวรรณ คงพันธุ์ และคณะ (2545) ศึกษาความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิจากปลาเกรด AA (ระดับคุณภาพตามตารางที่ 2.3) 4 ชนิดคือ threadfin bream (*Nemipterus* spp.) bigeye (*Priacanthus* spp.) croaker (*Johnjus* spp.) และ lizardfish (*Saurida* spp.) โดยนำมาให้ความร้อนที่ 40 ^{o}C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 ^{o}C นาน 30 นาที จากนั้นวัดค่า gel strength ได้เท่ากับ 997.2 872.5 2257.4 และ 356.0 g.cm ตามลำดับ ชี้ให้เห็นว่าปลา croaker ให้คุณภาพการเกิดเจลดีที่สุด รองลงมาคือปลา threadfin bream bigeye และ lizardfish ตามลำดับ จากรายงานวิจัยของ Benjakul และคณะ (2002) พบว่าปลา bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) ให้ค่า breaking force สูงกว่า *P. macracanthus* ($P<0.05$) ทั้งนี้อธิบายว่าอาจเป็นไปได้เพราะ actomyosin จาก *P. tayenus* ค่อย ๆ aggregation และเกิด hydrophobic interaction หรือ S-S bond สูงกว่า actomyosin ใน *P. macracanthus*

2.6.2 ปริมาณความชื้น ความชื้นก็อาจส่งผลต่อความสามารถในการเกิดเจลได้เช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจาก myofibrillar protein มีความสำคัญต่อความแข็งแรงของเจล การเพิ่มปริมาณความชื้นทำให้ความเข้มข้นของโปรตีนเจือจางลง โดยทั่วไปค่า gel strength ที่ดีมาจากเจลที่มีความชื้นอยู่ในช่วง 72-82 % เมื่อค่าความชื้นสูงขึ้นให้ค่า gel strength ลดลง ส่วนค่า expressible water จะเพิ่มสูงขึ้น (Ofstad และคณะ, 1992) ซึ่งความชื้นมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโปรตีน ดังรายงานของ Reppond และคณะ (1995) ที่ศึกษาผลของความชื้นต่อค่า gel property ของซูริมิปลา pacific herring (*Clupea harengus*) พบว่าเมื่อความชื้น

เพิ่มขึ้นทำให้ค่า gel strength ลดลง กล่าวคือเมื่อความชื้นเพิ่มขึ้น จาก 75.53 % เป็น 79.90 % ทำให้ค่า gel strength ลดลงจาก 862.0 เป็น 518.0 g.cm

2.6.3 ความเข้มข้นของโปรตีน (protein concentration) ค่า gel strength และ deformation จะสูงหรือไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีน (Luo และคณะ, 2001; Totosaus และคณะ, 2002) นอกจากนี้ความเข้มข้นของโปรตีนสัมพันธ์กับปริมาณความชื้น ดังรายงานวิจัยของ Reppond และ Bebbitt (1997) รายงานว่า torsion stress ลดลง เมื่อเพิ่มปริมาณความชื้นในซูริมิ ซึ่งการที่ gel forming ability ของซูริมิลดลงเมื่อความชื้นสูงขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของ myofibrillar protein ลดลง และการเกิด cross-link มีปริมาณลดลง

2.6.4 pH กล่าวคือ pH จะมีผลต่อการละลายของ myofibrillar protein เมื่อ pH เท่ากับ isoelectric point ประจุบวกและลบระหว่างโมเลกุลโปรตีนมีปริมาณเท่ากัน ดังนั้นโมเลกุลโปรตีนจึงเชื่อมกันด้วย ionic linkage ได้มากขึ้น ดังนั้นการที่โปรตีนละลายได้ต่ำที่ isoelectric point เพราะว่า protein-water interaction ถูกแทนที่ด้วย protein-protein interaction ในขณะที่เมื่อ pH มากกว่า หรือน้อยกว่า isoelectric point โมเลกุลโปรตีนจะมี net charge มากกว่าศูนย์ ทำให้มี binding site กับโมเลกุลน้ำสูงขึ้น ทำให้เกิดการผลักกันระหว่างโมเลกุลโปรตีนด้วยกันเอง โปรตีนจึงละลายได้ดี (Park และ Morrisey, 2000)

2.6.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดเจล (setting temperature) อุณหภูมิเป็นปัจจัยเบื้องต้นที่มีผลต่อคุณลักษณะของโปรตีนเจลในซูริมิ การ setting เป็นขั้นตอนที่สำคัญสำหรับการทำซูริมิเพื่อเพิ่มค่า gel strength ของ kamaboko มีรายงานว่าการ setting ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโดย hydrophobic และ SH-exchange reaction ของ AM ในเนื้อปลา การเกิด cross-link ของ MHC โดย covalent bond มีอิทธิพลต่อการ set gel เมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจะเกิด non-covalent type bond reaction เช่น hydrophobic interaction ก็ช่วยเสริมค่า gel strength เพิ่มขึ้น และเพื่อให้เจลมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น จึงต้องผ่านขั้นตอนการให้ความร้อนครั้งที่ 2 (Fukuda และคณะ, 2001) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ ดังนั้นภาวะการให้ความร้อนที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลของโปรตีน (setting) จึงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาในการเตรียมเจล ชนิดปลา และอุณหภูมิของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ (Pan, 1990; Matsumoto และ Nuguchi, 1992; Lee, 1994)

ตัวอย่างอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดเจลของปลาแต่ละชนิด เช่น ปลา tilapia (*Oreochromis niloticus*) พบว่า AM ในปลา tilapia จะไม่เกิดเจลเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C เป็นเวลา 30 นาที โดยจากการวัด Circular dichrorism profile (CD profile) พบว่า α-

helical content ลดลงเพียง 14 % (Ogawa และคณะ, 1999) แต่หลังจากให้ความร้อนนานขึ้นคือ setting ที่ 40 °C เป็นเวลา 60 นาที ตามด้วย 90 °C เป็นเวลา 40 นาที ซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดเจล จะเกิดเจลขึ้น ให้ค่า gel strength เท่ากับ 395.93 g.cm (สุวรรณ วิรัชกุล และคณะ, 2543) แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของ gel strength อาจเกิดจากการคลายตัวของ AM เมื่อ setting ที่อุณหภูมิเดิมเป็นเวลานานขึ้น กล่าวคือ ปริมาณโครงสร้าง α-helical ของ AM protein ที่ลดลงในระหว่างการให้ความร้อน สัมพันธ์แบบเส้นตรงกับอัตราการเพิ่มความยืดหยุ่นของโปรตีน (Ogawa และคณะ 1995)

common carp (*Cyprinus carpio*) grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) และ silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) มี optimum setting ที่ 35 °C นาน 60-120 นาที 40 °C นาน 30 นาที และ 35-40 °C นาน 60 นาที ตามลำดับ (Luo และคณะ, 2001) paddlefish (*Polyodon spathula*) ที่ 70 °C นาน 30 นาที (Lou และคณะ, 2000) Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) ที่ 5 °C นาน 22 ชั่วโมง (Klesh และคณะ, 2000) หรือที่ 30 °C นาน 2 ชั่วโมง (Fukuda และคณะ, 2001) cod herring และ silver hake ที่ 40 °C นาน 50 นาที (Chan และคณะ, 1992)

2.7 บทบาทของเอนไซม์ในเจลซูริมิ

ซูวาริ "suwari" เป็นปรากฏการณ์จัดเรียงตัว (setting) ของโมเลกุลโปรตีนในเนื้อปลาเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50 °C จนเกิดเป็นโครงสร้าง 3 มิติ ซูวาริเป็นปรากฏการณ์จำเพาะขึ้นอยู่กับชนิดของปลา สำหรับกลไกการเกิดซูวาริมีการเปลี่ยนแปลงคือ การเพิ่มการดูดน้ำ (hydration) ของโมเลกุลโปรตีน ในขั้นตอนการเติมเกลือ จากนั้นเกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (denaturation/ transformation) ตามด้วยการเกิด cross-linking ระหว่างโมเลกุลโปรตีนโดยมีเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนส (TGase) ที่มีในกล้ามเนื้อปลา มาเกี่ยวข้อง (Matsumoto และ Naguchi, 1992)

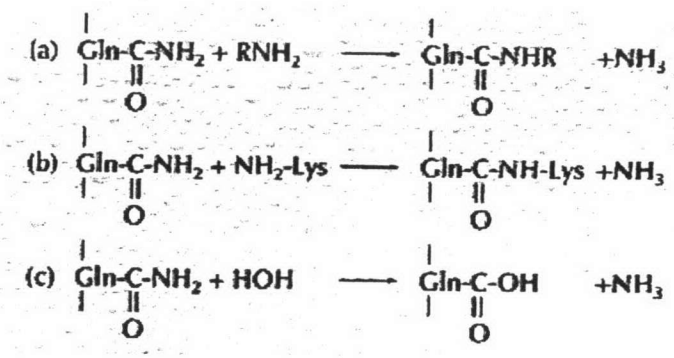
โมโดริ "modori" เป็นปรากฏการณ์ที่ใช้อธิบายการ degradation ของเจลซูริมิ เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50-70 °C ส่งผลให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างของเจล มีผลให้ค่า gel strength ลดต่ำลง และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะอ่อนตัว (softening) ซึ่งส่วนใหญ่คาดว่าเป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์ proteinase (endogenous proteolytic enzyme) ในกล้ามเนื้อปลา นอกจากนี้ปรากฏการณ์ modori อาจมีสาเหตุเนื่องมาจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้น

ความร้อนที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อ protein-protein interaction กล่าวคือ ความร้อนที่ให้ในช่วง 50-70 ^{o}C ส่งผลให้เกิด hydrophobic interaction ของโมเลกุลโปรตีนลดน้อยลง

ดังนั้นจะเห็นว่า "suwari" (low temperature setting) และ "modori" (high temperature setting) มีผลต่อการเกิดเจลในลักษณะเสริมการเกิดเจลและย่อยสลายเจล ตามลำดับ โดยที่ปรากฏการณ์ทั้งสองนี้มีการทำงานของ endogenous enzymes มาเกี่ยวข้อง เอนไซม์ที่มีผลต่อการเกิดเจล แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

2.7.1 Transglutaminase (TGase: EC 2.3.2.13) เป็นเอนไซม์ชนิด transferase สามารถเร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่ acyl ระหว่าง γ-carboxylamide ของกลูตามีน (glutamine residual) และ primary amines (รูป 2.2 a) เมื่อ TGase ใช้ ε-amino gr. ของ ไลซีน (lysine residual) เป็นตัวรับ (รูปที่ 2.2 b) ทำให้เกิดการสร้าง isopeptide bonds ระหว่างโมเลกุลโปรตีน เกิด inter- และ/หรือ intra-molecular cross-linking เกิดเป็น ε-(γ-glutamine)-lysine bond ส่งผลให้ได้ high-molecular polymer (HMP) ขึ้น (de Jong and Koppelman, 2002 ;Gerrard, 2002) การเกิด cross-linking ของโปรตีนในลักษณะเช่นนี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพขึ้น ทำให้สามารถใช้ TGase ในการปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนได้ เช่น การเกิดเจล (gelation) ความสามารถในการละลาย (solubility) และการเกิดอิมัลชัน (emulsifying) เป็นต้น อย่างไรก็ตามเมื่อไม่มี primary amines น้ำก็ทำหน้าที่เสมือนเป็นตัวรับ (acyl acceptor) แทนได้ (รูปที่ 2.2 c) ทำให้เกิดปฏิกิริยา deamination โดยมีน้ำเป็นตัวร่วมปฏิกิริยา (Zhu และคณะ, 1995)

จากการศึกษาคุณสมบัติและการทำงานของ TGase ที่พบจากแหล่งต่าง ๆ พบว่า TGase ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 35-50 ^{o}C ค่า pH ประมาณ 7.5-9.0 และจะสูญเสีย activity อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูง (Shimizu และคณะ, 1981; An และคณะ, 1996) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาดังนี้ ปลา threadfin-bream (Tsukamasa และคณะ, 2002) และปลา Lizardfish (Benjakul และคณะ, 2003) เอนไซม์จะ active และเหนี่ยวนำให้เกิด non-disulfide covalent ใน myosin heavy chain ที่ 40 ^{o}C ในขณะที่ปลา carp จะ active ที่ 25-30 ^{o}C (Ramirez และคณะ, 2000; Tsukamasa และคณะ, 2002) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการที่ปลา setting ที่อุณหภูมิสูง เป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ TGase ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อปลาเอง โดยพบว่าเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการเกิด unfolding ของ α-helix ของ actomyosin ในช่วงแรกของการ setting นำไปสู่ปรากฏการณ์ "suwari" (Ogawa และคณะ, 1995)



a. Acyl-transfer reaction

b. Crosslinking reaction

c. Deamidation

รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ Transglutaminase

ที่มา: de Jong and Koppelman (2002)

Kongpun และ Suwansakornkul (1997) ศึกษาการเกิด suwari (gel setting) และ modori (gel disintegration) ในปลา carp โดยแปรอุณหภูมิในการ set gel ที่ 20 30 40 50 60 70 และ 80 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วย 80 °C เป็นเวลา 20 นาที พบว่าปลา carp จะเกิด suwari gel เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 2 ชั่วโมง และเกิด modori gel เมื่อให้ความร้อนที่ 60-70 °C นาน 2 ชั่วโมง ในขณะที่งานวิจัยของ Luo และคณะ (2001) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนในปลา carp ต่อการเกิดเจลเช่นกัน โดยแปรอุณหภูมิ และเวลาที่ 30 35 40 และ 45 °C เป็นเวลา 30 60 และ 120 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนต่อที่ 85 °C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการ setting gel ของปลา carp คือที่ 35 °C เป็นเวลา 60-120 นาที จากผลการวิจัยทั้งสองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tsukamasa และคณะ (2002) ที่พบว่า total transglutaminase ในเนื้อปลาจะมีกิจกรรมสูงสุดในช่วง 30-50°C และที่ 50 °C จะมีกิจกรรมสูงสุด คือ 88.5 U/g surimi แต่กิจกรรมของเอนไซม์ transglutaminase จะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C โดยลดลงประมาณ 33 % ของกิจกรรมสูงสุด

2.7.2 Endogenous protease เป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อปลาตามธรรมชาติ ซูริมิที่มีเอนไซม์ protease ปนเปื้อนในปริมาณสูงจะส่งผลให้เจลมีคุณภาพต่ำ คือลักษณะเนื้อสัมผัสไม่มีความเหนียวและยืดหยุ่น โดยเอนไซม์ในกล้ามเนื้อจะเกิดกิจกรรมได้ดีที่อุณหภูมิสูง (50-70 °C)

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เป็นสาเหตุให้ myofibrillar protein ถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็ว (An และคณะ, 1996) ปลาสายพันธุ์ที่นำมาผลิตซูริมิแล้วเกิด soft และ mushy texture เช่น pacific whiting white crocker และ arrowtooth flounder

การจัดจำแนกชนิดของเอนไซม์ protease โดยพิจารณาจากหมู่ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาใน active site ของเอนไซม์ แบ่งออกเป็น 4 ประเภทคือ cysteine protease serine protease metallo protease และ aspartic protease ซึ่งเอนไซม์ที่พบมากในซูริมิคือ

2.7.2.1 Cysteine protease มีบทบาทมากต่อเนื้อสัมผัส (softening) และสามารถย่อย peptide bond เป็นสายสั้น ๆ ได้

- Alkaline protease เอนไซม์กลุ่มนี้สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงและ pH เป็นด่าง ปริมาณของเอนไซม์ชนิดนี้ในกล้ามเนื้อแตกต่างกันตามชนิดของปลา และมีผลให้เจลของซูริมิมีคุณภาพด้อยลงที่อุณหภูมิประมาณ 60-65 °C และ pH ประมาณ 7.5-8.0 เอนไซม์เหล่านี้อาจปนเปื้อนมาจากการปนเปื้อนของหนัง อวัยวะภายใน เป็นต้น

- Cathepsin เช่น carthepsins L (EC 3.4.22.15) และ carthepsins B (EC 3.4.22.1) เป็นตัวหลักที่ทำให้เกิด post-mortem degradation ของกล้ามเนื้อปลา โดยเอนไซม์ถูกปล่อยจาก lysosomes พบในปลา pacific whiting โดยเอนไซม์มี optimum activity ที่ 55 °C pH 5.5 เอนไซม์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 28,800 Da (Chang-Lee และคณะ, 1989; An และคณะ, 1994) ในปลา arrowtooth flounder จะพบว่า MHC ถูกย่อยสลายเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 นาที (Park และ Morrisey, 2000) ส่วนในกล้ามเนื้อปลา tilapia สามารถพบ cathepsin A (EC 3.1.16.1) หรือ carboxypeptidase ซึ่งเป็น exopeptidase มี optimum pH ที่ 5-6 แต่สามารถหยุดกิจกรรมได้โดยความร้อนและสารละลายด่าง ดังนั้น inhibitor ที่ควรนำมาใช้เพื่อยับยั้งเอนไซม์จึงต้องมีปริมาณ cysteine proteinase-specific inhibitory component ที่สูง ซึ่งจากการศึกษาพบว่า beef plasma protein (BPP) เป็น inhibitor ที่ดี (Saeki และคณะ,1995; Weerasinghe และคณะ, 1996)

2.7.2.2 Serine protease เป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดปรากฏการณ์โมโดริเมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยความร้อน บางครั้งเรียกว่าโปรตีเอสที่เร่งการเกิดโมโดริ (modori-inducing proteinase, MIP) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ต้องการ NaCl (2-4 %) สำหรับการเกิดกิจกรรม (Haard, 1994) เอนไซม์นี้พบในปลา threadfin bream ปลา lizardfish และปลา tilapia เอนไซม์ชนิดนี้ทนต่อความร้อนได้ดี และสามารถย่อย myosin ได้ที่ pH 7.0 อุณหภูมิประมาณ 60 °C Onibala และคณะ (1997) รายงานว่าเมื่อให้ความร้อนแก่ tilapia ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 120 นาที จะทำให้เกิดการย่อยของ MHC ส่งผลให้ค่า gel strength ลดต่ำลง เพื่อที่จะยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้

จึงมีการศึกษาการใช้ additive หลายชนิด และพบว่า egg white (EW) เป็น additive ที่มี serine proteinase inhibitor อยู่ในปริมาณสูง สามารถยับยั้ง trypsin ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.8 ผลของการเติมวัตถุเจือปนอาหารในซูริมิ

2.8.1 Microbial transglutaminase (MTGase)

เนื่องจาก TGase ที่มีตามธรรมชาติในตัวปลามีปริมาณน้อยมากไม่เพียงพอต่อความสามารถในการเกิดเจล และเพื่อลดต้นทุนการผลิตนักวิจัยหลายท่านจึงศึกษา TGase ที่สกัดได้จากอวัยวะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (animal tissues) เช่น guinea pig liver (Joseph และคณะ, 1994) แต่เอนไซม์ชนิดนี้เป็นชนิดที่ต้องการแคลเซียมในการเร่งปฏิกิริยา (calcium dependent) ต่อมาจึงมีการศึกษาการใช้ TGase จากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งไม่ต้องการแคลเซียมในการเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากบนโครงสร้างโมเลกุลของ TGase ไม่มีตำแหน่งสำหรับจับกับแคลเซียมไอออน อีกทั้งได้เปรียบในปริมาณผลผลิต เช่น *Streptoverticillium mobarense* (Seki และคณะ, 1998; Yokoyama และคณะ, 2003) *Streptoverticillium ladakanum* (Jiang และคณะ, 2000; Hsieh และคณะ, 2002) เพื่อปรับปรุงคุณภาพของเจลซูริมิให้ดีขึ้น มีการนำเอนไซม์เหล่านี้มาใช้กับซูริมิจากปลาชนิดต่าง ๆ อาทิเช่น ปลา threadfin bream (Suwansakornkul และคณะ, 1999 ;Jiang และคณะ, 2000) ปลา Alaska pollock (Jiang และคณะ, 2000) ปลา silver carp (Ramirez และคณะ, 2000) และปลา carp (Ni และคณะ, 1998)

งานวิจัยที่มีการใช้ microbial transglutaminase (MTGase)

อรวรรณ คงพันธุ์ และคณะ (2545) ศึกษาการปรับปรุงคุณภาพซูริมิปลาปากคมที่มีคุณภาพต่ำ โดยใช้ TGase (TG, K type) ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 % โดยศึกษาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่เติมสาร นำไปให้ความร้อนที่ 40 ^{o}C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 ^{o}C นาน 30 นาที นำมาวัดค่า gel strength force deformation และ folding test พบว่าการใช้ TGase สามารถปรับปรุงคุณภาพซูริมิเจลให้สูงขึ้นอย่างชัดเจน ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม โดยค่า gel strength เพิ่มจาก 202.0 g.cm เป็น 773.0 g.cm ค่า force เพิ่มจาก 326.0 g เป็น 814.0 g ค่า deformation เพิ่มจาก 6.2 mm เป็น 9.5 mm ค่า folding test เพิ่มจาก A-B เป็น AA (การวัด folding test พิจารณาตามตารางที่ 2.3)

แต่ในการเติม MTGase ที่ระดับความเข้มข้นสูงเกินไปจะส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ดังงานวิจัยของ Hsieh และคณะ (2002) ศึกษาผลของการใช้ MTGase เพื่อปรับปรุงคุณภาพซูริมิปลา mackerel *Scomber australasicus* โดยแปรปริมาณของ MTGase ที่เติมเป็น 0-0.6 unit/g surimi จากนั้นนำไป set gel ที่ 30 และ 45 °C นาน 60 นาที ตามด้วย 90 °C นาน 30 นาที วัดคุณภาพเจลพบว่าค่า breaking force และ deformation ของเจลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และให้ค่าสูงสุดเมื่อเติม MTGase 0.5 unit/g surimi คือ 1032 g และ 1.95 cm ตามลำดับ (เมื่อ set gel ที่ 30 °C นาน 60 นาที) ซึ่งคิดเป็น 2.5 และ 1.5 เท่าของตัวควบคุม (ไม่เติมเอนไซม์) แต่หลังจากเติมมากกว่า 0.5 unit/g surimi ค่าทั้งสองจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ($P<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสร้าง ε-(γ-glutamyl) -lysine bond ที่มากขึ้น อาจขัดขวางการเกิดโครงร่างตาข่าย 3 มิติ (3-dimensional network) ที่ต่อเนื่องของเจลทำให้เจลแตกง่าย

นอกจากนี้ปริมาณการเติม MTGase ยังขึ้นกับชนิดของปลาด้วย ดังงานวิจัยของ Jiang และคณะ (2000) ศึกษาผลของการเติม MTGase ต่อคุณสมบัติการเกิดเจลและอุณหภูมิการ setting ของซูริมิจากปลา golden threadfin bream และ Alaska pollock โดยแปรปริมาณ MTGase ที่เติม (0-0.6 unit/g surimi) อุณหภูมิและเวลาในการ set gel (30 หรือ 45 °C เป็นเวลา 0 - 120 นาที ตามด้วย 90 °C นาน 30 นาที) พบว่าภาวะที่เหมาะสมของปลาทรายแดงคือใช้ MTGase 0.3 unit/g surimi ให้ความร้อนที่ 30 °C นาน 90 นาที หรือ 45 °C นาน 20 นาที โดยเจลที่ได้ให้ค่า gel strength เท่ากับ 3200 หรือ 3400 g.cm ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่าตัวควบคุมถึง 3 เท่า (1100 หรือ 950 g.cm ตามลำดับ) ส่วนภาวะที่เหมาะสมของปลา Alaska pollock คือ ใช้ MTGase 0.2 unit/g surimi ให้ความร้อนที่ 30 °C นาน 60 นาที หรือ 45 °C นาน 30 นาที โดยให้ค่า gel strength เท่ากับ 2300 หรือ 2000 g.cm ตามลำดับ พบว่าค่าที่ได้สูงกว่าตัวควบคุมถึง 3 เท่า (1400 หรือ 750 g.cm) ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์โดยใช้ SDS-PAGE ที่ช่วงอุณหภูมินี้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณ myosin heavy chain (MHC) จะลดลง และเกิด cross-link ของ MHC มาแทนที่ทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรง

แต่กระนั้นก็ตามปริมาณ MTGase ที่เติมยังขึ้นอยู่กับความสดของปลา ความเข้มข้นของโปรตีน และฤดูกาลในการจับอีกด้วย

2.8.2 Beef Plasma Protein (BPP)

ใช้เติมในผลิตภัณฑ์เนื้อหรือซูริมิ เพื่อทำหน้าที่เป็น gelling agent และ protease inhibitor ส่วนใหญ่อยู่ในรูป dried form ประกอบด้วยโปรตีนตัวหลักคือ albumin (4-5%) globulin (2-2.5%) และ fibrinogen (0.3-0.4%) โดยคุณสมบัติการเกิดเจลของ BPP ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ กล่าวคือ albumin จะเกิดเป็นเจลที่อุณหภูมิประมาณ 85 °C ส่วน fibrinogen จะเกิดเจลที่อุณหภูมิ 50 °C ซึ่งที่ภาวะอุณหภูมิต่ำ fibrinogen นี้จะถูกเปลี่ยนเป็น fibrin เมื่อมี thrombin เป็นองค์ประกอบ และจะเสริมปฏิกิริยาการเกิดเจลเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า BPP ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ซูริมิจะสามารถเกิดเป็นเจลได้ในช่วงการให้ความร้อนโดย setting ที่อุณหภูมิต่ำก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ซึ่งความร้อนที่ได้รับมีผลให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีน เกิดการรวมตัวกัน ในที่สุดเกิดเป็นเจล (Park, 2000; Prabhu, 2001) ส่วน active TGase ซึ่งพบใน BPP เช่นกัน สามารถเร่งหมู่ที่สามารถทำปฏิกิริยาได้ให้เกิด covalent bond และเป็นสารที่เสริมความแข็งแรงให้แก่เจล (gel strengthening compound) นอกจากนี้ยังพบว่าสารใน BPP มีผลเป็น protease inhibitor ซึ่งพบว่าให้ผลเช่นเดียวกับ cysteine protease inhibitor (Saeki และคณะ, 1995; Weerasinghe และคณะ, 1996) สารที่เป็นองค์ประกอบใน BPP ที่ทำหน้าที่เป็น protease inhibitor คือ kininogen ซึ่งเป็น specific cysteine protease inhibitor ของ cystatin super-family นอกจากนี้ α_2- macroglobulin (α_2M) จัดเป็น specific inhibitor สามารถสร้าง (γ-glutamyl)-lysine ระหว่างหมู่ γ-carboxylamide ของ glutamine residual และหมู่ ε-amino ของ lysine residual และ PTGase (trio-1-containing gelling protein) ปริมาณที่มีการยอมรับในการใช้งาน 1.0-2.0 % (Prabhu, 2001)

2.8.3 Egg white (EW)

เป็น protein additive ที่ทำหน้าที่เป็น functional binder (Kim และ Park, 2000) มีผลต่อเนื้อสัมผัส ซึ่งแตกต่างกันตามชนิดของปลาและความสด จากการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE พบว่า dried egg white ประกอบด้วย ovalbumin ovotransferrin ovomucoid และ lysozyme ระดับของ partial unfolding และ aggregation ของโมเลกุลโปรตีนเกิดขึ้นที่ช่วงอุณหภูมิสูงกว่า 60 °C (Xu และคณะ, 1997; Park, 2000) โดยที่ช่วงอุณหภูมิดังกล่าว ovalbumin และ ovomucoid จะเกิด unfolding และเผยหมู่ที่สามารถทำปฏิกิริยาได้ (reactive group) บนพื้นผิวก่อนที่จะรวมตัวกัน (aggregation) เกิดเป็นเจลที่อุณหภูมิประมาณ 75 °C ซึ่ง

ovalbumin นี้จะทำหน้าที่เป็น heat induced gel formation (Croguennec และคณะ, 2002) ในขณะที่ ovotranferrin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ง่ายต่อการ denature โดยความร้อน (เป็นเจลที่ 62 °C) จะมีผลต่อ coagulation step ซึ่งจะเกิด soluble aggregation ผ่าน S-S bond และ hydrophobic interaction ระหว่าง preheating ที่อุณหภูมิ 60 °C โดย Xu และคณะ (1997) รายงานว่า ovotranferrin จะลดลงเมื่อให้ความร้อนที่ 60 °C และจะหายไปเมื่อให้ความร้อนนาน 3.5 นาที

รายงานวิจัยที่มีการใช้ EW และ BPP ในการปรับปรุงคุณภาพเจลซูริมิ

Chang-Lee และคณะ (1990) ศึกษาการใช้ egg white (EW) whey protein concentrate (WPC) และ soy protein isolate (SPI) ที่ระดับความเข้มข้น 0.0-5.0 % เพื่อปรับปรุงคุณภาพของเจลซูริมิจากปลา pacific whiting (*Merluccius productus*) จากการทดลองพบว่าการเติม EW ที่ระดับความเข้มข้น 3% จะปรับปรุงความแข็งแรงของเจลทั้ง gel hardness (2.6 N/g) และ gel elasticity (62%) ได้ดีที่สุด ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเติม WPC และ SPI ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งให้ค่า gel hardness และ gel elasticity ซึ่งมีค่า 2.1 N/g, 46 % และ 1.6 1 N/g, 42 % ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก EW มี amino acid ที่ทำให้เกิดการสร้างพันธะ sulfhydry-disulfide interchange ทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้ EW ยังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ protease ในซูริมิได้ จากนั้นเลือก EW 3.0% มาศึกษาอิทธิพลของ อุณหภูมิและเวลาของการให้ความร้อน โดยแปรอุณหภูมิและเวลาเป็น 4 ภาวะคือ ภาวะที่ 1-3 ให้ความร้อนครั้งแรกที่ 40 °C เป็นเวลา 20 40 และ60 นาที ตามลำดับ ตามด้วย 90 °C นาน 20 นาที และภาวะที่ 4 ให้ความร้อนที่ 90 °C นาน 40 นาที นำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่า gel hardness gel elasticity และ cohesiveness พบว่าตัวอย่างที่ไม่เติม EW (control) จะให้ซูริมิที่มีคุณภาพต่ำมาก แต่ในทางตรงข้ามตัวอย่างที่เติม EW 3.0 % จะให้ค่า gel hardness เพิ่มขึ้น 3 เท่า gel elasticity เพิ่มขึ้น 4.5 เท่า และ cohesiveness เพิ่มขึ้น 1.5-1.9 เท่าของ control ในทุกภาวะการให้ความร้อน โดยพบว่าการให้ความร้อนที่ 40 °C เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย 90 °C นาน 20 นาที จะให้ค่าทั้งสามสูงที่สุด

Morrissey และคณะ (1993) ศึกษาผลของการเติม beef plasma protein (BPP) egg white (EW) และ potato extract (PE) ที่ระดับความเข้มข้น 1.0-4.0 % ในซูริมิจากปลา pacific whiting พบว่าการเติม 1.0 % BPP มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ protease ดีที่สุด (90% inhibition) รองลงมาคือ EW (59% inhibition) และ PE (53% inhibition) ตามลำดับ โดยสารทั้งสามชนิดมีการใช้ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

นอกจากนี้ Park (1994) ศึกษาผลของการเติม protein additive ชนิดต่าง ๆ ในซูริมิจากปลา Alaska pollock โดยสารที่ใช้มี 7 ชนิดคือ beef plasma protein (BPP) dried egg white (DEW) frozen egg white (FEW) soy protein isolate (SPI) wheat gluten (WG) whey protein concentrate (WPC) และ whey protein isolate (WPI) ที่ระดับความเข้มข้น 1.0% วิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัส และใช้ differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อศึกษาผลของวัตถุเจือปนอาหารต่อ thermal denaturation ของซูริมิ พบว่าการเติม DEW FEW และ BPP สามารถเพิ่มค่า shear stress และ shear strain ของเจลได้ดีที่สุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารชนิดอื่น โดยไม่ทำให้เจลแตก (brittleness) และจากการวิเคราะห์ DSC แสดงให้เห็นว่า EW และ BPP ช่วยชะลอการ denaturation (unfolding) ของกล้ามเนื้อโปรตีน นั่นคือจะช่วยลด enthalpy ของ endothermic peaks และเพิ่ม exothermic contribution ทำให้เกิด aggregation ของโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า shear stress เพิ่มขึ้น ทำให้สรุปได้ว่าทั้ง EW และ BPP ทำหน้าที่เป็น functional binder ในเจลซูริมิผ่าน protein-protein interaction ส่วน protein additive ชนิดอื่นๆ จัดเป็น functional fillers

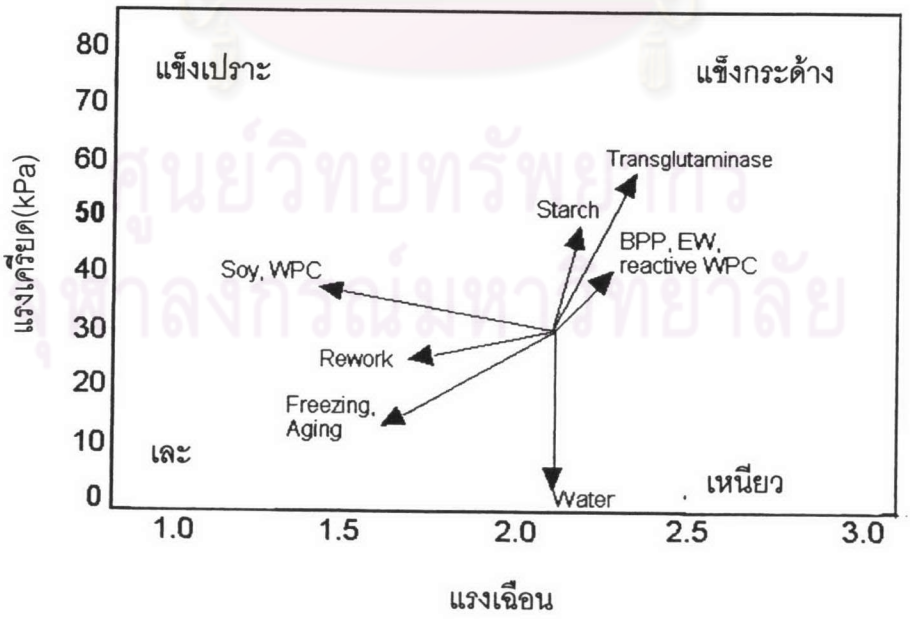
อรวรรณ คงพันธุ์ และคณะ (2545) ศึกษาการปรับปรุงคุณภาพซูริมิปลาปากคมที่มีคุณภาพต่ำ โดยใช้ beef plasma protein (BPP) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % โดยศึกษาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่เติมสาร นำไปให้ความร้อนที่ 40 ^{o}C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 ^{o}C นาน 30 นาที นำมาวัดค่า gel strength force deformation และ folding test พบว่าการใช้ BPP สามารถปรับปรุงคุณภาพซูริมิเจลให้สูงขึ้นอย่างชัดเจน ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม โดยค่า gel strength เพิ่มจาก 202 g.cm เป็น 368 g.cm ค่า force เพิ่มจาก 326.0 g เป็น 460.0 g ค่า deformation เพิ่มจาก 6.2 mm เป็น 8.0 mm ค่า folding test เพิ่มจาก B เป็น AA

จากข้อมูลข้างต้น จะเห็นว่าปลาแต่ละชนิดให้คุณภาพเจลที่แตกต่างกัน การทำงานของเอนไซม์ส่งผลต่อคุณภาพของซูริมิ ซึ่งภาวะในการผลิตที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้คุณภาพของเจลซูริมิที่ได้มีคุณภาพต่ำ ดังนั้นการส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ transglutaminase โดยใช้ MTGase หรือการยับยั้งเอนไซม์ protease ในเนื้อปลา โดยใช้ BPP และ EW จะส่งผลดีต่อการผลิตซูริมิคือ จะช่วยเพิ่ม gel strength elasticity และ water holding capacity (WHC) ให้สูงขึ้น ทำให้เกิด cross-link ของ myosin heavy chain (MHC) ที่แข็งแรงขึ้น

2.8.4 Sodium ascorbate (SA)

ปกติมีการนำมาใช้ในโรงงานทำขนมปังเพื่อเป็นตัวปรับสภาพของโด (dough conditioner) สำหรับหน้าที่ของ SA มีรายงานว่าจะช่วยเพิ่ม cross-linkages โดย SA ที่เติมลงไปจะถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วในขั้นตอนการบดผสม (comminution process) เกิดการเปลี่ยนแปลงของ sulfhydryl (-SH group) ในกล้ามเนื้อโปรตีนเป็น disulfide bond (S-S bond) ระหว่างโมเลกุลโปรตีน ดังรายงานวิจัยของ Lee และคณะ (1992) ศึกษาผลของ SA (0-0.4% w/w) ต่อการเกิดเจลของซูริมิจากปลา Alaska pollock (regular และ spawning grade) พบว่าการเติม SA ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 % ในซูริมิจะมีผลให้เจลมีคุณภาพดีขึ้น 64 % (regular) และ 53 % (spawning) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ control นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเติม SA สามารถเพิ่มปริมาณความชื้นได้อย่างน้อย 1.0% จากปกติโดยไม่ทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง

ดังนั้นการเติมวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ลงในขั้นตอนการเตรียมเจลจึงสามารถพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ซูริมิได้ รูปที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติของเจลเมื่อเติมวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่าง ๆ โดยใช้ค่า stress และ strain เป็นตัววัด ทำให้ทราบถึงคุณลักษณะของเจลซูริมิที่นำมาตรวจวัดว่ามีลักษณะอย่างไร ซึ่งสามารถแบ่งคุณลักษณะของเจลซูริมิเป็น 4 ชนิด คือ brittle (แข็งเปราะ) mushy (เละ) tough (แข็งกระด้าง) และ rubbery (เหนียว)



รูปที่ 2.3 แบบจำลองลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิจากการเติมวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่าง ๆ
ที่มา: ดัดแปลงจาก Gel consultants Inc. (2004)

ถ้าเจลมีค่าความยืดหยุ่นต่ำ โดยต้องใช้แรงที่มากพอในการทำให้เจลแตก สามารถกล่าวได้ว่าเจลที่ได้มีลักษณะเป็น “brittle” ถ้าเจลมีค่าความยืดหยุ่นสูง โดยมีการใช้แรงในการทำให้เจลแตกค่อนข้างต่ำ แสดงว่าเจลที่ได้มีลักษณะเป็น “rubbery” ถ้าเจลมีลักษณะเป็นทั้ง brittle และ rubbery เจลที่ได้จะมีลักษณะที่เรียกว่า “tough” และถ้าเจลไม่เป็นทั้ง brittle และ rubbery เจลจะมีลักษณะเป็น “mushy” จากรูป จะเห็นว่าการเติม BPP EW และ TGase ทำให้เจลมีลักษณะแข็งกระด้างในขณะที่การเติมวัตถุเจือปนอาหารชนิดอื่น ๆ ทำให้เจลมีลักษณะเละ และแตกง่าย

จากคุณลักษณะเหล่านี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการวิจัยและพัฒนาสูตรของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย