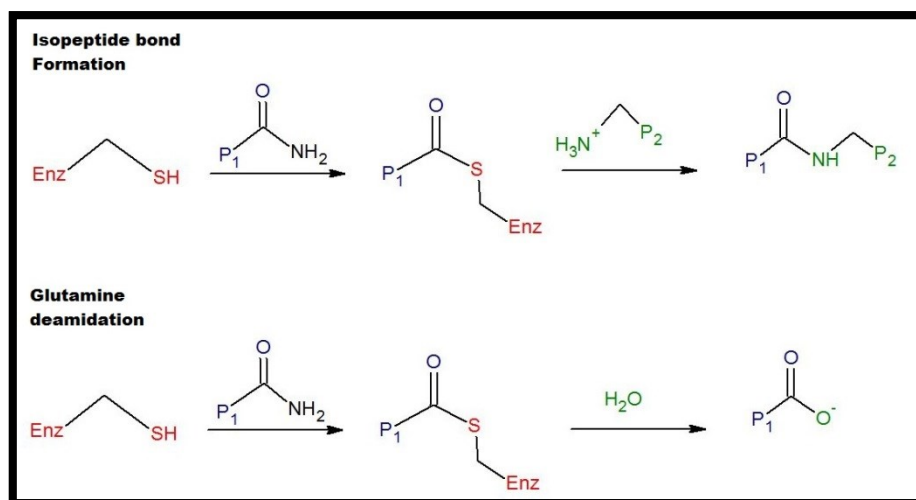


## เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส

วรารณ กาพันธ์, นพพล เล็กสวัสดิ์ สาขาวิชาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ทรานส์กลูตามิเนสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่เอซิล (acyl transfer) ระหว่างหมู่แอมมาคาร์บอกซิเอไมด์ของกรดอะมิโนกลูตามีนของสายเพปไทด์ หรือโปรตีน และสารประกอบอะมีน ถ้าหมู่อะมีนเป็นหมู่แอบซิลอนอะมิโนของไลซีนในสายเพปไทด์ TGase จะทำให้เกิดการเชื่อมโดยพันธะโควาเลนต์ของเพปไทด์ 2 สายเกิดเป็นพันธะใหม่เรียกว่า เอพซิลอนแอมมากลูตามิลไลซีน ในสภาวะที่ไม่มีเอมีน TGase จะเร่งปฏิกิริยาการย่อยหมู่แอมมาคาร์บอกซิเอไมด์ของกลูตามีนโดยทำปฏิกิริยากับน้ำได้เป็น กรดกลูตามิก และแอมโมเนีย (deamidation) การทำปฏิกิริยาของ TGase ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส

ที่มา: Motoki และ Kamazawa (2000)

TGase มีหมู่ซัลเทอินอยู่ในบริเวณเร่งเพื่อทำปฏิกิริยา เกิดปฏิกิริยาที่หมู่แอมมาคาร์บอกซิเอไมด์ของกลูตามีนได้เป็นแอมมากลูตามิลไทโอเอสเทอร์ และแอมโมเนีย ต่อมาจะทำปฏิกิริยากับหมู่อะมีนเกิดเป็นพันธะไดโซเพปไทด์ ถ้าไม่มีหมู่ไพรมารีเอมีน น้ำจะเป็นตัวรับหมู่เอซิลทำให้กลูตามีนเปลี่ยนเป็นกรดกลูตามิก นอกจากนี้สายเพปไทด์ที่มีไลซีนก็สามารถทำปฏิกิริยากับส่วนของกลูตามีนได้ เกิดเป็นพันธะ G-L ระหว่างโปรตีน จัดเป็นโปรตีน จัดเป็นพันธะโควาเลนต์ ซึ่งมีความแข็งแรง ซึ่งอาจเกิดในสายเพปไทด์หรือระหว่างสายเพปไทด์ จึงมีการใช้ TGase ดัดแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน เช่น การละลาย การเกิดอิมัลชัน และเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยป้องกันการสูญเสียไลซีน

### 1. แหล่งของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส

เอนไซม์ TGase พบทั้งในสัตว์ พืช และในจุลินทรีย์ มีการพบ TGase ในอวัยวะ เช่น ตับและระบบเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และยังพบในปลาและหอยนางรม โดยทั่วไป TGase จากสัตว์มีน้ำหนัก โมเลกุล

77-90 kDa และต้องการแคลเซียมในการทำปฏิกิริยา มีพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ 7.5-9.0 และอุณหภูมิ 35-50 องศาเซลเซียส

จุลินทรีย์หลายชนิดผลิต TGase ได้ เรียกว่า microbial TGase (MTGase) เช่น MTGase จาก *Streptococcus thermophilus* มีน้ำหนักโมเลกุล 40 kDa มีจุดไอโซอิเล็กตริก (pI) 8.9 MTGase จากจุลินทรีย์เป็นแบบมอนอเมอร์ (monomer) และไม่ต้องการแคลเซียมในการเร่งปฏิกิริยา นิยมใช้ในทางการค้าเพื่อเสริมความแข็งแรงในการเกิดเจลของโปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ซูริมิ โยเกิร์ต ไส้กรอก และเบเกอรี่ เชื้อที่นิยมใช้ผลิต MTGase เช่น *S. mabaraense*, *S. ladakanum*, *Bacillus aneurinolyticus*, *B.adius* และ *Pseudomonas* มีการใช้อาหารหลายชนิดในการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิต TGase ดังแสดงใน ตารางที่ 1.1 แต่พบว่าการใช้อาหาร B หรือ SPY medium ทำให้ *Enterobacter* sp.C23617 และ *Providencia* sp. C1112 ผลิต TGase ดีที่สุด

**ตารางที่ 1.1** อาหารที่ใช้ผลิตทรานสกลูตามิเนสโดยจุลินทรีย์

| อาหาร | องค์ประกอบ                                                                                                                             |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A     | 1.5% soluble starch, 1.5% glucose, 1.5% peptone, 0.4% yeast extract, 0.2% $Mg_2SO_4$ ,<br>0.2% $K_2HPO_4$ and 0.2% $KH_2PO_4$ , pH 6.8 |
| B     | 2.0% soluble starch, 2.0% peptone, 0.2% yeast extract, 0.2% $Mg_2SO_4$ , 0.2% $K_2HPO_4$<br>And 0.2 $KH_2PO_4$ , pH7.0                 |
| C     | 1.0% peptone, 0.5 yeast extract, 0.5% NaCl, pH 6.5                                                                                     |
| D     | 1.7% pancreatic digest of casein, 0.3% papaic digest of soybean meal, 0.5% NaCl,<br>0.25% $K_2HPO_4$ and 0.25% glucose, pH 7.3         |

ที่มา : Bourneow และคณะ (2012)

ปัจจุบันมีการผลิตเอนไซม์ TGase โดยบริษัทอะยิโนะโมะโตะในชื่อทางการค้า ACTIVA TG ใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา และผลิตภัณฑ์นมให้มีลักษณะเนื้อสัมผัสตามต้องการ นอกจากนี้มีการใช้ TGase ทางทางการแพทย์เพื่อเสริมความแข็งแรงของเนื้อเยื่อพวกกล้ามเนื้อ

### 3. การใช้ประโยชน์จากทรานสกลูตามิเนส

TGase สามารถเร่งการเชื่อมพันธะระหว่างกลูตามีนและไลซีน มีผลทำให้โปรตีนสามารถเกิดเจลที่มีความแข็งแรง มีความคงตัวต่อความร้อน นอกจากนี้โปรตีนในสภาพของอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ ก็สามารถเกิดเจลได้ดี แม้ว่าจะมีน้ำตาลและ/หรือเกลือผสม โดยที่เจلدังกล่าวจะไม่ถูกทำลาย โดยสารที่มีสมบัติทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติด้วยสมบัติต่างๆ ดังกล่าวทำให้ TGase มีศักยภาพสูงในการนำมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการแปรรูปอาหารประเภทต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1.2

**ตารางที่ 1.2** การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนส

| Source                             | Meat substrate                      | Effects                                                                                                    |
|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bovine plasma                      | Purified beef myosin                | Polymerization of myosin                                                                                   |
| Guinea pig liver                   | Actomyosin from turkey or beef      | Polymerization of actomyosin                                                                               |
| Pig plasma                         | Chicken myofibrillar proteins       | Polymerization of myosin and actin                                                                         |
| Pig plasma                         | Chicken meat balls                  | Increased strength and cooking yield                                                                       |
| <i>Sv.mobaraense</i>               | Rabbit actin                        | Intramolecular bond in actin                                                                               |
| <i>Sv.ladakanum</i>                | Mackerel surimi                     | Gel strength improved, elasticity decreased                                                                |
| Ajinomoto                          | Pork homogenate                     | Gel formation during heating increased, flat transition phase at 50-60°C decreased, gel firmness increased |
| Active TG-TI, Ajinomoto            | Bovine cardiac myofibrillar protein | Gel formation (G') improved at 70°C and in the transition at 55.8-56.9°C.                                  |
| TG purified from Active WM product | Chicken myofibrillar protein        | Gel formation improved as a function of TG dosage and NaCl concentration                                   |

ที่มา: Buchert และคณะ (2007)

#### (ก) ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

เนื่องจาก TGase มีสมบัติในการเชื่อมประสานระหว่างโมเลกุลของโปรตีน จึงสามารถใช้เอนไซม์ดังกล่าวในการเชื่อมเศษเนื้อชิ้นเล็กๆ ที่เป็นผลพลอยได้จากการตัดแต่งเนื้อสัตว์หรือเศษเนื้อติดกระดูกเพื่อการผลิตเนื้อขึ้นรูป (restructured meat) ซึ่งจัดเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเนื้อสัตว์ที่เป็นวัตถุดิบราคาถูก นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การใช้ TGase จากเลือดหมูในการผลิตลูกชิ้นไก่ที่ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ำ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสดี ในไส้กรอกมีการใช้ TGase เพื่อเพิ่มความแข็งแรง ความยืดหยุ่นของเจล เพิ่มสมบัติการอุ้มน้ำและการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส ทำให้ใช้ฟอสเฟตและสารรีดิวซ์น้อยลง

#### (ข) ผลิตภัณฑ์เนื้อปลา

TGase เป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อปลาตามธรรมชาติ โดยพบปริมาณมากน้อยแตกต่างกัน ตามชนิดของปลา เชื่อกันว่า TGase เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดปรากฏการณ์ซูวารี ซึ่งมีผลทำให้เนื้อปลาลบ เกิดเจลโปรตีนที่มีคุณภาพดี และเป็นสิ่งที่ต้องการในการบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ซูริมิ ดังนั้น การเติม

TGase เพื่อเชื่อมพันธะ G-L ของโปรตีนในเนื้อปลาสด จึงเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลาได้เป็นอย่างดี และยังใช้ในการเพิ่มมูลค่าของเนื้อปลาที่มีเอนไซม์นี้ด้วย

#### (ค) ผลิตกัณห์นม

โปรตีนนมซึ่งได้แก่ เคซีน โดยปกติจะไม่มีเกิดการเกิดเจลโดยใช้ความร้อน แต่การเชื่อมพันธะ G-L โดย TGase จะทำให้เคซีนเกิดเจลที่ทนความร้อน คุณสมบัติดังกล่าวสามารถนำมาใช้ปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประเภทโยเกิร์ตได้ดี โดยโยเกิร์ตที่ผลิตจากน้ำนมที่ผ่านการทำปฏิกิริยาโดย TGase จะมีเนื้อสัมผัสที่ดีและเจลที่ได้มีความแข็งแรง มีความหนืดเพิ่มขึ้น ลดปัญหาการแยกตัวของน้ำในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้มีการใช้ TGase ในการทำเนยทำให้ได้ผลผลิตเพิ่ม รวมทั้งยังมีการนำไปใช้ในไอศกรีมที่มีแคลอรีต่ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์ นุ่ม เรียบ และตักง่าย

#### (ง) ผลิตกัณห์ขนมอบ

เนื่องจากกลูเตนเป็นโปรตีนในแป้งที่สามารถเชื่อมกันได้โดย TGase จึงมีการใช้ TGase ในการผลิตผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยการเชื่อมพันธะ G-L ของโปรตีนในแป้งสาลีในระหว่างการเตรียมก้อนแป้ง (dough) สำหรับการผลิตขนมปังและครัวซองท์ ซึ่งการเชื่อมพันธะดังกล่าวทำให้ก้อนแป้งมีความสามารถในการอุ้มน้ำดีขึ้น และใช้พลังงานกลในการนวดลดลงให้ได้ขนมปังที่มีปริมาตรสูงขึ้นและมีเนื้อสัมผัสที่ดี

#### (จ) ผลิตกัณห์จากถั่วเหลือง

เต้าหู้โดยทั่วไปผลิตได้จากการทำให้เกิดเจลของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลือง โดยการเติม  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  และ/หรือ กลูโคโน-เดลต้า-แลคโตน การผลิตเต้าหู้ที่มีอายุการเก็บรักษานาน จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนสูงด้วยกระบวนการสเตอริไรเซชัน ซึ่งปัญหาที่พบคือ ความร้อนและความดันที่สูงจะทำลายเนื้อสัมผัสของเต้าหู้ได้ มีรายงานการใช้ TGase จะมีเนื้อสัมผัสที่แข็งแรงทนต่อความร้อนและความดันสูงได้

#### (ฉ) ผลิตกัณห์อื่นๆ

การเชื่อมพันธะ G-L ในโปรตีนจากแหล่งต่างๆ โดย TGase เป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงมีการนำ TGase มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารที่ใช้โปรตีนเป็นวัตถุดิบได้หลายรูปแบบ ตัวอย่างเช่น การผลิตหุฉลามเทียมโดยใช้เจลาติน การผลิตแผ่นฟิล์มที่รับประทานได้ หรือแผ่นฟิล์มสำหรับเคลือบผิวผักและผลไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยใช้โปรตีนจากพืชหรือสัตว์ การผลิตไส้เทียมจากคอลลาเจนสำหรับการทำไส้กรอก การผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวที่มีความเหนียวเพิ่มขึ้น และไม่สลายตัวเมื่อต้มหรือลวก เป็นต้น

### วารสารที่เกี่ยวข้อง (สืบค้นเมื่อวันที่ 23 ธันวาคม 2556)

- Bourneow, C., Benjakul, S., Sumpavapol, P and H-Kittikun, A. 2012. Isolation and cultivation of transglutaminase-producing bacteria from seafood processing factorise Romanian Food Biotechnology. 10:28-39.
- Jong, G.A.H. and Koppelman, S.J. 2002. Transgluaminase catalyzed reactions: impact on food applications. Journal of Food Science. 67:279-2806.
- Zhu, Y., Rinzema, A., Tramper, J. and Bol, J. 1995. Microbial transgluaminase a review of its production and application in food processing. Applied Microbiology and Biotechnology. 44:227-282.

### เอกสารอ้างอิง

Buchert, J., Selinheimo, E., Kruus, K., mattinen, M-L., Lantto, R., and Autio, K. 2007. Using crosslinking enzymes to improve textural and other properties of food in Novel Enzyme Tehnology for Food Applications (edited by R. Rastall). Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.

Motoki, M. and Kumazawa, Y. 2000. Recent research trends in transglutaminase technology for food processing. Food Science and Technological Research. 6:151-160.