จุฬาลักษณ์ เพชรพลอย : การศึกษาเสถียรภาพต่อการแช่เยือกแข็งของโปรตีนปลาน้ำจืด
(FROZEN STABILITY OF MUSCLE PROTEIN FROM FRESHWATER FISH)
อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร.จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 77 หน้า. ISBN 974-533-509-6

ศึกษาการเก็บแช่เยือกแข็งสารละลายแอคโตไมโอซิน ซึ่งสกัดจากปลาเขตร้อน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ปลานิล *(Oreochromis niloticus)* ปลายี่สกเทศ *(Labeo rohita)* ปลานวลจันทร์น้ำจืด *(Cirrhira microlepis)* และปลาทรายแดง *(Nemipterus spp.)* ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 วัน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงเคมี-กายภาพของโปรตีน และศึกษาผลของสารปกป้องโปรตีน ได้แก่ สารผสมระหว่างน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล สารผสมระหว่างน้ำตาลซูโครสและทรีฮาโลส และทรีฮาโลสเพียงอย่างเดียว อัตราส่วน 1 ต่อ 1 ในระดับ ร้อยละ 6 และร้อยละ 8 ในเนื้อปลานิลและปลานวลจันทร์น้ำจืดบดเก็บแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายได้และกิจกรรมเอนไซม์เอทีพีเอส (ATPase activity) ในสภาวะที่มีอิออนชนิดต่างๆ ได้แก่ แคลเซียม (Ca^{2+}), แมกนีเซียม (Mg^{2+}), แคลเซียม-แมกนีเซียม (Ca^{2+}-Mg^{2+}) และอีดีทีเอ (Ethylene diamine tetraacetic acid; EDTA) ลดลงตามระยะการเก็บแช่เยือกแข็ง ($p<0.05$) ขณะที่กิจกรรมเอนไซม์เอทีพีเอสในสภาวะที่มีแมกนีเซียม-อีจีทีเอ (Mg^{2+}-Ethyleneglycol bis(2-aminoethylether tetraacetic acid; EGTA) และปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิกเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดในตัวอย่างจากปลาทรายแดงเพิ่มขึ้นในช่วง 10 วันแรกของการเก็บจากนั้นลดลง ($p<0.05$) แต่ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดในปลาน้ำจืด 3 สายพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ($p>0.05$) และเมื่อศึกษาโดยวิธีทางอิเล็กโทรโฟริซิส (SDS-PAGE) ในสภาวะที่ไม่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทธานอล (β-mercaptoethanol; BME) พบว่าตัวอย่างสารละลายแอคโตไมโอซินจากปลาน้ำจืด 3 สายพันธุ์ มีความเข้มแถบโปรตีนไมโอซินสายหลักและแอคตินลดลงในวันที่ 5 ของการเก็บ แต่ในตัวอย่างจากปลาทรายแดงพบการลดลงของความเข้มแถบโปรตีนดังกล่าวในวันที่ 20 ของการเก็บ อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาในสภาวะที่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทธานอลไม่พบการลดลงของความเข้มแถบโปรตีนไมโอซินและแอคตินในตัวอย่างจากปลานิลและปลายี่สกเทศ แต่พบในตัวอย่างจากปลานวลจันทร์น้ำจืดและปลาทรายแดงในวันที่ 20 ของการเก็บ แสดงให้เห็นถึงการเกาะตัวกันของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ในตัวอย่างจากปลาน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์ ขณะที่การเกาะตัวกันของโปรตีนในตัวอย่างจากปลาทรายแดงเป็นอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบเสถียรภาพต่อการแช่เยือกแข็งพบว่าสารละลายแอคโตไมโอซินจากปลานิลและปลายี่สกเทศมีเสถียรภาพต่อการแช่เยือกแข็งสูงกว่าตัวอย่างจากปลานวลจันทร์น้ำจืดและปลาทรายแดง ($p<0.05$)

ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้และกิจกรรมเอนไซม์เอทีพีเอสในสภาวะที่มีแคลเซียมอิออนของปลานิลและปลานวลจันทร์น้ำจืดบดที่เติมสารปกป้องโปรตีนมีระดับการลดลงที่น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมสารปกป้องโปรตีน) ($p<0.05$) ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดและพื้นผิวไฮโดรโฟบิกในตัวอย่างที่เติมสารปกป้องโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 6 เดือน อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ($p<0.05$) ซึ่งจากผลการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงเคมี-กายภาพ พบว่าสารปกป้องโปรตีนทุกชนิดที่ศึกษามีประสิทธิภาพในการป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) นอกจากนี้การเติมสารปกป้องโปรตีนยังช่วยลดการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสในเนื้อปลาตลอดระยะการเก็บแช่เยือกแข็ง ($p<0.05$) ค่าแรง ณ จุดแตกหัก (Breaking force) ของตัวอย่างเจลควบคุมมีค่าสูงกว่าตัวอย่างเจลที่เติมสารปกป้องโปรตีนและลดลงตามระยะการเก็บแช่เยือกแข็ง ($p<0.05$) ขณะที่ค่าระยะทางผิดรูป (Deformation) เริ่มต้น (เดือนที่ 0) ของทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่ที่ระยะการเก็บ 6 เดือน เจลจากเนื้อปลานิลบดที่เติมทรีฮาโลส ร้อยละ 6 และตัวอย่างเจลจากเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดที่เติมสารผสมระหว่างซูโครสและทรีฮาโลส ร้อยละ 6 มีค่าระยะทางผิดรูปสูงสุด ($p<0.05$) การบ่มเจลเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดและปลานิลบดที่อุณหภูมิ 40 และ 55 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เจลมีค่าแรง ณ จุดแตกหัก และค่าระยะทางผิดรูปสูงสุด ตามลำดับ ($p<0.05$) เนื่องจากบทบาทของเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนส ซึ่งทำงานได้ดีที่สภาวะดังกล่าว ขณะที่ค่าแรง ณ จุดแตกหักและค่าระยะทางผิดรูปมีค่าต่ำสุดที่การบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ($p<0.05$) เนื่องจากบทบาทของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาโดยวิธีทางอิเล็กโทรโฟรีซิส (SDS-PAGE) ที่พบความเข้มของแถบโปรตีนไมโอซินสายหลักลดลง ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาคของตัวอย่างเจลควบคุมที่ผ่านการเก็บแช่เยือกแข็งมีลักษณะโครงข่ายร่างแหลดลงอย่างชัดเจน ขณะที่ตัวอย่างเจลที่เติมสารปกป้องโปรตีนพบลักษณะโครงข่ายร่างแหลดลงเล็กน้อย ดังนั้นปลานิลและปลานวลจันทร์น้ำจืดสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งได้ การเติมสารปกป้องโปรตีนโดยการเติมทรีฮาโลส ร้อยละ 6 ในเนื้อปลานิลบด และการเติมสารผสมระหว่างซูโครสและทรีฮาโลส ร้อยละ 6 ในเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบด สามารถช่วยรักษาโปรตีนกล้ามเนื้อปลาในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็งได้นาน 6 เดือน

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2548 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

JULALAK PHETPLOY : FROZEN STABILITY OF MUSCLE PROTEIN FROM FRESHWATER FISH. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. JIRAWAT YONGSAWATDIGUL, Ph.D. 77 PP. ISBN 974-533-509-6

FROZEN STORAGE/PHYSICOCHEMICAL PROPERTY/DENATURATION/ FISH MUSCLE/CRYOPROTECTANT

Physico-chemical changes of actomyosin solution (AM) from tilapia *(Oreochromis niloticus)*, rohu *(Labeo rohita)*, small scale mud carp *(Cirrhira microlepis)* and threadfin bream *(Nemipterus spp.)* during frozen storage at -20°C for 20 days were studied. In addition, cryoprotective effect of sucrose/sorbitol mixture, sucrose/trehalose mixture at a ratio 1:1 and trehalose alone at the level 6% and 8% on tilapia and small scale mud carp mince during storage at -20°C for up to 6 months were investigated. Protein solubility and ATPase activities (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}-Mg^{2+} and EDTA-ATPase activities) of AM from all species decreased ($p<0.05$) with storage time, whereas Mg^{2+}-EGTA-ATPase activity and surface hydrophobicity increased throughout the storage ($p<0.05$). Total sulfhydryl content of AM from threadfin bream increased within 10 days and decreased afterward ($p<0.05$), while there were no changes in other species ($p>0.05$). Intensity of myosin heavy chain (MHC) and actin of tilapia, rohu and small scale mud carp AM on SDS-PAGE without β-mercaptoethanol (BME) decreased on day 5 of frozen storage but that of threadfin bream decreased on day 20. However, no marked changes of tilapia and rohu MHC and actin bands were observed on SDS-PAGE in the presence of BME.

A decrease in intensity was found in small scale mud carp and threadfin bream AM on day 20. Based on these results, aggregation of tilapia, rohu and small scale mud carp AM occurred via disulfide bonds during frozen storage, while threadfin bream AM aggregated via hydrophobic interaction. Among all species studied, tilapia and rohu AM exhibited comparable frozen stability and were higher than that of small scale mud carp and threadfin bream.

Protein solubility and Ca^{2+}-ATPase activity of tilapia and small scale mud carp minces added cryoprotectants decreased to a lesser extent than those of control (no cryoprotectant) ($p<0.05$). Total SH content and surface hydrophobicity of samples with cryoprotectants were also less than those of control throughout 6 months storage at -20°C. Based on physico-chemical parameters, all cryoprotectants exhibited similar effect ($p>0.05$). TGase activity of minces added cryoprotectants gradually decreased during frozen storage. Breaking force of the control was higher than those with added cryoprotectants and drastically decreased during storage ($p<0.05$). Deformation values of all samples were similar at month 0 ($p>0.05$). After 6 months storage, tilapia mince gel added 6%trehalose and small scale mud carp mince gel added 6% mixture of sucrose/trehalose showed the highest deformation ($p<0.05$). Small scale mud carp and tilapia mince gel pre-incubated at 40°C and 55°C for 60 min before heating at 90°C for 30 min showed the highest breaking force and deformation, respectively ($p<0.05$). This was likely due to the effect of endogenous TGase activity. Lowest textural properties were observed when pre-incubated at 65°C for 60 min in concomitant with a decrease of MHC intensity observed on SDS-PAGE, suggesting the proteolytic activity. Gel microstructure of the control was inferior to that of sample added cryoprotectants after stored at -20°C for 6 months. Therefore, tilapia and small scale

mud carp can be used as a raw material for frozen fish mince production. The addition of either 6% trehalose in tilapia or 6% mixture of sucrose/trehalose in small scale mud carp can stabilize frozen muscle protein during storage for up to 6 months.

School of Food Technology

Academic Year 2005

Student's Signature.....

Advisor's Signature.....