

อาสทรี ชูร์ยานี ปราวุลานารี : ผลของกระบวนการเตรียมตัวอย่างก่อนการย่อยต่อกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของไข่ขาวไฮโดรไลเซท (EFFECT OF PRETREATMENT METHODS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EGG WHITE HYDROLYSATE)

อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล, 151 หน้า.

ไข่ขาวเป็นแหล่งสำคัญของเปปไทด์ที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันซึ่งได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ อย่างไรก็ตาม สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสในไข่ขาวเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ระดับของการย่อย (Degree of hydrolysis: DH) ไข่ขาวเกิดขึ้นอย่างจำกัดส่งผลต่อการเกิดเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน กระบวนการเตรียมตัวอย่างก่อนการย่อยเป็นหนึ่งในกลยุทธ์ที่ช่วยเพิ่มการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของไฮโดรไลเซทไข่ขาว คลื่นเสียงความถี่สูง คลื่นไมโครเวฟ และการให้ความร้อนภายใต้แรงดันไอน้ำจึงถูกนำมาใช้ในการเตรียมตัวอย่างไข่ขาวดิบและไข่ขาวสุก ก่อนที่จะนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ การเตรียมตัวอย่างด้วยคลื่นไมโครเวฟ และการทำให้ความร้อนภายใต้แรงดันไอน้ำมีผลทำให้ระดับการย่อยต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ไฮโดรไลเซทไข่ขาวที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยคลื่นไมโครเวฟมีระดับการย่อย และปริมาณโปรตีนสูงกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ความร้อนภายใต้แรงดันไอน้ำ ไฮโดรไลเซทไข่ขาวดิบที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างโดยการให้ความร้อนภายใต้แรงดันไอน้ำเป็นเวลา 5 นาที และ 30 นาที สามารถจับอนุมูลอิสระเอปิตีเอสและแสดงสมบัติรีดิวซ์ได้สูงสุดตามลำดับ ถึงแม้ว่าจะมีระดับการย่อยต่ำ นอกจากนี้ตัวอย่างเหล่านี้ยังมีพื้นที่ใต้กราฟของเอไมด์ I ( $1600-1700\text{ cm}^{-1}$ ) และเอไมด์ II ( $1500-1600\text{ cm}^{-1}$ ) ที่ได้จาก การตรวจวัดด้วยฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FT-IR) มากที่สุดอีกด้วย ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principle component analysis: PCA) แสดงให้เห็นว่า FT-IR สเปกตรัมของไฮโดรไลเซทที่ผ่านการเตรียมด้วยคลื่นไมโครเวฟ และการให้ความร้อนภายใต้แรงดันไอน้ำแยกกลุ่มกันอย่างชัดเจน โดยพบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในช่วงเลขคลื่น  $1577-1589\text{ cm}^{-1}$  แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของแถบเอไมด์ II และเลขคลื่นที่  $1400\text{ cm}^{-1}$  ที่สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปลายสายคาร์บอกซิล (C-terminal end) นอกจากนี้ความแตกต่างกันระหว่างสเปกตรัมของไฮโดรไลเซทตัวอย่างควบคุมและไข่ขาวที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างนั้น เห็นได้เลขคลื่น  $982-1075\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึงการสั่นแบบหักงอ (bending) ของพันธะ CO และ CC ตัวอย่างไฮโดรไลเซทควบคุมมีความสามารถในการปกป้องเซลล์ (cytoprotection) และต้านอนุมูลออกซิเดชันภายในเซลล์ (cellular antioxidant activity :CAA) ในเซลล์ตับ HepG2 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ได้สูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปลายสายคาร์บอกซิลของเปปไทด์

นอกจากนี้การเตรียมตัวอย่างโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความเข้ม  $41.5\text{ W/cm}^2$  ในไข่ขาวสุก แล้วย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส 10% (10% Alcalase:US-B10%) พบว่า เป็นสภาวะที่มี

ประสิทธิภาพที่ดีที่สุด โดยมีระดับการย่อยและความสามารถในการจับกับโลหะสูงสุด ไฮโดรไลเซท US-B10% มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระออกซิเจน (Reactive oxygen species: ROS) ภายในเซลล์ตับ HepG2 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้สูงสุด จากการศึกษาด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า การเพิ่มขึ้นของปลายสายคาร์บอกซิลที่เลขคลื่น  $1400\text{ cm}^{-1}$  สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกับระดับการย่อยสูงสุด โดยเพปไทด์ส่วนใหญ่มีโมเลกุลขนาดเล็ก  $<200\text{ Da}$  ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ไฮโดรไลเซท US-B10% มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ดังนั้น ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเป็นกระบวนการเตรียมตัวอย่างที่ดี สามารถเพิ่มระดับการย่อยและความสามารถในการต้านอนุมูลออกซิเดชันของไฮโดรไลเซทไข่ขาว



สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร  
ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ASTRI SURYANI PRAWULANARI : EFFECT OF PRETREATMENT  
METHODS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EGG WHITE  
HYDROLYSATE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. JIRAWAT  
YONGSAWATDIGUL, Ph.D., 151 PP.

EGG WHITE/ULTRASOUND/MICROWAVE/STEAM STERILIZATION/  
ANTIOXIDANT ACTIVITY/FOURIER-TRANSFORM INFRARED  
SPECTROSCOPY

Egg white is a potential source of antioxidant peptides which would be released upon enzymatic hydrolysis. However, the presence of protease inhibitors in egg white is appeared as a prime cause of the limited degree of hydrolysis (DH) of egg white hydrolysate. This would hamper the release of antioxidant peptides. Pretreatment process is one of the strategies to enhance the hydrolytic reaction and antioxidant activity of egg white hydrolysate. Ultrasound (US), microwave (MW), and steam sterilization (ST) were applied to both raw and cooked egg whites prior to enzymatic hydrolysis. Microwave and steam sterilization pretreatments resulted in hydrolysates with lower DH than the control (CB). Hydrolysates prepared from MW pretreatment on egg whites possessed higher DH and protein recovery as compared to those of ST. Although lower DH values were clearly observed, hydrolysates prepared from 5-min (ST-R5) and 30-min (ST-R30) ST pretreatment on raw egg whites showed the highest ABTS radical scavenging activity and reducing power activity, respectively. High amide I ( $1600-1700\text{ cm}^{-1}$ ) and amide II ( $1500-1600\text{ cm}^{-1}$ ) integral area was also noticed on FT-IR spectra. Principle component analysis (PCA)

demonstrated the FT-IR spectra of hydrolysates prepared from MW and ST pretreatments were clearly separated. The pronounced changes were observed at a wavenumber range of 1577-1589  $\text{cm}^{-1}$ , indicating the changes in amide II bands and at 1400  $\text{cm}^{-1}$ , corresponding to an increase in C-terminal ends. In addition, the different spectra of hydrolysates prepared from controls and pre-treated egg whites was evidenced by the minor contribution of CO,CC-bending groups at wavenumber of 982-1075  $\text{cm}^{-1}$ . The CB hydrolysate possessed the highest cytoprotection and cellular antioxidant activity (CAA) in  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced HepG2-cells, in concomitant with an increase in C-terminal ends.

In addition, ultrasound pretreatment at intensity of 41.5  $\text{W}/\text{cm}^2$  subjected to cooked egg whites followed by 10% Alcalase hydrolysis (US-B10%) was the most potential condition yielding hydrolysate with the highest DH and metal chelation ability. The hydrolysate US-B10% showed the most effective intracellular ROS scavenger in  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced oxidative stress HepG2-cells. FT-IR study revealed that the highest exposure of C-terminal ends at 1400  $\text{cm}^{-1}$  was positively correlated with the highest DH, which contained peptides with a high proportion of small molecular weight <200 Da. It could be a possible reason of the excellent antioxidant activity of hydrolysate US-B10%. The results suggested that ultrasound was a remarkable pretreatment to enhance DH and antioxidant activity of egg white hydrolysate.

School of Food Technology

Academic Year 2020

Student's Signature 

Advisor's Signature 