247513

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

247513

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาและสภาวะการเซ็ทเจลต่อคุณสมบัติในการเกิดเจลของเนื้อปลาโมงบด

Effects of endogenous proteinases and gel setting conditions on gel-forming properties of Mong fish (*Pangasius Bocourti*) mince

โดย

ผศ.ดร.ศุภวรรณ ถาวรชินสมบัติ ผศ.ดร.อารยา อารมณ์ฤทธิ์

ผศ.ดร.ศิริภาวี เอริญวัฒนศักดิ์ ผศ.ดร.รักพงษ์ เพชรคำ

และนางสาวนิสากร ศรีธัญรัตน์

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี

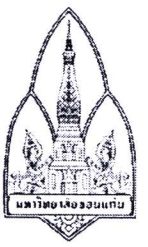
และภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

b00252184

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
247513



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาและสภาวะการเซ็ทเจลต่อคุณสมบัติในการเกิดเจลของเนื้อปลาโมงบด

Effects of endogenous proteinases and gel setting conditions on gel-forming properties of Mong fish (*Pangasius Bocourti*) mince

โดย

ผศ.ดร.ศุภวรรณ ถาวรชินสมบัติ ผศ.ดร.อารยา อารมณ์ฤทธิ์

ผศ.ดร.ศิริภาวี เจริญวัฒนศักดิ์ ผศ.ดร.รักพงษ์ เพชรคำ

และนางสาวนิสากร ศรีธัญรัตน์

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี

และภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

247513

ปลาโมง (Pangasius bocourti) เป็นปลาตระกูลเดียวกับปลาสวาย มีการเพาะเลี้ยงในแถบแม่น้ำโขง ในประเทศเวียดนาม กัมพูชา และประเทศไทย เป็นปลาที่มีเนื้อแน่น มีสีขาว และรสชาติดี ปลาโมงสามารถเกิดเจลที่มีคุณภาพดีได้จากโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์ อย่างไรก็ตามโปรตีนชนิดนี้อาจสูญเสียสมบัติเชิงหน้าที่ดังกล่าว เนื่องจากเอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteinase) ที่มีในกล้ามเนื้อปลาตามธรรมชาติซึ่งถูกกระตุ้นในระหว่างกระบวนการแปรรูปหรือการเตรียมเจลด้วยความร้อน ข้อมูลเกี่ยวกับเอนไซม์ย่อยโปรตีนในปลาโมงที่มีผลทำให้เจลอ่อนนิ่มยังมีน้อย งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนสและความสามารถในการเกิดเจลของกล้ามเนื้อปลาโมงบด การย่อยสลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมเจลสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส การศึกษาการย่อยสลายตัวของกล้ามเนื้อปลาโมงบด สามารถวัดได้โดยวัดปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA – soluble peptide content) โดยการบ่มเนื้อปลาโมงบดที่อุณหภูมิ 45 – 65 องศาเซลเซียส และpH 2.0 – 12.0 พบว่าการย่อยสลายตัวสูงสุดเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ($p \leq 0.05$) มีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเท่ากับ 999 นาโนโมลของไทโรซีนต่อกรัมของตัวอย่าง สอดคล้องกับการลดลงของแถบโปรตีนไมโอซินสายหนัก ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี SDS - PAGE และที่อุณหภูมิดังกล่าว พบปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกสูงสุดที่ pH เท่ากับ 4.0 และ 9.0 เท่ากับ 3,915 และ 2,955 นาโนโมลของไทโรซีนต่อกรัมของตัวอย่างตามลำดับ ($p \leq 0.05$) และการย่อยสลายเกิดขึ้นต่ำสุดที่ pH 2.0 6.0 และ 12.0 (898 1,425 และ 1,325 นาโนโมลของไทโรซีนต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ) ($p > 0.05$) สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส 1-(L-trans-epoxysuccinyl-leucylamino)-4-guanid-inobutane (E-64) และ Pepstatin A สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนสในเนื้อปลาโมงบดได้ทั้งในสภาวะที่เป็นกรดและด่าง โดยที่ pH 4.0 สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส E-64 และ Pepstatin A มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสคิดเป็นร้อยละ 50.5 และ 52.0 ตามลำดับ ส่วนที่ pH 9.0 สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส E-64 และ Pepstatin A มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส คิดเป็นร้อยละ 77.1 และ 76.3 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอนไซม์โปรตีเนสที่พบในเนื้อปลาโมงบดเป็นเอนไซม์โปรตีเนสชนิดซิสเตอีนและชนิดแอสปาติก และเมื่อศึกษาการเตรียมเจลที่อุณหภูมิต่างๆ (25 – 70 องศาเซลเซียส) พบว่า การเตรียมเจลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าแรงที่ทำให้เจลแตก (Breaking force) และระยะทางก่อนเจลแตก (Deformation) ของ เจลจากเนื้อปลาโมงมีค่าต่ำที่สุด (231 กรัม และ 9.51 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ($p \leq 0.05$) เมื่อนำเจลทั้งหมดมาวัดปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกพบว่า เจลที่บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกสูงกว่าเจลที่บ่มที่อุณหภูมิอื่นๆ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE ซึ่งพบแถบโปรตีนไมโอซินสายหนักบางลง ในขณะที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของเจลดีที่สุดและมีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกต่ำที่สุด ($p \leq 0.05$) ดังนั้นในการผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลาโมงควรให้ความร้อนผ่านอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสโดยเร็วที่สุด

ABSTRACT

247513

Mong fish (*Pangasius bocourti*) is a species of iridescent shark (Swai fish) (family Pangasiidae) grown by Vietnamese, Cambodian, and Thai fish farmers in cages along the Mekong Delta for decades. Mong fish is a white fish with delicate texture and taste. It's myofibrillar proteins can form a good quality gel. However, they may loss gel-forming ability due to endogeneous proteinases, which could be activated during processing or heat-induced gelation. Information of proteolytic enzymes in Mong fish, participating in muscle and gel softening is scarce. The aims of this study were to investigate some characteristics of proteolytic enzymes in Mong fish mince and to determine its gel-forming ability. Mince were incubated at different temperatures (45 – 65 °C) and pH (2.0-12.0). The highest autolysis activity was exhibited at 60 °C as evidenced by the TCA soluble peptide content (999 nmole tyrosine/g sample) ($p \leq 0.05$). The optimum pH for the autolysis of Mong fish mince were at 4.0 and 9.0 (3,915 and 2,955 nmole tyrosine/g sample) ($p \leq 0.05$). The lowest autolytic activities were exhibited at pH 2.0, 6.0 and 12.0 ($p > 0.05$) showing 898, 1,425 and 1,325 nmole tyrosine/g sample, respectively. The proteinase inhibitors, 1-(L-trans-epoxysuccinyl-leucylamino)-4-guanid-inobutane (E-64) and Pepstatin A showed the greatest inhibition of autolysis at both acid (50.5% and 52.0% inhibition) and alkali (77.1% and 76.3% inhibition) pHs revealing that proteinases found in Mong fish muscle were cysteine proteinases and aspartic proteinases ($p \leq 0.05$). Gel- forming ability of Mong fish was most inferior at 60 °C, which is the optimal temperature for endogenous proteinase activities. At this condition breaking force and deformation of Mong fish gel were lowest (231 g and 9.51 mm) ($p \leq 0.05$) associated with the highest level of protein degradation, as evidenced by the highest TCA soluble peptide content ($p \leq 0.05$). This phenomenon was also confirmed by The SDS–PAGE pattern as a less band intensity of myosin heavy chain band was observed at this condition. Gel incubated at 45-50 °C resulted in the highest breaking force and deformation, corresponding to the lowest TCA soluble peptide content. The above results suggested that Mong fish products should be heated through the temperature of 60 °C as soon as possible.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้โดยได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 จาก มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ช่วยสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่วิจัย รวมทั้งนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกๆ ท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

คณะผู้วิจัย

พฤศจิกายน 2554

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์	2
3. ขอบเขตของการวิจัย	2
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
1. อุปกรณ์และสารเคมี	3
2. วิธีการทดลอง	
2.1 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	4
2.1.1 การเตรียมวัตถุดิบ	4
2.1.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการทำงานเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	5
2.1.3 การศึกษาผลของ pH ต่อการทำงานเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	5
2.1.4 การศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสต่อการทำงานเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	6
2.2 การศึกษาผลของการเซ็ตเจลต่อคุณภาพของเจลจากเนื้อปลาโมง	7
บทที่ 3 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
1. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	9
1.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	9

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
1.2 การศึกษาผลของ pH ต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	10
1.3 การศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสต่อการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาโมงบด	13
2. การศึกษาผลของการเซ็ตเจลต่อคุณภาพของเจลจากเนื้อปลาโมง	18
2.1 คุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส	18
2.2 ค่วามสามารถในการอุ้มน้ำของเจล	20
2.3 คุณสมบัติทางชีวเคมี	21
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	25
บรรณานุกรม	27
ภาคผนวก	31
การวิเคราะห์ทางเคม	32

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสในเนื้อปลาโมงบดบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที	18
ตารางที่ 2	ปริมาณสารในการเตรียมเจล (สำหรับเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น)	37

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ของเนื้อปลาโมงที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 90 นาที	10
ภาพที่ 2	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาโมงที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 90 นาที	11
ภาพที่ 3	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของ เนื้อปลาโมงบดที่ผ่านการบ่มที่ pH 2.0 – 12.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที	12
ภาพที่ 4	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาโมงบดที่ผ่านการบ่มที่ pH 2.0 – 11.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	13
ภาพที่ 5	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของ เนื้อปลาโมงผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสชนิดต่างๆ ที่ผ่านการบ่มที่ pH 4.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที	14
ภาพที่ 6	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของ เนื้อปลาโมงผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสชนิดต่างๆ ที่ผ่านการบ่มที่ pH 9.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที	15
ภาพที่ 7	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาโมงบดผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสชนิดต่างๆ ที่ ผ่านการบ่มที่ pH 4.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที	16
ภาพที่ 8	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาโมงบดผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสชนิดต่างๆ ที่ ผ่านการบ่มที่ pH 9.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที	17
ภาพที่ 9	ความแข็งแรงของเจลจากเนื้อปลาโมงบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	19
ภาพที่ 10	ความยืดหยุ่นของเจลจากเนื้อปลาโมงบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	19
ภาพที่ 11	ร้อยละการสูญเสียน้ำของเจลเนื้อปลาโมงที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	21
ภาพที่ 12	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเจล จากเนื้อปลาโมงที่ผ่านการเซ็ตเจลที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 60 นาที (ที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที)	22
ภาพที่ 13	SDS-PAGE ของเจลจากเนื้อปลาโมงที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	23
ภาพที่ 14	กราฟมาตรฐานไทโรซีน โดยวิธ Lowry ตามวิธีของ Lowry and others (1951)	35