

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA5580027

ชื่อโครงการ: สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนจากไขปลาทูน่าพันธุ์ครีบลีง (*Thunnus albacores*): การทำบริสุทธิ์ การจำแนกคุณลักษณะและการประยุกต์ใช้สำหรับปรับปรุงคุณภาพเจลซูริมิ

ชื่อนักวิจัย: รองศาสตราจารย์ ดร.สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า มหาวิทยาลัยทักษิณ

E-mail Address: sappasith@tsu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 16 กรกฎาคม 2555 ถึง 15 กรกฎาคม 2558

จากการศึกษาการทำบริสุทธิ์สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากไขปลาทูน่าพันธุ์ครีบลีงโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีตามด้วยการใช้โครมาโตกราฟีชนิดต่าง ๆ จนกระทั่งสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ปรากฏเป็นแถบโปรตีนเดี่ยวบนเจลของ native-PAGE โดยสารยับยั้งมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 11.29 และมีผลผลิตร้อยละ 46.02 สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 70 กิโลดาลตัน เมื่อตรวจสอบด้วยวิธีเจลฟิวเทรชันและ SDS-PAGE สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินมีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 7 และ 50 องศาเซลเซียส มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วงพีเอช 5-8 และมีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 20-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0-3 ไม่มีผลต่อกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ จากการศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วนจากไขปลาทูน่าพันธุ์ครีบลีง (TIYTR) ที่ระดับแตกต่างกัน (ร้อยละ 0-3) ต่อกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนและสมบัติการเกิดเจลซูริมิปลาตาหวานหางนาง (*Priacanthus macracanthus*) พบว่า TIYTR สามารถยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนในเจลคามาโบโกะ (40/90 องศาเซลเซียส) และเจลโมโดริ (60/90 องศาเซลเซียส) ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้งขึ้นกับระดับความเข้มข้นของ TIYTR ที่ใช้ เมื่อระดับความเข้มข้นของ TIYTR เพิ่มขึ้นไม่เกินร้อยละ 3 ปริมาณโปรตีนไมโอซินเส้นหนักในเจลทั้งสองชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุ รวมถึงการลดลงของการย่อยสลายโปรตีนโดยเห็นได้จากปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกมีค่าลดลง ค่าความขาวของเจลคามาโบโกะและโมโดริมีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อระดับความเข้มข้นของ TIYTR มีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลทั้งสองเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้น TIYTR เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) การเติม TIYTR โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว (BPP) และโปรตีนจากไข่ขาว (EW) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 ในเจลซูริมิปลาตาหวานหางนางส่งผลให้ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุมีค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม TIYTR และโปรตีนจากพลาสมาเลือดวัวมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความแข็งแรงของเจลซูริมิได้ดีกว่าโปรตีนจากไข่ขาว ดังนั้น TIYTR สามารถใช้เป็นสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนทางเลือกใหม่ที่มีราคาถูกสำหรับปรับปรุงความแข็งแรงของเจลซูริมิ

คำสำคัญ: โปรตีน เอนไซม์ ทริปซิน ไขปลา ซูริมิ สมบัติการเกิดเจล

Abstract

Project Code: RSA5580027

Project Title: Proteinase inhibitor from yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) roe: Purification, characterization and application for improvement of gel quality of surimi

Investigator: Assoc. Prof. Dr. Sappasith Klomklao Thaksin University

E-mail Address: sappasith@tsu.ac.th

Project Period: July 16, 2012 – July 15, 2015

Trypsin inhibitor was purified to homogeneity from the roe of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) by heat-treatment at 60°C for 10 min, followed by a series of chromatographic separations to obtain a single band using native-PAGE. It was purified 11.29-fold with a yield of 46.02%. Purified trypsin inhibitor had an apparent molecular weight of 70 kDa when analyzed using SDS-PAGE and size exclusion chromatography. Maximal activity was recorded at pH 7.0 and 50°C. The purified inhibitor was stable in temperature ranges from 20 to 60°C for 10 min and in the pH range of 5 to 8. NaCl concentration up to 3% did not significantly affect the inhibitory activity of purified trypsin inhibitor. Effects of partially purified trypsin inhibitor from the roe of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) (TIYTR) at different levels (0-3.0%) on proteolysis and gelling properties of bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) surimi were also investigated. TIYTR showed inhibitory activity against proteolysis in kamaboko (40/90°C) and modori (60/90°C) gels in a concentration-dependent manner. Myosin heavy chain (MHC) was more retained in both gels when the level of TIYTR increased up to 3.0%. This was associated with the increased breaking force and deformation as well as lowered protein degradation as evidenced by the decrease in trichloroacetic acid-soluble peptide content ($p<0.05$). Whiteness of kamaboko and modori gels slightly decreased with increasing TIYTR levels ($p<0.05$). However, water-holding capacity of both gels was improved as TIYTR level increased ($p<0.05$). Incorporation of TIYTR, beef plasma protein (BPP) and egg white (EW) at a level of 3.0% resulted in the increased breaking force and deformation of surimi gels. Nevertheless, TIYTR and BPP showed the higher gel strengthening effect than EW. Therefore, TIYTR could be used as an alternative cheap proteinase inhibitor to improve gel strength of surimi.

Keywords: Proteinase, Trypsin inhibitor, Fish roe, Surimi, Gel properties