ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของทรีฮาโลสในการเป็นสารป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนไมโอไฟบริลและซูริมิระหว่างการเก็บรักษาภายใต้สภาวะแช่แข็ง
ผู้เขียน	นางสาวเอมอ่อน ทวิสุวรรณ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2545

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของชนิดสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนภายใต้สภาวะแช่แข็ง (ทรีฮาโลส, ซูโครส และ ซอร์บิทอล) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8 น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อคุณสมบัติของแอกโตไมโอซินธรรมชาติ (Natural actomyosin; NAM) ที่ผ่านการแช่แข็งและทำละลายจำนวน 1 และ 2 รอบ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ปริมาณของซัลฟ์ไฮดริล และการละลายของ NAM ลดลงแต่ปริมาณพันธะไดซัลไฟด์และไฮโดรโฟบิกซิตี้เพิ่มขึ้น เมื่อจำนวนการแช่แข็งและทำละลายเพิ่มขึ้น ทรีฮาโลส ซูโครส และซอร์บิทอลที่ระดับความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 8) สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าที่ระดับต่ำ เมื่อใช้ Mixture design ในการคำนวณสัดส่วนของทรีฮาโลส ซูโครส และ ซอร์บิทอลต่างๆ โดยให้มีปริมาณรวมเท่ากับร้อยละ 8 (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่า ทรีฮาโลสร้อยละ 8 (สูตร 1) หรือ ทรีฮาโลสร้อยละ 5.34 ซูโครสร้อยละ 1.33 ร่วมกับ ซอร์บิทอลร้อยละ 1.33 (สูตร 2) ให้ประสิทธิภาพในการป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของ NAM ได้สูงสุด โดยสามารถชะลอการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ หรือการเพิ่มขึ้นของไฮโดรโฟบิกซิตี้

จากการศึกษาคุณสมบัติการละลายและรูปแบบโปรตีนของตะกอนโปรตีนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติระหว่างการแช่แข็ง-ทำละลายจำนวน 2 และ 4 รอบ โดยใช้สารละลายต่างๆ คือ 1) สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตร้อยละ 1 (สารละลาย 1) 2) สารละลาย 1 + ยูเรีย 8 โมลาร์ (สารละลาย 2) และ 3) สารละลาย 2 + เมอร์แคปโตเอทธานอลร้อยละ 2 พบว่าตะกอนของชุดควบคุม (ไม่เติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน) ละลายได้ต่ำในทั้ง 3 สารละลายเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่เติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (สูตร 1 และ สูตร 2) การจับตัวของตะกอนโปรตีน NAM ที่เติมและไม่เติมสารป้อง

กันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนมีสาเหตุมาจากพันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะไดซัลไฟด์ ตะกอนของ NAM ที่เติมทรีฮาโลสร้อยละ 8 สามารถละลายได้ในสารละลายทั้งสามชนิดมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ดังนั้นทรีฮาโลสร้อยละ 8 สามารถป้องกันการเกิดอันตรกิริยาของโปรตีนกับโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด จากการศึกษารูปแบบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE พบว่าภายใต้สภาวะ non-reducing ความหนาแน่นของแถบของไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ในชุดควบคุมต่ำกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ แต่ในสภาวะ reducing ไม่พบความแตกต่างของแถบโปรตีน ดังนั้นพันธะไดซัลไฟด์จึงเป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญต่อการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนระหว่างการแช่แข็ง-ทำละลาย

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็นสารป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนระหว่างการใช้ทรีฮาโลสร้อยละ 8 (สูตร 1) และการทรีฮาโลสร้อยละ 5.34 ซูโครสร้อยละ 1.33 ร่วมกับซอร์บิทอลร้อยละ 1.33 (สูตร 2) สารป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนทางการค้า (ซูโครสร้อยละ 4 และ ซอร์บิทอลร้อยละ 4) และชุดควบคุม (ไม่เติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน) ในซูริมิระหว่างการเก็บรักษาที่ –18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และระหว่างการแช่แข็งและทำละลายจำนวน 0, 1, 2, 4 และ 6 รอบ พบว่าการใช้สูตร 1 และสูตร 2 สามารถให้ความคงตัวกับโปรตีนและรักษาความสามารถในการเกิดเจลได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนทางการค้า นอกจากนี้ซูริมิที่เติมสูตร 1 และสูตร 2 ให้ค่าแรงเจาะทะลุสูงกว่าซูริมิที่เติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนทางการค้าภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเก็บรักษา ($p<0.05$) ส่วนซูริมิที่เติมสูตร 2 ให้ค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุสูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 และ 12 สัปดาห์ นอกจากนี้ประสิทธิภาพการป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนของสูตร 1 และ สูตร 2 สำหรับตัวอย่างซูริมิที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายให้ผลเช่นเดียวกับการทดสอบระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งเป็นเวลาต่างๆ ดังนั้นการใช้ทรีฮาโลสหรือการใช้ทรีฮาโลสร่วมกับซูโครสหรือซอร์บิทอลสามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนไมโอไฟบริลและซูริมิระหว่างการแช่แข็งหรือการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นแนวทางในการลดความหวานของผลิตภัณฑ์ซูริมิ

Thesis Title	Cryoprotective Effect of Trehalose on Myofibrillar Proteins and Surimi during Frozen Storage.
Author	Miss Am-on Tawisuwan
Major program	Food Technology
Academic Year	2002

Abstract

The effect of different cryoprotectants (trehalose, sucrose and sorbitol) at various concentrations (0, 2, 4, 6, and 8% (w/v)) on the properties of natural actomyosin (NAM) subjected to 1 and 2 freeze-thaw cycles was investigated. Ca^{2+}-ATPase activity, sulfhydryl content, and solubility decreased with increasing freeze-thaw cycles. However, the increase in disulfide bonds content and surface hydrophobicity was generally observed. Higher level (8%) of trehalose, sucrose, and sorbitol could retard physico-chemical changes more effectively than the lower level. To optimize cryoprotective effect of trehalose, sucrose, or sorbitol, the mixture design was used to formulate different formulae under condition that total amount of cryoprotectant was 8%(w/v). Cryoprotectant formulae exhibiting the highest cryoprotective efficiency in NAM stabilization were 8%trehalose (Formula 1), or the blend of 5.34%trehalose, 1.33%sucrose, and 1.33% sorbitol (Formula 2). Those two formulae were found to prevent the protein denaturation effectively as shown by the retarded changes in physico-chemical properties, including disulfide bond formation and hydrophobic exposure.

Solubility and protein pattern of NAM aggregate in various denaturating solutions was studied. Different solutions including 1) 1%SDS, 2) 1%SDS+8M urea and 3) 1%SDS+8M urea+2%βME were used. Control showed the lower solubility in all denaturating solutions, compared to other treatments. The aggregation of NAM with and without cryoprotectant treatments was caused by hydrogen bonds,

hydrophobic interaction and disulfide bonds. Aggregate of NAM added with Formula 1 (8% trehalose) was more dissolved in three solutions than those added with the blends, commercial cryoprotectants and the control. This suggested that 8%trehalose may prevent protein-protein interaction more effectively than other treatments. From the SDS-PAGE, lower bands intensity of myosin heavy chain (MHC) in all treatments were observed under non-reducing condition, however no marked differences in protein pattern were found under reducing condition. Therefore, disulfide bond played an important role in protein aggregation during freeze-thawing process.

Cryoprotective efficacy of different formulae in surimi as compared with commercial cryoprotectants (4%sucrose and 4%sorbitol) during storage at –18 ^{0}C for 12 weeks and freeze-thawing for 0, 1, 2, 4 and 6 cycles was investigated. The cryoprotectants Formula 1 and 2 effectively stabilized proteins and maintained the gel-forming ability, comparable to the commercial cryoprotectants during extended frozen storage and after freeze-thawing. From the results, surimi added with cryoprotectant Formula 1 and 2 has the higher breaking force than that added with commercial cryoprotectants after 4 weeks of storage ($p<0.05$). However, sample added with cryoprotectant Formula 2 had highest deformation when stored for 10 and 12 weeks. The same results in cryoprotective efficacy were observed in samples subjected to freeze-thawing. Therefore, the use of trehalose or trehalose in combination with sucrose and sorbitol effectively prevents the denaturation of myofibrillar and surimi during or frozen storage. It would be an alternative to reduce the sweetness in surimi products.