ชื่อวิทยานิพนธ์	กิจกรรมการเป็นสารต้านออกซิเดชันและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากกล้ามเนื้อปลาทูแขก (*Decapterus maruadsi*)
ผู้เขียน	นางสาวเยาวภา เธียรศิลากุล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

จากการศึกษากิจกรรมการเป็นสารต้านออกซิเดชันของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากกล้ามเนื้อปลาทูแขก (*Decapterus maruadsi*) ซึ่งผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับการย่อยสลายต่างๆ (ร้อยละ 20 40 และ 60) พบว่าที่ระดับการย่อยสลายเดียวกัน โปรตีนไฮโดรไลเสตซึ่งผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์มีประสิทธิภาพการจับกับอนุมูลอิสระ (DPPH$^{\bullet}$) และรีดิวซิงพาวเวอร์สูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส แต่มีประสิทธิภาพการจับกับโลหะ (Fe^{2+}) ต่ำกว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อปลาทูแขกที่ผ่านการกำจัดไขมันด้วยไอโซโพรพานอลและย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 60 มีสมบัติการจับกับอนุมูลอิสระ (DPPH$^{\bullet}$) และรีดิวซิงพาวเวอร์สูงสุด ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตที่เตรียมจากเนื้อปลาทูแขกซึ่งไม่ได้ผ่านการกำจัดไขมันและมีระดับการย่อยสลายร้อยละ 20 มีประสิทธิภาพการจับกับโลหะ (Fe^{2+}) สูงสุด เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่เตรียมจากเนื้อปลาทูแขกซึ่งผ่านการกำจัดไขมันด้วยไอโซโพรพานอลและย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 60 มาแยกส่วนด้วยเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟีพบว่าได้แฟรกชันที่ประกอบด้วยโมเลกุลขนาด 206 กิโลดัลตัน และขนาด 9 กิโลดัลตัน เมื่อแยกลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ พบว่าได้แฟรกชันจากชั้นเฮกเซน แฟรกชันจากชั้นไดคลอโรมีเทน แฟรกชันจากชั้นเอธิลอะซีเตท และแฟรกชันในส่วนที่เหลือ โดยแฟรกชันจากชั้นไดคลอโรมีเทนและแฟรกชันจากชั้นเอธิลอะซีเตทมีประสิทธิภาพการจับกับอนุมูลอิสระ (DPPH$^{\bullet}$) และ รีดิวซิงพาวเวอร์สูงสุด ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตซึ่งไม่ได้ผ่านการแยกส่วนมีประสิทธิภาพการจับกับโลหะ (Fe^{2+}) สูงสุด จากการแยกแฟรกชันจากชั้นไดคลอโรมีเทนด้วยทินเลเยอร์โครมาโต กราฟีและสเปรย์ด้วยสารละลายนินไฮดริน และสารละลายอนุมูลอิสระ (DPPH$^{\bullet}$) แสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนหรือเปปไทด์บางชนิดของแฟรกชันจากชั้นไดคลอโรมีเทนมีสมบัติในการจับกับอนุมูลอิสระ เมื่อศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและแฟรกชันในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตซึ่งไม่ได้ผ่านการแยกส่วน และแฟรกชันจากชั้นไดคลอโรมีเทน ที่ระดับความ

เข้มข้น 1,000 ppm แสดงสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันในระบบกรดลิโนเลอิกและระบบเลซิทิน-ไลโพโซม และให้ผลใกล้เคียงกับการใช้ BHT ที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm ดังนั้นชนิดของเอนไซม์โปรตีเนส ระดับการย่อยสลาย รวมทั้งการกำจัดไขมันของเนื้อปลาทูแขกก่อนการย่อยสลายมีผลต่อกิจกรรมการเป็นสารต้านออกซิเดชันของโปรตีนไฮโดรไลเสต นอกจากนี้การแยกลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์สามารถแยกเปปไทด์ที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

โปรตีนไฮโดรไลเสตจากกล้ามเนื้อปลาทูแขกที่ผ่านการทำแห้งโดยการระเหิดประกอบด้วยโปรตีน (ร้อยละ 68.97) และเถ้า (24.56) ในปริมาณสูง มีสีเหลือง (L* = 58.00, a* = 8.38, b* = 28.32) นอกจากนี้ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง (ร้อยละ 48.04) โดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนและอาร์จินีน และมีโซเดียมเป็นธาตุหลัก โปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถละลายได้ดี (ร้อยละ 99) และสามารถแสดงสมบัติระหว่างเฟสทั้งนี้ขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้ เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตเพิ่มขึ้นดัชนีกิจกรรมการเกิดอิมัลชันมีค่าลดลง ส่วนความสามารถในการเกิดฟองกลับมีค่าเพิ่มขึ้น จากการทดสอบความคงตัวของโปรตีนไฮโดรไล เสตระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่ากิจกรรมการเป็นสารต้านออกซิเดชันและการละลายมีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และโปรตีนไฮโดรไลเสตมีสีเหลืองเพิ่มขึ้นโดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเพิ่มของค่าสีเหลืองมากกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Thesis Title	Antioxidative Activity and Functional Properties of Protein Hydrolysate from Round Scad (*Decapterus maruadsi*) Muscle
Author	Miss Yaowapa Thiansilakul
Major Program	Food Technology
Academic Year	2006

ABSTRACT

Antioxidative activity of protein hydrolysates from round scad (*Decapterus maruadsi*) mince with different degrees of hydrolysis (DH) (20, 40 and 60%) prepared using Alcalase (HA) or Flavourzyme (HF), was determined. At the same DH, HF exhibited a higher 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and reducing power, but a lower Fe^{2+} chelating ability than did HA. HF prepared from isopropanol-defatted mince with 60% DH showed the highest DPPH radical scavenging activity and reducing power, while that without defatting having 20% DH exhibited the highest Fe^{2+} chelating activity. HF prepared from isopropanol-defatted mince with 60% DH (HFIP 60) was fractionated by Sephadex G-75 gel filtration chromatography into two fractions: 206 kDa fraction and 9 kDa fraction. A serial extraction using different solvents was also carried out in order to obtain hexane, dichloromethane, ethyl acetate and residual fractions. Among all fractions tested, dichloromethane and ethyl acetate fractions exhibited the highest DPPH radical scavenging activity and reducing power, while HFIP 60 had the greatest Fe^{2+} chelating activity. Thin layer chromatography of dichloromethane fraction, followed by developing with ninhydrin and DPPH solution revealed that some particular amino acids or peptides of dichloromethane fraction had free radical scavenging capacity. The efficacy in prevention of lipid oxidation of protein hydrolysate and its fractions was also investigated. HFIP 60 and dichloromethane fraction at a 1,000 ppm level exhibited the antioxidative activity in a linoleic oxidation system and lecithin liposome system and the results were comparable to BHT at 25 ppm. Therefore, type of proteinase, DH and defatting process prior to hydrolysis exerted an influence on the antioxidative activity of hydrolysates. Additionally, solvent extraction was a promising means to fractionate antioxidative peptides.

Freeze-dried HFIP 60 comprised high protein content (68.97%) and ash content (24.56%). It was brownish yellow in color (L* = 58.00, a* = 8.38, b* = 28.32). Protein hydrolysate contained a high amount of essential amino acids (48.04%) and had arginine and lysine as the dominant amino acids. Na^{+} was the predominant mineral in the hydrolysate. Protein hydrolysate had an excellent solubility (99%) and possessed the interfacial properties, which were governed by the concentrations. The emulsifying activity index of protein hydrolysates decreased with increasing concentrations ($p<0.05$). Conversely, the foaming abilities increased as the hydrolysate concentrations increased ($p<0.05$). During storage at 25°C and 4°C for 6 weeks, the antioxidative activities and the solubility of round scad protein hydrolysate slightly decreased. Yellowness (b*-value) of protein hydrolysate became more intense as the storage time increased but the rate of increase was more pronounced at 25°C, compared with 4°C.