ลักษณะเฉพาะและสมบัติเชิงหน้าที่ของซาร์โคพลาสมิกโปรตีน จากปลาทรายแดงโม่ง *Nemipterus hexodon*

นางสาวนิสานารถ กระแสร์ชล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549

ISBN 974-14-3430-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I22870892

CHARACTERISTICS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF SARCOPLASMIC PROTEINS FROM ORNATE THREADFIN BREAM *Nemipterus hexodon*

Miss Nisanarth Krasaechol

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic year 2006

ISBN 974-14-3430-8

Copyright of Chulalongkorn University

490035

Thesis Title	CHARACTERISTICS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF SARCOPLASMIC PROTEINS FROM ORNATE THREADFIN BREAM *Nemipterus hexodon*
By	Nisanarth Krasaechol
Filed of Study	Food Technology
Thesis Advisor	Assistant Professor Romanee Sanguandeekul, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Kiattisak Duangmal, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Associate Professor Richard K. Owusu-Apenten, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctoral Degree

..... Dean of the Faculty of Science
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Vanna Tulyathan, Ph.D.)

..... Thesis Advisor
(Assistant Professor Romanee Sanguandeekul, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Kiattisak Duangmal, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Richard K. Owusu-Apenten, Ph.D.)

..... Member
(Associate Professor Suwimon Keeratipibul, Ph.D.)

..... Member
(Assistant Professor Jiraporn Runglerdkriangkrai, Ph.D.)

นิสานารถ กระแสร์ชล : ลักษณะเฉพาะและสมบัติเชิงหน้าที่ของซาร์โคพลาสมิกโปรตีนจากปลาทรายแดงโม่ง *Nemipterus hexodon* (CHARACTERISTICS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF SARCOPLASMIC PROTEINS FROM ORNATE THREADFIN BREAM *Nemipterus hexodon*) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. รมณี สงวนดีกุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ และ ASSOC. PROF. RICHARD K. OWUSU-APENTEN, Ph.D., 182 หน้า. ISBN 974-14-3430-8.

ลักษณะเฉพาะต่าง ๆ และสมบัติเชิงหน้าที่ของซาร์โคพลาสมิกโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งจากปลาทรายแดงโม่ง (threadfin bream sarcoplasmic proteins, TBSP) ได้ถูกนำมาศึกษาทั้งสมบัติทางเคมีกายภาพ ลักษณะเฉพาะทางชีวเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำซาร์โคพลาสมิกโปรตีนซึ่งเป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมผลิตซูริมิมาเพิ่มมูลค่าและใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร ซาร์โคพลาสมิกโปรตีนของปลาทรายแดงโม่งที่สกัดโดยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M ประกอบด้วยโปรตีน 44.20% คาร์โบไฮเดรต 0.20% ไขมัน 1.98% ความชื้น 5.97% และเถ้า 47.65% การหาน้ำหนักโมเลกุลของซาร์โคพลาสมิกโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE พบว่ามีสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลส่วนใหญ่ในช่วง 40-62 kDa (53%) การวิเคราะห์ด้วยวิธี Differential scanning calorimetry พบว่ามี Tm ที่อุณหภูมิ 56°C, 67°C and 76°C

จากการศึกษาทางชีวเคมีพบว่า TBSP ยังคงมี activity ของเอนไซม์โปรติเอสเหลืออยู่ ในการศึกษาลักษณะเฉพาะของเอนไซม์โปรติเอส (crude protease) พบว่าโซเดียมเคซีเนตและ endogenous proteins ซึ่งเป็นโปรตีนใน TBSP เป็นสับสเตรตที่เหมาะสมสำหรับศึกษาเอนไซม์โปรติเอสใน TBSP ในขณะที่ azocasein ไม่เหมาะสม ภาวะที่ทำให้เอนไซม์มี activity สูงสุดคือที่อุณหภูมิ 55°C และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 activity ของเอนไซม์โปรติเอสถูกยับยั้งได้ดีที่สุดด้วยสารยับยั้งเอนไซม์เซรีนคือ สาร phenylmethylsulfonyl-fluoride นอกจากนี้ activity ยังเพิ่มขึ้นเมื่อมี Ca^{2+} แต่ถูกยับยั้งด้วย Mg^{2+} ซึ่งรูปแบบของการยับยั้งโดยสารยับยั้งและอิทธิพลของตัวกระตุ้นที่มีต่อเอนไซม์นี้แสดงให้เห็นว่า TBSP ประกอบด้วยเอนไซม์โปรติเอสหลายชนิดรวมกันได้แก่ ชนิดเซรีน ซิสเตอีนและเมทัลโลโปรติเอส จากการตรวจวัด activity ของเอนไซม์ transglutaminase ปรากฏว่าไม่พบเอนไซม์ชนิดนี้ ระยะเวลาในการเก็บรักษาปลาโดยการแช่แข็งไม่มีผลต่อ activity ของเอนไซม์โปรติเอส แต่การทำแห้งแบบเยือกแข็งทำให้ activity เหลืออยู่ 43-44%

ผง TBSP มีค่าความสามารถในการละลาย 42-46% ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 2-4 และ 7-9 แต่ละลายได้ต่ำที่สุด (16.09%) ที่ 5 มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำเป็น 0.73±0.03 กรัมน้ำ/ กรัมโปรตีน มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำมันเป็น 5.26±0.04 กรัมน้ำมัน/ กรัมโปรตีน ในการศึกษาสมบัติในการเป็นโฟมของ TBSP โดยเปรียบเทียบกับเบตา-แลคโตโกลบูลินและโซเดียมเคซีเนตพบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 2-9 และการมีเกลือ anion และ cation (0.2 M) ไม่มีผลกระทบต่อค่าความสามารถในการเป็นโฟม แต่ค่าความเสถียรของโฟมของ TBSP จะสูงขึ้นเมื่อมีแมกนีเซียมร่วมด้วย TBSP มีค่าดัชนีความสามารถในการเป็นอิมัลชันและค่าดัชนีความเสถียรของอิมัลชันที่ต่ำกว่าเบตา-แลคโตโกลบูลิน การศึกษาสมบัติการเป็นเจลพบว่าการใช้ NaCl (100 mM) และ $CaCl_2$ (5 mM) ร่วมกันจะมีผลให้สมบัติการเป็นเจลของ TBSP ดีกว่าการใช้เกลือตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการดัดแปร TBSP ด้วยวิธี succinylation (succinylated TBSP) วิธี acetylation (acetylated TBSP) และวิธีย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsin-Ih) ซึ่งลำดับของค่าความไม่ชอบน้ำของผิวหน้า (surface hydrophobicity) ของโปรตีนเป็นดังนี้คือ acetylated TBSP < native TBSP < succinylated TBSP < trypsin-Ih TBSP และการดัดแปร TBSP ด้วยวิธี succinylation และวิธี acetylation ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของ TBSP ที่มีค่าความสามารถในการละลายน้ำได้ต่ำที่สุดลดลงจาก 5 เป็น 4 ค่าความสามารถในการเป็นโฟมของ TBSP เพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ทริปซิน อย่างไรก็ตาม TBSP ที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธี acetylation มีค่าความเสถียรของโฟมสูงสุด ค่าดัชนีความสามารถในการเป็นอิมัลชันของ TBSP ที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธี succinylation จะมีค่ามากกว่า TBSP ที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสมบัติการเป็นอิมัลชันยังแสดงให้เห็นว่า TBSP ที่ผ่านการดัดแปรมีสมบัติการเป็นอิมัลชันที่ดี ค่า storage modulus (G') เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ ≥ 50°C แสดงให้เห็นว่า TBSP มีสมบัติการเป็นเจลแบบ heat induced gelation

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา ....2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4473814023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEY WORD: CHARACTERISTIC / FUNCTIONAL PROPERTIES / SARCOPLASMIC PROTEINS / PROTEASE / THREADFIN BREAM FISH
NISANARTH KRASAECHOL : CHARACTERISTICS AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF SARCOPLASMIC PROTEINS FROM ORNATE THREADFIN BREAM *Nemipterus hexodon*. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. ROMANEE SANGUANDEEKUL, Ph.D., THESIS CO-ADVISORS: KIATTISAK DUANGMAL, Ph.D., ASSOC. PROF. RICHARD K. OWUSU-APENTEN, Ph.D., 182 pp. ISBN 974-14-3430-8.

The general characteristics and functional properties of freeze-dried threadfin bream sarcoplasmic proteins (TBSP) were studied. The physicochemical properties, biochemical characteristics and functional properties of TBSP were examined for further information to use as a valuable food ingredient. The compositions of TBSP, extracted by using 0.1 M sodium phosphate buffer, were 44.20% crude protein, 0.20% carbohydrate, 1.98% lipid, 5.97% moisture and 47.65% ash. SDS-PAGE of TBSP showed major components with the molecular weights of 40-62 kDa (53%). Differential scanning calorimetry (DSC) produced three endothermic peaks with melting peak temperatures (Tm) at 56°C, 67°C and 76°C.

The biochemical characteristics studies of TBSP showed significant proteolytic activity. The protease from TBSP (crude protease) was characterized. Azocasein was not a suitable substrate. In contrast, sodium caseinate or endogenous proteins provided effective assays for threadfin bream protease(s). The optimum temperature of crude protease activity from TBSP was 55°C and the optimum pH was 7. Proteolytic activity from TBSP was strongly inhibited by serine protease inhibitor, phenylmethylsulfonylfluoride. Crude protease from TBSP was strong activation by Ca^{2+} and inhibition by Mg^{2+}. The inhibitory pattern and effect of activators indicated that TBSP contained a mixture of serine, cysteine and metallo-protease. TBSP has no detectable transglutaminase activity. Preparation of TBSP from fresh frozen fish or frozen storage fish had no effect on the protease activity but freeze-drying reduced protease activity 43-44%.

TBSP powder was 42-46% soluble at pH 2-4 and pH 7-9 with minimum (16.09%) solubility at pH 5. The water holding capacity of TBSP was 0.73±0.03 g water/g protein. The oil holding capacity of TBSP was 5.26±0.04 g oil/g protein. The foaming characteristics for TBSP were compared to beta-lactoglobulin or sodium caseinate reference proteins, at pH 2-9 and in the presence of a variety of anions or cations (0.2 M). They had no effect on the foaming capacity of TBSP but foam stability increased in the presence of magnesium. These trends were similar to those obtained for sodium caseinate or beta-lactoglobulin. Emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index for TBSP were lower than that of beta-lactoglobulin. The combination of NaCl (100 mM) and $CaCl_2$ (5 mM) enhanced TBSP gelation more than either salt alone.

Modification by succinylation and acetylation, and trypsin hydrolysis (trypsin-1h) were studied. The order of surface hydrophobicity values was acetylated TBSP < native TBSP < succinylated TBSP < trypsin-1h TBSP. From the pH-solubility profile for acylated TBSP, the lowest solubility was shifted from pH 5 to 4. TBSP foaming capacity was increased due to enzymatic modification. Acetylated TBSP was the highest foam stability. The EAI for succinylated TBSP was higher than unmodified TBSP. Values for the storage modulus (G') significantly increased with temperature ≥ 50°C, which showed TBSP was heat induced gelation.

Department .....Food Technology ..... Student's Signature..... Nisanarth Krasaechol

Field of Study.....Food Technology..... Advisor's Signature..... Romanee Sanguandeekul

Academic Year...2006..... Co-advisor's Signature..... Kiattisak Duangmal

Co-advisor's Signature..... R.K. Owusu-Apenten

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere respect and thankfulness to my advisor Asst. Prof. Dr. Romanee Sanguandeekul and my co-advisors Dr. Kiattisak Duangmal and Assoc. Prof. Dr. Richard K. Owusu-Apenten for their guidance and support in research and writing in thesis. I also thank them for giving me so many opportunities for personal and spiritual advancement, as well as the encouragement and perseverance to follow my dreams and destination. I also wish to thank my thesis committee Assoc. Prof. Dr. Vanna Tulyathan, Assoc. Prof. Dr. Suwimon Keeratipibul and Asst. Prof. Dr. Jiraporn Runglerdkriangkrai for their valuable suggestions. I would particularly like to extend my sincere thanks to Asst. Prof. Dr. Pasawadee Pradipasena who gave me valuable suggestions whenever I got problems in gelation.

My sincere thanks are extended to all the people who collaborated in the development of this work. I am especially beholden to Prof. Dr. John D. Floros, Prof. Dr. Gregory R. Ziegler, Assoc. Prof. Robert F. Roberts, Asst. Prof. Koushik Seetharaman and Ms. Priscilla A. Ryland for their supports at Department of Food Science, College of Agricultural Sciences, The Pennsylvania State University, USA.

A special thank you is extended to my best friends, all at PSU, CU and BUU who always give encouragements and invaluable helps, no matter what I might be. Their friendship will be forever cherished. Various others friends are appreciated for their indispensable and crucial help. A hearty and special thank you also goes to them.

I have been blessed in my life with a remarkably supportive family. This thesis also belongs to them for encouraging my continuous pursuit of study and for supporting me in every step along the way. My deepest appreciations go to my dearest sister, treasured brothers and beloved nephews and niece, for the love they have always given me. My sister has been a financial support, an inspiration and an example of dedication to professional life. My big brother within his big heart is an excellent wish to see me succeed and thrive. I am really most grateful for theirs.

A profound gratefulness, respect and admiration are belong to my parents, who have always believed in me and have provided me with unconditional love, guidance, encouragement, and financial support throughout my long and never ending education, and also the life. The long journey of Ph.D. degree that culminated with this work may have never begun without my parents, who are the most important of my life. For these and so many other reasons I am proud to be their daughter.

TABLE OF CONTENTS

	Page
ABSTRACT (Thai)	iv
ABSTRACT (English)	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
TABLE OF CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	xi
LIST OF FIGURES	xiii
ABBREVIATIONS	xiv
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II LITERATURE REVIEW	4
2.1 Sources of food proteins	4
2.2 Fish	8
2.2.1 Production of fish	8
2.2.2 Proteins in fish	9
2.2.3 Technological aspects of fish proteins	19
2.3 Functional properties of proteins	26
2.3.1 Solubility	27
2.3.2 Water and oil holding capacity	29
2.3.3 Foaming properties	31
2.3.4 Emulsifying properties	34
2.3.5 Gelation	38
2.4 Modification of proteins	40
2.4.1 Chemical and enzymatic modifications of proteins	42
2.4.2 Properties of modified proteins	46
III MATERIALS AND METHODS	50
Materials	50
Chemicals	50
Equipments	51

Page

3.1 Physicochemical properties of TBSP..... 52
3.1.1 Sarcoplasmic proteins preparation..... 52
3.1.2 Proximate analysis and amino acid profile 52
3.1.3 Determination of sulfhydryl group..... 53
3.1.4 Determination of surface hydrophobicity..... 53
3.1.5 Protein determination by modified Lowry's method..... 54
3.1.6 Determination of amino group content by trinitrobenzenesulfonic acid..... 56
3.1.7 Determination of molecular weight by SDS-PAGE..... 56
3.1.8 Determination of molecular weight by gel filtration..... 59
3.1.9 Differential scanning calorimetry..... 59
3.2 Biochemical characteristics of proteases from TBSP..... 60
3.2.1 Effect of substrates choice on crude protease of TBSP..... 60
3.2.2 Determination of the pH-activity profile for crude protease of TBSP..... 61
3.2.3 Determination of the temperature-activity profile for crude protease of TBSP..... 62
3.2.4 Effect of inhibitors on crude protease of TBSP..... 62
3.2.5 Effect of activators on crude protease of TBSP..... 63
3.2.6 Effect of frozen storage and freeze-drying on crude protease of TBSP..... 63
3.2.7 Determination of transglutaminase in TBSP..... 64
3.3 Functional properties test..... 65
3.3.1 Solubility..... 65
3.3.2 Water and oil holding capacity..... 65
3.3.3 Foaming properties..... 66
3.3.4 Emulsifying properties..... 67
3.3.5 Gelation 68
3.4 Modification of TBSP..... 70
3.4.1 Chemical and enzymatic modification of TBSP..... 70
3.4.2 Properties of modified TBSP..... 72

Page

IV RESULTS AND DISCUSSION..... 73

4.1 Physicochemical properties of TBSP..... 73

4.1.1 Proximate analysis and amino acid profile of TBSP..... 73

4.1.2 Determination of molecular weight of TBSP by SDS-PAGE..... 77

4.1.3 Determination of molecular weight of TBSP by gel filtration..... 80

4.1.4 Differential scanning calorimetry of TBSP..... 82

4.2 Biochemical characteristics of proteases from TBSP..... 84

4.2.1 Effect of substrates choice on crude protease of TBSP..... 84

4.2.2 Determination of the pH-activity profile for crude protease of TBSP..... 87

4.2.3 Determination of the temperature-activity profile for crude protease of TBSP..... 89

4.2.4 Effect of inhibitors on crude protease of TBSP..... 90

4.2.5 Effect of activators on crude protease of TBSP..... 93

4.2.6 Effect of frozen storage and freeze-drying on crude protease of TBSP..... 95

4.2.7 Determination of enzyme transglutaminase in TBSP..... 97

4.3 Functional properties of TBSP..... 98

4.3.1 Solubility..... 98

4.3.2 Water and oil holding capacity..... 100

4.3.3 Foaming properties..... 101

4.3.4 Emulsifying properties..... 109

4.3.5 Gelation..... 111

4.4 Modification of TBSP..... 119

4.4.1 Chemical and enzymatic modification of TBSP..... 119

4.4.2 Properties of modified TBSP..... 124

V CONCLUSIONS..... 138

5.1 Physicochemical properties of TBSP..... 138

5.2 Biochemical characteristics of proteases from TBSP..... 140

5.3 Functional properties of TBSP..... 141

5.4 Modification of TBSP..... 142

5.5 Overall conclusion..... 143

Page

5.6 Recommendations and suggestion for future work..... 144

REFERENCES..... 146

APPENDICES..... 172

APPENDIX A..... 173

APPENDIX B..... 176

APPENDIX C..... 178

APPENDIX D..... 179

VITA..... 182

LIST OF TABLES

Page

Table 2.1 The major food proteins groups: Plant proteins..... 5

Table 2.2 The major food proteins groups: Animal proteins..... 6

Table 2.3 Protein (%) composition of fish muscle..... 10

Table 2.4 Chemical compositions of the fillets of various fish species..... 20

Table 2.5 Chemical compositions of the fish protein powders..... 21

Table 2.6 Amino acid profiles of fish proteins powders..... 22

Table 3.1 Separating gel and stacking gel formula 57

Table 4.1 Proximate analysis of TBSP..... 73

Table 4.2 Amino acid profile of TBSP..... 76

Table 4.3 Compositions of TBSP..... 77

Table 4.4 Enzymatic specific activity of crude proteases from threadfin bream and cod..... 86

Table 4.5 Effect of inhibitors on enzymatic specific activity of crude protease from TBSP..... 91

Table 4.6 Effect of ions on activity of crude protease from TBSP..... 94

Table 4.7 Effect of freeze-drying on crude protease activity of threadfin bream..... 96

Table 4.8 Transglutaminase activity in TGase sources and TBSP..... 97

Table 4.9 Water and oil holding capacity of TBSP..... 100

Table 4.10 Emulsifying activity index and emulsion stability index of beta-lactoglobulin and TBSP..... 110

Table 4.11 Effect of salts on G' (Pa) of beta-lactoglobulin and TBSP..... 113

Table 4.12 Effect of pH on G' (Pa) of beta-lactoglobulin and TBSP..... 115

Table 4.13 Effect of inhibitors on G' (Pa) of beta-lactoglobulin and TBSP..... 117

Table 4.14 Effect of transglutaminase on G' (Pa) of TBSP..... 118

Table 4.15 Degree of chemical modification..... 120

Table 4.16 Effect of incubation time on degree of hydrolysis (%DH) of TBSP modified by 0.2% trypsin..... 123

Table 4.17 Hydrophobicity of BSA, TBSP and modified TBSP..... 125

Table 4.18 Solubility of TBSP and modified TBSP at pH 2-9..... 127

Page

Table 4.19 EAI and ESI of TBSP and modified TBSP..... 132

Table 4.20 Gelation of TBSP and modified TBSP..... 134

LIST OF FIGURES

Page

Figure 2.1 Reaction of succinic and acetic anhydrides with the ε-amino group of lysine..... 43

Figure 3.1 The flow chart of the modified Lowry's assay..... 55

Figure 4.1 Separation of fish sarcoplasmic proteins on SDS-PAGE..... 78

Figure 4.2 The elution profile of the 2.2% TBSP from a column (16/70 cm) of Sephacryl S-200 HR..... 82

Figure 4.3 DSC thermogram of (a) soluble-TBSP, (b) beta-lactoglobulin and (c) casein..... 83

Figure 4.4 Crude protease activities (Absorbance at 280 nm) of TBSP at pH 2-9 by endogenous substrate activity assay..... 88

Figure 4.5 Temperature enzymatic specific activity profile of 1% TBSP in 0.1 M phosphate buffer pH 7 using endogenous substrate assay.... 89

Figure 4.6 Effect of inhibitors on crude protease of TBSP..... 92

Figure 4.7 Solubility property of TBSP at pH 2-9..... 99

Figure 4.8 Effect of pH on foam capacity of TBSP..... 103

Figure 4.9 Effect of pH on foam stability of TBSP..... 104

Figure 4.10 Effect of cations on foam capacity of 5% TBSP compare with 5% sodium caseinate and 5% beta-lactoglobulin..... 106

Figure 4.11 Effect of anions on foam capacity of 5% TBSP compare with 5% sodium caseinate and 5% beta-lactoglobulin..... 107

Figure 4.12 Effect of cations on foam stability of 5% TBSP compare with 5% sodium caseinate and 5% beta-lactoglobulin..... 108

Figure 4.13 Effect of anions on foam stability of 5% TBSP compare with 5% sodium caseinate and 5% beta-lactoglobulin..... 109

Figure 4.14 Rheology of 5% TBSP examined by oscillatory rheology..... 112

Figure 4.15 pH profiles of solubility of TBSP and trypsin treated TBSP..... 127

Figure 4.16 Effect of modification of TBSP on foam capacity..... 130

Figure 4.17 Effect of modification of TBSP on foam stability..... 130

ABBREVIATIONS

ANS	l-anilino-8-naphthalene sulfonate
Bis	Bis (2-hydroxyethyl) imino-tris-(hydroxymethyl) methane
BSA	Bovine serum albumin
CTC	Copper-tartrate-carbonate
DH	Degree of hydrolysis
DOC	Sodium deoxycholate
DSC	Differential scanning calorimetry
DTNB	5, 5' dithio-bis-2-nitrobenzoic acid
EAI	Emulsifying activity index
ESA	Enzymatic specific activity
ESI	Emulsion stability index
FC	Foam capacity
FS	Foam stability
G'	Storage modulus
G"	Loss modulus
IAA	Iodoacetic acid
IEF	Isoelectric focusing
kDa	Kilodaltons
MD	Degree of modification
MW	Molecular weight
OHC	Oil holding capacity
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
pI	Isoelectric point
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluoride
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SH	Sulfhydryl group
TBSP	Threadfin bream sarcoplasmic proteins
TCA	Thichloroacetic acid
TEMED	*N, N, N', N'*- tetramethylenediamine
TGase	Enzyme transglutaminase
TNBS	2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid

Tris	Tris (hydroxymethyl) amino methane
V_e	Elution volume
V_o	Column void volume
WHC	Water holding capacity