ผู้เขียน นางสาวกนกวรรณ หมัดแมเร๊าะ
สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2548

บทคัดย่อ

จากการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสจากหัวกุ้งกุลาดำ พบว่าเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีกิจกรรมสูงสุดเมื่อใช้ DOPA (3, 4-dihydroxy phenylalanine) เป็นสับสเตรต ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และพีเอช 6.0 เอนไซม์มีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส และสูญเสียกิจกรรมที่พีเอชเป็นกรดหรือด่างสูง กลูตาไทโอน ซีสเตอีน และไทโอยูเรีย สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารยับยั้ง ส่วนโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และเมทานอลสามารถเร่งกิจกรรมของเอนไซม์

สมบัติของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดขึ้นอยู่กับชนิด ความเข้มข้นของน้ำตาลและกรดอะมิโน โดยการใช้กาแลคโตสและไกลซีนที่ระดับความเข้มข้น 0.75 มิลลิโมลาร์ ให้ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่มีความเข้มสีน้ำตาล (A_{420}) ผลิตภัณฑ์ตัวกลางซึ่งวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 294 นาโนเมตร (A_{294}) ความสามารถในการรีดิวซ์ ความสามารถในการจับคอปเปอร์สูงสุด อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสไม่แตกต่างกันระหว่างระบบจำลองกาแลคโตส/ไกลซีน และฟรุกโตส/ไกลซีน เมื่อให้ความร้อนกับระบบจำลองฟรุกโตส/ไกลซีนเป็นระยะเวลาต่างๆ (0-12 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิต่างๆ (80-110 องศาเซลเซียส) พบว่า ผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เตรียมโดยผ่านการให้ความร้อนเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีค่า A_{420}, A_{294} ความเข้มฟลูออเรสเซนต์ ความสามารถในการรีดิวซ์ ความสามารถในการจับคอปเปอร์ รวมทั้งกิจกรรมการยับยั้งของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสสูงสุด ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดจากระบบจำลองฟรุกโตส/ไกลซีน และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นสารตั้งต้นต่างๆ (0.75-30 มิลลิโมลาร์) มีค่า A_{294} และความเข้มฟลูออเรสเซนต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์สารตัวกลาง (A_{294}) มีแนวโน้มเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาล (A_{420}) เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นเพิ่มขึ้น นอกจากนี้กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารตั้งต้นเพิ่มขึ้นโดยพบการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ร้อยละ 80 ที่ระดับความเข้มข้นสารตั้งต้นเท่ากับ 30 มิลลิโมลาร์ การเพิ่มขึ้นของกิจ

กรรมการยับยั้งเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการรีดิวซ์ A_{420}, A_{294} และความเข้มฟลูออเรสเซนต์ มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการรีดิวซ์ รวมทั้งสมบัติในการจับคอปเปอร์ ดังนั้นสมบัติในการจับโลหะและความสามารถในการรีดิวซ์ของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด มีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสจากกุ้งกุลาดำ ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเตรียมจากระบบจำลองฟรุกโตส/ไกลซีนที่พีเอชต่างๆ มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสแตกต่างกัน โดยผลิตภัณฑ์ซึ่งเตรียมที่พีเอช 11 และ 12 มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์สูงสุด (ร้อยละ 90) ซึ่งสัมพันธ์กับค่า A_{420}, A_{294} ความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการจับคอปเปอร์ ซึ่งเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชของระบบเพิ่มขึ้น การลดสีน้ำตาลโดยการใช้ผงถ่านกำมัน หรือใช้คอลัมภ์ Sep-Pak Cartridge C18 มีผลให้ค่า b*, A_{420} ความสามารถในการรีดิวซ์ ความสามารถในการจับกับคอปเปอร์ และ การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสลดลง อย่างไรก็ตาม มีผลให้ความเข้มฟลูออเรสเซนต์มีค่าเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาเมลลาร์ดจากระบบจำลองฟรุกโตส/ไกลซีน ที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ พีเอช 11 โดยผ่านการให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งมีความเข้มข้นของสารตั้งต้นเท่ากับ 30 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในกุ้งกุลาดำที่เก็บรักษาในน้ำแข็งและกุ้งมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสภายในระยะเวลา 10 วัน และให้ผลใกล้เคียงกับกุ้งที่แช่สารประกอบโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.25 โดยมีคะแนนเมลาโนซีสต่ำ (คะแนนเท่ากับ 4) และมีระดับการยอมรับใกล้เคียงกัน ส่วนชุดควบคุมเกิดเมลาโนซีสภายในระยะเวลา 2 วัน และไม่เป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสภายใน 6 วัน

Thesis Title	Inhibition of Phenoloxidase from Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) by Maillard Reaction Products (MRPs)
Author	Miss Kanokwan Matmaroh
Major Program	Food Technology
Academic Year	2005

Abstract

Phenoloxidase (PO) from the cephalothorax of black tiger prawn (*Penaeus monodon*) was characterized. The highest PO activity towards DOPA (3, 4-dihydroxy phenylalanine) was observed at 45ºC and pH 6.0. PO was stable when heated up to 40ºC and lost its activity at very acidic or alkaline pHs. Reduced glutathione, *L*-cysteine and thiourea markedly inhibited PO in a concentration dependent manner. Sodium dodecyl sulfate (SDS) and methanol enhanced its activity.

Characteristics of Maillard reaction products (MRPs) were dependent on types and levels of sugar and amino acid used. Galactose and glycine at a level of 0.75 mM rendered MRPs with the greatest browning intensity (A_{420}), intermediate products (A_{294}), reducing power and copper chelating property. However, no difference in PO inhibitory activity between galactose/glycine and fructose/glycine model system was observed. When fructose/glycine model system was heated for different times (0-12 h) and temperatures (80-110°C), MRPs formed by heating at 100°C for 12 h exhibited the highest A_{420}, A_{294}, fluorescene intensity, reducing power, copper chelating property as well as PO inhibitory activity. MRPs was prepared by heating equimolar mixture of fructose and glycine at different concentrations (0.75-30

mM) at 100 ºC for 12 h. The inhibitory activity of MRPs obtained towards PO gradually increased when the concentration of each reactant (0.75-30 mM) increased and the highest inhibitory activity was found when the reactant concentration of 30 mM was used (80% inhibition). The increase in PO inhibitory activity of MRPs was coincidental with the increase in the reducing power, A_{294}, fluorescence intensity, A_{420}, reducing power as well as copper chelating property. PO inhibitory activity of MRPs was most likely owing to its reducing power and copper chelating property. MRPs derives from fructose/glycine model system with different pHs (7-12) had the different PO inhibitory activity. MRPs derived at pH 11 and 12 rendered the highest PO inhibitory activity (90% inhibition), which was in agreement with the increase in A_{420}, A_{294}, reducing power and copper chelating property. Activated carbon and Sep-Pak Cartridge C18 treatment were applied for decolorization the MRPs. Both decolorization treatments caused the decrease in b*-value, browning intensity, reducing power, copper chelating property and PO inhibitory activity. In contrast, the fluorescence intensity increased with the decolorization treatment.

The effect of MRPs on the inhibition of black tiger prawn melanosis during iced storage was investigated. MRPs derived from 30 mM fructose/glycine model system (pH 11 and 100°C for 12 h) inhibited the enzymatic browning reaction in black tiger prawn during 10 days of iced storage. The treatment of MRPs with 30 mM reactant and 1.25% Na-metabisulfite showed the similar inhibition toward melanosis as evidenced by the lowered score (score = 4). Both treatments were still acceptable up to 10 days iced storage. For the control, melanosis occurred at day 2 and it was not sensorially acceptable within 6 day.