

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเอนไซม์บางชนิดและผลของการบรรจุแบบตัดแปลงสภาพบรรยากาศและสารเคมีบางชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งกุลาดำและกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็น
ผู้เขียน	นางสาวรวนลิน เทพนวล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2550

### บทคัดย่อ

จากการศึกษาโปรตีนจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และกุ้งขาว (*Litopenaeus vanamai*) ที่ผ่านการสกัดและตกตะกอนแยกส่วนโดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวร้อยละ 0-80 พบว่าโปรตีนของกุ้งกุลาดำและกุ้งขาวมีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 7.0 และ 8.0 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เมื่อใช้เคซีนเป็นสับสเตรท โปรตีนจากกล้ามเนื้อกุ้งทั้งสองชนิดมีความคงตัวในช่วงพีเอช 4.0-9.0 และไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส จากการศึกษาการยับยั้งกิจกรรมของโปรตีนจากกล้ามเนื้อกุ้งทั้งสองชนิด พบว่าเอนไซม์ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มซีรีนโปรตีนเอสและซิสเทอีนโปรตีนเอส ในขณะที่เมทัลโลโปรตีนเอสพบเพียงเล็กน้อย เมื่อศึกษาคุณลักษณะของคอลลาจีเนสจากส่วนหัวและกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำพบว่ามีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เมื่อใช้คอลลาเจนจากเอ็นวัวเป็นสารสับสเตรท คอลลาจีเนสจากส่วนหัวของกุ้งทั้งสองชนิดมีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่คอลลาจีเนสจากกล้ามเนื้อมีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส คอลลาจีเนสจากส่วนหัวและกล้ามเนื้อกุ้งขาวมีความคงตัวในช่วงพีเอช 7.0-9.0 ขณะที่คอลลาจีเนสจากกุ้งกุลาดำมีความคงตัวในช่วงพีเอช 4.0-7.0 การศึกษากิจกรรมการยับยั้งของเอนไซม์แสดงให้เห็นว่าคอลลาจีเนสจากส่วนหัวและกล้ามเนื้อของกุ้งทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มซีรีนคอลลาจีเนส

นอกจากนี้เมื่อจำแนกคุณลักษณะของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสจากส่วนหัวของกุ้งกุลาดำและกุ้งขาว พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพอลิฟีนอลออกซิเดส เมื่อใช้ไดไฮดรอกซีฟีนิลอลานีน (DOPA) เป็นสารตั้งต้น มีค่าเท่ากับ 50 และ 45 องศาเซลเซียส สำหรับกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำตามลำดับ และพอลิฟีนอลออกซิเดสไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 และ 45 องศาเซลเซียส สำหรับกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำตามลำดับ พอลิฟีนอลออกซิเดสแสดงกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 5.5 และ 6.5 สำหรับกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำตามลำดับ กิจกรรมของพอลิฟีนอลออกซิเดสถูกยับยั้งสูงสุดด้วยกรดแอสคอร์บิกแอซิดที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เฮกซิลรีซอสีนอลที่ระดับ

ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร กรดซิตริกที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร โปแตสเซียมเบนโซเอท ที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร และ EDTA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

จากการศึกษาการใช้กรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตรร่วมกับการเก็บรักษาภายใต้การตัดแปลงบรรยากาศ (คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 80; ออกซิเจน ร้อยละ 10 และไนโตรเจน ร้อยละ 10) พบว่าสามารถช่วยลดการเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์ เคมีและกายภาพของกุ้งทั้งสองชนิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงจากการลดลงของปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีนและระดับคะแนนของการเกิดเมลานินสีส้ม เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ การใช้กรดแอสคอร์บิกมีผลต่อการชะลอการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามกุ้งมีความสามารถในการจับน้ำลดลงและบริเวณระยะงอกเปลี่ยนเป็นสีส้ม

การปรับปรุงคุณภาพของกุ้งขาวที่เก็บรักษาภายใต้การตัดแปลงสภาพบรรยากาศ (คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 80; ออกซิเจน ร้อยละ 10 และ ไนโตรเจน ร้อยละ 10) สามารถกระทำได้โดยแช่กุ้งในสารละลายไฟโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตรก่อนการบรรจุ โดยมีผลร่วมกันในการป้องกันการเกิดปริมาณค่ารวมที่ระเหยได้และไตรเมทิลเอมีน และมีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในกุ้งขาว เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้การบรรจุแบบตัดแปลงสภาพบรรยากาศเพียงอย่างเดียวและที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ เมื่อประยุกต์ใช้สารละลายเฮกซิลรีซอสีนอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับการเก็บรักษาภายใต้การตัดแปลงสภาพบรรยากาศ (คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 80 และไนโตรเจน ร้อยละ 20) พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดเมลานินสีส้มมากที่สุด ซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส และการลดปริมาณออกซิเจนในบรรยากาศ ซึ่งมีผลต่อการป้องกันการเกิดเมลานิน

กุ้งที่ผ่านการเด็ดหัวมีระดับคะแนนการเกิดเมลานินสีส้มต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งทั้งตัวตลอดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยไม่ขึ้นกับสภาพบรรยากาศหรือการแช่สารละลายไฟโรฟอสเฟต ดังนั้นการเด็ดหัวกุ้งร่วมกับการใช้สารละลายไฟโรฟอสเฟต แสดงผลร่วมต่อการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสและสามารถคงคุณภาพของกุ้งในระหว่างการเก็บรักษาภายใต้สภาวะการตัดแปลงสภาพบรรยากาศที่อุณหภูมิแช่เย็น

<b>Thesis Title</b>	Studies on Some Enzymes and the Effect of Modified Atmosphere Packaging and Some Chemicals on Quality Changes of Black Tiger and White Shrimps during Refrigerated Storage
<b>Author</b>	Miss Ruangnalin Thepnuan
<b>Major Program</b>	Food Technology
<b>Academic Year</b>	2007

### ABSTRACT

Proteases from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Litopenaeus vanamai*) muscles were extracted, fractionated using 0-80% ammonium sulfate precipitation and characterized. Maximal proteolytic activities of black tiger shrimp and white shrimp were observed at pHs 7.0 and 8.0, respectively, and 70°C when casein was used as a substrate. Muscle proteases from both species were stable in wide pH ranges (4.0-9.0) and were unstable at a temperature greater than 55°C. Inhibition study revealed that major proteases from the muscle of both shrimps were serine proteases and cysteine proteases, whereas metalloproteases was a minor protease. Collagenase from the cephalothorax and the muscle of black tiger shrimp showed the highest activity at 55°C when bovine tendon collagen type I was used as a substrate. Collagenase from the cephalothorax of both species was stable up to 40°C, while those from muscle were stable at temperature lower than 50°C. Collagenases from white shrimp cephalothorax and muscle were stable in the pH ranges of 7.0-9.0, while those from black tiger shrimp were stable in the pH ranges of 4.0-7.0. The inhibition study suggested that collagenases from cephalothorax and muscle of both species were mainly serine collagenase.

Additionally, polyphenoloxidase (PPO) from the cephalothorax of black tiger shrimp and white shrimp was characterized. The optimal temperature for PPO using 3, 4-dihydroxy phenylalanine (DOPA) as a substrate was 50°C and 45°C for white shrimp and black tiger shrimp, respectively. PPO was unstable at a temperature greater than 40°C and 45°C for white shrimp and black tiger shrimp, respectively. PPO exhibited the maximal activity at pHs 5.5 and 6.5 for white shrimp and black tiger shrimp, respectively. PPO activity from both shrimps

were strongly inhibited by ascorbic acid (5.0 g/l), followed by 4-hexylresorcinol (10.0 g/l), citric acid (5.0 g/l), sodium benzoate (1.0 g/l) and EDTA (2.5 g/l), respectively.

Ascorbic acid (5.0 g/l) pretreatment in combination with MAP (80% CO<sub>2</sub>, 10% O<sub>2</sub>, 10% N) showed the effectiveness in the reduction of microbiological, chemical and physical deteriorations of both shrimps during storage at 4°C as evidenced by the lowered total viable count, total volatile base, trimethylamine and melanosis score, compared with the samples stored in air. Pretreatment using ascorbic acid also resulted in the retarded degradation of muscle proteins associated with the decreased microbial growth. However, the decrease in water holding capacity and the development of red/orange color were observed in the legs of samples pretreated with ascorbic acid.

To improve the quality of white shrimps, pyrophosphate (PP) at 2% (w/v) and ascorbic acid (5.0 g/l) were used in combination with MAP (80% CO<sub>2</sub>, 10%O<sub>2</sub>, 10% N<sub>2</sub>). The synergistic effects on prevention of TVB and TMA formation and on increasing water holding capacity were noticeable. This was in accordance with the lower microbial load, compared with samples kept under MAP and in air. When 0.25% 4-HR/ 2% PP pretreatment in combination with MAP (80% CO<sub>2</sub>, 20% N<sub>2</sub>) was applied, the highest melanosis inhibition was found. This could be related to PPO inhibition as well as the absence of O<sub>2</sub>, in which the formation of melanin could be prevented.

Decapitated samples exhibited much lower melanosis score, compared with whole samples throughout the storage at 4°C, regardless of atmosphere or PP pretreatment (P<0.05). This result indicated that the removal of the cephalothorax in combination with PP pretreatment showed the synergistic effect on lowering the PPO activity and maintaining the quality of shrimp during MAP storage at refrigerated temperature.