

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การยับยั้ง โพลีฟีนอลออกซิเดสในเนื้อลำไยอบแห้ง

ผู้เขียน

นางสาวณัฐกฤตา พงศ์สกุล

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร. บัณฑิต ลีละศาสตร์ ประธานกรรมการ
 รศ.ดร. นवलศรี รักษาริยะธรรม กรรมการ

บทคัดย่อ

ในการทดลองได้ทำการสกัดเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจากเนื้อลำไยสด โดยใช้ 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 แล้วนำไปทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตและไดอะไลซิส เมื่อทำการศึกษาความสามารถในการใช้สับสเตรทของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส พบว่าเอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอล (polyphenol) ได้ดีกว่าสารไดฟีนอล (diphenol) แต่ไม่มีความสามารถในการใช้สับสเตรทประเภทโมโนฟีนอล (monophenol) ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์เมื่อใช้คาทีคอล เป็นสับสเตรทที่ pH 6.8 อุณหภูมิ 28°C อยู่ในช่วง 3.5-5.6 มก.โปรตีนต่อมล. อุณหภูมิและค่า pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์คือ 55 °C และ pH 7.5 เอนไซม์เสถียรภาพอย่างสมบูรณ์เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ยังคงอยู่มากกว่า 70% เมื่ออยู่ในสารละลายที่มี pH 6.5-9 และลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในสารละลาย pH ต่ำกว่า 5 ผลการศึกษาค่าทางจลนพลศาสตร์เมื่อใช้คาทีคอล เป็นสับสเตรท พบว่ามีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 1.66 mM และ 0.018 หน่วย ต่อนาที ตามลำดับ การศึกษาผลของสารเคมีชนิดต่างๆต่อการทำงานของเอนไซม์พบว่า ซีสเคอีน โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดแอสคอร์บิก และ กรดซิตริก สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้มากกว่า 80% ในขณะที่ แมงกานีสซัลเฟต และแคลเซียมคลอไรด์ มีผลในการเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์

ในการหากรรมวิธีควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยเอนไซม์ในการผลิตเนื้อลำไยอบแห้ง พบว่าการใช้ความร้อนในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ผ่านการนึ่ง 5-10 นาที สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ประมาณ 60-80% แต่จะส่งผลกระทบต่อกลิ่นและลักษณะเนื้อลำไย ในการใช้สารเคมีป้องกันปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ พบว่า การแช่ลำไยในสารละลาย ซีสเตอีน 0.03-0.15 % (w/v) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ประมาณ 30-40% และมีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างในเนื้อลำไยประมาณ 5-6 ppm การแช่ในสารละลายโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.25-1.0 % (w/v) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ประมาณ 20-40% และมีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างในเนื้อลำไยประมาณ 30-50 ppm ส่วนการแช่ในสารละลายกรดแอสคอร์บิก 0.3 % (w/v) และ กรดซิตริก 0.25 % (w/v) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ประมาณ 15% อุณหภูมิที่ใช้ในการอบลำไยเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ คืออบที่ 75°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วอบที่ 55°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง การเก็บรักษาเนื้อลำไยอบแห้งควรเก็บในถุงที่บรรจุก๊าซไนโตรเจน สามารถรักษาสีของเนื้อลำไยอบแห้งให้เป็นสีเหลืองน้ำตาล และชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ 4 เดือนเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และมากกว่า 6 เดือนเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Inhibition of Polyphenol Oxidase in Oven-dried
Longan Pulp

Author Miss Nutkridta Pongsakul

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee Dr. Bundit Leelasart Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Nuansri Rakariyatham Member

Abstract

Polyphenol oxidase was extracted from longan pulp by using 0.2 M phosphate buffer, pH 6.8. The longan polyphenol oxidase was partially purified by ammonium sulphate and dialysis. The enzyme was active toward the polyphenol more than diphenol but not monophenol when substrate specific was studied. Experiment for the effect of concentration of enzyme was performed at 28°C pH 6.8 using 25 mM catechol as substrate, it was found that the optimum concentration should be range 3.5-5.6 mg.protein/ml. The optimum temperature and pH were determined with catechol as 55°C and 7.5 ,respectively. The enzyme was completely denatured at 80°C for 30 min and retained >70% activity after incubation at pH 6.5-9 but there was rapid activity loss at pH<5. The Km and Vmax for the enzyme, with catechol, were 1.66 mM and 0.018 units/min respectively. L-cysteine, KMS, ascorbic acid and citric acid markedly inhibited polyphenol oxidase activity (> 80% inhibition), whereas MnSO₄ and CaCl₂ enhanced activity.

To find a suitable treatment for control enzymatic browning of minimally processed dried longan pulp were investigated. Heat inactivation of the enzyme by steam blanching for 5-10 mins in boiling water was 60-80% inhibition but may produce undesirable flavors and change in texture. Regarding the chemical methods for prevent enzymatic browning, soaking longan pulp in solution of 0.03-0.15 % (w/v) L-cysteine before drying was 30-40% inhibition and sulfur dioxide concentration was 5-6 ppm. Soaking in solution of 0.25-1.0 % (w/v) potassium metabisulphate (KMS) was 20-40% inhibition and sulfur dioxide concentration was 30-50 ppm. ,while 0.3 % (w/v) ascorbic acid and 0.25 % (w/v) citric acid was 15% inhibition. Drying in hot air oven at 75°C for 3 hour and 55°C for 5 hour. It retained the yellow brown and delayed browning for 4 months at room temperature, more than 6 months at 4 °C in nitrogen packaging.