วิไลวรรณ กาบศรี : การเกิดออกซิเดชันของไขมันและสารระเหยโดยการเหนี่ยวนำของเอนไซม์ไลพอกซิจีเนสในปลาและซูริมิ (LIPOXYGENASE-INDUCED LIPID OXIDATION AND VOLATILE COMPOUNDS FORMATION IN FISH AND SURIMI)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 97 หน้า.

คำสำคัญ: ไลพอกซิจีเนส/ออกซิเดชันของไขมัน/สารระเหย/เทคนิคเฮดสเปซ โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน-แก๊สโครมาโตกราฟ-แมสสเปกโทรเมตรี (HS-SPME-GC/MS)/ปลานิล/ซูริมิ

การเปลี่ยนแปลงการเกิดออกซิเดชันของไขมันและสารระเหยของเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆของปลานิลได้แก่ เนื้อปลา เหงือก และหนัง ในระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งถูกตรวจสอบ โดยการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value, PV) กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจีเนส (Lipoxygenase, LOX) องค์ประกอบของไขมันและสารระเหย ตรวจพบกิจกรรมของ LOX และค่า PV ในเหงือก หนัง และเนื้อปลา ตลอดทั้ง 9 วันของการเก็บรักษาและมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น กิจกรรมของ LOX มีค่าสูงสุดในเหงือกปลาในขณะที่ค่า PV ตรวจพบสูงสุดในหนังปลา กรดไขมันลดลงระหว่างการเก็บรักษา โดยกรดโอเลอิค (Oleic acid) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่เดี่ยว (Monounsaturated atty acid, MUFA) หลัก ขณะที่กรดลิโนเลอิค (Linoleic acid) และกรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก (Docosahexaenoic acid, DHA) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่หลายคู่ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) หลักซึ่งพบในทุกส่วนเนื้อเยื่อของปลานิล ตรวจพบสารระเหย 27 ชนิดในเนื้อปลาพบ 45 ชนิดในเหงือกปลาและ 30 ชนิดในหนังปลา เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน-แก๊สโครมาโตกราฟ-แมสสเปกโทรเมตรี (Headspace solid phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry, HS-SPME-GC/MS) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal component analysis, PCA) พบว่า สารระเหยมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มโดย 2-บิวทาโนน (2-Butanone) และโนนานาล (Nonanal) ในเนื้อปลา 6-เมธิล-2-เฮพทาโนน (6-Methyl-2-heptanone) และ2-โนนานาล (2-Nonanal) ในเหงือกปลา 1-เฮพทานอล (1-Heptanol) และ1-โนนานอล (1-Nonanol) ในหนังปลามีศักยภาพเป็นตัวบ่งชี้ความสดของปลานิล นอกจากนี้เฮกซานาล(Hexanal) สามารถเป็นสารบ่งชี้วัดระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลานิลส่วนต่าง ๆ

LOX มีส่วนทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ในปลาและอาหารทะเล เมื่อวิเคราะห์กิจกรรมของ LOX ในปลาเขตร้อนที่ใช้ในการผลิตซูริมิ ได้แก่ ปลาทรายแดง ปลาปากคม และปลาหนวดฤษี โดยวิเคราะห์ในส่วนต่าง ๆได้แก่ เนื้อปลา เหงือก และ หนัง พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าสูงสุดใน

เหงือกของปลาปากคม (376.56 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน) ในขณะที่ค่ากิจกรรมของหนังและเนื้อปลาทรายแดงมีค่าสูงสุด (60.67 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน) ค่า PV สูงสุดในทุกส่วนของปลาทรายแดง กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก และกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิกเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่หลายคู่ส่วนใหญ่ที่พบในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆของปลาเขตร้อน ค่ากิจกรรม LOX ในกระบวนการผลิตซูริมิของปลาปากคมลดลงจาก 157.19 ยูนิตต่อกรัมในวัตถุดิบ เป็น 57.85 ยูนิตต่อกรัมในซูริมิ ซูริมิปลาปากคมมีปริมาณกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิกและกรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิกสูงแสดงว่า LOX อาจมีส่วนทำให้เกิดออกซิเดชันของไขมันระหว่างกระบวนการผลิตซูริมิและในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็ง LOX จากเหงือกปลาปากคมถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยเซฟาคริวเอส-200 (Sephacryl S-200) และไดเอธิลอะมิโนเอธิลเซฟาโรส (Diethylaminoethyl-Sepharose, DEAE-Sepharose) โดยให้ผลผลิตร้อยละ 3.52 และเพิ่มความบริสุทธิ์ 22.43 เท่า สภาวะเหมาะสมต่อการเร่งกิจกรรมของเอนไซม์คือ 25 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 เอนไซม์ยังคงแสดงกิจกรรมร้อยละ 80 ที่ 15 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาบ่งชี้ว่า เอนไซม์อาจเหนี่ยวนำการเกิดออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็น กิจกรรมของเอนไซม์ถูกยับยั้งที่ 50 องศาเซลเซียส และมีความเจาะจงต่อสารตั้งต้นกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิก เอนไซม์ถูกยับยั้งด้วยกรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก (Ethylene diamine tetra-acetic acid, EDTA) เข้มข้น 1 มิลลิโมล และถูกกระตุ้นด้วย 1 มิลลิโมลของเหล็ก (Fe^{2+}) โซเดียม (Na^{+}) และแคลเซียม (Ca^{2+})

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนักศึกษา วิไลวรรณ กาบศรี
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

WILAIWAN KARBSRI : LIPOXYGENASE-INDUCED LIPID OXIDATION AND VOLATILE COMPOUNDS FORMATION IN FISH AND SURIMI. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. JIRAWAT YONGSAWADIGUL, Ph.D., 97 PP.

Keyword: Lipoxygenase/Lipid oxidation/Volatile compounds/Solid phase microextraction coupled with gas chromatography and mass spectrometry/Tilapia/Surimi

Changes in the lipid oxidation and volatile compounds of various tissues of tilapia (*Oreochromis niloticus*) including muscle, gill, and skin during ice storage were investigated by evaluating peroxide values (PV), lipoxygenase activity (LOX), fatty acid composition, and volatile substances. LOX activity and PV were detected in gill, skin, and muscle throughout 9 days of storage, which increased with extended storage time. The highest LOX was found in gill, whereas the highest PV was found in skin. Fatty acid composition of all tissues decreased during storage. Oleic acid was predominant monounsaturated fatty acid (MUFA), whereas linoleic acid (LA) and docosahexaenoic acid (DHA) were the main polyunsaturated fatty acid (PUFA) in all tissues. Twenty-seven volatile compounds were identified in muscle, while 45 compounds in gill and 30 compounds in the skin based on headspace solid phase microextraction coupled with gas chromatography and mass spectrometry (HS-SPME-GC/MS). Principal component analysis showed gradual changes in the volatile composition with increasing storage time. 2-Butanone and nonanal in muscle, 6-methyl-2-haptanone and 2-nonenal in gill, and 1-haptanol, and 1-nonanol in skin showed the potential to be used as freshness indicators. In addition, hexanal was a potential marker for measuring the degree of lipid oxidation in all tissues.

LOX potentially contributes to oxidative off-flavor in fish and seafood. LOX activities of tropical fish used for surimi production, including threadfin bream, lizardfish, and goatfish were detected in gill, skin, and muscle. The highest LOX activity was found in the gill of lizardfish (376.56 U/mg protein), whereas the highest LOX in skin and muscle was found in threadfin bream of 60.67 and 137.04 U/mg protein, respectively. Threadfin bream showed the highest content of PV. DHA and EPA are the main PUFA in all tissues of tropical fish. LOX activity of lizardfish surimi processing

decreased from 157.19 U/g in raw material to 57.85 U/g in surimi. Lizardfish surimi contained a high amount of DHA and EPA, indicating that LOX could partly contribute to lipid oxidation during surimi production and frozen storage. Lipoxygenase from lizardfish gill was purified by two successive chromatographic steps of Sephacryl S-200 and DEAE Sepharose, resulting in 3.52% yield and a 22.43-fold increase in purity. Optimum activity was found at 25 ° C and pH 7.5 with pH stability at 6.0 - 8.5. There was still 80% of enzyme activity remaining at 15 ° C, suggesting that the enzyme might contribute to lipid oxidation during refrigerated storage of lizardfish. The enzyme was thermally inactivated at 50 ° C. The most preferred substrate was 2.5 mM EPA. The enzyme was inhibited by 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and activated by 1 mM Fe^{2+}, Na^{+}, and Ca^{2+}.

School of Food Technology

Academic Year 2021

Student's Signature วิไลวรรณ ทาบศรี

Advisor's Signature