สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์

OPTIMIZE CONDITION OF PROTIEN HYDROLYSIS FROM SHRIMP HEAD USING ENZYME

ธงชัย พุฒทองศิริ
ศิริพร ไชยสงคราม

RCH
ธ117ส
2556

.b 12734731
.i

เลขหมู่
เลขทะเบียน 140089
วัน.เดือน.ปี 11 ธ.ค. 2558

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก เงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์

แหล่งเงิน เงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 88,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี 6 เดือน ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 31 มีนาคม 2557

หัวหน้าโครงการ นาย ธงชัย พุฒทองศิริ และผู้ร่วมโครงการวิจัย นางสาวศิริพร ไชยสงคราม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งเพื่อผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส โดยศึกษาอัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำ ชนิดและระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในหัวกุ้ง พบว่า อัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำ 1:1 ทำให้มีระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis (DH)) สูงที่สุด โดยความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และปาเปนที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทคือร้อยละ 1.5, 1.5 และ 2 ตามลำดับ เมื่อนำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทไปทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี ความขม และกลิ่นกุ้ง พบว่าการใช้เอนไซม์โบรมิเลนทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีคะแนนความชอบด้านความขม และกลิ่นกุ้งสูงที่สุด และสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง คือ การใช้เอนไซม์โบรมิเลนร้อยละ 1.5 อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที จะพบองค์ประกอบหลักให้ที่กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเสท คือ 3-ethyl-2,5-dimethyl pyrazine และ benzaldehyde เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่สกัดได้มาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบกุ้ง พบว่าข้าวเกรียบกุ้งที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 30 ได้คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นกุ้งสูงสุด

คำสำคัญ: หัวกุ้ง, โปรตีนไฮโดรไลเสท, สารปรุงแต่งกลิ่นรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Optimize condition of protein hydrolysis from shrimp head by enzyme

Researcher: Tongchai Puttongsiri and Siriporn Chaisongkram

Faculty: of Agro-Industry **Department:** Food science

ABSTRACT

Protein hydrolysates were prepared through proteolytic enzymes of shrimp heads, the by-products of shrimp processing operations. The effect of shrimp head and water ratio and type and enzyme concentration on protein hydrolysate qualities were studies. Result showed that ratio of shrimp head: water at 1:1 was high degree of hydrolysis (DH). Optomal concentration of alcalase, bromelain and papain for produce protein hydrolysates were 1.5, 1.5 and 2.0% respectively. Protein hydrolysates prepared by bromelain showed that highest linking score of bitternes and shrimp flavor. The optimal conditions were: 1.5% of bromelain a temperature of 60°C and an incubation time of 120 min showed the main flavor compounds of 3-ethyl-2,5-dimethyl pyrazine and benzaldehyde. Rice cracker added 30% of flavering agent from protein hydrolysate was showed the highest liking score of shrimp flavor.

Keyword: shrimp head, protein hydrolysate, flavoring agent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับการอนุเคราะห์และสนับสนุนจากหลายฝ่ายตลอดมา ทางผู้วิจัยขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ของคณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้คำปรึกษาด้านวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ให้บริการอุปกรณ์และเครื่องมือตลอดการทำวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ธงชัย พุฒทองศิริ

ศิริพร ไชยสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 กุ้งขาว	3
2.2 โปรตีนไฮโดรไลเสท	6
2.3 การย่อยสลายโปรตีนในเศษเหลือกุ้ง	6
2.4 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษเหลือของกุ้งโดยใช้เอนไซม์	9
2.5 คุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสท	18
2.6 องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสท	19
2.7 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเสท	24
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	27
3.1 อุปกรณ์และวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย	27
3.2 สถานที่ดำเนินงาน	28
3.3 วิธีการดำเนินงาน	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย	32
4.1 สมบัติทางเคมีกายภาพบางประการของหัวกุ้งบด	32
4.2 สัดส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในหัวกุ้ง	32
4.3 ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง	33
4.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 การพัฒนาโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบ..	40
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	42
5.1 สุปผลการทดลอง	42
5.2 ข้อเสนอแนะ	42
บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย	43
บรรณานุกรม	44
ภาคผนวก	50
ก การวิเคราะห์ทางสถิติ	50
ข การวิเคราะห์ทางเคมี	51
ค การคำนวณระดับความเข้มข้นของเอนไซม์	57
ง. แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส	58
จ. การวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสท ด้วยวิธี GC-MS....	60
ฉ. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นด้วยเครื่อง GC-MS	61
ช. สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย	66
ซ. รายละเอียดผลผลิตงานวิจัยที่ผลิตได้	67
ประวัติผู้วิจัย	79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีส่วนหัว และเปลือกกุ้ง	3
2.2	องค์ประกอบทางเคมีในเศษเหลือของกุ้ง	6
2.3	สารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาของกลิ่นรสอาหารคาว	20
2.4	รสชาติของกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างแบบ L-form	22
3.1	สภาวะการย่อยสลายโปรตีนเมื่อออกแบบการทดลองด้วย RSM	30
3.2	ส่วนผสมในการผลิตข้าวเกรียบปรุงรส	31
4.1	ระดับการย่อยสลายของโปรตีนจากหัวกุ้ง ในสัดส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่แตกต่างกัน	32
4.2	ผลการทดสอบทางประสามสัมผัสด้านความชอบของโปรตีนไฮโดรไลเสทเมื่อเตรียมจากเอนไซม์ 3 ชนิด	35
4.3	สภาวะในการย่อยสลายโปรตีนที่มีผลต่อค่าระดับการย่อยสลาย	37
4.4	องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสททั้ง 9 สภาวะเมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS	39
4.5	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของข้าวเกรียบปรุงรส	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.1	ค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน............ และปาเปนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2	33
4.2	องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่ผลิตจากเอนไซม์โบรมิเลนร้อยละ 1.5 เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS..	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ประเทศไทยมีการเลี้ยงกุ้งและส่งออกกุ้งในรูปแบบต่าง ๆ เช่น กุ้งสดแช่แข็ง กุ้งชุบแป้งทอด กุ้งกระป๋อง เป็นต้น ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งมักมีหัว และเปลือกกุ้งเป็นส่วนที่เหลือทิ้งเสมอ ซึ่งส่วนที่เหลือทิ้งจะคิดเป็นประมาณ 50% ของกุ้งทั้งตัว จะเห็นว่าของเสียจากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งมีของเสียเป็นจำนวนมาก ที่ผ่านมามีงานวิจัยที่ต้องการนำของเสียที่เกิดขึ้นมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น การนำเปลือกกุ้งมาสกัดเป็นไคติน ไคโตซาน และการสกัดโปรตีนจากหัวกุ้ง เป็นต้น โดยเฉพาะโปรตีนซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์หลากหลาย ประโยชน์ต่อเซลล์ผิว มีหน้าที่สร้างใยคอลลาเจนใต้ชั้นผิวหนังของร่างกายช่วยให้ผิวมีความยืดหยุ่น ช่วยสร้างระบบกล้ามเนื้อให้มีความแข็งแรง ทดแทนเซลล์ส่วนที่สูญเสียไปในแต่ละวัน ช่วยลดกลไกการแข็งตัวของเลือด อีกทั้งเป็นส่วนประกอบหลักในภูมิคุ้มกันของร่างกาย ประโยชน์ในทางเกษตรกรรม มีการนำโปรตีนไฮโดรไลเสทมาเป็นตัวดักจับแมลงวันทอง ในด้านอาหารนำโปรตีนไฮโดรไลเสทมาผลิตเป็นซอสปรุงรส เช่น การผลิตซอสปรุงรสจากโปรตีนไฮโดรไลเซทสาหร่ายจากการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด การผลิตซอสปรุงรสจากโปรตีนไฮโดรไลเสทจากของเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเนื้อไก่แยกกระดูกด้วยเครื่องเพื่อใช้ในซอสไก่ชนิดข้น เป็นต้น และเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหารเช่น การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทกากถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสทะเล การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เป็นต้น ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเสทได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในเพราะเป็นการนำเศษที่เหลือจากกระบวนการผลิตมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ เป็นการช่วยเพิ่มมูลค่า อีกทั้งยังช่วยลดปริมาณของเสีย เป็นผลดีต่อสิ่งแวดล้อม

การย่อยสลายโปรตีนออกจากหัวกุ้งสามารถย่อยได้หลายวิธี ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีทางเคมีในการย่อยโปรตีนออกจากหัวกุ้งในขั้นตอนของการผลิตไคติน แต่โปรตีนส่วนที่ย่อยนำมาใช้ประโยชน์ได้ยาก การย่อยโปรตีนจากหัวกุ้งแล้วได้โปรตีนที่มีความบริสุทธิ์มากที่สุด คือการใช้เอนไซม์ในการย่อย การย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งโดยการใช้เอนไซม์ในกลุ่มของเอนไซม์โปรติเอส ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายอยู่ในรูปของอัลฟาอะมิโนแอซิด เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้นระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้น (Kongkeaw *et al.*, 1998) จึงได้มีความสนใจที่จะศึกษาชนิดของเอนไซม์ และสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีน โดยใช้เอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์โปรติเอส จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มาผลิตเป็นสารปรุงกลิ่นรส เพื่อเป็นการช่วยลดปริมาณวัสดุเศษเหลือในอุตสาหกรรมกุ้งได้ทางหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของเอนไซม์โปรติเอสที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง
2. เพื่อศึกสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์โปรติเอส
3. เพื่อศึกษาสารให้กลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดรไลเสท
4. เพื่อศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งมาผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เป็นการศึกษาเพื่อหาสภาวะการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่เหมาสมโดยใช้เอนไซม์เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กุ้งขาว แอล.เวนาไม (*Litopenaeusvannamei*)

กุ้งขาว แอล.เวนาไม (*L.vannamei*) มีถิ่นอาศัยดั้งเดิมตั้งแต่อ่าวบาจาแคลิฟอร์เนีย ด้านมหาสมุทรแปซิฟิกตอนเหนือของเม็กซิโกเรื่อยมาถึงอเมริกากลาง และบริเวณแนวชายฝั่งของประเทศเปรู ซึ่งอุณหภูมิของน้ำในบริเวณนี้จะสูงกว่า 22 องศาเซลเซียส อาศัยอยู่ตามแนวชายฝั่งไปจนถึงความลึกประมาณ 72 เมตร ปัจจุบันการเลี้ยงได้แพร่กระจายไปหลายพื้นที่ เช่น ประเทศจีน และไต้หวัน ในประเทศจีนเลี้ยงกุ้งชนิดนี้มากในเขตไฮหนาน (Hainan) กวงสี (Guangxi) ฉางไห่ (Shanghai) และเจียงซู (Jiangsu) โดยเริ่มต้นเลี้ยงกุ้งขาวแอล.เวนาไม (*L.vannamei*) ในปี ค.ศ. 2000 และแพร่กระจายไปสู่เขตอื่น ๆ ในปี 2001

กุ้งขาว แอล.เวนาไม (*L.vannamei*) เป็นสัตว์ทะเลที่มีผู้นิยมรับประทานกันมาก มีโปรตีนประมาณร้อยละ 60-70 ส่วนประกอบที่สำคัญที่มีต่อรสชาติกุ้ง คือ กรดอะมิโนอิสระ (Free amino acid) ในเปลือกกุ้งประกอบด้วยสารพวกแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้โครงสร้างของเปลือกกุ้งแข็ง และยังประกอบด้วยสารประเภทไคติน (อุดมชัย, 2535)

Meyers (1986) รายงานว่าร้อยละ 35-45 ของกุ้งทั้งตัวคือหัวกุ้ง เป็นแหล่งโปรตีนที่ดี มีกรดอะมิโนคุณภาพดีในปริมาณสูง และประกอบด้วยแคโรทีนอยด์ กรดไขมัน และไคติน ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1องค์ประกอบทางเคมีส่วนหัว และเปลือกกุ้ง

ส่วนที่วิเคราะห์	องค์ประกอบ (ร้อยละ)					
	โปรตีน	ไขมัน	ไคติน	เถ้า	แคลเซียม	ฟอสเฟต
หัวกุ้ง	53.5	8.9	11.1	22.6	7.2	1.68
เปลือกกุ้ง	22.8	0.4	27.2	31.7	11.1	3.16

ที่มา : Meyers (1986)

2.1.1. เศษเหลือของกุ้ง (shrimp waste)

ปัจจุบันอุตสาหกรรมกุ้งมีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจของไทย จากการเพิ่มขึ้นของปริมาณการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้ง ทำให้ต้องใช้วัตถุดิบในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันก็จะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเศษเหลือของกุ้ง (shrimp waste) ซึ่งเศษเหลือของกุ้งในอุตสาหกรรมการแปรรูปประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ส่วนของแข็งที่ไม่ต้องการ (solid waste) ได้แก่ ส่วนหัว หาง เปลือกของกุ้ง รวมถึงส่วนตัวกุ้งที่เกิดจากการผ่าที่ไม่สมบูรณ์ กุ้งหัก (broken shrimp) กุ้งปอกเปลือกไม่ดี (imperfectly peeled) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของกุ้ง และกระบวนการผลิตเศษเหลือของกุ้งอาจมีมากถึงร้อยละ 60 ของน้ำหนักทั้งหมดกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) จะมีส่วนหัวถึงร้อยละ 60 ของน้ำหนักตัวกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) มีส่วนหัวประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักตัวส่วนกุ้งที่เด็ดหัวแกะเปลือกและควักไส้จะมีเศษเหลือประมาณร้อยละ 50 ซึ่งจำนวนสูญเสียเหล่านี้จะลดลงได้โดยการผ่าที่มีประสิทธิภาพและใช้เครื่องมือที่ทันสมัย

2. ส่วนของเหลวที่ไม่ต้องการ (liquid waste) ได้แก่น้ำที่ใช้ละลาย (thaw-water of frozen shrimp) น้ำล้างเนื้อกุ้ง น้ำต้มกุ้ง จากอุตสาหกรรมกุ้งต้มแช่เยือกแข็ง เป็นต้น ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ได้ยากกว่าในส่วนของแข็งที่ไม่ต้องการ เนื่องจากทำการเก็บรวบรวมได้ยากเกิดการปนเปื้อนได้ง่ายจากสิ่งสกปรกหรือจุลินทรีย์ และ โดยทั่วไปไม่สามารถนำไปจำหน่ายได้ ต่างกับส่วนของแข็งที่ไม่ต้องการซึ่งสามารถนำไปจำหน่ายได้ ดังนั้นในโรงงานจึงจำเป็นที่จะต้องลดส่วนของเหลวที่ไม่ต้องการแล้วทำการแยกส่วนของแข็งที่ไม่ต้องการออกจากส่วนของเหลวเพื่อให้ง่ายต่อการบำบัด

ตัวอย่างการนำเศษเหลือของกุ้งไปใช้ประโยชน์

1. การเก็บเกี่ยวเอนไซม์จากน้ำที่ใช้ละลายซึ่งทำให้บริสุทธิ์โดยการปรับความเป็นกรดด่าง เพื่อให้ตกตะกอนจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแยกส่วนที่ไม่ต้องการกรองผ่านแผ่นกรอง (membrane) และทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตามลำดับ (Olsen *et al*, 1990) ตัวอย่างของเอนไซม์ที่มีการศึกษาได้แก่ไคทิเนส (chitinase) เอ็นอะซิ ทิลกลูโคซามินิเดส (*N*-acetylglucosaminidase)

2. การผลิตไคติน และไคโตซาน กระบวนการผลิตไคโตซานให้มีคุณภาพจำเป็นต้องมีกำจัดโปรตีนออก โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนออกจากเศษเหลือกุ้ง ซึ่งไม่ทำลายคุณภาพของไคโตซาน ให้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีสารประกอบเป็นกรดอะมิโนอิสระสูง และสามารถสกัดแอทตาแซนทินได้จากตะกอนที่ผ่านการแยกเอาโปรตีนไฮโดรไลเสทออก (Gildberg and Stenberg, 2001) รัตมณี (2540) ได้ทำการศึกษาและคัดเลือกกระบวนการที่เหมาะสมในการนำเศษเหลือกุ้งมาสกัดโปรตีน และแยกไคตินเมื่อคัดเลือกสภาวะที่ดีได้แล้ว ได้ออกแบบและคำนวณความเป็นไปได้ในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้ฐานการผลิตจากเศษเหลือ 2,600 กิโลกรัม (ผลการสำรวจพบว่าปริมาณการผลิตสูงสุดของโรงงานคือวันละ 20 ตัน) ผลการวิจัยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนคือการใช้เอนไซม์นิวเทรสร้อยละ 0.08 (w/w) อัตราส่วนเปลือกกุ้ง:น้ำเป็น 1:4 ที่ 55 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง ขั้นตอนการแยกไคตินประกอบด้วย การกำจัดแร่ธาตุด้วย 1 M HCl อัตราส่วนเปลือกกุ้ง:HCl เป็น 1:10 ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ต่อด้วยการกำจัดโปรตีนด้วย 2 M NaOH อัตราส่วนเปลือกกุ้ง:NaOH เท่ากับ 1:10 ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. น้ำมันกุ้ง (shrimp oil) หรือ astaxanthin การศึกษา ของ Jianing Pu *et al.* (2010) ใช้น้ำมันเมล็ดฝ้ายสกัด astaxanthin ในเศษเหลือทิ้งของกุ้ง ค่าที่ได้คือ 4.83 mg/100g เศษเหลือทิ้งของกุ้ง และ astaxanthin มีผลเป็นสารยับยั้งการออกซิไดซ์ของน้ำมันเมล็ดฝ้ายเมื่อให้ความร้อน และมีการใช้น้ำมันจากพืชหลายชนิดเพื่อสกัดแคโรทีนอด์ยจากเศษเหลือทิ้งของกุ้งพบว่าการใช้น้ำมันดอกทานตะวันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 150 นาทีให้ผลดีกว่าน้ำมันจากพืชชนิดอื่น (Sachindra and Mahendrakar, 2005) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้ Lactic acid bacteria ในการสกัด astaxanthin คือช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20–35 องศาเซลเซียส (Pacheco *et al*,. 2009)

4. การสกัดแคโรทีนอยด์ (carotenoids) และแคโรทีโนโปรตีน (carotenoproteins) แคโรทีนอยด์ เป็นรงควัตถุที่ให้สีพบมากในเปลือกกุ้ง และปู เมื่อแคโรทีนอยด์รวมตัวกับโปรตีนจะให้สารสีน้ำเงิน แต่เมื่อโปรตีนที่รวมอยู่ถูกแปรสภาพด้วยความร้อนหรือสารเคมีก็จะให้สารที่มีสีแดงที่เรียกว่า แอสตาแซนธิน ซึ่งสามารถนำไปผสมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มสีให้แก่ ปลาแซลมอน กุ้งกั้งปู หรือนำไปผสมในอาหารมนุษย์ โดยใช้ทาที่ผิวของผลิตภัณฑ์เนื้อปูเทียมทำให้มีสีแดงน่ารับประทาน อีกทั้งยังสามารถใช้ในทางการแพทย์เพื่อป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยใช้เอนไซม์ทริปซิน เปปซิน และเอนไซม์ปาเปน ในการสกัด carotene-protein จากเศษเหลือของกุ้งสีน้ำตาล เอนไซม์ช่วยย่อยสลาย และสกัดแคโรทีนอยด์ได้ดีกว่า การใช้สารละลายในการสกัด (Babu *et al*., 2008) แคโรทีนอยด์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์โปรตีเอสให้กรดอะมิโนอิสระสูงกว่า การใช้เอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับเอนไซม์ไลเปสในการสกัด (Armenta *et al*., 2009)

5. สารแอนติออกซิแดนท์จากเปลือกกุ้ง Li *et al.* (1998) ได้สกัดสารแอนติออกซิแดนท์จากเปลือกกุ้งโดยใช้เอทธานอลร้อยละ 95 และทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ silica gel column chromatography นำไปทดสอบกับ rock fish โดยการเคลือบสารที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีจุ่มเพื่อศึกษาความคงตัวของสี และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน พบว่าการเคลือบด้วยสารที่ได้จากการสกัดจากเปลือกกุ้งมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยกับปลาที่ไม่ได้เคลือบ โดยมีกิจกรรมการป้องกันการออกซิเดชันสูงและมีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 4-37 องศาเซลเซียส

6. ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท เนื่องจากในองค์ประกอบเศษเหลือของกุ้งโดยเฉพาะส่วนหัวจะมีปริมาณโปรตีนมากที่สุดดังแสดงในตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีในเศษเหลือของกุ้งชนิดต่างๆ

Composition	Black-tiger prawn (*Penaeus monodon*)		Fresh-water praw (*Macrobrachium rosebergil*)		White prawn (*Penaeus meruguiensis*)	
	Heads (ร้อยละ)	Shells (ร้อยละ)	Heads (ร้อยละ)	Shells (ร้อยละ)	Heads (ร้อยละ)	Shells (ร้อยละ)
Percentage	38	7	55	8	31.5	8.0
Moisture content	78.3	71.20	64.30	64.30	79.60	77.10
Protein (Wet Basis)	13.90	13.00	19.50	16.50	-	-
Nitrogen (Dry Basis)	10.24	7.2	10.14	7.39	8.6	7.01
Protein (Dry Basis)	64.00	45.00	63.40	46.20	53.75	43.80
Fat	4.60	0.60	12.20	0.90	3.54	1.10
Ash	-	-	-	-	6.45	9.2

Protein = percent nitrogen x 6.25

ที่มา : Bhuwapathapun (1996)

2.2 โปรตีนไฮโดรไลเสท

โปรตีนไฮโดรไลเสทสามารถใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ หรืออาหารมนุษย์ โดยเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีนซึ่งจะใช้กับคนหรือสัตว์นั้นก็ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการผลิต ใช้เป็นแหล่งของสารให้กลิ่นรส (Flavorants) โดยสามารถเก็บเกี่ยวได้จากส่วนหัวเปลือก และน้ำต้มกุ้งโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส แต่การสกัดจากส่วนของเหลวที่ไม่ต้องการหรือน้ำต้มกุ้งจะลงทุนสูงกว่าการสกัดจากส่วนของแข็งที่ไม่ต้องการ องค์ประกอบที่สำคัญเมื่อย่อยโปรตีนแล้วคือ กรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นตัวสำคัญที่มีผลต่อรสชาติ นอกจากนี้แล้ว นิวคลีโอไทด์และเกลือแร่ก็มีผลต่อรสชาติเช่นกัน

2.3 การย่อยสลายโปรตีนในเศษเหลือของกุ้ง

2.3.1 การย่อยโปรตีนด้วยน้ำเกลือ

การใช้น้ำเกลือ ในช่วงแรกน้ำเกลือซึ่งมีแรงดันออสโมซิสสูงกว่าน้ำจะทำให้โปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำ (water soluble protein) ละลายออกมาจากหัวกุ้ง จากนั้นน้ำเกลือจะแพร่เข้าไปสร้างพันธะกับโปรตีนแทนที่น้ำทำให้เกิดเป็นสารประกอบเกลือกับโปรตีน (salt-protein complex) ทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาได้มากขึ้นการเพิ่มปริมาณเกลือทำให้มี ionic strength สูงขึ้นทำให้การละลายโปรตีนเพิ่มขึ้นซึ่งเรียกว่า Salting-In (รัตมณี, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลายกรด

การใช้สารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) การย่อยสลายด้วยกรดนั้น พันธะเพปไทด์ที่มีกรดอะมิโนแอสปาร์ติกอยู่ทางด้านปลายจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเพปไทด์อื่นๆ และยังทำให้กรดอะมิโนทริปโตเฟน ซีรีน ทรีอนิน กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบถูกทำลาย (Shih, 1992) การย่อยสลายด้วยกรด เช่น การย่อยสลายด้วยสารละลายกรดโดยใช้วัตถุดิบผสมกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล ทิ้งให้ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 9-12 ชั่วโมงโปรตีนจะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนกำจัดส่วนของฮิวมิน (humin) ซึ่งเป็นส่วนผสมของไทโรซีน (tyrosine) และทริปโตเฟน (tryptophane) ออกไปส่วนที่เหลือนอกเหนือจากโปรตีนทำให้เป็นกลาง และนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยหรือใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 6-7 โมลาร์ ย่อยสลายโปรตีนที่อุณหภูมิ 100-120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Peterson, 1974) การย่อยสลายด้วยกรดนั้นพันธะเพปไทด์ที่มีกรดอะมิโนแอสปาร์ติกอยู่ทางด้านปลายสายจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเพปไทด์อื่นๆประมาณ 100 เท่า (Shih, 1992) วิธีการนี้จะทำให้กรดอะมิโนทริปโตเฟน ซีรีน ทรีโอนีน กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น ซิสตีอีน และกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลถูกทำลาย และยังทำให้กรดอะมิโนแอสปาราจีน และ กลูตามีน ถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนแอสปาร์ติก และกลูตามิก (รุ่งอรุณ, 2545) โดยปัจจัยที่มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับชนิด และความเข้มข้นของกรดซึ่งกรดไฮโดรคลอริกยังเป็นที่นิยม เนื่องจากมีประสิทธิภาพการย่อยพันธะเพปไทด์ได้มากกว่ากรดซัลฟูริกอุณหภูมิ ความดัน และเวลา การเพิ่มอุณหภูมิกับความดันจะช่วยลดระยะเวลา และเพิ่มอัตราเร็วของการย่อยโปรตีน (อาภัสรา, 2535) องค์ประกอบของวัตถุดิบวัตถุดิบที่มีไขมัน และคาร์โบไฮเดรตสูงจะชะลอการเกิดปฏิกิริยาการย่อยของโปรตีน ของเหลวที่ได้หลังจากการย่อยต้องผ่านการปรับ pH ให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ โดยปัจจัยที่มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับ

1. ชนิดและความเข้มข้นของกรด ซึ่งกรดไฮโดรคลอริกยังเป็นที่นิยมเนื่องจากมีประสิทธิภาพการย่อยพันธะเพปไทด์ได้มากกว่ากรดซัลฟูริก

2. อุณหภูมิ ความดัน และเวลา การเพิ่มอุณหภูมิกับความดันจะช่วยลดระยะเวลาและเพิ่มอัตราเร็วของการย่อยโปรตีน (อาภัสรา, 2535)

3. องค์ประกอบของวัตถุดิบ วัตถุดิบที่มีไขมันและคาร์โบไฮเดรตสูงจะชะลอการเกิดปฏิกิริยาการย่อยของโปรตีน

2.3.3 การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลายด่าง

การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่นิยมเป็นส่วนใหญ่ในการใช้สารละลายด่าง ในการย่อยสลายโปรตีนจะมีปฏิกิริยาการย่อยที่เร็วกว่าการใช้สารละลายกรด (Shih, 1992) แต่สารละลายด่างจะทำลายกรดอะมิโนบางชนิดได้แก่ ซีรีน ซีสตีน ซีสเตอีน และไลซีน โดยปฏิกิริยาบีต้าอิลิมิเนชัน (β-elimination) (Howell, 1996) การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยสารละลายด่าง จะเร็วกว่าการย่อยสลายด้วยสารละลายกรด (Shih, 1992) ถ้าหากทำการย่อยสลายด้วยสารละลายด่างมีสภาวะความรุนแรงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเรซีไมเซชัน(racemization) ของกรดอะมิโนโดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของกรดอะมิโนจากรูปแบบแอล (L-form) เป็นรูปแบบดี (D-form) ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และยังทำให้เกิดปฏิกิริยาบีต้า-อิลิมิเนชัน (ß-elimination) ของกรดอะมิโนซีรีน และซิสตีน เป็นผลให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะลานีน (dehydroalanine) ซึ่งสารนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ได้เช่น ซิสตีน และไลซีน ทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด เช่น แลนทิโอนีน (lanthionine) ไลซิโนอะลานีน (lysinoalanine) เกิดการสูญเสียสารอาหารที่สำคัญ และเกิดสารพิษขึ้น (Howell, 1996) การย่อยสลายโปรตีนจากเศษเหลือทิ้งของกุ้งด้วยด่างในอัตรา 1:4 ที่อุณหภูมิที่ใช้อยู่ในช่วง 30-65 องศาเซลเซียส เวลา 2–5 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีน (Bajai *et al.*, 2011)

2.3.4 การย่อยสลายโปรตีนโดยอาศัยจุลินทรีย์

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถใช้โปรตีนเป็นทั้งแหล่งไนโตรเจน และแหล่งคาร์บอน เช่น แบคทีเรียที่สามารถย่อยลสายโปรตีน (proteolytic bacteria) แบคทีเรียนี้จะสามารถย่อยสลายโปรตีนให้ได้กรดอะมิโน โดยมีขั้นตอนการย่อยสลายคือ โปรตีน โปรติเอส เพปโทน โพลีเพปไทด์ และกรดอะมิโน (วราวุฒิ, 2538) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้ Lactic acid bacteria ในการสกัด astaxanthin คือช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20–35 องศาเซลเซียส (Phsheco*et al*,. 2009) เมื่อหมักเศษเหลือทิ้งจากกุ้งด้วย Lactic acid bacteria SW01 พบว่าระยะเวลาในการหมักมีผลต่อ pH เมื่อการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง ความเป็นกรดด่างมีค่าต่ำกว่า 3.86 และ pH จะลดลงถึง 3.73 เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง จะเกิดกรดในกระบวนการหมักทำให้สามารถย่อยสลายแร่ธาตุ และโปรตีนออกจากหัวกุ้งได้อย่างรวดเร็ว ปริมาณแร่ธาตุ และโปรตีนหลังจากการหมักที่ได้ คือร้อยละ 0.98 และ 8.44 (Duan, 2012) ส่วนการแยกโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งด้วยกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *lactobacillus spp.* ซึ่งแยกโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งได้ร้อยละ 89 (Prameela *et al.*, 2010)

Wang and Yeh (2006) ใช้ *Bacillus subtilis* TKU 007 ในการหมักเปลือกกุ้งความเป็นกรดด่างที่เหมาะอยู่ในช่วง 7–11 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ส่วนการใช้ *Psuedomonase aeruginosa* A2 ในการหมักเศษเหลือทิ้งจากกุ้ง ความเข้มข้นของเปลือกกุ้ง 50g/L กลูโคส 50g/L ระยะเวลาที่ใช้ 5 วัน เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการหมักและเป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Ghorbel-Bellaaj, 2011)

Yang *et al.* (2000) ได้ทดลองเปรียบเทียบการแยกโปรตีนออกจาก Crustacean waste โดยใช้*Bacillus subtilis* Y-108, *Bacillus subtilis* CCRC 10029 และ*Pseudomonas maltophilia* CCRC 10737 เพื่อหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสสำหรับย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Crustacean waste โดยทำการหมักเป็นเวลา 7 วันพบว่า *Bacillus subtilis* Y-108 สามารถแยกโปรตีนได้ดีที่สุด

Oh *et al.* (2000) ได้เปรียบเทียบการแยกโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งและปูโดยใช้ *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* เพื่อหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการแยกโปรตีนโดยทำการหมักนาน 7 วันพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการแยกโปรตีนสูงสุด คือร้อยละ 78 ของปริมาณเริ่มต้นการใช้จุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus sp.*หรือ *Pseudomonas sp.* โดยเฉพาะ *Pseudomonas aeruginosa* ในการแยกโปรตีนออกจากเศษเหลือของกุ้งโดยตรงนั้น ไม่สามารถนำโปรตีนมาใช้เป็นอาหารสำหรับคนได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่อาจก่อให้เกิดโรค หรือผลิตสารพิษ และสารต่างๆ ออกมาในระหว่างกระบวนการหมัก ดังนั้นการหาจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค และสร้างสารพิษมาใช้ในการแยกโปรตีนออกจากเศษเหลือของกุ้ง ก็จะช่วยให้สามารถแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับสารต่างๆที่จุลินทรีย์ผลิตออกมา

2.3.5 การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์

ในปัจจุบันการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนมีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงมีการนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะต้องเป็น Food grade ถ้าเป็นเอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ก็ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (non-pathogenic) เช่น เอนไซม์ฟลาโวไซม์ และเอนไซม์โพรทาเม็ก การใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจะดีกว่าการใช้สารเคมีหรือจุลินทรีย์เนื่องจากเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาบริเวณพันธะเพปไทด์โดยไม่ทำลายกรดอะมิโน และใช้ระยะเวลาสั้นกว่าการใช้จุลินทรีย์อีกทั้งยังให้กลิ่น และรสที่เกิดจากกรดอะมิโนอิสระหรือเพปไทด์ได้ดีกว่าการใช้สารเคมี และจุลินทรีย์ แต่ข้อเสียของการใช้เอนไซม์ก็มีอยู่ คือค่าใช้จ่ายในเรื่องของเอนไซม์ที่มีราคาสูง

2.4 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษเหลือของกุ้งโดยใช้เอนไซม์

2.4.1 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

ความสดของวัตถุดิบเริ่มต้นมีความสำคัญ เนื่องจากการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัว และเปลือกกุ้ง มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียจึงควรนำส่วนหัว และเปลือกกุ้งมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยเร็วที่สุด เพื่อที่จะลดการเปลี่ยนแปลงของวัตถุดิบเริ่มต้น นอกจากนี้แล้วการแยกสิ่งปนเปื้อนอื่นโดยส่วนใหญ่นิยมใช้น้ำเย็นในการล้างแล้วเก็บใส่ภาชนะที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

Syowiecki and Khateeb (2000) รายงานว่าในขั้นตอนการเตรียมเปลือกกุ้งได้ใช้เปลือกกุ้งบดเก็บใน polyethylene pouches ที่ -20 องศาเซลเซียสนาน 6 เดือนยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อสกัดโปรตีนไฮโดรไลเสท และไคทินได้ สำหรับการล้างด้วยน้ำนั้นควรคำนึงถึงการสูญเสียโปรตีนหรือเศษเนื้อที่ติดอยู่กับเปลือกกุ้งซึ่งจะสูญเสียออกมากับน้ำที่ใช้ล้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติของวัตถุดิบเช่นอัตราส่วนโปรตีนต่อเปลือกในเศษเหลือของกุ้งจะเป็นสิ่งบอกถึงปริมาณโปรตีนเริ่มต้นในหัวกุ้งแต่ละชนิด ก็จะมีปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกัน เพียงใจ (2537) ได้เปรียบเทียบชนิดของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้วัตถุดิบ 3 ชนิดคือ ปลาป่น หัวกุ้งกุลาดำ และหัวกุ้งก้ามกราม ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นคือร้อยละ 4.41, 3.72 และ 3.66 ตามลำดับ และย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์นิวเทรส สารละลายที่ได้จากการย่อยปลาป่นจะมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือร้อยละ 5.85 รองลงมาคือกุ้งกุลาดำ และหัวกุ้งก้ามกรามซึ่งมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5.12 และ 3.96 ในโปรตีนไฮโดรไลเสทตามลำดับ แต่ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำจะมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นมากที่สุด

การบดเศษเหลือของกุ้งให้มีขนาดเล็กส่วนใหญ่นิยมบดให้ละเอียด ก็เพื่อเพิ่มพื้นที่ให้เอนไซม์ได้สัมผัสกับวัตถุดิบ และเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน ทำให้วัตถุดิบมีรูปร่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ สำหรับการศึกษาในระดับการทดลองของการย่อยสลายโปรตีนจากเศษเหลือของกุ้งโดยใช้เอนไซม์นั้น ควรมีการให้ความร้อนแก่วัตถุดิบ (Precooking) เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ภายในที่มีอยู่แล้ว อันจะส่งผลคลาดเคลื่อนแก่การทดลองได้ โดยทั่วไปจะใช้ความร้อนที่ไม่สูงมากนักประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส แต่การใช้ความร้อนก็ควรคำนึงถึงกรดอะมิโนบางตัวที่ไม่ทนความร้อน จึงไม่ควรใช้ความร้อนสูงจนเกินไปหรือควรยับยั้งเอนไซม์โดยวิธีอื่นๆ แทนวิชชุลดา (2544) คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสสำหรับย่อยเศษหัวกุ้ง โดยขั้นตอนการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเศษหัวกุ้ง ทำการเตรียมวัตถุดิบโดยบดหัวกุ้งให้ละเอียดจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อโดยการฉายรังสีแกมมาใช้ความเข้มข้นของรังสีที่ 25-53 กิโลเกรย์ นาน 3 ชั่วโมง เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบก่อนการทดลอง

การย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์นั้นจะต้องมีน้ำเข้ามาเกี่ยวข้องในการดำเนินปฏิกิริยา ดังนั้นอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อปริมาณน้ำจึงมีความสำคัญว่ามีความเหมาะสมต่อเอนไซม์หรือไม่โดยทั่วไปนิยมนำเศษเหลือของกุ้งที่บดแล้วมาผสมด้วยน้ำ หรือสารละลายบัฟเฟอร์ในอัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำเป็น1 ต่อ 1 (Gildberg and Stenberg, 2001) หรือ 1 ต่อ 2 (Synowiecki และ Khateeb, 2000) อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำจะส่งผลถึงปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสท เช่น อัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำมากขึ้น ก็จะได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นที่มากขึ้น (Benjakul and Morrissey, 1997) แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของปริมาณน้ำที่ไม่น้อยจนเกินไป ซึ่งจะส่งผลต่อการดำเนินปฏิกิริยาของเอนไซม์ จนทำให้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีค่าลดน้อยลง เมื่ออัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำเพิ่มขึ้น ได้มีการศึกษาอัตราส่วนของน้ำต่อตัวอย่างหัวกุ้งบดที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง โดยใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำเป็น 5:4, 5:3 และ 5:2 พบว่าที่อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำเพิ่มขึ้นกลับมีปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสท (nitrogen recovery) ลดลงคือร้อยละ 44.95, 39.72 และ 35.90 ตามลำดับ ที่เวลาการย่อยนาน 6 ชั่วโมง นอกจากนี้แล้ว อัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำยังส่งผลต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาในการทำแห้งของโปรตีนไฮโดรไลเสท โดยอัตราส่วนใดที่ให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Solid content) มากกว่าก็จะใช้เวลาในการระเหยเร็วกว่า หรือในกรณีเติมสารจับกลิ่นรส (flavor carrier) เช่นมอลโทเดกซ์ทริน เพื่อเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ถ้าอัตราส่วนใดให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มากกว่า ก็จะใช้ปริมาณของสารจับกลิ่นรสที่น้อยกว่า ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนการผลิตของการระเหย และการใช้สารจับกลิ่นรสแต่ทั้งนี้ควรคำนึงถึงปัญหาในการกวนที่เพิ่มขึ้นเพื่อให้เอนไซม์เข้ากับตัวอย่างหัวกุ้งเมื่อใช้อัตราส่วนที่มีน้ำน้อยในกรณีที่ขยายขนาดการผลิต

2.4.2 ขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์

2.4.2.1 แหล่งของเอนไซม์โปรตีเอส

ก. สัตว์ เช่น ทริปซิน, ไคโมทริปซิน, เปปซินและเรนนิน

ข. พืช เช่น ปาเปน, โบรมิเลน, ฟิซิน

ค. จุลินทรีย์เช่นเอนไซม์จาก *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* และ *Aspergillus oryzae*

เอนไซม์จากพืช และสัตว์ พบในบริเวณเนื้อเยื่อ ซึ่งคุณภาพของเอนไซม์ขึ้นกับดินฟ้าอากาศฤดูกาล ดังนั้นจึงต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกมาก รวมทั้งใช้แรงงานมาก จึงเป็นผลให้ความสนใจในการผลิตเอนไซม์จากพืช และสัตว์ได้รับความสนใจน้อยกว่าเอนไซม์จากจุลินทรีย์ สำหรับเอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์ เช่น อัลคาเลส, นิวเทรส, โพรทาเม็ก จะสามารถผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทได้มากกว่าเอนไซม์โปรติเอสจากสัตว์ เช่น ทริปซิน (Mohr, 1980)

2.4.2.2 ชนิดของเอนไซม์โปรตีเอส

เอนไซม์โปรตีเอส เมื่อแบ่งตามตำแหน่งที่เกิดการย่อยสลาย ได้แก่ เอนไซม์เอนโดเปปทิเดส (endopeptidase) และเอนไซม์เอกโซเปปทิเดส (exopeptidase) โดยที่เอนไซม์เอนโดเปปทิเดสจะเข้าทำปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะเพปไทด์จากภายในสายโปรตีนระหว่างกรดอะมิโนที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ ทำให้เกิดพันธะเพปไทด์ขนาดต่างๆ ส่วนเอนไซม์เอ็กโซเปปทิเดสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเพปไทด์จากปลายสายของโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ ทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระขึ้น (Howell, 1996) ดังนั้นการเลือกใช้เอนไซม์ชนิดใดก็ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์โปรตีเอสที่มีต่อสารตั้งต้น

พัชรี (2536) ศึกษาการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากหัวกุ้ง โดยใช้น้ำ สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เอนไซม์โบรมิเลน เอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์นิวเทรส ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง ในขั้นตอนการเปรียบเทียบการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากหัวกุ้ง ได้ใช้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละวิธีการ พบว่าสารปรุงแต่งกลิ่นรสที่สกัดได้จากเอนไซม์โบรมิเลนมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และคะแนนการยอมรับจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงที่สุด มีสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์โบรมิเลนคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากับร้อยละ 0.25 ที่ความเป็นกรดด่าง 6 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 5 ชั่วโมง

Baek and Cadwallader (1995) ศึกษาการใช้เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ 2 กลุ่มคือเอนไซม์ในกลุ่มอัลคาไลได้แก่ AlcalaseTM 2.4 L, Prozyme TM 6, Optimase TM APL-400, Proleather TM และ Trypsin เอนไซม์ในกลุ่มนิวทรอลได้แก่ HT - proteolyticTM 2000, Protease 2A TM, Papain, Bromelain และ Protease S. TM โดยการย่อยสลายโปรตีนจากส่วน by-product ของกระบวนการแปรรูป crayfish โดยในขั้นตอนการเปรียบเทียบเอนไซม์ขั้นต้นกำหนดให้สภาวะที่ใช้ในการย่อยสลายมีค่าระดับการย่อยสลาย (DH) ร้อยละ 30 ที่ความเป็นกรดด่าง 9 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลานาน 1 ชั่วโมง หลังจากการย่อยสลายใช้ปริมาณและราคาของเอนไซม์เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพ พบว่าเอนไซม์ในกลุ่มอัลคาไลมีประสิทธิภาพในการย่อยดีกว่าเอนไซม์ในกลุ่มนิวทรอล และเลือกเอนไซม์มา 3 ชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงใกล้เคียงกัน คือ Optimase TM APL-440, Alcalase TM 2.4 L และ ProzymeTM 6 นำมาทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนณอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการดำเนินปฏิกิริยาของเอนไซม์แต่ละชนิดพบว่าเอนไซม์ Optimase APL-440 มีความเหมาะสมมากที่สุดในการย่อยสลาย โดยใช้ปริมาณเอนไซม์น้อยที่สุด และให้ระดับของการย่อยสลายสูงสุด ณ อุณหภูมิที่เหมาะสม

การเลือกใช้เอนไซม์กลุ่ม endopeptidase หรือ endopeptidase/exopeptidase (enzyme complex) ในการย่อยสลายโปรตีนจะสามารถช่วยลดระยะเวลาของการย่อยสลาย และช่วยปรับปรุงรสของโปรตีนไฮโดรไลเสทให้ดีขึ้น (Umetsu *et al.*, 1983; Tan *et al.*, 1993; Novo Nordisk A/S, 1998) นอกจากการใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียวในการย่อยสลายโปรตีนแล้ว ยังมีการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายโปรตีนให้เพิ่มขึ้น โดยการใช้เอนไซม์ 2 ชนิดขึ้นไปในการร่วมปฏิกิริยาการย่อย ซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นชนิด exdopeptidase หรือ enzyme complex ร่วมกับ endopeptidase เพื่อให้มีการตัดพันธะทั้งภายในและนอกของสายโปรตีนเพิ่มขึ้น ทำให้มีค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีก ตัวอย่างของเอนไซม์ที่ใช้ เช่น เอนไซม์ฟลาโวไซม์ ร่วมกับเอนไซม์โพรทาเม็ก (Hee *et al.*, 2001; Sang, 1999) และเอนไซม์เพสคาเลสจาก *B. subtilis* (endo-type) ร่วมกับเอนไซม์โปรตีเอสเอจาก *Aspergillus oryzae* (endo-type) (Suh *et al.*, 2002)

จรินทร์ (2544) พัฒนาซุปกึ่งสำเร็จรูปรสกุ้งจากหัวกุ้ง โดยในขั้นตอนการผลิตผงปรุงแต่งกลิ่นรสกุ้งนั้นเตรียมจากโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง โดยใช้เอนไซม์โบรมิเลนร้อยละ 1.5 ร่วมกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์ร้อยละ 1 ที่สภาวะ pH 6 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง ใช้มอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารจับกลิ่นรสร้อยละ 30 ของโปรตีนไฮโดรไลเสท (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อผลิตผงปรุงแต่งกลิ่นรสกุ้งซึ่งมีทั้งกรดอะมิโนอิสระและกรดอะมิโนทั้งหมดเป็น 66.8 และ 109.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตามลำดับ และกรดอะมิโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระที่มีปริมาณสูงสุด คือ อาร์จินีน รองลงมา คือ กรดแอสปาร์ติก กรดกลูตามิก และไกลซีน ตามลำดับ

Lee and Yang (1999) รายงานว่า จากการเลือกใช้เอนไซม์โพรทาเม็กร่วมกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์ พบว่าการใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์มีความเหมาะสมที่สุด ในการผลิตสารให้กลิ่นรสจากส่วน by-product ของกระบวนการการแปรรูปกุ้งลอบสเตอร์ เนื่องจากเอนไซม์ฟลาโวไซม์จะให้อัตราส่วนของกรดอะมิโนอิสระที่ชอบน้ำต่อกรดอะมิโนอิสระที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophilic-hydrophobic free amino acid ratio) มากกว่า และให้เพปไทด์มีรสขมน้อยกว่าเมื่อเทียบกับเอนไซม์โพรทาเม็ก สำหรับการเปรียบเทียบกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์ร่วมกับโพรทาเม็กนั้น เอนไซม์ร่วมจะให้อัตราส่วนกรดอะมิโนอิสระที่ชอบน้ำต่อกรดอะมิโนอิสระที่ไม่ชอบน้ำน้อยกว่าการใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์อย่างเดียว ทำให้เกิดรสขมขึ้น สภาวะการย่อยสลายของเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่เหมาะสมคือใช้เอนไซม์ร้อยละ 0.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสระยะเวลา 3-5 ชั่วโมง

Zhang *et al.* (2002) ศึกษาการใช้เอนไซม์ย่อยสลายเนื้อส่วนขาของปู โดยใช้เอนไซม์โพรทาเม็ก เอนไซม์ฟลาโวไซม์ เอนไซม์เปปซิน เอนไซม์นิวทรอลโปรตีเอส เอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ปาเปน พบว่า การใช้เอนไซม์ปาเปนมีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากให้ค่าระดับการย่อยสลายมากที่สุดประมาณร้อยละ 47 ในระยะเวลาการย่อยสลายนาน 1 ชั่วโมง อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นจะทำให้มีค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมเป็น 1 ต่อ 2.5 ซึ่งพิจารณาทางด้านต้นทุนการผลิตร่วมด้วยมีสภาวะของการย่อยสลายที่เหมาะสมคือใช้อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรท 4000 ยูนิตต่อกรัม ความเป็นกรดด่าง 5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ปัจจัยที่ควรนำมาพิจารณาในการเลือกชนิดของเอนไซม์ เพื่อนำมาใช้ในการย่อยสลายโปรตีน ได้แก่ ราคาของเอนไซม์ ควรเลือกเอนไซม์ที่มีราคาต่ำกว่าในกรณีที่เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนใกล้เคียงกัน และเอนไซม์ที่ใช้ควรเป็น Food grade ช่วงของความเป็นกรดด่าง ควรเลือกใช้เอนไซม์ที่มีช่วงของความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนใกล้เคียงกับความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของวัตถุดิบ อุณหภูมิ ควรเลือกใช้เอนไซม์ที่มีช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง การเลือกใช้เอนไซม์นั้นจะต้องมีเอนไซม์มากพอเพียงต่อความต้องการ สามารถหาเอนไซม์ได้ง่าย และสะดวกต่อการนำไปใช้งาน เช่น มีลักษณะของเอนไซม์ที่ไม่จับตัวกันเป็นก้อน สามารถละลายได้ดี เก็บรักษาเอนไซม์ได้ง่าย เป็นต้น การเปรียบเทียบความแตกต่างในการย่อยสลายของเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้าแต่ละชนิดนั้น จะทำได้ค่อนข้างยากทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีความบริสุทธิ์ และสภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกัน (Mohr, 1980) ดังนั้นการเลือกชนิดของเอนไซม์ที่ได้จากการเปรียบเทียบจึงต้องคำนึงถึงสภาวะที่ใช้ในการทดลองเปรียบเทียบ เช่น ชนิดของวัตถุดิบ ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ ระยะเวลา ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ ความแตกต่างกันของการยอมรับทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสาทสัมผัส และปัจจัยการเลือกเอนไซม์ของผู้ทำการทดลองดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นฯลฯ ทำให้ในการเปรียบเทียบเอนไซม์ถึงจะใช้เอนไซม์ในกลุ่มเดียวกันเปรียบเทียบ แต่ถ้าใช้สภาวะในการทดลองแตกต่างกันก็อาจจะทำให้ได้ผลสรุปที่แตกต่างกัน

2.4.3 ความเข้มข้นของเอนไซม์

ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้มีโอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนมากขึ้น เป็นผลให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นจนกระทั่งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ ค่าระดับการย่อยสลายจะคงที่แม้เพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นอีก ก็ไม่ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

อาภัสรา (2535) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์ Neutrase® ที่ใช้ในการย่อยสลายปริมาณร้อยละ1.5 และ2.0 ปริมาตรต่อปริมาตรย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวม ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีค่าระดับการย่อยสลายเท่ากับร้อยละ 77.32 และ77.31 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจะคงที่

Baek and Cadwallader (1995) ทำการไฮโดรไลซีสส่วน byproduct ของกระบวนการแปรรูป crayfish โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสในกลุ่มอัลคาไล พบว่า เมื่อใช้เอนไซม์เพิ่มมากขึ้นค่าระดับการย่อยสลายก็จะเพิ่มขึ้นจนถึงระดับหนึ่งค่าระดับการย่อยสลายก็จะค่อยๆ คงที่ ทั้งนี้เนื่องมาจากการใช้เอนไซม์มากขึ้นทำให้โอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนมีมากขึ้นจึงทำให้เกิดการย่อยสลายเพิ่มขึ้น แต่เมื่อมีปริมาณของเอนไซม์มากจนถึงระดับหนึ่งซึ่งเพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ค่ าระดับการย่อยสลายก็จะเริ่มคงที่ แต่ในการทดลองอาจมีปัจจัยอื่นที่ทำให้ผลการทดลองไม่เป็นไปตามทฤษฎี

รวิพิมพ์ และประพันธ์ (2538) ทดลองผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากน้ำต้มกุ้งโดยแปรปริมาณของเอนไซม์นิวเทรสเป็นร้อยละ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2.0 โดยปริมาตรจากผลของการวัดปริมาณอะมิโนไนโตรเจน ซึ่งเป็นค่าที่บอกให้ทราบถึงความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ พบว่า ผลการทดลองไม่ตรงตามทฤษฎีมากนัก โดยจะมีปริมาณอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในช่วงแรก เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จนถึงร้อยละ 0.5 ซึ่งจะให้ปริมาณไนโตรเจนสูงสุด หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์อีกเป็นร้อยละ 1, 1.5 และ 2 ค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจนจะลดลงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่นานเกินไปคือ 45 นาทีอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ความเป็นกรดด่าง

ในการทำงานของเอนไซม์ความเป็นกรดด่าง หรือปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนในระบบมีผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยความเป็นกรดด่าง จะมีผลต่อการแตกตัวของไอออน ของหมู่โพรโทโทรพิก (prototropic group) ที่มีอยู่ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงรูปสามมิติของเอนไซม์ ทำให้เกิดการเบี่ยงเบนในการจับกับสารตั้งต้น หรือเกิดการเบี่ยงเบนในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพการเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกันระดับของความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมของเอนไซม์ขึ้นกับสับสเตรท เนื่องจากเอนไซม์มีความเหมาะสมจำเพาะต่อสับสเตรท เช่น ทริปซินในการย่อยสลายเคซีนมีความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมประมาณ 8.5 แต่ถ้าใช้ย่อยสลายเจลลาตินมีความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมคือ 7.5 และถ้าใช้ย่อย elastin ความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมคือ 5.5 ดังนั้น ในการนำเอนไซม์มาใช้งานจึงต้องมีการควบคุมความเป็นกรดด่าง ให้เหมาะสม และไม่ทำให้เอนไซม์ถูกยับยั้งกิจกรรมการทำงานเนื่องจากความเป็นกรดด่าง เพราะเอนไซม์เป็นสารประกอบที่เป็นโปรตีนความเป็นกรดด่าง สูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ถูกทำลาย และสูญเสียกิจกรรมการทำงานได้ นอกจากนี้ความสามารถของการละลายน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเสทก็มีส่วนที่จะมีผลต่อการดำเนินปฏิกิริยา กล่าวคือ ถ้าในสภาวะของการดำเนินปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการย่อยโปรตีนมีค่า ความเป็นกรดด่าง ใกล้เคียงกับค่า pI ของโปรตีนไฮโดรไลเสทก็จะทำให้การเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เป็นไปได้ยากกว่าเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสทมีการละลายน้ำได้น้อย (Shahidi *et al.*, 1994; Shahidi *et al.*, 1995)

2.4.5 อุณหภูมิ

โดยทั่วไปอุณหภูมิช่วยเร่งปฏิกิริยาทางเคมีได้ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลทำให้อัตราความเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นภายในโมเลกุลของสารที่ทำปฏิกิริยา ซึ่งมีผลทำให้โมเลกุลมีโอกาสชนกันเร็วและมากขึ้น ส่วนปฏิกิริยาเคมีที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งนั้น การเพิ่มอุณหภูมิมีผลต่ออัตราความเร็วของปฏิกิริยา คือทำให้อัตราความเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากไปเพิ่มพลังงานให้กับโมเลกุล และทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาลดลง เนื่องจากเอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติ ปรากฏการทั้งสองนี้จะเกิดขึ้นพร้อมกัน แต่อิทธิพลของอุณหภูมิในการเพิ่มอัตราความเร็วของปฏิกิริยาจะแสดงให้เห็นเฉพาะช่วงอุณหภูมิหนึ่งเท่านั้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มมากขึ้นเกินช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) จะแสดงผลในทิศตรงกันข้าม ทำให้มีอัตราความเร็วของปฏิกิริยาลดลงได้ (ภิญโญ, 2530) ดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิจึงทำให้เอนไซม์เสี่ยงต่อการแปรสภาพธรรมชาติมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนไม่ได้อยู่ในสภาพของสายเพปไทด์ตรงๆ แต่มีการงอพับไปมาของสายเพปไทด์เพื่อจัดให้อยู่ในโครงร่างธรรมชาติที่เหมาะสมที่จะให้บริเวณเร่ง (acitive site) ของเอนไซม์อยู่ในสภาพที่ทำปฏิกิริยากับสับสเตรทได้ ความร้อนจะเข้าไปมีบทบาทต่อโครงร่างสามมิติของเอนไซม์ โดยจะไปทำให้พันธะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีแรงยึดเหนียวต่ำ เช่น พันธะไอออนิก พันธะไฮโดรเจน เป็นต้น เกิดการแตกตัว หรือแรงยึดเหนี่ยวในการงอพับไปมาของสายเพปไทด์ถูกทำลาย จนโครงร่างสามมิติของเอนไซม์เสียหาย ทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติ ดังนั้นเอนไซม์จะสูญเสียกิจกรรมไปทำให้อัตราความเร็วของปฏิกิริยาลดลง (Whitaker, 1994) Baek และ Cadwallader (1995) รายงานว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการใช้เอนไซม์ในกลุ่มอัลคาไลโปรตีเอสในการย่อยสลายโปรตีนจากเศษเหลือของ Crayfish พบว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นระดับการย่อยสลายจะมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงที่อุณหภูมิหนึ่ง ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 70, 40 และ 70 องศาเซลเซียส ของเอนไซม์ Alcalase TM 2.4 L, Prozyme TM 6 และ Optimase TM APL - 440 ตามลำดับ ค่าระดับการย่อยสลายจะมีค่าสูงสุด หลังจากนั้นถึงแม้จะเพิ่มอุณหภูมิอีกค่าระดับการย่อยสลายจะไม่เพิ่มขึ้น แต่จะมีค่าลดลงนอกจากอุณหภูมิมีผลต่อความเร็วของปฏิกิริยา แล้วยังมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นที่พอเหมาะของสับสเตรทด้วย ตลอดจนค่า km ของเอนไซม์ซึ่งจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของบัฟเฟอร์ก็จะเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ (Chaplin and Bucke, 1990) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ระหว่างการทำงาน

2.4.6 ระยะเวลาในการย่อยสลาย

เมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นปริมาณของอะมิโนไนโตรเจนที่ถูกย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นด้วย นั่นคือโปรตีนจะถูกย่อยสลายมากขึ้นได้เป็นกรดอะมิโนและไดเปปไทด์ โดยไดเปปไทด์บางชนิดมีความคงตัวจึงไม่ถูกย่อยสลายต่อไป ซึ่งกรดอะมิโนและไดเปปไทด์เหล่านี้เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อการให้กลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเซท ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทมีกลิ่นรสที่ดี ทั้งนี้หากในวัตถุดิบมีปริมาณของโปรตีนสูงระยะเวลาที่ใช้ย่อยสลายควรนานขึ้น เนื่องจากระยะเวลาในการย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบที่ใช้ย่อยสลาย (Manley and Fagerson, 1971)

Adler-Nissen (1986) รายงานว่าในการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายในช่วงต้นของการย่อยเอนไซม์จะเข้าจับกับโปรตีนอย่างรวดเร็ว เกิดการย่อยสลายจนทำให้เกิดเพปไทด์ขึ้นจากนั้นเมื่อใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน (competition inhibition) โดยเพปไทด์ที่เกิดสามารถจับกับบริเวณเร่ง (catalytic site) ของเอนไซม์ได้เช่นเดียวกับโปรตีน ทำให้เกิดการแข่งขันระหว่างตัวยับยั้งกับสเตรทในการที่จะจับเอนไซม์ที่บริเวณเร่งเดียวกันทำให้ความเร็วการเกิดปฏิกิริยาเริ่มคงที่ จรินทร์ (2544) ทดลองผลิตซุปกึ่งสำเร็จรูปรสกุ้งจากหัวกุ้งในการศึกษาระยะเวลาในการสกัดสารปรุงแต่งกลิ่นรสโดยใช้เวลา 2, 2.5 และ 3 ชั่วโมงพบว่าเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นค่าระดับการย่อยสลายก็จะสูงขึ้นแต่หลังจาก 2 ชั่วโมงค่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและคงที่ จึงใช้เวลาในการย่อยสลายที่ 2 ชั่วโมงเป็นเวลาที่เหมาะสมเนื่องจากจะประหยัดเวลาได้มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.4.7 การกวน

เนื่องจากในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์ถ้าสับสเตรทต่อน้ำมีความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้การกระจายตัวมีไม่เพียงพอ จึงจำเป็นที่จะต้องอาศัยการกวนในการดำเนินปฏิกิริยาของเอนไซม์ เพื่อให้เอนไซม์สับสเตรทและผลิตภัณฑ์ เกิดการกระจายตัวโดยทั่วกันทำให้อัตราของการย่อยเกิดได้เร็วขึ้น

2.4.8 ขั้นตอนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

หลังจากการดำเนินปฏิกิริยาการย่อยสลายเสร็จสิ้นแล้ว จำเป็นที่จะต้องหยุดการดำเนินปฏิกิริยาของเอนไซม์ ซึ่งสามารถทำได้โดยการใช้ความร้อนและการใช้ความเป็นกรดด่าง (Kristinson and Rasco, 2000) การใช้ความร้อนนั้นขึ้นอยู่กับเอนไซม์ว่าสามารถต้านทานความร้อนได้แค่ไหน และความร้อนที่ให้นั้นไม่ควรสูงหรือใช้เวลานานเกินไปจนทำให้กรดอะมิโนถูกทำลาย โดยทั่วไปใช้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 75-100 องศาเซลเซียสนาน 5 นาทีถึง 30 นาที (Gildberg and Stenberg, 2001) ยับยั้งการทำงานของอัลคาเลสโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิมากกว่า 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สำหรับการใช้ความเป็นกรดด่าง นั้นจะทำการควบคุมให้อยู่ในช่วงที่ไม่เหมาะสมของเอนไซม์ โดยเอนไซม์อัลคาเลสนั้นสามารถหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยใช้ความเป็นกรดด่างต่ำที่ 4 นาน 30 นาที (Synowiecki และ Khateeb, 2000) นอกจากนี้อาจยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการใช้ความร้อนร่วมกับการใช้ความเป็นกรดด่าง (Onodenalore and Shahidi, 1996)

2.4.9 ขั้นตอนของการแยกส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสท

หลังจากยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แล้วจำเป็นที่จะต้องแยกส่วนของเหลวซึ่งเป็นส่วนที่เราต้องการ ที่ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนและเพปไทด์ออกจากส่วนของแข็งที่ไม่ต้องการ ได้แก่ เปลือกที่ถูกแยกโปรตีนออกแล้ว โดยทั่วไปนิยมใช้การกรองหรือการเหวี่ยงแยก หลังจากนี้อาจมีการกำจัดสีและกลิ่นเพื่อให้โปรตีนไฮโดรไลเสทบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น (เพียงใจ, 2537) การกรองโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งโดยใช้เครื่องกรองแบบเขย่า แล้วนำมากรองผ่านซีไลท์เพื่อให้สารละลายใสขึ้น (Pedersen, 1994) ในการกำจัดสีและกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้หลักการแยกด้วยตัวดูดซับ (adsorption) จะสามารถกำจัดกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำซึ่งส่วนใหญ่จะให้รสขมได้

Prendergast (1974) ทดลองผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเกลือเข้มข้น 6 โมลาร์อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมงเมื่อปฏิกิริยาเสร็จสิ้นใช้ activated carbon powder ดูดซับกรดอะมิโนที่ให้รสขมเช่นฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) และสารประกอบที่ให้สีผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสขมน้อยลงและมีสีอ่อนลง

Synowiecki และ Khateeb (2000) ทดลองผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนในเปลือกกุ้งที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 20 ยูนิตต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

140089

กิโลกรัมของสับสเตรทที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 8.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส หลังจากหยุดการทำงานของเอนไซม์และเหวี่ยงแยกสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทแล้ว ใช้ Charcoal เป็นตัวดูดซับที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทสภาวะที่ใช้ในการดูดซับคือ ที่ความเป็นกรดด่าง 4 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที พบว่ามีค่า protein efficiency ratio (PER) และค่า Essential amino acid (EAA) ลดลงเล็กน้อยคือจาก 2.99 และ 125 เป็น 2.74 และ 123 ตามลำดับ สามารถขจัดสีที่ไม่ดีและรสที่ไม่เป็นที่ต้องการหรือรสขมได้ ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสทมีรสขมน้อยลง

2.5 คุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสท

2.5.1 คุณภาพทางเคมี

คุณภาพทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสท อาจพิจารณาได้จากองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีคุณภาพดีควรมีปริมาณโปรตีนสูง และมีชนิดของกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน ตามความต้องการของร่างกายในปริมาณสูง และมีไขมันต่ำ (Hall and Ahmad, 1992) ซึ่งองค์ประกอบทางเคมี และกรดอะมิโนของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทนั้น ขึ้นอยู่กับปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ เอนไซม์ และกระบวนการผลิต

2.5.2 คุณภาพทางกายภาพ

คุณภาพทางกายภาพที่สำคัญ ได้แก่ คุณภาพในด้านสี โดยสีของโปรตีนไฮโดรไลเสทนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ กระบวนการผลิต การสกัดไขมัน และการทำแห้ง (Mahesh *et al*, 1993; Hoyle and Merritt, 1994) ลักษณะด้านสี สีของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษเหลือกุ้งขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ กระบวนการผลิต และการทำแห้ง การกำจัดสีของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งโดยใช้ตัวดูดซับจะให้สีที่ดีขึ้น (Synowicki and Khateeb, 2000) กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีการเติมสารจับกลิ่นรส (flavor carrier) จะให้ผงของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีสีขาวครีม ส่วนกระบวนการทำแห้งแบบสูญญากาศจะให้ผงของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีสีน้ำตาล (Mahesh *et al.*, 1993)

2.5.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอสนั้น มักจะมีรสขม ซึ่งเป็นคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งรสขมที่เกิดขึ้นนั้นมีสาเหตุจากกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ไอโซลิวซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน ทริปโตเฟน และวาลีน เป็นต้น กรดอะมิโน เมื่ออยู่รวมกันเป็นเพปไทด์จะให้รสขมมากกว่าเมื่ออยู่แบบอิสระ (Hall and Ahmad, 1992) ความยาวของสายเพปไทด์มีความสำคัญต่อการเกิดรสขม คือ เมื่อมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนหมู่ที่ไม่ชอบน้ำมากกว่า 3 หมู่ในสายเพปไทด์จะทำให้รสขมลดลงนอกจากนั้นค่าความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของสายเพปไทด์ยังมีความสัมพันธ์กับการเกิดรสขมด้วย

2.6 องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเซท

สารประกอบที่ให้กลิ่นรสในเนื้อสัตว์เกิดจากการทำปฏิกิริยาของสารเริ่มต้นในการให้กลิ่นรส (flavor precursor) เป็นสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและละลายน้ำได้ ส่วนโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำและมีน้ำหนักโมเลกุลมาก ไม่มีบทบาทสำคัญต่อกลิ่นหอมของเนื้อสัตว์ (Manley and Fagerson, 1971) ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล(browning reaction) เป็นปฏิกิริยาหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลิ่นหอมคล้ายเนื้อสัตว์(meat like aroma) โดยกลิ่นหอมของเนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อแกะ มีความคล้ายกัน เนื่องจากกรดอะมิโน และคาร์โบไฮเดรทที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อสัตว์เหล่านี้คล้ายกัน อย่างไรก็ตามในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดมีสารประกอบที่ละลายในไขมัน(fat soluble material) ต่างกันทำให้กลิ่นหอมของเนื้อสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกันโดยสาร polypeptide และhypoxanthine เป็นสารประกอบที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับกลิ่นหอมของเนื้อ(Manley and Fagerson, 1971)

ในการเกิดกลิ่นรสเนื้อของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสารประกอบที่ให้กลิ่นรสสามารถแบ่งได้เป็น3 ปฏิกิริยาหลักๆได้แก่

1. ปฏิกิริยาการแตกสลาย (degradation) ของวิตามินโดยเฉพาะไทอามีน
2. การแตกสลายด้วยความร้อน (thermal degradation) ของคาร์โบไฮเดรทและเอมีน
3. การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction)

เมื่อนำสารตั้งต้นในการเกิดกลิ่นเนื้อสัตว์ซึ่งแบ่งได้เป็นสองชนิด คือ ส่วนที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ กรดอะมิโนเปปไทด์ คาร์โบไฮเดรท นิวคลีโอไทด์ และไทอามีน เป็นต้น และส่วนที่ละลายในไขมันโดยส่วนใหญ่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ทำให้เกิดเป็นกลิ่นรสเนื้อสัตว์ขึ้นโดยเฉพาะปฏิกิริยาของ ซิสทีอีน และน้ำตาล ทำให้เกิดกลิ่นเนื้อสัตว์โดยเฉพาะกลิ่นไก่ และกลิ่นหมู (Varavinit *et al.*, 2000)

กลุ่มของสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดของกลิ่นรสเนื้อสัตว์ เช่น กรดอะมิโน น้ำตาลรีดิวซ์ วิตามิน และสารประกอบซัลเฟอร์ สารตั้งต้นเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาในสภาวะที่มีความร้อนสูง โดยที่สารตั้งต้นแต่ละชนิดจะมีกลิ่นรสที่เฉพาะตัว เช่น ปฏิกิริยาระหว่างซิสทีอีน และน้ำตาลไรโบสให้กลิ่นรสไก่ (Wu *et al*, 2004) ดังแสดงในตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 สารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาของกลิ่นรสอาหารคาว

กลุ่มสารตั้งต้น	ตัวอย่างของสารตั้งต้นเกิดปฏิกิริยากลิ่นรสอาหารคาว
Amino acids	cysteine, glutamic acid, valine, glycine, hydrolyzed vegetable protein (HVP), yeast extract, hydrolyzed animal protein, etc.
Reducing sugars	glucose, xylose, ribose, ribose-5-phosphate
Vitamin	thiamine
Sulfur compounds	furanones, sulfides, thioles (cystein, thiamine)
Nucleotides	inosine 5'-monophosphate, guanosine 5'-monophosphate
Acids	lactic acid, aliphatic carboxylic acid, acetic acid, etc.

ที่มา: Nagodawithana, 1991

กลิ่นรสมีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบดังนั้นสารประกอบทำให้เกิดกลิ่นที่ได้แตกต่างกันกลิ่นรสของอาหารจากเนื้อสัตว์จะเกิดขึ้นในระหว่างการประกอบอาหารหรือหลังจากการได้รับความร้อนโดยกลุ่มของสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นส่วนใหญ่ได้แก่

2.6.1 สารประกอบที่ระเหยไม่ได้ (non-volatile compound)

สารประกอบที่ระเหยไม่ได้ ได้แก่ กรดอะมิโน เปปไทด์ น้ำตาลรีดิวซ์ วิตามิน และนิวคลีโอไทด์บางชนิด เป็นต้นโดยสารเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยา หรือการแตกสลายเกิดเป็นสารตัวกลางหรือเกิดเป็นสารประกอบให้กลิ่นรสเนื้อ และปลดปล่อยกลิ่นในระหว่างกระบวนการให้ความร้อน(Shahidi, 1994)กรดอะมิโนแต่ละชนิดจะมีกลิ่นรสต่างกัน (Dzanic *et al*, 1985) ดังตารางที่ 2.4 บางชนิดมีรสหวานแต่บางชนิดมีรสขมโดยกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) จะให้กลิ่นรสดีกว่ากรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non essential amino acid) ซึ่งส่วนใหญ่จะมีรสขม กรดกลูตามิก เป็นกรดที่ให้รสชาติที่ดี จะอยู่ในรูปของเกลือโซเดียม ได้แก่ โมโนโซเดียมกลูตาเมต รสชาติของเกลือโมโนโซเดียมกลูตาเมต มีชื่อเรียกในภาษาญี่ปุ่นว่าอูมามิ (umami) มีความหมายเช่นเดียวกับคำว่า tastiness (Boudreau, 1979) เกลือของกรดกลูตามิก สามารถเกิดปฏิกิริยา cyclization ได้pyrolidone carboxylicacid ซึ่งเป็นสารเพิ่มกลิ่นรสชนิดหนึ่ง

สารประกอบเปปไทด์ส่วนมากจะให้รสขม เกิดจากหมู่ไม่ชอบน้ำของกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์เป็นกลาง (hydrophobic amino acid) เช่น ทริปโตเฟน ฟีนิลอะลานิน ไอโซลิวซีน ลิวซีน และวาลีนเป็นต้น หรือเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบ (Matoba and Hata, 1972) แต่เปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจะมีรสตามกรดอะมิโนที่อยู่ปลายโมเลกุล (Solms, 1969) สารประกอบไดเปปไทด์ของกรดกลูตามิกที่จับกันตรงตำแหน่งγ-carboxyl group เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

glutamylaspartic, glutamylserine และglutamylglutamic acid จะให้กลิ่นรสที่ดี (Manley *et al*, 1981)

2.6.2 สารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compound)

กรดอะมิโนมีบทบาทสำคัญต่อกลิ่นรสในด้านที่เป็นสารเริ่มต้น (precursor) ของสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น ฟูราโนน (furanone) ไพราซีน และสารประกอบซัลเฟอร์ (Dzanic และคณะ, 1985) จากการศึกษาและแยกองค์ประกอบของสารประกอบที่ระเหยได้ในเนื้อวัว เนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อแกะ พบว่ามีสารประกอบหลายชนิดประกอบไปด้วยสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่

1. ไพราซีน (pyrazine) ไพริดีน (pyridine) และไพรอล (pyrole)

ไพราซีนเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ที่มีปริมาณมากที่สุดคือร้อยละ 20 ของสารประกอบที่ระเหยได้ทั้งหมด โดยไพราซีนเป็นสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยารวมตัวระหว่างกรดอะมิโน กับอัลดีไฮด์หรือคีโตน (Manley *et al*, 1981)

Aaslyng *et al* (1998) ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกลิ่นของถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดไขมัน แล้วนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทจาก 3 วิธี คือ การใช้กรด เอนไซม์ และเอนไซม์ร่วมกับความร้อนและน้ำตาลกลูโคส พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากกรดมีระดับการย่อยสลายสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์และการใช้เอนไซม์ร่วมกับความร้อนและน้ำตาลกลูโคส ทำให้เปปไทด์ที่พบมีขนาดที่เล็กกว่า และมักพบกรดอะมิโนที่มีความเป็นกรดด่างต่ำ และมีสารอินทรีย์ที่ระเหยได้ 29 ชนิด ซึ่งตรวจวัดโดยวิธี GC-MS พบสารประกอบฟูราน และซัลไฟด์ในปริมาณสูง ในขณะที่พบสารประกอบแอลกอฮอล์ และไพราซีน ในโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการผลิตโดยการใช้เอนไซม์ และการใช้เอนไซม์ร่วมกับความร้อนและน้ำตาลกลูโคส แต่ลักษณะการรับกลิ่นรส (sensory profile) จากทั้งการใช้เอนไซม์ และการใช้เอนไซม์ร่วมกับความร้อน และน้ำตาลกลูโคสไม่มีความแตกต่างกัน แต่ลักษณะการรับกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากกรดพบ ลักษณะของ bouillon, soy และ lovage oder รวมทั้งรสชาติที่ได้มีความคล้ายกับกลิ่นรสเนื้อมากกว่าไฮโดรไลเซทที่ได้จากวิธีอื่นที่ทดลอง

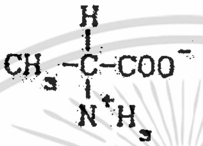
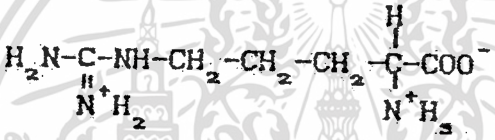
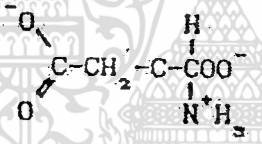
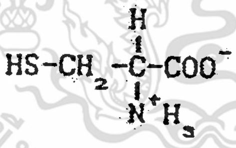
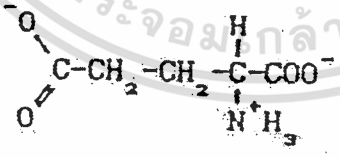
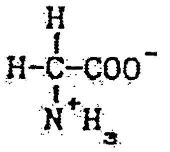
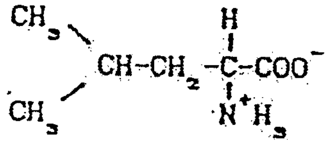
2. ฟูราน และฟูราโนน (furans และ furanones)

สารประกอบฟูราน และฟูราโนน ในโปรตีนไฮโดรไลเซท สารประกอบนี้ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณไม่สูงนักแต่มีผลต่อกลิ่นรส เนื่องจากมีค่า hreshold ของกลิ่นและรสต่ำ และให้กลิ่น sweet roasted ซึ่งเป็นที่ต้องการ ฟูราโนนที่สำคัญคือ 3-hydroxy-4-methyl-5-ethyl-2(5H)furanone ให้กลิ่นsweet caramel สารประกอบฟูราโนนนี้ได้จากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของทรีโอนีนไปเป็น γ-ketobutyric acid ระหว่างการย่อยด้วยกรด (Manley *et al*, 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

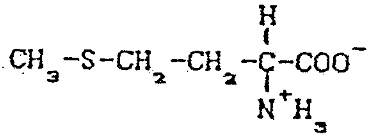
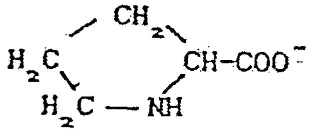
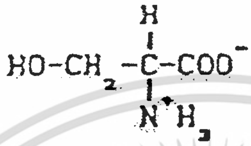
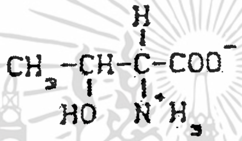
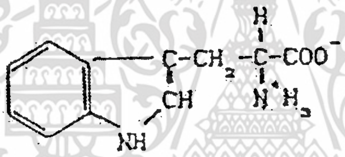
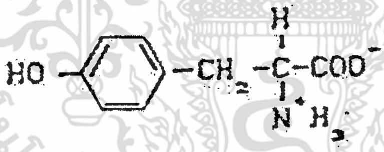
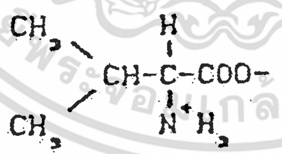
Aaslyng *et al* (1998a) ศึกษาลักษณะของกลิ่นที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองด้วยกรด และเอนไซม์ พบสารประกอบฟูราน ฟูราโนน ไพโรล และสารประกอบที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยสภาวะการเกิดปฏิกิริยา โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น4-6 โมลาร์และอุณหภูมิ100-130 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบฟูราน และเกิดการสลายตัวของกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ทำให้มีการสร้างสารประกอบระเหยได้ที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบปริมาณสูง

ตารางที่ 2.4 รสชาติของกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างแบบ L-form

กรดอะมิโน	สูตรโครงสร้าง	รสชาติ
อะลานีน		หอมหวาน
อาร์จินีน		หอมหวาน
กรดแอสพาติก		หอมเปรี้ยว
ซีสเตอีน		เค็มเล็กน้อย
กรดกลูตามิก		หวานอมเปรี้ยว
ไกลซีน		ขม
ลูซีน*		ขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

กรดอะมิโน	สูตรโครงสร้าง	รสชาติ
เมทไธโอนีน*		หวานขม
โพรลีน		หวานและขมมาก
เซอรีน		หวานเปรี้ยวมาก
ทรีโอนีน*		หวานเปรี้ยวขม
ทริปโตเฟน		ขมเล็กน้อย
ไทโรซีน		ไม่มีกลิ่นรส
วาลีน*		หวานขม

หมายเหตุ * เป็นกรดอะมิโนจำเป็นที่ร่างกายต้องการ

ที่มา: Dzanic *et al*, 1985

3. สารประกอบซัลเฟอร์ (sulfur containing compound)

สารประกอบซัลเฟอร์มีความสำคัญต่อกลิ่นรสเนื้อ (meat flavor) มาก โดยพบว่าถ้าแยกสารประกอบซัลเฟอร์จากกลิ่นเนื้อไก่ต้มจะทำให้กลิ่นเนื้อหายไป (Manley *et al*, 1981) สารประเภทอะลิฟาติกที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (aliphatic sulfides) ให้กลิ่นเนื้อ (Mottram, 1992) มักพบในซีอิ๊วและโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผ่านการให้ความร้อนซึ่งมีผลต่อกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซทมากเนื่องจากมีค่า threshold ต่ำ (Aaslyng, 1998b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. อัลดีไฮด์ คีโตน แอลกอฮอล์ และเอสเตอร์ (aldehyde, ketone, alcohol and ester)

อัลดีไฮด์มีปริมาณมากที่สุดคือประมาณร้อยละ 32 ของส่วนที่ระเหยได้ทั้งหมดเกิดจากปฏิกิริยาสลายตัวของกรดอะมิโน (strecker degradation) เช่น ลูซีน เป็นสารเริ่มต้นของไอโซวาเลออัลดีไฮด์ (isovaleraldehyde)

ปราณิศา (2533) ศึกษาเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ทำซอสหอยนางรมและหอยแมลงภู่โดยใช้กรดเกลือ และเอนไซม์บรอมเมลิน พบว่ากลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์มีกลิ่นรสที่อ่อนกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากกรด แต่เมื่อนำซ๊อสหอยเติมโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตขึ้นทั้งจากการใช้กรด และเอนไซม์โบรมิเลนมาปรุงรสอาหารปรากฏว่า คะแนนการยอมรับของซอสหอยที่ได้จากการใช้กรดเกลือและซอสหอยที่ผลิตด้วยการใช้เอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกัน

Yi-Fang and Keith (2002) ศึกษาลักษณะของสารปรุงแต่งอาหารกลิ่นรสเนื้อของโปรตีนไฮโดรไลเซทผลิตด้วยเอนไซม์จากกากถั่วเหลือง ตรวจวัดส่วนประกอบที่ระเหยได้จากสารแต่งกลิ่นรสเนื้อของโปรตีนไฮโดรไลเซท จากการใช้เอนไซม์ พบว่ามีสารประกอบที่ให้กลิ่นที่สำคัญซึ่งมีความคล้ายกับกลิ่นของเนื้อที่ผ่านการปรุงแต่งกลิ่นรสแล้ว ได้แก่ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide) และมีเทนไธออล(methanethiol) ในระดับสูงสารให้กลิ่นที่มีปริมาณรองลงมาได้แก่ 2-methyl-3-furanthiol, 3-mercapto-2-pentanone, 2-furanmethanethiol และ3-(methylthiol) propanal สำหรับสารที่มีความสามารถในการระเหยต่ำ ได้แก่ มาลทอล (maltol) และฟิวรานีออล (furaneol)

2.7 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซท

เมื่อนำโปรตีนมาผ่านกระบวนการย่อยสลาย จะได้ผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเซทที่มีคุณสมบัติทางหน้าที่ดีขึ้น ในด้านต่างๆ เช่น การละลาย การเกิดอิมัลชัน และการเกิดกลิ่นรสของอาหาร ทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง โดยทั่วไปโปรตีนไฮโดรไลเซทถูกผลิตเพื่อสนองความต้องการ 3 ประการคือ เพื่อใช้เป็นสารสำหรับทำหน้าที่เฉพาะอย่าง (functional ingredients) เช่นสารอิมัลซิไฟเออร์ เป็นต้น เพื่อเป็นสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในอาหาร (nutritional ingredients) และเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ดังปรากฏในงานวิจัยของคณะนักวิจัยกลุ่มต่างๆ ดังนี้

2.7.1 สารสำหรับทำหน้าที่เฉพาะอย่าง

โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของโปรตีนสำหรับทำหน้าที่เฉพาะนั้นมักนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่นสาร อิมัลซิไฟเออร์ เป็นต้น สอดคล้องกับงานวิจัยของสุปราณี (2539) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทปลาจากหัวผสมไส้ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 8.5 นาน 90 นาทีและทำการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alcalase® ที่อุณหภูมิ60 องศาเซลเซียสโดยใช้ความเข้มร้อยละ0.075 (โดยน้ำหนักวัตถุดิบ) ย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สลายเป็นเวลานาน150 นาทีนำมาผสมในไส้กรอก แฟรงเฟอร์เตอร์หมูร้อยละ3 ของน้ำหนักเนื้อหมู จะทำให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำและความคงตัวของอิมัลชันสูงที่สุด

Diniz and Martin (1997) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาฉลามด้วยเอนไซม์ Alcalase® พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในปลาฉลามหนู มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากกว่าการเติมเอนไซม์ Alcalase® โดยทำการบ่มเนื้อปลาฉลามหนูบดไว้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 8.3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เนื่องจากในสภาวะที่มีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อปลาฉลามหนูนั้น มีระดับการย่อยสลายต่ำเท่ากับร้อยละ 1.3 ขนาดของเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลายมีขนาดใหญ่กว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีการเติมเอนไซม์ Alcalase® ทำให้มีพื้นที่ผิวมากสามารถจับกับไขมันได้ดียิ่งขึ้น

2.7.2 สารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการอาหาร

โปรตีนที่สามารถดูดซึมในร่างกายได้มักอยู่ในรูปของกรดอะมิโนและเปปไทด์สายสั้นๆ ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซทจึงมักนำมาใช้ในอาหารสำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาด้านการดูดซึมสารอาหาร ผู้ที่เป็นโรคลำไส้สั้น และโรค Crohn's นอกจากนี้ยังใช้เพิ่มคุณค่าทางสารอาหารสำหรับนักกีฬาผู้สูงอายุ และผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก

วารยา (2538) ผลิตเครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการใช้กากถั่วเหลืองย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Neutrase® ร้อยละ 2.5 ปริมาตรต่อปริมาตรที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 6.5 เป็นเวลา 120 นาทีจากนั้นนำมาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มด้วยการเติมกรดร้อยละ 0.01 และน้ำตาลร้อยละ 12 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

Netto and Galeazz (1998) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโปรตีนไอโซเลทของถั่วเหลืองโดยย่อยสลายด้วยเอนไซม์ pancreatin ที่ความเข้มข้นของสับสเตรท 55 กรัมต่อลิตร และอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทเท่ากับ 1:35 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้มีขนาดเปปไทด์เท่ากับ 0.24-0.38 เปปไทด์ ซึ่งคล้ายกับโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากเคซีนและถั่วเหลืองที่นิยมใช้เป็นสารเพิ่มคุณค่าทางอาหารทางการแพทย์

Cigic and Blatnik-Zelinik (2004) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวของไก่ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนการอาหารได้ เนื่องจากไข่ขาวเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้มีกรดอะมิโนอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม แม้ว่าในโปรตีนของไข่ขาวจะมีสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในปริมาณสูง แต่สามารถปรับปรุงสภาวะการผลิตโดยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างเป็น 10 และให้ความร้อน 75-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alcalase® ที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3 สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

สารปรุงแต่งกลิ่นรสเนื้อสัตว์มักนำมาใช้ในการทำให้เกิดกลิ่นรสของอาหารคาว เช่น ซุปน้ำเกรวี และอาหารว่าง จากการศึกษาของ รวิพิมพ์ และประพันธ์ (2538) พบว่าการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำต้มกุ้งเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Neutrase® ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 50 ความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีเป็นสภาวะที่สามารถผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีปริมาณอะมิโนไนโตรเจนสูงสุดคือ 3.50 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อมิลลิลิตร แล้วเติมมอลโตเดกซ์ตรินร้อยละ 20 ในโปรตีนไฮโดรไลเซทให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็นร้อยละ 10 พบว่าผลิตภัณฑ์ดูดความชื้นช้าลงและบดเป็นผงได้ง่ายขึ้น

Wu *et al* (2000) พัฒนาสารปรุงแต่งกลิ่นรสเนื้อสัตว์จากกากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทร้อยละ 3.5 นาน 7 ชั่วโมงเป็นสภาวะที่มีคะแนน ความชอบโดยรวม ด้านกลิ่นรสเนื้อสัตว์สูงสุด โดยกลิ่นรสเนื้อสัตว์เกิดจากสภาวะการเติมกรดอะมิโนซิสทิอีน 0.5 มิลลิโมล ร่วมกับน้ำตาลไรโบส0.5 มิลลิโมล ให้ความร้อน99 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง

Varavinit *et al* (2005) ผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสเนื้อสัตว์โดยใช้เนื้อวัว หมู หรือไก่ที่ผ่านการให้ความร้อนและบดเป็นผง ละลายในน้ำร้อยละ25 ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปาเปน แล้วนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ให้ความร้อนสูงพร้อมกับเติมสารให้กลิ่นรสเนื้อสัตว์ ได้แก่ yeast extract กรดอะมิโนซิสทิอีน หรือเมทไธโอนีน และน้ำตาลกลูโคส เพื่อเพิ่มกลิ่นรสของเนื้อสัตว์ที่ชัดเจนให้กับโปรตีนไฮโดรไลเซทได้แก่กลิ่นรสเนื้อวัวหมูและไก่ เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทกลิ่นรสเนื้อสัตว์ต่าง ๆ มาเปรียบเทียบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสกับสารปรุงแต่งกลิ่นรสทางการค้า พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากเนื้อสัตว์ทุกชนิดได้รับการยอมรับของผลิตภัณฑ์มากกว่าสารปรุงแต่งกลิ่นรสทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์และวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 หัวกุ้งสดแช่แข็งได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 โซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulfite) (Merck, ประเทศเยอรมันนนี)

3.1.2.2 ไพซิลซัลโฟนิก แอซิด (Picrylsulfonic acid) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.1.2.3 แอล – ลูซีน (L- leucien) (Sigma-Aldrich, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.1.2.4 โซเดียมโดสซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate SDS) (EMD, ประเทศญี่ปุ่น)

3.1.2.5 ไอโซโพรพานอล (Isopropyl alcohol) (องค์การสุรากรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)

3.1.2.6 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Di-sodium hydrogen phosphate) (Merck ประเทศเยอรมันนี)

3.1.2.7 ไดโซเดียมเตตะบอเรต (Disodium tetraborate) (Merck ประเทศเยอรมันนี)

3.1.2.8 กรดบอริก (Boric acid) (Merck ประเทศเยอรมันนี)

3.1.2.9 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate) (Merck ประเทศเยอรมันนี)

3.1.2.10 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Merck ประเทศเยอรมันนี)

3.1.3 เอนไซม์

3.1.3.1 Papain (papaya latex 6000 U/mg) (Phyto products, ประเทศอินเดีย)

3.1.3.2 Alcalase (*Bacillus licheniformis* 2.4 L) (Merck, ประเทศเยอรมัน)

3.1.3.3 Bromelain (pineapple stem extract powder 1200 GDU/gm) (Phyto products, ประเทศอินเดีย)

3.1.4 เครื่องมือ

3.1.4.1 เครื่องชั่งน้ำหนัก (4 ตำแหน่ง) (Sartorious รุ่น TE214S, ประเทศเยอรมัน)

3.1.4.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น PL 1502-S, ประเทศเยอรมันนี)

3.1.4.3 เครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอน (Centrifuge) (Hettich zentrifugen รุ่น EBA 20, ประเทศเยอรมันนี)

3.1.4.4 เครื่องวัดค่าพีเอช (Standard pH meter) (Weilheim, ประเทศเยอรมันนี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.5 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, ประเทศเยอรมันนี)

3.1.4.6 UV-vis Spectrophotometer (Shimadzu) (รุ่น UV-1601, ประเทศญี่ปุ่น)

3.1.4.7 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Patch รุ่น OV 663, ประเทศไทย)

3.1.4.8 เครื่องบด (Blender) (Moulinex, ประเทศฝรั่งเศส)

3.1.4.9 โถดูดความชื้น (Desicator)

3.1.4.10 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.2 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 วิธีการดำเนินงาน

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างหัวกุ้งบด

นำตัวอย่างหัวกุ้งสดแช่แข็ง มาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำสะอาด นึ่งตัวอย่างหัวกุ้งให้สุกด้วยไอน้ำ นาน 20 นาที บดละเอียดด้วยเครื่องปั่นในระดับความเร็วสูงสุด นาน 3 นาที

3.3.2 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีบางประการของหัวกุ้งบด

นำตัวอย่างหัวกุ้งบดเตรียมจากข้อ 3.3.1 มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของหัวกุ้งบด ดังนี้

3.3.2.1 วัดค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH โดยนำหัวกุ้งบดผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

3.3.2.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในหัวกุ้งบดโดยทำตามวิธีของ AOAC (1984)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีบางประการของหัวกุ้งบดก่อนนำมาผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

3.3.3 ศึกษาสัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

นำตัวอย่างหัวกุ้งบดจากข้อ 3.3.1 มาผสมกับน้ำในสัดส่วน 1:1, 1:2, 2:1 และ 3:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เติมเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 1 ทำการกวนด้วยเครื่อง Stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้มากรอง นำส่วนสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์

3.3.3.1 ค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysate, DH) ตามวิธีของ Benjakul and Morrissey, (1997) (ภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ CRD (Complete Randomized design) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

3.3.4 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งโดยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ โบรมิเลน ปาเปน และอัลคาเลส โดยใช้ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 5 ระดับ คือร้อยละ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 (ภาคผนวก ง) ทำการกวนด้วยเครื่อง Stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้มากรอง นำส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

3.3.4.1 ค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysate, DH) ตามวิธีของ Benjakul and Morrissey, (1997) (ภาคผนวก ข)

3.3.4.2 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation) ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท โดยนำตัวอย่างสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการผลิตด้วยชนิดละความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุด มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทด้านความชอบ (9-point hedonic scale) โดยทดสอบด้านสี กลิ่นกุ้ง และความขม ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน โดยใช้แบบสอบถามตามภาคผนวก ง-1

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized complete block design (RCBD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ทำให้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทมีคุณภาพดี

3.3.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง โดยออกแบบการทดลองด้วย RSM (response surface methodology) ใช้อุณหภูมิในการย่อยอยู่ในช่วง 50-100 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 60-180 นาที ได้สภาวะดังแสดงในตารางที่ 3.1 โดยใช้สัดส่วนหัวกุ้งต่อน้ำตามข้อ 3.3.3 และ ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม ตามข้อ 3.3.4 จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้มากรอง นำส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์สารให้กลิ่นด้วยเครื่อง Gas Chromatography Mass

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Spectrophotometer (GC-MS) โดยใช้สภาวะการวิเคราะห์ตามภาคผนวก จ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งที่ให้สารให้กลิ่นหลักของโปรตีนจากหัวกุ้งสูงที่สุด

ตารางที่ 3.1 สภาวะการย่อยสลายโปรตีนเมื่อออกแบบการทดลองด้วย RSM

สภาวะ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
1	75	120
2	93	78
3	50	120
4	57	162
5	75	180
6	75	60
7	100	120
8	57	78
9	93	162

3.3.6 การพัฒนาโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบ

นำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผลิตได้จากสภาวะที่เหมาะสม และให้กลิ่นที่ดีที่สุด ข้อ 3.3.5 มาเป็นส่วนผสมในข้าวเกรียบ โดยการเปรียบเทียบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบ ที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเสท และข้าวเกรียบที่เป็นตัวอย่างควบคุม โดยมีส่วนผสมดังตางราง ที่ 3.2 และวิธีทำดังข้อ 3.6.3.1 แล้วจึงนำข้าวเกรียบที่ได้มาทดสอบคุณภาพทางประสามสัมผัสด้านความชอบตามข้อ 3.6.3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ส่วนผสมในการผลิตข้าวเกรียบปรุงรส

ตัวอย่าง	ส่วนผสม (กรัม)						
	แป้งมันสำปะหลัง	น้ำตาล	เกลือ	พริกไทย	กระเทียม	น้ำ	โปรตีนไฮโดรไลเสท
A	500	15	10	10	12	300	-
B	500	15	10	10	12	225	75[1]
C	500	15	10	10	12	150	150[2]

หมายเหตุ A ... ข้าวเกรียบที่เป็นตัวอย่างควมคุม

B, C ... ข้าวเกรียบที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากข้อ 3.3.5

[1] ... ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ใช้เป็นร้อยละ 15 ของน้ำหนักแป้ง

[2] ... ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ใช้เป็นร้อยละ 30 ของน้ำหนักแป้ง

3.3.6.1 วิธีทำข้าวเกรียบปรุงรส

ชั่งส่วนผสมตามตารางที่ 3.1 หลังจากนั้นแบ่งแป้งมา 150 กรัม ผสมกับกระเทียมพริกไทยที่โขลกละเอียด น้ำตาลเกลือ เติมน้ำเล็กน้อย นำไปตั้งไฟอ่อนๆ คลุกเคล้าให้เข้ากันจนรวมเป็นมวลเหนียว ต่อจากนั้นนวดผสมกับแป้งที่เหลือ น้ำ และโปรตีนไฮโดรไลเสท จนเนื้อแป้งมีลักษณะเนียนไม่ติดมือ ปั้นตามขนาดที่ต้องการ นำไป 1 ชั่วโมง แล้วพักทิ้งไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 1 คืน นำแป้งที่ได้มาหั่นเป็นชิ้นบางๆ อบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำข้าวเกรียบที่ได้มาทอดด้วยน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิ 180 เซลเซียส ระยะเวลา 10 วินาที

3.6.3.2 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation) ของข้าวเกรียบปรุงรส โดยนำข้าวเกรียบจากข้อ 3.3.6.1 มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปรุงรส ด้านความชอบ (9-point hedonic scale) โดยทดสอบความชอบด้านสี กลิ่นกุ้ง รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน โดยใช้แบบสอบถามตามภาคผนวก ง2

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Complete Randomized design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 สมบัติทางเคมีบางประการของหัวกุ้งบด

เมื่อนำหัวกุ้งมาเตรียมเป็นหัวกุ้งบด โดยนำหัวกุ้งมานึ่งให้สุกด้วยไอน้ำนาน 20 นาที แล้วบดละเอียด จากนั้นนำหัวกุ้งบดผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้ววัดค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า หัวกุ้งบดมีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8.41 และเมื่อนำหัวกุ้งบดมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่าหัวกุ้งบดมีปริมาณโปรตีนอยู่ร้อยละ11.43 หลังจากนั้นนำหัวกุ้งบดมาศึกษาสัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

4.2 สัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในหัวกุ้ง

นำหัวกุ้งบดที่เตรียมจากข้อ 3.3.1 มาศึกษาสัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีน โดยนำตัวอย่างหัวกุ้งบดมาผสมกับน้ำในสัดส่วน 1:1, 1:2, 2:1 และ 3:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เติมเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 1 ทำการกวนด้วยเครื่อง Stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ระดับการย่อยสลายของโปรตีนจากหัวกุ้ง ในสัดส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่แตกต่างกัน

สัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำ (w/v)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)
1:1	18.58±0.40^{a}
1:2	17.57±0.53^{bc}
2:1	18.12±0.31^{ab}
3:1	17.05±0.32^{d}

หมายเหตุ$^{a, b, c,}$ … ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

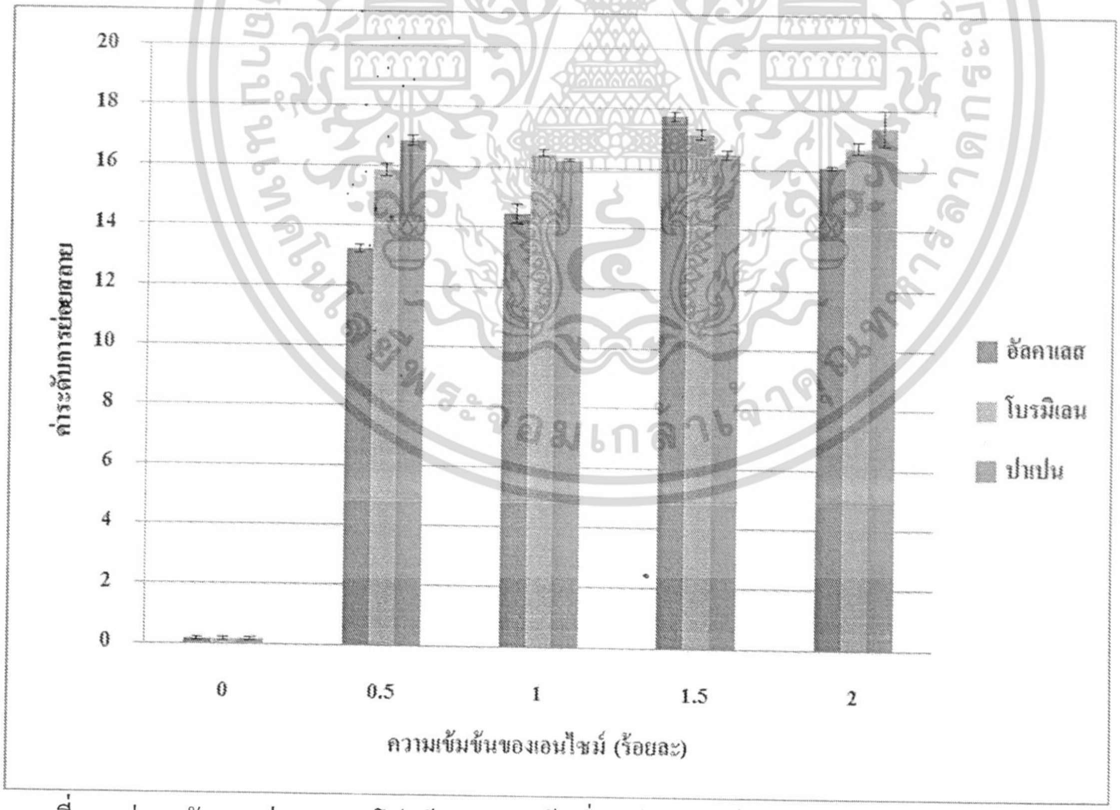
จากตารางที่ 4.1 พบว่าสัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำมีผลทำให้ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนจากหัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำ 1:1 มีค่าระดับการย่อยสลายสูงสุด รองลงมาเป็นสัดส่วนที่ 1:2 โดยมีค่าระดับการย่อยสลายที่ร้อยละ 18.58 และ 18.12 จากผลที่ได้เกิดจากเอนไซม์โปรตีเอสซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส ที่จำเป็นต้องใช้น้ำในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ในการสร้างผลผลิต (พัชรา, 2543) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Benjakul and Morrissey (1997) ซึ่งพบว่า สัดส่วนของน้ำจะส่งผลถึงปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทเช่นกัน โดยสัดส่วนวัตถุดิบต่อน้ำมากขึ้น ก็จะได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มขึ้นเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นที่มากขึ้นแต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของปริมาณน้ำที่ไม่น้อยจนเกินไป ซึ่งจะส่งผลต่อการดำเนินปฏิกิริยาของเอนไซม์ จนทำให้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีค่าลดน้อยลง เมื่อสัดส่วนวัตถุดิบต่อน้ำเพิ่มขึ้น ดังนั้นสัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่ 1:1 เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งบด

4.3 ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง เมื่อใช้เอนไซม์ 3 ชนิด คือ โบรมิเลน ปาเปน และอัลคาเลส ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 โดยใช้สัดส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสม จากข้อ 4.2 นั้นจึงนำโปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์ค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysate, DH) ตามวิธีของ Benjakul and Morrissey (1997) โดยจะนำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงสุดของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่นกุ้ง และความขม เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกชนิดของเอนไซม์ในการดำเนินการทดลองในขั้นตอนต่อไป ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 ค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งเมื่อใช้เอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และ ปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.1 แสดงค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง เมื่อใช้ชนิดและระดับความเข้มข้นเอนไซม์ต่างกัน พบว่าชนิดและระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก) การใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีน พบว่า ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสมีแนวโน้มทำให้ค่าระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 1.5 มีค่าระดับการย่อยสลายเป็นร้อยละ 17.76

ส่วนการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โบรมิเลน พบว่า ค่าระดับการย่อยสลายมีลักษณะเป็นรูปแบบเดียวกับเอนไซม์อัลคาเลส คือ ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลนที่ร้อยละ 0.5 และ 1 มีค่าระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 1.5 ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 16.48 เป็นร้อยละ 17.16 และการเอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายโปรตีน พบว่าระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.5, 1 และ 1.5 ให้ค่าระดับการย่อยสลายที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 2 จะให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดที่ร้อยละ 17.41

จะเห็นได้ว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดเพิ่มสูงขึ้น โอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนมากขึ้น เป็นผลให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นจนกระทั่งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ ค่าระดับการย่อยสลายจะคงที่แม้เพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นอีก ก็ไม่ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

ดังนั้นระดับความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเคส โบรมิเลน และปาเปน ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งคือ ร้อยละ 1.5, 1.5 และ 2 ตามลำดับ และนำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ไปทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของโปรตีนไฮโดรไลเสทเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด แสดงในตารางที่ 4.2 จะเห็นว่าเมื่อใช้เอนไซม์ต่างกันมีผลต่อความชอบของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 2 ทำให้คะแนนความชอบด้านสีมีคะแนนความชอบสูงสุด 7.27 ซึ่งอยู่ในระดับความชอบปานกลาง โดยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสความเข้มข้นร้อยละ 2 มีผลทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีความชอบด้านสีต่ำสุด ส่วนการใช้เอนไซม์โบรมิเลนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีความชอบด้านสีในระดับชอบเล็กน้อย ด้านกลิ่นกุ้ง โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบริเลนความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ได้คะแนนความชอบสูงสุด 6.33 เป็นระดับชอบเล็กน้อยแต่ไม่แตกกต่างจากการใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 2 ส่วนการใช้เอนไซม์อัลคาเลสความเข้มข้นร้อยละ 2 ทำให้ความชอบด้านกลิ่นกุ้งต่ำที่สุด ในด้านความชอบด้านความขมของโปรตีนไฮโดรไลเสท พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีความชอบด้านความขมต่ำที่สุด โดยมีคะแนนความชอบต่ำสุดที่ 4.53 เมื่อใช้เอนไซม์โบรมิเลนและปาเปนทำให้ความชอบด้านความขมมีคะแนนไม่ต่างกัน จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสโดยใช้เอนไซม์นั้นไม่สามารถใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการผลิตได้ เนื่องจากทำให้คุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบในด้านสี กลิ่นกุ้ง และความขม โดยเฉพาะกลิ่นกุ้ง และความขมมีความชอบต่ำ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งมีกลิ่นกุ้งที่น้อย และมีความขมมาก ส่วนการใช้เอนไซม์โบรมิเลนและปาเปนผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งมีคุณภาพด้านความชอบกลิ่นกุ้ง และความขม ไม่ต่างกัน ในการเลือกชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส จึงเลือกใช้เอนไซม์โบรมิเลนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 เนื่องจากใช้ความเข้มข้นต่ำกว่าเอนไซม์ปาเปน ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้ทางหนึ่ง

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ ของโปรตีนไฮโดรไลเสทเมื่อเตรียมจากเอนไซม์ 3 ชนิด

คุณลักษณะ	คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส		
	อัลคาเลส ร้อยละ 1.5	โบรมิเลน ร้อยละ 1.5	ปาเปน ร้อยละ 2
สี	5.30 ± 1.44^{c}	6.30 ± 1.17^{b}	7.27 ± 0.94^{a}
กลิ่นกุ้ง	3.40 ± 1.27^{b}	6.33 ± 1.29^{a}	5.87 ± 1.36^{a}
ความขม	4.53 ± 1.04^{b}	6.00 ± 1.11^{a}	5.57 ± 1.56^{a}

หมายเหตุ$^{a, b, c,}$ ... ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

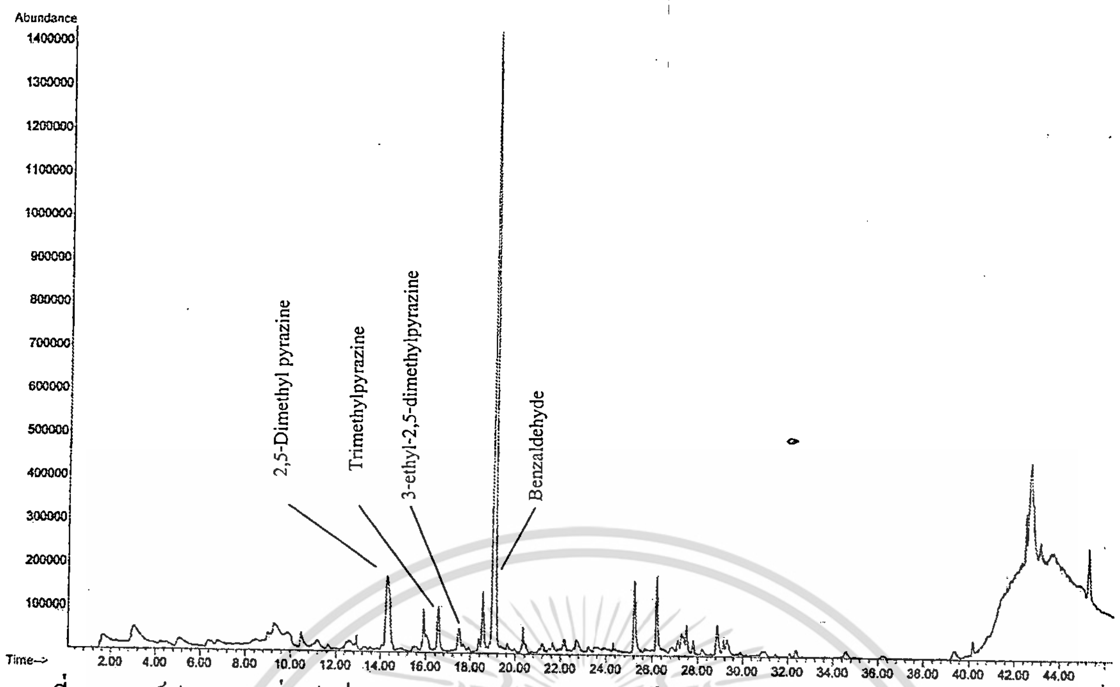
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง คือ ใช้อุณหภูมิในช่วง 50-100 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 60-180 นาที โดยใช้เอนไซม์โบรมิเลนความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ซึ่งเป็นชนิดและระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม จากข้อ 4.3 และออกแบบสภาวะการทดลองด้วย RSM จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ในแต่ละสภาวะมาวิเคราะห์องค์ประกอบสารให้กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเสทด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้ Solid Phase Microextraction (SPME) ในการสกัดกลิ่น เพื่อทำการเลือกสภาวะในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง ที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีองค์ประกอบของกลิ่นรสดีที่สุด โดยพิจารณาเปรียบจากค่าระดับการย่อยสลาย และองค์ประกอบหลักของสารให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง ปริมาณขององค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสจะพิจารณาจาก ร้อยละของพื้นที่โดยรวม (Total area)ได้ผลดังภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.3 และ 4.4

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบสารให้กลิ่นรสของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าองค์ประกอบสารให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งทั้ง 9 สภาวะมีองค์ประกอบคล้ายส่วนใหญ่ และพบองค์ประกอบของสารให้กลิ่นรส 20 ชนิด โดยสภาวะที่ 1, 2 และ 9 ไม่พบองค์ประกอบของ 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine ที่เป็นองค์ประกอบหลักที่ให้กลิ่นในหัวกุ้ง ส่วน benzaldehyde จะพบในทุกสภาวะ และสภาวะที่พบองค์ประกอบที่ให้กลิ่นครบทั้ง 2 ชนิด คือสภาวะที่ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ซึ่งสภาวะที่ 5 เป็นสภาวะที่พบองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสทั้งหมด 20 ชนิด รองลงมาเป็นสภาวะที่ 3 และสภาวะที่ 7 พบองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสเท่ากัน 19 ชนิด (ตารางที่ 4.4) และองค์ประกอบสารให้กลิ่นรสที่พบสูงที่สุด คือ benzaldehyde และสารประกอบในกลุ่มของไพราซีนคือ 2,5-dimethyl pyrazine, Trimethylpyrazine และ 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine (ภาพที่ 4.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rochat *et al* (2009) ที่ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่น (ordorants) ในหัวกุ้ง โดยทำให้หัวกุ้งสุกก่อน แล้วใช้ NaCl สกัดโปรตีน แล้วจะนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่น โดยใช้เทคนิค GC-MS พบว่าองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในหัวกุ้ง เป็นสารประกอบ trimethylamine, 2-acetyl-1-pyrrolineและ 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine ที่เป็นอนุพันธ์ของ aldehyde ซึ่งในงานวิจัยนี้ก็พบ 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine เช่นกัน นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจะพบว่าองค์ประกอบที่มีมากในแต่ละสภาวะจะเป็น benzaldehyde ดังแสดงในภาพที่ 4.2 ดังนั้นในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้จึงเลือกสาร 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine ที่เป็นองค์ประกอบที่ให้กลิ่นในหัวกุ้ง และ benzaldehyde ซึ่งมีปริมาณมากที่สุด มาใช้ในการพิจารณา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 องค์ประกอบที่ให้กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผลิตจากเอนไซม์โบรมิเลนร้อยละ 1.5 เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS

ตารางที่ 4.3 สภาวะในการย่อยสลายโปรตีนที่มีผลต่อค่าระดับการย่อยสลาย

สภาวะ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ค่าระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ร้อยละของพื้นที่โดยรวม Total area (%)	
				2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine	benzaldehyde
1	75	120	14.14 ± 0.47^{c}	ND	35.65
2	93	78	14.67 ± 0.25^{c}	ND	43.38
3	50	120	18.78 ± 0.49^{a}	1.65	42.21
4	57	162	14.26 ± 0.33^{c}	1.47	45.37
5	75	180	15.78 ± 0.11^{b}	1.67	36.77
6	75	60	14.46 ± 0.26^{c}	1.75	40.87
7	100	120	16.03 ± 0.39^{b}	1.10	37.16
8	57	78	14.49 ± 0.14^{c}	1.08	49.93
9	93	162	15.10 ± 0.38^{bc}	ND	57.95

หมายเหตุ$^{a, b, c,}$ ... ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ND ... Not Detect

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.3 พบว่าสภาวะการย่อยสลายโปรตีนที่แตกต่างกันทั้ง 9 สภาวะ มีผลทำให้ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนจากหัวกุ้งทั้ง 9 สภาวะ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสภาวะที่ 3 การใช้อุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที มีค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนสูงสุดที่ร้อยละ 18.86 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ จรินทร์ (2544) ทดลองผลิตซุปกึ่งสำเร็จรูปรสกุ้งจากหัวกุ้ง พบว่าการใช้เอนไซม์โบรมิเลนร้อยละ 1.5 ร่วมกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์ร้อยละ 1 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง มีค่าระดับการย่อยสลายก็จะสูงที่สุดและจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและคงที่ หลังจาก 2 ชั่วโมง จากการทดลองจะเห็นว่าการใช้อุณหภูมิที่สูงและเวลานานมีแนวโน้มทำให้ค่าการย่อยสลายลดลง

จะเห็นได้ว่า ร้อยละของพื้นที่โดยรวมขององค์ประกอบที่ให้กลิ่นของ 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine เมื่อใช้อุณหภูมิที่ 75 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาทีในการย่อยสลายโปรตีน พบว่ามีร้อยละของพื้นที่โดยรวมสูงสุด และการพบองค์ประกอบที่ให้กลิ่นในกลุ่มของไพราซีนจะพบได้ก็ต่อเมื่อมีการใช้เอนไซม์ และใช้ความร้อนร่วมกับการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีน (Aaslyng และคณะ 1998) ส่วนร้อยละของพื้นที่โดยรวมของ benzaldehyde จะพบในทุกสภาวะ และพบมากที่สุด ที่อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 78 นาที

ดังนั้นเมื่อพิจารณาค่าระดับการย่อยสลาย และองค์ประกอบหลักของสารให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง ซึ่งปริมาณขององค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสจะพิจารณาจาก ร้อยละของพื้นที่โดยรวม (Total area) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง คือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที มีค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนสูงสุดที่ร้อยละ 18.86 และร้อยละของพื้นที่โดยรวมขององค์ประกอบที่ให้กลิ่นของ 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine และ benzaldehyde มีปริมาณร้อยละ 1.65 และ 42.21 ตามลำดับ องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเสททั้งหมด 19 ชนิด (ตารางที่ 4.4)

พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเสททั้ง 9 สภาวะ วิเคราะห์ด้วย GC-MS

องค์ประกอบที่ให้กลิ่น	สภาวะในการสกัด								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3-Methybutanol	x	-	x	-	x	x	x	x	x
Toluene	x	-	x	x	x	x	x	x	x
Hexanol	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Limonene	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2,5-Dimethyl pyrazine	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Trimethylpyrazine	x	x	x	-	x	x	x	x	-
3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine	-	-	x	x	x	x	x	x	-
2-Ethylhexanol	x	x	x	-	x	x	x	x	x
Benzaldehyde	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Methoxy-phenyl-oxime	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Hexamethyl cyclohexasiloxane	x	-	x	x	x	-	x	x	x
Benzothiazole	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Dodecamethyl cyclohexasiloxane	x	x	x	x	x	x	x	x	x
1-(2-aminophenyl)-ethanone	x	-	x	x	x	x	x	x	-
Palmitic acid	x	x	x	-	x	x	x	x	x
Myristic acid	x	-	x	x	x	x	x	x	-
Dodecane	-	-	x	x	x	x	x	x	x
Decamethyl cyclopentasiloxane	x	-	x	x	x	x	x	-	x
6-mthyl-5-heptane-0ne	x	-	-	-	x	-	-	-	x
Acetophenone	-	-	x		x	-	x	-	x

หมายเหตุ x ... Detect

-- ... Not Detect

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การพัฒนาโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบ

นำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผลิตได้จากสภาวะที่เหมาะสม และให้กลิ่นที่ดีที่สุด ข้อ 3.3.5 มาเป็นส่วนผสมในข้าวเกรียบ โดยการเปรียบเทียบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบ ที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเสท และข้าวเกรียบที่เป็นตัวอย่างควบคุม โดยมีส่วนผสมตังตางราง ที่ 3.2 และวิธีทำดังข้อ 3.6.3.1 แล้วจึงนำข้าวเกรียบที่ได้มาทดสอบคุณภาพทางประสามสัมผัสด้านความชอบด้านสี กลิ่นกุ้ง รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบเมื่อใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดไลเซทจากหัวกุ้ง

ตัวอย่าง	คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส				
	สี^{ns}	กลิ่นกุ้ง	รสชาติ^{ns}	เนื้อสัมผัส^{ns}	ความชอบรวม
A	6.46±0.94	6.13±0.16^{b}	6.70±0.56	6.76±0.14	6.96±0.27^{b}
B[1]	6.56±0.51	6.27±0.21^{b}	6.93±0.84	6.90±0.07	7.01±0.54^{b}
C[2]	6.70±0.76	6.86±0.47^{a}	7.10±0.67	7.03±0.42	7.40±0.31^{a}

หมายเหตุ $^{a, b, c,}$ ... ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A ... ข้าวเกรียบที่เป็นตัวอย่างควมคุม

B, C ... ข้าวเกรียบที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากข้อ 3.3.5

[1] ... ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ใช้เป็นส่วนผสมร้อยละ 15 ของน้ำหนักแป้ง

[2] ... ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ใช้เป็นส่วนผสมร้อยละ 30 ของน้ำหนักแป้ง

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งในระดับที่ต่างกัน พบว่า การเติมโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งลงในข้าวเกรียบมีผลไม่มีผลต่อสี รสชาติ และเนื้อสัมผัสของข้าวเกรียบ แต่ส่งผลต่อความชอบด้านกลิ่นกุ้ง และความชอบรวมของข้าวเกรียบ โดยเมื่อเติมโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 30 มีความชอบด้านกลิ่นกุ้งและความชอบรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากข้าวเกรียบสูตรควบคุมและข้าวเกรียบที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 15 จากผลที่ได้สามารถสรุปได้ว่า ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่เพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้กลิ่นกุ้งเพิ่มขึ้นด้วย แต่ไม่ส่งผลต่อสี รสชาติ และเนื้อสัมผัสของข้าวเกรียบ นอกจากนี้ส่วนผสมอื่นก็มีผลต่อรสชาติของข้าวเกรียบ เช่น น้ำตาล เกลือ พริกไทย และกระเทียม สามารถช่วยลดความขมในข้าวเกรียบได้ เพราะการเติมโปรตีนไฮโดรไลเสทลงในข้าวเกรียบถ้าเติมในปริมาณที่สูงเกินไปอาจทำให้ข้าวเกรียบมีรสขมได้ ซึ่ง Hall และ Ahmad (1992)ได้อธิบายไว้ว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โปรติเอสนั้น มักจะมีรสขม ซึ่งเป็นคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งรสขมที่เกิดขึ้นนั้นมีสาเหตุจากกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ไอโซลิวซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน ทริปโตเฟน และวาลีน เป็นต้น และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะมิโน เมื่ออยู่รวมกันเป็นเพปไทด์จะให้รสขมมากกว่าเมื่ออยู่แบบอิสระ ดังนั้นการเติมปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ร้อยละ 30 ลงในข้าวเกรียบจึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของหัวกุ้งบด หัวกุ้งบดมีค่าความเป็นกรดด่าง 8.41 และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 11.43

อัตราส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่ 1:1 เป็นอัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำเหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง ที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนโปรตีนสูงสุด

จากการศึกษาชนิดและระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง การใช้เอนไซม์โบริเลนที่ร้อยละ 1.5 ให้ค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนสูงสุด ได้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของกลิ่นกุ้ง และความขมสูงสุด

สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง ที่มีปัจจัยในการศึกเป็นอุณหภูมิในในช่วง 50-100 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 60-180 นาทีเมื่อออกแบบการทดลองด้วย RSM ทั้งหมด 9 สภาวะทดลอง (ตารางที่ 3.1) โดยพิจารณาเปรียบเทียบจากค่าระดับการย่อยสลาย (DH) และองค์ประกอบหลักที่ให้กลิ่นในหัวกุ้ง คือ 2-ethyl-3,5-dimethyl pyrazine และ benzaldehyde ได้สภาวะที่เหมาะสมคือ การใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสทไปพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบ โดยการเติมโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 30 ได้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นกุ้งสูงสุด และไม่ส่งผลต่อ สี รสชาติ และเนื้อสัมผัสของข้าวเกรียบ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาการใช้ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเสทในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นแนวทางในการนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากหัวกุ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

1. สามารถผลิตบทความตีพิมพ์ในงานประชุมวิชาการระดับชาติได้ 1 บทความ (ภาคผนวก ซ)

ศิริพร ไชยงสงคราม และธงชัย พุฒทองศิริ. 2556. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์. การประชุมทางวิชาการบัณฑิตศึกษาศิลปากร ระดับชาติ ครั้งที่ 4 (NGSC 2014) เรื่อง "การศึกษาเชิงสร้างสรรค์" และระดับนานาชาติ (The 4th National and International Graduate Study Conference 2014, IGSC 2014) "Creative Education" ในวันที่ 22 – 23 พฤษภาคม 2557. หน้า 3056-3067

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

จรินทร์ สว่างแจ้ง. 2544. การพัฒนาซุปกึ่งสำเร็จรูปรสกุ้งจากหัวกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณาตยา ศรีจันทึก. 2555. สถานการณ์สินค้ากุ้งทะเลและผลิตภัณฑ์ปี 2555. เข้าถึงเมื่อ 24 กุมภาพันธ์. เข้าถึงได้จาก http://www. http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Doc/Shimp55.pdf

ณัฐวุฒิ ส่งแสง. 2552. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสทะเลจากโปรตีนไฮโดรไลเสทกากถั่วเขียว โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ไตรตะวัน คงแก้ว สุทธวัฒน์ เบญจกุล อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และ วรพงษ์ อัศวเกศมณี. 2542. การย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยการใช้เอนไซม์ การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาคหกรรมศาสตร์ สาขาศึกษาศาสตร์ สาขามนุษยศาสตร์ สาขาสังคมศาสตร์ สาขาเศรษฐศาสตร์ สาขาบริหารธุรกิจ 3-5 กุมภาพันธ์ 2542 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 101-109.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร.พิมพ์ครั้งที่ 2 . โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮาส์, กรุงเทพ

ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก และนงนุช รักสกุล. 2534. การใช้เอนไซม์ปาเปนและบรอมมเลินในการทำซอสหอยนางรม. วิทยาการเกษตรศาสตร์ (วิทยาศาสตร์), ปีที่ 25 .หน้า 65-74.

พัชรี ธีรสุนทรวัฒน์. 2536. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากหัวกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญา-โท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พัชรา วีระกะลัส.2544). เอนไซม์. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : กรุงเทพฯ

เพียงใจ หาญวัฒนาวุฒิ. 2537. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากของเสียจากกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญา-โท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

แพรวไพลิน ตันติบุตร. 2552. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดรไลเสทเห็ดย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า-ธนบุรี

ภิญโญ พานิชพันธ์. 2530. โครงสร้างของเอนไซม์. ว.วิทยาศาสตร์. 41 (7) : 327-332.

รวิพิมพ์ ฉวีสุข และประพันธ์ปิ่นศิโรดม. 2538. การศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากน้ำต้มกุ้งเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร. เกษตรพระจอมเกล้า 13 (1) : 1-13.

รัตมณี หาญวณิชศักดิ์. 2540. การออกแบบเบื้องต้นสำหรับกระบวนการผลิตไคทินและสารปรุงแต่งกลิ่นรสกุ้งจากเศษกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รุ่งอรุณ ตระการชัยวงศ์. 2545. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทไขมันต่ำจากของเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.95 น.

วารยา บุปธำรง. 2539. เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเสทจากกากถั่ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 103 หน้า

วิชชุลดา ช่วยฉิม. 2544. การคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอสสำหรับย่อยเศษหัวกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุปราณี แย้มพราย, 2539, การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากของเหลือจากโรงงานผลิตซูริมิเพื่อใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารคณะอุตสาหกรรมการเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุภาวดี ฟูกุล. 2542. ซอสปรุงรสจากโปรตีนปลาไฮโดรไลเซทจากหัวปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 122 น.

อาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล. 2535. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อารี ฤทธิบรูณ์. 2555. เทคโนโลยีของเอนไซม์. สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Aaslyng, D.M., Elmore, S.J. and Donald, S.M., 1998a, "Comparison of the Aroma Characteristics of Acid-Hydrolyzed and Enzyme-Hydrolyzed Vegetable Proteins Produced from soy", Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 46, pp. 5225-5231.

Aaslyng, D.M., Magnl, M., Leif, P., Per, N., Hanne, F. and Lone, M.L., 1998b, "Chemical and Sensory Characterization of Hydrolyzed Vegetable Protein, a Savory Flavoring", Journal ofAgricultural and Food Chemistry, Vol. 46, pp. 481-489.

Adler-Nissen, J. 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Protein, Vanderbilt, New York, 421 p.

AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 15Th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. 1298 p.

Armenta, R.E., and I. Guerrero-Legarreta. 2009. Amino acid profile and enhancement of the enzymatic hydrolysis of fermented shrimp carotenoproteins. Food Chemistry 112:310-315.

Babu, C.M., R. Chakrabarti, and K.R. Surya Sambasivarao. 2008. Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids. LWT - Food Science and Technology 41:227-235.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baek, H.H. and K.B. Cadwallader. 1995. Enzymatic Hydrolysis of Crayfish Processing By-Products. J. Food Science. 60(5): p. 929.

Benjakul, S. and M.T. Morrissey. 1997. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. J. Agric. Food Chem. 45: 3423-3430.

Bhuwapathapun, S. 1996. Protease Enzyme in Chitin and Chitosan Production from Shrimp Waste Products. pp. 41-49. *In* Chitin and Chitosan Environmental Friendly and Versatile Biomaterials, 21-23 November 1996. Asian Institute of Technology, Bangkok.

Boudreau, J.C., 1979, Food Taste Chemistry, ACS Symposium, pp. 31-35.

Bueno-Solona, C., J. Lopez-Cervantes, O.N. Campas-Baypoli, R. Lauterio-Garcia, N.P. Adan-Bante, and D.I. Sanchez-Machado. 2009. Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. Food Chemistry 112:671-675.

Cahu, T.B., S.D. Santos, A. Mendes, C.R. Cordula, S.F. Chavante, L.B. Carvalho Jr, H.B. Nader, and R.S. Bezerra. 2012. Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. Process Biochemistry 47:570-577.

Cao, W., C. Zhang, P. Hong, H. Ji, J. Hao, and J. Zhang. 2009. Autolysis of shrimp head by gradual temperature and nutritional quality of the resulting hydrolysate. LWT - Food Science and Technology 42:244-249.

Chaplin, M.F. and C. Bucke. 1990. Enzyme Technology. Cambridge University Press. New York. 264 p.

Cigic, B. and Zelenik-Blatnik, M., 2004, "Preparation and characterization of chicken egg white hydrolysate", Acta Cheem. Slov., Vol. 51, pp. 177-188.

Gildberg, A., and E. Stenberg. 2001. A new process for advanced utilisation of shrimp waste. Process Biochemistry 36:809-812.

Deman, J.M., 1980, Principles of food chemistry, AVI Publishing, New York, 426p.

Diniz, F.M. and Martin, A.M., 1997, "Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate", Academic Press Limited, Vol.30, pp. 266-272.

Dzanic ,H., Mujic, I. and Sudarski-Hack, V., 1985, "Protein hydrolysate from soy grits and dehydrated alfalfa flour", Journal of Agircultural and Food Chemistry, Vol. 33, No. 4, pp. 683-685.

Eskin, N.A.M. and Henderson, H.M., 1971, Biochemistry of food, Academic Press, New York, 240 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hall, G.M. and N.H. Ahmad. 1992. Fanctional properties of fish protein hydrolysates, pp. 249-274. *In* G.M. Hall, ed. Fish Processing Technology. Van Nostrand Reinhold, New York.

Hee, J.C., J. Hyun and J.I.Man. 2001. Utilization of Brewer's Yeast Cells for the Production of Food-Grade Yeast Extract. I. Effects of Different Enzymatic Treatments on Solid and Protein Recovery and Flavor Characteristics. Bioresource Technology. 76 (3) : 253-258.

Heu, M.-S., J.-S. Kim, and F. Shahidi. 2003. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. Food Chemistry 82:235-242.

Howell, N.K. 1996. Chemical and enzymatic modifications, pp. 235-280. *In* S. Nakai and H.W. Modler, eds. Food Proteins: Properties and Characterization. VCH Publishers, New York.

Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A., 2000, Fish protein hydrolsates : Production, biochemical and functional properties, Critical Review in Food Science and Nutrition, Vol. 40, pp. 43-81.

Lee, C.M. and Y. Yang. 1999. Enzyme-Assisted Flavor Production from Lobster Process By-Products. Food Science and Nutrition : 35-36.

Li, S.J., T.A. Seymour, A.J. King and M.T. Morrissey. 1998. Color Stability and Lipid Oxidation of Rock Fish as Affect by Antioxidant from Shrimp Shell Waste. J. Food Sci. 63 (3):438-441.

Mahesh, T., T.M.R. Setty, T.S. Shetty and C.N. Ravishankar. 1993. Studies on the Preparation of Functional Fish Protein Concentrate from *Nemipterus japonicus* by Enzymatic Method. Fishery Technol. 30: 57-61.

Manley, C.H. and Fagerson, I.S., 1971, "Aspects of aroma and taste characteristics of hydrolyzed vegetable protein", The Flavor Industry, Vol. 2, No. 12, pp. 686-690.

Manley, C.H., McCann, J.S. and Swane, R.L.Jr., 1981, "The Chemical base of the taste and flavor enhancing properties of hydrolyzed protein", The Quality of Food and Beverage Chemistry and Technology, Vol. 1, pp. 61-82.

Matoba, T. and Hata, T., 1972, Relationship between bitterness of peptides and their chemical structures, Agriculture Biological and Chemistry, Vol.36, No.8, pp. 1423-1431.

Meyers, S.P. 1986 Utilisation of shrimp processing waste. Infofish Marketing Digest 4/86 : 18-19

Mohr, V. 1980. Enzyme technology in the meat and fish industries. Process Biochem. 15: 18-21, 32.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mottram, D.S., 1992, "The chemistry of meat flavour", Meat Focus International., pp. 87-93.

Nagodawithana, T.W. and Reed, G., 1991, Yeast technology, 2nded., Van Nostrand Reinhold, New York, p. 454.

Netto, F.M. and Galeazzl, M.A.M., 1998, Production and Characterization of Enzymatic Hydrolysate from Soy Protein Isolate, Academic Press, pp. 624-631.

Ney, K.H., 1979, Bitterness of peptides: amino acid composition and chain length, *In* Food Taste Chemistry, Boudreau, J.C.(Ed.), American Chemical Society, Washington, DC., pp.149-173.

Oh, Y.S., I.L. Shih, Y.M. Tzeng and S.L. Wang. 2000. Protease Produced by *Pseudomonas Aeruginosa* K-187 and its Application in the Deproteinization of Shrimp and Crab Shell Wastes. Enzyme and Microbial Technology. 27: 3-10.

Olsen, R.L., Johansen, A. and B. Myrnes. 1990. Recovery of enzymes from shrimp waste. Process Biochemistry. 25(2): 67-68.

Pacheco, N., M. Garnica-Gonzalez, J.Y. Ramirez-Hernandez, B. Flores-Albino, M. Gimeno, E. Barzana, and K. Shirai. 2009. Effect of temperature on chitin and astaxanthin recoveries from shrimp waste using lactic acid bacteria. Bioresource Technology 100:2849-2854.

Pedersen, B. 1994. Removing Bitterness from Protein Hydrolysates. Food Technol. 45 (10): 96-98.

Peterson, J. 1974. Encyclopedia of Food Technology. Van Nostrand reinhold company, New York.

Prendergast, K. 1974. Protein Hydrolysate-A Review. Food Trade Review. January: 14-21.

Sachindra, N.M., and N.S. Mahendrakar. 2005. Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. Bioresource Technology 96:1195-1200.

Shahidi, F., H. Xiao-Qing and J. Synowiecki. 1995. Production and Characteristics of Protein Hydrolysates from Capelin (*Mallotus Villosus*). Food Chemistry. 53: 285-293.

Shahidi, F., J. Synowiecki and J. Balejko. 1994. Proteolytic Hydrolysis of Muscle Proteins from Harp Seal (*Phocu Groenladica*). J. Agricul Food Chem. 42: 2634-2638

Shih, F.F. 1992. Modification of food proteins by non-enzymatic methods, pp. 235-248. *In* B.J.F. Hudson, ed. Biochemistry of Food Proteins. Elsevier Applied Science, London.

Sila, A., M. Nasri, and A. Bougatef. 2012. Isolation and characterisation of carotenoproteins from deep-water pink shrimp processing waste. International Journal of Biological Macromolecules.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Suh, H.J., J.H. Whang, Y.S. Kim, S.H. Bae and D.O. Noh. 2002. Preparation of Amgiotensin I Converting Enzyme Inhibitor from Corn Gluten. Process Biochem. 1-6.

Synowiecki, J., and N. Ali Abdul Quawi Al-Katee. 2000. The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp *Crangon crangon* processing discards. Food Chemistry 68:147-152

Tan, P.S.T., A.J.M. Kessel, F.L.M. Veerconk, P.F. Zuurendonk, A.P.Bruins and W.N. Konings. 1993. Degradation and Debittering of A Tryptic Digest from Casein by Aminopeptidase N from *Lactococcus Lactis*. Subsp. WG2. Appl. Environ. Microbial. 59: 1430-1436.

Varavinit, S., Shobsngob, S., Bhidyachakorawat, M. and Suphantharika, M., 2000, "Production of meat-like flavor", Scienceasia, Vol. 26, pp. 219-224.

Wang, S.L and P.Y. Yeh. 2006. Production of a surfactant- and solvent-stable alkaliphilic protease by bioconversion of shrimp shell waste fermented by *Bacillus subtilis* TKU007. Process Biochem. 41:1545-1552.

Whitaker, J.R. 1994. Principles of Technology for the Food Sciences. 2 nd ed. Marcel Dekker, New York. 625 p.

Wu, Y.F., Baek, H.H., Gerard, P.D. and Cadwallader, K.R., 2000, Development of a meat-like process flavoring from soybean-based enzyme-hydrolyzed vegetable protein (E-HVP), Journal of Food Science, Vol. 65, No. 7, pp. 1220-1227.

Yang. J.K., I.L. Shin, Y.M. Tzeng and S.L. Wang. 2000. Production and Purification of Protease from a *Bacillus Subtilis* that can Deproteinize Crustacean Wastes. Enz. and Micro. Technol. 26: 406-413.

Zhang. L., Q. Zeng, J. Long and X. Lin. 2002. Study on the Enzymatic Hydrolysis to Crab Leg Meat. Food and Fermentation Industries. 28 (2): 37-40.

Yi-Fang, G.W. and Keith, R.C., 2002, Characterization of the Aroma of a Meatlike Process Flavoring from Soybean-Based Enzyme-Hydrolyzed Vegetable Protein, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 50, pp. 2900-2907.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ก1 ค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และ ปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2

ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)		
	อัลคาเลส	โบรมิเลน	ปาเปน
0	0.17 ± 0.07^{d}	0.16 ± 0.07^{d}	0.16 ± 0.07^{c}
0.5	13.22 ± 0.12^{c}	15.85 ± 0.21^{c}	16.86 ± 0.16^{ab}
1	14.45 ± 0.33^{b}	16.48 ± 0.12^{b}	16.26 ± 0.04^{b}
1.5	17.76 ± 0.15^{a}	17.16 ± 0.17^{a}	16.50 ± 0.16^{ab}
2	16.09 ± 0.07^{b}	16.75 ± 0.19^{ab}	17.41 ± 0.59^{a}

หมายเหตุ$^{a, b, c,}$ ... ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

ข1 การหาค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของหัวกุ้งบด

อุปกรณ์และสารเคมี

1. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิกรัม
2. เครื่อง pH meter
3. Buffer pH 4.00 และ pH 7.00
4. น้ำกลั่น

สิ่งทดลอง

1. หัวกุ้งบด

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างหัวกุ้งบด 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรในบีกเกอร์จำนวน 3 ซ้ำ
2. Standardize เครื่อง pH meter ด้วยการใช้ Buffer pH 4.00 และ pH 7.00 ตามลำดับ
3. กวนตัวอย่างหัวกุ้งและน้ำกลั่นให้เข้ากัน
4. วัดค่าความเป็นกรดด่างด้วย pH meter
5. บันทึกผลการทดลอง

ข2 การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี kjeldahl method

วัดเป็นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในหัวกุ้งบด(total nitrogen) แล้วนำมาคูณกับค่า emperical factorของอาหารชนิดต่างๆโดยในการทดลองนี้ใช้ค่า 6.25

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่นโปรตีน (semi-microdistillationn apparatus)
3. ขวดปรับปริมาตร(volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
5. ปิเปตต์ (pioette) ขนาด 25 มิลลิลิตร
6. บิวเรตต์ (burette) ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. ลูกแก้ว
8. กระดาษกรอง (filter paper)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น

2. สารเร่งปฏิกิริยาใช้คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 1 ส่วนต่อโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ละลายกรดบอริก 20 กรัมด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

5. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

6. อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution ชั่งเมทิลีนบลู 0.2 กรัมละลายในเอทานอล 200 มิลลิลิตรและชั่งเมธิลเรด 0.05 กรัมละลายในเอธานอล 50 มิลลิลิตรเวลานำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน: เอทานอล 1 ส่วน: น้ำกลั่น 2 ส่วน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัมห่อให้มิดชิดใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัมและกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตรนำไปย่อยบนเตาไฟในตู้ควันจนกระทั่งได้สารละลายใสปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

3. นำไปกลั่นโดยเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

5. เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

6. กลั่นโดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดบอริกการเตรียมสารเคมี

7. กลั่นจนได้สารละลายในขวดจับแก๊สประมาณ 250 มิลลิลิตร

8. กลั่นประมาณ 10 นาทีล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

9. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัลจนได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

10. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(a+b) \times N \times 14 \times factor}{W}$$

โดยที่ a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

Factor = ตัวเลขที่เหมาะสม = 6.2

(น้ำหนักกรัมสมบูรณ์ของไนโตรเจนเท่ากับ 14.007)

ข3 การหาค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid) ในสารปรุงแต่งกลิ่นรส

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิกรัม
2. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand Refractometer)
3. น้ำกลั่น

สิ่งทดลอง

1.สารปรุงแต่งกลิ่นรสกุ้งที่เติมกลูโคส 0, 1, 3 และ 5%

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างสารปรุงแต่งกลิ่นรส 10 มิลลิลิตรในบีกเกอร์จำนวน 3 ซ้ำ
2. ปรับค่า Hand Refractometer ให้มีค่าเริ่มต้นที่ศูนย์โดยใช้น้ำกลั่น
3. นำตัวอย่างสารปรุงแต่งกลิ่นรสมาทำการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid) ด้วย Hand Refractometer
4. บันทึกผลการทดลอง

ข4 การวิเคราะห์ปริมาณเปอร์ออกไซด์ในสารปรุงแต่งกลิ่นรส

การวิเคราะห์ปริมาณเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value) ตามวิธีของ (AOAC, 2002)

อุปกรณ์

1. กระบอกตวง (cylinder)
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. เครื่องชั่ง (balance)
4. แท่นยึดบิวเรตต์ (burette clamp)
5. บิวเรตต์ (burette)
6. ปิเปตต์ (pipette)
7. ลูกยาง (rubber bulb)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งสารปรุงแต่งกลิ่นรสจำนวน 5.00±0.05 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เติมสารละลาย ของอะซิติก: คลอโรฟอร์ม (3:2) จำนวน 30 มิลลิลิตร เขย่าให้น้ำมันละลาย

3. เติมสารละลายอิ่มตัวของโปแทสเซียมไอโอไดด์ 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้นาน 1 นาทีและเขย่าเป็นครั้งคราว

4. เติมน้ำกลั่นจำนวน 30 มิลลิลิตร

5. ไตเทรตอย่างช้าๆ ด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 M จนสีเหลืองเกือบหายไป จึงเติมนำแป้ง 1% จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ไตเทรตต่อจนสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นไม่มีสี

6. ในส่วนของชุดการทดลองเปรียบเทียบ (blank) ทำการทดลองโดยเติมกรดแอซิติกเข้มข้นต่อคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 3 ต่อ 2) ปริมาตร 30 มิลลิลิตรเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ความเข้มข้น 0.05 นอร์มอลปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรเขย่าเบาๆให้เข้ากันเติมน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตรเขย่าเบาๆให้เข้ากันหลังจากนั้นเติมอินดิเคเตอร์น้ำแป้งสุกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเขย่าเบาๆให้เข้ากันนำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.05 นอร์มอลจนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไปจดปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้เพื่อนำไปใช้คำนวณต่อไป

สมการการคำนวณปริมาณของเปอร์ออกไซด์

$$PV = \frac{\text{meg (thio)}}{\text{kg (sample)}}$$

$$= \frac{\text{N thio x V thio}}{\text{kg (sample)}}$$

$$= (0.005)\text{x} \frac{\text{meq}}{\text{ml}} \text{ x } \frac{(V_S - V_B)}{\text{g (sample)}} \text{ X } 1000$$

$$= 5 \text{ x } \frac{(V_S - V_B)}{\text{g (sample)}}$$

กำหนดให้ Vs = ปริมาตร $Na_2S_20_3$ ที่ใช้ในการไทเทรตสารตัวอย่าง

V_B = ปริมาตร $Na_2S_20_3$ ที่ใช้ในการไทเทรต blank

หรือ Peroxide Value = $\frac{\text{Normality ของ Na2S203 x ปริมาตร Na2S203ที่ใช้}}{\text{น้ำหนักของน้ำมัน (g)}}$ x 1000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข5 การวิเคราะห์ค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis)

สารเคมี

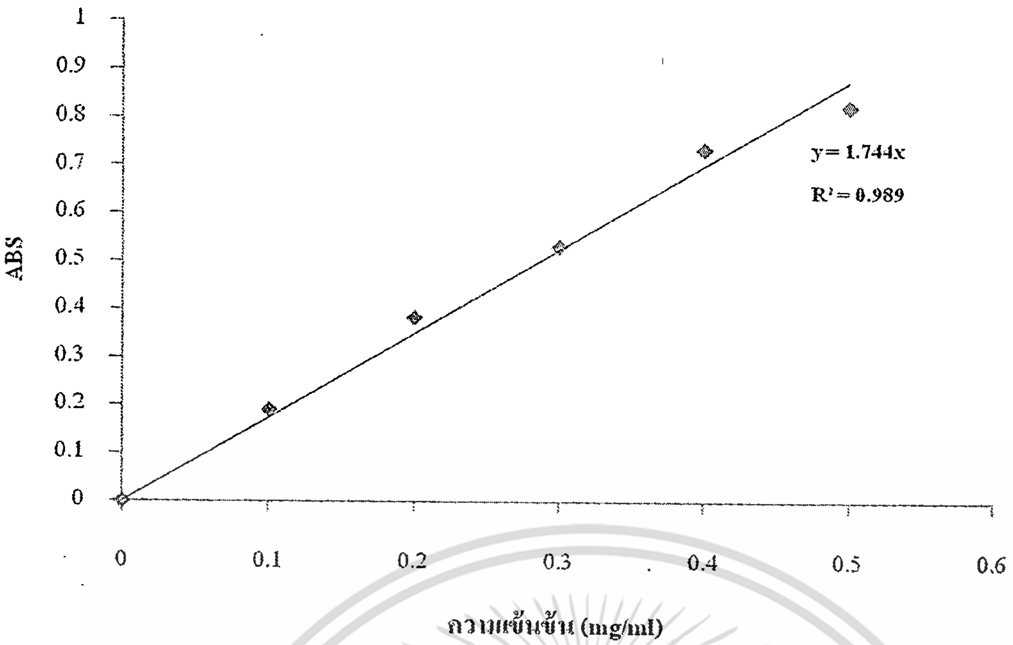
1. Phosphate buffer ความเข้มข้น 0.2125 โมลาร์, pH 8.2
   (ชั่ง $Na_2HPO_4 . 2H_2O$ 34.898 กรัม และ $NaH_2PO_4 . H_2O$ 2.346 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร)
2. 2,4,6,-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01
3. Sodium sulphite ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. Hydrochloric acid ความเข้มข้น 6 โมลาร์
5. L-leucine

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (%DH)

1. กราฟมาตรฐาน L-leucine

เตรียมสารละลาย L-leucine ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (L-leucine 0.1 กรัม ละลายใน Phosphate buffer pH 8.2 ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร) และเจือจางให้มีความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เตรียมสารละลาย L-leucine ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.125 มิลลิลิตร ผสมกับ Phosphate buffer pH 8.2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติม TNBS ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในสภาวะไม่มีแสง หยุดปฏิกิริยาโดยเติม Sodium sulphite ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในที่มืด) เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย L-leucine กับค่าการดูดกลืนแสง ใช้ในการวิเคราะห์หาระดับการย่อยสลาย (%DH)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูกลื่นแสงและระดับความเข้มข้นของ L-leucine

2.การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสต

นำโปรตีนไฮโดรไลเสท 125 µl เจือจางด้วย Phosphate buffer pH 8.2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติม TNBS ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในสภาวะไม่มีแสง หยุดปฏิกิริยาโดยเติม Sodium sulphite ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในที่มืด) เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้แล้วนำไปวิเคราะห์หาระดับการย่อยสลาย (%DH)

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (%DH) ของโปรตีนไฮโดรไลเสต ได้จากสมการดังนี้

$$\mathbf{DH\ (\%)} = [\,(L_t - L_0) / (L_{max} - L_0)\,] \times 100$$

โดยกำหนด L_t = ปริมาณ α-amino ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนที่เวลาต่างๆ

L_0 = ปริมาณ α-amino ในสารละลายโปรตีนเริ่มต้น

L_{max} = ปริมาณ α-amino ทั้งหมดในสารละลายโปรตีน ซึ่งได้จากการย่อยสลายโปรตีนด้วย Hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 6 โมลาร์ (อัตราส่วนของสารละลายโปรตีน : HCl = 1:10) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การคำนวณระดับความเข้มข้นเอนไซม์

1.เอนไซม์อัลคาเลส (Bacillus licheniformis 2.4 L)

ระบุข้างขวดว่า 3000 U/ml = 1 มิลลิลิตรมีเอนไซม์3000 ยูนิต

-อัลคาเลสร้อยละ 0.5, 1, 1.5 และ 2

ต้องการอัลคาเลสร้อยละ0.5ในหัวกุ้ง 1 กิโลกรัม = 0.0005 มิลลิลิตรใน 1 กรัม

ถ้าใช้ตัวอย่างหัวกุ้ง 10 กรัม จะใช้เอนไซม์อัลคาเลส 0.0005x10 = 0.005

0.005 มิลลิลิตร =เอนไซม์ 1.5 ยูนิต

ต้องการอัลคาเลสร้อยละ 1 ในหัวกุ้ง 1 กิโลกรัม = 0.001 มิลลิลิตรใน 1 กรัม

ถ้าใช้ตัวอย่างหัวกุ้ง 1 กรัม จะใช้เอนไซม์อัลคาเลส 0.001x1 = 0.001

0.001 มิลลิลิตร = เอนไซม์ 3 ยูนิต

ต้องการอัลคาเลสร้อยละ 1.5 ในหัวกุ้ง 1 กิโลกรัม = 0.0015 มิลลิลิตรใน 1 กรัม

ถ้าใช้ตัวอย่างหัวกุ้ง 1กรัม จะใช้เอนไซม์อัลคาเลส 0.0015x1 = 0.0015

0.0015 มิลลิลิตร = เอนไซม์ 4.5 ยูนิต

ต้องการอัลคาเลสร้อยละ 2 ในหัวกุ้ง 1 กิโลกรัม = 0.002 มิลลิลิตรใน 1 กรัม

ถ้าใช้ตัวอย่างหัวกุ้ง 1กรัม จะใช้เอนไซม์อัลคาเลส 0.002x1 = 0.002

0.002 มิลลิลิตร = เอนไซม์ 6ยูนิต

2. เอนไซม์ปาเปน (papaya latex 6000 U/mg)

-ปาเปน 6000 U/mg = 1 มิลลิกรัม มีเอนไซม์ 6000 ยูนิต

ในเอนไซม์ 5 มิลลิกรัม = 30000 ยูนิต

ละลายน้ำ 10 มิลลิตร =3000 ยูนิต

หลังจากนั้นคำนวณระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5, 1, 1.5 และ 2 เช่นเดียวกับเอนไซม์อัลคาเลส

3. เอนไซม์โบรมิเลน (pineapple stem extract powder 1200 GDU/gm)

- โบรมิเลน 1200 GDU/gm = 1 กรัมมีเอนไซม์ 1200 ยูนิต

ในเอนไซม์ 2.5 กรัม = 3000 ยูนิต

หลังจากนั้นคำนวณระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5, 1, 1.5 และ 2 เช่นเดียวกับเอนไซม์อัลคาเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ง1 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเสท

ชื่อผู้ทดสอบ................................. **วันที่**..…

ชื่อตัวอย่าง <u>โปรตีนไฮโดรไลเสท</u>

คำแนะนำ : ห้ามกลืนตัวอย่าง

กรุณาทดสอบตัวอย่างแล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างโดยให้คะแนนตามคำอธิบายคะแนนความชอบที่กำหนดให้กรุณาบ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่าง

สเกลความชอบ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 6 = ชอบเล็กน้อย
2 = ไม่ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง
3 = ไม่ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 9 = ชอบมากที่สุด
5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ

คุณลักษณะ	รหัส		
สี			
กลิ่นกุ้ง			
ความขม			

ข้อเสนอแนะ...
....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปรุงรส

ชื่อผู้ทดสอบ.................................. **วันที่**...

ชื่อตัวอย่าง ข้าวเกรียบปรุงรส

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างแล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างโดยให้คะแนนตามคำอธิบายคะแนนความชอบที่กำหนดให้กรุณาบ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่าง

สเกลความชอบ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ชอบมาก
3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ
6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก
9 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัส			
สี				
กลิ่นกุ้ง				
รสชาติ				
เนื้อสัมผัส				
ความชอบรวม				

ข้อเสนอแนะ..
....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทด้วยวิธี GC-MS

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. SPME fiber: 50/30 um DVB/CAR/PDMS (Stableflex 24 Ga, Supelco (US))
2. GC-7809A-GC5973C, Agilent Technologies, US
3. Hot plate

วิธีการทดลอง

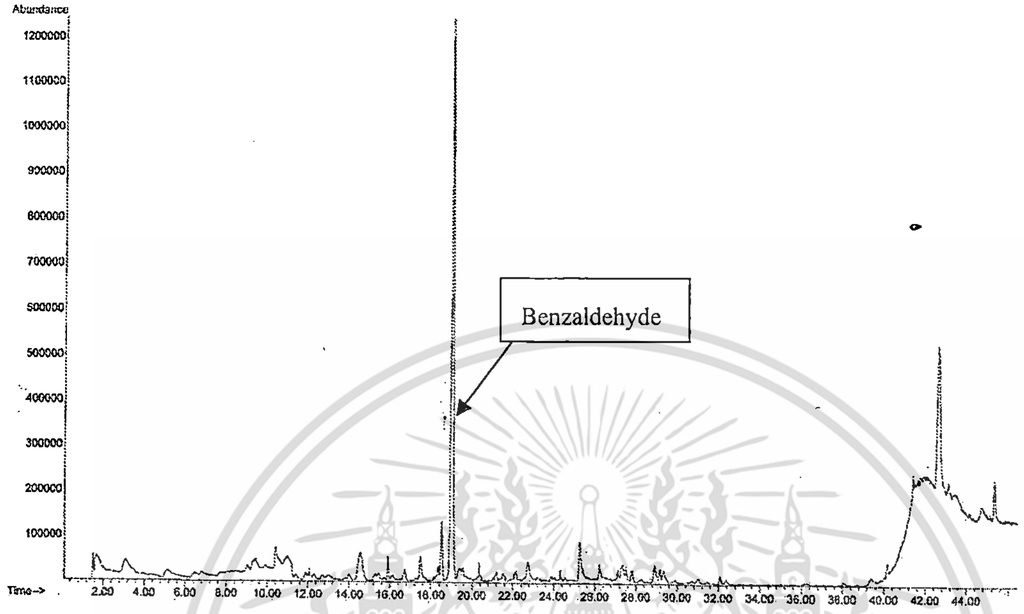
1.ให้ SPME ดูดซับองค์ประกอบที่ให้กลิ่นของโปรตีนไฮโรไลเสท โดยนำโปรตีนไฮโดรไลเสทไปให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยสภาวะดังนี้

Condition

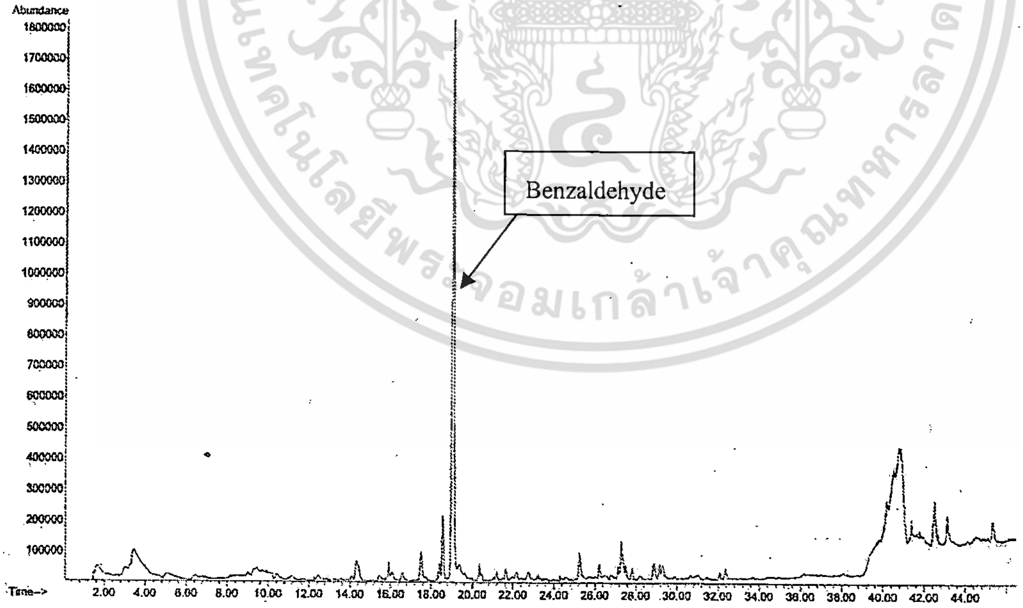
Length of column (m)	30
Diameter of column (mm)	0.25
Film thickness (μm)	250
Injection Source	Manual
Absorption temperature	60 °C for 30 min
Desorption temperature	220 °C for 5 min
Oven	
Equilibration Time	0.5 min
Max temperature	450 °C
Oven Program	40 °C for 5 min
	then 5 °C/min to 160 °C for 10 min
	then 25 °C/min to 220 °C for 5 min
Mode	Splitless
Heater	220 °C
Pressure	5.3633 psi
Total flow	78.894 mL/min
Septum Purge Flow	3 mL/min
Gas Saver	30 mL/min After 2 min
Purge Flow to split Vent	75 mL/min at 2 min

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นด้วยเครื่อง GC-MS

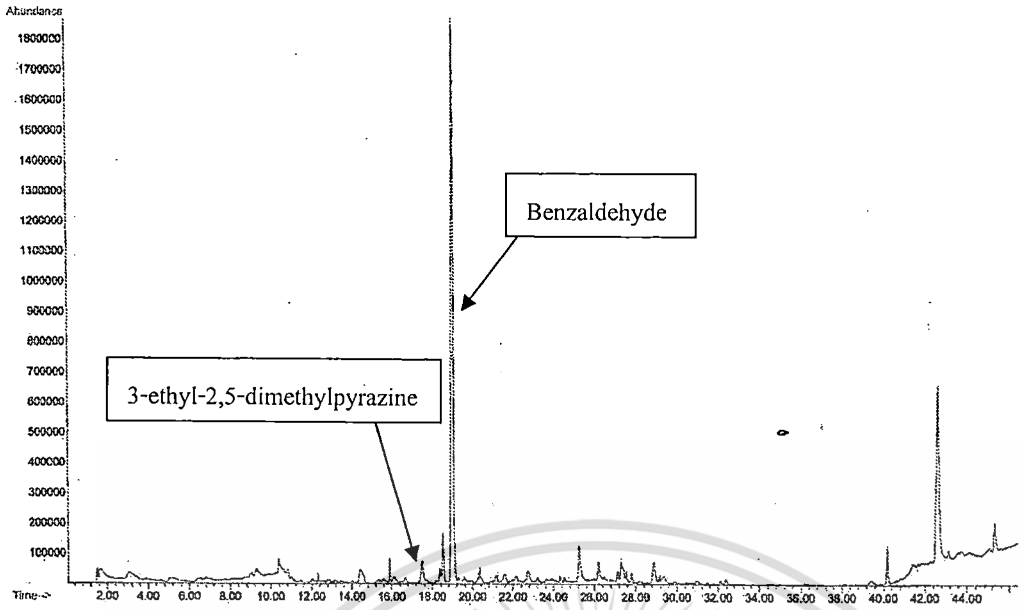


ภาพที่ 1จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที

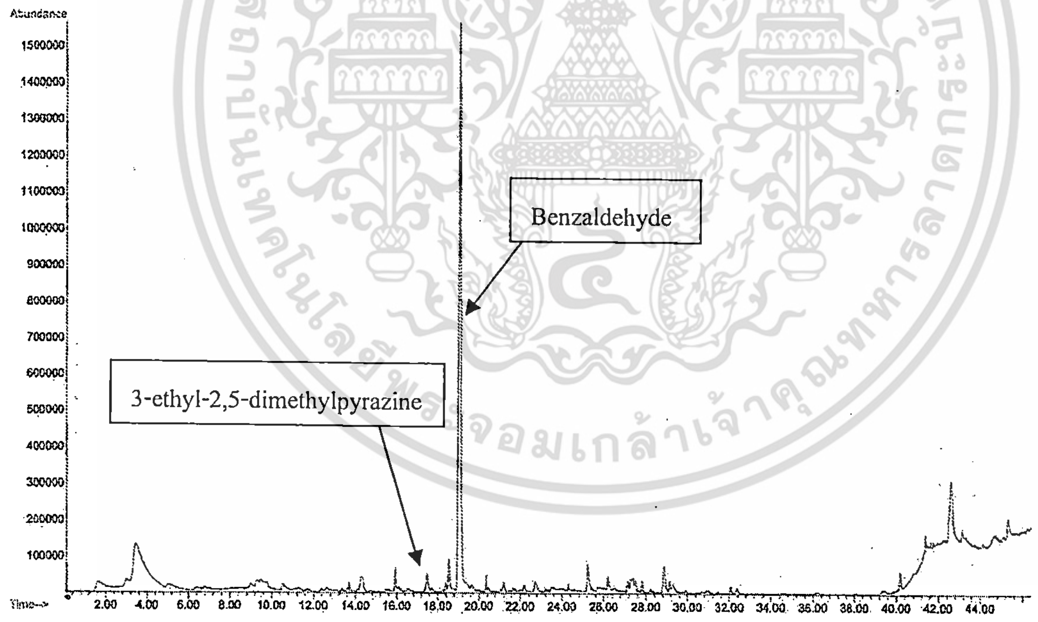


ภาพที่ 2จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 93 องศาเซลเซียส เวลา 162นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

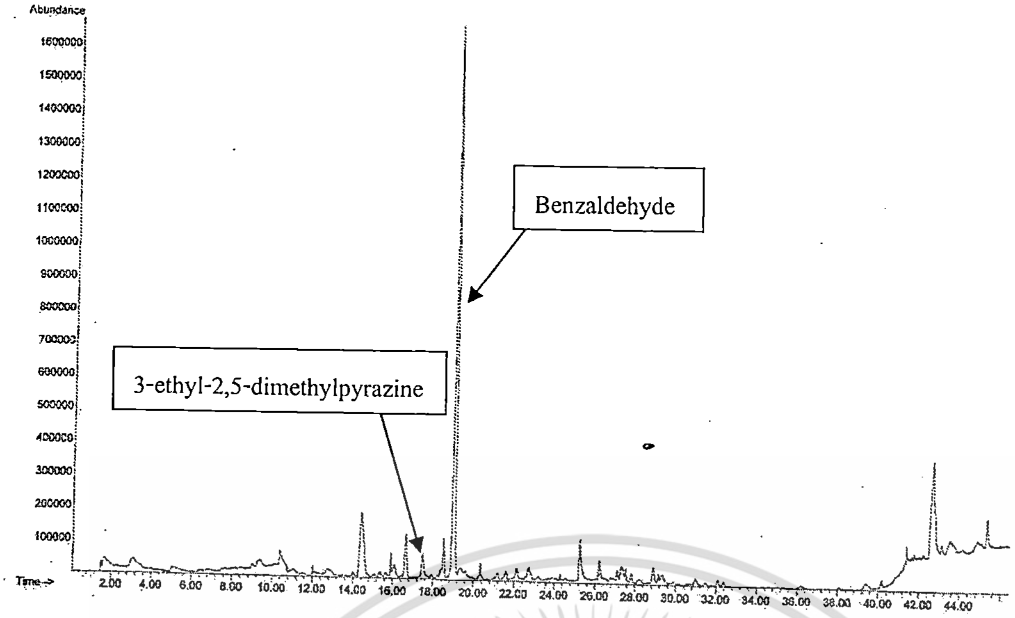


ภาพที่ 3จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที

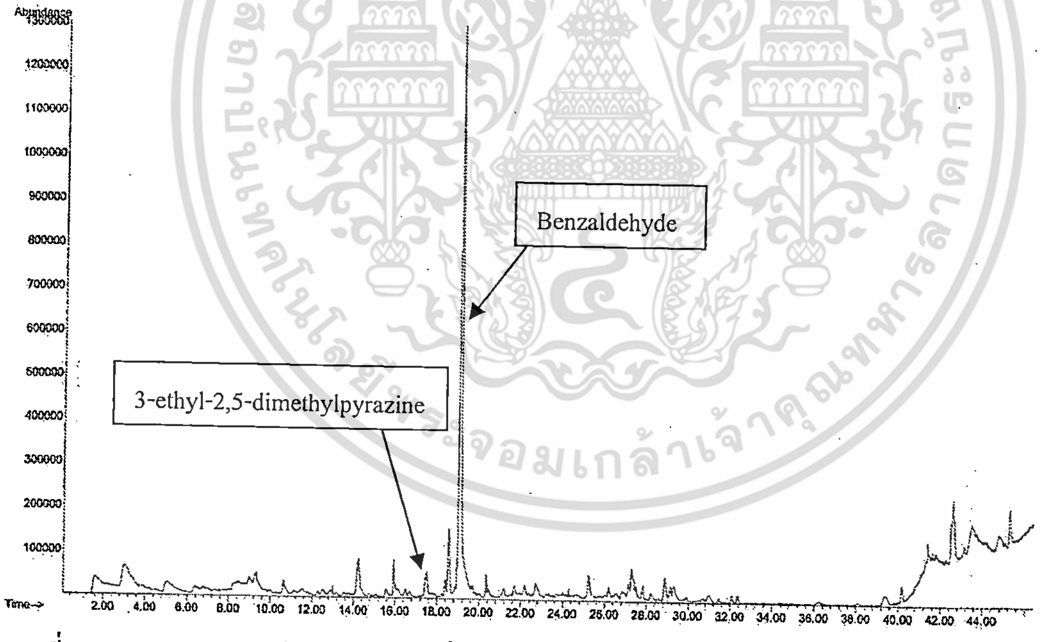


ภาพที่ 4จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส เวลา 162นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

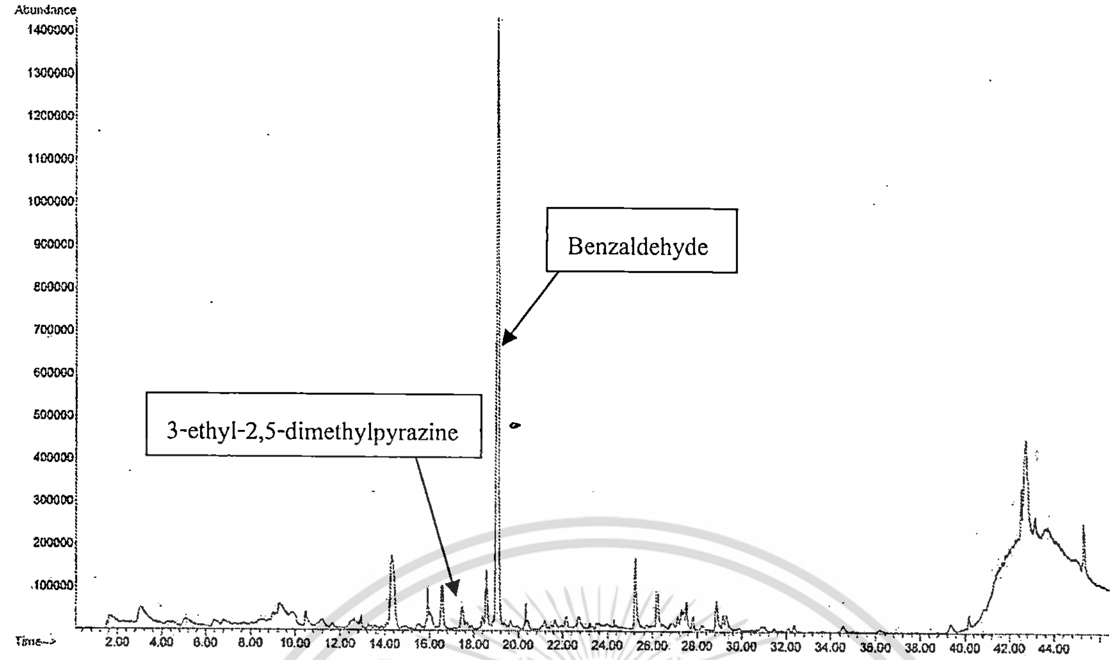


ภาพที่ 5จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 180 นาที

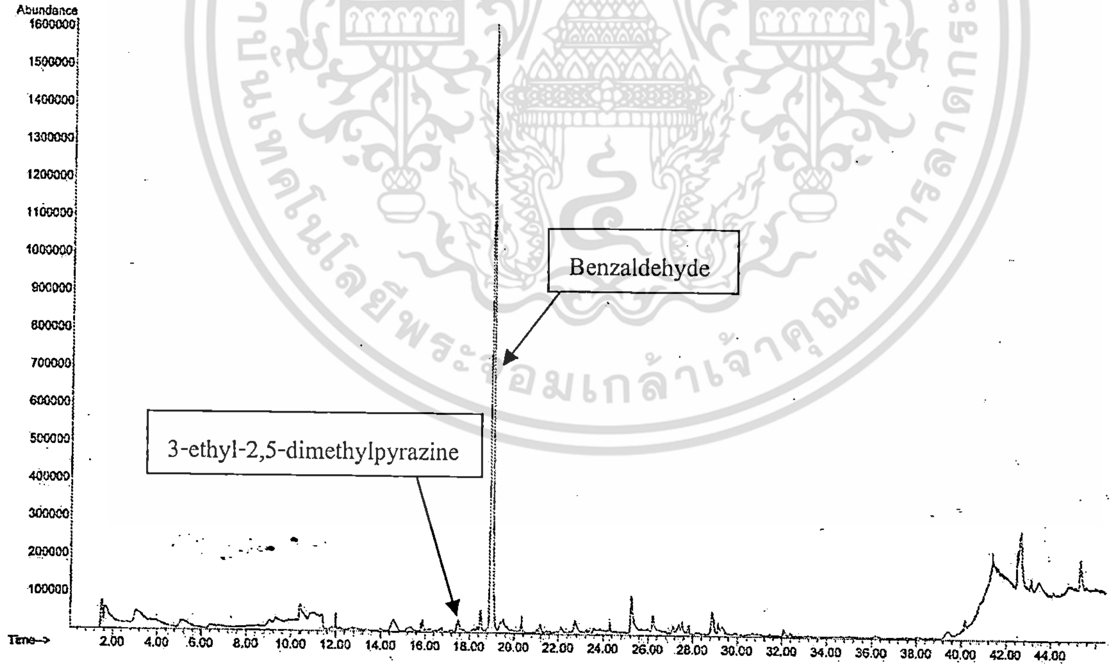


ภาพที่ 6จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

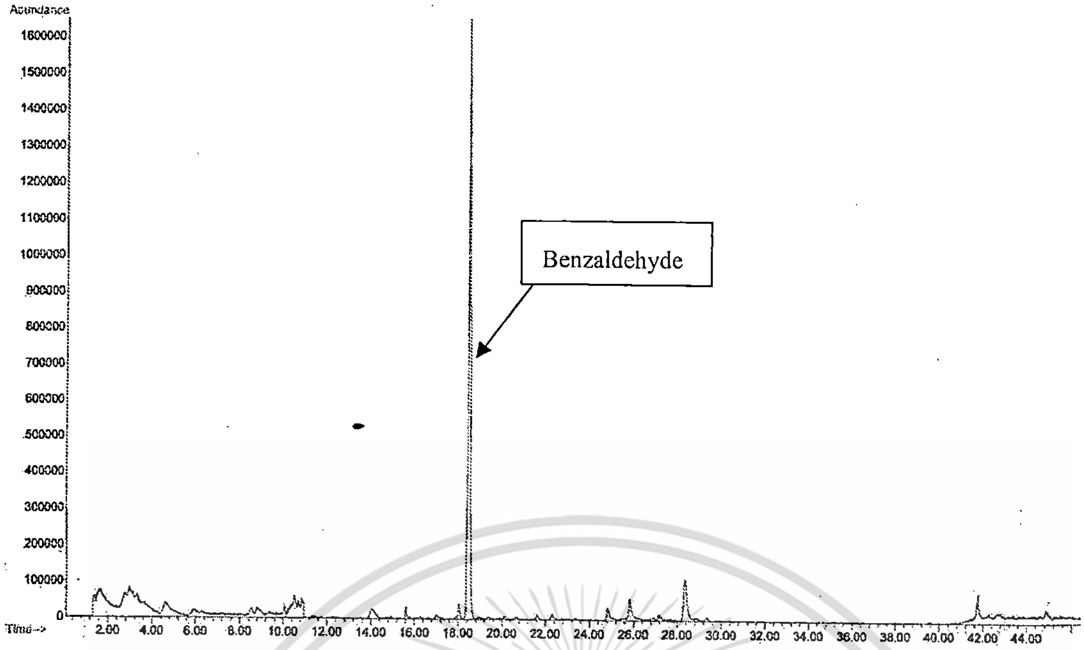


ภาพที่ 7จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที



ภาพที่ 8จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส เวลา 78นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9จ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งที่อุณหภูมิ 92 องศาเซลเซียส เวลา 162นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย

1. รายละเอียดงบประมาณที่เสนอขอ

1. ค่าตอบแทน	18,000 บาท
2. ค่าใช้สอย ค่าเดินทาง และค่าจ้างวิเคราะห์สารให้กลิ่น	22,000 บาท
3. ค่าวัสดุ เช่น สารเคมี เอนไซม์	48,000 บาท
รวม	**<u>88,000 บาท</u>**

2. แผนการใช้จ่ายเงิน

รายการ	วงเงินที่ใช้แต่ละเดือน											
	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.
ค่าตอบแทน			3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000				
ค่าใช้สอย			5,000		5,000	10,000					2,000	
ค่าวัสดุ			18,000		10,000	10,000				5,000	5,000	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ
รายละเอียดผลผลิตงานวิจัยที่ผลิตได้

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์

Optimum conditions for the production of shrimp head protein hydrolysate with protease

ศิริพร ไชยงสงคราม[1] และธงชัย พุฒทองศิริ[2*]

[1]นักศึกษาปริญญาโท สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

[2]อาจารย์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง ซึ่งใช้เอนไซม์โปรตีเอส 3 ชนิด คือ เอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และปาเปน โดยศึกษาอัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำ ชนิดและระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในหัวกุ้ง เพื่อผลิตเป็นสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท ผลการศึกษาพบว่า อัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่ 1:1 มีระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis (DH) ดีที่สุด ความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และปาเปน ที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทคือ 1.5, 1.5 และ 2% เอนไซม์โบรมิเลนสามารถย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งได้ดีกว่า เอนไซม์อัลคาเลสและปาเปน ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้นระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นด้วย นำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทไปทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี ความขม และกลิ่นกุ้ง พบว่าเอนไซม์โบรมิเลนมีความขมน้อยสุด และให้กลิ่นกุ้งสูงสุด ดังนั้น เอนไซม์โบรมิเลนเป็นเอนไซม์ที่เหมาะสำหรับใช้ในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง

คำสำคัญ : หัวกุ้ง, โปรตีนไฮโดรไลเสท, ระดับการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The aim of this work to study the optimal conditions for protein hydrolysate from shrimp heads. Using various proteinases, including alcalase, bromelain and papain. The effect of shrimp head and water ratio and type and enzyme concentration were studies for protein hydrolysate solution. The result showed that ratio of shrimp head : water at 1:1 was higher in degree of hydrolysis. Optomal Enzyme concentration for hydrolysis by alcalase, bromelain and papain were 1.5, 1.5 and 2.0% respectively. Bromelain showed a higher proteolytic activity than alcalase and papain. Type and enzyme concentration significantly affected the hydrolysis of shrimp heads. Protien hydrolysate solution were sensory evaluation. Bromelain showed the highest sensory score of bitternes, but highest shrimp flavor. Therefore, bromelain is suitable for protein hydrolysate solution from shrimp heads.

Keyword: shrimp head, protein hydrolysate, degree of hydrolysis

บทนำ

กุ้งขาว (*Lipopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ ในแต่ละปีประเทศไทยส่งกุ้งไปจำหน่ายต่างประเทศเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะกุ้งขาวที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงเพื่อทดแทนกุ้งกุลาดำ ในปี 2555 ประเทศไทยส่งออกกุ้งขาวจำนวน 348,390 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 95,473 ล้านบาท (ฌาตยา, 2555) การเพิ่มขึ้นของปริมาณการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้ง ทำให้ต้องใช้วัตถุดิบในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันก็จะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเศษเหลือของกุ้ง (shrimp waste) การแปรรูปกุ้งจะมีเศษเหลือหลังการแปรรูประหว่างร้อยละ 40–80 ของน้ำหนักกุ้งสด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด และขนาดกุ้ง กรรมวิธีการผลิต และชนิดของผลิตภัณฑ์ในแต่ละปี ถ้ามีการผลิตโดยเฉลี่ย 200,000 ตัน จะมีเศษเหลืออย่างน้อย 80,000 ตัน การใช้ประโยชน์ทั่วไป คือการใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ หรือใช้เป็นปุ๋ย ซึ่งเป็นมูลค่าที่ต่ำ การนำเศษเหลือเหล่านี้มาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสท เป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าและลดปริมาณของเสีย โปรตีนไฮโดรไลเสทสามารถผลิตได้หลายวิธีทั้งการใช้กรด ด่าง และเอนไซม์ ปัจจุบันการใช้เอนไซม์โปรตีเอส เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมาก ให้โปรตีนที่มีเพปไทด์ขนาดเล็ก และกรดอะมิโนอิสระในปริมาณสูงสุด เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ค่าความเป็นกรดเบส ความคงทนต่อความร้อน ที่ใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท มีความจำเพาะต่อตัวกระตุ้น และตัวยับยั้ง จึงสามารถเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์ได้ตามความเหมาะสมเพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ (รุ่งอรุณ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบทางอาหารจากเศษเหลือของกุ้งส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนเข้มข้น ไขมัน และสารให้กลิ่น (Heu *et al.*, 2003) โปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษเหลือของกุ้ง มีคุณสมบัติช่วยเสริมกลิ่นรสกุ้ง สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส มีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยการย่อยสลายโปรตีนจากพืชและสัตว์ เช่น ในกระบวนการผลิตไคโตซานให้มีคุณภาพจำเป็นต้องมีกำจัดโปรตีนออก ซึ่งเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนออกจากเศษเหลือกุ้งโดยไม่ทำลายคุณภาพของไคโตซานให้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีสารประกอบเป็นกรดอะมิโนอิสระสูง และสกัดแอทตาแซนทินได้จากตะกอนที่ผ่านการแยกเอาโปรตีนไฮโดรไลเสทออก (Gildberg และ Stenberg, 2001) การใช้เอนไซม์ทริปซิน เปปซิน และเอนไซม์ปาเปน ในการสกัด carotene-protein จากเศษเหลือของกุ้งสีน้ำตาล เอนไซม์ช่วยย่อยสลายและสกัดแคโรทีนอยด์ได้ดีกว่าการใช้สารละลายในการสกัด (Babu *et al.*, 2008) แคโรทีนอยด์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์โปรตีเอสให้กรดอะมิโนอิสระสูงกว่า การใช้เอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับเอนไซม์ไลเปสในการสกัด (Armenta *et al.*, 2009) การย่อยสลายโปรตีนโดยการปล่อยให้เกิดการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) จะให้โปรตีนจากการย่อยสลายที่สูงแต่คุณภาพด้านกลิ่นกุ้งจะน้อย (Cao *et al.*, 2009) การนำเศษเหลือของกุ้งมาหมักกับกรดแลคติกจะได้โปรตีนไฮโดรไลเสทเข้มข้น เมื่อนำมาทำแห้งจะใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์และอาหารมนุษย์ (Bueno-Solona *et al.*, 2009) การใช้เอนไซม์โบรมิเลนในการผลิต enzymatic mungbean protein hydrolysate (e-MPHs) จากกากถั่วเขียว เพื่อนำมาผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสทะเล (ณัฐวุติ, 2550) และการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทเห็ด (Mushrooms protein hydrolysate; MPHs) เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส (แพรวไพลิน, 2552)

โปรตีนไฮโดรไลเสทเริ่มทำเป็นการค้าในปี ค.ศ. 1990 ที่ประเทศจีน และญี่ปุ่นวัตถุดิบที่ใช้ผลิต ได้แก่กลูเตนข้าวสาลี เคซีน (casein) แป้งปลา (fish flour) เจลาติน (gelatin) ยีสต์ และกลูเตนข้าวโพด เป็นต้นเพื่อใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรสในอาหาร (สุปราณี, 2539) โปรตีนไฮโดรไลเสทสามารถใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์หรืออาหารมนุษย์โดยเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน ซึ่งจะใช้กับคนหรือสัตว์นั้นก็ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการผลิต เช่นใช้เป็นแหล่งของสารให้กลิ่นรส (Flavorants) โดยสามารถเก็บเกี่ยวได้จากส่วนหัว เปลือก และน้ำต้มกุ้ง โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส องค์ประกอบที่สำคัญเมื่อย่อยโปรตีนแล้ว คือ กรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นตัวสำคัญที่มีผลต่อรสชาติ นอกจากนี้แล้วนิวคลีโอไทด์ และเกลือแร่ ก็มีผลต่อรสชาติเช่นกัน กลิ่นรสที่ได้ขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบ และองค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนนั้น คุณภาพทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสท อาจพิจารณาได้จากองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีคุณภาพดีควรมีปริมาณโปรตีนสูง การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเสทในแง่ของการใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์นั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 รูปแบบ ได้แก่ การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ ใช้เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และใช้เพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส (สุภาวดี, 2542) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งขาว ซึ่งเป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้ง ที่มีสารอาหารในกลุ่มโปรตีน ไขมัน และกรดอะมิโนอิสระ ในปริมาณมาก โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ เอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และปาเปน ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส (Hydrolase) ซึ่งเอนไซม์พวกนี้จะเร่งปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ ในการสร้างผลผลิต (พัชรา, 2543) เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีคุณภาพและ ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัส ซึ่งอาจสามารถพัฒนาเป็นสารตั้งต้นและองค์ประกอบหลักในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรส นอกจากเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของของเสีย อีกทั้งยังเป็นการนำของเหลือจากอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาชนิดของเอนไซม์โปรติเอสที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง
2. ศึกสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์โปรติเอส

วิธีการวิจัย

1. ศึกษาอัตราส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

นำตัวอย่างหัวกุ้งสดมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำสะอาด นึ่งตัวอย่างหัวกุ้งให้สุกด้วยไอน้ำ 20 นาที บดละเอียดด้วยเครื่องปั่นในระดับความเร็วสูงสุด 3 นาที นำหัวกุ้งบดมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 2:1 และ 3:1 (กรัม:มิลลิลิตร) เติมเอนไซม์อัลคาเลส 1% ทำการกวนหรือเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้มาแยกกรองเอาส่วนที่เป็นตะกอนออก นำส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ ค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysate, DH) ตามวิธีของ Benjakul และ Morrissey, (1997) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบ CRD (Complete Randomized design) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT)

2. ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท

ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งโดยเอนไซม์ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ โบรมิเลน ปาเปน และอัลคาเลส โดยใช้อัตราส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำ ที่อัตราส่วน 1:1 (กรัม:มิลลิลิตร) ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% ทำการกวนหรือเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้มาแยกกรองเอาส่วนที่เป็นตะกอนออก นำส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ ค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysate, DH) ตามวิธีของ Benjakul และ Morrissey, (1997)

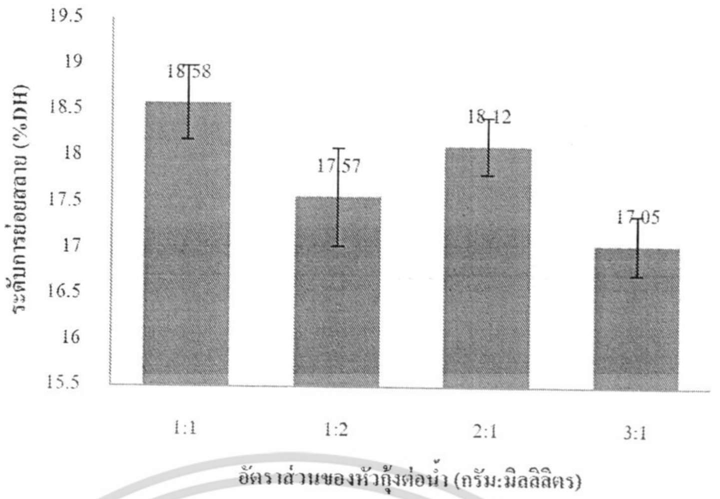
การทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation) นำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากสภาวะที่ดีที่สุดของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ให้ค่าระดับการย่อยสายสูงที่สุด นำมาบรรจุขวดแก้วสีชา เก็บไว้ที่ 10°C นำมาประเมินการยอมรับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสด้านสี ความขม และกลิ่นกุ้ง ใช้วิธีทดสอบ qualitative descriptive analysis (QDA) scoring test ให้คะแนนตั้งแต่ 0-9 ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized complete block design (RCBD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT)

ผล/สรุปผลการวิจัย

1. อัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในหัวกุ้ง

อัตราส่วนของหัวกุ้งและน้ำมีอิทธิพลต่อค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน จากรูปที่ 1 แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้ปริมาณหัวกุ้งที่ 1 ส่วนต่อน้ำ 1 ส่วน มีค่าระดับการย่อยสลายสูงสุดที่ 18.58% แต่เมื่อใช้ปริมาณหัวกุ้งที่ 3 ส่วนปริมาณน้ำ 1 ส่วน มีค่าระดับการย่อยสลายต่ำสุดที่ 17.05% เห็นได้ว่าปริมาณหัวกุ้งต่อน้ำมีผลต่อปฏิกิริยาในการทำงานของเอนไซม์ การใช้ปริมาณหัวกุ้งสูงแต่ปริมาณของน้ำน้อย ทำให้ความเข้มข้นของสับเสตรทสูง แต่ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์จะทำได้ไม่ดี ซึ่งเอนไซม์โปรตีเอสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส ที่จำเป็นต้องใช้น้ำในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ในการสร้างผลผลิต (พัชรา, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 ระดับการย่อยสลายของโปรตีนจากหัวกุ้ง ในอัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่แตกต่างกันที่ 1:1 1:2 2:1 และ 3:1 (กรัม : มิลลิลิตร) โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ 1% ระยะเวลาในการย่อยสลาย 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)

หัวกุ้งที่ผ่านการนึ่งด้วยความร้อนและบดละเอียดมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 8.41 และเอนไซม์อัลคาเลสทำงานดีที่ในช่วง pH 6.5-8.5 การย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งขาว เพื่อหาอัตราส่วนของหัวกุ้งต่อน้ำที่เหมาะสม โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสเพียงชนิดเดียวก็สามารถแสดงผลให้เห็นได้อย่างชัดเจน ได้มีการทดลองสกัดโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษเหลือของกุ้งในระหว่างกระบวนการผลิตไคโตซาน เปรียบเทียบระหว่างวิธี Kjeldahl-N กับการสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถสกัดโปรตีนได้สูงกว่าวิธี Kjeldahl-N ถึง 70% ซึ่งตัวอย่างเศษเหลือของกุ้งได้ผ่านการทำแห้งที่ 105 เซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน และนำมาเผาที่ 550 องศาเซลเซียส 20 ชั่วโมง (Gildberg, A., and E. Stenberg. 2001)

2. ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง

2.1 เอนไซม์อัลคาเลส

ระดับความเข้มข้นเอนไซม์อัลคาเลสมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง จากรูปที่ 2 แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสที่ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% มีค่าระดับการย่อยสลายที่ 0.17, 13.22, 14.15, 17.76 และ 16.09% ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) เห็นได้ว่า ปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นโอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนมีมากขึ้น จึงเกิดการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์

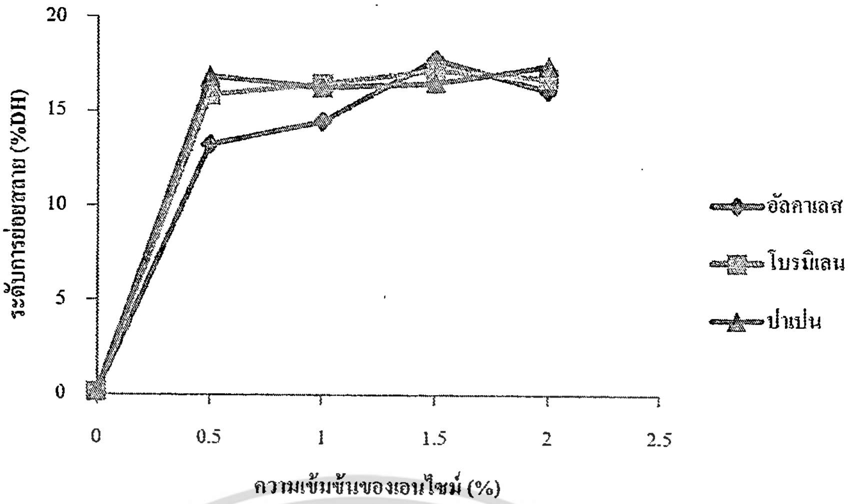
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากขึ้นจนกระทั่งปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ ค่าระดับการย่อยสลายจะมีค่าคงที่ และอาจทำให้ ค่าระดับการย่อยสลายลดลง ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสที่ 0.5 และ 1% มีค่าระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นแบบต่อเนื่อง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 1.5% ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นจาก 14.15% เป็น 17.76% ดังนั้นระดับความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทคือที่ 1.5% สอดคล้องกับการทดลองของ ไตรตะวัน และคณะ (2542) ได้ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยการใช้เอนไซม์โปรติเนส ซึ่งนำหัวกุ้งมาบดละเอียดและสกัดไขมันออกโดยการใช้ไอโซโพรพานอล ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 พบว่าการใช้เอนไซม์อัลคาเลสในช่วง 10 U/kg ถึง 120 U/kg ระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นจาก 12.21% ถึง 35.67% แต่เกิดความแตกต่างของค่าระดับการย่อยสลาย ซึ่งจากการทดลองนี้ค่าระดับการย่อยสลายที่ได้ต่ำกว่าการทดลอง ของไตรตะวัน และคณะ เนื่องจากการทดลองนี้ใช้หัวกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนและบดละเอียด แต่ไม่ผ่านการสกัดไขมัน

2.2 เอนไซม์โบรมิเลน

การใช้เอนไซม์โบรมิเลนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% มีค่าระดับการย่อยสลายที่ 0.16, 15.85, 16.48, 17.16 และ 16.75% ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) ซึ่งการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โบร-มิเลน ค่าระดับการย่อยสลายมีลักษณะเป็นรูปแบบเดียวกับเอนไซม์อัลคาเลส คือ ปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นโอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนมีมากขึ้น จึงเกิดการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมในการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทคือที่ 1.5% ใกล้เคียงกับงานวิจัยอื่น มีการศึกษาที่ใช้เอนไซม์โบรมิเลนในการผลิต enzymatic mungbean protein hydrolysate (e-MPHs) จากกากถั่วเขียว เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคือปริมาณเอนไซม์ 14% เวลาในการย่อยสลาย 24 ชั่วโมง โดยมีค่าระดับการย่อยสลายที่ 11.12% (ณัฐวุฒิ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 ค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และ ปาเปน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% ระยะเวลาในการย่อยสลาย 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)

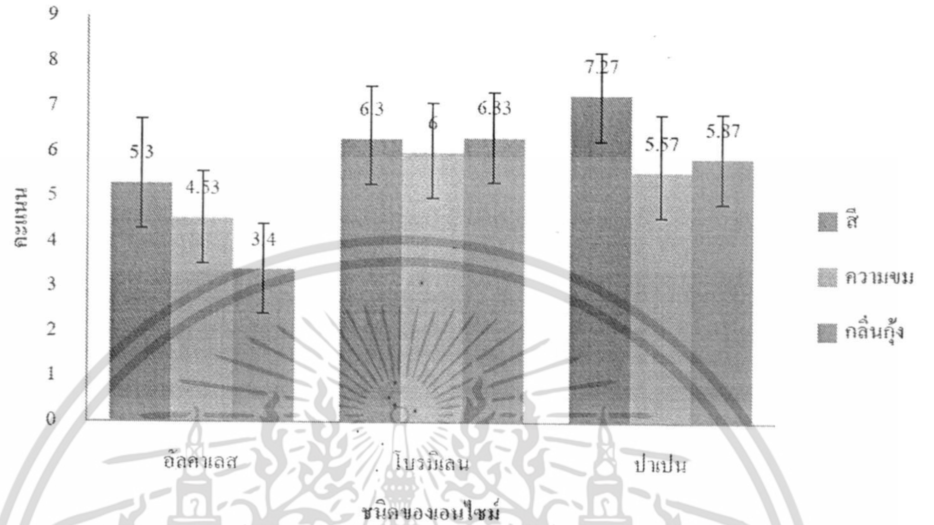
2.3 เอนไซม์ปาเปน

เอนไซม์ปาเปนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% มีค่าระดับการย่อยสลายที่ 0.16, 16.86, 16.26, 16.50 และ 17.41% ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5% ให้ค่าระดับการย่อยสลายที่ใกล้เคียงกัน แต่ย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งได้ดีที่สุดที่ 2% ให้ระดับการย่อยสลายสูงที่สุดที่ 17.41% กัน การใช้เอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายโปรตีนที่ 2% จึงเหมาะสมที่สุด แสดงให้ว่าระดับความเข้มข้นเอนไซม์แต่ละชนิดมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งที่ มีผลทำให้ค่าระดับการย่อยสลายแตกต่างกันด้วย ใกล้เคียงกับงานวิจัยอื่น การสกัดแคโรทีนอยด์จากเศษเหลือของกุ้งโดยใช้เอนไซม์ปาเปน ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.2 ใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย่อยสลาย 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณผลผลิตที่ 17% (Babu *et al.*, 2008)

นำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดมาทำการทดสอบว่าสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเอนไซม์ชนิดใดมีความขมน้อยที่สุด และให้กลิ่นกุ้งดีที่สุด จึงนำมาประเมินการยอมรับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสด้านสี ความขม และกลิ่นกุ้ง โดยนำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด บรรจุขวดแก้วสีชา เก็บไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส นำมาประเมินการยอมรับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสด้านสี ความขม และกลิ่นกุ้ง ใช้วิธีทดสอบ qualitative descriptive analysis (QDA) scoring

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

test ให้คะแนนตั้งแต่ 0-9 โดย 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด และ 1 คะแนน หมายถึง ชอบน้อยที่สุด ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 ได้ผลดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผลการทดสอบทางประสามสัมผัสด้านสี ความขม และกลิ่นกุ้ง ของเอนไซม์อัลคาเลสที่ 1.5% เอนไซม์โบรมิเลนที่ 1.5% และเอนไซม์ปาเปนที่ 2%

ผลการประเมินคุณภาพทางประสามสัมผัสด้านสี รสขม และกลิ่นกุ้ง ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด

ด้านสี

สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปาเปนได้คะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสสูงสุด รองลงมาเป็นเอนไซม์โบรมิเลน และเอนไซม์อัลคาเลส มีคะแนนเท่ากับ 7.27, 6.3 และ 5.3 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองมีความใกล้เคียงกับ ไตรตะวัน (2542) ซึ่งได้ทดลองสกัดไขมันจากหัวกุ้งควบคู่ไปการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท ผลการทดลองพบว่า สีของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปาเปนจะให้สีเข้มที่สุด

ด้านรสขม

เมื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท ของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด จากรูปที่ 3 แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์โบรมิเลนได้คะแนนสูงสุด 6.00 คะแนน คือมีความขมน้อยที่สุด เอนไซม์ปาเปนได้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่ 5.57 คะแนน ส่วนเอนไซม์อัลคาเลสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนต่ำสุดที่ 4.53 คือมีความขมมากที่สุด ซึ่งรสขมเกิดจากกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (Hydrophobic) (Adler-Nissen, 1976) กรดอะมิโนเมื่ออยู่รวมกันเป็นเพปไทด์จะให้รสขมมากกว่ากรดอะมิโนที่อยู่ในรูปอิสระ อัตราส่วนของกรดอะมิโนที่ละลายน้ำต่อกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำยิ่งต่ำก็จะยิ่งให้รสขม ความยาวของสายเพปไทด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสท เมื่อมีจำนวนกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำมากกว่า 3 หมู่ ในสายเพปไทด์จะมีความขมน้อยลง

ด้านกลิ่นกุ้ง

สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเอนไซม์โบรมิเลนได้คะแนนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นกุ้งสูงสุดที่ 6.33 คะแนนรองลงมาคือเอนไซม์ปาเปนเท่ากับ 5.87 ส่วนเอนไซม์โบรมิเลนได้คะแนนต่ำสุดที่ 3.40 ใกล้เคียงกับการทดลองอื่น การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทเห็ด (Mushrooms protein hydrolysate; MPHs) เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส นำโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจากภาวะที่ดีที่สุดมาผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสไก่ยางพบว่า มีคะแนนความแรงด้านกลิ่นเนื้อไก่ กลิ่นย่าง และคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงสุด (แพรวไพลิน, 2552) และ ณัฐวุฒิ (2550) ได้ทดลองใช้เอนไซม์โบรมิเลนในการผลิต enzymatic mungbean protein hydrolysate (e-MPHs) จากกากถั่วเขียว เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส การยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นเนื้อ กลิ่นซีอิ๊ว รสหวาน รสอูมามิ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยรวมสูงสุด

อภิปรายผล

การผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส โบรมิเลน และปาเปน ในสภาวะที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) โดยการนำหัวกุ้งไปนึ่งและนำไปบดละเอียดก่อน อัตราส่วนของหัวกุ้งบดต่อน้ำที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายดีที่สุดที่ 18.58% คือ ปริมาณของหัวกุ้งบด 1 ส่วน (กรัม) ต่อน้ำ 1 ส่วน (มิลลิลิตร) เอนไซม์โบรมิเลนเป็นเอนไซม์ที่เหมาะต่อการผลิตสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้ง ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมคือที่ 1.5% โดยได้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความขมสูงสุด และด้านกลิ่นกุ้งสูงที่สุด ที่ 6.00 และ 6.33 คะแนน คะแนนด้านความขมสูง หมายถึงมีความขมน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสท ควรทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสทมีความเข้มข้นที่สูงขึ้น เพื่อทำให้คุณภาพในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพิ่มขึ้น

2. ควรตรวจสอบคุณสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเสทเพื่อเป็นแนวทางในการนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากหัวกุ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น

บรรณานุกรม

ณาตยา ศรีจันทึก. (2555). **สถานการณ์สินค้ากุ้งทะเลและผลิตภัณฑ์ ปี 2555.** เข้าถึงเมื่อ 24 กุมภาพันธ์. เข้าถึงได้จาก http://www. http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Doc/Shimp55.pdf

ณัฐวุฒิ ส่งแสง.(2552). **การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสทะเลจากโปรตีนไฮโดรไลเสทกากถั่วเขียว โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ไตรตะวัน คงแก้ว สุทธวัฒน์ เบญจกุล อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และ วรพงษ์ อัศวเกศมณี.(2542). **การย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยการใช้เอนไซม์ การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37**: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาคหกรรมศาสตร์ สาขาศึกษาศาสตร์ สาขามนุษยศาสตร์ สาขาสังคมศาสตร์ สาขาเศรษฐศาสตร์ สาขาบริหารธุรกิจ 3-5 กุมภาพันธ์ (2542) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 101-109

พัชรี ธีรสุนทรวัฒน์. (2536). " การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากหัวกุ้ง." **วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พัชรา วีระกะลัส. (2543). **เอนไซม์.** สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : กรุงเทพฯ

แพรวไพลิน ตันติบุตร. (2552). "การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดรไลเสทเห็ดย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลน." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รุ่งอรุณ ตระการชัยวงศ์. (2545). "การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทไขมันต่ำจากของเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 95 น.

สุภาวดี ฟูกูล. (2542). "ซอสปรุงรสจากโปรตีนปลาไฮโดรไลเซทจากหัวปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 122 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อารี ฤทธิบูรณ์. (2555). **เทคโนโลยีของเอนไซม์.** สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Adler-Nissen, J. (1986). **Enzymic Hydrolysis of Food Protein,** Vanderbilt, New York, 421 p.

Armenta, R.E., and I. Guerrero-Legarreta. (2009). Amino acid profile and enhancement of the enzymatic hydrolysis of fermented shrimp carotenoproteins. **Food Chemistry 112**:310-315.

Babu, C.M., R. Chakrabarti, and K.R. Surya Sambasivarao. (2008). Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids. **LWT - Food Science and Technology 41**:227-235.

Benjakul, S. and M.T. Morrissey. (1997). Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. **J. Agric. Food Chem.** 45: 3423-3430.

Bueno-Solona, C., J. Lopez-Cervantes, O.N. Campas-Baypoli, R. Lauterio-Garcia, N.P. Adan-Bante, and D.I. Sanchez-Machado. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. **Food Chemistry 112**:671-675.

Cahu, T.B., S.D. Santos, A. Mendes, C.R. Cordula, S.F. Chavante, L.B. Carvalho Jr, H.B. Nader, and R.S. Bezerra. (2012). Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. **Process Biochemistry 47**:570-577.

Cao, W., C. Zhang, P. Hong, H. Ji, J. Hao, and J. Zhang. (2009). Autolysis of shrimp head by gradual temperature and nutritional quality of the resulting hydrolysate. **LWT - Food Science and Technology 42**:244-249.

Gildberg, A., and E. Stenberg. (2001). A new process for advanced utilisation of shrimp waste. **Process Biochemistry** 36:809-812.

Heu, M.-S., J.-S. Kim, and F. Shahidi. (2003). Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. **Food Chemistry 82**:235-242.

Sila, A., M. Nasri, and A. Bougatef. (2012). Isolation and characterisation of carotenoproteins from deep-water pink shrimp processing waste. **International Journal of Biological Macromolecules.**

Synowiecki, J., and N. Ali Abdul Quawi Al-Katee. (2000). The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp *Crangon crangon* processing discards. **Food Chemistry 68**:147-152

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายธงชัย พุฒทองศิริ

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D. (Food Science)	Food Science	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang	2010
วท.ม.	วิทยาศาสตร์การอาหาร	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2546
วท.บ.	อุตสาหกรรมเกษตร	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2542

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ

- การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ผัก ผลไม้
- การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมอาหาร
- ไคติน ไคโตซาน

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. การปรับปรุงกระบวนการผลิต และการเก็บรักษาปลาสลิดแดดเดียวด้วยสารไคโตซาน
2. การพัฒนากระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกกุ้งโดยการใช้เอนไซม์และกรดแลกติก
3. การยืดอายุการเก็บปลาสลิดแดดเดียวด้วยไคโตซาน

ผลงานวิจัย

Noijaiboon, D and **Puttongsiri,** T. 2012. "Iodine Supplement in Dried Salted Sepat Siam (*Trichogaster pectoralis*)," *The 14th FOOD INNOVATION ASIA CONFERENCE 2012.* BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. 14th-15th June 2012

Puttongsiri, T, Choosakul, N and Sakulwilaingam, D. 2012 Moisture Content and Physical Properties of Instant Mashed Potato. Oral presentation *In* Proceedings of 2012 International Conference on Nutrition and Food Sciences (ICNFS 2012) Singapore, 23th-24th July, 2012.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Puttongsiri, T., Kerdpiboon, S., Vichitraka, A. 2012. "Shelf life extension of semi dried Sepat-Siam (*Trichogaster pectoralis*) using of Chitosan," *International Conference on Food and Applied Bioscience: The 3rd Agro-Industry Conference, Chiang Mai University*, Chiang Mai, Thailand. 6th-7th February, 2012.

Puttongsiri, T and Haruenkit R.. 2010. Formulation of Chitosan-Oleic Acid Coating for Kiew Wan Tangerine by Response Surface Methodology. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 44 : 462 – 470

Puttongsiri, T and Haruenkit, R. 2010. Changes in Ascorbic Acid, Total Polyphenolic Acids and Antioxidant Activity in Juice Extracted from Coated Kiew Wan Tangerine During Storage at 4, 12 and 20°C Kasetsart J. (Nat. Sci.) 44(2) : 280 – 289

ธงชัย พุฒทองศิริ กาญจนา ช้างสุวรรณ์ คันธารัตน์ สาทอง และ ณัฐธิดา สระภู. 2554. การยืดอายุการเก็บเต้าหู้นมสดโดยใช้ไคโตซาน. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร. 5 (2). 139-152

ธงชัย พุฒทองศิริ ณัฏฐิกา ชูสกุล และ ดวงรัตน์ สกุลวิไลงาม. 2555. มันฝรั่งบดสำเร็จรูป. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อนครั้งที่ 6. วันที่ 26-27 กรกฎาคม 2555. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร.

ธงชัย พุฒทองศิริ ศริมน ทองคำ สุกัญญา ทองอรุณ และ สุดาวรรณ ทองขัน. 2555. สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้กรดแลคติก และเอนไซม์โบรมีเลน. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

ธงชัย พุฒทองศิริ ธรรมนูญ ขาวหิรัญ และ โสภิดา พุ่มแจ้ง. 2555. สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนและแร่ธาตุจากเปลือกกุ้งด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริก. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

คุษฎี น้อยใจบุญ **ธงชัย พุฒทองศิริ** และ นันทยา จงใจเทศ. 2555. การศึกษาสภาวะและอายุการเก็บรักษาปลาสลิดแดดเดียวเสริมไอโอดีน. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวศิริพร ไชยสงคราม
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ปีการศึกษา พ.ศ. 2555 ปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา พ.ศ. 2555 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้