รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตผงหมักเนื้อนุ่มที่มีส่วนผสมของเอนไซม์โบรมิเลนที่สกัดได้จากต้นสับปะรด (*Ananus comosus*)

Meat tenderizing powder production with a mixture of bromelain extracted from pineapple (*Ananus comosus*) stem

รศ. อารี ฤทธิบูรณ์

รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2558

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

สับปะรดเป็นพืชทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีปริมาณการผลิตจำนวนมาก ซึ่งผลผลิตนี้จะนำไปจัดจำหน่ายโดยตรง และส่วนมากจะนำเข้าสู่อุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง จากอุตสาหกรรมนี้เองที่ทำให้มีของเหลือทิ้งจากสับปะรดมากมาย เช่น เปลือก แกน ใบ และลำต้น โดยส่วนที่เหลือทิ้งเหล่านี้ส่วนใดที่นำไปแปรรูปต่อได้ก็นำไปแปรรูป เช่น ปุ๋ย หรืออาหารสัตว์ ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีมูลค่าทางการตลาดต่ำ และจากการค้นคว้าพบว่าในสับปะรดมีเอนไซม์โบรมิเลนอยู่เป็นจำนวนมาก เราจึงคาดว่าน่าจะนำของเหลือทิ้งจากสับปะรดโดยเฉพาะส่วนลำต้น ซึ่งมีเอนไซม์โบรมิเลนมากที่สุดมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอนไซม์โบรมิเลนซึ่งมีมูลค่าทางการตลาดสูงขึ้น

เอนไซม์โบรมิลน (bromelain) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่สามารถย่อยโปรตีนได้ พบในทุกส่วนของสับปะรดและพืชใน Family Bromeliaceae โดยกระจายในส่วนต่างๆของสับปะรด เช่น จุก แกน เปลือก เนื้อก้าน ลำต้น โดยเริ่มมีการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนครั้งแรกจากลำต้นสับปะรดในฮาวายและในเวลาต่อมาได้มีการสกัดเอนไซม์ชนิดนี้ในประเทศใต้หวัน ไทย บราซิลและเปอรโทโตริกา (Rohrbach และคณะ 2003) ประโยชน์ของเอนไซม์โบรมิเลนในพืชช่วยป้องกันโรคพืชในขณะที่ผลสุกโดยเฉพาะจากเชื้อราและแมลง ในขณะที่อุตสาหกรรมเครื่องสำอางก็มีการนำมาใช้เพื่อให้คุณสมบัติในการทำความสะอาดผิว และช่วยกระตุ้นการหลุดลอกของเซลล์ผิวที่ตายแล้ว ฟื้นฟูสภาพผิวให้สดใส ผลิตเครื่องสำอางครีมผอกหน้า (อรัญญา มโนสร้อย และ วีรเดช มโนสร้อย, 2546) นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมอาหาร มีการนำเอนไซม์โบรมิเลนไปช่วยทำให้เนื้อนุ่ม โดยเอนไซม์โบรมิเลนมีคุณสมบัติในการย่อยโครงสร้าง Actin และ Myosin heavy chain ทำให้เนื้อมีลักษณะนุ่มขึ้น (Olson และคณะ, 1976) และยังให้เนื้อมีความฉ่ำและรสชาติที่ดีขึ้นอีกด้วย ซึ่งถือว่าเป็นเอนไซม์ที่มีมูลค่าทางการค้า จึงทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรดเพื่อทำการผลิตเอนไซม์ผงเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบหลักของผงหมักเนื้อนุ่ม ซึ่งต้องทำการสกัด และทำการศึกษาวิธีการทำให้บริสุทธ์ที่ได้เอนไซม์บริสุทธิ์ที่มีค่าผลได้ (yield) ของเอนไซม์ที่ดีและมีปริมาณมากในรูปเอนไซม์ผง รวมทั้งสูตรและวิธีการนำเอนไซม์โบรมิเลนมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตเป็นผงหมักเนื้อนุ่ม และทำการทดสอบเนื้อสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ทำการศึกษาวิธีการทำเอนไซม์โบรมีเลนที่สกัดได้จากต้นสับปะรดให้บริสุทธ์บางส่วนโดยง่าย ๆ และให้ผลได้ของเอนไซม์และค่ากิจกรรมจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์ที่สูง
2. ทำการผลิตเอนไซม์โบรมีเลนให้ได้ปริมาณมากในรูปเอนไซม์ผง
3. ทำการผลิตผงหมักเนื้อนุ่มที่มีส่วนประกอบของเอนไซม์โบรมีเลนเป็นองค์ประกอบหลัก โดยทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อ เช่น ปริมาณเอนไซม์โบรมีเลนในผงหมักเนื้อและเวลาที่ใช้ในการหมักเนื้อ ชนิดและปริมาณเครื่องเทศของไทยและส่วนประกอบอื่น ๆ ที่จะใช้เป็นองค์ประกอบของผงหมักเนื้อ ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภค
4. ทำการประเมินค่ากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนที่เหลือหลังจากใช้เป็นองค์ประกอบในสารหมักเนื้อเปรียบเทียบกับเอนไซม์บริสุทธิ์ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาแตกต่างกัน รวมทั้งการศึกษาผลขององค์ประกอบที่ใช้ในผงหมักเนื้อนุ่มที่มีผลต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ

ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้จะทำการสกัดเอนไซม์โบรมีเลนโดยนำต้นสับปะรดมาสับละเอียด และทำการปั่นส่วนของลำต้นของสับปะรดที่ผ่านการปอกเปลือก ทำความสะอาดและเก็บรักษาในตู้เย็นที่ -20 องศาเซลเซียส โดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ที่เย็นจัดในอัตราส่วน 1:1 พร้อมทั้งเติมร้อยละ 1 พอลีวีนิลไพโรลิโดน (Umesh, 2008) แล้วนำไปโฮโมจิไนส์ด้วยเครื่องโฮโมจิไนส์แบบใช้คลื่นความถี่สูง แยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนของเหลว นำส่วนของเหลวที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใส และนำสารละลายเอนไซม์ที่ได้ไปวัดกิจกรรม (activity) ของเอนไซม์ (Shinya และคณะ, 2003) และหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford's (Vall'es D. และคณะ, 2007) และทำการคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในหน่วย ยูนิต/มล. ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ โดยคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ในหน่วย ยูนิต/มล. หรือ Casein Digestion Unit (CDU)/ml. โดย CDU คือ Casein Digestion Unit หมายถึง ปฏิกิริยาเอนไซม์ที่ย่อยเคซีนที่ พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเท่ากับกรดอะมิโนไทโรซีน 1 ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที

เอนไซม์โบรมีเลนที่สกัดได้นำมาศึกษาการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยวิธีการตกตะกอนด้วยเอทานอลที่ค่าการอิ่มตัวที่แตกต่างกัน (Soares และคณะ, 2012) หรือการแยกโดยการใช้ตัวทำละลาย 2 ระบบ (Two phase partitioning) โดยการใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายทั้ง 2 ระบบที่แตกต่างกัน (Ketnawa และคณะ, 2010) ทำการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน และทำการคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ทำการเปรียบเทียบค่าผลได้และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ของเอนไซม์

ทำการเตรียมเอนไซม์ด้วยวิธีที่ทำให้บริสุทธิ์ที่ให้ค่าผลได้และ/หรือค่ากิจกรรมจำเพาะสูงด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นในปริมาณมาก ๆ และผลิตเป็นเอนไซม์ผงด้วยการทำแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง (freeze dry) (Devakate และคณะ, 2009) เพื่อนำไปใช้เป็นองค์ประกอบหลักของผงหมักเนื้อนุ่ม

ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตผงหมักเนื้อนุ่มต่อความนุ่มของเนื้อ เช่นปริมาณเอนไซม์โบรมีเลนในผงหมักเนื้อและเวลาที่ใช้ในการหมักเนื้อ ชนิดและปริมาณเครื่องเทศไทยที่จะใช้เป็นองค์ประกอบของผงหมักเนื้อและส่วนผสมอื่นๆ ที่จะให้ผงหมักเนื้อนุ่มมีรสชาดแบบไทย ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการใช้เครื่อง texture analyser และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคโดยวิธี hedonic scale ซึ่งมีระดับคะแนน 9 คะแนน และทำการประเมินกิจกรรมของเอนไซม์โบรมีเลนที่เหลือ หลังจากใช้เป็นองค์ประกอบในสารหมักเนื้อนุ่มเปรียบเทียบกับเอนไซม์โบรมีเลนบริสุทธิ์ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน รวมทั้งการศึกษาผลขององค์ประกอบที่ใช้ในผงหมักเนื้อนุ่มที่มีผลต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ

ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์โปรมิเลนเป็นเอนไซม์โปรติเอสที่ทำการย่อยโปรตีนกลุ่มซัลไฟดริล โปรติเอส (sulfydryl protease) ซึ่งจะมีกลุ่มซัลไฟดริลในบริเวณเร่ง (Murachi, 1964) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) พบในเนื้อเยื่อในส่วนต่างๆ ของพืชวงศ์ Bromeliaceae และเรียกชื่อทั่วๆ ไปว่าโบรมิเลน และถ้าต้องการเรียกชื่อให้มีความจำเพาะมากขึ้น จะบ่งบอกส่วนของเนื้อเยื่อ สายพันธุ์ และสกุลของพืชในวงศ์ดังกล่าวตามหลังชื่อวิทยาศาสตร์ เช่น *Ananas comosus* (L) Merr. Variety, stem bromelain หรือเรียกสั้นๆ ว่า stem bromelain ซึ่งก็คือเอนไซม์โบรมิเลนที่พบในส่วนลำต้นของสับปะรด (Heinnicke และ Cortner, 1957) ปัจจุบันมีการใช้รหัส Ezyme Commmission ซึ่งเป็นเลข 4 ตัวตามหลังชื่อทั่วไป เช่น Bromelain (E.C.3.4.4.24) ซึ่งรหัส 4 ตัวจะบ่งบอกลักษณะของการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์นั้นๆ

เอนไซม์โบรมิเลนพบในหลายๆ ส่วนของสับปะรด เช่น ก้าน เปลือก แกน ใบ (ที่ผลและต้น) หน่อข้างลำต้นและลำต้น โดยเฉพาะในน้ำสกัดจากส่วนของลำต้นของสับปะรดจะมีปริมาณเอนไซม์สูงสุด โดยลำต้นที่แก่มากขึ้นจะมีปริมาณมากขึ้น เช่น ลำต้นอายุ 3 ปีจะมีเอนไซม์ร้อยละ 53 ในขณะที่ลำต้นอายุ 2 และ 1 ปี จะมีเอนไซม์ร้อยละ 36 และ 11 ตามลำดับ ส่วนเนื้อเยื่ออ่อนจะมีเอนไซม์เพียงเล็กน้อย (Heinicke และ Cortnex, 1957)

คุณสมบัติทางเคมีของเอนไซม์โบรมิเลน คือเป็นสารประกอบประเภทไกลโคโปรตีน (glycoprotein) โดยมีโอลิโกแซคคาไรด์หนึ่งกลุ่มต่อหนึ่งโมเลกุลของเอนไซม์ ในกลุ่มนี้จะมีน้ำตาลแมนโนส 3 โมล กลูโคส 1 โมล ไซโลส 1 โมล และแอลอะซิติลกลูโคซามีน 2 โมล ซึ่งจับคู่อยู่กับสายเปปไทด์ด้วยพันธะโควาเลนต์ (Scocca และ Lee, 1969) ส่วนชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจะประกอบด้วยกรดอะมิโน 285 ตัว และเฮกโซซามีน 4 โมเลกุล มีกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสอยู่มากกว่ากรดอะมิโนที่เป็นกรด เอนไซม์โบรมิเลนจะมีไกลซีนอยู่ทางด้าน C – terminal และวาลีนอยู่ทางด้าน N-terminal โมเลกุลจะประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bridge) 5 ตำแหน่งต่อโมเลกุล และมีกลุ่มซัลไฟดริลเพียง 1 กลุ่มต่อโมเลกุล ซึ่งจำเป็นสำหรับการเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ (Murachi, และคณะ, 1964) ส่วนคุณสมบัติทางกายภาพของเอนไซม์โบรมิเลน คือเอนไซม์โบรมิเลนเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นเบส ละลายน้ำได้ ไม่ละลายในแอลกอฮอล์และอะซีโตน มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000 ดาลตัน และโมเลกุลของเอนไซม์ชนิดนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงร่างอย่างถาวรเมื่ออยู่ในสภาพที่มีพีเอชสูงกว่า

คุณสมบัติการทำงานของเอนไซม์ คือ เอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสารประเภทโปรตีน เป็นเอนไซม์ที่มีกลุ่มซัลไฟดริลในบริเวณเร่ง โดยการเร่งปฏิกิริยานั้นจะใช้กลุ่มไทออล (thiol group) และกลุ่มอิมิดาโซล (imidozole group) ที่บริเวณเร่ง เป็นตัวที่ทำให้เกิดการย่อยพันธะของสารตั้นต้น และโบรมิเลนยังมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเพื่อการย่อยสารพวกเปปไทด์ เอไมด์ เอสเทอร์ของกรดอะมิโนและเปปไทด์ได้ด้วย นอกจากนี้เอนไซม์โบรมิเลนยังมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเคซีนและฮีโมโกลบินได้อย่างรวดเร็ว สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์จะมีพีเอชเท่ากับ 7.0 เมื่อใช้เคซีนเป็นสารตั้งต้น และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 63 – 65 องศาเซลเซียส เอนไซม์โบรมิเลนนี้สามารถทำลายได้ด้วยความร้อนที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส มีความคงตัวในช่วงพีเอช 3 – 3.5 เมื่อพีเอชต่ำกว่า 2-5 เอนไซม์จะไม่คงตัว (Su และคณะ, 1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

2.1 สับปะรด (ศิริชัย อุ่นศรีส่ง, 2541)

สับปะรดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจัดอยู่ใน Family Bromeliaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* ซึ่งเป็นพืชที่มีใบประเภทอุ้มน้ำ และมีดอกแยกเป็นสามส่วน ใบยาวขึ้นเป็นเกลียวรอบต้น พืชในตระกูลนี้ประกอบด้วย 2000 สปีชีส์ จากทั้งหมด 46 จีนัส เป็นพืชที่ขึ้นในเขตร้อนและร้อนชื้น โดยมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกา มีเพียงหนึ่งสปีชีส์ที่พบในทวีปแอฟริกาตะวันตก สับปะรดที่เราคุ้นเคยและรับประทานกันมีเพียงสปีชีส์เดียว มีบางสปีชีส์ที่ใช้ปลูกเพื่อใช้ทำเป็นเส้นใย บางชนิดใช้ปลูกเป็นไม้ประดับและเป็นอาหารสัตว์ พืชอีกชนิดหนึ่งชื่อ Bromeliads เป็นไม้ประดับของทวีปอเมริกา จัดเป็นพืชโบราณที่มีวิวัฒนาการเช่นเดียวกับสับปะรด ซึ่งเป็นบรรพบุรุษของสับปะรดบางจีนัส อาจมีความสูงถึง 10 เมตร พืชในจีนัสเหล่านี้ทั้งหมดเป็นพืชที่ขึ้นบนบก มีลำต้นยาว มีรากจำนวนมาก ใบแคบ และมีขนเพื่อช่วยลดการสูญเสียน้ำ สับปะรดซึ่งเดิมมีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ แต่ปัจจุบันได้แพร่กระจายไปยังเขตร้อนและร้อนชื้นทั่วโลก ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการปลูกเพื่อบริโภคผลสด และทำเป็นน้ำผลไม้ สับปะรดที่ปลูกกันโดยทั่วไปจะมีความสูงประมาณ 1 เมตร ลำต้นจริงๆจะสั้น แต่ส่วนของใบและก้านดอกจะขยายยาวออกมา แหล่งปลูกสับปะรดที่ใหญ่ที่สุดคือที่รัฐฮาวายของสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีพื้นที่ปลูก 1 ใน 3 ของโลก และผลิตสับปะรดกระป๋องได้ถึงร้อยละ 60 ของโลก รองลงไปได้แก่ จีน บราซิล และเม็กซิโก

2.1.1 พฤกษศาสตร์ของสับปะรด

การศึกษาทางชีววิทยาด้านพฤกษศาสตร์ของสับปะรด เป็นการศึกษาเพื่อพัฒนาไปสู่ความรู้ทางชีววิทยาด้านอนุกรมวิธาน สัณฐานวิทยาและพันธุศาสตร์ของสับปะรด เพื่อใช้เป็นการเทียบเคียงระหว่างพืชชนิดเดียวกันและพืชในวงศ์ที่ใกล้เคียงกัน สับปะรดจัดอยู่ในประเภทไม้ดิน ซึ่งพืชในวงศ์นี้อาจแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดตามสภาพความเป็นอยู่คือ กลุ่มที่เจริญเติบโตโดยมีรากหาอาหารบนพื้นดิน (terrestrial) กลุ่มที่เจริญเติบโตบนต้นไม้โดยมีรากอากาศคล้ายกล้วยไม้ (epiphytes) และกลุ่มที่เจริญเติบโตอยู่บนผาหินหรือโขดหิน (saxicolous) แม้ว่าสับปะรดจะจัดอยู่ในกลุ่มแรก คือพืชดิน แต่ก็มีลักษณะบางอย่างของพืชในกลุ่มที่ 2 ด้วยเหมือนกัน กล่าวคือสามารถเก็บน้ำเอาไว้ตามซอกใบได้เล็กน้อย และมีเซลล์สำหรับเก็บน้ำเอาไว้ในใบ ทำให้ทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง

2.1.1.1 การจำแนกทางอนุกรมวิธานของสับปะรด

Kingdom Plant Kingdom
Sub-kingdom Spermatophyta
Class Angiospermae
Sub-class Monocotyledones
Order Farinosae
Family Bromeliaceae
Genera *Ananas* and *Pseudananas*
Species *comosus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Scientific name ของสับปะรด คือ *Ananas comosus* (L.) Merr.

2.1.1.2 สัณฐานวิทยาและกายวิภาคของสับปะรด

สับปะรดพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าได้แก่พันธุ์ปัตตาเวีย (Cayenne variety) มีส่วนประกอบที่สำคัญดังนี้ คือ ลำต้น (stem) ประกอบด้วยปล้องสั้นๆ และใบมากมาย ก้านผล (peduncle) คือก้านพยุงผล ซึ่ง มีใบเล็กๆ ติดอยู่เชื่อมติดกับส่วนบนของลำต้น ก้านผลนี้อาจมีตาเล็กๆ ติดอยู่ถ้าสภาพเหมาะสมจะพัฒนาไปเป็นตะเกียง ตะเกียง (slip) คือ หน่อที่เกิดจากตาบนก้านผล ตะเกียงนี้ถ้านำไปปลูกขยายจะกินเวลา 18 – 20 เดือนจึงจะให้ผล ใบ (leaf) รูปร่างแคบ ยาว เรียว จำนวนใบอาจมีถึง 50 – 100 ใบต่อต้น ขึ้นกับความอุดมสมบูรณ์ ผล (multiple fruit) จัดเป็นผลรวมที่เกิดจากการเชื่อมติดกันของผลย่อย (จำนวน 100 – 200 ผล) เข้ากับแกนกลางของช่อดอก จุก (crown) ส่วนขยายพันธุ์ที่มีลักษณะคล้ายหน่อ แต่เกิดขึ้นบนส่วนยอดของผลใช้ปลูกขยาย พันธุ์ได้ดี ตามปกติหนึ่งผลจะมี 1 จุก ถ้านำไปปลูกขยายพันธุ์จะกินเวลานาน 22 – 24 เดือน หน่ออุ้มลูก (hapas) คือหน่อที่เกิดจากตาในบริเวณจุดเชื่อมระหว่างก้านผล และลำต้นใช้ขยาย พันธุ์ได้เช่นเดียวกับหน่อข้าง

หน่อข้าง (aerial sucker) คือหน่อที่เกิดจากตาบนลำต้น ใช้ขยายพันธุ์ได้ดีโดยจะกินเวลาประมาณ 14 – 16 เดือนจึงจะให้ผล หน่อดิน (underground sucker) เป็นหน่อที่เกิดจากตาบนลำต้นส่วนที่อยู่ใต้ผิวดิน และราก (root) อาจแบ่งได้เป็น 2 พวกคือ รากเหนือดิน และรากใต้ดิน ทำหน้าที่หาอาหารและยึดเหยี่ยวลำต้น

2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรด

จากน้ำหนักของผล 100 กรัมจะประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้คือ พลังงาน 47 – 52 แคลอรี่ น้ำ 85 - 87 กรัม โปรตีน 0.4 - 0.7 กรัม ไขมัน 0.2 - 0.3 กรัม ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสุทธิ 11.6 -13.7 กรัม เส้นใย (fiber) 0.4 - 0.5 กรัม เถ้า 0.3 - 0.4 กรัม แคลเซียม 17 -18 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 8 - 12 มิลลิกรัม เหล็ก 0.5 มิลลิกรัม โซเดียม 1 - 2 มิลลิกรัม โพตัสเซียม 125 -146 มิลลิกรัม แคโรทีน 32 - 42 มิลลิกรัม ไทเอมีน 0.06 - 0.08 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน 0.03 - 0.04 มิลลิกรัม ไนเอซิน 0.2 - 0.3 มิลลิกรัม และกรดแอสคอร์บิก 17 - 61 มิลลิกรัม

2.1.3 พันธุ์สับปะรด (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2539)

พันธุ์สับปะรด สับปะรดที่นิยมปลูกทั่วโลกแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มคาเยน (Cayenne) เป็นสับปะรดรับประทานสดและแปรรูปที่สำคัญที่สุดมีกำเนิดในประเทศเวเนซูเอลา เป็นพันธุ์มาตรฐานส่งออกของรัฐฮาวายของประเทศสหรัฐอเมริกา ประเทศฟิลิปปินส์ เคนยา เม็กซิโก ไต้หวัน ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้ กินี และเปอร์โตริโก มีพันธุ์ย่อย 2 พันธุ์ คือ พันธุ์คาเยนหนาม (Spiny Cayenne) ปัจจุบันไม่นิยมปลูก และพันธุ์คาเยนไร้หนาม (Smooth Cayenne) เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูก ลักษณะทั่วไป ทรงต้นสูง 20-50 เซนติเมตร ใบมีจำนวน 60-80 ใบต่อต้น ยาวประมาณ 100 เซนติเมตร กว้างประมาณ 6.5 เซนติเมตร สีเขียวเข้มด้านหลังใบมีจุดประ สีแดง ด้านใต้ใบสีเทาเงิน ขอบใบตรงและเรียบ ที่ส่วนปลายและฐานใบมีหนามขนาดเล็กอยู่ประปราย ช่อดอก ประกอบด้วยดอกย่อยประมาณ 150 ดอก ก้านช่อดอกยาว 7.5-15.0 เซนติเมตร ดอกมีสีน้ำเงินปนม่วงอ่อน รูปร่างของผลเกือบจะเป็นทรงกระบอก โดยฐานผลใหญ่กว่าส่วนอื่นเล็กน้อย ผลอ่อน สีเขียวคล้ำ ผลสุกสีเหลืองมีจุดประสีเขียว ผลย่อยหรือตาแบนและกว้าง ขนาดประมาณ 2.5 เซนติเมตร เนื้อแน่นมีสีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลือง รสชาติดีมาก ไม่มีเมล็ด น้ำสับปะรดมีน้ำตาลร้อยละ 12-16 และกรดร้อยละ 0.5-0.9 มีจุก 1 อัน ตะเกียง 0-10 อัน หน่อ 0-3 อัน อ่อนแอต่อโรคและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แมลงหลายชนิดโดยเฉพาะโรคเหี่ยว เช่น พันธุ์ปัตตาเวีย ตาดำ ตาแดง นางแล น้ำผึ้งของไทย St. Michael ของเกาะอะซอร์เลส Cayenne Lisse ของไอโวรีโคสต์ มาร์ตินิค Cayenne ของแอฟริกาใต้ เคนยา และ Hilo ของรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา

กลุ่มควีน (Queen) เป็นสับปะรดรับประทานสด ปลูกมากที่ออสเตรเลีย และ แอฟริกาใต้ ลักษณะทั่วไป ทรงต้น ใบ และผลขนาดเล็กกว่าพันธุ์คาเยน ขอบใบมีหนามขนาดเล็กอยู่ถี่ๆ ผลแก่ก่อนพันธุ์อื่น ผลหนัก 0.5-1.0 กิโลกรัม ก้านผลยาว 7-12 เซนติเมตร ผลย่อยขนาดเล็กและนูน ผลสุกสีเหลืองทอง เนื้อสีเหลืองทองเข้ม เนื้อกรอบไม่มีเส้นใย กลิ่นและรสชาติดีเยี่ยม ต้านทานโรคดีกว่าพันธุ์คาเยน เช่น พันธุ์ภูเก็ต สวีสิงคโปร์ ของไทย Macgregor ของออสเตรเลีย Z Queen ของแอฟริกาใต้ Ripley Queen Red ของมาเลเซีย ฟิลิปปินส์ อินเดีย อเมริกาใต้ และ Cabezona ของเปอร์โตริโก

กลุ่มเรดสแปนิช (Red Spanish) เป็นสับปะรดรับประทานสด ปลูกมากที่หมู่เกาะอินดีส-ตะวันตก คิวบา เปอร์โตริโก และเม็กซิโก ลักษณะทั่วไป ทรงต้น ใบ และผล ขนาดกึ่งกลางระหว่างพันธุ์คาเยนและพันธุ์ควีน ใบ ยาวประมาณ 1.2 เมตร ใบมีหนาม ผลผอมยาว 20-25 เซนติเมตร หนัก 0.9-1.8 กิโลกรัม รูปค่อนข้างสี่เหลี่ยมจัตุรัส ผลย่อยประมาณ 80 ผล ผลย่อยขนาดใหญ่ ผลสุกสีแดงปนส้ม เนื้อสีเหลืองอ่อน มีเส้นใย กลิ่นหอม เป็นที่นิยม รสชาติเปรี้ยวและเผ็ดเล็กน้อย แกนใหญ่ จุกยาว 20-25 เซนติเมตร บนจุกมีใบโค้งและมีหนามยาวมีตะเกียงเกิดอยู่ใกล้กับผล มีความต้านทานต่อโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคเหี่ยวและม้วน เช่น อินทรชิตขาวของไทย Sugar Loaf ของอเมริกาเขตร้อน Yellow Mauritius ของศรีลังกา อินเดียตะวันตก และรัฐฟลอริดา ของอเมริกา

กลุ่มสิงคโปร์สแปนิช (Singapore Spanish) เป็นสับปะรดแปรรูป ปลูกมากที่ประเทศมาเลเซีย ลักษณะทั่วไป ใบ มีจำนวนประมาณ 50 ใบต่อต้น ใบยาว 100 เซนติเมตร ขอบใบเรียบและมีหนามที่ปลายเล็กน้อย ผล ก้านผลเล็กและยาวความยาว 20-25 เซนติเมตร ผลทรงกระบอก ผลสุกสีส้มปนแดง น้ำหนัก 1.6-2.3 กิโลกรัม ผลย่อยลึก เนื้อสีเหลืองทอง มีเส้นใย รสชาติดี แกนเล็ก จุกยาว 10-30 เซนติเมตร มักมีหลายอัน ตะเกียง 0-15 อัน ต้านทานโรคและแมลงบางอย่างดี

2.1.4 พันธุ์สับปะรดที่ปลูกในประเทศไทย

จารุพันธ์ ทองแถม (2526) ระบุว่า มีการปลูกสับปะรดในประเทศไทยเป็นเวลานานแล้ว โดยการสันนิษฐานว่า ชาวโปรตุเกสเป็นชาติแรกที่นำมาเผยแพร่ยังกรุงศรีอยุธยาในตอนต้นคริสต์ศตวรรษที่ 16 จากนั้นมีการนำพันธุ์สับปะรดเข้ามาอีกหลายครั้ง ซึ่งพันธุ์สับปะรดที่ปลูกในปัจจุบันอาจมีชื่อเรียกต่างกันไปตามท้องที่แต่ที่พบมากมีดังนี้คือ

พันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne ; Sarawak, Kew) สับปะรดพันธุ์นี้เริ่มเข้ามาแพร่หลายในประเทศไทยและได้รับความนิยมอย่างมาก โดยเราอาจรู้จักในนามสับปะรดศรีราชาทั้งนี้เพราะบาทหลวงผู้หนึ่งได้นำพันธุ์มาจากอินเดียและทดลองปลูกในไร่ของโรงเรียนอัสสัมชัญศรีราชา จังหวัด ชลบุรี ส่วนที่เรียกว่าสับปะรดปัตตาเวียนั้น อาจเป็นเพราะมีชาวมลายูได้นำเอาพันธุ์สับปะรดนี้มาจากประเทศอินโดนีเซีย มาปลูกแพร่หลายที่อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จนมีผู้รู้จักในนามสับปะรดปราณบุรี อย่างไรก็ตามไม่ว่าจะเป็นชื่อ ศรีราชา ปัตตาเวีย และปราณบุรี ทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่มของพันธุ์ Smooth Cayenne ซึ่งเป็นพันธุ์เดียวกับที่ปลูกในแหล่งผลิตสำคัญอื่นๆ ของโลกโดยที่เป็นพันธุ์ที่มีรสหวานและรูปทรงดี จึงเหมาะแก่การปลูกเป็นอุตสาหกรรม สับปะรดพันธุ์นี้มีใบสีเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนเป็นมันเงา ขอบใบเรียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลางใบมักมีสีแดงอมน้ำตาล ปลายใบมีหนามเล็กน้อย ช่อดอกมีดอกย่อยเฉลี่ยประมาณ 150 ดอก กลีบดอกสีม่วงอมน้ำเงินผลอาจมีขนาดใหญ่ เปลือกผลสีเขียวปนดำ ตาตื้น เนื้อในสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม

พันธุ์อินทรชิต หรืออินทรชิตแดง (Singapore Spanish) จัดเป็นสับปะรดพันธุ์เก่าแก่ที่สุดของประเทศไทย ซึ่งสันนิษฐานว่าชาวโปรตุเกสเป็นผู้นำเอาเข้ามาเผยแพร่ในประเทศไทยสมัย กรุงศรีอยุธยา และมีการขยายพันธุ์สืบต่อกันมาจนกลายเป็นพันธุ์พื้นเมือง สับประรดพันธุ์อินทรชิตมีทรงต้นใหญ่ขนาดเดียวกับพันธุ์ปัตตาเวีย แต่มีหนามคมรูปโค้งงอ มีสีน้ำตาลอมแดงที่ขอบใบ ใบมีสีเขียวอ่อน ลักษณะด้านไม่เป็นมัน ใบไม่เป็นร่องเช่นพันธุ์ปัตตาเวีย ผลมีขนาดเล็กกว่าพันธุ์ปัตตาเวีย ตาลึก เนื้อสีเหลืองทองเมื่อแก่ รสหวานอ่อนไม่หอม มีเส้นใยมาก ผลเล็กเกินกว่าจะบรรจุกระป๋อง อาจมีตะเกียงที่ก้อนผล ทนทานต่อโรครากและไส้เน่า

พันธุ์ขาว (Green Spanish) เป็นพันธุ์สับปะรดที่มีทรงพุ่มเตี้ย ใบแคบและสั้นกว่าพันธุ์อินทรชิต ขอบใบเต็มไปด้วยหนาม เนื้อมีสีเหลืองทองรสหวานอ่อนคุณภาพของเนื้อไม่ดีนัก ผลมักมีหลายจุกเข้าใจว่าเป็นพันธุ์ที่กลายมาจากอินทรชิต

พันธุ์ภูเก็ต หรือพันธุ์สวี (Mauritius Pine ; Malacca Queen; Ceylon ; Red Ceylon) ใบของสับปะรดพันธุ์นี้จะแคบและยาวกว่าพันธุ์ขาวและอินทรชิต ใบมีสีเขียวอ่อนและมีแถบสีแดงตอนกลางใบ ขอบใบเต็มไปด้วยหนามสีแดง ผลมีขนาดเล็ก เนื้อสีเหลืองรสหวานกรอบ มีกลิ่นหอม นิยมบริโภคสด ปลูกกันมากในจังหวัดภูเก็ตและชุมพร

พันธุ์นางแล และพันธุ์น้ำผึ้ง อาจจัดเป็นสายพันธุ์ย่อยของพันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งเป็นพันธุ์ในกลุ่มของ Cayenne โดยมีรูปทรงของใบและดอกคล้ายคลึงกับพันธุ์ปัตตาเวียมาก ขอบใบไม่มีหนาม แต่มีหนามเล็กน้อยที่ปลายใบ กล่าวกันว่าผู้นำพันธุ์นี้มาจากประเทศศรีลังกาและมาปลูกที่ตำบลนางแล อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย จึงมีผู้เรียกว่า พันธุ์นางแล

พันธุ์ตราดสีทอง จัดเป็นสับปะรดสายพันธุ์ใหม่ที่ถูกพัฒนาโดยเกษตรกรจังหวัดตราด มีลักษณะผสมระหว่างสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และสับปะรดภูเก็ต ผลเล็ก เนื้อฉ่ำน้ำและหวาน

2.2 การสกัดเอนไซม์โบรมิเลน

เอนไซม์โบรมิเลนเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อเยื่อของสับประรดดังนั้นการผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจะต้องสกัดโดยการทำให้เซลล์แตกและปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาจากเซลล์อย่างสมบรูณ์ เช่น การบดด้วยทราย การโฮโมจิไนซ์ด้วยเครื่องตีป่น หรือใช้เรืองเฉือนร่วมกับการใช้ความดันสูงๆ อัดเนื้อเยื่อ cและพบว่าการใช้เครื่องหีบอ้อยที่มีแกนหมุน 3 อัน จะสามารถสกัดเอนไซม์จากลำต้นได้มากที่สุดคือสามารถบีบน้ำออกจากลำต้นได้ร้อยละ 36 ของน้ำหนักลำต้นที่ปอกเปลือก Su และคณะ (1975) สกัดเอนไซม์จากลำต้นสับปะรดด้วยวิธีอัดด้วยความดัน แล้วปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นอกจากนี้ในการสกัดเอนไซม์มีการตีป่นกับน้ำกลั่นและปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ทะนง ภัครัชพันธุ์, 2529 ; นภนีรา แสงสุริยะ และคณะ, 2535) และมีการศึกษาพบว่าการบีบลำต้นสับปะรดด้วยเครื่องไฮโดรริกให้ผลดีกว่าการตีป่นร้อยละ 21-25 (นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคะชวนะ, 2530) เมื่อสกัดเอนไซม์แล้วจะต้องนำมาทำให้มีความเข้มข้นและบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุรีรัตน์ สมสุข (2530) พบว่าความเข้มข้นของอะซิโตนที่เหมาะสมในการตกตะกอนมีค่าร้อยละ 65- 70 และมีรายงานว่าการตกตะกอนสองครั้งด้วยอะซิโตนเย็นครั้งที่หนึ่งในปริมาณร้อยละ 35 และครั้งที่สองเติมให้ได้ปริมาณร้อยละ 56 จะให้ผลดีที่สุด

Heinicke (1957) ศึกษาการตกตะกอนเอนไซม์โดยใช้อะซิโตน โดยนำส่วนใสจากน้ำที่สกัดได้มาเติมสารรีดิวส์ซิ่ง (reducing agent) ลงไปให้มีความเข้มข้น 0.005-0.01 โมลาร์ และปรับพีเอชให้อยู่ช่วง 3.5-5.5 แล้วจึงตกตะกอนเอนไซม์ด้วยอะซิโตน 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกจะตกตะกอนด้วยอะซิโตนเย็น (ประมาณ 1 องศาเซลเซียส) เข้มข้นร้อยละ 30-33 โดยปริมาณทั้งหมด เพื่อตกตะกอนโปรตีนส่วนนี้ทิ้งไป หลังจากนั้นจึงนำส่วนใสที่แยกตะกอนออกหมดแล้วมาตกตะกอนด้วยอะซิโตนเย็นร้อยละ 60-66 โดยปริมาณทั้งหมด จะได้ตะกอนสีขาว นำไปทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) แล้วนำมาบดจะได้เอนไซม์โบรมิเลนเข้มข้นในสภาพแห้งที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 300-2200 GDU (Gelatin Digestion Unit)

Su และคณะ (1975) ศึกษาพบว่าการตกตะกอนโบรมิเลนด้วยเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 40-60 จะได้ตะกอนเอนไซม์สูงสุด หรืออาจตกตะกอนเป็น 2 ขั้นตอนคือขั้นแรกอาจตกตะอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวร้อยละ 60 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แยกตะกอนเอนไซม์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 6500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วตกตะกอนอีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 50 แล้วเอาไปทำแห้งเอนไซม์ที่ได้สามารถเก็บไว้เป็นเวลา 60 วัน โดยปฏิกิริยาลดลงเพียงร้อยละ 13

Rabelo และคณะ (2004) ได้นำชิ้นสับปะรดที่ผ่านการแช่แข็งมาโฮโมจีไนท์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เย็นเพื่อทำการสกัด (โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 7.0 ที่มี พอลีวีนิลไพโรลิโดน ความเข้มข้นร้อยละ 1) อัตราส่วน 1:1:5 แล้วนำไปกรอง ส่วนใสนำไปเซนติฟิวส์ที่ 10000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ส่วนใสที่ได้คือสารสกัดเอนไซม์สกัดหยาบซึ่งนำไปใช้การทดลองต่อไป

Umesh และคณะ (2008) นำเปลือกและแกนสับปะรดมาแยกออกจาก ลำต้น และใบที่มาจากจุกของสับปะรด ในการเตรียมสารสกัดหยาบ นำของเหลือสับปะรดบดกับบัฟเฟอร์ (บัฟเฟอร์โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 5) ที่มีพอลีวีนิลไพโรลิโดน ร้อยละ 1 อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 10 นาที นำมากรองผ่านผ้าขาวบาง จะได้เป็นส่วนของเหลวแล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และส่วนใสที่ได้นำไปใช้ในการทดลอง

Devakate และคณะ (2009) ได้ทำการแยกแกนกลางของผลสับปะรดออกจากผลสด และทำการตัดส่วนผลออกเป็นชิ้นเล็กๆ และบีบให้ได้น้ำประมาณ 500 มิลลิลิตร ผ่านการกรองด้วยผ้ามัสลิน เพื่อที่จะเอาเส้นใยออก ส่วนใสนำไปกรองผ่าน vacuum filter เพื่อเอาส่วนเซลล์ที่แตกออกไป และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกส่วนที่ไม่ละลาย สารละลายที่ได้เป็นสารสกัดใส เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาใช้เมื่อต้องการ ปริมาณโปรตีนในสารละลายใสทำการวัดก่อนการทำให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนและโครมาโทรกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน

2.2.1 การหากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน

ในการหากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนมีหลายวิธีกล่าวดั้งต่อไปนี้

Su และคณะ (1975) ได้หากิจกรรมของเอนไซม์ โดยใช้สารละลายเอนไซม์ 1.0 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายเคซีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.6 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 7.0 จำนวน 5.0 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยสารตกตะกอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลิ่นรสกลุ่มนี้เกิดขึ้นขณะผลิตหรือเตรียมอาหารด้วยความร้อนจากการปิ้ง ย่าง อบ และการทอด มนุษย์รู้จักและคุ้นเคยกลิ่นรสที่เกิดจากการหุงต้ม หรือการแปรรูปมานานแล้วตั้งแต่เริ่มรู้จักหุงต้มอาหารด้วยความร้อน แต่การอธิบายถึงการเกิดกลิ่นรสนั้นจะเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่ถูกกระตุ้นให้เกิดขึ้นด้วยความร้อน หรือเอนไซม์ ดังนั้นจึงเรียกชื่อกลุ่มสารประกอบที่ให้กลิ่นรสนี้ว่า reaction flavouring และกลิ่นรสในกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญต่อการแต่งกลิ่นรสอาหารคาวมาก ปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดกลิ่นรสในกลุ่มนี้มีหลายปฏิกิริยาด้วยกันที่สำคัญ ได้แก่

2.1 ปฏิกิริยาเมลลาด (maillard reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดสีน้ำตาลในอาหารที่รู้จักกันโดยทั่วไป ซึ่งเกิดจากสารประกอบคาร์บอนิล (carbobyl compouds) ที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ เช่น น้ำตาลรีดิวซ์ ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอะมีน (amines) ซึ่งได้แก่ กรดอะมิโนหรือกรดโปรตีน ตัวอย่างเช่น ไลซีน (lycine) ทำปฏิกิริยากับน้ำตาลซูโครส (sucrose) ได้สารประกอบกลิ่นเนื้อเคี่ยว (beef broth) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เกิดในปริมาณเพียงเล็กน้อยควบคู่ไปกับสารประกอบที่ให้สีน้ำตาลพวกเมลานอยดิน (melanoidins) สารให้กลิ่นที่เกิดจากปฏิกิริยานี้ ได้แก่ ไพราซีน (pyrazines)

2.2 ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชั่น (caramelization) คือ ปฏิกิริยาที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลด้วยความร้อนค่อนข้างสูง (150 องศาเซลเซียส) ขึ้นไปจะให้สีน้ำตาลที่เรียกว่า คาราเมล (caramel) และสารที่ให้กลิ่นพร้อมกันไปคือ กลิ่นน้ำตาลเคี่ยวนั่นเอง

2.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis reaction) คือ ปฏิกิริยาที่ทำให้สารประกอบแตกตัวตรงพันธะเคมีด้วยน้ำ สำหรับการเกิดกลิ่นนี้จะเป็นการแตกตัวเนื่องจากกรด และมีความร้อนเข้าร่วมด้วย กลิ่นในกลุ่มที่ใช้กันมากได้แก่ โปรตีนไฮโดรไลเซท (protein hydrolysate) โดยเฉพาะที่เป็นโปรตีนพืช ซึ่งนิยมเรียกชื่อย่อว่า HVP ซึ่งย่อมาจาก hydrolyzed vegetable protein หรือได้จากการไฮโดรไลซีสเนื้อสัตว์เช่น พวกปลาและหอย เช่นผลิตภัณฑ์น้ำปลาที่มีกลิ่นรสเฉพาะ นอกจากจะใช้กรดในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสแล้วยังมีการใช้เอนไซม์ ซึ่งนิยมเรียกปฏิกิริยานี้ว่า เอนไซม์โมไลซีส (enzymeolysis) ผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วที่ผลิตจากการหมักด้วยเอนไซม์จะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคว่ามีกลิ่นหอมมากกว่าซีอิ๊วที่ใช้กรดในการไฮโดรไลซีส นอกจากซีอิ๊วที่ใช้กรดจะให้กลิ่นที่ด้อยกว่าแล้ว ยังมักจะมีรสเค็มจัดกว่าด้วย เนื่องจากมีเกลือเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่ต้องทำให้เป็นกลาง (neutrelization) ก่อนนำมาบริโภค

กลิ่นจากการแปรรูปนี้นอกจากที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวแล้วยังมีการใช้กลิ่นที่ได้จากยีสต์ผงที่หมดกิจกรรมแล้ว (dried inactivated yeast) ซึ่งนอกจากจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการแล้วยังช่วยเพิ่มกลิ่นด้วย นิยมใช้แต่งกลิ่นอาหารพวก ซอส อาหารว่าง และน้ำเกรวี่ นอกจากยีสต์ผงแล้วยังมีการผลิตยีสต์สกัด (yeast extract) มาใช้ในการแต่งกลิ่นอาหารด้วย โดยนำเซลล์ยีสต์มาผ่านความร้อนเพื่อทำลายเซลล์ยีสต์แต่ไม่ให้ระบบเอนไซม์สูญเสียกิจกรรมยังสามารถทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีน คาร์โบไฮเดรต สารนิวคริโอไทด์เปลี่ยนเป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นรสในลักษณะต่างๆ กันไป ยีสต์สกัดที่ยังมีเยื่อหุ้มเซลล์ (cell wall) อยู่จะช่วยทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และเป็นสารช่วยให้ข้นหนืด (thickeners) ได้ด้วย การใช้ยีสต์ผงหรือยีสต์สกัดจะคล้ายคลึงกับการใช้สารประกอบพวกโปรตีนไฮโดรไลเซท จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ประเภทนี้เป็นคู่แข่งกันทางการค้าอย่างเห็นได้ชัด

อย่างไรก็ตามสารประกอบให้กลิ่นรสที่ได้จากปฏิกิริยาหรือกระบวนการแปรรูปต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วนี้ยังไม่เป็นกลิ่นที่เฉพาะเจาะจงจะนำไปใช้แต่งกลิ่นอาหารได้ทันทีจำเป็นต้องปรับให้มีลักษณะกลิ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(profile) ที่เหมาะสมถูกใจผู้นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ ตามด้วยการปรับสูตรให้ได้ลักษณะกลิ่นที่เฉพาะเจาะจงซึ่งมักจะเป็นความลับของบริษัทผู้ผลิตที่ลอกเลียนแบบค่อนข้างยาก

2.3.2.3 กลิ่นรสที่ได้จากการสังเคราะห์

กลิ่นสังเคราะห์เป็นกลิ่นที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทางเคมีโดยตรง จุดประสงค์การผลิตกลิ่นสังเคราะห์นี้เพื่อเลียนแบบกลิ่นที่มีอยู่ตามธรรมชาติซึ่งมีราคาแพง ตัวอย่างกลิ่นสังเคราะห์ที่เลียนแบบธรรมชาติในประเทศไทยเช่น กลิ่นแมงดานา ที่นิยมใช้แต่งกลิ่นน้ำพริกพื้นบ้าน

3.1 สารชูรส (flavor enhancer) สารประกอบกลุ่มนี้นิยมใช้เติมลงในอาหารเพื่อช่วยเสริมกลิ่นรสดั้งเดิมของผลิตภัณฑ์นั้นให้เด่นชัดขึ้น ทั้งที่สารประกอบพวกนี้บางชนิดไม่มีกลิ่นรสเลย เนื่องจากสารดังกล่าวนี้จะทำหน้าที่เสมือนเป็นสื่อช่วยนำสารที่ให้กลิ่นไปกระทบกับต่อมรับกลิ่นได้อย่างสม่ำเสมอในขณะเคี้ยวและกลืนอาหาร สารประกอบที่มีบทบาทมากในผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสสำหรับอาหารคาวมากที่สุด ได้แก่ เกลือโมโนโซเดียมกลูตาเมท (monosodium glutamate) หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่า ผงชูรสนั่นเอง และสารประกอบกลุ่มนิวคลีโอไทด์ (nucleotides)

3.2 สี จัดเป็นสมบัติประการแรกที่กระทบความรู้สึกนึกคิดของผู้บริโภคที่สัมพันธ์กับการยอมรับหรือไม่ยอมรับอาหารนั้น นอกจากนี้สีของอาหารยังจัดเป็นคุณภาพของอาหารที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับคุณภาพกลิ่นด้วย หากสีและกลิ่นของอาหารไม่สอดคล้องกัน ผู้บริโภคส่วนใหญ่จะแยกแยะอาหารนั้นตามสีมากกว่าตามกลิ่นของอาหาร และอาจเกิดความรู้สึกไขว้เขวในการบ่งชี้อาหารนั้นๆ ได้ สีของผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสจัดว่าเป็นปัจจัยแห่งคุณภาพที่สำคัญและมีบทบาทสูงมาก ดังนั้นหากจะต้องใช้สีของเครื่องปรุงเป็นปัจจัยเพื่อแสดงถึงลักษณะเด่นของผลิตภัณฑ์ จำเป็นที่จะต้องเลือกใช้สีให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสด้วย

3.3 สารปรับเนื้อสัมผัสและความเสถียร (texturing agents, stabilizers) เครื่องปรุงรสหลายชนิดจำเป็นต้องปรับเนื้อสัมผัสและความรู้สึกภายในปาก เช่น ซอสและเกรวี่ สารประกอบกลุ่มนี้จะมีบทบาทต่อสมบัติความข้นหนืดของผลิตภัณฑ์ และการไม่แยกตัวในช่วงการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ สารประกอบที่ช่วยทำหน้าที่ดังกล่าวมีหลายชนิดได้แก่ สตาร์ช สารอนุพันธ์ของเซลลูโลส กัมจากเมล็ดพืชบางชนิด เช่น กัวร์กัม โปรตีนจากสัตว์ เช่น เจลาติน สารสกัดจากสาหร่ายทะเล สารสกัดจากพืช เช่น เพคติน น้ำยางจากพืช เช่น อาราบิกกัม และกัมที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แซนแทนกัม

3.4 สารประกอบชนิดอื่นๆ ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสนั้นยังคงมีอีกหลายชนิดตามแต่ความจำเป็นต้องใช้สารในกลุ่มนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของเครื่องปรุงรสนั้นๆ ไม่ใช่ส่วนประกอบหลักที่สำคัญดังกล่าวแล้ว ได้แก่

3.4.1 สารป้องกันการเกาะติด (anticaking agents) จำเป็นต้องใช้สำหรับเครื่องเทศผสมในรูปผงแห้งและมีน้ำมันผสมอยู่บ้าง เพื่อรักษาสมบัติความร่วนไหลได้โดยอิสระของแต่ละอนุภาค (free –flowing property) เพื่อง่ายต่อการบรรจุ การนำมาใช้ และเก็บไว้ได้นานโดยไม่ดูดความชื้นจากอากาศ สารที่นิยมใช้เพื่อวัตถุประสงค์นี้ ได้แก่ ซิลิคอนไดออกไซด์ (silicon dioxide) โซเดียมอลูมิเนียมซิลิเคท (sodium aluminium silicate) ปริมาณที่ใช้คือปริมาณร้อยละ 1-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 สารป้องกันการหืน (antioxidants) จำเป็นต้องใช้ในกรณีที่เครื่องปรุงรสนั้นมีส่วนประกอบเป็นน้ำมันอยู่ด้วย ตัวอย่างเช่น อาหารว่างที่ต้องผ่านการทอด สารกันหืนมีหลายชนิดแต่ที่นิยมใช้ทั่วไปและอนุญาตให้ใช้ได้ในหลายประเทศ ได้แก่

- BHA ย่อมาจากชื่อเต็ม butylated hydroxyanisole เหมาะจะใช้กับไขมัน น้ำมันจากสัตว์และทนความร้อนได้สูง

- BHT ย่อมาจากชื่อเต็ม butyleted hydroxytoluene มีประสิทธิภาพสูงเมื่อใช้กับน้ำมันพืชและยังมีสมบัติที่เสริมฤทธิ์ (synergist) ได้ดีเมื่อใช้ร่วมกับ BHA

- โทโคฟอรอล (tocopherol) และสารป้องกันการหืนจากธรรมชาติซึ่งมักพบในเครื่องเทศบางชนิดอยู่แล้ว เช่น หอม พริกและโรสแมรี่ เป็นต้น แต่สารกันหืนกลุ่มนี้จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าพวกสารสังเคราะห์ที่กล่าวมาแล้ว

3.4.3 อิมันซิไฟเออร์ (emulsifiers) จำเป็นต้องใช้เมื่อเครื่องปรุงรสนั้นมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำมันกับน้ำปนกันอยู่ เช่น พวกซอสและเกรวี่ เพื่อช่วยปรับให้ส่วนผสมของน้ำกับน้ำมันผสมกลมกลืนกันได้เก็บไว้ไม่แยกตัว ตัวอย่างสารที่นิยมใช้ คือ เลซิทิน (lecithin) กลีเซอริลโมโนสเตียเรท (glyceryl monostearate, GMS)

3.4.4 สารประกอบฟอสเฟต (phosphate) สารประกอบฟอสเฟตจัดเป็นวัตถุเจือปนในอาหารที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์เนื้อและสัตว์ปีกมาก การใช้สารประกอบฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์เนื้อได้เริ่มมีขึ้นต้นปี ค.ศ. 1952 โดยใช้เป็นส่วนผสมในสารที่ใช้ในการหมักแฮมเบคอนและผลิตภัณฑ์เนื้ออื่นๆ และในปัจจุบันปริมาณการใช้ฟอสเฟตมีเพิ่มมากขึ้น Vollmar และ Melton (1981), Mahon และคณะ (1970), Shim (1983) ได้สรุปไว้ว่า สารประกอบฟอสเฟตจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีการอุ้มน้ำได้ดีขึ้น และประสิทธิภาพของสารประกอบฟอสเฟตจะดีขึ้น ถ้าหากใช้ร่วมกับเกลือแกง

ส่วนประโยชน์อื่นๆ ของการใช้สารประกอบโพลิฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปีกและอาหารทะเลตามรายงานของ Mahon และคณะ (1970) รวมถึงการช่วยให้สีของเนื้อที่ผ่านการหมักคงตัว ช่วยให้แฮมกระป๋องมีการอุ้มน้ำดีขึ้น เพิ่มความนุ่มของเนื้อ ลดระยะเวลาที่จะแปรรูปลง เพิ่มปริมาณสารสกัดของโปรตีน ช่วยให้กลิ่นรสและสีของผลิตภัณฑ์คงตัวด้วย

การที่สารประกอบฟอสเฟตสามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีการอุ้มน้ำและจับตัวกันได้ดีขึ้นนั้นเนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มความเป็นกรด-ด่างของเนื้อให้สูงขึ้นจาก isoelectric range (Mahon, 1961) จากการศึกษาทดลองของ Hellendoorn (1962) พบว่าสารประกอบไพโรฟอสเฟตและไตรโพลิฟอสเฟต จะมีคุณสมบัติเฉพาะในการช่วยให้มีการอุ้มน้ำดีขึ้นที่ช่วงความเป็นกรด ด่าง 6.0-6.5 และจากรายงานการศึกษาของ (Trout และ Schmit, 1984) ได้แสดงให้เห็นว่าเตตระโซดียมไพโรฟอสเฟต และโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการช่วยให้มีการอุ้มน้ำดีขึ้นในผลิตภัณฑ์ beef roll

Shults และคณะ (1972) ได้สรุปผลการทดลองไว้ดังนี้ คือ สารประกอบไพโรฟอสเฟตจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการช่วยเพิ่มความเป็นกรด ด่างของเนื้อ ส่วนโซเดียมเฮกซาเมตาฟอสเฟตจะมีผลเพียงเล็กน้อยในขณะที่โซเดียมเมตาฟอสเฟตไม่ช่วยเลย นอกจากนี้รายงานยังได้กล่าวถึงสาเหตุที่สารประกอบโพลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำและจับตัวกันนั้น มีส่วนมาจากคุณสมบัติในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะในโปรตีน

โดยทั่วไปแล้วการใช้สารประกอบฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์เนื้อและสัตว์ปีก มิได้มีวัตถุประสงค์เพื่อจะใช้เป็นวัตถุกันเสีย แต่สารประกอบฟอสเฟตที่ใช้จะมีคุณสมบัติในการเป็นวัตถุกันเสียด้วย และประสิทธิภาพจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารประกอบฟอสเฟตที่ใช้ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณเกลือ สารประกอบไนไตรต์และสารอื่นๆ ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ กลไกของสารประกอบฟอสเฟตมีประสิทธิภาพในการเป็นวัตถุกันเสียยังไม่มีการทราบแน่ชัด น่าจะเป็นคุณสมบัติในการที่สารประกอบฟอสเฟตสามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะต่างๆได้ ส่วนกลไกอื่นๆนั้น อาจเนื่องมาจากปฏิกิริยาของสารประกอบฟอสเฟตต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลให้การผ่านเข้าออกของสารต่างๆจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์เสียไป หรือทำให้กิจกรรมต่างๆของจุลินทรีย์เสียไปด้วย

สารประกอบฟอสเฟตชนิดที่มีการอนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ ได้แก่ โมโนโซเดียมฟอสเฟต โมโนโปรแตสเซียมฟอสเฟต ไดโซเดียมฟอสเฟต ไดโปรแตสเซียมฟอสเฟต โซเดียมแอซิดไพ-โรฟอสเฟต โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โปรแตสเซียมไตรโพลิฟอสเฟต เทตราโซเดียมไพโรฟอสเฟต โซเดียมเฮกซาเมตาฟอสเฟต หรืออาจจะเป็นสารผสมของสารประกอบฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่กล่าวมา

ผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ที่มีการใช้สารประกอบฟอสเฟตเป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ได้แก่ เครื่องดื่มชนิดต่างๆ ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ เนื้อและผลิตภัณฑ์สัตว์ ปลาและผลิตภัณฑ์ปลา ผลิตภัณฑ์ไข่ ผลิตภัณฑ์ธัญพืชผลิตภัณฑ์น้ำมันและไขมัน และอุตสาหกรรมน้ำตาล เป็นต้น ซึ่งวัตถุประสงค์ในการใช้ ส่วนใหญ่จะเป็นการใช้เพื่อช่วยในการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารให้ได้มาตรฐาน เช่น ช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้คงตัว เครื่องดื่มที่ผลิตขึ้นไม่ขุ่น ให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดีขึ้น เป็นสารเสริมฤทธิ์วัตถุกันหืนในผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันและไขมันเป็นส่วนประกอบ ช่วยฤทธิ์สารปฏิชีวนะในการยืดอายุการเก็บของปลา ช่วยป้องกัน drip loss ในผลิตภัณฑ์ปลาหรือเนื้อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขึ้นฟู และความคงตัวของฟองของผลิตภัณฑ์ไข่ให้ดีขึ้น ใช้เป็นส่วนประกอบของผงฟูช่วยลดการย่อยสลายของน้ำตาลและลดปฏิกิริยาการเกิดคาราเมล (caramelization) ในน้ำตาล และช่วยป้องกันการจับตัวของอาหารผงด้วย แต่ก่อนจะใช้สารประกอบฟอสเฟตในอาหารนั้น ผู้ใช้จะต้องศึกษาประกาศกระทรวงสาธารณะสุขให้รอบคอบก่อนทั้งชนิดของสารประกอบฟอสเฟตที่อนุญาตและปริมาณที่ให้ใช้

2.4 พืชสมุนไพร

หมายถึง พืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา แต่ในอุตสาหกรรมอาหารโดยทั่วไปสมุนไพรเป็นพืชล้มลุก ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน และในการผลิตเครื่องปรุงอาหารสามารถใช้สมุนไพรเป็นวัตถุดิบได้ทั้งในรูปสดและแห้ง แต่ในรูปสดจะมีกลิ่นที่แรงกว่าเพราะการอบแห้งจะทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นเนื่องจากความร้อน (Health, 1978)

สมุนไพรเป็นเครื่องเทศที่ได้จากพืชที่มีดอก (flowering plant) ส่วนที่นำมาเป็น dried herbs ประกอบด้วย ยอดดอก (flowering top) ที่อาจรวมใบ ก้านเล็กๆ ดอกและผลด้วย แต่มักจะมีใบมากกว่าส่วนอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุนไพรเป็นเครื่องเทศที่นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อ ไส้ขนม (stuffing) ซุป และ fish dressing ตัวอย่างของสมุนไพร ได้แก่ กระเพรา (basil) สาระแหน่ (mint) bay marjoram sage parsley rosemary savory และ thyme (ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนปนนท์, 2544)

9.4.1 ความสำคัญของพืชสมุนไพร (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ , 2540)

1. ใช้ในการทำยา
2. ใช้ในการปรุงแต่งรสและกลิ่นอาหารในการประกอบอาหารในครัวเรือน และในอุตสาหกรรมทำอาหารชนิดต่างๆ ทั้งในรูปผง อาหารกระป๋อง อาหารหมักดอง อาหารปรุงสำเร็จ และขนมหวาน เป็นต้น
3. ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำหอมและเครื่องสำอางต่างๆ
4. ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มต่างๆ เช่น เบียร์ น้ำชา โกโก้ กาแฟ และเครื่องดื่มบรรจุขวดอื่นๆ

9.4.2 ประโยชน์ของพืชสมุนไพร (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540)

1. ช่วยเพิ่มกลิ่นและรสของอาหาร เครื่องเทศจะทำให้อาหารมีกลิ่นหอมและรสชาติชวนบริโภคมากยิ่งขึ้น ซึ่งกลิ่นของเครื่องเทศเกิดจากน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นสารประกอบพวก terpene ส่วนรสได้จากเครื่องเทศส่วนใหญ่เป็นรสเผ็ดร้อน
2. ช่วยเพิ่มความน่าบริโภคให้กับอาหาร อาหารที่ใส่เครื่องเทศจะเพิ่มรสชาติทำให้อาหารอร่อยขึ้น
3. ช่วยถนอมอาหารและดับกลิ่นอาหาร มนุษย์ในสมัยอดีตกาลเป็นต้นมากได้ใช้เครื่องเทศในการช่วยถนอมอาหารเก็บไว้ได้นาน แม้กระทั่งถึงสมัยปัจจุบันก็ยังนิยมกันอยู่สำหรับเครื่องเทศนิยมนำมาดับกลิ่นคาว

2.5 น้ำตาล

น้ำตาลเป็นสารประกอบที่ใช้ปรุงอาหารเช่นเดียวกับเกลือ น้ำตาลที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ ได้แก่ น้ำตาลทราย เด็กโตรส แลคโตส และคอร์นไซรัป จุดประสงค์เพื่อเพิ่มรสชาติลดรสกระด้างของเกลือ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสกลมกล่อม มีลักษณะเนื้อชุ่มฉ่ำขึ้น และช่วยปรับปรุงสีของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีได้สารสีน้ำตาลที่คงทน (Ruiter, 1979)

น้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่ใช้ประจำบ้านและในอุตสาหกรรม โดยใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณ ลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีรสหวาน หลอมตัวที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการละลายแอลกอฮอล์ได้น้อย สามารถละลายในน้ำได้ 204 กรัมต่อน้ำ 100 กรัมที่อุณหภูมิห้อง สารละลายน้ำตาลซูโครสอิ่มตัวจะมีน้ำตาลซูโครส 67.1 กรัมต่อสารละลาย 100 กรัมที่อุณหภูมิห้อง แต่ที่ 100 องศาเซลเซียส น้ำตาลสามารถละลายได้ในน้ำ 100 กรัมเป็นจำนวน 487 กรัม น้ำตาลซูโครสเองสามารถป้องกันจุลินทรีย์ได้ โดยปฏิกิริยาการต่อต้านจุลินทรีย์ของน้ำตาลซูโครสเกิดจาก น้ำตาลซูโครสไปลดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ การถนอมอาหารสามารถทำได้โดยการแช่ในสารละลายน้ำตาลหรือเติมน้ำตาลลงไปในอาหารโดยตรงก็ได้ (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532)

9.5.1 หน้าที่ของน้ำตาล (ณรงค์ นิยมวิทย์ และ อัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ, 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เป็นสารให้ความหวาน ซึ่งเป็นที่นิยมกันมาก และใช้กันอย่างกว้างขวาง การใช้น้ำตาลเพื่อเป็นสารให้ความหวานนั้นมีปัจจัยหลายประการที่ต้องคำนึงถึง เช่น ความเข้มข้น ความเป็นกรด อุณหภูมิ เกลือ และส่วนประกอบอื่นๆ

2. เป็นสารกันบูด ทั้งนี้เพราะน้ำตาลมีคุณสมบัติที่จะป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ ถ้าความเข้มข้นสูงมากพอ ผลิตภัณฑ์ก็สามารถเก็บได้นาน เช่น แยม แยมลี่ ผลไม้แช่อิ่ม เป็นต้น

3. ให้เนื้อแก่อาหาร (body or texture) ลักษณะเนื้อเป็นสิ่งสำคัญมากสำหรับอาหารบางครั้งเรียกว่า "mouth feel " น้ำตาลให้ลักษณะดังกล่าวแก่อาหาร เช่น เครื่องดื่มที่ใส่น้ำตาล เจลาติน และของหวานที่ใส่ เพคติน ลักษณะเนื้อส่วนหนึ่งของอาหารมาจากน้ำตาล

4. ให้กลิ่นรสแก่อาหาร การใช้น้ำตาลเพียงเล็กน้อยจะมีผลทำให้รสอาหารเปลี่ยนไป เช่น ใส่น้ำตาลลงในมายองเนส ซุป ซอสมะเขือเทศ และเนื้อสัตว์ น้ำตาลจะทำให้อาหารมีรสดีขึ้น

5. ให้สี เมื่อนำน้ำตาลไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 175 องศาเซลเซียส น้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล เมื่อนำไปละลายน้ำจะได้สีคาราเมล

6. ทำให้เกิดเจลหรือป้องกันการเกิดเจล น้ำตาลเป็นสารประกอบที่สำคัญที่ทำให้เพคตินเกิดเจล แต่ในทางตรงข้ามจะป้องกันมิให้เกิดเจล

2.6 เกลือบริโภค

เกลือบริโภคในรูปของ sodium chloride (NaCl) จัดเป็นสารประกอบที่มีบทบาทในอุตสาหกรรมแปรรูปหลายด้าน เป็นสารที่ให้รสพื้นฐานที่มนุษย์ยอมรับ มีราคาถูก หาซื้อได้ง่าย นอกจากจะให้รสเค็มแล้วยังช่วยกระตุ้นระบบการย่อยอาหารช่วยเสริมรสหวานของน้ำตาล และยังช่วยลดความเปรี้ยวของกรดลดลงได้ ระดับความเค็มที่มนุษย์ยอมรับโดยทั่วไปจะอยู่ในระดับร้อยละ 2 โดยทั่วไปร่างกายต้องการเกลือเฉลี่ยประมาณ 5 กรัมต่อวัน ถ้าร่างกายได้รับมากเกินไปหรือน้อยเกินไปจะเป็นผลเสียต่อระบบการทำงานของร่างกายได้ (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2540 ข)

ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เกลือเป็นตัวทำหน้าที่เพิ่มรสชาติ ช่วยชะลอการทำงานของน้ำย่อยบางชนิด ช่วยสกัดโปรตีนจากกล้ามเนื้อ จึงเหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทไส้กรอก ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ปริมาณการใช้เกลือบริโภคในอาหารจะแตกต่างไปตามชนิดของผลิตภัณฑ์ (Karmas, 1976)

เกลือที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารควรเป็นเกลือบริสุทธิ์ หากมีการปนเปื้อนของแคลเซียมและแมกนีเซียม จะทำให้อาหารมีรสขม และเกิด hardness ในอาหารประเภทผัก เกลือบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว รูปร่างไม่คงที่ มีคุณสมบัติดูดความชื้น สมบัตินี้จะเพิ่มขึ้นถ้าเกลือไม่บริสุทธิ์ เกลือบริโภคละลายน้ำได้ประมาณร้อยละ 26.4 โดยน้ำหนัก โมเลกุลของเกลือสามารถแทรกซึมเข้าสู่เนื้ออาหารได้ดี ทำให้เกลือมีคุณสมบัติในการถนอมอาหารได้สูง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร อุณหภูมิ เวลา และความเข้มข้นของเกลือ (Borgstrom, 1971)

Pearson (1976) ได้กล่าวถึง สมบัติของเกลือในการถนอมอาหารไว้ว่า เกลือลดความชื้นของอาหาร ทำให้สมบัติของน้ำในอาหารเปลี่ยนไป จุลินทรีย์ใช้น้ำในการเจริญเติบโตยากขึ้น และยังช่วยเพิ่มความดันออสโมซิส ทำให้เซลล์จุลินทรีย์เกิดพลาสโมไลซิส (plasmolysis) และหยุดการเจริญเติบโต นอกจากนั้นเกลือยังช่วยลดการแทรกซึมของออกซิเจน ทำให้จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนเจริญได้ยาก และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำลายเอนไซม์บางชนิด ทำให้โปรตีนภายในเซลล์จุลินทรีย์สลายตัว สูญเสียสมบัติบางประการ จึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ประการสุดท้าย เกลือมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์โดยตรง พบว่าอนุมูลโซเดียม โปแตสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์โดยตรงที่ความเข้มข้นสูง อนุมูลคลอไรด์มีความเป็นพิษสูง สามารถชะงักการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้โดยตรง เกลือโซเดียมซัลเฟตมีความเป็นพิษสูงกว่าเกลือโซเดียมคลอไรด์และเกลือโซเดียมคลอไรด์มีความเป็นพิษสูงกว่าเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์

2.6.1 สมบัติของเกลือที่มีบทบาทในเรื่องรสชาติอาหาร (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2540 ข)

1. อัตราการละลายได้ของเกลือ เกลือที่มีรูปผลึกและขนาดที่แตกต่างกันจะมีอัตราการละลายแตกต่างกัน อัตราการละลายของเกลือจะมีผลต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์โดยตรง เกลือที่จะละลายได้รวดเร็วที่สุด คือ เกลือที่เรียกว่า เกลือเด็นดริติก (dendritic salt)

2. ความคงทนในการเกาะติดกันเป็นก้อน เกลือที่ไม่เกาะติดกันเป็นก้อนเมื่อเก็บรักษาจะช่วยให้สะดวกในการนำไปใช้ และละลายได้ง่ายกว่า เกลือที่มีขนาดผลึกเล็กละเอียดจะเกาะติดกันเป็นก้อนง่าย จึงต้องมีการเติมสารป้องกันการเกาะติด (anticaking) ชนิดที่นิยมและอนุญาตให้ใช้ได้ คือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) และ แคลเซียมโพลิซิลิเคท (calciumpolysilicate)

3. สมบัติการเกาะติดกับผลิตภัณฑ์ เป็นสมบัติที่สำคัญในการพิจารณาเพื่อเลือกใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารว่างและพวกถั่วต่างๆ เกลือที่มีผิวหน้าผลึกไม่เรียบมีรูปทรงแบน และมีความหนาแน่นต่ำจะให้สมบัติการเกาะติดกับผลิตภัณฑ์ดี

4. สมบัติการดูดซับ เป็นสมบัติอีกประการหนึ่งที่ควรพิจารณาในการเลือกใช้เกลือเพราะจะช่วยดูดซับพวกกลิ่นไว้ไม่ให้สูญเสียไปมากขณะผสม และยังช่วยให้เกิดการกระจายตัวที่ดี เกลือดริติกจะให้สมบัตินี้ดีกว่าเกลือชนิดอื่น

2.7 การวัดค่าเนื้อสัมผัสของอาหาร (Texture profile analysis)

การวัดค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คือ การวัดค่าความรู้สึกสัมผัส (Kinesthetic) โดยพยายามออกแบบเครื่องมือเพื่อใช้วัดค่าทางกายภาพที่แสดงถึงความรู้สึกสัมผัสของมนุษย์ ทั้งความรู้สึกสัมผัสที่เกิดจากมือ (finger feel) ความรู้สึกสัมผัสที่เกิดจากปาก (mouth feel) เช่น การเคี้ยวอาหาร และความรู้สึกสัมผัสที่เกิดขึ้นกับร่างกาย ส่วนใหญ่เป็นเครื่องมือวัดค่าแรงต้านที่เกิดจากการสัมผัส หน่วยวัดค่าจึงเป็นหน่วยวัดค่าแรงคือ pounds force การวัดค่าแรงต้านนี้อาจวัดค่าแรงต้านเดี่ยว หรือแรงต้านร่วมที่เกิดจากการสัมผัส เช่นการวัดแรงต้านการเคี้ยวอาหาร ซึ่งเป็นการวัดค่าแรง shear-pressure การวัดค่าแรงต้านการสัมผัสมีการวัดค่าแรงต่อไปนี้ (Sam Intro Enterprise (Chonburi), 2553)

1. แรงบด (compression force) คือ การวัดค่าแรงที่เกิดจากการกด หรือบีบ เพื่อทำให้ปริมาณของตัวอย่างลดลง แต่ไม่ถึงกับทำลายให้รูปทรงของตัวอย่างแตกออก

2. แรงเฉือนแยก (shear force) คือ การวัดค่าแรงที่ทำให้เกิดการแยกตัวโดยการเลื่อนออกจากกัน ซึ่งส่วนหนึ่งของตัวอย่างจะเลื่อนแยกออกจากส่วนเดิม

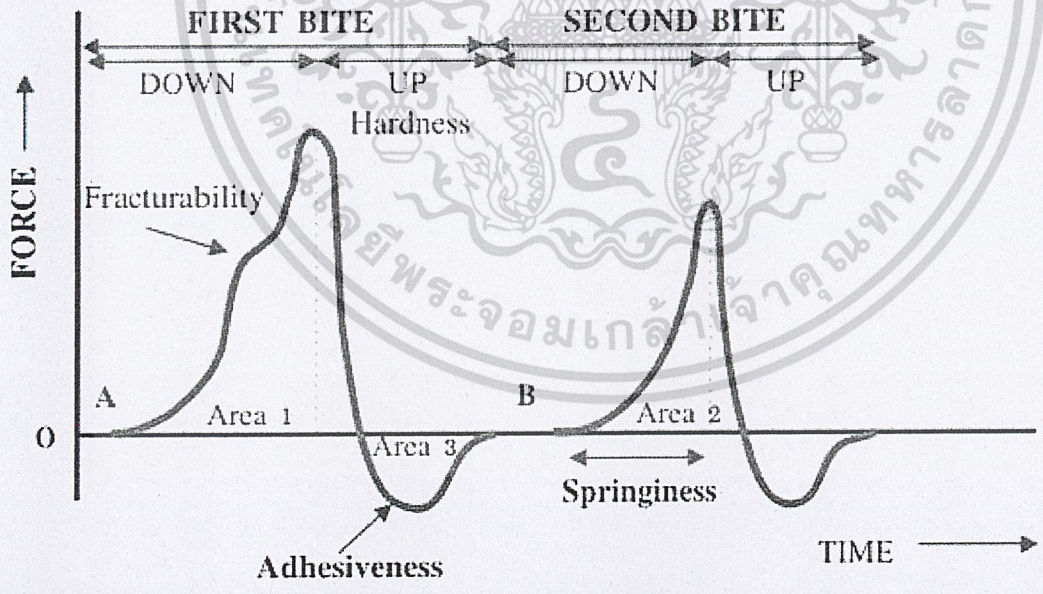
3. แรงตัด (cutting force) คือ การวัดค่าแรงที่ทำให้ตัวอย่างขาดออกจากกัน โดยแต่ละส่วนที่แยกออกไปนั้นจะคงรูปเดิมอยู่เพียงแต่ขาดออกเป็นส่วน ๆ มีรอยแยกเรียบเป็นระเบียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. แรงฉีก (tensile strength) คือ การวัดค่าแรงที่ทำให้ตัวอย่างแยกออกจากกัน ด้วยการออกแรงไปในทิศทางตรงกันข้ามกันทำให้เกิดการแบ่งแยกออกจากกัน โดยมีรอยแยกไม่เป็นระเบียบ สิ่งที่ต้านแรงแยกคือความเหนียว (toughness) เช่น ความเหนียวของเส้นใย หรือความเหนียวของเส้นด้าย หรือเส้นเชือก

5. แรงบด-แยก (shear-pressure) คือการวัดค่าแรงร่วมของแรงสองอย่าง คือแรงแยกบด (compression) และแรงแยกตัว (shear) ซึ่งเกิดขึ้นกับตัวอย่างในเวลาเดียวกัน เช่นแรงที่เกิดจากการเคี้ยวอาหารด้วยฟันของมนุษย์

Texture profile analysis เป็นวิธีทดสอบเพื่อวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analysis) ของอาหาร คิดค้นโดย Szczesniak (1963) ต่อมา Bourne (1978) ซึ่งเป็นการทดสอบโดยการใช้หัวทดสอบแบบแผ่นแบนซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่าขนาดของวัสดุ เป็นการให้แรงกด (compresion test) ลงบนตัวอย่างอาหาร ขนาดมาตรฐาน 2 ครั้ง เป็นการจำลองการใช้ฟันบดอาหาร การทดสอบด้วยวิธี Texture profile analysis ประยุกต์ใช้วัดเนื้อสัมผัสของอาหารหลายชนิดอาหารอยู่ในสภาวะที่พร้อมรับประทาน ได้แก่ เนื้อสัตว์ (meat) และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น แฮมไส้กรอก เนยแข็ง ผัก ผลไม้ เต้าหู้ เยลลี่ เพราะคุณภาพที่ได้สัมพันธ์กับการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) และผลการทดสอบจะได้กราฟระหว่าง แรง (Force, N) กับเวลา หรือ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (deformation) (ดูรูปภาพประกอบ) ที่ได้จากการทดสอบเรียกว่า กราฟ TPA สามารถนำมาหาค่าพารามิเตอร์ที่ใช้อธิบายเนื้อสัมผัสของอาหารได้หลากหลาย (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมวงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2536)



รูปที่ 2.2 กราฟแสดงค่าการวัดที่ได้จากเครื่อง Textuer Analyzer
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0987/texture-profile-analysis [10 มีนาคม 2556]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณลักษณะทางกล (Mechanical characteristics) เป็นคุณลักษณะที่สำคัญที่สุดที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาของอาหารที่มีต่อแรงที่กระทำภายในปากระหว่างการรับประทาน แบ่งเป็น 5 ปัจจัยหลัก (Primary) และ 3 ปัจจัยรอง (Secondary) ดังนี้ (สราวุฒิ ทองเจิม, 2551 ; มณธิดา กาวิชัย, 2556)

ปัจจัยหลัก มีดังนี้ คือ

1. Hardness หมายถึง แรงที่ทำให้อาหารแตกหักหรือแยกออกจากกันโดยสมบูรณ์ เป็นแรงที่ใช้กดผลิตภัณฑ์ระหว่างฟันกราม หรือระหว่างลิ้นกับเพดานปาก ซึ่งเป็นแรงสูงสุดที่เกิดขึ้นระหว่างการกดหรือเทียบได้กับการเคี้ยวครั้งแรก มีหน่วยเป็นหน่วยของแรง เช่น นิวตัน (N)

2. Viscosity หมายถึง ความข้นหนืดของผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวที่ไหลได้ จัดเป็นการไหลต่อแรงที่มากระทำจำนวน 1 หน่วย สเกลของค่า viscosity ในทางประสาทสัมผัสนั้นจะเริ่มจาก เหลว (thin) หรือเป็นน้ำ (watery) จนกระทั่งถึงข้นหนืด (very thick)

3. Adhesiveness หมายถึง การเกาะติดของอาหารกับผิวสัมผัสอื่น ในการประเมินทางประสาทสัมผัสนั้น ผิวสัมผัสที่อาหารเกาะติดอยู่ก็คือปากนั่นเอง โดยเฉพาะตรงเพดานปาก เพราะฉะนั้นแรงที่ใช้แยกอาหารออกเมื่อผิวอาหารไปเกาะติดเพดานปากก็คือค่า adhesiveness ของอาหารนั้น ซึ่งเป็นงานที่จำเป็นในการดึงหัววัด หรือหัวกด หรือฟันออกจากตัวอย่าง หรืออาหาร ในกราฟ TPA คือพื้นที่ใต้กราฟส่วนที่มีค่าเป็นลบของช่วงการกด หรือการเคี้ยวที่1 (Area 3) มีหน่วยเป็นแรงคูณด้วยเวลา เช่น N.s บางทีเรียก stickiness

4. Cohesiveness หมายถึง ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่สลายตัวก่อนที่จะแตกแยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์ ในการประเมินนั้นอาจใช้สเกลจากการแยกตัว (rupturing) และการเสียรูป (deforming) ของผลิตภัณฑ์ เช่น มัฟฟินข้าวโพดมี cohesiveness ต่ำ ส่วนหมากฝรั่งมีค่า cohesiveness สูง เป็นต้น ซึ่งเป็นพลังงานยึดเกาะกันภายในเนื้ออาหาร หาได้จาก อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟส่วนที่เป็นค่าบวกของการกดหรือการเคี้ยวครั้งที่ 2 (Area 2) และครั้งที่ 1 (Area 1) ซึ่ง cohesiveness = Area 2/Area 1

5. Springiness หมายถึง ความสามารถในการคืนตัวของตัวอย่างหลังการเสียรูปจากการกดครั้งแรก (เดิมเรียกว่า Elasticity) ค่านี้สามารถอธิบายได้หลายแบบ ที่นิยมคืออธิบายในรูปของอัตราส่วนของระยะเวลาหรือระยะทางที่วัสดุเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอย่างที่วัดได้จากการกดถึงแรงสูงสุดครั้งที่สองต่อค่าดังกล่าวของตัวอย่างที่วัดได้จากการกดครั้งแรก

สำหรับการอธิบายแบบดั้งเดิม ค่านี้จะหมายถึงระยะเวลาหรือระยะทางที่วัสดุเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอย่างที่วัดได้จากการกดถึงแรงสูงสุดครั้งที่สองเท่านั้น แต่การอธิบายในลักษณะนี้จะทำให้การเปรียบเทียบสามารถทำได้กับตัวอย่างที่มีความสูงเริ่มต้นเท่ากับ

ปัจจัยรอง มีดังนี้ คือ

1. Fracturability หมายถึง ความเปราะบางของผลิตภัณฑ์ เป็นแรงที่ทำให้ผลิตภัณฑ์แตกร่วน โดยทั่วไปจะหมายถึงผลิตภัณฑ์ที่มีค่า hardness สูง แต่มีค่า cohesiveness ต่ำ (เดิมเรียกว่า Brittleness) มีหน่วยเป็นหน่วยของแรง เช่น นิวตัน (N) สเกลที่ใช้สำหรับค่า fracturability อาจแบ่งออกได้อีก 3 ชนิด คือ Crumbly หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีความต้านทานต่อแรงต่ำ (มีค่า hardness ต่ำ) และการเสียรูปร่าง (deformation) ก่อนที่จะแตกหักมีน้อยมาก เช่น มันฝรั่งทอดกรอบ เป็นต้น, Crunchy หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีความต้านทานต่อแรงค่อนข้างสูง (มีค่า hardness ปานกลาง) และการเสียรูปร่างก่อนที่จะแตกหักมีน้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น celery stick เป็นต้น, และ Brittle หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีความต้านทานต่อแรงสูงมาก (มีค่า hardness สูง) และการเสียรูปร่างก่อนที่จะแตกหักมีน้อยมาก เช่น hard candy เป็นต้น

2. Gumminess หมายถึง ลักษณะที่อาหารกึ่งแข็งแตกตัวออกจนพร้อมที่จะกลืนได้ เป็นผลจากการมีค่า hardness ต่ำ และ cohesiveness สูง ซึ่งเป็นพลังงานที่ทำให้อาหารกึ่งของแข็งซึ่งมีค่าความแข็งน้อย (hardness) แต่พลังงานยึดเกาะกันภายใน (cohesiveness) สูง แตกออกจนสามารถกลืนได้ gumminness = hardness x cohesiveness

3. Chewiness หมายถึง พลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวอาหารแข็งจนสามารถกลืนลงไปได้ เป็นผลมาจากค่า hardness, cohesiveness และ springiness ของผลิตภัณฑ์ เป็นระยะเวลาที่ใช้ในการเคี้ยวผลิตภัณฑ์ด้วยอัตราเร็วคงที่ จนกระทั่งสามารถกลืนผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ได้ คำศัพท์ที่ใช้โดยทั่วไปได้แก่ นุ่ม (tender) หนืบ (chewy) และเหนียวมาก (tough) ซึ่ง chewiness=gumminess x springiness หรือ chewiness =hardness x cohesiveness x springiness

เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์ และคณะ (2554) ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์โบรมิเลนจากผลสับปะรดในการทำให้สเต็กหมูนุ่ม การทดสอบสมบัติทางเคมีกายภาพ ได้แก่ ค่า pH ปริมาณเถ้า ความชื้น และสารที่ละลายได้หมด (Total soluble solid, TSS) และนำไปสกัดเอนไซม์โบรมิเลนโดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ทดสอบแอคติวิตีของเอนไซม์โบรมิเลน สกัดหยาบโดยวิธี Casein Digestion Unit (CDU) ทำการทดลองหมักเนื้อหมูเปรียบเทียบผงหมักเนื้อทางการค้าโดยแปรปริมาณเอนไซม์ต่อสเต็กหมู โดยสูตร 1 ใช้เอนไซม์ทางการค้าร้อยละ 0.038 ส่วนสูตร 2 และ 3 ใช้เอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบร้อยละ 0.038 และ 0.075 หมักนาน 30 นาที นำไปทอดจากนั้นประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-point hedonic scale และทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของสเต็กหมู โดยการวัดค่าแรงเฉือนด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) สมบัติทางเคมีกายภาพของเอนไซม์โบรมิเลนสกัดแบบหยาบจากผลสับปะรดมีค่า pH เท่ากับ 4.30 ค่าปริมาณเถ้า ความชื้น และ TSS เท่ากับร้อยละ 0.28, 85.12 และ 11.0 ตามลำดับ ส่วนค่า CDU ของเอนไซม์โบรมิเลนทางการค้าและเอนไซม์โบรมิเลนที่สกัดแบบหยาบจากผลสับปะรดมีค่าเท่ากับ 1855.36 และ 3243.72 CDU/ml ตามลำดับ ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติ ความนุ่มและความชอบโดยรวมของทั้ง 3 สูตร ไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ผลการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่า สเต็กหมูสูตรที่ไม่เติมเอนไซม์โบรมิเลนจะมีค่าแรงเฉือนแตกต่างกับสูตรที่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ การใช้เกลือและน้ำตาลไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส เมื่อเปรียบเทียบเนื้อสัมผัสของสเต็กที่ใช้ผงหมักเนื้อและเอนไซม์สกัดหยาบ พบว่า ค่าแรงเฉือนของสูตร 1 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสูตร 2 และ สูตร 3 ($p>0.05$) แต่สูตร 2 มีค่าแรงเฉือนมากกว่าสูตร 3 ($p<0.05$) ดังนั้นการใช้เอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบสามารถทำให้สเต็กหมูนุ่มได้ใกล้เคียงกับผงหมักเนื้อทางการค้า และเมื่อปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบเพิ่มขึ้นส่งผลให้สเต็กหมูมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น

Ketnawa และ Rawdkuen (2011) ศึกษาการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนเพื่อทำให้เนื้อนุ่ม ลักษณะทางกายภาพพบว่าค่าแรงเฉือนลดลงอย่างมีนัยสำคัญจากตัวอย่าง BE (*bromelain extract*) ที่ได้รับการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมโดยปราศจากการใส่ BE ($p < 0.05$). จากการทดสอบแรงเฉือนลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อตัวอย่างถูกใส่ BE เพิ่มขึ้น ค่า firmness เริ่มต้นสำหรับเนื้อ วัว ไก่ ปลาหมึก อยู่ที่ 570 , 111 และ 314 นิวตัน ตามลำดับ เมื่อใส่ BE ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ทำให้ค่า firmness ลดลงร้อยละ 20, 28 และ 31 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของเนื้อ วัว ไก่ ปลาหมึก ตามลำดับ เมื่อใช้ BE ร้อยละ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(น้ำหนัก/น้ำหนัก) ค่า firmness ลดลงมากกว่าร้อยละ 61 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การลดลง firmness ของเนื้อ มีผลมาจาก proteolytic enzymes บน myofibrillar proteins เมื่อเกิดการสลายตัวของ myofibrillar proteins เปปไทด์ขนาดเล็ก หรือ โปรตีนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ จะทำให้ค่า firmness ลดลง ค่า toughness ของตัวอย่างเนื้อที่ได้รับการทดสอบ ค่า toughness บ่งบอกโดยปริมาณของ intramuscular connective tissue (เนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ) intramuscular fat (ปริมาณไขมันในเซลล์กล้ามเนื้อ) และความยาวของ sarcomere (การหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ) นี่คือค่าความสัมพันธ์ที่ยอมรับได้ของคุณภาพในผลิตภัณฑ์เนื้อสำหรับผู้บริโภค คุณภาพในการรับประทานผลิตภัณฑ์เนื้อสำหรับผู้บริโภคมีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่า toughness สัตว์ที่มีอายุมากเป็นปกติที่ในการผลิต จะมีเนื้อที่เหนียวมากกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อย เนื้อที่เหนียวจะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูง สัตว์ที่มีขนาดใหญ่เป็นปกติที่จะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูงแสดงถึงเนื้อที่มีความเหนียว การทำให้เนื้อนุ่มมีความสัมพันธ์กับการบ่มเนื้อหลังชำแหละ เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ภายในกล้ามเนื้อ proteolytic enzymes เช่น เอนไซม์โปรติเอสจากพืชมีผลต่อความนุ่มของเนื้อ เมื่อค่าแรงเฉือนของ War-ner-Bratzler ทำให้ลดลงโดยเอนไซม์โปรติเอสจากพืช รวมไปถึง ผงขมิ้นและขิง ทำการทดสอบกับเนื้อวัวจะเกิดการทำลายเส้นใยกล้ามเนื้อปกคลุมและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ค่าแรงเฉือนลดลงเมื่อใช้เหง้าขิงสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 สับปะรดจากไร่สับปะรดที่ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

3.1.2 เนื้อสะโพกหมูจากตลาดสดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นของสับปะรด

(ดัดแปลงจาก นภนีรา และคณะ, 2535)

3.4.1.1 นำต้นสับปะรดมาสับละเอียดใส่ในเครื่องตีป่นเป็นเวลา 5 นาที โดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ที่เย็นจัดในอัตราส่วน 1:1 พร้อมทั้งเติมร้อยละ 1 พอลีวีนิลไพโรลิโดน (Umesh, 2008) แล้วนำไปโฮโมจิไนส์ด้วยเครื่องโฮโมจิไนส์แบบใช้คลื่นความถี่สูง เป็นเวลา 5 นาที แยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนของเหลว

3.2.1.2 นำส่วนของเหลวที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใส

3.2.1.3 นำสารละลายเอนไซม์ที่ได้ไปตรวจหากิจกรรม (activity) ของเอนไซม์(Shinya และคณะ, 2003) และหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford's (Vall'es D. และคณะ, 2007) (รายละเอียดในภาคผนวก ข) และทำการคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในหน่วย ยูนิต/มล.

คำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ในหน่วย ยูนิต/มล. หรือ Casein Digestion Unit (CDU)/ml. โดย CDU คือ Casein Digestion Unit หมายถึง ปฏิกิริยาเอนไซม์ที่ย่อยเคซีนที่ พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเท่ากับกรดอะมิโนไทโรซีน 1 ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที ทำการคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์

3.2.2 การทำเอนไซม์โบรมิเลนที่สกัดได้ให้บริสุทธิ์โดยการใช้เอทานอลและการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเอนไซม์

3.2.2.1 ทำการศึกษาเอทานอลที่เหมาะสมในการตกตะกอนเอนไซม์โดยทำการแปรผันร้อยละของเอทานอลเท่ากับ 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-95

1. นำสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมความเข้มข้นละ 100 มิลลิลิตร ทำการเติมเอทานอลที่ร้อยละการอิ่มตัว 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-95 ค่อยๆเติมเอทานอลเย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะคนตลอดเวลา

2. ทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บตะกอนเอนไซม์โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ล้างตะกอนที่ได้

3. นำตะกอนเอนไซม์ที่ได้ไปตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ร้อยละของผลได้และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 ทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเอนไซม์โดยทำการแปรผันเวลาเท่ากับ 1, 2, 4, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

1. นำสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมได้ 100 มิลลิลิตร มาตกตะกอนเอทานอลที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม (จากข้อ 3.4.2.1) แยกทำที่เวลา 1, 2, 4, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ในสภาวะคนตลอดเวลา

2. ทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บตะกอนเอนไซม์โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ล้างตะกอนที่ได้

3. นำตะกอนเอนไซม์ที่ได้ไปตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ร้อยละของผลได้และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์

3.2.3 การทำแห้งเอนไซม์โบรมิเลนด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

เอนไซม์โบรมิเลนที่ได้จากการสกัดและทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยเอทานอลในสภาวะที่เหมาะสม นำไปผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็ง (วิธีการดังภาคผนวก ค) เป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำเอนไซม์ผงที่ได้ไปทดสอบการละลายด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์และนำเอนไซม์ผงมาละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ให้มีความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร แล้วตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ในหน่วย ยูนิต/กรัม ของผงเอนไซม์

3.2.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์โบรมิเลนเพื่อผลิตผงหมักเนื้อนุ่มโดยใช้สูตรเริ่มต้นนี้ โดยทำการแปรผันปริมาณเอนไซม์เท่ากับร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และเปรียบเทียบผลระหว่างผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า และ ชุดควบคุม คือ สูตรผงหมักเนื้อที่ไม่มีเอนไซม์โบรมิเลน (ดัดแปลงจากขวัญจิตต์, 2553)

ส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตผงปรุงรสที่มีการใช้วัตถุปรุงแต่งรสอาหารร่วมด้วย เพื่อให้มีความใกล้เคียงกับสินค้าจริงที่มีจำหน่ายอยู่ในตลาดปัจจุบัน ทำการผสมสูตรปรุงรสตามปริมาณที่กำหนดดังนี้ มอลโตเดกซ์ทริน, เกลือ (ปรุงทิพย์), น้ำตาลทรายขาวป่น (มิตรผล) และพริกไทยดำป่น ร้อยละ 45, 24, 20 และ 11 ตามลำดับ

3.2.5 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

ทดสอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis: TPA) ของเนื้อสะโพกหมูที่ได้รับการหมักด้วยผงเอนไซม์จากโบรมิเลนพร้อมเครื่องปรุงรส ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัสอาหาร (Texture Analyzer) รุ่น TA Plus (Lloyd Instruments Ltd, UK) (วิธีการดังภาคผนวก ค) ซึ่งค่าที่วัด คือ Hardness1, Hardness2, Adhesiveness, Cohesiveness, Springiness, Gumminess และ Chewiness โดยมีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

3.2.5.1 นำเนื้อสะโพกหมูมาหั่นให้มีขนาด 10 X 10 X 10 มิลลิเมตร แล้วนำไปหมักกับผงหมักเนื้อในปริมาณและเวลาที่เหมาะสม

3.2.5.2 หลังจากการหมัก นำเนื้อไปต้มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer รุ่น TA plus (Lloyd Instruments Ltd, UK)

3.2.6 การวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ การวัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer ทำการทดลอง 20 ซ้ำ และทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตัวแปรที่ทำการศึกษาโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 17.0 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นของสับปะรด

จากการศึกษาการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นของสับปะรด และนำสารละลายเอนไซม์ที่ได้ไปตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์ พบว่าได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบเท่ากับ 5.015 ยูนิต/มล. ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.706 มก./มล. และกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากับ 2.940 ยูนิต/มก.โปรตีน (แสดงดังตารางที่ 4.1) ซึ่งมีรายงานการวิจัยของ Heinicke และ Cortner (1957) ที่วิเคราะห์ก้าน เปลือก แกน ใบที่ผล ใบที่ต้น หน่อข้างลำต้น และลำต้น พบว่าโดยเฉพาะในน้ำสกัดจากส่วนของลำต้นจะมีปริมาณเอนไซม์สูงสุด และงานวิจัยของ Laura และคณะ (2005) ที่พบว่าลำต้นของสับปะรดมีปริมาณเอนไซม์สูงสุดเมื่อเทียบกับส่วนต่างๆ จากผลของสับปะรด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ ฐิติพร และ ปัณฑิตา (2550) ที่วิเคราะห์แกน เปลือก และลำต้น พบว่าส่วนของลำต้นเป็นส่วนที่พบปริมาณของเอนไซม์มากที่สุด และมีรายงานการวิจัยของ Heinicke (1961) ที่กล่าวว่าการโฮโมจีไนส์และการบดกับทรายจะทำให้การสกัดดีมากขึ้นเพราะว่าสามารถทำให้เซลล์แตกและปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาจากส่วนเนื้อเยื่อของสับปะรด และงานวิจัยของ Vall'es และคณะ (2007) ได้รายงานว่าเมื่อทำการโฮโมจีไนส์ผลไม้ในการสกัดเอนไซม์จะพบว่าน้ำผลไม้หรือสารละลายเอนไซม์ที่ได้มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงขึ้น

ตารางที่ 4.1 ผลของการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบจากลำต้นของสับปะรด

กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต/มล.)	ปริมาณโปรตีน (มก./มล.)	กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มก.โปรตีน)
5.015	1.706	2.940

4.2 การทำเอนไซม์โบรมิเลนที่สกัดได้ให้บริสุทธิ์โดยการใช้เอทานอลและการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเอนไซม์

4.2.1 ทำการศึกษาเอทานอลที่เหมาะสมในการตกตะกอนเอนไซม์โดยทำการแปรผันร้อยละเอทานอลเท่ากับ 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-95

เมื่อนำสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมความเข้มข้นละ 100 มิลลิลิตร ทำการเติมเอทานอลที่ร้อยละการอิ่มตัว 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-95 เก็บตะกอนเอนไซม์โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ล้างตะกอนที่ได้ และสารละลายเอนไซม์ที่ได้ไปตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ร้อยละของผลได้และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์

กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเอทานอลเย็น 4 องศาเซลเซียส ร้อยละการอิ่มตัวที่ 80-95 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 103.464 ยูนิต รองลงมาคือร้อยละการอิ่มตัวที่ 60-80 มีค่าเท่ากับ 60.984 ยูนิต เช่นเดียวกับร้อยละของผลได้ ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของการตกตะกอนเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรดโดยเอทานอลเย็น 4 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นร้อยละการอิ่มตัว 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-95 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ร้อยละการอิ่มตัวของเอทานอล	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต/มล.)	กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ (ยูนิต)	ปริมาณโปรตีน (มก./มล.)	กิจกรรมจำเพาะทั้งหมดของเอนไซม์ (ยูนิต/มก. โปรตีน)	ร้อยละของผลได้	จำนวนเท่าของความบริสุทธิ์
20-40	0.364^{d}	36.400^{d}	0.367^{d}	0.997^{a}	5.859^{d}	0.244^{a}
40-60	0.437^{c}	52.917^{c}	0.501^{c}	0.872^{ab}	8.510^{c}	0.213^{ab}
60-80	0.504^{b}	60.984^{b}	0.707^{b}	0.714^{c}	9.825^{b}	0.174^{c}
80-95	0.639^{a}	103.464^{a}	0.835^{a}	0.767^{bc}	16.665^{a}	0.187^{bc}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมภ์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าการตกตะกอนที่ร้อยละการอิ่มตัวของเอทานอล 80-95 ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ กิจกรรมทั้งหมด ปริมาณโปรตีน และร้อยละของผลได้สูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากค่าร้อยละการอิ่มตัวอื่นๆ แต่ในส่วนกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์สูงสุดที่ร้อยละการอิ่มตัว 20-40 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากร้อยละการอิ่มตัว 40-60 และ 80-95 (แสดงดังตารางที่ 4.2) โดยจากผลดังกล่าวพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลเย็น 4 องศาเซลเซียส ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน และร้อยละของผลได้เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดมาจากเอทานอลที่มากขึ้นสามารถลดค่าไดอิเลคตริกคอนสแทนต์ (dielectric constant) ได้มาก เพราะเอทานอลจะไปเกาะกับน้ำทำให้วงแหวนรอบๆ โปรตีนหมดไปทำให้โปรตีนตกตะกอน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Soares และคณะ (2012) รายงานว่าการตกตะกอนเอนไซม์ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่ร้อยละการอิ่มตัว 20-40 จะให้ค่ากิจกรรมจำเพาะ ร้อยละของผลได้ และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์มากที่สุด และได้ทำการตกตะกอนเอนไซม์ด้วยเอทานอล พบว่าการตกตะกอนเอนไซม์ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30-70 (ปริมาตร/ปริมาตร) จะให้ค่ากิจกรรมจำเพาะ ร้อยละของผลได้ และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์มากที่สุด

4.2.2 ทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเอนไซม์โดยทำการแปรผันเวลาเท่ากับ 1, 2, 4, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

จากการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้น และนำสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมได้ 100 มิลลิลิตร มาตกตะกอนเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละการอิ่มตัว 80-95 เป็นเวลา 1, 2, 4, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ในสภาวะคนตลอดเวลา เมื่อนำสารละลายเอนไซม์ที่ได้จากการละลายตะกอนไปตรวจหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ปริมาณโปรตีน กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ร้อยละของผลได้และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์

กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเอทานอลเย็น 4 องศาเซลเซียส ที่ร้อยละการอิ่มตัวที่ 80-95 ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีค่ากิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ กิจกรรมจำเพาะ ร้อยละของผลได้และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์สูงสุด มีค่าเท่ากับ 34.203 ยูนิต, 1.391 ยูนิต/มก.โปรตีน, ร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.582 และ 0.277 เท่า ตามลำดับ และค่าที่ได้ทุกค่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลาอื่นๆ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ผลของการตกตะกอนเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรดโดยเอทานอลเย็น 4 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นร้อยละการอิ่มตัว 80-95 เป็นเวลา 1, 2, 4, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

ระยะเวลาการตกตะกอนด้วยเอทานอล (ชั่วโมง)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต/มล.)	กิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ (ยูนิต)	ปริมาณโปรตีน (มก./มล.)	กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มก.โปรตีน)	ร้อยละของผลได้	จำนวนเท่าของความบริสุทธิ์
1	0.214^{d}	20.726^{d}	0.227^{de}	0.942^{b}	6.404^{d}	0.187^{bc}
2	0.240^{c}	23.280^{c}	0.238^{cd}	1.011^{b}	7.201^{c}	0.201^{b}
4	0.336^{a}	29.874^{b}	0.349^{a}	0.965^{b}	9.248^{b}	0.191^{b}
6	0.283^{b}	34.203^{a}	0.203^{e}	1.391^{a}	10.582^{a}	0.277^{a}
12	0.260^{c}	23.400^{c}	0.263^{c}	0.988^{b}	7.237^{c}	0.197^{b}
24	0.247^{c}	20.501^{d}	0.301^{b}	0.821^{c}	6.342^{d}	0.163^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมภ์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

4.3 การทำแห้งเอนไซม์โบรมิเลนด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

จากการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้น และนำสารละลายเอนไซม์โบรมิเลนมาตกตะกอนด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละการอิ่มตัว 80-95 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ในสภาวะคนตลอดเวลา เมื่อนำไปผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 10 ชั่วโมง และนำเอนไซม์ผงที่ได้ไปทดสอบการละลายด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ให้มีความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร แล้วตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 2042.770 ยูนิต/กรัม ปริมาณโปรตีนมีค่าเท่ากับ 1.377 มก./มล. และกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 1483.493 ยูนติ/มก.โปรตีน (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลของผงเอนไซม์โบรมิเลนที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง และตกตะกอนที่อัตราการอิ่มตัวร้อยละ 80-95 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต/กรัม)	ปริมาณโปรตีน (มก./มล.)	กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มก.โปรตีน)
2042.770	1.377	1483.493

4.4 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

ทดสอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis: TPA) ของเนื้อสะโพกหมูที่ได้รับการหมักด้วยผงเอนไซม์จากโบรมิเลนพร้อมเครื่องปรุงรส ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัสอาหาร (Texture Analyzer) รุ่น TA Plus (Lloyd Instruments Ltd, UK) ผลการทดสอบเป็นดังนี้ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Hardness1 เนื้อสะโพก หมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Hardness1 (N)
0	6.975^{b}±0.718
1	5.867^{b}±0.318
3	3.110^{a}±0.306
5	3.658^{a}±0.186
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	6.537^{b}±0.775

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมภ์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากการวัดค่า Hardness 1 จะพบว่าเมื่อร้อยละของปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น ค่าพารามิเตอร์ของ Hardness1 จะลดลง โดยที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และชุดควบคุม (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Hardness ว่า ค่า Hardness ยิ่งมีค่าสูง นั่นหมายความว่ามีความแข็งมากขึ้นตามไปด้วย และถ้ามีค่าต่ำแสดงว่ามีความนุ่มมาก ซึ่งเป็นแรงที่กระทำต่ออาหารทำให้อาหารแตกหรือแยกออก โดยที่ Hardness1 เป็นระยะที่เครื่อง Texture analyzer กดลงบนผลิตภัณฑ์ครั้งแรก มีหน่วยเป็น นิวตัน (N) เทียบได้กับแรงที่ใช้กดผลิตภัณฑ์ระหว่างฟันกราม หรือระหว่างลิ้นกับเพดานปาก หรือการเคี้ยวครั้งแรก จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) นั้นทำให้เนื้อนุ่มได้ดีกว่าผงหมักสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 4.5) และจากการวัดค่า Hardness 2 จะพบว่าเมื่อร้อยละของปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น ค่าพารามิเตอร์ของ Hardness2 จะลดลง โดยที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ไม่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) แต่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 จะมีค่า Hardness 2 มากกว่าปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุม และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.6) ซึ่งจากงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Hardness ว่า ค่า Hardness ยิ่งมีค่าสูง นั่นหมายความว่ามีความแข็งมากขึ้นตามไปด้วย และถ้ามีค่าต่ำแสดงว่ามีความนุ่มมาก ซึ่งเป็นแรงที่กระทำต่ออาหารทำให้อาหารแตกหรือแยกออก โดยที่ Hardness2 เป็นระยะที่เครื่อง Texture analyzer กดลงบนผลิตภัณฑ์ครั้งที่สอง มีหน่วยเป็น นิวตัน (N) เทียบได้กับแรงที่ใช้กดผลิตภัณฑ์ระหว่างฟันกราม หรือระหว่างลิ้นกับเพดานปากครั้งที่สอง หรือการเคี้ยวครั้งที่สอง ซึ่งเมื่อเทียบกับตารางที่ 4.5 ค่าพารามิเตอร์ Hardness1 จะเห็นได้ว่าค่าพารามิเตอร์ Hardness2 จะมีแรงกดลดลงในทุก ๆ สูตรเนื่องจากการถูกเครื่อง Texture analyzer กด ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับการที่ชิ้นเนื้อถูกเคี้ยวแล้วจึงทำให้เสียรูปไป จึงมีความนุ่มมากกว่าในการกดครั้งแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Hardness2 เนื้อสะโพกหมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Hardness2 (N)
0	$5.381^{c} \pm 0.075$
1	$4.248^{bc} \pm 0.456$
3	$2.347^{a} \pm 0.653$
5	$2.825^{ab} \pm 0.528$
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	$5.106^{c} \pm 0.219$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมภ์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

ตารางที่ 4.7 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Adhesiveness เนื้อสะโพกหมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Adhesiveness (N.mm)
0	$-0.011^{b} \pm 0.003$
1	$0.007^{ab} \pm 0.019$
3	$0.010^{ab} \pm 0.017$
5	$0.021^{a} \pm 0.039$
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	$-0.009^{b} \pm 0.005$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมภ์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากการวัดค่า Adhesiveness พบว่าเมื่อร้อยละของปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น ค่าพารามิเตอร์ของ Adhesiveness จะเพิ่มขึ้นยกเว้นในสูตรที่ไม่ได้ใส่เอนไซม์และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า โดยที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 มีค่าต่ำสุด แต่ไม่แตกต่างกับการใช้ปริมาณเอนไซม์ระดับอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์โบรมิเลน และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า (ตารางที่ 4.7) ซึ่งจากรายงานงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Adhesiveness ว่า ค่า Adhesiveness เป็นแรงที่ใช้แยกอาหารออกมาเมื่อผิวอาหารไปเกาะติดเพดานปาก เป็นแรงที่จำเป็นในการดึงหัววัด หรือหัวกด หรือฟันออกจากตัวอย่าง หรืออาหาร ถ้ามีค่าที่สูงเกินไปจะทำให้การเคี้ยวเป็นไปได้ลำบากเพราะติดอยู่บริเวณเพดานปาก หรือถ้ามีค่าต่ำเกินไปคือมีความแข็ง จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นสูตรที่ทำให้เคี้ยวชิ้นเนื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 มีค่า Adhesiveness มากเกินไปจะทำให้การเคี้ยวลำบากเพราะติดอยู่กับเพดานปาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวัดค่า Cohesiveness พบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จะให้ค่าต่ำสุด แต่ไม่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่แตกต่างจากชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมเอนไซม์ (ตารางที่ 4.8) ซึ่ง

จากงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Cohesiveness ว่า ค่า Cohesiveness คือปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่สลายตัวก่อนที่แตกแยกออกจากกันเป็นการวัดค่า ตั้งแต่เริ่มมีรอยแตก (rupturing) จนผลิตภัณฑ์แตกตัว (deforming) ซึ่งเป็นพลังงานยึดเกาะกันภายในเนื้ออาหาร หาได้จาก อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟส่วนที่เป็นค่าบวกของการกดหรือการเคี้ยวครั้งที่ 2 (area2) และครั้งที่ 1 (area1) ซึ่ง cohesiveness = area 2/area 1 ถ้าค่า Cohesiveness สูงแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความเหนียวคือมีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลสูง และถ้าค่า Cohesiveness ต่ำแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความนุ่ม จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) นั้นทำให้เนื้อนุ่มได้ดีกว่าผงหมักสูตรอื่น ๆ

ตารางที่ 4.8 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Cohesiveness เนื้อสะโพกหมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Cohesiveness
0	$0.353^{b} \pm 0.029$
1	$0.318^{ab} \pm 0.025$
3	$0.307^{a} \pm 0.035$
5	$0.320^{ab} \pm 0.064$
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	$0.338^{ab} \pm 0.035$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากการวัดค่า Springiness พบว่าเมื่อปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น ค่าพารามิเตอร์ของ Springiness จะลดลง โดยที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จะให้ค่าต่ำสุด แต่ไม่แตกต่างกันจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) แต่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และชุดควบคุม และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.9) ซึ่งจากงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Springiness ว่า ค่า Springiness คือ ความสามารถในการคืนตัวของตัวอย่างหลังการเสียรูปจากการกดครั้งแรก (เดิมเรียกว่า elasticity) ค่านี้สามารถอธิบายได้หลายแบบ ที่นิยมคือ อธิบายในรูปของอัตราส่วนของระยะเวลาหรือระยะทางที่วัสดุเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอย่างที่วัดได้จากค่าการกดถึงแรงสูงสุดครั้งที่สองต่อค่าการกดถึงแรงสูงสุดของตัวอย่างครั้งแรก ถ้าค่า Springiness สูงแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความแข็งเนื่องจากสามารถคืนตัวได้ดี และถ้าค่า Springiness ต่ำแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความนุ่มเนื่องจากคืนตัวได้ไม่ดี แต่ถ้าค่าต่ำจนเกินไปแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นไม่สามารถคืนตัวกลับมาได้ จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) นั้นทำให้เนื้อนุ่มได้ดีกว่าผงหมักสูตรอื่นๆ

จากการวัดค่า Gumminess พบว่าปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ให้ค่าต่ำสุดไม่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ1 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) แต่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 มีค่า Gumminess มากกว่าปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุม และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.10) ซึ่งจากงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Gumminess ว่า ค่า Gumminess เป็นลักษณะที่อาหารกึ่งแข็งแตกตัวออกจนพร้อมที่จะกลืนได้ เป็นผลจากการมีค่า hardness ต่ำ และ cohesiveness สูง ซึ่งเป็นพลังงานที่ทำให้อาหารกึ่งของแข็งซึ่งมีค่าความแข็งน้อย (hardness) แต่พลังงานยึดเกาะกันภายใน (cohesiveness) สูง แตกออกจนสามารถกลืนได้ gumminess = hardness x cohesiveness ซึ่งถ้าหากว่ามีค่า Gumminess สูงแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีความเหนียวเพราะต้องใช้แรงในการเคี้ยวอาหารให้แตกตัวออกจากกัน และถ้ามีค่า Gumminess ต่ำแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีความนุ่ม จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ทำให้เนื้อนุ่มได้ดีกว่าผงหมักสูตรอื่น ๆ

ตารางที่ 4.9 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Springiness เนื้อ สะโพกหมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Springiness (mm)
0	2.232^{c} ±0.076
1	2.048^{b} ±0.129
3	1.908^{ab} ±0.168
5	1.783^{a} ±0.128
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	2.271^{c} ±0.120

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

ตารางที่ 4.10 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Gumminess เนื้อสะโพกหมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Gumminess (N)
0	2.491^{c} ±0.044
1	1.834^{bc} ±0.246
3	0.964^{a} ±0.214
5	1.246^{ab} ±0.470
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	2.278^{c} ±0.121

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากการวัดค่า Chewiness พบว่าปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ให้ค่าต่ำสุดไม่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) แต่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 มีค่า Chewiness มากกว่าปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์ และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.11) ซึ่งจากงานวิจัยของ สราวุฒิ (2551) ได้อธิบาย Chewiness ว่า ค่า Chewiness เป็นพลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวอาหารแข็งจนสามารถกลืนลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปได้ เป็นผลมาจากค่า hardness, cohesiveness และ springiness ของผลิตภัณฑ์ เป็นระยะเวลาที่ใช้ในการเคี้ยวผลิตภัณฑ์ด้วยอัตราเร็วคงที่ จนกระทั่งสามารถกลืนผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ได้ chewiness=gumminess x springiness หรือ chewiness =hardness x cohesiveness x springiness ซึ่งถ้ามีค่า chewiness สูงแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความเหนียวต้องใช้แรงในการเคี้ยวอาหารให้แตกตัวออกจากกันจนถึงสภาวะที่จะกลืนได้ และถ้ามีค่า chewiness ต่ำแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความนุ่ม เพราะใช้แรงน้อยในการเคี้ยวอาหารให้แตกตัวออกจากกันจนถึงสภาวะที่จะกลืนได้ จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ทำให้เนื้อนุ่มได้ดีกว่าผงหมักสูตรอื่น ๆ

ตารางที่ 4.11 ผลการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พารามิเตอร์ Chewiness เนื้อสะโพกหมูที่หมักด้วยปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในเครื่องปรุงรส และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า

ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	Chewiness (N.cm)
0	$0.554^{c} \pm 0.025$
1	$0.374^{bc} \pm 0.028$
3	$0.186^{a} \pm 0.084$
5	$0.245^{ab} \pm 0.106$
ผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า	$0.522^{c} \pm 0.067$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์และในแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

จากการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer พบว่าค่าที่ทำให้เนื้อหมูที่หมักด้วยเอนไซม์โบรมิเลนนุ่ม คือ ค่า Cohesiveness แสดงถึงพลังงานยึดเกาะกันภายในเนื้ออาหาร ถ้าค่า Cohesiveness สูงแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความเหนียว คือ มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลสูง และถ้าค่า Cohesiveness ต่ำแสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความนุ่ม จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ให้ค่าต่ำสุด ซึ่งไม่แตกต่างจากปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 1 และ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และผงหมักเนื้อนุ่มทางการค้า แต่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.12) จากผลการทดสอบพบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) นั้นทำให้เนื้อนุ่มได้ดีกว่าผงหมักสูตรอื่น ๆ ซึ่งจากงานวิจัยของ เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์ และคณะ (2554) ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์โบรมิเลนจากผลสับปะรดในการทำให้สเต็กหมูนุ่ม ทำการทดลองหมักเนื้อหมูเปรียบเทียบผงหมักเนื้อทางการค้าโดยแปรปริมาณเอนไซม์ต่อสเต็กหมู โดยสูตร 1 ใช้เอนไซม์ทางการค้าร้อยละ 0.038 ส่วนสูตร 2 และ 3 ใช้เอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบร้อยละ 0.038 และ 0.075 หมักนาน 30 นาที นำไปทอดจากนั้นประเมินผล ได้ทำการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติ ความนุ่มและความชอบโดยรวมของทั้ง 3 สูตร ไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) และผลการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่า สเต็กหมูสูตรที่ไม่เติมเอนไซม์โบรมิเลนจะมีค่าแรงเฉือนแตกต่างกับสูตรที่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ การใช้เกลือและน้ำตาลไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส เมื่อเปรียบเทียบเนื้อสัมผัสของสเต็กที่ใช้ผงหมักเนื้อและเอนไซม์สกัดหยาบ พบว่า ค่าแรงเฉือนของสูตร 1 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสูตร 2 และ สูตร 3 ($p>0.05$) แต่สูตร 2 มีค่าแรงเฉือนมากกว่าสูตร 3 ($p<0.05$) ดังนั้นการใช้เอนไซม์โบรมิเลนสกัดหยาบสามารถทำให้สเต็กหมูนุ่มได้ใกล้เคียงกับผงหมักเนื้อทางการค้า และเมื่อปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดหยาบเพิ่มขึ้นส่งผลให้สเต็กหมูมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น และงานวิจัยของ Ketnawa และ Rawdkuen (2011) ศึกษาการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนเพื่อทำให้เนื้อนุ่ม ลักษณะทางกายภาพพบว่าค่าแรงเฉือนลดลงอย่างมีนัยสำคัญจากตัวอย่าง BE (*bromelain extract*) ที่ได้รับการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง ควบคุมโดยปราศจากการใส่ BE ($p < 0.05$) จากการทดสอบแรงเฉือนลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อตัวอย่างถูกใส่ BE เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับค่า firmness จะลดลงด้วย การลดลงของ firmness ของเนื้อ มีผลมาจาก proteolytic enzymes บน myofibrillar proteins เมื่อเกิดการสลายตัวของ myofibrillar proteins เปปไทด์ขนาดเล็กหรือ โปรตีนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ จะทำให้ค่า firmness ลดลง และตัวอย่างเนื้อที่ได้รับการทดสอบ ค่า toughness บ่งบอกโดยปริมาณของ intramuscular connective tissue (เนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ) intramuscular fat (ปริมาณไขมันในเซลล์กล้ามเนื้อ) และความยาวของ sarcomere (การหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ) นี่คือค่าความสัมพันธ์ที่ยอมรับได้ของคุณภาพในผลิตภัณฑ์เนื้อสำหรับผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้ศึกษากระบวนการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรด (*Ananas comosus*) และการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเอนไซม์บริสุทธิ์ด้วยเอทานอล ในช่วงของร้อยละการอิ่มตัวต่างๆ ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำผงหมักเนื้อนุ่ม โดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งตะกอนของเอนไซม์ โดยการนำลำต้นสับปะรดมาทำการปั่นรวมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการโฮโมจิไนซ์ เป็นเวลา 5 นาที ได้สารผสมเอนไซม์โบรมิเลนหยาบ ทำการกรองสารผสมเอนไซม์โบรมิเลนหยาบด้วยผ้าขาวบางก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10000 รอบต่อนาที นำสารสกัดเอนไซม์โบรมิเลนหยาบไปวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ และปริมาณโปรตีนได้ผลดังนี้ คือ 5.015 ยูนิต/มล. , 2.940 ยูนิต/มก. โปรตีน และ 1.706 มก./มล. ตามลำดับ เมื่อทำบริสุทธิ์สารสกัดเอนไซม์โบรมิเลนหยาบด้วยเอทานอลในแต่ละช่วงของร้อยละการอิ่มตัวต่างๆ ที่ 4 องศาเซลเซียส พบว่าที่ช่วงร้อยละการอิ่มตัวของเอทานอล 80-95 ให้กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดและร้อยละของผลได้ของตะกอนเอนไซม์สูงที่สุด คือ 103.464 ยูนิต และ ร้อยละ 16.665 ตามลำดับ โดยพบว่าเวลาของการตกตะกอนที่เหมาะสมที่สุด คือ 6 ชั่วโมง โดยวัดค่ากิจกรรมทั้งหมดของเอนไซม์ กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ร้อยละของผลได้ และจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์สูงสุด มีค่าเท่ากับ 34.203 ยูนิต, 1.391 ยูนิต/มก.โปรตีน, ร้อยละ 10.582 และ 0.277 เท่า ตามลำดับ นำตะกอนเอนไซม์ที่ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 10 ชั่วโมง มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ และกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากับ 2042.770 ยูนิต/กรัม และ 1483.493 ยูนิต/มก.โปรตีน ตามลำดับ จะได้เอนไซม์ผงที่มีประสิทธิภาพในการละลาย สำหรับการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส พบว่าการทำผงหมักเนื้อนุ่มโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จะได้เนื้อที่มีความนุ่มและมีคุณภาพดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกศินี ระมิงค์วงศ์. 2539. ตระกูลสับปะรด. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ขวัญจิตต์ อนุกูลวัฒนา. 2553. การพัฒนาผงหมักไก่เนื้อนุ่ม. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

จารุพันธ์ ทองแถม. 2526. สับปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุรีรัตน์ สมสุข.2530. การเพิ่มปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์โบรมิเลนผงจากลำต้นสับปะรด. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฐิติพร และ ปัณฑิตา. 2550. การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นของสับปะรด. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ณรงค์ นิยมวิทย์ และ อัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ. 2528. วิทยาศาสตร์การประกอบอาหาร. ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทะนง ภัครัชพันธุ์. 2529. กระบวนการตกตะกอนและความคงตัวของโบรมิเลน. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต, คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาเกษตรศาสตร์.

นภนีรา แสงสุริยะ, สุฑนี ติยะชัยพานิช และ เอื้ออารีย์ พรเศรษฐคุณ. 2535. การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรด. วิทยานิพนธ์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2543. เคมีอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคะชวนะ. 2530. การผลิตโบรมิเลนจากต้นสับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิรมล อุตมอ่าง. 2543. วิธีการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (ม.ป.ป.). Texture Profile Analysis (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0987/texture-profile-analysis [10 มีนาคม 2556].

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2545. การประเมินทางประสาทสัมผัส. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่.

มณธิดา กาวิชัย. (ม.ป.ป.). การประเมินค้าโครงเนื้อสัมผัส (ออนไลน์). ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. สืบค้นจาก : http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning47/ft461/index/lab/9.htm [10 มีนาคม 2556].

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอนเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วนิดา จันทรเทพเทวัญ. 2547. Freeze drying. (ออนไลน์). สืบค้นจาก :
http://www.gpo.or.th/rdi/html/t34-t35-g35-g38b.html [10 มีนาคม 2556]
ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2544. หลักการวิเคราะห์อาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
ศิริชัย อุ่นศรีส่ง. 2541. สับปะรด. ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
สราวุฒิ ทองเจิม. 2551. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูโดยใช้เทคนิคการออกแบบการทดลอง. สาขา วิศวกรรมอุตสาหการ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2540 ก. ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส. อุตสาหกรรมเกษตร. 8(2):45-52.
สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2540 ข. ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส. อุตสาหกรรมเกษตร. 8(3):4-13.
สิริกัลยา ศรียอด. 2547. การพัฒนาผงหมักไก่สมุนไพร. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. 2545. รายงานภาวะอุตสาหกรรมแปรรูปสับปะรด. กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม. หน้า 1-31.
เสาวนีย์ เอี้ยวสกุล, พัชณี ธีระสำราญ, ชลทิศ โชคปิตินันท์ และ สุรพงษ์ พินิจกลาง. (2554). การทำสเต็กหมูนุ่มด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจากผลสับปะรด ประเมินโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสและเครื่องวัดเนื้อสัมผัส. วิทยาศาสตร์เกษตร. 42(2):457-460
อารี ฤทธิบูรณ์. 2550. เทคโนโลยีเอนไซม์. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อรวินท์ วงศ์มีเกียรติ และ ทนง ภัครัชพันธุ์. 2527.รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 22 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 30-31 มกราคม 2527. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
อรัญญา มโนสร้อย และ จีรเดช มโนสร้อย. 2546. สารใหม่และวิทยาการใหม่ทางเครื่องสำอาง. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, วังบูรพา, กรุงเทพฯ.
Andrew, J.T. 2002. Food Flavour Technology. Sheffield Academic Press. UK.
Borgstrom, G. 1971. Principle of Food Science Vol 1. New York : Macmillan Company.
Borngstrom, G. 1971. Principle of Food Science Vol 1. New York : Macmillan Company.
Chaurasiya R.S. and Hebbar H.U. (2013). Extraction of bromelain from pineapple core and purification by RME and precipitation methods, Separation and Purification Technology.
Devakate, R.V., Patil, V.V., Waje, S.S. and Thorat, B.N. 2009. Purification and drying of bromelain .*Separation and Purification Techmology.* 64:259-264.
Heath, H. B. 1978. Flavor Technology: Profiles, Products, Application. AVI publishing company Inc. London.
Heinicke. 1961. Process for the preparation of pineapple stem bromelain. [Online]. Available : http://www.freepatentsonline.com/5106621.html [10 March 2013].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Heinicke, R.M. and Cortnor W.A.. 1957. Stem bromelain a new protease preparation from pineapple plant. *Economic botany*. 11:25-28.

Hellendoorn, B.W. 1962. Water-binding capacity of meat as affected by phosphates. Food Technol. 16(9):119-124.

Karmas, E. 1976. Meat Product Manufacture. New Jersey: Noyes pata corporation.

Ketnawa S., Rawdkuen S. 2011. Application of Bromelain Extract for Muscle Foods Tenderization. Food Technology Program, School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand. 2:393-401

Laura P.H., Paula K.G.R, Chau T.T. and Cindy L.J. 2005. Proteinase activity and stability of natural bromelain preparations. *International Immunopharmacology*. 5:783-793.

Mahon, J.H. 1961. Tripolyphosphate-salt synergism and its effect on cured meat volume. Proceedings of meat industry research conference. Meat Inst., Washington, D.C.

Mahon, J.H., Schlamb, K., and Bootsky, E. 1970. General concepts applicable to the use of polyphosphates in red meat, poultry and seafood processing. In symposium: Phosphates in Food Processing, AVI Publishing Co., Westport, Conn.

Meligaard, M.C., Carr, B.T. and Civille, G.V. 1999. Sensory Evaluation techniques. 3rd ed. CRC Press, Inc. Boca Raton.

Narayan A., Madhusudhan M. and Raghavarao K. (2008). Extraction and Purification of Ipomoea Peroxidase Employing Three-phase Partitioning. Apply Biochemistry and Biotechnology. 151:263-272.

Olson D.G., Parrish J.R., Stromer M.H., Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during post mortem storage, Journal of Food Science, 41 (1976), pp. 1036–1041

Pearson, D. 1976. The Chemical Analysis of Foods. 7th edition, London : Churchill Livingston Publishing.

Rabelo, A.P.B., Tambourgi, E.B. and Pessoa, A.Jr. 2004. Bromelain partitioning in two-phase aqueous systems containing PEO-PPO-PEO block copylymers. *Journal of Chromatography* B.807:61-68.

Robert, K. 1994. Protein Purufication. New York : Academic Press, Inc.

Rohrbach, K.G., Leal F. and Eeckenbrugge G.C. 2003. History, Distribution and World Production. pp. 1-12. *In* Bartholomew, D.P., Paull, R.E. and Rohrbach, K.G. eds. The pineapple botany, production and uses. USA. CABI publishing.

Ruiter, A. 1979. Color of smoked food. *Food Tech.* 33(5):54-60.

Sam Intro Enterprise (Chonburi). 2553. Materials tester, การวัดค่าเนื้อสัมผัส (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://sc-intro.blogspot.com/2010/09/blog-post_24.html [10 มีนาคม 2556].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shim, L.A. 1981. Tips on food grade phosphates. Food Eng. September. P. 106.

Shinya Y., Tetsuya T., Michiyoshi K., Takanori H, Masakazu F., Masakazu F., Masahito O. and Toshio H. 2003. Immobilization of bromelain onto porous copoly (Y- glutamate/-leucine beads. European Polymer. 39:173-180.

Shults, G.W., Russell, D.R. and Wierbicki, E. 1972. Effects of condensed phosphates on pH, swelling and water holding capacity of beef. J. Food Sci. 37:860-864.

Soares, P.A.G., Vaz, A.F.M., Correia, M.T.S., Pessoa, A.Jr. and Carneiro-da-Cunha, M.G. 2012. Purification of bromalain from pineapple wastes by ethanol precipitation. *Separation and Purification Technology*. 98:389-395.

Staff of Product Development Technology. 2005. Sensory Evalution. [Online]. Available: http://www.agro.cmu.ac.th/ebook. [10 March 2013].

Su,Y.C.;Chu C.Y,; Lai. K.S. 1975. Studies on the production of stem bromelain from pineapple waste. *Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society*. 10:5-10.

Tausig, S.J. and Batkin, S.1988. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (*Ananas comosus*) and it clinical application. An update. *Ethnopharmacology*. 2:191-203

Trout, G.R. and Schmit, G.R. 1984. The effect of phosphate type and concentration, salt level and method of preparation on binding in beef roll. J. Food Sci. 49: 687-694.

Vall´es D. , Furtado S., Cantera A.M.B. 2007. Characterization of news proteolytic enzymes from ripe fruits of *Bromelia antiacantha Bertol.* (Bromeliaceae). *Enzyme and Microbial Technology*. 40:409–413.

Vollmar, E.K. and Melton, C.C. 1981. Selected quality factors and sensory attributes of cured ham as influenced by different phosphate blends. J. Food Sci. 46:317-320.

Umesh Hebbar., Sumana B and Raghavarao K.S.M.S.2008. Use of reverse micellar systems for the extraction and purification of bromelain from pineapple wastes. Bioresource Technology, 11:4896-4902.

Zieggler, E. and Zeigler, H. 1998. Flavorings. Wiley-VCH. Weinheim. Germany.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (อารี, 2548)

ทำการเตรียมสารละลาย ก และ ข โดยการทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการและนำมาผสมกันให้ได้ค่ากรดด่างที่ต้องการ

สารละลาย ก : สารละลายของโมโนเบสิก โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ทำการละลาย NaH_2PO_4 27.8 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย ข : สารละลายของไดเบสิก โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ทำการละลาย $Na_2HPO_4.7H_2O$ 53.65 กรัม หรือ $Na_2HPO_4.12H_2O$ 71.7 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

จำนวนมิลลิลิตรของสารละลาย ก (X) ผสมกับสารละลาย ข (Y) เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงการผสมกันระหว่างสารละลาย ก และสารละลาย ข ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้ได้ค่ากรดด่างที่ต้องการ

X	Y	ค่ากรดด่าง	X	Y	ค่ากรดด่าง
93.5	6.5	5.7	45.0	55.0	6.9
92.0	8.0	5.8	39.0	61.0	7.0
90.0	10.0	5.9	33.0	67.0	7.1
87.7	12.3	6.0	28.0	72.0	7.2
85.0	15.0	6.1	23.0	77.0	7.3
81.5	18.5	6.2	19.0	81.0	7.4
77.5	22.5	6.3	16.0	84.0	7.5
73.5	26.5	6.4	13.0	87.0	7.6
68.5	31.5	6.5	10.5	90.5	7.7
62.5	37.5	6.6	8.5	91.5	7.8
56.5	43.5	6.7	7.0	93.0	7.9
51.0	49.0	6.8	5.3	94.7	8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารเคมี การวิเคราะห์ และการคำนวณค่าต่างๆ

1. การหากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน

สารเคมีที่ใช้

ก. สารละลายเคซีน : ละลายเคซีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 8.0 โดยเตรียมสารในสภาวะคนและให้ความร้อนตลอดเวลา

ข. สารละลายที่ใช้เจือจางเอนไซม์ : ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 8.0 เติม EDTA ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ และ ซีลเตอีนความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

ค. สารละลายกรดไตรคลอโรแอซีติก : ละลายกรดไตรคลอโรแอซีติกความเข้มข้นร้อยละ 3 ในน้ำปราศจากไอออนเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

วิธีการหากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน (Shinya และคณะ, 2003)

1. นำเอนไซม์ที่ได้มาเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 8.0 เติม EDTA ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ และซีสเทอีนความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เพื่อเร่งปฏิกิริยาผสมให้เข้ากัน

2. นำสารละลายเอนไซม์ที่เจือจาง1.0 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากับเคซีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 8.0 ใส่ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สำหรับแบลงค์ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 8.0 แทนสารละลายเอนไซม์ที่เจือจาง

3. เติมสารละลายกรดไตรคลอโรแอซิติกความเข้มข้นร้อยละ 3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. นำส่วนใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาปริมาณกรดอะมิโนไทโรซีนโดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน

5. ทำกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไทโรซีน โดยนำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน

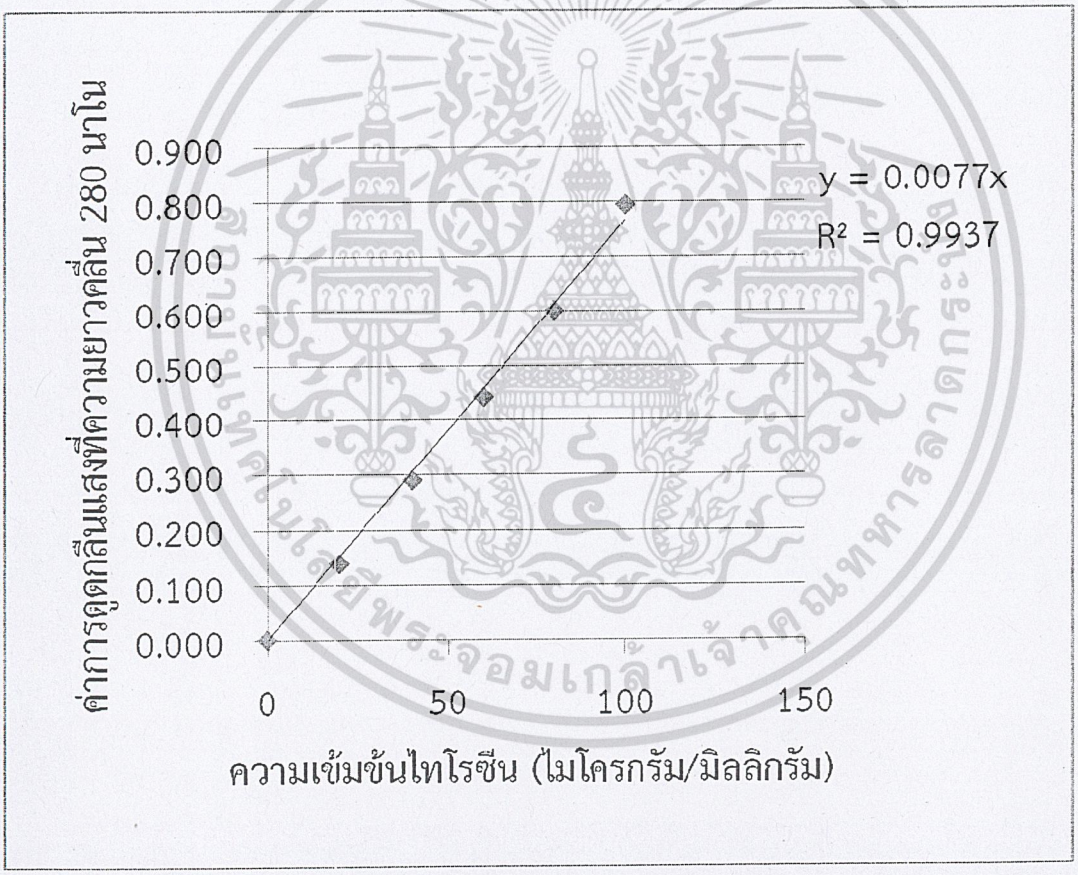
6. คำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ในหน่วย Casein Digestion Unit (CDU)/ml. โดย CDU คือ Casein Digestion Unit หมายถึง ปฏิกิริยาเอนไซม์ที่ย่อยเคซีนที่ พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเท่ากับกรดอะมิโนไทโรซีน 1 ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที

การหากราฟมาตรฐาน

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไทโรซีนที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่วัดค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไทโรซีน (ไมโครกรัม/มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
20	0.136	0.139	0.138	0.138
40	0.291	0.292	0.292	0.292
60	0.443	0.445	0.444	0.444
80	0.599	0.600	0.604	0.601
100	0.791	0.800	0.795	0.795



รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานไทโรซีนที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร

การหากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน (ยูนิต/มล.)} = \frac{\text{ไมโครกรัมของไทโรซีน} \times \text{จำนวนเท่าการเจือจางสารละลายเอนไซม์}}{\text{น้ำหนักโมเลกุลของไทโรซีน} \times \text{ระยะเวลาบ่ม} \times \text{ปริมาณเอนไซม์ (มล.)}}$$

จากสมการของกราฟมาตรฐาน $y = 0.0077x$ เมื่อแทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสงของไทโรซีน สามารถคำนวณหาความเข้มข้นของไทโรซีน (ไมโครกรัม/มล.) และนำมาคำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนได้ในหน่วย Casein Digestion Unit (CDU)/mg และ CDU/ml โดย

CDU คือ Casein Digestion Unit หมายถึง ปฏิกิริยาเอนไซม์ที่ย่อยเคซีนที่ พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเท่ากับไทโรซีน 1 ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที

วิธีการคำนวณค่าต่างๆ

1. กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมด = กิจกรรมของเอนไซม์ × ปริมาตรของเอนไซม์
2. กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทั้งหมด $= \frac{\text{กิจกรรมของเอนไซม์} \times \text{ปริมาตรของเอนไซม์}}{\text{ปริมาณโปรตีน}}$
3. ผลได้ $= \frac{\text{กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดในแต่ละขั้นตอนของการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์} \times 100}{\text{กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดของ Crude enzyme}}$
4. จำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ $= \frac{\text{กิจกรรมจำเพาะของแต่ละขั้นตอนของการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์}}{\text{กิจกรรมจำเพาะของ Crude enzyme}}$

2. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford's

วิธีการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford's มีขั้นตอนต่อไปนี้

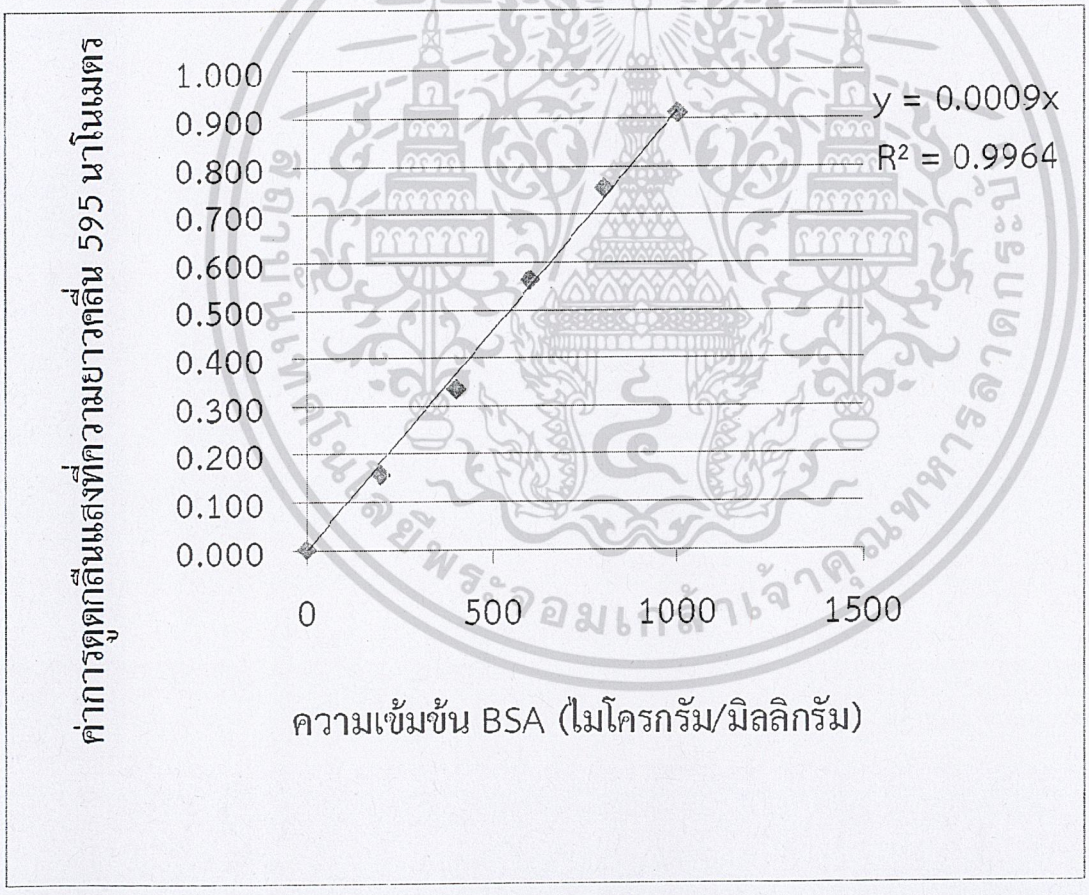
1. นำสารละลายเอนไซม์ตัวอย่างมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ
2. ดูดสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางเหมาะสม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม Bradford's reagent 1X ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร สำหรับแบลงค์ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 8.0 แทนสารละลายเอนไซม์ที่เจือจาง ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน
4. ทำกราฟมาตรฐานโปรตีน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายมาตรฐานที่เจือจางเหมาะสม 50 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองและทำตามขั้นตอนเช่นเดียวกับการหาปริมาณโปรตีนในสารละลาย แล้วนำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหากราฟมาตรฐาน

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานโปรตีน Bovine serum albumin ที่ 595 นาโนเมตร

ปริมาณBovine serum albumin (ไมโครกรัม/มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
200	0.161	0.157	0.154	0.157
400	0.348	0.341	0.315	0.335
600	0.573	0.572	0.539	0.561
800	0.762	0.747	0.749	0.753
1000	0.889	0.902	0.944	0.912



รูปภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin ที่ระดับความเข้มข้น 200, 400, 600,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางอารี ฤทธิบูรณ์

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Aree Rittiboon

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา (ตรี โท เอก และประกาศ-นียบัตร)	อักษรย่อ ปริญญา และชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
2530	ปริญญาตรี	วท.บ วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยม อันดับ 2)	เกษตรศาสตร์	พืชศาสตร์	มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ (วิทยาเขต หาดใหญ่)	ไทย
2536	ปริญญาโท	วท.ม วิทยาศาสตร-มหาบัณฑิต	เทคโนโลยี ชีวภาพ	-	มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ (วิทยาเขต หาดใหญ่)	ไทย

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) เทคโนโลยีของเอนไซม์ เทคโนโลยีชีวภาพของเห็ดรา

รางวัลด้านวิชาการ/ด้านวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ด้านศิลปะ หรืออื่นๆ) ที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	สถาบันที่ให้
2557	การแยกเชื้อและการคัดเลือกเชื้อยีสต์สายพันธุ์กลายที่มีการผลิตเอนไซม์ไลเปสเพื่อเร่งปฏิกิริยาการผลิตไบโอดีเซล. รางวัลโพสเตอร์ดีเยี่ยม	ม. เกษตรศาสตร์

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

Prasertsan, P., H-kihikul, A., Kunghae, A., Maneesri, J. and Oi, S. 1997. Optimization for xylanase and cellulase production form Aspergillus niger ATCC 6275. in palm oil mill wastes and its application. World J. Microbiol. Biotechnol. 13 : 555-559.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อารี ฤทธิบูรณ์. 2541. การแยกและการคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราในสภาพธรรมชาติต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส. ว.เทคโนโลยีสุรนารี. 5 : 138 – 146. สถานภาพในการวิจัย คือหัวหน้าโครงการวิจัย

อารี ฤทธิบูรณ์. 2541. การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากเชื้อ Sporotrichum pulverulentum ในสภาวะการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว. ว.วิทยาศาสตร์ มข. 26(4) : 273 – 280.

อารี ฤทธิบูรณ์. 2542. การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากฟางข้างโดยเชื้อราในสภาวะอาหารแข็ง. ว.วิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 9 : 58 – 65.

Rittiboon, A and Katemai, W. 2003. Production of Starch-Digesting Glucoamylase from Fungi in Liquid and Solid Cultures. The 2nd International Conference. Enzymes in the Environment : Activity, Ecology & Applications. Praha, Czech Republic, July 14 – 17, 2003.

Rittiboon, A. and Katemai, W. 2004. Production of Starch – Digesting Glucoamylase from *Aspergillus niger* ATCC 10864. KMITL Science Journal. 4(1) : 108 – 118.

มาลินี ตันติยาภรณ์, อารี ฤทธิบูรณ์ และพรทิพย์ ภูแกดำ. 2548. การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมและการจัดกลุ่มเส้นใยของเห็ดตีนแรดโดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์. ว.วิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 14(1) : 51 – 74.

อารี ฤทธิบูรณ์ และสุนันทา มีชนะ. 2548. การชักนำการกลายพันธุ์ การแยก และการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อราสายพันธุ์กลาย. ว.วิทยาศาสตร์ขอนแก่น. 33(1) ซ 41 – 52.

Rittiboon, A. and Reavadee, P. 2006. Isolation, selection and optimization for xylanase production from *Aspergillus niger* isolated from soil in Thailand. Loas Journal on Applied Science. 1(1) : 266 – 275.

อารี ฤทธิบูรณ์ และสุนันทา มีชนะ. 2549. การทำให้บริสุทธิ์และคุณลักษณะของเอนไซม์ไซลาเนสโดยเชื้อ *Aspergillus niger* ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต. รวมบทความ (Proceeding) การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตแห่งชาติ ครั้งที่ 6 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ระหว่างวันที่ 13 – 14 ตุลาคม 2549 ในรูป PDF – file ที่ 306. 11 หน้า

Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon. 2007. Characteristics and Composition of *Jatropha curcas* seed oil in Thailand. The 5th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. November 1-3, 2007. Khon Kaen Univeristy, Nong Khai Campus, NongKhai, Thailand.

Piroonporn Srimongkol, Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon, 2007. Isolation and selection of soil fungi as compost starter from Kanchanaburi. The 5th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. November 1-3, 2007. Khon Kaen Univerisy, NongKhai Campus, NongKhai, Thailand.

Malinee Tantiyaporn, Aree Rittiboon, Porntip Poomkaedum, and Natthaporn, Veanngam. 2007. Genetic variations of *Tricholoma crassum* in some areas of Thailand by

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

isozyme electrophoresis and PCR-RFLP method. The 5th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. November 1-3, 2007. Khon Kaen University, Nong Khai Campus, NongKhai, Thailand.

Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon. 2007. Characteristics and Composition of *Jatropha curcas* seed oil in Thailand. The 5th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. November 1-3, 2007. Khon Kaen Univeristy, Nong Khai Campus, NongKhai, Thailand.

Chalit Nopparat, Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon. 2008. Screening for phosphate solubilizing bacteria and optimum of bacterial cultivation by response surface methodology. KMITL Sci. J. 8(2):60-72.

Chalit Nopparat, Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon. 2009. Optimization of *Aspergillus japonicus* SA22P3406 on Rough Rice Bran Cultivation. The Proceeding of 47th Kasetsart University Annual Conference : Vol. 8, Subject : Agro-Industry. 17-20 March 2009.

Chalit Nopparat, Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon. 2009. Optimization of *Aspergillus japonicus* SA22P3406 on Rough Rice Bran Cultivation. The Proceeding of 47th Kasetsart University Annual Conference : Vol. 8, Subject : Agro-Industry. 17-20 March 2009.

Jatupornpipat, M., Rittiboon, A., Nopparat, C. 2010. Screening for asymbiotic N2 fixing of actinomycetes from soils by Acetylene Reduction Assay. In Proceedings 37th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering. May 24-28, 2010. Tatranske Matliare, Slovakia. pp. 1023-1037.

Rittiboon, A., Jatupornpipat, M. and Srimongkol, P. 2010. Isolation and selection of thermotolerant *Streptomyces* sp. as compost starter. The 22nd Annual Meeting 0f the Thai Society for Biotechnology, "International Conference on Biotechnology for Healthy Living" Prince of Songkla University, Trang Campus, Thailand, October 20-22, 2010.

Aree Rittiboon, Marisa Jatupornpiput and Piroonporn Srimongkol. 2013. Screening and Identification of Cellulose Producing Thermotolerant Fungi as Compost Starter. KKU Sci. 41(4):1057-1065.

Jatupornpipat, M., Rittiboon, A. and Srimongkol, P. 2010. Application of response surface metrodology to optimize the sporulation growth of *A. niger* SA07P3332 for used as phosphate biofertilizer. The 22nd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology "International Conference on Biotechnology for Healthy Living" Prince of Songkha University, Trang Campus, Thailand, Octerber 20-22, 2010.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วรรณิสา ปั้นสุข, อารี ฤทธิบูรณ์ และมาริสา จาตุพรพิพัฒน์. 2557. การแยกเชื้อและการคัดเลือกเชื้อยีสต์สายพันธุ์กลายที่มีการผลิตเอนไซม์ไลเปสเพื่อเร่งปฏิกิริยาการผลิตไบโอดีเซล. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 52. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 4-7 กุมภาพันธุ์ 2557. หน้า 60-67.

Wannisa Pansuk, Marisa Jatupornpipat and Aree Rittiboon. 2014. Optimization of biodiesel production by matant catalytic cells of *Candida orthopsilosis* from crud palm oil using response surface methodology. The international Bioscience Conference and the 5th Joint International PSU-UNS Bioscience conference, Achieveing Sustainability Though Integrated Sciences, Proceedings. 29-30 September 2014, Phuket Graceland Resort & Spa, Phuket, Thailand.

Aree Rittiboon, Wannisa Pansuk, and Marisa Jatupornpiput. 2014. The development of biodiesel production using lipase from selected mutant yeasts. 16th European Congress on Biotechnology, 13-16 July 2014, Edinburge, Scotland.

Aree Rittiboon, Marisa Jatupornpipat and Kitchasit Phombut. 2515. **Selection of bacteria and yeasts for tranesterification biocatalyst in biodiesel production using waste cooking oil. The 13th International symposium on Biocontrol and Biotechnology, November 6-8, 2015, Shen Zhen, China.**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้