



## ใบรับรองปัญหาพิเศษ



T096782

เรื่อง

การศึกษาการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์ทางการค้า และผงทำให้เนื้อนุ่ม เพื่อผลิตหอยลายสกัดสำหรับทำซอส

(Study on Baby Clam Meat Hydrolysis by Commercial Enzyme Preparations and Meat Tenderizer to Produce Baby Clam Extract for Sauce Production)

จัดทำโดย

นางสาววิภัตรา เวศกาวิ  
รหัสนักศึกษา 46041072

นางสาวอมรรัตน์ พานิชกุล  
รหัสนักศึกษา 46041081

นางสาวอมรรัตน์ พานิชกุล

รหัสนักศึกษา 46041072

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 96782  
ใบเดือนปี.....

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

b. 11728830  
i. ....

*[Signature]*

*[Signature]*

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(*[Signature]*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์ทางการค้า และผงทำให้เนื้อนุ่ม เพื่อ  
ผลิตหอยลายสกัดสำหรับทำซอส

(Study on Baby Clam Meat Hydrolysis by Commercial Enzyme Preparations and  
Meat Tenderizer to Produce Baby Clam Extract for Sauce Production)

โดย

นางสาววิศิตรา

เวศภาวี

รหัสนักศึกษา 46041072

นางสาวอมรรัตน์

พานิชกุล

รหัสนักศึกษา 46041081

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิศตรา เวศกาวิ และ อมรรัตน์ พานิชกุล. 2549: การศึกษาการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วย เอนไซม์ทางการค้า และผงทำให้เนื้อนุ่ม เพื่อผลิตหอยลายสกัดสำหรับทำซอส(Study on Baby Clam Meat Hydrolysis by Commercial Enzyme Preparations and Meat Tenderizer to Produce Baby Clam Extract for Sauce Production) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะ อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 อาจารย์ที่ปรึกษา: ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

### บทคัดย่อ

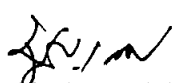
เอนไซม์หลายชนิดมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งการใช้ เอนไซม์ในการไฮโดรไลซ์ จะมีบทบาทโดยตรงมากที่สุด สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิต ผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งรสชาติซึ่งใช้ในการปรุงอาหารหลายประเภท โดยเฉพาะ ซอสหอย ที่มีการใช้ เอนไซม์ในกระบวนการผลิต ในขั้นตอนการย่อยสลาย เพื่อให้ได้น้ำหอยสกัดออกมา ซึ่งในปัจจุบัน การผลิตซอสหอยนั้น ได้มีผู้ศึกษาผลิตจากหอยหลายชนิด เช่น หอยแมลงภู่ หอยแครง หอยลาย หอยเป้าชื่อ เป็นต้น จากผลการศึกษาการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายสดด้วยเอนไซม์ทางการค้า และผง ทำให้เนื้อนุ่ม เพื่อผลิตเป็นหอยลายสกัด เมื่อพิจารณาระดับการไฮโดรไลซิส โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนจากกรดอะมิโนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(AN/TN) ปริมาตรส่วนใส และ pH-stat ร่วมกับการชิม พบว่าการไฮโดรไลซิสด้วยอัลคาเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมง ได้หอยลายสกัดที่มีระดับการไฮโดรไลซิสคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนจาก กรดอะมิโนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงที่สุด คือ 21.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH-stat 5.8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรส่วนใส 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำหอยลายสกัดที่ได้มาทำการทดสอบทางด้านกลิ่น และรสชาติ พบว่า หอยลายสกัดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยอัลคาเลสให้กลิ่นรสดีที่สุด

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

วัน เดือน ปี

วิศตรา เวศกาวิ  
 อมรรัตน์ พานิชกุล



18 ธ.ค. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

การนำเสนอปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของข้าพเจ้า ที่ได้กรุณาสละเวลา ให้คำปรึกษา ชี้จุดบกพร่องและแนะแนวทางต่าง ๆ ในสิ่งที่ข้าพเจ้าไม่รู้ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของสัมมนาฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่คอยแนะนำและช่วยให้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. ศศิวิมล ชื่นอิม อาเหม็ด และ อ. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการ และที่สำคัญขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยเป็นกำลังใจ ช่วยเหลือดูแลเมื่อมีปัญหา รวมทั้งคำแนะนำต่าง ๆ และกำลังใจในการทำปัญหาพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ทุกคน ที่ช่วยให้คำแนะนำต่าง ๆ รวมทั้งคอยให้กำลังใจ ทำให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

10 มีนาคม 2550

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ .....	ก
กิตติกรรมประกาศ .....	ข
สารบัญ .....	ค
สารบัญภาพ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 หอยลาย.....	3
2.2 ซอสหอยนางรม.....	4
2.3 อุตสาหกรรมซอสหอยและกรรมวิธีการผลิต.....	9
2.4 เอนไซม์โปรติเอส.....	14
2.5 การเลือกใช้เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร.....	19
2.6 เอนไซม์บรอมเมลิน.....	21
2.7 ผงทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderizers).....	25
2.8 นิเวทอส.....	26
2.9 อัลคาเลส.....	26
2.10 การย่อยสลายตัวเอง (autolysis).....	27
2.11 หลักการของ kjeldahl method.....	28
2.12 การตัดแปลง โปรตีน.....	31
2.13 สารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร.....	35
2.14 การเกิดรสขมในโปรตีนไฮโดรไลเซท.....	37
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	39
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	49
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	76
บรรณานุกรม.....	78
ภาคผนวก.....	80
ประวัติผู้เขียน.....	110

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.3.1	ขั้นตอนการผลิตซอสหอยด้วยวิธีใช้การสกัดเนื้อหอยด้วยการต้ม.....	10
2.3.2	ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมในอุตสาหกรรม.....	11
2.3.3	ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมด้วยการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรด.....	12
2.3.4	ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมด้วยการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์.....	13
2.4.1	ลักษณะปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส.....	14
2.11.1	โครงสร้างทั่วไปของกรดอะมิโน.....	28
3.3.1	ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส.....	42
3.3.2	ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรส.....	43
3.3.3	ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม( meat tenderizers ).....	45
3.3.4	ขั้นตอนการวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์ของโปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยวิธี pH stat technic.....	46
4.3.1	แสดง%DH จากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสและความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์.....	51
4.3.2	แสดง%DH จากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น ต่างๆ.....	52
4.3.3	แสดง%DHจากวิธีต่าง ๆของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์.....	54
4.3.4	แสดง%DHจากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น ต่างๆ.....	55
4.3.5	แสดง%DH จากวิธีต่าง ๆของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น0.6 เปอร์เซ็นต์.....	56
4.4.1	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วยวิธี pH stat ของผงทำให้เนื้อนุ่ม ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	58
4.4.2	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์อัลคาเลส ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.4.3 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์นิวเทรส ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	60
4.4.4 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH จากค่า AN/TN ratioของผงทำให้เนื้อนุ่ม ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	62
4.4.5 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH จากค่า AN/TN ratioของเอนไซม์อัลคาเลส ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	63
4.4.6 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์นิวเทรส ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	64
4.4.7 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วย การวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลาย สกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่มที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	66
4.4.8 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วย การวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลาย สกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	67
4.4.9 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วย การวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลาย สกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรสที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ.....	68

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
2.1.1	องค์ประกอบทางเคมีของหอยลาย หอยนางรมและหอยแมลงภู่มุสด.....	4
2.10.1	แสดงเอนไซม์ในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนของปลา.....	28
2.11.1	ขั้นตอนปฏิบัติการไตเตรทกลับหาปริมาณไนโตรเจน โดยวิธี Kjeldahl.....	31
2.12.1	แสดงข้อแนะนำทั่วไปของการใช้โปรตีนเกี่ยวกับความจำเพาะ (specificity) ระดับ การไฮโดรไลซ์ (degree of hydrolysis) และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.....	32
2.12.2	อัตราส่วน AN/TN เป็นร้อยละ ที่ได้สูงสุด ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้กรดและ โปรตีนจากแหล่งต่างๆ ในการไฮโดรไลซ์.....	35
3.3.1	ตารางแสดงค่า $f$ และ $h_{90}$ ของโปรตีนชนิดต่าง ๆ .....	47
4.2.1	องค์ประกอบของหอยลายที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลอง.....	49
4.5.1	แสดงลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในหอย ลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ( $^{\circ}\text{C}$ ).....	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

### บทนำ

ซอสหอยนางรม เป็นเครื่องปรุงที่รู้จักกันดีในชื่อน้ำมันหอย ปัจจุบันซอสหอยเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างแพร่หลายเป็นเครื่องปรุงรสที่นิยม โดยการผลิตซอสหอยนางรมมีหลายวิธี เช่น การใช้หัวเชื้อที่สังเคราะห์จากต่างประเทศมาทำให้เจือจาง การนำหอยนางรมมาต้มเคี่ยวเพื่อสกัดกลิ่นรส และการย่อยสลายโปรตีนในหอยนางรมด้วยกรดเกลือหรือเอนไซม์ให้อยู่ในรูปโปรตีนที่ละลายน้ำ (โปรตีนไฮโดรไลเซต) แล้วนำน้ำหอยนางรมที่สกัดจากวิธีเหล่านี้มาปรุงแต่งกลิ่น รสชาติ สี ลักษณะเนื้อสัมผัสอีกที่ก่อนบรรจุขวดจำหน่าย พบว่าหอยนางรมเป็นสัตว์นิยมนบริโภคสด และมีราคาสูง มีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ราคาซอสหอยตามท้องตลาดจึงมีราคาสูงตามไปด้วย หากลองนำวัตถุดิบอื่นที่มีราคาถูกกว่ามาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ซอสหอย โดยคุณภาพสามารถเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้และมีคุณภาพดี อาจใช้วัตถุดิบดังกล่าวแทนหอยนางรมได้

หอยลาย (baby clam, short-necked clam, surf clam) เป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ผลผลิตได้จากการจับหรือคราดจากแหล่งธรรมชาติจากบริเวณใกล้ปากแม่น้ำทั้งฝั่งอ่าวไทยและมหาสมุทรอินเดีย ในปี 2540 มีปริมาณผลผลิตรวม 35,852 ตัน คิดเป็นมูลค่า 249,764,000 บาท การบริโภคหอยลายของคนไทย นิยมนำหอยลายสดทั้งเปลือกมาปรุงเป็นอาหาร ส่วนผลิตภัณฑ์แปรรูปจากหอยลายที่พบในปัจจุบัน ได้แก่ หอยลายในน้ำเกลือหรือน้ำมันบรรจุกระป๋อง หอยลายอบกรอบปรุงรส และหอยลายลวกแกะเนื้อ ดังนั้นจึงได้ศึกษาการทำซอสหอยจากหอยลายซึ่งมีราคาถูกกว่าหอยนางรมประกอบกับหอยลายเมื่อนำมาปรุงเป็นอาหารแล้วจะมีกลิ่นรสที่ดี นำรับประทานจึงน่าจะนำมาผลิตเป็นซอสได้ ทั้งหมดนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำน้ำหอยสกัด

### วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอุณหภูมิ ระยะเวลา ชนิดของเอนไซม์และความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายเพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตหอยลายสกัดสำหรับเป็นวัตถุดิบปรุงแต่งกลิ่นรสในการผลิตซอสหอยลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความเข้มข้นของเอนไซม์ ชนิดของเอนไซม์ ระยะเวลา และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายสด เพื่อผลิตเป็นหอยลายสกัด
2. ศึกษาวิธีการไฮโดรไลซิสของเนื้อหอยลายสดด้วยเอนไซม์ โดยวัดจากค่า pH-stat เปอร์เซ็นต์ AN/TN และปริมาณกรดไขมัน โดยใช้ค่า pH-stat ในการตรวจติดตามผลการไฮโดรไลซ์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 หอยลาย

หอยลาย (baby clam, short-necked clam, surf clam) เป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ อีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ผลผลิตได้จากการจับหรือคราดจากแหล่งธรรมชาติจากบริเวณใกล้ปากแม่น้ำทั้งฝั่งอ่าวไทยและมหาสมุทรอินเดีย ในปี 2540 มีปริมาณผลผลิตรวม 35,852 ตัน คิดเป็นมูลค่า 249,764,000 บาท การบริโภคหอยลายของคนไทย นิยมนำหอยลายสดทั้งเปลือกมาปรุงเป็นอาหาร ส่วนผลิตภัณฑ์แปรรูปจากหอยลายที่พบในปัจจุบันได้แก่ หอยลายในน้ำเกลือหรือน้ำมันบรรจุกระป๋อง หอยลายอบกรอบปรุงรส และหอยลายลวกแกะเนื้อ การใช้ประโยชน์หอยลายนอกจากเพื่อการบริโภคสดแล้วยังมีการแปรรูป ได้ดังนี้

เนื้อหอยลายต้ม เริ่มจากนำหอยลายทั้งเปลือกที่ทำความสะอาดแล้ว ผ่านกระบวนการต้มแยกเนื้อออกแล้วคัดขนาด ทำความสะอาดส่งขายโรงงานทำหอยกระป๋อง หรือโรงงานห้องเย็น วิธีการแกะเนื้อหอยลาย ทำโดยต้มหอยลายให้สุก กะเทาะเปลือกหอยลายโดยเครื่องกะเทาะ จากนั้นแยกเนื้อหอยและเปลือกออกจากกันโดยใช้น้ำเกลือเข้มข้น เนื้อหอยจะลอยอยู่ที่ผิวหน้าของน้ำเกลือ เปลือกและของแข็งอื่นที่มีความหนาแน่นมากกว่าจะจมลงก้นถัง พบว่า หอยลายทั้งเปลือก 7.89 กิโลกรัม จะให้เนื้อหอยลายต้ม 1 กิโลกรัม

เนื้อหอยแช่แข็ง เป็นเนื้อหอยลายที่ทำความสะอาดแล้วแช่ในน้ำคลอรีน และล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งหนึ่ง คัดขนาดตามความต้องการ แบ่งออกได้เป็น 5 ขนาด คือ ขนาดเล็กที่สุดมากกว่า 700 ตัว/กก. ขนาดเล็ก 500-700 ตัว/กก. ขนาดกลาง 300-500 ตัว/กก. ขนาดใหญ่ 200-300 ตัว/กก. และขนาดใหญ่ที่สุด 100-200 ตัว/กก. อุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็ง ประมาณ -40 องศาเซลเซียส นาน 8-10 ชั่วโมง

เนื้อหอยลายแช่แข็งบรรจุกระป๋อง โรงงานผลิตจะซื้อหอยลายต้มจากโรงต้มหอยลายที่เก็บไว้นานไม่เกิน 24 ชั่วโมง ซึ่งได้คัดขนาดแล้ว หลังจากนั้นจะนำเนื้อหอยไปทำความสะอาดอีกครั้งและต้มประมาณ 5-7 นาที แล้วนำมาบรรจุกระป๋องตามขนาดที่ลูกค้าสั่งซื้อ เช่น ขนาด 7 ออนซ์ 10 ออนซ์ และ 28 ออนซ์ ปิดฉลากและบรรจุกล่องกระดาษขนาด 1,2 และ 4 โหล ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมีของหอยลายดังแสดงไว้ในตาราง 2.1.1

ตารางที่ 2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยลาย หอยนางรม และหอยแมลงภู่

ชนิด	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	ความชื้น (%)	เถ้า (%)	คาร์โบไฮเดรต (%)
หอยลาย	12.8	1.4	80.3	2.1	3.4
หอยนางรม	9.8	2.1	80.5	2.0	5.6
หอยแมลงภู่	9.1	0.89	88.68	0.74	0.69

ที่มา : ปราณีศา เชื้อโพธิ์หัก ( 2533 )

## 2.2 ขอสหอยนางรม

ขอสหอยนางรม ตามความหมายที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมให้คำนิยามไว้หมายถึง เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรสอาหารชนิดหนึ่งอยู่ในกลุ่มเดียวกับซีอิ๊วขาว และเต้าเจี้ยว ซึ่งขอสหอยนางรมตามมาตรฐานแล้วต้องมีลักษณะข้น ประกอบด้วยเนื้อ หรือน้ำสกัด หรือส่วนได้จากการย่อยสลายหอยนางรมด้วยกรดหรือเอนไซม์อย่างใดอย่างหนึ่งแล้วผสมกันเป็นส่วนประกอบสำคัญ และมีส่วนประกอบอื่นรวมทั้งเครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรสผสมอยู่ด้วย บรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดได้สนิท

### 2.2.1 ส่วนประกอบขอสหอยนางรม

ส่วนประกอบขอสหอยนางรมนั้นจะประกอบไปด้วย 2 ส่วนหลักด้วยกัน คือ ส่วนประกอบหลักได้แก่

เนื้อ หรือน้ำสกัด หรือหอยนางรมย่อยสลาย

เครื่องปรุง ได้แก่ เกลือบริโภค น้ำตาล แป้ง เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง โมดิไฟด์สตาร์ช (modified starch) ส่วนประกอบอื่นที่อาจมี ได้แก่ โปรตีนสกัดจากพืช เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรส เช่น น้ำปลา น้ำขอส ซีอิ๊ว น้ำขอสปรุงรส

### 2.2.2 ประวัติความเป็นมาของหอยนางรม

หอยนางรมเป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย จัดอยู่ในประเภทอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยธาตุอาหารและเกลือแร่ต่างๆอย่างครบถ้วน เนื้อหอยนางรมนอกจากใช้รับประทานสดและปรุงอาหารได้หลายอย่างแล้ว ยังสามารถแปรรูปเป็นอาหารสำเร็จรูปที่เก็บไว้ได้นาน ได้แก่ หอยนางรมดอง หอยนางรมรมควัน และสกัดเป็นน้ำมันหอยสำหรับปรุงรสอาหารได้อีกมากมาย

หอยนางรมมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามบริเวณน้ำตื้นชายเกาะ ชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ ถ้าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า คลอง และแหล่งน้ำที่มีอาณาเขตติดต่อกับทะเลทั้งในภูมิภาคแถบอบอุ่นและแถบร้อน ได้แก่ ไต้หวัน ฮ่องกง เกาหลี ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และนิวซีแลนด์ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศอังกฤษ ฝรั่งเศส ยุโรปตอนเหนือและ อเมริกา สำหรับในเอเชียมีชุมชนในน่านน้ำของประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินเดีย พม่า มาเลเซีย และประเทศไทย หอยนางรมที่ทำการเพาะเลี้ยงกันเป็นธุรกิจการค้าในต่างประเทศนั้นมีมากมายหลายชนิด เช่น ในอเมริกาเหนือฝั่งแอตแลนติกเป็นหอยชนิด *Ostrea virginica* และฝั่งแปซิฟิก เป็นหอยชนิด *Ostrea conchophila* หอยชนิด *Ostrea edulis* มีพบในยุโรปเป็นส่วนใหญ่ และทำการเพาะเลี้ยงกันมากในประเทศกลุ่มสแกนดิเนเวีย ส่วนในทะเลเมดิเตอร์เรเนียนเป็นหอยชนิด *Ostrea angulata* และ *Ostrea adriatica* ในประเทศญี่ปุ่นเพาะเลี้ยงหอยชนิด *Ostrea gigas* กันทั่วไป

สำหรับในน่านน้ำไทยสำรวจพบว่ามีหอยนางรมอยู่ 4 ชนิด ที่พบได้เป็นจำนวนมาก ได้แก่ หอยนางรมพันธุ์เล็ก หอยอีรมหรือเรียกอีกชื่อว่า หอยอีเจาะ เฉพาะที่ได้ทำการวิเคราะห์แล้ว เป็นชนิด *Crassostrea vitrefacta* และ *Crassostrea commercialis* เป็นหอยนางรมพันธุ์ใหญ่รู้จักกันในชื่อหอยตะเภาหรือหอยนางรม บางท้องที่ทางจังหวัดภาคใต้เรียกชื่อสัตว์น้ำชนิดนี้ว่า ตีดำ หรือ ตีแก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crassostrea lugubris* (ปราณิสสา เชื้อโพธิ์หัก, 2533)

### 2.2.3 วัตถุดิบในอาหารที่ใช้ในซอสหอยนางรม

วัตถุดิบอาหารเป็นส่วนประกอบที่ทำให้อาหารมีลักษณะต่างๆเป็นไปตามต้องการ สามารถแบ่งประเภทตามจุดประสงค์ของการเติมวัตถุดิบดังนี้ คือ

#### 2.2.3.1 วัตถุดิบอาหารที่ช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส

ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทซอสและน้ำจิ้ม นั้น ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ได้มาตรฐานส่วนใหญ่ควรจะข้นและหนืด ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ การที่จะให้ผลิตภัณฑ์มีความข้นและหนืดสม่ำเสมอใกล้เคียงกันทุกรุ่นที่ผลิตนั้น การใช้วัตถุดิบอาหารเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ วัตถุดิบอาหารที่มีการใช้เพื่อช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ให้ข้นและหนืดที่สำคัญ ได้แก่ แป้ง (starch) ชนิดต่างๆ เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวฟ่าง และ โมดิไฟด์สตาร์ช เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับชนิดต่างๆ ทั้งชนิดที่เป็นกัมจากธรรมชาติและกัมสังเคราะห์ (ปราณิสสา เชื้อโพธิ์หัก, 2533)

แป้ง แป้งมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อนำแป้งไปทำให้ร้อน เม็ดแป้งจะค่อยๆดูดน้ำจนพองทำให้มีความข้นหนืดมากขึ้น แต่ถ้ายังให้ความร้อนต่อไป เม็ดแป้งจะดูดน้ำต่อไปเรื่อยๆจนในที่สุดเม็ดแป้งจะแตก ทำให้ความหนืดลดลง แต่ถ้าตั้งทิ้งไว้ให้เย็นความหนืดจะกลับคืนมา ส่วนประกอบของแป้งจะแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดพืช สายพันธุ์ อายุ และสภาพดินฟ้าอากาศ ส่วนประกอบของแป้งที่ได้จากส่วนของ หัว ราก และลำต้น จะแตกต่างกันออกไปจากแป้งที่ผลิตจากเมล็ดธัญพืชและถั่ว อย่างไรก็ตามปริมาณแป้งของวัสดุ

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้เพื่อการพาณิชย์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์ทางเคมี พบว่าประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด และอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ส่วนประกอบของแป้งยังประกอบด้วย น้ำตาล กลีโกลิ แร่ กรดอินทรีย์ เป็นต้น จากส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของวัตถุดิบเหล่านี้ ทำให้มีผลต่อคุณสมบัติของแป้งที่จะนำไปใช้ทำผลิตภัณฑ์จากแป้งด้วย

#### ประเภทของแป้ง

แป้งข้าวโพด จัดเป็นแป้งที่มีความนิยมนำใช้กันมากที่สุดในบรรดาแป้งทั้งหมด เมื่อนำแป้งไปให้ความร้อนหนืดจะค่อยๆเพิ่มขึ้น และเมื่อตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจะใสของเหลวที่มีสีขุ่นและเกิดเป็นเจลในที่สุด การป้องกันไม่ให้เกิดเจลนั้นทำได้โดยการคนต่อไปเรื่อย ๆ หลังการให้ความร้อนแล้ว

แป้งสาลี มีนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนี้บ้างเหมือนกัน แต่มีความนิยมน้อยกว่า

แป้งมันสำปะหลัง เป็นแป้งอีกชนิดหนึ่งที่มีความนิยมนำใช้กันอย่างแพร่หลาย ให้ความหนืดดี แต่เกิดเจลน้อยกว่าและมีราคาถูกกว่าด้วย

แป้งมันฝรั่ง เป็นแป้งที่ให้ความหนืดดีมากและไม่เกิดเจล

แป้งข้าวเจ้า ให้ความหนืดได้ดีรองจากแป้งข้าวโพดแต่ดีกว่าแป้งสาลี อุณหภูมิในการเกิด gelatinization จะสูงกว่า และเกิดเจลในระหว่างการตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แต่มีข้อดีคือสามารถคงตัวได้ดีในสภาวะที่มีกรดน้ำส้มสายชูปนอยู่ด้วย

แป้งข้าวฟ่าง เป็นแป้งที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับแป้งข้าวเจ้า แต่มีปัญหาเรื่องสีของแป้งเพียงเล็กน้อยเนื่องจากสีจะไม่ขาวเหมือนแป้งข้าวเจ้า จึงต้องเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องกังวลเกี่ยวกับเรื่องของสี

โมดิไฟด์สตาร์ช เป็นแป้งที่นิยมนำใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทซอสมากที่สุด และมีหลายชนิด ทั้งชนิดที่มีการดัดแปลงโดยวิธีการทางกายภาพและวิธีทางเคมีทำให้สามารถเลือกใช้โมดิไฟด์สตาร์ชที่เหมาะสมได้ ตัวอย่างโมดิไฟด์สตาร์ชที่นิยมนำใช้กันมากคือ ชนิดที่ทำจากแป้งข้าวโพดและข้าวเหนียวซึ่งนิยมนำใช้ในซอสชนิดต่างๆ เนื่องจากให้ความหนืดอย่างมีนัยสำคัญและไม่ทำให้เกิดเจล จึงเหมาะสมที่จะใช้ในซอสที่มีความข้นมากๆ (ปราณิตา เชื้อโพธิ์หัก, 2533)

#### 2.2.3.2 วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้เป็นวัตถุกันเสีย (preservatives)

วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้เพื่อกันเสีย หรือเรียกว่า วัตถุกันเสีย ใช้สำหรับป้องกันการเน่าเสียของอาหารเนื่องมาจากจุลินทรีย์ โดยที่ผลิตภัณฑ์อาหารมีสารอาหารจำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ หลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างกรรมวิธีการผลิต เช่น น้ำ โปรตีน ไขมัน ซึ่งในสมัยก่อนได้มีวิธีการกันเสียอาหารบางชนิดด้วยการทำให้แห้งบ้าง การหมักดองด้วยเกลือหรือน้ำส้มบ้าง แม้อาหารบางชนิดจะมีวิธีการกันเสียที่ทันสมัยขึ้น เช่น การทำเป็นอาหารกระป๋อง การแช่แข็งแต่ยังมีความต้องการใช้วัตถุกันเสียเพื่อช่วยลดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ยังอาจมีชีวิตรอดอยู่ใน

เอกสารผลิตภัณฑ์อาหารบางอย่างที่ผ่านกรรมวิธีกันเสียเหล่านั้นแล้ว โดยวัตถุกันเสียมีกลไกในการก้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขีดขบวนการดูดซึมอาหารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ กลไกทางพันธุกรรม และระบบการทำงานของเอ็นไซม์ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ วัตถุประสงค์ที่เริ่มรู้จักใช้กัน ได้แก่ เกลือโซเดียมไนเตรดที่ใช้ป้องกันการเจริญเติบโตของ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษและเป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคอย่างยิ่ง และยังมีสารเคมีอีกหลายชนิดที่กำหนดอนุญาตให้ใช้ด้วยปริมาณแตกต่างกันในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ดังนี้ (ปราณีศา เชื้อโพธิ์หัก, 2533)

กรดซอร์บิก (sorbic acid) ที่ให้ใช้เป็นวัตถุกันเสียด้วยปริมาณแตกต่างกันในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ตั้งแต่ 1000-2000 ส่วนในล้านส่วน

กรดเบนโซอิก (benzoic acid) เป็นสารธรรมชาติได้จากเปลือกไม้บางชนิด เช่น กระวาน ญวน พะยอม ชา เซอร์ ราสเบอร์รี่ ให้ใช้เป็นวัตถุกันเสียด้วย ปริมาณไม่เกิน 1,000 ส่วนในล้านส่วนในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

กรดโพรปิโอนิก (propionic acid) พบตามธรรมชาติในผลไม้และพืชบางชนิด เช่น แอปเปิ้ล สดอเบอร์รี่ แคลเซียมโพรปิโอเนต (calcium propionate) โซเดียมโพรปิโอเนต (sodium propionate) ให้ใช้เป็นวัตถุกันเสียด้วยปริมาณที่แตกต่างกันตั้งแต่ 1000-3000 ส่วนในล้านส่วน

ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) เป็นแก๊สที่เกิดจากการเผาแร่ธาตุกำมะถัน ให้ใช้เป็นวัตถุกันเสียด้วยปริมาณที่แตกต่างกันในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ตั้งแต่ 40-2000 ส่วนในล้านส่วน

โซเดียมซอร์เบต (sodium sorbate) ใช้เป็นวัตถุกันเสียและป้องกันเชื้อราคล้ายแคลเซียมซอร์เบตด้วยปริมาณที่แตกต่างกันในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ตั้งแต่ 500-2000 ส่วนในล้านส่วน

โซเดียมซัลไฟต์ (sodium sulfite) ใช้เป็นวัตถุกันเสียเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ตั้งแต่ 30-100 ส่วนในล้านส่วน

โซเดียมไนเตรด (sodium nitrate) โพแทสเซียมไนเตรด (potassium nitrate) หรือเรียกว่า saltpeter หรือ niter สารทั้ง 2 อย่างมักใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในการช่วยให้เนื้อมีสีแดงสด โดยให้ใช้ด้วยปริมาณ 500 ส่วนในล้านส่วน คำนวณเป็นโซเดียมไนเตรด

โซเดียมไนไตรต์ (sodium nitrite) ช่วยยับยั้งการเจริญของสปอร์ของ *Clostridium botulinum* โพแทสเซียมไนเตรด (potassium nitrate) สารทั้ง 2 อย่างมักใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ เพราะช่วยทำให้เนื้อมีสีแดงสด โดยให้ใช้ตั้งแต่ 50-125 ส่วนในล้านส่วน

โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) โพแทสเซียมเบนโซเอต (potassium benzoate) ให้ใช้ด้วยปริมาณ 1,000 ส่วนในล้านส่วน ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

โซเดียมไบซัลไฟต์ (sodium bisulfite) โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (sodium metabisulfite) ให้ใช้เป็นวัตถุกันเสียเช่นเดียวกับการใช้โซเดียมซัลไฟต์ โดยให้ใช้ได้ 30-150 ส่วนในล้านส่วน

ไนอะซิน (niacin) เป็นส่วนประกอบของวิตามินบีรวม ใช้ได้ไม่เกิน 100 ส่วนในล้านส่วน

โพรพิลพาราเบน (propyl paraben) เมทิลพาราเบน (methyl paraben) เอทิลพาราเบน (ethyl paraben) ซึ่ง paraben หมายถึง p-hydroxybenzoate ใช้ได้ไม่เกิน 1,000 ส่วนในล้านส่วน

โปแตสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate) ใช้ได้ในปริมาณแตกต่างกันในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่นเดียวกับโซเดียมเบนโซเอต แล้วยังใช้ได้ไม่เกิน 1,000 ส่วนในล้านส่วน โดยใช้อย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับกรดซอร์บิกหรือสารอื่นตามที่ได้กำหนดให้ใช้ได้ ในแยมและเชลลีสี่ด้วย

โปแตสเซียมซัลไฟต์ (potassium sulfite) ซึ่งนอกจากจะใช้กันเสียแล้วยังสามารถกันหืนและป้องกันการเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีน้ำตาล โดยให้ใช้ได้ 30-100 ส่วนในล้านส่วน

เฮกซะเมทิลีนเตตระมีน (hexamethylene tetramine) ให้ใช้ได้ไม่เกิน 600 ส่วนในล้านส่วนของของเหลวที่ใช้ในการผลิตโพรโวโลนชีส (provolone cheese)

ซีอิ๊วขาว เป็นอาหารที่ชาวจีนคิดค้นผลิตขึ้นเป็นเวลานานกว่า 3 พันปีมาแล้ว ซีอิ๊วจัดเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร (flavoring agent) ซึ่งได้จากการหมักถั่วเหลือง แต่เดิมการหมักซีอิ๊วจัดเป็นศิลปะและเป็นความลับสำหรับแต่ละครอบครัวที่จะถ่ายทอดเฉพาะ ลูกหลานเท่านั้นต่อมาในระยะหลังได้มีการศึกษาถึงกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี รวมทั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เกี่ยวข้องกับการหมัก จึงทำให้มีการปรับปรุงกระบวนการหมัก จนสามารถผลิตซีอิ๊วได้ในระดับอุตสาหกรรมตั้งในปัจจุบัน

ผงชูรส เป็นวัตถุปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในกลุ่มแม่บ้านและนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายมากกว่า 20 ปี ปัจจุบันยังคงใช้กันอยู่มากทั้งในบ้านเรือน ร้านอาหารและภัตตาคาร ทั้งนี้ เพราะผงชูรสเป็นสิ่งที่ทำให้รสชาติของอาหารดีขึ้น

สำหรับด้านความปลอดภัยของผงชูรสนั้นคณะกรรมการอาหารขององค์การอนามัยโลกได้แนะนำว่าคนทั่วไป สามารถรับประทานผงชูรสได้ตั้งแต่ 0-120 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อวัน ถ้าสมมุติว่าเรามีน้ำหนัก 50 กิโลกรัมก็สามารถรับประทานผงชูรสได้ 6 กรัมต่อวัน โดยไม่เกิดอันตรายต่อร่างกายแต่อย่างใด

ผงชูรสโดยทั่วไปมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า โมโนโซเดียม แอล-กลูตาเมต (monosodium L-glutamate) ชื่อย่อ MSG เป็นเกลือของกรดกลูตามิก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งและเป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีนนั่นเอง กรดกลูตามิก มีอยู่ในหลายรูปแบบและโดยทั่วไปเรียกรวมกันว่า กลุ่มกลูตา-เมต ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในอาหารเกือบทุกชนิดทั้งพืชและสัตว์ ในสัตว์ก็มีทั้งในเนื้อ ไก่ และหมู น้านมโค และน้านมคนด้วย กลูตาเมตนี้ร่างกายของมนุษย์ยังสามารถสร้างขึ้นมาเองได้ในเนื้อเยื่อ ของกล้ามเนื้อของสมอง และในเนื้อเยื่อของอวัยวะอื่น

## 2.3 อุตสาหกรรมซอสหอยและกรรมวิธีในการผลิต

### 2.3.1 อุตสาหกรรมซอสหอย

ซอสหอยเป็นเครื่องปรุงรสชนิดหนึ่งที่มีความนิยมนิยมจากผู้บริโภคมาก และมีราคาค่อนข้างแพง บริษัทผู้ผลิตในประเทศไทยบางบริษัท สั่งหัวเขื่อน้ำมันหอยจากต่างประเทศเข้ามา แล้วนำมาทำให้เจือจางก่อนบรรจุขวดออกจำหน่าย ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าของซอสหอย ส่วนใหญ่จะนำเข้าจากฮ่องกงและญี่ปุ่น ปัจจุบันสามารถผลิตซอสหอยได้ภายในประเทศ และส่วนหนึ่งยังสามารถส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ประเทศที่รับซื้อมากที่สุด คือ ซาอุดีอาระเบีย รองลงมาคือ มาเลเซียและสหรัฐอเมริกา นอกจากนี้ยังมีประเทศอื่นๆอีก เช่น บาร์เรน คูเวต สวิตเซอร์แลนด์ แคนาดา จอร์แดน โอมาน และเยอรมัน เป็นต้น

### 2.3.2 กรรมวิธีการผลิตซอสหอย

การผลิตซอสหอยโดยทั่วไป เริ่มจากการผลิตน้ำหอยสกัดโดยการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอย แล้วนำน้ำหอยสกัดมาปรุงแต่ง กลิ่น สี รสชาติ ให้เป็นซอสหอย การย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อหอยมีด้วยกัน 3 วิธี คือ

#### 2.3.2.1 การสกัดเนื้อหอยด้วยการต้ม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ (2519) ได้ทดลองผลิตซอสหอยโดยมีส่วนผสมและการทำซอส

หอยดังนี้

	ร้อยละ โดยน้ำหนัก
หอยนางรมสกัด	13.00
ซีอิ๊วขาว	67.00
น้ำตาลทราย	9.00
แป้งมันหรือแป้งข้าวโพด	3.60
เกลือ	3.00
โซเดียมซัคซิเนต	1.03
กรดซัคซินิก	0.31
ผงชูรส	2.70
พริกไทย	0.06

หอยนางรมบดละเอียด



เติมน้ำ 1:10 โดยน้ำหนัก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย่อยสลายโปรตีนในหอยอุณหภูมิ 40-60 °C

2-5 ชั่วโมง

กรองด้วยผ้าขาวบาง

หอยนางรมสกัด

(ส่วนที่กรองได้)

เติมน้ำตาลทราย แป้ง

ให้ความร้อนจนแป้งสุก

เติมเกลือ ซีอิ๊วขาว โซเดียมซัคซิเนต  
กรดซัคซินิก ผงชูรส และพริกไทย

ต้มจนเดือด เคี้ยว 15 นาที ทำให้เย็น

เติมวัตถุดิบอื่นๆ บรรจุขวด

ซอสหอย

ภาพที่ 2.3.1 ขั้นตอนการผลิตซอสหอยด้วยวิธีใช้การสกัดเนื้อหอยด้วยการต้ม  
ที่มา : กรมวิทยาศาสตร์บริการ (2519)

วัตถุดิบเกลือคือ กรดเบนโซอิกหรือเกลือโซเดียมเบนโซเอต ถ้าต้องการให้ซอสหอยนั้นมีสี  
เข้มขึ้น ควรเติมน้ำตาลเคี้ยวใหม่ (caramel) เล็กน้อย หรืออาจเพิ่มปริมาณแป้งเพื่อให้ข้นตาม  
ต้องการ

แป้งที่จะใช้จะนำมาผสมน้ำ แล้วต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที เพื่อให้แป้งเกิด  
เจล ก่อนผสมกับหอยนางรมสกัด ส่วนผสมสุดท้ายจะมีเกลือประมาณ 13% การวิเคราะห์คุณภาพด้าน  
จุลินทรีย์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะต้องน้อยกว่า 1000 โคโลนี/กรัม และรากับยีสต์จะต้องไม่เกิด 10  
โคโลนี/กรัม ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมในอุตสาหกรรมโดยสรุปมีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอยนางรมสด(1ส่วน) + น้ำ(1ส่วน) ต้มเดือด 30 นาที  
ลดอุณหภูมิลงที่ 80 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง

กรอง

หอยนางรมสกัด

ปรับความเป็นกรดด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น

เติมส่วนผสม (ซอสปรุงรส น้ำตาลทราย เกลือ ผงชูรส แป้ง)

บรรจุขวดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ซอสหอยนางรม

ภาพที่ 2.3.2 ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมในอุตสาหกรรม

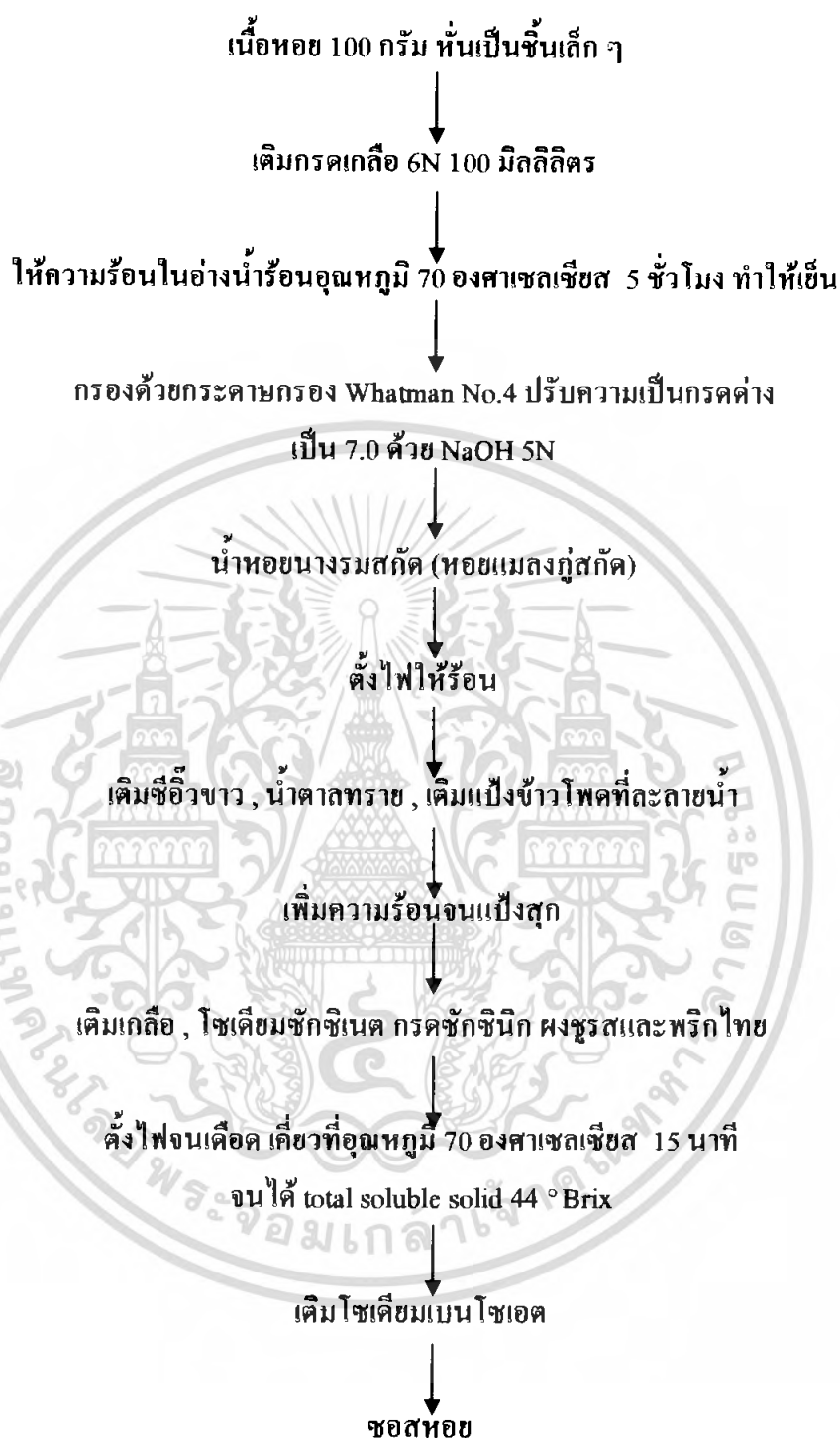
ที่มา : ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก (2533)

### 2.3.2.2 การย่อยสลายโปรตีนด้วยกรด

สิติมาและจิราพรรณ (2528) ทดลองผลิตซอสหอยจากหอยนางรมและหอยแมลงภู่มี่ ส่วนผสมและขั้นตอนการผลิตดังนี้

	ร้อยละโดยน้ำหนัก
หอยนางรมสกัด (หรือหอยแมลงภู่มี่สกัด)	40.00
ซีอิ๊วขาว	40.00
น้ำตาลทราย	9.00
แป้งข้าวโพด	3.60
เกลือ	3.00
โซเดียมซัคซิเนต	1.03
กรดซัคซินิก	0.31
ผงชูรส	2.70
พริกไทย	0.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3.3 ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมด้วยการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรด  
ที่มา : สติมาและจิราพรณ (2528)

### 2.3.2.3 การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์

เอนไซม์ที่นิยมใช้กันในอุตสาหกรรมอาหารส่วนใหญ่ ได้แก่ โบรมีเลน (EC 3.4.4.24)

และปาเปน ( EC 3.4.4.10 ) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายประเภทโปรตีน โบรมีเลนและปาเปนเป็นเอนไซม์ที่ปลอดภัยกว่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ที่ได้จากพืช สำหรับความคงตัวของเอนไซม์ที่อุณหภูมิสูง ป่าแปนมีความคงตัวสูงกว่า  
โบรมีเลน

การเตรียมซอสหอยจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ (ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก,  
2533) มีขั้นตอนการทำซอสหอยดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น 20 อนุญ กรัม นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้มให้เดือด



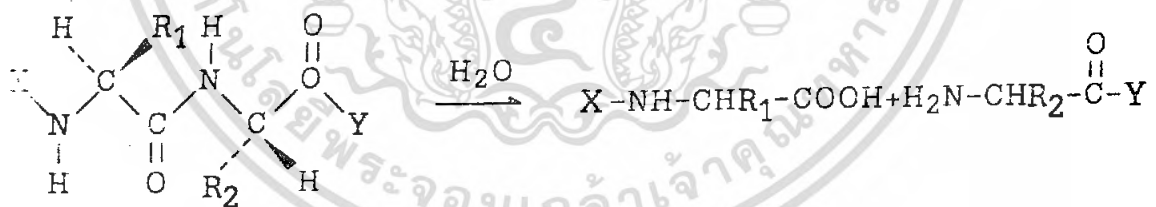
ซอสหอย

ภาพที่ 2.3.4 ขั้นตอนการผลิตซอสหอยนางรมด้วยการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์

ที่มา : ปรานีศา เชื้อโพธิ์หัก (2533)

## 2.4 เอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน พบในพืช สัตว์ จุลินทรีย์ ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกันทางด้านความจำเพาะต่อสับสเตรท กลไกการเร่งปฏิกิริยา ลักษณะของบริเวณเร่งปฏิกิริยา สารยับยั้ง และสารเร่งปฏิกิริยา ลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุล พิเอช และอุณหภูมิการทำงาน และน้ำหนักโมเลกุล เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการจัดแบ่งกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสไว้ด้วยกันหลายวิธี เช่น จัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะของแหล่งกำเนิด คือ จากพืช สัตว์ จุลินทรีย์ หรือจัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะของการย่อยสลายเปปไทด์ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ (ปรานี อ่านเปรื่อง, 2543) คือ การย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายของโพลีเปปไทด์ โปรติเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรติเนส เปปไทด์ไฮโดรเลส และเอนไซม์



โปรติไฮโดลิติกสลายพันธะเปปไทด์ด้วยน้ำ

ภาพที่ 2.4.1 ลักษณะปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส

ที่มา : ปรานี อ่านเปรื่อง (2547)

### 2.4.1 ลักษณะธรรมชาติของหมู่ X และ Y ( $\text{H}^+$ และ $\text{OH}^-$ )

โปรตีนทั่วไปจะมีหมู่ X เป็น  $\text{H}^+$  และ หมู่ Y เป็น  $\text{OH}^-$  แต่เมื่อโปรตีนนั้น ๆ มีหมู่ X และ หมู่ Y เปลี่ยนไป จะมีผลให้ความจำเพาะของเอนไซม์เปลี่ยนไป กล่าวคือ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อหมู่ X และ Y จะบ่งชี้ลักษณะการตัดสายยาวของโพลีเปปไทด์ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### เอนโดเปปติเดส (endopeptidases)

เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระ (randomly) ภายในสายโพรตีนทั้งนี้ ต้องให้จำเพาะตรงต่อ  $R_1$  และ  $R_2$  ด้วย จึงจะตัดพันธะเปปไทด์ได้ ถ้า  $R_1$  และ  $R_2$  ไม่สอดคล้องกับความจำเพาะของเอนไซม์นั้น การตัดพันธะเปปไทด์ก็ไม่เกิดขึ้น และจะให้แอกทิวิตีสูงสุด ถ้า X และ Y เป็นหมู่อนุพันธ์ ไม่ใช่  $H^+$ ,  $OH^-$  กล่าวคือ X อาจเป็น acyl group (acetyl, benzoyl, benzyloxycarbonyl เป็นต้น) และ Y เป็น amide หรือ ester group หรือ amino acid residues

### เอกโซเปปติเดส (exopeptidases)

เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายของโพรตีน จะเป็นปลายด้านไหน ก็ต้องสอดคล้องต่อความจำเพาะของเอนไซม์ต่อ  $R_1$  หรือ  $R_2$  กล่าวคือ

ถ้าจำเพาะต่อ  $R_1$ ,  $X = H^+$ ,  $Y =$  อะไรก็ได้ เรียก N-terminal splitting

ถ้าจำเพาะต่อ  $R_2$ ,  $X =$  อะไรก็ได้,  $Y = OH^-$  เรียก C-terminal splitting

## 2.4.2 ประเภทของเอนไซม์โปรติเอส

แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ตามกลไกการทำงาน

2.4.2.1 โปรติเอสเซรีน (serine proteases, alkali protease, pH 6.7 – 9) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่

- ตระกูลไคโมทริปซิน (chymotrypsin family) ( $\alpha$ -chymotrypsins)
- ไคโมทริปซิน บี (EC. 3.4.21.1) และซี (EC. 3.4.21.2)
- ทริปซิน (EC. 3.4.21.4)
- อีลาสเทส (elastase) (pancreatoelastase, EC. 3.4.21.36)
- ทروมบิน (thrombin) (EC. 3.4.21.5)
- ซับทิลโลซิน (subtilisin หรือ subtilopeptidase A, EC. 3.4.21.14)
- แอลฟา-ไลติกโปรติเอส ( $\alpha$ -lytic protease จาก *Sorangium* sp.)

2.4.2.2 โปรติเอสซัลไฟดริล (sulfhydryl proteases) หรือโปรติเอสไทออล (thiol proteases) หรือ โปรติเอสซิสเทอีน (cysteine proteases)

เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโพรตีน และจะถูกยับยั้งโดยสารที่เรียกว่า sulfhydryl reagents หรือ sulfhydryl group (-SH) หรือกลุ่มไทออล (-SH) ทำให้หมู่อนุมูลซัลไฟดริลที่บริเวณเร่งได้รับความกระทบกระเทือนอาจสูญเสียแอกทิวิตีไปในที่สุดจึงเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า sulfhydryl proteases เอนไซม์ที่อยู่กลุ่มนี้เป็นเอนไซม์ที่ได้จากพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์บางชนิดดังนี้

ปาเปน (EC 3.4.22.2) จากมะละกอ (papaya)

ไฟซิน (EC 3.4.22.3) จากมะเดื่อ (fig)

โบรมิเลน (EC 3.4.22. 4) จากสับปะรด

เปปติเดสเตรปโตคอคคัส (streptococcus peptidase A, EC 3.4.22.10)

เอนไซม์ ทั้ง 4 ชนิด แตกต่างกันตามลำดับของกรดอะมิโน (amino acid sequence) รอบ ๆ อนุภาคกรดอะมิโนจำเป็น (cys และ his) ในบริเวณเร่ง

#### 2.4.2.3 โปรติเอสมีโลหะ (metal-containing proteases)

หมายถึง โปรติเอสที่มีไอออนและโลหะรวมในโมเลกุลเอนไซม์ หรือร่วมในปฏิกิริยาการย่อยสลาย กล่าวคือ อยู่ในลักษณะของโคแฟกเตอร์ ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้คือ

Carboxypeptidases A (peptidyl-L-amino acid hydrolase, EC 3.4.17.1)

Carboxypeptidases B (peptidyl-L-lysine hydrolase, EC 3.4.17.2) เป็น Exopeptidase ตัดสายด้านปลายหมู่คาร์บอกซิลต้องการ ไอออนของโลหะ คือ  $Zn^{+2}$

Glycyl-glycine dipeptidase (dipeptide hydrolase, EC 3.4.13.11) เป็นเอนไซม์จากกล้ามเนื้อของหนู (rat muscle) ต้องการ  $Zn^{+2}$

Carnosinase (amino-acyl-L-histidine hydrolase, EC 3.4.13.3) ย่อยสลายซึบสเตรดพวก  $\beta$ -alanyl-L-histidine เป็นพวก dipeptidase ต้องการ  $Zn^{+2}$

Cytosol aminopeptidase ( $\alpha$ -aminoacyl-peptide hydrolase, EC 3.4.11.1) ต้องการ  $Zn^{+2}$  เป็นพวก amino-acyl-peptide hydrolase (N-terminal)

Prolidase (amino-acyl-L-proline hydrolase, EC 3.4.13.9) เป็น dipeptidase ซึ่งไฮโดรไลซ์ dipeptides ซึ่งมี proline หรือ hydroxyproline ต้องการ  $Mn^{+2}$  ได้ผลผลิตที่มีอนุภาคของปลายหมู่คาร์บอกซิล

Iminodipeptidase (L-prolyl-amino acid hydrolase, EC 3.4.13.8-9) เป็น dipeptidase ซึ่งไฮโดรไลซ์ dipeptides ซึ่งมี praline หรือ hydroxyproline ต้องการ  $Mn^{+2}$  เหมือน Prolidase แต่มีความจำเพาะต่างกัน ผลผลิตที่ได้เป็นอนุภาคของปลายอะมิโน

2.4.2.4 โปรติเอสกรด (acid proteases) หรือโปรติเอสแอสปาติก (aspartic proteases) หรือ โปรติเอสคาร์บอกซิล (carboxyl proteases)

หมายถึง โปรติเอสที่มีช่วง pHการทำงานปฏิกิริยาการย่อยสลายอยู่ในช่วง pH ของกรด (pH < 7) โดยทั่วไป เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีช่วง pH เหมาะสม ระหว่าง pH 2-4 และไม่แสดงชัดเจนถึงอนุภาคกรดอะมิโนที่มีบทบาทในบริเวณเร่ง อย่างไรก็ตาม แต่จากการพิจารณาของ pH activity profile ของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ชี้ให้เห็นว่ามีหมู่คาร์บอกซิลมากกว่า 1 หมู่ จากอนุภาคกรดแอสปาติกอยู่ในบริเวณเร่ง ตัวอย่างเอนไซม์ได้แก่ เรนินและเปปซิน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์โปรติเอส

#### 2.4.3.1 ธรรมชาติของเอนไซม์โปรติเอส

ได้มีการประเมินประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตเชิงการค้า 20 ชนิด เพื่อย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อปลา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะที่เอนไซม์แต่ละชนิดมีกิจกรรมที่เหมาะสม พบว่าเอนไซม์โพเรนสมีประสิทธิภาพสูงสุด และเอนไซม์ในกลุ่ม neutral bacterial protease มีประสิทธิภาพดี ได้มีการศึกษาผลการละลายของโปรตีนปลาเข้มข้น โดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ โพเรนสและเปปซิน มีประสิทธิภาพในการละลายโปรตีนสูงสุด

#### 2.4.3.2 ชนิดของซับสเตอร์ท

ได้มีการศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลา *Rastrelliger canagurta* และ *Barbus carnaticus* ด้วยเอนไซม์ปาเปน ตรวจวัดปริมาณของแข็งและปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้พบว่าปริมาณของแข็งในเนื้อปลา *Rastrelliger canagurta* มีค่าน้อยกว่า *Barbus carnaticus* แต่ไม่มีความแตกต่างด้านปริมาณไนโตรเจน

#### 2.4.3.3 การเตรียมซับสเตอร์ท

สภาวะของซับสเตอร์ทก่อนการย่อยสลายมีผลต่อการละลายของโปรตีน ถ้าโปรตีนในมัดกล้ามเนื้อมีรูปร่างพับไป-พับมา (folded out) โครงสร้างมีความหนาแน่น เอนไซม์ย่อยได้ยากขึ้น ซับสเตอร์ทก่อนนำไปย่อยต้องมีรูปร่างโปรตีนเหมาะสมกับการแตกตัวของเอนไซม์ ได้มีการศึกษาการย่อยโปรตีนของปลาเฮอริงสด ปลาเฮอริงที่ผ่านการสกัดไขมัน โดยทำเป็น presscake และปลาเฮอริงที่ผ่านการสกัดไขมันด้วยเอทานอล โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส และปาเปน ย่อยสลายเป็นเวลา 60 นาที วัดค่าระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis, DH) พบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถย่อยโปรตีนจากเนื้อปลาเฮอริงสดได้ดีที่สุด

ความร้อนจะมีผลต่อการสูญเสียสภาพโปรตีน และการตกตะกอนโปรตีนซึ่งเกิดขึ้นกับโปรตีนซาโคพลาสมิก (sarcoplasmic protein) เป็นส่วนใหญ่ เกิดการต่อต้านการย่อยด้วยเอนไซม์ ผลผลิตจึงลดลง การเติมเอนไซม์ในปลาสดที่อุณหภูมิต่ำ แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึงสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายจะเป็นการป้องกันการสูญเสียสภาพโปรตีน

#### 2.4.3.4 พีเอช

การผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเสต เลือกใช้พีเอชที่เหมาะสมกับเอนไซม์ที่ใช้โดยทั่วไปจะใช้พีเอชเป็นกลางจนถึงด่าง ได้มีการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อปลา *Barbus carnaticus* โดยใช้เอนไซม์ปาเปนที่พีเอช 5 และ 7 พบว่าปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่พีเอช 7 มีค่าสูงกว่าที่พีเอช 5 เนื่องจากที่พีเอช 7 โปรตีนสามารถละลายน้ำได้ดีกว่า จึงทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้ง่าย และที่พีเอช 5 กล้ามเนื้อปลามีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใกล้เคียงกับจุดไอโซอิเล็กทริก (pI) จึงทำให้ความสามารถในการละลายน้อย ได้มีการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อกิจกรรมเอนไซม์ซาโมเอส (samoase) ในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อปลาปลาเก๋า พอลลอก ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 นาที พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มีค่าระหว่าง 6.5-8.0 และมีค่าสูงสุดที่พีเอช 7.7

#### 2.4.3.5 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เลือกใช้ในการย่อยสลายจะสัมพันธ์กับภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ทั่วไปนิยมใช้อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส ได้มีการศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้จากปลาพันธุ์ *Barbus carnaticus* โดยใช้เอนไซม์ปาเปน ย่อยโปรตีนจากเนื้อปลาที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่ต่างกันมีผลต่อความสามารถในการละลายไนโตรเจนไม่ต่างกัน และได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ซาโมเอส ย่อยโปรตีนปลาปลาเก๋า พอลลอก ความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 นาที พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

#### 2.4.3.6 ระยะเวลาการย่อยสลาย

ได้มีการศึกษาอัตราการย่อยสลายโดยวัดปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ เปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ภายหลังจากการย่อยสลายเนื้อปลา *Barbus carnaticus* ด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 1 2 4 6 8 24 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าอัตราการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีค่าสูงสุดระยะชั่วโมงแรกๆ เช่น 2-4 ชั่วโมงของการย่อยสลาย หลังจากนั้นอัตราการย่อยสลายจะคงที่หรือเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และได้ศึกษาระยะเวลาการย่อยสลายโปรตีนที่เป็นวัสดุเศษเหลือจากการแล่นเนื้อปลา *Parophrys retulus* ด้วยเอนไซม์เปปซิน เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าการย่อยสลายโปรตีนจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกจนถึงชั่วโมงที่ 4 จะมีค่าสูงสุด หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการย่อยสลาย

#### 2.4.3.7 ความเข้มข้นของซับสเตรท

ปริมาณโปรตีนส่วนที่ละลายได้จะลดลง เมื่อความเข้มข้นของปริมาณของแข็งในระบบเพิ่มขึ้น ซึ่งมีความสัมพันธ์กับผลที่เกิดจากการยับยั้งโดยตัวผลิตภัณฑ์เอง ดังนั้นปริมาณความเข้มข้นของซับสเตรทจึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลาย

#### 2.4.3.8 ความเข้มข้นของเอนไซม์

ได้มีการศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้น 0.1% และ 0.25% ในการย่อยสลายเนื้อปลา *Barbus carnaticus* ตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้เปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่าง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.25% จะมีค่าสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้น

0.1% และได้ศึกษาระดับการย่อยสลายปลาสดด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่พีเอช 6.0 อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มีค่าระหว่าง 6.5-8.0 และมีค่าสูงสุดที่พีเอช 7.7

ไม่วารณี่ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์เชื้อ โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันคือ 0.01% 0.03% 0.05% และ 0.075% พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น จะทำให้การละลายของโปรตีนในกรดไตรคลอโรอะซิติกเพิ่มมากขึ้น และศึกษาระดับการย่อยสลายเนื้อปลา *Oreochromis mossambicus* ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่พีเอช 8.0 โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน คือ 0.5% 1.0% 2.0% และ 3.0% พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

#### 2.4.3.9 ส่วนระหว่างเอนไซม์และซับสเตรท

ได้มีการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากปลาช่อน โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ปาเปนและนิวเทรส ที่อัตราส่วนของเอนไซม์และซับสเตรทต่างกัน ตรวจสอบวัดผลการย่อยสลายในรูป nitrogen recovery พบว่าอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อซับสเตรทที่มีค่าเหมาะสมอยู่ระหว่างร้อยละ 1-2

## 2.5 การเลือกใช้เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร

การใช้เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารมีปัจจัยหลายอย่าง แต่สิ่งแรกที่ต้องมีก่อน คือแนวทางที่แน่ชัดแล้วว่า จะได้ “ประโยชน์” จากเอนไซม์ ดังนั้นจะต้องมีงานวิจัยเปรียบเทียบข้อได้และข้อเสีย สำหรับอุตสาหกรรมอาหารเพื่อให้เข้าใจเป็นแนวทาง จึงเสนอปัจจัยในการเลือกเอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารว่าจะมีอะไรบ้าง คือ

### 2.5.1 ความจำเพาะ (specificity)

ความจำเพาะของเอนไซม์ คือการสร้างผลผลิตให้กับอุตสาหกรรม ดังนั้นต้องเลือกเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูงสุด หรืออีกนัยหนึ่งก็คือมีความ “คม” เหมือนมีดผ่าตัด (surgeon's knife) สามารถทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อย่างเดียว ตัวอย่างเช่น กลูโคสออกซิเดส ถือเป็นเอนไซม์แบบมีดผ่าตัด เพราะมีความจำเพาะต่อ บีตา-ดี-กลูโคสเท่านั้น ซับสเตรทเปลี่ยนแม้เล็กน้อยเอนไซม์ไม่ทำงานเลย

### 2.5.2 ระดับ pH

ระดับ pH ของปฏิกิริยาเอนไซม์กับสถานการณ์อุตสาหกรรมควบคุมได้ยากหรือไม่ กระทบต่อผลิตภัณฑ์อาหารหรือไม่ถ้าหากมีการเปลี่ยน pH ให้เหมาะกับปฏิกิริยา เช่น การใช้เพกทินสในการอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ซึ่งมี pH ระหว่าง 3-5 และถ้าเอนไซม์ที่ใช้ระดับ pH ต่างไปจากนี้รสชาติผลิตภัณฑ์จะต้องเปลี่ยนไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.3 ระดับอุณหภูมิ

ระดับอุณหภูมิต้องพิจารณาประสานกันถึง 4 ประเด็น คือ อัตราเร็วการเกิดผลผลิต (rate), การทำลายเอนไซม์โปรตีน, สุขลักษณะหรือการปนเปื้อน, ระยะเวลาทำปฏิกิริยา ดังนั้น 4 ปัจจัยนี้ต้องมีการตกลงหาจุดพอดี เพื่อใช้ตัดสินใจเลือกเอนไซม์ เพราะในระดับอุตสาหกรรม ต้องได้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณและคุณภาพคู่กัน

### 2.5.4 ตัวกระตุ้นหรือยับยั้ง (activators/inhibitors)

ในระดับอุตสาหกรรมซึ่งต้องการผลผลิตสูงและใช้เวลานั้นต้องเพิ่มระบบควบคุมปัจจัยเสริมนี้ให้มาก มิฉะนั้นผลผลิตจะไม่ได้ตามต้องการ ด้วยเหตุนี้จึงนิยมเลือกใช้เอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ที่ผ่านระบบการเสริมกระตุ้นมาแล้ว เพื่อทำให้ห่างต่อการควบคุมเมื่อเอนไซม์ทำงานต่อเนื่อง ในระยะที่มีซับสเตรคปริมาณมากหรืออยู่ในสภาวะที่เสี่ยงต่อการสูญเสียแอกทิวิตี

### 2.5.5 วิธีการวิเคราะห์ (analytical method)

การติดตามแอกทิวิตีของเอนไซม์ในระดับอุตสาหกรรมอาหารซึ่งส่วนใหญ่จะไม่มี การแยกเอนไซม์ออกจากระบบ ดังนั้นการวิเคราะห์แอกทิวิตีจะต้องทำได้รวดเร็วและไม่ซับซ้อน และถ้าเป็นระบบแบบวิเคราะห์แบบไร้สารเคมี (reagentless) เช่น การติดตามปริมาณน้ำตาลในการย่อยสลายด้วยอะไมเลสในอุตสาหกรรมแป้ง การติดตามปริมาณก๊าซ  $O_2$  จากแคทาเลส เป็นต้น ซึ่งวิธีการวิเคราะห์นี้ผู้ขายเอนไซม์ควรต้องมีให้ผู้ใช้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวิเคราะห์ต้องไม่ยุ่งยากและไม่ใช้สารเคมีราคาแพง มิฉะนั้นการใช้งานจะล่าช้าได้ และติดตามผลไม่ทันที่

### 2.5.6 การหามาได้ (availability)

ความพร้อมของเอนไซม์ หมายถึง ความสะดวกแก่ผู้ใช้ เพื่อให้เกิดผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอดภัย รวมทั้งเป็นเอนไซม์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอตลอดและเชื่อถือได้ ดังนั้นเมื่ออุตสาหกรรมอาหารนั้นต้อง การขยายปริมาณการผลิต ก็จะสามารถหาเอนไซม์นี้ได้โดยไม่ขาดแคลน หาซื้อได้ง่าย

### 2.5.7 มีข้อมูลทางเทคนิค (technical service and support)

เอนไซม์ก็เหมือนวัตถุปรุงแต่งอาหารหรือองค์ประกอบอาหารทั่วไป ต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ ปริมาณที่ใช้ คำแนะนำ รวมทั้งข้อมูลใหม่เกี่ยวกับการปฏิบัติทั้งในฐานะผู้ใช้เอนไซม์และ ผู้บริโภคอาหาร จากเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.8 ราคา (cost)

ราคาของเอนไซม์ซึ่งเป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมต้องรู้จักวิธีประเมิน เนื่องจากปริมาณการใช้เกี่ยวข้องกับซับซ้อนหรือวัตถุดิบทั้งชนิดและปริมาณ และฐานะของเอนไซม์เป็นแคทาลิสต์ ดังนั้นต้องพิจารณาราคาในแนวเปรียบเทียบต่อปฏิกิริยา (per unit of conversion) เปรียบเทียบต่อปริมาณร้อยละของผลผลิต (percentage of process cost) เป็นต้น

## 2.6 เอนไซม์โบรมีเลน

โบรมีเลน (bromelain) เป็นเอนไซม์จากพืชที่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยโมเลกุลของโปรตีนจัดอยู่ในกลุ่มซัลโฟไคริลโปรตีเอส และเป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) แม้จะยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่ชัดของเอนไซม์โปรตีเอสในพืช นักวิจัยได้ตั้งสมมติฐานว่า พืชสร้างโปรตีนโปรตีเอสมาเพื่อทำหน้าที่ป้องกันการทำลายจากหนอนและแมลง

เอนไซม์โบรมีเลนมีชื่อเรียกทั่วไปว่า โบรมีเลน หรือ stem bromelain และมีชื่อสมบูรณ์ (complete name) ว่า Ananas comosus (L.) Merr. var. cayenne, stem bromelain มีรหัสของ Enzyme Commission ตามหลังชื่อ คือ Bromelain (E.C.3.4.4.24)

เอนไซม์โบรมีเลนพบในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ เช่น ใบ ผล และลำต้นของพืชในวงศ์บรอมีเลียเซีย เอนไซม์นี้พบครั้งแรกในศตวรรษที่ 19 โดย Chittenden โดยพบในน้ำสกัดจากผลสับปะรด ต่อมาก็พบว่าเอนไซม์ในส่วนอื่นๆอีก เช่น ก้าน เปลือก แกน ใบที่ผล หน่อข้างลำต้น และลำต้น โดยเฉพาะในส่วนของลำต้น จะมีเอนไซม์อยู่ในปริมาณสูงสุด ปริมาณของเอนไซม์จะขึ้นกับความแก่อ่อนของสับปะรด ลำต้นสับปะรดแก่จะมีปริมาณเอนไซม์สูงกว่าลำต้นอ่อน และขึ้นกับตำแหน่ง กล่าวคือ เอนไซม์จะมีมากในส่วนที่เป็นแกนกลางมากกว่าส่วนนอกและเปลือกของลำต้น นอกจากนี้ลำต้นสับปะรดที่ได้รับน้ำอุดมสมบูรณ์มากกว่าจะมีเอนไซม์ปริมาณต่ำกว่าลำต้นที่อยู่ในแปลงที่แห้งแล้งกว่า (อรวิรินทร์ วงศ์มีเกียรติ, 2527) พบว่าลำต้นสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ปลูกในจังหวัดลำปาง จะมีปริมาณเอนไซม์น้อยกว่าที่ปลูกในจังหวัดชลบุรีและประจวบคีรีขันธ์

### 2.6.1 คุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของเอนไซม์โบรมีเลน

เอนไซม์โบรมีเลนที่สกัดได้จากลำต้นสับปะรด สามารถย่อยสารพวกเคซีน ฮีโมโกลบินได้เร็วมาก และสามารถย่อยสารตั้งต้น (substrate) พวกอนุพันธ์ของอาร์จินีน (arginine derivatives) ซึ่งเป็นสารตั้งคราะห์ เช่น benzoyl-L-arginine ethyl ester (BAEE) ได้ดี ขณะที่สามารถย่อย benzoyl-L-arginiamide (BAA) ได้ปานกลาง ซึ่งแตกต่างจากซัลโฟไคริลโปรตีเอสจากพืชอื่น คือปาเปนและพิซินที่สามารถย่อย BAEE และ BAA ได้ในอัตราเร็วเท่าๆกัน โบรมีเลนจะเข้าย่อยที่พันธะเชื่อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างอาร์จีนีน-อะลานีน และ อะลานีน-กลูตามิก จะไม่ย่อยพันธะเชื่อมระหว่างอาร์-จีนีน-อาร์-จีนีน และไลซีน-ไทโรซีน (Murachi, 1964)

โมเลกุลของเอนไซม์โบรมีเลนประกอบด้วยกรดอะมิโน 285 หน่วยและเฮกโซซามีน 4 โมเลกุล ด้าน C-terminal จะเป็นไกลซีน-ไกลซีน และ N-terminal เป็นวาเลีน โมเลกุลจะมีพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bridge) 5 ตำแหน่ง แต่มีกลุ่มซัลไฟดริล ซึ่งจำเป็นสำหรับการเร่งปฏิกิริยาเพียง 1 กลุ่มต่อโมเลกุลเท่านั้น กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเอนไซม์ ได้แก่ ไลซีน ฮีสติดีน อาร์จีนีน กรดแอสพาดิก ทรีโอนีน ซีรีน กรดกลูตามิก โปรลีน ไกลซีน วาเลีน อะลานีน เมทไธโอนีน ไอโซลูซีน ลูซีน ไทโรซีน และเฟนิลอะลานีน เป็นต้น โบรมีเลนจะมีเมทไธโอนีนเป็นองค์ประกอบ ขณะที่ปาเปนไม่มี (Murachi, 1964)

โบรมีเลนจัดเป็นเอนไซม์พวกลไกลโคโปรตีน (glycoprotein) โดยมีคาร์โบไฮเดรตเป็น prosthetic group โบรมีเลนบริสุทธิ์จะมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบอยู่ถึงร้อยละ 2.0 (Murachi, 1964) ได้มีการรายงานว่ามีคาร์โบไฮเดรตอยู่ร้อยละ 1.46 และพบว่าโบรมีเลนประกอบด้วย น้ำตาลแมนโนส ฟรุกโตส และไซโลส และเมื่อนำโบรมีเลนมาแยกด้วยไฟฟ้าจะพบว่ามี oligosaccharide 1 กลุ่มต่อเอนไซม์ 1 โมเลกุล โดยกลุ่มของ oligosaccharide จะประกอบด้วย กลูโคซามีน แมนโนส ไซโลส และฟรุกโตส ในอัตราส่วน 2:2:1:1 ตามลำดับ ได้มีการพบว่าเอนไซม์โบรมีเลนที่ไม่บริสุทธิ์จะมีเอนไซม์ acid phosphatase สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์อื่นๆปะปนอยู่ด้วย

คุณสมบัติทางกายภาพของโบรมีเลน คือ เป็น basic protein สามารถละลายน้ำได้ ไม่ละลายในแอลกอฮอล์และอะซีโตน มีน้ำหนักโมเลกุล 33,000 โดยประมาณ ขณะที่ปาเปนและฟิซินมีน้ำหนักโมเลกุล 21,000 และ 26,000 โดยประมาณ ตามลำดับ คุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆของโบรมีเลนจะเป็นดังนี้ คือ ค่า sedimentation constant 2.73 วินาที diffusion constant  $7.77 \times 10^{-7}$  ตารางเซนติเมตรต่อวินาที partial specific volume 0.743 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม ค่า intrinsic viscosity 0.039 เดซิลิตรต่อกรัม isoelectric point (pI) เท่ากับ 9.55 ขณะที่ปาเปนและฟิซินมีค่า pI เท่ากับ 8.75 และ 9.0 ตามลำดับ (Murachi, 1964) ซัลไฟดริลโปรตีนที่ขจัดตามชนิดต่างๆก็เป็นพวก basic protein มีขนาดโมเลกุลไม่แตกต่างกันมากนัก ทำให้มีคุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆใกล้เคียงกัน

## 2.6.2 สถานะการทำงานของเอนไซม์โบรมีเลน

pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โบรมีเลนจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารตั้งต้น เช่น ที่ pH 7.0 เมื่อเคซีนเป็นสารตั้งต้น และ pH 5.0 เมื่อเจลาตินเป็นสารตั้งต้น อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานคือ 63-65 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียสสามารถทำลายเอนไซม์โบรมีเลนได้ พบว่าสถานะที่เหมาะสมในการทำงานของโบรมีเลนเมื่อใช้เคซีนเป็นสารตั้งต้นคือที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pH 6.0-7.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์นี้มีความคงตัวที่ pH 3-5 อุณหภูมิ 20-50 องศาเซลเซียส โบรมีเลนเป็นเอนไซม์เช่นเดียวกับซัลไฟดริลโปรติเอสอื่นๆ ที่ต้องการสารกระตุ้นปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ เช่น ซิสเตอีน ไซยาไนด์ และ ethylene diaminetetraacetate (EDTA) โดยสารพวกนี้จะรีดิวซ์ให้กลุ่มซัลไฟดริลที่บริเวณเร่งเกิดหมู่ไทออลอิสระ (free thiol group) ทำให้เอนไซม์มีปฏิกิริยาการทำงานดีขึ้น นอกจากนี้ไซยาไนด์และ EDTA จะจับไอออนของโลหะที่จะเข้าขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ทำงานดีขึ้น

### 2.6.3 การนำเอนไซม์โบรมีเลนมาใช้ประโยชน์

โบรมีเลนเป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง อุตสาหกรรมสี เร่งการย่อยในกระบวนการหมักน้ำปลา ใช้ในการผลิตเบียร์เพื่อป้องกันความขุ่นจากตะกอนโปรตีน ใช้เพิ่มความยืดหยุ่นและปริมาณของขนมปัง ใช้ในการทำให้เนื้อนุ่ม ใช้เป็นส่วนประกอบในยาช่วยการย่อยอาหาร ยาถ่ายพยาธิ และยาแก้ไอเสบ

ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์ชนิดต่างๆ มาใช้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร พบว่ามีการใช้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสามารถใช้เอนไซม์ลดต้นทุนการผลิต และปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้น ได้นำเอนไซม์จากพืชมาย่อยโปรตีนจากเมล็ดพืชน้ำมัน เช่น แป้งถั่วลิสงสกัดไขมัน (defatted peanut flour) เอนไซม์ที่ใช้คือ สารละลายปาเปนเข้มข้นร้อยละ 0.5 ย่อยที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 10 นาที จะได้โปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) ร้อยละ 50 ของโปรตีนทั้งหมด และพบว่าทั้งปาเปนและโบรมีเลน จะทำให้โปรตีนในแป้งถั่วลิสงสกัดไขมันมีการละลายดีขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์จากพืชและจากจุลินทรีย์แล้ว ถึงแม้ว่าเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะเร่งปฏิกิริยาได้เร็วกว่าก็ตาม แต่จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิต ซึ่งอาจเป็นอันตรายได้ และยังมีเอนไซม์เปปติเดสปริมาณมาก จึงย่อยพวกโพลีเปปไทด์ได้กรดอะมิโนอิสระ ซึ่งอาจจะมีผลต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ได้

การใช้โบรมีเลนสกัดโปรตีนจากพวกกาก เมล็ดพืชน้ำมันหลังจากสกัดน้ำมันออกไปแล้ว ทำให้ประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้น โปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มาบ้างจะมีการกระจายตัวดี กากเมล็ดพืช เช่น กากเมล็ดฝ้าย เมื่อผ่านความร้อนมาแล้วถ้าไม่ใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัดโปรตีน จะได้โปรตีนเพียงร้อยละ 15 ของโปรตีนทั้งหมด ขณะที่เมื่อใช้ฟิซินจะทำให้ได้โปรตีนเพิ่มขึ้นถึง 2.5 เท่า และถ้าใช้ทริปซิน โปรตีนจะเพิ่มขึ้นถึง 5 เท่า

ได้มีการศึกษาการเพิ่มการดูดซึมน้ำของโปรตีนถั่วเหลืองโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน โดยเติมสารละลายโบรมีเลนในตะกอนโปรตีนถั่วเหลือง เมื่อทำให้แห้งเป็นโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทแล้วพบว่า การดูดซึมจะเพิ่มขึ้นถึง 2.5 เท่าของโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทที่ผลิตโดยไม่ใช้เอนไซม์

เอกสารโบรมีเลนสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้นำโบรมีเลนมาใช้เพื่อลดกลิ่นถั่ว (beany flavor) ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง เนื่องจากโปรตีนของถั่วเหลืองจะเชื่อมกับสารประกอบที่มีกลิ่นรส (flavor compound) เมื่อใช้โบรมีเลนย่อยโปรตีนออกมาจากสารพวกให้กลิ่นรสจะทำให้กลิ่นของถั่วลดลงได้ด้วย

มีการใช้โบรมีเลนช่วยในการปรับปรุงกลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ โดยเติมโบรมีเลนลงในก้อนเต้าหู้เมื่อหมักไว้ 60 วัน พบว่าก้อนเต้าหู้ยี้ที่เติมโบรมีเลนมีกรดอะมิโนต่างๆ เช่น กลูตามิก ลูซีน ไอโซลิวซีน และเฟนิลอะลานีน สูงมาก จึงทำให้กลิ่นรสของเต้าหู้ยี้ดีขึ้น

มีการใช้เอนไซม์จากพืชคือ ปาเปน โบรมีเลน ในการย่อยผลิตภัณฑ์ปลาหมัก เช่น น้ำปลา ปลาร้า หรือพวกกุ้งหมัก (กะปิ) การหมักปลาตามธรรมชาติ ต้องใช้เกลือความเข้มข้นสูง เพื่อป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ และการหมักก็ต้องใช้เวลาพอสมควร ดังนั้นถ้าต้องการหมักในเวลาอันสั้น จึงเร่งการหมักได้โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีน เช่น โบรมีเลนลงไป ก็จะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสดี และหมักในเวลาสั้นได้

นอกจากนี้โบรมีเลนก็สามารถใช้ในการทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderization) ซึ่งการใช้เอนไซม์เพื่อทำให้เนื้อนุ่มนี้มีมานานแล้ว ในระดับครัวเรือนจะใช้วิธีง่ายๆ โดยการเติมน้ำส้มป่อยลงไปเนื้อหมักโดยตรง หรือการใช้ยางมะละกอซึ่งจัดเป็นปาเปนไม่บริสุทธิ์ (crude papain) เติมในเนื้อหมัก ก็จะทำให้เนื้อนุ่มขึ้น ความนุ่มของเนื้อขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเก่า ลักษณะของเส้นใยของเนื้อ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ซึ่งจะประกอบด้วยส่วนของคอลลาเจน (collagen) และอีลาสติน (elastin) เอนไซม์ที่ใช้ทำให้เนื้อนุ่ม อาจใช้พวกเอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์ ปาเปน ฟิซิน หรือโบรมีเลนก็ได้ แต่เอนไซม์จากจุลินทรีย์ จะย่อยส่วนที่เป็นกล้ามเนื้อ (muscle fiber) ดีกว่าพวกเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำให้การใ้เนื้อนุ่มไม่ค่อยได้ผล เพราะเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่อ่อนตัว การใช้ปาเปนก็อาจทำให้เนื้อนุ่มขึ้นได้ เนื้อสัมผัสไม่ดี เนื่องจากปาเปนย่อยทั้งกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และทนความร้อนสูงถึง 60-85 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิอบเนื้อ ดังนั้นขณะอบเนื้อ ปาเปนก็ยังย่อยเนื้อได้ ทำให้เนื้อยุ่ยเกินไป ส่วนโบรมีเลนนั้นมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 27-60 องศาเซลเซียส เมื่ออบเนื้อ โบรมีเลนก็จะหยุดทำงาน และโบรมีเลนมีความสามารถย่อยกล้ามเนื้อได้น้อย แต่ย่อยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ดี จึงเหมาะสมในการทำให้เนื้อนุ่ม ดังนั้นในผงที่ทำให้เนื้อนุ่มที่จำหน่ายโดยทั่วไป จึงมีโบรมีเลนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ (ปราณิสา เชื้อโพธิ์หัก, 2533)

## 2.7 ผงทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderizers)

การใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน เพื่อทำให้เนื้อนุ่มมีมานานแล้ว เอนไซม์ที่ใช้มากที่สุด คือปาเปน จากมะละกอ นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ไฟซิน จากผลมะเดื่อ เอนไซม์โบรมีเลน จากสับปะรด ตรีปซิน จากตับอ่อนของสัตว์ และโรโซรมี จากเชื้อรา เอนไซม์เหล่านี้ใช้ในทางการค้า สำหรับวิธีการใช้อาจ

ไอโซนไจม์เพียงตัวเดียว หรือใช้สารผสมของไอโซนไจม์ก็ได้ หรืออาจฉีดไอโซนไจม์ที่ข่อยโปรตีนเข้าไปในเนื้อวัวก่อนจะฆ่า ก็สามารถเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้

ไอโซนไจม์แต่ละชนิดมีปฏิริยาไม่เหมือนกัน ตัวอย่างเช่น โบรมีเลนข่อยคอลลาเจนได้มาก ปาเปนข่อยเอกโตไมโอซินและอีลาสตินได้มาก แต่ข่อยคอลลาเจนได้น้อย ส่วนไฟซินข่อยโปรตีนทุกชนิดได้

ไอโซนไจม์จะทำงานได้ผลเพียงไร ขึ้นกับวิธีการใช้ด้วย เช่น ปาเปนสามารถซึมเข้าไปในชิ้นเนื้อได้เพียง 0.5-2 มิลลิเมตร ดังนั้น ถ้าจะต้องให้ได้ผลดี จะต้องใช้ส้อมจิ้มเนื้อให้เป็นรูเล็กก่อนที่จะคลุกกับไอโซนไจม์ จากการศึกษาคพบว่าไอโซนไจม์มีประสิทธิภาพมากที่สุด ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส คือ อุณหภูมิขณะหุงต้มนั่นเอง ดังนั้น การหมักเนื้อกับไอโซนไจม์ทิ้งไว้สักพักหนึ่งที่อุณหภูมิธรรมดา จะมีผลเท่ากับการคลุกเนื้อกับไอโซนไจม์แล้วหุงต้มทันที

## 2.8 นิวเทรส (neutrase)

นิวเทรส (neutrase) เป็นไอโซนไจม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียโดยการหมักแบบ submerge สายพันธุ์ที่ถูกเลือก คือ *Bacillus amyloliquefaciens* เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท โนวาไอโซม (Novozymes)

นิวเทรสเป็นไอโซนไจม์ประเภทเอนโคโปรติเอส ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกใช้ในการที่จะข่อยสลายโปรตีนหรือข่อยสลายพันธะเปปไทด์ นิวเทรสเป็นเมทัลโลโปรติเอส (metallo protease) ที่มีสังกะสี (Zn) เป็นโคแฟกเตอร์ ซึ่งถูกทำให้คงตัวด้วย  $Ca^{2+}$  และถูกยับยั้งด้วย EDTA

### 2.8.1 ชนิดของไอโซนไจมนิวเทรส

นิวเทรส 0.8 L เป็นของเหลวสีน้ำตาล นิวเทรส 1.5 MG เป็นอนุภาคขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อน มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 300 ไมครอน สีอาจแตกต่างกันไปและประสิทธิภาพการทำงานของไอโซนไจมนิวเทรสไม่ได้ขึ้นอยู่กับสี

### 2.8.2 กิจกรรมการทำงานของไอโซนไจมนิวเทรส (activity)

หน่วยมาตรฐานของนิวเทรส คือ Anson Units per gram (AU/g)

นิวเทรส 0.8 L 0.8 AU/g

นิวเทรส 1.5 MG 1.5 AU/g

ข้อมูลเพิ่มเติมดูที่วิธีการวิเคราะห์ซึ่งเป็นพื้นฐานของ ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ที่ถูกทำให้เสียสภาพในสารละลายบัฟเฟอร์  $Ca^{2+}$  0.02 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.8.3 การประยุกต์ใช้

นิเวทสดถูกใช้ยกระดับโปรตีนในผักและเครื่องในสัตว์

### 2.8.4 ปัจจัยของปฏิกิริยา

สภาพการทำงานที่เหมาะสมของนิเวทสดอยู่ที่ 45-55 องศาเซลเซียส (113-131 องศาฟาเรนไฮต์) และที่ pH 5.5-7.5 ความคงตัวของนิเวทที่อุณหภูมิแน่นอน คือ ถูกได้รับอิทธิพลจากชนิดและความเข้มข้นของโปรตีน

### 2.8.5 การหยุดปฏิกิริยา

นิเวท ถูกยับยั้งปฏิกิริยาด้วยความร้อน เช่น 2 นาทีที่ 85 องศาเซลเซียส (185 องศาฟาเรนไฮต์) อย่างไรก็ตามการยับยั้งปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับสารตั้งต้น (ความเข้มข้นของสารตั้งต้น, pH)

### 2.8.6 การเก็บรักษา

เก็บนิเวทที่สภาวะ 0-10 องศาเซลเซียส (32-50 องศาฟาเรนไฮต์)

## 2.9 อัลคาเลส (alcalase)

อัลคาเลส (alcalase) จัดเป็นเอนไซม์โปรติเอสชนิดซีรีน โปรติเอส (serine protease) จากแบคทีเรีย (bacterial serine protease) ผลิตจาก *Bacillus licheniformis* เป็นโปรติเอสที่มีการผลิตมากที่สุดเพื่อใช้ในผงซักฟอก นอกจากนั้นชนิดที่เป็น food grade ยังใช้ทำ soluble protein hydrolysate จากโปรตีนแหล่งต่างๆ เช่น โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนปลา โปรตีนเมล็ดเลือดแดงจากโรงงานฆ่าสัตว์

การย่อยแบบจำกัด (limited hydrolysis) ของเอนไซม์อัลคาเลสทำให้คุณสมบัติการเป็น emulsifier และ foaming agent ของโปรตีนจากถั่วเหลืองดีขึ้น โดยเอนไซม์นี้มีความจำเพาะกับพันธะเพปไทด์ที่มีหมู่ acyl (R) ทางด้าน carbonyl side เป็นพวก hydrophobic side chain เอนไซม์อัลคาเลสมีสภาวะที่เหมาะสมที่ ค่าพีเอชเท่ากับ 8-9 ช่วงอุณหภูมิที่ 55-60 องศาเซลเซียส โดยที่ค่าพีเอชเกือบ 4 จะเสียแอกติวิตีหมด เนื่องจากเกิดการคลายตัว (unfolding) และการย่อยตัวเอง (autodigestion) อย่างรวดเร็ว

## 2.10 การย่อยสลายตัวเอง (autolysis)

กระบวนการย่อยสลายตัวเองเกี่ยวข้องกับกาที่ยีสต์ตายและส่งผลให้เซลล์ย่อยสลายโดยเอนไซม์ โดยเอนไซม์นี้อาจจะเป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ยีสต์หรือเอนไซม์ที่ถูกเติมเข้าไป โดยผลิตภัณฑ์ของเอนไซม์จะไปตกกั้นจำเพาะที่โมเลกุลผลิตขึ้น การย่อยสลายตัวเองบ่อยครั้งเริ่มต้นจากการเติมเกลือลงไปสู่เซลล์ สาเหตุจากการที่น้ำออกจากเซลล์โดยการออสโมซิสและเริ่มต้นกระบวนการย่อยสลายเซลล์ และความร้อนที่เกิดจากเซลล์ก็จะสนับสนุนการย่อยสลายของเซลล์ด้วย

โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในตัวปลาประกอบด้วยไมโอไฟบริน(myofibrin) 65-75 เปอร์เซ็นต์ โกลบูลิน (globulin) 8-22 เปอร์เซ็นต์ ไมโอเจน (myogen) 10-20 เปอร์เซ็นต์ และสโตรมาโปรตีน (stroma protein) 3-10 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนจะถูกย่อยสลายทันทีที่ปลาตายโดยเอนไซม์ต่างๆจากตัวปลา ทั้งที่มีอยู่ในส่วนที่เป็นเนื้อปลา กระเพาะอาหาร ลำไส้ หรือจากจุลินทรีย์ การย่อยสลายนี้บางทีถูกเรียกว่า การย่อยสลายตัวเอง (autolysis) โปรตีนซึ่งเป็นโมเลกุลใหญ่จะถูกย่อยให้เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลเล็ก เช่น เพปไทด์และกรดอะมิโน ซึ่งกรดอะมิโนจะถูกย่อยสลายต่อเป็นเอมีน กรดคีโต แอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยกระบวนการ transamination และ oxidative decamination

ปลามีเอนไซม์ย่อยโปรตีนหลายชนิดกระจายอยู่ทั่วตัว ดังตารางแสดงเอนไซม์ในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนของปลา เอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยดีที่สุดคือเอนไซม์ในเครื่องใน และทางเดินอาหาร ได้แก่ ทริปซิน (trypsin) ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) เปปซิน (pepsin) นอกจากนี้ยังตรวจพบจุลินทรีย์กลุ่ม Micrococci, Staphylococci และ Bacilli ด้วย ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความสามารถสร้างโปรติเอสเช่นกัน เอนไซม์แต่ละชนิดที่ย่อยโปรตีนจะมีบทบาทมากน้อยเพียงไรนั้น ขึ้นกับความเป็นกรด เบส อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเกลือ เช่น ที่ความเป็นกรด เบสเป็นกลาง ทริปซินจะมีบทบาทมาก ถ้าความเป็นกรด เบสต่ำกว่า 5.5 เปปซินจะมีบทบาทมาก ถ้าความเข้มข้นของเกลือสูงกว่าร้อยละ 5 เปปซินจะถูกยับยั้งการทำงาน และสภาวะที่มีเกลือความเข้มข้นร้อยละ 15 เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากเครื่องในปลายังมีกิจกรรมอยู่ แต่เอนไซม์จากเนื้อเยื่อ คือ คาเทปซิน (cathepsin) จะถูกยับยั้ง

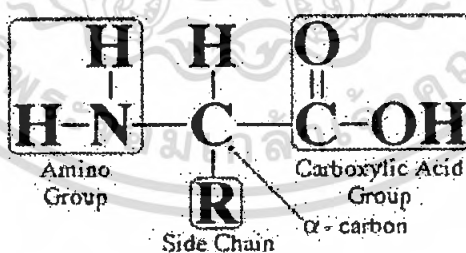
ตารางที่ 2.10.1 แสดงเอนไซม์ในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนของปลา

เอนไซม์	อุณหภูมิในการทำงาน (องศาเซลเซียส)
Cathepsin	37
Peptidase	40
Transaminase	37
Amino acid decarboxylase (16 different amino acid)	40
Glutamate dehydrogenase	25
Asparagenase	37
Glutaminase 1 (+phosphatase)	37
Glataminase 2 (+pyruvate)	37
Mono amino oxidase (dopamine, tyramine, histamine)	37
D-amino acid oxidase	37

ที่มา : <http://www.school.net.th/library/webcontest2003/100team/dlss022/science/protien/protien.htm>

## 2.11 หลักการของ Kjeldahl Method

ลำดับข้อของ โปรตีนคือกรดอะมิโน ที่มีองค์ประกอบเป็นหมู่อะมิโน ( $-NH_2$ ) และหมู่คาร์บอกซิล ( $-COOH$ ) อยู่ในโมเลกุล ที่เมื่ออยู่ในสารละลายจะอยู่ในรูปที่มีประจุ



ภาพที่ 2.11.1 โครงสร้างทั่วไปของกรดอะมิโน

ที่มา : [http://www.thaiscience.com/lab\\_vol/p23/Protein\\_analyzer.asp](http://www.thaiscience.com/lab_vol/p23/Protein_analyzer.asp)

กรดอะมิโนที่พบในธรรมชาติจะเป็นชนิดอัลฟา R-group จะมีความจำเพาะและแตกต่างกันไปในกรดอะมิโนแต่ละชนิด เช่น thiol group ใน cysteine และ indol group ใน tryptophan เป็นต้น การทดสอบเพื่อบ่งบอกชนิดของกรดอะมิโน จะอาศัยปฏิกิริยากับหมู่ธาตุต่างๆ ใน R-group และสามารถใช้นำปฏิกิริยาที่เฉพาะเหล่านั้นตรวจสอบเชิงคุณภาพภาพของโปรตีนได้ เช่น Ninhydrin reaction, Xanthoproteic reaction และ Biuret reaction เป็นต้น

สำหรับการตรวจสอบเพื่อหาค่าปริมาณโปรตีนในเชิงปริมาณสามารถทำได้หลายวิธีการด้วยกันขึ้นอยู่กับตัวอย่างโปรตีนที่ต้องการตรวจวัด เช่น การหาปริมาณโปรตีนจากเศษส่วนของเซลล์ในสารละลายสามารถทำได้โดยเทคนิค colorimetry ซึ่งวัดการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารเชิงซ้อนของโปรตีนตัวอย่างเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน โดยแต่ละวิธีการจะวัดที่ความยาวคลื่นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับ reagent ที่ใช้งาน เช่น วิธีการจับกับไอออนทองแดง (copper binding methods) วิธีการนี้สามารถแยกย่อยได้เป็น biuret method ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 540 nm, lowry method ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 500 nm, bicinchoninic acid (BCA) method ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 562 nm

นอกจากวิธีที่กล่าวมา ยังมี Kjeldahl method อีกวิธีหนึ่งที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างของแข็ง (เช่น อาหาร ดิน และปุ๋ย เป็นต้น) วิธีการนี้เกิดขึ้นในตอนปลายศตวรรษที่ 18 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเดนมาร์ก ชื่อ Johann Kjeldahl และได้รับการยอมรับเป็นวิธีการสากลจากหน่วยงานต่างๆ มากมาย เช่น AOAC, AACC, EPA, DIN และ ISO เป็นต้น การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (total kjeldahl nitrogen; TKN) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ไนโตรเจน) ทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยมีขั้นตอนการทำงานหลัก 3 ขั้นตอนคือ การย่อย การกลั่น และการไตเตรด ดังนี้

### 2.11.1 การย่อย (digestion)

การย่อยเป็นการปลดปล่อย (แตกพันธะ peptides) เอมีนไนโตรเจนที่เชื่อมต่อกันเป็นก้อนโปรตีนออกมาโดยการใช้กรดเข้มข้น เช่น  $H_2SO_4$  หรือ  $HClO_4$  ร่วมกับ

- โปแตสเซียมซัลเฟต ( $K_2SO_4$ ) เพื่อเพิ่มจุดเดือด (boiling point) ของสารละลายช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ช่วง 370 – 400 องศาเซลเซียส

- ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เพื่อเพิ่มอัตราเร่งของการย่อยสารประกอบไนโตรเจนให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปเกลือแอมโมเนียมไบซัลเฟต (ammonium bisulfate;  $NH_4HSO_4$ ) ตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้คือ เช่น โลหะทองแดง (Cu) ซีลีเนียม (Se) หรือปรอท (Hg) เป็นต้น

- boiling stone เพื่อป้องกันสภาวะการเดือดที่รุนแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.11.2 การกลั่น (distillation)

การกลั่นมีวัตถุประสงค์เพื่อระเหยแก๊สแอมโมเนียออกจากสารละลายผสม โดยการออกซิไดซ์ แอมโมเนียมเพื่อเปลี่ยนไนโตรเจนให้ไปอยู่ในรูปของแก๊สแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) แล้วดักจับแก๊สที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายกรด ประกอบด้วยขั้นตอนย่อยดังนี้

- สะเทินด้วยด่างปกติใช้สารละลายโซดาไฟเข้มข้น ( $\text{NaOH}$ ) เพื่อปล่อยแก๊สแอมโมเนีย ในสารละลาย
- กลั่นแยกแก๊สแอมโมเนียที่ได้ แล้วจับด้วยสารละลายกรด (นิยมใช้  $\text{HCl}$ ) เจือจาง ที่ทราบปริมาณความเข้มข้นและปริมาตรที่แน่นอนและสำหรับอุปกรณ์ที่ใช้งานในขั้นนี้คือ distillation unit

### 2.11.3 การไตเตรต (titration)

Kjeldahl Method เป็นการหาปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน โดยการไตเตรตกลับ (back titration) เพื่อหาปริมาณกรดที่เหลืออยู่จากขั้นตอนที่ 2 ด้วยสารละลายด่าง (นิยมใช้  $\text{NaOH}$ ) ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ซึ่งขั้นตอนการไตเตรตกลับสามารถทำได้ดังนี้

- เติมตัวบ่งชี้ (indicator) ลงไปในสารละลายที่กลั่นได้ ( $\text{acid} + \text{NH}_3$ )
- ไตเตรตด้วยสารละลาย  $\text{NaOH}$  เจือจางจนถึงจุดยุติ (end point)
- บันทึกปริมาตรของสารละลาย  $\text{NaOH}$  ที่ใช้ไปและคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน

### ตารางที่ 2.11.1 ขั้นตอนปฏิกิริยาการไตเตรตกลับหาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี Kjeldahl

<b>กระบวนการย่อย</b>
$\text{Organic N} + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{Heat} + \text{Catalyst} \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4\text{HSO}_4$
<b>กระบวนการสะเทิน</b>
$\text{NH}_4\text{HSO}_4 + 2\text{NaOH} \longrightarrow \text{NH}_3 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$
<b>การดักจับแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นด้วยกรด</b>
$\text{NH}_3 + \text{HCl} [\text{or } \text{H}_2\text{SO}_4] \longrightarrow \text{NH}_4\text{Cl} [\text{or } (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$
<b>การไตเตรตกลับด้วยด่างที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน</b>
$\text{NaOH} + \text{HCl} [\text{or } \text{H}_2\text{SO}_4] \longrightarrow \text{NaCl} [\text{or } \text{Na}_2\text{SO}_4] + \text{H}_2\text{O}$

ที่มา : [http://www.thaiscience.com/lab\\_vol/p23/Protein\\_analyzer.asp](http://www.thaiscience.com/lab_vol/p23/Protein_analyzer.asp)

นอกจากการหาปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน โดยการไตเตรตกลับแล้ว ยังมีอีกหลายวิธีที่สามารถทำได้ เช่น การไตเตรตโดยตรงด้วยด่าง (NaOH) ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ถ้าหากสารละลายที่นำมาจับแก๊สแอมโมเนียเป็นสารละลายกรดบอริก (boric acid solution) ตรวจวัดด้วยเทคนิค colourimetry โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ในกรณีเดิม reagent ที่สามารถเกิดสารสีกับแอมโมเนียที่กลั่นได้ เช่น Nessler reagent

distillation unit เป็นส่วนที่ทำหน้าที่กลั่นแยกแก๊สแอมโมเนียออกจากของผสมที่ย่อยได้ และในเครื่องมือสมัยใหม่ส่วนนี้จะออกแบบให้ประกอบกับส่วนของการไตเตรต เพื่อสามารถวิเคราะห์ผลได้โดยทันที อย่างไรก็ตามในแต่ละส่วนประกอบสำคัญซึ่งประกอบด้วยส่วนประกอบย่อยลงไปอีก และมีรายละเอียดที่แตกต่างกันในแต่ละรุ่น / บริษัท ซึ่งการใช้งานส่วนประกอบแต่ละส่วนอาจใช้งานแยกกันเหมือนดังเช่นในอดีตหรือรวมแต่ละส่วนเข้าด้วยกันดังเช่นในปัจจุบัน

### 2.12 การตัดแปลงโปรตีน (protein modification)

- ยิงโปรตีเอสมี ความจำเพาะในการไฮโดรไลซ์พันธะระหว่างกรดอะมิโน 2 ตัวมากเท่าไร ก็ยิ่งทำให้เกิด small peptide และกรดอะมิโน ได้มากเท่านั้น เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเช่นนี้คือ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะกว้าง (broad specificity) เช่น pepsin และ trypsin เอนไซม์เหล่านี้เมื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์โปรตีนแล้ว จะได้ค่า alkaline titre สูง ได้ yield สูง
  - แต่ถ้าเอนไซม์ มีความจำเพาะแคบ (narrow specificity) จะสามารถควบคุมการย่อยได้ดีกว่า
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เพื่อใช้ในการปรับปรุงหน้าที่ของโปรตีน เช่น foaming, gelling, emulsification
- ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ในกรณีที่ %DH ต่ำจะเกิด small peptide มาก ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสขม บางครั้งการใช้ debittering peptidase อาจใช้ไม่ได้ผลเสมอไป ขึ้นอยู่กับความจำเพาะเอนไซม์นั้น ๆ
- ดังนั้นจึงต้องพิจารณาเลือกเอนไซม์หรือลำดับการใช้เอนไซม์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ได้มี composition , functionality , organoleptic quality ตามต้องการ ดังตารางด้านล่าง

ตารางที่ 2.12.1 แสดงข้อแนะนำทั่วไปของการใช้โปรติเอสเกี่ยวกับความจำเพาะ (specificity) ระดับการไฮโดรไลซ์ (degree of hydrolysis) และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม

ระดับการไฮโดรไลซ์	ความจำเพาะกับสับสเตรตและการประยุกต์ใช้		
	สูง	กลาง	ต่ำ
ระดับต่ำที่สุด	Milk coagulation	Baking dough	gelatine
ระดับต่ำสุด(ร้อยละ3-5)	Cheese ripening flavour	Cheese ripening Flavour Foaming Emulsifying	Meat/fish Recovery
ระดับกลาง(ร้อยละ6-10)	Flavour	Brewing Gelling Non-heated coagulation	Red blood cell Stability Non-heated coagulation
ระดับสูง(ร้อยละ11-18)	Debittering	Solubility Flavour Forensics	Cleaning Sample preparation Forensics
ระดับสูงที่สุด	Hypoallergenic Biomedicals	Meat/fish/plant Solubility and stability	Acid stable soluble for Food/detergents and cosmetics

ที่มา : บุญเทียม พันธุ์เพ็ง, 2549

### 2.12.1 การปรับสภาพของโปรตีนก่อนการย่อย (substrate protein condition)

- เมื่อสภาวะแวดล้อมของโปรตีนเปลี่ยนไปความจำเพาะจะเปลี่ยนไปด้วย
- ในอุตสาหกรรมอาจจะทำให้โปรตีน denature ด้วยสารเคมีหรือความร้อนทั้งในแบบ

reversible และ irreversible ก่อนทำการย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ความเข้มข้นของสับสเตรตและเอนไซม์

ประสิทธิภาพการย่อยขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งจะต้องใช้ปัจจัยเหล่านี้ร่วมกันในกระบวนการผลิต

#### เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตสูงขึ้น

- ทำให้มีความคงตัวของเอนไซม์เมื่ออุณหภูมิและ pH ไม่เหมาะสมมาก ๆ
- ในทางปฏิบัติจะเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนที่เป็นสับสเตรตได้ถึงระดับหนึ่ง

เท่านั้น เนื่องจากเมื่อสูงมากจะทำให้

- การละลายของโปรตีนลดลง
- ความหนืดเพิ่มขึ้น
- เกิด diffusion และ adsorption

จึงต้องการความเข้มข้นของสับสเตรตที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์และสับสเตรตนั้น

#### เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตต่ำ

- ความเร็วของปฏิกิริยาจะเร็วกว่าที่ความเข้มข้นสูง
- มี product inhibition ต่ำ
- มีปริมาณของ reaction mixture มาก
- ต้นทุน operate สูง
- ความเข้มข้นของ product ต่ำ
- การเลือกความเข้มข้นของสับสเตรตที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญ

#### ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม

- ใช้หน่วยเป็น % โดยน้ำหนักของ protein substrate
- ที่ค่า อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และสับสเตรตใด ๆ เมื่อเพิ่ม

ความเข้มข้นของเอนไซม์ [Enzyme] อัตราเร็วของปฏิกิริยาก็เพิ่มขึ้น

- ความเข้มข้นของเอนไซม์ ยิ่งมาก เวลาที่ใช้ก็ยิ่งลดลง
- การเลือก ความเข้มข้นของเอนไซม์ ที่เหมาะสม จึงจำเป็นในทางปฏิบัติและ

ในทางเศรษฐศาสตร์

-การใช้ อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และสับสเตรตสูงมากอาจทำให้เกิดความจำเพาะที่ต่างจากสภาวะปกติและอาจเกิด reverse reaction ได้ไปทิศทางใหม่ ซึ่งปฏิกิริยาแบบนี้เรียกว่า plastein reaction

-ที่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ สูง อาจเกิดการไฮโดรไลซ์เอนไซม์ทำให้เอนไซม์ถูกทำลาย และอาจเกิดมากในกรณีที่ใช้เอนไซม์หลายตัวร่วมกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.12.2 การวิเคราะห์ degree of hydrolysis

### 2.12.2.1 วิธี pH-stat technic

เมื่อโมเลกุลของโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ พันธะเปปไทด์ 1 พันธะถูกไฮโดรไลซ์จะได้ 1 หมู่อะมิโนอิสระ และ 1 หมู่คาร์บอกซิลอิสระในสารละลายที่เป็นน้ำ หมู่อะมิโนอิสระ และหมู่คาร์บอกซิลอิสระจะแตกตัวได้มากหรือน้อย ขึ้นกับพีเอชของสารละลาย ค่า pK ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของหมู่อะมิโนอิสระ คือ 7.5-7.8 ส่วนค่า pK ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของหมู่คาร์บอกซิลอิสระ คือ 3.1-3.6 ถ้าในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีน สารละลายโปรตีนไฮโดรไลซ์ทุกไทเทรตด้วยสารละลายกรดหรือด่าง ปริมาตรของสารละลายกรดหรือด่างที่ใช้ในการไทเทรต สามารถจะบอกได้ว่ามีพันธะเปปไทด์จำนวนเท่าไร ที่ถูกไฮโดรไลซ์ วิธีวัดแบบนี้เรียกว่า วิธี pH-stat technic

วิธีคำนวณค่าระดับการถูกไฮโดรไลซ์ของโปรตีน (degree of hydrolysis, DH) วิธีทำโดยไทเทรตหาปริมาณปลายทางด้านคาร์บอกซิล (-COOH) ที่เกิดขึ้นจากการที่โมเลกุลโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ที่ระดับต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH แล้วใช้ค่าไทเทรตที่ได้คำนวณปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์

ค่า DH ที่ได้ สามารถบอกถึงปริมาณพันธะเปปไทด์เป็นร้อยละที่ถูกไฮโดรไลซ์ (%DH) แต่ไม่สามารถบอกถึงสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลซ์ การหาค่า %DH ด้วยวิธีนี้จะรวดเร็วและมีประโยชน์ในการตรวจติดตามผลของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องการไฮโดรไลซ์โปรตีนให้มีคุณสมบัติตามต้องการ โดยใช้การหา %DH เป็นระยะ ๆ เป็นตัวตรวจวัด

### 2.12.2.2 วิธีการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไนโตรเจนจากกรดอะมิโนกับไนโตรเจนทั้งหมด (AN/TN ratio)

AN (amino nitrogen) คือ ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ส่วน TN (total nitrogen) คือ ไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีของเจลดาค์ (kjeldahl)

AN หาได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen) และ แอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammonical nitrogen) ซึ่งผลต่างของฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนกับแอมโมเนียคัลไนโตรเจนคือ ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน

ตารางที่ 2.12.2 อัตราส่วน AN/TN เป็นร้อยละ ที่ได้สูงสุด ของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ใช้กรดและโปรติเอสจากแหล่งต่างๆ ในการไฮโดรไลซ์

วิธีที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์โปรตีน	อัตราส่วน AN/TN เป็นร้อยละ ที่ได้สูงสุด
กรดภายใต้อุณหภูมิและความดันสูง	80 – 90
โปรติเอสหลายชนิดร่วมกัน	60 – 70
โปรติเอสจากพืช	30 – 35
โปรติเอสจากสัตว์	สูงกว่าโปรติเอสจากพืช
โปรติเอสจากจุลินทรีย์	50 – 60

ที่มา : Brich *et al* (1981)

### 2.12.2.3 วิธีวัดปริมาณน้ำใสที่ได้

เป็นวิธีการวัดทางกายภาพโดยวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดที่ได้หลังจากการไฮโดรไลซ์ หลักการการวัดคือ ส่วนที่ไม่ละลาย (insoluble) กลายเป็นส่วนที่ละลายได้ (soluble) ซึ่งขั้นตอนในการวิเคราะห์ไม่ยุ่งยาก สะดวก คือ นำตัวอย่างหอยลายสกัดที่ได้นำมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที แล้วแยกส่วนใสออกมาวัดปริมาตรของส่วนตะกอน (insoluble) และส่วนใส (soluble) แล้วนำไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์

## 2.13 สารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.13.1 กลิ่นรส (flavor) หมายถึง ความรู้สึกทุกอย่างที่รับได้เมื่อมีวัสดุในปาก ได้แก่ กลิ่นรส และสมบัติเฉพาะของวัสดุแต่ละชนิด เช่น ความหยาบ ความนุ่ม ความเย็น ความเผ็ดร้อนแรง

2.13.2 กลิ่น (odor) หมายถึง ความรู้สึกที่รับได้โดยตรงทางจมูก กลิ่นทางอาหารมักจะหมายถึง สารระเหยได้ที่ทำให้เกิดความรู้สึกต่ออวัยวะรับกลิ่น สารระเหยที่ประกอบกันเป็นกลิ่นของกุ้ง ได้แก่ สารประกอบซัลเฟอร์ คีโตน แอลกอฮอล์ไฮโดรคาร์บอน pyrazines pyridines amide amine และสารประกอบอื่นๆ โดยมี สารประกอบซัลเฟอร์ และ pyrazine เป็นองค์ประกอบหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นในกุ้งต้มสุก ส่วนในอาหารทะเลสด จะเป็นพวกแอลกอฮอล์ที่ไม่อิ่มตัว Aldehyde และคีโตน ที่มีคาร์บอน 8-9 อะตอม ซึ่งเป็นผลมาจากการออกซิเดชันของไขมันและกรดไขมัน

การให้ความร้อนจะทำให้องค์ประกอบตามธรรมชาติเนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนคาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก เช่น กรดอะมิโน กลูโคส ไรโบส เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนหรือปฏิกิริยาต่างๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อน เช่น maillard reaction, strecker

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการวิจัยและพัฒนาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

degredation และ thermal degradation ซึ่งสิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์หลายชนิด

maillard reaction เกิดขึ้นได้โดยไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ โดยเกิดระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือโปรตีนกับ free carbonyl group ของน้ำตาล เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลงจะเกิดสาร melanoidins ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและมีสีน้ำตาล โดยระหว่างเกิด maillard reaction จะมีสารระเหยที่ให้กลิ่นเกิดขึ้นด้วย ส่วน steacker degradation เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyl compounds ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก maillard reaction กับ  $\alpha$ - amino groups ของกรดอะมิโน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นสารประกอบพวก enaminals ซึ่งจะเกิดเป็นโพลิเมอร์สีน้ำตาลหรือเกิดการย่อยสลายได้ pyrazines และ pyroles เป็นสารระเหยให้กลิ่นหอม ซึ่งพบในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการให้ความร้อน นอกจากนี้ยังมีสารระเหยที่เกิดจากปฏิกิริยาใช้เอนไซม์และปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีนจากจุลินทรีย์อีกด้วย

2.13.3 รส (taste) เป็นความรู้สึกที่รับรู้ได้จากปากและลิ้น โดยมีคัมรับรสที่ลิ้นเป็นตัวสำคัญ จะบอกให้ทราบถึงรสชาติที่ผู้บริโภคได้รับโดยทำงานเชื่อมต่อกับระบบประสาท ในปัจจุบันได้มีการแบ่งรสออกเป็น 5 รสด้วยกันคือ รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม รสขม และรสอูมามิ (umami) ซึ่งรสต่างๆเหล่านี้เกิดขึ้นจากสารประกอบที่มีอยู่ในอาหาร ได้แก่ กรดนิวคลีโอไทด์ (Nucleotides) กรดอะมิโน เปปไทด์ กรดอินทรีย์ น้ำตาล inorganic ion และพวก organic bases เช่น creatine creatinine betaines เป็นต้น โดยสารประกอบดังกล่าวจะให้รสชาติที่แตกต่างกันไป และรสชาติที่เกิดจากกรดอะมิโนอิสระ จะมีความเข้มข้นมากกว่ารสชาติที่เกิดจากพวก เปปไทด์

2.13.4 สารประกอบที่ให้รสหวาน ประกอบด้วยส่วนของ proton donors และ proton acceptors อยู่ในโมเลกุล ซึ่งจะสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหน่วยรับความรู้สึกของรสหวาน เป็นการกระตุ้นให้รู้สึกว่ามีรสหวาน สารประกอบที่ให้รสหวานได้แก่ น้ำตาลซูโครส แลคโตส กลูโคส หน้ำหวาน saccharin และ กรดอะมิโนบางชนิด เป็นต้น สำหรับกรดอะมิโนที่ให้รสหวานได้นั้นต้องมี side chain สั้น จึงจะสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหน่วยรับความรู้สึกของรสหวาน และให้รสหวานได้ ตัวอย่างของกรดอะมิโนที่ให้รสหวาน เช่น L-alanine D-histidine D-tryptophan D-phenylalanine D-tyrosine และ glycine โดยในกลุ่มนี้ glycine จะให้รสหวานน้อยที่สุด

2.13.5 สารประกอบที่ให้รสขม เกิดจากกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic) ได้แก่ L-tryptophan, L-phenylalanine, L-tyrosine, L-isoleucine, L-leucine, L-valine และเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบ การย่อยสลายโปรตีนเหล่านี้ด้วยเอนไซม์จะก่อให้เกิดรสขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนของนักศึกษาในชั้นเรียนเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้น ก็เนื่องมาจาก side chain ของกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งมีอยู่ในสายเปปไทด์นั่นเอง ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสขม ได้แก่ Gly-Leu, Leu-Phe, Leu-Lys และ Arg-Leu เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า pyrrolidonecarboxylic acid ซึ่งเป็นสารประกอบที่เปลี่ยนแปลงมาจาก glutamic acid ก็สามารถให้รสขม 'off-taste' ได้เช่นกัน

**2.13.6 สารประกอบที่ให้รสเปรี้ยว** เกิดขึ้นเนื่องจากเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนพวก glutamic acid, aspartic acid acidic amino acid acidic and neutral-amino acid หรือ acidic-and aromatic-amino acid เป็นองค์ประกอบถูกย่อยสลายให้ hydrogen ion ออกมาและทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อกับ เชื้อหุ้มเซลล์ของคัมรับรสเปรี้ยวบนลิ้น ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสเปรี้ยว ได้แก่ Gly-L-Glu, Gly-L-Asp, L-Ser-Asp เป็นต้น

**2.13.7 สารประกอบที่ให้รสเค็ม** เกิดขึ้นจากอิออนของเกลือ กรดอะมิโนอิสระไม่ให้รสเค็ม เปปไทด์ที่ให้รสเค็มจะสร้างพันธะกับสารประกอบบางชนิด เช่น taurine monohydrochloride และ ornithyl monohydrochloride ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสเค็ม เช่น L-ornithyl-2-aminooctane, sulfonic acid, hydrochloride ให้รสเค็มเหมือนเกลือแกง

**2.13.8 สารประกอบที่ให้รสอูมามิ (Umami)** เป็นรสที่มีอยู่ทั่วไปทั้งในผักและเนื้อสัตว์ เกิดจากสารประกอบของ glutamic acid พวก monosodium glutamate ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความกลมกล่อมให้กับอาหารร่วมกับรสพื้นฐานทั้งสิ้น นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนบางชนิดที่ไม่ให้รสใดๆ (no taste) หรือให้รสอ่อนมาก เช่น D-Ala, D-and L-Arg, D-Glu, L-His เป็นต้น และสำหรับกรดอะมิโนที่ให้รสในกึ่งพบว่าส่วนใหญ่จะเป็น glutamic และ glycine โดยมี alanine, proline และ serine เป็นตัวให้ความหวานในตัวกึ่ง

## 2.14 การเกิดรสขมในโปรตีนไฮโดรไลเซต

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์มักก่อให้เกิดปัญหาในเรื่องความขม เป็นที่สังเกตว่าความขมมักเกิดกับอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง รสขมนี้เกิดจากเปปไทด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายด้วย proteolytic enzyme เปปไทด์มีหลายชนิดแต่มีบางชนิดเท่านั้นที่ให้รสขม กรดอะมิโนเดี่ยวๆส่วนใหญ่จะมีรสหวาน ขม เค็ม เปรี้ยว หรือมีรสเหมือนผงชูรส แตกต่างไปตามชนิดของกรดอะมิโน กรดอะมิโนอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ มักจะมีความขมมากกว่ากรดอะมิโนที่มีอยู่ตามธรรมชาติ นอกจากนี้เปปไทด์ที่มีหัวซึ่งมี side chain ที่มีสมบัติเป็น hydrophobic เป็นองค์ประกอบอยู่สูงมักจะมีความขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองเติม gelatin ลงในระหว่างการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเกิดรสขมได้ ได้มีการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อไก่ทอดกระดุก โดยย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส pH 8 ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.3% เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ มาทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าเมื่อใช้เนื้อไก่ล้วนๆ ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ผู้ทดสอบสามารถรับรสขมได้ตั้งแต่ ที่เวลาในการย่อยสลาย 90 นาทีขึ้นไป โดยมีระดับความขมเหมือน ควินิน 0.003% เมื่อเติม glycine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีรสหวาน และพบมากใน gelatine , proline และ hydroxyl proline ลงในโปรตีนไฮโดรไลเซท พบว่า glycine สามารถลดความขมในไฮโดรไลเซทได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ proline หรือ hydroxyl proline ล้วนๆ มาสามารถลดความขมได้ อาจสรุปได้ว่ากลไกการลดรสขมของไฮโดรไลเซทโดย gelatine เกิดจาก กรดอะมิโน glycine ไปบดบังความขม มีสารประกอบหลายชนิดที่ให้รสขม โดยปกติระดับความขมมักจะมีน้อยกว่า ความหวาน เปรี้ยว และเค็ม เป็นเรื่องยากที่จะอธิบายถึงความสัมพันธ์ของรสชาติเหล่านี้กับโครงสร้างของมัน อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ของ โครงสร้างกรดอะมิโน กับความขม ถูกค้นพบว่า L-amino acid หลายตัวที่มีโมเลกุล side chain เป็น hydrophobic group จะมีรสขม ขณะที่ D-amino acid ที่มี side chain เป็น hydrophobic group เช่นเดียวกัน กลับมีรสหวาน โครงสร้างของรสขมที่พบในขั้นสุดท้ายเป็นโมเลกุลมีขั้ว ( electrophylic ) และมีโมเลกุลกลุ่มที่แสดงรสขมเป็น hydrophilic

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

##### 3.1.1 วัตถุดิบ

หอยลายสด

##### 3.1.2 เอนไซม์

ผงทำให้เนื้อนุ่ม (Meat Tenderizer)

เอนไซม์อัลคาเลส

เอนไซม์นิวเทรส

##### 3.1.3 สารเคมี

แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ )

กรดไฮโดรคลอริก

แอลกอฮอล์ 95 %

กรดแลคติก

กรดบอริก

ฟอร์มาลดีไฮด์

Catalyst (1:8 of  $CuSO_4$  /  $K_2SO_4$ )

Bromocresol green

Methyl red

Phenolptaline

โซเดียมซัคซิเนต

กรดซัคซินิก

เกลือ, ซีอิ้วขาว, แป้งข้าวโพด, ผงชูรสและน้ำตาลทราย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 อุปกรณ์

เครื่องกลั่น โปรตีน  
 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)  
 เครื่องปั่น (Blender)  
 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)  
 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)  
 เครื่องชั่งน้ำหนัก  
 เตาแก๊ส  
 ฝ้ายขาวบาง  
 ขาดังและบิวเรต  
 ปิเปต  
 บีกเกอร์  
 ขวดแก้วรูปชมพู่ (flask)  
 ขวดปรับปริมาตร  
 กรวยแก้ว  
 หลอดกลั่นโปรตีน  
 แท่งแก้วคน  
 ซ้อนตักสาร  
 Aluminium can  
 Desiccator  
 Stirrer + Magnetic bar  
 อุปกรณ์เครื่องครัว  
 ตู้อบ

## 3.3 วิธีการทดลอง

### 3.3.1 การเตรียมเนื้อหอยลายเพื่อใช้ในการไฮโดรไลซ์

ซื้อหอยลายสดที่ยังไม่ได้แกะเปลือก จากตลาดปลา ที่จังหวัด ฉะเชิงเทรา นำหอยลายสดมาล้างน้ำสะอาดประมาณ 3-5 ครั้ง แล้วแช่น้ำเกลือในกะละมังใหญ่ไว้แล้วทำการแกะเปลือกหอยลายออก จากนั้นนำเนื้อหอยลายสดที่แกะได้มาล้างน้ำสะอาด 3 ครั้ง แล้วนำไปแช่น้ำเกลือไว้ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้สะเด็ดน้ำแล้วนำเนื้อหอยลายมาปั่นด้วยเครื่องปั่นจนเนื้อหอยลายละเอียด แล้วนำไปชั่งให้ได้ น้ำหนัก 100 กรัม

### 3.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อหอยลายสด

ทำการวิเคราะห์ความชื้น (A.O.A.C 1984) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในหอยลายด้วยวิธี Kjeldhal (A.O.A.C 1984) และนำไปวัด pH ในเนื้อหอยลายสด ด้วยเครื่อง pH meter รวมทั้งสังเกต ลักษณะของเนื้อหอยลายที่ได้ว่าสดหรือไม่ โดยการคมกลิ่น และดูจากค่า pH ที่วัดได้ ซึ่งขั้นตอน การวิเคราะห์ความชื้นและโปรตีนอยู่ในภาคผนวก ก

### 3.3.3 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีน ในเนื้อหอยลายเพื่อใช้ผลิตหอยลายสกัด

ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการวางแผนการทดลองแบบ Factorial Design ทดลอง 3 ชั้น โดยมีตัวแปรที่ศึกษา ดังนี้

-ชนิดของเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์นิวเทรส(neutrase) , เอนไซม์อัลคาเลส(alcalase) และผง ทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderizer)

-ความเข้มข้นของเอนไซม์ ได้แก่ 0, 0.15, 0.3 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์

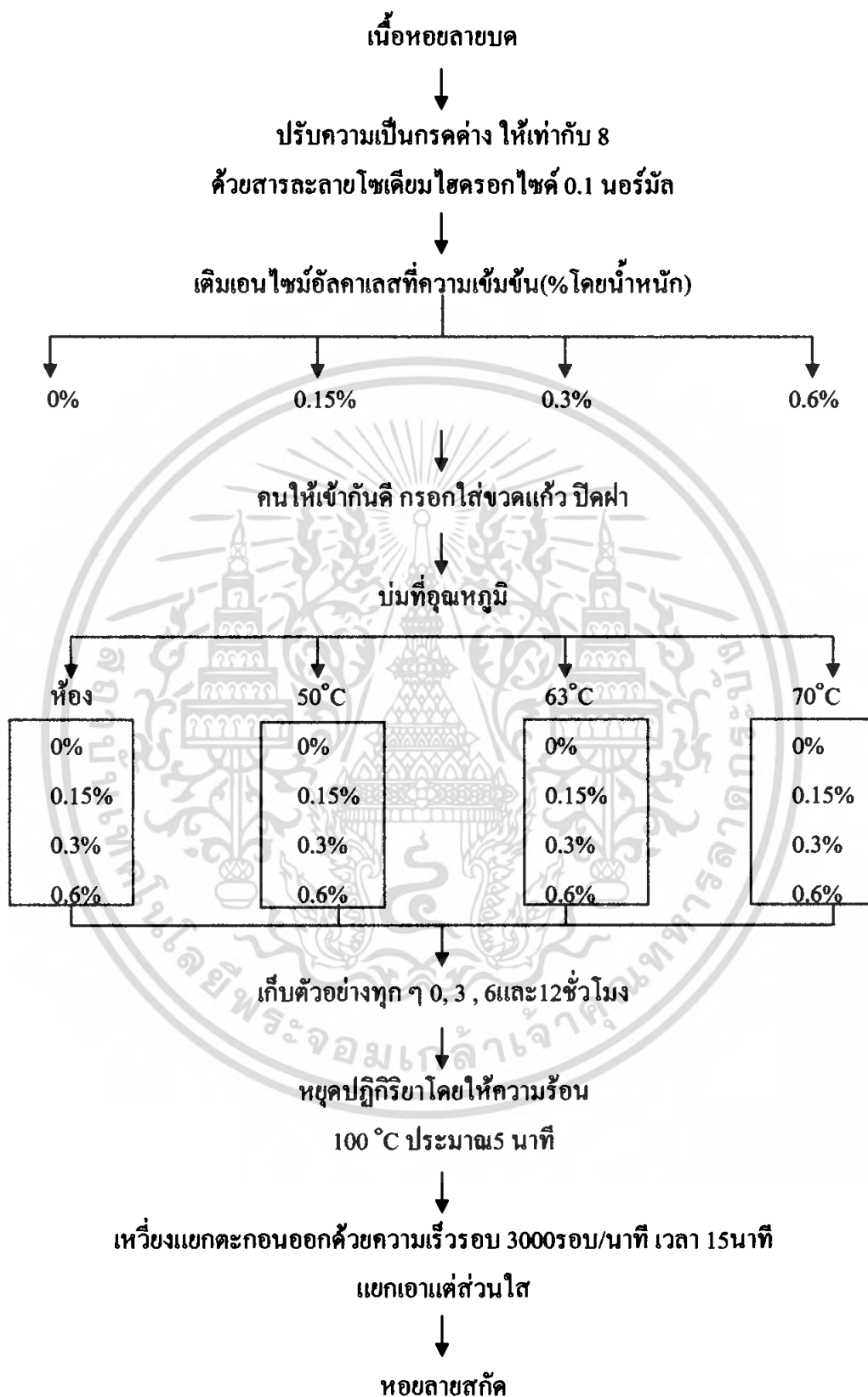
-อุณหภูมิในการไฮโดรไลซ์โปรตีน ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 50, 63 และ 70 องศาเซลเซียส

-ระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์โปรตีน ได้แก่ 0, 3, 6 และ 12 ชั่วโมง

การผลิตหอยลายสกัดจากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์ทางการค้า และผงทำให้เนื้อนุ่ม

#### 3.3.3.1 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

นำเนื้อหอยลายสด มาปรับความเป็นกรดค้างให้ได้เท่ากับ 8 ด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล แล้วนำไปผสมกับเอนไซม์อัลคาเลสโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0, 0.15, 0.3 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 50, 63 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, และ 12 ชั่วโมง โดยทุก ชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปเหวี่ยงแยกตะกอนแล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการถูก ไฮโดรไลซ์(%DH) วิธี pH stat และ ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ขั้นตอนการผลิตหอยลาย สกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสสรุปได้ดังนี้

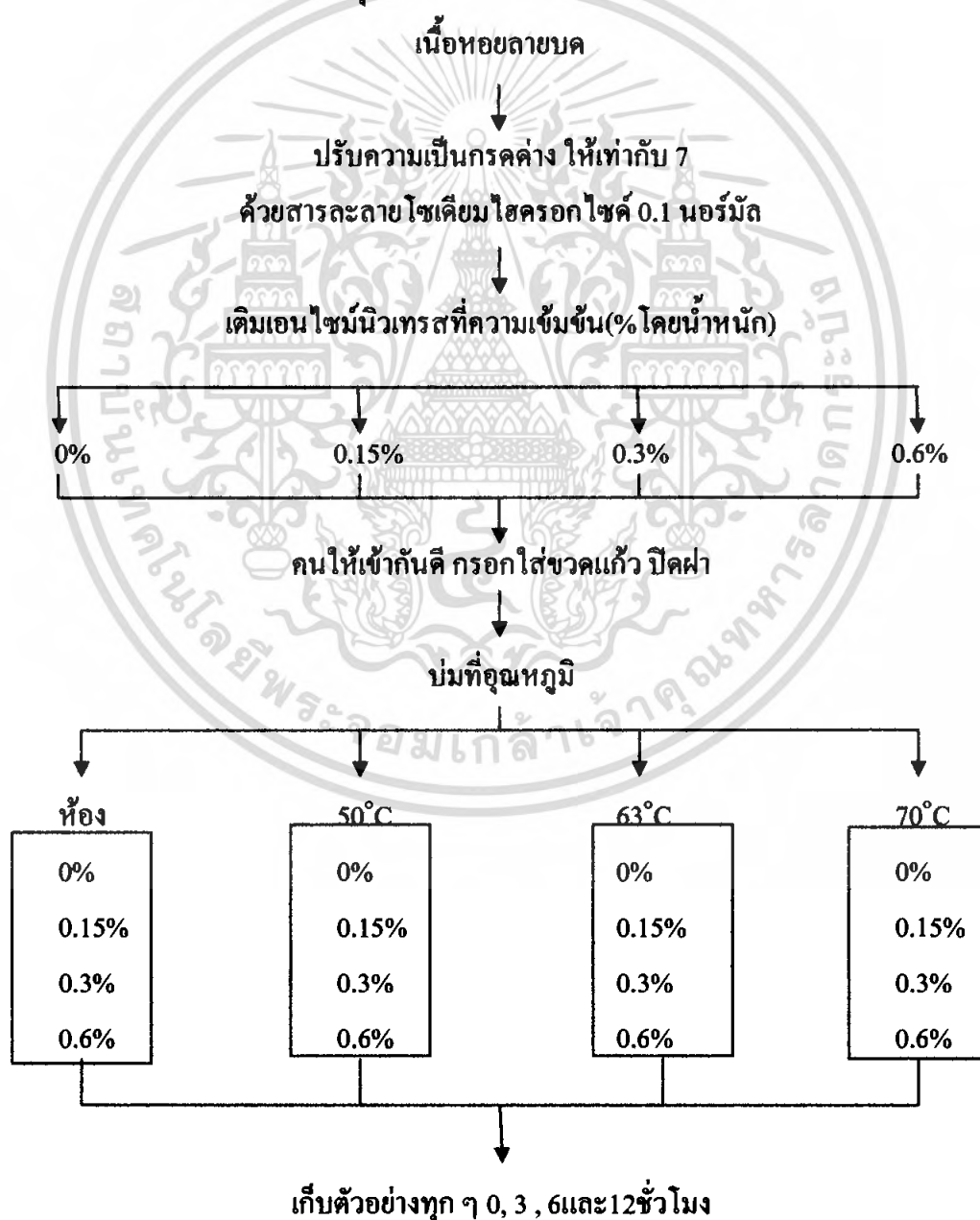


**ภาพที่ 3.3.1 : ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส**

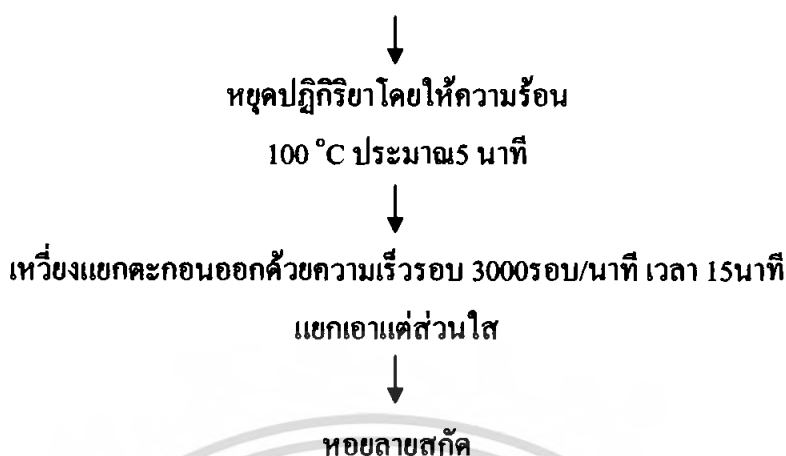
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3.2 ศึกษาสภาพที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรต

นำเนื้อหอยลายสด มาปรับความเป็นกรดต่างให้ได้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล แล้วนำไปผสมกับเอนไซม์นิวเทรตโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0 , 0.15, 0.3 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 50 , 63 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 , 3 , และ 12 ชั่วโมง โดยทุก ชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปเหวี่ยงแยกตะกอนแล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการเกิด ไฮโดรไลซิส(%Degree of hydrolysis) และ ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ขั้นตอนการผลิต หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรตสรุปได้ดังนี้



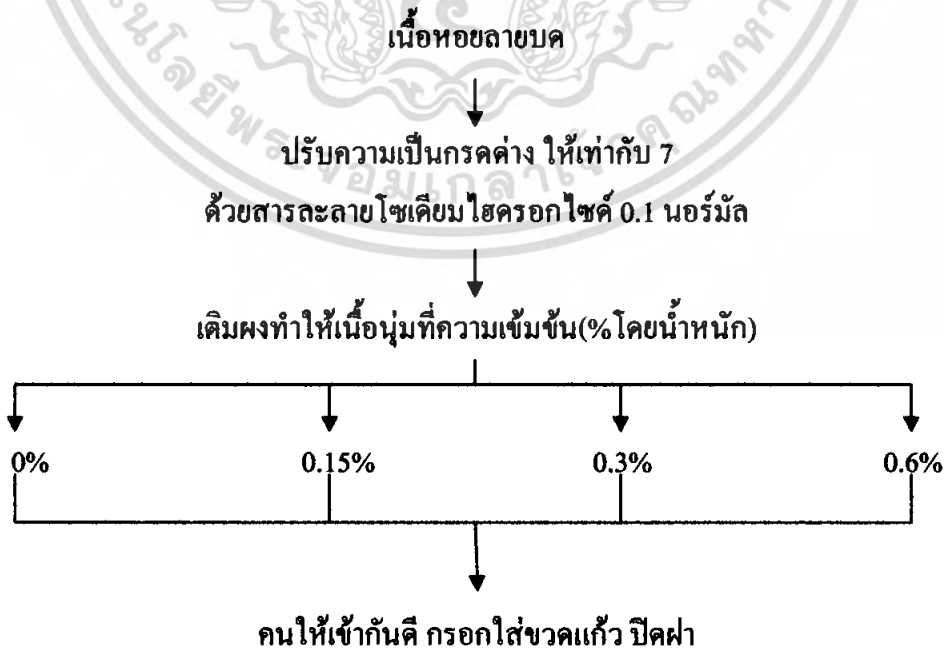
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



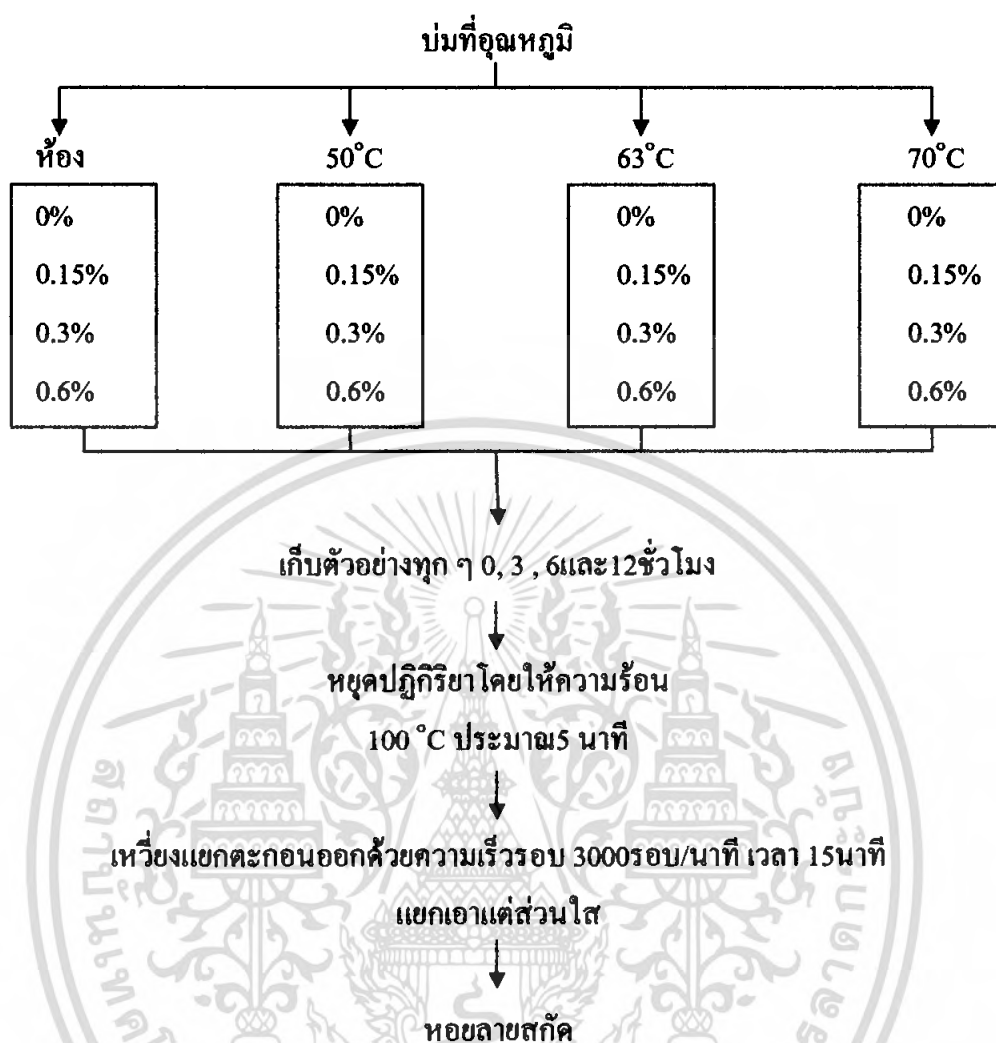
ภาพที่ 3.3.2 : ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรล

### 3.3.3.3 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม

นำเนื้อหอยลายบด มาปรับความเป็นกรดค้างให้ได้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล แล้วนำไปผสมกับผงทำให้เนื้อนุ่มโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0 , 0.15, 0.3 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 50 , 63 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 , 3 , และ 12 ชั่วโมง โดยทุกชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปเหวี่ยงแยกตะกอนแล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการเกิดไฮโดรไลซิส (%Degree of hydrolysis) และ ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่มสรุปได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



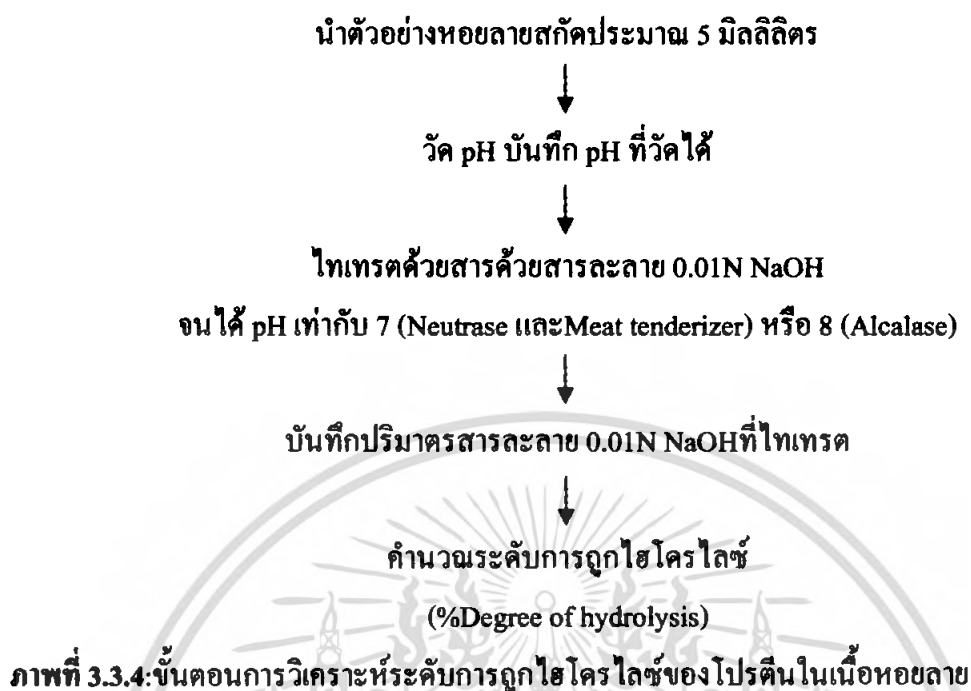
ภาพที่ 3.3.3 : ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม( meat tenderizers )

### 3.3.4 การวิเคราะห์หอยลายสกัด

#### 3.3.4.1 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อ

นุ่ม ด้วยวิธี pH-stat อาศัยหลักการไทเทรตหาปริมาณปลายทางด้านคาร์บอกซิล (-COOH) ที่เกิดขึ้นจากการที่ โมเลกุลโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ที่ระดับต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วใช้ค่าที่ไทเทรตที่ได้คำนวณปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ ซึ่งมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้ นำตัวอย่างหอยลายสกัดมาวัด pH แล้วไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัลจนได้ pH เท่ากับ 7 ( สำหรับเอนไซม์นิวเทรสและผงทำให้เนื้อนุ่ม ) หรือ 8 ( สำหรับเอนไซม์อัลคาเลส ) แล้วบันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัล ที่ไทเทรตได้ไปคำนวณค่า %DH ขั้นตอนการวิเคราะห์มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ด้วยวิธี pH stat

สูตรการคำนวณระดับการถูกไฮโดรไลซ์ (%DH)

$$\%DH = \frac{(V_b)(N_b)(1/a)(1/M)(1/h_{tot})}{100} \times 100$$

เมื่อ

$V_b$  = ปริมาตรของสารละลายค่ามาตรฐานที่ใช้ไทเทรต (ml)

$N_b$  = ความเข้มข้นของสารละลายค่ามาตรฐานที่ใช้ไทเทรต (N)

$1/a$  = ค่าการแตกตัวของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลซ์ที่นำมาไทเทรต ซึ่งมีค่าโดยประมาณเท่ากับ 1.1 ที่ pH 8 และ 2.2 ที่ pH 7

$M$  = น้ำหนักโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลซ์ (กรัม) ซึ่งมีค่าเท่ากับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลซ์ที่นำมาไทเทรต ซึ่งวิเคราะห์ได้โดย kjeldahl  $\times$  ค่า factor  $f$  ของโปรตีนชนิดนั้น

$h_{tot}$  = จำนวนพันธะเปปไทด์ที่มีอยู่ทั้งหมดในโปรตีนชนิดนั้น 1 กรัม มีหน่วยเป็น meq/g  $N \cdot f_N$  ตัวเลขนี้คำนวณจากความเข้มข้นของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ โดยเป็นผลรวมของความเข้มข้น (มีหน่วยเป็น mmol/g  $N \cdot f_N$ ) ของกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนชนิดนั้น ความเข้มข้นนี้ได้จากการวิเคราะห์ ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ โดยทั่วไปมีหน่วยเป็นกรัมต่อโปรตีน 100 กรัม (ค่า standard factor สำหรับโปรตีนในทั่วไป = 6.25 กรัม ซึ่งคำนวณจากโปรตีนโดยทั่วไป มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 6 กรัมต่อโปรตีน 100 กรัม ดังนั้นปริมาณไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมด 1 กรัม มีโปรตีน =  $100/6 = 6.25$  ถ้าไม่กำหนดเป็นอย่างอื่น  $f_N = 6.25$  และ  $h_{tot} = 8.0$  meq/g N $\cdot$ 6.25

ตารางที่ 3.3.1 ตารางแสดงค่า  $f$  และ  $h_{tot}$  ของโปรตีนชนิดต่างๆ

ชนิดของโปรตีน	$f$	$h_{tot}$
Whey	6.38	8.8
Casein	6.38	8.2
Meat	6.25	7.6
Blood	6.25	8.3(haemoglobin)
Gelatine	6.25	11.1
Soya/maize	6.25	7.8
Wheat	5.7	8.3
Fish	6.25	8.6

ที่มา : บุญเทียม พันธุ์เพ็ง, 2549

3.3.4.2 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม ด้วยวิธี AN/TN ratio ขั้นตอนในการวิเคราะห์ นำหอยลายสกัดมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (AN) จากผลต่างของปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen) กับปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen) โดยวิธีการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนและแอมโมเนียคัลไนโตรเจน อยู่ในภาคผนวก ก

สูตรการคำนวณระดับการถูกไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis)

$$\%DH = \frac{\text{Soluble nitrogen (AN)}}{\text{Total nitrogen(TN)}} \times 100$$

เมื่อ

Soluble nitrogen (AN) = ปริมาณ ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน(Amino nitrogen)

หน่วย กรัม/ลิตร

Total nitrogen(TN) = ปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมด(Total nitrogen) ซึ่งวิเคราะห์ได้โดย kjeldahl  $\times$  ค่าfactor  $f$  ของโปรตีนชนิดนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.3.4.3 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม** ด้วยวิธี การวัดปริมาตรส่วนใส หลักการการวัดคือ ส่วนที่ไม่ละลาย (insoluble) กลายเป็นส่วนที่ละลายได้(soluble) ซึ่งขั้นตอนในการวิเคราะห์คือ นำตัวอย่างหอยลายสกัดที่เก็บมาในระยะเวลาที่กำหนดมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000รอบ/นาที เป็นเวลา 10นาที แล้วแยกส่วนใสออกมาโดยบันทึกปริมาตรของส่วนตะกอน และส่วนใส

### 3.3.5 ตั้งเกดลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัด

การสังเกต สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มนั้นจะทำการทดลองโดยนำตัวอย่างหอยลายสกัดมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส คือ ดูการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นคาวของหอยลายสกัด และรสของหอยลายสกัดเทียบกับรสของผงชูรส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและการวิจารณ์

#### 4.1 การเตรียมเนื้อหอยลายเพื่อใช้ในการไฮโครไลซ์

ในสารละลายที่ใช้ในการไฮโครไลซ์มีอัตราส่วนของ ปริมาณเอนไซม์/เนื้อหอยลายที่ใช้ = 0.0015/1 , 0.003/1 และ 0.006/1

คิดเป็นอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์/ปริมาณ โปรตีนของเนื้อหอยลาย = 0.010/1 , 0.021/1 และ 0.042/1

#### 4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อหอยลายสด

หอยลาย 1 ก.ก. ได้เนื้อหอยลาย = 200 กรัม (หอยขนาดกลาง ราคาต่อก.ก. 80 บาท)

ส่วนประกอบของเนื้อหอยลาย มีปริมาณ โปรตีนต่อน้ำหนักแห้ง = 14.4 เปอร์เซ็นต์

และมีปริมาณความชื้น = 86.64 เปอร์เซ็นต์

มีปริมาณของไนโตรเจนจากกรดอะมิโน = 2.26 กรัม/ลิตร

มีพีเอช = 6.32 (หอยคุณภาพดีมี pH 6.2-5.9 (บุษกร อุดรภักดิ์ , 2547))

ตารางที่ 4.2.1 องค์ประกอบของหอยลายที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลอง

องค์ประกอบของหอยลาย	ปริมาณ
เนื้อหอยลายสดต่อหอยลายทั้งเปลือก (กรัมต่อกิโลกรัม)	200
ความชื้นในเนื้อหอยลายสด (กรัมต่อ 100 กรัม)	86.64
โปรตีนในเนื้อหอยลายสด (กรัมต่อ 100 กรัม)	10.36
ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อ 1 ลิตร)	2.26
พีเอชของเนื้อหอยลายสด	6.32

จากการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีนในเนื้อหอยลายสดที่ใช้ในการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นคือ 86.99 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโปรตีนคือ 14.4 เปอร์เซ็นต์ (เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนต่อตัวอย่าง 100 กรัม) ดังนั้นพบว่าปริมาณโปรตีนมีค่ามากกว่า Jay(2000) ที่

มีการรายงานว่ามีปริมาณโปรตีน 12.8 ในหอยลาย โปรตีนจึงเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อคุณภาพ ด้านกลิ่นรสของหอยลายสกัด

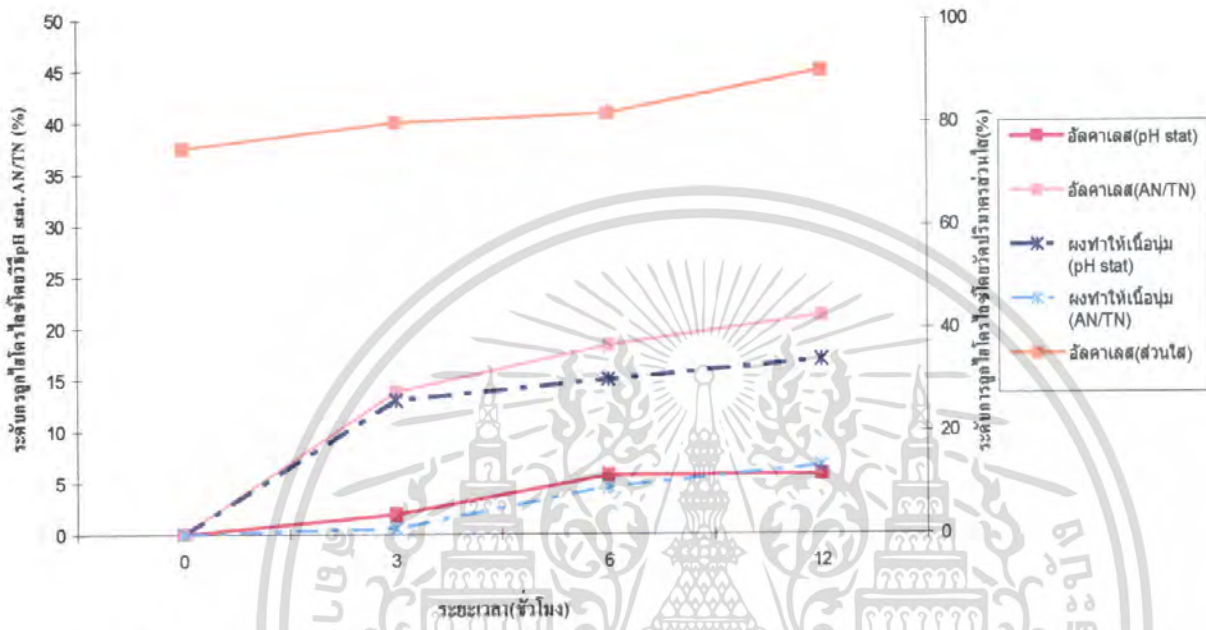
### 4.3 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีน ในเนื้อหอยลายเพื่อใช้ผลิตหอยลายสกัด

#### 4.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ อัลคาเลส คือ ที่ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของอัลคาเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์ เป็น ระยะเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งจะให้ค่า %DH (%DH) จากวิธีการวัด ปริมาตรของส่วนใส ได้สูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวัดด้วยวิธี pH stat มีค่าเท่ากับ 5.8 เปอร์เซ็นต์ และค่า อะมิโนไนโตรเจนต่อ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (AN/TN ratio) จะให้ค่ามากที่สุด คือ 21.2 เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 4.3.1 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยอัลคาเลสคือ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของอัลคาเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 ชั่วโมง ซึ่งจะได้ %DH จากวิธี pH stat , AN/TN ratio และ การวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดจะมีค่ามากกว่าเอนไซม์ตัวอื่น(ผงทำให้เนื้อนุ่ม) โดยการเลือกสภาวะที่เหมาะสมนี้จะเลือกจากค่า AN/TN ratio เป็นหลัก เนื่องจากการวัดวิธีนี้เป็น วิธีที่จำเพาะมากกว่าวิธี pH stat และการวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัด และพบว่า %DH จาก วิธี pH stat ของหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่มมีค่ามากกว่าอัลคาเลส เนื่องจากในการวัดวิธี pH stat นั้นควรทำการทดลองทันทีหลังการเก็บตัวอย่าง แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถวิเคราะห์ %DH ด้วยวิธี pH stat ได้ทุกตัวอย่างทันทีจึงมีการเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็น ซึ่งจะทำให้ผลการทดลอง ที่ได้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ จากภาพที่ 4.3.2 พบว่าสภาวะที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความ เข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม เมื่อไม่มีการเติมเอนไซม์ จะมีค่า %DH จากวิธี pH stat และ AN/TN ratio ต่ำกว่า เมื่อมีการเติมเอนไซม์ และที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละ ชนิดสูงขึ้นค่า %DH ไม่ได้แตกต่างกันมาก หรือ มีค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่ %DH ของหอยลายสกัดจาก ผงทำให้เนื้อนุ่มด้วยวิธี pH stat จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้นด้วย

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยอัลคาเลสคือ อุณหภูมิ 63 องศา เซลเซียส ความเข้มข้นของอัลคาเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์การเลือกสภาวะ ที่เหมาะสมจากค่า %DH จาก AN/TN ratio

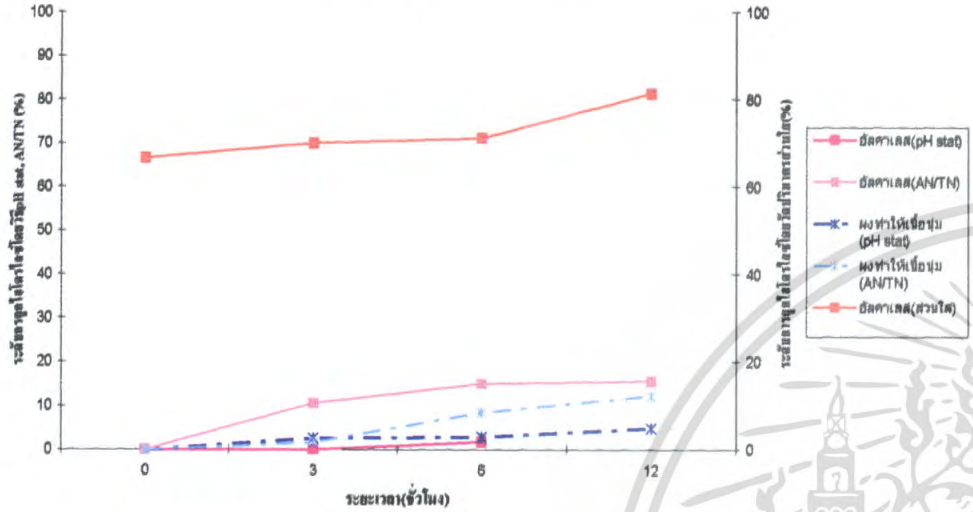
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.15 %  
ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนือนุ่ม



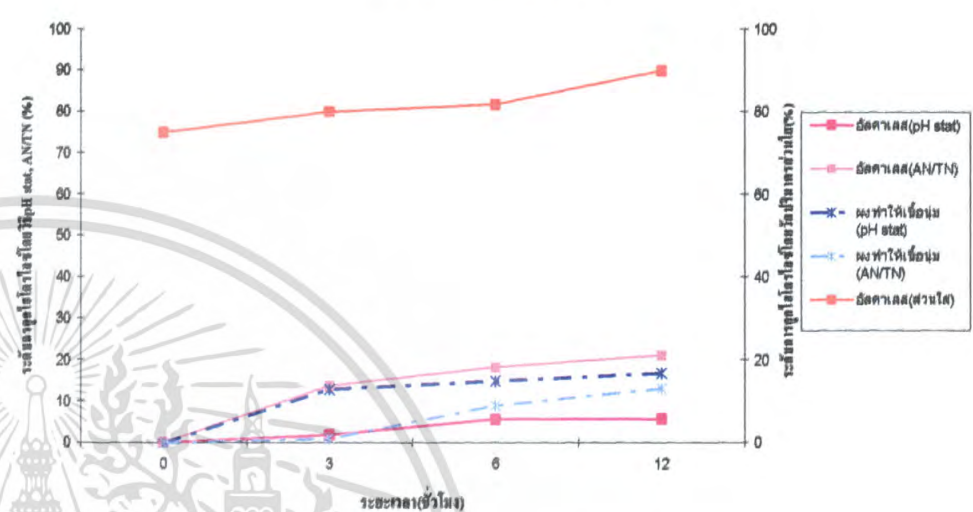
ภาพที่ 4.3.1 แสดง %DH จากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนือนุ่ม  
ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสและความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

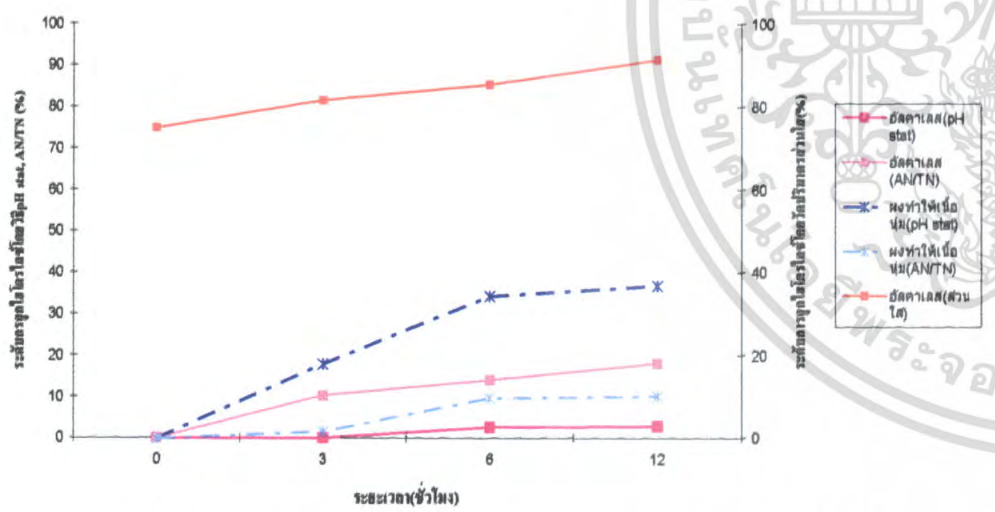
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0% ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



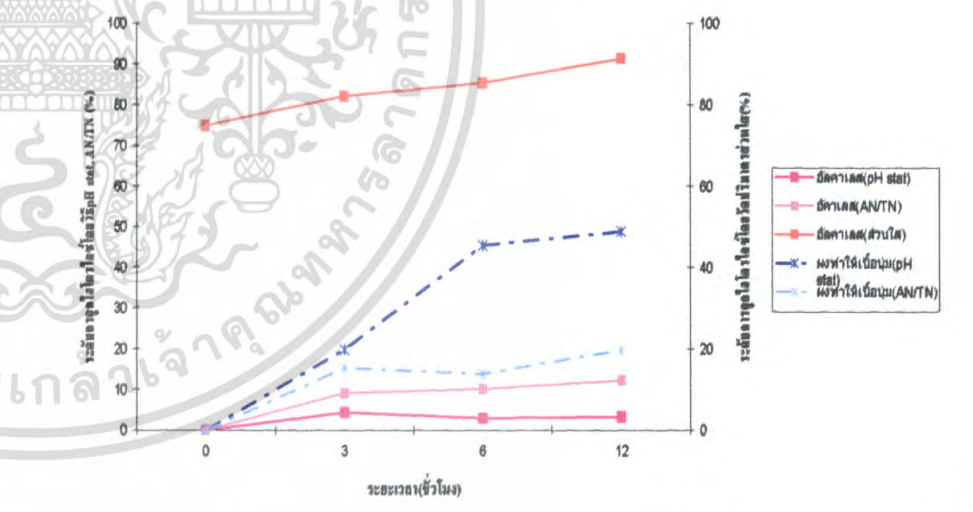
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.15 % ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.3 % ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.6 % ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



ภาพที่ 4.3.2 แสดง%DH จากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น ต่างๆ

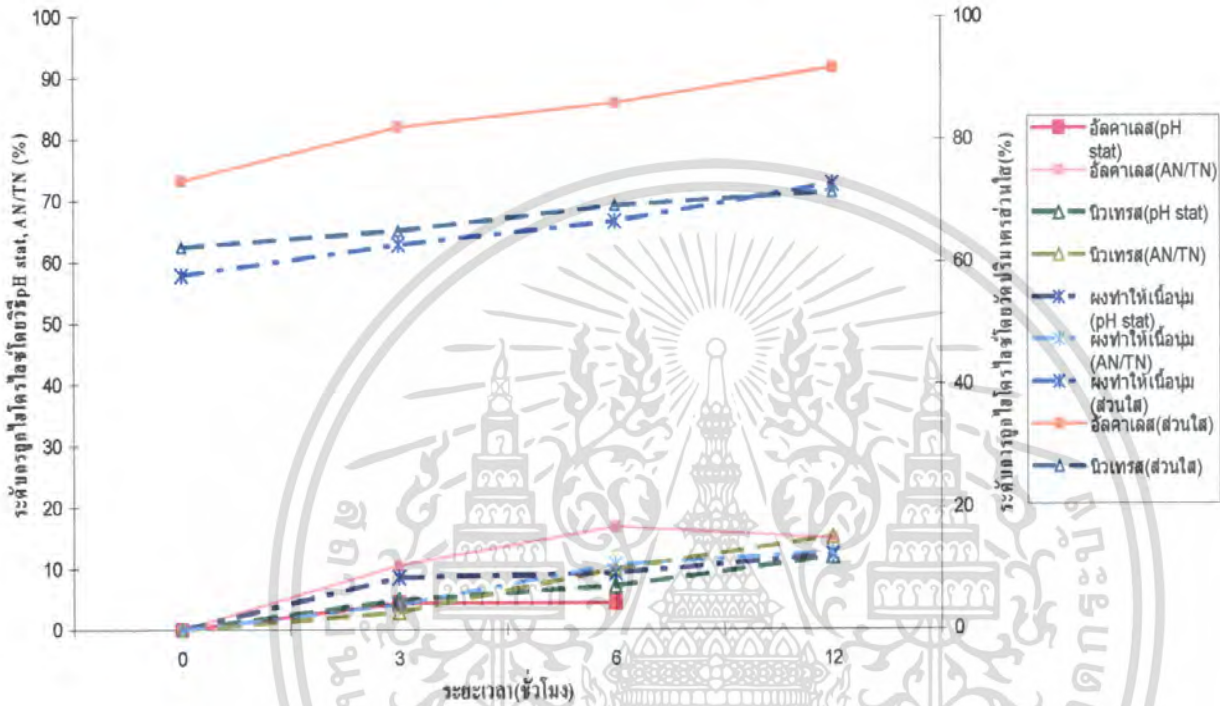
#### 4.3.2 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรส

จากการศึกษาพบว่าสถานะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์

นิวเทรส คือ สถานะที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นนิวเทรส 0.3 เปอร์เซ็นต์นาน 12 ชั่วโมง มี %DH จากการวัดปริมาตรของส่วนใสเท่ากับ 71.43เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวัดด้วยวิธี pH stat เท่ากับ 11.9เปอร์เซ็นต์ และ AN/TN ratio จะให้ค่ามากที่สุด คือ 15.1เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 4.3.3 พบว่าที่สถานะดังกล่าวนี้ค่า%DH ด้วยวิธีการวัดปริมาตรส่วนใส มีค่าใกล้เคียงกับผงทำให้เนื้อนุ่ม ส่วนการวัดด้วยวิธี pH stat และ AN/ TN ratio ค่าที่ได้จะมีค่าใกล้เคียงกัน และพบว่าที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง เกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ ทำให้ ค่า%DH จากวิธี pH stat จะมีค่าสูงมาก ดังนั้น หากต้องการใช้เอนไซม์นิวเทรสในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในหอยลายที่อุณหภูมิห้องควรใช้ระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์ที่สั้นลงหรือมีการเติมเกลือลงไปด้วย จากภาพที่ 4.3.4 พบว่าที่สถานะ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม เมื่อไม่มีการเติมเอนไซม์ จะมีค่า%DH ด้วยวิธี pH stat และ AN/TN ratio น้อยกว่าเมื่อมีการเติมเอนไซม์ แต่เมื่อมีการเติมเอนไซม์ %DH ที่ได้ไม่แตกต่างจากที่ไม่เติมเอนไซม์มากนัก และที่ความเข้มข้นของ เอนไซม์ที่สูงขึ้น%DH มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ส่วนการวัด%DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรส่วนใส พบว่าเมื่อไม่ มีการเติมเอนไซม์ค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน หากมีการเติมเอนไซม์โดยที่ความเข้มข้นสูงขึ้น %DH ที่ได้ค่อนข้างแตกต่างกัน

ดังนั้นสถานะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยนิวเทรส คือ สถานะที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นนิวเทรส 0.3เปอร์เซ็นต์ เป็นนาน 12 ชั่วโมง โดยสถานะที่เหมาะสมนี้ เกณฑ์การเลือกจากค่า%DH จาก AN/TN ratio เป็นหลัก ส่วนการวัดด้วย pH stat และวัดปริมาตร ส่วนใสเกณฑ์รองลงมา

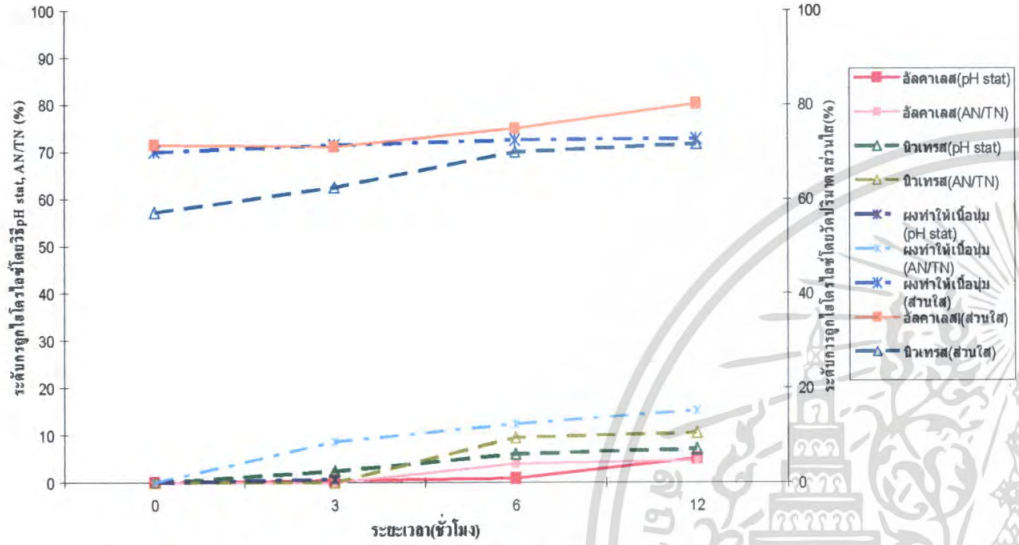
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.3% ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนือนุ่ม



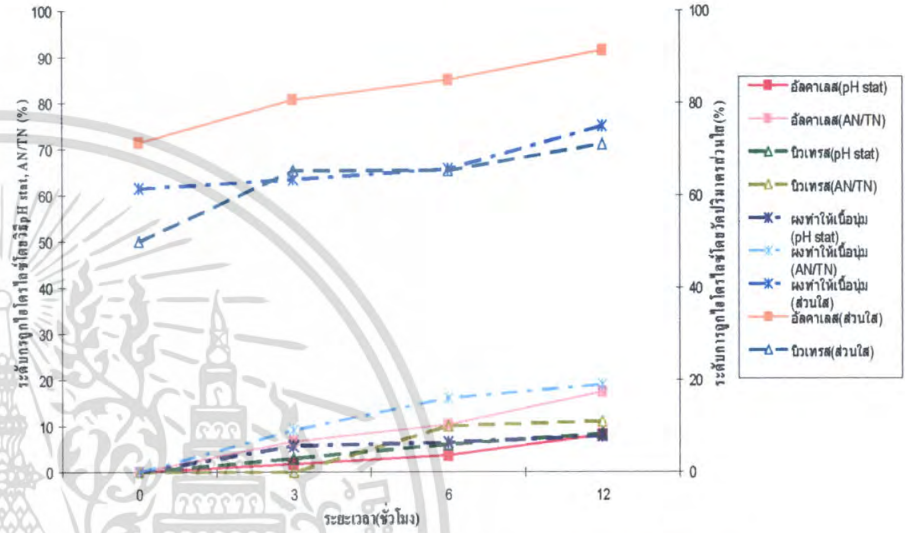
ภาพที่ 4.3.3 แสดง%DHจากวิธีต่างๆของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนือนุ่ม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

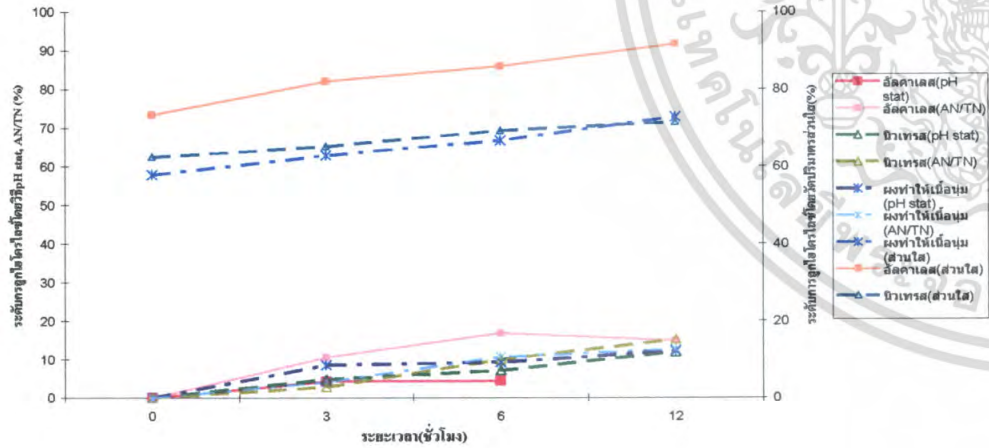
กราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0% ของ เอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



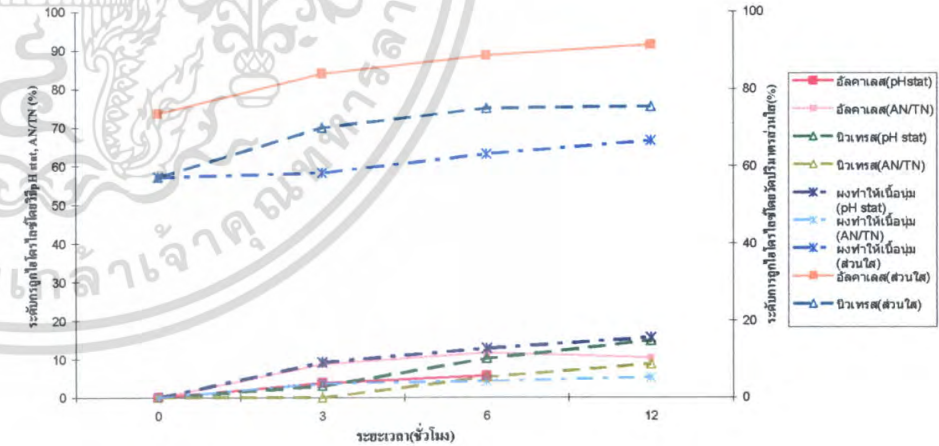
กราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.15% ของ เอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



กราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.3% ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม



กราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง% Degree of hydrolysis กับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.6% ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่ม

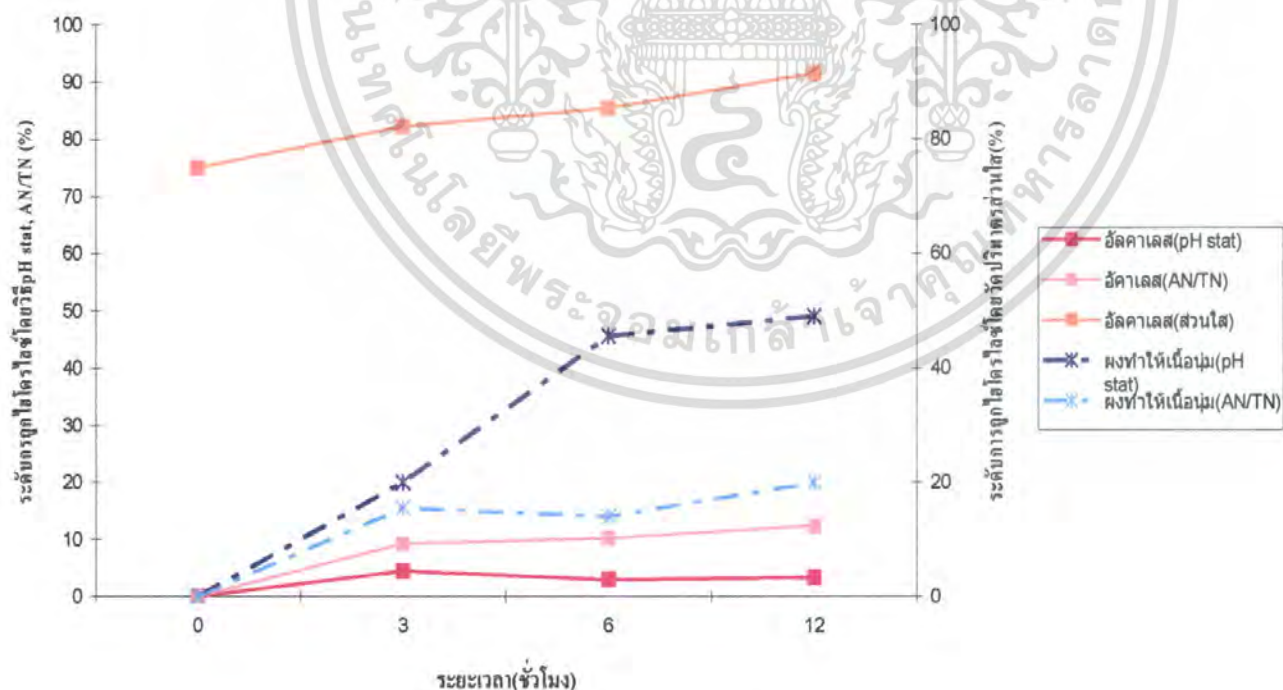


ภาพที่ 4.3.4 แสดง%DH จากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้อ่อนนุ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น ต่างๆ

### 4.3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม(meat tenderizers)

จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม คือ สภาวะที่ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นผงทำให้เนื้อนุ่ม 0.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 ชั่วโมง ซึ่งจะมีค่า %DH จากวิธี pH stat จะมีค่าที่มากที่สุด คือ 49 เปอร์เซ็นต์ ส่วน ค่า AN/TN ratio จะให้ค่ามากที่สุด คือ 19.9เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 4.3.5 พบว่าที่สภาวะดังกล่าว ค่า%DH ด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม จากวิธี pH stat และ ค่า AN/TN ratio มีค่ามากกว่าเอนไซม์ตัวอื่น(เอนไซม์อัลคาเลส)ในสภาวะเดียวกัน กล่าวคือ ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสไม่ได้ทำการทดลองเอนไซม์นิวเทรส ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม คือ สภาวะที่ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น0.6เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์การเลือกสภาวะที่เหมาะสมจาก ค่า%DH จาก AN/TN ratio เป็นเกณฑ์หลัก ส่วนการวัดด้วยวิธี pH stat จะเป็นเกณฑ์รองลงมา

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง%Degree of hydrolysisกับระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสที่ความเข้มข้น 0.6 % ของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม



ภาพที่ 4.3.5 แสดง%DH จากวิธีต่าง ๆ ของหอยลายสกัด ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อ

นุ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น0.6 เปอร์เซ็นต์

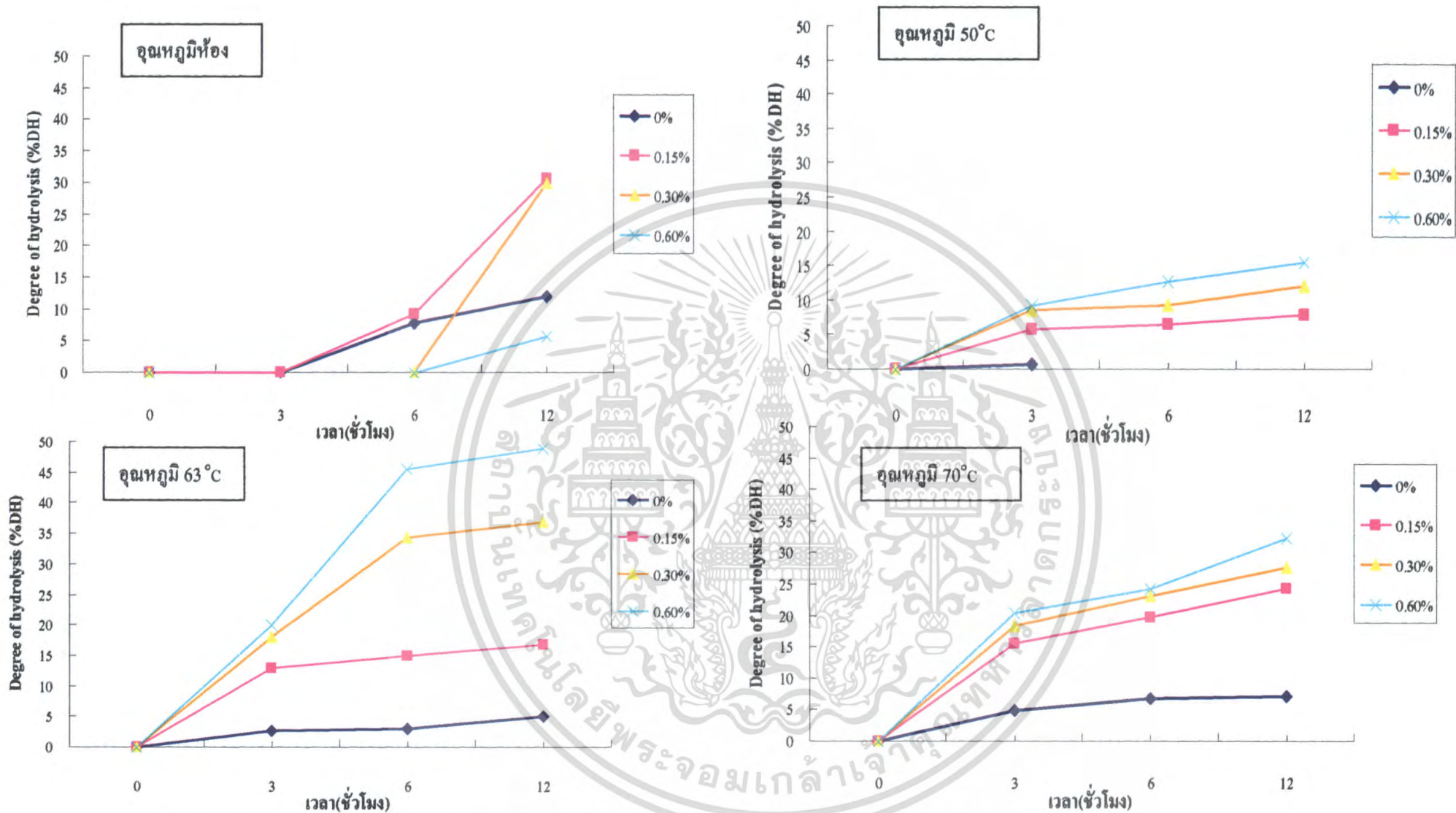
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 การวิเคราะห์หอยลายสกัด

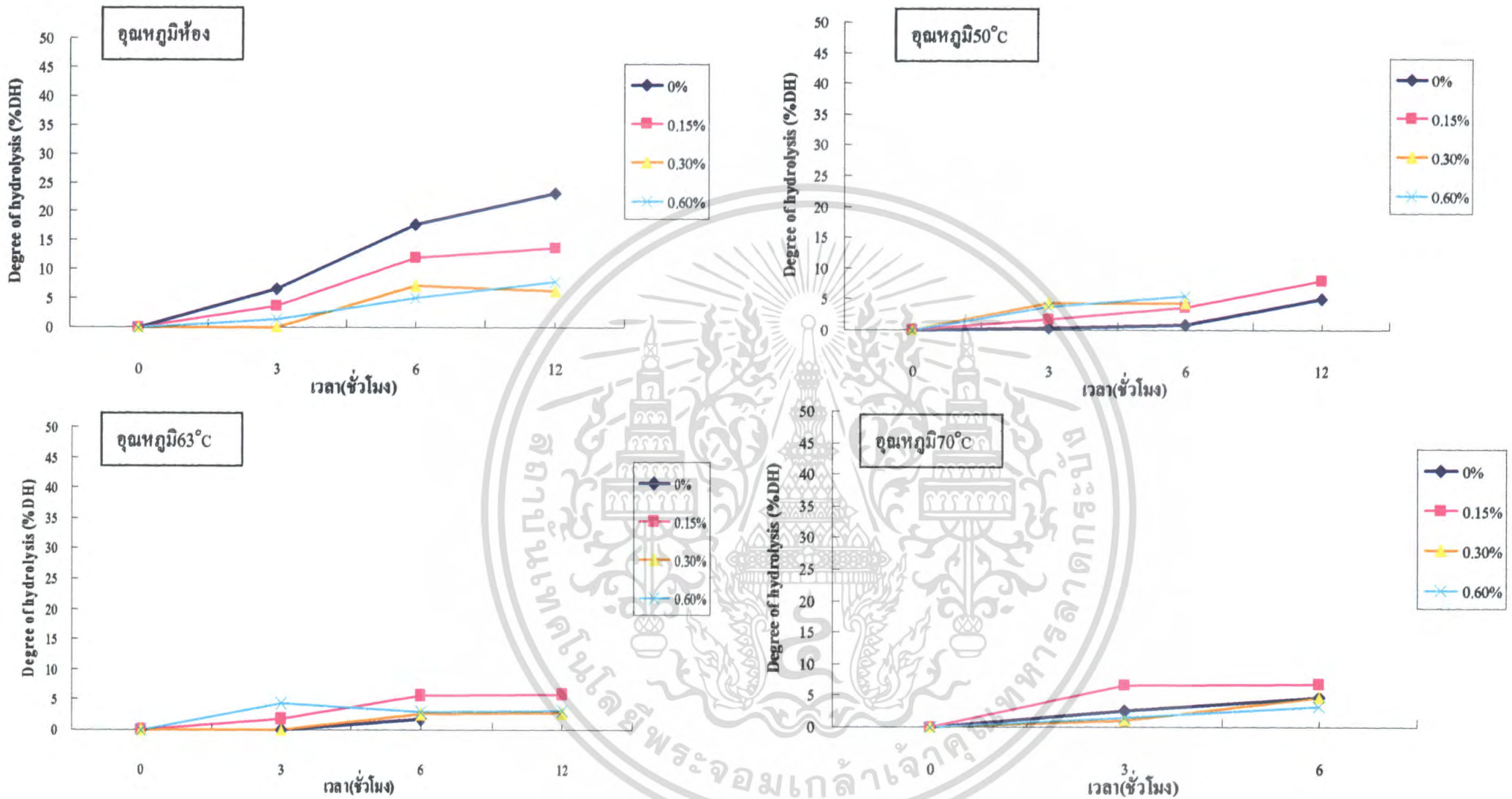
4.4.1 วิเคราะห์%DHของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม ด้วยวิธี pH-stat พบว่าจากการทดลองเมื่อเก็บตัวอย่างหอยลายสกัด ที่สภาวะต่าง ๆ ของเอนไซม์แต่ละชนิด ควรวิเคราะห์ %DH ด้วยวิธี pH stat แทนที่ เพราะถ้าเก็บไว้อาจมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้ แต่พบว่าการทดลองบางครั้งไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันทีทุกตัวอย่างจึงต้องเก็บตัวอย่างไว้อุณหภูมิต่ำเย็น ทำให้ค่าที่วิเคราะห์อาจคลาดเคลื่อนได้ จากการวิเคราะห์%DH ด้วยวิธี pH stat ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดที่ต่างกันค่าจะแตกต่างกันโดยขึ้นกับอุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์ ซึ่งค่า%DHจากวิธีนี้สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิดได้ แต่ควรใช้วิธีอื่นร่วมด้วย เนื่องการวิธีนี้ไม่จำเพาะคือ ถ้าหากมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดได้ ค่า%DH ที่ได้จะรวมกรดที่จุลินทรีย์ผลิตด้วย จึงไม่ใช่ค่าที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายอย่างแท้จริง แต่วิธีนี้สะดวก รวดเร็ว จึงเหมาะสำหรับไว้ตรวจสอบติดตามการไฮโดรไลซ์โปรตีน ขณะที่ทำการไฮโดรไลซ์โปรตีน เพื่อให้ได้ %DH ที่ต้องการ

จากภาพที่ 4.4.1 พบว่า หอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม %DH ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นผงทำให้เนื้อนุ่ม 0.6 เปอร์เซ็นต์จะมีค่ามากกว่าที่อุณหภูมิต่ำและความเข้มข้นอื่น โดยที่อุณหภูมิต่ำ %DH มีค่าน้อยสุดและใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการไฮโดรไลซ์เป็น 50 , 63 และ 70 องศาเซลเซียส %DH ด้วยวิธี pH stat จะมีค่าแตกต่างกันอย่างชัดเจนมากขึ้น พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น ที่อุณหภูมิต่ำค่าหนึ่ง ค่า%DH ด้วยวิธี pH stat จะมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมของผงทำให้เนื้อนุ่มในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลาย เพื่อผลิตหอยลายสกัดคือ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ 12 ชั่วโมง ซึ่งใช้เกณฑ์การเลือกสภาวะจาก ค่า%DH ด้วยวิธี pH stat จากภาพที่ 4.4.2 พบว่า%DH ของหอยลายสกัดด้วยอัลคาเลส เมื่อไม่เติมเอนไซม์ ที่อุณหภูมิต่ำ จะมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นอื่นเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายตัวเอง (autolysis enzyme) ที่อยู่ตามกล้ามเนื้อหรือเนื้อเยื่อของหอยลาย เอนไซม์นี้ทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิต่ำ และ autolysis enzyme ไม่ทนความร้อนจะเห็นว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น%DHจะมีค่าน้อยลง ดังนั้น%DH จากการวัด pH stat จะบอกให้ทราบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการไฮโดรไลซ์โปรตีนในหอยลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส คือ อุณหภูมิ 63 หรือ 70 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.15 เปอร์เซ็นต์ และเวลาที่ 6 หรือ 12 ชั่วโมง ไม่สามารถระบุสภาวะที่เฉพาะเจาะจงได้เนื่องจากค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน จึงต้องอาศัยการวัด%DHวิธีอื่น ๆ ร่วมด้วย จากภาพที่ 4.4.3 พบว่า%DH ด้วยวิธี pH stat จะมีใกล้เคียงกันเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ที่อุณหภูมิต่ำที่เวลา 12 ชั่วโมงจะเกิดการเน่าจากจุลินทรีย์จึงไม่นำมาคำนวณ ดังนั้นที่อุณหภูมิต่ำ ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.3 เปอร์เซ็นต์จะให้ค่า%DH ด้วยวิธี pH stat มากกว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

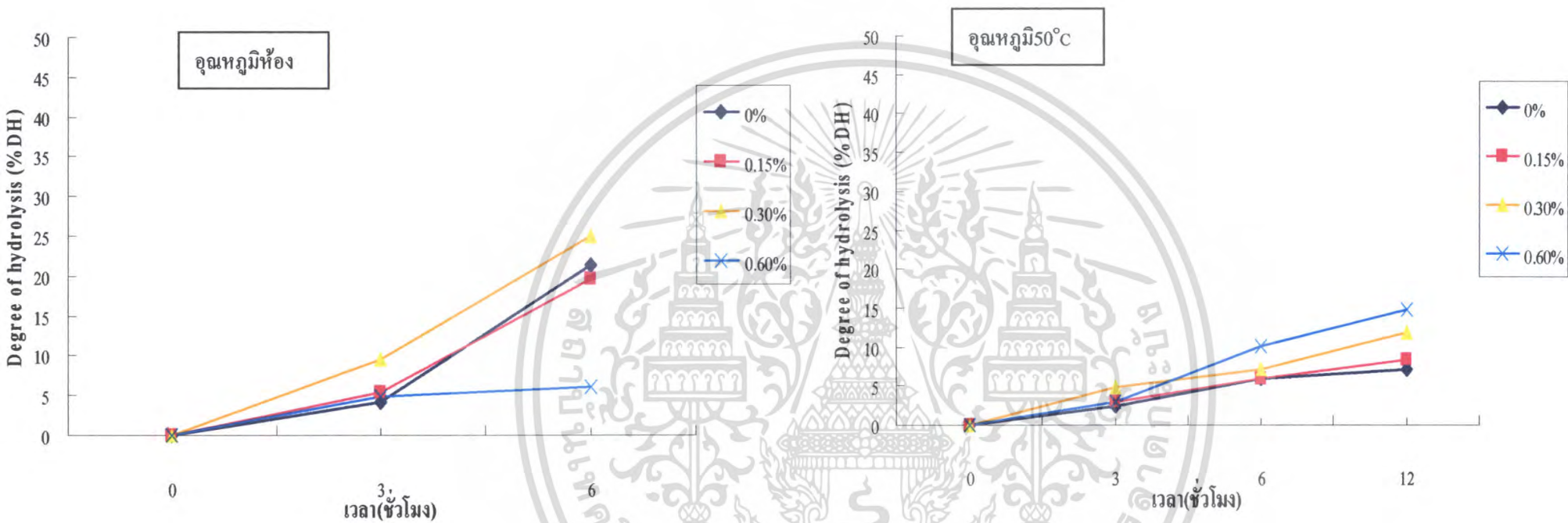
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



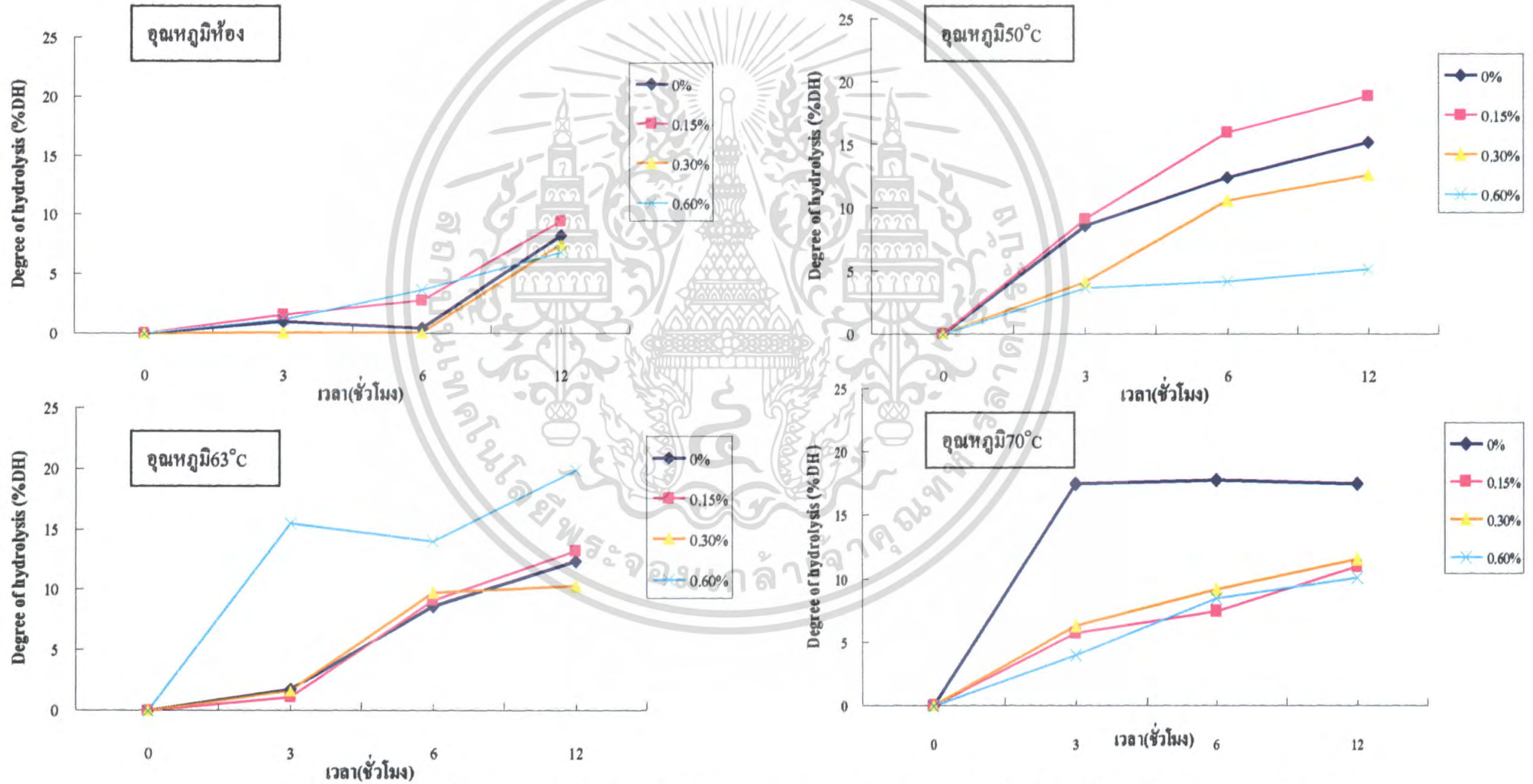
ภาพที่ 4.4.1 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วยวิธี pH stat ของผงทำให้เนื้อมูม ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ



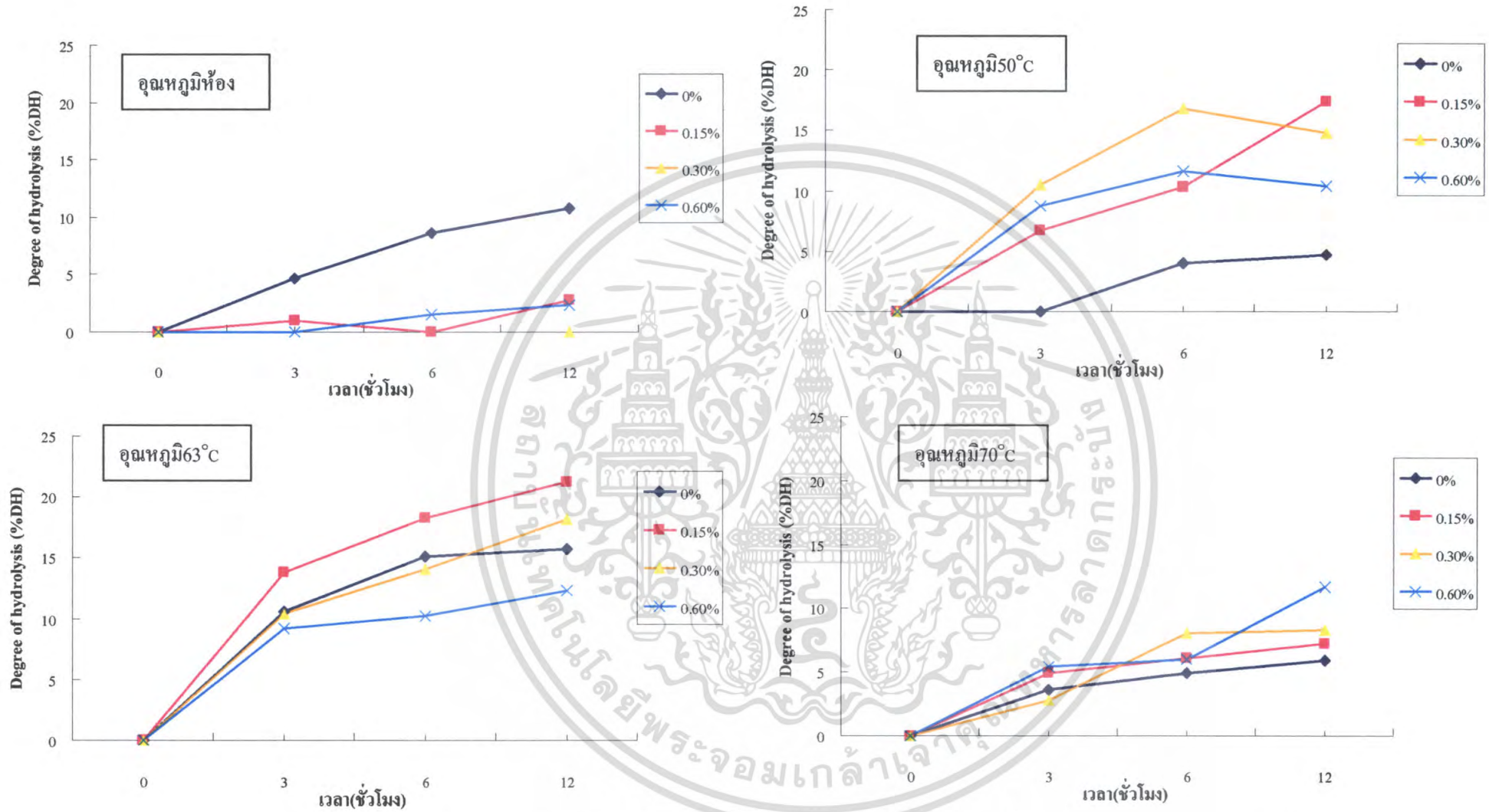
ภาพที่ 4.4.2 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์อัลคาเลส ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ



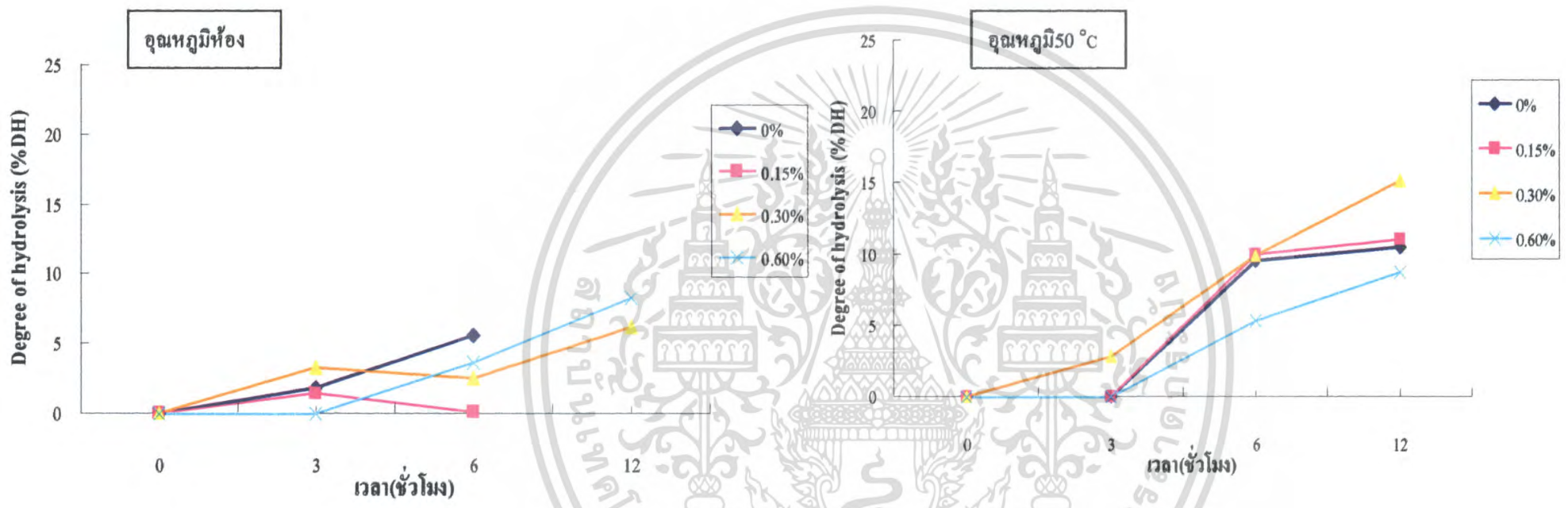
ภาพที่ 4.4.3 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์นิวเทรส ที่เวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 4.4.4 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH จากค่า AN/TN ratioของผงทำให้เนื้อมูม ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ



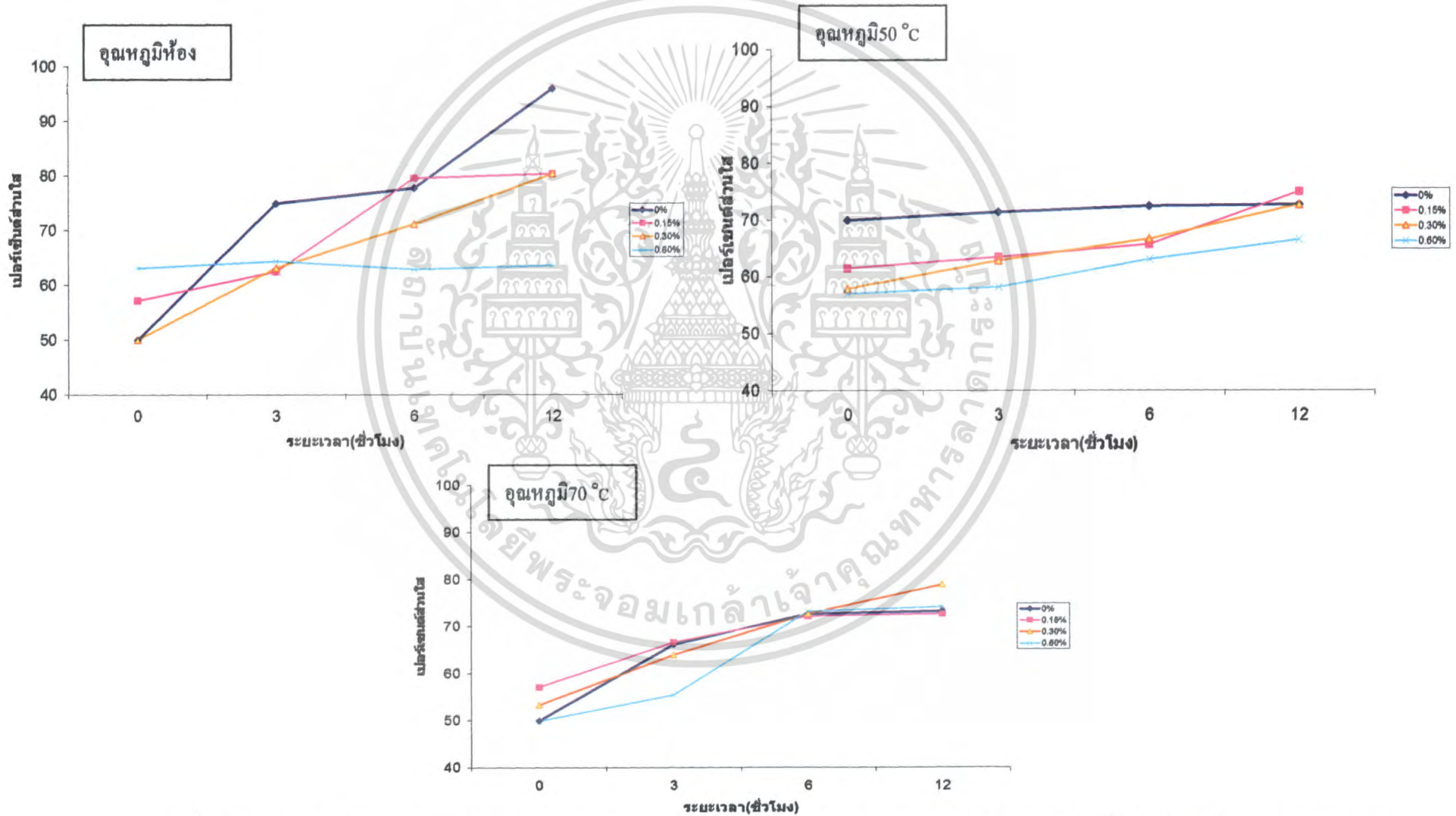
ภาพที่ 4.4.5 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH จากค่า AN/TN ratioของเอนไซม์อัลคาเลส ที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ



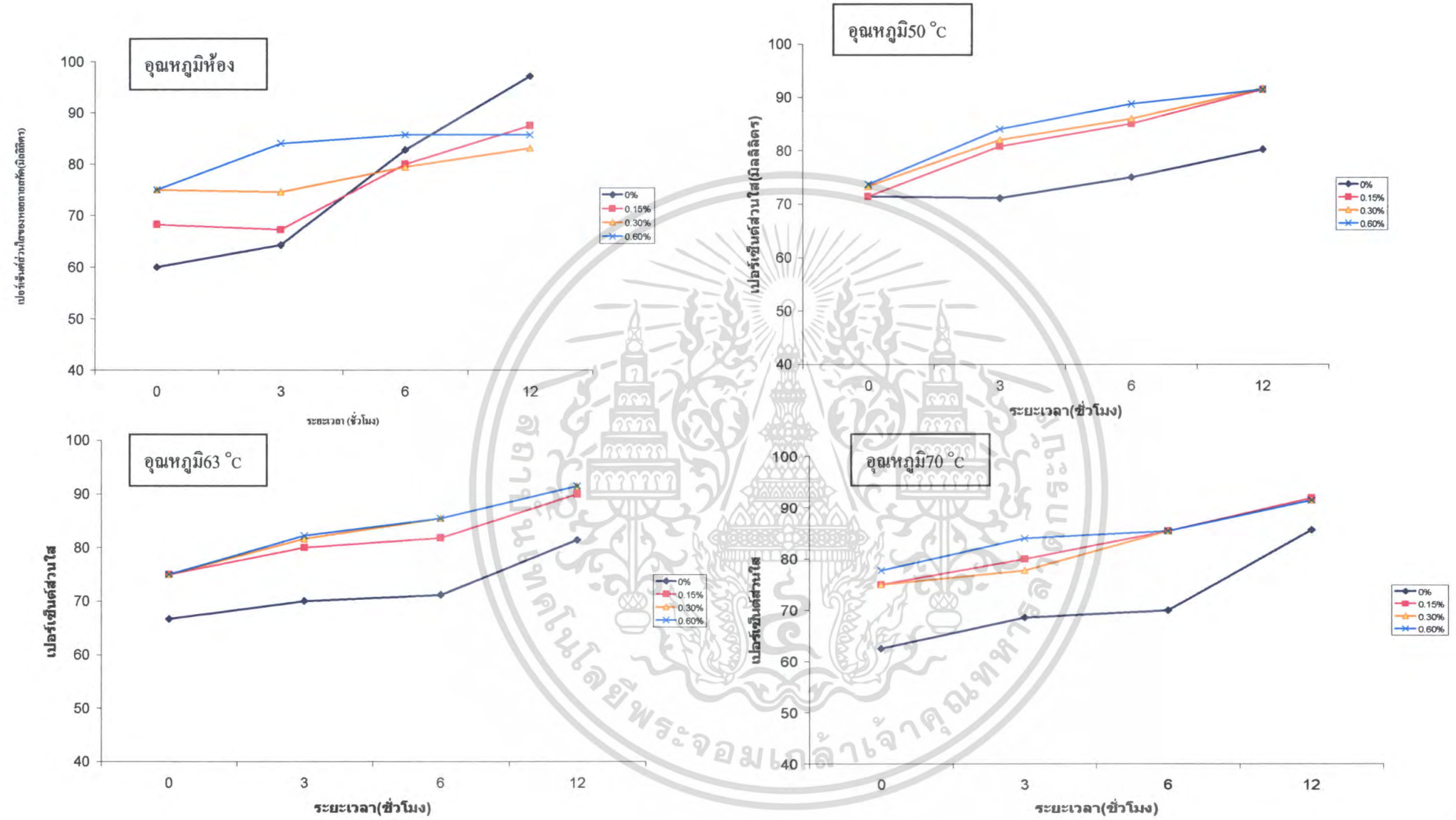
ภาพที่ 4.4.6 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์นิวเทรต ที่เวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่างๆ

4.4.3 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม ด้วยวิธี การวัดปริมาตรส่วนใส พบว่าการวิเคราะห์นี้เป็นวิธีทางกายภาพ วัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดที่ได้ในแต่ละสภาวะของเอนไซม์แต่ละชนิด แล้วคำนวณเป็นลักษณะของเปอร์เซ็นต์ส่วนใส ค่าที่ได้จะบ่งบอก %DH ในรูปของส่วนที่ไม่ละลาย(insoluble) กลายเป็นส่วนที่ละลายได้(soluble) ขั้นตอนการวิเคราะห์จะไม่ยุ่งยาก สะดวก แต่ค่าที่ได้จะไม่จำเพาะเท่ากับการวัด %DH จาก AN/TN ratio ในการศึกษาครั้งนี้ในระหว่างการเก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0 การเขย่าตัวอย่างไม่ทั่วถึงก่อนจะเก็บตัวอย่างทำให้เปอร์เซ็นต์ปริมาตรส่วนใสที่ได้ที่ 0 ชั่วโมงจะมีค่าไม่เท่ากัน

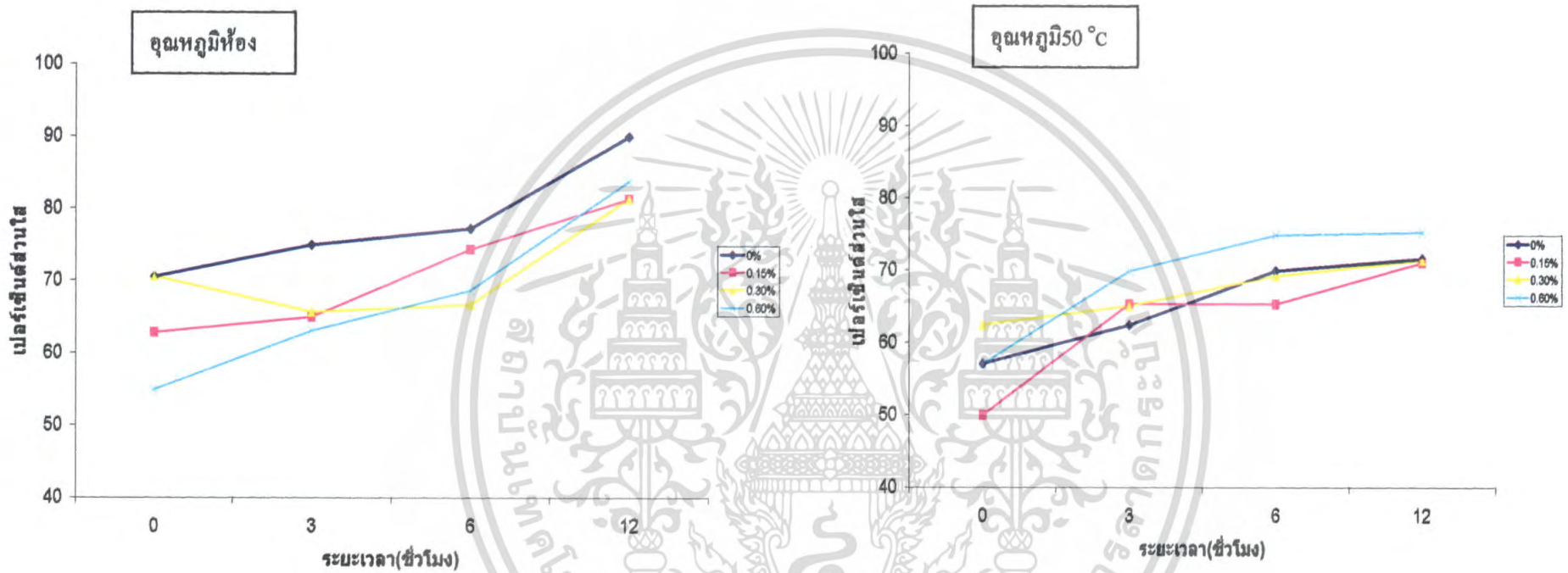
จากภาพที่ 4.4.7 พบว่าหอยลายสกัดจากผงทำให้เนื้อนุ่ม เมื่อ ไม่มีการเติมผงทำให้เนื้อนุ่ม ที่อุณหภูมิห้อง%DH ที่วัดจากปริมาตรส่วนใส จะมีค่าสูงกว่าเมื่อมีการเติมผงทำให้เนื้อนุ่มแสดงว่า autolysis enzyme สามารถทำงาน ได้ดีที่อุณหภูมิห้อง แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นการทำงาน จะลดลง หากต้องการให้ autolysis enzyme ทำงาน ได้ดีควรใช้อุณหภูมิห้องในการไฮโดรไลซ์ จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในหอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่มนั้น พบว่า เมื่อมีการเติมหรือไม่เติมผงทำให้เนื้อนุ่ม% DH จากการวัดปริมาตรส่วนใส มีค่าใกล้เคียงกัน ในทุกอุณหภูมิ จากภาพที่ 4.4.8 พบว่า%DH ที่วัดจากปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดด้วยอัลคาเลส ที่อุณหภูมิห้องAutolysis enzyme สามารถทำงาน ได้ดีกว่าเอนไซม์อัลคาเลส และพบว่า%DH ของหอยลายสกัดจาก เอนไซม์อัลคาเลสจะมีค่าใกล้เคียงกันในทุกอุณหภูมิ ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมควรเลือก ความเข้มข้นอัลคาเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์เพราะปริมาตรส่วนใสที่ได้ไม่ได้แตกต่างจาก 0.6 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิสามารถใช้ได้ทั้ง 50,63 และ 70 องศาเซลเซียสดังนั้นหากจะเลือกสภาวะที่เหมาะสมจะนำค่า pH stat และ AN/TN ratio มาช่วยในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากภาพที่ 4.4.9 พบว่า%DH ที่วัดจากปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดจาก เอนไซม์นิวเทรส ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าสูงกว่า ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเล็กน้อย แสดงว่าAutolysis enzyme สามารถทำงาน ได้ดีกว่าเอนไซม์นิวเทรส แต่จะไม่นำค่าที่ 12 ชั่วโมงมาเปรียบเทียบเนื่องจากมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์เกิดการเน่าเสียซึ่งปริมาตรที่เพิ่มขึ้นอาจมาจากการไฮโดรไลซ์โปรตีนด้วยจุลินทรีย์ไม่ใช่การไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์อย่างเดียว เนื่องจากมีการเติมหรือไม่เติมเอนไซม์นิวเทรส%DHที่ วัดจากปริมาตรส่วนใส มีค่าใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกัน จึงไม่สามารถระบุได้ว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ สภาวะใด



ภาพที่ 4.4.7 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DH ด้วย การวัดปริมาณส่วนในน้ำของหอยลายสกัดด้วยผงทำให้เนื้อนุ่มที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ



ภาพที่ 4.4.8 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง%DW ด้วยการวัดปริมาตรส่วนของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่เวลาต่าง ๆ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ



ภาพที่ 4.4.9 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วย การวัดปริมาณส่วนของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์นิวเทรลที่เวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิต่างๆ

#### 4.5 สังเกตลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัด

การสังเกต สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทางการค้า และผงทำให้เนื้อนุ่มนั้นจะพบว่าสีของหอยลายสกัดที่ได้จะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของเอนไซม์และอุณหภูมิในระหว่างการใช้ไฮโดรไลซ์ด้วยเช่นถ้าอุณหภูมิสูง อาจเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในหอยลายสกัดได้ จะมีสีมีสีน้ำตาล ส่วนกลิ่นของหอยลายสกัดจะสังเกตจากกลิ่นคาวของหอยลายสกัดลดลง หรือว่ายังคงอยู่ และรสของหอยลายสกัดเทียบกับรสของผงหอย คือ รสอร่อย(รสเนื้อ) แต่การทดสอบครั้งนี้ผู้ที่ทำการทดสอบคือ ผู้ที่ทำการศึกษาคือจะเป็นการสังเกตเบื้องต้น โดยจากการศึกษา(ตารางที่ 4.5.1) พบว่า โดยรวมแล้วสีของหอยลายสกัดที่ได้จะมีสีเขียว เหลือง จนมีสีน้ำตาลโดยสภาวะในการไฮโดรไลซ์คืออุณหภูมิจะมีผลต่อสีของหอยลายสกัดที่ได้ด้วย และสีของเอนไซม์แต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษาก็มีผลต่อสีของหอยลายสกัด

ระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์ถ้าระยะเวลาขึ้นสีจะเปลี่ยนแปลงเป็นสีที่เข้มขึ้นหรืออ่อนลงได้ กลิ่นคาวพบว่าโดยรวมยังมีกลิ่นคาวของหอยลายที่ค่อนข้างเยอะแต่จะแตกต่างกันถ้าใช้ผงทำให้เนื้อนุ่มกลิ่นคาวที่ได้จะมีกลิ่นคาวและเค็มรวมอยู่ด้วย ส่วนถ้าเป็นเอนไซม์อัลคาเลสมีกลิ่นคาวบางครั้งจะมีกลิ่นขมปนมาด้วย อาจเนื่องจาก%DHมากอาจได้กรดอะมิโนที่มีกลิ่นรสขมได้ ส่วนถ้าเป็นเอนไซม์นิวเทรสกลิ่นคาวจะน้อยกว่าเอนไซม์ตัวอื่น แต่โดยรวมแล้วถือว่ายังมีกลิ่นคาวของหอยลายค่อนข้างมากในหอยลายสกัด

สำหรับรสของหอยลายสกัดเมื่อเทียบกับผงหอย พบว่าโดยรวมแล้วเอนไซม์อัลคาเลสจะให้หอยลายสกัดที่มีรสเนื้อ(รสอร่อย)ที่มากกว่าเอนไซม์นิวเทรสและผงทำให้เนื้อนุ่ม ส่วนเอนไซม์นิวเทรสจะให้รสน้อยที่สุด และผงทำให้เนื้อนุ่มจะให้รสเนื้อในระดับปานกลาง ซึ่งในการทดสอบด้านรสของหอยลายสกัดนั้นเมื่อชิมรสของหอยลายสกัดจากผงทำให้เนื้อนุ่มจะพบว่ารสเค็มจะเด่นมากกว่ารสเนื้อทำให้เป็นอุปสรรคในการชิม เนื่องจากผงทำให้เนื้อนุ่มจะมีองค์ประกอบเป็นเกลือเป็นส่วนใหญ่ และถ้าหอยลายสกัดมีกลิ่นคาวมากจะพบว่ามีรสเนื้อมากเช่นกัน

ตารางที่ 4.5.1 แสดงลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสัปดาห์ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในหอย  
ลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ (°C)

อุณหภูมิ (°C)	ชนิดเอนไซม์	เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นเอนไซม์ (%)	สี	กลิ่น	รส	
ห้อง	ผงทำให้เนื้อนุ่ม	0	0%	เหลืองอ่อน	+	+	
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	++	
			0.30%	เหลืองอ่อน	++	++	
			0.60%	เหลืองอ่อน	++	++	
		3	0%	เหลืองอ่อน	+	+	
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	+	
			0.30%	เหลืองอ่อน	+	++	
			0.60%	เหลืองอ่อน	+	++	
		6	0%	เหลืองอ่อน	+	+	
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	++	
			0.30%	เหลืองปานกลาง	+	+	
			0.60%	เหลืองปานกลาง	+	+	
		12hr	0%	เหลืองอ่อน	+	+	
			0.15%	เหลืองอ่อน	+++	+	
			0.30%	เหลืองอ่อน	+++	+	
			0.60%	เขียวปานกลาง	++	+	
	50	ผงทำให้เนื้อนุ่ม	0	0%	เหลืองอ่อน	+	+
				0.15%	เขียวอ่อน	+	+
				0.30%	เขียวอ่อน	+	++
				0.60%	เขียวอ่อน	++	++
		3	0%	เหลืองอ่อน	+	+	
			0.15%	เขียวอ่อน	++	+	
			0.30%	เขียวอ่อน	++	++	
			0.60%	เขียวอ่อน	++	++	
		6	0%	เหลืองปานกลาง	++	+	
			0.15%	เขียวปานกลาง	++	+	
			0.30%	เขียวปานกลาง	+	+	
			0.60%	เขียวปานกลาง	+	++	
		12	0%	เหลืองปานกลาง	+	+	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

			0.15%	เหลืองปานกลาง	+	++
			0.30%	เหลืองเข้ม	+	++
			0.60%	เหลืองเข้ม	+	+++
63	ผงทำให้เนือนุ่ม	0	0%	เหลืองอ่อน	++	+
			0.15%	เหลืองอ่อน	++	+
			0.30%	เหลืองอ่อน	++	++
			0.60%	เหลืองปานกลาง	+	++
		3	0%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.15%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.30%	เหลืองปานกลาง	++	+
			0.60%	เหลืองปานกลาง	++	+
		6	0%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.15%	เหลืองปานกลาง	+	++
			0.30%	เหลืองปานกลาง	++	+++
			0.60%	เหลืองปานกลาง	++	+++
		12	0%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.15%	เหลืองปานกลาง	+	++
			0.30%	เหลืองเข้ม	++	+++
			0.60%	เหลืองเข้ม	++	+++
70	ผงทำให้เนือนุ่ม	0	0%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.30%	เหลืองอ่อน	++	+
			0.60%	เหลืองปานกลาง	+	+
		3	0%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.15%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.30%	เหลืองปานกลาง	+	++
			0.60%	เหลืองปานกลาง	++	++
		6	0%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.15%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.30%	เหลืองเข้ม	++	++
			0.60%	เหลืองปานกลาง	++	++
		12	0%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.15%	เหลืองปานกลาง	++	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

			0.30%	เหลืองปานกลาง	++	++
			0.60%	เหลืองเข้ม	++	++
ห้อง	อัลคาเลส	0	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	++	++
			0.60%	น้ำตาลอ่อน	+++	+++
		3	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	++	++
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	++	++
			0.60%	น้ำตาลอ่อน	++	+++
		6	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+	++
			0.30%	น้ำตาลปานกลาง	+	+++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	++	+++
		12	0%	น้ำตาลอ่อน	+	++
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+,ข	++,ข
			0.30%	น้ำตาลปานกลาง	+,ข	+++,ข
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	+++,ข	+,ข
50	อัลคาเลส	0	0%	น้ำตาลอ่อน	++	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	++	+
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	+	++
			0.60%	น้ำตาลอ่อน	+	++
		3	0%	น้ำตาลอ่อน	+	++
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+	++
			0.30%	น้ำตาลปานกลาง	+	++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	+,ข	+
		6	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+,ข	++
			0.30%	น้ำตาลปานกลาง	+,ข	+++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	++,ข	++
		12	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลปานกลาง	+	++
			0.30%	น้ำตาลเข้ม	++	++

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

			0.60%	น้ำตาลเข้ม	++	+
63	อัลคาเลส	0	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	+	++
			0.60%	น้ำตาลอ่อน	++	++
		3	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	++	+
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	++	+
			0.60%	น้ำตาลปานกลาง	++	+++
		6	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	++	++
			0.30%	น้ำตาลปานกลาง	+,ข	++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	++,ข	++
		12	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลปานกลาง	++	+
			0.30%	น้ำตาลเข้ม	++	++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	+,ข	+++
70	อัลคาเลส	0	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	+++	++
			0.60%	น้ำตาลอ่อน	+++	++
		3	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	++	+
			0.30%	น้ำตาลอ่อน	++	++
			0.60%	น้ำตาลปานกลาง	+++	++
		6	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.30%	น้ำตาลปานกลาง	+,ข	++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	++,ข	+++
		12	0%	น้ำตาลอ่อน	+	+
			0.15%	น้ำตาลปานกลาง	+	++
			0.30%	น้ำตาลเข้ม	++	+++
			0.60%	น้ำตาลเข้ม	++	++

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญเตเห็นาเบใช้บระเออขนดานการค้  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้อง	นิวเทรต	0	0%	เขียวอ่อน	+	+
			0.15%	เขียวอ่อน	+	+
			0.30%	เขียวอ่อน	+	+
			0.60%	เขียวอ่อน	+	++
		3	0%	เขียวอ่อน	+	+
			0.15%	เขียวอ่อน	+	+
			0.30%	เขียวอ่อน	+	++
			0.60%	เขียวอ่อน	+	++
		6	0%	เขียวอ่อน	+	+
			0.15%	เขียวอ่อน	+	+
			0.30%	เขียวอ่อน	+	+
			0.60%	เขียวอ่อน	++	++
		12	0%	เขียวอ่อน	+	+
			0.15%	เขียวอ่อน	+	+
			0.30%	เขียวอ่อน	+	+
			0.60%	เขียวอ่อน	+	+
50	นิวเทรต	0	0%	เขียวอ่อน	+	+
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.30%	เหลืองอ่อน	++	++
			0.60%	เหลืองอ่อน	++	+
		3	0%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.30%	เหลืองอ่อน	++	++
			0.60%	เหลืองปานกลาง	++	++
		6	0%	เหลืองอ่อน	++	+
			0.15%	เหลืองอ่อน	++	+
			0.30%	เหลืองปานกลาง	+	+
			0.60%	เหลืองปานกลาง	+	++
		12	0%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.15%	เหลืองอ่อน	+	+
			0.30%	เหลืองปานกลาง	++	++
			0.60%	เหลืองเข้ม	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## หมายเหตุ

เครื่องหมาย	กลิ่น
+	กลิ่นคาวน้อย
++	กลิ่นคาวปานกลาง
+++	กลิ่นคาวแรง
ข	กลิ่นขม
เครื่องหมาย	รสชาติเทียบกับผงชูรส
+	รสเนื้อปริมาณน้อย
++	รสเนื้อปริมาณปานกลาง
+++	รสเนื้อปริมาณมาก
ข	มีรสขม

### 4.6 ต้นทุนในการผลิตซอสจากหอยลายสกัด

จากการทดลอง พบว่าเนื้อหอยลาย 1 ก.ก. เมื่อไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่สภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งจะให้หอยลายสกัด = 900 มิลลิลิตร ดังนั้นสามารถคิดต้นทุนในการผลิตหอยลายสกัดเพื่อผลิตเป็นซอสดังนี้

เนื้อหอย 100 กรัม ได้หอยลายสกัด 90 มิลลิลิตร (หอยลาย 1 ก.ก. ได้เนื้อหอยลาย 200 กรัม)

ถ้าเนื้อหอยลาย 1 ก.ก. ได้หอยลายสกัด 900 มิลลิลิตร คิดเป็นเงิน 400 บาท (หอยลาย 1 ก.ก.80 บาท)

ซอสหอยมีหอยสกัด 30 % (ถ้าซอส 1 ก.ก. จะมีหอยสกัด 300 กรัม)

ถ้าหอยลายสกัด 900 มิลลิลิตร คิดเป็นเงิน 400 บาท

หอยลายสกัด 300 มิลลิลิตร คิดเป็นเงิน 133.3 บาท

ซอสหอยขวดเล็กปริมาตร 340 มิลลิลิตร มีหอยสกัด 30 %

ปริมาตรหอยลายสกัด 300 มิลลิลิตร คิดเป็นเงิน 133.3 บาท

ถ้าปริมาตรหอยลายสกัด 102 มิลลิลิตร คิดเป็นเงิน 45.3 บาท

แต่ปกติราคาหอยลายในฤดูที่มีหอยลายเยอะ ราคาต่อกิโลกรัมของหอยลายจะอยู่ที่ประมาณ -3 บาทต่อก.ก. ดังนั้นต้นทุนเมื่อใช้หอยลายเป็นวัตถุดิบในการผลิตซอส ต้นทุนของหอยลายต่อขวด (ขวดเล็ก) คือ 14-17 บาท

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 1 สรุปผลการทดลอง

1.1 จากผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายของเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม เมื่อพิจารณาระดับการไฮโดรไลซ์(%DH) โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ AN/TN ปริมาตรส่วนใส และ pH-stat เพื่อใช้ผลิตหอยลายสกัดพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม(meat tenderizers) คือ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมง เนื่องจากให้ % DH คือ เปอร์เซ็นต์ AN/TN เท่ากับ 19.9 เปอร์เซ็นต์ และ pH-stat 49 เปอร์เซ็นต์ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์นิวเทรส คือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมง เนื่องจากให้ค่า %DH คือ เปอร์เซ็นต์ AN/TN เท่ากับ 15.1 เปอร์เซ็นต์ pH-stat 11.9 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรส่วนใส 71.43 เปอร์เซ็นต์ และสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส คือ อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมง เนื่องจากให้ค่า %DH คือ เปอร์เซ็นต์ AN/TN ค่าสูงสุดเท่ากับ 21.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH-stat 5.8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรส่วนใส 90 เปอร์เซ็นต์

1.2 ในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละเอนไซม์นั้นสามารถเลือกโดยใช้เกณฑ์การวิเคราะห์ % DH ได้ 3 วิธี คือ วิธี pH stat , หา AN/TN ratio และวิธีการวัดปริมาตรของส่วนใสจากหอยลายสกัด ซึ่งทั้งสามวิธีจะมีความจำเพาะที่แตกต่างกัน โดยวิธีที่มีความจำเพาะมากที่สุด คือ การวิเคราะห์ % DH ด้วยการหา AN/TN ratio แต่การวิเคราะห์อีก 2 วิธีที่เหลือจะสะดวก รวดเร็ว สามารถใช้ในการตรวจติดตามการไฮโดรไลซ์ได้ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะนำค่า % DH ด้วยวิธีการวัด AN/TN ratio เป็นหลักในการเลือกสภาวะที่เหมาะสม

1.3 จากผลการศึกษาการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มจะพบว่าความจำเพาะของเอนไซม์ต่อสับสเตรทจะมีผลต่อ %DH ที่แตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า เอนไซม์อัลคาเลสจะมีความจำเพาะต่ำทำให้ % DH มีค่าสูง ส่วนเอนไซม์นิวเทรสจะมีความจำเพาะต่ำทำให้ % DH ต่ำ ส่วนผงทำให้เนื้อนุ่มมีความจำเพาะต่อสับสเตรท ปาน

กลางจึงทำให้ %DH มีค่าปานกลาง โดยความจำเพาะและ %DH สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้

1.4 จากการศึกษาที่อุณหภูมิห้องจะมีเอนไซม์ที่ย่อยสลายตัวเอง (autolysis enzymes) เข้ามาเกี่ยวข้องในการไฮโดรไลซ์ซึ่งเอนไซม์นี้จะไม่ทนความร้อน โดยทำงานได้ดีที่อุณหภูมิห้อง

1.5 จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์(อัลคาเลส และ นิวเทรส)จะให้ค่า %DH ที่สูงกว่า เอนไซม์ที่ได้จากพืช(ผงทำให้เนื้อมูม)

1.6 จากการศึกษา เมื่อพิจารณาระดับการไฮโดรไลซ์โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ AN/TN ปริมาตรส่วนใส และ pH-stat ร่วมกับการชิม พบว่าจากการสังเกตลักษณะ ของรสชาติของหอยลายสกัดที่ได้โดยรวม ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสส่วนใหญ่จะให้รสเนื้อมากที่สุดที่สภาวะที่เหมาะสม คือ อัลคาเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมง ได้หอยลายสกัดที่มีระดับการไฮโดรไลซ์คิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนจากกรดอะมิโนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงที่สุด คือ 21.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH-stat 5.8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรส่วนใส 90 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นซอสต่อไป

## 2. ข้อเสนอแนะ

2.1 ในการศึกษาในครั้งนี้ในระหว่างการเก็บตัวอย่างควรมีการเขย่าตัวอย่างให้ทั่วก่อนการเก็บตัวอย่าง

2.2 ถ้านำเอนไซม์นิวเทรสมาใช้ไฮโดรไลซ์โปรตีนจากหอยลายที่อุณหภูมิห้องควรมีการเติมเกลือที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเน่าเสียของจุลินทรีย์

2.3 ควรมีการลดกลิ่นคาวของหอยลายสกัดลงได้ โดยในขั้นการล้างหอยลายสดควรมีการทำให้กลิ่นคาวลดลง เช่น การแช่น้ำเกลือหรือน้ำส้มสายชูก่อนนำไปทอดลง

2.4 ในการศึกษาต่อไปควรมานำหอยลายสกัดที่ได้มาทำเป็นซอสหอย เพื่อเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสหอยที่หลากหลายมากขึ้น หรือมีการทดลองนำหอยชนิดอื่นมาทดลองทำเป็นหอยสกัด เพื่อผลิตเป็นซอสหอยต่อไป

## บรรณานุกรม

- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14<sup>th</sup> ed. Association of Official Chemists, Inc., Arlington, Virginia
- Brich, G. G., N. Blakebrough and K. J. Parker. 1981. Enzymes and Food Processing. Applied Science Publishers Ltd., London. 296 pages.
- Enzymes education. "Protease/Nutrase" [Online] Available :  
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/MATERIALS/ENZYMES/neutrase.html>
- Matoba, M., and Hata, T. 1972. Relationship between bitterness of peptides and their chemical structure. Agr. Biol. Chem. 36 (8): 1423-1431.
- Murachi, T. and H. Neurath. 1964. Fractionation and specificity studies on stem bromelain. J. Biol. Chem. 355:99-114
- Nishimura, T., and Kato, H. 1988. Taste of free amino acids and peptides. Food Rev. Inter. 4(2):175-194.
- Paul D. Boyer. 1971. The Enzyme volume III "Hydrolysis peptide bonds". third edition. United states of America. 886 page.
- Protein analyzer (ตอนที่ 1) Kjeldahl Method [Online] Available:  
[http://www.thaiscience.com/lab\\_vol/p23/Protein\\_analyzer.asp](http://www.thaiscience.com/lab_vol/p23/Protein_analyzer.asp)
- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2519. ซอสหอยนางรม. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี. กรุงเทพฯ. 4 หน้า
- บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2548. เอกสารประกอบคำสอน วิชาเคมีวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หมัก. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร. หน้า39-41.
- บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2549. เอกสารประกอบคำสอน วิชาเทคโนโลยีเอนไซม์. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร.
- บุคลากรพื้นเมืองของปักษ์ใต้. "การย่อยโปรตีนในการหมักบุดู" [Online] เข้าถึงได้จาก :  
<http://www.school.net.th/library/webcontest2003/100team/dlss022/science/protien/protien.htm>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

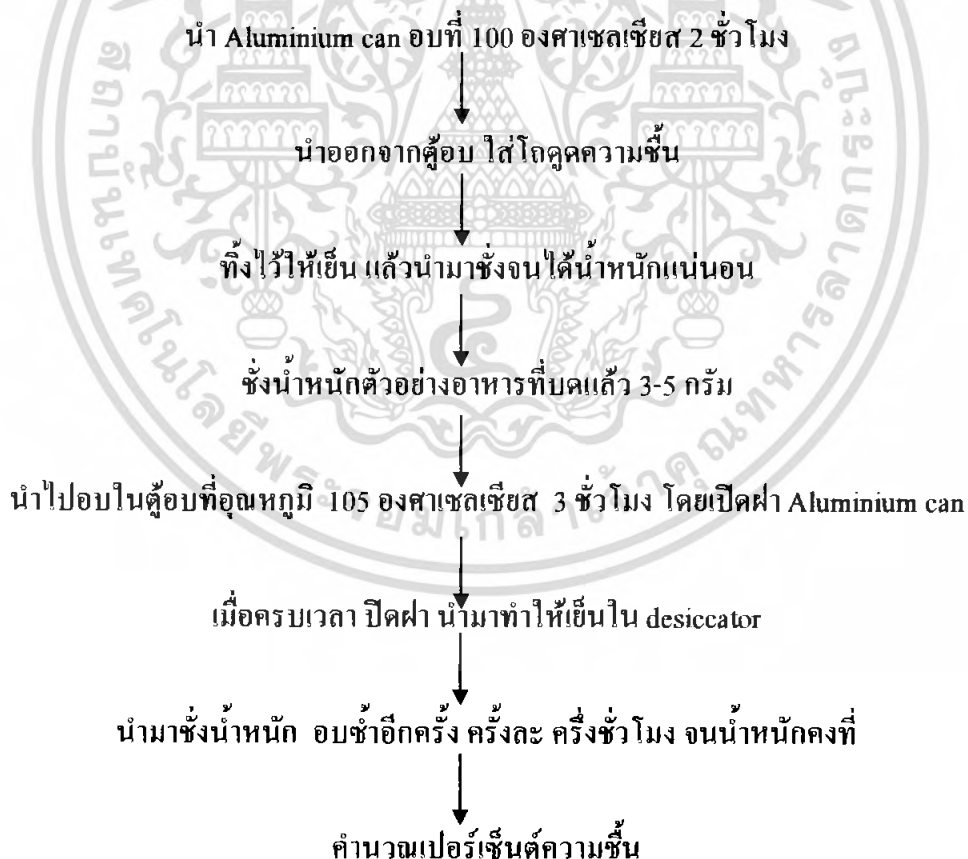
- ปราณีศา เชื้อโพธิ์หัก. 2533. การศึกษาเปรียบเทียบการใช้กรดและเอนไซม์ในการทำซอสหอยนางรมและหอยแมลงภู่. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 99 หน้า.
- ปราณีศา เชื้อโพธิ์หัก และ นงนุช รักสกุลไทย. 2534. การใช้เอนไซม์ปาเปนและบรอมเมลินในการทำซอสหอยนางรม. วิทยาศาสตร์เกษตร. ปีที่ 25. หน้า 65-74.
- ปาริตา ปัทมรังสรรค์, สิริกัญญา นุสคง และ ทศนาพร บุญเสนอ. 2548. การผลิตซอสโดยใช้สารสกัดจากเศษเหลือทิ้งปลาซาร์ดีน. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 80 หน้า.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มนต์ชัย ฉัตรแก้ว, วรสิทธิ์ แสงแดง และ วุฒิชัย เถยบำรุง. 2542. การศึกษาการผลิตซอสหอยแครง. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 61 หน้า
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. “ซอสหอยนางรม”. [Online] เข้าถึงได้จาก : [http://www.tisi.go.th/otop/pdf\\_file/tcps1016\\_48.pdf](http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps1016_48.pdf). 2548.
- วรรณมา ตั้งเจริญชัย. 2539. คู่มือปฏิบัติการเคมีอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สิตติมา จิตตินันท์ และ จิราพรณ แซ่ลิ้ม. 2528. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำมันหอย. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ
- อรวิรินทร์ วงศ์มีเกียรติ. 2527. การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนเหลือทิ้งของสับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

## ภาคผนวก ก

### วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

#### 1. ความชื้น

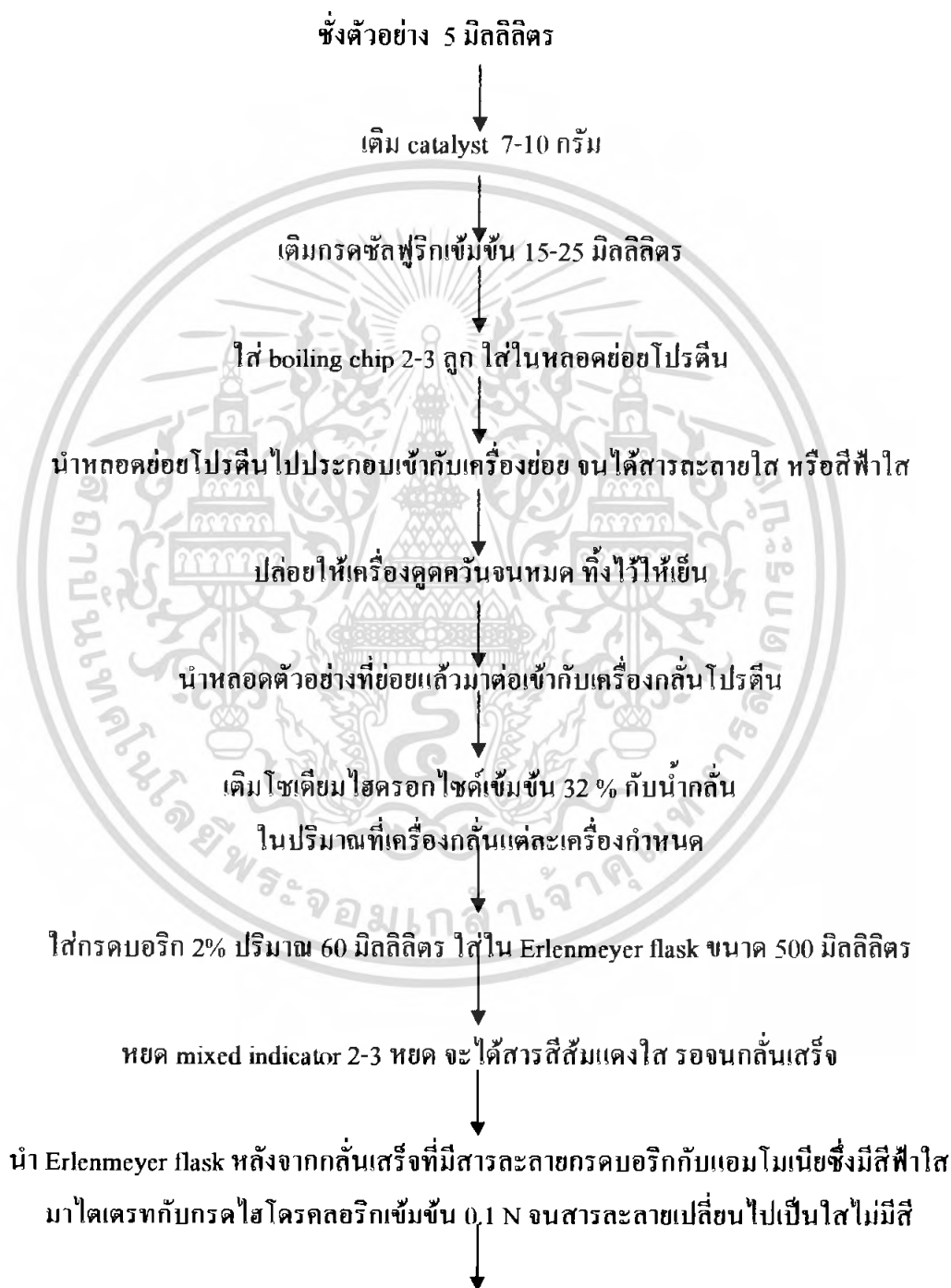
อบไล่ความชื้นหรือน้ำอิสระที่เป็นองค์ประกอบของอาหารให้ระเหยออกไป แล้วชั่งน้ำหนักที่หายไป ในการอบจะต้องใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมกับตัวอย่าง เนื่องจากถ้าใช้อุณหภูมิสูงจะมีสารระเหยได้ (volatile matter) ในอาหารระเหยออกไปได้ หรือตัวอย่างที่มีน้ำตาลอยู่สูง ถ้าใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้ตัวอย่างเกิดสีน้ำตาล หรือเกิดการไหม้ โดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส หรือใช้การอบในสุญญากาศ การวิเคราะห์ความชื้นในอาหาร นอกจากจะใช้การอบไล่ความชื้นแล้วยังสามารถหาความชื้นได้โดยการกลั่นหรือไตเตรทด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักสด}} \times 100$$

## 2.โปรตีน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้  
↓  
คำนวณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(A-B) \times N \text{ HCl} \times 14}{\text{Wt.sample} \times 1000} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} \times 6.25$$

เมื่อ

A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้โคเรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของไฮโดรคลอริกที่ใช้โคเรทกับ blank

### 3. ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน

ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน คือ ผลต่างคิดเป็นกรัมระหว่างฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen) กับแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammonical nitrogen) ในตัวอย่าง 1 ลิตร

#### 3.1 ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:9 มา 10 มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เท่ากับ 7 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์

เติมสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

โคเรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล

จนได้ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 9

คำนวณหาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

$$X = 14yN$$

- เมื่อ  $X$  = ปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์ในโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม  
 $Y$  = ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร  
 $N$  = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นนอร์มัล

### 3.1 แอมโมเนียคัลในโตรเจน

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:9 มา 25 มิลลิลิตรใส่ในขวดกลั่น

เติมแมกนีเซียมออกไซด์ 1.5 กรัมและน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร

กลั่นแอมโมเนียที่เกิดขึ้นลงในขวดแก้วที่มีกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 25 มล.

และมีเมทิลเรดิโบริโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์ 6-10 หยด

จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลือ 1 ใน 4 ของปริมาตรเดิม

ไตเตรทแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.05 นอร์มัล

จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู

คำนวณหาปริมาณแอมโมเนียคัลในโตรเจน

$$X = 5.6yN$$

- เมื่อ  $X$  = ปริมาณแอมโมเนียคัลในโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม  
 $y$  = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร  
 $N$  = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก เป็นนอร์มัล

## ภาคผนวก ข

## ข้อมูลการทดลอง

ผลข้อมูลจากผลการทดลองที่ 4.4 การวิเคราะห์หอยลายสกัด  
 ตารางที่ 4.4.1 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม ด้วย  
 วิธี pH-stat

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=pH stat)
อัลคาเลส	ห้อง	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	6.7
			0.15	3.7
			0.3	0
			0.6	1.4
		6	0	12.3
			0.15	12.1
			0.3	7.2
			0.6	5.2
		12	0	17.5
			0.15	13.8
			0.3	6.3
			0.6	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โคชน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=pH stat)
อัลคาเลส	50	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	0.4
			0.15	1.8
			0.3	4.3
			0.6	3.8
		6	0	0.9
			0.15	3.6
			0.3	4.4
			0.6	5.6
	12	0	5.1	
		0.15	8.1	
		0.3	-	
		0.6	-	
	63	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	0
			0.15	1.9
			0.3	0.1
			0.6	4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=pH stat)	
อัลคาเลส	63	6	0	1.8	
			0.15	5.7	
			0.3	2.7	
			0.6	3	
		12	0	-	
			0.15	5.8	
			0.3	2.9	
			0.6	3.3	
		70	0	0	0
				0.15	0
				0.3	0
				0.6	0
	3		0	2.7	
			0.15	6.7	
			0.3	1	
			0.6	1.6	
	6		0	4.8	
			0.15	6.8	
			0.3	4.8	
			0.6	3.4	
		12	0	5.5	
			0.15	7.1	
			0.3	-	
			0.6	-	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=pH stat)
นิวเทรส	ห้อง	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	4.1
			0.15	5.4
			0.3	9.5
			0.6	4.8
		6	0	21.4
			0.15	19.6
			0.3	25
			0.6	6
	12	0	22	
		0.15	52.9	
		0.3	55.9	
		0.6	25	
	50	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
3		0	2.4	
		0.15	3	
		0.3	4.8	
		0.6	3	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis= pH stat)
นิวเทรส	50	6	0	6
			0.15	6
			0.3	7.1
			0.6	10.1
		12	0	7.1
			0.15	8.3
			0.3	11.9
			0.6	14.8
ผงทำให้เนื้อนุ่ม	ห้อง	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		6	0	7.8
			0.15	9.2
			0.3	0
			0.6	0
		12	0	12.1
			0.15	30.6
			0.3	29.9
			0.6	5.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis= pH stat)
ผงทำให้เนื้อนุ่ม	50	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	0.7
			0.15	5.7
			0.3	8.5
			0.6	9.2
		6	0	-
			0.15	6.4
			0.3	9.2
			0.6	12.8
	12	0	-	
		0.15	7.8	
		0.3	12.1	
		0.6	15.6	
	63	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	2.7
			0.15	13
			0.3	18
			0.6	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=pHstat)	
ผงทำให้เนื้อนุ่ม	63	6	0	3	
			0.15	15	
			0.3	34.4	
			0.6	45.6	
		12	0	5	
			0.15	16.9	
			0.3	36.9	
			0.6	49	
		70	0	0	0
				0.15	0
				0.3	0
				0.6	0
	3		0	4.9	
			0.15	15.6	
			0.3	18.3	
			0.6	20.5	
	6	0	0	6.8	
			0.15	19.8	
			0.3	23	
			0.6	24.3	
		12	0	7.2	
			0.15	24.3	
			0.3	27.7	
			0.6	32.4	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม ด้วยวิธี AN/TN ratio

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)	
อิตาลีเดส	ห้อง	0	0	0	
			0.15	0	
			0.3	0	
			0.6	0	
		3	0	4.7	
			0.15	1	
			0.3	0	
			0.6	0	
			0	8.6	
			0.15	0	
			0.3	0	
			0.6	1.5	
	6	0	10.8		
		0.15	2.8		
		0.3	0		
		0.6	2.3		
	12	0	0	0	
			0.15	0	
			0.3	0	
			0.6	0	
		50	0	0	0
				0.15	0
				0.3	0
				0.6	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)
อัลคาเลส	50	3	0	0
			0.15	6.7
			0.3	10.5
			0.6	8.7
		6	0	4
			0.15	10.3
			0.3	16.8
			0.6	11.6
		12	0	4.7
			0.15	17.4
			0.3	14.8
			0.6	10.4
	0	0	0	
		0.15	0	
		0.3	0	
		0.6	0	
		0	10.6	
		0.15	13.8	
		0.3	10.4	
		0.6	9.2	
	63	3	0	15.1
			0.15	18.3
			0.3	14.1
			0.6	10.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)
อัลตาเลส	63	12	0	15.7
			0.15	21.2
			0.3	18.2
			0.6	12.3
	70	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	3.6
			0.15	4.9
			0.3	2.8
			0.6	5.4
		6	0	4.9
			0.15	6.1
			0.3	8.1
			0.6	6
			0	5.9
			0.15	7.2
			0.3	8.3
			0.6	11.7
12	0	5.9		
	0.15	7.2		
	0.3	8.3		
	0.6	11.7		
นิวเทรส	ห้อง	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โคชน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)
นิวเทรส	ห้อง	3	0	1.8
			0.15	1.4
			0.3	3.3
			0.6	0
		6	0	5.6
			0.15	0.1
			0.3	2.5
			0.6	3.7
		12	0	-
			0.15	-
			0.3	6.2
			0.6	8.3
	0	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	0
			0.15	0
			0.3	2.8
			0.6	0
	50	3	0	9.5
			0.15	10
			0.3	9.9
			0.6	5.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)
นิวเทรส	50	12	0	10.5
			0.15	11
			0.3	15.1
			0.6	8.7
ผงทำให้เนื้อมูม	ห้อง	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	1
			0.15	1.6
			0.3	0.1
			0.6	1.2
		6	0	0.5
			0.15	2.8
			0.3	0.1
			0.6	3.7
	12	0	8.3	
		0.15	9.5	
		0.3	7.5	
		0.6	6.9	
	50	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)	
ผงทำให้เนื้อมูม	50	3	0	8.6	
			0.15	9.1	
			0.3	4.1	
			0.6	3.7	
		6	0	12.4	
			0.15	16	
			0.3	10.6	
			0.6	4.2	
			12	0	15.2
				0.15	18.9
				0.3	12.6
				0.6	5.2
	63	0	0	0	
			0.15	0	
			0.3	0	
			0.6	0	
		3	0	1.8	
			0.15	1.1	
			0.3	1.7	
			0.6	15.5	
			6	0	8.6
				0.15	9.1
				0.3	9.8
				0.6	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โคชน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=AN/TN)
ผงทำให้เนื้อนุ่ม	63	12	0	12.4
			0.15	13.2
			0.3	10.3
			0.6	19.9
	70	0	0	0
			0.15	0
			0.3	0
			0.6	0
		3	0	17.5
			0.15	5.7
			0.3	6.3
			0.6	4
		6	0	17.8
			0.15	7.5
			0.3	9.2
			0.6	8.5
			0	17.5
			0.15	11
			0.3	11.6
			0.6	10.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่ม ด้วยวิธี การวัดปริมาตรส่วนใส

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหอย)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=%ส่วนใส)
อัลคาเลส	ห้อง	0	0	60.00
			0.15	68.29
			0.3	75.00
			0.6	75.00
		3	0	64.29
			0.15	67.27
			0.3	74.55
			0.6	84.00
		6	0	82.76
			0.15	80.00
			0.3	79.41
			0.6	85.71
	12	0	97.14	
		0.15	87.50	
		0.3	83.10	
		0.6	85.71	
	50	0	0	71.43
			0.15	71.43
			0.3	73.33
			0.6	73.68
		3	0	71.11
			0.15	80.77
			0.3	82.00
			0.6	84.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=%ส่วนใส)	
อัลคาเลส	50	6	0	75.00	
			0.15	85.00	
			0.3	85.94	
			0.6	88.71	
		12	0	80.26	
			0.15	91.43	
			0.3	91.67	
			0.6	91.43	
			0	0	66.67
				0.15	75.00
				0.3	75.00
				0.6	75.00
	63	3	0	70.00	
			0.15	80.00	
			0.3	81.63	
			0.6	82.22	
		6	0	71.15	
			0.15	81.82	
			0.3	85.45	
			0.6	85.45	
		12	0	81.43	
			0.15	90.00	
			0.3	91.43	
			0.6	91.43	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=%ส่วนไต)
อัลคาเลส	70	0	0	62.50
			0.15	75.00
			0.3	75.00
			0.6	77.78
		3	0	68.57
			0.15	80.00
			0.3	77.78
			0.6	84.00
		6	0	70.00
			0.15	85.45
			0.3	85.45
			0.6	85.45
		12	0	85.71
			0.15	91.89
			0.3	91.43
			0.6	91.43
นิวเทรส	ห้อง	0	0	70.59
			0.15	62.86
			0.3	70.59
			0.6	55.00
		3	0	75.00
			0.15	65.00
			0.3	65.71
			0.6	63.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=%ส่วนใส)	
นิวเทรส	ห้อง	6	0	77.27	
			0.15	74.36	
			0.3	66.67	
			0.6	68.75	
		12	0	90.00	
			0.15	81.33	
			0.3	81.33	
			0.6	83.87	
		50	0	0	57.14
				0.15	50.00
				0.3	62.50
				0.6	57.14
	3		0	62.50	
			0.15	65.38	
			0.3	65.12	
			0.6	70.00	
	6		0	70.00	
			0.15	65.38	
			0.3	69.23	
			0.6	75.00	
	12	0	71.67		
		0.15	71.10		
		0.3	71.43		
		0.6	75.38		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=%ส่วนโปรตีน)
ผงทำให้เนื้อมูม	ห้อง	0	0	50.00
			0.15	57.14
			0.3	50.00
			0.6	63.16
		3	0	75.00
			0.15	62.50
			0.3	63.16
			0.6	64.44
		6	0	77.78
			0.15	79.59
			0.3	71.15
			0.6	62.96
	12	0	96.00	
		0.15	80.39	
		0.3	80.39	
		0.6	63.64	
	50	0	0	70.00
			0.15	61.50
			0.3	57.89
			0.6	57.14
		3	0	71.43
			0.15	63.49
			0.3	62.86
			0.6	58.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 (ต่อ)

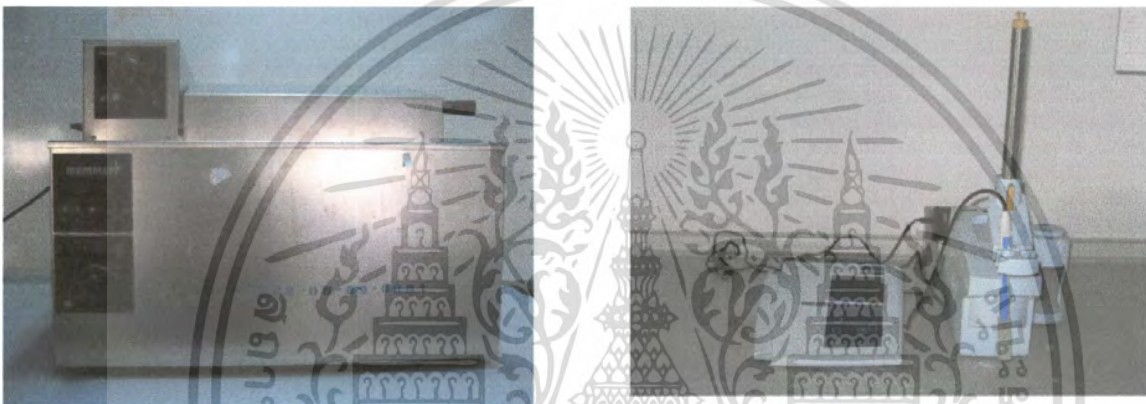
ชนิดเอนไซม์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ)	ระดับการไฮโดรไลซ์ (%Degree of hydrolysis=%ส่วนไส)
ผงทำให้เนื้อนุ่ม	50	6	0	72.50
			0.15	65.71
			0.3	66.67
			0.6	63.16
		12	0	72.73
			0.15	75.00
			0.3	72.73
			0.6	66.60
		0	0	50.00
			0.15	57.14
			0.3	53.33
			0.6	50.00
	3		0	66.22
			0.15	66.67
			0.3	64.00
			0.6	55.56
	70	6	0	72.73
			0.15	72.22
			0.3	72.73
			0.6	73.33
		12	0	73.33
			0.15	72.73
			0.3	78.87
			0.6	74.29

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่มีข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### รูปภาพการทดลอง

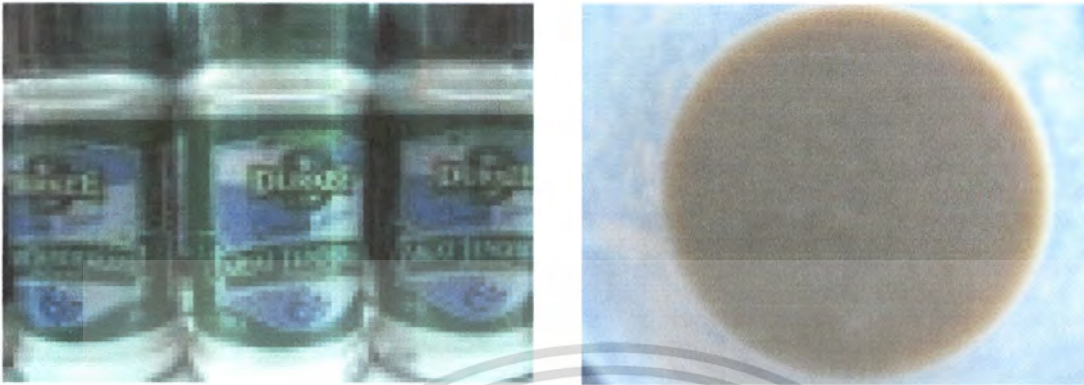


ภาพที่ 1 อ่างควบคุมอุณหภูมิและเครื่อง pH meter ที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 2 เครื่องกลั่น โปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ผงทำให้เนื้อนุ่มยี่ห้อ Durkee และ เนื้อหอยลายสดป่น



ภาพที่ 4 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส (จากซ้าไปงวา) ที่ 0 ชั่วโมง

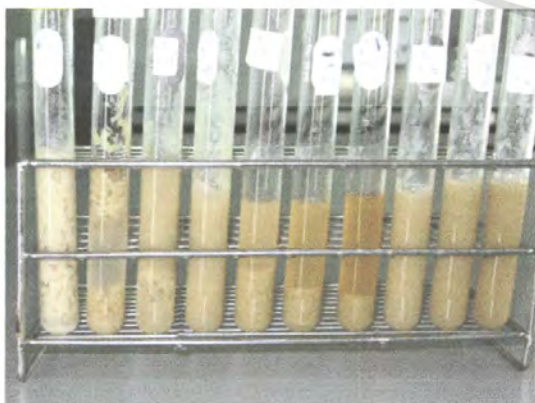
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ่ายไป  
ขวา)ที่ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 6 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จาก  
ซ่ายไปขวา)ที่ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 7 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จาก  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ซ่ายไปขวา)ที่ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้าไป  
ขวา)ที่ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 °C



ภาพที่ 9 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้าไป  
ขวา)ที่ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 °C



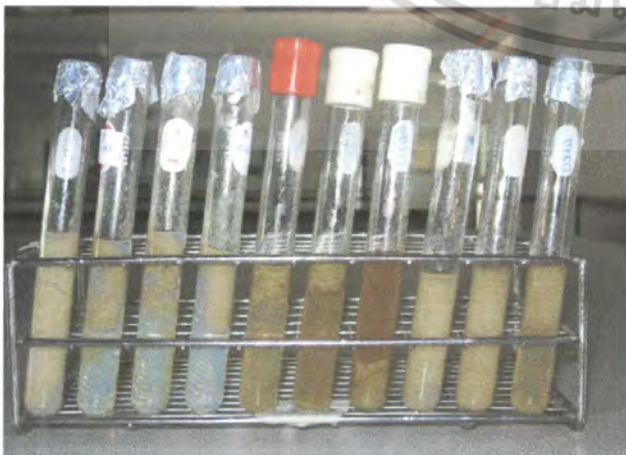
ภาพที่ 10 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้าไป  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ขวา)ที่ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 °C  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



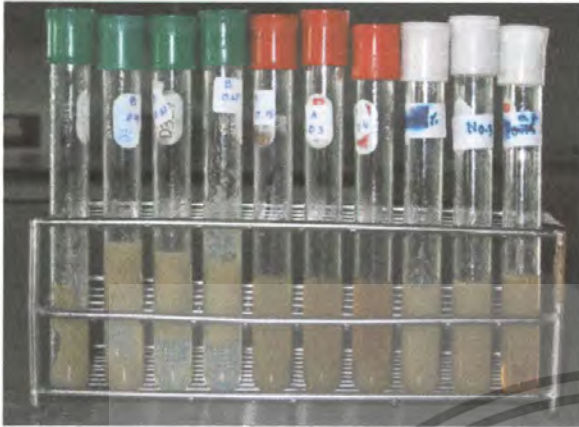
ภาพที่ 11 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้ายไป  
ขวา)ที่ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $63^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 12 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้ายไป  
ขวา)ที่ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $63^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 13 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื้อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้ายไป  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ขวา)ที่ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $63^{\circ}\text{C}$   
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื่อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้ายไป  
ขวา)ที่ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ70 °C



ภาพที่ 15 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื่อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้ายไป  
ขวา)ที่ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ70 °C



ภาพที่ 16 การไฮโดรไลซ์หอยลายด้วยผงทำให้เนื่อนุ่ม เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส(จากซ้ายไป  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ขวา)ที่ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ70 °C  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

นางสาววิภัตรา เวศกาวิ เกิดวันที่ 10 มีนาคม 2528 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนลาซาลบางนา จังหวัดกรุงเทพมหานคร และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมัก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาวอมรรัตน์ พานิชกุล เกิดวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2528 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนมัธยมวัดธาตุทอง จังหวัดกรุงเทพมหานคร และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมัก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้