ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการปรับปรุงรสชาติของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขม

(Study on Flavour Development of Baby Clam Meat Hydrolysate by Debittering Enzyme)

จัดทำโดย

นางสาวกุณฑีรา	ตันติบุตร	รหัสนักศึกษา 47040190
นางสาวจีรณา	จิรสวัสดิ์	รหัสนักศึกษา 47040193
นางสาวฑิมภ์พร	ทิมเทศ	รหัสนักศึกษา 47040197

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../.....

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการปรับปรุงรสชาติของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขม

(Study on flavour development of baby clam meat hydrolysate by debittering enzyme)

โดย

นางสาวกุณฑีรา	ตันติบุตร	รหัสนักศึกษา47040190
นางสาวจีรณา	จิรสวัสดิ์	รหัสนักศึกษา47040193
นางสาวทิมภ์พร	ทิมเทศ	รหัสนักศึกษา47010197

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

ว๓น
ก ๗/๑ ก
๒๕๕๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 85379
วัน,เดือน,ปี 1 1 พ.ย. 2551

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

b 12010625
i

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวกุณฑีรา ตันติบุตร , นางสาว จีรณา จิรสวัสดิ์ , นางสาวทิมภ์พร ทิมเทศ . 2550 : การศึกษาการปรับปรุงรสชาติของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขม (Study on Flavour Development of Baby Clam Meat Hydrolysate by Debittering Enzyme)
ภาควิชาอุสาหกรรมเกษต.ร. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

บทคัดย่อ

ผลผลิตที่ได้จากโปรตีนไฮโดรไลเซทในอุตสาหกรรมอาหารนั้นจะมีข้อจำกัดคือการเกิดรสขม โดยรสขมนี้เกิดจากเพพไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ถึง 15 ตัว และมีกรดอะมิโนชนิดที่ต่อต้านน้ำ (hydrophobic amino acid) เช่น leucine, isoleucine, prolein, valien, phenylalanine, tyrosine และ tryptophane อยู่ในโมเลกุล ซึ่งความเข้มข้นของความขมเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนของกรดอะมิโนเหล่านี้และขนาดโมเลกุลของเพพไทด์ ในปัจจุบันมีการใช้เอนไซม์เพพทิเดส (peptidase) ในการกำจัดรสขมในโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยเพพทิเดสจะเอากรดอะมิโน 1 หรือ 2 ตัว จากปลายของโมเลกุลของเพพไทด์ออก โดยถ้าเป็นcarboxypeptidase จะเอาออกจาก C-terminal และ aminopeptidase จะเอาออกจาก N-terminal ซึ่งจะต้องใช้ร่วมกับ endoprotease หรือภายหลังจากโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ด้วย endoprotease จากการศึกษาการปรับปรุงรสชาติของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขม โดยพิจารณาระดับการไฮโดรไลซิส โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนจากกรดอะมิโนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(AN/TN) และปริมาตรส่วนใส ร่วมกับการสังเกตลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และรส พบว่าการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้หอยลายสกัดที่มีระดับการไฮโดรไลซิสคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนจากกรดอะมิโนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงที่สุด คือ 70.31 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรส่วนใส 70.29 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำหอยลายสกัดที่ได้มาทำการทดสอบทางด้านกลิ่นและรสชาติ พบว่า หอยลายสกัดที่ได้จากเฟลเวอร์ไซม์ให้กลิ่นรสดีที่สุด ซึ่งเหมาะสำหรับจะนำไปทำการผลิตไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายทางการค้า

กุณฑีรา ตันติบุตร
จีรณา จิรสวัสดิ์
ทิมภ์พร ทิมเทศ .... 28 มี.ค. 2551
..../..../....

ลายมือนักศึกษา ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษเรื่องการศึกษาการปรับปรุงรสชาติของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขม สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้ความเอาใจใส่ ดูแล ให้ความรู้และคำปรึกษา ตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของปัญหาพิเศษฉบับนี้ ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ ทั้งให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ และอำนวยสะดวกในการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการ

ขอขอบคุณพี่ไก่ ที่ให้ความกระจ่างในการใช้เครื่องมือที่ถูกวิธี และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ทุกท่าน

ขอขอบคุณเพื่อน ๆทุกคน ที่ช่วยแกะเนื้อหอย และให้ความช่วยเหลือและความปรารถนาดีต่อคณะผู้จัดทำปัญหาพิเศษในทุกๆด้านเพื่อให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่และสมาชิกในครอบครัวทุกท่านที่ให้คำปรึกษา อำนวยความสะดวก พร้อมทั้งทุนทรัพย์ และ ดูแลด้วยความห่วงใยเสมอมา ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

24 มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 โปรตีนไฮโดรไลเซท 5

2.3 สารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร 6

2.4 การเกิดรสขมในโปรตีนไฮโดรไลเซท 8

2.5 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยใช้เอนไซม์ 12

2.6 เอนไซม์ที่ใช้การย่อยสลายโปรตีน 14

2.7 การเลือกใช้เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร 16

2.8 เอนไซม์โปรติเอส 18

2.9 เอนไซม์อัลคาเลส 19

2.10 เอนไซม์ฟลาโวไซม์ 21

2.11 การดัดแปลงโปรตีน 23

2.12 การวิเคราะห์ degree of hydrolysis 25

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 28

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี 28

3.2 อุปกรณ์ 29

3.3 วิธีการทดลอง 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 การวิเคราะห์หอยลายสกัด..... 36

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล..... 41

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อหอยลายสด..... 41

4.2 การเตรียมเนื้อหอยลายเพื่อใช้ในการไฮโดรไลซ์..... 42

4.3 การวิเคราะห์หอยลายสกัด..... 42

4.4 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายเพื่อใช้ผลิตหอยลายสกัด..... 54

4.5 สังเกตลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัด..... 63

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 68

บรรณานุกรม..... 70

ภาคผนวก ก..... 72

ภาคผนวก ข..... 77

ภาคผนวก ค..... 90

ประวัติผู้เขียน..... 93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ภาพแสดงลักษณะหอยลายชนิด ***Paphia undulate***	4
2.8.1	ลักษณะปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส	18
2.9.1	ภาพแสดงผลอิทธิพลของ พีเอช ต่อกิจกรรมของอัลคาเลส	20
2.9.2	ภาพแสดงผลอิทธิพลของ อุณหภูมิต่อกิจกรรมของอัลคาเลส	20
2.10.1	ภาพแสดงผลอิทธิพลของ พีเอช ต่อกิจกรรมของ Flavourzyme	22
2.10.2	ภาพแสดงผลอิทธิพลของ พีเอช ต่อกิจกรรมของ Flavourzyme	22
2.12.1	ภาพแสดงปฏิกิริยาการหาปริมาณกรดอะมิโน	26
3.3.3.1	ขั้นตอนการผลิตและการวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	32
3.3.3.2	ขั้นตอนการผลิตและวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	33
3.3.3.3	ขั้นตอนการผลิตและวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์	34
3.3.3.4	ขั้นตอนการผลิตและวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วตามด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	35
3.4.1	ขั้นตอนการวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์ของโปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยวิธี pH stat	36
4.3.1	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ	43
4.3.2	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	44
4.3.3	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นเติม Flavourzyme ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.3.4	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ.....	47
4.3.5	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ.....	48
4.3.6	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นเติมเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ.....	49
4.3.7	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH โดยการวัดปริมาตรส่วนใสของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ.....	51
4.3.8	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH โดยการวัดปริมาตรส่วนใสของเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ.....	52
4.3.9	เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH โดยการวัดปริมาตรส่วนใสของเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นเติมเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ.	53
4.4.1	แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์.....	55
4.4.2	แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่างๆกัน.....	56
4.4.3	แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 3.2 เปอร์เซ็นต์.....	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

4.4.4 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่างๆกัน..... 59

4.4.5 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์..... 61

4.4.6 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่างๆกัน..... 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1.1	องค์ประกอบทางเคมีของหอยลาย หอยนางรม และหอยแมลงภู่.....	4
2.11.1	แสดงข้อแนะนำทั่วไปของการใช้โปรติเอสเกี่ยวกับความจำเพาะ(specificity) ระดับการไฮโดรไลซ์(degree of hydrolysis) และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม..	23
2.12.1	อัตราส่วน AN/TN เป็นร้อยละ ที่ได้สูงสุด ของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ใช้กรดและโปรติเอสจากแหล่งต่างๆ ในการไฮโดรไลซ์	27
3.4.1	ตารางแสดงค่า f และ h_{tot} ของโปรตีนชนิดต่าง ๆ	37
4.1.1	ผลวิเคราะห์องค์ประกอบของหอยลายสด.....	41
4.5.1	แสดงลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัด.....	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

หอยลายเป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ ผลผลิตได้จากการจับหรือคราดจากแหล่งธรรมชาติจากบริเวณใกล้ปากแม่น้ำทั้งฝั่งอ่าวไทยและมหาสมุทรอินเดีย นิยมนำหอยลายสดทั้งเปลือกมาปรุงเป็นอาหาร ส่วนผลิตภัณฑ์แปรรูปจากหอยลายที่พบในปัจจุบัน ได้แก่หอยลายในน้ำเกลือหรือน้ำมันบรรจุกระป๋อง หอยลายอบกรอบปรุงรส และหอยลายลวกแกะเนื้อ หอยลายมีรสชาติอร่อยเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ดังนั้นการนำหอยลายมาสกัดโดยการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์ให้เป็นน้ำหอยลายสกัดจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะสามารถบริโภคหอยลายได้สะดวกขึ้นโดยยังคงรสชาติความอร่อยของหอยลายไว้ได้ จากผลงานการศึกษา พบว่าการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสสามารถไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายได้ระดับของการไฮโดรไลซ์ (%DH) สูงแต่น้ำหอยลายสกัดที่ได้มีรสขม จึงได้ทำการทดลองกำจัดรสขมที่เกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขมเป็นตัวไฮโดรไลซ์เพื่อกำจัดรสขมที่เกิดขึ้นพร้อมทั้งยังเพิ่มกลิ่นรสให้กับน้ำหอยลายสกัดที่ได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดรสขมและปรับปรุงรสชาติของน้ำหอยลายสกัดโดยใช้เอนไซม์กำจัดรสขม เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสหอยลายต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดรสขมของสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส โดยใช้เฟลเวอร์ไซม์ เพื่อการผลิตหอยลายสกัดซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสหอย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึง ชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสม ในการผลิตไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายสกัดที่ไม่มีรสขมและมีค่าระดับการไฮโดรไลซ์สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์และเพิ่มมูลค่าให้แก่หอยลาย เพื่อเป็นทางเลือกที่แตกต่างออกไปในด้านผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส

3. ทราบถึงสภาวะและเอนไซม์ที่เหมาะสมในการผลิตน้ำหอยสกัดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสหอยโดยใช้ต้นทุนและวิธีที่เหมาะสมเพื่อผลประโยชน์ทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

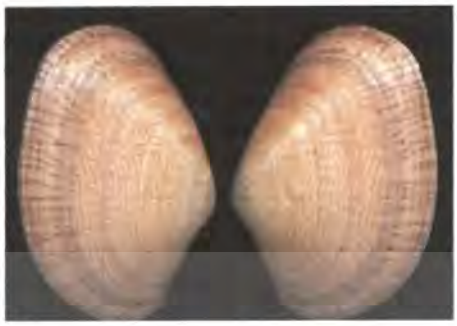
2.1 หอยลอย

หอยลายเป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งยังไม่มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ผลผลิตได้จากการจับหรือคราดจากแหล่งธรรมชาติจากบริเวณใกล้ปากแม่น้ำทั้งฝั่งอ่าวไทยและมหาสมุทรอินเดีย การบริโภคหอยลายของคนไทย นิยมนำหอยลายสดทั้งเปลือกมาปรุงเป็นอาหาร ส่วนผลิตภัณฑ์แปรรูปจากหอยลายที่พบในปัจจุบัน ได้แก่ หอยลายในน้ำเกลือหรือน้ำมันบรรจุกระป๋อง หอยลายอบกรอบปรุงรส และหอยลายลวกแกะเนื้อ

หอยลายจัดอยู่ในครอบครัว Veneridae สกุล Paphia ซึ่งในประเทศไทยพบอยู่ 3 ชนิด คือ หอยลายชนิด *Paphia undulate* , หอยลายชนิด *Paphia alapapilionis* , หอยลายชนิด *Paphia crassisulca*

หอยลายที่นำมาทำการศึกษาคือ หอยลายชนิด *Paphia undulate* ชื่อสามัญ Surf clam ,Short necked clam ,Carpet clam หรือ Venus shell และมีชื่อเรียกทั่วไปว่า baby clam ลักษณะเปลือกหอยมีรูปร่างเป็นรูปไข่ ฝาทั้งสองฝามีขนาดเท่ากัน ผิวด้านนอกของเปลือกหอยเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อน และมีลวดลายหยักเป็นเส้นคล้ายตาข่ายตลอดความยาวของผิวเปลือก เส้นลายหยักเหล่านี้จะมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนผิวเปลือกด้านในเรียบ มีสีขาว ในส่วนของบานพับ (hinge) ซึ่งเป็นส่วนต่อระหว่างฝาทั้งสอง มีลักษณะคล้ายฟันซี่เล็กๆ ฝาละ 3 ซี่ (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล.2548.หอยลายในประเทศไทย. กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล,กรมประมง,15 หน้า.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 ภาพแสดงลักษณะหอยลายชนิด *Paphia undulate*

ที่มา : http://www.jaxshells.org/803uu.htm

ตารางที่ 2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยลาย หอยนางรม และหอยแมลงภู่

ชนิดหอย	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 : ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก (2533)

2.1.1 การใช้ประโยชน์หอยลายนอกจากเพื่อการบริโภคสดแล้วยังมีการแปรรูป

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

เนื้อหอยแช่แข็ง เป็นเนื้อหอยลายที่มำความสะอาดแล้วแช่ในน้ำคลอรีน 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. และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดใหญ่ที่สุด 100-200 ตัว/กก. อุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็ง ประมาณ -40 องศาเซลเซียส นาน 8-10 ชั่วโมง

เนื้อหอยลายแช่น้ำเกลือบรรจุกระป๋อง โรงงานผลิตจะซื้อหอยลายต้มจากโรงต้มหอยลายที่เก็บไว้นานไม่เกิน 24 ชั่วโมง ซึ่งได้คัดขนาดแล้ว 4 ขนาด คือ ขนาดเล็ก 1,500-2,000 ตัว/กก. ขนาดกลาง 1,300-1,500 ตัว/กก. ขนาดใหญ่ 1,000-1,300 ตัว/กก. และขนาดใหญ่ที่สุด 700-1,000 ตัว/กก. หลังจากนั้นจะนำเนื้อหอยไปทำความสะอาดอีกครั้งและต้มประมาณ 5-7 นาที แล้วนำมาบรรจุกระป๋องตามขนาดที่ลูกค้าสั่งซื้อ เช่น ขนาด 7 ออนซ์ 10 ออนซ์ และ 28 ออนซ์ ปิดฉลากและบรรจุกล่องกระดาษขนาด 1,2 และ 4 โหล ตามลำดับ (วิภัตตรา เวศกาวี ,2547)

2.2 โปรตีนไฮโดรไลเซท

โปรตีนไฮโดรไลเซทเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน ซึ่งโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายแล้วประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระ เปปไทด์สายสั้นๆ และโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง พันธะเปปไทด์ของโปรตีนเป็นพันธะเอไมด์ (amide) ระหว่างหมู่คาร์บอกซิล และหมู่อะมิโน และถือเป็นพันธะที่สำคัญซึ่งเป็นตัวเชื่อมให้กรดอะมิโนมาประกอบกันเป็นสายของโปรตีน ซึ่งโดยในธรรมชาติจะจับกันเป็นสายยาวนับร้อยโมเลกุล ในการย่อยสลายโปรตีนไฮโดรไลเซทสามารถทำได้โดยใช้กรด ด่าง หรือเอนไซม์โปรติเอส

2.2.1 ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเซท

2.2.1.1 ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวในอาหาร (stabilizer) หรือใช้เป็นสารเชื่อม (binder) โปรตีนไฮโดรไลเซท มีสมบัติเป็น stabilizer, emulsifier และ binder ที่ดีจึงสามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดได้

2.2.1.2 ใช้เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในอาหาร การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ นิยมใช้ในอาหารสำหรับผู้สูงอายุที่มักมีปัญหาเกี่ยวกับทางเดินอาหาร และดูดซึมสารอาหารที่มีประสิทธิภาพต่ำ มีความอยากอาหารน้อย ใช้เป็นอาหารสำหรับนักกีฬา เพราะโปรตีนถูกนำมาใช้เป็นพลังงานและสะสม ในรูปของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังใช้กับผู้คุมน้ำหนักได้อีกด้วย เนื่องจากผู้ที่ลดน้ำหนักจะเกิดการสูญเสียสมดุลไนโตรเจนไป ดังนั้นการบริโภคโปรตีนไฮโดรไลเซทจะสามารถรักษาสมดุลไนโตรเจนที่เสียไปและช่วยการลดความอยากอาหารได้อีกด้วย

2.2.1.3 ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารสามารถใช้ได้ 2 ลักษณะคือ flavor donor และ flavor enhancer โดยที่ flavor donor เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทใส่ลงในผลิตภัณฑ์อาหารให้ได้กลิ่นรสตามต้องการ เช่นในผลิตภัณฑ์ขนม ขบเคี้ยว ซุป ซอสต่างๆ สำหรับ
flavor enhancer เป็นการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซท เพื่อเพิ่มกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งเดิมมีอยู่แล้วให้สูงขึ้น เช่น ผลิตภัณฑ์ครีม ซุป และไส้กรอก

2.2.1.4 ใช้เป็นอาหารทางการแพทย์ อาหารทางการแพทย์ คือ อาหารที่เสริมสารอาหารครบถ้วนเพียงพอกับความต้องการของผู้ป่วยซึ่งไม่สามารถรับประทานอาหารในรูปแบบปกติได้ ดังนั้นการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทในการผลิตสูตรอาหารทางการแพทย์จึงมีความเหมาะสมเป็นอย่างยิ่ง เพราะมีคุณสมบัติที่สามารถตอบสนองความต้องการของผู้ป่วยได้เป็นอย่างดี ได้แก่ ร่างกายสามารถดูดซึม และนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็วมีสารอาหารครบถ้วน มีความสมดุลของกรดอะมิโน และมีคุณสมบัติเฉพาะ เช่น กลูตามีนเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์เยื่อบุ หรือมีอาร์จีนีนช่วยสร้างเซลลิมโฟไซท์ในระบบภูมิคุ้มกัน ผู้ป่วยที่สามารถใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเป็นอาหารได้แก่ ผู้ป่วยที่เป็นโรคลำไส้อักเสบ ลำไส้ไหญ่เป็นแผลเปื่อย กลุ่มอาการลำไส้สั้น ตับอ่อนอักเสบ และโรคภูมิแพ้อาหาร โดยผู้ป่วยเหล่านี้จะมีอาการ hypermetabolic มีการดูดซึมผิดปกติเซลล์ถูกทำลาย อวัยวะที่เกี่ยวกับระบบย่อยและดูดซึมอาหาร เช่น ตับ ตับอ่อน ไต ผิดปกติ

2.3 สารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.3.1 กลิ่นรส (flavor) หมายถึง ความรู้สึกทุกอย่างที่รับได้เมื่อมีวัสดุในปาก ได้แก่ กลิ่น รส และสมบัติเฉพาะของวัสดุแต่ละชนิด เช่น ความหยาบ ความนิ่ม ความเย็น ความเผ็ดรุนแรง

2.3.2 กลิ่น (odor) หมายถึง ความรู้สึกที่รับได้โดยตรงทางจมูก กลิ่นทางอาหารมักจะหมายถึงสารระเหยได้ที่ทำให้เกิดความรู้สึกต่ออวัยวะรับกลิ่น สารระเหยที่ประกอบกันเป็นกลิ่นของกุ้ง ได้แก่ สารประกอบซัลเฟอร์ คีโตน แอลกอฮอล์ไฮโดรคาร์บอน pyrazines pyridines amide amine และสารประกอบอื่นๆ โดยมี สารประกอบซัลเฟอร์ และ pyrazine เป็นองค์ประกอบหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นในกุ้งต้มสุก ส่วนในอาหารทะเลสด จะเป็นพวกแอลกอฮอล์ที่ไม่อิ่มตัว Aldehyde และคีโตน ที่มีคาร์บอน 8-9 อะตอม ซึ่งเป็นผลมาจากการออกซิเดชั่นของไขมันและกรดไขมัน การให้ความร้อนจะทำให้องค์ประกอบตามธรรมชาติเนื่องจากการย่อยสลายโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก เช่น กรดอะมิโน กลูโคส ไรโบส เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนหรือปฏิกิริยาต่างๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อน เช่น maillard reaction , strecker degredation และ thermal degradation ซึ่งสิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์หลายชนิด maillard reaction เกิดขึ้นได้โดยไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ โดยเกิดระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือโปรตีนกับ free carbonyl groupของน้ำตาล เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลงจะเกิดสาร melanoidins ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและมีสีน้ำตาล โดยระหว่างเกิด maillard reaction จะมีสารระเหยที่ให้กลิ่นเกิดขึ้นด้วย ส่วน steacker degradation เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyl compounds ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก mallard reaction กับ α– amino groups ของกรดอะมิโน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นสารประกอบพวก enaminals ซึ่งจะเกิดเป็นโพลิเมอร์สีน้ำตาลหรือเกิดการย่อยสลายได้ pyrazines และ pyroles เป็นสารระเหยให้กลิ่นหอม ซึ่งพบในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการให้ความร้อน นอกจากนี้ยังมีสารระเหยที่เกิดจากปฏิกิริยาใช้เอนไซม์และปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีนจากจุลินทรีย์อีกด้วย

2.3.3 รส (taste) เป็นความรู้สึกที่รับรู้ได้จากปากและลิ้น โดยมีตุ่มรับรสที่ลิ้นเป็นตัวสำคัญ จะบอกให้ทราบถึงรสชาติที่ผบริโภคได้รับโดยทำงานเชื่อมต่อกับระบบประสาท ในปัจจุบันได้มีการแบ่งรสออกเป็น 5 รสด้วยกันคือ รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม รสขม และรสอุมามิ (umami) ซึ่งรสต่างๆเหล่านี้เกิดขึ้นจากสารประกอบที่มีอยู่ในอาหารได้แก่ กรดนิวคลีโอไทด์ (Nucleotides) กรดอะมิโน เปปไทด์ กรดอินทรีย์ น้ำตาล inorganic ion และพวก organic bases เช่น creatine creatinine betaines เป็นต้น โดยสารประกอบดังกล่าวจะให้รสชาติที่แตกต่างกันไป และรสชาติที่เกิดจากกรดอะมิโนอิสระ จะมีความเข้มมากกว่ารสชาติที่เกิดจากพวก เปปไทด์

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

2.3.5 สารประกอบที่ให้รสขม เกิดจากกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic) ได้แก่ L-tryptophan, L-phenylalanine, L-tyrosine, L-isoleucine, L-leucine, L-valine และเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบการย่อยสลายโปรตีนเหล่านี้ด้วยเอนไซม์จะก่อให้เกิดรสขมขึ้นก็เนื่องมาจาก side chain ของกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งมีอยู่ในสายเปปไทด์นั่นเอง ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขม ได้แก่ Gly-Leu, Leu-Phe, Leu-Lys และ Arg-Leu เป็นต้นนอกจากนี้ยังพบว่า pyrrolidonecarboxylic acid ซึ่งเป็นสารประกอบที่เปลี่ยนแปลงมาจาก glutamic acid ก็สามารถให้รสขม 'off-taste' ได้เช่นกัน

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

2.3.7 สารประกอบที่ให้รสเค็ม เกิดขึ้นจากอิออนของเกลือ กรดอะมิโนอิสระไม่ให้รสเค็ม เปปไทด์ที่ให้รสเค็มจะสร้างพันธะกับสารประกอบบางชนิด เช่น taurine monohydrochloride และ ornithyl monohydrochloride ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสเค็ม เช่น L-ornithy1-2-aminoethane, sulfonic acid, hydrochloride ให้รสเค็มเหมือนเกลือแกง

2.3.8 สารประกอบที่ให้รสอุมามิ (Umami) เป็นรสที่มีอยู่ทั่วไปทั้งในผักและเนื้อสัตว์ เกิดจากสารประกอบของ glutamic acid พวก monosodium glutamate ซึ่งจะช่วยเพิ่มความกลมกล่อมให้กับอาหารร่วม กับรสพื้นฐานทั้งสี่ นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนบางชนิดที่ไม่ให้รสใดๆ (no taste) หรือให้รสน้อยมาก เช่น D-Ala, D-and L-Arg, D-Glu, L-His เป็นต้น และสำหรับกรดอะมิโนที่ให้รสในกุ้งพบว่าส่วนใหญ่จะเป็น glutamic และ glycine โดยมี alanine, protine และ serine เป็นตัวให้ความหวานในตัวกุ้ง

2.4 การเกิดรสขมในโปรตีนไฮโดรไลเซท

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซมักก่อให้เกิดปัญหาในเรื่องของความขม เป็นที่สังเกตว่าความขมมักเกิดขึ้นกับอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงรสขมนี้เกิดจากเปปไทด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายด้วย proteolytic enzyme เปปไทด์มีหลายชนิดแต่มีบางชนิดเท่านั้นที่ให้รสขม กรดอะมิโนส่วนใหญ่จะมีรสหวาน ขม เค็ม เปรี้ยว หรือมีรสเหมือนผงชูรส แต่จะแตกต่างไปตามชนิดของกรดอะมิโน กรดอะมิโนอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ มักจะมีความขมมากว่ากรดอะมิโนที่มีอยู่ตามธรรมชาติ นอกจากนี้เปปไทด์ที่มีขั้วซึ่งมี side chain ที่มีสมบัติเป็น hydrophobic เป็นองค์ประกอบอยู่สูงมักจะมีรสขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการไฮโดรไลซ์โปรตีนด้วยเอนไซม์โปรทีเอส ยิ่งพันธะเพพไทด์ระหว่างกรดอะมิโนถูกไฮโดรไลซ์โดยโปรตีเนสมากเท่าไรก็ยิ่งทำให้เกิดเพพไทด์สายสั้น (small peptide) และ กรดอะมิโนได้มากเท่านั้นเอนไซม์โปรทีเนสที่มีคุณสมบัติเช่นนี้เป็นโปรตีเนสที่มีความจำเพาะกว้าง (broadspecificity) เช่น pepsin และ trypsin เอนไซม์เหล่านี้เมื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์โปรตีนแล้วจะได้ yieldสูง ซึ่งเมื่อวัดระดับของการไฮโดรไลซ์ (degree of hydrolysis, DH) โดยไทเทรตด้วยสารละลายด่างจะได้ค่า alkaline titre สูงโปรตีนตามธรรมชาติไม่มีรสชาติ ขนาดของโมเลกุลโปรตีนจะมีผลต่อต่อมรับรสแตกต่างกัน ผลิตผลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนด้วยเอนไซม์โปรทีเอส เช่น เพพไทด์ กรดอะมิโน แต่ละชนิดจะมีรสชาติเฉพาะตัว เช่น รสหวาน เปรี้ยว เค็ม รสอูมามิ (umami) และรสขม (bitter) ในขณะที่รสชาติอื่นๆ ที่กล่าวมาให้รสชาติในทางบวกแก่อาหารแต่รสขมเป็นรสที่ไม่ต้องการ ทำให้รสขมที่เกิดจากการไฮโดรไลซ์โปรตีนเป็นข้อจำกัดที่สำคัญในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทในอาหารและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพชนิดต่างๆเพพไทด์ที่ทำให้รสขม ในโปรตีนไฮโดรไลเซทเป็นเพพไทดที่มีขนาดโมเลกุลที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ถึง 15 ตัว และมีกรดอะมิโนชนิดที่ต่อต้านน้ำ (hydrophobic amino acid) เช่น leucine, isoleucine, prolein, valien, phenylalanine, tyrosine, และ tryptophane อยู่ในโมเลกุล และความเข้มข้นของความขมเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนของกรดอะมิโนเหล่านี้และขนาดโมเลกุลของเพพไทด์

ในการใช้โปรทีเอสเพื่อดัดแปรโมเลกุลโปรตีนเพื่อปรับปรุงสมบัติในการทำหน้าที่ของโปรตีน เช่น สมบัติในการเป็น foaming agent , gelling agent, emulsifier จะต้องใช้โปรทีเอสที่มีความจำเพาะแคบ (narrow specificity) ซึ่งจะสามารถควบคุมการย่อยได้ดีกว่า ในกรณีนี้จะได้ %DH ต่ำจะเกิดเพพไทด์สายสั้นปริมาณมากซึ่งอาจจะจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีรสขมแต่ถ้าเลือกใช้โปรทีเอสชนิดที่เหมาะสมถึงแม้จะเกิดเพพไทด์สายสั้นก็จะไม่เกิดรสขมได้ดังนั้นจึงต้องพิจารณาเลือกชนิดของโปรทีเอสหรือลำดับการใช้โปรทีเอสร่วมกันในการไฮโดรไลซ์โปรตีนเพื่อให้ผลิตผลที่ได้มีองค์ประกอบ, สมบัติในการทำหน้าที่, กลิ่นรส ตามต้องการ

พบว่าเพพไทด์ที่มีรสขมคือเพพไทด์ที่มี hydrophobic amino acid ที่อยู่ใกล้ปลายทางด้านamino end หรือ carboxy end ของโมเลกุลเพพไทด์ การกำจัด hydrophobic amino acid ออกปลายทั้งสองของโมเลกุลเพพไทด์ ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งของ hydrophobic amino acidในโมเลกุลเพพไทด์ และความขมเป็นกุญแจสำคัญในการควบคุมความขมที่จะเกิดขึ้นในโปรตีนไฮโดรไลเซท ปัจจุบันได้มีการศึกษาจนรู้ถึงความจำเพาะของเอนไซม์endoprotease ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการแปรรูปอาหารแล้วว่ามีความจำเพาะกับพันธะเพพไทด์ที่ตำแหน่งใด ทำให้สามารถเลือกใช้โปรทีเอสที่สลายพันธะที่ตำแหน่งของ hydrophobic amino acid (เช่น Neutrase สลายพันธะ;His-Leu , Ala-Phe, Gly-Phe)หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

hydrophilic amino acid (เช่น bromelain สลายพันธะ; Lys- , Arg-) ได้ความขมที่เกิดขึ้นจากการไฮโดรไลซ์โปรตีนมีความสัมพันธ์กับระดับของการถูกไฮโดรไลซ์ (%DH) โดยความขมจะเพิ่มขึ้นเมื่อ %DH สูงขึ้น ชนิดของเพพไทด์ที่เกิดขึ้นที่เป็นตัวที่ทำให้เกิดความเข้มข้นของความขมต่างกันจะแปรผันตามชนิดของ endoprotease ที่ใช้ในการเริ่มต้นไฮโดรไลซ์ตัวอย่างเช่น โปรทีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการใช้ sulphydryl protease (papain, bromelain, ficin) จะเกิดความขมน้อยกว่าการใช้ neutral protease และ alkaline protease จาก *Bacillus subtilis* เมื่อโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์เพิ่มมากขึ้นจน DH > 20% ระดับของความขมก็จะขึ้นถึงจุดสูงสุดและเริ่มลดลง ดังนั้นความเข้าใจเกี่ยวกับการไฮโดรไลซ์โปรตีนที่กล่าวถึงนี้จึงเป็นสิ่งสำคัญในการกำจัดความขมในโปรทีนไฮโดรไลเซท

2.4.1 การกำจัดความขมในโปรตีนไฮโดรไลเซท

2.4.1.1 การบดบังรสขมโดยเติมสารปรุงรสชนิดอื่นมาบดบังรสขม เช่น เกลือ น้ำตาล ผงชูรส

2.4.1.2 การจับรสขมด้วยสารต่างๆ เช่น polyphosphate, gelatin การจับรสขมด้วยสารต่างๆ เช่น polyphosphate, gelatinการเติมสารประกอบโพลีฟอสเฟต (polyphosphate) ระหว่างกระบวนการย่อยสลาย สามารถใช้บดบังรสขมของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโปรตีนได้ (Tokita , 1969) นอกจากนี้เจลาตินก็สามารถใช้ได้เช่นเดียวกัน แม่ว่าจะไม่ดีเท่ากับไกลซีนก็ตาม (Stanley , 1981) ไซโคลเด็กซ์ตริน(cyclodextrin) ก็เป็นสารตัวหนึ่งที่ใช้ในการบดบังรสขม เนื่องจากสามารถห่อหุ้มกลุ่มที่เป็นไฮโดรโฟบิกของเปปไทด์ที่มีรสขมได้ (Tamura et . al , 1990) แต่ต้องใช้ในปริมาณมากจึงจะให้ผลดี หรือจะใช้แป้งที่เป็นเจลาติไนซ์ ในการทำให้โครงสร้างที่เกิดรสขมเข้าไปอยู่ในโครงร่างตาข่ายของโมเลกุลแป้ง เพื่อป้องกันการสัมผัสกับตุ่มรับรสบนลิ้น โดยวิธีนี้จะต้องใช้ความร้อนช่วยในการผสมด้วย (Tamura et . al , 1990)

ความขมจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด จึงให้มีการใช้กรดกลูตามิคและกรดแอสปาติกในผลิตภัณฑ์ แต่มีข้อเสียคือกรดเหล่านี้จะทำให้เกิดรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ได้ จึงมีการปรับปรุงโดยใช้ทอรีน (taurine) ในสารละลายกรด เพื่อลดความขมและไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวขึ้น ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพดีเทียบเท่ากับการใช้กรดกลูตามิคและกรดแอสปาติก

2.4.1.3 การสกัดแยกแบบจำเพาะ การกำจัดรสขมของโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยวิธีนี้สามารถกระทำได้โดยใช้สารประกอบชนิดต่างๆ ช่วยในการสกัดแยกองค์ประกอบที่ให้รสขมออกได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.3.1 คาร์บอนกัมมันต์ Murray และ Baker (1952) ได้ทดลองกำจัดรสขมออกจากโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยใช้คาร์บอนกัมมันต์ 0.5 กรัมต่อกรัมของโปรตีนไฮโดรไลเซท จากนั้นใช้การกรองแยกคาร์บอนกัมมันต์ออก ซึ่งพบว่าวิธีนี้สามารถกำจัดรสขมได้เป็นอย่างดี โดยที่คาร์บอนกัมมันต์จะทำหน้าที่เป็นตัวดูดซับกรดะมิโน หรือเปปไทด์ที่มีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิค ซึ่งก่อให้เกิดรสขม แต่การใช้คาร์บอนกัมมันต์ก็จะทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจนถึง 26 % เนื่องจากมีการดูดซับทริปโตเฟน เฟนิลอะลานีน หรือเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้ จึงมีผลต่อการผลิต และราคาของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซท

2.4.1.3.2 Azeotropic mixture ของ 2°butanol และน้ำ (Lala sides, 1978) พบว่า เปปไทด์ที่แยกออกจาก 2°butanol มีรสขมอย่างมาก ดังนั้นการสกัดความขมด้วยวิธีนี้จึงมีประสิทธิภาพดี

2.4.1.4 การใช้เอนไซม์เอกโซเปปติเดส การย่อยสลายโปรตีนบางส่วนด้วยเอนไซม์โปรติเอส จะทำให้เกิดพลาสติน(plastein) ซึ่งเป็นสารคล้ายโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีคุณสมบัติแตกต่างจากโปรตีนเริ่มต้นและไม่มีส่วนที่ให้กลิ่นรส โดยปฏิกิริยาเกิดพลาสตินนี้สามารถนำมาใช้ในการลดความขมได้เป็นอย่างดี

ความขมจะมีค่ามากที่สุดเมื่อกรดอะมิโนประเภทไฮโดรโฟบิคอยู่ในตำแหน่งที่ไม่ใช่ปลายทั้งสองข้างของเปปไทด์ ดังนั้นกรดอะมิโนอิสระจึงมีความขมน้อยกว่าเปปไทด์ ทำให้เกิดการใช้เอนไซม์เอกโซเปปติเดสในการลดความขมของผลิตภัณฑ์ขึ้น ดังงานวิจัยของ Glegg (1973) ที่ใช้โปรติเอสจากไตหมูในการย่อยสลายเปปไทด์ที่มีรสขม จนได้ไฮโดรไลเซทที่มีรสขมน้อยและมีกรดอะมิโนอิสระมากว่า 50 %

การลดความขมโดยใช้เอนไซม์เอกโซเปปติเดสนี้มีข้อจำกัด คือเอนไซม์เหล่านี้จะทำให้มีกรดอะมิโนอิสระประเภทไฮโดรโฟบิคมากขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์และการใช้เอนไซม์เอกโซเปปติเดสทำให้มีระดับขั้นตอนการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) สูงขึ้น อาจเป็นผลให้มีสมบัติของสารละลายที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวถูกละลายต่อหน่วยของตัวทำละลายสูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคได้

ในอาหารบางอย่างสามารถใช้วิธีเหล่าอย่างได้ผล แต่ยังมีข้อจำกัดเช่น การเติมสารต่างๆ จะทำให้รสชาติของโพรทีนไฮโดรไลเซทเสียไป การสกัดจะทำให้องค์ประกอบและสมบัติในการทำหน้าที่ของโพรทีนไฮโดรไลเซทเปลี่ยนไป

ปัจจุบันมีการใช้เอนไซม์เพพทิเดส (peptidase) ในการกำจัดรสขมในโพรทีนไฮโดรไลเซทโดยเพพทิเดสจะเอากรดอะมิโน 1 หรือ 2 ตัว จากปลายของโมเลกุลของเพพไทด์ออก โดยถ้าเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

carboxypeptidase จะเอาออกจาก C-terminal และ aminopeptidase จะเอาออกจาก N-terminal การใช้ carboxypeptidase และ aminopeptidase โดยไม่มี endoprotease มักจะใช้ไม่ได้ผลกับโมเลกุลโปรตีน ดังนั้นจึงต้องใช้ภายหลังจากโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ด้วย endoprotease หรือใช้ร่วมกับ endoprotease

การทดลองเติม gelatin ลงในระหว่างการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเกิดรสขมได้ ได้มีการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อไก่ถอดกระดูก โดยย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส pH 8 ความเข้มข้นของเอนไซม์ 4.3% เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ มาทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าเมื่อใช้เนื้อไก่ล้วนๆ ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ผู้ทดสอบสามารถรับรสขมได้ตั้งแต่ ที่เวลาในการย่อยสลาย 90 นาทีขึ้นไป โดยมีระดับความขมเหมือน ควินิน 0.003% เมื่อเติม glycine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีรสหวาน และพบมากใน gelatine, praline และ hydroxyl praline ลงในโปรตีนไฮโดรไลเซท พบว่า glycine สามารถลดความขมในไฮโดรไลเซทได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ praline หรือ hydroxyl praline ล้วนๆ มาสามารถลดความขมได้ อาจสรุปได้ว่ากลไกการลดรสขมของไฮโดรไลเซทโดย gelatine เกิดจากกรดอะมิโน glycine ไปบดบังความขม มีสารประกอบหลายชนิดที่ให้รสขม โดยปกติระดับความขมมักจะมีน้อยกว่า ความหวาน ความเปรี้ยว และเค็ม เป็นเรื่องที่ยากจะอธิบายถึงความสัมพันธ์ของรสชาติเหล่านี้กับโครงสร้างของมัน อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ของโครงสร้างกรดอะมิโนกับความขมถูกค้นพบว่า L-amino acid หลายตัวที่มีโมเลกุล side chain เป็น hydrophobic group ขณะที่ D-amino acid ที่มี side chain เป็น hydrophobic group เช่นเดียวกัน กลับมีรสหวาน โครงสร้างของรสขมที่พบในขั้นสุดท้ายเป็นโมเลกุลมีขั้ว (electrophylic) และมีโมเลกุลกลุ่มที่แสดงรสขมเป็น hydrophilic

2.5 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยใช้เอนไซม์

2.5.1 แหล่งของโปรตีนและเอนไซม์ การเลือกวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโรไลเซทจะต้องพิจารณาจากคุณสมบัติดังนี้คือ คุณค่าทางโภชนาการ ราคา รสชาติ ความสามารถของแอนติเจนที่จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีและสมบัติทางหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทวัตถุดิบหรือแหล่งโปรตีนที่ใช้ส่วนใหญ่ ได้แก่ เคซีน เวย์โปรตีนและโปรตีนจากถั่วเหลือง นอกจากนี้อาจจะใช้เจลลาติน เนื้อปลา และอัลบูมิน เป็นแหล่งวัตถุดิบก็ได้ แต่จากเหตุผลในด้านเศรษฐกิจ คุณค่าทางโภชนาการและความเหมาะสมในเชิงปฏิบัติ การใช้เคซีน เวย์โปรตีนและโปรตีนจากถั่วเหลืองจะคุ้มค่ามากกว่า เอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต เอนไซม์โปรติเอส ในการย่อยสลายสับสเตรทโดยทั่วไปไม่นิยมใช้เอนไซม์โปรติเอสบริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว แต่นิยมใช้เอนไซม์เอกโซเปปติเดสและเอนโดเปปติเดสผสมกัน เพื่อให้ได้กรดอะมิโน เปปไทด์และไตรเปปไทด์ตามที่ต้องการ แพนเครียติน(pancreatin) ที่ผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในทางการค้าเป็นส่วนผสมของทริปซินและไคโมทริปซิน ซึ่งจะมีความสามารถเป็นทั้งเอนโดเปปติเดส และเอกโซเปปติเดส โดยที่ไคโมทริปซินจะมีความจำเพาะในการตัดพันธะระหว่างอาร์จีนิน และไลซีน โดยปกติแล้วเอนไซม์ที่พบในพืชและสัตว์ เช่น ปาเปน ฟิซิน โปรมิเลน จะมีความจำเพาะต่อการตัดพันธะน้อยกว่า เมื่อเทียบกับเอนไซม์ที่ผลิตได้จากการใช้จุลินทรีย์ ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซททางการค้านั้น ต้องอาศัยการพัฒนาหาส่วนผสมของเอนไซม์ที่พอเหมาะเพื่อให้ได้อัตราส่วนของกรดอะมิโน ไดเปปไทด์ ไตรเปปไทด์และโอลิโกเปปไทด์ตามต้องการ ในการเลือกว่าจะใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียวหรือจะใช้เอนไซม์ผสมจะพิจารณาได้จากความสามารถในการย่อยสลายสับสเตรทให้ได้ผลิตภัณฑ์ตามต้องการ โดยอัตราการย่อยสลายสามารถวัดได้ด้วยอัตราส่วนของ AN (amino nitrogen) ต่อ TN (total nitrogen) คือ ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนในโปรตีนไฮโดรไลเซทต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและอัตราส่วนของ AN/TN จะมีค่าประมาณ 50 หรือมากกว่านี้ ในการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์เพียงชนิดเดียวจะมีผลทำให้เกิดการจำกัดความสามารถในการย่อยสลาย เช่น เอนไซม์บริสุทธิ์ที่ได้จากพืช จะมีค่าระดับขั้นการย่อยสลายสูงสุดประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น

2.5.2 การควบคุมกระบวนการย่อยสลาย ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซททางการค้า จะทำในลักษณะของกระบวนการผลิตที่ไม่ต่อเนื่อง โดยกระบวนการย่อยสลายจะควบคุมปัจจัยการย่อยสลายต่างๆ คือ อุณหภูมิ เวลา pH และ AN/TN สภาวะการย่อยสลายจะถูกควบคุม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติตามต้องการ เช่นมีการกระจายตัวของกรดอะมิโน สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ และปริมาณโปรตีนที่ไม่ได้ถูกย่อยสลาย (intact protein)

สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตนั้น จะพิจารณาจากอุณหภูมิที่เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุด โดยทั่วไปช่วงที่อุณหภูมิเหมาะสมต่อการทำงานคือ 32 – 50 องศาเซลเซียส ส่วน pH จะกำหนดให้อยู่ในช่วงที่ทำให้เอนไซม์มีแอคติวิตีสูงสุด เช่นถ้าใช้แพนเครียติน ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ประมาณ 7

เวลาในการย่อยสลายจะแปรผันโดยตรงกับอัตราส่วน AN/TN ที่ต้องการคือ ถ้าเวลาในการย่อยสลายมาก ค่า AN/TN จะมีค่าสูงขึ้นมากด้วย ดังนั้นในการผลิตจึงต้องหาความสัมพันธ์ของเวลา อุณหภูมิ อัตราส่วน AN/TN ที่เหมาะสม เพื่อสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติตามต้องการและคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

การเลือกใช้เอนไซม์ จะพิจารณาจาประสิทธิภาพ และความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ ดังนั้นในภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ pH และความเข้มข้นของเอนไซม์ ปัจจัยทางเศรษฐกิจจะเป็นตัวกำหนดว่า ระหว่างการลงทุนที่มากขึ้นกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว สิ่งใดจะทำให้เกิดความคุ้มค่ามากที่สุด และในการผลิตบางครั้งอาจมีการใช้โคแฟกเตอร์ร่วมด้วยก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งในการควบคุมการย่อยสลาย คือการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยที่สับสเตรทและเอนไซม์จะต้องเก็บในภาวะปลอดเชื้อ ก่อนนำมาเข้ากระบวนการ แต่เมื่อเข้าสู่กระบวนการ อุณหภูมิที่ใช้ก็อาจมีผลทำให้จุลินทรีย์เติบโตได้ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์นี้สามารถแก้ไขได้โดยการควบคุมกระบวนการต่างๆ อย่างใกล้ชิดโดยเฉพาะอุณหภูมิ pH รวมทั้งการทำให้ระบบอยู่ในสภาวะปลอดเชื้ออย่างแท้จริง

2.5.3 ความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซท จะถูกควบคุมระหว่างปฏิกิริยาย่อยสลายโดยสามารถควบคุมได้ใน 2 ลักษณะคือ

2.5.3.1 ระดับขั้นการย่อยสลาย จะเป็นตัวกำหนดความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์สุดท้าย

2.5.3.2 การหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลาย โดยโปรตีนที่ไม่ถูกการย่อยสลายและเอนไซม์จะถูกแยกออกโดยการกรองผ่าน DIATOMACEOUSR EARH (DE), fiberglass depth filter,Bacteria retention membrane filter และ cross flow filtration วิธีที่นิยมใช้ในการหยุดปฏิกิริยาในการย่อยสลายคือ การปรับ pH และอุณหภูมิอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิที่เอนไซม์โปรติเอสชนิดนั้นมีความไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน โดยการนำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้มาผ่านอุณหภูมิสูง ซึ่งเป็นการทำลายแอคติวิตีของเอนไซม์ และหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายการยับยั้งปฏิกิริยาโดยใช้กรดไม่เป็นที่นิยมในทางการค้า เนื่องจากเมื่อหยุดปฏิกิริยาโดยปรับ pH ให้เป็นกรดต้องปรับ pH ให้กลับมาเป็นกลางอีกครั้ง ทำให้เกิดเกลือขึ้นจำนวนมากในผลิตภัณฑ์ ซึ่งต้องมีการสกัดแยกเกลือออกอีกครั้งหนึ่ง การใช้ความร้อนสูง เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาการย่อยสลายอาจทำลายคุณค่าทางโภชนาการ และก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ไม่ต้องการได้ เช่นปฏิกิริยาเมลลาร์ดหรือก่อให้เกิดสารชนิดอื่นในผลิตภัณฑ์ได้ การหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายสามารถทำได้อีกวิธีหนึ่ง โดยการแยกเอาเอนไซม์ออกโดยการกรองผ่าน diatomaceous earth (DE) , fiberglass depth type, microporous หรือการใช้ ultrafiltration membrane

2.6 เอนไซม์ที่ใช้การย่อยสลายโปรตีน

2.6.1 การจำแนกชนิดของโปรติเอสตามลักษณะการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในโปรตีน

เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เรียกว่า proteolytic enzyme ทำหน้าที่ในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่อยู่ในโมเลกุลโปรตีนโปรติเอส สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะการย่อยพันธะเปปไทด์ในโปรตีนดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1.1 เอกโซเปปติเดส เป็นเอนไซม์ที่ชาวยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในโปรตีนทางด้านปลายแอลฟ่าอะมิโน หรือปลายแอลฟ่าคาร์บอกซิลเท่านั้น ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ อะมิโนเปปติเดส คาร์บอกซิลเปปติเดสและไดเปปติเดส

2.6.1.2 เอนโดเปปทิเดส เป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเปปไทด์ในโปรตีนได้หลายตำแหน่ง ไม่เฉพาะปลายทั้งสองเท่านั้น ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่

- โปรติเอสในระบบทางเดินอาหาร เช่น เปปซิน ทริปซิน และไคโมทริปซิน
- โปรติเอสจากพืช เช่น ปาเปน โบรมิเลน
- โปรติเอสจากเซลล์สัตว์ เช่น คาเธปซิน
- โปรติเอสจากแบคทีเรียและราบางชนิด เช่น นิวทรัลโปรติเอส จาก จาก *Bacillus subtilis* เป็นต้น

2.6.2 การจำแนกของโปรติเอส ตามลักษณะของบริเวณการเร่ง (active site)

2.6.2.1 ไธออลโปรติเอส (thiol protease) เป็นโปรตีนที่มีหน่วยเร่งปฏิกิริยาเป็นหมู่ไธออล ซึ่งอาจมีได้มากกว่า 1 หมู่ และถูกยับยั้งได้โดยสารประกอบที่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ธออลได้ เช่นไอออนของโลหะหนัก หรืออนุพันธ์ของไอออนโลหะหนัก สารที่มีสมบัติเติมหมู่อัลคิลและสารที่มีสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์เป็นต้น ตัวอย่างของเอนไซม์โปรติเอสที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้คือ ปาเปน ไฟซิน คาเธปซิน และโปรติเอสจากแบคทีเรียและราบางชนิด

2.6.2.2 เมธอลโปรติเอส เป็นโปรติเอสที่มีกลไกการทำงานในบริเวณ catalytic site ที่ประกอบด้วย metal ion เช่น Mg^{2+} , Co^{2+}, Zn^{2+} และ Fe^{2+} เป็นต้น ซึ่งอาจจะยึดติดกันอย่างหนาแน่นหรือจับกันอย่างหลวมๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ ตัวอย่างเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี่ได้แก่ เอกโซเปปทิเดสส่วนใหญ่ เช่น ลิวซีนอะมิโนเปปทิเดส โพรลิเดส เป็นต้น โปรติเอสกลุ่มนี้จะถูกยับยั้งเมื่อไอออนของโลหะที่จับอยู่กับโมเลกุลของเอนไซม์ถูกกำจัดไป

2.6.2.3 แอซิดโปรติเอส เป็นโปรติเอสที่สามารถเร่วปฏิกิริยาได้ดีในสภาวะที่มี pH ในช่วงกรด และที่หน่วยเร่งปฏิกิริยาจะประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลมากกว่า 1 หมู่ ตัวอย่างของโปรติเอสในกลุ่มนี้คือ เปปซิน และเรนนิน เป็นต้น

2.6.2.4 เซอรีนโปรติเอส เป็นโปรติเอสที่มีหน่วยเร่งปฏิกิริยาประกอบด้วยกรดอะมิโนเซอรีนซึ่งถูกยับยั้งโดยสารประกอบ organophosphorus เช่น disopropyl phosphofluoridate (DEP) ตัวอย่างของโปรติเอสี่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ได่แก่ ทริปซิน และ ธรอมบิน เป็นต้น แหล่งของเอนไซม์เหล่านี้จะพบในตับอ่อนของสัตว์สูง เช่น วัว ควาย หมู รวมทั้งมนุษย์ ซึ่งมีกลไกการทำงานคล้ายคลึงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์นี้ทั้งหมดเป็น endopeptidase และ optimum pH ของเอนไซม์กลุ่มนี้อยู่ในช่วง 6.7 – 9 จึงจัดเป็น alkaline protease

ปัจจุบันการย่อยสลายโปรตีนด้วยการใช้เอนไซม์ ถูกนำมาประยุกต์กบการย่อยสลาย วัตถุดิบที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ เพื่อใช้ในประโยชน์อุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์สามารถเพิ่มผลผลิตปรับปรุงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์หรือปรับปรุงวิธีในการผลิต นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีน สามารถที่จะรักษาคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ได้ดีว่าการย่อยสลายด้วยกรดและด่าง

2.7 การเลือกใช้เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร

การใช้เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารมีปัจจัยหลายอย่าง แต่สิ่งแรกที่ต้องมีก่อน คือ แนว ทางที่แน่ชัดแล้วว่าจะได้ "ประโยชน์" จากเอนไซม์ ดังนั้นจะต้องมีงานวิจัยเปรียบเทียบข้อได้และข้อเสียสำหรับอุตสาหกรรมอาหารเพื่อให้เข้าใจเป็นแนวทางจึงเสนอปัจจัยในการเลือกเอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารว่าจะมีอะไรบ้าง คือ

2.7.1 ความจำเพาะ (specificity)

ความจำเพาะของเอนไซม์ คือการสร้างผลผลิตให้กับอุตสาหกรรม ดังนั้นต้องเลือกเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูงสุด หรืออีกนัยหนึ่งก็คือมีความ "คม" เหมือนมีดผ่าตัด (surgeon's knife) สามารถทำให้ เกิดผลิตภัณฑ์อย่างเดียว ตัวอย่างเช่น กลูโคสออกซิเดส ถือเป็นเอนไซม์แบบมีดผ่าตัด เพราะมีความจำเพาะต่อ บีตา-ดี-กลูโคสเท่านั้น ซับสเตรตเปลี่ยนแม้เล็กน้อยเอนไซม์ไม่ทำงานเลย

2.7.2 ระดับ pH

ระดับ pH ของปฏิกิริยาเอนไซม์กับสถานการณ์อุตสาหกรรมควบคุมได้ยากหรือไม่ กระทบต่อผลิตภัณฑ์อาหารหรือไม่ถ้าหากมีการเปลี่ยน pH ให้เหมาะกับปฏิกิริยา เช่น การใช้เพกทิเนสในการอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ซึ่งมี pH ระหว่าง 3-5 และถ้าเอนไซม์ที่ใช้ระดับpH ต่างไปจากนี้ รสชาติผลิตภัณฑ์จะต้องเปลี่ยนไปด้วย

2.7.3 ระดับอุณหภูมิ

ระดับอุณหภูมิต้องพิจารณาประสานกันถึง 4 ประเด็น คือ อัตราเร็วการเกิดผลผลิต (rate), การทำลายเอนไซม์โปรตีน, สุขลักษณะหรือการปนเปื้อน, ระยะเวลาทำปฏิกิริยา ดังนั้น 4 ปัจจัยนี้ต้องมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การตกลงหาจุดพอดี เพื่อใช้ตัดสินเลือกเอนไซม์ เพราะในระดับอุตสาหกรรม ต้องได้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณและคุณภาพคู่กัน

2.7.4 ตัวกระตุ้นหรือยับยั้ง (activators/inhibitors)

ในระดับอุตสาหกรรมซึ่งต้องการผลผลิตสูงและใช้เวลาสั้นต้องเพิ่มระบบควบคุมปัจจัยเสริมนี้ให้มาก มิฉะนั้นผลผลิตจะไม่ได้ตามต้องการ ด้วยเหตุนี้จึงนิยมเลือกใช้เอนไซม์ที่มาจากจุลิ-นทรีย์ที่ผ่านระบบการเสริมกระตุ้นมาแล้ว เพื่อทำให้ง่ายต่อการควบคุมเมื่อเอนไซม์ทำงานต่อเนื่องในระยะที่มีซับสเตรตปริมาณมากหรืออยู่ในสภาวะที่เสี่ยงต่อการสูญเสียแอกทิวิตี

2.7.5 วิธีการวิเคราะห์ (analytical method)

การติดตามแอกทีวีตีของเอนไซม์ในระดับอุตสาหกรรมอาหารซึ่งส่วนใหญ่จะไม่มีการแยกเอนไซม์ออกจากระบบ ดังนั้นการวิเคราะห์แอกทีวิตีจะต้องทำได้รวดเร็วและไม่ซับซ้อน และถ้าเป็นระบบแบบวิเคราะห์แบบไร้สารเคมี (reagentless) เช่น การติดตามปริมาณน้ำตาลในการย่อยสลายด้วยอะไมเลสในอุตสาหกรรมแป้ง การติดตามปริมาณก๊าซ O_2 จากแคทาเลส เป็นต้น ซึ่งวิธีการวิเคราะห์นี้ผู้ขายเอนไซม์ควรต้องมีให้ผู้ใช้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวิเคราะห์ต้องไม่ยุ่งยากและไม่ใช้สารเคมีราคาแพง มิฉะนั้นการใช้งานจะล่าช้าได้ และติดตามผลไม่ทันที

2.7.6 การหามาได้ (availability)

ความพร้อมของเอนไซม์ หมายถึง ความสะดวกแก่ผู้ใช้ เพื่อให้เกิดผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอด ภัยรวมทั้งเป็นเอนไซม์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอตลอดและเชื่อใจได้ ดังนั้นเมื่ออุตสาหกรรมอาหารนั้นต้อง การขยายปริมาณการผลิต ก็จะสามารถหาเอนไซม์นี้ได้โดยไม่ขาดแคลน หาซื้อได้ง่าย

2.7.7 มีข้อมูลทางเทคนิค (technical service and support)

เอนไซม์ก็เหมือนวัตถุปรุงแต่งอาหารหรือองค์ประกอบอาหารทั่วไป ต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ ปริมาณที่ใช้ คำแนะนำ รวมทั้งข้อมูลใหม่เกี่ยวกับการปฏิบัติทั้งในฐานะผู้ใช้เอนไซม์และผู้บริโภคอาหาร จากเอนไซม์

2.7.8 ราคา (cost)

ราคาของเอนไซม์ซึ่งเป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมต้องรู้จักวิธีประเมิน เนื่องจากปริมาณการใช้เกี่ยวข้องกับซับสเตรตหรือวัตถุดิบทั้งชนิดและปริมาณ และฐานะของเอนไซม์เป็นแคทาลิสต์ ดังนั้น

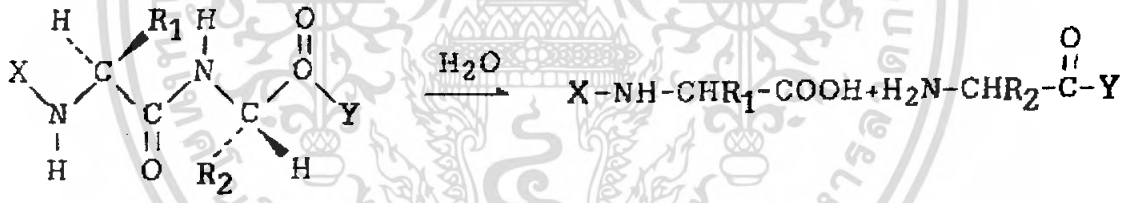
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
85379

ต้องพิจารณาราคาในแนวเปรียบเทียบต่อปฏิกิริยา (per unit of conversion) เปรียบเทียบต่อปริมาณร้อยละของผลผลิต (percentage of process cost) เป็นต้น

2.8 เอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน พบในพืช สัตว์ จุลินทรีย์ ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกันทางด้านความจำเพาะต่อสับสเตรท กลไกการเร่งปฏิกิริยา ลักษณะของบริเวณเร่งปฏิกิริยา สารยับยั้ง และสารเร่งปฏิกิริยา ลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุล พีเอช และอุณหภูมิการทำงาน และน้ำหนักโมเลกุล เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการจัดแบ่งกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสไว้ด้วยกันหลายวิธี เช่น จัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะของแหล่งกำเนิด คือ จากพืช สัตว์ จุลินทรีย์ หรือจัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะของการย่อยสลายเปปไทด์ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ (Antonov, 1993 และ ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) คือ การย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายของโพลีเปปไทด์

โปรติเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรติเนส เปปไทด์ไฮโดรเลส และเอนไซม์โปรติโอไลติกสลายพันธะเปปไทด์ด้วยน้ำ



ภาพที่ 2.8.1 ลักษณะปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส
ที่มา : ปราณี (2547)

2.8.1 ลักษณะธรรมชาติของหมู่ X และ Y (H^+ และ OH^-)

โปรตีนทั่วไปจะมีหมู่ X เป็น H^+ และ หมู่ Y เป็น OH^- แต่เมื่อโปรตีนนั้น ๆ มีหมู่ X และ หมู่ Y เปลี่ยนไป จะมีผลให้ความจำเพาะของเอนไซม์เปลี่ยนไป กล่าวคือ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อหมู่ X และY จะบ่งชี้ลักษณะการตัดสายยาวของพอลิเปปไทด์ คือ

2.8.1.1 เอนโดเปปติเดส (Endepeptidases)

เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระ (randomly) ภายในสายโปรตีนทั้งนี้ต้องให้จำเพาะตรงต่อ R_1 และ R_2 ด้วย จึงจะตัดพันธะเปปไทด์ได้ ถ้า R_1 และ R_2 ไม่สอดคล้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความจำเพาะของเอนไซม์นั้น 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

2.8.1.2 เอกโซเปปติเดส (Exopeptidases)

เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายของโปรตีน 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

2.8.2 ประเภทของเอนไซม์โปรติเอส แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ตามกลไกการทำงาน

2.8.2.1 โปรติเอสเซรีน (serine proteases ,Alkali protease, pH 6.7 - 9)

2.8.2.2 โปรติเอสซัลไฟดริล (Sulfhydryl proteases) หรือโปรติเอสไทออล (Thiol proteases)หรือ โปรติเอสซีสเตอีน (Cysteine proteases)

2.8.2.3 โปรติเอสมีโลหะ (Metal-containing proteases)

2.8.2.4 โปรติเอสกรด (Acid proteases) หรือโปรติเอสแอสปาติก (Aspartic proteases) หรือโปรติเอสคาร์บอกซิล (Carboxyl proteases)

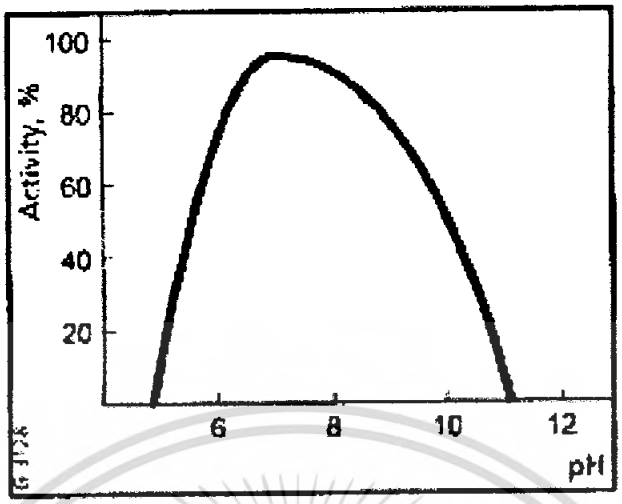
2.9 เอนไซม์อัลคาเลส

อัลคาเลสจัดเป็นเอนไวม์โปรติเอสชนิดวีรีนโปรติเอส (serine protease) จากแบคทีเรีย(bacterial serine protease) ผลิตจาก *Bacillus licheniformis* เป็นโปรตีเอสที่มีการผลิตมากที่สุดเพื่อใช้ในผงซักฟอก นอกจากนั้นชนิดที่เป็น food grade ยังใช้ทำ soluble protein hydrolysate จากโปรตีนแหล่งต่างๆเช่น โปรตีนถั่วเหลือง โปนตีนปลา โปรตีนเม็ดเลือดแดงจากโรงงานฆ่าสัตว์

การย่อยแบบจำกัด(limited hydrolysis) ของเอนไซมัลคาเลสทำให้คุณสมบัติการเป็น emulsifier และ foaming agent ของโปรตีนถั่วเหลืองดีขึ้น โดยเอนไซม์ นีมีความจำเพาะกับพันะเปปไทด์ที่มีหมู่ acly (R) ทางด้าน carbonyl side เป็นพวก hydrophobic side chain

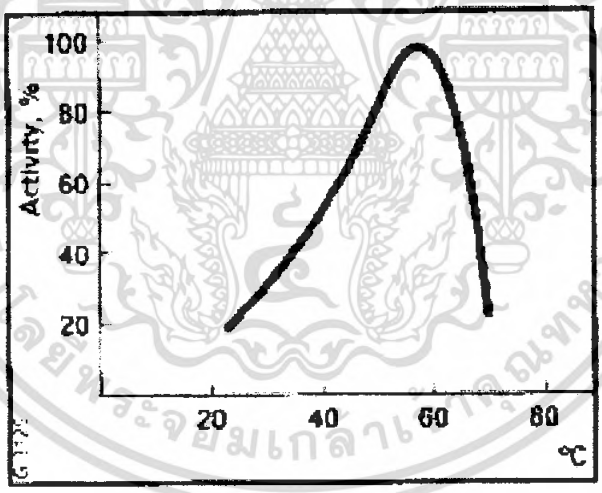
เอนไซม์อัลคาเลสมีสภาวะที่เหมาะสมที่ ค่าพีเอช 8-9 ช่วงอุณหภูมิที่ 55 -60 องศาเซลเซียสโดยที่ค่าพีเอชที่เกือบ 4 จะเสียแอคติวิตีหมดเนื่องจากเกิดการคลายตัว (unfoiding) และการย่อยตัวเอง (autodigestion) อย่างรวดเร็ว (วิภัตรา เวศกาวี , 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.9.1 ภาพแสดงผลอิทธิพลของ พีเอช ต่อกิจกรรมของอัลคาเลส

ที่มา : Novozymes (2001)



ภาพที่ 2.9.2 ภาพแสดงผลอิทธิพลของ อุณหภูมิต่อกิจกรรมของอัลคาเลส

ที่มา : Novozymes (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 เอนไซม์ฟลาโวไซม์

คือสารประกอบพวกโปรติเอสหรือเปปติเดส ซึ่งเกิดจากขบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในสารประกอบอินทรีย์หรือสารประกอบเชิงว้อนดคยฤทธิ์ของเอนไซม์ จากขบวนการสันดาปให้พลังงานของจุลินทรีย์ Aspergillus oryzae ซึ่งยังไม่ได้ถูกดัดแปลงทางพันธุกรรม และยังประกอบไปด้วยกิจกรรมแบบ endoprotiase และ exopeptidase (เอนไซมีที่กระตุ้นการไฮโดรไลท์ของอะมิโนแอซิดของสายเพปไทด์)

ช่วงพีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์นี้จะมีค่าอยู่ระหว่าง 5.0 – 7.0 ค่าพีเอชที่เหมาะสมของ การทดสอบแล้ว ช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการ dibbittering นั้นก็มีค่าประมาณ 7.0 เช่นกัน

2.10.1 คุณสมบัติ

Flavourzyme ที่พบอยู่ในปัจจุบันนั้นเป็น Flavourzyme ขนาด 500 L ซึ่งเป็นของเหลวและ Flavourzyme แบบ 500 MG ซึ่งมีสีน้ำตาล ,ไหลง่าย.,เป็นเม็ดเล็กๆขนาดไมโครที่ไม่ฟุ้งกระจาย ซึ่งจะถูกทำให้เป็นเม็ดเล็กๆบน โซเดียมคลอไรด์ โดยสีของนั้นจะแปรเปลี่ยนไปในแต่ละรุ่นและความเข้มของสีที่วัดได้นั้นไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

2.10.2 การทำงาน

Flavourzyme นั้นเป็นมาตรฐานในหน่วย Leucine Amino Peptidase ต่อ กรัม(LAPU/g)

Flavourzyme 500 MG .....สามารถทำกิจกรรมได้ : 500 LAPU/ g

Flavourzyme 500 L.....สามารถทำกิจกรรมได้ : 500 LAPU/ g

หนึ่ง LAPU นั้นมีจำนวนเอนไซม์มากมายซึ่งไฮโดรไลท์ 1 μmol ของ L-leucine-p-nitroanilide per minute

2.10.3 การละลาย

Flavourzyme 500 MG และ Flavourzyme 500 L นั้นละลายได้ดีในน้ำ

2.10.4 การนำมาใช้

Flavourzymeสารประกอบพวกโปรติเอสหรือเปปติเตสซึ่งใช้ในการไฮโดรไลท์โปรตีนในสภาวะที่เป็นกลางหรือกรดอ่อนๆ Flavourzymeนั้นสามารถใช้สำหรับ debittering รสขมของโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

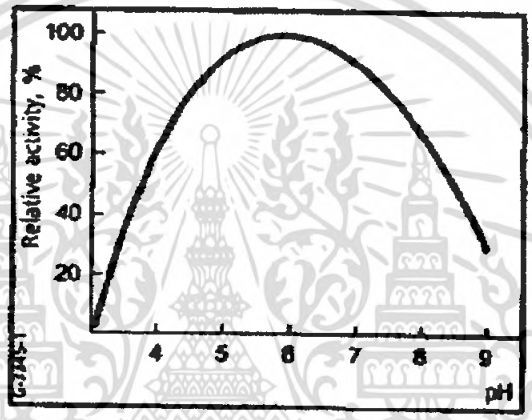
ไฮโดรไลเซทในระดับต่ำๆของการไฮโดรไลท์และการไฮโดรไลเซทอย่างครอบคลุมของโปรตีนซึ่งมีผลในด้านกลิ่นรสที่ปรากฏ

สำหรับ การ debittering สามารถใช้ Flavourzymeที่โดสละ 5 -10 LAPU/g protein

สำหรับการไฮโดรไลซิสทีครอบคลุมจะใช้โดส ละ 10 -15 LAPU/g protein

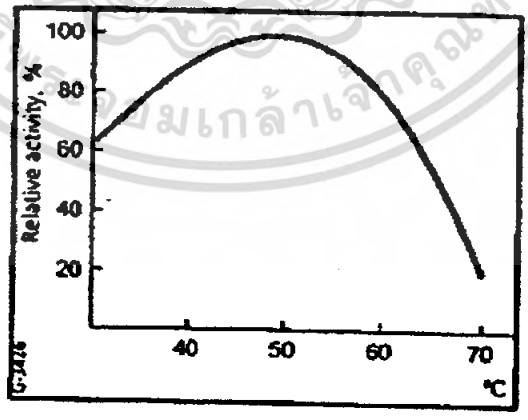
2.10.5 กราฟแสดงปฏิกิริยา

กิจกรรมของ Flavourzyme ขึ้นกับค่า พีเอชและอุณหภูมิ ซึ่งจะแสดงดังนี้



ภาพที่ 2.10.1 ภาพแสดงผลอิทธิพลของ พีเอช ต่อกิจกรรมของ Flavourzyme

ที่มา : Novozymes (2001)



ภาพที่ 2.10.2 : ภาพแสดงผลอิทธิพลของ พีเอช ต่อกิจกรรมของ Flavourzyme

ที่มา : Novozymes (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 การดัดแปลงโปรตีน(Protein modification)

ยิ่งโปรตีเอสมี ความจำเพาะในการไฮโดรไลซ์พันธะระหว่างกรดอะมิโน 2 ตัวมากเท่าไหร่ก็ยิ่งทำให้เกิด Small peptide และกรดอะมิโน ได้มากเท่านั้น เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเช่นนี้คือ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะกว้าง (broad specificity) เช่น pepsinและ trypsin เอนไซม์เหล่านี้เมื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโรไลซ์โปรตีนแล้ว จะได้ค่า alkaline titre(DH) สูง ได้ yield สูง แต่ถ้าเอนไซม์ มีความจำเพาะแคบ (narrow specificity) จะสามารถควบคุมการย่อยได้ดีกว่า เพื่อใช้ในการปรับปรุงหน้าที่ของโปรตีน เช่น foaming, gelling, emulsification ในกรณีที่DHต่ำจะเกิด small peptide มาก ซึ่งจะทำให้ผลิตผลที่ได้มีรสขม บางครั้งการใช้ debittering peptidase อาจใช้ไม่ได้ผลเสมอไป ขึ้นอยู่กับความจำเพาะเอนไซม์นั้น ๆ ดังนั้นจึงต้องพิจารณาเลือกเอนไซม์หรือลำดับการใช้เอนไซม์เพื่อให้ผลิตผลที่ได้มี composition , functionality , organoleptic quality ตามต้องการ ดังตาราง

ตารางที่ 2.11.1 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	Hypoallergenics Biomedicals	Meat/fish/plant Solubility and stability	Acid stable soluble for Food/detergens and cosmetics

ที่มา : บุญเทียม พันธุ์เพ็ง (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.1 การปรับสภาพของโปรตีนก่อนการย่อย (Substrate protein condition)
เมื่อสภาวะแวดล้อมของโปรตีนเปลี่ยนไปความจำเพาะจะเปลี่ยนไปด้วย ในอุตสาหกรรมอาจจะทำให้โปรตีน denature ด้วยสารเคมีหรือความร้อนทั้งในแบบ reversible และ irreversible ก่อนทำการย่อย

2.11.2 ความเข้มข้นของสับสเตรตและเอนไซม์

ประสิทธิภาพการย่อยขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งจะต้องใช้ปัจจัยเหล่านี้ร่วมกันในกระบวนการผลิต

เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตสูงขึ้น

- ทำให้มีความคงตัวของเอนไซม์เมื่ออุณหภูมิและpH ไม่เหมาะสมมาก ๆ

-ในทางปฏิบัติจะเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนที่เป็นสับสเตรตได้ถึงระดับหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากเมื่อสูงมากจะทำให้

- การละลายของโปรตีนลดลง

- ความหนืดเพิ่มขึ้น เกิด diffusion และ adsorption

จึงต้องหาความเข้มข้นของสับสเตรตที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์และสับเสรตนั้น

เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตต่ำ

- ความเร็วของปฏิกิริยาจะเร็วกว่าที่ความเข้มข้นสูง

- มี product inhibition ต่ำ มีปริมตรของ reaction mixture มาก

- ต้นทุน operate สูง

- ความเข้มข้นของ product ต่ำ

- การเลือกความเข้มข้นของสับสเตรตที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญ

ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม

- ใช้หน่วยเป็น % โดยน้ำหนักของ protein substrate

ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม

-ใช้หน่วยเป็น % โดยน้ำหนักของ protein substrate

-ที่ค่า อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และสับสเตรทใด ๆ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ [Enzyme] อัตราเร็วของปฏิกิริยาก็เพิ่มขึ้น

- ความเข้มข้นของเอนไซม์ ยิ่งมาก เวลาที่ใช้ก็ยิ่งลดลง

-การเลือก ความเข้มข้นของเอนไซม์ ที่เหมาะสม จึงจำเป็นในทางปฏิบัติและในทางเศรฐศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-การใช้อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และสับสเตรทสูงมากอาจทำให้เกิดความจำเพาะที่ต่างจากสภาวะปกติและอาจเกิด reverse reaction ได้เปปไทด์ชนิดใหม่ ซึ่งปฏิกิริยาแบบนี้เรียกว่า plastein reaction

-ที่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ สูง อาจเกิดการไฮโดรไลซ์เอนไซม์ทำให้เอนไซม์ถูกทำลาย และอาจเกิดมากในกรณีที่ใช้เอนไซม์หลายตัวร่วมกัน

2.12 การวิเคราะห์ degree of hydrolysis

2.12.1 วิธี pH-stat technic

เมื่อโมเลกุลของโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ พันธะเปปไทด์ 1 พันธะถูกไฮโดรไลซ์จะได้ 1 หมู่อะมิโนอิสระ และ 1 หมู่คาร์บอกซิลอิสระในสารละลายที่เป็นน้ำหมู่อะมิโนอิสระ และหมู่คาร์-บอกซิลอิสระจะแตกตัวได้มากหรือน้อย ขึ้นกับพีเอชของสารละลาย ค่า pK ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของหมู่อะมิโนอิสระ คือ 7.5 -7.8 ส่วนค่า pK ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของหมู่คาร์บอกซิลอิสระ คือ 3.1-3.6 ถ้าในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิลของโปรตีน สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซทถูกไทเทรตด้วยสารละลายกรดหรือด่าง ปริมาตรของสารละลายกรดหรือด่างที่ใช้ในการไทเทรต สามารถจะบอกได้ว่ามีพันธะเปปไทด์จำนวนเท่าไร ที่ถูกไฮโดรไลซ์ วิธวัดแบบนี้เรียกว่า วิธี pH-stat technic

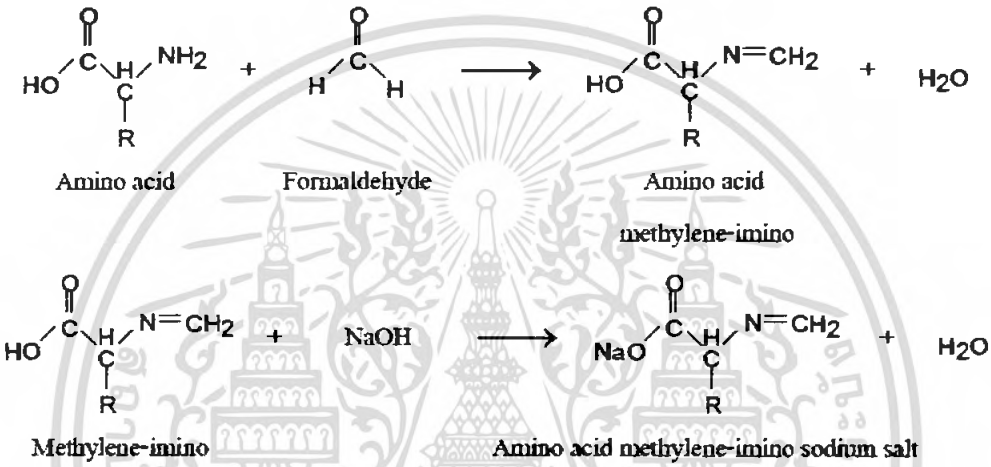
วิธีคำนวณค่าระดับการถูกไฮโดรไลซ์ของโปรตีน (degree of hydrolysis, DH) วิธีทำโดยไทเทรตหาปริมาณปลายทางด้านคาร์บอกซิล (-COOH) ที่เกิดขึ้นจากการที่โมเลกุลโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ที่ระดับต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH แล้วใช้ค่าไทเทอร์ที่ได้คำนวณปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ ค่า DH ที่ได้ สามารถบอกถึงปริมาณพันธะเปปไทด์เป็นร้อยละที่ถูกไฮโดรไลซ์ (%DH) แต่ไม่สามารถบอกถึงสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซท การหาค่า %DH ด้วยวิธีนี้จะรวดเร็วและมีประโยชน์ในการตรวจติดตามผลของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องการไฮโดรไลซ์โปรตีนให้มีคุณสมบัติตามต้องการโดยใช้การหา %DH เป็นระยะ ๆ เป็นตัวตรวจวัด

2.12.2 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน(amino nitrogen)

ผลิตภัณฑ์หมักหลายชนิดผลิตจากโปรตีนจากเมล็ดถั่วและเนื้อสัตว์ นำมาหมักให้เกิดการย่อยเป็นกรดอะมิโนและสารอื่นที่มีกลิ่นรสเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำปลา ซีอิ๊ว กะปิ ปลาร้า การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (amino nitrogen) คือ ไนโตรเจนที่ได้จากกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยไม่รวมถึงไนโตรเจนจากโมเลกุลของโปรตีนที่ยังไม่ถูกย่อยเป็นกรดอะมิโนและไม่รวมถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจนจากสารอนินทรีย์อื่นๆ ที่ปนมากับตัวอย่าง เช่น ไนเตรท, แอมโมเนีย ซึ่งต่างจากการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ที่ใช้ในการคำนวณโปรตีนสกัดหยาบ (crude protein) ซึ่งจะมีไนโตรเจนจากแหล่งอื่นด้วย เนื่องจากโมเลกุลของกรดอะมิโนมีหมู่อะมิโน (NH2) ที่สามารถทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์เป็นหมู่ methylene-imino (N=CH2) ทำให้หมู่คาร์บอกซิล (COOH) ของโมเลกุลของกรดอะมิโนเป็นอิสระ จึงสามารถหาปริมาณกรดอะมิโนโดยการไทเทรตกับสารละลายด่างมาตรฐานดังนี้



ภาพที่ 2.12.1 ภาพแสดงปฏิกิริยาการหาปริมาณกรดอะมิโน

ที่มา : บุญเทียม พันธุ์เพ็ง (2550)

ไนโตรเจนจากกรดอะมิโนมีค่าเท่ากับผลต่างคิดเป็นกรัมระหว่างฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen) กับแอมโมเนียคัลไนโตรเจน(ammoniacal nitrogen) ในตัวอย่าง 1 ลิตร มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นเมือง มอก. ๓- ๒๕๒๖ กำหนดให้น้ำปลาชั้นคุณภาพที่1 และ 2 มีปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ไม่น้อยกว่า 10 และ 7.5 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.12.1 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 : วิภัตรา เวศกาวี (2549)

2.12.3 วิธีวัดปริมาตรน้ำใสที่ได้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

หอยลายสด

3.1.2 เอนไซม์

เอนไซม์อัลคาเลส

เอนไซม์ฟลาโวไซม์

3.1.3 สารเคมี

แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

กรดไฮโครคลอริก

แอลกอฮอล์ 95 %

กรดบอริก

โพแทสเซียมพทาเลต

ฟอร์มัลดีไฮด์

ซิลีเนียมมิกซ์เจอร์

Bromocresol green

Methyl red

Phenolptaline

Mixed indicator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น

3.2 อุปกรณ์

เครื่องกลั่นโปรตีน

เครื่องกลั่นแอลกอฮอล์

เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

เครื่องปั่น (Blender)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

เครื่องชั่งน้ำหนัก

เตาแก๊ส

บิวเรตและขาตั้ง

ปีเปต

บีกเกอร์

ขวดแก้วรูปชมพู่ (flask)

ขวดปรับปริมาตร

กรวยแก้ว

หลอดกลั่นโปรตีน

หลอดทดลองและlack

แท่งแก้วคน

ช้อนตักสาร

Aluminium can

Desiccator

Stirrer + Magnetic bar

ตู้อบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมเนื้อหอยลายเพื่อใช้ในการไฮโดรไลซ์

ซื้อหอยลายสดจากตลาดสดมหาชัย ที่จังหวัด สมุทรสงคราม นำหอยลายสดมาล้างน้ำสะอาด จากนั้นแช่น้ำเกลือในกะละมังระหว่างรอทำการแกะเปลือกหอยลายออกแกะเปลือกหอยลายออก จากนั้นนำเนื้อหอยลายสดที่แกะได้มาล้างน้ำสะอาด ทำให้สะเด็ดน้ำจากนั้นนำเนื้อหอยลายไปปั่นด้วยเครื่องปั่นจนเนื้อหอยลายละเอียด ผสมให้เข้ากันนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส

3.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อหอยลายสด

ทำการวิเคราะห์ความชื้น (A.O.A.C 1984) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในหอยลายด้วยวิธี Kjeldhal (A.O.A.C 1984) และนำไปวัด pH ในเนื้อหอยลายสด ด้วยเครื่อง pH meter รวมทั้งสังเกตลักษณะของเนื้อหอยลายที่ได้ว่าสดหรือไม่ โดยการดมกลิ่น และดูจากค่า pH ที่วัดได้ ซึ่งขั้นตอนการวิเคราะห์ความชื้นและโปรตีน

3.3.3 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการกำจัดรสขมจากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายเพื่อใช้ผลิตหอยลายสกัด

ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการวางแผนการทดลองแบบ Factorial Design ทดลอง 3 ซ้ำ โดยมีตัวแปรที่ศึกษา ดังนี้

- ชนิดของเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ฟลาโวไซม์(flavourzyme) , เอนไซม์อัลคาเลส(alcalase)
- ความเข้มข้นของเอนไซม์ ได้แก่ 0.8, 1.6 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์
- อุณหภูมิในการไฮโดรไลซ์โปรตีน ได้แก่ อุณหภูมิ 50, 60 และ70 องศาเซลเซียส
- ระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์โปรตีน ได้แก่ 3 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง

3.3.3.1ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์อัลคาเลส ในการผลิตหอยลายสกัด

นำเนื้อหอยลายบด มาปรับความเป็นกรดด่างให้ได้เท่ากับ 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จากนั้นเติมเอนไซม์อัลคาเลสโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง โดยทุกชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปทำการหยุดปฏิกิริยา จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนจากนั้นนำส่วนที่เหลือไปเหวี่ยงแยกตะกอน แล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์(%DH) วิธี วัดปริมาตรส่วนใส (%)และทดสอบลักษณะปรากฏ สี กลิ่นและ รส ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสสรุปได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.2ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

นำเนื้อหอยลายบด มาปรับความเป็นกรดด่างให้ได้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล แล้วนำไปผสมกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.8 , 1.6 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 50 , 60และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง โดยทุกชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปทำการหยุดปฏิกิริยาจากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนจากนั้นนำส่วนที่เหลือไปเหวี่ยงแยกตะกอนแล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์ (%DH) วิธี วัดปริมาตรส่วนใส (%)และทดสอบลักษณะปรากฏ สี กลิ่นและ รส

3.3.3.3ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์ฟลาโวไซม์

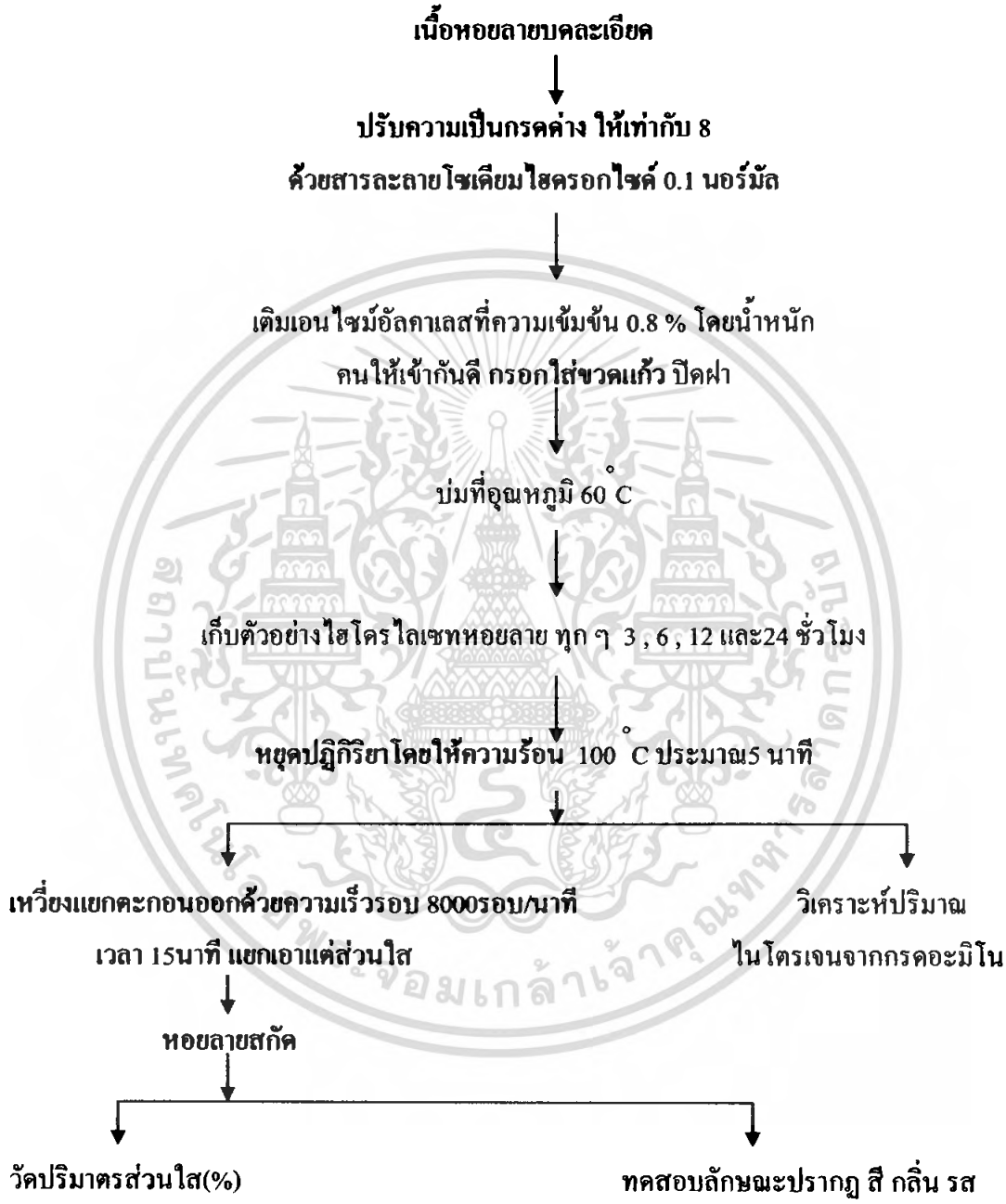
นำเนื้อหอยลายบดมาแบ่งครึ่ง แยกปรับความเป็นกรดด่างให้ได้เท่ากับ 8 และ7ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล แล้วนำไปผสมกับเอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.8 , 1.6 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 50 , 60และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง โดยทุกชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปทำการหยุดปฏิกิริยาจากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนจากนั้นนำส่วนที่เหลือไปเหวี่ยงแยกตะกอนแล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์(%DH) วิธี วัดปริมาตรส่วนใส (%)และทดสอบลักษณะปรากฏ สี กลิ่นและ รส

3.3.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วตามด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

นำเนื้อหอยลายบด มาปรับความเป็นกรดด่างให้ได้เท่ากับ 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จากนั้นเติมเอนไซม์อัลคาเลสโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นใส่เอนไซม์ฟลาโวไซม์โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.8 , 1.6 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักคนให้เข้ากันดี ปิดฝาภาชนะที่ใส่ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 50 , 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง โดยทุกชั่วโมงที่กำหนดต้องเก็บตัวอย่างไปทำการหยุดปฏิกิริยาจากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนจากนั้นนำส่วนที่เหลือไปเหวี่ยงแยกตะกอนแล้วเก็บแต่ส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์(%DH) วิธี วัดปริมาตรส่วนใส (%)และทดสอบลักษณะปรากฏ สี กลิ่นและ รส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

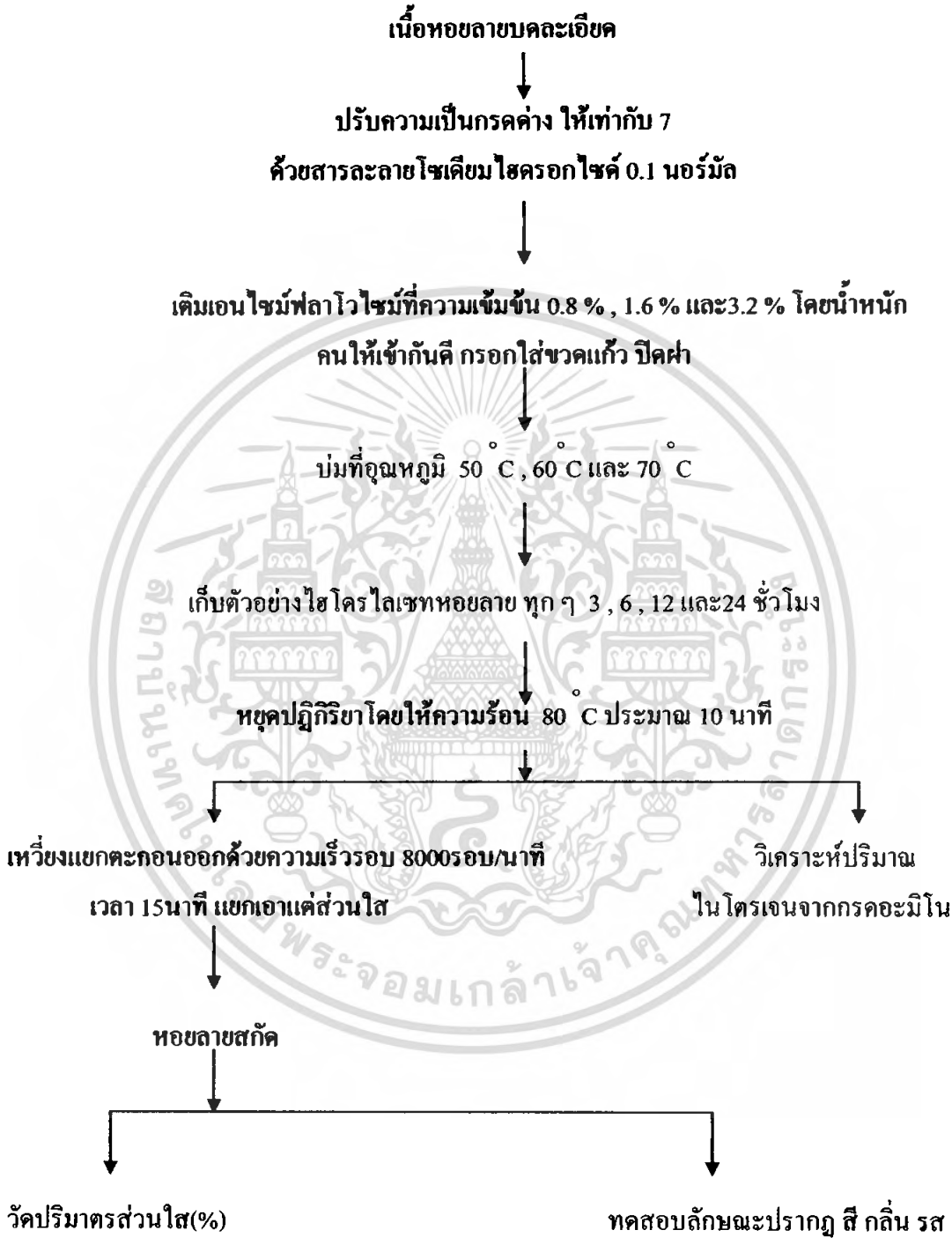
ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสสรุปได้ดังนี้



ภาพที่ 3.3.3.1 ขั้นตอนการผลิตและการวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์สรุปได้ดังนี้



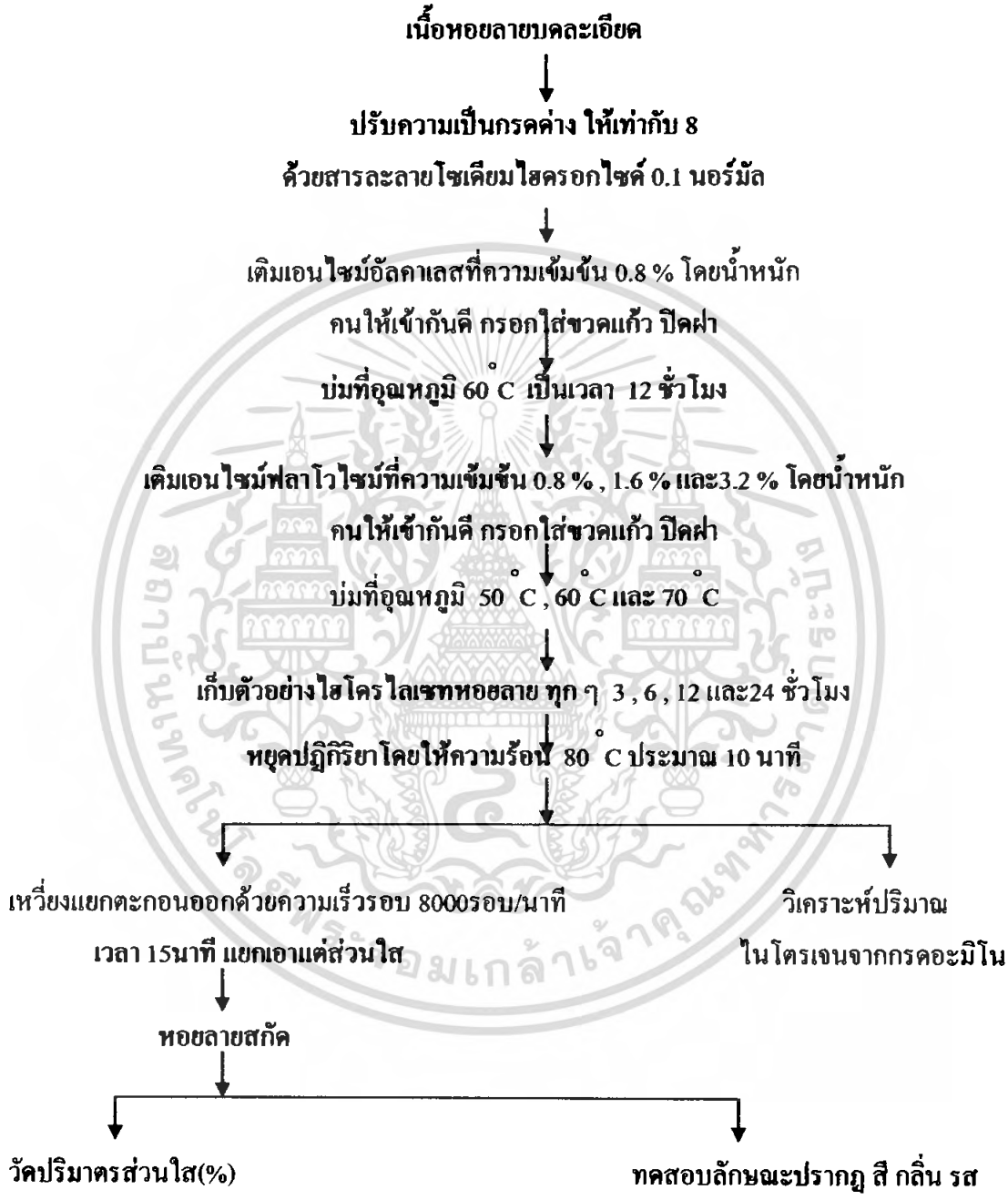
ภาพที่ 3.3.3.2 ขั้นตอนการผลิตและวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3.3.3.3 ขั้นตอนการผลิตและวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์ฟลาโว ไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการผลิตและการวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสก่อนแล้วตามเอนไซม์ฟลาโวไซม์สรุปได้ดังนี้

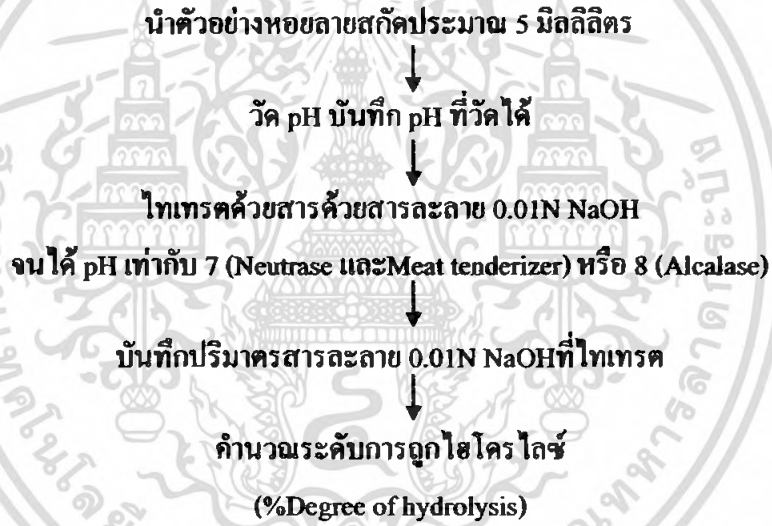


ภาพที่ 3.3.3.4 ขั้นตอนการผลิตและวิเคราะห์หอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วตามด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์หอยลายสกัด

3.4.1 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ด้วยวิธี pH-stat อาศัยหลักการไทเทรตหาปริมาณปลายทางด้านคาร์บอกซิล (-COOH) ที่ เกิดขึ้นจากการที่โมเลกุลโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ที่ระดับต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วใช้ค่าที่ไทเทรตที่ได้คำนวณปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ ซึ่งมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้ นำตัวอย่างหอยลายสกัดมาวัด pH แล้วไทเทรตด้วยสารด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัลจนได้ pH เท่ากับ 7 (สำหรับเอนไซม์นิวเทรสและผงทำให้เนื้อนุ่ม) หรือ 8 (สำหรับเอนไซม์อัลคาเลส)แล้วบันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัล ที่ไทเทรตได้ไปคำนวณค่า %DH ขั้นตอนการวิเคราะห์มีดังนี้



ภาพที่ 3.4.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ระดับการถูกไฮโดรไลซ์ของโปรตีนในเนื้อหอยลายด้วยวิธี pH stat

สูตรการคำนวณระดับการถูกไฮโดรไลซ์ (%DH)

$$\%DH = (Vb)\,(Nb)\,(1/a)(1/M)(1/h_{tot})(100)$$

เมื่อ Vb = ปริมาตรของสารละลายด่างมาตรฐานที่ใช้ไทเทรต (ml)

Nb = ความเข้มข้นของสารละลายด่างมาตรฐานที่ใช้ไทเทรต (N)

1/a = ค่าการแตกตัวของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซทที่นำมาไทเทรต ซึ่งมีค่าโดยประมาณเท่ากับ1.1ที่pH8 และ 2.2 ที่ pH 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

M = น้ำหนักโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซท (กรัม) ซึ่งมีค่าเท่ากับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซทที่นำมาไทเทรต ซึ่งวิเคราะห์ได้โดย kjeldahl × ค่าfactor f ของโปรตีนชนิดนั้น

h_{tot} = จำนวนพันธะเปปไทด์ที่มีอยู่ทั้งหมดในโปรตีนชนิดนั้น 1 กรัม มีหน่วยเป็น meq/g N · f_N ตัวเลขนี้คำนวณจากความเข้มข้นของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ โดยเป็นผลรวมของความเข้มข้น (มีหน่วยเป็น mmol/ g N · f_N) ของกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนชนิดนั้น ความเข้มข้นนี้ได้จากการวิเคราะห์ ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ โดยทั่วไปมีหน่วยเป็นกรัมต่อ โปรตีน 100 กรัม (ค่า standard factor สำหรับโปรตีนในทั่วไป = 6.25 กรัม ซึ่งคำนวณจากโปรตีนโดยทั่วไป มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 6 กรัมต่อโปรตีน 100 กรัม ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 1 กรัม มีโปรตีน = 100/6 = 6.25) ถ้าไม่กำหนดเป็นอย่างอื่น f_N = 6.25 และ h_{tot} = 8.0 meq/g N · 6.25 (วิภัตรา เวศกาวี , 2549)

ตารางที่ 3.4.1 ตารางแสดงค่า f และ h_{tot} ของโปรตีนชนิดต่าง ๆ

ชนิดของโปรตีน	f	h
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)

3.4.2 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ด้วยวิธี AN/TN ratio ขั้นตอนในการวิเคราะห์ นำหอยลายสกัดมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (AN) จากผลต่างของปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน(formaldehyde nitrogen) กับปริมาณอัมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen) โดยวิธีการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนและอัมโมเนียคัลไนโตรเจนขั้นตอนการวิเคราะห์มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน

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

ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:9 มา 10 มิลลิลิตร

↓

ปรับค่าความเป็นกรดค่างให้เท่ากับ 7 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์

↓

เติมสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีค่าความเป็นกรดค่าง เท่ากับ 9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

↓

ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนได้ความเป็นกรดค่างเท่ากับ 9

$$X = 14yN$$

เมื่อ X = ปริมาณของฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม

Y = ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นนอร์มัล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโนเนียคัลไนโตรเจน

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:9 มา 25 มิลลิลิตรใส่ในขวดกลั่น

↓

เติมแมกนีเซียมออกไซด์ 1.5 กรัมและน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร

↓

กลั่นแอมโมเนียที่เกิดขึ้นลงในขวดแก้วที่มีกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 25 มล.
และมีเมทิลเรดโบรโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์ 6-10 หยด

↓

จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลือ 1ใน4 ของปริมาตรเดิม
ไตเตรทแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.05 นอร์มัล
จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู

↓

คำนวณหาปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน

$$X = 5.6yN$$

เมื่อ X = ปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม
y = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร
N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก เป็นนอร์มัล

สูตรการคำนวณระดับการถูกไฮโดรไลซ์(%Degree of hydrolysis)

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

เมื่อ

Soluble nitrogen (AN) = ปริมาณ ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน(Amino nitrogen) หน่วย กรัม/ลิตร

Total nitrogen(TN) = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(Total nitrogen) ซึ่งวิเคราะห์ได้โดย kjeldahl × ค่าfactor f ของโปรตีนชนิดนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ด้วยวิธี การวัดปริมาตรส่วนใส หลักการการวัดคือ ส่วนที่ไม่ละลาย (insoluble) กลายเป็นส่วนที่ละลายได้(soluble) ซึ่งขั้นตอนในการวิเคราะห์คือ นำตัวอย่างหอยลายสกัดที่เก็บมาในระยะเวลาที่กำหนดมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000รอบ/นาที เป็นเวลา 10นาที แล้วแยกส่วนใสออกมาโดยบันทึกปริมาตรของส่วนตะกอน และส่วนใส ขั้นตอนการวิเคราะห์มีดังนี้

การวัดปริมาตรส่วนใส

ตัวอย่างหอยลายสกัดที่เก็บมาในระยะเวลาที่กำหนด

↓

มาหมุนเหวี่ยงแยกตะกอนออกด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 8000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 15 นาที

↓

แยกส่วนที่ใสและตะกอนออกจากกัน จากนั้นวัดปริมาตรของส่วนที่เป็นตะกอนและส่วนใส

↓

คำณวนลักษณะของเปอร์เซ็นส่วนใส

สูตรการคำณวนเปอร์เซ็นปริมาตรส่วนใส

$$\%\text{ปริมาตรส่วนใส} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำใส}}{\text{ปริมาตรทั้งหมด}} \times 100$$

3.4.4 สังเกตลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัด การสังเกต สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทางการค้าและผงทำให้เนื้อนุ่มนั้นจะทำการทดลองโดยนำตัวอย่างหอยลายสกัดมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส คือ ดูการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นคาวของหอยลายสกัดและรสของหอยลายสกัดเทียบกับรสของผงชูรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อหอยลายสด

จากตารางที่ 4.1.1 จะแสดงถึงผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อหอยลายพบว่า หอยลาย 1 ก.ก.ได้เนื้อหอยลาย 217 กรัม (หอยขนาดกลาง ราคาต่อก.ก. 63 บาท)

มีปริมาณความชื้น = 81.59 เปอร์เซ็นต์

มีปริมาณของไนโตรเจนจากกรดอะมิโน = 2.17 กรัม/1ลิตร

มีพีเอช = 6.43 หอยคุณภาพดีมี pH 6.2-5.9 (บุษกร อุตรภิชาติ , 2547)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีนในเนื้อหอยลายสดที่ใช้ในการทดลอง พบว่าปริมาณความชื้นคือ 81.59 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโปรตีนคือ 13.38 เปอร์เซ็นต์ (เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนต่อตัวอย่าง 100 กรัม) ดังนั้นพบว่าปริมาณโปรตีนมีค่ามากกว่า Jay (2000) ที่มีการรายงานว่าปริมาณโปรตีน 12.8 เปอร์เซ็นต์ในหอยลาย ดังนั้นโปรตีนจึงเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อคุณภาพด้านกลิ่นรสของน้ำหอยลายสกัด

ตารางที่4.1.1 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบของหอยลายสด

องค์ประกอบของหอยลาย	ปริมาณ
เนื้อหอยลายสดต่อหอยลายทั้งเปลือก (กรัมต่อกิโลกรัม)	217
ความชื้นในเนื้อหอยลายสด (กรัมต่อ 100 กรัม)	81.59
โปรตีนในเนื้อหอยลายสด (กรัมต่อ 100 กรัม)	13.38
ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อ 1ลิตร)	2.17
พีเอชของเนื้อหอยลายสด	6.43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การเตรียมเนื้อหอยลายเพื่อใช้ในการไฮโดรไลซ์

ในสารละลายที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์มีอัตราส่วนของ ปริมาณเอนไซม์/เนื้อหอยลายที่ใช้เท่ากับ 0.008/1 , 0.016/1 และ 0.032/1

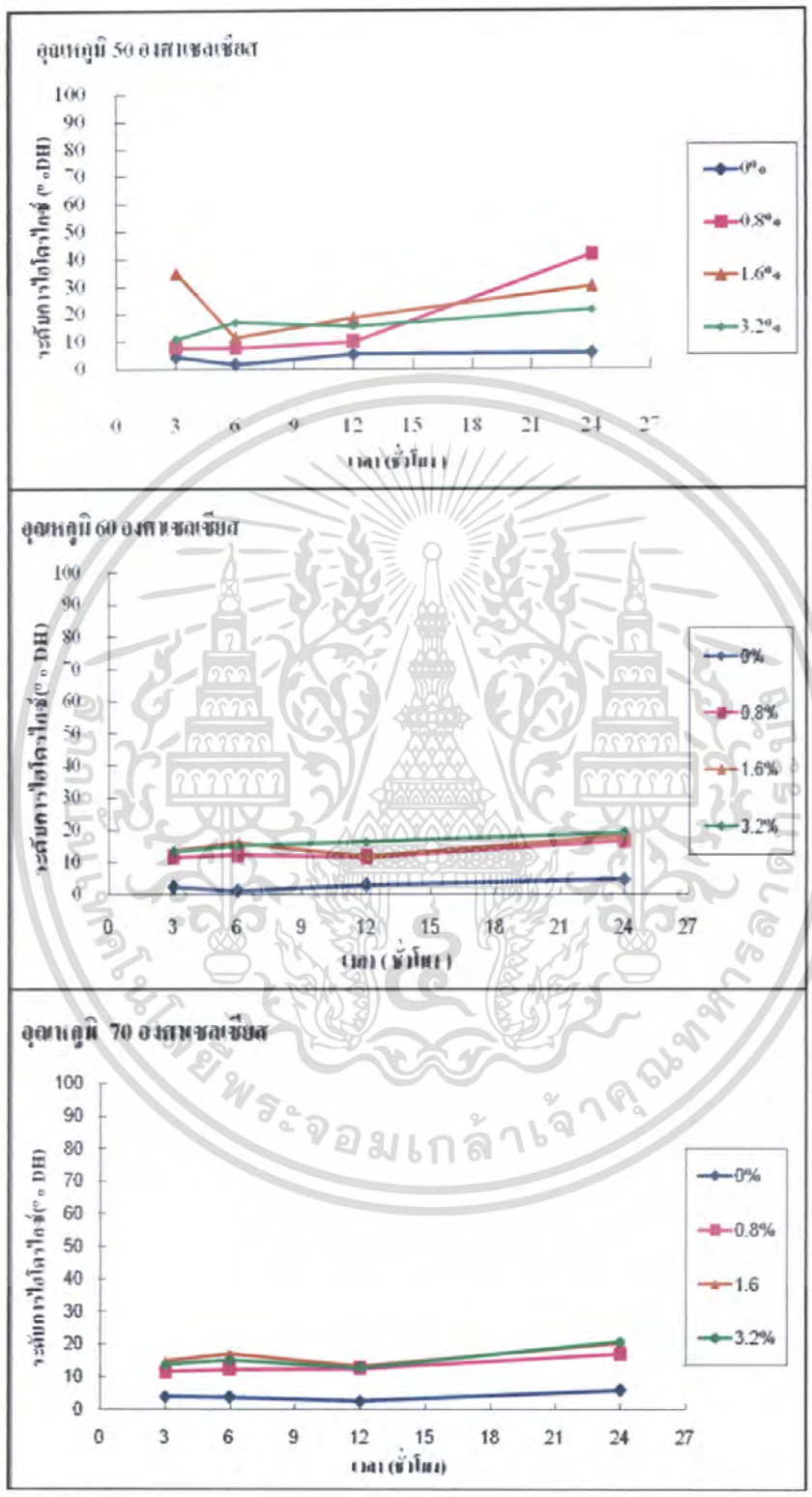
4.3 การวิเคราะห์หอยลายสกัด

4.3.1 วิเคราะห์%DHของหอยลายสกัดจากเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ด้วยวิธี pH-stat

ในการวิเคราะห์ %DH ด้วยวิธี pH stat ควรทำการวิเคราะห์ทันที เนื่องจากถ้าเก็บตัวอย่างการทดลองไว้อาจทำให้มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ หากเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดได้ ค่า%DH ที่ได้จะรวมกรดที่จุลินทรีย์ผลิตด้วย จึงไม่ใช่ค่าที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายอย่างแท้จริง แต่วิธีนี้มีความสะดวก รวดเร็ว จึงเหมาะสำหรับไว้ตรวจติดตามการไฮโดรไลซ์โปรตีนขณะที่ทำการไฮโดรไลซ์โปรตีน เพื่อให้ได้ %DH ที่ต้องการ การวิเคราะห์ด้วยวิธี pH stat สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกสภาวะที่เหมาสมในการไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์แต่ละชนิดได้ แต่เนื่องจากวิธีการนี้ไม่จำเพาะ จึงควรใช้วิธีอื่นร่วมในการวิเคราะห์ด้วย จากภาพที่ 4.3.1 จะแสดง % DH ด้วยวิธี pH stat ของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (F) พบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจะมีค่า %DH สูงกว่าที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส

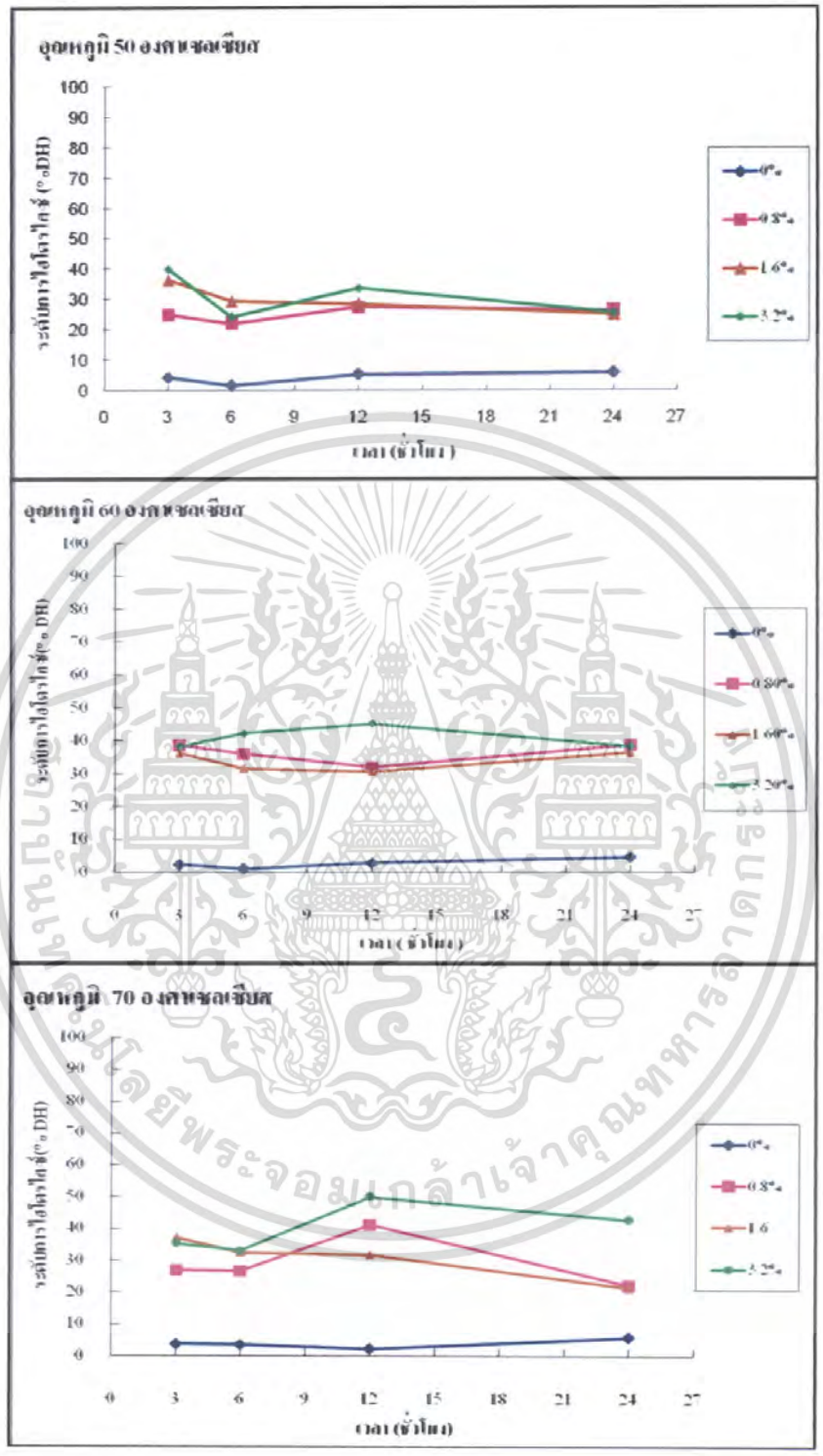
จากภาพที่ 4.3.2 จะแสดง %DH ด้วยวิธี pH stat ของหอยลายสกัดด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) พบว่าเมื่อไม่เติมเอนไซม์อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น จะมีค่า %DHจะมีค่าน้อยแสดงว่าการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายตัวเอง(autolysis enzyme) ไม่ทนความร้อน แต่เมื่อเติมเอนไซม์ลงไป%DH จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการไฮโดรไลซ์สูงขึ้น จากภาพที่ 4.3.3 จะแสดง %DH ด้วยวิธี pH stat ของหอยลายสกัดด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) พบว่าเมื่อไม่เติมเอนไซม์อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น จะมีค่า %DH จะมีค่าน้อยแสดงว่าการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายตัวเอง(autolysis enzyme) ไม่ทนความร้อน เมื่อทำการเติมเอนไซม์ลงไป %DH จะมีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ณ เวลา 36 ชั่วโมงจะมีค่า %DH สูงมาก ซึ่งอาจเกิดจากการเน่าหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จากผลการวิเคราะห์%DH ด้วยวิธี pH stat ยังไม่สามารถระบุสภาวะที่เฉพาะเจาะจงในการไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์แต่ละชนิดได้ เนื่องจากไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันที อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จึงทำให้ค่า%DH ที่ได้มีค่าไม่คงที่ ไม่แน่นอน ดังนั้นจึงควรอาศัยการวิเคราะห์วิธีอื่นร่วมด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



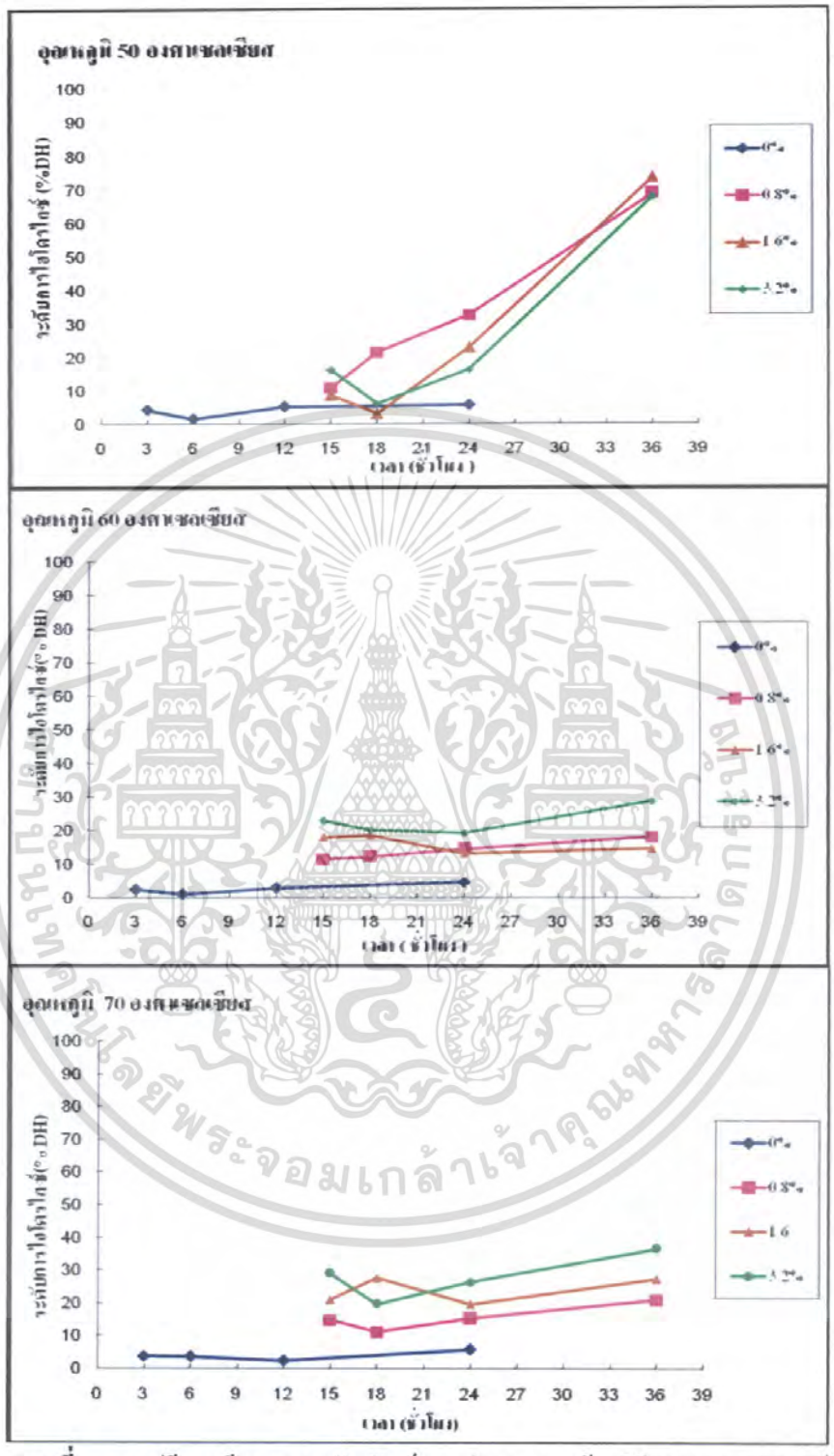
ภาพที่4.3.1 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3.2 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



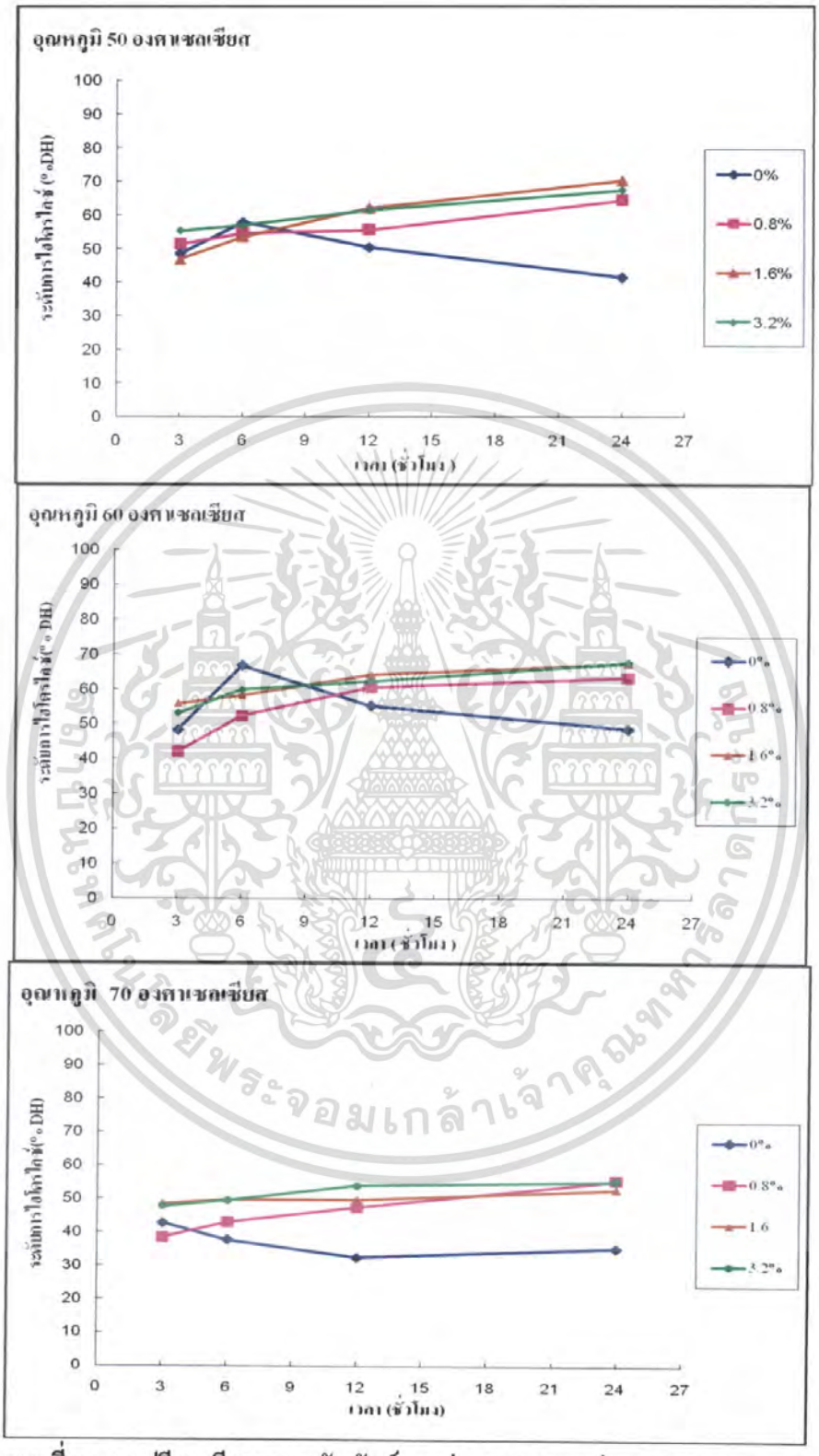
ภาพที่ 4.3.3 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH ด้วยวิธี pH stat ของเอนไซม์อัลคาเลสปีนเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นเติม Flavourzyme ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัด จากเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ด้วยวิธีด้วยวิธี AN/TN ratio

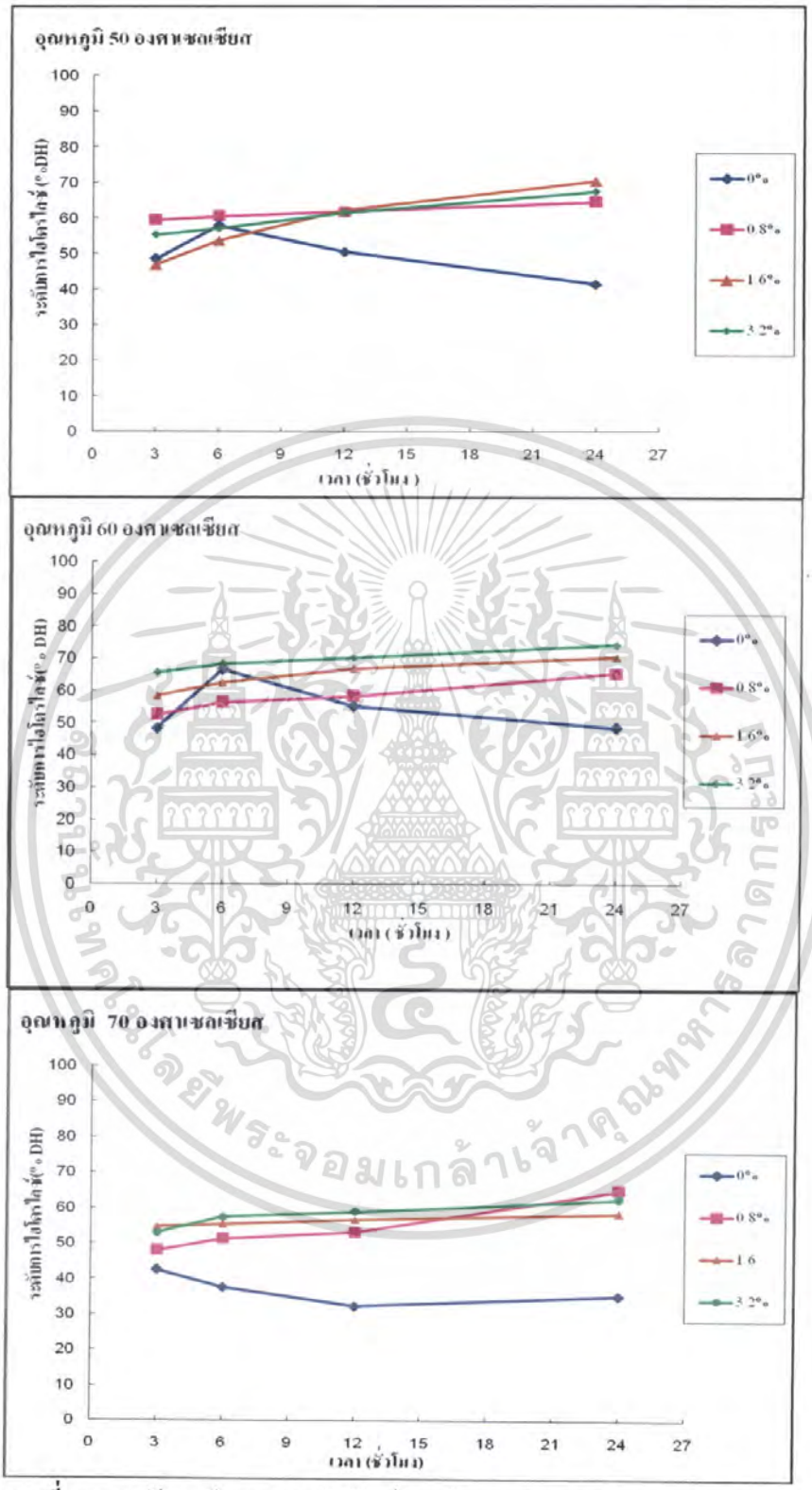
การวิเคราะห์ %DH ด้วยวิธี AN/TN ratio คือการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนซึ่งสามารถบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ โดยไนโตรเจนจากกรดอะมิโนนั้นจะเป็นไนโตรเจนที่ได้จากกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยไม่รวมถึงไนโตรเจนจากโมเลกุลของโปรตีนที่ยังไม่ถูกย่อยเป็นกรดอะมิโนและไม่รวมถึงไนโตรเจนจากสารอนินทรีย์อื่นๆ ที่ปนมากับตัวอย่าง ในส่วนของขั้นตอนการวิเคราะห์ %DH ด้วยวิธีนี้พบว่ามีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ไม่สะดวก แต่ผลที่ได้มีความจำเพาะมากกว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธี pH stat และวิธีวัดปริมาตรส่วนใส จากภาพที่ 4.3.4 จะแสดง % DH ด้วยวิธี AN/TN ratio ของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (F) พบว่าเมื่อไม่มีการเติมเอนไซม์ค่า %DH จะมีค่าน้อยกว่าเมื่อเติมเอนไซม์ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ค่า% DH จะมีค่าลดลง แสดงว่า autolysis enzyme ไม่ทนความร้อน ส่วนเมื่อมีการเติมเอนไซม์ลงไปพบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะมีค่า %DH สูงกว่าที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ จากภาพที่ 4.3.5 จะแสดง %DH ด้วยวิธี pH stat ของหอยลายสกัดด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) พบว่าเมื่อไม่มีการเติมเอนไซม์ค่า %DH จะมีค่าน้อยกว่าเมื่อเติมเอนไซม์ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ค่า% DH จะมีค่าลดลง แสดงว่า autolysis enzyme ไม่ทนความร้อน ส่วนเมื่อมีการเติมเอนไซม์ลงไปพบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะมีค่า %DH สูงกว่าที่ 50 และ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ และพบว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันจะมีค่า%DH ที่ใกล้เคียงกัน จากภาพที่ 4.3.6 จะแสดง %DH ด้วยวิธี pH stat ของหอยลายสกัดด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) พบว่าเมื่อไม่มีการเติมเอนไซม์ค่า %DH จะมีค่าน้อยกว่าเมื่อเติมเอนไซม์ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ค่า% DH จะมีค่าลดลง แสดงว่า autolysis enzyme ไม่ทนความร้อน ส่วนเมื่อมีการเติมเอนไซม์ลงไปพบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะมีค่า %DH สูงกว่าที่ 50 และ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ และพบว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันจะมีค่า%DH ที่ใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



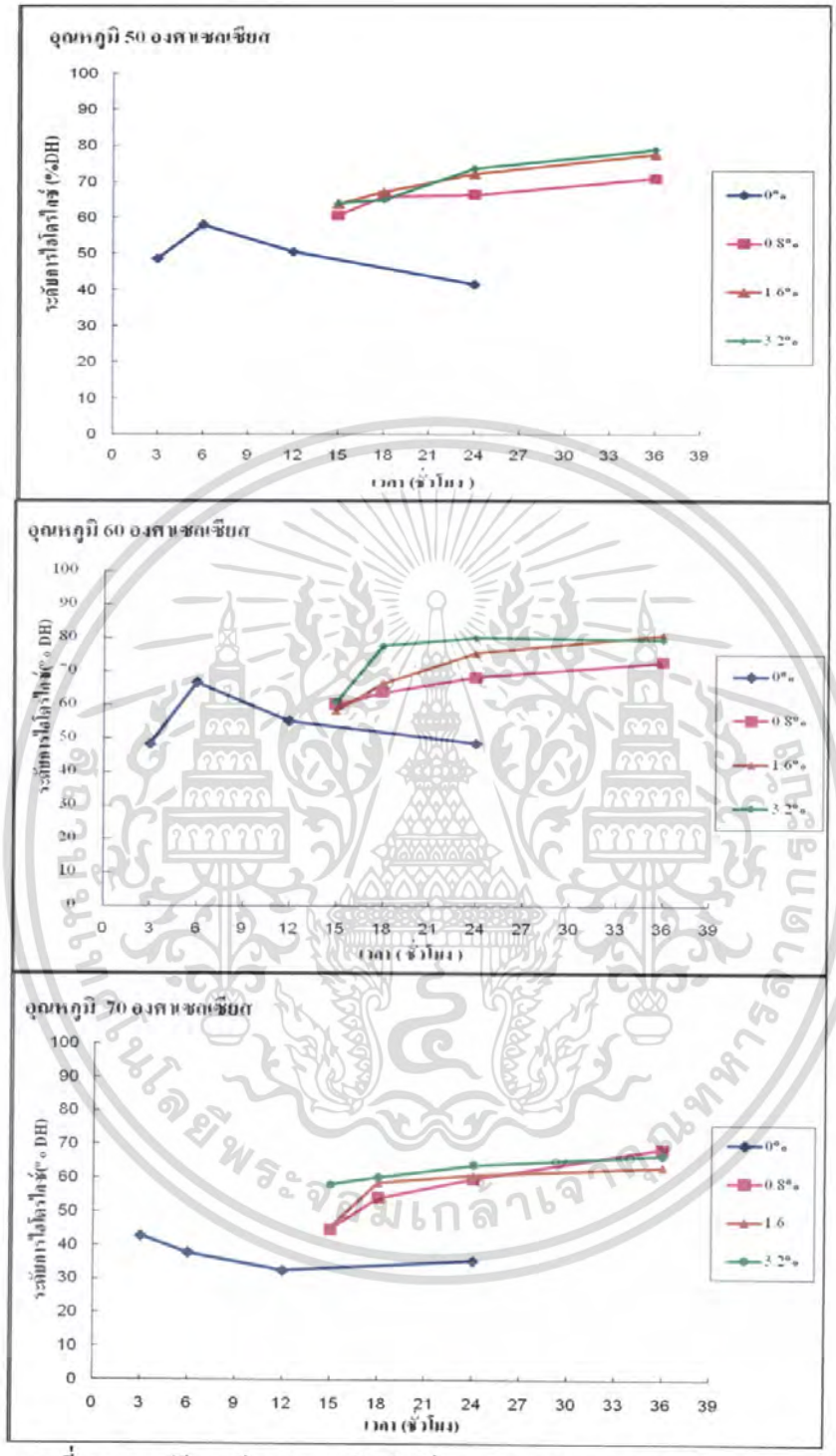
ภาพที่ 4.3.4 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3.5 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3.6 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH จากค่า AN/TN ratio ของเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นเติมเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ

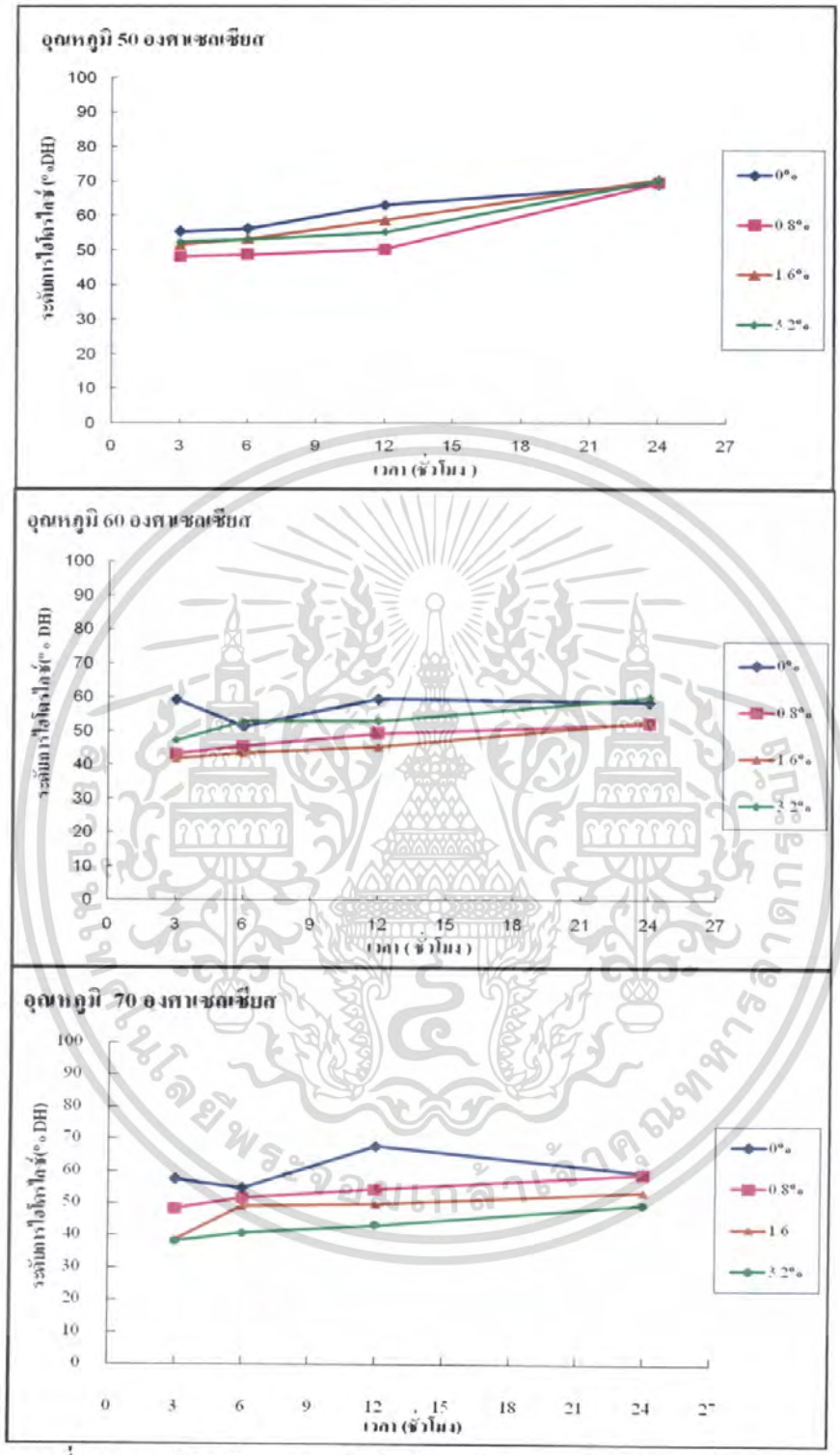
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 วิเคราะห์ %DH ของหอยลายสกัดจากเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ด้วยวิธี ด้วยวิธี การวัดปริมาตรส่วนใส

การวิเคราะห์นี้เป็นวิธีการวัดทางกายภาพโดยวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดที่ได้หลังจากการไฮโดรไลซ์ หลักการการวัดคือ ส่วนที่ไม่ละลาย (insoluble) กลายเป็นส่วนที่ละลายได้ (soluble) แล้วนำไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ส่วนใส ซึ่งขั้นตอนในการวิเคราะห์ไม่ยุ่งยาก สะดวก แต่เนื่องจากวิธีนี้ไม่จำเพาะจึงต้องอาศัยวิธีการวิเคราะห์อื่นร่วมด้วย จากภาพที่ 4.3.7 จะแสดง % DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (F) พบว่าเมื่อมีการเติมหรือไม่มีการเติมเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ จะมีค่า %DH จากการวัดปริมาตรส่วนใส มีค่าใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมากนัก ในทุกๆอุณหภูมิ จากภาพที่ 4.3.8 จะแสดง % DH ด้วยวิธี วัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) พบว่าเมื่อมีการเติมเอนไซม์ลงไปจะมีค่า %DH ของหอยลายสกัดสูงกว่าเมื่อไม่เติมเอนไซม์ และพบว่าค่า %DH ของหอยลายสกัดจากการใช้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดพร้อมกัน ซึ่งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสจะมีค่า%DH สูงกว่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ จากภาพที่ 4.3.9 จะแสดง %DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัดด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) พบว่าเมื่อมีการเติมเอนไซม์ลงไปจะมีค่า %DH ของหอยลายสกัดสูงกว่าเมื่อไม่เติมเอนไซม์ และพบว่าค่า %DH ของหอยลายสกัดจากการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ซึ่งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสจะมีค่า%DH สูงกว่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์

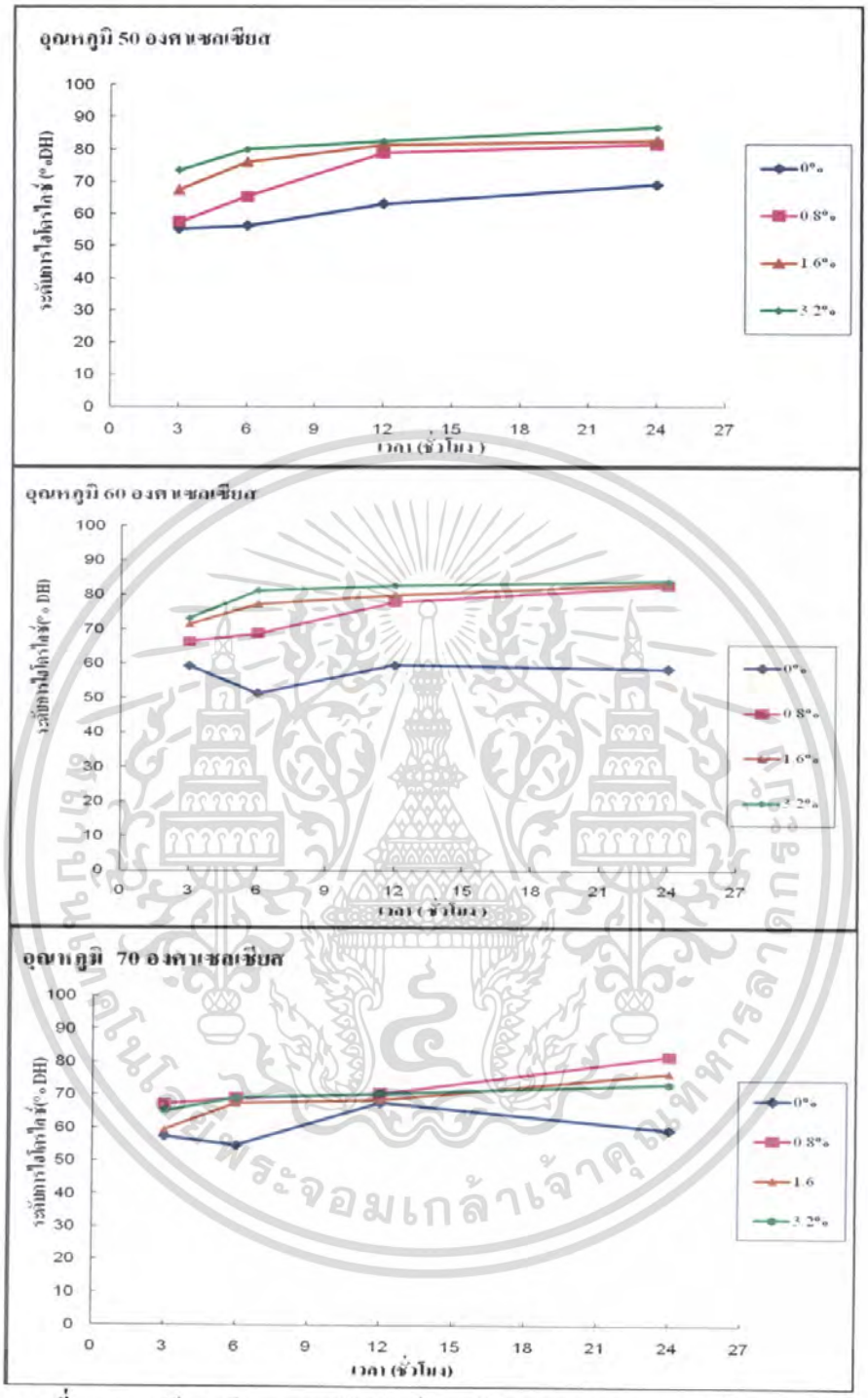
ในการวิเคราะห์%DHด้วยวิธีวัดปริมาตรส่วนใสจะพบว่าเมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นของเอนไซม์แตกต่างกัน ค่า%DH ที่วัดจากปริมาตรส่วนใสนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกัน จึงไม่สามารถระบุได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมคือสภาวะใดจึงควรใช้วิธีอื่นร่วมในการวิเคราะห์ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



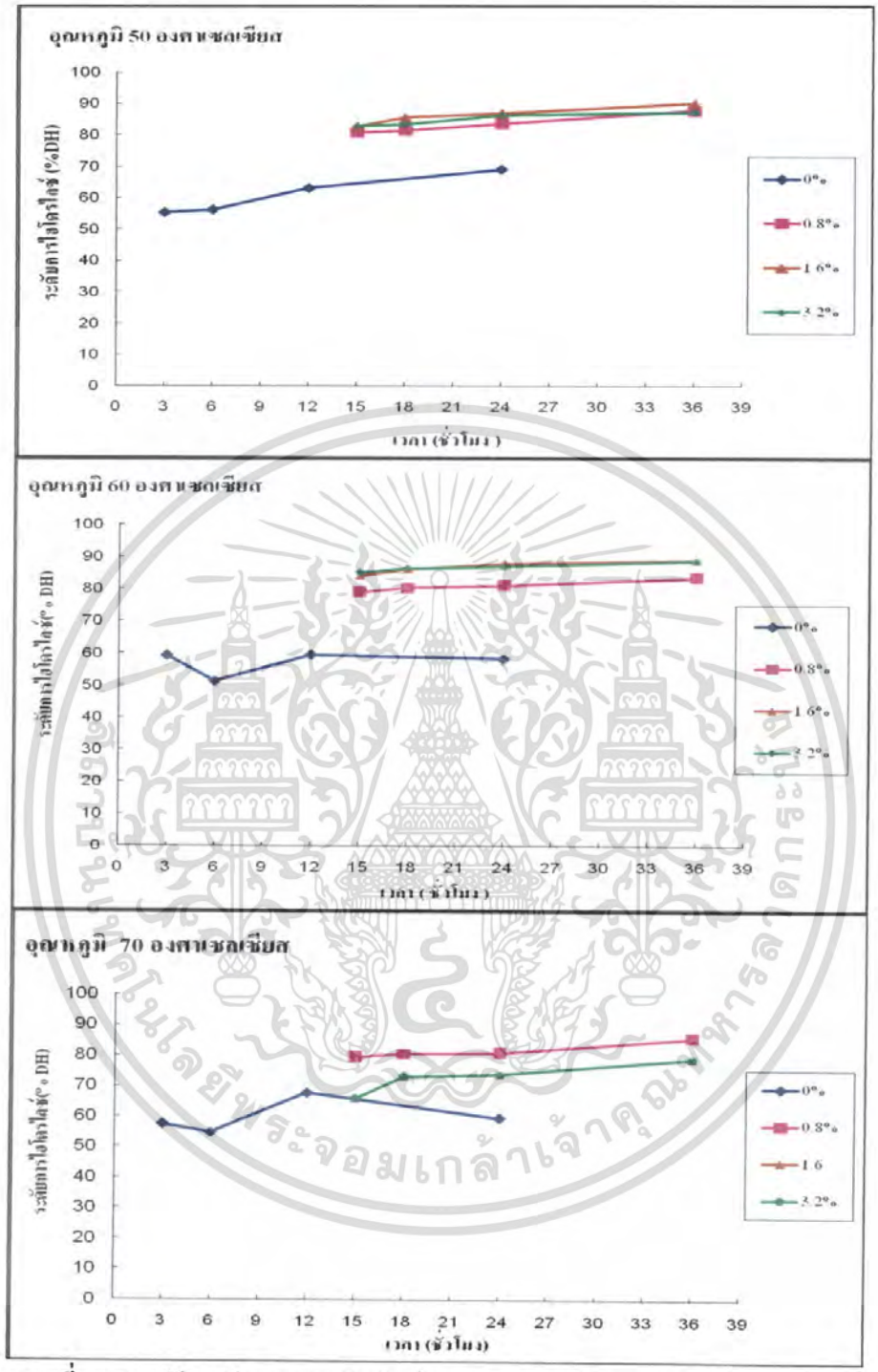
ภาพที่ 4.3.7 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH โดยการวัดปริมาตรส่วนใส ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3.8 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH โดยการวัดปริมาตรส่วนใส ของเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3.9 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง %DH โดยการวัดปริมาตรส่วนใส ของเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นเติมเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ณ อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

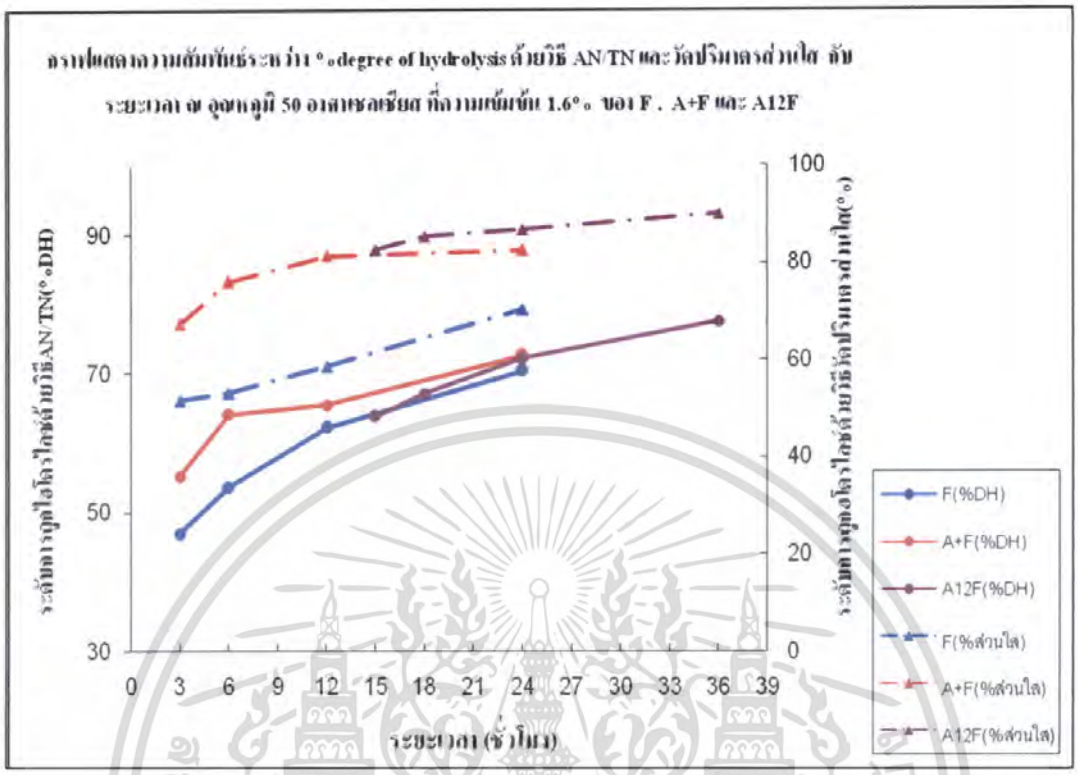
4.4 ศึกษาปริมาณเอนไซม์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเนื้อหอยลายเพื่อใช้ผลิตหอยลายสกัด

4.4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์

จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์ เฟลเวอร์ไซม์ (F) คือ สภาวะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น1.6 เปอร์เซ็นต์นาน 24 ชั่วโมง ซึ่งจะมี %DH จากการวัดปริมาตรของส่วนใสเท่ากับ 70.29 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวัดด้วยวิธี pH stat เท่ากับ 29.29 เปอร์เซ็นต์ และ AN/TN ratio จะมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 70.31 เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 4.4.1 พบว่าที่สภาวะดังกล่าวนี้ค่า%DH ด้วยวิธีการวัดปริมาตรส่วนใส มีค่าน้อยกว่าการใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) โดยการเลือกสภาวะที่เหมาะสมนี้จะเลือกจากค่า AN/TN ratio เป็นหลัก เนื่องจากการวัดวิธีนี้เป็นวิธีที่จำเพาะมากกว่าวิธี pH stat และการวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัด จากภาพที่ 4.4.2 พบว่าที่สภาวะ50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(F) , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดสูงขึ้นค่า %DH ไม่มีความแตกต่างกันมาก หรือ มีค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้นค่า%DH จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์คือ อุณหภูมิ50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์การเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากค่า%DH จาก AN/TN ratio เป็นหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



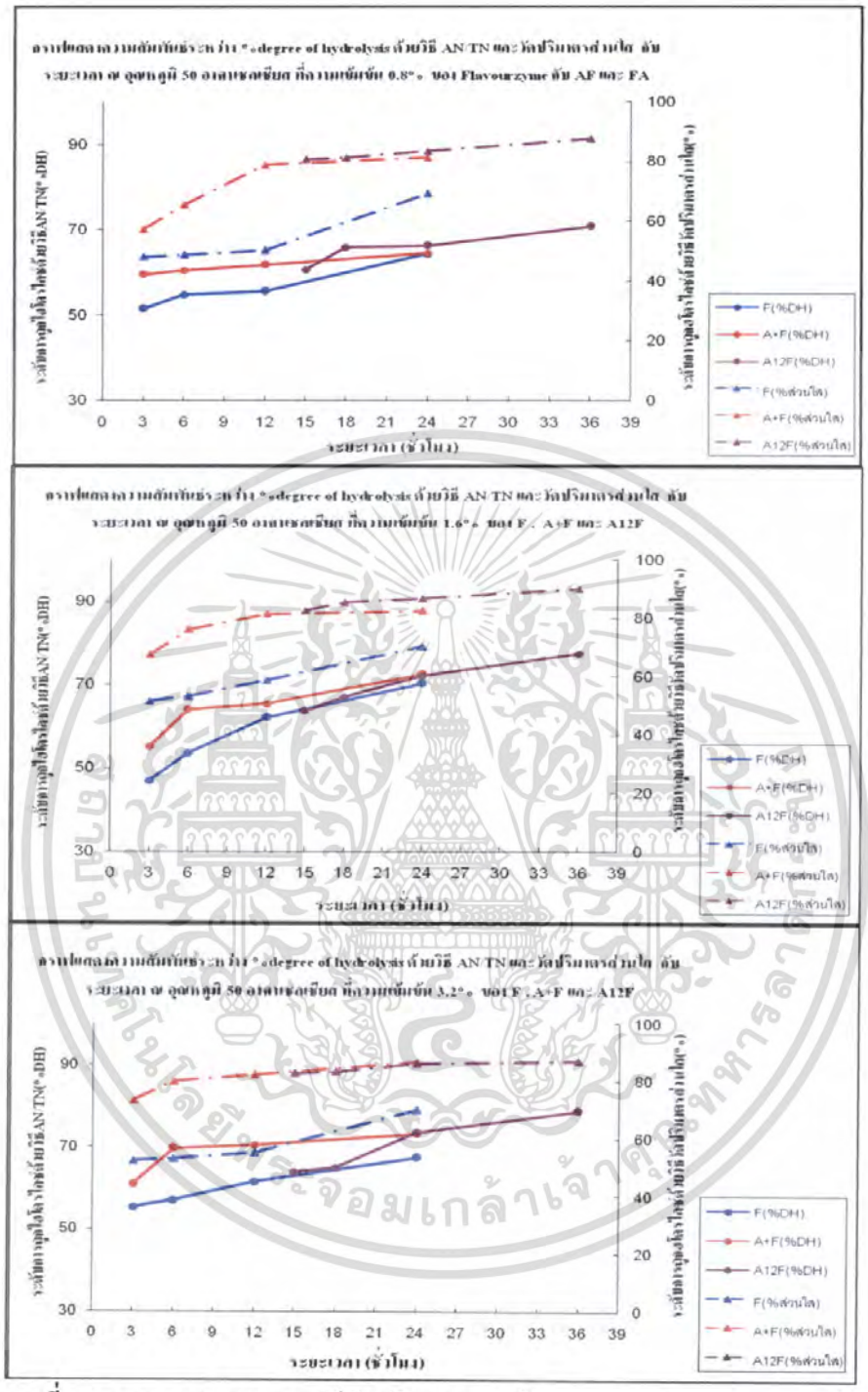
ภาพที่ 4.4.1 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น1.6 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ F = Flavourzyme

A+F = Alcalase + Flavourzyme

A12F = Alcalase ก่อน 12 ชั่วโมงแล้วเติม Flavourzyme

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4.2 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่างๆกัน

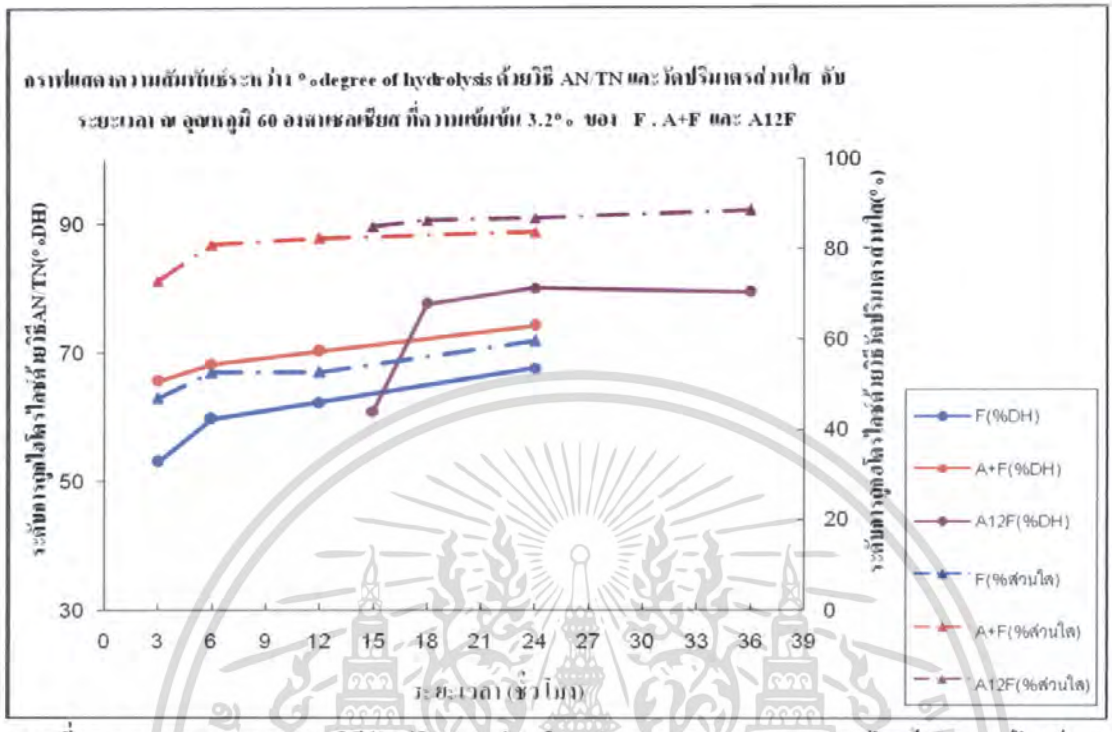
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน

จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) คือ ที่สภาวะอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 3.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง มี %DH จากการวัดปริมาตรของส่วนใสเท่ากับ 83.80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวัดด้วยวิธี pH stat เท่ากับ 38.24 เปอร์เซ็นต์ และ AN/TN ratio จะให้ค่ามากสุด คือ74.15 เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 4.4.3 พบว่าที่สภาวะดังกล่าวนี้ค่า%DH ด้วยวิธีการวัดปริมาตรส่วนใส มีค่าใกล้เคียงกับการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) ส่วนการวัดด้วยวิธี AN/ TN ratio ค่าที่ได้จะมีค่าใกล้เคียงกัน โดยการเลือกสภาวะที่เหมาะสมนี้จะเลือกจากค่า AN/TN ratio เป็นหลัก เนื่องจากการวัดวิธีนี้เป็นวิธีที่จำเพาะมากกว่าวิธี pH stat และการวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลาย จากภาพที่ 4.4.4 พบว่าที่สภาวะ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (F) , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดสูงขึ้นค่า %DH และค่า%DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรน้ำใสนั้น ไม่มีความแตกต่างกันมาก หรือ มีค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้นค่า%DH และค่า% DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรน้ำใส ก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันคือ อุณหภูมิ60 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 3.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์การเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากค่า%DH จาก AN/TN ratio เป็นหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

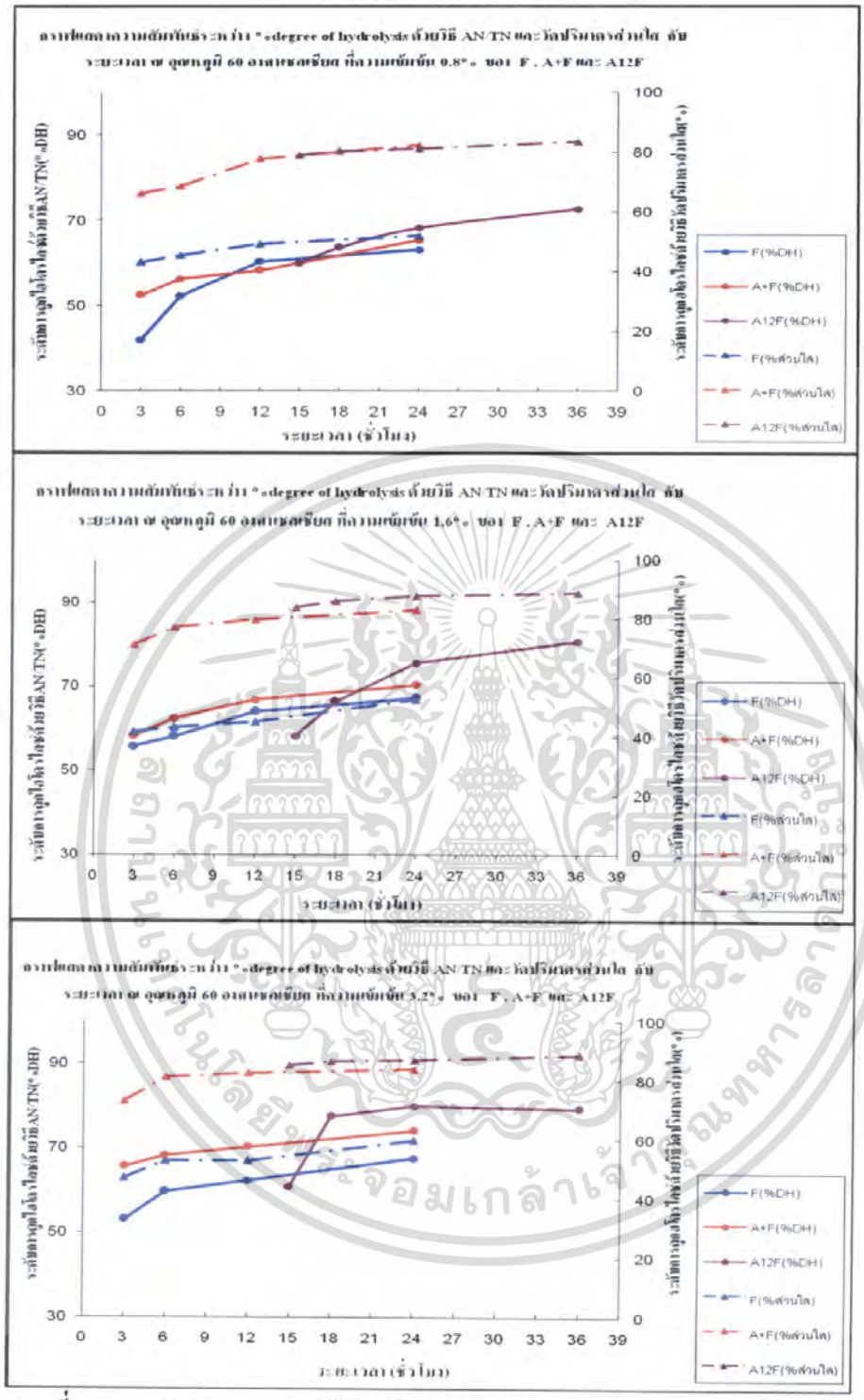


ภาพที่ 4.4.3 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 3.2 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ F = Flavourzyme A+F = Alcalase + Flavourzyme

A12F = Alcalase ก่อน 12 ชั่วโมงแล้วเติม Flavourzyme

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4.4 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

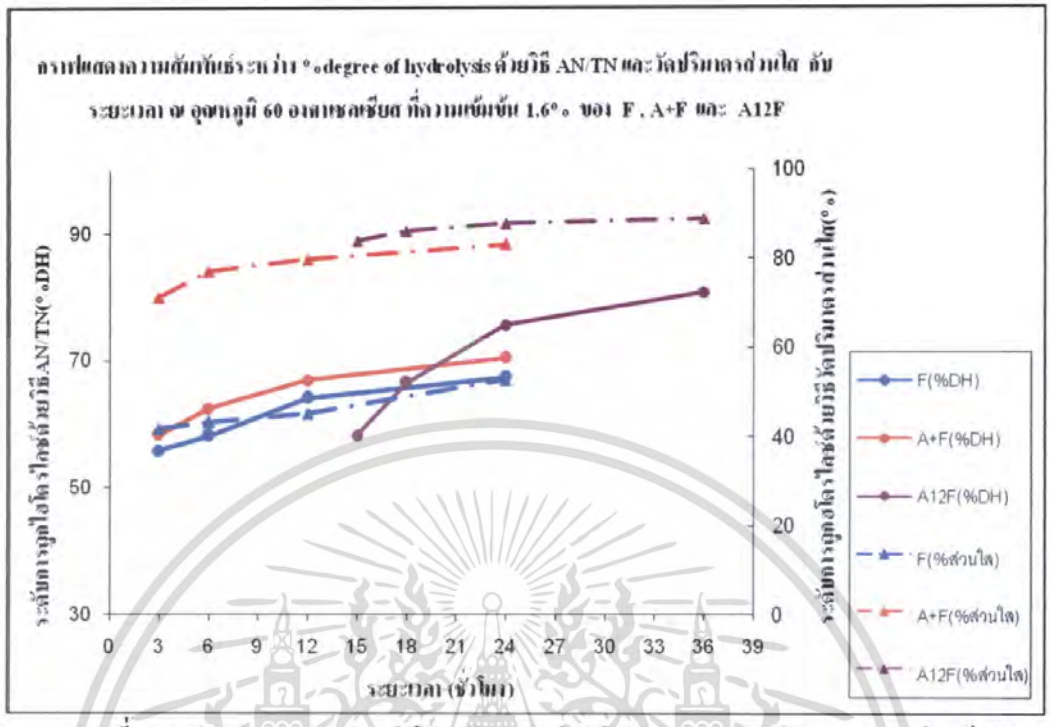
4.4.3ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตหอยลายสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์

จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสำหรับการผลิตหอยลายสกัดด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) คือ ที่สภาวะ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 36 ชั่วโมง ซึ่งจะมีค่า %DH จากวิธี pH stat จะมีค่า 14.57 เปอร์เซ็นต์ ส่วน %DH จากการวัดปริมาตรของส่วนใสจะมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 83.80 เปอร์เซ็นต์ และ AN/TN ratio จะมีค่ามากที่สุดเท่ากับ80.65 เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 4.4.5 พบว่าที่สภาวะดังกล่าว ค่า %DH จากการวัดปริมาตรของส่วนใสและ ค่า AN/TN ratio มีค่ามากกว่าเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) โดยการเลือกสภาวะที่เหมาะสมนี้จะเลือกจากค่า AN/TN ratio เป็นหลัก เนื่องจากการวัดวิธีนี้เป็นวิธีที่จำเพาะมากกว่าวิธี pH stat และการวัดปริมาตรส่วนใสของหอยลายสกัด

จากภาพที่ 4.4.6 พบว่าที่สภาวะ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(F) , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดสูงขึ้นค่า %DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรน้ำใสนั้น ไม่มีความแตกต่างกันมาก หรือ มีค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้นค่า%DH และค่า%DH ด้วยวิธีวัดปริมาตรน้ำใส ก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) คือ อุณหภูมิ60 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 36 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์การเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากค่า%DH จาก AN/TN ratio เป็นหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



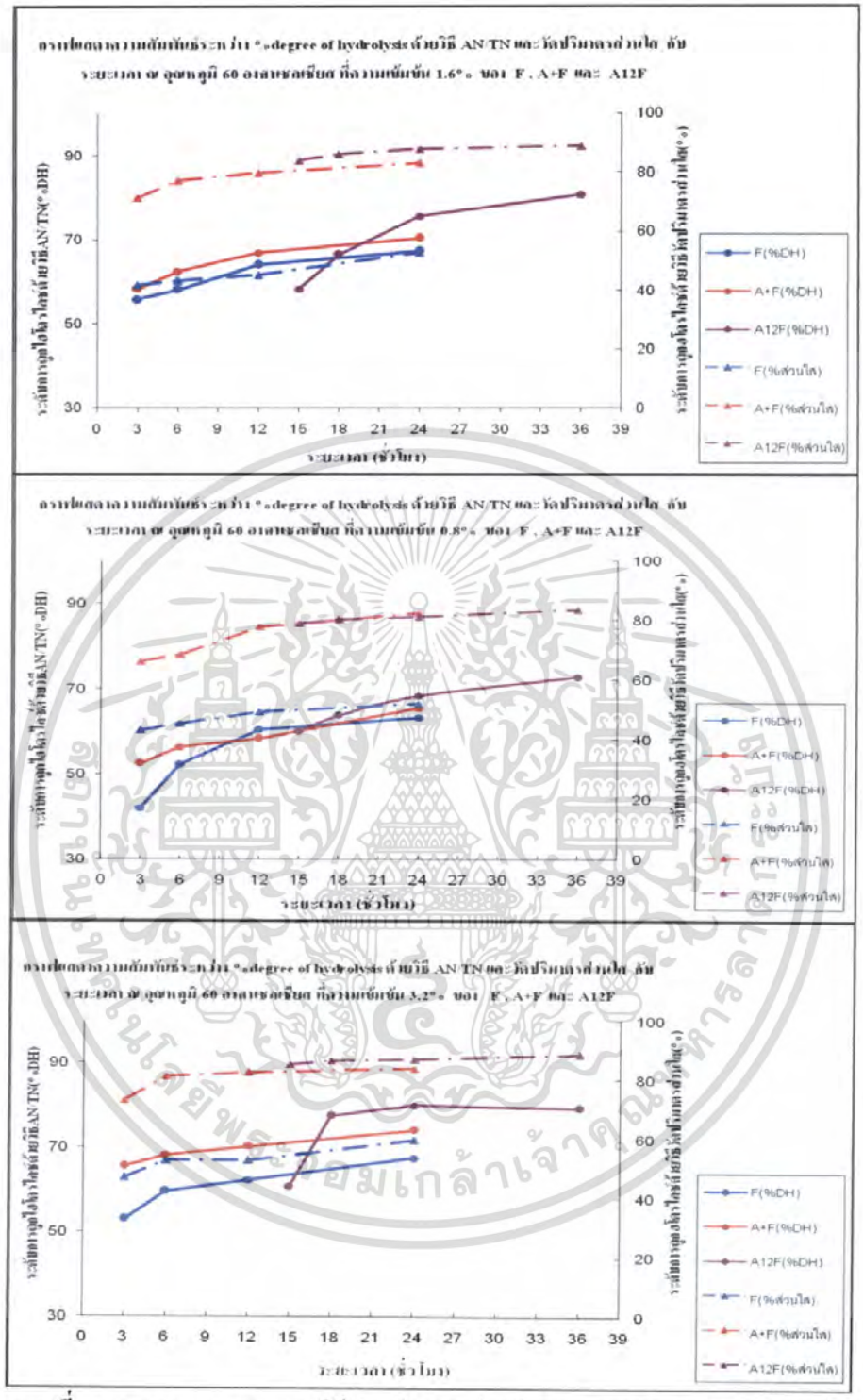
ภาพที่ 4.4.5 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์

<u>หมายเหตุ</u> ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ F = Flavourzyme

A+F = Alcalase + Flavourzyme

A12F = Alcalase ก่อน 12 ชั่วโมงแล้วเติม Flavourzyme

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4.6 แสดง% DH จากวิธีวัดปริมาตรส่วนใสและ AN/TN ratio ของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกันและการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 สังเกตลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัด

ในการทดสอบลักษณะของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลายที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์อัลคาเลส , เอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ , การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน และการใช้อัลคาเลสก่อนเฟลเวอร์ไซม์ พบว่าสี กลิ่น และรสของน้ำหอยลายสกัดที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาในการไฮโดรไลซ์ จากตารางที่ 4.5.1 พบว่า สีของน้ำหอยลายสกัดที่ได้จะมีสีตั้งแต่สีเหลืองอ่อน , สีเหลืองปนเขียว จนถึงสีน้ำตาลเข้มขึ้น ซึ่งอุณหภูมิและระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นสีของน้ำหอยสกัดจะเข้มขึ้น และชนิดของเอนไซม์จะมีผลต่อสีของน้ำหอยสกัด

ด้านกลิ่นจะทำการทดสอบโดยสังเกตจากกลิ่นคาวที่เพิ่มขึ้น หรือลดลงซึ่งพบว่ากลิ่นคาวของน้ำหอยสกัดจะแตกต่างกันไป ซึ่งเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์กลิ่นคาวไม่มากนัก แต่ส่วนการใช้เอนไซม์อัลคาเลสกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) จะมีกลิ่นคาวคงอยู่แต่บางครั้งจะมีกลิ่นเปรี้ยวปนมาด้วย

ด้านรสของน้ำหอยสกัดจะทำการทดสอบโดยการเทียบจากรสของผงชูรส คือรสอร่อย (รสเนื้อ) พบว่าเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์จะมีรสเนื้อ (อร่อย) มากสุด ส่วนการใช้เอนไซม์อัลคาเลสกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) จะให้รสเนื้อ (อร่อย) ปานกลาง และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F) จะให้รสเนื้อ (อร่อย) น้อยที่สุด ในการทดสอบด้านรสของหอยลายสกัดนั้นเมื่อชิมรสของหอยลายสกัดของการใช้เอนไซม์อัลคาเลสกับเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(A12F)พบว่าบางครั้งจะให้รสเค็มติดค้างในปาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5.1 แสดงลักษณะ สี กลิ่น รส ของหอยลายสกัดเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (F)

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ		
	สี	กลิ่น	รส
F15003	เหลืองปานกลาง	+++	+++
F16003	เหลืองอ่อน	++	++
F17003	เหลืองปานกลาง	+	+
F25003	เหลืองปานกลาง	+++	+++
F26003	เหลืองอ่อน	+	+
F27003	เหลืองปานกลาง	++	++
F35003	เหลืองเข้ม	+	+++
F36003	เหลืองอ่อน	++	+
F37003	เหลืองเข้ม	+++	+
F15006	เหลืองอ่อน	++	+++
F16006	เหลืองเข้ม	+	+++
F17006	เหลืองปานกลาง	+	+
F25006	เหลืองปานกลาง	++	++
F26006	เหลืองอ่อน	+	+
F27006	เหลืองปานกลาง	+	+++
F35006	เหลืองเข้ม	++	+++
F36006	เหลืองเข้ม (ขุ่น)	+	++
F37006	เหลืองปานกลาง	+	+
F15012	เหลืองปานกลาง	+++	+++
F16012	เหลืองอ่อน	+	++
F17012	เหลืองเข้ม	+	+
F25012	เหลืองเข้ม	+++	+++
F26012	เหลืองเข้ม	+	++
F27012	เหลืองเข้ม	++	+
F35012	เหลือง (ขุ่น)	+	+++
F36012	เหลืองแกมน้ำตาล (อ่อน)	++	+
F37012	เหลืองแกมน้ำตาล (กลาง)	+	+
F15024	เหลืองอมเขียว	+++	+
F16024	เหลืองแกมน้ำตาล(อ่อน)	++	+++
F17024	เหลืองเข้ม	+	++
F25024	เหลืองอมเขียว (ใส)	+++	+
F26024	เหลืองอมน้ำตาล (ขุ่น)	++	++
F27024	เหลืองอมน้ำตาล (ใส)	+	+++
F35024	น้ำตาล	+++	+
F36024	น้ำตาลเข้ม	++	++
F37024	เหลืองเข้ม	+	+++

เอกสารนี้จัดเก็บเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F)

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ		
	สี	กลิ่น	รส
A+F15003	เหลืองอมน้ำตาล (ขุ่น)	+	+++
A+F16003	เหลืองอมน้ำตาล	++	++
A+F17003	เหลืองอมน้ำตาล	+	+
A+F25003	เหลืองปานกลาง	+	+
A+F26003	เหลืองอมน้ำตาล	+	+++
A+F27003	เหลืองปานกลาง	+	++
A+F35003	เหลืองอมน้ำตาล (ขุ่น)	+	+
A+F36003	เหลืองอมน้ำตาล	+	+
A+F37003	เหลืองปานกลาง	++	+++
A+F15006	เหลืองอมน้ำตาล(ขุ่น)	++	+ ,ข
A+F16006	เหลืองอมน้ำตาล(ขุ่น)	+	+
A+F17006	เหลืองอมน้ำตาล(ขุ่น)	++	+
A+F25006	เหลืองอมเขียว (ขุ่น)	+	+++
A+F26006	เหลืองอมน้ำตาล	+	++
A+F27006	เหลืองอมน้ำตาล	+	+
A+F36006	เขียวเข้มอมน้ำตาล	+	++
A+F37006	น้ำตาลเข้ม	+	++
A+F15012	เขียวอมน้ำตาล	++	+++
A+F16012	เขียวอมน้ำตาล (กลาง)	+	++
A+F17012	เขียวอมน้ำตาล	+	+++,ข
A+F25012	เขียวอมน้ำตาล	+++	+
A+F26012	เขียวอมน้ำตาล (ขุ่น)	+	++
A+F27012	เขียวอมน้ำตาล (ใส)	++	+++
A+F35012	เขียวอมน้ำตาล	++	+
A+F36012	เขียวอมน้ำตาลเข้ม (ขุ่น)	+	++
A+F37012	เขียวอมน้ำตาลเข้ม (ใส)	+++	+
A+F15024	เขียวเข้ม	+++	+ ,ข
A+F16024	น้ำตาลดำ	++	+++
A+F17024	น้ำตาลปานกลาง (ใส)	+	++ขม
A+F25024	เขียวอมน้ำตาลเข้ม	+++	+
A+F26024	น้ำตาลดำ	++	++
A+F27024	น้ำตาลปานกลาง (ใส)	+	+++
A+F35024	เขียวเข้ม	+++	+
A+F36024	น้ำตาลดำ	++	++
A+F37024	น้ำตาลดำ	+	+++

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์อัลคาเลส (A)

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ		
	สี	กลิ่น	รส
A16003	เขียวปานกลาง	+	+ + + , ขม
A16006	เขียวเข้ม	+	+ ,ข (ขมมาก)
A16012	เขียวอมน้ำตาล (กลาง)	+ +	+ , ข (ขมมากๆ)
A16024	เขียวอมน้ำตาลเข้ม	+ + +	+ , ข (ขมมากที่สุด)

การใส่เอนไซม์อัลคาเลสลงไปก่อน 12 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ (A12F)

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ		
	สี	กลิ่น	รส
A12F15003	เขียวอมน้ำตาล (ขุ่น)	+	+ + +
A12F16003	เขียวอมน้ำตาล (ขุ่น)	+ +	+ +
A12F17003	เขียวอมน้ำตาล (ใส)	+	+
A12F25003	เขียวอมน้ำตาล	+	+
A12F26003	เขียวอมน้ำตาล	+	+ + +
A12F27003	น้ำตาล (ใส)	+	+ +
A12F35003	น้ำตาล	+	+
A12F36003	เขียวอมน้ำตาล (ขุ่น)	+	+
A12F37003	เขียวอมน้ำตาล (ขุ่น)	+ +	+ + +
A12F15006	เขียวอมน้ำตาล	+ +	+ + +
A12F16006	เขียวอมน้ำตาล	+	+ + +
A12F17006	น้ำตาล	+ + +	+ +
A12F25006	เขียวอมน้ำตาล (ขุ่น)	+	+ +
A12F26006	เขียวอมน้ำตาลเข้ม (ขุ่น)	+	+ + +
A12F27006	น้ำตาลปานกลาง	+ +	+
A12F35006	น้ำตาลปานกลาง	+ +	+ +
A12F36006	น้ำตาลเข้ม	+ +	+ +
A12F37006	น้ำตาลเข้มมาก	+ +	+ + +
A12F15012	เขียวเข้ม	+	+ +
A12F16012	เขียวอมน้ำตาล	+	+ + , ข
A12F17012	น้ำตาลเข้ม	+ + +	+
A12F25012	เขียวเข้ม	+ +	+
A12F26012	เขียวอมน้ำตาล	+	+
A12F27012	น้ำตาลเข้ม	+	+ + +
A12F35012	เขียวเข้ม	+ +	+
A12F36012	น้ำตาล (ใส)	+ +	+ +

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ		
	สี	กลิ่น	รส
A12F37012	น้ำตาลเข้ม	+++	+++ , ข
A12F16024	น้ำตาล (ใส)	+	++
A12F17024	น้ำตาลเข้ม	++	+ , ข
A12F25024	เขียวเข้ม	+++	+
A12F26024	น้ำตาล	+	+ , ข
A12F27024	ดำ	+	+ , ข
A12F35024	เขียวเข้ม	+++	+
A12F36024	น้ำตาลเข้ม	+	++ , ข
A12F37024	ดำ	+	+ , ข

หมายเหตุ

เครื่องหมาย	กลิ่น
+	กลิ่นคาวน้อย
++	กลิ่นคาวปากลาง
+++	กลิ่นคาวมาก

เครื่องหมาย	รสชาติเทียบกับผงชูรส
+	รสเนื้อปริมาณน้อย
++	รสเนื้อปริมาณปานกลาง
+++	รสเนื้อปริมาณมาก
ข	รสขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการทดลอง

1.1 จากการศึกษาระดับการไฮโดรไลซ์ของไฮโดรไลเซทเนื้อหอยลาย สามารถศึกษาถึงระดับการไฮโดรไลซ์โดยใช้วิธีวิเคราะห์ %DHได้ 3 วิธีคือ วิธี pH stat , AN/TN ratio และวิธีวัดปริมาตรส่วนใส ซึ่งทั้ง 3 วิธีนี้มีความจำเพาะที่แตกต่างกัน โดยผลจากการทดลองที่ได้จะยึดผลการวิเคราะห์จากวิธี AN/TN เป็นหลักเนื่องจากวิธี AN/TN ratio เป็นวิธีหาปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ที่มีความจำเพาะและสามารถบอกได้ถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งไนโตรเจนจากกรดอะมิโน คือไนโตรเจนที่ได้จากกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยไม่รวมถึงไนโตรเจนจากโมเลกุลของโปรตีนที่ยังไม่ถูกย่อยเป็นกรดอะมิโนและไม่รวมถึงไนโตรเจนจากสารอนินทรีย์อื่นๆ ที่ปนมากับตัวอย่าง และจะใช้วิธีวิเคราะห์อื่นเปรียบเทียบ

1.2 จากการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมของไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ โดยจะพิจารณาระดับการไฮโดรไลซ์(%DH) โดยใช้ค่า %DH ของวิธี pH-stat , AN/TN และวิธีวัดปริมาตรส่วนใส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยลายที่ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงสุดของเอนไซม์แต่ละชนิดมีดังนี้

-เอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(F) ที่ระดับความเข้มข้น 1.6% ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงที่สุด มีค่าเป็น 70.31%

-เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) ที่ระดับความเข้มข้น 3.2% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงที่สุด มีค่าเป็น 74.15%

-เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(A12F) เพื่อกำจัดรสขม คือ ความเข้มข้น 1.6% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 36 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงที่สุด มีค่าเป็น 80.65%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์กำจัดรสขมเพื่อนำไปผลิตซอสหอยลาย คือ เอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(F) ที่ระดับความเข้มข้น 1.6% ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงที่สุด มีค่าเป็น 70.31% เนื่องจากกลิ่น รสของหอยลายสกัดที่ได้มีรสชาติดีและไม่มีรสขมเกิดขึ้น ทั้งยังมีระดับการไฮโดรไลซ์ที่มีค่าสูงใกล้เคียงกับการเอนไซม์สองชนิดร่วมกัน ซึ่งมีความเหมาะสมที่จะนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสหอยลาย เพราะทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำลงและใช้วิธีการผลิตที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก ส่วนสภาวะที่เหมาะสมรองลงมาคือ การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์พร้อมกัน (A+F) ที่ระดับความเข้มข้น 3.2% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงที่สุด มีค่าเป็น 74.15% และสภาวะที่มีความเหมาะสมน้อยที่สุดคือ การใช้เอนไซม์อัลคาเลสก่อนเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์(A12F) เพื่อกำจัดรสขม คือ ความเข้มข้น 1.6% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 36 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการไฮโดรไลซ์สูงที่สุด มีค่าเป็น 80.65% เนื่องจากมีสภาวะในการไฮโดรไลซ์มีระยะเวลานานทำให้เกิดการสิ้นเปลืองต้นทุน

วิจารณ์ผลการทดลอง

1 . การทดลองพบว่าการไฮโดรไลซ์หอยลายที่อุณหภูมิห้องนั้นเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมในการทำทดลอง เนื่องจากน้ำหอยลายสกัดที่ได้จะเกิดการเน่าเสีย

2. จากการทดลองพบว่าในการทดลองมีการใช้เอนไซม์มากเกินไป ทำให้ระดับการไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์ในแต่ละชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปจึงควรลดระดับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ให้น้อยลง

ข้อเสนอแนะ

1. ในการเก็บตัวอย่างหอยลายสกัดนั้นควรเก็บในสภาวะที่เหมาะสมเพื่อรักษาคุณภาพของน้ำหอยสกัด
2. ในการทดลอง pH stat ควรรีบทำการทดลองภายหลังจากการเก็บตัวอย่างทันทีจะทำให้ได้ผลการทดลองที่แน่นอน เพราะถ้าเก็บตัวอย่างแช่เย็นไว้ผลการทดลองที่ได้จะเกิดความคลาดเคลื่อน
3. ในการใช้เอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ในการไฮโดรไลซ์หอยลายนั้นควรแยกเนื้อหอยลายบดส่วนหนึ่งออกมาผสมกับเอนไซม์ก่อน คนให้เข้ากันดีจนเห็นว่าเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ละลายหมดแล้วจึงนำเนื้อหอยลายส่วนที่เหลือมาผสมให้เข้ากัน
4. ในการศึกษาครั้งต่อไปควรนำน้ำหอยลายสกัดที่ได้ไปผลิตเป็นซอสหอย และทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อเป็นการศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสหอย จากน้ำหอยลายสกัด
5. ตัวอย่างหอยลายที่ใช่ควรมีความสดเพราะทำให้กลิ่นรสของน้ำหอยลายสกัดมีกลิ่นรสที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th ed. Association of Official Chemists, Inc., Arlington, Virginia

Badal C. Saha[a,*], Kiyoshi Hayashi[b]. 2001. " Debittering of protein hydrolyzates" . Bioteachnology Advances 19 (2001) 355 - 370

Protein analyzer (ตอนที่ 1) Kjeldahl Method [Online] Avaliable: http://www.thaiscience.com/lab_vol/p23/Protein_analyzer.asp

คมสันต์ สุขเสริม และ อภิศักดิ์ วุฒิมงคลชัย .2544 . **การผลิตซุปก้อนกึ่งสำเร็จรูปจากโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยกระดูกไก่** . ปัญหาพิเศษ .สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 41 น.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2550. เอกสารประกอบคำสอน วิชาเคมีวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หมัก. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2550. เอกสารประกอบคำสอน วิชาเทคโนโลยีเอนไซม์. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร.

บูดูอาหารพื้นเมืองปักษ์ใต้. " **กระบวนการผลิตบูดูและการย่อยโปรตีนในการหมักบูดู**" [Online] เข้าถึงได้จาก : http://www.school.net.th/library/webcontest2003/100team/dlss022/science/protien/protien.htm

ปรียาภรณ์ ทองประ และ ศิระ นาคะศิริ . 2540 . **การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากหัวไก่โดยใช้เอนไซม์ neutral proteause** . ปัญหาพิเศษ .สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 40 น.

ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก. 2533. **การศึกษาเปรียบเทียบการใช้กรดและเอนไซม์ในการทำซอสหอยนางรมและหอยแมลงภู่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 99 หน้า.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ยุพร พืชกมุทร , วันทนีย์ ช้างน้อย และธงชัย พุฒิทองศิริ. " **คู่มือปฏิบัติการเคมีอาหาร**"สภาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วรรณา ตั้งเจริญชัย. 2539. **คู่มือปฏิบัติการเคมีอาหาร**. สภาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิภัตรา เวศกาวี และ อมรรัตน์ พานิชกุล . 2549. **การศึกษาการไฮโดรไลซ์เนื้อหอยฉายด้วยเอนไซม์ทางการค้า และผงทำให้เนื้อนุ่ม เพื่อผลิตหอยฉายสกัดสำหรับทำซอส.** ปัญหาพิเศษ . สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 110 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. ความชื้น

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

นำ Aluminium can อบที่ 100 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง

↓

นำออกจากตู้อบ ใส่โถดูดความชื้น

↓

ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งจนได้น้ำหนักแน่นอน

↓

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหารที่บดแล้ว 3-5 กรัม

↓

นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง โดยเปิดฝา Aluminium can

↓

เมื่อครบเวลา ปิดฝา นำมาทำให้เย็นใน desiccator

↓

นำมาชั่งน้ำหนัก อบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ ครึ่งชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่

↓

คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2. โปรตีน

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ระกอบ โดยเฉลี่ยโปรตีน 100 กรัมประกอบด้วยไนโตรเจน 16 กรัม การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่าง โดยวิธีการที่เรียกว่าเจลดาห์ล (kjeldahl method) ใช้วิธีการย่อยโปรตีนในอาหาร ทำให้ได้สารประกอบไนโตรเจน ที่อยู่ในสภาพเป็นไป คือ แอมโมเนีย จากนั้นจึงใช้เทคนิคของการไทเทรตวิเคราะห์หาปริมาณของแอมโมเนีย ขั้นตอนการวิเคราะห์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ

1. การย่อยสารตัวอย่าง โดยใช้การต้มกับกรดซัลฟูริกเข้มข้น และเพิ่มจุดเดือดของกรดซัลฟูริกด้วยการเติมตัวเร่ง (catalyst) ในขั้นตอนการย่อย ไนโตรเจนในสารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมไบซัลเฟต

2. การกลั่น เมื่อสารตัวอย่างถูกเปลี่ยนเป็นเกลือของแอมโมเนียไบซัลเฟตทั้งหมดแล้ว ให้นำมาเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ แอมโมเนียมไบซัลเฟต จะถูกเปลี่ยนให้มีสภาพเป็นเบสอยู่ในรูปของ NH_3 ที่ระเหยได้ นำมาต่อเข้ากับชุดกลั่นและเก็บก๊าซแอมโมเนียในกรดบอริก เพื่อนำไปไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกหาปริมาณไนโตรเจนต่อไป

3. การไทเทรตหาปริมาณไนโตรเจน นำกรดบอริกที่เก็บแอมโมเนียไว้มาไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกโดยใช้ mix indicator
เป็นอินดิเคเตอร์ โดยที่แอมโมเนีย 1 โมลจะทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไฮโดรคลอริก 1 โมล

เมื่อทราบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด สามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดได้โดยนำปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมาคูณกับแฟกเตอร์ 6.25 หรือแฟกเตอร์ของอาหารชนิดนั้นๆ

ชั่งตัวอย่าง 0.1 - 5 กรัม

↓

เติม catalyst 7-10 กรัม

↓

เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 15-25 มิลลิลิตร

↓

ใส่ boiling chip 2-3 ลูก ใส่ในหลอดย่อยโปรตีน

↓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหลอดย่อยโปรตีนไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อย จนได้สารละลายใส หรือสีฟ้าใส
ปล่อยให้เครื่องดูดควันจนหมด ทิ้งไว้ให้เย็น

↓

นำหลอดตัวอย่างที่ย่อยแล้วมาต่อเข้ากับเครื่องกลั่นโปรตีน

↓

เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 % กับน้ำกลั่น
ในปริมาณที่เครื่องกลั่นแต่ละเครื่องกำหนด

↓

ใส่กรดบอริก 2% ปริมาณ 60 มิลลิลิตร ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร

↓

หยด mixed indicator 2-3 หยด จะได้สารสีส้มแดงใส รอจนกลั่นเสร็จ

↓

นำ Erlenmeyer flask หลังจากกลั่นเสร็จที่มีสารละลายกรดบอริกกับแอมโมเนียซึ่งมีสีฟ้าใส
มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N จนสารละลายเปลี่ยนไปเป็นใสไม่มีสี

↓

บันทึกปริมาณกรดไฮโดรลอริกที่ใช้

↓

คำนวณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในตัวอย่าง

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

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน × 6.25

เมื่อ

A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน

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

3.1 ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:9 มา 10 มิลลิลิตร

↓

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เท่ากับ 7 โดยใช้โซดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล

↓

เติมสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

↓

ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล
จนได้ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 9

↓

คำนวณหาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

$$X = 14yN$$

เมื่อ X = ปริมาณของฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม

Y = ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นนอร์มัล

3.2 แอมโมเนียคัลไนโตรเจน

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:9 มา 25 มิลลิลิตรใส่ในขวดกลั่น

↓

เติมแมกนีเซียมออกไซด์ 1.5 กรัมและน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร

↓

กลั่นแอมโมเนียที่เกิดขึ้นลงในขวดแก้วที่มีกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 25 มล.

↓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีเมทิลเรดโบรโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์ 6-10 หยด

↓

จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลือ 1ใน4 ของปริมาตรเดิม

ไตเตรทแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.05 นอร์มัล

จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู

↓

คำนวณหาปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน

$$X = 5.6yN$$

เมื่อ X = ปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม

Y = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก เป็นนอร์มัล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

วิธี pH - stat

Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
F15003	7.65	F15012	9.85
F16003	11.47	F16012	11.47
F17003	11.47	F17012	12.43
F25003	34.89	F25012	18.45
F26003	13.71	F26012	11.76
F27003	14.66	F27012	13.10
F35003	10.80	F35012	15.58
F36003	13.38	F36012	16.25
F37003	13.67	F37012	12.71
F15006	7.65	F15024	41.39
F16006	12.20	F16024	16.54
F17006	12.14	F17024	16.90
F25006	11.47	F25024	29.92
F26006	15.96	F26024	18.16
F27006	16.92	F27024	20.36
F35006	16.92	F35024	21.32
F36006	15.01	F36024	19.12
F37006	15.01	F37024	20.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalase + Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A+F15003	24.85	A+F15012	27.40
A+F16003	38.56	A+F16012	31.92
A+F17003	27.05	A+F17012	41.11
A+F25003	36.33	A+F25012	28.39
A+F26003	36.33	A+F26012	30.70
A+F27003	37.28	A+F27012	31.83
A+F35003	39.86	A+F35012	33.46
A+F36003	38.24	A+F36012	45.22
A+F37003	35.37	A+F37012	50.00
A+F15006	21.99	A+F15024	26.14
A+F16006	36.10	A+F16024	38.56
A+F17006	26.77	A+F17024	21.99
A+F25006	29.35	A+F25024	24.85
A+F26006	31.55	A+F26024	36.33
A+F27006	32.50	A+F27024	21.36
A+F35006	24.19	A+F35024	25.49
A+F36006	42.35	A+F36024	38.24
A+F37006	33.17	A+F37024	42.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalaseก่อน 12ชั่วโมงตามด้วย Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A12F15015	10.80	A12F15024	32.50
A12F16015	11.43	A12F16024	14.47
A12F17015	14.91	A12F17024	15.30
A12F25015	8.60	A12F25024	22.94
A12F26015	17.88	A12F26024	13.10
A12F27015	21.03	A12F27024	19.60
A12F35015	16.14	A12F35024	16.25
A12F36015	22.94	A12F36024	19.12
A12F37015	28.97	A12F37024	26.48
A12F15018	21.43	A12F15036	68.54
A12F16018	12.18	A12F16036	18.01
A12F17018	11.18	A12F17036	21.03
A12F25018	3.15	A12F25036	73.32
A12F26018	18.45	A12F26036	14.57
A12F27018	27.72	A12F27036	27.44
A12F35018	6.02	A12F35036	67.59
A12F36018	20.08	A12F36036	28.68
A12F37018	19.60	A12F37036	36.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalase

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A16003	37.28
A16006	30.73
A16012	26.77
A16024	33.79

Control

Control	ระดับการไฮโดรไลซ์
C5003	4.30
C6003	2.39
C7003	3.82
C5006	1.60
C6006	1.11
C7006	3.66
C5012	5.26
C6012	2.87
C7012	2.39
C5024	5.74
C6024	4.62
C7024	5.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธี AN/TN Ratio

Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
F15003	51.42	F15012	55.58
F16003	42.04	F16012	60.42
F17003	38.32	F17012	47.34
F25003	46.92	F25012	62.19
F26003	55.87	F26012	64.07
F27003	48.46	F27012	49.68
F35003	55.35	F35012	61.48
F36003	53.05	F36012	62.26
F37003	47.65	F37012	53.91
F15006	54.74	F15024	64.34
F16006	52.28	F16024	63.16
F17006	42.81	F17024	55.41
F25006	53.66	F25024	70.31
F26006	58.16	F26024	67.28
F27006	49.74	F27024	52.78
F35006	57.06	F35024	67.39
F36006	59.72	F36024	67.55
F37006	49.35	F37024	55.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalase + Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A+F15003	59.47	A+F15012	61.76
A+F16003	52.48	A+F16012	58.27
A+F17003	48.07	A+F17012	53.16
A+F25003	55.24	A+F25012	65.46
A+F26003	58.32	A+F26012	66.86
A+F27003	54.72	A+F27012	56.72
A+F35003	60.96	A+F35012	70.37
A+F36003	65.63	A+F36012	70.29
A+F37003	53.05	A+F37012	58.94
A+F15006	60.50	A+F15024	64.50
A+F16006	56.27	A+F16024	65.35
A+F17006	51.35	A+F17024	64.98
A+F25006	64.14	A+F25024	72.61
A+F26006	62.47	A+F26024	70.35
A+F27006	55.46	A+F27024	58.55
A+F35006	69.60	A+F35024	73.26
A+F36006	68.30	A+F36024	74.15
A+F37006	57.45	A+F37024	62.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalaseก่อน 12ชั่วโมงตามด้วย Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A12F15015	60.65	A12F15024	66.23
A12F16015	60.03	A12F16024	68.31
A12F17015	44.68	A12F17024	59.63
A12F25015	63.81	A12F25024	72.17
A12F26015	58.22	A12F26024	75.52
A12F27015	45.14	A12F27024	60.77
A12F35015	63.91	A12F35024	73.61
A12F36015	60.88	A12F36024	80.01
A12F37015	58.07	A12F37024	63.79
A12F15018	65.90	A12F15036	70.76
A12F16018	63.65	A12F16036	72.63
A12F17018	53.92	A12F17036	68.60
A12F25018	67.07	A12F25036	77.45
A12F26018	66.48	A12F26036	80.65
A12F27018	58.55	A12F27036	63.06
A12F35018	64.89	A12F35036	78.72
A12F36018	77.58	A12F36036	79.30
A12F37018	60.23	A12F37036	66.49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalase

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A16003	55.46
A16006	68.22
A16012	54.24
A16024	58.87

Control

Control	ระดับการไฮโดรไลซ์
C5003	48.65
C6003	48.30
C7003	42.65
C5006	57.93
C6006	66.69
C7006	37.63
C5012	50.50
C6012	55.18
C7012	32.44
C5024	41.43
C6024	48.45
C7024	35.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวัด % ปริมาตรส่วนใส

Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
F15003	48.11	F15012	50.23
F16003	43.17	F16012	49.23
F17003	48.36	F17012	54.35
F25003	51.63	F25012	58.65
F26003	41.77	F26012	45.18
F27003	38.68	F27012	49.77
F35003	52.28	F35012	55.14
F36003	47.14	F36012	52.86
F37003	38.18	F37012	43.12
F15006	48.67	F15024	69.20
F16006	45.42	F16024	52.02
F17006	51.58	F17024	58.91
F25006	53.24	F25024	70.29
F26006	43.32	F26024	52.72
F27006	49.02	F27024	53.39
F35006	53.08	F35024	70.05
F36006	52.76	F36024	59.78
F37006	40.79	F37024	49.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalase + Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A+F15003	57.31	A+F15012	78.82
A+F16003	66.29	A+F16012	77.85
A+F17003	67.29	A+F17012	70.49
A+F25003	67.49	A+F25012	81.43
A+F26003	71.34	A+F26012	79.88
A+F27003	59.36	A+F27012	68.48
A+F35003	73.45	A+F35012	82.35
A+F36003	73.14	A+F36012	82.59
A+F37003	65.06	A+F37012	70.45
A+F15006	65.44	A+F15024	81.32
A+F16006	68.63	A+F16024	82.45
A+F17006	68.97	A+F17024	81.72
A+F25006	76.11	A+F25024	82.55
A+F26006	77.23	A+F26024	83.18
A+F27006	67.49	A+F27024	76.61
A+F35006	80.02	A+F35024	86.56
A+F36006	81.11	A+F36024	83.80
A+F37006	69.08	A+F37024	73.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalaseก่อน 12ชั่วโมงตามด้วย Flavourzyme

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์	เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A12F15015	80.75	A12F15024	83.48
A12F16015	79.00	A12F16024	81.10
A12F17015	79.53	A12F17024	80.81
A12F25015	82.63	A12F25024	86.79
A12F26015	84.05	A12F26024	87.93
A12F27015	65.84	A12F27024	73.80
A12F35015	82.78	A12F35024	86.07
A12F36015	85.14	A12F36024	86.94
A12F37015	70.72	A12F37024	73.90
A12F15018	81.29	A12F15036	87.58
A12F16018	80.41	A12F16036	83.47
A12F17018	80.58	A12F17036	85.62
A12F25018	85.44	A12F25036	89.90
A12F26018	86.20	A12F26036	88.89
A12F27018	72.98	A12F27036	78.74
A12F35018	83.28	A12F35036	87.02
A12F36018	86.46	A12F36036	88.62
A12F37018	72.68	A12F37036	75.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcalase

เอนไซม์	ระดับการไฮโดรไลซ์
A16003	79.14
A16006	83.17
A16012	83.67
A16024	85.05

Control

Control	ระดับการไฮโดรไลซ์
C5003	55.39
C6003	59.28
C7003	57.44
C5006	56.26
C6006	51.31
C7006	54.67
C5012	63.05
C6012	59.48
C7012	67.69
C5024	68.94
C6024	58.31
C7024	59.46

หมายเหตุ การอ่านรหัสตัวอย่าง

F 1 50 03

1 2 3 4

ตัวอย่าง หอลยลายสกัดจากเอนไซม์เฟเวอร์ไซม์ที่ความเข้มข้น 0.8% อุณหภูมิ 50°C เวลา 3 ชั่วโมง

รหัสตัวแรก

แทน ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ F = Flavourzyme

A+F = Alcalase + Flavourzyme

A12F = Alcalase ก่อน 12 ชั่วโมงแล้วเติม Flavourzyme

A = Alcalase

Con = Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสตัวที่สอง

แทนความเข้มข้นของเอนไซม์ 1 = 0.8% โดยน้ำหนัก

2 = 1.6% โดยน้ำหนัก

3 = 3.2% โดยน้ำหนัก

รหัสตัวที่สาม

แทนอุณหภูมิที่ใช้บ่มตัวอย่าง 50 = 50 องศาเซลเซียส

60 = 60 องศาเซลเซียส

70 = 70 องศาเซลเซียส

รหัสตัวที่สี่

แทนเวลาที่ใช้บ่มตัวอย่าง 03 = 3 ชั่วโมง

06 = 6 ชั่วโมง

12 = 12 ชั่วโมง

24 = 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

รูปภาพการทดลอง

ภาพที่ 1 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

ภาพที่ 2 เครื่อง pH – meter , เครื่อง Centifuge และเครื่องชั่ง สี่ตำแหน่ง

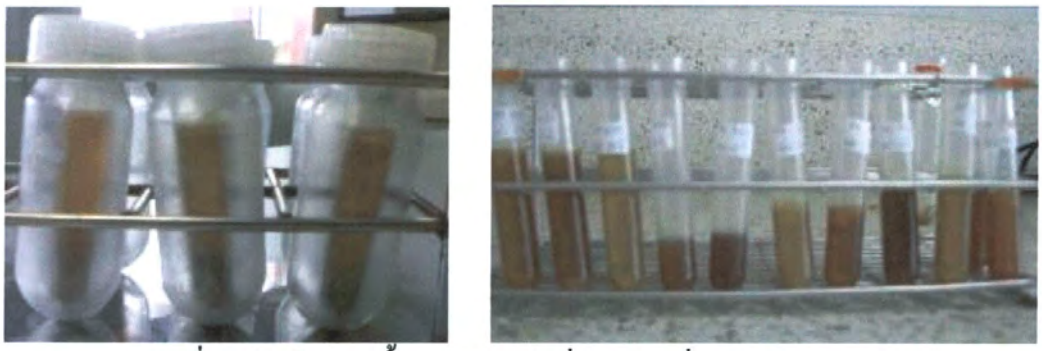
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 เครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ และ เครื่องกลั่นโปรตีน

ภาพที่ 4 หอยลายสดและเนื้อหอยลายปั่นละเอียด

ภาพที่ 5 แสดงน้ำหอยสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเวลา12 ชั่วโมงจากนั้นเติมเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่อุณหภูมิ 50 , 60 . 70 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ส่วนใสของน้ำหอยลายสกัดที่ทำการเหวี่ยงแยกตะกอนออก

ภาพที่ 7 แสดงตัวอย่างน้ำหอยสกัด(ส่วนใส) โดยใช้เอนไซม์ฟลาโวลไซม์ที่ความเข้มข้น 0.8%,1.6% และ 3.2% ที่ 50 , 60 และ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกุณฑีรา ตันติบุตร เกิดวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2529 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขา อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาวจีรณา จิรสวัสดิ์ เกิดวันที่ 3 กันยายน 2528 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสายน้ำผึ้ง จังหวัดกรุงเทพมหานคร และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขา อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาวทิมภ์พร ทิมเทศ เกิดวันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2529 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนนวมินทราชินูทิศ สตรีวิทยา ๒ จังหวัดกรุงเทพมหานคร และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขา อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้