



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้
ผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่ง

Production of Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Protein Hydrolysate
Powder for Enhance the Nutritional Value of Nutrition Bar

นามผู้วิจัย นางสาวนิลบล เล่าอัน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์วันชัย วรวัฒนเมธีกุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์จุฑา มุกดาสนิท, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสวายเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้ผลิตภัณฑ์
โภชนาหารชนิดแท่ง

Production of Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Protein Hydrolysate
Powder for Enhance the Nutritional Value of Nutrition Bar

โดย

นางสาวนิลุบล เล่าอ้น

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)
สืบศิริ มทาวิตถ์เกษตรศาสตร์
พ.ศ. ๒๕๕๖

นิลบล เก้าอ้น 2556: การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์วันชัย วรวัฒนเมธิกุล, Ph.D.
118 หน้า

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยโดยนำมาใช้เสริมคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง ซึ่งใช้เอนไซม์ทางการค้าที่มีคุณสมบัติในการย่อยโปรตีนคือ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1 และ 2 โดยน้ำหนักโปรตีนของเนื้อปลาสาวยที่ผ่านการกำจัดไขมัน ใช้ระยะเวลาในการย่อย 60, 120 และ 180 นาที จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis, DH) โดยเลือกระดับการย่อยสลายที่สูงที่สุดของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดมาทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาเพื่อเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ซึ่งมีคุณสมบัติโดยรวมทางประสาทสัมผัสดีที่สุด มาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

จากการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อย มีผลทำให้ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น โดยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุดคือ 43.82, 45.69 และ 49.97 ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที เมื่อนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีรสขมน้อยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ($p < 0.05$) จึงเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง ผลผลิตที่ได้ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 71.95 ไขมัน ร้อยละ 0.91 และความชื้นร้อยละ 2.56 ซึ่งมีกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายหลายชนิด ที่พบมากที่สุดได้แก่ กรดกลูตามิก กรดแอสปาร์ติก ซีสทีน และไกลซีน นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงที่ผลิตได้ยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อตรวจสอบโดยวิธี DPPH radical-scavenging activity และ metal-chelating activity จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงร้อยละ 5 เติมลงในโภชนาหารชนิดแท่งที่มีรัฐพีชเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์พบว่าผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งมีโปรตีนร้อยละ 23.26 ไขมันร้อยละ 13 ความชื้นร้อยละ 5.96 เถ้าร้อยละ 3.30 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 63.63 เมื่อทำการศึกษาอายุการเก็บในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ 21 และ 14 วัน ตามลำดับ และผลการตรวจสอบทางจุลชีววิทยา พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^3 โคโลนีต่อกรัม ไม่พบยีสต์และรา ในทุกสภาวะการเก็บรักษาซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกระยาสารท (มพช. ๑๐๘/๒๕๔๗) ในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งมีต้นทุน 8.63 บาทต่อแท่ง ขนาด 30 กรัม

Nilubol Lao-an 2013: Production of Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Protein Hydrolysate Powder for Enhance the Nutritional Value of Nutrition Bar. Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Associate Professor Wanchai Worawattanamateekul, Ph.D. 118 pages.

The purpose of this research is to study the production of protein hydrolysate powder from Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) for supplements to nutrition bar. Commercially protease including Fla., Alc. and combination of both enzymes were used at the concentrations of 0.5, 1 and 2 percentage by the weight of the protein from defatted Striped Catfish mince and take time to digest 60, 120 and 180 minutes. The produced hydrolysates were analyzed the degree of hydrolysis (DH) and then selected the high level of DH samples to evaluate with quantitative descriptive analysis (QDA). The treatment, which was accepted from the panels, was select for further producing protein hydrolysate and then made as powder with freeze drying.

The study showed that increasing enzyme concentrations and digestion time affect the degree of DH. At the hydrolysis conditions, which were at 2 percent concentrations for 180 minutes, the protein hydrolysate digested with enzymes Fla., Alc. and combination of both enzymes giving the highest DH of 43.82, 45.69 and 49.97 respectively. The sensory evaluation showed that protein hydrolysate digested with Fla. contributing to less bitter taste than those of Alc. and combination of both enzymes ($p < 0.05$). The protein hydrolysate digested with Fla. was chosen to produce a protein hydrolysate powder. The product acquired contains 71.95% protein, 0.91% lipid and 2.56 % moisture content. The protein hydrolysate powder contained high amounts of essential amino acids such as glutamic acid, aspartic acid, cysteine and glycine. The protein hydrolysate powder also features an antioxidant when examined by DPPH radical-scavenging activity and metal-chelating activity. The quality and nutrition value for protein hydrolysate powder made from Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) as well as nutrition bar, made from cereal supplemented with 5% protein hydrolysate powder were evaluated. The supplemented nutrition bar contained 23.26% protein, 13% fat, 5.96% moisture 3.30 % ash and 63.63% carbohydrate. The shelf life study under condition of accelerated aging at 35°C and 45 °C were 21 and 14 days, respectively. The quality of nutrition bar was comply with Thai Community Product Standard (TCPS. 709/2547) with the microbiological examination of bacteria less than 1×10^3 CFU/g, yeast and mold were not detected in storage conditions. The production cost for nutrition bar was 8.63 baht per 30 gram bar.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. วันชัย วรรณเมธิกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา และ ดร.จุฑา มุกดาสนิท กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ข้อคิดเห็น และตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผศ.ดร. ปัทมา ระตะนอะพร ประธานการสอบ และดร.สุมิตรา บุญบำรุง ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณบริษัท ที ซี ยูเนี่ยน โกลบอล มหาชน ที่กรุณาทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน ที่ใช้ในการประกอบเนื้อหาในวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง ที่ช่วยให้คำแนะนำช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมทั้งขอบคุณ เพื่อนๆ รุ่นพี่ และรุ่นน้อง ปริญาโท และปริญาเอก ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือดูแลห่วงใย ให้คำปรึกษาแนะนำ และให้กำลังใจอย่างดีมาตลอด สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณพ่อ แม่ และครอบครัว ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในระหว่างการศึกษา การทำวิทยานิพนธ์ และคอยให้กำลังใจตลอดมา

นิลุบล เล่าอัน

มีนาคม 2556

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	27
อุปกรณ์	27
วิธีการ	29
ผลและวิจารณ์	37
สรุปและข้อเสนอแนะ	75
สรุป	75
ข้อเสนอแนะ	76
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	77
ภาคผนวก	90
ภาคผนวก ก วิธีการวัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ และการคำนวณปริมาณเอนไซม์ ที่ใช้ในการทดลอง	91
ภาคผนวก ข แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส	95
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่	100
ภาคผนวก ง วิธีวิเคราะห์ทางเคมี	106
ภาคผนวก จ วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	113
ภาคผนวก ฉ ผลวิเคราะห์ทางสถิติ	116
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	118

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1	คุณค่าทางโภชนาการของปลาสวาย (striped catfish) ต่อ 100 กรัมบริโภค	5
2	แหล่งและชนิดของเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้โดยทั่วไป	10
3	ค่าความเป็นกรด-เบสและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้ในการเตรียมเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส	12
4	สูตรเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่ง	24
5	สูตรส่วนผสมของผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่ง	33
6	ค่า DH หลังจากการทำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla.	37
7	ค่า DH หลังจากการทำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc.	40
8	ค่า DH หลังจากการทำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน	41
9	ค่าทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการย่อย 180 นาที ซึ่งมีค่า DH สูงที่สุด	44
10	ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้าของปลาสวาย ก่อนและหลังจากการกำจัดไขมันและผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง	47
11	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (yield) ของปลาสวาย และโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง	47
12	ค่าสี และค่าออกเตอร์แอคทิวิตีของตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง	48
13	ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสวาย	50
14	ร้อยละของ DPPH inhibition ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับ butylated hydroxyanisole (BHA) และ α -tocopherol	52
15	ร้อยละของ Metal-chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงเมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับ EDTA	54
16	คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่งที่ได้จากสูตรทั้ง 4 สูตร	58
17	ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ของผลิตภัณฑ์ โภชนาการชนิดแท่งที่เต็ม และไม่เต็มโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสวายร้อยละ 5	60
18	ความแตกต่างทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม	62
19	การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
20	ค่าแรงกดสูงสุด (hardness) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา	64
21	ค่า water activity ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา	65
22	ค่าสีของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาแสดงค่าเป็น $L^* a^* b^*$	67
23	ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA value) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา	69
24	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา	70
25	ต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจำนวน 1 กิโลกรัม	72
26	ต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจำนวน 1 กิโลกรัม	73
ตารางผนวกที่		
ก1	วิธีการเตรียมสารละลาย L-tyrosine ที่ความเข้มข้นต่างๆ	93
ก2	ปริมาณโปรตีนที่พบในเอนไซม์ Fla. และ Alc. ต่อตัวอย่าง 1 กรัม	94
ข1	วิธีการเตรียมรสชาติ และกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาสด หลังจากผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Fla., Alc.และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนปลาสด ที่ผ่านการกำจัดไขมัน ใช้เวลาในการย่อย 180 นาที	96
ฉ1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้น และระยะเวลา ที่มีผลต่อค่า DH ของเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน	117

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	อนุกรมวิธานของปลาสวาย
2	แผนผังแสดงการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง
3	ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และความเข้มข้นที่ระดับต่างๆของเอนไซม์ Fla. โดยมีผลต่อค่า DH
4	ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และความเข้มข้นที่ระดับต่างๆของเอนไซม์ Alc. โดยมีผลต่อค่า DH
5	ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และความเข้มข้นที่ระดับต่างๆของเอนไซม์สองชนิด ผสมกัน โดยมีผลต่อค่า DH
6	โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสวายที่ผลิตโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
7	กรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
8	โภชนาหารชนิดแท่งที่ผ่านการคัดเลือกจากผู้บริโภค
9	โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม
ภาพผนวกที่	
ก1	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่าปริมาณโปรตีนของ L-tyrosine

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DH	=	Degree of hydrolysis
Fla.	=	Enzyme Flavourzyme
Alc.	=	Enzyme Alcalase
TBA	=	Thiobarbituric acid
BHA	=	Butylated hydroxyanisole
BHT	=	Butylated hydroxytoluene
DPPH	=	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
FeCl ₂	=	<i>Ferric chloride</i>
TCA	=	<i>Trichloroacetic Acid</i>
EDTA	=	Ethylene diamine tetra-acetic acid
KNaC ₄ H ₄ O ₆ ·H ₂ O	=	Potassium sodium tartrate
Ferrozine	=	3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazine

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสวายเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้ผลิตภัณฑ์ โภชนาหารชนิดแท่ง

Production of Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Protein Hydrolysate Powder for Enhance the Nutritional Value of Nutrition Bar

คำนำ

ปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่กรมประมงส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยง เพราะเลี้ยงง่าย โตเร็ว ทำให้มีผลผลิตปลาสวายมากตลอดปีเกินความต้องการบริโภคสด จึงเป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาภาวะราคาตกต่ำ โดยมีราคาขายอยู่ระหว่าง 15-26 บาทต่อกิโลกรัม (องค์การสะพานปลากรุงเทพ, 2555) และในปัจจุบันปลาสวายมีราคา 25-32 บาทต่อกิโลกรัม (ตลาดไท, 2555) นอกจากนี้ปลาสวายเป็นปลาที่มีไขมันในปริมาณสูง มีกลิ่นเฉพาะค่อนข้างแรง เช่น กลิ่นคาว ผู้บริโภคส่วนใหญ่จึงไม่นิยมบริโภคสด (ไชยา, 2531) จากการศึกษาพบว่าปลาสวายเป็นปลาที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง คือมีกรดไขมันกลุ่ม saturated fatty acid ร้อยละ 34.84 และกลุ่ม unsaturated fatty acid ร้อยละ 60.28 (Hemung *et al.*, 2010) และมีโปรตีนสูง จึงนำปลาสวายมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงเตรียมโดยใช้เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยโปรตีน ซึ่งได้กรดอะมิโนที่มีประโยชน์ในด้านโภชนาการ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ คือความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับคนทุกเพศทุกวัย เพราะประกอบไปด้วยสารอาหารที่ครบถ้วน สามารถนำมาบริโภคทดแทนมื้ออาหารหรือเป็นขนมขบเคี้ยว หรือเป็นอาหารว่าง ซึ่งโภชนาหารชนิดนี้จัดเป็นอาหารพวก convenient snack อย่างหนึ่งที่ประกอบไปด้วยส่วนผสมที่เป็นชิ้นขนาดเล็กๆ นำมาอัดเป็นแท่งด้วยสารยึดเกาะ (binder) โดยอาจมีการเคลือบผิวนอกของผลิตภัณฑ์หรือไม่ก็ได้ ในปัจจุบันโภชนาหารชนิดแท่งเป็นที่รู้จัก และนิยมรับประทานในกลุ่มเด็กวัยรุ่น กลุ่มคนที่รักสุขภาพ หรือผู้ที่ไม่มีเวลาว่างในการรับประทานอาหาร เนื่องจากผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งมีความสะดวกสบายในการรับประทาน พกพาสะดวก สามารถเก็บรักษาง่าย นอกจากนี้ยังจะได้รับสารอาหารที่ครบถ้วน ส่วนประกอบโดยทั่วไปของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งจะประกอบด้วย เมล็ดธัญพืช (cereal grain) คาราเมล (caramel) อีกทั้งยังมีการเติมวิตามิน (vitamin) แร่ธาตุ (mineral) โปรตีน (protein) เยื่อใย

(fiber) และ น้ำมันปลา (fish oil) เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์ ซึ่งส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของผู้ประกอบการที่จะนำสารอาหารหรือส่วนประกอบที่มีประโยชน์เพื่อสร้างจุดขายให้กับผลิตภัณฑ์ และใช้ชื่อทางการค้าแตกต่างกันตามความเหมาะสม

ในการวิจัยครั้งนี้จึงนำเนื้อของปลาซวายที่มีปริมาณโปรตีนอยู่สูง มาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย และเติมลงในผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่งเพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการในด้านโปรตีนที่ได้จากปลาซวาย ซึ่งโปรตีนเหล่านี้สามารถช่วยในการเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตยังมีคุณสมบัติในด้านอื่นๆ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เช่น มีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลชัน การเกิดโฟม การอุ้มน้ำ เป็นต้น ซึ่งเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์จากปลาซวาย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย
2. ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย
3. ศึกษาวิธีการผลิต และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย

การตรวจเอกสาร

ปลาสวาย

ปลาสวาย มีชื่อสามัญว่า striped catfish หรือ Siamese shark เป็นปลาน้ำจืดที่ไม่มีเกล็ดอยู่ในสกุลเดียวกับปลาเทโพ ปลาเทพา และปลาสังกะวาด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasianodon hypophthalmus* แต่มักนิยมเรียกว่า *Pangasius sutchi* มีขนาดใหญ่รองจากปลาบึก ขนาดใหญ่ที่สุดมีความยาวถึง 150 เซนติเมตร ปลาสวายมีแหล่งกำเนิดในประเทศอินเดีย และประเทศพม่า ต่อมาได้แพร่เข้ามาในประเทศอินโดนีเซีย และประเทศไทย สำหรับประเทศไทยปลาสวายมีแหล่งอาศัยอยู่ในแม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำป่าสัก และแม่น้ำโขง รวมทั้งคลอง หนอง บึง อันเป็นสาขาของแม่น้ำดังกล่าว เช่น บึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์ และบึงสีไฟ จังหวัดพิจิตร เป็นต้น ปลาสวายชอบอาศัยอยู่บริเวณที่เป็นอ่าว น้ำนิ่ง และมีผักตบชวาขึ้นหนาแน่น เป็นปลาที่ตกใจง่ายเมื่อถูกรบกวน (ปกรณ, ม.ป.ป.) ประเทศไทยมีการผสมเทียมสำเร็จในปี พ.ศ. 2509 หลังจากนั้น 3 ปีก็ประสบความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ และอนุบาลเพื่อการค้า และมีการส่งลูกปลาสวายขนาดเล็กไปยังต่างประเทศเพื่อเป็นปลาสวยงาม การเลี้ยงปลาสวายเป็นอาชีพจึงได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเลี้ยงง่าย โตเร็ว กินอาหารได้เกือบทุกชนิดรวมทั้งเศษอาหารหรือมูลสัตว์สามารถใช้เป็นอาหารของปลาสวายได้เป็นอย่างดี และปลาสวายเป็นปลาที่ไม่ค่อยมีโรค (ชวลิต และคณะ, 2540; ปกรณ, ม.ป.ป.) ในธรรมชาติปลาสวายวางไข่ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายนในแหล่งน้ำไหล โดยไข่เกาะติดกับพันธุ์ไม้น้ำหรือวัสดุบนพื้นท้องน้ำ ไข่ฟักออกเป็นตัวภายใน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27-29 องศาเซลเซียส แม่ปลาสวายแต่ละตัวจะมีไข่มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดและอายุของปลาเป็นสำคัญ (วันเพ็ญ, 2528) จากการศึกษาพบว่าปลาสวายเป็นปลาที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงในด้านโปรตีน และมีกรดไขมันกลุ่ม saturated fatty acid อยู่ร้อยละ 34.84 และกลุ่ม unsaturated fatty acid อยู่ร้อยละ 60.28 (Hemung *et al.*, 2010)

อนุกรมวิธานของปลาสวายดังแสดงในภาพที่ 1

Phylum Chordata

Class Osteichthyes

Order Siluriformes (Nematognathi)

Family Pangasiidae

Genus *Pangasius*

Species *Pangasius sutchi* หรือ

Pangasianodon hypophthalmus

ภาพที่ 1 อนุกรมวิธานของปลาสวาย

ที่มา: Nelson (1984)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของปลาสวาย (striped catfish) ต่อ 100 กรัมบริโภค

ค่าทางโภชนาการ	ปลาสวาย	หน่วย
Energy	256	Kcal
Water	62	gram
Protein	16	gram
Fat	22	gram
Carbohydrate	0.1	gram
Ash	0.8	gram
Calcium	30	milligram
Phosphorus	132	milligram
Iron	2.5	milligram
Thiamin	0.03	milligram
Riboflavin	0.08	milligram
Niacin	0.8	milligram

ที่มา: คัดแปลงมาจาก กองโภชนาการ (2551)

โปรตีนไฮโดรไลเซต

โปรตีนไฮโดรไลเซต หมายถึง ของผสมของเพปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนบริเวณพันธะเพปไทด์ ด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์โปรติเอส ทั้งนี้เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติบางประการของโปรตีน เช่น คุณสมบัติการละลาย คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน คุณสมบัติการเกิดโฟม คุณสมบัติการอุ้มน้ำ และคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Thiansilakul *et al.*, 2007) สำหรับวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตโดยทั่วไปมี 2 วิธี ได้แก่

1. การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารเคมี

1.1 การย่อยด้วยกรด

นำตัวอย่างผสมกับกรด เช่นกรดไฮโดรคลอริกหรือกรดซัลฟูริก เป็นต้น ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9-12 ชั่วโมง โปรตีนจะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน (Peterson and Johnson, 1974) ซึ่งการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดนั้นพันธะเพปไทด์ที่มี aspartic acid อยู่ทางด้านปลายสายจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเพปไทด์อื่นๆ ประมาณ 100 เท่า วิธีการนี้จะทำให้ tryptophan, serine, threonine กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น cysteine และกรดอะมิโนประเภทที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl amino acid) เปลี่ยนไปเป็น asparagine และ glutamine ซึ่งนิยมนำโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดนี้ที่ทำการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดมาใช้เป็นวัตถุปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารหรือเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (Peterson and Johnson, 1978; Kristinsson and Rasco, 2000a)

1.2 การย่อยด้วยด่าง

เป็นการย่อยโปรตีนด้วยด่างเข้มข้น เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ แต่กรดอะมิโนบางชนิดจะเกิดปฏิกิริยา racemization เป็นการเปลี่ยนโครงสร้างของกรดอะมิโนชนิด L-amino acid เป็นกรดอะมิโนชนิด D-amino acid ซึ่งเป็นแอนติไอโซเมอร์ (enantiomer) ที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้แล้วถ้าหากทำการย่อยสลายที่สภาวะความเป็นด่าง และอุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเบต้าอีลิมีเนชัน (β -elimination) ของ serine และ cysteine เป็นผลให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะลานีน (dehydroalanine) ขึ้น ซึ่งสารนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ได้ เช่น cysteine และ lysine เป็นต้น ทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด เช่น แลนทีโอนิน (lanthionine)

ออธิทิโออะลานีน (ornithioalanine) ไลซิโนอะลานีน (lysinoalanine) ทำให้เกิดการสูญเสียสารอาหารที่สำคัญ และเกิดสารพิษขึ้น (Howell, 1996)

2. การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

เป็นการย่อยสลายโปรตีนที่บริเวณพันธะเพปไทด์โดยเอนไซม์โปรติเอสทำให้เกิดผลิตภัณฑ์คือ เพปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ โดยปกติแล้วโปรตีนปลาสามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในกล้ามเนื้อ และเครื่องในปลา (autolysis) เช่น เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน และคาเทปซิน เป็นต้น ซึ่งวิธีการย่อยสลายนี้นี้เป็นวิธีที่ซับซ้อน เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในปลามีอยู่มากมายหลายชนิด แต่ละชนิดมีกิจกรรมการทำงานที่แตกต่างกัน จึงไม่สามารถที่จะควบคุมการย่อยสลายของโปรตีนปลา และใช้เวลาในการย่อยสลายนาน ผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้จึงประกอบไปด้วยเพปไทด์ที่มีขนาดเล็ก และกรดอะมิโนอิสระจึงมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ไม่ดีนัก วิธีนี้จึงนิยมใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร แต่ในปัจจุบันการย่อยสลายโปรตีนโดยการใช้อินไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ เพื่อผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตนั้นกำลังได้รับความสนใจมาก เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง เกิดเพปไทด์ในปริมาณสูง เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสจะมีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความคงตัวต่อความร้อน ตัวกระตุ้น และตัวยับยั้ง จึงสามารถเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม อีกทั้งในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นเป็นวิธีที่ไม่รุนแรง ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีคุณภาพดี และมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามที่ต้องการ เมื่อเปรียบเทียบโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารเคมี นอกจากนี้ยังพบว่า การย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นสามารถตัดสินขอบเขตการย่อยสลาย และขนาดของเพปไทด์ที่เกิดขึ้นได้ (Adler-Nissen, 1986) ในขณะที่การย่อยด้วยสารเคมีนั้นจะไม่สามารถระบุถึงการแตกตัวของพันธะเพปไทด์ และขนาดของเพปไทด์ได้ แต่อย่างไรก็ตามโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นมีข้อจำกัด คือ เมื่อมีค่า DH สูง โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้อาจมีรสขม ซึ่งรสขมนี้เกิดขึ้นเนื่องจากชนิดของเพปไทด์ที่มีโมเลกุลเล็กที่ได้จากการย่อยสลายทำให้เกิดปัญหาในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร (Bhaskar *et al.*, 2008)

การผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตโดยใช้เอนไซม์โปรติเอส

จุดประสงค์หลักของการย่อยสลายโปรตีนปลาคือ ให้ได้โปรตีนปลาเข้มข้นที่มีคุณสมบัติทางหน้าที่ที่ดี เหมาะสมต่อการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ทั้งคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัส ความคงตัว กลิ่นรส และ

คุณค่าทางโภชนาการ โดยกระบวนการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตประกอบด้วยขั้นตอนพื้นฐานดังต่อไปนี้คือ

1. ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

ปลาเป็นโปรตีนที่ย่อยสลายได้ง่าย จึงมีความเหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต โปรตีนแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันทั้งชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ ลำดับของกรดอะมิโนในสายโปรตีน และขนาดของโปรตีน เป็นต้น ทำให้ผลผลิตของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้มีคุณค่าทางโภชนาการ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่แตกต่างกัน ดังนั้นการเตรียมวัตถุดิบก่อนการย่อยสลายจึงมีผลต่อการละลายของโปรตีน ถ้าโปรตีนในมัดกล้ามเนื้อมีรูปร่างพับไปพับมามากจะมีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้นทำให้ไม่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ (Mohr, 1980) ดังนั้นจึงต้องมีการเตรียมวัตถุดิบให้มีรูปร่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยการสับหรือบดลดขนาด และกำจัดไขมันก่อนการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งการย่อยจำเป็นต้องมีน้ำในการเข้าร่วมทำปฏิกิริยา จึงนำวัตถุดิบที่ผ่านการสับหรือบดลดขนาด และผ่านการกำจัดไขมันนำมาผสมกับน้ำ และปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์

Hoyle and Merritt (1994) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อปลาแฮร์ริง (herring) ที่ผ่านการกำจัดไขมันออกด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 จะมีปริมาณไขมัน และกลีโคไลปลาต่ำกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการกำจัดไขมันออกโดยการบีบอัด และที่ไม่ผ่านการกำจัดไขมัน เมื่อใช้วิธีทดสอบทางประสาทสัมผัส

Thiansilakul *et al.* (2007) ได้ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาทุแวก (*Decapterus maruadsi*) ใช้เอนไซม์ Fla. ในการย่อยพบว่า การกำจัดไขมันด้วยไอโซโพรพานอล (isopropanol) ในอัตราส่วน 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่น และนำมาหมุนเหวี่ยง (centrifuged) จะช่วยลดปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้

Dong *et al.* (2007) ได้ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาเกล็ดเงิน (*Hypophthalmichthys molitrix*) โดยทำการบดเนื้อปลา หลังจากนั้นทำการสกัดไขมันออกด้วยไอโซโพรพานอล อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งเนื้อปลาให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำเนื้อปลาไปทำโปรตีนไฮโดรไลเซต โดยใช้เอนไซม์ Alc. และ Fla. ในการย่อย

2. ขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอส

หลังจากผ่านการเตรียมวัตถุดิบให้มีความเหมาะสมต่อการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว ขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอสนั้นต้องมีน้ำหรือบัฟเฟอร์เป็นตัวช่วยในการทำปฏิกิริยาเพื่อให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น และยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส ดังนี้

2.1 ชนิดของเอนไซม์โปรติเอส สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดตามตำแหน่งที่เกิดการย่อยสลาย คือ เอนไซม์เอนโดเพปติเดส (endo-peptidase) และเอนไซม์เอกโซเพปติเดส (exo-peptidase) โดยที่เอนไซม์เอนโดเพปติเดสจะทำการย่อยสลายพันธะเพปไทด์จากภายในสายโปรตีนระหว่างกรดอะมิโนที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ ทำให้เกิดเพปไทด์ขนาดต่างๆ ส่วนเอนไซม์เอกโซเพปติเดสจะทำการย่อยสลายพันธะเพปไทด์จากปลายสายด้านใดด้านหนึ่งของสายโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ ทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระขึ้น (Howell, 1996) หรืออาจแบ่งชนิดของเอนไซม์โปรติเอสได้เป็น 3 ชนิดตามลำดับความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการย่อยสลาย คือ แอซิดโปรติเอส (acid protease) นิวทรอลโปรติเอส (neutral protease) และอัลคาไลน์โปรติเอส (alkaline protease) (Adler-Nissen, 1986)

Mohr (1980) รายงานว่าการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเอนไซม์โปรติเอสทางการค้าจะทำได้ค่อนข้างยาก ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีความบริสุทธิ์แตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจากสัตว์ เช่น เอนไซม์ทริปซิน เป็นต้น และในขณะเดียวกันต้นทุนการผลิตเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำทำให้เอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์เข้ามามีบทบาทมากขึ้น ซึ่งแต่เดิมนั้นนิยมเลือกใช้เอนไซม์แอซิดโปรติเอสจากเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยสลายโปรตีนปลาเนื่องจากจะมีส่วนช่วยในการป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่โปรตีนที่ผลิตได้ไม่ดี ดังนั้นนักวิจัยจึงเริ่มให้ความสนใจในการใช้เอนไซม์นิวทรอล และอัลคาไลน์โปรติเอส มาย่อยสลายโปรตีนปลา

Hoyle and Merritt (1994) เปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ Alc. และ Papain ในการย่อยสลายปลาแฮร์ริง (herring) พบว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alc. จะให้ค่า DH ที่สูงกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Papain และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alc. ให้รสขมน้อยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Papain

Sathivel *et al.* (2005) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์ Alc., Fla., Parlatase 2000L, Protex GC106 และ Neutrase ใช้ในการย่อยปลา Red Salmon พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยตัวอย่างด้วย

เอนไซม์ Alc. และ Neutrase จะมีค่า DH ต่ำกว่าเอนไซม์ชนิดอื่น และการย่อยด้วยเอนไซม์ GC106 มีค่า DH ต่ำ

Foh *et al.* (2010) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์ Alc., Fla. และ Neutrase ในการย่อยปลาไนล (Oreochromis niloticus) พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. มีค่า DH สูงที่สุด และพบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีมีการละลายของโปรตีนสูง ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน เหมาะแก่การนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับอาหาร

ตารางที่ 2 แหล่งและชนิดของเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้โดยทั่วไป

Common name	Source	Nature of active site	Specificity	Application
Animal enzyme				
Chymotrypsin	Bovine, porcine pancreas	Serine protease	Phe, Tyr, Tryp	Leather
Pancreatin	Bovine, porcine pancreas	As for trypsin, chymotrypsin	Very broad	Food
Trypsin	Bovine, porcine pancreas	Serine protease	Lys, Arg	Leather
Pepsin	Bovine, porcine stomach	Aspartic protease	Aromatic amino acid	Food
Rennet	Calf abomasum	Aspartic protease	Phe-Met in casein	Cheese
Plant enzyme				
Bromelain	Pineapple	Cysteine protease	Lys, Arg, Phe, Tyr	Brewing
Ficin	Fig	Cysteine protease	Phe, Tyr	Food
Papain	Papaya	Cysteine protease	Lys, Arg, Phe	Meat
Bacterial enzyme				
Subtilisin	<i>B. subtilis</i>	Serine protease	Very broad	Detergent
Alc.	<i>B. licheniformis</i>	Serine protease	Very broad	Detergent
Neutrase	<i>B. subtilis</i>	Metallo protease	Hydrophobic Amino acid	Brewing
Fungal enzyme				
Fla.	<i>Aspergillus oryzae</i>	Serine protease	Very broad	Detergent
Rennilase	<i>Mucor miehei</i>	Aspartic protease	As for rennet	Cheese
Protease	<i>Aspergillus spp.</i>	Aspartic protease	Very broad	Baking

ที่มา: คัดแปลงมาจาก Hall and Ahmad (1992)

2.2 ปริมาณเอนไซม์ Yu and Tan (1992) ได้ศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) ด้วยเอนไซม์ Alc. โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในช่วงร้อยละ 0.5-2.0 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในเนื้อปลา พบว่า เมื่อปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่า DH สูงขึ้น และการใช้เอนไซม์ที่ร้อยละ 2.0 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในเนื้อปลา จะทำให้ได้โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่มีปริมาณไนโตรเจนที่ผลิตได้สูง ซึ่งผลการวิจัยดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ (Quaglia and Orban, 1987; Shahidi *et al.*, 1995; Benjakul and Morrissey, 1997)

2.3 ความเป็นกรด-ด่าง มีผลต่อการแตกตัวของไอออนของหมู่โปรโทโทรฟิก (prototropic group) ที่อยู่ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงรูปสามมิติของเอนไซม์ เกิดการเบี่ยงเบนในด้านการจับกับสารตั้งต้นหรือการเร่งปฏิกิริยา ในบางกรณีความเป็นกรด-ด่าง มีผลทำให้ผลผลิตต่ำ เนื่องจากการแตกตัวของไอออนของผลผลิตเอนไซม์โดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพการเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ณ ระดับความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกันแต่จะมีช่วงความเป็นกรด-ด่างหนึ่งที่เอนไซม์จะมีกิจกรรมการทำงานสูงสุด ดังนั้นในการนำเอนไซม์มาใช้งานจึงต้องมีการควบคุมความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสม และไม่ทำให้เอนไซม์ถูกยับยั้งกิจกรรมการทำงาน (Whitaker, 1994)

Foh *et al.* (2010) ศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรด-ด่าง ที่มีผลต่อชนิดของเอนไซม์ Alc., Fla. และ Neutrase ที่ใช้ในการย่อยเนื้อปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ความเป็นกรด-ด่าง 2 ถึง 12 โดยส่งผลต่อปริมาณไนโตรเจนที่ผลิตได้ พบว่าที่ความเป็นกรด-ด่างตั้งแต่ 6 ขึ้นไป เริ่มมีการละลายของไนโตรเจนสูงขึ้นเรื่อยๆ ที่ความเป็นกรด-ด่าง 8 มีการละลายของไนโตรเจนสูงที่สุด และที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5-5.5 มีการละลายของไนโตรเจนต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 8 โปรตีนปลามีความสามารถในการละลายน้ำที่ดีจึงเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้ดีกว่า ในขณะที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 4.5-5.5 นั้นใกล้เคียงกับจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point, pI) ของโปรตีนจึงทำให้มีความสามารถในการละลายต่ำที่สุด

2.4 อุณหภูมิ ช่วยเร่งปฏิกิริยาทางเคมีได้ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลทำให้อัตราความเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิมิมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นภายในโมเลกุลของสารที่ทำปฏิกิริยา ซึ่งมีผลทำให้โมเลกุลมีโอกาสชนกันเร็วมากขึ้น ส่วนปฏิกิริยาเคมีที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งนั้น การเพิ่มอุณหภูมิมีผลต่ออัตราความเร็วของปฏิกิริยา คือ ทำให้อัตราความเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเนื่องจากไปเพิ่มพลังงานให้กับโมเลกุล และทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาลดลง เนื่องจากเอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติ ปรากฏการณ์ทั้งสองนี้จะเกิดขึ้นพร้อมกัน แต่อิทธิพลของอุณหภูมิในการเพิ่มอัตราความเร็วของปฏิกิริยาจะแสดงให้เห็นเฉพาะช่วงอุณหภูมิหนึ่งเท่านั้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มมากขึ้นเกินช่วง

อุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) จะแสดงผลในทิศทางตรงกันข้ามทำให้มีอัตราความเร็วของปฏิกิริยาลดลง Whitaker (1994) กล่าวว่า การเพิ่มอุณหภูมิทำให้เอนไซม์เสี่ยงต่อการแปรสภาพธรรมชาติมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนไม่ได้อยู่ในสภาพของสายเพปไทด์จริงๆ แต่มีการงอพับไปมาของสายเพปไทด์ เพื่อจัดให้อยู่ในโครงร่างธรรมชาติที่เหมาะสมที่จะให้บริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์อยู่ในสภาพที่ทำปฏิกิริยากับสับสเตรท (substrate) ได้ ความร้อนจะเข้าไปมีบทบาทต่อโครงร่างสามมิติของเอนไซม์ โดยจะไปทำให้พันธะที่มีแรงยึดเหนี่ยวต่ำ เช่น พันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก เป็นต้น เกิดการแตกตัวหรือแรงยึดเหนี่ยวในการงอพับไปมาของสายเพปไทด์ถูกทำลายจนโครงร่างสามมิติของเอนไซม์เสียหาย ทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติ ดังนั้นเอนไซม์จะสูญเสียกิจกรรมไป

Foh *et al.* (2010) พบว่าเอนไซม์แต่ละชนิดมีความเหมาะสมในการทำงานได้ในระดับอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างต่างกัน ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้ในการเตรียมเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส

Enzyme	Form	pH	T (°C)
Alc. 2.4 L (AU/g)*	Liquid/grain	8.0	55
Fla. (500 LAPU/g)†	Powder	7.0	50
Neutrase (1.5 AU/g)*	Liquid/grain	7.0	40

หมายเหตุ * AU (Anson units) คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยฮีโมโกลบินในสารละลาย TCA ได้เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งอยู่ในอัตราเท่ากับไทโรซีน 1 milliequivalent ในปริมาตร 1 มิลลิลิตรในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

† LAPU (Leucine aminopeptidase unit) คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อย leucine-p-nitroanilide จำนวน 1 ไมโครโมล แล้วเป็นผลิตภัณฑ์ได้ในเวลา 1 นาที

ที่มา: Foh *et al.* (2010)

2.5 ระยะเวลาการย่อยสลาย Foh *et al.* (2010) ได้ศึกษาปริมาณผลผลิตโปรตีนภายหลังการย่อยสลายเนื้อปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ด้วยเอนไซม์ Alc., Fla. และ Neutrase พบว่าการย่อยสลายโปรตีนปลาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการย่อยสลาย และมีค่า DH สูงสุดที่ระยะเวลาหนึ่ง

หลังจากนั้นค่า DH จะเริ่มคงที่ ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับหลายงานวิจัย (Tarky *et al.*, 1973; Quaglia and Orban, 1987; Shahidi *et al.*, 1995; Kristinsson and Rasco, 2000b; Dong *et al.*, 2007)

Adler-Nissen (1986) อธิบายว่าในช่วงต้นของการย่อยสลาย เอนไซม์จะเข้าจับกับโปรตีนอย่างรวดเร็วเกิดการย่อยสลายจนเกิดเปปไทด์ขึ้น จากนั้นเมื่อเวลาการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน (competition inhibition) โดยเปปไทด์ที่เกิดขึ้นจะแข่งขันกับโปรตีนในการจับกับเอนไซม์จึงทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาเริ่มคงที่

3. ขั้นตอนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส

ภายหลังจากการย่อยสลายโปรตีนเมื่อได้ค่า DH ที่ต้องการแล้วจำเป็นต้องยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพื่อไม่ให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนต่อไปอีก ซึ่งสามารถทำการยับยั้งได้โดยวิธีการควบคุมความเป็นกรด-ด่างนั้นควรควบคุมให้อยู่ในช่วงที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ และวิธีการให้ความร้อน ส่วนใหญ่แล้วจะกระทำที่อุณหภูมิ 75-100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการต้านทานความร้อนของเอนไซม์แต่ละชนิด การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยความร้อนนี้อาจมีผลทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติ และตกตะกอน แต่เปปไทด์โมเลกุลขนาดเล็กจะไม่เสียสภาพ (Kristinsson and Rasco, 2000a)

Shahidi *et al.* (1995) ศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลาคาเพลลิน (Capelin) ด้วยเอนไซม์ Alc., Neutrase และ Papain ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ 8.5, 7.0 และ 6.0 โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดที่ความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 3.0-4.0 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว

4. ขั้นตอนการแยกส่วนของเหลวที่สกัดได้

เมื่อโมเลกุลโปรตีนถูกย่อยสลายจะทำให้เกิดเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโนอิสระที่ละลายอยู่ในส่วนของเหลว ดังนั้นจึงต้องทำการแยกส่วนของเหลวออกจากส่วนของแข็งซึ่งสามารถทำได้โดยการแยกผ่านตะแกรงร่อน การกรอง การปล่อยให้ตกตะกอน หรือการเหวี่ยงแยก เป็นต้น ซึ่งการแยกส่วนของของเหลวที่สกัดได้นั้นมีประโยชน์อีกประการหนึ่งคือ สามารถกำจัดไขมันที่เหลือออกไปได้ด้วย นอกจากนี้แล้วในกระบวนการผลิตยังอาจมีการเพิ่มขั้นตอนการกำจัดสี และกลิ่นของ โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ หรืออาจมีการนำส่วนของเหลวที่แยกได้มาผ่านกระบวนการอัลตรา-

ฟิльтраชัน (ultrafiltration) เพื่อให้ส่วนของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้มีขนาดโมเลกุล และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ (Thiansilakul *et al.*, 2007)

5. ขั้นตอนการทำแห้ง

เพื่อความสะดวกในการเก็บรักษา และการนำไปใช้ประโยชน์จึงนิยมนำส่วนของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่เป็นของเหลวที่แยกได้มาผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย แบบสูญญากาศ และแบบแช่เยือกแข็ง เป็นต้น ซึ่งการเลือกใช้วิธีทำแห้งแบบใดนั้นต้องพิจารณาจากหลายๆ ปัจจัย ได้แก่ คุณลักษณะของสิ่งที่นำมาทำแห้ง คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ต้นทุนการผลิต ความพร้อมของเครื่องมือ และอุปกรณ์ เป็นต้น ซึ่งได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเซตดังต่อไปนี้

Yu and Tan (1990) ผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบจากปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) หลังจากย่อยสลายจนได้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เป็นของเหลวแล้ว นำมาทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ลมร้อน ใช้อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการป้อนอาหารเท่ากับ 4 ลิตรต่อชั่วโมง นำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผงมาเป็นส่วนประกอบในข้าวเกรียบร้อยละ 10 ของส่วนผสมทั้งหมด พบว่าผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบมีคุณลักษณะที่ดีกว่าข้าวเกรียบที่ไม่ได้ผสมโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผง ทั้งในด้านสี ลักษณะปรากฏ ความกรอบ และทำให้ข้าวเกรียบมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น

Mahesh *et al.* (1993) ได้ศึกษาการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาทรายแดง (*Nemipterus japonicus*) มาทำแห้ง 2 วิธีคือ การทำแห้งแบบสูญญากาศ และทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยจะได้โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผงที่มีสีขาวครีม ส่วนการทำแห้งแบบสูญญากาศจะได้โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผงที่มีสีน้ำตาล ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผงที่ทำแห้งแบบสูญญากาศมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด

Abdul-Hamid *et al.* (2001) ได้ศึกษาการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) โดยใช้วิธีการทำแห้งแบบลมร้อน (spray dryer) ที่อุณหภูมิแตกต่างกันสองอุณหภูมิคืออุณหภูมิเข้า 150 องศาเซลเซียส ออก 76 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเข้า 180 องศาเซลเซียส ออก 90 องศาเซลเซียส เพื่อดูประสิทธิภาพด้านคุณค่าทางโภชนาการพบว่าการใช้อุณหภูมิที่สูงคือ

อุณหภูมิเข้า 180 องศาเซลเซียส ออก 90 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดอะมิโนที่น้อยกว่าอุณหภูมิต่ำคือ
อุณหภูมิเข้า 150 องศาเซลเซียส ออก 76 องศาเซลเซียส

Dong *et al.* (2007) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาเกล็ดเงิน (*Hypophthalmichthys molitrix*) โดยใช้เอนไซม์ Alc. และ Fla. ในการย่อยสลาย และทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-drying) กล่าวว่าวิธีการทำแห้งชนิดนี้นิยมใช้อย่างแพร่หลาย เพราะง่าย และสะดวกในการผลิตแต่วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายสูงในการผลิตแต่ละครั้ง ดังนั้นในการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ชนิดผงต้องคำนึงถึงต้นทุนในการผลิต ความเหมาะสม ความพร้อมของเครื่องมือ และอุปกรณ์ หรือจุดประสงค์ของผู้ผลิตที่จะเลือกใช้

คุณภาพของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต

1. คุณภาพทางเคมี

คุณภาพทางเคมีของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตอาจพิจารณาได้จากองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณกรดอะมิโนที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีควรมีปริมาณ โปรตีนสูงประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน มีปริมาณไขมันต่ำ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซตขึ้นอยู่กับปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้เริ่มต้น เอนไซม์ที่ใช้ และกระบวนการผลิต

2. คุณภาพทางกายภาพ

สีเป็นคุณลักษณะทางกายภาพที่ต้องคำนึงถึงของผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซต เนื่องจากสีทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำไปใช้ในอาหารบางประเภท โดยสีของผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ กระบวนการผลิต การสกัดไขมัน และการทำแห้ง เป็นต้น

Hoyle and Merritt (1994) พบว่าการนำเนื้อปลาแฮร์ริงสด มาผ่านการกำจัดไขมันด้วยการบีบอัด และการกำจัดไขมันด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 จากนั้นนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alc. และ Papain พบว่าสีของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการนำปลาแฮร์ริงสด และปลาแฮร์ริงที่ผ่านการกำจัดไขมันด้วยการบีบอัดมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Papain จะมีค่าความสว่างมากกว่าการย่อยสลาย

ด้วยเอนไซม์ Alc. และโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการนำเนื้อปลาแฮร์ริ่งที่ผ่านการสกัดไขมันด้วยเอทานอลมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alc. จะมีค่าความสว่างมากที่สุด

Dong *et al.* (2007) พบว่าหลังจากการย่อยสลายเนื้อปลาเกล็ดเงิน (*Hypophthalmichthys molitrix*) ด้วยเอนไซม์ Alc. และ Fla. โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่มากขึ้นจะส่งผลต่อค่าความสว่างของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ดังนั้นในการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตควรคำนึงถึงระยะเวลาในการผลิตเนื่องจากระยะเวลาในการผลิตที่นานขึ้นมีผลต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้มีน้ำตาล ทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำไปใช้ในอาหารบางประเภท

3. คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสนั้นมักจะมีรสขม ซึ่งรสขมเป็นคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่สำคัญมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค รสขมที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตเกิดจากกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ นอกจากนี้กรดอะมิโนเมื่ออยู่รวมกันเป็นเปปไทด์จะให้รสขมมากกว่ากรดอะมิโนอิสระ (Hall and Ahmad, 1992) โดยเปปไทด์มีค่า hydrophobicity มากกว่าหรือเท่ากับ 1,400 cal/mole และน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 6 kDa จะมีรสขม แต่ถ้ามีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 6 kDa จะไม่มีรสขม กล่าวคือเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 6 kDa จะมีส่วนของ กรดอะมิโน leucine, proline, phenylalanine, tyrosine, isoleucine และ tryptophan อยู่ปริมาณมากซึ่งกรดอะมิโนดังกล่าวเป็นกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำจึงส่งผลต่อรสขมของโปรตีนไฮโดรไลเซต (FitzGerald and Cuinn, 2006) การแก้ปัญหการเกิดรสขมในผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตนั้นอาจทำได้โดยการบดบังรสขมที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ เช่น การเติมน้ำตาลซูโครสในผลิตภัณฑ์ (Mahesh *et al.*, 1993) หรือการใช้เอนไซม์เอกโซเพปติเดสร่วมกับเอนไซม์เอนโดเพปติเดสในการย่อยสลายโปรตีน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวนี้นี้เรียกว่า ปฏิกิริยาพลาสเตอิน (plastein) (Kristinsson and Rasco, 2000a) และกลิ่นคาวปลาที่จัดได้ว่าเป็นคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ซึ่งโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ดีควรจะไม่มิกลิ่นคาวปลาหรือมิกลิ่นคาวปลาอย่างอ่อนๆ แต่โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ยังคงมิกลิ่นคาวปลาอยู่ซึ่งคาดว่าอาจจะมีอิทธิพลมาจากปริมาณไขมัน และสารประกอบโมเลกุลต่ำ เช่น ไตรเมทิลามีน (trimethylamine) สารประกอบประเภทซัลไฟด์ และ 2-บิวทานอล (2-butanol) (Lalasidis *et al.*, 1978)

4. คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจะมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางเคมี และคุณสมบัติทางกายภาพของโปรตีน ได้แก่ ชนิด ปริมาณ การจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเพปไทด์ ความยาว รูปร่างของสายเพปไทด์ ประจุสุทธิ สัดส่วนระหว่างความชอบน้ำ และความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic-hydrophilic ratio) และความสามารถของโมเลกุลโปรตีนในการทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ

4.1 คุณสมบัติในการละลาย (solubility)

ความสามารถในการละลายของโปรตีนเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ซึ่งมีความสำคัญต่อโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต เนื่องจากความสามารถในการละลายจะมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเซต เช่น ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดโฟม ความสามารถในการเกิดเจล เป็นต้น ดังนั้นความสามารถในการละลายของโปรตีนเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณสมบัติการทำหน้าที่ของโปรตีนที่ใช้เป็นค่าแสดงคุณภาพของโปรตีน สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ (Kristinsson and Rasco, 2000b) ความสามารถในการละลายของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีน การจัดเรียงตัว ประจุที่พื้นผิว ค่า DH ความเป็นกรด-ด่าง ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย และชนิดของตัวทำละลาย เป็นต้น (ไพรัตน์, 2539)

Quaglia and Orban (1987) ได้ศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลาชาร์ดินด้วยเอนไซม์ Alc. และ Papain พบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมีความสามารถในการละลายเพิ่มสูงขึ้นเมื่อค่า DH สูงขึ้น เนื่องจากโปรตีนถูกย่อยสลายทำให้เกิดเพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก และจำนวนของหมู่ที่มีขั้วเพิ่มมากขึ้น ซึ่งหมู่ที่มีขั้วเหล่านี้สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้ดีทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีความสามารถในการละลายที่ดีขึ้น

4.2 คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน

เมื่อโปรตีนถูกย่อยสลายเกิดเป็นเพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ทำให้สามารถเคลื่อนที่อย่างรวดเร็ว และเคลื่อนที่ไปยังบริเวณพื้นผิวเมื่อน้ำมัน โดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหาเมื่อน้ำมัน และหันส่วนที่มีขั้วเข้าหาโมเลกุลของน้ำหรือโมเลกุลที่มีขั้วทำให้เกิดสภาพอิมัลชันขึ้น ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเซตจะขึ้นอยู่กับ ค่า DH ความเป็นกรด-ด่าง เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย และ

surface hydrophobicity (So) เป็นต้น โดยที่ความสามารถในการเกิดอิมัลชันจะมีค่าต่ำ ณ จุดไอโซอิเล็กทริก (Nielson, 1997)

Hoyle and Merritt (1994) พบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายปลาแฮร์ริงด้วยเอนไซม์ Alc. ซึ่งมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Papain แต่มีค่าการละลายของไนโตรเจนต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการใช้เอนไซม์ Papain ย่อยสลายจะทำให้ได้เปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนที่ชอบน้ำอยู่มาก แต่มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันต่ำกว่า

4.3 คุณสมบัติในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity, WHC)

คุณสมบัติในการอุ้มน้ำ คือความสามารถของโปรตีนในการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำ และกักเก็บโมเลกุลของน้ำไว้ในโครงสร้าง ใช้เป็นคุณสมบัติที่แสดงถึงปริมาณของน้ำภายในร่างแหของโปรตีน รวมถึง bound water, entrapped water และ hydrodynamic การย่อยสลายโปรตีนจะทำให้จำนวนหมู่ที่มีขั้วเพิ่มมากขึ้น เช่น หมู่คาร์บอกซิล ให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำ และกักเก็บโมเลกุลของน้ำไว้ได้ดีขึ้น

Foh *et al.* (2010) ได้ศึกษาการการย่อยเนื้อปลานิล (*Oreochromis niloticus*) 2 ชนิด คือแบบที่ผ่านการให้ความร้อน และแบบเนื้อพลาสติก ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alc., Fla. และ Neutrase และทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) พบว่าค่าการอุ้มน้ำของเนื้อพลาสติกที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีค่ามากกว่าเอนไซม์ Neutrase และ Alc. และในปลาที่ผ่านการให้ความร้อนพบว่าเอนไซม์ Neutrase มีค่าการอุ้มน้ำมากกว่าเอนไซม์ Fla. และ Alc.

4.4 คุณสมบัติในการดูดซับไขมัน (fat absorption or fat binding capacity)

ความสามารถของโปรตีนในการดูดซับไขมัน หรือยึดจับกับไขมันมีความสำคัญต่อการพัฒนาสูตรอาหาร และการเกิดกลิ่นรสที่ผิดปกติของอาหาร เนื่องจากการมีไขมันเป็นองค์ประกอบในอาหารเพียงเล็กน้อย ไขมันอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอันไม่พึงประสงค์ เช่น การเกิดกลิ่นหืนจากการออกซิไดซ์หรือปฏิกิริยาของเอนไซม์ Kristinsson and Rasco (2000b) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาแซลมอนที่มีค่า DH ร้อยละ 5 ถึง 15 จะมีความสามารถในการดูดซับไขมันได้ดีกว่าโปรตีนอัลบูมินจากไข่ และโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น

4.5 คุณสมบัติในการทำให้เกิดโฟม

การเกิดโฟมของโปรตีนจะช่วยให้เกิดการผลิตอาหารที่มีลักษณะฟู และเบา มีอากาศรวมอยู่ด้วยเป็นลักษณะที่เรียกว่า surface-active protein สามารถควบคุมการให้อากาศ และลักษณะโครงสร้างโดยการปล่อยให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอของฟองอากาศขนาดเล็ก เข้าไปในโครงสร้างร่างแหของโปรตีน ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติการเกิดโฟมของโปรตีน ได้แก่ ความสามารถในการละลาย อัตราการแพร่ไปบนผิว และการดูดซับของอากาศ

4.6 คุณสมบัติการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน มีผลทำให้เกิดการเสื่อมเสีย เช่น สี กลิ่น รสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ซึ่งโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบธรรมชาติอาจทำหน้าที่เป็นสารจับโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Shahidi *et al.*, 1995; Hattori *et al.*, 1998)

Dong *et al.* (2007) ได้ศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาเกล็ดเงิน (*Hypophthalmichthys molitrix*) โดยใช้เอนไซม์ Alc. และ Fla. ในการย่อย พบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alc. และ Fla. มีความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดีกว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากธรรมชาติ คือ α -tocopherol, carnocine และดีกว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากการสังเคราะห์ คือ BHT นอกจากนั้นยังมีปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันคือ ขนาดของเพปไทด์ อัตราส่วนของกรดอะมิโนอิสระ และชนิดของกรดอะมิโนที่พบ ในการศึกษาวิจัยอีกมากพบว่าน้ำหนักของโมเลกุลขนาดเล็กส่งผลต่อการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่ดี ทั้งยังเกี่ยวข้องกับค่า DH ถ้ามีค่ามากจะส่งผลถึงน้ำหนักของโมเลกุลให้มีขนาดเล็กลง แต่อย่างไรก็ตามต้องคำนึงคุณสมบัติทางกายภาพ และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่จะนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร

5. การนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมาใช้ประโยชน์

โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ผลิตขึ้นในระยะแรกมิได้ผลิตขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์ในการนำมาใช้เป็นอาหารมนุษย์โดยตรง แต่ผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ต่อมาเมื่อทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน และวิตามินในปริมาณสูงจึงได้มีการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ที่อยู่ในระยะแรกเกิด และที่กำลังเจริญเติบโต โดยใช้ทดแทนโปรตีนจากนมในอาหารสัตว์ จากนั้นจึงได้มีการพัฒนาไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารของมนุษย์หลายชนิด ดังนั้นจึงแบ่งแนวทางการนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมาใช้ประโยชน์ได้ดังนี้

5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายที่ระดับการย่อยสลายสูงซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระ และเปปไทด์ขนาดเล็กจำนวนมาก จะเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่ดี และเหมาะแก่การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จึงมีการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Sen, 1966; Gildberg, 1993)

5.2 อาหารสัตว์

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตพบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วนในปริมาณสูง (Lalasidis *et al.*, 1978; Rebeca *et al.*, 1991) จึงมีการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ที่อยู่ในระยะแรกเกิด และที่กำลังเจริญเติบโต เช่น ลูกแกะ ลูกโค และลูกสุกร เป็นต้น

Qrskov *et al.* (1982) ศึกษาการนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมาใช้ทดแทนเคซีนในอาหารลูกแกะ โดยทำการศึกษาในหนูทดลอง พบว่า หนูที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจะมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับหนูที่ได้รับสารอาหารที่มีเคซีน

5.3 อาหารมนุษย์

ปัจจุบันได้มีการพัฒนากระบวนการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต เพื่อให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี และเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารของมนุษย์ เช่น ขนมอบ ลูกเกด หรือนำมาใช้เป็นวัตถุปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร

Yu and Tan (1990) ทดลองนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจากปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) มาใช้ในการผลิตข้าวเกรียบปลา พบว่าข้าวเกรียบปลาที่เติมโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตปริมาณร้อยละ 10 จะมีอัตราการพองตัวสูง และมีค่าคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านสี ความกรอบ ลักษณะปรากฏดีกว่าข้าวเกรียบที่ไม่มีการเติมโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้นั้นจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดของปลา สภาพที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต และแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์

สุปราณี (2539) ศึกษาการนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายหัว และไส้ปลาทรายแดงด้วยเอนไซม์ Alc. มาเติมลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแฟรงเฟอ์เตอร์หมูในปริมาณร้อยละ 0, 3, 6 และ 9 พบว่าการเติมโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตปริมาณร้อยละ 3 จะทำให้ไส้กรอกมีความสามารถในการอุ้มน้ำ และมีความคงตัวของอิมัลชันสูงสุด ซึ่งได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านสี เนื้อสัมผัสและความชุ่มฉ่ำที่ดี แต่อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแฟรงเฟอ์เตอร์หมูที่เติมโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจะยังคงมีกลิ่นคาวปลาอยู่ ทำให้ไม่ได้รับการยอมรับในด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์

โภชนาหารชนิดแท่ง (nutrition bar)

โภชนาหารชนิดแท่งเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปที่ผลิตมาจากธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวบาร์เล่ต์ เป็นรูปแบบของผลิตภัณฑ์ธัญพืชชนิดหนึ่งที่ผลิตขึ้นเพื่อให้ความสะดวกในการบริโภค โดยมีส่วนผสมที่เป็นชั้นเล็กๆ เข้าด้วยกันโดยใช้สารยึดเกาะที่มีความข้นหนืดเป็นตัวประสาน จากนั้นนำมาขึ้นรูปแบบชิ้นหรือแท่ง ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะพร้อมรับประทาน (ready-to-eat หรือ ready-to-cook)

Rice (1990) กล่าวถึงผลิตภัณฑ์ธัญชาติชนิดแท่งว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่จัดเป็นอาหารขบเคี้ยวชนิดหนึ่งที่มีลักษณะเป็นอาหารหวานซึ่งสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน โดยผลิตภัณฑ์ลักษณะนี้มีหลายชนิด เช่น กรานูลาร์หรือมูสลีบาร์ (granular/muesli bars) ช็อคโกแลตบาร์ (chocolate bars) มินิเบรคบาร์

(minibreak bars) เป็นต้น ลักษณะของผลิตภัณฑ์มี 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีลักษณะกรอบแห้ง (crunch bars) และชนิดเหนียวนุ่ม (chewy bars) โดยปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในส่วนผสมจะแตกต่างกัน คือผลิตภัณฑ์ชนิดกรอบแห้งจะมีปริมาณ น้ำตาลในรูปซูโครสทั้งหมดร้อยละ 15-20 และอาจมีการเติมน้ำผึ้งลงในส่วนผสมเพื่อเพิ่มรสชาติ ส่วนผลิตภัณฑ์ชนิดเหนียวนุ่มมีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 25-30 ทั้งนี้อาจมีการเติมหางนมเพื่อเพิ่มรสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการด้วย

Dagleish (1990) กล่าวถึงลักษณะโดยทั่วไปของผลิตภัณฑ์จากธัญชาติชนิดแห้งว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ง่ายต่อการบริโภคในลักษณะที่เป็นหนึ่งหน่วยบริโภค และไม่ต้องเสียเวลาในการเตรียมเมื่อรับประทาน ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้กลั่นรสของวัตถุดิบยังคงอยู่ เนื้อสัมผัสสามารถเคี้ยวได้ง่าย มีคุณค่าทางโภชนาการ ขนาดและรูปร่างง่ายต่อการบรรจุ สะดวกในการจัดเก็บ และการขนส่ง

การเติมสารอาหารลงไปในผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแห้ง

การเติมสารอาหารลงในผลิตภัณฑ์มีจุดประสงค์เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เป็นการส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภคโดยไม่ต้องเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการรับประทานอาหารบางประเภท สารอาหารที่นิยมเติมลงไปในผลิตภัณฑ์เช่น โปรตีน (protein) เส้นใย (fiber) วิตามิน (vitamin) และน้ำมันปลา (fish oil) เป็นต้น สารอาหารที่มีการเติมลงไปในผลิตภัณฑ์ ได้แก่

1. ไขมัน และกรดไขมันไม่อิ่มตัวลงไปเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยการใช้ไขมันจากพืชน้ำมันปลา Horn *et al.* (2008) ได้ทำการผลิต omega-3 nutrition bars เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดแห้งที่เสริมกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายกลุ่มไขมันโอเมก้า-3 เป็นกลุ่มกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้หรือสร้างได้ในปริมาณที่ไม่เพียงพอกับความต้องการ แต่สามารถรับประทานไขมันหรือน้ำมันได้จากสัตว์ทะเล เมล็ดถั่ว และปลาที่มีไขมันชนิดนี้เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นเมื่อรับประทานผลิตภัณฑ์ omega-3 nutrition bars ผู้บริโภคจะได้ประโยชน์จากกลุ่มไขมันโอเมก้า-3 จากผลิตภัณฑ์ชนิดนี้

2. ใยอาหารแหล่งของใยอาหารที่สำคัญได้แก่ ผลไม้อบแห้ง และเมล็ดธัญพืชที่ไม่ผ่านการขัดสี Becker *et al.* (1986) ได้ทำการผลิตอาหารว่างชนิดแห้งแบบมีปริมาณใยอาหารสูงโดยใช้เมล็ดข้าวสาลี (wheat bran) และเซลลูโลส (cellulose) ในการผลิตเพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการแก่ผู้ที่ต้องการสารอาหารประเภทใยอาหารสูง

3. วิตามินจะต้องมีการเตรียมให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมเพื่อให้มีการละลายผสมเข้ากับอาหารได้ดี มีความคงตัว หรือไม่สลายตัวในระหว่างการใช้ และการเก็บรักษา เช่น (1) วิตามินบีสองหรือไรโบฟลาวิน จะใช้ในรูปแบบของไรโบฟลาวิน 5-ฟอสเฟต เพราะจะละลายได้ดี และมีสีเหลืองเข้ม (2) ไนอะซิน มักจะใช้ในรูปแบบของกรดนิโคตินิกหรือนิโคตินาไมด์ ซึ่งเป็นรูปที่ค่อนข้างคงตัว (3) วิตามินซีจะใช้ในรูปแบบแอสคอร์เบต และกรดแอสคอร์บิก ต้องใช้ในปริมาณที่มากเกินไปเนื่องจากจะสลายตัวได้มาก (4) วิตามินเอเป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน จึงมักใช้ร่วมกับวัตถุกันหืน เพื่อป้องกันการออกซิไดซ์ ซึ่งมักจะใช้ในรูปแบบของสารประกอบ แคโรทีน เช่น เบต้าแคโรทีน วิตามินเออะซิเตตหรือพาลมิเตตเอสเทอร์ของวิตามินเอ (McCance *et al.*, 1991)

4. แร่ธาตุควรเตรียมให้อยู่ในรูปที่ละลายได้ง่าย ไม่สลายตัว และทำให้คุณภาพของอาหารเปลี่ยนแปลง แต่ส่วนใหญ่แล้วการสูญเสียแร่ธาตุจะไม่พบเกิดขึ้นระหว่างการผลิต และเก็บรักษา ยกเว้นไอโอดีน (Matz, 1984) Hayward *et al.* (1979) ได้ทำการผลิต highly nutrition protein and vitamin enriched food bar เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดแท่งประกอบไปด้วยโปรตีน วิตามิน แร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย อีกทั้งยังมีความหวานต่ำเหมาะกับคนที่ต้องการควบคุมระดับน้ำตาล มีความชื้นต่ำสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นาน

5. สารให้ความหวานพลังงานต่ำ เช่นการใช้ไซลิทอล ซอร์บิทอล หรือแอลฟาแลมแทนน้ำตาลซูโครส เพื่อลดพลังงานที่จะได้รับเหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานซึ่งสามารถรับประทานผลิตภัณฑ์นั้นๆ ได้ (สิวพร, 2535) Hayward *et al.* (1979) ใช้ marshmallow เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดแท่งแทนสารให้ความหวานชนิดอื่น เนื่องจาก marshmallow มีค่า a_w ต่ำกว่า 0.85 อาจเป็นการช่วยยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้ดียิ่งขึ้น

6. โปรตีน (protein) เพื่อเพิ่มโปรตีนให้กับผลิตภัณฑ์ ได้แก่การใช้โปรตีนจากถั่วเหลือง โปรตีนจากไข่ และกรดอะมิโน Morgan (1974) ได้ผลิต High protein food bar เป็นโปรตีนชนิดแท่งแบบแคลลอรี่ต่ำเสริมวิตามิน และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายของมนุษย์ อีกทั้งยังมีกลิ่น และรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งผลิตภัณฑ์ชนิดแท่งสามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิห้องสามารถรับประทานได้ทันที เหมาะกับช่วงเวลาเร่งรีบในตอนเช้า และสามารถรับประทานได้ทุกเพศทุกวัย Padmashree *et al.* (2012) ศึกษาการพัฒนาโภชนาการชนิดแท่งที่เติมโปรตีนสองชนิดลงในผลิตภัณฑ์ คือ soy protein concentration และ soy protein isolate เพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการ และกล่าวว่าโภชนาการชนิดแท่งในปัจจุบันเป็นที่นิยมรับประทานมาก เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งมีชื่อทางการค้าแตกต่างกันออกไปตามจุดประสงค์ของผู้ผลิต

สูตรเบื้องต้นและกรรมวิธีในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง

Gobble *et al.* (1979) ได้ศึกษาการทำผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปชนิดแท่งโดยมีสูตรเบื้องต้นสำหรับตัวอย่างในการสร้างสูตรพื้นฐาน เมื่อได้สูตรพื้นฐานแล้วจะนำมาผลิตโภชนาหารชนิดแท่งโดยใช้ส่วนผสม ที่มีลักษณะเป็นชิ้นหยาบๆ ผสมแบบไม่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้สารเชื่อมโดยมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักผสมให้เข้ากัน ใส่ลงในพิมพ์ อบ และทำให้เย็น จากนั้นนำไปใส่ภาชนะบรรจุ มีการตรวจสอบคุณภาพที่สำคัญคือ ความชื้น การทดสอบทางประสาทสัมผัส และการทดสอบทางจุลชีววิทยา

ตารางที่ 4 สูตรเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง

ส่วนผสม	ร้อยละ
ธัญพืช	20-65
- ข้าวโอ๊ต	
- ข้าวสาลี	
- ข้าวโพด	
- นัท สกิน (nut skins)	
ไขมันหรือน้ำมัน	9-14
- น้ำมันมะพร้าว	
- น้ำมันข้าวโพด	
- น้ำมันถั่วลิสง	
สารให้ความหวาน	12-20
- น้ำตาลทราย	
- น้ำผึ้ง	
- คอร์นไซรัป	
- น้ำตาลทรายแดง	
- โมลาส	
อื่นๆ (ผลิตภัณฑ์นม ผลไม้อบแห้ง และถั่วต่างๆ)	0-10

ที่มา: Gobble *et al.* (1979)

อายุการเก็บรักษาของอาหาร

อายุการเก็บรักษา (shelf life) คือ ช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยเริ่มตั้งแต่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการยอมรับของผู้บริโภค จนถึงสถานะที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับในผลิตภัณฑ์นั้นๆ ในลักษณะใดลักษณะหนึ่ง เช่น เนื้อสัมผัส (Loveday *et al.*, 2009) อายุการเก็บรักษามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อผู้ผลิต และผู้บริโภค โดยผู้ผลิตจะพยายามกำหนดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ยาวนานที่สุด ทั้งนี้ต้องสอดคล้องกับค่าใช้จ่ายในด้านต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น การระบุอายุการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับเกิดการร้องเรียนจากผู้บริโภค และส่งผลทางด้านการตลาดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ด้วยวิธีการพื้นฐานในการหาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ รุ่งนภา (2540) กล่าวว่าเราสามารถทำได้โดยศึกษาจากเอกสารที่มีการตีพิมพ์เผยแพร่หรือเอกสารข้อมูลจากบริษัทที่ทำการศึกษเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่คล้ายคลึงกัน หรือติดตามการขายจากการขายปลีกโดยดูจากช่วงเวลาเฉลี่ยที่ผลิตภัณฑ์อยู่บนชั้นขายปลีก ซึ่งจะทำให้สามารถประมาณอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้ แต่อย่างไรก็ตามค่าที่ได้จะไม่ใช่อายุการเก็บที่แท้จริงแต่เป็นอายุการเก็บที่กำหนดขึ้น โดยสมมุติว่าผลิตภัณฑ์ยังเป็นที่ยอมรับในช่วงเวลาหนึ่งหลังจากช่วงเวลาเฉลี่ยบนชั้นขายปลีก และศึกษาโดยการสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากร้านค้าปลีกแล้วนำมาทำการตรวจสอบคุณภาพในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะได้ข้อมูลที่สามารถประมาณอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสถานะแวดล้อมจริง นอกจากนี้ยังมีวิธีการทางวิทยาศาสตร์เฉพาะกับผลิตภัณฑ์นั้นๆ คือการศึกษาการเก็บรักษาในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเรียกว่า การทดสอบอายุการเก็บรักษาในสถานะเร่ง (accelerated shelf life testing) โดยการเร่งปัจจัยทางสถานะแวดล้อมหนึ่งที่ทราบค่า ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียด้วยอัตราที่เร็วกว่าปกติการเร่งสถานะการเก็บโดยการเพิ่มอุณหภูมิหรือความชื้นสัมพัทธ์เป็นวิธีการที่นิยม และพบว่าวิธีการเร่งการเก็บให้ผลใกล้เคียงกับอายุการเก็บจริง และยังให้ความสะดวกรวดเร็ว เสียค่าใช้จ่ายน้อย (มยุรี, 2526) อย่างไรก็ตามการเร่งสถานะดังกล่าวมีผลกระทบต่อปัจจัยอื่นๆ เช่น ค่าออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ในภาชนะปิด อาจส่งผลถึงไขมันในผลิตภัณฑ์ทำให้ปฏิกิริยาการเสื่อมเสียเกิดขึ้นมากกว่าสถานะที่เป็นจริงได้ แต่เนื่องจากวิธีการนี้เป็นวิธีที่ประหยัด และรวดเร็วจึงทำให้นิยมนำมาใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โดยใช้ค่า Q_{10} มาทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ค่า Q_{10} เป็นอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ ซึ่งคำนวณได้จากอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน 10 องศาเซลเซียส ดังสมการที่ (1) และสามารถนำค่าดังกล่าวมาใช้ในการคำนวณอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิอื่นๆ ได้โดยการคำนวณจากสมการที่ (2) (Labuza and Schmidl, 1985)

$$Q_{10} = \frac{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T1 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T1 + 10 องศาเซลเซียส}} \quad (1)$$

$$Q_{10}^{\Delta/10} = \frac{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T1 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T2 องศาเซลเซียส}} \quad (2)$$

$$\text{เมื่อ } \Delta = \text{ผลต่างของอุณหภูมิ T1 และอุณหภูมิ T2}$$

ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวนั้น การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหืน นอกจากนี้อาจทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ เช่น วิตามิน การเปลี่ยนแปลงของสี และการสลายตัวของโปรตีน เป็นต้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (Reilly and Man, 1994)

ธงชัย (2535) ตรวจสอบอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวรสเนยเคลือบคาราเมลจากแป้งถั่วลิสงไขมันต่ำ และแป้งมันสำปะหลังพรีเจล พบว่าผลิตภัณฑ์สามารถเก็บได้นาน 2 เดือน โดยปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี และค่าเพอออกไซด์มีค่าสูงขึ้นไปตามเวลาที่นานขึ้น และจากการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหืนมากขึ้นเมื่อเก็บเป็นเวลานานขึ้น และพบว่าตัวอย่างที่เก็บในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์มีคุณภาพดีกว่าตัวอย่างที่เก็บในถุงพลาสติกชนิดพอลิโพรพิลีน

อโนชา (2545) ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวกลิ่นรสบาร์บิควที่ประกอบด้วยโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองร้อยละ 10 และรำข้าวไขมันร้อยละ 7.5 โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิ ระยะเวลาในการเก็บรักษา และอิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยมีผลต่อปริมาณกรดไทโอบาร์บิทรिक ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บทุกสภาวะ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ปลาสาวย (*Pangasianodon hypophthalmus*) ขนาด 3-4 กิโลกรัมต่อตัว
- 1.2 Alc. 2.4 L เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท Novozyme
- 1.3 Fla. 500 MG เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัท Novozyme
- 1.4 Ethanol 95 % (food grade)
- 1.5 กล้วยไฟช เช่น อัลมอนด์ เมล็ดทานตะวัน งาขาว งาดำ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ และข้าวโอ๊ต
- 1.6 เนยชนิดจืด (Allowrie Butter)
- 1.7 น้ำตาลทรายแดง (วังขนาย)
- 1.8 เบะแซ (กลูโคสไซรัป) (ปลาแฟนชีคาร์ฟ)
- 1.9 น้ำผึ้ง (สวนจิตรลดา)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวย

- 2.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) (Brookfield, รุ่น TC 200)
- 2.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) (Methrom, รุ่น 744)
- 2.3 เครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Homogenizer) (IKA, รุ่น T10 Basic homogenizer workcenter)
- 2.4 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer) (Scavac, รุ่น Coolsafe)
- 2.5 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) (Universal 32R, รุ่น Hettich entrifugen)
- 2.6 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Balance) (Sartorius, รุ่น BP 3100 S)
- 2.7 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance) (AND, รุ่น GR-200)
- 2.8 เครื่องระเหยตัวทำละลาย (Rotary Evaporator) (Buchi Rotavapor, รุ่น R-124)
- 2.9 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส (Deep Freezer) (Sanyo, รุ่น EVERmed)
- 2.10 เครื่องหาความชื้นระบบอินฟราเรด (Infrared Moisture Analyzer) (Sartorius, รุ่น MA 40)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง

- 3.1 เครื่องครัว
- 3.2 ถาดสเตนเลส
- 3.3 เครื่องปิดผนึก แบบสูญญากาศ
- 3.4 ถังอะลูมิเนียมฟอยล์ขนาด 4x6 นิ้ว
- 3.5 บล็อกพิมพ์

4. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพ

- 4.1 ตู้อบความร้อนใช้หาปริมาณความชื้น (Hot air oven) (Memmert, รุ่น UNB 400)
- 4.2 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อยโปรตีน และเครื่องกลั่นโปรตีน (Kjeldahl Nitrogen Apparatus) (Buchi 323)
- 4.3 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Soxtec System) (Extraction Unit, รุ่น Ht 1043)
- 4.4 เครื่องวัด pH (pH meter) (Metrohm, รุ่น 744)
- 4.5 เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle Furnace) (Phoenix Furnaces, รุ่น Beta 5)
- 4.6 เครื่องวัดสี (Chroma meter) (MINOLTA Spectrophotometer, รุ่น CM-3500d)
- 4.7 เครื่องวัด a_w (Thermoconstanter) (Novasina รุ่น, 4H 200)
- 4.8 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) (Stable Micro System TA-HD)
- 4.9 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV-VIS Spectrophotometer) (Shimadzu, รุ่น UV-1700 Spectrophotometer)
- 4.10 เครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลาย (Brix Refractometer) (ATAGO, รุ่น Refractometer PEN-PRO)
- 4.11 อุปกรณ์สำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส

5. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์จุลชีววิทยา

- 5.1 เครื่องแก้ว
- 5.2 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (Memmert, รุ่น 600)
- 5.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อระบบความดัน (Autoclave) (Hirayama, รุ่น 240/300 MIV)

5.4 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture) (Vortex-genie 2, รุ่น G 560 E)

5.5 เครื่องตีผสมตัวอย่าง (Stomacher) (Seward, รุ่น BA 7021)

5.6 อาหารเลี้ยงเชื้อ

5.6.1 จุลินทรีย์ทั้งหมด คือ Plate count agar

5.6.2 ยีสต์และรา คือ Potato dextrose agar

วิธีการ

1. การศึกษาสภาวะในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย

1.1 ศึกษาความเข้มข้น และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยเนื้อปลาซวายด้วยเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน โดยนำปลาซวายมาแล่เอาแต่ส่วนเนื้อจากนั้นทำการสับหรือบดเพื่อลดขนาดของเนื้อปลาซวายเพื่อให้ง่ายต่อการทำงานของเอนไซม์ (Mohr, 1980) จากนั้นนำมากำจัดไขมันด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เทสารละลายออก และล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) นาน 30 นาที คัดแปลงมาจากวิธีของ Dong *et al.* (2007) และ Hoyle and Merritt (1994) จากนั้นนำเนื้อปลาซวายที่ผ่านการกำจัดไขมันแล้วมาผสมกับสารละลายซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.1 M Citric acid และ 0.2 M Sodium hydrogen phosphate heptahydrate) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 7 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ก่อนเติมเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาซวายที่ผ่านการกำจัดไขมัน (ภาคผนวก ก1) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 60, 120 และ 180 นาที ตามลำดับ หยุดปฏิกิริยาโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 7,500xg เป็นเวลา 15 นาที โดยคัดแปลงมาจาก Foh *et al.* (2010) จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

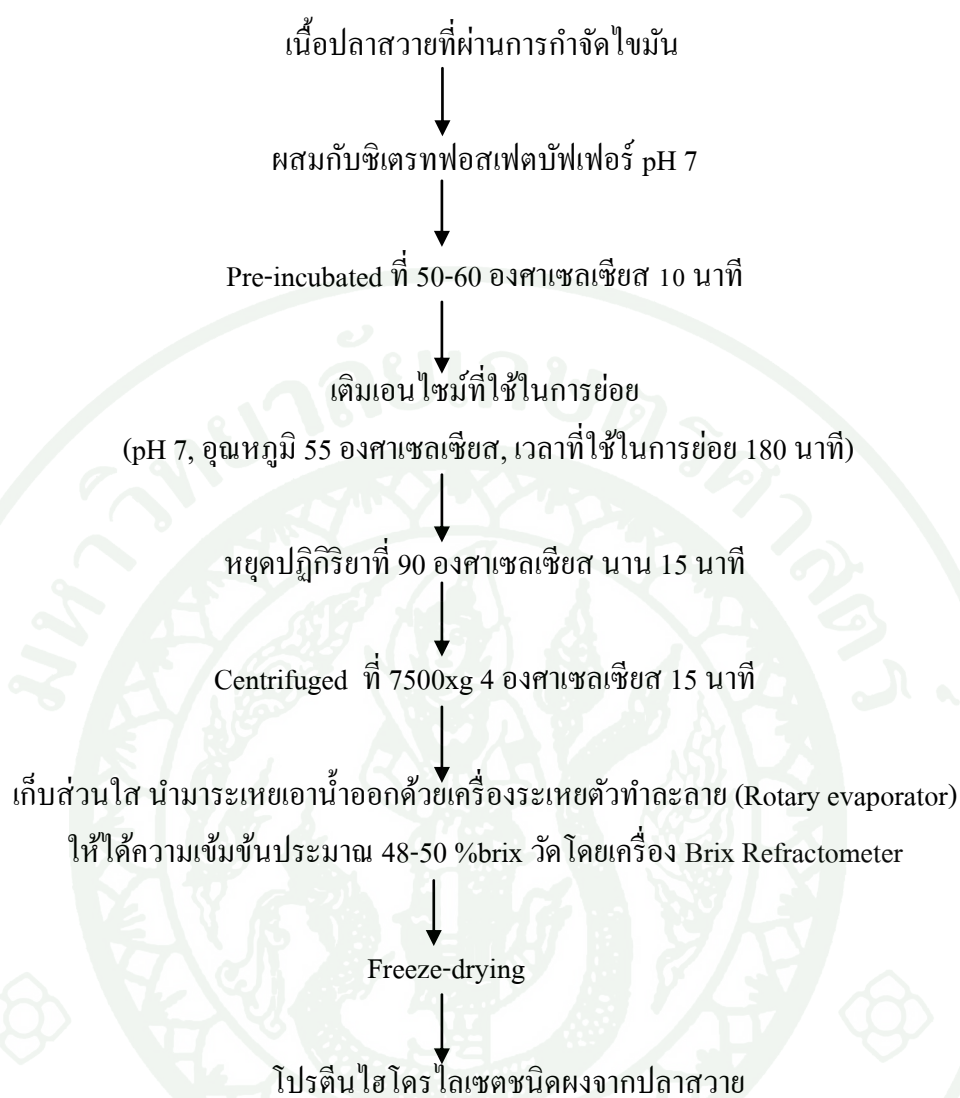
- ค่า DH ด้วยวิธี Hoyle and Merritt (1994) (ภาคผนวก ง3)

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการ

วิเคราะห์ โดยปัจจัยที่ทำการศึกษาคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ (0.5, 1.0, 2.0 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน) และระยะเวลาในการย่อยสลาย (60, 120, 180 นาที) เนื้อปลาสดซึ่งใช้เอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกันที่มีผลต่อค่า DH

1.2 ตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีวิเคราะห์แบบพรรณนาเชิงปริมาณ

Quantitative descriptive analysis (QDA) (ภาคผนวก ข1) หลังจากเลือก ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยสลายของเอนไซม์แต่ละชนิดที่มีค่า DH สูงที่สุดมาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 โดยคะแนน 5 หมายถึงมีค่ามากที่สุด และคะแนน 1 หมายถึงมีค่าน้อยที่สุด ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ทดสอบรสชม รสอร่อย กลิ่นไข่ และกลิ่นคาวปลา (ภาคผนวก ข2) โดยวางแผนการทดลอง randomized complete block design (RCBD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์ จากนั้นเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติโดยรวมทางประสาทสัมผัสดีที่สุดจากการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งสามชนิด มาใช้ในการผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงโดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-drying) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แผนผังแสดงการผลิต โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซว้ย

ที่มา: ดัดแปลงมาจากวิธี Foh *et al.* (2010)

2. การตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซว้ย

ศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซว้ย โดยการนำไปตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

2.1 ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า (ภาคผนวก ง2, ง5, ง1, ง4) (A.O.A.C., 2006)

2.2 ปริมาณผลผลิตที่ได้ (yield) โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{ปริมาณผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตผง} \times 100}{\text{น้ำหนักเนื้อปลาสด}}$$

2.3 ค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี MINOLTA Spectrophotometer CM-3500d แสดงค่าเป็น L^* , a^* และ b^* (ภาคผนวก ค1) โดยที่

L^* คือ ค่าที่บอกความสว่าง (สีดำ=0 และ สีขาว=100)

a^* คือ ค่าที่บอกความเป็นสีแดงและเขียว (ค่า a^+ คือ สีแดง และ ค่า a^- คือ สีเขียว)

b^* คือ ค่าที่บอกความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (ค่า b^+ คือ สีเหลือง และค่า b^- คือ สีน้ำเงิน)

2.4 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity, a_w) โดยใช้เครื่อง Thermoconstanter

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซตผงจากปลาซวาย โดยส่งตรวจวิเคราะห์กับบริษัท ทีซี. ยูเนียน โกลบอล มหาชน ซึ่งใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1200 LC Column; Prevail 18 Su length 250 mm, ID.4.6 mm เครื่องตรวจวัดชนิด Evaporative Light Scattering Detector (ELSD) ยี่ห้อ Alltech รุ่น 3300 มีวิธีในการเตรียมตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC คือเตรียมตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายจำนวน 50 มิลลิกรัมมาชั่งด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 6 N จำนวน 20 มิลลิตร ชั่งยที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นทำการกรองเพื่อแยกเอาตัวอย่างออกจากสารละลาย เมื่อได้ตัวอย่างนำมาเติมน้ำกลั่น และกรองผ่าน syringe filter ขนาดรูพรุน 45 ไมโครเมตรก่อนนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC (Yan *et al.*, 2007)

2.6 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

2.6.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย ด้วยวิธี DPPH radical-scavenging activity และนำมาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับ BHA และ α -tocopherol (Klompong *et al.*, 2007) (ภาคผนวก ค3)

2.6.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารจับโลหะของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย ด้วยวิธี metal-chelating activity และนำมาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับ EDTA (Klompong *et al.*, 2007) (ภาคผนวก ก4)

3. การหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง

เมื่อได้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายแล้ว นำมาเติมลงในผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งเพื่อเสริมโปรตีนลงในผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง โดยมีสูตรส่วนผสมทั้งหมด 4 สูตร ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สูตรส่วนผสมของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง

ส่วนผสม	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
	ร้อยละ (โดยน้ำหนัก)			
โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง	4.76	4.76	9.10	9.10
น้ำตาลทรายแดง	9.52	9.52	9.10	9.10
น้ำผึ้ง	9.52	9.52	9.10	9.10
เนยจืด	4.76	-	4.55	-
น้ำ	4.76	-	4.55	-
น้ำกะทิ	-	9.52	-	9.10
เบะแซ	9.52	9.52	9.10	9.10
ธัญพืช*	57.14	57.14	54.55	54.55

หมายเหตุ * ธัญพืช: (อัลมอนต์ เมล็ดทานตะวัน งาขาว งาคำ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ และข้าวโอ๊ต)

ที่มา: คัดแปลงจากสูตรของ Gobble *et al.* (1979); Loveday *et al.* (2009) และ Sun-waterhouse *et al.* (2010)

ผสมส่วนที่เป็นน้ำ และน้ำตาลโดยให้ความร้อนใช้อุณหภูมิประมาณ 150-160 องศาเซลเซียส จนเหนียวคือมีความเข้มข้นประมาณ 75-80 °brix จากนั้นผสมกับธัญพืชที่ผ่านการทำให้สุก และเติม

โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน และลดอุณหภูมิลง นำส่วนผสมทั้งหมดมาอัดใส่บล็อกพิมพ์ ตัดเป็นชิ้นขนาด $1.5 \times 3 \times 5$ เซนติเมตร น้ำหนัก 30 กรัม อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วนำไปตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยวิธี Hedonic scale (ภาคผนวก ข3) คะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากเป็นพิเศษ และคะแนน 9 หมายถึง ชอบมากเป็นพิเศษ ใช้ผู้ทดสอบเป็นตัวแทนของผู้บริโภค ซึ่งเป็นนิสิตภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง จำนวน 30 คน เพื่อเลือกสูตรที่เหมาะสมในการผลิต โภชนาหารชนิดแท่ง จากนั้นนำโภชนาหารชนิดแท่งที่ได้รับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด มาวิเคราะห์ ปริมาณโปรตีน เถ้า ความชื้น และไขมัน โดยเปรียบเทียบกับโภชนาหารชนิดแท่งที่ไม่ได้ใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด วิเคราะห์ความแตกต่าง โดยวิธี Independent Samples T-test โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ

4. การศึกษาอายุการเก็บในสภาวะเร่งของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

ผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจากสูตรที่มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุดมาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ปิดผนึกแบบสุญญากาศ มาศึกษาอายุการเก็บโดยศึกษาในสภาวะเร่ง คือ ที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้ตู้อบ (incubator) ตรวจวัดคุณภาพที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35 วัน จากนั้นนำมาทดสอบดังต่อไปนี้

4.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

4.1.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัสความแตกต่างด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความแตกต่างโดยรวม โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ โภชนาหารชนิดแท่งที่ผลิตขึ้นพร้อมกันแต่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยก่อนการทดสอบจะนำมาอบที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ใช้ผู้ทดสอบที่จำนวน 30 คน ใช้ระดับคะแนน 1-5 (ภาคผนวก ข4) แสดงผลความแตกต่าง โดยทดสอบความแตกต่าง คะแนน 1 หมายถึง ไม่แตกต่างและ 5 หมายถึง แตกต่างมากเป็นพิเศษ วิเคราะห์ผลโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Dunnett's multiple comparison (ปราชญ์, 2551) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์

4.1.2 ประเมินการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์ในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม (ภาคผนวก ข3) โดยให้คะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และคะแนน 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน โดยจะยุติการทดสอบเมื่อคะแนนการ

ยอมรับเฉลี่ยของผู้บริโภคไม่ยอมรับในลักษณะใดลักษณะหนึ่งของผลิตภัณฑ์มีระดับคะแนนการยอมรับต่ำกว่า 5 คะแนน ตัดสินจากนิยามอายุการเก็บรักษา หมายถึงช่วงเวลาหนึ่งหลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ จะมีลักษณะใดลักษณะหนึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Loveday *et al.*, 2009) โดยจะยุติการเก็บรักษา และการตรวจสอบคุณภาพ (ในข้อ 4.2-4.6) วิเคราะห์ผลโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่าง ค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์

4.2 ตรวจวัดเนื้อสัมผัสโดยวัดค่าแรงกดสูงสุด (hardness) ด้วยเครื่อง texture analyzer ใช้โปรแกรม Texture expert English (Te_UK) version 1.22 ของบริษัท Texture expert stable micro system Ltd. จากนั้นทำการเลือกหมวดที่ทำการวัด คือ user selection_bar (ภาคผนวก ค2)

4.3 ค่า water activity (a_w) โดยใช้เครื่อง Thermoconstanter

4.4 ค่าสีโดยใช้เครื่อง MINOLTA Spectrophotometer CM-3500d แสดงค่าเป็น L^* , a^* , b^*

4.5 ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA value) ด้วยวิธี Yu and Sinnhuber (1967) (ภาคผนวก ค5)

4.6 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (ภาคผนวก จ1) ยีสต์และรา (ภาคผนวก จ2)

5. ทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ตามวิธีของ (Labuza and Schmidl, 1985)

$$Q_{10} = \frac{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T1 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T1+10 องศาเซลเซียส}} \quad (1)$$

$$Q_{10}^{\Delta/10} = \frac{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T1 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ T2 องศาเซลเซียส}} \quad (2)$$

$$\text{เมื่อ } \Delta = \text{ผลต่างของอุณหภูมิ T1 และอุณหภูมิ T2}$$

6. ต้นทุนการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งเมื่อเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย

คำนวณต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง และ โภชนาหารชนิดแท่งที่ผ่านการเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย ขนาดในการผลิตอย่างละ 1 กิโลกรัม



ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาสภาวะในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย

1.1 ศึกษาความเข้มข้น และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยเนื้อปลาซวายด้วยเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาซวายที่ผ่านการกำจัดไขมัน โดยใช้เวลาในการย่อยสลาย 60, 120 และ 180 นาที หุคปฏิบัติกรโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 7,500xg เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ค่า DH ดังแสดงในตารางที่ 6, 7, 8 และภาพที่ 3, 4 และ 5

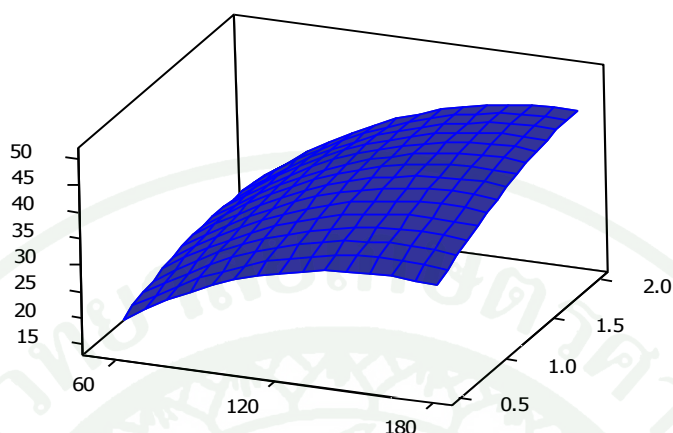
ตารางที่ 6 ค่า DH หลังจากการทำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla.

ชนิดของเอนไซม์	ความเข้มข้น* (ร้อยละ)	ค่า DH ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			ค่าเฉลี่ย
		เวลา (นาที)			
		60	120	180	
Fla.	0.5	19.35±0.96	22.71±6.62	23.59±5.76	21.88±2.23 ^C
Fla.	1.0	32.32±1.02	35.85±4.00	39.97±3.03	36.04±3.82 ^B
Fla.	2.0	33.29±0.69	39.97±0.95	43.82±0.62	39.02±5.32 ^A
ค่าเฉลี่ย		28.32±7.78 ^c	32.84±9.01 ^b	35.79±10.74 ^a	

หมายเหตุ * ความเข้มข้น มีหน่วยเป็นโดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาซวายที่ผ่านการกำจัดไขมัน

^{abc} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{ABC} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และความเข้มข้นที่ระดับต่างๆของเอนไซม์ Fla. โดยมีผลต่อค่า DH

หมายเหตุ * ความเข้มข้น มีหน่วยเป็นโดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสด ที่ผ่านการกำจัดไขมัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 6 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ($p>0.05$) ต่อค่า DH จึงสรุปแยกตามปัจจัยหลักได้ว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้น (p<0.05) และระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้น (p<0.05) โดยที่ระดับความเข้มข้นที่ระดับ 0.5 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมันมีค่า DH ต่ำที่สุดแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายก็ตามทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์มีปริมาณความเข้มข้นไม่เหมาะสมในการย่อยเนื้อปลาสดจึงทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p>0.05$) และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมันมีค่า DH สูง โดยที่ความเข้มข้น ร้อยละ 2 มีค่า DH สูงที่สุด และเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยมากขึ้นก็ส่งผลให้ค่า DH เพิ่มขึ้นสูงขึ้นด้วย (p<0.05) ซึ่งในช่วง 60 นาทีแรกจะมีค่า DH เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงเวลาที่ 180 นาทีพบว่าค่า DH มีแนวโน้มลดลงดังภาพที่ 3

ทั้งนี้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตขึ้นอยู่กับค่า DH และการตัดสินใจของผู้ผลิตให้เป็นไปตามจุดประสงค์ที่ต้องการที่จะนำมาใช้ประโยชน์ แต่อย่างไรก็ตามในการเลือกระยะเวลา และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจะพิจารณาจากค่า DH เป็นสำคัญ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Bhaskar *et al.* (2008) ที่ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ Alc. ในการย่อยสลายเครื่องในของ Catla (*Catla catla*) โดยใช้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักของโปรตีนในตัวอย่าง ใช้เวลาในการย่อย 45, 105, 145 นาที พบว่าระยะเวลา และความเข้มข้นไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า DH จึงรายงานว่าเมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น มีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้น จากนั้นใช้กราฟพื้นผิวเพื่ออธิบายว่า ค่าความเข้มข้นที่มีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้นคือ ระดับความเข้มข้นที่มากกว่าร้อยละ 1.0 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักของโปรตีนในตัวอย่าง และระยะเวลาในการย่อยที่มีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้นคือ 135 นาที ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.5 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต เช่นเดียวกับ Nilsang *et al.* (2005) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ Fla. และ Kojizyme ในการย่อยโปรตีนปลาแช่แข็ง (fish soluble) ใช้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยน้ำหนัก ใช้ระยะเวลาในการย่อย 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ Fla. มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า DH และพบว่าความเข้มข้น และระยะเวลาของเอนไซม์ Kojizyme ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า DH ซึ่งได้รายงานว่าในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตพิจารณาจากค่า DH เป็นสำคัญ โดยเลือกสภาวะในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีค่า DH สูงที่สุดโดยใช้เอนไซม์ Fla. ในการย่อย คือที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง ได้ค่า DH ร้อยละ 62 และเอนไซม์ Kojizyme คือ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง ได้ค่า DH ร้อยละ 68

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยสลายไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า DH ดังนั้นในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. จึงเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือใช้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน และใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที เนื่องจากมีค่า DH สูงที่สุดมาทดลองในขั้นตอนต่อไป

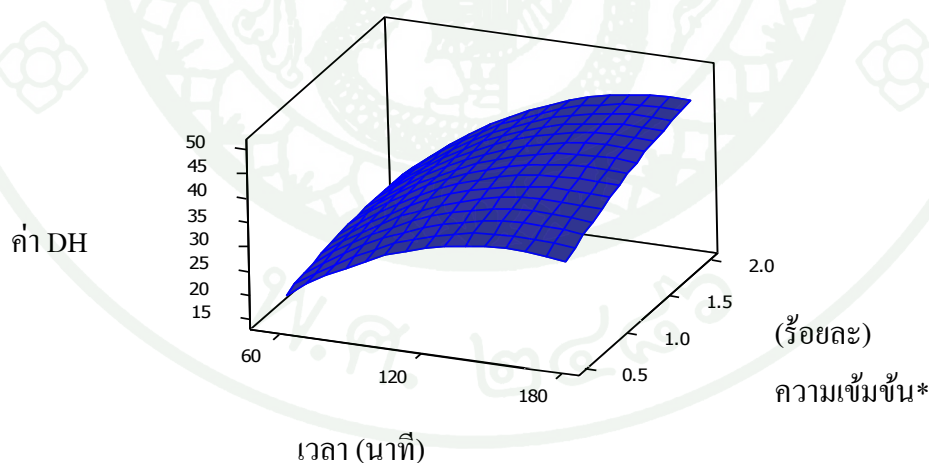
ตารางที่ 7 ค่า DH หลังจากการทำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc.

ชนิดของเอนไซม์	ความเข้มข้น* (ร้อยละ)	ค่า DH ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		เวลา (นาที)		
		60	120	180
Alc.	0.5	19.58 $\pm$ 0.90 ^{cB}	21.37 $\pm$ 0.36 ^{bC}	23.87 $\pm$ 0.55 ^{aC}
Alc.	1.0	33.63 $\pm$ 0.27 ^{bA}	37.84 $\pm$ 0.63 ^{abB}	38.82 $\pm$ 3.90 ^{aB}
Alc.	2.0	34.22 $\pm$ 0.17 ^{cA}	39.10 $\pm$ 0.35 ^{bA}	45.69 $\pm$ 0.69 ^{aA}

หมายเหตุ * ความเข้มข้น มีหน่วยเป็น โดยน้ำหนักของ โปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสด
ที่ผ่านการกำจัดไขมัน

^{abc} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{ABC} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และความเข้มข้นที่ระดับต่างๆของเอนไซม์ Alc. โดยมีผลต่อค่า DH

หมายเหตุ * ความเข้มข้น มีหน่วยเป็น โดยน้ำหนักของ โปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสด
ที่ผ่านการกำจัดไขมัน

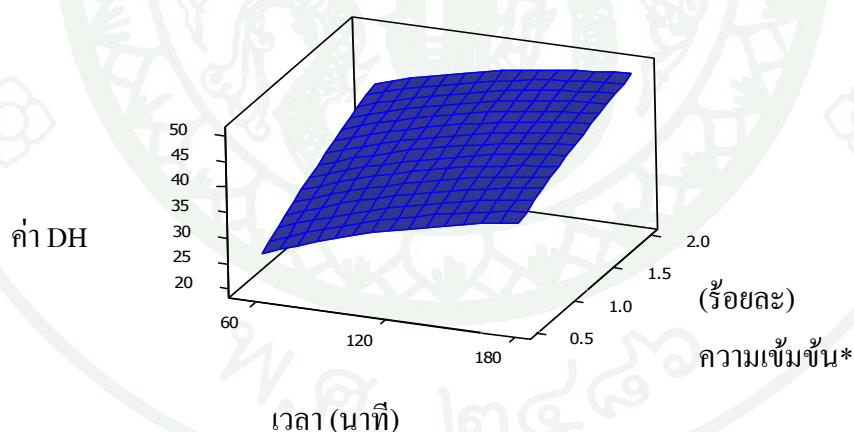
ตารางที่ 8 ค่า DH หลังจากการทำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน

ชนิดของเอนไซม์	ความเข้มข้น* (ร้อยละ)	ค่า DH ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		เวลา (นาที)		
		60	120	180
Alc.+ Fla. (1:1)	0.5	26.70 $\pm$ 0.09 ^{cC}	30.76 $\pm$ 0.27 ^{bC}	41.22 $\pm$ 0.49 ^{aC}
Alc.+ Fla. (1:1)	1.0	34.22 $\pm$ 0.08 ^{cB}	40.91 $\pm$ 0.38 ^{bB}	45.14 $\pm$ 0.70 ^{aB}
Alc.+ Fla. (1:1)	2.0	39.41 $\pm$ 0.14 ^{cA}	42.75 $\pm$ 0.92 ^{bA}	49.97 $\pm$ 0.86 ^{aA}

หมายเหตุ * ความเข้มข้น มีหน่วยเป็นโดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสด
ที่ผ่านการกำจัดไขมัน

^{abc} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{ABC} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และความเข้มข้นที่ระดับต่างๆของเอนไซม์ สองชนิดผสมกัน
โดยมีผลต่อค่า DH

หมายเหตุ * ความเข้มข้น มีหน่วยเป็นโดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสด
ที่ผ่านการกำจัดไขมัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 7 และ 8 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกันความเข้มข้น และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายมีอิทธิพลร่วมกัน โดยมีผลต่อค่า DH คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจากร้อยละ 0.5 เป็น 1 และ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน ใช้ระยะเวลาในการย่อยที่เท่ากัน (60, 120 และ 180 นาที) ความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมันมีค่า DH ต่ำที่สุด และที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมันจะมีค่า DH สูงที่สุด และพบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นเท่ากัน (0.5, 1.0 และ 2.0 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน) แต่ระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 60 เป็น 120 และ 180 นาที เวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่า DH สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยที่เวลา 60 นาที มีค่า DH ต่ำที่สุด และที่เวลา 180 นาที มีค่า DH สูงที่สุด ดังภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าในช่วงเวลา 60 นาที ค่า DH จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และหลังจากเวลา 180 นาทีค่า DH จะค่อยลดลง และจากภาพที่ 5 แสดงให้เห็นว่าในช่วงเวลา 60 นาที ค่า DH จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และหลังจากเวลาผ่านไป 180 นาที ค่า DH ยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่มาก

จากการทดลองการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาสด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) กล่าวว่าในเวลาเดียวกันเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ จะมีผลทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้น กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น ยิ่งทำให้การแตกตัวของพันธะเปปไทด์มากยิ่งขึ้น (Benjakul and Morrissey, 1997; Kristinsson and Rasco, 2000b) และเมื่อพิจารณาจากค่า DH ที่สูงที่สุดของเอนไซม์แต่ละชนิด พบว่าเอนไซม์สองชนิดผสมกันมีค่า DH สูงกว่าเอนไซม์ Fla. และ Alc. เพียงชนิดเดียวในทุกช่วงเวลา และทุกระดับความเข้มข้น

Vioque *et al.* (1999) กล่าวว่าการผสมกันของเอนไซม์ Alc. และ Fla. ทำให้มีค่า DH สูงกว่าการใช้เอนไซม์ Alc. หรือ Fla. เพียงชนิดเดียว โดยที่ระยะเวลาในการย่อยสลายช่วงแรก ค่า DH มีค่าสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อโปรตีนถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จะทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้น เกิดการแข่งขันกันระหว่างโปรตีนที่เป็นสารตั้งต้น และเปปไทด์ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ในการเข้าจับกับเอนไซม์ ต่อมาค่า DH จะลดลงหรือคงที่เนื่องจากปฏิกิริยาเข้าสู่ภาวะสมดุล

Nchienzia *et al.* (2010) กล่าวว่าการผสมกันของเอนไซม์ Alc. ผสมกับ Fla. จะมีค่า DH สูงกว่า Alc. หรือ Fla. เพียงชนิดเดียว เนื่องจากเอนไซม์ Alc. เป็นเอนไซม์ประเภท endo-peptidase เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสาย ส่วน Fla. เป็นเอนไซม์ประเภท endo-exo-

peptidase โดย exo-peptidase เป็น โปรติเอสที่ย่อยสลายเปปไทด์จากปลายสายของโปรตีน ดังนั้นการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดจึงครอบคลุมการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตมากกว่าการใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียว

Dong *et al.* (2007) พบว่าในช่วงเวลาเริ่มต้นการย่อยสลาย จะมีค่า DH สูง ต่อมาจะเริ่มลดลงหรือคงที่ แสดงให้เห็นว่าอัตราการแตกตัวของเปปไทด์จะแตกตัวเร็วในช่วงเวลาเริ่มต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีน (substrate) และปริมาณของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังได้เสนอว่า เอนไซม์ Alc. ซึ่งเป็น alkaline proteases จะแสดงประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดีกว่า acid หรือ neutral protease เช่น เอนไซม์ Fla.

ดังนั้นจากการทดลองจึงเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน คือใช้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน และใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที เนื่องจากมีค่า DH สูงที่สุด จากผลการทดลองในตารางที่ 6, 7 และ 8 พบว่าสภาวะที่มีค่า DH สูงที่สุดคือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที โดยใช้เอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกันในการย่อย คือมีค่า DH ร้อยละ 43.82, 45.69 และ 49.97 ตามลำดับ จากนั้นนำตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีค่า DH สูงที่สุดของเอนไซม์แต่ละชนิดมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาเพื่อลดข้อจำกัดในเรื่องความขม และกลิ่นคาวปลาในโปรตีนไฮโดรไลเซตซึ่งมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยทำการคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติโดยรวมทางประสาทสัมผัสดีที่สุดที่สุดมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงก่อนนำมาใช้ในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งต่อไป

1.2 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีวิเคราะห์แบบพรรณนาเชิงปริมาณ

Quantitative descriptive analysis (QDA) โดยเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน ใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ซึ่งมีค่า DH สูงที่สุดมาใช้ทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ค่าทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการย่อย 180 นาที ซึ่งมีค่า DH สูงที่สุด

ชนิดของเอนไซม์	คะแนนรสและกลิ่นรส			
	รสขม	รสอโรย	กลิ่นคาวปลา	กลิ่นไข่
Fla.	2.45 ^b	3.33 ^a	1.22 ^a	4.30 ^{ab}
Alc.	3.47 ^a	2.41 ^b	1.03 ^b	4.70 ^a
Alc.+Fla.(1:1)	2.96 ^{ab}	3.15 ^a	1.00 ^b	4.10 ^b

หมายเหตุ ^{abc}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

รสขม พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. มีรสขมกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. และพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกันมีคะแนนความขมไม่แตกต่างกับโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ($p > 0.05$) รสขมของโปรตีนไฮโดรไลเซตมักเกิดจากกลุ่มที่มีเพปไทด์สายสั้น และกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, tyrosine และ tryptophan กรดอะมิโนเหล่านี้จะเกิดขึ้นในระหว่างการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต (Pedersen, 1994) Hall and Ahmad (1992) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากปลาหมึกประกอบของกรดอะมิโนซึ่งมีบทบาทในการให้กลิ่นรสและคุณค่าทางโภชนาการ โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตมีเพปไทด์ขนาดเล็ก ซึ่งมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acid) อยู่บริเวณปลายสายซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดรสขม โดยรสขมที่ได้จะแตกต่างกันตามแหล่งของโปรตีน และชนิดของเอนไซม์ และยังพบว่ากรดอะมิโนเมื่ออยู่รวมกันเป็นเพปไทด์จะให้รสขมมากกว่าเมื่อกรดอะมิโนอยู่ในรูปอิสระ Raksakulthai and Haard (2003) กล่าวว่าเอนไซม์ประเภท exo-protease สามารถช่วยลดความขม และนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากประกอบไปด้วย carboxypeptidase ปราณี (2543) พบว่าเอนไซม์ประเภท exo-peptidase สามารถช่วยลดความขมของโปรตีนไฮโดรไลเซตได้โดยเฉพาะเอนไซม์ Fla. มีคุณสมบัติเป็นทั้งแบบ endo-exo-peptidases จึงทำให้เกิดรสขมได้น้อยลง

รสอโรยพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน มีรสอโรยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. ($p < 0.05$) ซึ่งรสอโรยอาจเกิดจากกรดอะมิโนที่ละลายอยู่ในน้ำ เช่น glutamic acid และ aspartic acid ซึ่งเป็นสาร

ประเภทที่ให้กลิ่นรสคล้ายผงชูรส (monosodium glutamate-like, MSG like) (Mau *et al.*, 2001) แต่อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาจากปริมาณกรดอะมิโนที่พบในตัวอย่างประกอบกัน

กลิ่นคาวปลาพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีกลิ่นคาวปลามากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ($p < 0.05$) Sikorski and Naczki (1981) รายงานว่ากลิ่นคาวปลาในผลิตภัณฑ์มีผลมาจากปริมาณไขมันในตัวอย่าง ซึ่งเมื่อปริมาณไขมันน้อยก็จะสามารถช่วยลดกลิ่นคาวในผลิตภัณฑ์ได้ และ Hoyle and Merritt (1994) พบว่า กลิ่นคาวปลาในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง มีกลิ่นคาวน้อย เนื่องจากสารละลายเอทานอลซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการกำจัดไขมัน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับไขมันที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์

กลิ่นไขพบว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีกลิ่นไขมากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ($p < 0.05$) ซึ่งอาจเกิดจากกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น methionine รวมทั้ง cysteine ซึ่งมีบทบาทในการเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดกลิ่นรส เช่น รสเนื้อ โดยเกิดปฏิกิริยามอลดาร์ระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซ์ หรือสารประกอบคาร์บอนิลที่มีอยู่ในโปรตีนไฮโดรไลเซต อย่างไรก็ตาม กลิ่นรสนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะการผลิต ชนิดของเอนไซม์ และระดับของสารตั้งต้นในการเกิดกลิ่นรสแต่ละชนิด ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซต จึงเป็นส่วนผสมที่สำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรส โดยเฉพาะการผลิตสารให้กลิ่นรส (ณัฐฐา, 2554)

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสนี้จึงเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ซึ่งเป็น endo-exo-peptidase มาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงต่อไปเนื่องจาก โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีรสขมน้อยที่สุด จึงไม่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคทางด้านความขมของโปรตีนไฮโดรไลเซต นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ยังมีรสอร่อยมากที่สุด ถึงแม้จะมีกลิ่นคาวมากที่สุด แต่คะแนนของกลิ่นคาวที่ได้มีค่าเฉลี่ยคือ 1.22 คะแนน ซึ่งยังอยู่ในช่วงที่มีกลิ่นคาวน้อย ซึ่งผู้ทดสอบยังยอมรับได้ จึงเหมาะสมที่จะเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง โดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เพื่อนำไปเติมในผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแห้งต่อไป

2. การตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเซตผงจากปลาซวาย

ศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซวายหลังจากการทำแห้ง โดยการนำไปตรวจคุณสมบัติต่างๆดังนี้

2.1 ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่าปลาซวายสดก่อนนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 20.37 ซึ่งมีค่าโปรตีนค่อนข้างสูงจึงเหมาะแก่การนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง และปลาซวายเป็นปลาที่มีไขมันค่อนข้างสูง คือร้อยละ 10.53 จึงต้องกำจัดไขมันก่อนนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงที่มีคุณภาพดี รวมถึงมีความชื้นร้อยละ 67.70 และเถ้าร้อยละ 1.43 และเมื่อผ่านการกำจัดไขมันด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 19.69 ไขมันร้อยละ 4.81 ความชื้นร้อยละ 60.70 และเถ้าร้อยละ 5.67 และเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 180 นาที ส่วนของเหลวที่ได้เมื่อนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7500xg เป็นเวลา 15 นาที นำไปทำให้เข้มข้นประมาณ 45-48° brix ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายก่อนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งพบว่า ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซวายมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 71.95 ไขมันร้อยละ 0.91 ความชื้นร้อยละ 2.06 และปริมาณเถ้าร้อยละ 25.08 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shahidi *et al.* (1995), Benjakul and Morrissey (1997), Liceaga-Gesualdo and Li-Chan, (1999), Kristinsson and Rasco (2000a) และหลายงานวิจัยรายงานว่าปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซตควรจะมีโปรตีนร้อยละ 62-90 ปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 5 เพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 และจะมีเถ้า ร้อยละ 24-27

ตารางที่ 10 ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้าของปลาสด ก่อน และหลังจากการกำจัดไขมัน และผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง

องค์ประกอบทางเคมี	ปลาสด (ร้อยละ)	ปลาสดหลังจากกำจัดไขมัน (ร้อยละ)	โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง (ร้อยละ)
โปรตีน	20.37±0.44	19.69±0.91	71.95±0.37
ไขมัน	10.53±0.95	4.81±0.95	0.91±0.84
ความชื้น	67.70±0.88	60.70±0.88	2.06±0.11
เถ้า	1.43±1.03	5.67±1.98	25.08±0.98

2.2 ปริมาณผลผลิตที่ได้ (yield) ของปลาสด และ โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง

ผลการคำนวณปริมาณผลผลิตที่ได้ของปลาสด และ โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผง แสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ปริมาณผลผลิตที่ได้ (yield) ของปลาสด และ โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง

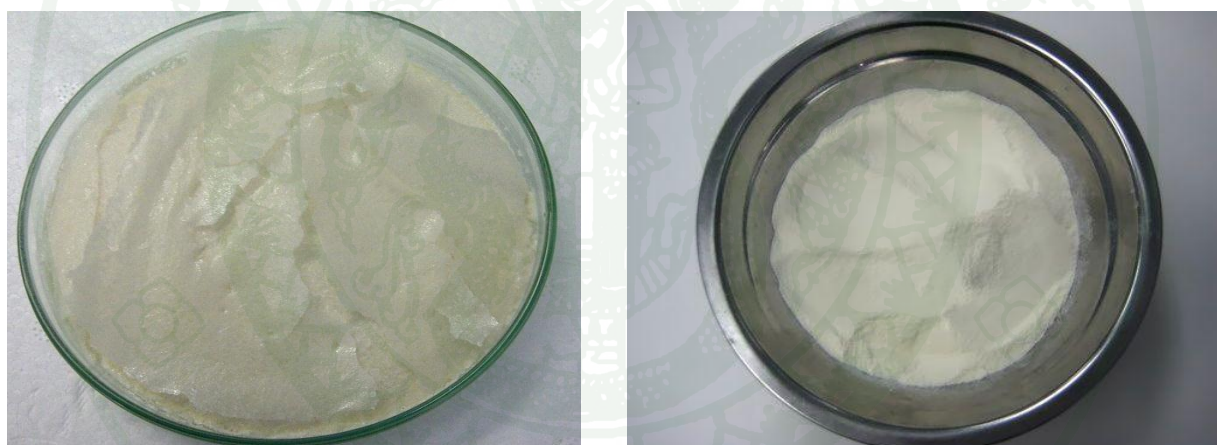
ชนิด	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (ร้อยละ)
ปลาสดทั้งตัว	100.00
เนื้อปลาที่ผ่านการแล่	47.50
เนื้อปลาสดหลังกำจัดไขมัน	28.75
ผงโปรตีนไฮโดรไลเซต	8.10

จากตารางที่ 11 พบว่าจากปลาสดทั้งตัวเมื่อผ่านกระบวนการแล่จนเหลือแต่เนื้อจะได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 47.50 เมื่อผ่านการกำจัดไขมันด้วยสารละลายเอทานอล ร้อยละ 95 เหลือผลผลิตร้อยละ 28.75 และเมื่อผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเหลือปริมาณผลผลิตร้อยละ 8.10 ซึ่งปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต โดย Hoyle and Merritt (1994) ได้ทำการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจากเนื้อปลาแฮร์ริง พบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่สกัดไขมันก่อนการทำแห้งมีปริมาณผลผลิตต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการสกัดไขมัน และ Tanuja *et al.* (2012) ได้ทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อปลาสด โดยใช้เอนไซม์ Papain และ Bromelain ในการย่อย พบว่าได้ปริมาณผลผลิต

ประมาณร้อยละ 6 ของเอนไซม์ทั้งสองชนิด ($p>0.05$) และรายงานว่ามีปริมาณผลผลิตที่ได้มีความสัมพันธ์กับค่า DH และการเลือกใช้เอนไซม์แต่ละชนิด โดยทั่วไปแล้วมีการรายงานว่ามีปริมาณผลผลิตที่ได้ของโปรตีนไฮโดรไลเซตอยู่ในช่วงร้อยละ 10-15 ซึ่งขึ้นอยู่กับความสดของตัวอย่างปลาที่ใช้ในการทดลอง (Quaglia and Urban 1990)

2.3 ค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย แสดงผลเป็นค่า L^* , a^* , b^*

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายมีค่าความสว่าง (L^*) คือ 93.63 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) คือ 1.34 และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) คือ 9.76 เนื่องจากเนื้อปลาซวายเป็นปลาที่มีเนื้อขาวออกเหลืองเล็กน้อยจึงทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ออกมามีสีขาวมาก ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายที่ผลิตโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ตารางที่ 12 ค่าสี และค่าวอเตอร์แอคติวิตีของตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง

ตัวอย่าง	L^*	a^*	b^*	a_w
ผงโปรตีนไฮโดรไลเซต	93.63±0.81	1.34±0.18	9.76±0.93	0.24

ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hoyle and Merritt (1994) ซึ่งทำการเปรียบเทียบค่าสีของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาฮอร์ริงที่ไม่ได้สกัดไขมันก่อนการทำแห้ง และโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตชนิดผงที่สกัดไขมันด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 90 ก่อนการทำ

แห้ง พบว่าค่าความสว่าง (L^*) ของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตผงที่สกัดไขมันก่อนการทำแห้งนั้นมีค่าสูงกว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ไม่ได้สกัดไขมัน

Surowka and Fik (1992) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายหัวไก่ด้วยเอนไซม์นิวเทรสและผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะมีสีขาวครีม ในขณะที่การทำแห้งแบบสุญญากาศทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีสีน้ำตาล ทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารบางประเภท แต่อย่างไรก็ตามสีของโปรตีนไฮโดรไลเซต จะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของตัวอย่าง และสภาพที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต (Thiansilakul *et al.*, 2007)

2.4 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity, a_w)

จากผลการทดลองตารางที่ 12 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง มีค่า a_w ที่ค่อนข้างต่ำคือ 0.24 Fennema (1996) กล่าวว่าค่า a_w มีผลต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ทุกชนิดจะหยุดการเจริญเมื่ออาหารมีค่า a_w เท่ากับ 0.6 หรือต่ำกว่า ส่วนจุลินทรีย์ประเภทราจะหยุดการเจริญเมื่อ a_w มีค่าเท่า 0.7 หรือต่ำกว่า และยีสต์จะเริ่มเจริญได้เมื่ออาหารมี a_w อยู่ในช่วง 0.7-0.8 ส่วนแบคทีเรียจะเริ่มเจริญเมื่อ a_w มีค่ามากกว่า 0.8 Deman (1990) พบว่าปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีน้ำตาลในนมผงจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อค่า a_w สูงขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอิสระที่อยู่ในไขมันหรืออาหารที่มีไขมัน ทำให้อาหารเสื่อมเสีย ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเมื่อมีค่า a_w สูงขึ้น และในช่วง a_w 0.2-0.4 อัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะต่ำที่สุด และกลับมีอัตราเร็วเพิ่มขึ้นเมื่อ a_w อยู่ในช่วง 0.4-0.75 เนื่องจากมีปริมาณน้ำมากพอที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอะตอมและออกซิเจน (Nawar, 1996)

ดังนั้นค่า a_w ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีระดับต่ำ จึงเก็บรักษาได้โดยไม่พบการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้อย่างช้าๆเนื่องจากเป็นอาหารแห้งที่มีค่า a_w ต่ำ

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน

กรดอะมิโนที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสดที่ใช้เอนไซม์ Fla. ในการย่อยสลายที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน ใช้ระยะเวลาในการย่อย 180 นาที แสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน g/100g ตัวอย่าง	ปริมาณกรดอะมิโน (ร้อยละ)	FAO/WHO (1985) ^{A**}
Phenylalanine*	1.23	2.38	4.29 ^a
Valine*	1.71	3.31	5.42
Tryptophan*	0.23	0.44	1.21
Threonine*	0.74	1.43	4.00
Isoleucine*	1.26	2.44	4.00
Methionine*	0.95	1.84	3.50
Histidine*	0.90	1.74	2.00
Leucine*	3.77	7.30	7.00
Arginine*	3.80	7.36	5.00
Aspartic acid	7.34	14.23	
Hydroxyproline	0.85	1.64	
Alanine	0.77	1.49	
Glutamic acid	10.70	20.74	
Cysteine	8.02	15.54	
Proline	2.18	4.22	
Tyrosine	0.75	1.45	
Glycine	6.20	12.02	

หมายเหตุ * กรดอะมิโนจำเป็น

** Essential amino acids of reference protein according to FAO/WHO (1985)

A หมายถึง Chemical score calculated with FAO/WHO (1985) reference protein as the base.

a หมายถึง Sum of tyrosine and phenylalanine contents.

จากผลการทดลองในตารางที่ 13 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสดมีปริมาณ กรดอะมิโนจำเป็นโดยร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ ซึ่งมีค่าต่ำกว่า FAO/WHO โดยกรดอะมิโนจำเป็น จะต้องได้รับการรับประทานอาหารเท่านั้น ดังนั้นในการรับประทานกรดอะมิโนที่จำเป็นจะมี ประโยชน์ต่อร่างกายเพราะสามารถดูดซึมได้ง่ายกว่าการทานอาหารที่มีโปรตีนขนาดใหญ่เป็น องค์ประกอบเพราะเมื่ออาหารถูกกลืนเข้าไปจะผ่านการย่อยที่กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กโดยเอนไซม์ โปรติเอสจากร่างกาย โปรตีนจะถูกคลายเกลียวออกเนื่องจากสภาวะกรด และถูกย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน ได้เป็นพอลิเปปไทด์ที่มีสายสั้น และในลำไส้เล็กก็จะมีเอนไซม์จากตับอ่อนมาช่วยย่อย พอลิเปปไทด์ให้ เป็นเปปไทด์ และกรดอะมิโน จากนั้นจึงถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ของร่างกายโดยผนังลำไส้เล็ก ซึ่งถ้าหาก ระบบการย่อยอาหารเกิดความผิดปกติก็จะทำให้การย่อยโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนได้ไม่สมบูรณ์ ทำให้ ร่างกายไม่ได้รับกรดอะมิโนที่จำเป็นซึ่งการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นนั้นมีผลทำให้ร่างกายไม่สามารถ ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกายได้ และทำให้การทำงานของเอนไซม์ในเมแทบอลิซึมผิดปกติ (ปาริฉัตร, 2548)

ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสดสามารถนำมาเติมลงในผลิตภัณฑ์ เพื่อใช้ เสริมหรือเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับอาหารในด้านโปรตีนและกรดอะมิโนจำเป็น ถึงแม้ว่าจะมี ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นต่ำกว่าที่ FAO/WHO กำหนดให้ อย่างไรก็ตามเราสามารถเติมโปรตีนไฮโดร-ไลเซตที่ผลิตขึ้นเป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อทำให้อาหารเหล่านั้นมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มมากขึ้น ซึ่ง จะทำให้ผู้บริโภคได้รับปริมาณกรดอะมิโนที่เพียงพอหรือเหมาะสมตามความต้องการของผู้บริโภค (Bhaskar *et al.*, 2008) ซึ่งปริมาณของกรดอะมิโนที่พบนั้นขึ้นอยู่กับ ปริมาณโปรตีนเริ่มต้นของปลาที่ใช้ ในการผลิต สภาวะที่ใช้ และชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด นอกจากนี้ในการทดลองยังพบว่ามีกรดอะมิโนที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านกลิ่นรสให้กับอาหาร ได้ คือ glutamic acid และ aspartic acid ซึ่งมีผลทำให้เกิดรสอร่อยในปริมาณที่มากคือร้อยละ 20.74 และ 14.23 โดยกรดอะมิโนดังกล่าวจะพบมากที่สุดในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลา (Yin *et al.*, 2010; Ghassem *et al.*, 2011; Chalamaiah *et al.*, 2012)

2.6 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาออกซิเดชันมีผลต่อ กลิ่น สี และคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (Nawar, 1996) ซึ่งพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Bougatef *et al.* 2010; Sampath Kumar *et al.*, 2011) จึงทำการตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายซึ่งใช้วิธีทดสอบดังต่อไปนี้

2.6.1 การวิเคราะห์ DPPH radical-scavenging activity เป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ซึ่งสารละลาย DPPH มีสีม่วงละลายในเอทานอลเมื่อได้รับ proton donor จากสารตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลืองซึ่งค่าการดูดกลืนแสงลดลงแสดงให้เห็นว่าสารที่ใช้ในการทดสอบมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Shimada *et al.*, 1992) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ร้อยละของ DPPH inhibition ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับ butylated hydroxyanisole (BHA) และ α -tocopherol

สารตัวอย่าง	ปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (mg/ml)		
	10	20	40
โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง	44.63 $\pm$ 10.67 ^b	64.90 $\pm$ 1.98 ^c	73.75 $\pm$ 4.90 ^b
BHA	89.17 $\pm$ 0.63 ^a	95.54 $\pm$ 0.09 ^b	97.82 $\pm$ 0.17 ^a
α -tocopherol	85.48 $\pm$ 0.69 ^a	88.97 $\pm$ 0.38 ^a	91.30 $\pm$ 2.05 ^a

หมายเหตุ ^{abc} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรต่างกันในแต่ละความเข้มข้นแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายที่ข่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ซึ่งเป็น endo-exo-peptidase เพิ่มขึ้นจาก 10 เป็น 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบกับ BHA ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้น และ α -tocopherol ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจาก

ปลาสาวยมีค่าการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 73.75 ซึ่งต่ำกว่า BHA ที่มีค่าการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 97.82 และ α -tocopherol ที่มีค่าการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 91.30 ที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยเป็นผลมาจากการคอะมิโนที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือ Tryptophan ร้อยละ 0.44, histidine ร้อยละ 1.74, methionine ร้อยละ 1.84, cysteine ร้อยละ 15.54, glycine ร้อยละ 12.02, และ alanine ร้อยละ 1.49 (ตารางที่ 13) จากผลการทดลองซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Thiansilakul *et al.* (2007) ที่ทำการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาทุแคง (*Decapterus maruadsi*) โดยใช้เอนไซม์ Fla. และศึกษาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical-scavenging activity พบว่ามีค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 59.9 ที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้เสนอว่าการที่โปรตีนไฮโดรไลเซตมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเป็นผลมาจาก (1) ค่า DH พบว่าเมื่อค่า DH เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น (2) กรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่น phenylalanine ร้อยละ 4.32 และ tyrosine ร้อยละ 5.20 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนกลุ่ม aromatic amino acid มีผลกับอนุมูลอิสระ radical-scavengers เนื่องจากสามารถให้โปรตอนแก่สารอื่นที่ขาดอิเล็กตรอนได้ง่าย และยังมี tryptophan, histidine ร้อยละ 11.20, methionine ร้อยละ 4.51, cysteine ร้อยละ 0.69, glycine ร้อยละ 1.49, และ alanine ร้อยละ 5.31 ที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

จากผลการศึกษาพบว่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยและงานวิจัยอื่นๆ จะมีค่าไม่เท่ากันเนื่องจากปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนที่ได้หลังจากการย่อยสลายแตกต่างกัน ซึ่งปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนที่ได้นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิต สภาพที่ใช้ในการผลิต ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อค่า DH ที่จะส่งผลต่อความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่ผลิตขึ้น โดย Cumby *et al.* (2008) กล่าวว่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับชนิดของกรดอะมิโนและการเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย ซึ่งพบว่าเอนไซม์ Alc. และ Fla. มีความสามารถในการย่อยเปปไทด์ในตำแหน่งที่ต่างกันคือ เอนไซม์ Alc. เป็น endo-peptidase ซึ่งย่อยสายเปปไทด์จากด้านใน ส่วนเอนไซม์ Fla. เป็นกลุ่ม endo-exo-peptidase สามารถย่อยได้ทั้งสองแบบซึ่งทำให้กรดอะมิโนที่ได้ออกมาแตกต่างกัน

2.6.2 การวิเคราะห์ metal-chelating activity เป็นการวัดความสามารถในการจับโลหะ เนื่องจากโลหะไอออน เช่น Fe, Cu และ Co เป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 562 นาโนเมตร โดยเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป สารนี้จะแย่งจับกับ

Fe^{2+} แล้วอยู่ในรูปของ Ferrozine- Fe^{2+} complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการจะทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับ Fe^{2+} จะทำให้ Ferrozine- Fe^{2+} complex มีสีแดงจางลง (Thiansilakul *et al.*, 2007) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 15

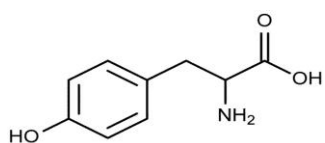
ตารางที่ 15 ร้อยละของ Metal-chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับ EDTA

สารตัวอย่าง	ปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (mg/ml)		
	0.1	0.25	0.50
โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง	48.30±3.15	51.86±11.07	66.70±5.48
EDTA	71.91±0.94*	84.42±1.04*	91.73±0.89*

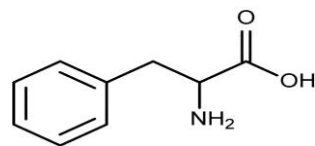
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำหนดด้วย * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระหว่างโปรตีนไฮโดรไลเซต และ EDTA

จากผลการทดลองพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ซึ่งเป็น endo-exo-peptidase มีความสามารถในการจับโลหะสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวย่อยจาก 0.1 เป็น 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ EDTA พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวย่อยมีความสามารถในการจับโลหะร้อยละ 66.70 ต่ำกว่า EDTA ที่มีความสามารถในการจับโลหะร้อยละ 91.73 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Sampath Kumar *et al.*, 2011) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้คล้ายกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) ซึ่งทำการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก yellow stripe trevally โดยใช้เอนไซม์ Alc. และ Fla. ในการย่อยพบว่าค่า DH สูง มีผลทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้มีคุณสมบัติในการจับกับโลหะเพิ่มมากขึ้น โดยเอนไซม์ Fla. มีคุณสมบัติในการจับกับโลหะดีกว่าเอนไซม์ Alc. ที่ค่า DH เท่ากัน นอกจากนี้ยังอธิบายอีกว่าเปปไทด์มีความสามารถในการจับกับโลหะได้เนื่องจากมีกลุ่มอะมิโนที่ประกอบไปด้วย คาร์บอกซิล (COO^-) (Khantaphant *et al.*, 2011) แต่ในการทดลองครั้งนี้แตกต่างจากการทดลองของ Tanuja *et al.* (2012) ที่ทำการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจากเนื้อปลาสาวย่อยโดยใช้เอนไซม์ Papain และ Bromelain ในการย่อย เมื่อทำการตรวจความสามารถในการจับโลหะของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงด้วยวิธี metal-chelating activity พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากปลาสาวย่อยมีความสามารถในการจับโลหะประมาณร้อยละ 20 ซึ่งต่ำกว่าการทดลองในครั้งนี้อาจเป็นผล

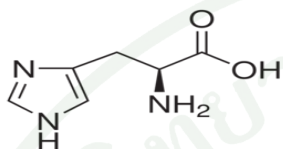
เนื่องจาก ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย สภาวะที่ใช้ในการผลิตที่แตกต่างกัน จึงส่งผลต่อค่า DH ซึ่งมีค่าต่ำคือประมาณร้อยละ 8-12 แต่จากการทดลองในการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับโลหะด้วยวิธี metal-chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยซึ่งมีความสามารถในการในการจับกับโลหะในปริมาณสูง เนื่องจาก ค่า DH ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสาวยที่ผ่านการกำจัดไขมัน มีค่าสูงคือร้อยละ 43.82 และยังมีกรดอะมิโนกลุ่ม aromatic amino acid ที่มีคุณสมบัติในการให้โปรตอนแก่สารอื่นได้ง่ายนอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนที่มีความสามารถในการจับโลหะได้ โดย Chalamaiah *et al.* (2012) รายงานว่า กรดอะมิโนกลุ่ม aromatic amino acid คือ tyrosine และ phenylalanine มีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic group) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล(OH-group) ซึ่งสามารถให้ไฮโดรเจน (hydrogen donors) แก่สารอนุมูลอิสระได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนที่บทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือ histidine, methionine และ cysteine โดยกล่าวว่า histidine มีโครงสร้างเป็นวงแหวนห้าเหลี่ยม (imidazole group) มีความสามารถในการให้โปรตอน (proton-donation) แก่สารอื่นได้ส่วน methionine มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบซึ่งมีแนวโน้มในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และ cysteine มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีความสามารถในการให้ซัลเฟอร์ไฮโดรเจน (sulfur hydrogen) ดังภาพที่ 7 และยังรายงานว่ายังไม่ทราบกลไกแน่นอนของกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คือ proline, valine และ tryptophan (Bougatef *et al.*, 2010; Hsu, 2010; Sarmadia and Ismai, 2010; Samaranayaka and Li-chan, 2011)



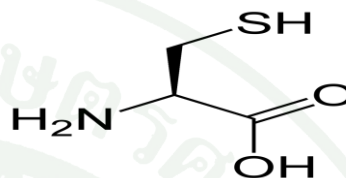
ไทโรซีน (tyrosine)



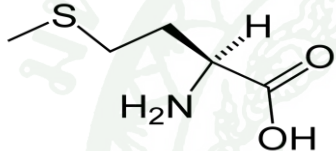
ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine)



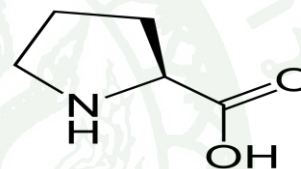
ฮิสทีดีน (histidine)



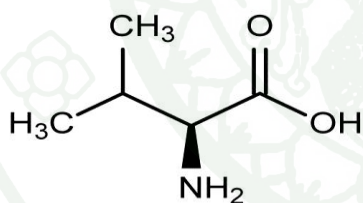
ซีสเทอีน (cysteine)



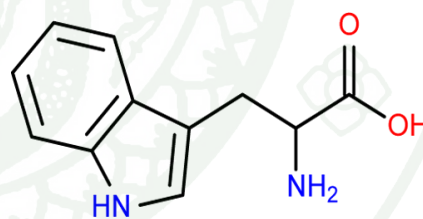
เมทไธโอนีน (methionine)



โพลีน (proline)



วาลีน (valine)



ทริปโตเฟน (tryptophan)

ภาพที่ 7 กรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา: สารานุกรมอาหารออนไลน์ (2556)

จากผลการทดลองในการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสรุปได้ว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายที่ข่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองแบบคือ primary และ secondary antioxidant ซึ่งความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตต้องคำนึงถึง สภาพในการผลิต ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และความเข้มข้นเอนไซม์ ซึ่งมีผลต่อค่า DH น้ำหนักโมเลกุล และปริมาณกรดอะมิโน ที่พบหลังจากการข่อย (Samaranayaka and Li-chan, 2011) ซึ่งความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีความสำคัญต่อคุณค่าทางโภชนาการ สามารถใช้เป็นยา เครื่องสำอางค์ หรือใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร เพราะไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ นอกจากนี้ยังสามารถใช้แทนสารต้านอนุมูลอิสระแบบสังเคราะห์ที่นิยมใช้ทั่วไปในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น BHT, BHA, tertiary butylhydroquinone และ propylgallate เป็นต้น (Bougatef *et al.*, 2010; Hsu, 2010) นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลายังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณภาพสูง มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าการใช้สารต้านอนุมูลอิสระแบบสังเคราะห์ และโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายที่ผลิตได้ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ได้อีก เช่น คุณสมบัติในการอุ้มน้ำ คุณสมบัติในการเกิดโฟม คุณสมบัติการเป็นอิมัลชัน เป็นต้น คุณสมบัติเหล่านี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งในการทดลองต่อไปจะนำคุณสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายในด้านคุณค่าทางโภชนาการ และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาใช้ประโยชน์ โดยทำการเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายลงในผลิตภัณฑ์โภชนาการชนิดแท่ง ซึ่งจะทำการศึกษาทดลองในขั้นต่อไป

3. การหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่ได้จากสูตรที่ใส่ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย 4 สูตร ในตารางที่ 5 แสดงคะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ผลการทดสอบคุณภาพด้านต่างๆ ดังตารางที่ 16 ซึ่งพบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งในแต่ละสูตรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 16 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่ได้จากสูตรทั้ง 4 สูตร

ลักษณะที่ทดสอบ	คะแนนเฉลี่ย			
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
ลักษณะปรากฏ	7.70±0.98 ^a	6.50±1.30 ^b	6.30±1.44 ^b	6.90±0.95 ^b
สี	7.20±1.06 ^a	6.83±1.14 ^a	6.70±1.29 ^a	6.63±0.57 ^a
กลิ่น	7.83±1.14 ^a	5.83±1.44 ^c	6.53±1.30 ^b	6.26±1.15 ^{bc}
รสชาติ	7.56±1.30 ^a	6.96±1.21 ^{ab}	6.76±1.25 ^b	6.53±0.95 ^b
เนื้อสัมผัส	6.20±1.76 ^a	5.60±1.40 ^a	5.73±1.59 ^a	5.50±0.95 ^a
ความชอบโดยรวม	7.46±1.00 ^a	6.10±1.15 ^b	6.30±1.34 ^b	6.46±1.30 ^b

หมายเหตุ ^{abc} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

สูตรที่ 1 ได้รับความชอบในทุกลักษณะมากที่สุด โดยสูตรที่ 2, 3 และ 4 ได้รับความชอบลักษณะคุณภาพสี และเนื้อสัมผัส ไม่แตกต่างกับผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่ได้จากสูตรที่ 1 ($p > 0.05$) และผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่ได้จากสูตรที่ 2, 3 และ 4 ได้รับความชอบเฉลี่ยในด้านลักษณะปรากฏ รสชาติ และความชอบโดยรวมแตกต่างจากผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่ได้จากสูตรที่ 1 ($p < 0.05$) ยกเว้นลักษณะด้านกลิ่นพบว่าสูตรที่ 1 ได้รับความชอบด้านกลิ่นมากกว่า สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 จากผลคะแนนของผู้ทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรที่ใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายร้อยละ 5 และใส่เนยร้อยละ 5 ซึ่งได้คะแนนความชอบในทุกด้านมาก

ที่สุด และมีคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุด คือ 7.46 คะแนน จึงเลือกสูตรที่ 1 ดังแสดงในภาพที่ 8 มาผลิตเป็นโภชนาหารชนิดแท่งเพื่อใช้เสริมอาหารทางด้านโปรตีน และกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย



ภาพที่ 8 โภชนาหารชนิดแท่งที่ผ่านการคัดเลือกจากผู้บริโภค

จากการทดลองในการคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมในการผลิต โภชนาหารชนิดแท่ง สอดคล้องกับ Ibrahim (2009) ซึ่งเติมโปรตีนปลาเข้มข้นที่ผลิตได้จากเศษเหลือของปลานิล จำนวนร้อยละ 5 ลงในขนมปังอบกรอบ (salt biscuit) พบว่าได้คะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุด นอกจากนี้การเติมผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาเข้มข้นลงในผลิตภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีความพยายามในการพัฒนาเกี่ยวกับอาหารโดยการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ เช่น การเติมโปรตีนเข้มข้น หรือ กรดอะมิโนที่จำเป็นลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นการเสริมคุณค่าทางโภชนาการให้กับอาหารหลายประเภท เช่น ขนม คุกกี้ชนิดแท่ง เป็นต้น (Kvitka and Chen, 1982) เมื่อได้สูตรที่เหมาะสมแล้วจึงนำ โภชนาหารชนิดแท่งสูตรที่ 1 ซึ่งได้รับคะแนนความชอบในทุกลักษณะมากที่สุดมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และคาร์โบไฮเดรตโดยทำการเปรียบเทียบกับโภชนาหารชนิดแท่งที่ไม่ได้เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ของผลิตภัณฑ์ โภชนาหารชนิดแห้ง ที่เติม และไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทรายร้อยละ 5

ผลิตภัณฑ์	โภชนาหารชนิดแห้งแบบไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทราย (g/100g)		โภชนาหารชนิดแห้งแบบเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทราย ร้อยละ 5 (g/100g)	
	wet basis	dry basis	wet basis	dry basis
โปรตีน	18.73±0.01	17.25	23.26±0.02*	21.87*
ไขมัน	8.53±1.79	7.85	13.00±4.55 ^{ns}	12.22*
ความชื้น	7.87±0.25	-	5.97±0.02*	-
เถ้า	1.24±0.01	1.14	3.30±0.15*	3.10*
คาร์โบไฮเดรต ^a	63.63	-	54.47	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำหนดด้วย * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระหว่างผลิตภัณฑ์ โภชนาหารชนิดแห้งที่เติม และไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทรายร้อยละ 5 ค่าเฉลี่ยที่กำหนดด้วย ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างผลิตภัณฑ์ โภชนาหารชนิดแห้งที่เติม และไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทรายร้อยละ 5 a คือค่าคาร์โบไฮเดรตที่คำนวณจาก $100 - (\text{เถ้า} + \text{ความชื้น} + \text{โปรตีน} + \text{ไขมัน})$

จากผลการทดลองในตารางที่ 17 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทรายประกอบไปด้วยโปรตีนร้อยละ 71.95 ไขมันร้อยละ 0.91 ความชื้นร้อยละ 2.06 และเถ้าร้อยละ 25.08 เมื่อนำมาเติมลงในผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแห้งจำนวนร้อยละ 5 พบว่าผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแห้งที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทรายมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 23.26 เถ้าร้อยละ 3.30 ความชื้นร้อยละ 5.97 และไขมันร้อยละ 13 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากสูตรที่ไม่ได้เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาทราย ร้อยละ 4.62 ($p < 0.05$) โดย Loveday *et al.* (2009) กล่าวว่า ผลิตภัณฑ์พืชชนิดแห้งที่มีการเสริมโปรตีนเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับนักกีฬาหรือผู้ที่ต้องการดูแลสุขภาพ โดยผลิตภัณฑ์ที่มีการเสริมโปรตีนควรมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 15-35 โดยส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ได้จากนมเป็นหลักซึ่งโปรตีนดังกล่าวมีราคาแพง และยังพบว่าโปรตีนที่ได้จากนมอาจมีผลต่อผู้แพ้โปรตีนในนม ซึ่งในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้โปรตีนจากปลามาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตโภชนาหารชนิดแห้งแทนการใช้โปรตีนจากนม ซึ่งอาจเป็นทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภคมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับปลา

ที่มีราคาถูก และเป็นการใช้ประโยชน์จากปลาที่มีคุณค่าทางโภชนาการในด้านโปรตีนสูงมาทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

4. การศึกษาอายุการเก็บในสภาวะเร่งของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

4.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง ในด้านความแตกต่างของ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความแตกต่างโดยรวม เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา พร้อมกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม เพื่อศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 18 และ 19 พบว่า

ผลิตภัณฑ์ที่เก็บในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีคะแนนที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์ควบคุมในวันที่ 7 คือ สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความแตกต่างโดยรวม โดยมีคะแนน 2.6, 2.6, 2.5 และ 2.5 คะแนน ตามลำดับ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับพบว่ามีการยอมรับในทุกลักษณะไม่ต่ำกว่า 5 คะแนนจึงทำการเก็บรักษาต่อ และพบว่าในวันที่ 28 ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งมีคะแนนการยอมรับด้านเนื้อสัมผัส 4 คะแนน จึงยุติการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้ 21 วัน

ผลิตภัณฑ์ที่เก็บในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีคะแนนที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์ควบคุมในวันที่ 7 คือ ด้านลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส และความแตกต่างโดยรวม โดยมีคะแนน 1.7, 3.0, 2.6 และ 2.4 คะแนน ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับพบว่ามีการยอมรับในทุกลักษณะไม่ต่ำกว่า 5 คะแนนจึงทำการเก็บรักษาต่อ และพบว่าในวันที่ 21 ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งมีคะแนนการยอมรับด้าน สี เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม 4.6, 4.8 และ 3.7 ตามลำดับ จึงยุติการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้ 14 วัน

ตารางที่ 18 ความแตกต่างทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง ระหว่างการเก็บรักษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

ลักษณะที่ทดสอบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)					
		0	7	14	21	28	35
ลักษณะปรากฏ	35	1.1	1.5 ^{ns}	3.1 *	3.0 *	3.5 *	3.6*
	45		1.7 *	3.0 *	3.0 *	4.1*	4.4*
สี	35	1.1	2.6 *	3.0*	3.4 *	3.5*	3.6*
	45		3.0 *	3.9*	3.9*	3.8*	4.7*
กลิ่น	35	1.1	1.8 ^{ns}	2.1 *	2.9 *	2.7*	3.0*
	45		1.7 ^{ns}	2.5 *	4.0*	3.0*	3.8*
รสชาติ	35	1.1	2.6 *	2.8 *	3.0*	3.2*	3.3*
	45		1.9 ^{ns}	2.9 *	3.1*	3.3*	3.8*
เนื้อสัมผัส	35	1.2	2.5 *	3.0 *	3.3*	3.6*	4.0*
	45		2.6 *	2.6 *	3.1 *	3.9*	4.4*
ความแตกต่างโดยรวม	35	1.2	2.5*	2.7 *	2.6*	3.3*	3.6*
	45		2.4 *	3.2 *	3.1 *	3.4*	4.0*

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำหนดด้วย * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม
ค่าเฉลี่ยที่กำหนดด้วย ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ 19 การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

ลักษณะที่ทดสอบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)					
		0	7	14	21	28	35
ลักษณะปรากฏ	35	8.8	7.3	6.8	6.5	5.5	3.6*
	45		7.4	7.3	5.7	5.0	3.6*
สี	35	8.5	7.0	6.8	5.7	5.3	3.0*
	45		6.9	6.7	4.6*	ND	ND
กลิ่น	35	9.0	7.3	7.0	6.5	6.0	4.5*
	45		7.5	6.4	6.9	5.5	4.5*
รสชาติ	35	8.7	7.5	7.1	6.7	6.2	4.6*
	45		7.6	7.1	6.5	6.0	4.6*
เนื้อสัมผัส	35	8.4	7.1	6.1	5.3	4.0*	ND
	45		7.2	6.3	4.8*	ND	ND
การยอมรับโดยรวม	35	8.8	6.4	6.1	5.6	5.0	3.1*
	45		7.0	6.2	3.7*	ND	ND

หมายเหตุ * หมายถึงผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน หยุดทำการทดสอบ
ND ไม่ทำการตรวจเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าคะแนนความแตกต่างในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความแตกต่างโดยรวม จะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุในการเก็บรักษานานขึ้น และแสดงให้เห็นว่า คุณลักษณะด้านสี และด้านเนื้อสัมผัส จะแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างชัดเจน และพบว่า อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อผลิตภัณฑ์ โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงจะมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ มากกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ และเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากัน ระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้นและอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมมากขึ้นในทุกลักษณะ เนื่องจากอุณหภูมิสูงมีผลในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ อาจทำให้ไขมันในอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะเป็นของเหลว จึงเกิดปฏิกิริยาการเสื่อมเสียได้เร็วขึ้น (Labuza and Schmidl, 1985) จะเห็นได้ว่าผลการทดสอบด้านความแตกต่างของผลิตภัณฑ์จะสอดคล้องกับคะแนนการทดสอบด้านการยอมรับเมื่อผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างจากผลิตภัณฑ์ควบคุม

มากยิ่งขึ้นส่งผลให้คะแนนการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ต่ำลงจึงยุติการเก็บรักษา ซึ่งจะเน้นการทดสอบทางประสาทสัมผัสจะมีความสัมพันธ์กับการตรวจสอบด้านคุณลักษณะต่างๆ ดังผลการทดลองในข้อ 4.2-4.6

4.2 การวัดแรงกดสูงสุด (hardness) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

การวัดแรงกดสูงสุด ของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 20 พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อแรงกดสูงสุด ของผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานขึ้นแรงกดสูงสุด จะมีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากันพบว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิสูงมีค่าแรงกดสูงสุด มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาวะเร่งคืออุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าแรงกดสูงสุดคือ 43.40 และ 43.37 นิวตัน ตามลำดับ

ตารางที่ 20 ค่าแรงกดสูงสุด (hardness) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

คุณภาพทางกายภาพ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)					
		0	7	14	21	28	35
แรงกดสูงสุด	35	15.40 ^{cA}	36.66 ^{bA}	35.43 ^{bB}	43.40 ^a	ND	ND
(hardness) (N)	45	15.40 ^{cA}	36.00 ^{bA}	43.37 ^{abA}	ND	ND	ND

หมายเหตุ ^{a,b,c} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{A,B,C} ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ND ไม่ทำการตรวจเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

จากผลการทดลองในตารางที่ 20 จะเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่เก็บมีลักษณะแข็งขึ้น โดยเฉพาะการเก็บที่อุณหภูมิสูงจะยิ่งมีผลต่อเนื้อสัมผัสมากยิ่งขึ้นสอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส (ตารางที่ 19) ซึ่งค่าการยอมรับของผู้ทดสอบด้านเนื้อสัมผัสต่ำเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Loveday *et al.* (2009) รายงานว่าอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์โปรตีนบาร์นั้นมีข้อจำกัดคือการยอมรับของผู้บริโภคต่อเนื้อสัมผัสที่แข็งขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งอาจเกิดจากโปรตีนเกิดการรวมตัวเป็นโครงร่างตาข่ายของ thiol-disulfide ทำให้น้ำเกิดการเคลื่อนย้ายเกิดเป็นโครงร่างของโปรตีนที่ไม่ชอบน้ำขึ้นมาใหม่

นอกจากนี้ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ระหว่าง reducing sugar และ lysine ก็มีผลต่อความแข็งของโปรตีนบาร์ (Gerard, 2002)

4.3 ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีของอาหารมีผลต่อปฏิกิริยาทางเคมี และชีวเคมีที่มีผลต่อความคงตัวของอาหาร โดยมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ และการเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร เมื่อทำการตรวจค่าวอเตอร์แอกทิวิตีของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาวะต่างๆ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 21 พบว่าเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานขึ้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากันผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงมีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ($p > 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ คือ อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์จะมีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีคือ 0.44 และ 0.50 ($p < 0.05$) ตามลำดับ

ตารางที่ 21 ค่า water activity ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

คุณภาพทางกายภาพ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)					
		0	7	14	21	28	35
a_w	35	0.43 ^{bA}	0.42 ^{cA}	0.45 ^{aA}	0.44 ^a	ND	ND
	45	0.43 ^{bA}	0.50 ^{abA}	0.50 ^{abA}	ND	ND	ND

หมายเหตุ ^{a,b,c} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{A,B,C} ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ND ไม่ทำการตรวจเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษาเป็นปัจจัยหนึ่ง ซึ่งทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอกทิวิตี โดยเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากัน ผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิสูงจะมีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ สอดคล้องกับ Labuza and Schmidl (1985) ซึ่งกล่าวว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารไว้ที่อุณหภูมิสูงมีผลให้ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีสูงขึ้นด้วย และมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆ

ที่อาจทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารได้ และนิธิยา (2543) กล่าวว่าค่าออกเตอร์แอคติวิตีในอาหารมีผลต่อปฏิกิริยาเคมีหลายชนิด รวมถึงการเจริญของจุลินทรีย์ ค่าออกเตอร์แอคติวิตีในช่วง 0.3-0.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะเพิ่มสูงขึ้น ค่าออกเตอร์แอคติวิตีในช่วง 0.65-0.75 และอุณหภูมิที่สูงมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาเกิดสีน้ำตาล (maillard reaction) เกิดจาก nonenzymatic browning reaction (Lea and Hannan, 1949) ดังนั้นผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิที่มีค่าออกเตอร์แอคติวิตีอยู่ในช่วง 0.46-0.50 อาจจะมีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้อย่างช้าๆ และมีโอกาสที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตค่อนข้างน้อย เนื่องจากผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งมีค่าออกเตอร์แอคติวิตีไม่สูงมาก

4.4 ค่าสี ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา แสดงค่าเป็น L^* , a^* , b^*

ค่าสีของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาวะต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสีค่อนข้างเห็นได้ชัด ดังแสดงในภาพที่ 9 และค่าสีของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาแสดงค่าเป็น L^* , a^* , b^* ผลการทดลองในตารางที่ 22



ภาพที่ 9 โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ 22 ค่าสี ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษาแสดงค่าเป็น $L^* a^* b^*$

คุณภาพทาง กายภาพ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)						
		0	7	14	21	28	35	
color	35	L*	64.21 ^{aA}	62.44 ^{aA}	60.49 ^{aA}	59.51 ^{abA}	55.21 ^{bA}	ND
	45		64.21 ^{aA}	61.37 ^{bB}	52.75 ^{cB}	50.67 ^{cB*}	51.56 ^{cA*}	ND
	35	a*	4.21 ^{abA}	3.76 ^{bcB}	3.46 ^{cA}	4.58 ^{aA}	4.76 ^{aA}	ND
	45		4.21 ^{bA}	4.17 ^{bA}	4.64 ^{bA}	4.86 ^{bA*}	6.28 ^{ab*}	ND
	35	b*	21.76 ^{bA}	20.31 ^{cA}	19.58 ^{cA}	21.85 ^{bA}	23.18 ^{aA}	ND
	45		21.76 ^{bA}	20.52 ^{cA}	19.75 ^{dA}	21.09 ^{bcA*}	22.61 ^{aA*}	ND

หมายเหตุ ^{a,b,c} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{A,B,C} ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

* ตัวอย่างมีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

ND ไม่ทำการตรวจเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

ผลการทดลองในการตรวจค่าสีพบว่า ค่า L^* ของผลิตภัณฑ์ที่เก็บในสภาวะเร่ง คือ อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้นจะมีค่า L^* ลดลงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความสว่างน้อยลงคือมีสีเข้มขึ้น ($p < 0.05$) และเมื่อระยะเวลาในการเก็บเท่ากันแต่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น พบว่าที่อุณหภูมิสูงค่า L^* จะมีค่าต่ำคือ มีสีเข้มกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ คือ อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจะมีค่า L^* คือ 59.51 และ 52.75 ตามลำดับ

ค่า a^* มีค่าเป็นบวกแสดงความเป็นสีแดง เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มของค่าสีแดงเพิ่มมากขึ้น ($p < 0.05$) ที่ระยะเวลาในการเก็บเท่ากันการเก็บที่อุณหภูมิสูงจะมีค่า a^* กว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีค่า a^* คือ 4.58 และ 4.64 ตามลำดับ ค่า a^* ที่สูงขึ้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากตัวผลิตภัณฑ์มีส่วนผสมของน้ำตาลที่ผ่านการให้ความร้อนจะมีสีเข้มขึ้น จึงส่งผลถึงตัวผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีสีเข้มซึ่งเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้นยิ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้น

ค่า b^* มีค่าบวกแสดงความเป็นสีเหลือง เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นผลิตภัณฑ์มีค่าสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น ($p < 0.05$) และเมื่อระยะเวลาในการเก็บเท่ากันการเก็บที่อุณหภูมิสูงจะมีค่า b^* จะมีค่าสูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจะมีค่า b^* คือ 21.85 และ 19.75 ตามลำดับ ค่า b^* ที่สูงขึ้นนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของธัญพืชที่ผ่านการทำให้สุกโดยการใช้ความร้อน สีของธัญพืชจึงมีสีเหลือง เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาานประกอบกับการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้น จึงทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงไปในทางที่มีสีเหลืองเพิ่มขึ้น

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าค่าสีมีการเปลี่ยนมากเนื่องจากผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีสีเข้มอยู่แล้ว เพราะน้ำตาลที่ใช้ผลิตเป็นตาลทรายแดงซึ่งส่งผลต่อความเข้มของผลิตภัณฑ์ อาจจะมีผลต่อการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี (ตารางที่ 19) พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับด้านสีต่ำเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสีโดย Fennema (1996) กล่าวว่าปัจจัยที่เร่งการเปลี่ยนแปลงของสี ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และโลหะบางชนิด และพบว่าภาชนะที่ใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ก็มีส่วนที่จะช่วยป้องกันผ่านของแสง และออกซิเจนได้

4.5 ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA value) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

การหืนของผลิตภัณฑ์สามารถตรวจสอบได้จากปฏิกิริยาระหว่างกรดไทโอบาร์บิทูริกกับมาโลแนลดีไฮด์จะได้สารประกอบสีแดงออกมาซึ่งถ้าสารประกอบมีสีแดงมาก หมายถึง เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมาก และบ่งชี้ได้ว่าผลิตภัณฑ์มีความหืนมากขึ้นด้วย (Pearson, 1976) ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกที่ทำปฏิกิริยากับมาโลแนลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาวะต่างๆ ผลการทดลองในตารางที่ 23 พบว่าเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานขึ้นปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกมีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากันผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงมีแนวโน้มปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ คือ อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์จะมีปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกเท่ากับ 0.30 และ 0.30 มิลลิกรัมมาโลแนลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตามลำดับ

ตารางที่ 23 ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA value) ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

คุณภาพทางเคมี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)					
		0	7	14	21	28	35
TBA	35	0.15 ^{aA}	0.19 ^{dA}	0.23 ^{cB}	0.30 ^a	ND	ND
(มิลลิกรัมมาโลเนล ดีไฮด์ต่อกิโลกรัม)	45	0.15 ^{aA}	0.18 ^{bA}	0.30 ^{aA}	ND	ND	ND

หมายเหตุ ^{a,b,c} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{A,B,C} ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ND ไม่ทำการตรวจเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

จากการทดลองคล้ายกับงานวิจัยของ วรณภา (2547) ที่ทำการศึกษาอายุเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ธัญชาติชนิดแท่งจากข้าวโพดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง และที่สภาวะเร่งคืออุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก 0.24, 0.26 และ 0.27 มิลลิกรัมมาโลเนลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตามลำดับ พบว่าปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บเพิ่มมากขึ้น ซึ่งผู้ทดสอบจะได้รับกลิ่นหืนของผลิตภัณฑ์อ่อนๆ เมื่อปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกมีค่า 0.26 มิลลิกรัมมาโลเนลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม โดย Reilly and Man (1994) กล่าวว่า การเกิดกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์เกิดจากผลของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (auto oxidation) ที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์กับออกซิเจนในอากาศ นอกจากนี้ อุณหภูมิที่สูงยังมีผลต่อการเพิ่มค่าการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์มพลาสติกที่เป็นบรรจุภัณฑ์ ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นมากด้วย Shamberger *et al.* (1977) กล่าวว่าปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกที่ใช้ทำปฏิกิริยากับมาโลเนลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นหืน ผู้ทดสอบจะรู้สึกมีกลิ่นแปลกปลอมทางประสาทสัมผัสต่ออาหารได้เมื่อมีปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก มากกว่า 2 มิลลิกรัมมาโลเนลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม

ในการทดลองครั้งนี้ผลิตภัณฑ์ที่ทำการเก็บรักษาในสภาวะต่างๆ เมื่อทำการตรวจปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริกที่ทำปฏิกิริยากับมาโลเนลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาในปริมาณที่ไม่สูงมาก ทำให้ผู้ทดสอบสามารถได้กลิ่นหืนของผลิตภัณฑ์อ่อนๆ เป็นเพราะผลิตภัณฑ์มีค่าออกซิเดชันไม่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังมีการ

เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้ผู้ทดสอบสามารถรับกลิ่นที่เปลี่ยนแปลงนี้ได้้น้อยเมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับ (ตารางที่ 19)

4.6 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

ผลการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาวะต่างๆ จากผลการทดลองในตารางที่ 24 พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ($p < 0.05$) และเมื่อระยะเวลาเท่ากันพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีมากกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ($p < 0.05$) โดยเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ คือ อุณหภูมิ 35 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.34×10^2 และ 2.09×10^2 โคโลนีต่อกรัม และไม่พบยีสต์และราในระหว่างการเก็บรักษา

ตารางที่ 24 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

คุณภาพทางจุลชีววิทยา (โคโลนีต่อกรัม)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)					
		0	7	14	21	28	35
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	T35	1.34×10^{2cA}	1.79×10^{2dA}	2.80×10^{2cA}	3.34×10^{2a}	ND	ND
	T45	1.34×10^{2cA}	1.74×10^{2bB}	2.09×10^{2aB}	ND	ND	ND
จำนวนยีสต์	T35	<10	<10	<10	<10	<10	ND
และรา	T45	<10	<10	<10	ND	ND	ND

หมายเหตุ ^{a,b,c} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{A,B,C} ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ND ไม่ทำการตรวจเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า 5 คะแนน

ผลของปริมาณจุลินทรีย์ที่พบในการทดลองนี้คล้ายกับงานวิจัยของวิมลศิริ (2539) ซึ่งรายงานพบว่าพบจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม ในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูป

แบบผสมชนิดแห้งที่ทำการเก็บรักษาไว้ และ วรรณภา (2547) พบว่าผลิตภัณฑ์ธัญชาติชนิดแห้งจากคัพพะข้าวโพดที่เก็บรักษาไว้ที่สภาวะต่างๆ คือผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาอุณหภูมิห้องมีอายุการเก็บรักษา 35 วัน ผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษา 28 วัน และ ผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษา 19 วัน ผลการตรวจวิเคราะห์ ไม่พบจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ในผลิตภัณฑ์ที่ตรวจสอบทุกสภาวะ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผลิตภัณฑ์มีค่าออกซิเจนที่ต่ำเกินไปในช่วงดังกล่าวไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับการทดลองพบครั้งนี้พบว่าไม่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ไม่เกินตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกระยาสาร (มพช.๗๐๕/๒๕๔๗) ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแห้ง ซึ่งกำหนดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1×10^3 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และรา ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

5. ทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแห้งโดยการเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านความแตกต่างโดยรวม และการยอมรับโดยรวม ชำงตัน แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิสูงมีผลให้อายุการเก็บรักษาสั้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า และการที่อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแห้ง มีอายุการเก็บที่สั้นเป็นผลเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีส่วนประกอบที่เป็นเนย และน้ำตาลอยู่สูง จึงมีผลต่อสี และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์การประเมินอายุการเก็บรักษาในแต่ละสภาวะที่ได้มา คำนวณอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิปกติได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณค่า } Q_{10} &= \frac{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส}} \\ &= \frac{21 \text{ วัน}}{14 \text{ วัน}} = 1.5 \end{aligned}$$

การคำนวณอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส

$$\begin{aligned} Q_{10}^{\Delta/10} &= \frac{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส}} \\ \Delta &= 45 - 30 = 15 \end{aligned}$$

$$\text{อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส} = 1.5^{(15/10)} \times 14 = 25.71 \text{ วัน ประมาณ 26 วัน}$$

จากการคำนวณอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาจากอุณหภูมิเฉลี่ยของประเทศไทยในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน (ศูนย์ภูมิอากาศ, 2555) พบว่าผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาประมาณ 26 วัน ทั้งนี้เพราะการคำนวณอายุการเก็บรักษาใช้ข้อมูลที่ได้จากการเก็บรักษาในสภาวะเร่งซึ่งใช้อุณหภูมิสูงกว่าปกติ การเก็บในสภาวะเร่งนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียเร็วขึ้น ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบจึงสั้นลง ดังนั้นการกำหนดอายุของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิปกติของผลิตภัณฑ์นั้นจะสามารถเก็บรักษาได้จริง ซึ่งจะเป็นแนวทางในการศึกษาผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ต่อไปในอนาคต

6. การคำนวณต้นทุนการผลิตในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งโดยการเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด

ต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจำนวน 1 กิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 25 และต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจำนวน 1 กิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 25 ต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจำนวน 1 กิโลกรัม

วัตถุดิบ	ราคา	ปริมาณที่ใช้ในการผลิต	ราคา (บาท)
1. ต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด			
1.1 ปลาสด	50.00 บาท/ กก.	12.55 กก.	625.00
1.2 เอนไซม์ Fla.	2,500.00 บาท/ กก.	31.12 กรัม	77.80
1.3 ราคา Citrate phosphate buffer			
1.3.1 Citric acid	180.00 บาท/ กก.	96.05 กรัม	17.10
1.3.2 Sodium hydrogen phosphate heptahydrate	210.00 บาท/ กก.	268.45 กรัม	56.37
1.4 เอทานอล	1,300 บาท/ 20 ลิตร	25 ลิตร	1,625.00
รวมต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง ปริมาณ 1 กิโลกรัม			2,401.00

หมายเหตุ ราคานี้ไม่รวมค่าไฟฟ้า น้ำประปา และค่าแรง ในการผลิต

ตารางที่ 26 ต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจำนวน 1 กิโลกรัม

วัตถุดิบ	ราคา	ปริมาณที่ใช้ในการผลิต	ราคา (บาท)
1. ต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง			
1.1 ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาสด	2,401.00 บาท/ กก.	46.70 กรัม	112.12
1.2 ไขมันพืช			
- ข้าวโอ๊ต	90.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	5.15
- งาขาว	112.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	6.39
- งาดำ	100.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	5.71
- เมล็ดอัลมอนด์	320.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	18.28
- เมล็ดทานตะวัน	190.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	10.85
- เมล็ดมะม่วงหิมพานต์	240.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	13.71
1.3 ส่วนผสม			
- เนยจืด	361.23 บาท/ กก.	28.56 กรัม	10.32
- น้ำผึ้ง	250.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	14.28
- แปะแซ	36.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	2.05
- น้ำตาลทรายแดง	24.00 บาท/ กก.	57.12 กรัม	1.37
1.4 บรรจุภัณฑ์	2.90 บาท/ ถุง	34 ถุง	98.60
รวมต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง ปริมาณ 1 กิโลกรัม			293.68

หมายเหตุ ราคานี้ไม่รวมค่าไฟฟ้า น้ำประปา และค่าแรง ในการผลิต

จากการคำนวณต้นทุนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสดให้ได้ปริมาณผงโปรตีนไฮโดรไลเซต จำนวน 1 กิโลกรัม คิดเป็นเงิน 2,401 บาทโดยคิดจากผลผลิตที่ได้จากปลาสดจำนวน 1 กิโลกรัมเมื่อผ่านกระบวนการแล่จนเหลือแต่เนื้อ และกำจัดไขมันด้วยสารละลายเอทานอล ได้ผลผลิตร้อยละ 28.75 จากนั้นเมื่อผ่านกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง และทำให้เป็นผงด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าได้ผลผลิตร้อยละ 8.10 จากปริมาณผลผลิตที่ได้ (yield) (ตารางที่ 11) และพบว่าจากการคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งคือ ต้องเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงร้อยละ 5 ลงในผลิตภัณฑ์ ซึ่งเมื่อจะทำการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจำนวน 1 กิโลกรัมต้องใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจำนวน 46.70 กรัม คิดเป็นเงิน 112.12 บาท จากนั้นนำมาผสมกับไขมันพืช

น้ำตาล ดังอัตราส่วนในตารางที่ 5 คิดเป็นเงิน 82.96 บาท และส่วนที่เป็นบรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เป็นเงิน 2.90 บาทต่อถุง ซึ่งในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจำนวน 1 กิโลกรัมสามารถผลิตได้ 34 แท่ง โดยมีขนาด 30 กรัมต่อแท่ง คิดเป็นเงินรวม 98.60 บาท รวมคิดเป็นต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่ง ราคา 8.63 บาทต่อแท่ง ราคานี้ไม่รวมค่าไฟฟ้า น้ำประปา และค่าแรง ซึ่งน้ำทิพย์ (2548) ได้ทำการสำรวจ ตลาดผลิตภัณฑ์จากธัญชาติเพื่อโภชนาการที่มีจำหน่ายในท้องตลาด สำหรับผลิตภัณฑ์ที่นำเข้าจาก ต่างประเทศ จะถูกจัดกลุ่มอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารเข้าในแผนก Supermarket ของห้างสรรพสินค้ามี ลักษณะเป็นธัญชาติอบแห้งชนิดเดียว และแบบหลายชนิดรวมกัน มีการเพิ่มผลไม้อบแห้งต่างๆ ลงไป เพียงเติมนมสดก็สามารถรับประทานได้ทันทีบรรจุในถุงพลาสติกแล้วใส่ในกล่องกระดาษอีกชั้น และ แบบสำเร็จรูปสามารถรับประทานได้ทันทีที่มีลักษณะเป็นธัญชาติหลายชนิดอัดรวมกันเป็นแท่งมีการเติม ผลไม้อบแห้ง หรือกลิ่นรสอื่น ๆ เช่นสตอเบอรี่ โยเกิร์ต ทำให้มีรสชาติหลากหลาย สามารถเป็นอาหารว่างหรือทดแทนมื้อหลักได้บรรจุในถุงฟอยล์ปิดสนิท ซึ่งราคาของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของ วัตถุดิบ มีขนาดบรรจุอยู่ระหว่าง 14-50 กรัม ราคา 7-36 บาทต่อหนึ่งหน่วยบริโภค

จากการคำนวณต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจากโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงที่ผลิตได้ จากปลาสดมีราคาไม่สูงมากนัก ถึงแม้ว่าในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งจะมีต้นทุนของเนื้อปลาสวาย และบรรจุภัณฑ์ที่ค่อนข้างสูง แต่สามารถทำการลดต้นทุนในการผลิตได้ เช่นเปลี่ยนมาใช้เศษเหลือของ ปลาสวายแทนการใช้เนื้อปลา และเปลี่ยนบรรจุภัณฑ์ให้มีความเหมาะสมกับการบรรจุโภชนาหารชนิด แท่งซึ่งมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับบรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ แต่อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์โภชนาหาร ชนิดแท่งสามารถผลิตและวางจำหน่ายได้ทั่วไปเนื่องจากมีราคาไม่ต่างจากราคาขายตามท้องตลาด จึงเป็น แนวทางในการนำปลาสวายมาใช้ประโยชน์ และสามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบใหม่ ที่มี คุณค่าทางโภชนาการสูง เหมาะแก่การนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมคุณค่าทางโภชนาการให้แก่คนทุกเพศ ทุกวัย

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตโดยใช้เอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกันในการย่อยมีผลทำให้ค่า DH สูงที่สุด คือระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนในปลาสาวยที่ผ่านการกำจัดไขมัน ใช้ระยะเวลาในการย่อย 180 นาที ซึ่งการย่อยด้วยเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกันมีค่า DH สูงที่สุดมีค่าร้อยละ 43.82, 45.69 และ 49.97 ตามลำดับ และเมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มีรสขมน้อยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Alc. และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ($p < 0.05$) จึงเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Fla. มาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผง ได้ผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 8.1 ของน้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้น และพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 71.95 ไขมันร้อยละ 0.91 และความชื้นร้อยละ 2.56 โดยมีกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย และพบว่ามีปริมาณกรดกลูตามิก กรดแอสปาร์ติก ซีสทีน และไกลซีนมากถึงร้อยละ 20.74, 14.23, 15.54 และ 12.02 ตามลำดับ
2. จากการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต พบว่ามีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อตรวจสอบโดยวิธี DPPH radical-scavenging activity และ Metal-chelating activity จึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง และเหมาะแก่การนำประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ
3. จากการศึกษาวิธีการผลิตและการคัดเลือกสูตรทั้ง 4 สูตร ในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งพบว่าสูตรที่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตโภชนาหารชนิดแท่งคือ เติมน้ำโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจำนวนร้อยละ 5 ร่วมกับการใช้น้ำร้อยละ 5 แทนน้ำกะทิได้รับคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุดคือ 7.46 คะแนน เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 23.26 ไขมันร้อยละ 13 ความชื้นร้อยละ 5.96 และเถ้าร้อยละ 3.30 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากสูตรที่ไม่ได้เติมน้ำโปรตีนร้อยละ 4.53

4. จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาที่สภาวะเร่งคืออุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความแตกต่างเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม (different from control test) และการยอมรับโดยรวม (hedonic scale) โดยจะยุติการเก็บรักษาเมื่อคะแนนการยอมรับในลักษณะใดลักษณะหนึ่งต่ำกว่า 5 คะแนน พร้อมกับยุติการทดสอบทางด้านเคมี และกายภาพ จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโภชนาหารชนิดแท่งที่เก็บรักษาในสภาวะเร่งคืออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งได้ 21 วัน และ 14 วัน ตามลำดับ เนื่องจากมีคะแนนการยอมรับต่ำกว่า 5 คะแนน จึงยุติการเก็บรักษา และผลการทดสอบทางด้านเคมี และกายภาพ ตลอดจนการเก็บรักษาพบว่าอุณหภูมิสูง และระยะเวลาในการเก็บ มีผลต่อผลิตภัณฑ์คือเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ผลิตภัณฑ์จะมีการเปลี่ยนแปลงในด้านเนื้อสัมผัส และสีของผลิตภัณฑ์อย่างชัดเจน

5. ต้นทุนในการผลิตโภชนาหารชนิดแท่งขนาด 30 กรัม ราคาต่อแท่ง 8.63 บาท ซึ่งผลิตภัณฑ์มีต้นทุนที่ไม่สูงมาก จึงเหมาะที่จะนำมาผลิตจำหน่ายเพื่อใช้เสริมคุณค่าทางโภชนาการในด้านโปรตีนแก่ผู้ที่ต้องการโปรตีน นักกีฬา หรือผู้ที่มีเวลาน้อย เนื่องจากผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งรับประทานง่าย พกพาสะดวก และสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการนำผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาสดไปใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อเป็นการใช้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงอย่างเต็มที่ เช่น ความสามารถในการเป็นอิมัลชัน ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดโฟม เป็นต้น โดยการศึกษาเพิ่มเติม ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับปลาสดที่มีผลผลิตสูงแต่ราคาต่ำ และทำให้ผลิตภัณฑ์มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

2. ควรทำการตรวจสอบข้อมูลทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง และทำการตรวจสอบคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เมื่อเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด และผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสด และเพิ่มระยะเวลาในการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ให้นานยิ่งขึ้น

3. ควรลดต้นทุนในการผลิตผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่งโดยเลือกใช้เศษเหลือของปลาสดแทนเนื้อปลาสด อีกทั้งสามารถเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ชนิดอื่นที่มีความเหมาะสมในการบรรจุผลิตภัณฑ์ โภชนาหารชนิดแท่งที่มีคุณสมบัติเทียบเท่าการใช้บรรจุภัณฑ์จากถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2551. **ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย**. แหล่งที่มา: <http://www.scribd.com>., 1 มีนาคม 2556.

ชวลิต วิทยานนท์, จรัสธาดา กรรณสูต และ จารุจินต์ นกิตะภัก. 2540. **ความหลากหลายของปลาน้ำจืดในประเทศไทย**. สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ.

ไชยา อุษยสุนเนิน. 2531. **การเลี้ยงปลาสาวย**. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน, กรุงเทพฯ.

ณัฐฐา เลาหกุลจิตต์, ไพธิน เพ็ชรทวีพรเดช, อรพิน เกิดชุกกลิ่น และ กนก รัตน์ะกนกชัย. 2554. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากกากถั่วเขียวโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสทางการค้า. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจร**. 34(2): 129-141.

ตลาดไท. 2555. **ราคาสินค้าเกษตร**. แหล่งที่มา: <http://www.talaadthai.com/price>, 1 สิงหาคม 2555.

ธงชัย สุวรรณสิขณณ์. 2535. **การพัฒนาอาหารขบเคี้ยวจากแป้งถั่วลิสงไขมันต่ำผสมแป้งมันสำปะหลังชนิดฟรีเจลาติไนซ์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิธิยา รัตนปนนท์. 2543. **เคมีอาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

น้ำทิพย์ กุหลาบ. 2548. **การพัฒนาข้าวกล้องหอมมะลิชนิดแห้งผสมเนยถั่วลิสง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปกรณ อุ่นประเสริฐ. ม.ป.ป. **การเลี้ยงปลาสาวย**. งานเอกสารแนะนำฝ่ายเผยแพร่และพัฒนาสิ่งพิมพ์การประมง กองส่งเสริมการประมง กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. **เอนไซม์ทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 3. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2551. หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. พิมพ์ครั้งที่ 2. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ปาริฉัตร หงสประภาส. 2548. เอกสารประกอบคำสอนโปรตีนในอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เพ็ญขวัญ ชมปริดา. 2550. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภค. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ไพรัตน์ โสภโณคร. 2539. เอกสารคำสอนเทคโนโลยีการแปรรูปโปรตีน. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหารคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่, สงขลา.
- มยุรี ภาคลำเจียก. 2526. การคาดคะเนอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารโดยใช้รูปแบบทางคณิตศาสตร์, น. 74-84. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 21 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- รุ่งนภา วิสิฐอุดการ. 2540. เอกสารคำสอนการประเมินอายุการเก็บของอาหาร. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วันเพ็ญ มินกาญจน์. 2528. ปลาไทยในสถานแสดงปลาน้ำจืด. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- วิมลศิริ ฐานะสุติ. 2539. การพัฒนาอาหารเข้าสำเร็จรูปแบบผสมชนิดแท่ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรรณภา วงศ์แสงธรรม. 2547. การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ธัญชาติชนิดแท่งจากคัพพะข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิวาพร ศิวเวช. 2535. วัตถุเจือปนในผลิตภัณฑ์อาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศูนย์ภูมิอากาศ. 2555. การคาดหมายลักษณะอากาศของประเทศไทยราย 3 เดือน. แหล่งที่มา:

http://www.tmd.go.th/programs%5Cuploads%5Cforecast%5C2012-04-_3months_153927.pdf,

26 พฤศจิกายน 2555.

สารานุกรมอาหารออนไลน์. 2556 โครงสร้างของกรดอะมิโน. แหล่งที่มา: [http:// www. Foodnetwork solution .com/vocab/wordcap/amino%20acid](http://www.Foodnetworksolution.com/vocab/wordcap/amino%20acid), 5 มกราคม 2556.

สุปราณี เข้มพราย. 2539. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากของเหลือจากโรงงานผลิตซูริมิเพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. กระจาสารท มผช. ๗๐๘/๒๕๔๗. แหล่งที่มา: http://tcps.tisi.go.th/pub%5Ctcps709_47.pdf, 21 กันยายน 2555.

องค์การสะพานปลากรุงเทพ. 2555. ข่าวเศรษฐกิจ. แหล่งที่มา: www.ryt9.com/s/fmo, 12 กรกฎาคม 2555.

อนุวัตร แจ่มชัด. 2549. สถิติสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์และการประยุกต์. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อโนชา สุขสมบูรณ์. 2545. ผลของโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองและรำข้าวต่อผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมโปรตีนและเส้นใยอาหารแบบกรอบพองด้วยการเอกซ์ทรูชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdul-Hamid, A., J. Bakar and G.H. Bee. 2001. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Food Chem.** 78(1): 69–74.

Adler-Nissen, J. 1986. **Enzymatic Hydrolysis of Food Protein.** Vanderblit, New York.

A.O.A.C. 2006. **Official Method of Analysis of AOAC International.** 18th ed. A.O.A.C. International, Maryland.

- BAM. 2001. **Bacteriological Analytical Manual Online Edition 2001 (US-FDA)**. Available Source: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm063346.htm>, February 10, 2013.
- Becker, A. J., J. E. Bagan and M. W. Medri. 1986. **Process for Producing Snack Food Product with High Dietary Fiber Content**. U. S. Patent 4,568,557.
- Benjakul, S. and M.T. Morrissey. 1997. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. **J. Agric. Food Chem.** 45(9): 3423-3430.
- Bhaskar, N., T. Benila, C. Radha and R.G. Lalitha. 2008. Optimization of enzyme hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. **Bioresource Technol.** 99(2): 335-343.
- Bougatef, A., N. Nedjar-Arroume, L. Manni, R. Barkia, D. Guillochon and M. Nasri. 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. **Food Chem.** 118(3):559-565.
- Chalamaiah, M., B.D. Kumar, R. Hemalatha and T. lyothirmayi. 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activity and application: A review. **Food Chem.** 135: 3020-3038.
- Cumby, N., Y. Zhong, M. Naczki and F. Shahidi. 2008. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. **Food Chem.** 109(1): 144-148.
- Dalgleish, J.M. 1990. Fruit-base snacks including dried and candied fruit, pp. 225-245. In R. G. Booth, ed. **Snack Food**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Deman, J.M. 1990. **Principles of Food Chemistry**. Van Nostrand Reinhold, New York.

- Dong, S., M. Zeng, D. Wang, Z. Liu, Y. Zhao and H. Yang. 2007. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). **Food Chem.** 107(4): 1485–1493.
- FAO/WHO. 1985. **Report of joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation**. Ser. No. 724. 284.
- Fennema, O.R. 1996. Water and ice, pp. 17-94. In O.R. Fennema, ed. **Food Chem.** Marcel Dekker, New York.
- FitzGerald, R.J. and G.O. Cuinn. 2006. Enzymatic debitter of food protein hydrolysate. **J. Biotechnol Advances.** 24: 234-237.
- Foh, M.B.K., I. Amadou, B.M. Foh, M.T. Kamara and W. Xia. 2010. Functionality and antioxidant properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the degree of hydrolysis. **Int. J. Mol. Sci.** 11(4): 1851-1869.
- Gerard, J.A. 2002. Protein-protein crosslinking in food: methods consequences applications. **Trends Food Sci Technol.** 13(9): 391-399.
- Ghassem, M., S.S. Fern, M. Said, Z.M. Ali, S. Ibrahim and A.S. Babji. 2011. Kinetic characterization of Channa striatus muscle sarcoplasmic and myofibrillar protein hydrolysates. **J. Food Sci. Technol.** 10.1007/s.13197-011-0526-6.
- Gildberg, A. 1993. Enzymic processing of marine raw materials. **Process Biochem.** 28: 1-15.
- Gobble, H.G., R.M. Vondell and R. Mooi. 1979. **Method of Making a Ready-to-eat Breakfast Cereal**. U.S. Patent 4,178,392.

- Hall, G.M. and N.H. Ahmad. 1992. Functional properties of fish protein of fish protein hydrolysate, pp. 249-270. *In* G. M. Hall, ed. **Fish Processing Technology**. Blackie academic & professional, London.
- Hattori, M., K.Y. Tsukamoto, H. Kumagai, Y. Feng and K. Takahashi. 1998. Antioxidative activity of soluble elastin peptides. **J. Agric. Food Chem.** 46(6): 2167-2170.
- Hayward, J.R., W.L. Keyser and W.J. Zielinski. 1979. **Highly Nutritious, Protein and Vitamin Enriched Food Bar**. U. S. Patent 4,152,463.
- Hemung, B., A. Visetsunthorn and S. Pariwat. 2010. Chemical properties and fatty acid profile of lipids extracted from freshwater fish species, pp. 669-675. *In* **Food Innovation Asia Conference 2010: Indigenous Food Research and Development to Global Market**. Bangkok, Thailand.
- Horn, A.F., N.S. Nielsen and C. Jacobsen. 2008. Additions of caffeic acid, ascorbyl palmitate or γ -tocopherol to fish oil-enriched energy bars affect lipid oxidation differently. **Food Chem.** 112(2): 412-420.
- Howell, N.K. 1996. Chemical and enzymatic modifications, pp. 235-280. *In* S. Nakai and H.W. Modler, eds. **Food Proteins Properties and Characterization**. VCH Publishers, New York.
- Hoyle, N.T. and J.H. Merritt. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). **J. Food Sci.** 59(1): 76-79.
- Hsu, K. 2010. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. **Food Chem.** 122(1):42-48.
- Ibrahim, S.M. 2009. Evaluation of production and quality of salt-biscuits supplemented with fish protein concentrate. **World J. Dairy & Food Sci.** 4(1): 28-31.

- Khantaphant, S., S. Benjakul and H. Kishimura. 2011. Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from the muscle of brownstripe red snapper prepared using pyloric caeca and commercial proteases. **Process Biochem.** 46: 318-327.
- Klompong, V., S. Benjakul, D. Kantachole and F. Shahidi. 2007. Antioxidative activity and function properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepie*) as influenced by the degree of hydrolysate of hydrolysis and enzyme type. **Food Chem.** 102(4): 1317-1327.
- Kocaoglu-Vurma, N.A., A. Eliardi, M.A. Drake, L.E. Rodriguez-Saona and W.J. Harper. 2009. Rapid profiling of Swiss cheese by attenuated total reflectance (ATR) infrared spectroscopy and descriptive sensory analysis. **J. Food Sci.** 74(6): 232-239.
- Kristinsson, H.G. and B.A. Rasco. 2000a. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. **Cri. Rev. Food Sci. Nutri.** 40(1): 43-81.
- Kristinsson, H.G. and B.A. Rasco. 2000b. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. **J. Agric. Food Chem.** 48(3): 657-666.
- Kvitka, E.F. and D.S. Chen. 1982. Fish protein concentrate as a protein supplement in four baked products. **Family and Consumer Science Research Journal** 11: 159-165.
- Labuza, T. P. and M. K. Schmidl. 1985. Accelerated shelf-life testing of food. **Food Technol.** 39(9): 57-62.
- Lalasidis, G., S. Bostrom and L.B. Sjoberg. 1978. Low molecular weight enzymatic fish protein hydrolysates: chemical composition and nutritive value. **J. Agric. Food Chem.** 26(3): 751-756.

- Lea, C.H. and R.S. Hannan. 1949. Studies of the reaction between proteins and reducing sugars in the dry state: I. The effect of activity of water, of pH and of temperature on the primary reaction between casein and glucose. **Biochim. Biophys. Acta.** 3: 313–325.
- Liceaga-Gesualdo, A.M. and E.C.Y. Li-chan. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). **J. Food Sci.** 64(6): 1000-1004.
- Loveday, S.M., J.P. Hindmarsh, L.K. Creamer and H. Singh. 2009. Physicochemical changes in a model protein bar during storage. **Food Res. Int.** 42(7): 798-806.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol Chem.** 193: 265-275.
- Mahesh, T., T.M.R. Setty, T.S. Shetty and C.N. Ravishankar. 1993. Studies on the preparation of functional fish protein concentrate from *Nemipterus japonicus* by enzymatic method. **Fishery Technol.** 30(1): 57-61.
- Matz, S.A. 1984. **Snack Food Technology.** 2nd ed. The AVI Publishing Company Inc., Connecticut.
- Mau, J.L., H.C. Lin, J.T. Ma and S.F. Song. 2001. Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. **Food Chem.** 73(4): 461-466.
- McCance, R.A., E.M. Widdowson and B. Holland. 1991. **McCance and Widdowson's the Composition of Foods.** Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Cambridge.
- Mohr, V. 1980. Enzyme technology in the meat and fish industries. **Process Biochem.** 15: 18-21.
- Morgan, J.E. 1974. **High Protein Food Bar.** U. S. Patent 3,814,819.

- Nawar, W.W. 1996. Lipids, pp. 225-319. *In* O. R. Fennemar, ed. **Food Chem.** Marcel Dekker Inc., New York.
- Nchienzia, H.A., R.O. Morawicki and V.P. Gadang. 2010. Enzymatic hydrolysis of poultry meal with endo-and exopeptidase. **Poult. Sci.** 89(10): 2273-2280.
- Nelson, J.S. 1984. **Fishes of the World.** 2nd ed. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Nielson, P.M. 1997. Functionality of protein hydrolysates, pp. 443-472 *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds. **Food Proteins and their Applications.** Marcel Decker, New York.
- Nilsang, S., S. Lertsiri, M. Suphatharika and A. Assavanig. 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentration by commercial protease. **J. Food Engineering.** 70: 571-578.
- Padmashree, A., G.K. Sharma, K.A. Srihari and A.S. Bawa. 2012. Development of shelf stable protein rich composite cereal bar. **J. Food Sci. Technol.** 49(3): 335-341.
- Pearson, D. 1976. **The Chemical Analysis of Foods.** 7th ed. Churchill Livinstone, Edinburgh.
- Pedersen, B. 1994. Removing bitterness from protein hydrolysates. **Food Technol.** 48(10): 96-98.
- Peterson, M.S. and A.H. Johnson. 1974. **Encyclopedia of Food Technology.** AVI Publishing Company, Connecticut.
- Peterson, M.S. and A.H. Johnson. 1978. **Encyclopedia of Food Science.** AVI Publishing Company, Connecticut.

- Picot, L., S. Bordenave, S. Didelot, I. Fruitier-Arnaudin, F. Sannier, G. Thorkéllsson, J.P. Bergé, F. Guérard, A. Chabeaud and J.M. Piot. 2006. Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. **Process Biochem.** 41(5): 1217–1222.
- Qrskov, E.R., H.S. Soliman and C.F.S. Clark. 1982. Use of fish protein hydrolysate in milk replacers. **Anim. Feed Sci. Tech.** 7(2): 135-140.
- Quaglia, G.B. and E. Orban. 1987. Enzymic solubilisation of proteins of sardine (*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. **J. Sci. Food Agric.** 38(3): 263-269.
- Quaglia, G.B. and E. Orban. 1990. Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina pilchardus*) protein hydrolysate. **J. Food Sci.** 55: 1571-1573.
- Raksakulthai, R. and N.F. Haard. 2003. Exopeptidases and their application to reduce bitterness in food: A review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutri.** 43(4): 401-445.
- Rebeca, B.D., M.T. Peña-Vara and M. Díaz-Castañeda. 1991. Production of fish protein hydrolysates with bacterial protease; yield and nutrition value. **J. Food Sci.** 56(2): 309-314.
- Reilly, A. and C.M.D. Man. 1994. Potato crisps and savoury snack, pp. 202-215. *In* C. M. D. Man and A. A. Jones, eds. **Shelf Life Evaluation of Foods**. Blackie Academic and Professional, London.
- Rice, R. 1990. Health food snacks, pp. 285-300. *In* R.G. Booth, ed. **Snack Food**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Sathivel, S., S. Smiley, W. Prinyawiwatukul and P.J. Bechtel. 2005. Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. **J. Food Sci.** 70(6): 401-406.

- Samaranayaka, A.G.P. and E.C.Y. Li-chan. 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. **J. Functional Food**. 3:229-254.
- Sampath Kumar, N.S., Nazeer, R.A. and R. Jaiganesh. 2011. Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). **Amino Acids**. 42:1641–1649.
- Sarmadia, B.H. and Ismai, A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. **Peptides**. 31:1949–1956.
- Sen, D.P. 1966. **Fish Odors and the Problem of their Removal**. Fish Technology Experiment Station, Mangalore.
- Shahidi, F., X.Q. Han and J. Synowiecki. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chem**. 58(3): 285-293.
- Shamberger, R.J., B.A. Shamberger and C.E. Willis. 1977. Malonaldehyde content of food. **J. Nutr**. 107(8): 1404-1409.
- Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura. 1992. Antioxidant properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. **J. Agric Food Chem**. 40(6): 945-948.
- Sikorski, Z.E. and M. Nacz. 1981. Modification of technological properties of fish protein concentrate. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr**. 14(3): 201-230.
- Slizyte, R., E. Dauksas, E. Falch, I. Storro and T. Rustad. 2005. Yield and composition of different fraction obtained after enzymatic hydrolysate of cod (*Gadus moshua*) by product. **Process Biochem**. 40(3-4): 1415-1424.

- Sun-Waterhouse, D., A. Teoh, C. Massarotto, R. Wibisono and S. Wadhwa. 2010. Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. **Food Chem.** 119(4): 1369-1379.
- Surowka, K. and M. Fik. 1992. Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken heads; I. An application of neutrase to the production of protein hydrolysate. **J. Food Sci. Technol.** 27(1): 9-20.
- Tanuja, S., P. Viji, A.A. Zynudheen and C.G. Joshy. 2012. Composition function properties and antioxidative activity of hydrolysates prepared from the frame meat of Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **J. Biology.** 14: 27-35.
- Tarky, W., O.P. Agawala and G.M. Pigott. 1973. Protein hydrolysate from fish waste. **J. Food Sci.** 38(6): 917-918.
- Thiansilakul, Y., S. Benjakul and F. Shahidi. 2007. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). **Food Chem.** 103(4): 1385-1394.
- Vioque, J., R. Sanchez-Vioque, A. Clemente, J. Pedroche, J. Bautista and F. Millan. 1999. Production and characterization of an extensive rapeseed protein hydrolysate. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 76(7): 819-823.
- Whitaker, J. R. 1994. **Principle of Enzymology for the Food Sciences.** 2nd ed. Marcel Dekker, New York.
- Wroblewska, B. and A. Troszyoska. 2005. Enzymatic hydrolysis of cow's whey milk proteins in the aspect of their utilization for production of hypoallergenic formulas. **Pol. J. Food Nutr. Sci.** 14/55(4): 349-358.

- Yan, D., G. Li, X.H. Xiao, X.P. Dong and, Z.L. Li. 2007. Direct determination of fourteen underivatized amino acids from *Whitmania pigra* by using liquid chromatography-evaporative light scattering detection. **J. Chromatogr. A.** 1138(2): 301–304.
- Yin, H., J. Pu, Y. Wan, B. Xiang, P.J. Bechtel and S. Sathivel. 2010. Rheological and Functional Properties of Catfish Skin Protein Hydrolysates. **J. Food Sci.** 75(1): E11-E17.
- Yu, S.Y. and L.K. Tan. 1990. Acceptibility of crackers (Keropok) with fish protein hydrolysate. **Int. J. Food Sci. Technol.** 25(2): 204-208.
- Yu, S.Y. and L.K. Tan. 1992. Enzymatic solubilization of protein of *Oreochromis mossambicus* by alc. **ASEAN Food J.** 7: 157-158.
- Yu, T.C. and R.O. Sinnhuber. 1967. An improved 2-thiobarbituric acid (TBA) procedure for the measurement of autoxidation in fish oils. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 44(4): 256-258.





ภาคผนวก ก
วิธีการวัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ และการคำนวณปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง

ภาคผนวก ก1 วิธีการวัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ และการคำนวณปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง

1. หาปริมาณโปรตีนที่พบในเอนไซม์ Alc. และ Fla. 1 กรัม ด้วยวิธีของ (Lowry *et al.*, 1951) โดยหั่งเอนไซม์ Alc. และ Fla. จำนวนอย่างละ 1 กรัม มาผสมกับสารละลายซีเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์
2. การเตรียมสารละลายซีเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ประกอบด้วย
 - 2.1 0.1 M Citric acid จำนวน 19.21 กรัม กับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร
 - 2.2 0.2 M Sodium hydrogen phosphate heptahydrate จำนวน 71.7 กรัม กับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำข้อ 2.1 และ 2.2 มาผสมกัน แล้วปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 7
3. เตรียมสารละลาย Lowry solution ผสมสาร A:B:C ในอัตราส่วน 100:1:1 มิลลิลิตร

สาร A คือ 2% (w/v) Na_2CO_3 ซึ่งละลายใน 0.1 N NaOH (เตรียม 0.1 N NaOH โดยละลาย NaOH จำนวน 0.4 กรัมกับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น)

สาร B คือ 1% (w/v) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ โดยละลาย $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร

สาร C คือ 2% (w/v) $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ โดยละลาย $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.2 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร
4. การสร้างกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่พบอยู่ในเอนไซม์
 - 4.1 เตรียมสารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลาย L-tyrosine จำนวน 0.2 กรัม กับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางในแต่ละหลอดทดลองด้วยอัตราส่วนดังตารางผนวกที่ 1

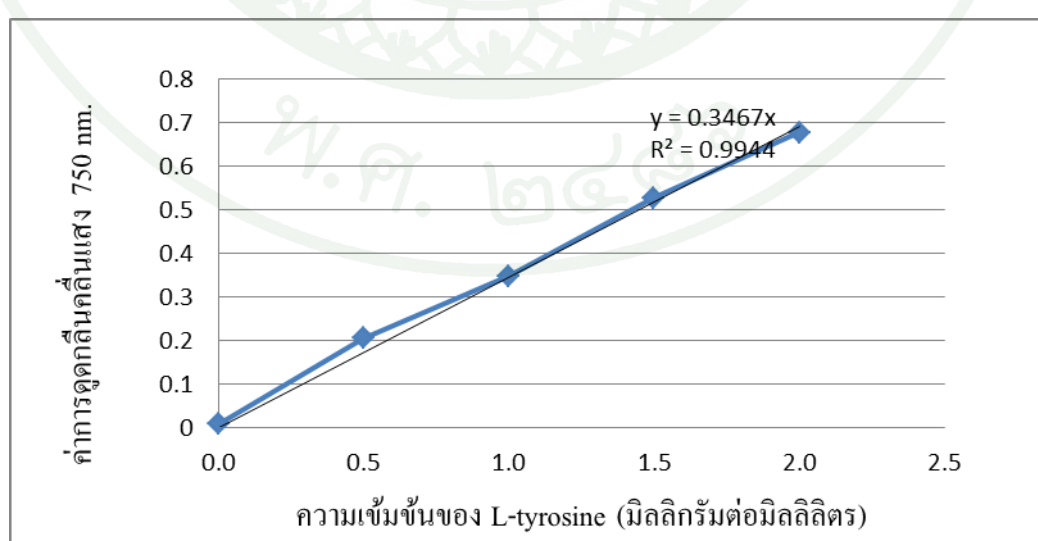
ตารางผนวกที่ ก1 วิธีการเตรียมสารละลาย L-tyrosine ที่ความเข้มข้นต่างๆ

หลอดที่	ปริมาณสารละลาย L-tyrosine (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	0	5.00	0
2	1.25	3.75	0.5
3	2.50	2.50	1.0
4	3.75	1.25	1.5
5	5.00	0	2.0

4.2 เติมสารละลาย Lowry solution จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 20 นาที

4.3 เติมสารละลาย folin reagent จำนวน 3 มิลลิลิตร (เตรียม folin reagent ได้โดยผสมสารละลาย folin กับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 แล้วนำไปใช้ทันที) ทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ทำการบันทึกค่าการดูดกลืนแสง

4.4 นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน ให้แกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine แกน y คือ ค่าการดูดกลืนแสง



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่าปริมาณโปรตีนของ L-tyrosine

ตารางผนวกที่ ก2 ปริมาณโปรตีนที่พบในเอนไซม์ Fla. และ Alc. กรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม

ชนิดของเอนไซม์	ปริมาณโปรตีนที่พบ (กรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม)
Fla.	0.1669±0.24
Alc.	0.1688± 0.30

พบว่าในเอนไซม์ Alc. 1 กรัม มีปริมาณโปรตีนอยู่ 0.1688 กรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม และในเอนไซม์ Fla. 1 กรัม มีปริมาณโปรตีนอยู่ 0.1669 กรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม เมื่อทราบปริมาณโปรตีนที่แน่นอนของเอนไซม์แต่ละชนิด จะนำไปเตรียมสารละลายเอนไซม์ เพื่อใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต โดยเตรียมจากน้ำหนักโปรตีนของเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนของปลาสดผ่านการกำจัดไขมัน

พบว่าในเนื้อปลา 100 กรัม มีโปรตีนอยู่ 19.70 กรัม (19.70%)
พบว่าในเนื้อปลา 10 กรัม มีโปรตีนอยู่ $19.70 \times 10 / 100 = 1.97$ กรัม

ตัวอย่างวิธีคิด เอนไซม์ Alc.

ดังนั้น ถ้าต้องการใส่เอนไซม์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเนื้อปลาสดผ่านการกำจัดไขมัน

แสดงว่า ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา 100 กรัม จะใส่เอนไซม์ 2 กรัม
แต่ปริมาณ โปรตีนในเนื้อปลา 1.97 กรัม จะใส่เอนไซม์ $2 \times 1.97 / 100 = 0.04$ กรัม

แต่ ทราบโปรตีน 0.1688 กรัม มาจากเอนไซม์ 1 กรัม
ถ้าต้องการ 0.04 กรัม มาจากเอนไซม์ $1 \times 0.04 / 0.1688 = 0.24$ กรัม

* เปลี่ยนตามชนิดของเอนไซม์ และความเข้มข้นที่ต้องการ



ภาคผนวก ข1 วิธีการเตรียมรสชาติ และกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซวาย

ตารางผนวกที่ ข1 วิธีการเตรียมรสชาติ และกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซวาย หลังจากผ่าน
การย่อยด้วยเอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน ที่ระดับความเข้มข้น
ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของโปรตีนในเอนไซม์ต่อน้ำหนักโปรตีนปลาซวายที่ผ่านการ
กำจัดไขมัน ใช้เวลาในการย่อย 180 นาที

คุณสมบัติ	การเตรียมตัวอย่าง
รสชาติ	
รสขม	รสขมระดับ 5 ใช้ Caffeine ร้อยละ 0.5 ผสมกับน้ำ
(Wroblewska and Troszyoska, 2005)	รสขมระดับ 3 ใช้ Caffeine ร้อยละ 0.25 ผสมกับน้ำ
	รสขมระดับ 1 ใช้ Caffeine ร้อยละ 0.125 ผสมกับน้ำ
รสอโรย	รสอโรยระดับ 5 ใช้ MSG ร้อยละ 1 ผสมกับน้ำ
(Kocaoglu-Vurma <i>et al.</i> , 2009)	รสอโรยระดับ 3 ใช้ MSG ร้อยละ 0.5 ผสมกับน้ำ
	รสอโรยระดับ 1 ใช้ MSG ร้อยละ 0.25 ผสมกับน้ำ
กลิ่น	
กลิ่นคาวปลา	กลิ่นคาวปลาระดับ 5 ใช้เนื้อปลาซวายสด ร้อยละ 20 ผสมกับน้ำ
	กลิ่นคาวปลาระดับ 3 ใช้เนื้อปลาซวายสด ร้อยละ 10 ผสมกับน้ำ
	กลิ่นคาวปลาระดับ 1 ใช้เนื้อปลาซวายสด ร้อยละ 5 ผสมกับน้ำ
กลิ่นไข่	กลิ่นไข่ระดับ 5 ใช้เฉพาะไข่ขาว ร้อยละ 40 ผสมกับน้ำ ต้ม 1 นาที
	กลิ่นไข่ระดับ 3 ใช้เฉพาะไข่ขาว ร้อยละ 20 ผสมกับน้ำ ต้ม 1 นาที
	กลิ่นไข่ระดับ 1 ใช้เฉพาะไข่ขาว ร้อยละ 10 ผสมกับน้ำ ต้ม 1 นาที

ภาคผนวก ข2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Scoring test (เพ็ญขวัญ, 2550)

ตัวอย่าง โปรตีนไฮโดรไลเซต วันที่ ชื่อผู้ทดสอบ.....

คำแนะนำ กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์แล้วประเมินความเข้มของ กลิ่น และรสชาติ โดยการให้คะแนนของ
ลักษณะต่างๆ

5 มากที่สุด 4 มาก 3 ปานกลาง 2 น้อย 1 น้อยมาก

ลักษณะคุณภาพ	รหัส	รหัส	รหัส
รสอร่อย			
กลิ่นคาวปลา			
กลิ่นไข่			
รสขม			

เสนอแนะ.....
.....

ภาคผนวก ข3 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อทดสอบความชอบ และการยอมรับที่มีต่อผลิตภัณฑ์
แบบ Hedonic scale 9 Point (เพ็ญขวัญ, 2550)

ตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง วันที่ ชื่อผู้ทดสอบ.....

คำแนะนำ: ทดสอบตัวอย่างแล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างตามคำอธิบายคะแนนความชอบ
ดังระดับที่กำหนด และกรณียบ้วนปากระหว่างตัวอย่าง

1 = ไม่ชอบมากพิเศษ 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉย ๆ
6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากพิเศษ

รหัส				
ลักษณะปรากฏ				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
เนื้อสัมผัส				
ความชอบรวม				
ข้อเสนอแนะ.....				

ภาคผนวก ข4 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส ทดสอบความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม
(Different from control test) (เพ็ญขวัญ, 2550)

ตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์โภชนาหารชนิดแท่ง วันที่ ชื่อผู้ทดสอบ

.....

เพื่อหาความแตกต่างของโภชนาหารชนิดแท่งที่ทำการเก็บรักษาในสภาวะเร่ง เป็นระยะเวลาต่างๆ

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของตัวอย่างกับตัวอย่าง C (control) แล้วให้

คะแนนที่บอกถึงระดับความแตกต่างที่เหมาะสม

1 = ไม่แตกต่าง 2 = แตกต่างเล็กน้อย 3 = แตกต่างปานกลาง 4 = แตกต่างมาก
 5 = แตกต่างมากเป็นพิเศษ

	รหัส blind	รหัส.....	รหัส.....
ลักษณะปรากฏ			
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบรวม			

เสนอแนะ.....



ภาคผนวก ค1 การวัดสี

1. การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โภชนาหารชนิดแท่งโดยบดให้เต็มตลับเท่ากับขนาดของตลับที่ใช้วัดสี

2. วิธีการทดลอง

- 2.1 นำตัวอย่างวัดสีในระบบ CIE โดยวัดค่า L^* a^* และ b^* โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบ Day light
- 2.2 Calibrate เครื่องวัดสีด้วย Zero Calibration CM-A12 และ White Calibration Plate CM-A120 เลือกแผ่น Target Mark ชนิด Large (LAV)
- 2.3 วางตัวอย่างที่เตรียมไว้ใน cell สำหรับวัดสี วัดค่า 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้หาค่าเฉลี่ย

ภาคผนวกที่ ค2 การวัดแรงกดของโภชนาหารชนิดแท่งด้วย เครื่อง Texture Analyser TA-HD

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างจริงของโภชนาหารชนิดแท่งมาวางที่แท่นวัด

2. วิธีการทดลอง

วัดค่าเนื้อสัมผัสของโภชนาหารชนิดแท่งที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์คุณภาพลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความแข็งโดยเครื่องวัด Stable Micro system TA-HD ใช้หัววัดในลักษณะกดแบบใบมีด HDP/BSG (Blade set with guillotine) ซึ่งแทนลักษณะการตัดของฟัน จัดสภาวะเครื่องดังนี้ pre-test speed 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที post-test speed 10.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ระยะทางในการเคลื่อนที่ของหัววัดเคลื่อนที่ตกลงในตัวอย่าง 8 มิลลิเมตร ทำการวัดจำนวน 3 ครั้ง

ภาคผนวกที่ ค3 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิด
ผงจากปลาซวาย ด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging activity (Klompong *et al.*, 2007)

1. อุปกรณ์

- 1.1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV-VIS Spectrophotometer)
- 1.2 ขวดปริมาตร (volumetric flask)
- 1.3 หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 25×150 มิลลิเมตร

2. สารเคมี

- 2.1 สารละลาย DPPH
- 2.2 เอทานอลร้อยละ 95
- 2.3 α -tocopherol
- 2.4 BHA

3. วิธีการ

- 3.1 เตรียมสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายจำนวน 40 มิลลิกรัมละลาย
ในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร
- 3.2 เตรียมสารละลาย DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอลร้อยละ 95
- 3.3 นำโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวายที่ทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ
จากนั้นดูดสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซต จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH จำนวน 2
มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง
ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
- 3.4 BHA และ α -tocopherol เป็นตัวเทียบมาตรฐาน (เตรียมที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ
โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาซวาย)
- 3.5 ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH} = 1 - (A_{517} \text{ of sample} / A_{517} \text{ of control}) \times 100$$

A_{517} of sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง และสารละลาย DPPH

A_{517} of control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำกลั่น และสารละลาย DPPH

ภาคผนวก ก4 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารจับโลหะของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวย ด้วยวิธี Metal-chelating activity (ดัดแปลงมาจาก Klompong *et al.*, 2007)

1. อุปกรณ์

- 1.1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV-VIS Spectrophotometer)
- 1.2 ขวดปริมาตร (volumetric flask)
- 1.3 หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 25×150 มิลลิเมตร

2. สารเคมี

- 2.1 สารละลาย FeCl_2
- 2.2 ferrozine
- 2.3 EDTA

3. วิธีการ

- 3.1 เตรียมสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยจำนวน 10 มิลลิกรัมละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร
- 3.2 เตรียมสารละลาย FeCl_2 ให้มีความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ในน้ำกลั่น
- 3.3 เตรียมสารละลาย ferrozine ให้มีความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ในน้ำกลั่น
- 3.4 นำโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงจากปลาสาวยที่ทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นดูดสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซต จำนวน 3.7 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย FeCl_2 จำนวน 0.1

มิลลิลิตร จากนั้นเติม ferrozine จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

3.5 EDTA เป็นตัวเทียบมาตรฐาน (เตรียมที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับโปรตีนไฮโดรไลเซต ชนิดผงจากปลาสาวย)

3.6 ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัด FeCl_2 จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกำจัด } \text{FeCl}_2 = 1 - (A_{562} \text{ of sample} / A_{562} \text{ of control}) \times 100$$

A_{562} of sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง และ ferrozine

A_{562} of control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำกลั่น และสารละลาย ferrozine

ภาคผนวก ค5 การวิเคราะห์ค่า TBA (Yu and Sinnhuber, 1967)

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV-VIS Spectrophotometer)

1.2 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge)

1.3 หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 20×150 มิลลิเมตร

1.4 ขวดปริมาตร

2. สารเคมี

2.1 Thiobabituric acid โดยละลายกรดไทโอบาร์บิทูริก 1 กรัม ในสารละลาย NaOH 0.1 N จำนวน 75 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรของสารละลายครบ 100 มิลลิลิตร

2.2 สารละลาย TCA และกรดเกลือ เตรียมโดยผสม TCA เข้มข้นร้อยละ 25 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จำนวน 50 มิลลิลิตร กับ HCl เข้มข้น 0.6 N จำนวน 30 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 420 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.3 สารละลาย EDTA เข้มข้นร้อยละ 20 เตรียมโดยละลาย EDTA จำนวน 20 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรของสารละลายครบ 100 มิลลิลิตร

2.4 สารละลายกันเหิน

2.4.1 ละลาย BHA จำนวน 0.3 กรัม ใน Propyleneglycol 5.4 กรัมต่อมิลลิลิตร

2.4.2 ละลาย BHT จำนวน 0.3 กรัม ใน Tween 20 (Polyoxyethylene sorbitan monolaurate) จำนวน 4.0 มิลลิลิตร อุ้มนจน BHT ละลายหมด ผสมสารละลายทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันใส่ขวดเก็บไว้ในตู้เย็น

3. วิธีการ

3.1 ชั่งน้ำหนักแน่นอนของตัวอย่างที่บดละเอียดแล้ว 200 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลองชนิดมีจุกเกลียวขนาด 20x150 มิลลิเมตร เติมสารละลาย EDTA 1 มิลลิลิตร สารละลายกันเหิน 3 หยด สารละลายกรดไทโอบาร์บิทริก 3 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมนาน 3 วินาที เติมสารละลายกรดไตรคลอโรแอซิดิกผสมกรดเกลือจำนวน 17 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมก๊าซไนโตรเจนเล็กน้อย ปิดจุกเกลียวให้แน่น เขย่าให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที และทำให้เย็นทันทีด้วยการผ่านน้ำ ถ่ายสารละลายใส่หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เติมคลอโรฟอร์มจำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมนาน 2 วินาที นำไปใส่เครื่องหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 นาที

3.2 นำสารละลายส่วนใสตอนบนวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 535 นาโนเมตร

3.3 การคำนวณ

$$\text{TBA number} = 46 \times \text{Abs}_{535} \text{ (หน่วยเป็น มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์ต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม)}$$

หมายเหตุ ค่า TBA number คือ ค่า Abs_{535} ของตัวอย่าง 1 กรัม ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร คูณด้วยค่าแฟกเตอร์เท่ากับ 46



ภาคผนวก ง
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ภาคผนวก ง1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2006)

1. อุปกรณ์

- 1.1 ตู้อบความร้อน (hot air oven)
- 1.2 ขวดชั่งหาความชื้น (weighing bottle)
- 1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 1.4 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance)

2. วิธีการ

- 2.1 ให้น้ำหนักคงที่ของขวดชั่ง โดยนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าตู้อบใหม่ดำเนินการเหมือนครั้งแรกจนได้น้ำหนักคงที่
- 2.2 เกลี่ยตัวอย่างแผ่ออกอย่างสม่ำเสมอให้มีเนื้อที่มากที่สุดประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในขวดชั่งที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
- 2.3 นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าตู้อบใหม่ ดำเนินการเหมือนครั้งแรกจนได้น้ำหนักคงที่
- 2.4 นำผลที่ได้ไปคำนวณ ปริมาณความชื้น ดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ภาคผนวก ง2 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาล (A.O.A.C., 2006)

1. อุปกรณ์

- 1.1 ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
- 1.2 ชุดกลั่นโปรตีน (Semi-micro distillation apparatus)
- 1.3 ขวดปรับปริมาตร(volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 1.4 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 1.5 บิวเรตต์ (burette) ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. สารเคมี

- 2.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น ร้อยละ 98
- 2.2 สารเร่งปฏิกิริยา selenium reagent mixture
- 2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 32 โดยน้ำหนัก เตรียมโดยชั่ง NaOH 320 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.4 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก เตรียมโดยชั่งกรดบอริก 20 กรัมด้วยละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.5 สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 N นำไป standardize ด้วย KHP (Potassium hydrogen phthalate) เตรียมโดยนำ KHP อบในตู้ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นชั่งน้ำหนัก KHP 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาผสมกับ phenolphthalein 2-3 หยด ไตเตรทกับ 0.1 N NaOH จะได้ความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH จากนั้นนำกรดซัลฟูริกที่เตรียมได้ 0.1 N มาผสมกับ phenolphthalein 2-3 หยด ไตเตรทกับ NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนจนได้สารละลายสีชมพู กำหนดโดยใช้สูตร $N_1 V_1 = N_2 V_2$
- 2.6 มิกซ์อินดิเคเตอร์ เตรียมโดย ชั่งเมทิลินบลู 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 200 มิลลิลิตร และชั่งเมธิลเรด 0.05 กรัม ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร เวลาใช้นำมาผสมในอัตราส่วน 2:3

3. วิธีการ

3.1 ชั่งตัวอย่างบนกระดาษชั่งสารให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ห่อให้มีคซิไดส์ลงในขวดย่อยโปรตีน

3.2 เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 98 จำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดย่อย (Kjeldahl flask) ประกอบเข้ากับเครื่องย่อย (digest) ให้ความร้อนในตู้คว้น จนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็นหรือพออุ่นๆ

3.3 นำไปกลั่นโดยใช้เครื่อง Buchi 323 เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร และ NaOH เข้มข้นร้อยละ 32 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.4 รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับมิกซ์อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ซึ่งเป็นสารที่ใช้จับแอมโมเนียที่กลั่นได้ กลั่นจนกระทั่งมีปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3.5 นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 N จนกระทั่งถึงจุดยุติจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู

3.6 ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times N \times 0.0014 \times 6.25 \times 100}{W \times 0.1}$$

A = ปริมาณของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาณของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (N) ที่แท้จริง

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ภาคผนวก ง3 การวิเคราะห์ค่า DH (Degree of hydrolysis, DH) (Hoyle and Merritt 1994)

1. อุปกรณ์

- 1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge)
- 1.2 หลอดทดลองชนิดมีจุกเกลียวขนาด 20×150 มิลลิเมตร

2. สารเคมี

- 2.1 กรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA)

3. วิธีการ

3.1 นำโปรตีนไฮโดรไลเซตหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ มาหยุดปฏิกิริยด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแยกด้วยความเร็ว 7500×g นาน 15 นาที จากนั้นนำส่วนของเหลวในปริมาณที่แน่นอน ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย TCA ความเข้มข้นร้อยละ 20 ในปริมาณที่เท่ากัน เขย่าให้เข้ากันประมาณ 2 นาที

- 3.2 นำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (A.O.A.C., 2006)

การคำนวณ

$$\%DH = \frac{10\% \text{ TCA soluble N in sample} \times 100}{\text{Total N in sample}}$$

หมายเหตุ 10% TCA soluble N in sample คือปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซต หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ มาหยุดปฏิกิริยด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน

15 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแยกด้วยความเร็ว 7500×g นาน 15 นาที จากนั้นนำส่วนของเหลวในปริมาณที่แน่นอน ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย TCA ความเข้มข้นร้อยละ 20

Total N in sample คือปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในเนื้อปลาสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน

ภาคผนวก ง4 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2006)

1. อุปกรณ์

- 1.1 เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace)
- 1.2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
- 1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 1.4 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance)

2. วิธีการ

2.1 เเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ปิดสวิตช์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30-40 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

2.2 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ตัวอย่างแห้งประมาณ 2 กรัม ตัวอย่างสด 8-12 กรัม) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาในตู้ควั่นจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ปิดสวิตช์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30-40 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา}}$$

ภาคผนวก ง5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 2006)

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) ประกอบด้วย ถ้วย (cup) สำหรับใส่ตัวทำละลาย เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน

1.2 หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)

1.4 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance)

1.5 ตู้อบ (hot air oven)

2. สารเคมี

2.1 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

3. วิธีการ

3.1 ถ้วย (cup) สำหรับใส่ตัวทำละลาย อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนน้ำหนักคงที่

3.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างบนกระดาษกรอง (ตัวอย่างแห้งประมาณ 2 กรัม ตัวอย่างสด 5-10 กรัม ควรนำไปอบประมาณ 1-2 ชั่วโมง) ใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

3.3 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์จำนวน 50 มิลลิลิตร ลงในถ้วย (cup) สำหรับใส่ตัวทำละลาย ประกอบเข้ากับเครื่อง ทำการสกัดไขมันประมาณ 15 นาที

3.4 นำถ้วย (cup) มาชั่งน้ำหนัก (ถ้ามีตัวทำละลายติดมาเล็กน้อยอาจนำไปประเหยที่อุณหภูมิต่ำๆ จากนั้นปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก)

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$



ภาคผนวก จ1 การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) (ดัดแปลงมาจาก BAM., 2001)

1. อุปกรณ์

- 1.1 จานเพาะเชื้อ (petri dish)
- 1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar
- 1.3 หลอดฝาเกลียวขนาด 16×150 มิลลิเมตร
- 1.4 ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 1 มิลลิลิตร
- 1.5 ขวดเก็บสาร (laboratory bottle)
- 1.6 เครื่องตีผสมตัวอย่าง (stomacher)

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างทำโดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ ใส่ลงในสารละลายสำหรับทำเจือจาง คือสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 (normal saline) จำนวน 225 มิลลิลิตร ตีตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมตัวอย่าง (stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

2.2 ใช้วิธี pour plate technique โดยปิเปตต์ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ทำซ้ำความเจือจางละ 3 จานแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ลงไป เขย่าเบาๆเพื่อให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกันนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

2.3 การอ่านผล คัดเลือกจานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี มานับจำนวนโคโลนี แล้วบันทึกผล

2.4 หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ แล้วคูณด้วยค่า dilution factor ของความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนี (colony forming unit หรือ CFU) ที่พบในตัวอย่าง 1 กรัม

ภาคผนวก จ2 การวิเคราะห์ยีสต์และรา (Yeast and Mold) (ดัดแปลงมาจาก BAM., 2001)

1. อุปกรณ์

- 1.1 จานเพาะเชื้อ (petri dish)
- 1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar
- 1.3 tartaric acid ร้อยละ 10
- 1.4 หลอดฝาเกลียวขนาด 16×150 มิลลิเมตร
- 1.5 ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 1 มิลลิลิตร
- 1.6 ขวดเก็บสาร (laboratory bottle)
- 1.7 เครื่องตีผสมตัวอย่าง (stomacher)

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างทำโดย ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ ใส่ลงในสารละลายสำหรับทำเชื้อจาง คือสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 (normal saline) จำนวน 225 มิลลิลิตร ตีตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมตัวอย่าง (stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

2.2 ใช้วิธี pour plate technique โดยปิเปตต์ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ทำซ้ำความเจือจางละ 3 จาน แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ 3.5 โดยใช้ร้อยละ 10 ของ tartaric acid ลงไปในจานเพาะเชื้อ เขย่าเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกัน

2.3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3-5 วัน

2.4 การอ่านผล คัดเลือกจานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี มานับจำนวนโคโลนี แล้วบันทึกผล

2.5 หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ แล้วคูณด้วยค่า dilution factor ของความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนี (colony forming unit หรือ CFU) ที่พบในตัวอย่าง 1 กรัม



ตารางผนวกที่ ๑1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้น และระยะเวลา ที่มีผลต่อค่า DH ของ
เอนไซม์ Fla., Alc. และเอนไซม์สองชนิดผสมกัน

ชนิดของเอนไซม์	สภาวะ	df	SS	MS	F
Fla.	ความเข้มข้น	2	254.732	127.366	10.805*
	เวลา	2	1509.363	754.681	64.025 *
	ความเข้มข้น*เวลา	4	33.211	8.303	0.704 ^{ns}
	Error	18	212.171	11.787	
Alc.	ความเข้มข้น	2	219.633	109.817	56.026*
	เวลา	2	1693.617	846.808	432.020*
	ความเข้มข้น*เวลา	4	52.829	13.207	6.738*
	Error	18	35.282	1.960	
Alc+Fla (1:1)	ความเข้มข้น	2	658.046	329.023	1142.177*
	เวลา	2	575.007	287.504	998.045*
	ความเข้มข้น*เวลา	4	35.140	8.785	30.496*
	Error	18	5.185	0.288	

หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นิลุบล เล่าอัน
เกิดวันที่	11 มกราคม 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดอุบลราชธานี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-