



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)

ปริญญญา

พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร

พัฒนาผลิตภัณฑ์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ด้วยปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะด้วยเอนไซม์
โปรติเอสเพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ

Dried Protein Hydrolysate Powder from Chicken Breast Meat with Enzymatic Hydrolysis
Using as Ingredient in Prototype Beverage Product

นามผู้วิจัย นางสาวเสาวภา จันทร์เทศ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทานตะวัน พิทักษ์ วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์กมลวรรณ แจ่มชัด, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสีทิจี มทวิตยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ด้วยปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะด้วยเอนไซม์
โปรติเอสเพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ

Dried Protein Hydrolysate Powder from Chicken Breast Meat with Enzymatic Hydrolysis
Using as Ingredient in Prototype Beverage Product

โดย

นางสาวเสาวภา จันท์เทศ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2557

เสาวภา จันทร์เทศ 2557: โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ด้วยปฏิกิริยาการย่อยสลาย
พันธะด้วยเอนไซม์โปรติเอส เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร) สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชา
พัฒนาผลิตภัณฑ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทานตะวัน พิรัชย์, วท.ค.
126 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้อ
อกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase®) และ
เอนไซม์ฟลาโวไซม์ (Flavourzyme®) และศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพ ระดับการย่อยสลาย หรือ DH และ
กิจกรรมการยับยั้งเอนจิโอเทนซิน I คอนเวิร์ตติ้งเอนไซม์ หรือ ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้ จากนั้นทำ
การคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้ให้ผลกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุดมาศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ และนำมา
ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ ในการศึกษาสภาวะการย่อยสลายมีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของ
เอนไซม์ (0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีน) อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ (1:2 และ 1:3) และ
ระยะเวลาในการย่อยสลาย (60 120 180 240 และ 300 นาที) โดยวางแผนการวิจัยแบบแฟคทอเรียลในแผนการวิจัย
แบบสุ่มตลอด จากการศึกษาพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีกิจกรรมการ
ยับยั้ง ACE ได้สูงกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ดังนั้นจึงคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
อัลคาเลสมาการศึกษาต่อ เนื่องจากมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 73.54 และ DH เท่ากับ ร้อยละ
33.82 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีน ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และอัตราส่วน
สารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 โดยมี ความชื้น เท่ากับ ร้อยละ 7.17 ปริมาณโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 84.22 ร้อยละ
ผลผลิตเท่ากับ 9.71 ค่าความสว่าง เท่ากับ 78.72 ค่าความเป็นสีแดง เท่ากับ 0.45 และค่าความเป็นสีเหลือง เท่ากับ 30.91
จากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่า มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่ำกว่า 5 กิโลดาลตัน
ความสามารถในการละลาย เท่ากับ ร้อยละ 95 ความคงตัวของอิมัลชัน และความสามารถการเกิดอิมัลชัน เท่ากับ
153.51 ตารางเมตรต่อกรัม และ 33.11 นาทีตามลำดับ ความสามารถในการเกิดฟอง เท่ากับ 2.5 และความสามารถใน
การดูดซับไขมัน เท่ากับ 1.46 เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซตตัวอย่างดังกล่าวมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม
ต้นแบบ (น้ำอุนแดง) พบว่า น้ำอุนแดงที่พัฒนาขึ้นมีส่วนผสมคือ น้ำอุนแดงเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำร้อยละ 80.43
น้ำตาลซูโครสร้อยละ 9.5 กรดซิตริกร้อยละ 0.07 และโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งร้อยละ 0.0017 โดย
น้ำหนัก ได้รับความชอบมากที่สุด และมีค่าความสว่างเท่ากับ 4.59 ค่าความเป็นสีแดง เท่ากับ 20.50 ค่าความเป็นสี
เหลือง เท่ากับ 6.89 ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.00 มีปริมาณกรดทั้งหมด เท่ากับ ร้อยละ 0.25 มีปริมาณ
ของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 15 องศาบริกซ์ และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมด น้อย
กว่า 10 cfu/ml

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Saowapa Jantad 2014: Dried Protein Hydrolysate Powder from Chicken Breast Meat with Enzymatic Hydrolysis Using as Ingredient in Prototype Beverage Product. Master of Science (Agro-Industrial Product Development), Major Field: Agro-Industrial Product Development, Department of Product Development. Thesis Advisor: Assistant Professor Tantawan Pirak, Ph.D. 126 pages.

The objective of this research was to study optimum conditions for producing protein hydrolysates powder from chicken breast meat using two different commercial proteinase (Alcalase® and Flavourzyme®) hydrolysis and study their Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity, degree of hydrolysis (DH) chemical and physical properties. The protein hydrolysates powder with highest ACE inhibitory activity was selected to study functional properties including molecular weight, solubility, emulsion, foaming capacity and fat absorption. The utilization in prototype beverage product was also studied. Factors studied in the study of optimum conditions was enzyme concentration (0.3, 0.6 and 0.9 of protein), substrate to buffer solution ratio (1:2 and 1:3) and hydrolysis time (60, 120, 180, 240 and 300 min). The experimental design was factorial in CRD. Protein hydrolysates powder from chicken breast meat hydrolyzed with Alcalase® had higher ACE inhibitory activity than Flavourzyme®. Hence, protein hydrolysates powder from chicken breast meat hydrolyzed with Alcalase® was selected. The ACE inhibitory activity of this sample (0.9% enzymatic concentration, substrate to buffer solution ratio at 1:2 and hydrolysis time at 180 min) was 73.54% with DH at 33.82%, moisture content at 7.17%, protein content at 84.22%, yield at 9.71%, lightness (L*) at 78.72, redness (a*) at 0.42 and yellowness (b*) at 30.91, respectively. The functional properties of the selected protein hydrolysate powder was determined. The protein hydrolysate powder had molecular weight below 5 kDa, solubility capacities at 95%, emulsion capacities at 153.51 m²/g, emulsion stability at 33.11 min, foaming capacities at 2.5 and fat absorption at 1.46, respectively. The feasibility for using the selected protein hydrolysates powder as an ingredient in prototype beverage product and its effect on sensory, physical, chemical and microbial properties of the beverage were determined. It was found that prototype beverage product composed of 10% concentration grape juice, 80.43% water, 9.5% sucrose, 0.07% citric acid and 0.0017% protein hydrolysates powder. This sample had the highest overall liking score and lightness (L*) at 4.59, redness (a*) at 20.50, yellowness (b*) at 6.89, pH at 3.00, acid concentration of 0.25%, total soluble solid at 15°brix, total bacterial and total yeast and mold less than 10 cfu/ml.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่างๆ แก่ข้าพเจ้า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทานตะวัน พิรัช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์กมลวรรณ แจ่มชัด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำระหว่างการดำเนินการวิจัยตลอดทั้งการตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่สนับสนุนด้านการเงินเพื่อใช้ในการ งานวิจัย และคุณกิตติกร พูลทวี ศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโกร จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านวัตถุดิบ และให้คำแนะนำระหว่างการดำเนินการวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี บริษัท เบรนน์แท็ก อินกรี เดียนส์ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ บริษัท นูบุณ จำกัด ที่ให้ความ อนุเคราะห์น้ำองุ่นแดงเข้มข้นเพื่อใช้ในการงานวิจัยนี้ และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยา เขตพญาไท ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ผู้ดูแลให้คำแนะนำ ระหว่างการดำเนินการวิจัยจนงานวิจัยนี้สำเร็จ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทุกท่านที่เป็นผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดจนให้ คำแนะนำสั่งสอนต่างๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางเคมี กายภาพ ชีวภาพ ประจำ ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโท และเอกทุกท่านที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน คำแนะนำ คำปรึกษา ความอนุเคราะห์ และช่วยแก้ปัญหาในด้านต่างๆ จนงานวิจัยนี้สำเร็จไปได้อย่างสมบูรณ์

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณอา คุณยาย น้องชาย รวมทั้งผู้มีพระคุณที่ ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้ทุกท่าน สำหรับความรัก ความห่วงใย ความเข้าใจ และกำลังใจที่มีให้มา ตลอดจนสำเร็จการศึกษา สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอมอบส่วนที่ดีของวิทยานิพนธ์ให้แก่ครูบาอาจารย์และผู้ มีพระคุณทุกท่าน หากมีความผิดพลาดประการใดข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้เพียงผู้เดียว

เสาวภา จันทรเทศ

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	27
อุปกรณ์	27
วิธีการ	30
ผลและวิจารณ์	44
สรุปและข้อเสนอแนะ	89
สรุป	89
ข้อเสนอแนะ	91
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	92
ภาคผนวก	106
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	107
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา	116
ภาคผนวก ค แบบสอบถามและแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	119
ภาคผนวก ง มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำองุ่น (มผช. 165/2546)	123
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	126

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 กรดอะมิโนที่มีอยู่ในโปรตีนเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ	5
2 ส่วนประกอบทางเคมีในชิ้นส่วนต่างๆของเนื้อไก่ชำแหละ	6
3 สิ่งทดลองของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	31
4 สิ่งทดลองของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	32
5 สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำจืดแบบ (น้ำจืดแดง)	40
6 สูตรในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำจืดแบบ (น้ำจืดแดง) ร่วมกับโปรตีนโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่	42
7 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้ออกไก่ละเอียด	45
8 ปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	46
9 ปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	48
10 ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	49
11 ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	51
12 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	53
13 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	54
14 ค่าความสว่าง (L*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	56
15 ค่าความเป็นสีแดง (a*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
16 ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส	58
17 ค่าความสว่าง (L^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	60
18 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	61
19 ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์	62
20 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด	81
21 ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบ โดยวิธี 9-point hedonic scale test ของน้ำอุนแดง	83
22 ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบ โดยวิธี 9-point hedonic scale test ของน้ำอุนแดงที่ไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตัวอย่างควบคุม, สูตรที่ 1) และเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่บด (สูตรที่ 2, 3, 4)	85
23 คุณภาพด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านจุลินทรีย์ ของน้ำอุนแดงที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด	87

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างกรดอะมิโนมาตรฐาน	7
2 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อไก่	33
3 กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่	36
4 กรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุ่นแดง)	39
5 กรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุ่นแดง) ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด	41
6 การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3	65
7 การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3	66
8 DH ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)	69
9 DH ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)	72
10 กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)	75

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- | | | |
|----|--|----|
| 11 | กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b) | 77 |
| 12 | การวิเคราะห์หิเล็กโตรโฟรีซิสของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด | 79 |

ภาคผนวกที่

- | | | |
|----|-------------------------------------|-----|
| ค1 | แบบทดสอบความชอบของน้ำอุ่นแดง | 120 |
| ค2 | แบบทดสอบความชอบของน้ำอุ่นผสมเปปไทด์ | 122 |

โปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งจากเนื้ออกไก่ด้วยปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะด้วย เอนไซม์โปรติเอส เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ

Dried Protein Hydrolysate Powder from Chicken Breast Meat with Enzymatic Hydrolysis Using as Ingredient in Prototype Beverage Product

คำนำ

ในปัจจุบัน ความเจริญทางด้านเศรษฐกิจและสังคมทำให้คนไทยมีภาวะเครียดเพิ่ม ส่งผลให้สถิติการเกิดโรคความดันโลหิตสูงเพิ่มขึ้น ซึ่งความดันโลหิตสูงเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาสำคัญมากอย่างหนึ่งของประเทศที่พัฒนาแล้ว และประเทศที่กำลังพัฒนา เนื่องจากคนที่เป็นโรคนี้ส่วนมากมักไม่มีอาการหรืออาการแสดงในระยะแรก แต่มักมีอาการแสดง เมื่อโรคเป็นมากหรือมีภาวะแทรกซ้อนที่อันตรายเกิดขึ้นกับ หัวใจ ตา ไต และสมอง แม้จะมีความพยายามในการรักษาโรคนี้อย่างมาก แต่มีไม่ถึงร้อยละ 30 ที่ได้ตามเป้า จึงถูกจัดเป็นโรคเรื้อรังที่รักษาไม่หายขาดทำให้มีผลกระทบทั้งตัวผู้ป่วยและครอบครัว นอกจากนี้ยังพบว่า มีผู้ป่วยและเข้ารับการรักษาในสถานบริการสาธารณสุขของกระทรวงสาธารณสุขด้วยโรคความดันโลหิตสูงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกภาค โดยประชากร 1 แสนคน พบผู้ป่วยความดันโลหิตสูง 259.02 ในปี 2543 และพบเพิ่มเป็น 1,349.39 ในปี 2553 ซึ่งถือว่ามียอดสูงขึ้นกว่า 5 เท่า (กระทรวงสาธารณสุข, 2553) โรคความดันโลหิตสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงอันดับที่ 5 ของชายไทย และอันดับ 2 ของหญิงไทย โดยทำให้เสียชีวิตประมาณปีละ 7 หมื่นราย (ร้อยละ 18) สูญเสียปีสุขภาวะจากการตายและพิการ ปีละ 6 แสนปี (ร้อยละ 6) (สำนักงานพัฒนาระบบข้อมูลข่าวสารสุขภาพ, 2553)

โรคความดันโลหิตสูงเกิดจากความดันที่หัวใจเกิดการคลายตัวซึ่งมีค่าความดันโลหิตตั้งแต่ 90 มิลลิเมตรปรอทขึ้นไป และความดันขณะหัวใจบีบตัวมีค่าตั้งแต่ 140 มิลลิเมตรขึ้นไป ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคความดันโลหิตสูงและแสดงอาการเป็นระยะๆ ดังนั้นโรคความดันโลหิตสูงมีผลต่อหัวใจ สมองและไตจนอาจก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ (จุฑามณี, 2542)

กลไกที่ช่วยป้องกันหรือลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคความดันโลหิตสูงทางหนึ่งคือ การรับประทานสารยับยั้ง ACE ที่ให้ผลออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ที่เปลี่ยนสาร

แองจิโอเทนซิน 1 (angiotensin I) ในร่างกายเป็นสารแองจิโอเทนซิน 2 (angiotensin II) ส่งผลให้ระดับแองจิโอเทนซิน 2 ในเลือดลดลง แองจิโอเทนซิน 2 เป็นสารที่ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด ออกซิเจนไปเลี้ยงหัวใจมากขึ้น การลดการทำงานของหัวใจ และลดความดันโลหิตสูง

นอกจากนี้เปปไทด์ที่ได้จากโปรตีนจากวัตถุดิบธรรมชาติมีความอ่อน ปลอดภัย ใช้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับยาสังเคราะห์ทางเคมี (Hwaang *et al.*, 2010) และมีผลยับยั้ง ACE (Davalos *et al.*, 2004) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงผลิตสารกิจกรรมการยับยั้ง ACE จากวัตถุดิบประเภทเนื้อสัตว์ปีก คือ เนื้ออกไก่ ที่มีกรดอะมิโนจำเป็นที่เป็นองค์ประกอบ ทำให้เล็งเห็นถึงความเป็นไปได้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่มีคุณสมบัติเป็นเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive peptide) เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำหน้าที่เฉพาะ ในการออกฤทธิ์ลดความดันโลหิตสูง และศึกษาสมบัติโดยรวมของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ให้ผลกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด นอกจากนี้การประยุกต์ใช้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเปปไทด์จากถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเปปไทด์ vigor ที่สามารถบำรุงสมองและระบบประสาท (ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก, 2556)

จากกระแสมความนิยมของผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญกับเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพไร้แอลกอฮอล์ (Soft Drink) เป็นเครื่องดื่มที่มีโอกาสเติบโตอย่างมากในอนาคต ทำให้มีการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพออกสู่ท้องตลาดมากขึ้น โดยเฉพาะน้ำผลไม้ สำหรับน้ำผลไม้ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคมีหลายชนิด หนึ่งในนั้นคือ น้ำองุ่นที่มีสารประกอบ แอนโทไซยานิน และแทนนิน (Dharmadhikari, 1994) เป็นองค์ประกอบส่งผลดีต่อร่างกาย และนอกจากนี้องุ่นให้ผลผลิตต่อไร่ค่อนข้างสูง เมื่อเป็นมูลค่าสูงกว่าผลไม้ชนิดอื่นๆ จึงทำให้เป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยมีพื้นที่ปลูกอยู่ประมาณ 28,742 ไร่ กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ ผลผลิตรวมต่อปีประมาณ 60,960 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) จากการศึกษาข้อมูลทางการตลาดของทวีปเอเชียแปซิฟิก พบว่า กลิ่นรสองุ่น ติดอันดับหนึ่งในสามที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคของทวีปเอเชียแปซิฟิก (ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก, 2556) ดังนั้นจึงได้คัดเลือกน้ำองุ่นมาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ และประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุดเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาชนิดของเอนไซม์ต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด
2. ศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีน ไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด
3. ศึกษาการประยุกต์โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุ่นแดง)

การตรวจเอกสาร

1. เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งโปรตีนที่ผู้บริโภคให้ความสนใจนิยมบริโภค ดังนั้นอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อสัตว์จึงได้เข้ามามีบทบาทต่อการดำรงชีพของมนุษย์ในปัจจุบัน (Zervas and Zijlstra, 2002) และที่นิยมนำมาบริโภค แบ่งออกได้เป็น สัตว์บก ได้แก่ วัว และหมู สัตว์ปีก ได้แก่ ไก่และเป็ด และสัตว์น้ำ ได้แก่ ปลา และกุ้ง เป็นต้น การนิยมบริโภคนั้นขึ้นอยู่กับความนิยมของประชากรในบริเวณนั้น ภูมิประเทศ และความเชื่อตามหลักศาสนา นอกจากนี้เนื้อสัตว์ปีกโดยเฉพาะเนื้อไก่มีราคาถูกเมื่อเทียบกับเนื้อหมู ความก้าวหน้าทางวิชาการในด้านการผสมพันธุ์ทำให้ได้ไก่ที่ให้เนื้อ โดยใช้อาหารน้อยลงทั้งยังน้อยกว่าสัตว์อื่นๆ ปัจจุบันประเทศไทยมีผู้นิยมสร้างฟาร์มเลี้ยงสัตว์ปีกเพื่อส่งขายทั้งเนื้อและไข่อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะพวกไก่และเป็ด ไก่ที่มีขายในตัวเมืองของจังหวัดใหญ่เป็นไก่พันธุ์เนื้อจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่โตเร็ว มีไขมัน เนื้อนุ่ม และกลิ่นของมันมักจะมีผลมาจากอาหาร และปริมาณไขมัน (สัญญาชัย, 2547) เนื้อสัตว์ปีก (poultry meat) หมายถึง เนื้อเยื่อจากสัตว์ปีกที่มนุษย์เลี้ยงไว้ ได้แก่ ไก่ เป็ด ห่าน และไก่ทอง เป็นต้น (สัญญาชัย, 2547)

เนื้อไก่เป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพดี เนื่องจากมีกรดอะมิโนจำเป็นเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ โปรตีนที่ได้เป็นส่วนของกล้ามเนื้อของเนื้อไก่ ซึ่งพบว่า ปริมาณโปรตีนของเนื้อไก่มีร้อยละ 20-23 (นิธิยา, 2549) เนื้อไก่ ประกอบด้วยน้ำร้อยละ 74 โปรตีนร้อยละ 19 ไขมันร้อยละ 5 เกลือร้อยละ 0.8 และมีแร่ธาตุพวกแคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินเอ และไนอาซิน เป็นองค์ประกอบ เนื้อไก่มีโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายอยู่ครบ ส่วนไขมันจะมีอยู่ได้ผิวหนังเป็นส่วนใหญ่ และไขมันในเนื้อไก่จะมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวน้อย (สัญญาชัย, 2547) กรดอะมิโนที่มีอยู่ในโปรตีนเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโปรตีนเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ

กรดอะมิโน	เนื้อสุกร	เนื้อโค	เนื้อแกะ	เนื้อไก่
อาร์จินีน (Arginine)	12.2	13.7	12.7	12.8
ซิสเตอีน (Cystine)	2.6	2.6	2.7	2.6
ฮิสติดีน (Histidine)	8.9	7.5	6.7	6.2
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	9.2	10.4	9.7	9.5
ลูซีน (Leucine)	14.5	16.3	15.0	15.4
ไลซีน (Lysine)	19.7	18.5	20.3	18.4
เมไทโอนีน (Methionine)	5.6	5.5	5.3	4.9
ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine)	7.9	9.1	8.0	9.2
ทรีโอนีน (Threonine)	8.9	9.4	9.7	8.5
ทริปโตเฟน (Thryptophan)	2.3	2.6	2.7	2.3
ไทโรซีน (Tyrosine)	7.6	7.8	7.3	7.2
วาลีน (Valine)	9.9	10.7	10.0	9.8

ที่มา: Rogowski (1981)

2. อุตสาหกรรมไก่เนื้อ

ความสำคัญของอุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อ นอกจากจะเป็นตัวแทนในกลุ่มปศุสัตว์ แต่เพียงอย่างเดียวที่ส่งออกไปยังต่างประเทศ และทำรายได้ให้แก่ประเทศสูง (จุฑารัตน์, 2543) ตลาดไก่เนื้อของประเทศไทย เพื่อการส่งออกต่างประเทศ ดำเนินการโดยธุรกิจเอกชน บริษัทที่ดำเนินการในลักษณะครบวงจร เช่น มีธุรกิจโรงฟักไข่ อาหารสัตว์ เวชภัณฑ์ โรงฆ่า และโรงงานแปรรูปเนื้อสัตว์ โดยมีการส่งออกเป็น 2 รูปแบบ

2.1 เนื้อไก่แช่แข็ง (frozen chicken meat) โดยมีประเทศที่เป็นคู่ค้าหลักคือ ญี่ปุ่น เยอรมัน สิงคโปร์ และฮ่องกง เนื้อไก่แช่แข็งมี 2 ประเภท คือ

2.1.1 ไก่ชำแหละแช่แข็งทั้งตัว โดยมีส่วนประกอบทางเคมีในชิ้นส่วนต่างๆของเนื้อไก่ชำแหละ (trimmed cuts) ไก่ตัดแต่ง เช่น เนื้ออก สันใน ขา ปีก น่อง และสะโพก แสดงดังตารางที่ 2

2.1.2 ผลิตภัณฑ์ไก่ (chicken product) แบ่งออกเป็น 3 แบบคือ

2.1.2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่สด เช่น ขากิโดริ และเนื้อน่องชุบแป้งขนมปังแช่แข็ง

2.1.2.2 ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่กึ่งสด เช่น เนื้อไก่ชุบแป้งพันสำหรับห่อกึ่งสุก และน่องไก่ชุบแป้งทอดกึ่งสุก เป็นต้น

2.1.2.3 ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่สุก เช่น ปีกไก่ชุบแป้งทอด ลูกชิ้นไก่เสียบไม้ย่าง และกะหล่ำปลีห่อเนื้อไก่สุก เป็นต้น (สัญญาชัย, 2547)

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบทางเคมีในชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเนื้อไก่ชำแหละ (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)

ชิ้นส่วน	โปรตีน	ไขมัน	ความชื้น
สันใน (filet or sasami)	22.0	0.5	76.1
อก (boneless breast)	18.2	14.0	67.4
อกลอก (skinless boneless breast)	21.5	1.2	75.8
ขา (boneless leg)	15.9	15.0	67.7
หนัง (skin)	7.6	42.8	49.4
เศษอก (breast trimming)	17.4	15.3	66.6
เศษขา (leg trimming)	15.9	13.7	69.2
เนื้อโครง (mechanically deboned poultry meat)	13.8	12.6	72.0

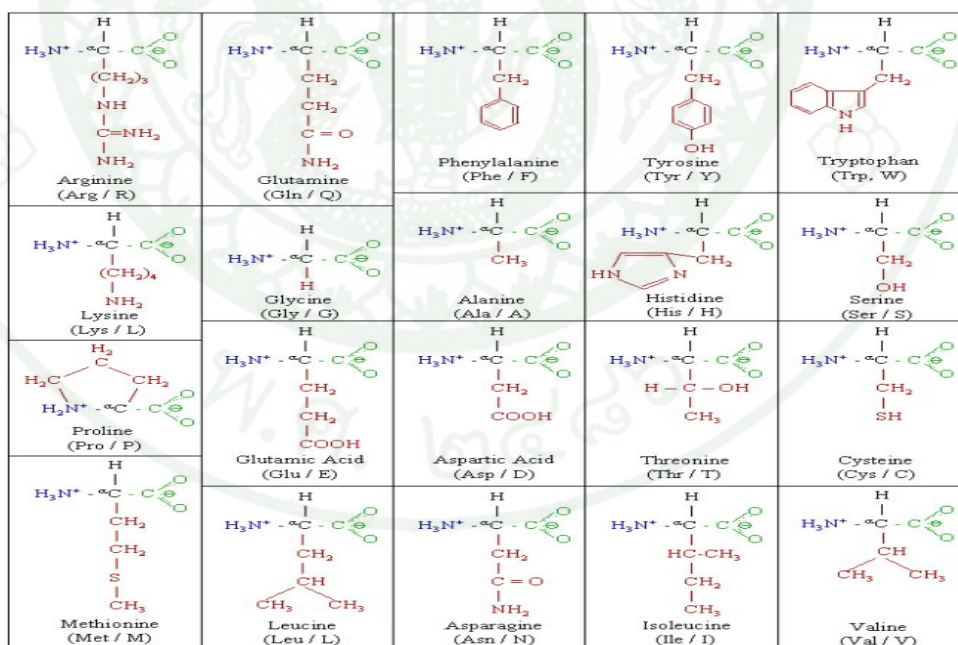
ที่มา: จุฑารัตน์ (2547)

องค์ประกอบทางเคมีของเนื้ออกไก่ที่สำคัญ ได้แก่ โปรตีนร้อยละ 21.47 ไขมัน และเถ้าร้อยละ 0.64 และ 1.29 ตามลำดับ (Barbanti and Pasquini, 2005) และงานวิจัยของ Kurozawa *et al.* (2009)

รายงานว่าเนื้ออกไก่มีความชื้นร้อยละ 74.10 และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 19.36 ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 1.55 และ 1.10 ตามลำดับ

3. โปรตีนในเนื้อไก่

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต หน่วยเล็กที่สุดในโมเลกุลของ โปรตีน เรียกว่า กรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งกรดอะมิโนเป็นสารประกอบอินทรีย์ ที่โมเลกุล ประกอบด้วยหมู่อะมิโน และหมู่คาร์บอกซิล โดยมีทั้งหมดประมาณ 20 ชนิด แสดงดังภาพที่ 1 โดยมีโครงสร้างของโปรตีนเป็นพอลิเมอร์ของกรดอะมิโนที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide bond) โดยที่หมู่อะมิโนของกรดอะมิโนชนิดหนึ่งจะเชื่อมต่อกับหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนอีก ชนิดหนึ่ง และมีน้ำ 1 โมเลกุลหลุดออกไป กรดอะมิโนสองโมเลกุลต่อกันด้วย 1 พันธะเปปไทด์ เรียกสายนี้ว่า ไดเปปไทด์ (dipeptide) กรดอะมิโนสามโมเลกุลต่อกันด้วย 3 พันธะเปปไทด์ เรียก สายนี้ว่า ไตรเปปไทด์ (tripeptide) หากมีพันธะเปปไทด์อยู่ในโมเลกุลจำนวนมาก เรียกสายนี้ว่า พอลิเปปไทด์ (polypeptide) (นิธิยา, 2549)



ภาพที่ 1 โครงสร้างกรดอะมิโนมาตรฐาน (standard amino acid)

ที่มา: Doolittle *et al.* (1989)

เนื้อไก่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 20-23 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนมากกว่าเนื้อชนิดอื่น (นิธิยา, 2549) ทั้งนี้เนื้อไก่จัดได้ว่าเป็นอาหารที่นิยมของคนทั่วโลก เนื่องจากเนื้อไก่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ ยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน และยับยั้งความดันโลหิตสูง (Cui *et al.*, 2009) จากแหล่งอาหารจำพวกโปรตีน เช่น เนื้ออกไก่ (Saiga *et al.*, 2006) เกชิน (Miguel *et al.*, 2009) เวย์ (Mullally *et al.*, 1996) ไช้ (Miguel and Aleixandre, 2006) ถั่วเหลือง (Lo and Li-Chan, 2005) งาดำ (Nakano *et al.*, 2006) และไมอะชิน (Muguruma *et al.*, 2008) นอกจากนี้เปปไทด์ที่ยับยั้ง ACE ได้จากสัตว์ทะเล เช่น หน้ปลา Alaska Pollack (Byun and Kim, 2001) และโปรตีนพื้นฐาน (Je Park Lwon and Kim, 2004) sardinelle (Bougatef *et al.*, 2008) และ oyster protein (Wang *et al.*, 2008) นอกจากนี้เปปไทด์ที่ยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน เช่น กากเมล็ดทานตะวัน (Vastag *et al.*, 2011) และปลาสิ่กุนข้างเหลือง (Klompong *et al.*, 2007)

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเคมีโดยย่อยสลายด้วยด่าง เช่น NaOH และย่อยสลายด้วยกรด เช่น HCl วิธีดังกล่าวจะลดคุณภาพของโปรตีนและปริมาณทางชีวภาพ และวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งส่งผลให้พันธะเปปไทด์ถูกตัดเป็นสายสั้นๆ โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้น และสามารถสัมพันธ์กับการย่อยสลายทางเคมีเอนไซม์ที่นิยมใช้ทางการค้าคือ เอนไซม์ทริปซิน เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์นิวเตรส (Kumar *et al.*, 2004)

3.1 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต โดยทั่วไปกระทำได้ 3 วิธี ได้แก่

3.1.1 การเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

การเกิดโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยธรรมชาติ อาศัยกระบวนการย่อยสลายตัวเองโดยปกติแล้วสามารถย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อสัตว์ด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในกล้ามเนื้อ และเครื่องในสัตว์ เช่น เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน และคาเปปซิน เป็นต้น ซึ่งวิธีการย่อยสลายนี้ค่อนข้างซับซ้อน เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์และโครงกระดูก มีอยู่มากมายหลายชนิด แต่ละชนิดมีกิจกรรมการทำงานที่แตกต่างกัน ทำให้ไม่สามารถที่จะควบคุมการย่อยสลายของโปรตีน และใช้เวลาการย่อยสลายที่ยาวนาน

3.1.2 การย่อยสลายด้วยสารเคมี

การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารเคมี เป็นการใช้กรดหรือด่างทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นเพื่อตัดสายเปปไทด์ให้สั้นลง การย่อยสลายด้วยสารเคมี แบ่งเป็น 3 วิธีได้แก่

3.1.2.1 การย่อยสลายด้วยกรด

เป็นวิธีที่ได้รับการนิยมนมากกว่าการย่อยด้วยด่าง แม้จะเป็นการยุ่งยากในการควบคุมกระบวนการ แต่ก็ยังเป็นที่นิยมใช้ในการย่อยสลายโปรตีนจากพืช นอกจากนี้การย่อยสลายด้วยกรดทำให้วิตามินส่วนใหญ่ถูกทำลาย ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสชาติและคุณสมบัติเชิงหน้าที่เปลี่ยนไป (Peterson, 1974) การย่อยสลายด้วยกรดทำให้พันธะเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนแอสปาร์ติกอยู่ทางด้านปลายสาย จะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเปปไทด์อื่นๆประมาณ 100 เท่า (Shih, 1992)

3.1.2.2 การย่อยสลายด้วยด่าง

การย่อยสลายด้วยด่างนิยมใช้ NaOH เนื่องจากการย่อยด้วยด่างนั้นจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางด้านโภชนาการโดยจะมีการดึงไฮโดรเจน จากแอลฟา คาร์บอนของกรดอะมิโน และเกิดการเปลี่ยนรูปของกรดอะมิโน L- form ไปเป็น D-form ที่ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดจากการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสจะเร็วกว่าการย่อยสลายด้วยสารละลายกรด (Shih, 1992)

3.1.3 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เป็นการใช้เอนไซม์โปรตีนเอนไซม์ทำปฏิกิริยาจำเพาะต่อพันธะเปปไทด์ของโปรตีน โดยเอนไซม์ประเภทเอนโดเปปติเดส (endopeptidase) สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ภายในโมเลกุลของโปรตีน ได้เป็นเปปไทด์ที่มีขนาดแตกต่างกัน ส่วนเอนไซม์ประเภทเอกโซเปปติเดส (exopeptidase) สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่ปลายสาย ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดอะมิโน (Adler-Nissen, 1986) นอกจากนี้ยังให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี โดยเอนไซม์ที่นิยมใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต เช่น เอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ฟลาโวไซม์ การย่อยสลายด้วย

เอนไซม์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยให้ปริมาณเปปไทด์สูงสุด เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ตัวกระตุ้น ตัวยับยั้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ หรือการใช้เอนไซม์ทางการค้าสามารถควบคุมอัตราการเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าการย่อยสลายตัวเอง (Kristinsson and Barbara, 2000) แต่มีข้อเสีย คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจมีรสขมไม่เป็นที่ยอมรับ (Dauksas *et al.*, 2003) รสขมเกิดจากกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ไอโซลิวซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโพรเนน และวาเลอีน เป็นต้น กรดอะมิโนหลายๆตัวเรียงต่อกันเป็นพันธะเปปไทด์จะให้รสขมมากกว่ากรดอะมิโนที่อยู่แบบอิสระ (Hall and Ahmad, 1992)

4. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลสด้วยการตัดสายพันธะเปปไทด์ด้วยเอนไซม์

4.1 เอนไซม์

เอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทางเคมีของสารหนึ่งที่เรียกว่า สารตั้งต้น (substrate) ไปเป็นอีกสารหนึ่งอย่างมีความจำเพาะที่เรียกว่า ผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากสิ้นสุดปฏิกิริยาเอนไซม์จะไม่สูญหายและสามารถนำกลับมาใช้ได้ อีก นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีบทบาทในการควบคุมทิศทางของปฏิกิริยา ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเฉพาะทางโครงสร้าง ซึ่งมีประโยชน์ต่อการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้เป็นอาหาร หรือเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

เอนไซม์โปรติเอสมีบทบาทสำคัญด้านเทคโนโลยีชีวภาพ อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมอื่นๆ (Klomklao *et al.*, 2006) เอนไซม์โปรติเอสที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด เช่น มีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลือง การทำชีวส์ (Klomklao *et al.*, 2006) นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ยังใช้เอนไซม์โปรติเอสเป็นสารทำให้เนื้อนุ่ม (tenderizer) ลดความเหนียวของเนื้อสัตว์ทำให้เคี้ยวได้ง่ายขึ้น (นิธิยา, 2549)

4.1.1 เอนไซม์โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่เร่งปฏิกิริยาการแยกสลายพันธะเปปไทด์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

4.1.1.1 เอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่แยกสลายพันธะเปปไทด์ภายในโซ่โพลีเมอร์โปรตีนได้เป็นสารประกอบเปปไทด์โซ่สั้นๆ ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase®) เป็นเอนไซม์ประเภทเอนโดเปปติเดส ผลิตจากเชื้อตระกูล *Bacillus* เช่น *Bacillus*

licheniormis (Ottesen and Svendsen, 1970) ไม่พบกรดอะมิโนซิสเตอีนในบริเวณเร่ง จัดอยู่ในกลุ่ม serine peptidase เอนไซม์อัลคาเลสเป็นอัลคาไลน์โปรติเอสที่ไม่จำเพาะ (non specific protease) สถานะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลสทั่วไปอยู่ที่อุณหภูมิ 10–65 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7-10.5 (Yust *et al.*, 2003)

4.1.1.2 เอกโซเปปติเดส (Exopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะเปปไทด์ ด้านปลายโซ่ของโมเลกุล ถ้าเป็นการสลายพันธะทางปลายด้านหมู่อะมิโนก็เรียกว่า อะมิโนเปปติเดส ขณะที่การสลายพันธะทางปลายหมู่อะมิโนจะเรียกว่า คาร์บอกซิเปปติเดส ได้แก่ เอนไซม์ฟลาโวไซม์ (Flavourzyme®) เป็นเอนไซม์ประเภทเอนโดเปปติเดสและเอกโซเปปติเดส

โปรตีนจากเนื้อสัตว์ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอส ทั้งนี้เอนไซม์จะมีความจำเพาะเจาะจงกับสารตั้งต้นที่มีผลต่อการตัดสายเปปไทด์สายยาวๆ ให้เป็นสายสั้นลงได้ ซึ่งในสายเปปไทด์จะมีกรดอะมิโนเรียงต่อกัน 2- 20 ชนิด (Vercruysse *et al.*, 2008) จากนั้นเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพก็จะถูกดูดซึมไปยังลำไส้เล็ก และกระแสเลือดโดยตรง นอกจากนี้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจะมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเนื้อเยื่อร้ายเชิงเป้าหมาย โดยที่คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน ยับยั้งจุลินทรีย์ และยับยั้ง ACE อย่างไรก็ดีตามเปปไทด์ที่ยับยั้ง ACE ทำให้ลดความดันโลหิตสูงได้

เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถลดความดันโลหิตสูงได้ ได้แก่ sardinelle (Bougatef *et al.*, 2008) tuna cooking juice (Ko *et al.*, 2006) salmon protein (Ewart *et al.*, 2009) และ tilapia (Raghavan *et al.*, 2009)

4.2 โปรตีนไฮโดรไลสได้จากเนื้อสัตว์และผลพลอยได้จากสัตว์

4.2.1 โปรตีนไฮโดรไลสได้จากผลพลอยได้จากการแปรรูปเป็ด

Lee *et al.*(2010) ได้ทำการผลิตเปปไทด์จากผลพลอยได้จากการแปรรูปเป็ด ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากเอนไซม์โปรติเอส โดยโปรตีนไฮโดรไลสที่ผลิตจากเปปซินที่มีกิจกรรมการจับอนุมูล hydroxyl ได้สูงกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อื่น นำเปปไทด์ไปทำบริสุทธิ์โดยใช้ high-performance liquid chromatography (HPLC) พบว่า ลำดับของเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้าน

ออกซิเดชัน คือ Asp-Val-Cys-Gly-Asp-Val-Asn-Gly-Tyr ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1096 ดาลตัน ค่า IC_{50} ของเปปไทด์ที่ทำปฏิกิริยา มีค่าเท่ากับ 75 $\mu\text{g/ml}$ ดังนั้นกระบวนการทำปฏิกิริยาเปปไทด์ที่ส่งผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของโปรตีนไฮโดรไลเซต

4.2.2 โปรตีนไฮโดรไลเซตจากไข่ครีม

Liu *et al.* (2010) ได้ทำการศึกษาโปรตีนไฮโดรไลเซตจากไข่ครีมที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ตามด้วยการแยกส่วนด้วย Gel filtration จากการวิจัยพบว่า เปปไทด์มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE และเปปไทด์มีลำดับกรดอะมิโนดังนี้ Arg-Val-Pro-Ser-Leu (RVPSL)

4.2.3 โปรตีนไฮโดรไลเซตจากผลพลอยได้ของ sardinelle

กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตเตรียมได้จากหัวและเครื่องในของ sardinelle แล้วนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอส เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย คือ เอนไซม์อัลคาเลส โคโมทริปซิน crude เอนไซม์ที่เตรียมได้จาก *Bacillus licheniformis* NH1 และ *Aspergillus clavatus* ES1 และ crude เอนไซม์จากเครื่องใน sardinelle (*Sardinella aurita*) โปรตีนไฮโดรไลเซตมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE นำโปรตีนไฮโดรไลเซตมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสชนิดอัลคาไลน์ จะส่งผลให้มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้สูงที่สุดเท่ากับ $63.2 \pm 1.2\%$ ที่ 2 mg/ml โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสชนิดอัลคาไลน์ จากเครื่องในปลาชาร์ดิน แล้วนำไปทำปฏิกิริยาด้วย size exclusion chromatography ชนิดคอลัมน์ sephadex 6-25 มี fraction (P1-P8) แล้วนำ fraction มาวิเคราะห์หาค่าทางชีวภาพ พบว่า P_4 มีค่า IC_{50} ต่ำและมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้สูง กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผลพลอยได้จากการแปรรูป sardinelle ของ P_4 มีค่าเท่ากับ 1.2 ± 0.09 และ 0.81 ± 0.013 mg/ml ตามลำดับ ดังนั้นผลพลอยได้จากการแปรรูป sardinelle ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในเครื่องในโปรติเอสชนิด serine จาก sardine ได้ (Bougatef *et al.*, 2008)

4.2.4 โปรตีนไฮโดรไลสได้จาก squid skin gelatin

เจลาตินจากหนังปลาหมึก ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเปปซินเพื่อนำมายับยั้ง ACE ซึ่งกิจกรรมการยับยั้ง ACE ในภาวะหลอดทดลองมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.33 mg/ml ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลสได้จาก squid gelatin ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเปปซิน ถือได้ว่าเป็นแหล่งที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ACE เพื่อลดความดันโลหิตสูง (Lin *et al.*, 2012)

โปรตีนไฮโดรไลสได้ คือ โปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายโดยกระบวนการทางเคมีหรือเอนไซม์โดยการย่อยสลายพันธะเปปไทด์บางส่วน ให้เป็นกรดอะมิโนอิสระ (Kristisson and Rasco, 2000) ได้แก่ โปรตีนปลาไฮโดรไลสได้เป็นของผสมของเปปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีน จากเนื้อปลา หรือวัสดุเศษเหลือจากปลาด้วยสารเคมี หรือเอนไซม์โปรติเอส (Peterson and Johnson, 1978) โปรตีนไฮโดรไลสได้มีส่วนผสมของโอลิโกเปปไทด์ และพอลิเปปไทด์ ซึ่งอาจจะเป็นแหล่งสารอาหารที่สามารถใช้บำบัดรักษาโรค (Schmidi *et al.*, 1994)

4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนไฮโดรไลสได้โดยเอนไซม์โปรติเอส

4.3.1 สารตั้งต้น

ชนิดของสารตั้งต้น การเตรียมสารตั้งต้น และความเข้มข้นของสารตั้งต้น มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอส ถ้าโปรตีนมีการยึดเกาะกันหนาแน่นทำให้ไม่เหมาะสมต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ ดังนั้นการเตรียมสารตั้งต้นก่อนนำไปย่อยสลายต้องทำให้รูปร่างของโปรตีนมีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยทั่วไปจึงมีการเติมน้ำในอัตราส่วนเท่ากับสารตั้งต้นเพื่อให้เกิดการกระจายตัวของเอนไซม์ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงขึ้น (นิธิยา, 2549)

4.3.2 เอนไซม์

ชนิดของเอนไซม์โปรติเอสมีความสำคัญต่อชนิดของกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ที่ได้ ซึ่งประสิทธิภาพในการย่อยสลายเอนไซม์โปรติเอส จากสัตว์และจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดและความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ (Gildberg, 1988) โปรตีนไฮโดรไลสได้จาก

กากเมล็ดทานตะวันที่ผ่านการสกัดน้ำมัน โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และฟลาโวไซม์ พบว่า การผลิตไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสจะมี DH สูงกว่าเอนไซม์ ฟลาโวไซม์ (Vastag *et al.*, 2011)

4.3.3 ความเข้มข้นของเอนไซม์

ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้มีผลกระทบต่อ DH นอกจากนี้ได้ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสคือ ร้อยละ 0 1 และ 2 ของปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่าง โปรตีนจากเนื้อปลาจารดินที่ผ่านด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นส่งผลให้ DH สูงขึ้น (Mackie, 1982)

4.3.4 สภาพที่ใช้ในการย่อย

4.3.4.1 ความเป็นกรด-เบส

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโปรตีนจะมีผลต่อประจุที่เกิดขึ้นบนโมเลกุลของโปรตีน จึงส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ด้วย โดยเฉพาะที่ active site ซึ่งเป็นตำแหน่งที่สารตั้งต้นจะต้องเข้ารวมตัวกับเอนไซม์ ดังนั้นเอนไซม์แต่ละชนิดจึงมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับเร่งปฏิกิริยาให้ได้ความเร็วสูงสุด (นิธิยา, 2549) ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจะสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่เลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลางจนถึงด่าง การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้คงที่ระหว่างการย่อยสลายมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นด่าง กรดอะมิโนอิสระ และกรดอะมิโนปลายสายเปปไทด์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับด่างทำให้ปริมาณด่างลดลง ดังนั้นการหาปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกตัดเพื่อคำนวณ DH จึงทำได้โดยวัดปริมาณด่างที่ถูกใช้ไปในระหว่างการเกิดปฏิกิริยา (Guerard *et al.*, 2001)

4.3.4.2 อุณหภูมิ

Whitaker (1994) อุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เพราะอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์จะผันแปรตามอุณหภูมิ และอุณหภูมิยังมีอิทธิพลต่อความคงตัวของเอนไซม์ เมื่ออุณหภูมิสูงจะทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ และมีผลให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์สูญเสียไป Mohr (1980) รายงานว่า อุณหภูมิที่เลือกใช้ในการย่อยสลายโปรตีนควรสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่เลือกใช้โดยทั่วไปจะทำการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส

4.3.4.3 ระยะเวลาการย่อยสลาย

การวัด DH โปรตีนสามารถบ่งบอกจำนวนพันธะที่ถูกย่อยสลายโดย DH หมายถึง อัตราส่วนพันธะเปปไทด์ที่มีอยู่เดิมในวัตถุดิบ โดยสภาวะที่มีผลต่อ DH ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย (Nissen, 1986)

Mohr (1980) รายงานว่า โปรตีนส่วนที่ละลายได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น Gesualdo และ Chan (1999) ศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลาแฮร์ริงด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า ในช่วง 20 นาที แรกของการทำปฏิกิริยาจะเกิดการย่อยอย่างรวดเร็ว จนมี DH อย่างรวดเร็วเท่ากับร้อยละ 24 หลังจากนั้นการย่อยจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อย่อยสลายเป็นเวลา 60 นาที

นอกจากนี้สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตขึ้นกับวิธีการที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต ได้แก่ การย่อยสลายด้วยกรด การย่อยสลายด้วยด่าง และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เป็นต้น (Sikorski, *et al.*, 1981) โดยสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพทางเคมีและกายภาพ และโครงสร้างของโปรตีน (Diniz and Martin, 1997) และปรับปรุงคุณสมบัติบางประการของโปรตีน เช่น ความสามารถในการละลาย ความสามารถความสามารถการเกิดอิมัลชัน และความสามารถการเกิดโฟม เป็นต้น (Peterson and Johnson, 1978)

5. สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลสเสต

คุณสมบัติที่สำคัญได้แก่ น้ำหนักโมเลกุล ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดโฟม และความสามารถการดูดซับไขมัน

5.1 น้ำหนักโมเลกุล

น้ำหนักโมเลกุลมีความสำคัญในการบอกถึงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลสเสต ถ้าโปรตีนไฮโดรไลสเสตมี DH สูงจะมีกรดอะมิโนอิสระและเปปไทด์ขนาดเล็ก ทำให้มีความสามารถในการละลายได้ดี น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีปริมาณต่ำ เนื่องจากมีพันธะเปปไทด์ที่เชื่อมต่อกันในปริมาณน้อย ได้แก่ ไดเปปไทด์ และไตรเปปไทด์ ทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่มีค่าสูง และคุณลักษณะที่เฉพาะเจาะจงต่อเนื่องเป้าหมาย อีกทั้งน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์สัมพันธ์กับการปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลสเสต ดังนั้นการศึกษาโมเลกุลของเปปไทด์มีความสำคัญต่อการนำเปปไทด์ไปใช้ประโยชน์ (Silvestre, 1997) ถ้ามีค่า DH สูงจะมีกรดอะมิโนอิสระและเปปไทด์ขนาดเล็กจำนวนมาก โดยทั่วโปรตีนไฮโดรไลสเสตมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ไดเปปไทด์ และไตรเปปไทด์ (Bhaskar *et al.*, 2008) โปรตีนไฮโดรไลสเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำ มีความคงตัว และสะดวกในการดูดซึมในร่างกาย (Maruyama *et al.*, 1985) โปรตีนไฮโดรไลสเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 10 กิโลดาลตัน (Izawa *et al.*, 1997) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน ได้แก่ Pro, Leu, Tyr, Phe และ Ala เป็นต้น การตรวจสอบคุณลักษณะของโปรตีนไฮโดรไลสเสตโดยใช้ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) เพื่อใช้ในการตรวจสอบขนาดของโมเลกุลของเปปไทด์ อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ไม่สามารถใช้ตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กได้ (Silvestre, 1997)

5.2 ความสามารถในการละลาย

ความสามารถในการละลายเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญโดยเป็นคุณสมบัติพื้นฐานของโปรตีนไฮโดรไลสเสต (Wilding *et al.*, 1984) การเปลี่ยนแปลงค่าค่าความเป็นกรด-ด่างและการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลสเสตสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายโปรตีนดังกล่าวให้สูงขึ้น โดยเอนไซม์จะทำการย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระ

และเปปไทด์สายสั้น ๆ จำนวนมาก โปรตีนที่ได้ จึงมีคุณสมบัติความสามารถในการละลายได้สูงขึ้น และความสามารถในการละลายได้ดีจะมีความสัมพันธ์กับความสามารถการเกิดอิมัลชัน (Quaglia and Orban, 1990)

5.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน

ความสามารถการเกิดอิมัลชัน คือ ความสามารถของสารที่ช่วยในการกระจายตัวของไขมันกับน้ำ โดยทำหน้าที่หุ้มรอบเม็ดไขมันเอาไว้ทำให้อิมัลชันมีความคงตัว โปรตีนไฮโดรไลเซต มีพื้นผิวที่ว่องไวและส่งเสริมการเกิดอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซตมีหมู่ที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ และมีความสามารถละลายน้ำได้ดี (Wilding *et al.*, 1984) คุณสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความสามารถการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชัน ดังนั้นหากต้องการโปรตีนไฮโดรไลเซตที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี จำเป็นต้องควบคุมระยะเวลาในขั้นตอนของการย่อยสลาย ที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตสูญเสียคุณสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ เปปไทด์สายสั้นสามารถเคลื่อนที่ไปที่ผิวหน้าของเม็ดไขมันได้อย่างรวดเร็ว แต่มีความสามารถในการลดแรงตึงผิวต่ำ เนื่องจากสามารถโอบล้อมและเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้าของเม็ดไขมันได้เหมือนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Turgeon *et al.*, 1991) โปรตีนไฮโดรไลเซตเกิดพันธะไฮโดรโฟบิก ซึ่งพันธะไฮโดรโฟบิกจะเป็นตัวชี้วัดความสามารถการเกิดอิมัลชัน (Gauthier *et al.*, 1993) และถ้ามีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำอยู่มากก็จะสามารถป้องกันการรวมตัวกันของเม็ดไขมันได้มากขึ้น อิมัลชันจึงมีความคงตัว (Quaglia and Orban, 1990) โปรตีนไฮโดรไลเซตจากผลพลอยได้จากปลาแซลมอนที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากกว่าความคงตัวของอิมัลชัน (Muzaifa *et al.*, 2012)

5.4 ความสามารถในการเกิดฟอง

ฟองเป็นระบบคอลลอยด์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งประกอบด้วยก๊าซหรือก๊าซผสมกระจายอยู่ในของเหลว ระหว่างผิวของของเหลวสองชนิด ในอิมัลชันฟองอากาศเล็กๆจะถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มบางๆของของเหลวผิวของของเหลวที่ล้อมรอบฟองอากาศจะขยายตัวได้เมื่อได้รับความร้อน ทำให้ไม่ค่อยคงตัวต้องอาศัย สารช่วยให้ฟองมีความคงตัวอยู่ได้นานขึ้น (นิธิยา, 2549) โปรตีนจากปลา tilapia ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลานานขึ้น จาก 0 ถึง 60 นาที พบว่า ความสามารถ

ในการเกิดฟองลดลง เมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น เนื่องจากการกระจายตัวของโปรตีนที่พื้นผิวจะต่ำกว่าพื้นผิวอากาศจะส่งผลต่อความสามารถในการเกิดฟองที่ต่ำ (Wasswa *et al.*, 2008)

5.5 ความสามารถในการดูดซับไขมัน

ความสามารถในการดูดซับไขมัน จะมีความสัมพันธ์กับพันธะไฮโดรโฟบิกของกรดอะมิโนที่พื้นผิวของโมเลกุลโปรตีน (Wang *et al.*, 1999) ความสามารถในการดูดซับไขมันของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งมีพันธะไฮโดรโฟบิกที่มีแรงจับกับไขมันได้น้อย จึงส่งผลต่อความสามารถในการดูดซับไขมันที่มีค่าน้อยเช่นเดียวกัน (Franzen and Kinsella, 1976)

6. ความดันโลหิตสูง

6.1 ความหมายของความดันโลหิตสูง

ความดันโลหิตสูง หมายถึง ผู้ที่มีความดัน systolic เฉลี่ย ตั้งแต่ 140 มม.ปรอทขึ้นไป หรือ ความดัน diastolic เฉลี่ยตั้งแต่ 90 มม.ปรอทขึ้นไป ตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก

6.2. ผลของความดันโลหิตสูง

ผลของความดันโลหิตสูงทำให้หัวใจทำงานหนัก และระยะยาวทำให้หลอดเลือดเสื่อมทั่วร่างกาย ได้แก่ โรคหลอดเลือดหัวใจ หลอดเลือดสมองและหลอดเลือดที่ไตเสื่อม ความดันโลหิตสูงเป็นสาเหตุที่สำคัญอันหนึ่งของไตวายเรื้อรัง

6.3 วิธีการลดความดันโลหิตสูง

6.3.1 การปรับเปลี่ยนวิถีชีวิตที่ช่วยลดความดันโลหิตสูง

การปรับเปลี่ยนวิถีชีวิตที่ช่วยปรับลดความดันโลหิต เช่น ควบคุมน้ำหนักให้อยู่ในเกณฑ์พอดี กินผักผลไม้ ลดอาหารเค็ม ลดอาหารที่มีไขมันสูง และออกกำลังกายสม่ำเสมอ

6.3.2 ยาลดความดันโลหิตสูง

ยาลดความดันโลหิตสูงทำหน้าที่ ควบคุมความดันโลหิตสูงลงมาอยู่ในเกณฑ์ปกติ ได้แก่ ยาขับยั้ง ACE เป็นยาที่ยับยั้งความดันโลหิตสูง (Bougatef *et al.*, 2008) ดังนั้นยาในกลุ่มนี้จึงเหมาะที่จะเป็นยาเริ่มต้นสำหรับการควบคุมความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง ยาขับยั้ง ACE ชนิดสังเคราะห์ที่ใช้ทางการแพทย์ ได้แก่ อินาลาปรีว โลสิโนปรีว และ captopril ยาในกลุ่มนี้สามารถต้านการทำงานของระบบควบคุมความดันโลหิตที่เรียกว่า ระบบเรนิน แองจิโอเทนซิน ซึ่งระบบดังกล่าวทำให้หลอดเลือดหดตัว และความดันโลหิตสูง (ทวี และ อุดม, 2553)

อาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาที่พบได้บ่อยของยาในกลุ่ม ACE ได้แก่ ความดันโลหิตต่ำ ไอแห้ง ภาวะที่มีระดับ K^+ ในเลือดสูง ภาวะไตวายเฉียบพลัน ผลต่อทารกในครรภ์ ผื่นบริเวณผิวหนัง โปรตีนในปัสสาวะ และการปรับรบบเปลี่ยนแปลง (วิลาสินี, 2547)

เปปไทด์ที่ได้จากโปรตีนจากวัตถุดิบธรรมชาติมีความอ่อน ปลอดภัย ใช้ง่ายกว่า เมื่อเทียบกับยาสังเคราะห์ทางเคมี (Hwaang *et al.*, 2010) และมีผลยับยั้ง ACE (Davalos *et al.*, 2004) และโปรตีนไข่ครีมมีเปปไทด์จำนวนมากมีฤทธิ์ยับยั้ง ACE (Miguel and Aleixandre, 2006) เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ACE ได้จากพืชและสัตว์ ส่วนใหญ่จะพบใน นม ปลา ไข่ และโปรตีนจากถั่วเหลือง (Chibuike *et al.*, 2009)

7. เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive peptides : BAP)

BAP เป็นเปปไทด์สายสั้นๆที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 2-30 ชนิด BAP ได้จากการนำโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ด้วยเอนไซม์ทางการค้า BAP ได้แก่ เปปไทด์จากเนื้อสัตว์ ซึ่งมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ได้แก่ สารยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน และสารยับยั้ง ACE นอกจากนี้ยังมีการพัฒนา BAP มาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา (Bernardini *et al.*, 2011)

ACE เป็น peptidyl-dipeptidase (E.C.3.4.15.1) ช่วยลดความดันโลหิตสูงในระบบ rennin angiotensin (Lee *et al.* 2010) กลไกการออกฤทธิ์ในกิจกรรมการยับยั้ง ACE โดยการสร้างแองจิโอเทนซิน 2 ถูกยับยั้ง ซึ่งส่งผลทำให้ความดันโลหิตลดลงเนื่องจาก ACE เป็นเอนไซม์ตัวเดียวกันกับที่ใช้ในการทำลาย bradykinin ดังนั้นยาในกลุ่ม ACE จึงมีผลการทำลาย

bradykinin อีกด้วยซึ่งผลดังกล่าวจะเสริมฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตมากยิ่งขึ้น เพราะ bradykinin เป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์แรงในการทำให้หลอดเลือดขยายตัว ดังนั้นการที่ยาในกลุ่ม ACE สามารถยับยั้งการสร้างแองจิโอเทนซิน 2 ลดการทำลาย bradykinin จึงส่งผลทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด ซึ่งผลโดยรวมคือทำให้ความดันโลหิตสูงลดลง (วิลาสินี, 2547)

ปัจจุบันยาสังเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ captopril enalapril และ lasinopril (Kuster and Marshall, 2005) โดยมีข้อดีคือ สามารถยับยั้ง ACE และลดความดันโลหิตสูง และข้อเสียคือ เกิดภาวะไอแห้ง การรับรสเปลี่ยนแปลงไป และมีผื่นบริเวณผิวหนัง (Bougatef *et al.*, 2008) นอกจากนี้ มีงานวิจัยเผยแพร่เกี่ยวกับเปปไทด์ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ซึ่งเปปไทด์ที่ได้มาจากโปรตีนจากวัตถุดิบธรรมชาติ มีความอ่อน ปลอดภัย ใช้งานง่ายกว่าเมื่อเทียบกับยาสังเคราะห์ทางเคมี (Hwang *et al.*, 2010) และมีผลยับยั้ง ACE (Davalos *et al.*, 2004) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เปปไทด์ทางธรรมชาติจากเนื้อสัตว์ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ตามวิธี Asodeh *et al.* (2012) โดยใช้เปปไทด์สังเคราะห์คือ FAPGG เป็นสารตั้งต้น ในการทำปฏิกิริยาการยับยั้ง ACE กลไกการการกกิจกรรมการยับยั้ง ACE ทำให้ความเข้มข้นของ bradykinin เพิ่มขึ้น และส่งผลให้ความเข้มข้นของแองจิโอเทนซิน 2 ลดลง และมีผลให้ความดันเลือดลดลง ดังนั้นการยับยั้ง ACE จัดได้ว่าเป็นขั้นตอนสำคัญในการลดความดันโลหิตสูง (Bougatef *et al.*, 2008)

เปปไทด์ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้มีงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่องค์ความรู้ทั้งในด้านการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต ความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งและวิธีการในการคัดแยกสายเปปไทด์ที่ผลิตได้เป็นจำนวนมาก ซึ่งวัตถุดิบที่ได้ถูกรายงานว่าสามารถนำมาผลิตสารกิจกรรมการยับยั้ง ACE ที่สามารถออกฤทธิ์ได้นั้นมีหลายชนิด โดยสามารถแบ่งได้เป็นกิจกรรมการยับยั้ง ACE จากสัตว์ และกิจกรรมการยับยั้ง ACE จากแหล่งอื่นๆ

7.1 กิจกรรมการยับยั้ง ACE จากสัตว์

Liu *et al.* (2010) ได้ทำการจำแนกลักษณะของเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ACE จากโปรตีนไข่ครีม โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส นำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาทำบริสุทธิ์ด้วย Gel filtration จากการวิจัยพบว่า เปปไทด์ 19 ชนิดใน fraction และทำในสิบเก้าชนิดชนิดได้จากแหล่งโอโวทรานส์เฟอริน และสังเคราะห์ด้วยวิธี Fmoc solid phase มี

กิจกรรมยับยั้ง ACE แล้วนำมาวิเคราะห์โดย HPLC ความเข้มข้นของเปปไทด์ที่ยับยั้ง ACE ได้ร้อยละ 50 คือ เปปไทด์ที่ประกอบด้วย Arg-Val-Pro-Ser-Leu (RVPSL) ที่ 20 μ m

โปรตีน Haruan myofibrillar ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสชนิด K และเทอร์โมไลซิน จากนั้นนำเปปไทด์คัดแยกการยับยั้ง ACE โปรตีนไฮโดรไลสได้จาก Haruan myofibrillar ถูกย่อยสลายพันธะเปปไทด์ด้วยเทอร์โมไลซินมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้สูงที่สุดซึ่งจะมีค่า $IC_{50} = 0.033$ mg/ml จากนั้นนำ fraction ทั้ง 3 fraction ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี ultrafiltS:Bn และ size exclusion chromatography พบว่า fraction F2 มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้สูงกว่า fraction A-E จากการใช้ reversed phased high performance liquid chromatography ของ fraction C แสดงกิจกรรมการยับยั้ง ACE เท่ากับ ร้อยละ 81 ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลสได้จาก Haruan มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE เพื่อลดความดันโลหิตสูงได้ (Ghassem *et al.*, 2011)

อัตราส่วนของน้ำต่อสารตั้งต้น เอนไซม์โปรติเอส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาของโปรตีนไฮโดรไลสที่ผลิตจากผลพลอยได้จากการแปรรูปกุ้ง ใช้เอนไซม์โปรติเอสที่มีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) เพื่อใช้ในการย่อยสลายจากการศึกษา DH และกิจกรรมการยับยั้ง ACE พบว่า การผลิตโปรตีนไฮโดรไลสที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและโปรตามิกซ์มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้สูง ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 100-200 μ g/ml และ 70 μ g/ml ตามลำดับ และมีร้อยละผลผลิตสูง จากนั้นนำมาทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี size-exclusion chromatography พบว่า กิจกรรมการยับยั้ง ACE มีขนาดโมเลกุล < 3 kDa โดยมีลำดับของเปปไทด์ดังนี้ Try, Phe, Leu, Ile, Val และ Lys ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลสที่ผลิตจากผลพลอยได้จากการแปรรูปกุ้ง มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE และสามารถใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ (Cheung *et al.*, 2010)

กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของเปปไทด์จากโปรตีนไข่ครีม พบว่า เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE โปรตีนไข่ครีมที่นำมาจำแนกลักษณะโดย LC tandem mass spectrometric เปปไทด์ที่ผ่านการจำแนกลักษณะโดย FT-IR พบว่า เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมด 11 ชนิด แล้วนำมาบ่งชี้โครงสร้างด้วย LC/ms/ms มีลำดับของกรดอะมิโนดังนี้ Thr-Asn-Gly-Ile-Ile-Arg (TN6IIR) แสดงการยับยั้ง ACE ได้สูงกว่าเปปไทด์ชนิดอื่น ความเข้มข้นของเปปไทด์ TN 6IIR ที่มี 70 μ M (Majumder *et al.*, 2011)

กล้ามเนื้อ porcine ที่ผ่านการย่อยสลายด้วย Dipeptidyl peptidase เอนไซม์ proteolytic สามารถย่อยสลาย dipeptide และ polypeptide ที่ปลาย N แล้ววิเคราะห์การยับยั้ง ACE การวิเคราะห์ dipeptides พบว่า สายเปปไทด์ Arg-Pro ที่ความเข้มข้น 25 μ M ร้อยละ 50 มีฤทธิ์ยับยั้ง ACE ส่วน Dipeptides Ly-Ala Gly-pro และ Ala-Ala สามารถยับยั้ง ACE ได้ในปริมาณที่ต่ำกว่า Dipeptides Ala-Arg และ Gly-Arg และต่ำกว่า Arg-Arg ดังนั้น เอนไซม์ proteolytic ทำให้เปปไทด์จากเนื้อสัตว์ มีฤทธิ์ยับยั้งโรคความดันโลหิตสูง (Sentandreu *et al.*, 2007)

เปปไทด์จาก porcine myosin B มีฤทธิ์ยับยั้ง ACE โดยนำ porcine myosin B มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เปปซินจะได้โปรตีนไฮโดรไลเสต แล้วมาทำบริสุทธิ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟี เพื่อจำแนกชนิดของเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เปปไทด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 50 ของเปปไทด์ M6 มีลำดับของเปปไทด์ดังนี้ Lys-Arg-Val-Ile-Glu-Try มีลำดับของเปปไทด์ดังนี้ Val-Lys-Ala-Gly-Phe มีความเข้มข้น 6.1 และ 20.3 ตามลำดับ เปปไทด์ M6 จากไมโอซินและเปปไทด์ A5 ของ actin origin เปปไทด์ M6 สามารถยับยั้ง ACE ได้สูงกว่าเปปไทด์ myosin-origin เปปไทด์ทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งแบบแข่งขัน ในการยับยั้ง ACE ซึ่งอยู่บนพื้นฐานของการยับยั้ง ACE เปปไทด์ทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งความดันโลหิตสูงได้ในหนูที่ dose 10 mg/kg และสามารถนำเปปไทด์ M6 และ A5 มาประยุกต์ใช้ใน functional food และนำไปใช้เป็นสารประกอบทางยาได้ (Muguruma *et al.*, 2009)

โปรตีนไฮโดรไลเสตของปลา tilapia มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE โดยนำโปรตีน tilapia มาย่อยสลายด้วยแอลคาไลน์ที่ pH 11 แล้วนำตัวอย่างมาปรับให้ได้ pH 5.5 เพื่อให้มีความคงตัว นำตัวอย่างมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์สองชนิด คือ cryctin-F หรือ flavourzyme ที่ DH ร้อยละ 7.7 และ 25 แล้วนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี ultra-filtered จะได้ 3 fraction ดังนี้ > 30 kDa fraction1, 10-30 kDa fraction และ < 10 kDa fraction จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเสต ทั้ง 2 fraction มาทดสอบการยับยั้ง ACE โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ย่อยสลายด้วย cryctin และฟลาโวไซม์ พบว่า DH เท่ากับ ร้อยละ 25 มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้สูงที่สุด แต่เปปไทด์ที่มีค่าสูงกว่าจะมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้ต่ำกว่า fraction ที่ผ่านมาการคัดแยกและทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี ultrafiltS:Bn มีกิจกรรมการยับยั้งต่ำกว่า fraction ที่ผ่านการยับยั้งด้วย cryctin มี DH เท่ากับ ร้อยละ 7.5 และ fraction ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยฟลาโวไซม์ DH เท่ากับ ร้อยละ 25 มีกิจกรรมยับยั้ง ACE (Raghavan *et al.*, 2009)

เนื้ออกไก่เข้มข้น ทำให้ความดันเลือดลดลง 50 mmHg เปปไทด์จากเนื้ออกไก่มีกิจกรรมการยับยั้งความดันโลหิตสูง หลังจากที่ทำมาวัดกิจกรรมการยับยั้ง ACE จากเนื้ออกไก่เข้มข้น ซึ่งมีกิจกรรมการยับยั้งร้อยละ 1060 mg เนื้ออกไก่เข้มข้นที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ trypsin chymotrysin และ intestinal juice จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี HPLC บนคอลัมน์ reversed-phase column และวิเคราะห์การจัดลำดับกรดอะมิโนที่ปลาย N จะมีลำดับของเปปไทด์ Gly-X-X-Gly-X-X-G-X-X ที่มีลักษณะเหมือนกับคอลลาเจน ดังนั้นลำดับของเปปไทด์มีดังนี้ Gly-Phe-Hyp-Gly-Thr-Hyp-Gly-Leu-Hyp-Gly-Phe มีการยับยั้ง ACE ได้สูงที่สุด และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 42 mM (Saiga *et al.*, 2003)

7.2 กิจกรรมการยับยั้ง ACE จากแหล่งอื่นๆ

Chen *et al.* (2007) พบว่า การเติมเอนไซม์โปรตีเอส Prozyme 6 ภายหลังการหมักนมด้วย lactic acid bacteria 5 ชนิดร่วมกัน สามารถผลิตสายเปปไทด์ที่มีความสามารถออกฤทธิ์กิจกรรมการยับยั้ง ACE ได้ โดยสายเปปไทด์ที่ออกฤทธิ์สูงมี 2 ชนิดที่มีลำดับของกรดอะมิโนดังนี้ Gly-Thr-Trp and Gly-Val-Trp ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 464.4 และ 240.0 μ M ตามลำดับ

Zhao *et al.* (2009) ได้ศึกษาการผลิต protein hydrolysate จาก body wall protein ของ sea cucumber ด้วยเอนไซม์โบรมิเลนและอัลคาเลส ภายหลังการคัดแยกเปปไทด์ออกเป็น 2 ส่วนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วย ultrafiltS:Bn และทำให้บริสุทธิ์ พบว่า สายเปปไทด์ที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดประกอบด้วยลำดับของกรดอะมิโนดังนี้ MEGAQEAQGD ซึ่งสารยับยั้งตัวนี้สามารถออกฤทธิ์ช่วยลดความดันโลหิตได้ในหนูที่ dose 3 μ M/kg

Vercruysse *et al.* (2008) ได้ศึกษาความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้ง ACE ด้วยสายเปปไทด์ที่เตรียมจากโปรตีนของ cotton leaf worm ผ่านกระบวนการ hydrolysis ด้วยเอนไซม์ pepsin trypsin และ α -chymotrypsin และพบว่าภายหลังการคัดแยกด้วย SEC และ RP-HPLC สายเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิดต่อกัน (Ala-Val-Phe) ให้ความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2123 μ M

Bernardini *et al.* (2011) ได้ทำการค้นคว้าและเขียนไว้ในบทความวิชาการเกี่ยวกับ Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-

products ซึ่งพบว่า การใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการตัดสายพันธะของโปรตีนให้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ ส่งผลให้เปปไทด์สายสั้นๆ ส่งผลให้เปปไทด์ที่เกิดขึ้น มีความสามารถยับยั้ง ACE

7.3 การประยุกต์ใช้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

ได้แก่ โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากผลพลอยได้จากการแปรรูปกุ้ง มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE และสามารถใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ (Cheung *et al.*, 2010) เปปไทด์จากเนื้ออกไก่ มีกิจกรรมการยับยั้งความดันโลหิตสูง (Saiga *et al.*, 2003) และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเปปไทด์จากถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเปปไทด์ vigor ที่สามารถบำรุงสมองและระบบประสาท (ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก, 2556)

8. ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญและสนใจสุขภาพมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ทำให้มีการเติบโตของตลาดของผลิตภัณฑ์ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ขณะที่เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพในแถบเอเชีย และในปี 2555-2556 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคมีความใส่ใจต่อสุขภาพ วิถีชีวิตที่เร่งรีบ สังคมให้ความสำคัญกับรูปลักษณ์ภายนอกมากขึ้น

เครื่องดื่มในตลาดโลกสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ประเภทที่ 1 คือ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และประเภทที่ 2 คือ เครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ ซึ่งเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจะอยู่ในประเภทที่ 2 ซึ่งสามารถแบ่งได้ 7 กลุ่ม ได้แก่ Carbonated Soft Drinks , Hot Beverages , Juice Drinks , เครื่องดื่มอื่นๆ (Other Beverages) , RTDs , เครื่องดื่มด้านการกีฬาและให้พลังงาน (Sports & Energy Drinks) และน้ำ (ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก, 2556)

เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพเป็นเครื่องดื่มไร้แอลกอฮอล์ (Soft Drink) เป็นเครื่องดื่มที่มีโอกาสเติบโตอย่างมากในอนาคต นอกจากการเติบโตของตลาดจะมาจากการที่ผู้บริโภคใส่ใจในเรื่องของสุขภาพแล้ว ยังมาจากการที่ผู้ประกอบการหลายรายเริ่มหันมาสร้างตลาดกลุ่มนี้มากขึ้น

8.1 ประเภทของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

8.1.1 Real Functional Drink หมายถึง เครื่องดื่มที่มีการใส่สารสำคัญในปริมาณที่มากพอที่จะทำให้ร่างกายเกิดผลดีต่อสุขภาพได้ เช่น ผลิตภัณฑ์บำรุงสมอง ผลิตภัณฑ์เพื่อความงาม และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ เป็นต้น (สถาบันอาหาร, 2554)

8.1.2 Emotional Functional Drink หมายถึง เครื่องดื่มที่สร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการเติมสารอาหารเข้าไป ซึ่งผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ ส่วนมากจะเป็นเครื่องดื่มที่เน้นความสดชื่น และลดกระหาย เช่น น้ำผลไม้ที่เสริมวิตามิน หรือกรดอะมิโนลงไปเพียงเล็กน้อย เป็นต้น (สถาบันอาหาร, 2554)

แบบยุโรปจะบริโภคน้ำผลไม้โดยเฉลี่ย 22.1 ลิตร/คน/ปี และนิยมบริโภคน้ำผลไม้ (juice) ที่มีรสเปรี้ยวมากกว่าน้ำผลไม้ที่มีรสหวาน ในประเทศเยอรมันนิยมบริโภคน้ำแอปเปิ้ล น้ำส้ม และน้ำผลไม้ผสม ตามลำดับ และหากมีการเติมน้ำตาลในน้ำผลไม้เรียกว่าเป็นเนคตาร์ (Nectars) สำหรับน้ำผลไม้เข้มข้นที่มีการนำเข้ามามากที่สุด ได้แก่ น้ำส้ม น้ำแอปเปิ้ล น้ำสับปะรดและน้ำเกรฟฟรุต ตามลำดับ ข้อกำหนดมาตรฐานหรือกฎหมายของประเทศคู่ค้าเป็นสำคัญ ซึ่งกฎหมายหรือข้อกำหนดที่ประเทศไทย ในฐานะผู้ส่งออก ได้แก่ มาตรฐานตาม FAO/WHO, Codex, EU รวมถึงสุขอนามัยของอาหารและระบบ HACCP (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2556)

ส่วนผสมเพื่อสุขภาพ (Functional ingredients) ในประเทศญี่ปุ่นซึ่งเป็นประเทศที่มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเหล่านี้นมาก่อนประเทศอื่นๆ ได้มีการกำหนดลักษณะจำเพาะของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพคือ ต้องมีสภาพทางกายภาพเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่แท้จริงคือ ไม่อยู่ในรูปแคปซูล หรือเป็นผงเหมือนยา และเป็นอาหารที่ได้หรือดัดแปลงจากวัตถุดิบตามธรรมชาติ บริโภคเป็นอาหารได้เป็นประจำไม่มีข้อจำกัดเหมือนยา คือ บริโภคได้ไม่จำกัด ปริมาณ เวลา สถานที่ และมีส่วนประกอบที่ให้ผลโดยตรงในการเสริมการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายและป้องกันโรคต่างๆ ได้ และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมีส่วนผสมที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ เกลือ สารสกัดจากข้าวบาร์เลย์ แคลเซียมคาร์บอเนต โรโบฟลาวิน ผงโกโก้ อินนูลิน ซูคราโลส ไบโอดีน โซเดียมเคซีนสเลซิดินจากถั่วเหลือง วานิลลา เพกติน ผงนมไขมันเต็ม และซิงค์ซัลเฟต แนวโน้มผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพในปี 2556 ในแต่ละด้านดังนี้

- กลิ่นรส: ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพกลิ่นรสส้ม เป็นกลิ่นรสที่ได้รับความนิยม เป็นกลิ่นรสที่มีการผลิตและจำหน่ายที่สูง รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพกลิ่นรสองุ่น และกลิ่นรสแอปเปิ้ล ตามลำดับ
- ประเภทของน้ำผลไม้: ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เข้มข้นเพื่อสุขภาพมีการผลิตและจำหน่ายที่สูง รองลงมาคือ น้ำผลไม้พร้อมดื่มหรือเนคตาร์
- การเก็บรักษา: ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพที่มีการเก็บรักษาแบบ shelf stable เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตและจำหน่ายที่สูงกว่าแบบ chilled
- ประเภทของผลิตภัณฑ์: ผลิตภัณฑ์ใหม่ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพที่ยังไม่มีมาก่อนเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตและจำหน่ายสูงที่สุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลาย ผลิตภัณฑ์ที่มีบรรจุภัณฑ์แบบใหม่ หรือผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสูตรใหม่ ตามลำดับ
- ประเทศที่ผลิต: ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพผลิตในประเทศญี่ปุ่น สูงสุด รองลงมาคือ ออสเตรเลีย
- การกล่าวอ้าง: ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพไม่ได้สารกันเสีย รองลงมาคือ สารปรุงแต่งอื่นๆ (เพื่อสุขภาพ)
- บรรจุภัณฑ์: ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพที่มีลักษณะแบบขวดสูงสุด รองลงมา ลักษณะแบบกล่องพลาสติก (ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก, 2556)

การประยุกต์ใช้เครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพ ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่มีโอกาสเติบโตทำให้มีการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพออกสู่ท้องตลาดมากขึ้น สำหรับน้ำผลไม้ที่เป็นที่นิยม หนึ่งในนั้นคือ น้ำองุ่นที่มีสารประกอบคือ แอนโทไซยานิน และแทนนิน (Dharmadhikari, 1994) เป็นองค์ประกอบส่งผลดีต่อร่างกายและนอกจากนี้องุ่นให้ผลผลิตต่อไร่ค่อนข้างสูง เมื่อเป็นมูลค่าสูงกว่าผลไม้ชนิดอื่นๆ จึงทำให้เป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่งของประเทศไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) จากการศึกษาข้อมูลทางการตลาดของทวีปเอเชียแปซิฟิก พบว่า กลิ่นรสองุ่น ติดอันดับหนึ่งในสามที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคของทวีปเอเชียแปซิฟิก (ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก, 2556) ดังนั้นจึงได้พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่ไม่เคยมีมาก่อน โดยมีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่เป็นองค์ประกอบในเครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่น) ในด้านการป้องกันโรคความดันโลหิตสูง และสอดคล้องกับเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมหลักคือ แล็กโตไตรเปปไทด์ (Lactotripeptide) ที่มีการกล่าวอ้างว่า สามารถลดความดันโลหิตสูงได้ ซึ่งเครื่องดื่มชนิดนี้ผลิตจากบริษัทคาลพิส จากประเทศญี่ปุ่น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบและสารเคมี

- 1.1 เนื้ออกไก่ (บริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ประเทศไทย)
- 1.2 น้ำอุ่นเข้มข้น (บริษัท นูบุ จำกัด ประเทศไทย)
- 1.3 เอนไซม์อัลคาเลส 2.4 LFG (Alcalase®) (บริษัท Novozyme ประเทศเดนมาร์ก)
- 1.4 เอนไซม์ฟลาโวไซม์ 1000 L (Flavourzyme®) (บริษัท Novozyme ประเทศเดนมาร์ก)
- 1.5 เอนไซม์ ACE (บริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 1.6 Furanacryloyl-L-phenylalanylglycyl-glycine (บริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 1.7 O-phthaldialdehyde, OPA (บริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 1.8 Serine (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)
- 1.9 Sodium hydroxide (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)
- 2.0 Hydrochloric acid (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)
- 2.1 Ethyl alcohol (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)
- 2.2 Sodium carbonate (บริษัท Rankem ประเทศอินเดีย)
- 2.3 Potassium hydroxide (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 2.4 Sulfuric acid (บริษัท Baker analyzed ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2.5 Boric acid (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 2.6 Potassium sulphate (บริษัท Ajax finechem ประเทศนิวซีแลนด์)
- 2.7 Copper sulphate (บริษัท Baker analyzed ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2.8 Tris-hydrochloric (บริษัท Sigma ประเทศเยอรมนี)

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่

- 2.1 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (ยี่ห้อ Thermo scientific รุ่น Supermodulyo-230 ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2.2 เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น 224S ประเทศเยอรมนี)

- 2.3 เครื่องหมุนเหวี่ยงแยก (ยี่ห้อ Hittech รุ่น ROTINA 380R ประเทศเยอรมนี)
- 2.4 เครื่องแก้ว และอุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการเคมี และแปรรูป
- 2.5 เครื่องบดหยาบ (ยี่ห้อ BRAUN รุ่น Combimax 600 ประเทศเยอรมนี)
- 2.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี)
- 2.7 อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี)
- 2.8 ตู้เย็น
- 2.9 ตู้แช่แข็ง
- 2.10 เทอร์โมมิเตอร์แบบแท่งแก้ว 0-100 องศาเซลเซียส
- 2.11 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH-meter ประเทศ

สหรัฐอเมริกา)

- 2.12 เครื่องกวนสารชนิดแม่เหล็กพร้อมให้ความร้อน (ยี่ห้อ IKA รุ่น C-MAG HS ประเทศ

จีน)

3. เครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- 3.1 เตาเผาถ้ำ (ยี่ห้อ STUART รุ่น CarboliteELF 11/14 ประเทศอังกฤษ)
 - 3.2 เครื่องย่อยโพรตีน (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น K345 และ Scrubber B-414 ประเทศ
- สวิตเซอร์แลนด์)
- 3.3 เครื่องกลั่นโพรตีน (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น Kjelflex K360 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
 - 3.4 เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ยี่ห้อ Foss รุ่น Soxtec 2050 ประเทศสหรัฐอเมริกา)
 - 3.5 ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ BINDER รุ่น VD53 ประเทศเยอรมนี)
 - 3.6 เครื่องวัดปริมาณการดูดกลืนแสง UV-spectrophotometer (ยี่ห้อ Hexion รุ่น UV-160A
- ประเทศญี่ปุ่น)
- 3.7 เครื่องมือวิเคราะห์ขนาดโมเลกุลเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (ยี่ห้อ BIORAD ประเทศ
- สหรัฐอเมริกา)

4. เครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- 4.1 เครื่องวัดค่าสีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ยี่ห้อ Minolta รุ่น CM - 3500d ประเทศ
- สหรัฐอเมริกา)

5. เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์

5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

5.1.1 Potato Dextrose Agar (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

5.1.2 Plate Count Agar (บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

5.2 ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115 ประเทศเยอรมนี)

5.3 ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115 ประเทศเยอรมนี)

5.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (ยี่ห้อ Tuttnauer รุ่น 3850M ประเทศสหรัฐอเมริกา)

6. เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับตรวจสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัส

6.1 อุปกรณ์สำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

6.2 แบบสอบถาม

7. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการประมวลผลข้อมูล

7.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

7.2 โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows version 12.0, SPSS Inc., Thailand

วิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

นำเนื้อมะเขือเทศจากบริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) นำมาล้างทำความสะอาด และทำการตัดแต่ง จากนั้นนำเนื้อมะเขือเทศมาบดละเอียด โดยใช้เส้นผ่านศูนย์กลางของหน้าแปลนเครื่องบดเท่ากับ 3 มิลลิเมตรเพื่อลดขนาดอนุภาค แล้วสุ่มตัวอย่างเนื้อมะเขือเทศเพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000) จากนั้นนำเนื้อมะเขือเทศบรรจุในถุงแบบสุญญากาศ (1 กิโลกรัมต่อถุง) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

2. การศึกษาชนิดของเอนไซม์ต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศ ที่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด

ในขั้นตอนนี้ ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศ ที่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด โดยจัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล $2 \times 3 \times 5$ ในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ซึ่งปัจจัยที่ศึกษาทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 2 ระดับ ได้แก่ 1:2 และ 1:3 และระยะเวลาในการย่อยสลาย 5 ระดับ ได้แก่ 60 120 180 240 และ 300 นาที โดยทำการศึกษาเอนไซม์ 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ สามารถจัดสิ่งทดลองได้ดังแสดงในตารางที่ 3 (เอนไซม์อัลคาเลส) และ ตารางที่ 4 (เอนไซม์ฟลาโวไซม์)

จากนั้นนำเนื้อมะเขือเทศที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาทำละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำเนื้อมะเขือเทศมาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ในอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 แล้วปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 นอร์มัล แล้วย่อยสลายที่อุณหภูมิ และความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยใช้สภาวะตามข้อกำหนดเฉพาะของเอนไซม์ชนิดนั้นๆ สำหรับเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase®) ใช้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเอนไซม์ ฟลาโวไซม์ (Flavourzyme®) ใช้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ใน

ตัวอย่าง ทำการย่อยสลายที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 60 120 180 240 และ 300 นาที โดยเขย่าเป็นระยะทุกๆ 60 นาที จากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปเหวี่ยงแยกที่ 2000xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้คือ สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อไก่ที่สกัดจากกระดูกสันหลังไก่ที่แช่แข็งที่อุณหภูมิ -60 องศาเซลเซียส และความดัน 0.01 kPa เป็นเวลา 25 ชั่วโมง โดยมีวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งดังภาพที่ 2 จะได้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่มาวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ได้แก่ การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี การวิเคราะห์ด้านกายภาพ การวิเคราะห์ DH และการวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้ง ACE

ตารางที่ 3 สิ่งทดลองของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

S:B	E	ค่าคุณภาพ				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
	0.6	A ₆	A ₇	A ₈	A ₉	A ₁₀
	0.9	A ₁₁	A ₁₂	A ₁₃	A ₁₄	A ₁₅
1.3	0.3	A ₁₆	A ₁₇	A ₁₈	A ₁₉	A ₂₀
	0.6	A ₂₁	A ₂₂	A ₂₃	A ₂₄	A ₂₅
	0.9	A ₂₆	A ₂₇	A ₂₈	A ₂₉	A ₃₀

หมายเหตุ S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ตารางที่ 4 สิ่งทดลองของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ฟลาโวไซม์

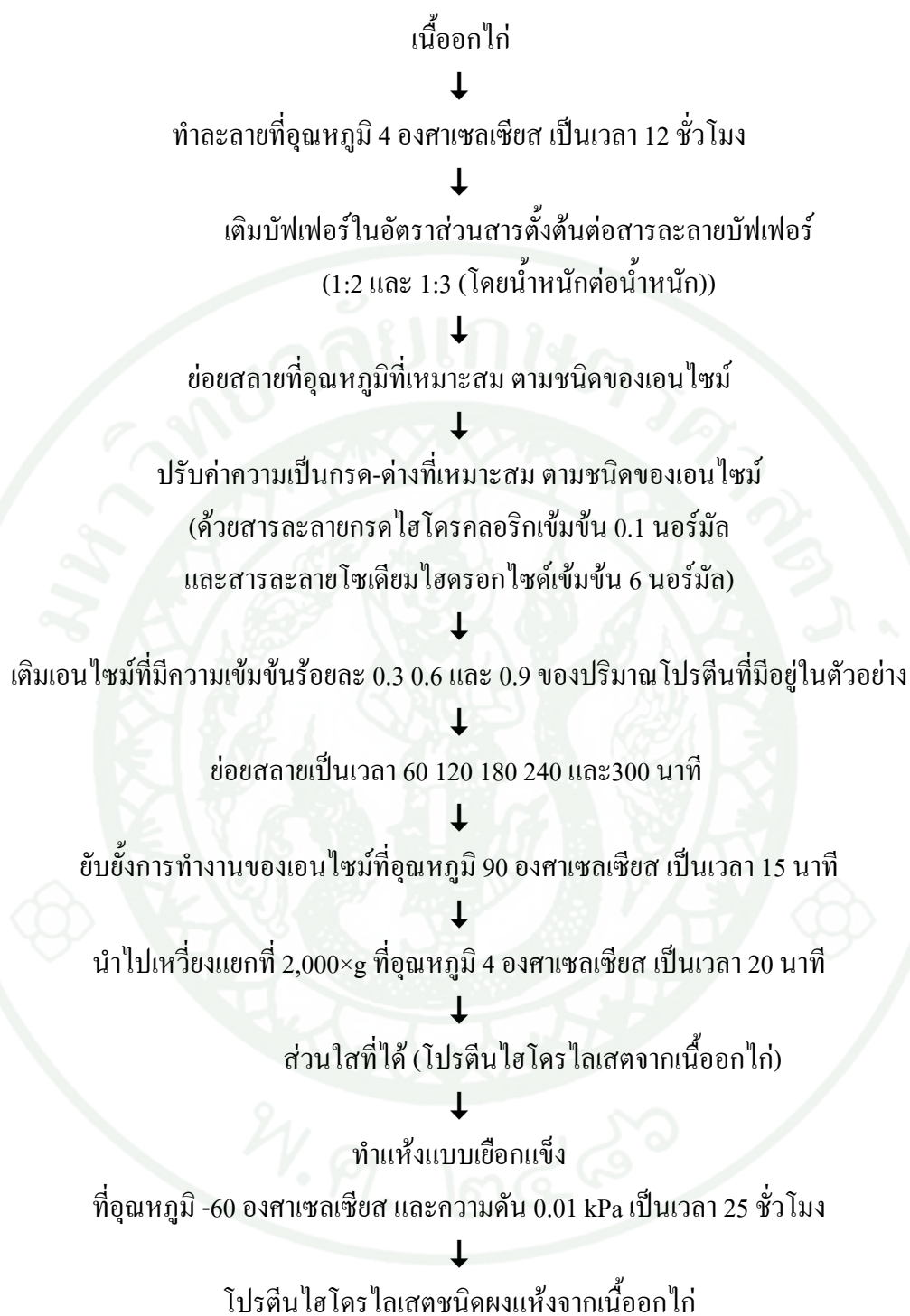
S:B	E	ค่าคุณภาพ				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
	0.6	B ₆	B ₇	B ₈	B ₉	B ₁₀
	0.9	B ₁₁	B ₁₂	B ₁₃	B ₁₄	B ₁₅
1.3	0.3	B ₁₆	B ₁₇	B ₁₈	B ₁₉	B ₂₀
	0.6	B ₂₁	B ₂₂	B ₂₃	B ₂₄	B ₂₅
	0.9	B ₂₆	B ₂₇	B ₂₈	B ₂₉	B ₃₀

หมายเหตุ S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

2.1 การศึกษาคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ทางด้านเคมี ด้านกายภาพ ค่าระดับการย่อยสลาย หรือ DH และกิจกรรมการยับยั้งแองจิโอเทนซิน I คอนเวิร์ทติ้ง เอนไซม์ หรือ ACE

นำโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่มาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2000) และปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีเจลดาคัล ตามวิธีของ AOAC (2000) คุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่ ร้อยละผลผลิต และวัดค่าสีระบบ CIE ตามวิธีการของ Mcdougall (1944) วิเคราะห์ DH ด้วยวิธี OPA ตามวิธีการของ Nissen *et al.* (2001) และกิจกรรมการยับยั้ง ACE โดยดัดแปลงตามวิธีการของ Asoodeh *et al.* (2012) แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS จากนั้นวิเคราะห์ค่าคุณภาพต่างๆ ดังนี้



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อมะพร้าว

ที่มา: ดัดแปลงจาก Muzaiifa *et al.* (2012)

2.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

2.1.1.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก

2.1.1.2 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก

2.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

2.1.2.1 คำนวณร้อยละผลผลิตที่ได้ (%Yield)

$$\%Yield = [(W_1/W_2) \times 100]$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักแห้งของโปรตีนไฮโดรไลสได้จากเนื้ออกไก่ และ W_2 คือ น้ำหนักเนื้ออกไก่เริ่มต้น (35 กรัม) คัดแปลงตามวิธีการของ Wang *et al.* (1999)

2.1.2.2 การวัดค่าสีในระบบ CIE $L^* a^* b^*$

ทำการเทียบมาตรฐานเครื่องวัดค่าสี Spectrophotometer โดยวัดค่าการสะท้อนแสง (Reflectance) ใช้แหล่งกำเนิดแสง D_{65} มุมผู้สังเกตการณ์มาตรฐาน 10 องศา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำวัด 5 ครั้ง ตามวิธีการของ McDougall (1944)

2.1.3 การวิเคราะห์ DH

2.1.3.1 การเตรียมตัวอย่าง นำตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลส ชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจลดาคัล ตามวิธีการของ AOAC (2000) เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่า Serine-NH₂ จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลสชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่มาละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเป็น 100 มิลลิลิตร โดยที่ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างร้อยละ 8 ถึง 80 จึงเตรียมปริมาณตัวอย่าง 0.1 กรัม ถึง 1 กรัม ตามวิธีการของ Nielsen *et al.* (2001)

2.1.3.2 การวัดค่าตัวอย่าง ด้วยวิธี OPA ตามวิธีการของ Nielsen *et al.* (2001) โดยเติม OPA reagent 3 มิลลิลิตร แล้วเติมตัวอย่าง 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้ววางไว้

ที่อุณหภูมิห้อง 2 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง 340 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณเป็น ค่า Serine- NH_2 โดยค่าการดูดกลืนแสงของ standard หาได้จากการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้น แต่ใช้ Serine แทนตัวอย่าง และมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.8 และค่าการดูดกลืนแสง blank หาได้จากการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้นแต่นำกลั่นแทนตัวอย่าง และมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.07 และคำนวณค่า DH ตามสมการที่ (1) และ (2) ดังนี้

$$\text{Serine- NH}_2 = (\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{blank}}) / ((\text{OD}_{\text{standard}} - \text{OD}_{\text{blank}})(0.9516 \text{ meqv})) / (L)(0.1)(100) / (X)(P) \quad (1)$$

กำหนดให้ Serine- $\text{NH}_2 = \text{meqv serine NH}_2/\text{g protein}$, X= กรัมของตัวอย่าง, P=ร้อยละโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

$$\text{DH} = (h) / ((h_{\text{tot}})(100\%)) \quad (2)$$

กำหนดให้ $h_{\text{tot}} = 7.6$, $h = (\text{Serine- NH}_2 - \beta) / (\alpha \text{ meqv serine NH}_2/\text{g protein})$, $\beta = 0.4$, $\alpha = 1$

2.1.4 การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้ง ACE

นำโปรตีนไฮโดรไลเตสมาวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้ง ACE โดยดัดแปลงวิธีการของ Asoodeh *et al.* (2012) โดยใช้เปปไทด์สังเคราะห์ทางเคมีคือ furanacryloyl-L-phenylalanylglycyl-glycine หรือ FAPGG เป็นสารตั้งต้น เริ่มจากวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเติมโปรตีนไฮโดรไลเตสเข้มข้น 1 mg/ml ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติม FAPGG เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเอนไซม์ ACE เข้มข้น 50 mU/ml ปริมาตร 22 ไมโครลิตร เติม ACE buffer ปริมาตร 150 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง 340 นาโนเมตร และการวัดค่าการดูดกลืนแสงจากตัวอย่างควบคุม เติมเอนไซม์ ACE เข้มข้น 50 mU/ml ปริมาตร 22 ไมโครลิตร เติม FAPGG 100 ไมโครลิตร และเติม ACE buffer 200 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที (ภาพที่ 3)

ในสูตรกำหนดให้ A เป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และ B ค่าการดูดกลืนคลีนแสงจากตัวอย่างควบคุม แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE ของตัวอย่างเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยคำนวณได้จากสมการที่ (3)

$$\text{ร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE} = (1 - (A/B)) \times 100 \quad (3)$$

โปรตีนไฮโดรไลเตสชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่เข้มข้น 1 mg/ml ปริมาตร 50 ไมโครลิตร



เติม FAPGG เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร



เติมเอนไซม์ ACE เข้มข้น 50 mU/ml ปริมาตร 22 ไมโครลิตร



เติม ACE buffer ปริมาตร 150 ไมโครลิตร



ผสมให้เข้ากัน



ตั้งทิ้งไว้ 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

ภาพที่ 3 กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเตสชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

จากนั้นคัดเลือกสิ่งทดลองที่ดีที่สุดของโปรตีนไฮโดรไลเตสชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ โดยพิจารณาจากร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดของโปรตีนไฮโดรไลเตสชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ และคุณภาพด้านเคมี ด้านกายภาพ และ DH ของสิ่งทดลองที่มีร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3. การศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ให้อาหารการยับยั้ง ACE สูงสุด

ในขั้นตอนนี้ เลือกสิ่งทดลองของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ให้อาหารการยับยั้ง ACE สูงสุดในขั้นตอนที่ 2 มาวิเคราะห์คุณลักษณะต่างๆ ดังนี้

3.1 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล

การตรวจสอบขนาดโมเลกุลของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE โดยใช้ความเข้มข้นของเจลเท่ากับร้อยละ 12 ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Schagger and Jagow (1987) ดังแสดงในภาคผนวก ก

3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (Solubility capacities)

นำโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ 1.25 กรัม และน้ำปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร ผสมกันในหลอดขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 13,640xg นาน 20 นาที นำส่วนที่ลอยอยู่ที่ผิวด้านบนของน้ำมาใส่ในถ้วยอะลูมิเนียม จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นดัชนีการละลายน้ำ (Water solubility index) คำนวณได้จากสมการที่ (4) (Kha *et al.*, 2010)

$$\text{ดัชนีการละลายน้ำ} = (\text{น้ำหนักหลังอบแห้ง} / \text{น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100 \quad (4)$$

3.3 การวิเคราะห์ความสามารถการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacities)

นำโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ 1 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนให้มีปริมาตรรวมเป็น 100 มิลลิลิตร เติมน้ำมันพืชปริมาตร 10 มิลลิลิตรลง ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันที่ความเร็วรอบ 11,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ปิเปตสารที่กั้นภาชนะปริมาตร 50 ไมโครลิตร ที่เวลา 0 และ 10 นาที ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย SDS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร คำนวณได้จากสมการที่ (5) และ (6) ดัดแปลงจากวิธีของ Pearce and Kinsella (1978)

$$\text{ความสามารถการเกิดอิมัลชัน (m}^2\text{/g)} = (2 \times 2.303 \times A_{500}) / (0.25 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง}) \quad (5)$$

$$\text{ความคงตัวของเกิดอิมัลชัน (min)} = A_0 \times \Delta t / \Delta A \quad \text{โดยที่ } \Delta A = A_0 - A_{10}, \Delta t = 10 \text{ นาที} \quad (6)$$

3.4 การวิเคราะห์ความสามารถการเกิดฟอง (Foaming capacities)

นำโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ร้อยละ 0.5 (w/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันที่ความเร็วรอบ 11,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที แล้วบันทึกค่าปริมาตรก่อนและหลังผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันภายในเวลา 30 วินาที คำนวณได้จากสมการที่ (7) ดัดแปลงจากวิธีการของ Sathe and Salunkhe (1981)

$$\text{ความสามารถการเกิดฟอง} = \frac{(\text{ปริมาตรหลังผสม} - \text{ปริมาตรก่อนผสม}) \times 100}{\text{ปริมาตรก่อนผสม}} \quad (7)$$

3.5 การวิเคราะห์ความสามารถการดูดซับไขมัน (Fat adsorption capacities)

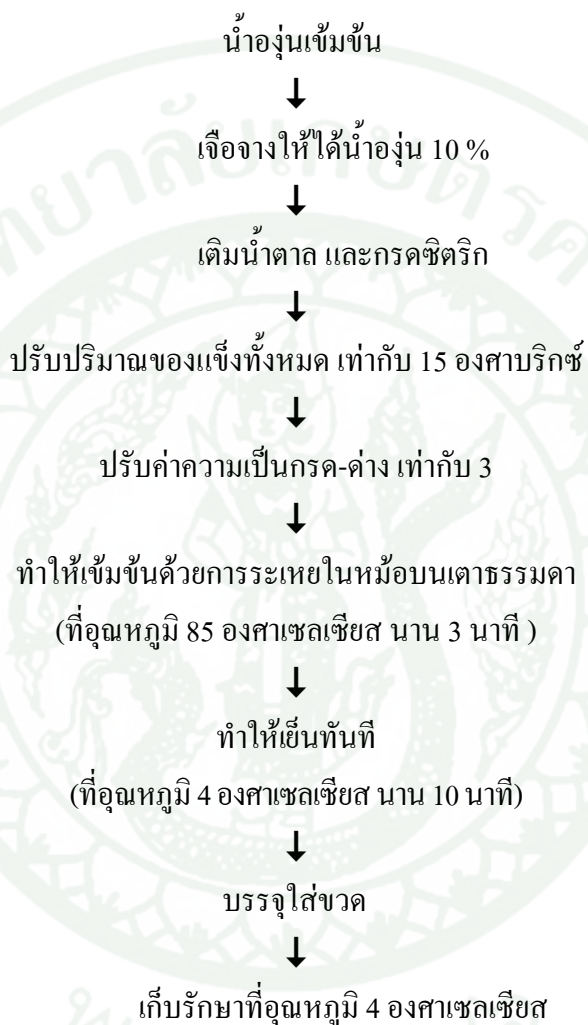
นำโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ 0.3 กรัม เติมน้ำมันพืชปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในหลอดเซนติฟิวส์ จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ผสมให้เข้ากันด้วย spatula ทุกๆ 10 นาที หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแยกที่ 2000 xg เป็นเวลา 25 นาที แล้วนำตะกอนไปชั่ง น้ำหนักก็จะได้น้ำหนักตัวอย่างที่ดูดซับน้ำมัน คำนวณได้จากสมการที่ (8) (Kristiosson and Rasco, 2000)

$$\text{ความสามารถการดูดซับไขมัน} = \text{น้ำหนักตัวอย่างที่ดูดซับน้ำมัน} - \text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น} \quad (8)$$

4. การศึกษาการประยุกต์โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่หักกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง)

4.1 การศึกษาสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง)

ในขั้นตอนนี้ ศึกษาสูตรการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุ่นแดง) ตามวิธีการผลิตแสดงดังภาพที่ 4 ตามวิธีมาตรฐานของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546) และสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุ่นแดง) ดังตารางที่ 5



ภาพที่ 4 กรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุ่นแดง)

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546)

ตารางที่ 5 สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
น้ำองุ่นเข้มข้น (กรัม)	10.00
น้ำ (กรัม)	80.43
น้ำตาล (กรัม)	9.50
กรดซิตริก (กรัม)	0.07

ที่มา: คัดแปลงมาจาก ผลิตภัณฑ์น้ำองุ่นทางการค้า (2557)

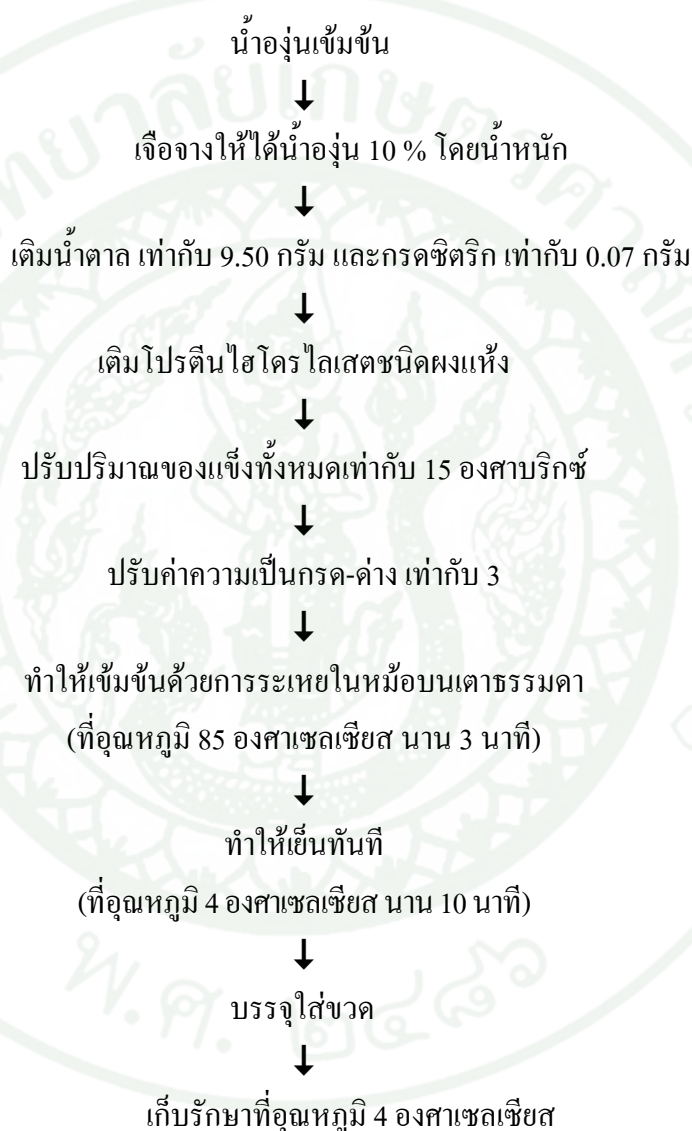
จากนั้นนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) จำนวน 30 คน ในคุณลักษณะด้าน สี กลิ่น รส กลิ่นรส รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวม ดังแสดงในภาคผนวก ก แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

4.2 การพัฒนาเครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด

ในขั้นตอนนี้ นำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) จากขั้นตอนที่ 4.1 มาประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดเพื่อเป็นส่วนผสมในน้ำองุ่น โดยทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยปัจจัยที่ศึกษา คือ ระดับปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่มี 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.0008, 0.0017 และ 0.0034 กรัม ซึ่งคัดแปลงจากเครื่องดื่มทางการค้าที่มีส่วนผสมหลักคือ แล็กโตสไตรเปปไทด์ (Lactotripeptide) ที่มีการกล่าวอ้างว่า สามารถลดความดันโลหิตสูงได้ ซึ่งเครื่องดื่มนี้นผลิตจากบริษัทคาลพิส จากประเทศญี่ปุ่น

นำน้ำองุ่นแดงที่ไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตัวอย่างควบคุม, สูตรที่ 1) เปรียบเทียบกับน้ำองุ่นแดงที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่บดที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (สูตรที่ 2, 3, 4) วิธีการผลิตแสดงดังภาพที่ 5 และมีสูตรในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไล

ไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ดังแสดงในตารางที่ 6 จากนั้นนำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) จำนวน 30 คน ในคุณลักษณะด้าน สี ความเป็นเนื้อเดียวกัน และกลิ่น ให้ผู้ทดสอบโดย ดู กวน และดมดังแสดงในภาคผนวก ก แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS



ภาพที่ 5 กรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มต้นแบบ (นํ้าอุ่นแดง) ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ทำให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546)

ตารางที่ 6 สูตรในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแบบ (น้ำอุ่นแดง) ร่วมกับโปรตีนโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

ส่วนประกอบ	น้ำอุ่นผสมโปรตีนไฮโดรไลเสต			
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
น้ำอุ่นเข้มข้น (กรัม)	10.00	10.00	10.00	10.00
น้ำ (กรัม)	80.43	80.43	80.43	80.43
น้ำตาล (กรัม)	9.50	9.50	9.50	9.50
กรดซิตริก (กรัม)	0.07	0.07	0.07	0.07
โปรตีนไฮโดรไลเสตผง (กรัม)	0.0000	0.0008	0.0017	0.0034

ที่มา: คัดแปลงมาจาก ผลิตภัณฑ์น้ำอุ่นทางการค้า (2557)

4.3 การศึกษาคุณภาพด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านจุลินทรีย์ ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ใช้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแบบ (น้ำอุ่นแดง)

ในขั้นตอนนี้ คัดเลือกสูตรที่ดีที่สุดของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดที่เป็นส่วนผสมในน้ำอุ่นโดยนำตัวอย่างในขั้นตอนที่ 4.2 แล้วทำการตรวจวัดค่าคุณภาพต่างๆ ดังนี้

4.3.1 การวิเคราะห์ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* ดังแสดงในหัวข้อที่ 2

4.3.2 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังแสดงในภาคผนวก ก (Khalil, 1998)

4.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ) ดังแสดงในภาคผนวก ก (Khalil, 1998)

4.3.4 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการยับยั้ง ACE ดังแสดงในหัวข้อที่ 2

4.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)

4.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (cfu/ml) ดังแสดงในภาคผนวก ข (BAM, 2002)

4.3.7 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมด (cfu/ml) ดังแสดงในภาคผนวก ข (BAM, 2002)

5. สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต
บางเขน

6. ระยะเวลาการวิจัย

เดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนมีนาคม 2557

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาชนิดของเอนไซม์ต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ใช้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด

1.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้ออกไก่

เมื่อนำวัตถุดิบเนื้ออกไก่มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้ออกไก่ ได้แก่ ปริมาณ ความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และเถ้า (ตารางที่ 7) พบว่า เนื้ออกไก่มีความชื้นร้อยละ 76.94 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 22.99 ปริมาณไขมันร้อยละ 3.93 และเถ้าร้อยละ 1.78 โดยน้ำหนักเปียก และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Barbanti and Pasquini (2005) พบว่าเนื้ออกไก่ มีปริมาณ โปรตีน ไขมัน และเถ้าร้อยละ 21.47 0.64 และ 1.29 ตามลำดับ และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัย ของ Kurozawa *et al.* (2009) ที่พบว่าเนื้ออกไก่มีความชื้นร้อยละ 74.10 และมีปริมาณ โปรตีนร้อยละ 19.36 ไขมัน และเถ้าร้อยละ 1.55 และ 1.10

เมื่อพิจารณาผลของปริมาณโปรตีนซึ่งค่าที่ได้สอดคล้องกับ นิธิยา (2549) กล่าวว่าเนื้อไก่ เป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพดี มีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 20-23 และกรดอะมิโนจำเป็นเป็น องค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ อีกทั้งมีปริมาณไขมันต่ำ และแตกต่างกันไป ตามอายุ และสายพันธุ์ ทั้งนี้การตัดแต่งวัตถุดิบต้องมีการกำจัดไขมันออกเพื่อป้องกันการเกิด ออกซิเดชัน

เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีการเลือกเนื้ออกไก่เป็นวัตถุดิบ มีความเหมาะสม เนื่องจากเนื้อไก่มีปริมาณไขมันน้อย (นิธิยา, 2549) จึงส่งผลดีต่อระบบการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ นอกจากนี้เนื้อไก่ประกอบด้วยโปรตีน (ไมโอซิน โทรโปไมโอซิน โทรโปนิน และคอลลาเจน) ใน ปริมาณที่สูง พบว่า เมื่อนำเนื้ออกไก่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ประเภทเอนโดเปปติเดส จะได้เปปไทด์ที่ได้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งความดันโลหิตสูง (Dziuba *et al.*, 1996) ดังนั้นเนื้ออกไก่มีปริมาณโปรตีน และประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นที่มีความเป็นไปได้ในการนำมาผลิตเปปไทด์ที่อาจออกฤทธิ์ยับยั้งความดันโลหิตสูงได้

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อมากไก่ละเอียด (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ ^a
ความชื้น	76.94 ± 0.10
โปรตีน	22.99 ± 0.31
ไขมัน	3.93 ± 0.31
เถ้า	1.78 ± 0.12

หมายเหตุ ^a ค่าเฉลี่ยของข้อมูล ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากผลการวิจัย 3 ซ้ำ

1.2 การศึกษาคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมากไก่ทางด้านเคมี ด้านกายภาพ ค่าระดับการย่อยสลาย หรือ DH และกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อินฮิบิเตอร์ I คอนเวิร์ทติ้งเอนไซม์ หรือ ACE

โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อมากไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะอยู่ในสภาพของเหลว ดังนั้นเพื่อสะดวกในการเก็บรักษาจึงนำมาทำแห้ง โดยการทำให้แห้งมีหลายวิธี ซึ่งในการวิจัยได้เลือกวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งเร็วและแห้งสนิท ถนอมคุณค่าของผลิตภัณฑ์ให้สูญเสียไปน้อยที่สุด และสะดวกในการเก็บรักษาและนำไปใช้ประโยชน์ จึงนำโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมากไก่มาวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ แสดงผลดังนี้

1.2.1 คุณภาพด้านเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมากไก่

คุณภาพด้านเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมากไก่ได้ทำการวิเคราะห์ค่าปริมาณความชื้น และปริมาณโปรตีน ตามวิธีการของ AOAC (2000) โดยตามชนิดของเอนไซม์โปรติเอส 2 ชนิด ซึ่งผลการทดลอง แสดงได้ดังตารางที่ 8 แสดงปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และตารางที่ 9 แสดงปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

1.2.1.1 ความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผลิตได้ นำมาวิเคราะห์ค่าความชื้น เนื่องจากความชื้นเป็นค่าที่บ่งชี้ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในตัวอย่าง จำเป็นต้องนำไปเป็นปัจจัยคุณภาพที่ใช้บอกการเปลี่ยนแปลงของอาหารในระหว่างการเก็บรักษาและการทนต่อการเสื่อมเสีย และมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ที่มีผลกระทบทางลบต่ออาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) ดังนั้นการวิเคราะห์ความชื้นจึงเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

S:B	E	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	6.68 ^{defg} ± 0.71	6.69 ^{defg} ± 0.66	7.11 ^{cde} ± 0.80	7.99 ^{abcd} ± 0.43	4.32 ^{hi} ± 0.64
	0.6	7.20 ^{bcde} ± 0.15	5.47 ^{gh} ± 0.25	7.80 ^{abc} ± 0.02	7.75 ^{abdce} ± 0.12	5.56 ^{fgh} ± 0.18
	0.9	8.21 ^{abc} ± 0.58	8.51 ^{ab} ± 0.41	7.17 ^{cde} ± 0.90	8.67 ^a ± 0.50	8.74 ^a ± 0.08
1.3	0.3	6.46 ^{efg} ± 0.44	4.21 ⁱ ± 1.04	6.76 ^{def} ± 0.65	6.76 ^{def} ± 0.89	4.56 ^{hi} ± 1.12
	0.6	8.32 ^{abc} ± 0.97	6.80 ^{def} ± 0.95	7.42 ^{abcde} ± 0.48	8.41 ^{abcd} ± 0.34	4.80 ^{hi} ± 0.63
	0.9	7.48 ^{abcde} ± 0.44	7.11 ^{cde} ± 0.92	7.84 ^{abcd} ± 0.44	8.67 ^a ± 0.61	8.74 ^a ± 0.21

หมายเหตุ ^{a-i} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ผลการวิจัยในครั้งนี้ พบว่า ความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความชื้นเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 4.32-8.74 ขณะที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความชื้นเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 4.21-8.74 (ตารางที่ 8) และความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผง

แห้งจากเนื้อออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความชื้นเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 6.60-9.06 ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความชื้นเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 4.46-8.49 (ตารางที่ 9) แสดงให้เห็นว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อออกไก่ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายจาก 120 เป็น 180 นาที จะทำให้ความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างถูกตัดพันธะด้วยเอนไซม์ ทำให้พันธะเปปไทด์ของโปรตีนเกิดการแตกตัวและปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นที่ละลายได้เข้าสู่สารละลายของตัวอย่างได้ในปริมาณมาก จึงทำให้ได้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีความเข้มข้นโปรตีนสูง จากนั้นเมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง จะทำให้น้ำระเหยออกจากตัวอย่างได้ช้า เนื่องจากตัวอย่างมีความเข้มข้นโปรตีนสูง ส่งผลให้ความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายมากขึ้น จะทำให้ความชื้นของตัวอย่างมีค่ามากขึ้น นอกจากนี้ค่าความชื้นยังมีความสัมพันธ์กับค่า a_w เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อคุณภาพและการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร เพราะความชื้นในผลิตภัณฑ์อาหาร และค่า a_w จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีหรือมีการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเน่าเสีย (นิธิยา, 2549)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อออกไก่อมีค่า a_w เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.3-0.6 ซึ่งมีค่า a_w ต่ำจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้นานขึ้น เนื่องจากสามารถลดและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเคมี และการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดจะหยุดการเจริญเมื่อผลิตภัณฑ์อาหารมีค่า a_w เท่ากับหรือต่ำกว่า 0.6 (นิธิยา, 2549) นอกจากนี้ปริมาณความชื้นของตัวอย่างจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสี เนื่องจากในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต มีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ส่งผลให้โปรตีนโกลบูลินในตัวอย่างเกิดการสูญเสียสภาพ และเกิดการออกซิเดชันจากสีของตัวอย่างที่มีสีแดง ภายหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็งส่งผลให้สีของตัวอย่างเกิดการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เกิดจากรงควัตถุคือ เมทไมโอโกลบิน เกิดการออกซิเดชันของไมโอโกลบิน และเหล็กกลายเป็นเฟอร์รัส จึงได้สีที่เกิดขึ้นคือ สีน้ำตาล ในขณะที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ จาก 1:2 เป็น 1:3 พบว่า ไม่มีผลต่อปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ($p > 0.05$) ในขณะที่ผลตรงข้ามเกิดขึ้นกับสิ่งทดลองความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อปริมาณความชื้น เนื่องจากปริมาณของสารละลายบัฟเฟอร์จะส่งผลกระทบต่อการ

ทำงานของเอนไซม์ ทำให้สารตั้งต้นจับกับเอนไซม์จนได้เปปไทด์สายสั้นๆ ที่มีปริมาณลดลง ทำให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นโปรตีนสูง ส่งผลให้ความเข้มข้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการเปรียบเทียบค่าความขึ้นของโปรตีนไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ พบว่า มีค่าความขึ้นต่ำกว่าร้อยละ 10 อย่างไรก็ตามค่าความขึ้นของโปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้ง จากการศึกษาครั้งนี้อยู่ในเกณฑ์ปริมาณความขึ้นของโปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งที่ผลิตด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ทางการค้าและผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Muzaiifa *et al.* (2012) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ มีค่าความขึ้นต่ำกว่าร้อยละ 10

ตารางที่ 9 ปริมาณความขึ้นของโปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

S:B	E	ปริมาณความขึ้น (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	7.14 ^c ± 0.82	6.90 ^c ± 0.71	7.51 ^{cde} ± 0.50	8.64 ^{ab} ± 0.74	8.28 ^{abc} ± 0.71
	0.6	6.60 ^c ± 0.31	7.01 ^{de} ± 0.75	6.76 ^c ± 0.58	8.36 ^{abc} ± 0.72	8.30 ^{abc} ± 0.54
	0.9	6.63 ^c ± 0.40	7.09 ^{de} ± 0.48	7.06 ^{de} ± 0.50	8.79 ^{ab} ± 0.61	9.06 ^a ± 0.65
1.3	0.3	7.00 ^{de} ± 0.40	7.05 ^{de} ± 0.34	7.15 ^{de} ± 0.37	8.49 ^{abc} ± 0.23	4.73 ^f ± 0.89
	0.6	6.49 ^c ± 0.16	4.46 ^f ± 0.69	6.88 ^c ± 0.77	8.23 ^{abc} ± 0.44	8.37 ^{abc} ± 0.41
	0.9	6.57 ^c ± 0.35	6.63 ^c ± 0.52	6.94 ^c ± 0.69	7.96 ^{bcd} ± 0.50	8.32 ^{abc} ± 0.45

หมายเหตุ ^{a-f} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

1.2.1.2 ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

โปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีคุณภาพที่ดีควรมีปริมาณโปรตีนสูง และชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนตามความต้องการของร่างกายในปริมาณสูง และไขมันต่ำ (Liceaga-Gesualdo and Li-Chan, 1999)

ตารางที่ 10 ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

		ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)				
S:B	E	60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	75 ^l ±2.12	78.25 ^k ±1.41	81.1 ^{ghi} ±0.42	84.22 ^{def} ±1.46	87.85 ^b ±1.56
	0.6	80.55 ^{hij} ±1.63	81.41 ^{jk} ±4.38	84.1 ^{def} ±1.31	84.76 ^{cd} ±0.71	85.04 ^d ±2.14
	0.9	81.84 ^{ijk} ±4.26	82.19 ^{efgh} ±1.48	84.22 ^{dfg} ±2.17	87.31 ^b ±1.46	96.05 ^a ±0.74
1.3	0.3	81.48 ^{ghi} ±0.87	84.38 ^{de} ±1.51	81.36 ^{ghi} ±0.75	87.43 ^b ±0.83	96.11 ^a ±0.68
	0.6	75.62 ^l ±2.13	81.58 ^{ghi} ±0.94	84.3 ^{def} ±1.45	84.12 ^{dfg} ±2.14	84.88 ^{cd} ±1.46
	0.9	75.51 ^l ±1.48	78.72 ^k ±2.45	81.7 ^{fgh} ±0.85	81.01 ^{ghi} ±0.36	86.72 ^{bc} ±1.57

หมายเหตุ ^{a-l} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ผลจากการศึกษา พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมิมีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 75.00-96.11 (ตารางที่ 10) ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 75.15-95.12 (ตารางที่ 11) โดยความเข้มข้นของเอนไซม์ อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ และระยะเวลาในการย่อยสลาย มีผลต่อปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากตารางที่ 10 และ 11 จะเห็นได้ว่า เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.3 เป็นร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง พบว่า มี

ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้จะมีค่าสูงขึ้น และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tarky *et al.* (1973) ที่ได้รายงานว่าการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์เริ่มจากการที่เอนไซม์แข่งขันกันดูดซับที่บริเวณผิวของสารตั้งต้นแล้วเข้าไปทำให้พันธะเปปไทด์ของโปรตีนเกิดการแตกตัวและปลดปล่อยกรดอะมิโนหรือเปปไทด์เข้าสู่สารละลาย ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้นจะทำให้โปรตีนถูกสลายมากขึ้น ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตไว้จะมีค่ามากขึ้น และเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มจาก 60 นาที เป็น 120 นาที ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้จะเพิ่มสูงขึ้น และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohr (1980) รายงานว่า เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายมากขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้จะมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น ขณะที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้นจาก 1:2 เป็น 1:3 ที่เวลา 60 นาที พบว่า มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณของสารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวกลางในการละลายหรือการกระจายตัวของเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารตั้งต้น จึงมีผลต่อการปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นได้จำนวนมากกว่าในสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ขึ้นกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 พบว่า มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 96.11 ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ขึ้นกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 พบว่า มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 95.12 ดังนั้นโปรตีนโปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ เนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสมีความจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น เอนไซม์อัลคาเลสจัดอยู่ในเอนโดเปปติเดส ซึ่งสามารถตัดพันธะเปปไทด์แบบสุ่ม ทำให้ปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นได้จำนวนมากในสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสต ในขณะที่เอนไซม์ฟลาโวไซม์เป็นเอกโซเปปติเดสและเอนโดเปปติเดสซึ่งตัดพันธะเปปไทด์จากปลายสายรวมทั้งสามารถตัดภายในสายเปปไทด์ (Novozymes, 2007) ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Clemente *et al.* (1999) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจาก chickpea ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 90 ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Muzaiifa *et al.* (2012) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลา Nile tilapia ชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 80 และ

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Liceaga-Gesualdo and Li-Chan (1999) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 70

เมื่อพิจารณาชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการวิจัยอยู่ในสภาพของของเหลว ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส ผลิตจากเชื้อ *Bacillus icheniformis* และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus oryzae* (Novozymes, 2007) นอกจากนี้เอนไซม์ชนิดของเหลวจะมี activity สูง เนื่องจากเอนไซม์น้ำสามารถเปลี่ยนรูปร่างที่ตำแหน่ง active site และสามารถเข้าจับกับสารตั้งต้นได้มากกว่าเอนไซม์ผง แต่เอนไซม์น้ำมีข้อเสียคือ มีอายุการเก็บรักษาสั้น เนื่องจากมีน้ำเป็นองค์ประกอบจึงถูกทำให้สูญเสียสภาพได้ง่าย และมีค่า a_w สูงจึงทำให้เหมาะแก่การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 11 ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

S:B	E	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	75.15 ^k ±0.71	76.32 ^j ±0.76	78.62 ⁱ ±0.01	83.6 ^{de} ±0.95	87.42 ^c ±0.72
	0.6	81.83 ^{fgh} ±1.12	82.42 ^{fg} ±1.53	84.18 ^d ±1.47	84.93 ^d ±1.90	85.06 ^d ±2.14
	0.9	81.46 ^{fgh} ±0.86	81.44 ^{fgh} ±0.84	84.5 ^d ±0.88	87.7 ^d ±1.10	93.61 ^b ±1.11
1.3	0.3	80.98 ^h ±1.47	81.53 ^{fgh} ±0.91	83.79 ^d ±0.95	87.38 ^c ±0.75	95.12 ^a ±0.71
	0.6	76.32 ^j ±0.05	82.18 ^{fg} ±1.44	82.49 ^{ef} ±0.74	84.74 ^d ±1.48	85.03 ^d ±2.14
	0.9	78.72 ⁱ ±1.46	81.26 ^{gh} ±0.74	82.09 ^{fg} ±1.33	81.66 ^{fgh} ±0.79	87.28 ^c ±1.56

หมายเหตุ ^{a-k} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

1.2.2 คุณภาพด้านกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

คุณภาพด้านกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ได้แก่ ร้อยละผลผลิต (%yield) และค่าสีในระบบ CIE (L^* a^* b^*) ซึ่งแบ่งแยกตามชนิดของเอนไซม์โปรติเอส 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ แสดงผลการวิจัยดังต่อไปนี้

1.2.2.1 ร้อยละผลผลิต (%yield) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

จากผลการวิจัยในครั้งนี้ พบว่า ร้อยละผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีร้อยละผลผลิตเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 9.43-16.86 ขณะที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าร้อยละผลผลิตเฉลี่ยสูงขึ้นมีอยู่ระหว่างร้อยละ 38.37-41.63 (ตารางที่ 12) และร้อยละผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีร้อยละผลผลิตเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 4.86-7.43 ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีร้อยละผลผลิตเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 6.57-8.54 (ตารางที่ 13) แสดงให้เห็นว่า ปฏิสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยสลายและอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ระยะเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อร้อยละผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0.3 เป็น 0.6 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายจาก 120 เป็น 180 นาที จะทำให้ร้อยละผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้เอนไซม์กับสารตั้งต้นทำปฏิกิริยากันได้รวดเร็วขึ้น จึงส่งผลต่อพันธะเปปไทด์ของโปรตีนเกิดการแตกตัวและปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นที่ละลายได้เข้าสู่สารละลายของตัวอย่างได้ในปริมาณมาก จึงทำให้ได้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีความเข้มข้นโปรตีนสูง จากนั้นเมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง จะทำให้น้ำระเหยออกจากตัวอย่างได้ช้า เนื่องจากตัวอย่างมีความเข้มข้นโปรตีนสูง ส่งผลให้ร้อยละผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายมากขึ้น จะทำให้ร้อยละผลผลิตของตัวอย่างมีค่ามากขึ้น

ตารางที่ 12 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วย
เอนไซม์อัลคาเลส

S:B	E	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	12.29 ^{efg} ±0.20	11.71 ^{efgh} ±0.49	12 ^{efg} ±0.06	12 ^{efgh} ±1.38	12 ^{efgh} ±1.24
	0.6	11.43 ^{efgh} ±0.01	11.71 ^{efgh} ±0.49	13.43 ^c ±0.27	13.14 ^{ef} ±0.01	13.71 ^{ef} ±1.09
	0.9	9.43 ^h ±0.02	10.57 ^{figh} ±0.04	9.71 ^{gh} ±0.01	10.29 ^{gh} ±0.03	16.86 ^d ±0.95
1.3	0.3	37.63 ^{bc} ±0.02	38.37 ^{bc} ±0.05	38.37 ^b ±0.08	39.17 ^{ab} ±0.65	39.17 ^{bc} ±0.04
	0.6	38.37 ^b ±0.09	38.37 ^b ±0.11	41.63 ^a ±0.80	37.54 ^{bc} ±1.62	39.11 ^{ab} ±0.61
	0.9	38.00 ^{bc} ±0.04	38.37 ^b ±0.05	39.17 ^{ab} ±0.74	39.17 ^c ±0.72	39.29 ^{bc} ±1.99

หมายเหตุ ^{a-h} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาการเปรียบเทียบโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 41.63 (ตารางที่ 12) และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chalamaiah *et al.* (2010) รายงานว่า ร้อยละผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเสตจาก meriga ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส โดยมีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 41.00 ในขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 60 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 8.54 (ตารางที่ 13) ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีร้อยละผลผลิตมากกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์ เนื่องจากชนิดของเอนไซม์มีผลต่อร้อยละผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเสต ซึ่งการทดลองนี้ใช้เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ โดยที่เอนไซม์อัลคาเลสจัดอยู่ใน endopeptidase ซึ่งสามารถตัดพันธะเปปไทด์แบบสุ่ม ทำให้ปลดปล่อย

เปปไทด์สายสั้นได้จำนวนมากในสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสต ในขณะที่เอนไซม์ฟลาโวไซม์เป็นเอกโซเปปติเดสและเอนโดเปปติเดสซึ่งตัดพันธะเปปไทด์จากปลายสายรวมทั้งสามารถตัดภายในสายเปปไทด์ (Novozymes, 2007) และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากปลาช่อนข้างเหลืองที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีร้อยละผลผลิตสูงกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์ เนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเอนโดเปปติเดส ขณะที่เอนไซม์ฟลาโวไซม์เป็นเอกโซและเอนโดเปปติเดส นอกจากนี้เอนไซม์อัลคาเลสสามารถตัดพันธะเปปไทด์เป็นสายสั้น และได้กรดอะมิโนจำเป็นเป็นองค์ประกอบจึงทำให้ได้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีปริมาณมาก ดังนั้น โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่มีร้อยละผลผลิตมากเช่นเดียวกัน และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheung and Li-Chan (2010) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากผลพลอยได้จากกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีร้อยละผลผลิตสูงกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์

ตารางที่ 13 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

S:B	E	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1.2	0.3	5.32 ^{lm} ± 0.15	5.66 ^{jk} ± 0.07	4.53 ^l ± 0.46	6.84 ^g ± 0.03	5.13 ^m ± 0.01
	0.6	5.71 ^g ± 0.00	6.25 ⁱ ± 0.06	7.32 ^{ef} ± 0.01	7.42 ^{de} ± 0.01	5.70 ^j ± 0.01
	0.9	6.84 ^g ± 0.03	5.16 ^m ± 0.03	6.54 ^h ± 0.04	5.13 ^m ± 0.01	5.45 ^{kl} ± 0.36
1.3	0.3	8.53 ^a ± 0.01	6.84 ^g ± 0.01	6.52 ^h ± 0.02	8.30 ^b ± 0.13	6.55 ^h ± 0.02
	0.6	6.54 ^h ± 0.04	7.17 ^f ± 0.03	7.58 ^d ± 0.01	7.16 ^f ± 0.04	7.42 ^{de} ± 0.11
	0.9	6.91 ^g ± 0.03	6.84 ^g ± 0.03	6.84 ^g ± 0.02	6.84 ^g ± 0.03	8.25 ^b ± 0.05

หมายเหตุ ^{a-h} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาการเปรียบเทียบโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีร้อยละผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 41.63 ซึ่งค่าที่ได้มากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์มีร้อยละผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 8.54 และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากปลาถิ่นข้างเหลืองที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีร้อยละผลผลิตสูงกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์ เนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสเป็นเอนโคเปปติเคส ขณะที่เอนไซม์ฟลาโวไซม์เป็นเอกโซและเอนโคเปปติเคส นอกจากนี้เอนไซม์อัลคาเลสสามารถตัดพันธะเปปไทด์เป็นสายสั้น และได้กรดอะมิโนจำเป็นเป็นองค์ประกอบจึงทำให้ได้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีปริมาณมาก ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่มีร้อยละผลผลิตมากเช่นเดียวกัน และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheung and Li-Chan (2010) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากผลพลอยได้จากกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีร้อยละผลผลิตสูงกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์

1.2.2.2 ค่าสีในระบบ CIE (L^* a^* b^*)

จากการวัดค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสแสดงดังตารางที่ 11-13 มีค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) การเปลี่ยนแปลงสีจากโปรตีนไฮโดรไลเสตขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบ และสภาวะในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต ในขณะเดียวกันค่าสี บ่งบอกถึงอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ที่มีผลกระทบทางลบต่ออาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น สีจากตัวอย่างที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) ดังนั้นการวิเคราะห์ค่าสีจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อช่วยในการประเมินด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์ แสดงผลการวิจัยดังต่อไปนี้

เมื่อพิจารณาค่าความสว่าง (L^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ผลิตได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีครีม มีกลิ่นไก่เล็กน้อย (ตารางที่ 14) จากการวิจัยพบว่า อัตราส่วนเนื้อไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่า L^* เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 77.29-92.57 ซึ่งมีค่ามากกว่าที่อัตราส่วนเนื้อไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่า L^* เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 76.98-89.77 ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่อัตราส่วนเนื้อไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่า L^* สูงสุด คือ 92.57 เนื่องจาก

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย ความเข้มข้นของเอนไซม์ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ มีผลต่อค่าความสว่าง (L^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการย่อยสลาย พบว่า เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเนื้อมีเพิ่มขึ้นทำให้มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อมีเพิ่มขึ้นพบว่า ค่าความสว่างของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าความสว่างเพิ่ม แสดงว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อค่าความสว่าง ($p \leq 0.05$) และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์จาก 1:2 เป็น 1:3 พบว่า ค่าความสว่างมีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ ทำให้ค่าความสว่างมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 14 ค่าความสว่าง (L^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

S:B	E	L^*				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1:2	0.3	91.17 ^d $\pm$ 0.04	91.62 ^c $\pm$ 0.01	91.00 ^c $\pm$ 0.01	92.57 ^a $\pm$ 0.06	92.12 ^b $\pm$ 0.03
	0.6	77.60 ^s $\pm$ 0.02	79.15 ^p $\pm$ 0.01	78.29 ^r $\pm$ 0.04	77.29 ⁱ $\pm$ 0.05	82.49 ⁱ $\pm$ 0.07
	0.9	77.65 ^y $\pm$ 0.02	79.45 ^w $\pm$ 0.01	78.72 ^x $\pm$ 0.04	77.37 ^z $\pm$ 0.05	82.85 ⁱ $\pm$ 0.07
1:3	0.3	80.94 ^u $\pm$ 0.08	87.35 ^l $\pm$ 0.08	85.31 ^q $\pm$ 0.02	87.24 ^m $\pm$ 0.01	87.95 ^j $\pm$ 0.03
	0.6	87.97 ^j $\pm$ 0.03	87.08 ⁿ $\pm$ 0.04	88.24 ⁱ $\pm$ 0.03	79.96 ^v $\pm$ 0.04	76.98 ^v $\pm$ 0.08
	0.9	89.77 ^f $\pm$ 0.08	89.53 ^g $\pm$ 0.02	88.57 ^h $\pm$ 0.04	87.44 ^k $\pm$ 0.01	86.40 ^o $\pm$ 0.04

หมายเหตุ ^{a-z} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ตารางที่ 15 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

S:B	E	a^*				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1:2	0.3	$0.32^{hi} \pm 0.09$	$0.21^i \pm 0.08$	$1.25^e \pm 0.07$	$0.05^j \pm 0.07$	$0.82^g \pm 0.07$
	0.6	$-0.15^l \pm 0.05$	$0.21^k \pm 0.04$	$1.60^j \pm 0.04$	$0.91^d \pm 0.38$	$0.34^b \pm 0.04$
	0.9	$-0.12^k \pm 0.01$	$0.18^i \pm 0.02$	$0.45^d \pm 0.06$	$0.08^{fg} \pm 0.01$	$1.28^h \pm 0.08$
1:3	0.3	$-1.28^f \pm 0.21$	$-1.83^s \pm 0.11$	$-0.95^p \pm 0.03$	$-0.79^o \pm 0.04$	$-0.48^m \pm 0.02$
	0.6	$-1.18^{qr} \pm 0.01$	$-1.13^q \pm 0.04$	$-0.80^o \pm 0.04$	$2.73^c \pm 0.06$	$5.27^a \pm 0.10$
	0.9	$-1.18^{qr} \pm 0.09$	$-0.46^{lm} \pm 0.01$	$-0.18^k \pm 0.03$	$0.95^f \pm 0.03$	$-0.64^n \pm 0.03$

หมายเหตุ ^{a-s} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ผลิตได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีครีมปนสีแดงเล็กน้อย มีกลิ่นใกล้เคียงเนื้อ (ตารางที่ 15) จากการวิจัยพบว่า อัตราส่วนเนื้อมื้ออกไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.05-1.60 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าที่อัตราส่วนเนื้อมื้ออกไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.95-5.27 ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่อัตราส่วนเนื้อมื้ออกไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) สูงสุด คือ 5.27 เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย และความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ($p \leq 0.05$) โดยการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ทำให้ค่าความเป็นสีแดงมากขึ้น แต่ที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย เป็นเวลา 240 นาที โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อมื้ออกไก่ชนิดผงแห้งที่ผ่านย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีค่าความเป็นสีแดงน้อยกว่าที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที เนื่องจากระยะเวลาในการย่อยสลายที่เป็นเวลานานทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วย

เอนไซม์อัลคาเลส ที่มีลักษณะปรากฏที่เข้มข้นขึ้น เมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง อุณหภูมิและความดันจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งมีสีเข้มขึ้น จึงมีผลต่อค่าความเป็นสีแดงที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายโปรตีนจากเนื้ออกไก่ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าความเป็นสีแดงสูงขึ้นเล็กน้อย แสดงว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อค่าความเป็นสีแดง ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 16 ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

S:B	E	b^*				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1:2	0.3	12.79 ^{tw} $\pm$ 0.07	11.51 ^x $\pm$ 0.07	14.27 ^q $\pm$ 0.07	15.51 ^w $\pm$ 0.09	12.46 ^w $\pm$ 0.17
	0.6	30.75 ^h $\pm$ 0.14	30.06 ^k $\pm$ 0.02	30.96 ⁱ $\pm$ 0.11	29.68 ^c $\pm$ 1.20	25.17 ^a $\pm$ 0.36
	0.9	30.78 ^d $\pm$ 0.08	30.12 ^e $\pm$ 0.02	30.91 ^d $\pm$ 0.02	29.97 ^f $\pm$ 0.02	25.19 ^g $\pm$ 0.24
1:3	0.3	22.16 ⁱ $\pm$ 0.12	16.52 ⁿ $\pm$ 0.12	19.06 ^l $\pm$ 0.03	15.18 ^o $\pm$ 0.06	14.92 ^{op} $\pm$ 0.07
	0.6	13.55 ^f $\pm$ 0.09	20.51 ^j $\pm$ 0.08	17.99 ^m $\pm$ 0.07	35.18 ^b $\pm$ 0.14	38.95 ^a $\pm$ 0.18
	0.9	13.16 ^s $\pm$ 0.30	12.65 ^{tw} $\pm$ 0.03	12.95 st $\pm$ 0.04	14.66 ^p $\pm$ 0.04	16.30 ⁿ $\pm$ 0.16

หมายเหตุ ^{a-w} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่มีความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 (ตารางที่ 16) จากการวิจัยพบว่า ปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย และความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่อัตราส่วนเนื้ออกไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 11.51-30.96 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าที่อัตราส่วนเนื้ออกไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่า

ความเป็นสีเหลือง (b*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 12.65-38.95 ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่อัตราส่วนเนื้อมะพร้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความเป็นสีเหลือง (b*) สูงสุด คือ 38.95 โดยการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ทำให้ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) มากขึ้น แต่ที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย เป็นเวลา 120 นาที โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อมะพร้าวชนิดผงแห้งที่ผ่านย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีค่าความเป็นสีเหลือง (b*) น้อยกว่าที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 240 นาที (ตารางที่ 13) เนื่องจากการใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่เป็นเวลานานทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะพร้าวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่มีอนุภาคนาขนาดเล็กและมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น เมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง อุณหภูมิและความดันจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งมีค่าความเป็นสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อมะพร้าว พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) สูงขึ้น แสดงว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ($p \leq 0.05$)

ค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์แสดงดังตารางที่ 14 พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 พบว่า ไม่เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย ความเข้มข้นของเอนไซม์ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ ไม่มีผลต่อค่าความสว่าง (L*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ($p > 0.05$) โดยการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 และความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง จาก 240 นาที เป็น 300 นาที พบว่า ค่าความสว่างเท่ากับ 91.37 และ 81.40 แสดงว่า มีค่าความสว่างลดลง เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อมะพร้าว พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าความสว่าง (L*) ลดลงที่อัตราส่วนเนื้อมะพร้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 ขณะที่อัตราส่วนเนื้อมะพร้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 ทำให้ค่าความสว่าง (L*) เพิ่มขึ้น ดังนั้นอัตราส่วนเนื้อมะพร้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 (ตารางที่ 17) มีค่าความสว่าง (L*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 71.82-92.32 ซึ่งมีค่ามากกว่าที่อัตราส่วนเนื้อมะพร้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความสว่าง (L*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 48.55-89.05 ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่อัตราส่วนเนื้อมะพร้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความสว่าง (L*) สูงสุด คือ 92.32

ตารางที่ 17 ค่าความสว่าง (L*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ฟลาโวไซม์

S:B	E	L*				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1:2	0.3	90.94 ^{cd} ± 0.08	91.24 ^{bc} ± 0.07	92.32 ^a ± 0.04	91.37 ^b ± 0.03	81.40 ⁿ ± 0.12
	0.6	86.34 ^j ± 0.04	90.19 ^d ± 0.08	75.38 ^p ± 0.22	88.52 ^{ef} ± 0.15	88.03 ^{fg} ± 0.07
	0.9	82.47 ^m ± 2.47	81.37 ⁿ ± 0.06	71.82 ^r ± 0.11	86.56 ^{ij} ± 0.03	81.31 ^h ± 0.04
1:3	0.3	72.66 ^q ± 0.02	77.69 ^o ± 0.10	48.55 ^u ± 0.46	49.55 ^t ± 0.77	59.69 ^s ± 0.19
	0.6	76.03 ^p ± 0.05	84.77 ^k ± 0.06	88.98 ^c ± 0.01	86.56 ^{ij} ± 0.04	87.18 ^{hi} ± 0.09
	0.9	89.05 ^e ± 0.03	87.42 ^{gh} ± 0.04	83.15 ^l ± 0.05	85.23 ^k ± 0.02	84.53 ^k ± 0.06

หมายเหตุ ^{a-u} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 แสดงผลดังตารางที่ 18 พบว่า ปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย และความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีน ไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ($p \leq 0.05$) โดยที่อัตราส่วนเนื้อมะเขือเทศต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.02-10.10 ซึ่งมีค่ามากกว่าที่อัตราส่วนเนื้อมะเขือเทศต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.01-9.81 ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่อัตราส่วนเนื้อมะเขือเทศต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความเป็นสีแดง (a^*) สูงสุด คือ 10.10 เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย และความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ทำให้ค่าความเป็นสีแดงมากขึ้น แต่ที่ระยะเวลาในการย่อยสลายที่ 180 นาที โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อมะเขือเทศแห้งที่ผ่านย่อย

สลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์มีค่าความเป็นสีแดงน้อยกว่าที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 240 นาที เนื่องจากการใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่เป็นเวลานานทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่มีอนุภาคขนาดเล็กและมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น เมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง อุณหภูมิและความดันจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งมีสีเข้มขึ้น นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 0.3 ในอัตราส่วนเนื้ออกไก่ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 จะมีค่าความเป็นสีแดง (a^*) อย่างชัดเจนซึ่งมีความแตกต่าง ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหนาเกินไปส่งผลให้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ได้มีลักษณะของสีเข้มขึ้น และเมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้ออกไก่ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าความเป็นสีแดงสูงขึ้น แสดงว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อค่าความเป็นสีแดง ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 18 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

S:B	E	a^*				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1:2	0.3	$0.02^{hi} \pm 0.07$	$-0.63^{ijk} \pm 0.06$	$-0.04^{hi} \pm 0.04$	$1.23^f \pm 0.15$	$2.46^c \pm 0.39$
	0.6	$0.87^{fg} \pm 0.12$	$-0.44^{hijk} \pm 0.04$	$4.65^c \pm 0.42$	$-0.93^{jk} \pm 0.09$	$-0.07^{hi} \pm 0.18$
	0.9	$5.26^{bc} \pm 2.21$	$4.94^{bc} \pm 0.24$	$10.10^a \pm 0.11$	$1.61^f \pm 0.12$	$5.11^{bc} \pm 0.22$
1:3	0.3	$5.12^{bc} \pm 0.01$	$2.96^c \pm 0.24$	$-1.16^k \pm 1.57$	$5.61^b \pm 1.37$	$9.81^a \pm 0.17$
	0.6	$3.73^d \pm 0.21$	$0.01^{hi} \pm 0.26$	$0.37^{gh} \pm 0.02$	$-1.00^{jk} \pm 0.12$	$-0.32^{hij} \pm 0.25$
	0.9	$-0.32^{hij} \pm 0.07$	$1.21^f \pm 0.07$	$-0.17^{hij} \pm 0.11$	$1.05^{fg} \pm 0.02$	$1.51^h \pm 0.04$

หมายเหตุ ^{a-k} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ

อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 แสดงผลดังตารางที่ 19 พบว่า ปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลาย และความเข้มข้นของเอนไซม์ มีผลต่อค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ($p \leq 0.05$) โดยที่อัตราส่วนเนื้อมะเขือเทศต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 11.85-38.80 ซึ่งมีความมากกว่าที่อัตราส่วนเนื้อมะเขือเทศต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 มีค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 12.17-32.41 (ตารางที่ 19) ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่อัตราส่วนเนื้อมะเขือเทศต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 มีค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) สูงสุด คือ 38.80 โดยการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ทำให้ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) มากขึ้น แต่ที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย เป็นเวลา 300 นาที โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อมะเขือเทศชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์มีค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) มากกว่าที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 240 นาที เนื่องจากการใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่เป็นเวลานานทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่มีอนุภาคนาขนาดเล็ก

ตารางที่ 19 ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

S:B	E	b^*				
		60 นาที	120 นาที	180 นาที	240 นาที	300 นาที
1:2	0.3	17.44 ^h ± 0.05	12.10 ^{lm} ± 0.17	11.99 ^m ± 0.05	13.13 ^{klm} ± 0.24	28.34 ^d ± 0.91
	0.6	21.00 ^g ± 0.33	11.85 ^m ± 0.07	31.63 ^c ± 1.22	13.73 ^{kl} ± 0.11	14.83 ^{jk} ± 0.27
	0.9	31.49 ^c ± 5.70	32.84 ^c ± 0.45	38.80 ^a ± 0.08	26.02 ^{ef} ± 0.55	34.57 ^b ± 0.28
1:3	0.3	32.41 ^c ± 0.02	31.20 ^c ± 0.37	12.17 ^{lm} ± 2.24	26.11 ^{ef} ± 1.91	31.63 ^c ± 0.13
	0.6	31.63 ^c ± 0.15	20.95 ^g ± 0.36	14.70 ^{jk} ± 0.15	15.78 ^{ij} ± 0.30	14.55 ^{jk} ± 0.20
	0.9	17.20 ^{hi} ± 0.08	2.26 ^g ± 0.11	25.77 ^f ± 0.25	25.46 ^f ± 0.07	27.59 ^{de} ± 0.13

หมายเหตุ ^{a-m} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

S:B หมายถึง อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์โดยน้ำหนัก

E หมายถึง ร้อยละความเข้มข้นของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

และมีพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้น เมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง อุณหภูมิและความดันจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลสเตชนิดผงแห้งมีความเป็นสีเหลือง (b^*) เพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้ออกไก่ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงจะทำให้ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) สูงขึ้น แสดงว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ($p \leq 0.05$)

การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของโปรตีนไฮโดรไลสเตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 พบว่า สิ่งทดลองทั้งหมด 60 สิ่งทดลอง ที่แบ่งแยกตามชนิดของเอนไซม์คือ เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ (ภาพที่ 6 และ ภาพที่ 7) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในระบบ CIE (L^* a^* b^*) มีค่าสีที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการสลายพันธะเปปไทด์ด้วยเอนไซม์คือ เนื้อสัตว์ มีรงควัตถุคือ เมทไมโอโกลบิน เกิดการออกซิเดชันของเมทไมโอโกลบิน และเหล็กกลายเป็นเฟอร์รัส จึงได้ตัวอย่างที่มีสีน้ำตาล นอกจากนี้อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่า a_w จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีหรือมีการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเน่าเสีย (นิธิยา, 2549) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสเตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่มีค่า a_w เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.3-0.6 ซึ่งมีค่า a_w จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้นานขึ้น เนื่องจากสามารถลดและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเคมี และการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดจะหยุดการเจริญเมื่อผลิตภัณฑ์อาหารมีค่า a_w เท่ากับหรือต่ำกว่า 0.6 (นิธิยา, 2549) และปริมาณความชื้นก็มีความสัมพันธ์กับค่า a_w และการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี คือการเกิดออกซิเดชันของตัวอย่างโดยที่ความชื้นเพิ่มขึ้น จะส่งผลต่อค่า a_w ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังนั้นปริมาณความชื้น การเกิดออกซิเดชัน และค่า a_w ของตัวอย่างแต่ละสิ่งทดลองจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีตัวอย่าง

นอกจากนี้ชนิดของเอนไซม์และความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ซึ่งเอนไซม์มีคุณสมบัติในการจับกับสารตั้งต้นอย่างมีความจำเพาะเจาะจง จึงทำให้โปรตีนในเนื้อออกไก่เกิดการเสียสภาพ เนื่องจากในระหว่างการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อออกไก่ (สารตั้งต้น) และเปปไทด์ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ในการเข้าจับกันกับเอนไซม์ จึงมีผลต่อรงควัตถุที่อยู่ในสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (ภาพที่ 6) พบว่า การเปลี่ยนแปลงสีของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายอัลคาเลสที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3 มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลปนเหลืองอย่างเห็นได้ชัดเจน เนื่องจากชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากเนื้อออกไก่คือ เอนไซม์อัลคาเลส มีสภาพเป็นของเหลวใสสีน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงสีของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายฟลาโวไซม์ (ภาพที่ 7) ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง จึงมีลักษณะเป็นผงสีแดงอย่างเห็นได้ชัดเจน เนื่องจากชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากเนื้อออกไก่คือ เอนไซม์ฟลาโวไซม์ มีสภาพเป็นของเหลวที่มีสีน้ำตาลแดง และการทำแห้งแบบเยือกแข็งในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างยังคงต้องมีการปรับปรุง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของค่าสี ที่มีค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบและสภาวะในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อออกไก่

60 นาที 120 นาที 180 นาที 240 นาที 300 นาที

1:2, 0.3%

1:2, 0.6%

1:2, 0.9%

1:3, 0.3%

1:3, 0.6%

1:3, 0.9%



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3

60 นาที 120 นาที 180 นาที 240 นาที 300 นาที

1:2, 0.3%



1:2, 0.6%



1:2, 0.9%



1:3, 0.3%



1:3, 0.6%



1:3, 0.9%



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อบัฟเฟอร์ 1:2 และ 1:3

1.3 ผลการวิเคราะห์ DH ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

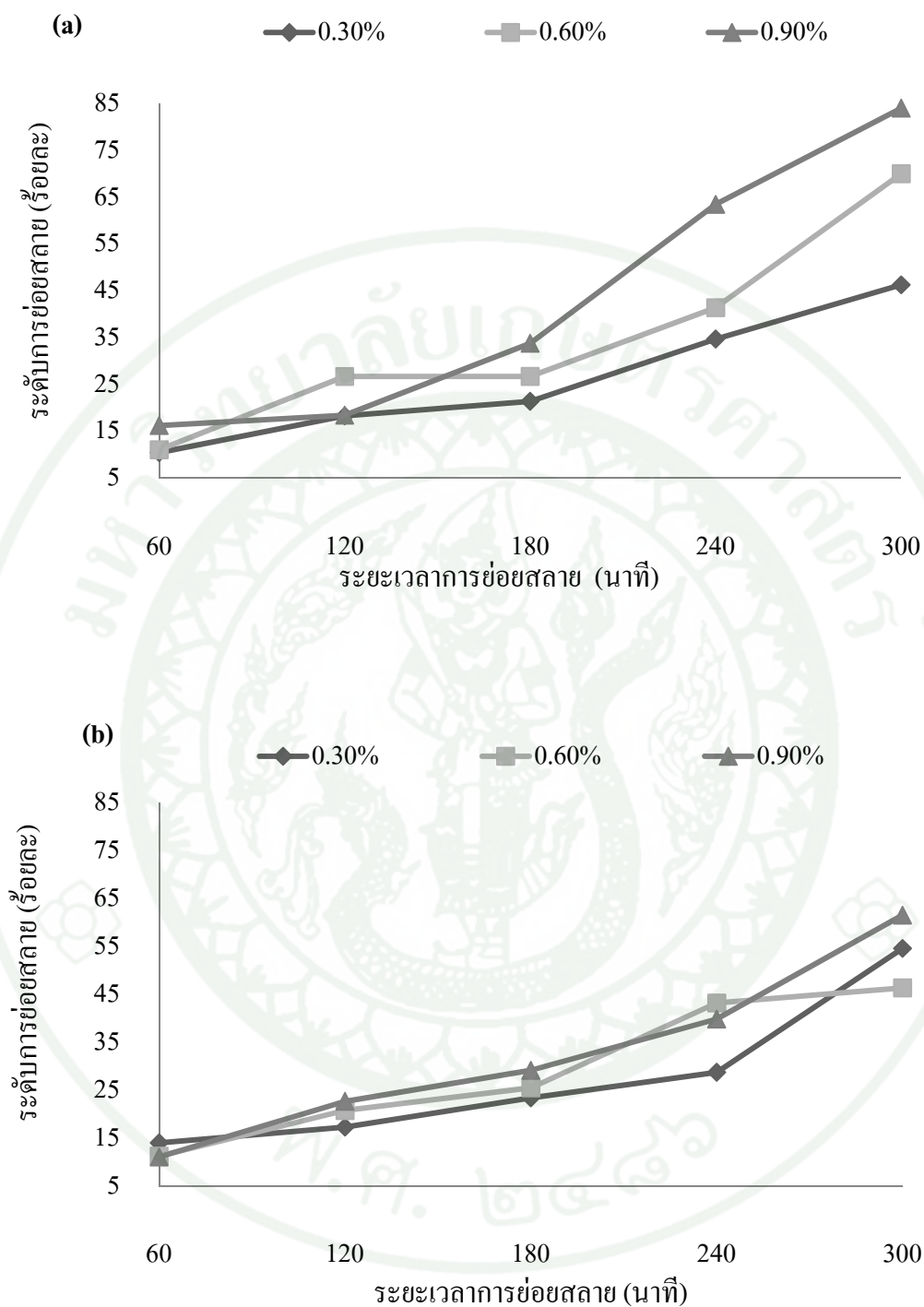
ค่า DH เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนชนิดนั้นๆ โปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ จะมีการปลดปล่อยกรดอะมิโนขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก ปะปนกันในสารละลายโปรตีนที่สกัดได้ ซึ่งความสามารถในการตัดพันธะเปปไทด์ขึ้นอยู่กับความจำเพาะของเอนไซม์แต่ละชนิด ดังนั้น DH จึงเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ อีกทั้งยังบ่งบอกจำนวนพันธะเปปไทด์ที่มีอยู่เดิมในวัตถุดิบด้วย (Bougatef *et al.*, 2008) สำหรับวิธีการที่นิยมใช้วิเคราะห์ DH ประกอบด้วย 3 วิธี ได้แก่ pH-stat, OPA และ TNBS (Spellman *et al.*, 2003) ในการวิจัยครั้งนี้วิเคราะห์ DH ด้วยวิธี OPA (Nielsen *et al.*, 2001) มีปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะระหว่าง OPA กับกรดอะมิโนขึ้นปฐมภูมิ จากหมู่ thiol เป็น 1-alkylthio-2-alkyl แทนที่ isoindole โดยข้อดีของวิธีนี้คือ มีความแม่นยำ สะดวก และรวดเร็ว (Nielsen *et al.*, 2001) การวิเคราะห์ค่า DH จึงแสดงไว้ในภาพที่ 8 และ 9

การย่อยสลายโปรตีนจากเนื้ออกไก่ด้วยเอนไซม์ต่างชนิดกัน ได้แก่ เอนไซม์ฟลาโวไซม์และเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลต่อระดับการย่อยสลาย ที่ทดลองแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) จึงมีผลให้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่ที่ได้มีระดับการย่อยสลายที่แตกต่างกัน โดยนำเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH สูงสุด เท่ากับ 80.05 ทั้งนี้ค่าระดับการย่อยสลายมีค่าสูงเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง (ภาพที่ 8a) ดังนั้นความเข้มข้นเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระดับการย่อยสลายโปรตีนจากวัตถุดิบเพิ่มสูงขึ้น (Mackie, 1982) เนื่องจากทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ (Lock and Key Theory) แสดงให้เห็นว่าความจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น โดยโครงสร้างเอนไซม์เปรียบเสมือนแม่กุญแจจึงสวมกันได้พอดีกับสารตั้งต้น ซึ่งเปรียบเสมือนลูกกุญแจ โดยโครงสร้างไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ทั้งนี้เอนไซม์จะต้องมีบริเวณซึ่งสอดคล้องกับสารตั้งต้นในด้านขนาด รูปร่าง และธรรมชาติทางเคมี จึงทำให้เกิดโครงสร้างเชิงซ้อนของเอนไซม์และสารตั้งต้น (ปราณี, 2547) ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสแสดงในภาพที่ 8b พบว่า มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุดร้อยละ 61.58 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างในอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 และระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที

ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลสได้จากเนื้อมะเขี๋ยวกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

อัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีระดับการย่อยสลายที่ลดลง เนื่องจากอัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนจากวัตถุดิบโดยเอนไซม์โปรตีเอสที่ทำหน้าที่ในการเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีนไปเป็นโอลิโกเปปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ (นิธิยา, 2549) ส่วนโปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งจากเนื้อมะเขี๋ยวกุ้ง ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ พบว่า ร้อยละ DH สูงสุด เท่ากับ 74.48 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่าง และอัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ 1:2 ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลสได้จากเนื้อมะเขี๋ยวกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์แสดงในภาพที่ 9b พบว่า ระดับการย่อยสลายสูงที่สุดร้อยละ 60.39 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างที่อัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 นอกจากนี้อัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีระดับการย่อยสลายที่ลดลงเช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลสได้จากเนื้อมะเขี๋ยวกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งจากเนื้อมะเขี๋ยวกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมิ DH มากกว่าโปรตีนไฮโดรไลสเทคนิคผงแห้งจากเนื้อมะเขี๋ยวกุ้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ เนื่องจากความจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น เอนไซม์ฟลาโวไซม์เป็น exopeptidase และ endopeptidase ซึ่งตัดพันธะเปปไทด์จากปลายสายรวมทั้งสามารถตัดภายในสายเปปไทด์ เอนไซม์อัลคาเลสเป็น endopeptidase ซึ่งสามารถตัดพันธะเปปไทด์แบบสุ่ม (novozymes, 2007) ทำให้ปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นได้จำนวนมาก ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) ซึ่งพบว่า DH ในโปรตีนไฮโดรไลสได้จากปลาช่อนข้างเหลืองเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายนานขึ้นทั้งในระบบที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์และอัลคาเลส และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vastag *et al.* (2011) ที่ได้รายงานว่าการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสได้จากกากเมล็ดทานตะวันที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมิ DH สูงกว่าเอนไซม์ฟลาโวไซม์



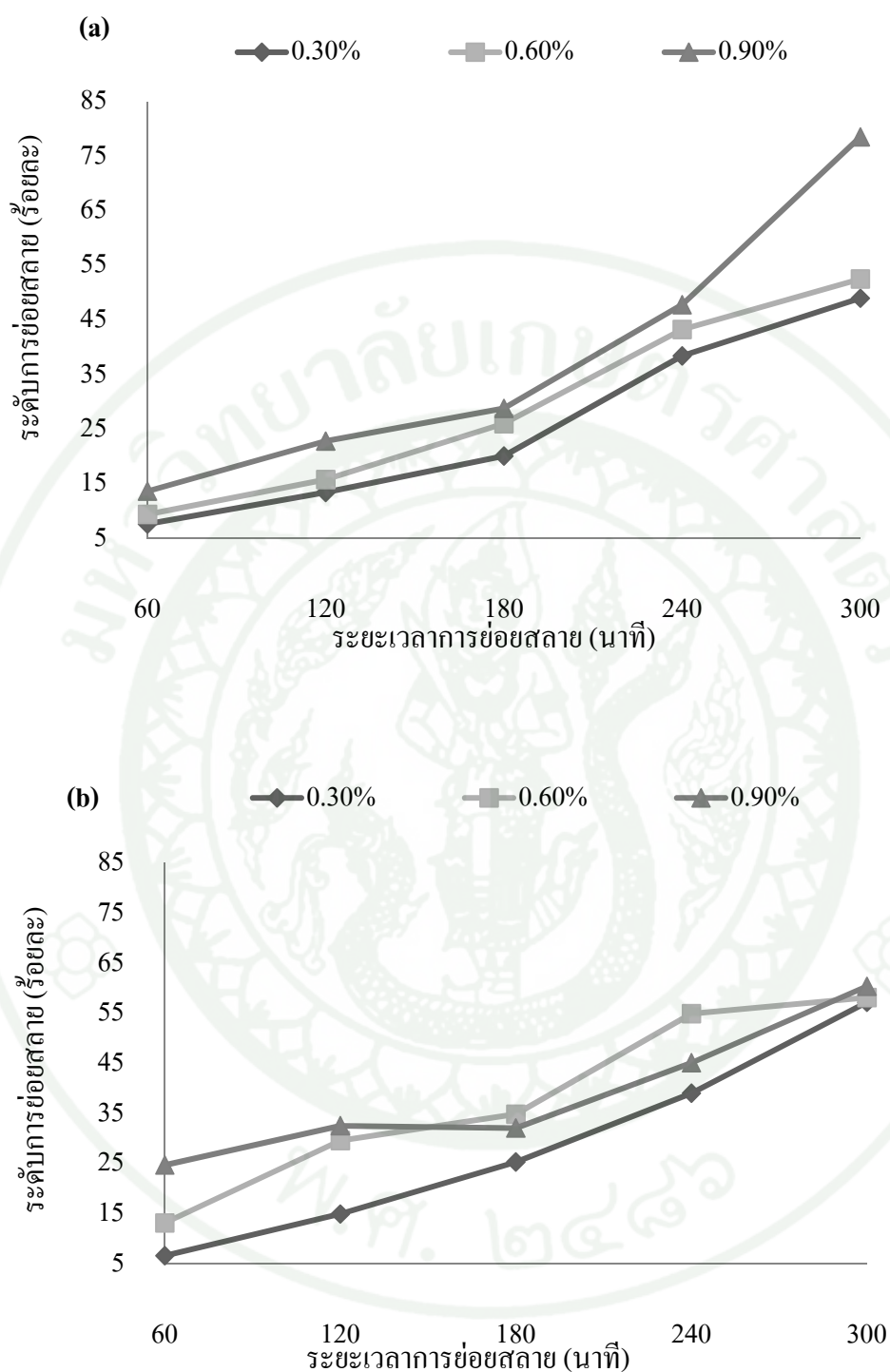
ภาพที่ 8 DH ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยด้วย เอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)

เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้ออกไก่เพิ่มขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า ที่ระยะเวลา 240 นาที เป็น 300 นาที มีค่า DH เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 63.51 เป็น 84.05 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ 1:2 (ภาพที่ 8a) โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ พบว่า ที่ระยะเวลา 240 นาที เป็น 300 นาที มีค่า DH เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 47.77 เป็น 78.48 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ 1:2 (ภาพที่ 9a) เนื่องจากระยะเวลาในการย่อยสลาย มีผลต่อ DH ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ($p \leq 0.05$) โดยระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น จะทำให้ระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ให้ผลเช่นนี้ทุกสิ่งทดลองเนื่องจากโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างถูกตัดพันธะด้วยเอนไซม์ ทำให้พันธะเปปไทด์ของโปรตีนเกิดการแตกตัวและปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นที่ละลายได้เข้าสู่สารละลายของตัวอย่างได้ในปริมาณมาก จึงทำให้ได้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซตที่เข้มข้น ส่งผลให้ระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) ซึ่งพบว่า DH ในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาสิกุลข้างเหลืองเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายนานขึ้นทั้งในระบบที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์และอัลคาเลส และการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น และโปรตีนในตัวอย่างจับกับเอนไซม์จึงทำให้ได้เปปไทด์สายสั้นในสารละลายตัวอย่างจำนวนมาก นอกจากนี้ปริมาณเอนไซม์จะเป็นตัวกำหนดความเร็วสูงสุดของปฏิกิริยา ส่งผลให้ระดับการย่อยสลายสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์เพิ่มสูงขึ้นเป็นผลให้ DH สูงขึ้น ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ 1:2 ร้อยละ DH สูงสุด (84.0) และที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 60 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH ต่ำสุด เท่ากับ 10.48 (ภาพที่ 8a) ขณะที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH สูงสุด เท่ากับ 61.58 และที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 60 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH ต่ำสุด เท่ากับ 11.09 (ภาพที่ 8b) ดังนั้นอัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีระดับการย่อยสลายที่ลดลง เนื่องจากอัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนจากวัตถุดิบโดยเอนไซม์โปรติเอสที่ทำหน้าที่ในการเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา

ไฮโดรไลซิสของโปรตีนไปเป็นโพลิโกเปปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ (นิธิยา, 2549) และเกิดจากความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์จะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ ทำให้สารตั้งต้นจับกับเอนไซม์จนได้เปปไทด์สายสั้นๆที่มีปริมาณลดลง ในขณะที่โปรตีนไฮโดรไลสตรงชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH สูงสุด (48.98) และที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 60 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH ต่ำสุด เท่ากับ 7.66 (ภาพที่ 9a) ขณะที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH สูงสุด (60.39) และที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 60 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.3 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละ DH ต่ำสุด เท่ากับ 6.59 (ภาพที่ 9b) นอกจากนี้อัตราส่วนของสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีระดับการย่อยสลายที่ลดลงเช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลสตรงจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส จึงสอดคล้องกับงานวิจัยของ Benjakul and Morrissey (1997) โดยศึกษาเปรียบเทียบปริมาณบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากปลาแปซิฟิกไวกิงด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรสเป็นเวลา 30 นาที พบว่า อัตราส่วนระหว่างสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายมีค่าระหว่าง 1:2 และ 1:3 และพบว่า การเพิ่มอัตราส่วนของสารละลายบัฟเฟอร์มีผลต่อค่า DH ที่ลดลง

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสตรงจากเนื้อไก่ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสตรงจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างมีระดับการย่อยสลายสูงสุด (ร้อยละ 84.05) ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลสตรงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างมีระดับการย่อยสลายสูงสุด (ร้อยละ 78.48) ในอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 อย่างไรก็ตามโปรตีนไฮโดรไลสตรงจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสจะมีระดับการย่อยสลายสูงเอนไซม์ฟลาโวไซม์



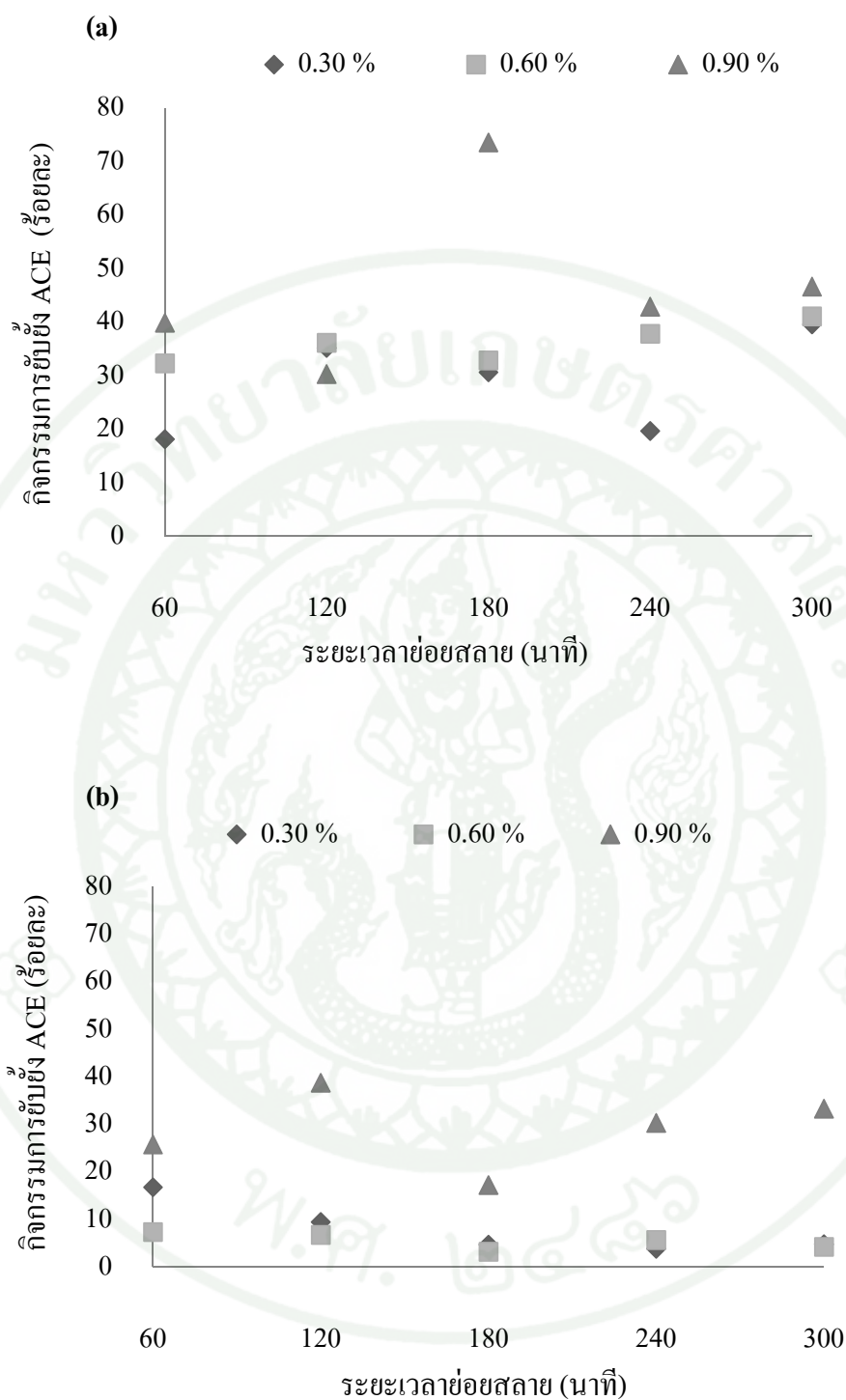
ภาพที่ 9 DH ของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยด้วย เอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มี อยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไล เสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)

1.4 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่

ผลการวิจัยในครั้งนี้พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ของทดลองแตกต่างกัน จึงส่งผลต่อกิจกรรมการยับยั้ง ACE ($p \leq 0.05$) โดยนำเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง มีร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เท่ากับ 32.83 ทั้งนี้ค่ากิจกรรมการยับยั้ง ACE มีค่าสูงเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที มีร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เท่ากับ 73.54 (ภาพที่ 10a) ดังนั้นความเข้มข้นเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนจากวัตถุดิบเพิ่มสูงขึ้น (Mackie, 1982) เนื่องจากทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ (Lock and Key Theory) แสดงให้เห็นว่าความจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น (ปราณี, 2547) จากนั้นปริมาณเอนไซม์เพิ่ม ส่งผลให้ได้เปปไทด์ขนาดเล็ก และมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ที่สูง โดยมีกลไกการยับยั้ง ACE ดังนี้คือ นำเปปไทด์สังเคราะห์คือ FAPGG เป็นสารตั้งต้นที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ACE จะได้ furylacryloylphenylalanine (FAP) และ glycylglycine (Lahogue *et al.*, 2010) ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE เป็นผลให้เกิดการหยุดการเปลี่ยนแปลง angiotensin I ไปเป็น angiotensin II ในขณะเดียวกันกิจกรรมการยับยั้ง ACE ก็มีผลการสลายตัวของ bradykinin ทำให้มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร จึงมีผลต่อกิจกรรมการยับยั้ง ACE (Lahogue *et al.*, 2010) ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่อัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่าง มีร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เท่ากับ 16.69 และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่าง มีร้อยละกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุดเท่ากับ 21.46 (ภาพที่ 11a) ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อพิจารณาการเปรียบเทียบโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (ภาพที่ 10a) ที่สิ่งทดลองในสภาวะอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 180 นาทีที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด (ร้อยละ 73.54) และค่า DH ร้อยละ 33.82 นอกจากนี้ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 60 นาทีที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ต่ำสุด (ร้อยละ 18.13) และค่า DH ร้อยละ 10.48 (ภาพที่ 10a) ดังนั้นระยะเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อกิจกรรมการยับยั้ง ACE ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายจาก 60 เป็น 180 นาที ทำให้มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE เพิ่มขึ้น นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูง (ร้อยละ 33.21) และค่า DH ร้อยละ 52.5 ของสิ่งทดลองในสภาวะอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 และระยะเวลาการย่อยสลาย 300 นาที ในขณะที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 60 นาทีที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ต่ำสุด (ร้อยละ 11) และค่า DH ร้อยละ 7.66 (ภาพที่ 11a) ดังนั้นกิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE มากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์

ดังนั้นระยะเวลาในการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อมะเขือเทศที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่า DH กับ ACE ของผลการทดลอง พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้อมะเขือเทศไม่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูง แต่มีค่า DH ต่ำ ในขณะที่ตรงข้ามกันเมื่อค่ากิจกรรมการยับยั้ง ACE ต่ำ แต่มีค่า DH สูง และให้ผลเช่นนี้ทุกสิ่งทดลอง แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของค่า DH และกิจกรรมการยับยั้ง ACE ไม่มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้รายงานไว้ว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากนมแพะมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูง แต่มีค่า DH ต่ำ (Bougatef *et al.*, 2008) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang *et al.* (2013) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อวัวมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูง แต่มีค่า DH ต่ำ

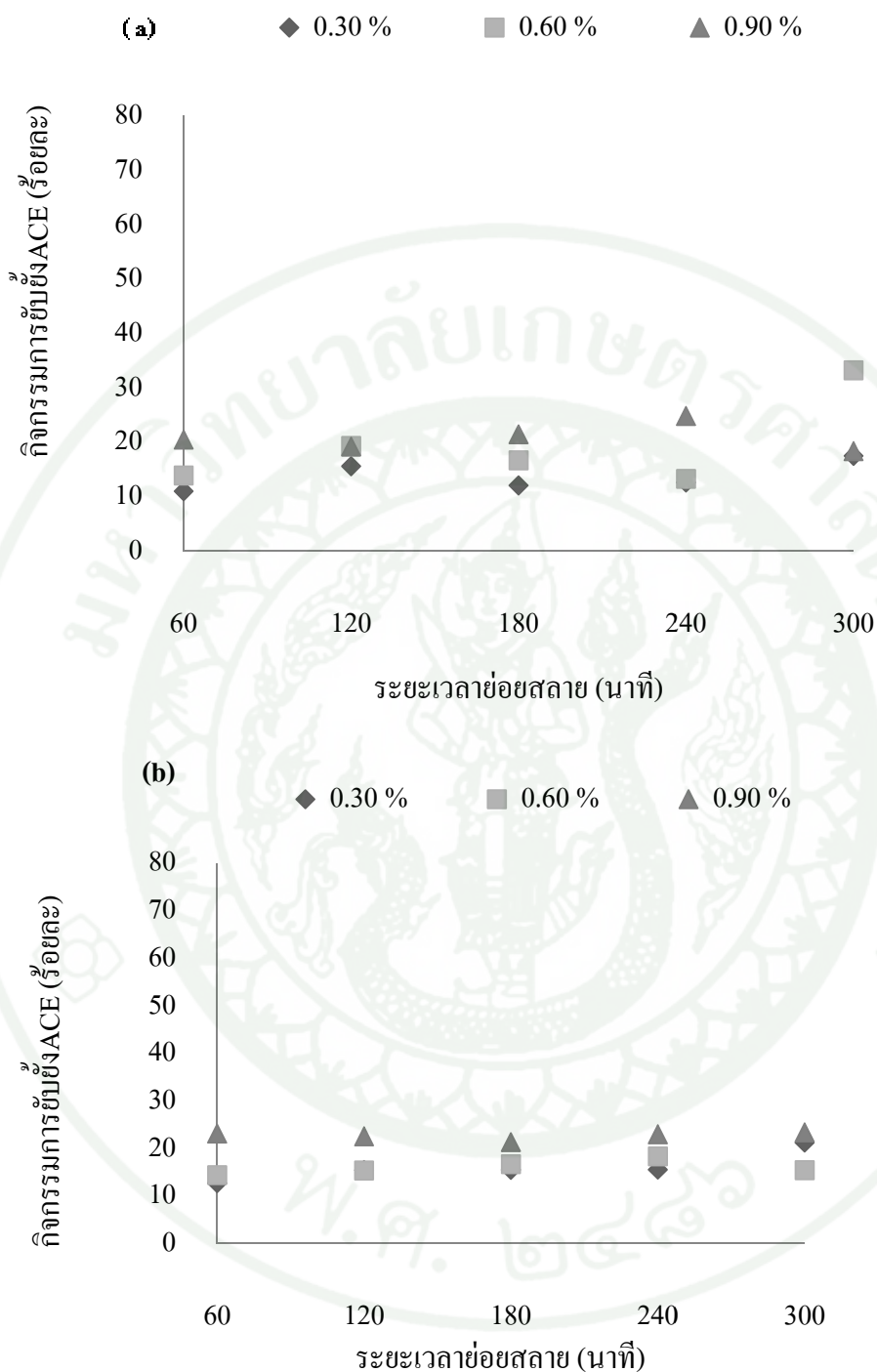


ภาพที่ 10 กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)

จากผลการทดลองของทุกสิ่งทดลองทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ และสมบัติด้านเคมีและด้านกายภาพ DH และกิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้ แสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ร้อยละ 73.54) และ DH เท่ากับ ร้อยละ 33.82 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีน ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 โดยมีสมบัติทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เท่ากับ ร้อยละ 7.17 และปริมาณโปรตีน (ร้อยละ 84.22) สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 9.71 ค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 78.72 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) เท่ากับ 0.45 และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 30.91

ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ พบว่า มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ร้อยละ 33.21) และ DH เท่ากับ ร้อยละ 52.50 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีน ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 โดยมีสมบัติทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เท่ากับ ร้อยละ 8.30 และปริมาณโปรตีน (ร้อยละ 85.06) สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.71 ค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 88.03 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) เท่ากับ -0.07 และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 14.83

โปรตีนไฮโดรไลเสตมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโน วาลีน อะลานีน และโปรลีน ที่ปลาย C (Chen *et al.*, 2012) และผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saiga *et al.* (2003) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อไก่ประกอบด้วย กรดอะมิโนไฮดรอกซิลโปรลีน จับกันที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ACE ที่ปลาย C ทำให้มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang *et al.* (2013) รายงานว่า กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อวัวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheng *et al.* (2008) รายงานว่า กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากกระดูกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ที่กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูง จะมีความเป็นไปได้ว่าสามารถลดความดันโลหิตสูงได้



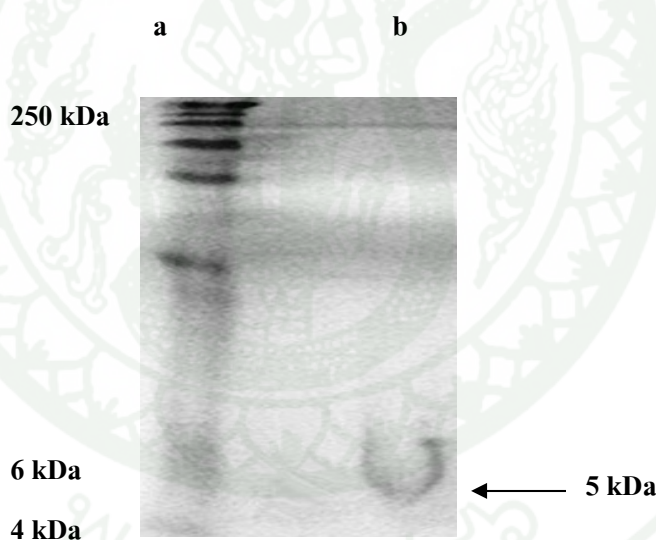
ภาพที่ 11 กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้อไก่ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 0.6 และ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่ 1:2 (a) และ 1:3 (b)

ดังนั้นเกณฑ์หลักในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมเพื่อนำไปศึกษาต่อคือ ค่ากิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด (ร้อยละ 73.54) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสเป็น endopeptidase ซึ่งสามารถตัดพันธะเปปไทด์แบบสุ่ม (novozymes, 2007) ทำให้ปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นได้จำนวนมาก ที่สังเคราะห์ในสภาวะระยะเวลาในการย่อยสลายที่เหมาะสมคือ 180 นาที ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 เนื่องจากเอนไซม์มีกิจกรรมการเร่งการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมของสารตั้งต้นจับกับเอนไซม์ได้เป็นอย่างดี และมีปริมาณของเอนไซม์ที่เพียงพอในการทำปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ให้ได้เปปไทด์สายสั้นๆจำนวนมาก อีกทั้งยังได้เปปไทด์ที่มีโครงสร้างของลำดับกรดอะมิโนที่เหมาะสมในการยับยั้งกิจกรรม ACE เป็นผลให้เกิดการหยุดการเปลี่ยนแปลง angiotensin I ไปเป็น angiotensin II ในขณะเดียวกันมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE ก็มีผลการสลายตัวของ bradykinin ทำให้มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร จึงมีผลต่อกิจกรรมการยับยั้ง ACE (Lahogue *et al.*, 2010) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheng *et al.* (2008) รายงานว่า กิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกระดูกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด ดังนั้นจึงคัดเลือกสภาวะนี้ไปศึกษาสมบัติต่างๆ และการประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำอุนแดง)

2. การศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีน ไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด

จากการศึกษาสมบัติต่างๆ โดยเฉพาะสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ของโปรตีนเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพ และโครงสร้างของโปรตีน (Diniz and Martin, 1997) ซึ่งสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตขึ้นกับวิธีการที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต (Sikorski, *et al.*, 1981) เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด มาศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุล ซึ่งคัดแปลงจากวิธีของ Schagger and Von Jagow (1987) ความสามารถในการละลาย (Kha *et al.*, 2010) ความสามารถในการเกิดอิมัลชันคัดแปลงจากวิธีของ Pearce and Kinsella (1978) ความสามารถการเกิดฟอง ซึ่งคัดแปลงจากวิธีของ Sathe and Salunkhe (1981) และความสามารถการดูดซับไขมัน (Kristiosson and Rasco, 2000) แสดงผลการวิจัยดังนี้

เมื่อพิจารณาการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล เป็นตัวบ่งชี้สมบัติเชิงหน้าที่ (Wang *et al.*, 2006) โดยวิธีแบบ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด แสดงดังภาพที่ 12 พบว่าแถบโปรตีนของตัวอย่างมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5 กิโลดาลตันเมื่อเปรียบเทียบกับแถบโปรตีนมาตรฐานที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 4-6 กิโลดาลตัน จึงแสดงให้เห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ส่งผลให้ได้ เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Bhaskar *et al.*, 2007) เช่น ไตรเปปไทด์ และไดเปปไทด์ (Siemansma *et al.*, 1993) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jung *et al.* (2006) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลา yellowfin มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุด โดยมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5 กิโลดาลตันมีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen *et al.* (2012) รายงานว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก grass carp มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุดเช่น ไตรเปปไทด์ มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด



ภาพที่ 12 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด โดยวิธี SDS-PAGE (แถบ a แสดงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน และแถบ b แสดงโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด)

เนื่องจากเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์คือ เอนไซม์อัลคาเลสที่จัดอยู่ในกลุ่ม serine peptidase ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ที่บริเวณเร่ง (Nielsen *et al.*, 2001) ดังนั้นสารตั้งต้นจะเกิดพันธะโควาเลนต์กับเอนไซม์ที่บริเวณเร่งย่อยสลายจนกว่าสารตั้งต้นจะหมด หรือมีการหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนี้เอนไซม์อัลคาเลสเป็นเอนโคเรเปปติเดส เมื่อย่อยสลายพันธะเปปไทด์เป็นแบบสุ่ม โดยการย่อยสลายในสายโพลีเปปไทด์ ได้เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Bhaskar *et al.*, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรตีนสจะเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 10 กิโลดาลตัน (Izawa *et al.*, 1997) ซึ่งมีความคงตัว และสะดวกในการดูดซึมในร่างกาย (Maruyama *et al.*, 1985)

เมื่อพิจารณาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด แสดงดังตารางที่ 20 พบว่าสมบัติเชิงหน้าที่ของตัวอย่างมีความสามารถในการละลาย เท่ากับ 96 ความคงตัวของอิมัลชัน 33.11 นาที ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน 153.51 ตารางเมตรต่อกรัม ความสามารถในการเกิดฟอง ร้อยละ 2.5 และความสามารถการดูดซับไขมัน ร้อยละ 1.46 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสามารถในการละลาย มีความสำคัญต่อการประยุกต์ในอาหาร (Sathivel *et al.*, 2003) จากการวิจัย พบว่า ตัวอย่างมีความสามารถในการละลาย เท่ากับ 96 ซึ่งมีค่ามากกว่าร้อยละ 50 เนื่องจากโปรตีนมีทั้งส่วนกรดอะมิโนไม่มีขั้วซึ่งมักจะอยู่ภายในโมเลกุลมีลักษณะไม่ชอบน้ำ จะมีการแสดงออกมาและมีผลต่อความสามารถการละลายได้ของโพลีเปปไทด์ และชนิดและปริมาณของตัวถูกละลายอื่นๆ ที่ผสมอยู่ด้วย ดังนั้นความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีค่าสูง จะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Gbogouri *et al.*, 2004) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่กล่าวว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาหมึกที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีความสามารถในการละลายเท่ากับ ร้อยละ 97.6 ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 30 กิโลดาลตัน (Gimenez *et al.*, 2009) และโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลา มีความสามารถในการละลายเท่ากับ ร้อยละ 90-95 (Gbogouri *et al.*, 2004)

นอกจากนี้ความสามารถในการละลายได้ดีจะมีความสัมพันธ์กับความสามารถการเกิดอิมัลชัน (Quaglia and Orban, 1990) จากการวิจัย พบว่า ความคงตัวของอิมัลชัน 33.11 นาที และความสามารถการเกิดอิมัลชัน 153.51 ตารางเมตรต่อกรัม จะเห็นได้ว่า ความสามารถในการเกิดอิมัลชันจะมีค่ามากกว่าความคงตัวของอิมัลชัน เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซตเกิดพันธะไฮโดรโฟบิก ซึ่งพันธะไฮโดรโฟบิกจะเป็นตัวชี้วัดความสามารถการเกิดอิมัลชัน (Gauthier *et al.*, 1993) นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดผงแห้งมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำอยู่ปลายสายในปริมาณมากจึงมี

ความสามารถการเกิดอิมัลชันสูง เพราะโปรตีนจะหันด้านที่ไม่ชอบน้ำเข้าหาเม็ดไขมันและเกิดพันธะไฮโดรโฟบิกขึ้น จึงใช้ระยะเวลาน้อยเพื่อให้อิมัลชันมีความความคงตัว (Quaglia and Orban, 1990) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Muzaiifa *et al.* (2012) รายงานว่า โปรตีนไฮโดรไลสได้จากผลพลอยได้จากปลาแซลมอนที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากกว่าความคงตัวของอิมัลชัน

ตารางที่ 20 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลสชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด

สมบัติเชิงหน้าที่	ค่าที่ได้ ^a
ความสามารถในการละลาย	96.00 ± 0.00
ความคงตัวของอิมัลชัน (นาที่)	33.11 ± 0.27
ความสามารถการเกิดอิมัลชัน (ตารางเมตร/กรัม)	153.51 ± 2.81
ความสามารถการเกิดฟอง (ร้อยละ)	2.50 ± 0.00
ความสามารถการดูดซับไขมัน (ร้อยละ)	1.46 ± 0.00

หมายเหตุ ^a ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากผลการวิจัย 3 ซ้ำ

เมื่อพิจารณาความสามารถการเกิดฟอง และความสามารถการดูดซับไขมันของตัวอย่างมีค่าน้อย เท่ากับ ร้อยละ 2.5 และ 1.46 เนื่องจากความสามารถการเกิดฟอง และความสามารถการดูดซับไขมัน จะมีความสัมพันธ์กับพันธะไฮโดรโฟบิกของกรดอะมิโนที่พื้นผิวของโมเลกุลโปรตีน (Achouri *et al.*, 1998) และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายก็มีผลต่อความสามารถการเกิดฟองของโปรตีนไฮโดรไลสชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเป็นระยะเวลา 180 นาที่ จึงมีผลต่อน้ำหนักการเกิดฟองของโปรตีนไฮโดรไลสชนิดผงแห้งโดยมีการกระจายตัวของโปรตีนที่พื้นผิวจะต่ำกว่าพื้นผิวอากาศจะส่งผลต่อความสามารถการเกิดฟองที่ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Wasswa *et al.* (2008) ที่รายงานว่ โปรตีนจากปลา tilapia ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลานานขึ้น จาก 0 ถึง 60 นาที่ พบว่า ความสามารถในการเกิดฟองลดลงเมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ขณะที่ความสามารถในการดูดซับไขมันของโปรตีนไฮโดรไลสชนิดผงแห้งมีพันธะไฮโดรโฟบิกที่มีแรงจับกับไขมันได้น้อย จึงส่งผลต่อความสามารถในการดูดซับไขมันที่มีค่าน้อยเช่นเดียวกัน (Franzen and Kinsella, 1976) ซึ่ง

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Foh *et al.* (2011) ที่กล่าวว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจาก hot water dip มีความสามารถในการดูดซับไขมัน เท่ากับ ร้อยละ 2.23 ในทางตรงข้ามโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีความสามารถในการดูดซับไขมันที่สูงสามารถนำไปประยุกต์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก เค้ก เนยเหลว และมายองเนส (Foh *et al.*, 2011)

3. การศึกษาการประยุกต์โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่ผลิตจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำอุนแดง

ในขั้นตอนนี้ศึกษาสูตรของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำอุนแดง (น้ำอุนแดง) ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 15 องศาบริกซ์ ตามวิธีการผลิตจากสูตรและวิธีมาตรฐานของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546) และนำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทดสอบโดยชิม ดู คม และกวน ในคุณลักษณะด้าน สี กลิ่น กลิ่นรส รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวม ซึ่งทดสอบความชอบด้วยวิธี 9-point hedonic scale test จำนวน 30 คน

จากนั้นนำไปศึกษาต่อโดยการเปรียบเทียบกับน้ำอุนแดงที่ไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตัวอย่างควบคุม, สูตรที่ 1) และเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่บดที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (สูตรที่ 2, 3, 4) และนำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทดสอบโดยไม่ชิม ดู คม และกวน ในคุณลักษณะด้านสี ความเป็นเนื้อเดียวกัน และกลิ่น ซึ่งทดสอบความชอบด้วยวิธี 9-point hedonic scale test จำนวน 30 คน เพื่อคัดเลือกสูตรที่ดีที่สุดไปวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ได้แก่ ด้านเคมี ด้านกายภาพ และด้านจุลินทรีย์

3.1 การศึกษาสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำอุนแดง

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำอุนแดงโดยการทดสอบความชอบแบบ 9-point hedonic scale ในคุณลักษณะด้าน สี กลิ่น กลิ่นรส รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวมของน้ำอุนแดงที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 15 องศาบริกซ์ เนื่องจากปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำอุนแดง ซึ่งอยู่ในช่วง 12.5-16 องศาบริกซ์ ซึ่งสอดคล้องกับค่ามาตรฐานของปริมาณของแข็งทั้งหมดจากตารางน้ำอุนแดง ตามมาตรฐาน codex stan-255 (2007) และสอดคล้องกับผลิตภัณฑ์

ต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ทางการค้า ได้แก่ ฮีทอมาลี ทิปโก้ ยูนิฟ ชบา และยูเอฟซี พบว่า มีปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำองุ่นแดง ซึ่งอยู่ในช่วง 12 – 16 องศาบริกซ์ แสดงผลการวิจัยดังนี้

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสีของน้ำองุ่นแดง พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านสี เท่ากับ 7.5 คือมีคะแนนความชอบในระดับความชอบปานกลางถึงชอบมาก เนื่องจากสีของของน้ำองุ่นเข้มข้นร้อยละ 10 ซึ่งมีสีของน้ำองุ่นแดงที่ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำองุ่นทางการค้า

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของน้ำองุ่นแดง พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นองุ่น เท่ากับ 6.9 คือมีคะแนนความชอบในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง เนื่องจากกลิ่นขององุ่นแดง ซึ่งมีกลิ่นเฉพาะขององุ่นแดงตามชนิดของสายพันธุ์องุ่น

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส รสหวาน และรสเปรี้ยวของน้ำองุ่นแดง พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นรส รสหวาน และรสเปรี้ยวของน้ำองุ่นแดง เท่ากับ 6.9, 6.3 และ 6.4 ตามลำดับ คือมีคะแนนความชอบในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง เนื่องจากการเติมกรดซิตริกในน้ำองุ่นแดง โดยคิดเป็นกรดซิตริกที่ปราศจากน้ำ มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.05-0.09 เพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำองุ่นแดงซึ่งอยู่ในช่วง 3.0-3.5 ซึ่งสอดคล้องกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ทางการค้า ได้แก่ ฮีทอมาลี ทิปโก้ ยูนิฟ ชบา และยูเอฟซี นอกจากนี้การเติมกรดซิตริกจะช่วยปรับปรุงในด้านรสชาติของน้ำองุ่นแดง ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำองุ่นแดง จะมีค่าต่ำและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสความชอบโดยรวมของน้ำองุ่นแดง พบว่า น้ำองุ่นแดงมีคะแนนความชอบสูงสุด ซึ่งอยู่ในช่วงชอบปานกลาง ในคุณลักษณะด้านสี กลิ่น กลิ่นรส รสหวาน และรสเปรี้ยว และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.5, 6.9, 6.9, 6.3, 6.4 และ 6.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 21) น้ำองุ่นแดง มีส่วนผสมคือ น้ำองุ่นแดงเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำร้อยละ 80.43 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 9.5 และกรดซิตริกร้อยละ 0.07 โดยน้ำหนัก

ตารางที่ 21 ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบของน้ำอุ่นแดง โดยวิธี 9-point hedonic scale test

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบเฉลี่ย
สี	7.5 ± 0.8
กลิ่นอุ่น	6.9 ± 0.8
กลิ่นรสอุ่น	6.9 ± 0.7
รสหวาน	6.3 ± 1.4
รสเปรี้ยว	6.4 ± 1.3
ความชอบโดยรวม	6.8 ± 0.9

3.2 การพัฒนาเครื่องดัดแบบ (น้ำอุ่นแดง) ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผง
 แห่งจากเนื้ออกไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้งACE สูงที่สุด

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทดสอบโดยไม่ชิม ดู ดม และกวน ดู ดม
 และกวน ของน้ำอุ่นแดงโดยการทดสอบความชอบแบบ 9-point hedonic scale ในคุณลักษณะด้าน สี
 ความเป็นเนื้อเดียวกัน และกลิ่นของน้ำอุ่นแดงที่ไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห่งจากเนื้อ
 อกไก่ (ตัวอย่างควบคุม, สูตรที่ 1) และเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่บด ที่มีกิจกรรมการ
 ยับยั้งACE สูงที่สุด (สูตรที่ 2, 3, 4) แสดงผลการวิจัยดังนี้

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสีของน้ำอุ่นแดงร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสต
 ชนิดผงแห่งจากเนื้ออกไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้งACE สูงที่สุด (ตารางที่ 22) พบว่า ผู้ทดสอบให้
 คะแนนความชอบด้านสีไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 7.3 (สูตรที่ 2 และ 3) และ 7.1 (สูตรที่
 4) ตามลำดับ โดยมีคะแนนความชอบในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความเป็นเนื้อเดียวกันของน้ำอุ่นแดงร่วมกับ
 โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห่งจากเนื้ออกไก่ที่ให้กิจกรรมการยับยั้งACE สูงที่สุด (ตารางที่ 22)
 พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านความเป็นเนื้อเดียวกันไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยมีค่า
 เท่ากับ 7.4 (สูตรที่ 2) 7.2 (สูตรที่ 3) และ 7.1 (สูตรที่ 4) ตามลำดับ โดยมีคะแนนความชอบในระดับ
 ชอบปานกลางถึงชอบมาก

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของน้ำองุ่นแดงร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่มีกิจกรรมการยับยั้งACE สูงที่สุด (ตารางที่ 22) พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นสูงสุด เท่ากับ 7.3 (สูตรที่ 3) คือมีคะแนนความชอบในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง รองลงมาคือ สูตรที่ 4 เท่ากับ 6.5 คือมีคะแนนความชอบในระดับชอบเล็กน้อย เนื่องจากปริมาณของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่เติมในสูตรที่ 4 มีปริมาณมาก จึงส่งผลทำให้ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นลดลง และสูตรที่ 2 เท่ากับ 6.8 โดยมีคะแนนความชอบในระดับชอบเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาสูตรที่ 3 น้ำองุ่นที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่บด ที่มีกิจกรรมการยับยั้งACE สูงที่สุด ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่น เท่ากับ 7.3 ซึ่งอยู่ในช่วงชอบปานกลางถึงชอบมาก เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ 1 คือ ตัวอย่างควบคุม ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่น เท่ากับ 7.1 ซึ่งอยู่ในช่วงชอบปานกลางถึงชอบมาก เนื่องจากปริมาณของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่เติมในสูตรที่ 3 มีปริมาณที่สอดคล้องกับเครื่องดื่มหักล้างที่มีส่วนผสมหลักคือ แลคโตไตรเปปไทด์ (Lactotripeptide) ที่มีการกล่าวอ้างว่า สามารถลดความดันโลหิตสูงได้ ซึ่งเครื่องดื่มนี้นี้ผลิตจากบริษัทาลพิส จากประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้การเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่บด ที่มีกิจกรรมการยับยั้งACE สูงที่สุด จากผลการวิจัยในข้อ 2 พบว่า มีความสามารถในการละลายร้อยละ 96 และมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5 กิโลดาลตัน ซึ่งมีความคงตัว และสะดวกในการดูดซึมในร่างกาย (Maruyama *et al.*, 1985) จึงมีความเหมาะสมในการประยุกต์ในเครื่องดื่มน้ำองุ่น นอกจากนี้ควรดื่มผลิตภัณฑ์นี้ร่วมกับการทานอาหารครบ 5 หมู่และออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้มีความเป็นไปได้อย่างดีในการลดความดันโลหิตสูง แต่ทั้งนี้กิจกรรมการยับยั้ง ACE ช่วยลดความดันโลหิตสูงในมนุษย์ ยังต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไป

ตารางที่ 22 ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบ โดยวิธี 9-point hedonic scale test ของน้ำองุ่นแดงที่ไม่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตัวอย่างควบคุม, สูตรที่ 1) และเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่บด (สูตรที่ 2, 3, 4)

คุณลักษณะ	น้ำองุ่นผสมโปรตีนไฮโดรไลเสต			
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
สี ^{ns}	7.3 ± 0.9	7.3 ± 1.0	7.3 ± 1.5	7.1 ± 1.1
ความเป็นเนื้อเดียวกัน ^{ns}	7.4 ± 0.9	7.4 ± 1.0	7.2 ± 0.8	7.1 ± 1.0
กลิ่น	7.1 ^a ± 1.0	6.8 ^{ab} ± 1.1	7.3 ^a ± 0.8	6.5 ^b ± 1.1

หมายเหตุ ^{a-b} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละตัวอย่าง ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

ดังนั้นจึงคัดเลือกสูตรที่ 3 เป็นสูตรที่มีคะแนนความชอบสูงสุด (ตารางที่ 22) ในคุณลักษณะด้านสี ความเป็นเนื้อเดียวกัน และกลิ่น เท่ากับ 7.3, 7.2 และ 7.3 ตามลำดับ โดยมีส่วนผสมคือ น้ำองุ่นแดงเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำร้อยละ 80.43 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 9.5 กรดซิตริก ร้อยละ 0.07 และโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่บดที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดร้อยละ 0.0017 โดยน้ำหนัก ได้รับความชอบมากที่สุด โดยปริมาณของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่บดที่เติมในน้ำองุ่นแดง มีปริมาณที่สอดคล้องกับเครื่องดื่มทางการค้าที่มีส่วนผสมหลักคือ แล็กโตสไตรเปปไทด์ (Lactotripeptide) ที่มีการกล่าวอ้างว่า สามารถลดความดันโลหิตสูงได้ ซึ่งเครื่องดื่มชนิดนี้ผลิตจากบริษัทาลพิส จากประเทศญี่ปุ่น ดังนั้นจึงนำน้ำองุ่นแดงผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่บดที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (สูตรที่ 3) ไปวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ได้แก่ ด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านจุลินทรีย์

3.3 ศึกษาคุณภาพด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านจุลินทรีย์ ของโปรตีนไฮโดรไลเสต ชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ทำให้กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุด เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง)

เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่ ค่าสีในระบบ CIE ของน้ำองุ่นแดงที่เดิมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อองุ่นที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตารางที่ 23) จากการวิจัยพบว่า มีค่าความสว่างเท่ากับ 4.59 ค่าความเป็นสีแดง เท่ากับ 20.50 และค่าความเป็นสีเหลือง เท่ากับ 6.89 และมีค่าสีสอดคล้องกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ทางการค้า ได้แก่ ยี่ห้อ มาลี ทิปโก้ ยูนิฟ ชบา และยูเอฟซี โดยมีค่าความสว่างเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 56.21-75.46 ค่าความเป็นสีแดงเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 16.32-37.96 และค่าความเป็นสีเหลืองเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.47-16.25 จากการเปรียบเทียบค่าสีของน้ำองุ่นที่เดิมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อองุ่นที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด กับค่าสีของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (น้ำองุ่นแดง) ทางการค้า พบว่า ค่าความเป็นสีแดง และค่าความเป็นสีเหลือง มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ขณะที่ค่าความสว่างต่างกัน เนื่องจากการทำการเจือจางน้ำองุ่นจากน้ำองุ่นแดงเข้มข้น และสายพันธุ์ขององุ่นแดงที่แตกต่างกันตามแต่ละยี่ห้อที่ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำองุ่นแดง เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีเหลืองของน้ำองุ่นแดงที่เดิมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อองุ่นที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด จากการศึกษาค้นคว้า พบว่า น้ำองุ่นประกอบด้วยสารประกอบเชิงซ้อน คือ แทนนิน จึงทำให้น้ำองุ่นมีสีเหลือง และสีน้ำตาล ซึ่งแทนนินจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสี และรสของน้ำองุ่น (รศชม) (Dharmadhikari, 1994) เมื่อพิจารณาค่าความเป็นสีแดงของน้ำองุ่นแดงที่เดิมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อองุ่นที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด พบว่า มีสีแดงปนสีม่วงเกิดจากรงควัตถุแอนโทไซยานิน และสีที่แตกต่างกันเกิดจากสายพันธุ์ขององุ่นแดงที่แตกต่างกัน (Dharmadhikari, 1994)

เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านเคมีของน้ำองุ่น ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมด จากผลการวิเคราะห์ความเป็นกรด พบว่า น้ำองุ่นที่เดิมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อองุ่นที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตารางที่ 23) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.00 แสดงว่า ความเข้มของกรดในน้ำองุ่นมีสภาพเป็นกรด และมีปริมาณกรดทั้งหมด เท่ากับ ร้อยละ 0.25 โดยที่ปริมาณกรดจะเปลี่ยนแปลงตามชนิดของกรด และพบกรดซิตริกในน้ำองุ่นเป็นส่วนใหญ่ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของน้ำองุ่น, 2546) ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด พบว่า น้ำองุ่นที่เดิมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อองุ่นที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตารางที่ 23) มีปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 15 องศาบริกซ์ ซึ่งอยู่ในช่วง 12-15 องศาบริกซ์ ซึ่งสอดคล้องกับค่ามาตรฐานของปริมาณของแข็งจากตารางน้ำองุ่น ตามมาตรฐาน codex stan 255 (2007) และสอดคล้องกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (น้ำองุ่น) ทางการค้า ได้แก่ ยี่ห้อ มาลี ทิปโก้ ยูนิฟ ชบา และยูเอฟซี ดังนั้นคุณลักษณะทางเคมีของน้ำองุ่น ขึ้นอยู่กับ ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมด (Bates et al., 2001)

เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมด ของน้ำอุนแดงผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด (ตารางที่ 23) จากผลการวิจัยพบว่า น้ำอุนแดงผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมด น้อยกว่า 10 cfu/ml เมื่อพิจารณาเกณฑ์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำอุน (มพช. 165/2546) ที่กำหนดให้ในน้ำอุน มีปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 100 cfu/ml จากผลการวิจัยพบว่า การเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด ไม่มีผลต่อการยับยั้งเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ในน้ำอุนแดง ทั้งนี้มีปริมาณแบคทีเรีย เชื้อราและยีสต์ทั้งหมดในน้ำอุนแดงมีค่าต่ำ เนื่องมาจากในการผลิตน้ำอุนแดงมีการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ด้วยระบบเร็วอุณหภูมิสูง เวลาสั้น

ตารางที่ 23 คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ของน้ำอุนแดงที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้อไก่ ที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด

คุณภาพ	น้ำอุนผสมโปรตีนไฮโดรไลเสต
	สูตรที่ 3
ค่าสีในระบบ CIE	
ค่าความสว่าง (L*)	4.59 ± 0.02
ค่าความเป็นสีแดง (a*)	20.50 ± 0.04
ค่าความเป็นสีเหลือง (b*)	6.89 ± 0.01
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	3.00 ± 0.00
ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	0.25 ± 0.02
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)	15
ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด	< 10 ESPC
ปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมด	< 10 ESPC

หมายเหตุ ESPC หมายถึง Estimate Standard Plate Count คือ ค่าโดยประมาณ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ผลของสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์และศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพ DH และกิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้ จากนั้นทำการคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้ที่ทำให้ผลกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุดมาเพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ และประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ และผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส กายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ จากการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1. โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 73.54 และ DH เท่ากับ ร้อยละ 33.82 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีน ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 โดยมีสมบัติทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เท่ากับ ร้อยละ 7.17 และปริมาณโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 84.22 สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 9.71 ค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 78.72 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) เท่ากับ 0.45 และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 30.91

2. โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ฟลาโวไซม์ พบว่า มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 33.21 และ DH เท่ากับ ร้อยละ 52.50 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.6 ของปริมาณโปรตีน ระยะเวลาในการย่อยสลาย 300 นาที และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 โดยมีสมบัติทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เท่ากับ ร้อยละ 8.30 และปริมาณโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 85.06 สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.71 ค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 88.03 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) เท่ากับ -0.07 และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 14.83

3. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 73.54 และ DH เท่ากับ ร้อยละ 33.82 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.9 ของปริมาณโปรตีน ระยะเวลาในการย่อยสลาย 180 นาที และอัตราส่วนสารตั้งต้นต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:2 โดยมีสมบัติทางเคมี ได้แก่ ความชื้น

เท่ากับ ร้อยละ 7.17 และปริมาณโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 84.22 สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 9.71 ค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 78.72 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) เท่ากับ 0.45 และค่าความเป็นสี เหลือง (b^*) เท่ากับ 30.91

4. โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดมีน้ำหนักโมเลกุล ขนาดต่ำกว่า 5 กิโลดาลตัน ความสามารถในการละลาย เท่ากับ ร้อยละ 95 ความคงตัวของอิมัลชัน และ ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน เท่ากับ 153.51 ตารางเมตรต่อกรัม และ 33.11 นาที ความสามารถในการทำ ให้เกิดฟอง เท่ากับ 2.5 และความสามารถในการดูดซับไขมัน เท่ากับ 1.46

5. การประยุกต์โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุดมาเป็น ส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแบบ (น้ำอุ่น) ด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านกายภาพ ด้าน เคมี และด้านจุลินทรีย์ พบว่า น้ำอุ่นแดงผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากนี้ออกไปเก็บคที่มี กิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดที่มีส่วนผสมคือ น้ำอุ่นแดงเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำร้อยละ 80.43 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 9.5 กรดซิตริกร้อยละ 0.07 และโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากนี้ออกไปเก็บคที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงที่สุดร้อยละ 0.0017 โดยน้ำหนัก และค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 4.59 ค่าความเป็นสีแดง (a^*) เท่ากับ 20.50 และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 6.89 ค่าความเป็น กรด-ด่าง เท่ากับ 3.00 และปริมาณกรดทั้งหมด เท่ากับ ร้อยละ 0.25 ปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 15 องศาบริกซ์ และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณเชื้อรา และยีสต์ทั้งหมด น้อยกว่า 10 cfu/ml

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งที่มีกิจกรรมการยับยั้ง ACE สูงสุดมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุน) พบว่ามีข้อเสนอแนะดังนี้

1. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งด้วยเอนไซม์ ในระหว่างที่มีการเหวี่ยงแยก ส่วนใส (โปรตีนไฮโดรไลเสต) และตะกอน พบว่า ส่วนตะกอนของโปรตีนไฮโดรไลเสตจาก กระบวนการผลิต ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ จึงควรศึกษาวิธีการเพื่อนำส่วนของตะกอนมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เพื่อไม่ให้เป็นการสูญเสีย และสามารถเพิ่มร้อยละผลผลิตได้
2. การศึกษากิจกรรมการยับยั้ง ACE ควรศึกษากิจกรรมการยับยั้ง ACE ของโปรตีน ไฮโดรไลเสตสภาพของเหลว และโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้ง เพื่อเปรียบเทียบกิจกรรมการ ยับยั้ง ACE
3. ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปริมาณที่เหมาะสมของโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งใน ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุน) เพื่อให้ผู้บริโภคยอมรับด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์มากขึ้น โดยที่ ยังคงประสิทธิภาพในกิจกรรมการยับยั้ง ACE
4. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้ออกไก่ ประยุกต์เป็นส่วนผสมในเครื่องดื่มน้ำแบบ (น้ำอุน) ควรผลิตด้วยสารเคมีสำหรับอาหาร (food grade) และควรดื่มเครื่องดื่มน้ำอุนแดงผสม โปรตีนไฮโดรไลเสต ร่วมกับการทานอาหารที่มีประโยชน์ครบ 5 หมู่ และออกกำลังกายอย่าง สม่าเสมอ เพื่อให้มีความเป็นไปได้ในการลดความดันโลหิตสูง แต่ทั้งนี้กิจกรรมการยับยั้ง ACE ช่วย ลดความดันโลหิตสูงในมนุษย์ ยังต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2547. ข้อมูลเศรษฐกิจการปศุสัตว์ ประจำปี 2545. กรมปศุสัตว์, กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2556. ออนไลน์. แหล่งที่มา: <http://www.doae.go.th>, 16 มกราคม 2555.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2543. สภาพอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ในประเทศไทย. น. 10-32. ใน การจัดการ
โรงฆ่าสัตว์ ครั้งที่ 3 (คณะเทคโนโลยีการเกษตร). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2547. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 2 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า
คุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ทวี ศิริวงศ์ และ อุดม ไกรฤทธิชัย. 2553. ความดันโลหิตสูง. สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ,
กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนานนท์. 2549. เคมีอาหาร. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

ผลิตภัณฑ์ใหม่ในตลาดโลก. 2556. เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ. แหล่งที่มา: www.Gnpd.com, 16
มกราคม 2557.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2554. มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำองุ่น. แหล่งที่มา:
<http://www.foodnetworksolution.com>, 17 มกราคม 2557.

เพ็ญขวัญ ชมปรีดา. 2536. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิลาลินี หิรัญพานิช. 2547. ยาชับยั้ง Angiotensin-converting enzyme. ใน เภสัชวิทยา 1
(Pharmacology 1). คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, ขอนแก่น.

สถาบันอาหาร. 2544. **เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ**. แหล่งที่มา: <http://fic.nfi.or.th/>, 20 มกราคม 2557.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544. **น้ำผลไม้**. แหล่งที่มา: <http://www.tistr.or.th>, 17 มกราคม 2557.

สัจชัย จตุรสิทธิ์. 2547. เนื้อสัตว์. น. 2-3. ใน **การจัดการเนื้อสัตว์**. โรงพิมพ์มิ่งเมือง, เชียงใหม่.

Achouri, A., W. Zhang and X. Shiyang. 1998. Enzymatic hydrolysis of soy protein isolate and effect of succinylation on the functional properties of resulting protein hydrolysates. **Food Research International**. 31(9): 617-623.

Adler - Nissen, J. 1986. **Enzymatic hydrolysis of food proteins**. Elsevier Applied Science Publishers, New York

AOAC. 2000. **Official method of analysis**. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Washington, D. C.

Asoodeh, A., M.M. Yazdi and J. Chamami. 2012. Purification and characterisation of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from lysozyme hydrolysates. **Food Chem**. 131: 291-295.

BAM. 2002. **Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual**. 8th ed., AOAC International, USA.

Barbanti, D. and M. Pasquini. 2005. Influence of cooking conditions on cooking loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. **LWT. Food Sci. Technol**. 38(8): 895-901.

Bates, R.P., J. Morris and P.G. Crandall. 2001. Principles and practices of small-and medium-scale fruit juice processing. **Food Agric. Org**.

- Benjakul, S. and M.T. Morrissey. 1997. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. **Agri. Food Chem.** 45(9): 3423-3430.
- Bernardini, R.D., P. Harnedy, D. Bolton, J. Kerry, E. Neill, A.M. Mullen and M. Hayes. 2011. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by products. **Food Chem.** 124: 1296-1307.
- Bhaskar, N., E. Sudeepa, H. Rashmi and A. Tamil Selvi. 2007. Partial purification and characterization of protease of *Bacillus Proteolyticus* Cfr3001 isolated from fish processing waste and its antibacterial activities. **Bioresource. Technol.** 98(14): 2758-2764.
- Bougatef, A., N. Nedjar-Arroume, R. Ravallec-Plé, Y. Leroy, D. Guillochon, A. Barkia and M. Nasri. 2008. Angiotensin converting enzyme inhibitory activities of sardinelle (*sardinella Aurita*) by-products protein hydrolysates obtained by treatment with microbial and visceral fish serine proteases. **Food Chem.** 111(2): 350-356.
- Byun, H.G. and S.K. Kim. 2001. Purification and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. **Process Biochem.** 36: 1155–1162.
- Chalamaiah, M., G.N. Rao, D. Rao and T. Jyothirmayi. 2010. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus Mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. **Food Chem.** 120(3): 652-657.
- Chen, Q., M.G. Espey, A.Y. Sun, J.H. Lee, M.C. Krishna, E. Shacter, P.L. Choyke, C. Pooput, K.L. Kirk, G.R. Buettner and M. Levine. 2007. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid *in vivo*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 104: 8749–8754.

- Cheng, F.Y., Y.T. Liu, T.C. Wan, L.C. Lin and R. Sakata. 2008. The development of angiotensin converting enzyme inhibitor derived from chicken bone protein. **Anim Sci.** 79(1): 122-128.
- Cheung, I.W. and E.C. Li-Chan. 2010. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity and bitterness of enzymatically-produced hydrolysates of shrimp (*Pandalopsis Dispar*) processing byproducts investigated by taguchi design. **Food Chem.** 122(4): 1003-1012.
- Chibuikwe, C., L.Yin-Shiou, H. Wen- Chi and E.A. Rotimi. 2009. Kinetics of the inhibition of rennin and angiotensin converting enzyme by flaxseed protein hydrolysate fractions. **Funct Food.** 99-207
- Clemente, A., J. Vioque, R. Sánchez-Vioque, J. Pedroche, J. Bautista and F. Millán. 1999. Protein quality of chickpea (*Cicer Arietinum* L.) protein hydrolysates. **Food Chem.** 67(3): 269-274.
- Cui, C., X.S. Zhou, M.M. Zhou and B. Yang. 2009. Effect of thermal treatment on the enzymatic hydrolysis of chicken protein. **Innov. Food sci. Emerg. Techol.** 10: 37-41.
- Dauksas, E., R. Slizyte and I. Sterrol. 2003. **Bitterness in fish protein hydrolysate: origin and methods for removal.** The 1st Joint Trans-Atlantic Fisheries Technology Conference. 10-14th June. Reykjavik Iceland Joint 33rd WEFTA and 48th AFTC meeting.
- Davalos A., M. Miguel, B. Bartolome and R. Lopez-Fandino. 2004. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. **Food Protect.** 67: 1939-194.
- Dharmadhikari, M. 1994. **Composition of Grapes. Newsletter: Vineyard and Vintage View.** 9(3-8).

- Diniz, F. and A. Martin. 1997. Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. **LWT, Food Sci and Tech.** 30(3): 266-272.
- Doolittle, R.F. 1989. Redundancies in protein sequences, pp. 599-623. *In* G.D. Fasman., ed. **Predictions of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation.** Plenum Press, New York.
- Dziuba, J., P. Minkiewicz and K. Plitnik. 1996. Chicken meat proteins as potential precursors of bioactive peptides. **Food and Nutr. Sci.** 5(4): 85-96.
- Ewart, H.S., D. Dennis, M. Potvin, T. Tiller, L.H. Fang and R. Zhang. 2009. Development of a salmon protein hydrolysate that lowers blood pressure. **Eur. Food Res. Technol.** 229: 561-9.
- Franzen, K.L. and J.E. Kinsella. 1976. Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. **Agri. Food Chem.** 24(4): 788-795.
- Gauthier, S.F., P. Paquin, Y. Pouliot and S. Turgeon. 1993. Surface activity and related functional properties of peptides obtained from whey proteins. **Dairy Sci.** 76: 321-328.
- Gesualdo, L.A.M. and E.C.Y.L. chem. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). **Food Sci.** 64: 1000-1004.
- Ghassem, M., K. Arihara, A.S. Babji, M. Said and S. Ibrahim. 2011. Purification and identification of ace inhibitory peptides from haruan (*Channa striatus*) myofibrillar protein hydrolysate using HPLC-ESI-TOF MS/MS. **Food Chem.** 129: 1770-1777.
- Gilberg, A. 1988. Aspartic proteinase in fishes an aquatic invertebrates. **Comp. Biochem. Physiol.** 91: 323-330.

- Guerard, F., L. Dufosse, D. De la Broise and A. Binet. 2001. Enzymatic hydrolysis of protein from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. **Mol. Cat.** 11: 1051- 1059.
- Hall, G.M. and N.H. Ahmad. 1992. Functional properties of fish protein hydrolysates. pp. 249-274. In G.M. Hall., ed. **Fish processing Teccol**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Holmquist, B., P. Bunning and J.F. Riordan. 1979. A continuous spectrophotometric assay for angiotensin converting enzyme. **Anal. Biochem.** 95: 540–548.
- Hwang, W.Y., K. Majumder and J. P. Wu. 2010. Oxygen radical absorbance capacity of peptides from egg white protein ovotransferrin and their interaction with phytochemicals. **Food Chem.** 123: 635–641.
- Izawa, N., K. Tokuyasu and K. Hayashi. 1997. Debittering of protein hydrolysates using aeromonas caviae aminopeptidase. **Agric. Food Chem.** 45(3): 543-545.
- Je, J.Y., P.J. Park, J.Y. Kwon and S.K. Kim. 2004. A novel angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. **Agric. Food Chem.** 52: 7842–7845.
- Kha, T.C., M.H. Nguyen and P.D. Roach. 2010. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac *Momordica Cochinchinensis* Fruit Aril Powder. **Food En.** 98(3): 385-392.
- Khalil, A.H. and E.H. Mansour. 1998. Control of lipid oxidation in cooked and uncooked refrigerated carp fillets by antioxidant and packaging combinations. **Agric. Food Chem.** 46: 1158-1162.

- Kristinsson, H.G. and B.A. Rasco. 2000. Kinetics of the hydrolysis of atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine proteases mixture. **Process. Biochem.** 36: 131-139.
- _____, ____ and _____. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. **Crit. Rev. Food Sci.** 40: 43-81.
- Klomklao, S., S. Benjakul, S. Visessaquan, H. Kishimura and B.K. Simpson. 2006. Effects of the addition of spleen of skipjack tuna (*Katsugonus pelamis*) on the liquefaction and characterization of fish sauce made from sardine (*Sardinella gibbsa*). **Food Chem.** 98: 440-452.
- Klompong, V., S. Benjakul, D. Kantachote and F. Shahidi. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. **Food Chem.** 102: 1317-1327
- Kumar, R., V. Choudhary, S. Mishram and I.K. Varma. 2004. Enzymatically modified soy protein. **Therm. Anal. Calorim.** 75: 727-738.
- Kurozawa, L.E., K.J. Park and M.D. Hubinger. 2009. Effect of carrier agents on the physicochemical properties of a spray dried chicken meat protein hydrolysate. **Food En.** 94(3): 326-333.
- Kuster, D.J. and G.R. Marshall. 2005. Validated ligand mapping of ace active site. **Comput. Aided Mol. Des.** 19(8): 609-615.
- Lahogue, V., K. Réhel, L. Taupin, D. Haras and P. Allaupe. 2010. A HPLC-UV method for the determination of angiotensin converting enzyme inhibitory activity. **Food chem.** 118(3): 870-875.

- Lee, S.J., E.K. Kim, J.W. Hwang, H.J. Oh, S.H. Cheong, S.H. Moon, B.T. Jeon, S.M. Lee and P.J. Park. 2010. Purification and characterisation of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysates of duck processing by products. **Food Chem.** 123: 216-220.
- Liceaga-Gesualdo, A.M and E.C.Y. Li-Chan. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea Harengus*). **Food Sci.** 64(6): 1000-1004.
- Lin, L., S. Lv and B. Li. 2012. Angiotensin converting enzyme inhibitory and antihypertensive properties of squid skin gelatin hydrolysate. **Food Chem.** 131: 225-230.
- Liu, J., Z. Yu, W. Zhao, S. Lin, E. Wang, Y. Zhang, H. Hao, Z. Wang and F. Chen. 2010. Isolation and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from egg white protein hydrolysates. **Food Chem.** 122: 1159-1163.
- Lo, W.M.Y. and E.C.Y. Li-Chan. 2005. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from in vitro pepsin-pancreatin digestion of soy proteins. **Agric. Food Chem.** 53: 3369–3376.
- Mackie, J.M. 1982. Fish protein hydrolysis. **Process Biochem.** 17: 26-31.
- Maisuthisakul, P., M. Suttajit and R. Pongsawatmanit. 2007. Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some thai indigenous plants. **Food Chem.** 100: 1409-1418.
- Majumder, N., C. Chowdhury, R. Ray and T.K. Jana. 2011. DNA base composition heterogeneity in two *Avicennia* specis in response to nitrogen limitation in the Sundarban mangrove forest India. **Int. J. Biol. Chem.** 5: 239-247.

- Maruyama, S., K. Nakagomi, N., Tomizuka and H. Suzuki. 1985. Angiotensin converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II Isolation and bradykininpotentiating activity on the uterus and the ileum of rats. **Agric. Bio. Chem.** 49: 1405-1409.
- Mcdougall, D.B. 1994. Colour of meat. pp. 79-93. *In* A.M. Pearson and T.R. Dutson., eds. **Advances in Meat Research- Volume 9 Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Product**. Blackie Academic and Professional, Glasglow.
- Miguel, M. and A. Aleixandre. 2006. Antihypertensive peptides derived from egg proteins. **Am. Soc. Nutr.** 1457-1460.
- _____, __, M.M. Contreras, I. Recio and A. Aleixandre. 2009. ACE inhibitory and antihypertensive properties of a bovine casein hydrolysates. **Food Chem.** 112: 211–214.
- Muguruma, M., M.A. Ahhmed and S. Kawahara. 2008. **Identification of pro-drug type ace inhibitory peptide from porcine myosin b: antihypertensive effects of its hydrolysates in vivo**. In Proceeding of the 54th international congress of meat science and technology. pp. 114. August 10–15, 2008. Cape Town, South Africa.
- _____, __, _____, K. Katayama, _____, M. Maruyama and T. Nakamura. 2009. Identification of pro-drug type ace inhibitory peptide sourced from porcine myosin b: evaluation of its antihypertensive effects in vivo. **Food Chem.** 114: 516–522.
- Mullally, M.M., H. Meisel and R.J. Fitz Gerald. 1996. Synthetic peptides corresponding to a-lactalbumin and b-lactoglobulin sequences with angiotensin converting enzyme inhibitory activity. **Biol. Chem. Hoppe-Seyler.** 377: 259-260.
- Muzaifa, M., N. Safriani and F. Zakaria. 2012. Production of protein hydrolysates from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis. **AACL Bioflux.** 5(1): 36.

- Nakano, D., K. Ogura, M. Miyakoshi, F. Ishii, H. Kawanishi and D. Kurumazuka. 2006. Antihypertensive effect of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from a sesame protein hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 70: 1118–1126.
- Nielsen, P., D. Petersen and C. Dammbmann. 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. **Food Sci.** 66(5): 642-646.
- Ottesen, M. and I. Svendsen. 1970. Methods in enzymology. New York: Acedermic Press.
- Pearce, K.N. and J.E. Kinsella. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **Agric. Food Chem.** 26(3): 716-723.
- Peterson, J. 1978. Encyclopedia of food technology. New York: Van Nostrand Reihold.
- Quaglia, G. and E. Orban. 1990. Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina Pilchardus*) protein hydrolysates. **Food Sci.** 55(6): 1571-1573.
- Quist, E.E., R.D. Phillips. and F.K. Saalia. 2009. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of proteolytic digests of peanut (*Arachis hypogaea* L.) flour. **Food Sci. Technol.** 42: 694–699.
- Raghavan, S. and H.G. Kristinsson. 2009. ACE inhibitory activity of tilapia protein hydrolysates. **Food Chem.** 117: 582-588.
- Rogowski, B. 1981. Die ernahrungsphysiologische Bedeutung von Fleisch und Fett. *In*: Inst. f. Chemie und Physik der Bundesanstalt f. Fleischforschung (Hrsgb.), Chemie und Physik des Fleishcess. Kulmbach.

- Saha, N., M. Zatloukal and P. Saha. 2003. Modification of polymers by protein hydrolysate a way to biodegradable materials. **Polymers. Advanced. Technol.** 14(11-12): 854-860.
- Saiga, A., T. Okumura, T. Makihara, S. Katsuta, T. Shimizu, R. Yamada and T. Nishimura. 2003. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides in a hydrolyzed chicken breast muscle extract. **Agric. Food Chem.** 51(6): 1741-1745.
- _____, _____, _____, _____, _____, F. Morimatsu. and _____. 2006. Action mechanism of an angiotensin converting enzyme inhibitory peptide derived from chicken breast muscle. **Agric. Food Chem.** 54: 942-945.
- Sathe, S.K. and D.K. Salunkhe. 1981. Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. **Food Sci.** 46: 71-74, 81.
- Sathivel, S., S. Smiley, W. Prinyawiwatkul and P.J. Bechtel. 2005. Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus Nerka*) enzymatic hydrolysates. **Food Sci.** 70(6): c401-c406.
- Schagger, H. and G.V. Jagow. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. **Anal. Biochem.** 166: 368-379.
- Schmidl, M.K., S.L. Taylor and J.A. Nordlee. 1994. Use of hydrolysate-based products in special medical diets. **Food. Technol.** 48: 77-85.
- Sentandreu, M.A. and F. Toldra. 2007. Evaluation of ace inhibitory activity of dipeptides generated by the action of porcine muscle dipeptidyl peptidases. **Food Chem.** 102: 511-515.

- Shih, F.F. 1992. Modification of food proteins by non-enzymatic methods, pp. 235-248. *In* B.J.F. Hudson., ed. **Biochem. food proteins**. Elsevier Applied Science, London.
- Sikorski, Z.E., M. Naczki and R.T. Toledo. 1981. Modification of technological properties of fish protein concentrates. **Crit. Rev. Food Sci. Nutri.** 14(3): 201-230.
- Silvestre, M. 1997. Review of methods for the analysis of protein hydrolysates. **Food chem.** 60(2): 263-271.
- Spellman, D., E. McEvoy, G. O’Cuinn and R.J. FitzGerald. 2003. Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: comparison of the tnbs, opa and ph stat methods for quantification of degree of hydrolysis. **Int. Dairy J.** 13(6): 447-453.
- Tarky, W., O. Agarwala and G. Pigott. 1973. Protein hydrolysate from fish waste. **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.
- Vastag, Z., L. Popovic, S. Popovic, V. Krimer and D. Pericin. 2011. Production of enzymatic hydrolysates with antioxidant and angiotensin converting enzyme inhibitory activity from pumpkin oil cake protein isolate. **Food Chem.** 124: 1316-1321.
- Vercruysse, L., G. Smagghe, T. Matsui and C.J. Van. 2008. Purification and identification of an angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from the gastrointestinal hydrolysate of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. **Process. Biochem.** 43: 900-904.

- Wachirattanapongmetee, K., S. Thawornchinsombut, T. Pitirit, J. Yongsawatdigul and J.W. Park. 2009. Functional properties of protein hydrolysates prepared from alkali-aided protein extraction of hybrid catfish frame. **Trends. Sci. Tech.** 1(71-81).
- Wang, J.P., J.E. Hu, J.Z. Cui, X.F. Bai, Y.G. Du and Y. Miyaguchi. 2008. Purification and identification of an ace inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. **Food Chem.** 111: 302–308.
- Wasswa, J., J. Tang and X. Gu. 2008. Functional Properties of Grass Carp (*Ctenopharyngodon Idella*), Nile Perch (*Lates Niloticus*) and Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Skin Hydrolysates. **International. Food Properties.** 11(2): 339-350.
- Whitaker, J.R. 1994. Principles of Enzymology for the Food Science. New York: USA.
- Wilding, P., P.J. Liliford and J.M. Regenstein. 1984. Function properties of proteins in foods. **Chem. Technol. Biotechnol.** 34: 182-189.
- Yust, M., J. Pedroche, J. Giron-Calle, M. Akaiz, F. Millian and J. Vioque. 2003. Production of ace inhibitory peptides by digestion of chicken legumim with alcalase. **Food Chem.** 81: 363-369.
- Zervas, S. and R.T. Zijlstra. 2002. Effects of dietary protein and fermentable fiber on nitrogen excretion patterns and plasma urea in grower pigs. **Anim. Sci.** 80: 3247-3256.
- Zhang, Y., K. Olsen, A. Grossi and J. Otte. 2013. Effect of pretreatment on enzymatic hydrolysis of bovine collagen and formation of ace-Inhibitory peptides. **Food Chem.** 141(3): 2343-2354.

Zhao, Y.H., B.F. Li, S.Y. Dong, Z.Y. Liu, X. Zhao and J.F. Wang. 2009. A novel ACE inhibitory peptide isolated from *Acaudina molpadioidea* hydrolysate. **Peptides**. 30: 1028–103.





ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1.1 วิธีการวิเคราะห์

อบถั่วอะลูมิเนียมพร้อมฝา ที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 1.0-1.5 กรัม ลงในถั่วอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแล้ว ทำแห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่

1.2 วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{100 \times (W1 - W2)}{W1 - W}$$

เมื่อ W = น้ำหนักของถั่วอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด
 W1 = น้ำหนักของถั่วอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
 W2 = น้ำหนักของถั่วอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl method) (AOAC, 2000)

2.1 วิธีการวิเคราะห์

2.1.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5- 1.0 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยระวังอย่าให้ติดข้างหลอด

2.1.2 เติมตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วยโพแทสเซียมซัลเฟต 10 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร

2.1.3 นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดย่อยย่อยจนได้สารละลายสีเขียวใส ทิ้งไว้ให้เย็นและไออกรดมด

2.1.4 นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดกลั่นอัตโนมัติ เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 จนกว่าสารละลายในหลอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

2.1.5 กลั่นสารละลายประมาณ 3 นาที่ และรองรับสารละลายที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 40 มิลลิลิตรที่เติมอินดิเคเตอร์เมทิลเรดผสมโบรโมครีซอลกรีน 1:1

2.1.6 นำไปไตเตรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อน (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรสารละลายกรดที่ใช้เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของไนโตรเจน และร้อยละของโปรตีน

2.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{V1-V2) \times \text{molarity} \times 14.007 \times 100}{\text{mg. of sample}}$$

เมื่อ V1 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V2 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

ปริมาณโปรตีน = ปริมาณไนโตรเจน (%) x F

F = conversion factor ซึ่งเป็นค่าคงที่เฉพาะของแหล่งโปรตีน ปริมาตรโปรตีนส่วนใหญ่ประกอบด้วย N = 16% ดังนั้นค่า F ของการคำนวณหาปริมาณในอาหารทั่วไป เท่ากับ 6.25

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

3.1 วิธีการวิเคราะห์

3.1.1 ชั่งตัวอย่าง 1-2 กรัม ใส่กระดวยกรองที่ทราบน้ำหนัก หลังจากนั้นนำไปใส่ในทิมเบอร์ (thimber)

3.1.2 เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 50-75 มิลลิลิตร ในถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งรู้น้ำหนักแน่นอน (W2)

3.1.3 นำทิมเบอร์และถ้วยอะลูมิเนียมต่อเข้ากับชุดวิเคราะห์ไขมัน

3.1.4 ทำการสกัดโดยการแช่ตัวอย่างในนิโตรเลียมอีเทอร์เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงสกัดด้วยการไชฟอนเป็นเวลา 45 นาที

3.1.5 ระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากถ้วยอะลูมิเนียมโดยการวางในตู้ดูดควันเป็นเวลา 10 นาที

3.1.6 นำถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งมีน้ำมันไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.1.7 ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

3.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{100 \times (W1 - W2)}{W}$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง (กรัม)
 W1 = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมและไขมันหลังจากอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ (กรัม)
 W2 = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมที่นำไปอบจนได้น้ำหนักคงที่ (กรัม)

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

4.1 วิธีการวิเคราะห์

4.1.1 เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก

4.1.2 ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมลงในถ้วยกระเบื้องเผาไล่ควันด้วยตะเกียงเบนเสน

4.1.3 นำเข้าเตาเผา เเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีครีมหรือเทา ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

4.2 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{100 \times (W2 - W)}{W1 - W}$$

- เมื่อ W = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)
 W1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)
 W2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

5. การวิเคราะห์ขนาดโมเลกุลของโปรตีนไฮโดรไลสแตติเล็คโตรฟอริซิสแบบ SDS- PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Schagger และ Jagow (1987)

5.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

5.1.1 สารละลาย 30% acrylamide, 0.8% BIS (N,N-bis-methylene acrylamide) : ละลาย acrylamide 30 กรัม และ bis 0.8 กรัม ในน้ำก่้างจัดอออน (deionized water) ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร แล้วกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เก็บสารละลายในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษานาน 30 วัน

5.1.2 สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ ความเป็นกรดเบส 8.8: สารละลาย สาร Tris-base 14.15 กรัม ในน้ำก่้างจัดอออนปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดเบสให้ได้ 8.8 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6.0 นอร์มัล ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5.1.3 สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรดเบส 6.8 : สาร Tris-base 6.05 กรัม ในน้ำก่้างจัดอออนปริมาตร 60 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดเบสให้ได้ 6.8 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6.0 นอร์มัล ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5.1.4 สารละลาย 10% SDS (sodium dodecyl sulfate) สารละลาย SDS 10 กรัม ในน้ำก่้างจัดอออนปริมาตร 90 มิลลิลิตร กวนเบาๆ จนสารละลายใส ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาอุณหภูมิห้อง

5.1.5 สารละลาย running buffer : สารละลาย Tris-base 12.114 กรัม ไตรซีน (tricine) 17.918 กรัม ในน้ำก่้างจัดอออน แล้วเติมสารละลาย 10% SDS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5.1.6 สารละลาย fixing solution : ผสมสารเมทานอลปริมาตร 400 มิลลิลิตรและกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำก่้างจัดอออนเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

5.1.7 สารละลายสีย้อม Coomassie G-250 : ละลายสาร Coomassie G-250 0.25 กรัมในกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกำจัดอออนเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

5.1.8 สารละลายล้างสีย้อม (destaining solution) : ผสมกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกำจัดอออนเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

5.1.9 สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร

5.1.10 สาร TEMED (N,N,N',N'-tetra ethylene diamine)

5.1.11 สาร 2-mercaptoethanol

5.1.12 สารละลาย tracking dye : สารละลาย Coomassie G-250 0.5 กรัมในน้ำกำจัดอออน

5.1.13 สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล (polypeptide standardmolecular weight ของบริษัท Biorad)

5.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง

5.2.1 เติมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลาย 10% SDS ปริมาตร 80 ไมโครลิตร สาร 2-mercaptoethanol ปริมาตร 16 ไมโครลิตร สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรดเบส 6.8 ปริมาตร 160 ไมโครลิตร และสารละลาย tracking dye ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 320 ไมโครลิตร น้ำกำจัดอออนปริมาตร 320 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

5.2.2 นำสารละลายตัวอย่างไปต้มน้ำเดือดนาน 2 นาที และทำให้เย็นจากนั้นนำมาเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

5.2.3 ส่วนสารละลายโปรตีนที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลจะเตรียมให้มีความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรจากนั้นนำมาเตรียมเช่นเดียวกันกับวิธีการข้างต้น

5.3 วิธีการเตรียมเจล

5.3.1 ทำความสะอาดแผ่นกระจกสำหรับเตรียมเจลทำการประกอบแผ่นกระจกเข้ากับอุปกรณ์ชิ้นอื่นๆ โดยใช้ spacer เป็นตัวปรับความหนาของแผ่นเจล 0.75-1.0 มิลลิลิตร กำหนดให้ stracking gel มีความสูงประมาณ 1.5 เซนติเมตร เหนือ separating gel

5.3.2 เตรียมสารละลายของ separating gel ความเข้มข้นร้อยละ 12 ดังนี้คือ ผสมสารละลาย 30% acrylamide, 0.8% BIS ปริมาตร 6.0 มิลลิลิตร สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.8 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร สารละลาย 10% SDS ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และน้ำกำจัดออนปริมาตร 1.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5.3.3 นำสารละลายทั้งหมดไปดูดอากาศออก (degas) นาน 5 นาที แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ TEMED ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยไม่ให้มีฟองอากาศ

5.3.4 เทสารละลายผสมของเจลลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกที่เตรียมไว้ โดยให้เหลือระยะห่างจากขอบบนประมาณ 2.0 เซนติเมตร ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ นำแผ่นกระจกวางในแนวตั้ง

5.3.5 เติมน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อยที่มุมทั้งสองด้านของกระจกเพื่อให้ผิวหน้าของเจลเรียบทั่วไว้ให้เจลแข็งตัว เมื่อเห็นรอยต่อระหว่างเจลกับน้ำให้ดูดน้ำทิ้งไป แล้วให้ใช้กระดาษกรองชิ้นเล็กๆ ดูดซับน้ำออกไปอีกที

5.3.6 เตรียมสารละลาย stracking gel ความเข้มข้นร้อยละ 4 ดังนี้ ผสมสารละลาย 30% acrylamide, 0.8% BIS 1.33 มิลลิลิตร สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.8 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร สารละลาย 10% SDS ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และน้ำกำจัดออนปริมาตร 16.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5.3.7 นำสารละลายทั้งหมดไปดูดอากาศออก (degas) นาน 5 นาที แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ TEMED ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยไม่ให้มีฟองอากาศ

5.3.8 เทสารละลายผสมของเจลลงบน stracking gel ระวังอย่าให้มีฟองอากาศทำช่อง (well) สำหรับใส่ตัวอย่างโปรตีนโดยใช้หวี (template comb) ลงใน stracking gel แล้วทิ้งไว้จนเจลแข็งตัว นำแผ่นหวีออกจะได้ช่องใส่ตัวอย่างโปรตีน

5.4 วิธีการทดลอง

5.4.1 ต่ออุปกรณ์อิเล็กโทรโฟรีซิสทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมสารละลาย running buffer ลงในภาชนะทั้งด้านในและด้านนอกจนเกือบเต็ม

5.4.2 ใส่สารละลายตัวอย่างและสารละลายโปรตีนที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลลงในแต่ละช่อง โดยใช้ปริมาตร 5 ไมโครลิตร

5.4.3 ตัวขั้วบวกและขั้วลบเข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความแตกต่างศักย์คงที่ที่ 75 โวลต์

5.4.4 หยุดการจ่ายกระแสไฟฟ้าเมื่อสีของสาร tracking dye เคลื่อนที่เกือบถึงปลายของ stracking gel

5.4.5 นำแผ่นเจลออกจากชุดอุปกรณ์ แล้วนำไปแช่ในสารละลาย fixing solution นาน 30 นาที และย้อมสีด้วยสารละลายสีย้อม Coomassie G-250 นาน 1 ชม.

5.4.6 ล้างสีย้อมออกโดยใช้สารละลายล้างสีย้อม (destaining solution) นาน 45 นาที จนเห็นแถบโปรตีนชัดเจน

6. การวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส (Khalil, 2000)

เทียบมาตรฐานเครื่อง pH meter โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4 และ pH 7 หลังจากนั้นวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดของตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจุ่มหัววัดเครื่อง pH meter ลงในตัวอย่าง แล้วอ่านค่า pH ที่ปรากฏบนหน้าจอ

7. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (Khalil, 2000)

เตรียมน้ำองุ่น 10 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร เพื่อให้สารละลายมีสีอ่อนลง มีผลทำให้เห็นการเปลี่ยนสีของฟีนอล์ฟทาไลน์ที่จุดยุติได้ง่ายขึ้น หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาไลน์ 2 หยด แล้วไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนถึงจุดยุติของสารละลายจะมีสีชมพูนาน 30 วินาที บันทึกปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นคำนวณปริมาณกรดทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์

7.1 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดในตัวอย่าง (\%)} = \frac{V \times N \times \text{น้ำหนักสมมูลของกรด} \times 100}{W \times 1000}$$

เมื่อ V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)
 N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์
 W = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิลิตร)



1. การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2002)

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.1 ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ตามที่ข้างขวดระบุ ต้มจนเดือด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1.2.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ใส่ในถุงสำหรับเครื่องตีปั่น (stomacher) จากนั้นเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

1.2.2 นำตัวอย่างในข้อ 1.2.1 ไปตีด้วยเครื่องตีปั่น (stomacher) เป็นเวลา 60 วินาที

1.2.3 จากนั้นปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เข้าเครื่องเขย่าหลอด (vortex) เพื่อให้เข้ากัน ได้ตัวอย่างความเจือจางที่ระดับ 10^{-1} ทำการเจือจางด้วยวิธี serial dilution จนคาดว่ามีความเจือจางอยู่ในช่วง 25 – 250 โคโลนี

1.2.4 ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 ปริมาณ 22 – 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว

1.2.5 นำไปบ่มโดยคว่ำจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

1.2.6 นับเชื้อและคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด หน่วย cfu/g หรือ cfu/ml

2. การวิเคราะห์จำนวนราและยีสต์ (BAM, 2002)

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.1 ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar ตามที่ข้างขวดระบุ ต้มจนเดือด แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.2.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ด้วยวิธี เทคนิคปลอดเชื้อ ใส่ในถุงสำหรับเครื่องตีปั่น (stomacher) จากนั้นเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

2.2.2 นำตัวอย่างในข้อ 1.2.1 ไปตีด้วยเครื่องตีปั่น (stomacher) เป็นเวลา 60 วินาที

2.2.3 จากนั้นเปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เข้าเครื่องเขย่าหลอด (vortex) เพื่อให้เข้ากัน ได้ตัวอย่างความเจือจางที่ระดับ 10^{-1} ทำการเจือจางด้วยวิธี serial dilution จนคาดว่ามิจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 25 – 250 โคโลนี

2.2.4 เปิดตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1 ปริมาณ 22 – 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว

2.2.5 นำไปบ่มโดยคว่ำจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

2.2.6 นับเชื้อและคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด หน่วย cfu/g หรือ cfu/ml



ภาคผนวก ค
แบบสอบถามและแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ภาคผนวกที่ ค1 แบบทดสอบความชอบของน้ำองุ่นแดง

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่.....
 ผลิตภัณฑ์: น้ำองุ่นแดง

รหัสตัวอย่าง

คำชี้แจง: ผู้ทดสอบจะได้รับ 3 ตัวอย่าง โดยนำเสนอทีละตัวอย่าง แล้วเขียนเครื่องหมาย ✓ ในช่องที่ตรงกับความรู้สึกของท่าน และตอบให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง

1. สี

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	
				หรือไม่ชอบ					

2. กลิ่นองุ่น

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	
				หรือไม่ชอบ					

3. กลิ่นรสองุ่น

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	
				หรือไม่ชอบ					

4. รสหวาน

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	
				หรือไม่ชอบ					

5. รสเปรี้ยว

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด

หรือไม่ชอบ

6. ความชอบโดยรวม

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด

หรือไม่ชอบ

ข้อเสนอแนะ.....

ภาคผนวกที่ ค2 แบบทดสอบความชอบของเครื่องคัมน้ำอุ่นแดงผสมโปรตีนไฮโดรไลเสต

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่.....

ผลิตภัณฑ์: เครื่องคัมน้ำอุ่นแดงผสมโปรตีนไฮโดรไลเสต

รหัสตัวอย่าง

คำชี้แจง: ผู้ทดสอบจะได้รับ 4 ตัวอย่าง โดยนำเสนอทีละตัวอย่าง โดยการดู กวน และดม แล้วเขียนเครื่องหมาย ✓ ในช่อง ☐ ที่ตรงกับความรู้สึกของท่าน และตอบให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง

1. สี

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	มากที่สุด
					หรือไม่ชอบ				

2. ความเป็นเนื้อเดียวกัน

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	มากที่สุด
					หรือไม่ชอบ				

3. กลิ่น

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	บอกไม่ได้	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ	ชอบ
มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	เล็กน้อย	ว่าชอบ	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	มากที่สุด
					หรือไม่ชอบ				

ข้อเสนอแนะ.....



ภาคผนวก ง
มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำอุน (มผช. 165/2546)

1. เครื่องดื่มน้ำอุ่น

น้ำอุ่น หมายถึง เครื่องดื่มชนิดหนึ่งที่ได้จากการนำผลอุ่นสด ไม่มีส่วนเน่าเสีย ปลิดขั้ว มาล้างให้สะอาด ตีปั่น แล้วกรองแยกกากออก นำน้ำอุ่นที่ได้มาต้ม อาจปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาลกรดซิตริกต้มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส บรรจุในภาชนะบรรจุ

1.1 ประเภทของน้ำอุ่น

1.1.1 น้ำอุ่นแท้ หมายถึง น้ำอุ่นที่ไม่มีการเจือน้ำอาจแต่งรสด้วยน้ำตาลและกรดซิตริก

1.1.2 น้ำอุ่นปรุง หมายถึง น้ำอุ่นที่ทำจากน้ำอุ่นแท้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก มีการเจือน้ำปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาลกรดซิตริกอาจแต่งสีและกลิ่น (flavoring agent) ด้วย

1.2 คุณลักษณะที่ต้องการของน้ำอุ่น

1.2.1 ลักษณะทั่วไป ต้องเป็นของเหลวขุ่น ตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้

1.2.2 สีกลิ่น (flavoring agent) และกลิ่นรส

1.2.2.1 น้ำอุ่นแท้ ต้องมีสีกลิ่น (flavoring agent) และรสชาติที่ดีตามธรรมชาติของผลอุ่นไม่มีกลิ่นแอลกอฮอล์ และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

1.2.2.2 น้ำอุ่นปรุง ต้องมีสีและกลิ่น (flavoring agent) ใกล้เคียงน้ำอุ่นธรรมชาติ มีรสชาติที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

1.2.3 สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

1.2.4 วัตถุเจือปนอาหาร

1.2.4.1 ห้ามใช้วัตถุกันเสียทุกชนิด

1.2.4.2 หากมีการใช้สีสังเคราะห์ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด (เฉพาะน้ำอู่นปรุง)

1.2.5 จุลินทรีย์

1.2.5.1 สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

1.2.5.2 เอสเชอริเชีย โคลิ (*Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร

1.2.5.3 ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

1.2.6 สุขลักษณะในการทำน้ำอู่น ให้เป็นไปตามคำแนะนำตาม GMP

1.2.6.1 ให้บรรจุน้ำอู่นในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

1.2.6.2 ปริมาตรสุทธิของน้ำอู่นในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก เครื่องหมายและฉลาก

1.2.7 ที่ภาชนะบรรจุน้ำอู่นทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

1.2.7.1 ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำอู่น 100% น้ำอู่น 25%

1.2.7.2 ปริมาตรสุทธิ

1.2.7.3 วัน เดือน ปี ที่ทำ และวัน เดือน ปี ที่หมดอายุ

1.2.7.4 ข้อเสนอแนะในการเก็บรักษา เช่น ควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 องศา

เซลเซียส

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวเสาวภา จันทรเทศ
เกิดวันที่	29 เมษายน 2532
สถานที่เกิด	อำเภอสีชล จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร) มหาวิทยาลัยทักษิณ (พ.ศ. 2554)
ผลงานทางวิชาการ	1. Jantad, S., Hayeeteh, R. and Klompong, V. (2012). Antioxidative Activity of Protein Hydrolysate from Sangyod Broken Rice (<i>Oryza sativa</i> L.). Food innovation asia conference, 14-16 June 2012. BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. 2. Jantad, S., Pirak, T and K. Jangchud. (2013). Factors affecting degree of hydrolysis and angiotensin i-converting enzyme inhibition of chicken meat hydrolysate. Proceeding of The 39th Congress on Science and Technology of Thailand. 21-23 October 2013. BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. 3. Jantad, S., Pirak, T and K. Jangchud. (2014). Inhibition of Angiotensin I-Converting enzyme from enzymatic hydrolysates of chicken meat. The 2nd International Conference on Food and Applied Bioscience. 6-7 February 2014. Chiang Mai University, Thailand.
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	1. ทุนวิจัยมหบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว. – อุตสาหกรรม ปี 2555