สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งของอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล

อาภัสรา แสงนาค
กุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์

BK 0047819
28 มี.ค. 2552
249363
เริ่มบริการ
30 เม.ย. 2552

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
ม. บูรพา บางแสน ชลบุรี

Utilization of Seafood Processing Waste

Arpathsra Sangnark
Kullaya Limroongreungrat

Food Science Department Faculty of Science
Burapha University Bangsean Chonburi

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยเอนไซม์แปรปริมาณสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) เจือจางอัตราส่วน 1:9 โดยปริมาตร เป็น 1, 2 และ 3% โดยปริมาตร และอุณหภูมิที่ใช้แปรเป็น 40, 50 และ 60 °C ต่อมาศึกษาผลของ pH และเวลาในการย่อยสลายโปรตีน แปร pH เป็น 5.5, 6.5 และ 7.5 แปรเวลาเป็น 30 และ 60 นาที พบว่า เมื่อย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยสารละลายเอนไซม์ 2% ที่อุณหภูมิ 60 °C pH 6.5 เวลา 60 นาที ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน 2.694 และ 1.342 g/L ตามลำดับ

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยกรดเกลือ แปรปริมาณกรด HCl 1M เป็น 2, 4 และ 6% โดยปริมาตร อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายแปรเป็น 50 และ 60°C ต่อมาแปรเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเป็น 1, 2 และ 3 ชั่วโมง พบว่า เมื่อย่อยสลายโปรตีนในต้มปูและเปลือกปูด้วยกรด HCl 1M 2% และ 4 % ตามลำดับ อุณหภูมิ 60 °C เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน 1.578 และ 2.0473 g/L ตามลำดับ

ศึกษาการทำโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นโดยใช้เครื่อง vacuum rotary evaporator แปรอุณหภูมิเป็น 50 และ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ที่อุณหภูมิ 60 °C ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคะแนนกลิ่นสูงสุด

ปริมาณเอนไซม์ไฮโดรไลเซทและแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในข้าวเกรียบคือ 2% โดยน้ำหนัก

Abstract

Factors affecting hydrolysis of crab-precooking water and appendages (legs) of crabs by varying quantity of Neutrase® (0.5 unit/g) which was diluted to 1:9 (v/v) at 1, 2 and 3% and temperature 40, 50 and 60 °C . Effect of pH and reaction time were studied at pH: 5.5, 6.5, 7.5 and the time: 30 and 60 min. The best quality hydrolysates were obtained when using 2% enzyme solution at pH 6.5, temperature 60°C for 60 min. The α- amino nitrogen of the both products were 2.694 and 1.342 g/L, respectively.

Appropriate conditions for acid hydrolysis were studied by varying quantity of 1 M HCl at 2, 4 and 6% temperature at 50 and 60 °C and hydrolysing time at 1, 2 and 3 hrs. The best quality hydrolysates were obtained when using 1M HCl 2 and 4 %, respectively at 60 °C for 1 hr and 2 hrs, respectively. The resulting of α- amino nitrogen for the crab-precooking water and the appendages of crabs were 1.578 and 2.0473 g/L, respectively.

Evaporation of water from the hydrolysates for 30 min. were carried out in vacuum rotary evaporator at 50 and 60 °C. The appropriate temperature was 60 °C.

Quality of the enzyme and acid hydrolysates as food flavor were used in Thai-snack food. The appropriate quantity of the concentrate hydrolysates for this product is 2 %.

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยนี้ได้สำเร็จลงได้โดยได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินปี 2541 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ในการส่งเสริมให้มีการพัฒนาความรู้และเทคโนโลยีให้เพิ่มมากขึ้น และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ ม.บูรพา ที่มีส่วนช่วยในการทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสิ้นด้วยดี

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..ง
กิตติกรรมประกาศ..จ
สารบัญตาราง..ช
สารบัญตารางภาคผนวก..ซ

บทที่

1. บทนำ..1
2. การตรวจเอกสาร..3
3. วิธีดำเนินการทดลอง..21
4. ผลการทดลอง..27
5. วิจารณ์ผลการทดลอง...42
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..50
เอกสารอ้างอิง..51

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. 56
ภาคผนวก ข. 60
ภาคผนวก ค. 62
ภาคผนวก ง. 64

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำต้มปู..27

2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปู...27

3 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ 28

4 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ 30

5 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่อุณหภูมิในการย่อยสลายต่างๆ...... 30

6 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ pH และในเวลาต่างๆ.................. 31

7 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่างๆ..32

8 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ย่อยสลายด้วยกรดเกลือและอุณหภูมิต่างๆ 33

9 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ย่อยสลายด้วยกรดเกลือและอุณหภูมิต่าง ๆ..34

10 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่เวลาในการย่อยสลายต่างๆ 35

11 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่เวลาในการย่อยสลายต่างๆ 36

12 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ที่อุณหภูมิต่าง ๆ...37

13 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ที่อุณหภูมิต่าง ๆ.. .38

14 ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้ 39

15 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ในปริมาณต่างๆ...... 41

16 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ในปริมาณต่างๆ 41

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่ หน้า

ง.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากน้ำต้มปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ 64

ง.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ 64

ง.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ 65

ง.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่อุณหภูมิต่าง ๆ 65

ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ 66

ง.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ.... 66

ง.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่ปริมาณกรด และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ 67

ง.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ปริมาณกรด และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ.... 67

ง.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่เวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ 68

ง.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่เวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ.... 68

ง.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ 69

ง.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ 69

ง.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นจากน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 70

ตารางที่ หน้า

ง.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นจากน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ..70

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันภาวะการทางเศรษฐกิจของประเทศไทยได้ให้ความสำคัญในเรื่องการนำวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์กันมาก และเป็นการทำให้เกิดประโยชน์โดยตรงกับผู้ผลิต และช่วยรักษาสภาวะแวดล้อมอีกด้วย

อุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลของประเทศไทย มีการพัฒนาทั้งทางด้านชนิดของผลิตภัณฑ์ ปริมาณการผลิต และเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องเพื่อการส่งออก ผลจากการพัฒนาทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งเกิดขึ้นหลายรูปแบบ ทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว ส่วนที่เป็นของแข็ง ได้แก่ กระดองและส่วนต่าง ๆ ที่ผ่านการเอาเนื้อปูออกแล้ว เศษเนื้อ กระดูก หนังและไส้ของปลา เป็นต้น ส่วนที่เป็นของแข็งบางชนิดนี้ สามารถผลิตเป็นอาหารสัตว์ได้ โดยราคาของผลิตภัณฑ์แปรตามปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง จากรายงานของ Knorr (1991: 114-122) ได้ศึกษาสกัดไคตินและไคโตแซนจากกระดองปูเพื่อใช้ประโยชน์ในอุตสาหรรมอาหาร ต่อมามีการนำเปลือกกุ้งซึ่งเป็นส่วนของแข็งที่เหลือทิ้งประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ประโยชน์ ซึ่งก่อให้เกิดผลดีต่อสิ่งแวดล้อม (Ferrer และคณะ 1996) ส่วนของเหลวที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลได้แก่ น้ำต้มปู น้ำนึ่งปลาทูน่า เป็นต้น เนื่องจากส่วนที่เป็นของเหลวยังมีสารอินทรีย์ปนอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง จึงเปลืองค่าใช้จ่ายในการบำบัดก่อนทิ้ง และในวัสดุเหลือใช้นี้ยังมีสารอาหารบางอย่าง เช่น โปรตีน ไขมัน แป้ง เกลือแร่ เหลืออยู่ในปริมาณที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีก จึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ เช่น น้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลมาผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส สำหรับใช้ผสมในอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการ

น้ำต้มปูมีโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำและมีสารประกอบที่ให้กลิ่นรสปูละลายอยู่ ซึ่งนอกจากจะเป็นแหล่งโปรตีนแล้วยังสามารถใช้ประโยชน์อย่างอื่นในอุตสาหกรรมอาหารได้อีก เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ในประเทศไทยการใช้ประโยชน์จากน้ำต้มปูในอุตสาหกรรมอาหารยังมีน้อยมาก

ปัจจุบันสารปรุงแต่งกลิ่นรสมีบทบาทสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร และมีการใช้อย่างกว้างขวางทั้งประเภทสังเคราะห์และจากธรรมชาติ การเติมสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหารหรือ

ผลิตภัณฑ์ มีจุดประสงค์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีกลิ่นรสชวนบริโภค ดึงดูดใจผู้ซื้อและทำให้บริโภคอาหารได้เพิ่มมากขึ้น ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารสำเร็จรูปที่จำเป็นต้องใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสได้มีการพัฒนาและขยายตัวอย่างกว้างขวาง แต่ประเทศไทยยังขาดแคลนสารประเภทนี้ จึงต้องมีการนำเข้าหรือใช้ผลิตภัณฑ์จริงเป็นสารแต่งกลิ่นรส ทำให้ต้นทุนในการผลิตสูงและบางครั้งเป็นอุปสรรคหรือข้อจำกัดในกระบวนการผลิตด้วย จากประเด็นเหล่านี้ จึงน่ามีการศึกษาวิจัยด้านการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรส จากการที่น้ำต้มปูอาจผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสปูได้ จึงน่าศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ดังกล่าวขึ้นมา อันจะเป็นการลดต้นทุนด้านวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด ทั้งยังสามารถลดปริมาณการนำเข้าสินค้าประเภทนี้จากต่างประเทศด้วย และหากมีการขยายกำลังผลิตถึงระดับอุตสาหกรรมก็จะเป็นการส่งเสริมให้มีการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสปูมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับภาวะการขยายตัวด้านการแปรรูปและอุตสาหกรรมอาหารสำเร็จรูป และยังสามารถส่งเป็นสินค้าออกได้อีกด้วย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท และศึกษาการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ อันจะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมอาหารต่อไปในอนาคต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ส่งเสริมและขยายการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งของอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล
2. ช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจของวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล
3. ช่วยขยายการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปู (crab)

ปูที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปปูกระป๋องในประเทศไทยส่วนใหญ่ ได้มาจากภายในประเทศ ชนิดของปูที่ใช้ในการแปรรูปในประเทศไทย (กรมประมง. 2512 : 528-531) มีดังนี้คือ

ปูม้า (Portunus pelagicus) หรือ blue swimming crab กระดองกว้างเฉลี่ย 18 เซนติเมตร ลำตัวมีสีฟ้าอ่อน และมีจุดขาวตกกระทั่วไปบนกระดอง (carapace) และก้ามคลุมไปถึงเท้าหลังหรือกรรเชียง (swimming logs) พื้นท้องเป็นสีขาว พบตามชายฝั่งทะเลทั่วไป

ปูดาว หรือปูม้าสามจุด (Portunus sangninolentus) หรือ Redspotted swimming crab ลักษณะคล้ายปูม้าแต่เล็กกว่า กระดองกว้างเฉลี่ย 15 เซนติเมตร ตัวมีสีขี้ม้าอมเหลือง ที่กระดองตอนส่วนท้ายมีจุดกลมใหญ่สีม่วงดำสามจุด และรอบ ๆ จุดมีวงกลมสีขาวล้อมรอบ พื้นท้องมีสีขาว พบตามชายฝั่งทะเลทั่วไป

เนื่องจากชาวประมงจับปูม้า ได้มากกว่าปูดาว โรงงานแปรรูปปูกระป๋องจึงใช้ปูม้าผลิตเนื้อปูกระป๋องมากกว่าปูดาว

2.2 กระบวนการแปรรูปปูกระป๋อง

เนื้อปูกระป๋องหมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อขา (legmeat) เนื้อก้าม (pince or law meat) เนื้อลำตัว (body meat) เนื้อไหล่ (shoulder) อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่างปนกัน อาจมีสารที่ใช้บรรจุหรือวัตถุเจือปนในอาหารบรรจุลงในกระป๋อง จากนั้นผ่านความร้อนอย่างเพียงพอที่จะป้องกันมิให้เสีย (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2532 : 2)

ปัจจุบันรูปแบบของเนื้อปูบรรจุกระป๋องส่วนใหญ่ อยู่ในรูปเนื้อปูต้มบรรจุพร้อมกับน้ำเกลือลงกระป๋อง โดยแยกเนื้อปูเป็นส่วน ๆ เช่น เนื้อขา เนื้ออก เนื้อกรรเชียง เป็นต้น กระบวนการผลิตเริ่มจากชาวบ้านที่อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งริมทะเล รับซื้อปูจากชาวประมงที่จับปู ส่วนใหญ่เป็นปูม้า นำมาต้มทั้งตัวที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส จนสุก ทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็นที่สะอาดเพื่อไม่ให้เนื้อปูติดกับเปลือก โดยแบ่งออกเป็นส่วนขา เนื้อก้าม และเนื้อกรรเชียง ในขั้นตอนการแยกเนื้อปูออกจากเปลือกนี้เกิดวัสดุเหลือทิ้งคือ กระดองปูและเศษขาปู ซึ่งสามารถนำไปตากแห้งใช้ทำปุ๋ยและอาหารสัตว์ได้ โรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปปูกระป๋องจะไปรับซื้อเนื้อปูที่ต้มและแยกเนื้อออกจากเปลือกมาเป็นวัตถุดิบ จากนั้นคัดเลือกสิ่งปลอมปนออกจากเนื้อปูแล้วจึงลวกโดยใช้น้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาตร 1,300 ลิตร ต่อเนื้อปูประมาณ 500 กิโลกรัม เป็นเวลา 15 นาที ในขั้นตอนการลวกใส่กรดซิตริก ไกลซีน เกลือและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ การใส่กรดซิตริกเป็นการลด pH ของเนื้อปูและเป็นการฟอกสีเนื้อปู การใส่ไกลซีนช่วยให้ความหวานแก่เนื้อปู การใส่เกลือเป็นการเพิ่มรสชาติและเป็นการฟอกสี ส่วนการใส่ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มีจุดมุ่งหมายเพื่อคงสีอาหาร มากกว่าเพื่อขัดขวาง จุลินทรีย์ เนื่องจากกรดซัลเฟอรัส (ซัลเฟอร์ไดออกไซด์) ส่วนใหญ่จะรวมกับน้ำตาล (กลูโคส) และแอลดีไฮด์เกิดสารไบซัลไฟต์ ซึ่งลดความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และขัดขวางปฏิกิริยาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หลังจากขั้นตอนการลวกแล้วจะผึ่งให้แห้งโดยวางเนื้อปูบนตะแกรง จากนั้นนำเนื้อปูมาเรียงบรรจุกระป๋องเคลือบแลคเกอร์และรองด้วยกระดาษ parchment ซึ่งเป็นกระดาษที่ใช้ป้องกันการเกิดสีดำของเฟอรัสซัลไฟด์ (FeS) ที่เกิดจากเนื้อปูสัมผัสกับกระป๋อง (วรรณวิบูลย์. 2529 : 135-137) จากนั้นเติมน้ำเกลือผนึกฝา ล้างกระป๋องภายนอกนำไปฆ่าเชื้อใน retort ตามรายงานของ Office of National Code Alimentarius Committee Thailand (1988 : 28-29) ภาวะที่ใช้ฆ่าเชื้อคือที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส เวลา 50 นาที จากนั้นทำให้เย็น

2.3 การจำแนกชนิดของกลิ่นรสอาหาร

การจำแนกกลิ่นรสนี้ยังไม่มีรูปแบบที่แน่นอนซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป สามารถแบ่งกลิ่นรสอาหารตามแหล่งที่มาและการนำไปใช้ (สายสมร. 2532 : 26-28) คือ

1) condiments เป็นสารที่ให้กลิ่นรสในอาหารซึ่งเกิดจากการผสมสารให้กลิ่นหลาย ๆ ชนิดมารวมกันและเป็นที่ยอมรับในการใช้แต่งกลิ่นอาหารกันอย่างกว้างขวาง เช่น มัสตาด catsup หรือ ซอสมะเขือเทศ น้ำส้ม และพวกซอสปรุงรสต่าง ๆ

2) Spices and aromatic vegetable เครื่องเทศและพืชผักให้กลิ่น

3) concentrated fruit juice เป็นกลิ่นผลไม้ที่มีกลิ่นเจือจางตามธรรมชาติแต่นำมาทำให้เข้มข้นโดยกระบวนการที่เหมาะสมได้แก่ กลิ่นส้ม มะนาว แอปเปิ้ล และเชอรี่

4) process flavor เป็นกลิ่นที่เกิดจากปฏิกิริยาทางชีวเคมี ขณะที่ทำการแปรรูปอาหารได้แก่ กลิ่นที่เกิดจากการปิ้ง ย่าง ต้ม และหมัก ซึ่งที่ผลิตมาใช้เติมอาหารได้แก่ process pork flavor, hydrolysed vegetable protein, enzyme modified cheese flavor

5) oleoresins เป็นสารประกอบที่ได้จากการสกัดและทำให้เข้มข้นจากพืชที่มีกลิ่นซึ่งจะมีทั้งส่วนที่เป็น vegetable oil และ non vegetable oil มักผลิตออกมาในรูปของ paste หรือของแข็งซึ่งจะให้กลิ่นรุนแรงมาก ได้แก่ ginger oleoresin, paper oleoresin

6) Essential oils เป็นสารที่ได้จากการสกัดกลิ่นหอมด้วยวิธี distillation เอาเฉพาะส่วนที่เป็น volatile oil

7) Aromatic chemicals เป็นสารประกอบเคมีชนิดที่ให้กลิ่นรสในอาหารรวมทั้งพวกที่ให้ความรู้สึกถึงความเผ็ดร้อนและความเย็นได้ด้วย

2.4 กลิ่นรสของกรดอะมิโน เปปไทด์ และโปรตีน

กลิ่นรส (flavor) หมายถึงความรู้สึกทุกอย่างที่ได้รับเมื่อมีวัสดุในปาก ได้แก่ กลิ่น รสและสมบัติเฉพาะของวัสดุแต่ละชนิด เช่น ความหยาบ ความนิ่ม ความเย็น ความเผ็ดรุนแรง เป็นต้น (Zapsalis และ Beck, 1985)

รส (taste) เป็นความรู้สึกที่เกิดขึ้นกับปากและลิ้น ในปัจจุบันเป็นที่ตกลงกันว่ารสมีอยู่ด้วยกัน 5 รส คือ รสหวาน (sweet) รสเปรี้ยว (sour) รสเค็ม (salty) รสขม (bitter) และรส umami อย่างไรก็ตามอาจมีการดัดแปลงนอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้วบ้าง เช่น อาจใช้คำว่า metallic taste, alkaline taste, fatty taste อธิบายรสของผลิตภัณฑ์บางอย่าง เป็นต้น

สารประกอบที่ให้รสหวาน ประกอบด้วย proton donors และ proton accceptors อยู่ในโมเลกุล ระยะห่างระหว่าง proton donors และ proton accceptors ประมาณ 2.5-4.0 Angstroms หน่วยรับความรู้สึกของรสหวานประกอบด้วย proton donors และ proton accceptors เช่นกัน การสร้างพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่าง proton donors และ proton accceptors ของสารประกอบที่ให้รสหวานกับ proton donors และ proton accceptors ของหน่วยรับความรู้สึกของรสหวาน เป็นการกระตุ้นให้รู้สึกว่ามีรส

หวาน (Nishimura และ Kato, 1988) สารประกอบที่ให้รสหวานได้แก่ น้ำตาลซูโครส แลคโตส กลูโคส หญ้าหวาน (stevioside) saccharin และกรดอะมิโนบางชนิด เป็นต้น กรดอะมิโน glycine และ alanine มี side chains สั้น จึงสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหน่วยรับความรู้สึกของรสหวานและให้รสหวานได้ แต่กรดอะมิโน leucine มี side chain คือหมู่ isobutyl ซึ่งนับว่ายาวจึงเป็นอุปสรรค (steric hindrance) ในการสร้างพันธะไฮโดรเจน จากการทดลองพบว่า D-leucine เท่านั้นที่จะให้รสหวาน ส่วน L-leucine ไม่ให้รสหวานเนื่องจาก side chain อยู่ในตำแหน่งที่จะไปบดบังการสร้างพันธะไฮโดรเจน (Shallenberger และคณะ, 1969) Ariyoshi (1976) สังเคราะห์เปปไทด์จากกรดอะมิโน แล้ววิเคราะห์ความเข้มของรสหวานเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรสหวานกับโครงสร้างของเปปไทด์ ในโครงสร้างของโมเลกุลของไดเปปไทด์พบว่า ถ้า side chain อันหนึ่ง (R_1) เป็น hydrophobic group ที่มีขนาดเล็ก คือ มีความยาวโซ่ 4-6 อะตอม และ R_1 อยู่ทางขวาของ carbon atom ไดเปปไทด์นี้จะให้รสหวาน แต่ถ้า R_1 อยู่ทางซ้ายจะไม่ให้รสหวาน

กรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ L-phenylalanine, L-tyrosine, L-tryptophan, L-valine, L-leucine, L-isoleucine และเปปไทด์ส่วนมากที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบอยู่จะให้รสขม รสขมของเปปไทด์เกิดขึ้นเนื่อง side chain ของกรดอะมิโนไม่ละลายน้ำ การย่อยสลายโปรตีนเหล่านี้ด้วยเอนไซม์จะก่อให้เกิดรสขมขึ้น ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสขม ได้แก่ Gly-Leu, Leu-Phe, Leu-Lys, และ Arg-Leu เป็นต้น (Yamashita และคณะ, 1969) นอกจากนั้นการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนในเปปไทด์ที่ให้รสขมมีความสัมพันธ์กับความเข้มของรสขม เช่น Phe-Pro มีรสขมมากกว่า Pro-Phe และ Gly-Phe-Pro มีรสขมมากกว่า Phe-Pro-Gly (Kirimura และคณะ, 1969)

เปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน glutamic acid และ/หรือ aspartic acid จะให้รสเปรี้ยว เนื่องจากการเชื่อมต่อของโปรตอนจากการละลายของกรดอะมิโนในเปปไทด์กับเยื่อหุ้มเซลล์ของตุ่มรับรสเปรี้ยวบนลิ้น ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสเปรี้ยวได้แก่ Gly-L-Asp, Gly-L-Glu และ L-Ser-L-Asp (Nishimura และ Kato, 1988)

รสเค็มเกิดจากเกลือมากมายหลายชนิด กรดอะมิโนอิสระไม่ให้รสเค็ม เปปไทด์ที่ให้รสเค็มจะสร้างพันธะกับสารประกอบบางชนิด เช่น taurine monohydrochloride และ ornithyl monohydrochloride เป็นต้น ในไดเปปไทด์ที่ให้รสเค็ม เช่น L-ornithyl-2-aminoethane-sulfonic acid hydrochloride ให้รสเค็มเหมือนเกลือแกง (sodium chloride) (Tada และคณะ, 1984) เปปไทด์ที่ให้รสเค็มไม่มี sodium ion อยู่ จึงใช้เป็นสารปรุงแต่งรสสำหรับคนเป็นโรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูงได้ (Nishimura และ Kato, 1988)

น้ำต้มกระดูก (soup stock) หรือเศษเนื้อจากปลา bonito แห้ง bonito เป็นปลาทะเลที่อยู่ใน family Mackerel โดยเฉพาะที่อยู่ใน genus Sarda จะให้รสที่แตกต่างจากรสหวาน ขม เปรี้ยวหรือเค็ม รสนี้เรียกว่า umami ซึ่งถือเป็นรสพื้นฐานรสหนึ่ง monosodium glutamate เป็นสารให้รส umami ที่สำคัญ เปปไทด์ส่วนใหญ่ที่มี L-glutamic acid อยู่ที่ N-terminal จะให้รส umami (Naguchi และคณะ, 1973) Naguchi และคณะ (1975) ย่อยสลายโปรตีนจากปลาโดยเอนไซม์ pronase (proteolytic enzyme ของบริษัท Kaken kagau, Japan) แล้วสกัด acidic oligopeptides ที่ได้ออกมา จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า เปปไทด์ส่วนใหญ่มีกลิ่นรสคล้าย monosodium glutamate และยังมีเปปไทด์ที่ให้รสขมรวมอยู่ด้วย

กลิ่น (odor) หมายถึงความรู้สึกที่ได้รับโดยตรงทางจมูก กลิ่นทางอาหารมักหมายถึง สารระเหยที่ทำให้เกิดความรู้สึกต่ออวัยวะรับกลิ่น (Zapsalis และ Beck, 1985) กลิ่นปลาเกิดขึ้นได้จากกระบวนการทางชีวภาพ (bioformation) จากผลของความร้อน (heat formation) และจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ (enzymatic formation)

สารระเหยจากกระบวนการทางชีวภาพ เรียก primary aroma โดยทั่วไปเกิดจากปฏิกิริยาทางชีวภาพโดยตรง ประเภทที่ให้กลิ่นปลา ได้แก่ aldehydes และ ketones เกิดจากปฏิกิริยา β-oxidation ซึ่งมีไขมันและกรดไขมันเป็น precursor (เกรียงศักดิ์, 2531)

Maillard reaction และ Strecker degradation เป็นปฏิกิริยาที่เร่งด้วยพลังงานความร้อน ผลของปฏิกิริยาทำให้เกิดสารระเหยได้ที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์หลายชนิด (เกรียงศักดิ์, 2531) Maillard reaction เกิดขึ้นได้โดยไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ โดยเกิดระหว่าง amino group ของกรดอะมิโน เปปไทด์หรือโปรตีน กับ free carbonyl group ของน้ำตาล น้ำตาลที่พบในปลาได้แก่ ribose, glucose และ glucose-6-phosphate เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลงจะเกิดสาร melanoidins ซึ่งเป็น polymers ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและมีสีน้ำตาล สารนี้ไม่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลิ่นของปลาระหว่างการเกิด Maillard reaction มีสารระเหยที่ให้กลิ่นปลาเกิดขึ้น ได้แก่ hydrogen sulfide, monosulfide และ thiols (Zapsalis และ Beck, 1985) ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยานี้ได้แก่ ปริมาณความชื้น อุณหภูมิ pH และโลหะบางชนิดเป็นต้น ปฏิกิริยาเกิดได้มากเมื่อผลิตภัณฑ์มีความชื้นประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มอุณหภูมิขึ้น 10 องศาเซลเซียส ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น 2-3 เท่า pH ประมาณ 6 เป็น pH ที่เหมาะสม สำหรับการเกิดปฏิกิริยานี้ เนื่องจากถ้า pH ต่ำมากโปรตอนจะขัดขวางการเกิด glycosylamine จึงเกิดปฏิกิริยาช้าลง แต่ pH สูง จะสูญเสีย amino nitrogen อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้โลหะบางชนิด เช่นทองแดง เหล็กช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยานี้ได้ (DeMen, 1980) Strecker degradation เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyl compounds ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับ α-amino groups ของกรดอะมิโนได้ Schiff's hase จากนั้นเกิด enolization ได้สารประกอบประเภท enaminols ซึ่งเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ 2 แบบ คือ เกิด self condensation ได้เป็น polymers สีน้ำตาล หรือเกิดการย่อยสลายได้ aldehydes ของกรดอะมิโนที่มีคาร์บอนลดลงจากเดิม 1 อะตอม และ amines จากนั้นเกิด condensation ของ amines ได้ pyrazines หรือเกิด cyclization ของ amines ได้ pyroles ทั้ง pyrazines และ pyroles เป็นสารระเหยให้กลิ่นหอมซึ่งพบในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านความร้อน เช่น กาแฟ มันฝรั่งทอด เนื้อวัวย่าง เป็นต้น (Wong, 1989)

สารระเหยที่ให้กลิ่นอาจเกิดโดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อปลา เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยานี้ ได้แก่ lipase และ protease (เกรียงศักดิ์, 2531) lipase ย่อยสลาย triglycerides ได้กลีเซอรอลและกรดไขมัน ส่วน protease ย่อยสลายโปรตีนได้เปปไทด์ และกรดอะมิโน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการเกิดสารระเหยโดย Maillard reaction และ Strecker degradation ดังกล่าวมาแล้ว นอกจากนั้นการเก็บรักษาปลาที่จับมาได้ในภาวะไม่เหมาะสม เช่น เก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 0 องศาเซลเซียส เก็บในภาชนะที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนในปริมาณมาก ทำให้ปลามีจุลินทรีย์ปนเปื้อนมาก เอนไซม์จากจุลินทรีย์ย่อยสลายโปรตีนของเนื้อปลาทำให้เกิดสารประกอบที่มีกลิ่นไม่ดีหลายชนิด ได้แก่ trimethylamine, dimethylamine, hydrogen sulfide และแอมโมเนีย ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นคาวจัดและกลิ่นเน่าเสียในปลา (นงลักษณ์, 2531)

2.5 สารให้กลิ่นรสในอาหารทะเล

สารให้กลิ่นรสในอาหารทะเลมีมากมายหลายชนิด ซึ่งแตกต่างไปตามชนิดของสัตว์น้ำและคุณภาพของสัตว์น้ำ โดยมากจำแนกได้ (สุทธวัฒน์. 2536: 19-25) ดังนี้ คือ

1. สารประกอบไนโตเจน

กรดอะมิโน (amino acid)

ไกลซีน อะลานีน ซีรีน และทรีโอนีน ให้รสหวานในอาหารทะเล ส่วนอาจินีน ลิวซีน เมไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน ฮิสติดีนและไอโซลิวซีนให้รสขม ความหวานของกุ้งหรือปูสดเกิดจากไกลซีนอิสระในกล้ามเนื้อ

ไดเปปไทด์ (dipeptides)

โดยทั่วไปพบไดเปปไทด์ในสัตว์น้ำเพียง 3 ชนิด คือ คาร์โนซีน (carnosine) แอนเซอรีน (anserine) และบาเลนีน (balenine) คาร์โรซีนพบในขาคู่แรกของปู Alaska King Crab เพศผู้ แต่จะไม่พบใน Snow Crab, Blue Crab

นิวคลีโอไทด์ (nucleotides)

รสเนื้อซึ่งหอมอร่อยซึ่งภาษาจีนเรียกว่า "shean" และภาษาญี่ปุ่นเรียกว่า "umami" เกิดจากสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อ ATP เป็นนิวคลีโอไทด์ที่สำคัญซึ่งมีอยู่ในกล้ามเนื้อ

สารประกอบกัวนิดีน (Guanidine compounds)

สารประกอบกัวนิดีนที่สำคัญคือ ครีเอทีน (creatine) ซึ่งพบในเนื้อปลาในช่วง 300-700 มิลลิกรัม/100 กรัม

สารประกอบเอมีน (Quaternary ammonium bases)

สารประกอบไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) เป็นสารที่ให้รสหวานในกุ้งสด

2. สารระเหย

สารประกอบซัลไฟด์

สารประกอบซัลไฟด์ชนิดระเหยได้ในอาหารทะเลสามารถจำแนกเป็น 4 กลุ่ม คือ ซัลไฟด์โซ่ยาว (linear sulfides) ซัลไฟด์ชนิดวงแหวน (cyclic sulfides) เมทิลไทโอเอสเทอร์ (methyl thioesters) และสารประกอบซัลเฟอร์ที่มีไนโตเจน

อัลดีไฮด์ คีโตนและแอลกอฮอล์

เฮกซะนาล (hexanal) เป็นอัลดีไฮด์ที่พบในเนื้อปลาดิบทุกชนิด

อัลคีโนน (alkenone) ชนิดวงแหวนและชนิดที่มีหมู่ alkyl เป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นรสในอาหารทะเล

แอลกอฮอล์มีส่วนที่ให้กลิ่นรสที่แตกต่างกันไป

2.6 การย่อยสลายโปรตีน

การย่อยสลายโปรตีนที่ใช้ในอุตสาหกรรมมี 3 วิธีคือ การย่อยสลายด้วยด่าง การย่อยสลายด้วยกรด และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

การย่อยสลายด้วยด่างนิยมใช้ sodium hydroxide, potassium hydroxide และ barium hydroxide ภาวะที่ใช้โดยทั่วไปคือ ใช้ด่างเข้มข้น 4-5 M. ที่ 110 องศาเซลเซียส 4-8 ชั่วโมง ในการย่อยสลายด้วยด่างแม้ tryptophan ถูกทำลายน้อย แต่กรดอะมิโนบางชนิดอาจเกิด racemization ซึ่งเป็นการเปลี่ยนจาก L-form เป็น D-form ที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ได้ และทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีอย่างยิ่ง (Hill, 1965)

Warnijati และคณะ (1996) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากขนไก่ด้วย sodium hydroxide ที่อุณหภูมิสูงโดยนำขนไก่มาบดเป็นผงประมาณ 10 กรัมย่อยสลายด้วย sodium hydroxide ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสในหม้อนึ่งความดันที่หมุนด้วยความเร็ว 30 รอบต่อนาที จากนั้นนำมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงนำไปกรอง นำส่วนที่เป็นของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl method พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายคือ 40 นาที และปริมาณของ sodium hydroxide 0.7975 กรัมต่อผงขนไก่ 1 กรัมส่งผลให้โปรตีนเปลี่ยนเป็นโปรตีนที่ละลายได้ถึง 65.73 เปอร์เซ็นต์

การย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเป็นวิธีที่ง่าย ค่าใช้จ่ายต่ำกว่าการใช้เอนไซม์ และย่อยสลายโปรตีนได้สมบูรณ์ กรดจะย่อยสลายโปรตีนให้เป็นโพลีเปปไทด์ (polypeptide) สายสั้น ไดเปปไทด์ (dipeptide) และสุดท้ายได้กรดอะมิโนซึ่งมีบทบาทสำคัญในปฏิกิริยา Maillard ที่ให้สารประกอบระเหยได้ซึ่งมีกลิ่นหอม การย่อยโปรตีนด้วยกรด จะทำให้กรดอะมิโน tryptophan รวมตัวกับน้ำตาลที่มีหมู่ aldehydes ในโมเลกุล เช่น glucose และ fructose ได้เป็นสารประกอบสีดำที่ไม่ละลายน้ำเรียกว่า humin Sahyun (1944) พบว่ากรดอะมิโน tyrosine, cystine, arginine, phenylalanine และmethionine เป็นกรดอะมิโนที่มีส่วนสำคัญในการเกิด humin ซึ่งให้ roasted aroma ในไฮโดรไลเซท

การย่อยสลายด้วยกรด นิยมใช้กรดซัลฟูริกหรือกรดเกลือ และกรดฟอร์มิก (formic) ก็มีที่ใช้บ้างแต่ไม่มากนัก ส่วนกรดอื่น ๆ เช่น กรดฟอสฟอริก (phosphoric) , อะซิติค และกลูโคนิค (gluconic) ไม่เหมาะสม เนื่องจากเป็นกรดอ่อนจึงไม่สามารถย่อยโมเลกุลของโปรตีนได้ เมื่อย่อยโปรตีนด้วยกรดซัลฟูริกจะแยกซัลเฟตอิออน (SO^{2-}_4) ออกโดยการเติมแคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide) เพื่อปรับ pH ให้เป็นกลาง และจะได้ตะกอนของแคลเซียมซัลเฟต (calcium sulfate) ซึ่งสามารถดูดซับกรดอะมิโนหรือสารประกอบอื่น ๆ ที่ไดจากการย่อยโปรตีน ดังนั้นจึงนิยมใช้กรดเกลือมากกว่ากรดซัลฟูริก Olcott และ Fraenkel (1947) ใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 6-7 M. ย่อยสลายโปรตีนที่อุณหภูมิ 100-125 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง พบว่าที่ภาวะดังกล่าว tryphtophan ถูกทำลายน้อยมาก เนื่องจากกรด ซัลฟูริกสามารถแตกตัวให้ประจุลบจึงจับกับประจุบวกของ calcium oxide หรือ barium hydroxide ทำให้แยกออกจากสารละลายได้ โดยทั่วไปนิยมให้กรดเกลือมากกว่ากรดซัลฟูริก เพราะมีประสิทธิภาพในการ

สลายพันธะดีกว่า Hill (1965) รายงานภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายโปรตีนในกลูเตนด้วยกรดเกลือเข้มข้นปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แยกกรดเกลือออกภายหลังการย่อยสลายโดยระเหยภายใต้ความดันที่ภาวะดังกล่าวให้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า Degree of Hydrolysis (DH) 89.50 เปอร์เซ็นต์ การย่อยสลายด้วยกรดเสียค่าใช้จ่ายต่ำ แต่มีข้อเสียเนื่องจากการสลายของ tryptophan ในบางภาวะ cystine, threonine อาจถูกทำลายได้ นอกจากนั้นยังมีกลิ่นกรดตกค้างในโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วย (Olcott และ Fraenkel, 1947)

Pham และ Del Rosario (1983) ทดลองย่อยสลายโปรตีนจากกากถั่วเหลืองโดยใช้กรดซัลฟูริก เปรียบเทียบกับกรดเกลือภายใต้ภาวะที่เดียวกันคือ ใช้ความเข้มข้นของกรด 8 โมลาร์ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อยสลาย 12 ชั่วโมง พบว่ากรดซัลฟูริกทำให้เกิดการสลายตัวของกรดอะมิโนมากกว่าเมื่อใช้กรดเกลือ แต่ผลิตภัณฑ์ที่ย่อยด้วยกรดเกลือมีกลิ่นรสดีกว่า

Greenberg และ Burk (1947) ศึกษาการย่อยสลาย gelatin และ gliadin ด้วยกรดเกลือ โดยวัดอัตราการย่อยสลายของโปรตีนด้วยค่าอะมิโนไนโตรเจนต่อไนโตรเจนทั้งหมด (amino nitrogen to total nitrogen) ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อย พบว่าเมื่อการย่อยสลายสมบูรณ์ ค่าอะมิโนไนโตรเจนต่อไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงสุด และค่านี้ต่างกันตามชนิดของโปรตีนที่ย่อยสลาย Sair (1968) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยกรดเกลือและรายงานว่า เมื่อการย่อยสลายสมบูรณ์จะได้ค่าอะมิโนไนโตรเจนสูงสุด คือ ร้อยละ 66-67 ของไนโตรเจนทั้งหมด

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ ปฏิกิริยาดำเนินไปได้ค่อนข้างช้า ย่อยสลายโปรตีนได้เพียงบางส่วน ค่าใช้จ่ายสูง และผลิตภัณฑ์ที่ได้มักเกิดรสขม

Murray และ Baker (1952) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีน lactalbumin, casein, egg albumin, gelatin และ gluten ด้วยเอนไซม์ protease ในอัตราส่วน โปรตีน : เอนไซม์ เท่ากับ 100 มิลลิลิตร : 1 กรัม ที่อุณหภูมิ 37.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ทำแห้งด้วยวิธี freeze drying แล้วทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า hydrolysates จาก lactalbumin และ casein มีรสขมและไม่เป็นที่ยอมรับ ไฮโดรไลเซท จาก egg albumin และ gelatin มีรสชาติดีไม่ขม ส่วนผลิตภัณฑ์จาก gluten มีรสเฉพาะตัวของ glutamic acid เขาสรุปว่าการใช้เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนอาจทำให้โปรตีนบางชนิดเกิดรสขม

การย่อยสลายด้วยเอนไซม์โดยใช้ proteolytic enzymes ตัดพันธะเปปไทด์ในโมเลกุลของโปรตีนให้อัตราการย่อยสลายค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการใช้กรดหรือด่าง แต่การย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีสารประกอบรสขมเกิดขึ้นเนื่องจาก hydrophobic groups ในโมเลกุลของโปรตีนแตกตัว (Matoba และ Hata, 1972) แต่เมื่อย่อยสลายถึงระดับหนึ่งแล้วรสขมจะไม่เกิดขึ้นเพราะกรดอะมิโน

อิสระมีรสขมน้อยที่สุด และ peptide chains ที่มี hydrophobic group อยู่ที่ C- หรือ N-terminal มีรสขมน้อยมาก ดังนั้นจึงควบคุมรสขมได้ด้วยการควบคุมอัตราการย่อยสลาย (Nissen, 1988). Osajima (1989) รายงานเบื้องต้นว่าการย่อยสลายโปรตีนถึงระดับเปปไทด์จะไม่ได้กลิ่นตามธรรมชาติของเนื้อ แต่จะได้รส umami ขณะที่ย่อยสลายโปรตีนถึงระดับกรดอะมิโนได้กลิ่นตาม ธรรมชาติของเนื้อ แต่ไม่ได้รส umami จึงศึกษาอัตราการย่อยสลายโปรตีนที่ให้ทั้งกลิ่นเนื้อและรส umami มากที่สุดจากเนื้อปลาสดบดละเอียดปรับภาวะให้เหมาะสมต่อการทำงานของ atuolyzing enzymes ส่วนหนึ่งสกัดไขมันออก วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์ อีกส่วนหนึ่งย่อยสลายด้วยเอนไซม์ protease สกัดไขมันออกหลังจากย่อยสลายถึงระดับที่ต้องการแล้ว จากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล พบว่า สารละลายส่วนที่ 1 ประกอบด้วยเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 6500 ปริมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ สารละลายส่วนที่ 2 ประกอบด้วยเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 6500 อยู่เพียง 17 เปอร์เซ็นต์ เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1300-6500 ปริมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ส่วนที่ 2 มีกลิ่นปลาและรส umami ส่วนที่ 1 มีกลิ่นและรสด้อยกว่า จึงสรุปว่า เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1300-6500 จะให้ทั้งกลิ่นปลาและรส umami

อาหารทะเลโดยทั่วไปจะ หมายถึง ปลา ปู กุ้ง หอย ซึ่งมีปริมาณโปรตีนและไนโตรเจนทั้งหมดที่ไม่ใช่โปรตีนประมาณ 11-27 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น กรดอะมิโนอิสระ เปปไทด์ เอมีนออกไซด์ สารประกอบแอมโมเนียม เป็นต้น จากการศึกษาพบว่า ปูมีปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ชนิดต่างๆ ดังนี้ กรดอะมิโนอิสระ 75 เปอร์เซ็นต์ เปปไทด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นิวคลีโอไทด์ 15 เปอร์เซ็นต์ (Shahidi, 1994)

2.7 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซท

โปรตีนไฮโดรไลเซท มีที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีสมบัติเสริมหรือปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารได้ดี และราคาถูก Strong (1968) พบว่านอกจากโปรตีนไฮโดรไลเซทมีกลิ่นที่ดีจากปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเกิดระหว่างการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดแล้วยังมีสาร MSG จากกรดอะมิโน glutamic acid ที่มีในโปรตีนและเกลือโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งช่วยให้มีรสชาติที่ดีแก่โปรตีนไฮโดรไลเซท ด้วย

โปรตีนไฮโดรไลเซท มีความคงทนต่อความร้อนได้ดี จึงนิยมใช้ในอาหารกระป๋องที่ต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูง และใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 177 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ได้ดี แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 องศาเซลเซียส กลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเซทจะสูญเสียไปอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซท ยังมีความคงทนต่อการแช่แข็ง จึงนิยมใช้ในอาหารแช่แข็ง (Prendergast, 1973: 37-39, 58-89) Olsman (1979) พบว่า โปรตีน ไฮโดรไลเซท ใช้ผสมกับแป้งสาลี เพื่อปรับปรุงคุณภาพขนมปังได้ โดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซท ที่ได้จากกลูเตนของข้าวสาลี โปรตีนถั่วเหลือง และกลูเตนของข้าวโพด ในปริมาณ 100, 200 และ 300 มิลลิกรัม ตามลำดับ ต่อแป้งสาลี 100 กรัม นอกจากนี้ยังมีการใช้ โปรตีนไฮโดรไลเซท ร่วมกับสารกันหืน เช่น butyl hydroxy-anisole (BHA) และ butyl hydroxy-toluene (BHT) เพื่อลดปริมาณของสารกันหืนที่ใช้ โดยประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation ยังคงเหมือนเดิม(Prendergast, 1973: 37-39, 58-89)

โปรตีนไฮโดรไลเซท เป็นส่วนประกอบสำคัญในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่มีกลิ่นรสเฉพาะ เช่น กลิ่นเบคอน โดยผสม cysteine hydrochloride, arabinose, glycine hydrochloride และ dextose ปริมาณ 13.0, 8.0, 6.7 และ 10.8 กรัม ตามลำดับในน้ำ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7.0 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หลังทำให้เย็นปรับ pH ให้เป็น 6.0 เติมน้ำตาล sucrose, โปรตีนไฮโดรไลเซท (เข้มข้นร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก) และ MSG ปริมตร 166, 550 และ 530 กรัมตามลำดับ ให้ความร้อนของผสมที่ 70 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง เติมไขมันไก่ 1.5 กรัม และ hickory-smoke flavor 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส 15 นาที ได้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารกลิ่นเบคอน (Morton, 1971)

Perret (1972) ผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่มีกลิ่นไก่ โดยผสม โปรตีนไฮโดรไลเซท ซึ่งอยู่ในรูปกึ่งแข็งกึ่งเหลว , dextose, cysteine hydrochloride และ arachidonic acid ปริมาณ 30, 50, 0.5 และ 0.02 กรัม ตามลำดับ ของผสมที่ได้ละลายน้ำแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ได้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่มีรสไก่

Emilia และ Almira (1996) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส โดยเตรียมจากเนื้อแดงและเนื้อขาวของปลาทูพันธุ์ bullet และเนื้อแดงจากปลาทูพันธุ์ skipjack นำมาย่อยสลายด้วยกรดและเอนไซม์ เปอร์เซ็นต์ระดับของการย่อยสลาย (%DH) ที่ความเข้มข้น อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า %DH ของการย่อยสลายด้วยกรดจะเพิ่มขึ้นจาก 43.71% เป็น 61.05% และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นจากจาก 53.97% เป็น67.95% เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ไปปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ปลาทูน่ากระป๋อง พบว่า การเติมโปรตีน

ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้จากปลาทูพันธุ์ bullet ช่วยปรับปรุงสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์

Michel และคณะ (1997) ศึกษาประโยชน์ทางด้านโภชนาการของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้จากเนื้อลูกวัวผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพื่อทดแทนเจลาตินสำหรับผู้ป่วย ในการทดลองอัตราส่วนของโปรตีนมีค่าเท่ากับ 2.65 และ true digestibility มีค่าเท่ากับ 80.3 เมื่อเปรียบเทียบกับเจลาตินและเคซิเนท ค่า protein digestibility วัดโดย pH-stat method และ cell dialysis กรดอะมิโนรวมทั้ง 4-hydroxyproline หาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในรูป amino acid score ผลการทดลองพบว่าค่า protein digestibility และค่า amino acid score มีความสัมพันธ์กัน และกลิ่นเนื้อจากโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้จากลูกวัวสามารถนำมาเติมในผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มคุณค่าในอาหารประเภทซุป ซอสและเกรวี่ได้

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยทั่วไปมี 3 รูปแบบ คือ

1. Enhancer Hydrolysate

โปรตีนไฮโดรไลเซท ประเภทนี้ใช้ในอาหาร เพื่อเพิ่มกลิ่นรสของอาหารที่มีอยู่ให้มากขึ้น วัตถุดิบที่ใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทประเภทนี้ได้แก่ กลูเตนของข้าวสาลี เนื่องจากกลูเตนของข้าวสาลีมีกรดอะมิโน glutamic acid อยู่สูง และในกระบวนการผลิตมีขั้นตอนทำให้บริสุทธิ์ เพื่อฟอกสี กำจัดกลิ่นที่ไม่ต้องการ และกำจัดเปปไทด์ที่ให้รสขมออกไปโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จึงมีสีอ่อน และนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์จาก เนื้อ ไก่ ซุป ซอส และ gravies

2. Full-Bodied Hydrolysate

โปรตีนไฮโดรไลเซทประเภทนี้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเซทตามที่ต้องการ อาจแบ่งโปรตีนไฮโดรไลเซทประเภทนี้ออกเป็น 2 ชนิด ดังนี้

2.1 Sweet/Meat Type

โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้มีสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม นิยมใช้ในอาหารที่ต้องการให้มีกลิ่นรสของเนื้อสัตว์ วัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทชนิดนี้ คือ เมล็ดข้าวโพด โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้มีที่ใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์อาหารพวก ซุปเนื้อ, brown gravies snacks และ instant meals

2.2 Bitter/Roasted Type

โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้มีสีน้ำตาลเข้มมีกลิ่นรสเหมือนเนื้อย่างและน้ำตาลไหม้ วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้ คือ แป้งถั่วเหลือง หรือพวกธัญชาตที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารพวก ซุปหัวหอม และ au jus gravy

3. Sophisticated Hydrolysate

โปรตีนไฮโดรไลเซทประเภทนี้มีการปรุงแต่งกลิ่นรส โดยเติมสารเสริมหรือให้กลิ่นรสประเภทอื่นด้วย เพื่อให้มีกลิ่นรสตามชนิดผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการ จึงมีราคาแพงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทประเภทอื่น อาจแบ่ง โปรตีนไฮโดรไลเซท ประเภทนี้ได้เป็น 2 ชนิด คือ

3.1 Fortified Type

โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้จะปรุงแต่งด้วย MSG, ribotides, caramel หรือ autolyzed yeast extract (AYE) โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้มีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอมคล้ายเนื้อสัตว์ คุณภาพดี นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่แข็งและอาหารที่ต้องผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง

3.2 Processed Type

โปรตีนไฮโดรไลเซท ชนิดนี้จะปรุงแต่งรสชาติด้วย reducing sogars, thiamine และกรดอะมิโนที่มี sulfur เป็นองค์ประกอบเพื่อให้มีกลิ่นรสเฉพาะตามต้องการ นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารพวก meat analogs, extruded snacks และ reformed meats

ปัจจุบันมีการศึกษาหาแหล่งโปรตีนและพลังงานหลายชนิด มาใช้เลี้ยงลูกสัตว์หรือใช้ทดแทนนมแม่บางส่วน Dodsworth และ Owen (1977) ศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นทดแทนหางนมผงในการเลี้ยงลูกวัว ในอัตราส่วน fish protein hydrolysate: หางนมผง, 0:100 33:67 67:33 และ 100:0 พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของลูกวัวที่ได้รับ fish protein hydrolysate ทดแทน 0 เปอร์เซ็นต์ และ 67 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) การใช้ fish protein hydrolysate ทดแทน 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ลูกวัวมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสามารถใช้ fish protein hydrolysate ทดแทนหางนมที่ใช้เลี้ยงลูกวัวได้ถึง 67 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกวัว ซึ่งเป็นการประหยัดค่าอาหารสัตว์ลงได้เพราะ fish protein hydrolysate มีราคาถูกกว่าหางนมผง Ballester และคณะ (1976) ศึกษาการนำ enzymatic fish protein hydrolysate (EFPH) มาใช้เป็นส่วนเสริมในอาหารสัตว์ที่ผลิตจากธัญพืชเนื่องจากเมล็ดธัญพืชส่วนใหญ่ เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี มีโปรตีนอยู่เพียง 9-15 เปอร์เซ็นต์ และยังขาดกรดอะมิโนจำเป็นโดยเฉพาะอย่างยิ่ง lysine ขณะที่เนื้อปลาเป็นแหล่งของโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อ ร่างกายอย่างครบถ้วน ผู้ทดลองเติม EFPH 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนผสมในข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าว แล้ว

ทดลองเลี้ยงหนู พบว่าหนูประโยชน์จากโปรตีนได้มากขึ้น ค่า protein efficiency ratio (PER) สูงขึ้น ซึ่งค่า PER จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณ EFPH และการเติม EFPH ลงไปในข้าวจะเกิดประโยชน์สูงสุด Nair และ Gopakumar (1982) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากปลาราคาถูก และวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปปลาทะเลของประเทศอินเดีย โดยย่อยสลายด้วย papain จากการทดลองเลี้ยงหนูพบว่าถ้าให้เฉพาะโปรตีน ไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เพียงอย่างเดียวทำให้หนูท้องเสีย แต่ถ้าใช้โปรตีนร่วมกับ casein ในอัตราส่วน 1:1 อัตราส่วนการเจริญเติบโตจะสูงเท่ากับการให้ casein เป็นอาหารเพียงอย่างเดียว สำหรับการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเป็นสารเพิ่มความคงตัวในอาหารนั้น Miller และ Groninger (1975) ทดลองผลิต enzyme-medified succinylate fish protein จากปฏิกิริยาของ scuuinic anhydride กับ myofibrilla protein จากเนื้อปลา ใช้อัตราส่วน myofibrillar protein:succinic anhydride 1:5 โดยน้ำหนักอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส pH 7.5-9.0 เวลา 1-2 ชั่วโมง จะเกิด succinilation ของโปรตีน จากนั้นย่อยสลายด้วย bromelain ใช้เอนไซม์:โปรตีน 1:5 โดยน้ำหนัก สกัดไขมันแล้วอบแห้งโดยวิธี freeze drying พบว่า enzyme-modified succinylate fish protein ที่ได้ใช้ในอาหารที่ต้องการสมบัติทางด้าน foam stability ได้ และยังใช้เป็น emulsifying agents ได้โดยไม่มีผลทางลบต่อกลิ่นรสของอาหารเลย Spinelli และ คณะ (1972) ศึกษาการผลิต protein phosphate complex โดยย่อยสลาย myofibrillar protein จากเนื้อปลาด้วยเอนไซม์ Rhozyme P-11® ใช้อัตราส่วนเอนไซม์ :myofibrillar protein 1:75 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH 6.5-7.5 เวลา 1 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำปฏิกิริยากับsodium hexametaph0s-phate 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก แล้วสกัดไขมันออกและทำแห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer ซึ่ง protein phosphate complex ที่ได้วัดค่า emulsion stability ได้ 90 นาที และ emulsion capacity 231 กรัมไขมัน/กรัมโปรตีน ซึ่งสูงกว่า sodirm caseinate ประมาณ 2 เท่า และ 4 เท่า ตามลำดับ

โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารมี 2 ประเภท คือ flavor donor และ flavor enhancer flavor donor ใส่ในอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีกลิ่นรสตามต้องการ ผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้ได้แก่ ขนมขบเคี้ยว ซุปผง ซุปบรรจุกระป๋องที่ได้จากผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ น้ำแกง น้ำต้มกระดูก และซอสพริก ส่วน flavor enhancer ใช้เพิ่มกลิ่นรสของอาหาร หรือผลิตภัณฑ์ของอาหารที่มีกลิ่นรสอยู่แล้วให้สูงขึ้น อาหารที่ใช้ได้แก่ ครีมซุป ผลิตภัณฑ์จากปลา เช่น สเต็กปลา ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักในน้ำเกลือ และไส้กรอก การใช้โปรตีนไอโดรไลเซทเป็นปรุงแต่งกลิ่นรสชาติต้องคำนึงถึงปริมาณที่เหมาะสมทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของอาหารด้วย โดยทั่วไปใช้ในช่วง0.20-1.3 เปอร์เซ็นต์ (May, 1974; Prendergast, 1974) Leiske และ Konrad (1988) เตรียมสารปรุงแต่งกลิ่นรส

จากไก่โดยการบดไก่ให้ละเอียด จากนั้นนำมาละลายน้ำให้มีโปรตีนในสารละลาย 3-10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักย่อยสลายด้วยด้วย serine protease ที่pH 8 อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส จนมีค่า DH 25-35 เปอร์เซ็นต์ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซททที่ได้ไม่มีรสขม มีความสามารถในการละลายสูงให้กลิ่นรสดี ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสใน ซุป ซอส และขนมขบเคี้ยวได้ Chhuy และ Day (1978) ผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสไก่จากเนื้อไก่ที่ย่อยสลายด้วย protease ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 120 ชั่วโมง ขณะย่อยควบคุม pH เป็น 5 หยุดปฏิกิริยาโดยปรับ pH เป็น 7 ผลิตภัณฑ์ที่ได้เติม cysteine hydrochloride ในอัตราส่วน cysteine hydrochloride : น้ำ : โปรตีนไฮโดรไลเซท : thiamine ; 44 : 600 :70 :22 หลัง reflux 4 ชั่วโมง ทำแห้งโดยใช้เครื่อง spray dryer เติมสารปรุงแต่งกลิ่นรสไก่ที่ได้ใน chicken noodle soup 2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ซุปที่ได้มีกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารปรุงแต่งกลิ่นรส

2.8 การทำให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศ (ทนง ภัครัชพันธุ์,2524)

การระเหยน้ำภายใต้สุญญากาศและอุณหภูมิต่ำ โดยใช้หลักการทางวิศวกรรมเข้ามาช่วยได้กระทำกันมานานแล้วสำหรับอุตสาหกรรมน้ำส้ม ประมาณปี 1945 ได้มีการพัฒนาน้ำส้มเข้มข้นแช่แข็งมากขึ้น และใช้การระเหยน้ำโดยการให้น้ำผลไม้ไหลผ่านท่อกระบอกกลวงที่อยู่เป็นกระจุกซึ่งเป็นที่ที่น้ำผลไม้ได้รับความร้อน น้ำในน้ำผลไม้จะกลายเป็นไอแยกออกไป น้ำผลไม้จะไหลวนเวียนอยู่เช่นนี้ในสภาพสุญญากาศและควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ประมาณ 120 องศาฟาเรนไฮท์ หรือ 49 องศาเซลเซียส น้ำผลไม้จะอยู่ในเครื่องระเหยนี้ประมาณ 15 ถึง 30 นาที โดยวิธีนี้ก่อนจะระเหยจำเป็นต้องพาสเจอไรซ์น้ำผลไม้เพื่อทำลายเอนไซม์เสียก่อน ภายใต้สุญญากาศนี้น้ำจะระเหยได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าในบรรยากาศธรรมดา น้ำจะแยกออกได้โดยไม่ทำให้น้ำผลไม้เสียง่าย เนื่องจากความร้อน ไม่เพียงแต่ป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของน้ำผลไม้เท่านั้น ยังป้องกันการเปลี่ยนแปลงของรสชาติ และสีด้วยทั้งนี้เพราะเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนน้อยที่สุด ในการที่จะให้ผลดีสุญญากาศจะต้องไม่น้อยกว่า 28 นิ้วปรอท ซึ่งจะทำให้จุดเดือดของน้ำต่ำลงภายใต้สุญญากาศ อย่างเช่น ที่ 24-26 นิ้วปรอท น้ำจะเดือดที่อุณหภูมิ 140-125 องศา-ฟาเรนไฮท์ หรือ 60-52 องศาเซลเซียส แต่ที่ 29 นิ้วปรอทน้ำจะเดือดที่ประมาณ 75 องศาฟาเรนไฮท์ หรือ 24 องศาเซลเซียส เป็นต้น

เมื่อนำสารสกัดจากโปรตีนไฮโดรไลเซทมาให้ความร้อน เพื่อทำให้เข้มข้นและทำแห้งต่อไป

นั้น ในระหว่างการให้ความร้อน องค์ประกอบตามธรรมชาติของโปรตีนไฮโดรไลเซท เช่น thiamine, ไขมัน และองค์ประกอบต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายตัวเอง เนื่องจากการย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและกรดนิวคลีอิก เช่นกรด อะมิโน glucose ribose-5-phosphate และ ribose จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อน หรือปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อนทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้เป็นจำนวนมาก (Ames และ Max Leoad, 1985) โปรตีนไฮโรไลเซทจึงมีสมบัติเป็นสารให้กลิ่นรส cheesy, meaty หรือsavory แก่อาหาร ซึ่งกลิ่นรสที่ได้นี้จะแตกต่างกันออกไปตามภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย (Dziezak, 1987)

การเปลี่ยนแปลงหรือปฏิกิริยาสำคัญที่เกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อนแก่โปรตีนไฮโดรไลเซทซึ่งส่งผลให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้ เป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นต่าง ๆ ได้แก่

1. Maillard reaction (Wong, 1989; Fennema, 1985; Zapsalis และBeck, 1985)

เป็นปฏิกิริยาที่เริ่มจากปฏิกิริยาการควบแน่นของน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโน เปปไทด์หรือโปรตีน ในภาวะที่เป็นกรดหรือมีความชื้นต่ำ โดยเกิด Schiff base ระหว่าง carbonyl group ของน้ำตาลรีดิวซ์กับ amino group ของโปรตีนเป็น glycosylamine จากนั้นผ่าน Amadori rearrangement เกิดเป็น 1-amino-deoxy-2-ketone ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ 2 กรณี คือ

1.1 เกิด 2,3 enolization ได้เป็น methyl-α-dicarbonyl intermediate จากนั้นเกิด enolization อีกครั้งได้เป็น α-β unsaturated dicarbonyl แล้วจึงเกิด hydrolytic fission ได้เป็น dicarbonyl product และ reductones หรือเกิด cyclization ไดเป็น o-heterocyclic compuund พวก furanone ซึ่งให้กลิ่นหอมของคาราเมล

1.2 เกิด enolization, dehydration และ hydrolysis เกิดเป็น3-deoxyglycosulose จากนั้นเกิด dehydration และ cyclodehydration ได้เป็น hydroxymethyl furfural ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับ amines เกิดเป็น melanoidin ต่อไป

นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่เกิดขึ้นจาก Maillard reaction ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาซึ่งจะให้ผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นต่าง ๆ ได้อีก ดังจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

2. Strecker degradation (Wong, 1989; Fennema, 1985; Zapsalis และBeck, 1985)

เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyl compound ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับ α-amino group ของกรดอะมิโนเกิด Schiff base, enolization ได้เป็น enaminol ซึ่งเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้อีก 2 กรณีคือ

2.1 เกิด self condensation ได้เป็น browning polymer

2.2 เกิด hydrolysis ได้เป็นอัลดีไฮด์ของกรดอะมิโน และ amine ซึ่งจะเกิด cyclization หรือ condensation ได้เป็น pyrrole หรือ pyrazine ต่อไป

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยานี้จะทำให้เกิดกลิ่นต่าง ๆ ในอาหารที่ได้รับความร้อนทั่วไป

3. Thermal degradation (Ames และ Mac Leoad, 1985; Wong, 1989; และ Fennema, 1985)

เป็นปฏิกิริยาการสลายตัวเนื่องจากความร้อนขององค์ประกอบต่างๆ ในโปรตีนไฮโดรไลเซททที่สำคัญได้แก่ thiamine และกรดอะมิโน ซึ่ง thiamine จะสลายตัวเกิดเป็น สารประกอบที่ระเหยได้ต่าง ๆ เช่น 2-methylfuran, formic acid, 2-methylfuran-3-thiol, 2-methyltetrahydrothiophen-3-one, 2-methylthiophen, 2-methyl-4-amino-5-hydroxymethyl pyrimidine และ 4-methyl-5-(β-hydroxyethyl) thiazole เป็นต้น ส่วนกรดอะมิโน เช่น cystine จะสลายตัวเป็น อัลดีไฮด์ แอมโมเนีย และไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น

นอกจากปฏิกิริยาที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาดังกล่าวยังเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นเฉพาะตัวอื่น ๆ อีก เช่น

ปฏิกิริยาระหว่าง อัลดีไฮด์ แอมโมเนีย และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (จากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของ cystine) กับ acetoin (จาก Maillard reaction) เกิดเป็น thiazoline ซึ่งให้กลิ่นเนื้อ (Fennema, 1985)

ปฏิกิริยาระหว่าง 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)furanone กับไฮโดรเจนซัลไฟด์เกิดเป็น mercapto-substituted furans และ thiophenes ซึ่งให้กลิ่นเนื้อ เช่น 4-mercapto-2-methylfuran , 3-ercapto-2-methyl-4,5-dihydrofuran , 4-mercapto-3-oxo-tetrahydrofuran , 3-mercapto-2-methylthiophene , 4-mercapto-2-methyl-2,3-dihydrothiophene , 3-mercapto-4-hydroxy-2-methyl-2,3-dihydrothiophene เป็นต้น (Ames และ Mac Leoad, 1985 และ Wong, 1989)

ประเภทของสารให้กลิ่นรสที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเซทอาจสรุปได้ดังนี้ (Schmidt, 1987)

- สารอนินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ โซเดียม โปตัสเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ ฟอสเฟต และซัลเฟต
- สารอินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ และเปปไทด์
- สารอินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ aliphatic acids, aromatic acids, esters, pyrazines และ hydroxyl compounds

นอกจากนี้ Ames และ Mac Leoad (1985) พบว่า ในโปรตีนไฮโดรไลเซทมีสารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นเนื้อเช่นเดียวกับที่พบในเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหุงต้มแล้วอยู่ 4 ชนิด คือ dimethyl disulfide, pentane 2,3 dione, 2 methylfuran และ 5 methyl-1-furaldehyde

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

- น้ำต้มปู
- เปลือกปู

เก็บตัวอย่างจากหมู่บ้านชายทะเลวัดเขาบางพระ จ.ชลบุรี ซึ่งชาวบ้านบริเวณนี้มีอาชีพต้มปู และแกะเนื้อปูขาย

3.2 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้คือ

Boric acid	(A.R.)
Copper sulfate	(A.R.)
Ferric alum indicator	(A.R.)
Formaldehyde	(A.R.)
Magnesium Oxide	(A.R.)
Methyl red	(A.R.)
Methylene blue	(A.R.)
Nitric acid	(A.R.)
Potassium sulfate	(A.R.)
Potassium thiocyanate	(A.R.)
Petroleum ether	(A.R.)
Sodium hydroxide	(A.R.)
Sulfuric acid	(A.R.)

Neutrase ® 0.5 L (0.5 unit/g) Novo Industri A/ S Copenhagen Denmark

3.3 อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้คือ

ชุดวิเคราะห์โปรตีน ประกอบด้วย

- Kjeldahl Distillation Unit Buchi 323
- Kjeldahl Digestion System Buchi 13-426
- Srubber Buchi 412

ชุดซิเคราะห์ไขมัน Buchi 810/428

ตู้อบลมร้อน ช่วงอุณหภูมิ 0-250 องศาเซลเซียส (SL Shel LAB รุ่น 1350)

เตาเผา (Muffle Furnace NEY: 6-160A)

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaking water bath: DT Hetotherm,CB60)

เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter, Testo รุ่น 252)

เครื่องทำให้เข้มข้นโดยใช้สุญญากาศแบบหมุน (Vacuum Rotary evaporator, Yamato RE52)

เครื่องชั่ง Analytical Balance (Sartorius, A2000S)

3.4 วิธีทดลอง

3.4.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำต้มปูและเปลือกปูตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemists (1990) สมบัติที่วิเคราะห์ ได้แก่

ปริมาณความชื้น รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก.1

ปริมาณโปรตีน รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก.2

ปริมาณไขมัน รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก.3

ปริมาณเถ้า รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก.4

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยการคำนวณจากการนำผลรวมขององค์ประกอบที่กล่าวมาแล้วทั้งหมด หักออกจาก 100

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

3.4.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยเอนไซม์

3.4.2.1 ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย

เอนไซม์ Neutrase ® (0.5 unit / g) มีความหนาแน่น 1.25 g/ml ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เตรียมสารละลายโดยละลายเอนไซม์ Neutrase (0.5 unit / g) ในน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:9 โดยปริมาตร

ปรับ pH ของน้ำต้มปูจาก 6.0 เป็น 6.5 ด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 1 M. จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ Neutrase ® ในปริมาณกำหนด เขย่าใน shaking water bath ใช้ความเร็ว 125 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยา โดยให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

ส่วนเปลือกปู นำเปลือกปูมาบดให้ละเอียด จากนั้นนำเปลือกปู 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และนำมาปรับ pH และย่อยสลายเช่นเดียวกับน้ำต้มปู

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

- ปริมาณสารละลายเอนไซม์ Neutrase ® (0.5 unit / g) แปรเป็น 0, 1, 2, และ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร
- อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย 40, 50, และ 60 องศาเซลเซียส

เลือกภาวะที่ดีที่สุดโดยวิเคราะห์ค่าแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน โดยมีวิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ข

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Experiment ขนาด 3×3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทดลองสามซ้ำ

3.4.2.2 ค่า pH และเวลาในการย่อยสลาย

เติมสารละลายเอนไซม์ Neutrase ® ตามปริมาณที่สรุปได้จากข้อ 3.4.2.1 ลงในน้ำต้มปู และเปลือกปูเขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิเหมาะสมซึ่งสรุปได้จากข้อ 3.4.2.1 ใช้ความเร็วเครื่องเขย่า 125 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

- pH ของน้ำต้มปูแปรเป็น 5.5 6.5 และ 7.5
- เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 30 และ 60 นาที

338.37166
ต633ก
ฉ.3
249363

เลือกภาวะที่ดีที่สุดโดยการวิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

เลือกภาวะที่ดีที่สุดโดยวิเคราะห์ค่าแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน โดยมีวิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ข

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Experiment ขนาด 3×2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทดลองสามซ้ำ

3.4.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยกรดเกลือ

3.4.3.1 ปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย

ผสมน้ำต้มปูจำนวน 100 มิลลิลิตร กับกรดเกลือเข้มข้น 1 M. ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าใน shaking water bath ใช้ความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยทำให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 1 M.

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

- ปริมาณกรดเกลือเข้มข้น 1 M. แปรเป็น 0, 2, 4, และ 6 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร
- อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย 50 และ 60 องศาเซลเซียส

เกณฑ์ในการเลือกภาวะที่ดีที่สุด เช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.1

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Experiment ขนาด 3×2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test ทดลองสามซ้ำ

3.4.3.2 เวลาในการย่อยสลาย

เติมกรดเกลือเข้มข้น 1 M. ลงในน้ำต้มปูตามปริมาณที่สรุปได้จากข้อ 3.4.3.1 เขย่าใน shading water bath ที่อุณหภูมิเหมาะสมซึ่งสรุปได้จากข้อ 3.4.3.1 ใช้ความเร็ว 125 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาโดยทำให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 1 M.

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้คือเวลา แปรเป็น 1, 2, และ 3 ชั่วโมง

เกณฑ์ในการเลือกภาวะที่ดีที่สุด เช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.1

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test ทดลองสามซ้ำ

3.4.4 การทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้น

ศึกษาการทำให้เข้มข้น โดยเตรียมตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซท ตามภาวะที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4.2 และ 3.4.3 ระเหยน้ำออกโดยใช้เครื่อง vacuum rotary evaporator ที่ความเร็ว 240 รอบต่อนาที จนผลิตภัณฑ์ได้มีความเข้มข้น 65 °Brix นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทดสอบทางประสาทสัมผัส

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้คือ อุณหภูมิ แปรเป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียส

เกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกภาวะที่ดีที่สุดคือ คะแนนการทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส เช่น คะแนนการทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส ประเมินกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ คุณลักษณะที่ต้องการคือ กลิ่นปูที่ผู้บริโภคยอมรับได้ ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนโดยสามารถบอกความแตกต่างของสารปรุงแต่งกลิ่นรสทางการค้าได้ จำนวน 10 คน ใช้วิธีทดสอบแบบ scoring มีระดับคะแนนตั้งแต่ 0-10 โดย 10 คะแนน หมายถึง มีกลิ่นหอมของปูมากที่สุด และ 0 คะแนน หมายถึง ไม่มีกลิ่นหอมของปู (แบบทดสอบแสดงดังภาคผนวก ค.1)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้น

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน และโปรตีนของไฮโดรไลเซทเข้มข้น โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข

3.4.6 การใช้โยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทตัวอย่างที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4.2 และ 3.4.3 ทำให้เข้มข้นภาวะที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4.4 เติมลงในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบปริมาณ 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

เกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินผลคือ คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยตรวจสอบลักษณะด้านกลิ่นและรสชาติ ใช้ผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 10 คน โดยใช้วิธีทดสอบแบบ 9-point hedonic scale โดย 9 หมายถึง ชอบที่สุด และ 1 หมายถึง ไม่ชอบที่สุด (แบบทดสอบแสดงดังภาคผนวก ค.2)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ส่วนประกอบของข้าวเกรียบปูมีดังนี้

ส่วนผสม

1. แป้งมัน	500	กรัม
2. เกลือป่น	6	กรัม
3. พริกไทย	12	กรัม
4. กระเทียม	12	กรัม
5. น้ำตาล	12	กรัม
6. น้ำร้อน		
7. ผงฟู	12	กรัม
9. น้ำมันพืช	2	ขวด (สำหรับทอด)

วิธีทำ

1. โขลกกระเทียมให้ละเอียดผสมกับพริกไทย แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมในเครื่องผสม (Kitchen Aid) ความเร็วปานกลาง เมื่อส่วนผสมเข้ากันดีแล้ว เติมน้ำร้อนทีละน้อยจนกระทั่งได้ส่วนผสม (แป้ง) เหนียวไม่ถึงกับแฉะ

2. นำแป้งที่ได้มาปั้นเป็นแท่งกลมขนาด รองด้วยใบตอง (ทาน้ำมัน) ใส่รังถึง นำไปนึ่งใช้เวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งแป้งสุกใส

3. หลังจากที่แป้งสุกแล้ว ยกลงจากเตาปล่อยทิ้งให้เย็น แล้วนำตากแดดหรืออบประมาณ 1-2 แดด หลังจากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วไปตากแดด 1-2 แดด

4. เมื่อแป้งแห้งดีแล้ว นำไปทอดใช้ความร้อนพอประมาณ เมื่อสุกปล่อยให้เย็น แล้วบรรจุถุงปิดให้สนิท

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ของวัตถุดิบ ตามวิธีของ AOAC. (1990) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำต้มปู

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (โดยน้ำหนัก)
ความชื้น	91.36 ± 0.19
โปรตีน	1.35 ± 0.04
ไขมัน	0.23 ± 0.0
เส้นใย	0
เถ้า	2.57 ± 0.48
คาร์โบไฮเดรต	4.49 ± 0.35

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปู

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (โดยน้ำหนัก)
ความชื้น	70.41 ± 0.16
โปรตีน	8.34± 0.04
ไขมัน	0.54 ± 0.01
เส้นใย	9.78± 0.06
เถ้า	10.84 ± 0.06
คาร์โบไฮเดรต	0.7 ± 0.97

4.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยเอนไซม์

4.2.1 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูด้วยเอนไซม์

ทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์ Neutrase ซึ่งเป็นเอนไซม์โปรติเอสชนิดหนึ่งโดยเตรียมสารละลายเอนไซม์เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแปรปริมาณสารละลายเอนไซม์เป็น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย แปรเป็น 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลองสามครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ

ปริมาณเอนไซม์ (%)	อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
0	40	0.241 ± 0.03^{k}
	50	0.678 ± 0.01^{i}
	60	1.326 ± 0.006^{c}
1	40	0.316 ± 0.005^{j}
	50	1.149 ± 0.00^{f}
	60	1.971 ± 0.006^{b}
2	40	0.468 ± 0.017^{h}
	50	1.154 ± 0.002^{c}
	60	1.99 ± 0.02^{a}
3	40	0.56 ± 0.004^{g}
	50	1.16 ± 0.00^{d}
	60	2.00 ± 0.02^{a}

$^{a,b..}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากผลการทดลองดังตารางที่ 3 พบว่า ปริมาณสารละลายเอนไซม์และอุณหภูมิในการย่อยสลายมีผลต่อปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.1) ดังนั้นจึงพิจารณาผลของอิทธิพลร่วม โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ผลิตได้แต่ละภาวะ พบว่าที่ปริมาณสารละลายเอนไซม์ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงกว่าภาวะอื่น ๆ จึงเลือกภาวะที่ปริมาณสารละลายเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เพื่อทดลองขั้นต่อไป

4.2.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูด้วยเอนไซม์

ทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์ Neutrase ซึ่งเป็นเอนไซม์โปรติเอสชนิดหนึ่งโดยเตรียมสารละลายเอนไซม์เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแปรปริมาณสารละลายเอนไซม์เป็น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายแปรเป็น 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลองสามครั้ง ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารละลายเอนไซม์และอุณหภูมิในการย่อยสลายไม่มีผลร่วมกัน (ตารางที่ ง.2) จึงพิจารณาผลของปัจจัยเดียว พบว่า ปริมาณสารละลายเอนไซม์และอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.3 และตารางที่ ง.4) โดยที่ระดับปริมาณเอนไซม์ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และอุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด (ตารางที่ 4 และตารางที่ 5) จึงเลือกภาวะที่ปริมาณสารละลายเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เพื่อทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ

ปริมาณเอนไซม์ (%)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (%)
0	0.3243^{c}
1	0.4240^{b}
2	0.5280^{a}
3	0.5383^{a}

$^{a-c}$หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 5 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่อุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ

อุณหภูมิ (°c)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
40	0.2677^{c}
50	0.4878^{b}
60	0.6055^{a}

$^{a-c}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.2.3 ศึกษาหา pH และเวลาในการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปู

ทดลองหา pH และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำต้มปู โดยเติมสารละลายเอนไซม์ Neutrase 2 เปอร์เซ็นต์ ลงในน้ำต้มปู เขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ความเร็วเครื่องเขย่า 125 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลอง 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ

pH	เวลา (นาที)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
5.5	30	1.118±0.007^{d}
	60	1.491±0.021^{c}
6.5	30	1.995±0.022^{b}
	60	2.694±0.025^{a}
7.5	30	1.991±0.005^{b}
	60	2.690±0.019^{a}

$^{a-d}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากผลการทดลองดังตารางที่ 6 พบว่า pH และเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.5) ดังนั้นจึงพิจารณาผลของอิทธิพลร่วมโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ของน้ำต้มปูที่ผลิตได้แต่ละภาวะ พบว่าที่ pH 6.5 เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที มีค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด จึงเลือกภาวะดังกล่าวนี้ไปทดลองในขั้นต่อไป

4.2.4 ศึกษาหา pH และเวลาในการย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปู

ทดลองหา pH และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเปลือกปู โดยเติมสารละลายเอนไซม์ Neutrase 2 เปอร์เซ็นต์ ลงในน้ำเปลือกปู เขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ความเร็วเครื่องเขย่า 125 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลอง 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่างๆ

pH	เวลา (นาที)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
5.5	30	0.433±0.005^{d}
	60	0.779±0.007^{b}
6.5	30	0.667±0.025^{c}
	60	1.342±0.037^{a}
7.5	30	0.682±0.010^{c}
	60	1.351±0.031^{a}

$^{a-d}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากผลการทดลองดังตารางที่ 7 พบว่า pH และเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.6) ดังนั้นจึงพิจารณาผลของอิทธิพลร่วมโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ผลิตได้แต่ละภาวะ พบว่าที่ pH 6.5 เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที และที่ pH 7.5 เวลาในการย่อยสลาย 60 นาทีมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด จึงเลือกภาวะที่ pH 6.5 เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที ไปทดลองในขั้นต่อไป

4.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยกรดเกลือ

4.3.1 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูด้วยกรดเกลือ

ทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้กรดเกลือเข้มข้น 1 M และแปรปริมาณกรดเกลือเข้มข้น 1 M เป็น 0, 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย แปรเป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลอง 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่ย่อยสลายด้วยกรดเกลือและอุณหภูมิต่างๆ

ปริมาณกรด	อุณหภูมิ (°c)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
0	50	0.837±0.005^{d}
	60	1.040±0.028^{b}
2	50	0.908±0.003^{c}
	60	1.311±0.008^{a}
4	50	0.908±0.007^{c}
	60	1.321±0.004^{a}
6	50	0.912±0.001^{c}
	60	1.317±0.003^{a}

$^{a\text{-}d}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากผลการทดลองดังตารางที่ 8 พบว่า ปริมาณกรดและอุณหภูมิในการย่อยสลายน้ำต้มปูมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.7) ดังนั้นจึงพิจารณาผลของอิทธิพลร่วม โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของ

น้ำต้มปูที่ผลิตได้แต่ละภาวะ พบว่าปริมาณกรด 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียสมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) และมีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด จึงเลือกภาวะที่ปริมาณกรด 2 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียสไปทดลองในขั้นต่อไป

4.3.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูด้วยกรดเกลือ

ทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้กรดเกลือเข้มข้น 1 M และแปรปริมาณกรดเกลือเข้มข้น 1 M เป็น 0, 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย แปรเป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลอง 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ย่อยสลายด้วยกรดเกลือและอุณหภูมิต่าง ๆ

ปริมาณกรด	อุณหภูมิ (°c)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
0	50	0.198±0.007^{c}
	60	0.410±0.002^{d}
2	50	0.426±0.005^{d}
	60	1.044±0.049^{b}
4	50	0.659±0.006^{c}
	60	1.467±0.009^{a}
6	50	0.661±0.003^{c}
	60	1.466±0.014^{a}

$^{a\text{-}d}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากผลการทดลองดังตารางที่ 9 พบว่า ปริมาณกรดและอุณหภูมิในการย่อยสลายเปลือกปูมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.8) ดังนั้นจึงพิจารณาผลของอิทธิพลร่วม โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่ผลิตได้แต่ละภาวะ พบว่าปริมาณกรด 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียสมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด จึงเลือกภาวะที่ปริมาณกรด 4 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียสไปทดลองในขั้นต่อไป

4.3.3 ศึกษาเวลาในการย่อยสลายน้ำต้มปู

ศึกษาโดยเติมกรดเกลือเข้มข้น 1M ลงในต้มปูปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ เขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ความเร็ว 125 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาโดยทำให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 1 M ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้คือ เวลา แปรเป็น 1. 2 และ 3 ชั่วโมง ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลอง 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูที่เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน(ns) (g/L)
1	1.5780
2	1.5607
3	1.5913

จากผลการทดลองดังตารางที่ 10 จะเห็นได้ว่าเวลาในการย่อยสลายไม่มีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของน้ำต้มปูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ ง.9) จึงพิจารณาเลือกเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูที่ 1 ชั่วโมงเพื่อใช้ทดลองในขั้นต่อไป

4.3.4 ศึกษาเวลาในการย่อยสลายเปลือกปู

ศึกษาโดยเติมกรดเกลือเข้มข้น 1M ลงในเปลือกปูปริมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ เขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ความเร็ว 125 รอบต่อนาที หยุดปฏิกิริยาโดยทำให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 1 M ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้คือ เวลา แปรเป็น 1. 2 และ 3 ชั่วโมง ประเมินผลโดยวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526) ทำการทดลอง 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนของเปลือกปูที่เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (g/L)
1	1.7490^b
2	2.0473^a
3	2.0470^a

$^{a-b}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากผลการทดลองดังตารางที่ 11 จะเห็นได้ว่าเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.10) โดยเวลาในการย่อยสลาย 2 และ 3 ชั่วโมงมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุดจึงเลือกเวลาในการย่อยสลายเปลือกปูที่ 2 ชั่งโมง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.4 การทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้น

ศึกษาการทำให้เข้มข้น โดยเตรียมตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซทตามภาวะที่ดีที่สุดโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ภาวะที่ดีที่สุด คือ ปริมาณเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ pH 6.5 อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ทั้งน้ำต้มปูและเปลือกปู ส่วนการย่อยด้วยกรดเกลือภาวะที่ดีที่สุด คือ ปริมาณกรด 2 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาทีสำหรับน้ำต้มปู และที่ปริมาณกรด 4 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที สำหรับเปลือกปู นำไปประเหยน้ำออกโดยใช้เครื่อง vacuum rotary evaporator ที่ความเร็ว 240

รอบต่อนาที จนผลิตภัณฑ์ได้มีความเข้มข้น 65 °Brix นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทดสอบทางประสาทสัมผัส ขั้นตอนนี้คือปัจจัยที่ศึกษา คือ อุณหภูมิ แปรเป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียส

เกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกภาวะที่ดีที่สุดคือ คะแนนการทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส เช่น คะแนนการทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส ประเมินกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ คุณลักษณะที่ต้องการ คือ กลิ่นปูที่ผู้บริโภคยอมรับได้ ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนโดยสามารถบอก ความแตกต่างของสารปรุงแต่งกลิ่นรสทางการค้าได้ จำนวน 10 คน ใช้วิธีทดสอบแบบ scoring มีระดับคะแนนตั้งแต่ 0-10 โดย 10 คะแนน หมายถึง มีกลิ่นหอมของปูมากที่สุด และ 0 คะแนน หมายถึง ไม่มีกลิ่นหอมของปู ผลการทดลอง พบว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้เข้มข้นมีผลต่อคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \le 0.05$) (ตารางที่ ง.11 และตารางที่ ง.12) โดยโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้จากเปลือกปูและน้ำต้มปูทั้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และกรด ทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และมีค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด (ตารางที่ 12 และตารางที่ 13) จึงเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซททั้ง 4 ภาวะนี้เพื่อนำไปทดลองในขั้นต่อไป

ตารางที่ 12 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

วัตถุดิบ	อุณหภูมิที่ใช้ทำให้เข้มข้น(° C)	คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัส
น้ำต้มปู	50	7.35^{b}
	60	8.45^{a}
เปลือกปู	50	7.30^{b}
	60	8.40^{a}

$^{a-b}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 13 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

วัตถุดิบ	อุณหภูมิที่ใช้ทำให้เข้มข้น(° C)	คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัส
น้ำต้มปู	50	7.10^{b}
	60	8.25^{a}
เปลือกปู	50	7.30^{b}
	60	8.30^{a}

$^{a-b}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

ส่งตัวอย่างวิเคราะเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้จำนวน 4 ตัวอย่าง ที่ กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารและโภชนาการ กองโภชนาการ กระทรวงสาธารสุข ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่14 ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

	ตัวอย่าง			
กรดอะมิโน (mg/100g)	1*	2*	3*	4*
tryptophan	369	365	309	324
thereonine	736	768	649	745
isoleusine	544	614	498	558
leusine	1061	1169	951	1092
lysine	984	1019	854	1024
methionine	496	369	451	472
leusine	162	93	267	217
phenylalanine	701	805	636	706
tyrosine	607	664	561	569
valine	369	817	697	784
arginine	1859	1708	1555	1791
histidine	430	437	370	397
alanine	1327	1322	1150	1350
aspartic acid	1542	1558	1339	1548
glutamic acid	2793	2711	2439	2840
glycine	2988	2668	2598	3090
proline	1004	1011	863	1001
lysine	713	762	621	726
protein (g/100g)	29.6	28.1	25.3	31.7

* ตัวอย่างที่ 1 หมายถึง โปรตีนน้ำต้มปูเข้มข้น (เอมไซม์ 2%, อุณหภูมิ 60 ^{o}C, pH 6.5 เวลา 60 นาที)

* ตัวอย่างที่ 2 หมายถึง โปรตีนน้ำต้มปูเข้มข้น (กรดเกลือ 2%, อุณหภูมิ 60 ^{o}C, เวลา 60 นาที)

* ตัวอย่างที่ 3 หมายถึง โปรตีนจากเปลือกปูเข้มข้น (เอมไซม์ 2%, อุณหภูมิ 60 ^{o}C, pH 6.5 เวลา 60 นาที)

* ตัวอย่างที่ 4 หมายถึง โปรตีนจากเปลือกปูเข้มข้น (กรดเกลือ 4%, อุณหภูมิ 60 ^{o}C, เวลา 120 นาที)

4.6 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทตัวอย่างที่ดีที่สุดโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ภาวะที่ดีที่สุด คือ ปริมาณเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ pH 6.5 อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ทั้งน้ำต้มปูและเปลือกปู ส่วนการย่อยด้วยกรดเกลือภาวะที่ดีที่สุด คือ ปริมาณกรด 2 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียสสำหรับน้ำต้มปู และที่ปริมาณกรด 4 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียสสำหรับเปลือกปู ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เติมลงในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบปริมาณ 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดย น้ำหนัก

เกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินผลคือ คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยตรวจสอบลักษณะด้านกลิ่นและรสชาติ ใช้ผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 10 คน โดยใช้วิธีทดสอบแบบ 9-point hedonic scale โดย 9 หมายถึง ชอบที่สุด และ 1 หมายถึง ไม่ชอบที่สุด ผลการทดลองพบว่า ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบมีผลต่อคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ง.13 และตารางที่ ง.14) โดยโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตจากน้ำต้มปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ เปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ปริมาณ 2 และ4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ ง11) ส่วนโปรตีน ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตจากน้ำต้มปูผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ เปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ ง.14) จึงสามารถสรุปได้ว่า การเติมปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูและเปลือกปู ทั้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์และกรดเกลือ ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ลงในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบปู ให้ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงที่สุด แสดงว่าผู้บริโภคมีการยอมรับมากที่สุด ดังตารางที่ 15 และ16

ตารางที่ 15 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ในปริมาณต่างๆ

วัตถุดิบ	ปริมาณ (%)	คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัส
น้ำต้มปู	0	6.6^{b}
	2	8.4^{a}
	4	7.1^{b}
เปลือกปู	2	8.4^{a}
	4	8.1^{a}

$^{a\text{-}b}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 16 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดไลเซทที่ผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ในปริมาณต่างๆ

วัตถุดิบ	ปริมาณ (%)	คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัส
น้ำต้มปู	0	6.8^{b}
	2	7.6^{a}
	4	4.7^{c}
เปลือกปู	2	7.8^{a}
	4	4.3^{c}

$^{a\text{-}c}$ หมายถึง ค่าในแนวตั้งเดียวกันตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

น้ำต้มปูและเปลือกปูที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทในงานวิจัยนี้นำมาจากหมู่บ้านชายทะเลวัดเขาบางพระ จ.ชลบุรี ซึ่งชาวบ้านบริเวณนี้มีอาชีพต้มปูและแกะเนื้อปูขาย ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำต้มปู (ตารางที่ 1) พบว่า น้ำต้มปูมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ความชื้นและเถ้า 1.35. 4.49. 0.23. 91.36 และ 2.57 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ความชื้นและเถ้า 8.34 0.7 0.54 70.41 และ 10.84 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ของน้ำต้มปูและเปลือกปูในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท เนื่องจากโปรตีนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับการย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์ ซึ่งมีสมบัติเป็นสารให้กลิ่นรส และเป็น precursor ในการเกิดปฏิกิริยาร่วมกับคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ได้สารให้กลิ่นหอมหลายชนิด ส่วนไขมันจะเป็นตัวขัดขวางการย่อยสลายโปรตีนเนื่องจากไขมันสามารถสร้างพันธะกับโปรตีนทำให้โปรตีนมีโครงสร้างใหญ่ขึ้น ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลาย (Roach และ Gehrke, 1970) ในขั้นตอนการปรับ pH ถ้าในวัตถุดิบมีปริมาณไขมันมากจะทำให้เกิดปัญหาการเกิด saponification ได้เกลือโซเดียมของกรดไขมันทำให้ต้องใช้ sodium hydroxide ปริมาณมากในการปรับ pH (วิเชียร. 2534) แต่น้ำต้มปูและเปลือกปูมีไขมันต่ำจึงไม่ก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวมากนัก ดังนั้นจึงสามารถบอกได้ว่าน้ำต้มปูและเปลือกปูเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท

5.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยเอนไซม์

5.2.1 ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายน้ำต้มปู

เอนไซม์ทางการค้าที่นิยมใช้ในการย่อยสลายโปรตีนได้แก่ Neutrase® ในขั้นตอนนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ ได้แก่ปริมาณสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) แปรเป็น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายแปรเป็น 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส โดยปรับ pH ของน้ำต้มปูเป็น 6.5 และควบคุมเวลาในการย่อยสลายเป็น 30 นาที เนื่องจาก Novo (1987) รายงานว่าหลังจากเวลาผ่านไป 30 นาทีที่อุณหภูมินี้ activity ของเอนไซม์ Neutrase® จะลดลงประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์

ผลจากการวัดค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากน้ำต้มปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ (ตารางที่ 3 และ ง.1) แสดงว่า ปริมาณเอนไซม์ อุณหภูมิที่ใช้ขณะย่อยสลาย รวมทั้ง อิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \le 0.05$) ส่วนผลจากการวัดค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ (ตารางที่ 4, 5 และ ง.2) แสดงว่า ปริมาณเอนไซม์ อุณหภูมิที่ใช้ขณะย่อยสลายมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \le 0.05$) ขณะที่อิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยไม่มีผลต่อค่าดังกล่าว ($p > 0.05$) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น โอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนย่อมมีมากขึ้น จึงเกิดการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นเป็นผลให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นจนกระทั่งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจะคงที่ (Whitaker, 1972) แม้เพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นอีกก็ไม่ทำให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก40-60 องศาเซลเซียสค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dancan's New Multiple Range Test จะเห็นว่าการใช้เอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ได้มีค่า 1.99 g/L และเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ได้มีค่า 2.00 g/L ซึ่งทั้งสองภาวะมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากผลการทดลองจึงเลือกภาวะที่ใช้เอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 2

เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสสำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

ส่วนผลจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ ด้วยวิธี Dancan's New Multiple Range Test จะเห็นว่าการใช้เอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ได้มีค่าไม่แตกต่างจากการใช้เอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที จากผลการทดลองจึงเลือกภาวะที่ใช้เอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสสำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

5.2.2 ค่า pH และเวลาในการย่อยสลาย

ศึกษาผลของ pH ต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โดยแปร pH เป็น 5.5, 6.5 และ 7.5 แปรเวลาในการย่อยสลายเป็น 30 และ60 นาที ผลจากการวัดค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ (ตารางที่ 6 และ ง.5) และผลจากการวัดค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ (ตารางที่ 7 และ ง.6) แสดงว่า pH เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายและอิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การที่ pH มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เพราะเอนไซม์เป็นสารประกอบที่มีสมบัติเป็นโปรตีน pH ที่สูงหรือต่ำเกินไปทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ถูกทำลายและสูญเสีย activity ได้ (Eskin และ Henderson, 1971; ปราณี, 2533) นอกจากนั้น pH ยังมีผลต่อ optimum activity ของเอนไซม์แต่ละชนิดด้วย เช่น rennin มี optimum activity ที่ pH ประมาณ 5 และ pepsin ที่ pH 1.8 ถ้า pH สูงหรือต่ำกว่าค่าดังกล่าว activities ของเอนไซม์จะลดลง (Eskin และ Henderson, 1971) เอนไซม์จึงย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบชนิดเดียวกันที่มีpH ต่างกันได้ไม่เท่ากัน ผลของเวลาในการย่อยสลายแสดงว่าค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นทั้งนี้เพราะ เวลาที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของโปรตีนได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ปริมาณโปรตีนที่ย่อยสลายได้และค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจึงเพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test พบว่าการย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ pH 6.5 เป็นเวลา 60 นาทีได้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน 2.694 และ 1.342

g/L ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด ในขั้นนี้จึงได้เลือกภาวะที่เหมาะสมในการเอนไซม์ย่อยสลายเป็น 6.5 และย่อยสลาย 60 นาที

5.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำต้มปูและเปลือกปูด้วยกรดเกลือ

5.3.1 ปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย

ขั้นตอนนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเกลือ ได้แก่ ปริมาณกรดเกลือเข้มข้น 1 M. แปรเป็น 0, 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายแปรเป็น 50 และ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 70 องศาเซลเซียส ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้นน้อยจึงไม่จำเป็นต้องแปรอุณหภูมิให้สูงถึง 70 องศาเซลเซียส

ผลจากการวัดค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ปริมาณกรด และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ และการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 8, 9, ง.7 และ ง.8) แสดงว่า ปริมาณกรดเกลือ อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยมีผลต่อค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิมีผลให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนเป็นปฏิกิริยาเคมีประเภท endothermic reaction (Ketelaar, 1958) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายมีผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นเกิดการย่อยสลายโปรตีนมากขึ้นเป็นผลให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงขึ้น (Sair, 1968) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณกรดเกลือจนถึงปริมาณหนึ่งค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจะคงที่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hall (1949) ที่ทดลองย่อยสลายโปรตีนจาก wheat gluten โดยใช้กรดเกลือเข้มข้นปริมาณ 0.10-2.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรทำให้ย่อยสลายโปรตีนได้มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มกรดเกลือเป็น 1.1-2.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราการย่อยสลายคงที่เท่ากับการใช้กรดเกลือ 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผู้ทดลองอธิบายว่าการเพิ่มกรดเกลือที่ปริมาณมากเกินพอทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูกทำลายการย่อยสลายโปรตีนจึงเกิดได้ยากขึ้น

ในงานทดลองนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dancan's New Multiple Range Test พบว่า การใช้กรดเกลือเข้มข้น 1 M.ปริมาณ 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูที่อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส ให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และที่ปริมาณกรดเกลือ 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ โดย

ปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูที่อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส ให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์จะเห็นว่า เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่า คือ มีค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงถึง 1.99 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก Smith และคณะ (1983) อธิบายว่า กรดเกลือทำลาย noncovalent structure ของโปรตีนทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนแปลงจาก native structure ความสามารถในการละลายของโปรตีนจึงลดลง จนเกิดการตกตะกอนบางส่วน การย่อยสลายโปรตีนจึงเกิดได้ยากขึ้น ซึ่งปรากฏการณ์นี้ไม่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ จากการทดลองจึงเลือกภาวะที่ให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุดเป็นภาวะที่การทำงานของกรดมีประสิทธิภาพดีที่สุด คือการใช้กรดเกลือเข้มข้น 1 M. ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปู และที่ปริมาณ 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปู ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

5.3.2 เวลาในการย่อยสลาย

ศึกษาผลของเวลาต่ออัตราการย่อยสลายโปรตีน โดยแปรเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเป็น 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

ผลจากการวัดค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนและค่าความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูและเปลือกที่เวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ (ตารางที่ 10, 11, ง.9 และ ง.10) แสดงว่า เมื่อเวลาในการย่อยสลายเพิ่มค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนเป็นปฏิกิริยาเคมี ดังนั้นการเพิ่มเวลามีผลทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้น (Gortner และ Holm, 1971) ซึ่งส่งผลให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของเพ็ญศิริ (2534) ที่ใช้กรดเกลือเข้มข้น 4 M. ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ย่อยสลายเลือดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่า เวลาในการย่อยสลาย 6 ชั่วโมง ให้โปรตีนที่มีค่า DH สูงที่สุด

ในงานทดลองนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dancan's New Multiple Range Test พบว่าการใช้กรดเกลือเข้มข้น 1 M.ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรย่อยสลายโปรตีนในน้ำต้มปูที่อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 ชั่วโมงให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) และที่ปริมาณกรดเกลือ 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในเปลือกปูที่อุณหภูมิในการย่อยสลาย 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 3 ชั่วโมง ให้ค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) และมีค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด จึงเลือกภาวะที่ปริมาณกรด

ผลการทดลองจากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของโปรตีนไฮโดรไลเซททีผลิตจากน้ำต้มปูและเปลือกปูผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และกรดเกลือ (ตารางที่ 12, 13, ง.11 และ ง.12) แสดงว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้เข้มข้นมีผลต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์ ($p>0.05$) โดยโปรตีนไฮโดรไลเซททั้งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และกรดเกลือเมื่อนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงที่สุด เนื่องจากน้ำในผลิตภัณฑ์ระเหยออกไปมากกว่าการทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส กลิ่นของผลิตภัณฑ์จึงมีมากกว่าส่งผลให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงขึ้น โดยทั่วไปนั้นการระเหยน้ำออกจากสารละลายที่มีสารระเหยได้ภายใต้ภาวะสุญญากาศเพื่อทำให้เข้มข้น นอกจากน้ำจะระเหยไปแล้ว สารระเหยได้ที่ให้กลิ่นบางชนิดยังสูญเสียไปด้วยการเพิ่มอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการระเหยทำให้สูญเสียสารระเหยได้เพิ่มขึ้น (Fellow, 1990) อย่างไรก็ตามสารระเหยได้ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำต้มปูและเปลือกปูมีจุดเดือดสูงดังกล่าวมาแล้วตอนต้น (Dean, 1979) และส่วนใหญ่สูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดคือ 60 องศาเซลเซียส ที่ใช้ในการระเหยเพื่อทำให้เข้มข้น จึงน่าจะมีการสูญเสียเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

5.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนจากโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ตารางที่ 14) พบว่า แอซิคไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้จากเปลือกปูมีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 31.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าตัวอย่างจากเปลือกปูที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเปลือกปูเป็นของแข็งการใช้กรดเกลือย่อยสลายจะเกิดปฏิกิริยาที่รุนแรงกว่าจึงสามารถสกัดโปรตีนออกมาได้มากกว่า

ส่วนการใช้กรดเกลือและเอนไซม์ในการย่อยสลายน้ำต้มปูให้ผลที่ไม่แตกต่างกันโดยมีปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์เข้มข้นประมาณ 28 – 29 เปอร์เซ็นต์

โปรตีนจากโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นทั้ง 4 ตัวอย่างที่ผลิตได้ มีปริมาณกรดอะมิโนอยู่อย่างครบถ้วนซึ่งสามารถใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส และช่วยเสริมคุณค่าทางโภชนาการให้แก่อาหารด้วย

5.6 การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ต้องคำนึงถึงปริมาณที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด (Strong, 1968) เนื่องจากถ้าใช้ปริมาณต่ำเกินไปจะไม่ช่วยเสริมหรือปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารให้ดีขึ้นได้ และถ้าใช้ในปริมาณสูงเกินไปทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและต้นทุนในการผลิตสูงโดยไม่จำเป็น ขั้นตอนนี้จึงศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นและแอซิดไฮโดไลเซทเข้มข้นเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เพื่อเป็นแนวทาง

ในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์อาหารที่เลือกมาศึกษาคือ ข้าวเกรียบปู เนื่องจากใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำต้มปูและเปลือกปูให้กลิ่นแทนเนื้อปูได้ แปรปริมาณเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้น และแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นเป็น 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและรสชาติ

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 15 และ ง.13) พบว่า ปริมาณเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีผลต่อคะแนนความชอบด้านกลิ่นและรสชาติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่า ข้าวเกรียบปูเลียนแบบที่เติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตจากน้ำต้มปูปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ และเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตจากเปลือกปูปริมาณ 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนความชอบด้านกลิ่นและรสชาติไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ซึ่งมีคะแนนความชอบสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมและอย่างที่เติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตจากเปลือกปูปริมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมื่อเติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้เพียง 2 เปอร์เซ็นต์ ก็ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นและรสชาติที่ผู้บริโภคยอมรับได้อยู่แล้ว ดังนั้นแม้เพิ่มปริมาณมากขึ้นก็ไม่มีผลมากนักต่อความชอบด้านกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ จึงเลือกปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสำหรับผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

เมื่อพิจารณาผลของแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ (ตารางที่16)จะเห็นว่าข้าวเกรียบปูเลียนแบบที่เติมแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักได้รับความชอบด้านกลิ่นและรสชาติสูงที่สุด ($p \leq 0.05$) เนื่องจากแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีปริมาณเกลือแกงสูงดังนั้นการเติมแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นปริมาณมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสเค็มเกินไปผู้บริโภคไม่ยอมรับ จึงเลือกปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นปริมาณสูงสุดสำหรับแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้น

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนน้ำต้มปูและเปลือกปูเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นดีที่สุดด้วยเอนไซม์คือ น้ำต้มปูและเปลือกปูย่อยสลายด้วยสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.05 unit/g) ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่ระดับ pH 6.5
2. ภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนน้ำต้มปูและเปลือกปูเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นดีที่สุดด้วยกรดเกลือคือ น้ำต้มปูย่อยสลายด้วยกรดเกลือเข้มข้น 1 M ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเปลือกปูย่อยสลายด้วยกรดเกลือเข้มข้น 1 M ปริมาณ 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. ภาวะที่เหมาะสมในการทำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และกรดเกลือให้เข้มข้น โดยใช้เครื่อง vacuum rotary evaporator คือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็ว 240 รอบต่อนาที เวลา 30 นาที
4. การใช้ประโยชน์เอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นและแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นในผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบปูเลียนแบบ ปริมาณที่เหมาะสม คือ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการดัดแปลงกรรมวิธีการย่อยสลายโปรตีนในระดับการทดลองไปสู่ระดับอุตสาหกรรม
2. ควรมีการศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ได้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายชนิด

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. (2512). สัตว์ทะเลที่เป็นอาหารของคนไทย. กรุงเทพฯ : หน่วยสำรวจแหล่งประมง กรมประมง กระทรวงเกษตร.

เกรียงไกร ทะไกรราช. (17 ธันวาคม 2533). ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายผลิต บริษัทยูนิคอร์ด จำกัด. สัมภาษณ์

เกรียงศักดิ์ ชัยโรจน์. (2531). การสกัดและการแยกสารระเหย. เชียงใหม่ : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ทนง ภัครัชพันธุ์. (2524). อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ สุทธิวนิช. (2531). คุณภาพสัตว์น้ำ. สงขลา : ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. (2526). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นบ้าน. (มอก.3-2526) กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แสงแดด.

วรรณวิบูลย์ การญจนกุญชร. (2529). เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์ประมง. กรุงเทพฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2534). ซีอิ๊ว. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สมบัติ ขอทวีวัฒนา. (2535). เทคโนโลยีการระเหยน้ำ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. (2532). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเนื้อปูกระป๋อง. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

Ariyoshi, y. (1976). The structure taste relationship of aspartyl dipeptides esters. Agr. Biol. Chem. 40(5) : 983-992.

Ames, J.M., and Mac Leoad, G. (1985). Volatile components of a yeast extract composition. J. Food Sci. 50: 125-131.

Association of Official Analytical Chemists. (1990) Official method of analytical. 15th ed. Washingion D. C. : Association of Official Analytical Chemists.

Ballester, D., Heimlich, W., and Monckeberg, F. (1976). Enzymatic fish protein hydrolysate: chemical composition, nutritive value and use as a supplement to cereal protein. J. Food Sci. 41: 1289-1292.

Brich, G. G., Blakebrough, N., and Parker, K. J. (1981). Enzyme and food processing. London: Applied Science Publishers.

Chhuy, C.L., and Day, A.E. (1978). Edible compositions having a meat flavor and processes for making same. U.S. Patent. 4,081,565.

Dean,J. A. (1979). Lange's handbook of chemistry. 12th ed New York: McGraw-Hill Book.

DeMan, J.M. (1980). Priciples of food chemistry. New York: AVI Publishing.

Dodsworth, T.L., amd Owen, J.B. (1977). Fish protein hydrolysate as a substitute for milk protein calf feeding. Animal Production. 25: 19-26.

Dziezak, J.D. (1987). Yeast and Yeast derivative: Applications. Food Tech. 41(2): 122-124.

Emilia, M. S. and Almira M. P. (1996). Development of fish protein hydrolysate. J. Nat. Sci. 1: 21-29.

Eskin, N. A. M., and Henderson, H.M. (1971). Biochemistry of food. New York: Academic Press.

Fellow, P. (1990). Food processing technology. England: Elles Horwood.

Fennema, O.R. (1975). Freezing preservation. in : Principle of food science: part II Principles of food preservation. ed. Marel, M., Fennema, O.R., and Lund, D.B. New Yolk: Marcel Dekker.

Ferrer, J., Paez, G., Marmol, Z., Ramones, E., Garcia, H and Forster,C.F. (1996). Acid Hydrolysis oF Shrimp-Shell Waste and the Production of Single cell Protein from the Hydrolysate. J. Bio.resource Technology. 57 : 55-60.

Gortner, R. A. and Holm, G. E. (1917). The effects of prolonged acid hydrolysis upon the nitrogen distribution of fibrin. J. Am. Chem. Soc. 33(9): 2736-2745.

Greenberg, D.M., and Burk, N.F. (1947). Rate of hydrolysis of solutions of proteins in acids as measured by the formation of amino nitrogen. J. Amer. Chem. Soc. 49(1): 275-286.

Hall, L. A. (1949). Pressure hydrolysis of proteins. Food Technol. 4(3): 105-110.

Hill, R.L. (1965). Advances in protein chemistry. New York: John Wiley & Sons.

Ketelaar, J. A. A. (1958). An introduction to the theory of the chemical bond. London: Elsevier Publishing company.

Kirimura, J., Shimizu, A., Kimizuka, A., Ninomiya, T., and Katsuya, N. (1969). The contribution of peptide and amino acids to the taste of foodstuffs. J. Agr. Food Chem. 17(4): 689.

Knorr , D. 1991. "Fecovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing Waste Management'. Food Technology. 45(1) : 114-122 ; Office of National Code Alimentarius Committee Thailand. Cooperate project between Thai industrial standards institute and Asean Food standards office on The survey of The situation of fishery industry in Asean countries volume v. canned crabmeat. Thailand : Office of National Code Alimentarius Committee Thailand , 1988.

Leiske, B., and Konrad, G. (1988). Process for preparation of a flavor preparation with a chicken-like flavor. DD Patent. 260,648. Quoted in Food Science and Technology Abstracts 21 (1989): 3VB.

Matoba, M., and Hata, T. (1972). Relationship between bitterness of peptides and their chemical structure. Agr. Biol. Chem. 36(8): 1423-1431.

May, C.G. (1974). An introduction to synthetic meat flavors. Food trade Rev. 44(1): 7-14.

Michel linder, P. Rozan, R. Lamghari EL Kossori, J. Fanni, C. Cillaume, L. Mejean, and M. Parmentier. (1997). Nutrition value of veal bone hydrolysate. Journal of food science. 62 (1): 183-188.

Murray, T.K., and Baker, B.E. (1952). Studies on protein hydrolysis. I. Preliminary observation on the taste of enzymic protein hydrolysate. J. Sci. Food Agri. 3:470-475.

Naguchi, M., Arai, S., Yamashita, M., Kato, H., and Fugimaki, M. (1975). Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish .

Nair, A.L., and Gopakumar, K. (1982). Soluble protein isolate from low cost fish and fish waste. Fish Technol. 19: 101-103.

Nishimura, T., and Kato, H. (1988). Taste of free amino acids and peptides. Food Rev. Inter. 4(2): 175-194.

Novo Industri A/S. (1984). Novo enzyme (Alcalase®). Denmark: Bioindustrail ?Group of Novo Industri A/S. (Unpublished Manuscript).

Novo Industri A/S. (1987). Novo enzyme (Alcalase®). Denmark: Bioindustrail ?Group of Novo Industri A/S. (Unpublished Manuscript).

Olcott, H.S., and Fraenkel H.C. (1947). Acid hydrolysis of food protein. J. Biol. Chem. 171: 583-586.

Olsman, H. (1979). Hydrolyzed and autolysed vegetable protein as functional food ingredients. J. Amer. Oil Chem. Soc. 56(3): 375-376.

Pham, C. B., and Del Rosario, R.R. (1983). The preparation of protein hydrolysate from defatted coconut and soybean meals. J. Food Technol. 18(1): 21-34.

Prendergast, K. (1973). Versatility of hydrolysed protein. Food Manufacture 48(4) 37-39, 58-59.

Quaglia, G.B., and Orban, E. (1987). Enzyme solubilisation of proteins of sadine *(Sardina pilchardus)* by commercial protease. J. Sci. FoodAgric. 38: 263-269.

Roach, D., and Gehrke, C. W. (1970). The hydrolysis of proteins. J. Chromatog. 52(5): 393-404.

Sahyun, M. (1944). Hydrolysis of protein. New York: Reinhold Publishing Corporation.

Sair, L. (1968). Hydrolysis under acid conditions. U.S. patent. 3,391.001.

Schmidt, G. (1987). Bubbling over with yeast. Food 9(5): 25-29.

Schrodter. R., and Wolm, G. (1980). Optimization of condition for flavor and formation in amino acid/glucose model system. Nahrung. 24(2): 175-183. Quoted in Food Science and Technology Abstracts 12(1980): 8A573.

Shallenderger, R.S., Aeree. T.E., and Lee. C.Y. (1969), Sweet taste of D- and L-sugar and amino acids and the steric nature of their chemo-receptor site. Nature. 221(2): 555-556.

Smith, E. L., Hill. R. L., Lehman, I. R., Lefkowitz, R.J., Handler, P., and White, A. (1983). Principle of biochemistry: General aspects. New York: McGraw-Hill.

Spinelli, J. Koury, B., and Miller, R. (1972). Approaches to the utilization of fish for the prepartion of protein isolation. J. Food Sci. 37: 605-608.

Strong,A.M. (1968). Flavour enhancers. Aust. Food. Technol. 20(12): 574-576.

Tada, M., Shinoda, I., and Okai, H. (1984). L-ornithyltaurine, a new salty Peptide. J. Agr. Food Chem.32(5): 992-996.

Warnijati, S., Agra, I. B., and Yusmiati. (1996). Hydrolysis of chicken feathers protein with sodium hydroxide solution at higher temperature. Int. Conf. On Food Industry Tech.& Energy Appln.

Whitaker, J.R. (1972). Principle of enzymology for the food science. New York: Marcel Dekker.

Wong, D.W.S. (1989). Mechanism and theory in food chemistry. New York: AVI Publishing.

Zapasalis , C. , and Beck, R. A. (1985) Food chemistry and nutritional Biochemistry.New York : John & Sons.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ก.1 การหาปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

นำจานอะลูมิเนียม (porcelain dish) มาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักของ porcelain dish ชั่งน้ำหนักตัวอย่างลงในจานอะลูมิเนียม ประมาณ 5 กรัม จากนั้นนำไปอบที่ อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นใน desiccator นำไปอบซ้ำหลาย ๆ ครั้งจนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งค่าที่ได้จะต้องไม่แตกต่างกันเกิน 0.05 กรัม ชั่งหาน้ำหนักของของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณหาน้ำหนักที่หายไป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

สูตรการคำนวณความชื้น

$$\text{ความชื้น(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ก.2 การหาปริมาณโปรตีน โดย Kjeldahl Method (AOAC, 1990)

สารเคมี

1) คะตะลิสต์ผสม (catalyst mixture) ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 96 เปอร์เซ็นต์ คอปเปอร์ซัลเฟต 3.5 เปอร์เซ็นต์ และเซเลเนียมไดออกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์

2) กรดซัลฟูริกเข้มข้น

3) สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

4) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

5) สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

6) สารละลายเมธิลเรดอินดิเคเตอร์ ประกอบด้วยเมธิลเรด 0.016 เปอร์เซ็นต์ และโบรโมครีซอลกรีน 0.083 เปอร์เซ็นต์ ในเอธิลแอลกอฮอล์

วิธีการวิเคราะห์

1. การย่อยสลาย (Digestion)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.7-2.2 กรัม ใส่ในขวดกลั่นเติมคะตะลิสต์ผสม 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำขวดกลั่นไปตั้งบนเตาย่อย ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อในแน่ใจว่าปฏิกิริยาสมบูรณ์และถ้าที่คอขวดกลั่นมีจุดดำทิ้งไว้จนเย็นล้างด้วยน้ำกลั่น ย่อยต่อไปจนสมบูรณ์

2. การกลั่น (Distillation)

นำตัวอย่างที่ย่อยเสร็จทิ้งให้เย็นเติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ต่อขวดกลั่นเข้าเครื่องกลั่นให้ปลายข้างหนึ่งของคอนเดนเซอร์ จุ่มในสารละลายกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 40 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดกลั่น 100 มิลลิลิตร กลั่นจนได้แอมโมเนียออกมาประมาณ 150 มิลลิลิตร เก็บในกรดบอริก

3. การไตเตรท (Titration)

นำตัวอย่างที่กลั่นได้เติมเชียร์อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วนำไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มัล แล้วคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณโปรตีน

สูตรการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีน

ไนโตรเจน(ร้อยละ) = (มิลลิลิตรของกรดซัลฟูริก–มิลลิลิตรของแบลงค์)x นอร์มัลลิตี้ของกรด x1.4
น้ำหนักตัวอย่าง

โปรตีน(ร้อยละ) = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน x ระดับความเจือจาง

ก.3 การหาปริมาณไขมัน (AOAC, 1990)

สารเคมี

ปิโตรเลี่ยมอีเทอร์จุดเดือด 35 - 60 องศาเซลเซียส

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัมให้รู้น้ำหนักแน่นอน ใส่ในกระดาษกรอง ล้างด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร 5 ครั้ง นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำมาชั่งน้ำหนัก อบขวดสกัด (extraction flask) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำมาชั่งน้ำหนัก นำห่อตัวอย่างใส่ในทิมเบิ้ล (paper extraction thimble) และใส่ลงในซอกห์เลต (soxhlet) ประกอบชุดเครื่องกลั่น ให้ความร้อนเพื่อให้ปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ ระเหยขึ้นไปเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ระเหยปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ออกจนเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้ขวดสกัดเย็นในเดซิเคเตอร์ นำไปชั่งน้ำหนัก

สูตรการคำนวณไขมัน

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

ก.4 การหาปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

เผาครูซิเบิ้ล (crucible) ที่อุณหภูมิประมาณ 500 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำไปปล่อยให้เย็นใน desiccator ชั่งหาน้ำหนักเปล่าของ crucible จากนั้นชั่งตัวอย่างประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงใน crucible เผาไหม้ตัวอย่างดังกล่าวโดยใช้ตะเกียงบุนเซนจนไม่มีควันดำเสียก่อน แล้วจึงนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 500-550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว นำไปทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งหาน้ำหนักเถ้า คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมดในอาหารตัวอย่าง

สูตรการคำนวณเถ้าทั้งหมดในตัวอย่าง

$$\text{เถ้าทั้งหมด(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ก.5 การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1990)

เมื่อทราบปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า สามารถหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตได้โดยใช้วิธีคำนวณจากสูตรดังนี้

คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ) = 100 – (ความชื้น + โปรตีน + ไขมัน + เส้นใย + เถ้า)

ภาคผนวก ข

การหาแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน

ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526)

ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน คือ ผลต่างคิดเป็นกรัมระหว่าง formaldehyde nitrogen กับ ammonical nitrogen ในตัวอย่าง 1 ลิตร

1. formaldehyde nitrogen

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า มา 10 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7 โดยใช้สารละลาย sodium hydroxide เติมสารละลาย formaldehyde ที่มีความเป็นกรดด่างเป็น 9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างแล้วไตเตรตด้วยสารละลาย sodium hydroxide เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนมีความเป็นกรดด่างเป็น 9 คำนวณหาปริมาณ formaldehyde nitrogen

$$x = 14yM$$

เมื่อ x คือ ปริมาณ formaldehyde nitrogen ในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม

y คือ ปริมาตรของสารละลาย sodium hydroxide ที่ใช้ไตเตรต เป็นมิลลิลิตร

M คือ ความเข้มข้นของสารละลาย sodium hydroxide เป็นโมลาร์

2. ammonical nitrogen

นำตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า มา 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดกลั่นเติม magnesium oxide 3 กรัม และน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร กลั่นแอมโมเนียมที่เกิดขึ้นลงในขวดแก้วที่มีสารละลาย boric acid เข้มข้น 4% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และมี methyl red- bromocresol green indicator 6-10 หยด จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลือเพียง 1 ใน 4 ของปริมาตรเดิม นำสารละลายที่ได้มาไตเตรตกับสารละลาย sulphuric acid เข้มข้น 0.5 โมลาร์ จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีแดง คำนวณหาปริมาณ ammonical nitrogen

$$x = 5.6\,y\,M$$

เมื่อ x คือ ปริมาณ ammonical nitrogen ในตัวอย่าง 1 ลิตร เป็นกรัม

y คือ ปริมาตรของสารละลาย sulphuric acid ที่ใช้ไตเตรต เป็นมิลลิลิตร

M คือ ความเข้มข้นของสารละลาย sulphuric acid เป็นโมลาร์

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ค.1 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำต้มปูและเปลือกปู

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์สารปรุงแต่งกลิ่นรสปูแล้วให้คะแนนสมบัติด้านกลิ่นตามเกณฑ์ดังนี้

0 หมายถึง ไม่มีกลิ่นหอมของปู
5 หมายถึง มีกลิ่นหอมของปู
10 หมายถึง มีกลิ่นหอมของปูมากที่สุด

ตัวอย่าง	ระดับคะแนน
---------	0 5 10
---------	0 5 10
---------	0 5 10
---------	0 5 10

ข้อเสนอแนะ____

____

____

ค.2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสใน

ผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบปู

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบปูและให้คะแนนสมบัติด้านกลิ่นและรสชาติปูตามเกณฑ์ดังนี้

1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด
2 หมายถึง ไม่ชอบมาก
3 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง
4 หมายถึงไม่ชอบเล็กน้อย
5 หมายถึง เฉย ๆ
6 หมายถึง ชอบเล็กน้อย
7 หมายถึง ชอบปานกลาง
8 หมายถึง ชอบมาก
9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

* หมายเหตุ คะแนนต่ำกว่า 5 หมายถึงไม่ยอมรับด้านกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	ระดับคะแนน
-------------	------------
-------------	------------
-------------	------------
-------------	------------

ข้อเสนอแนะ____

____

____

ภาคผนวก ง

ตารางที่ ง.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากน้ำต้มปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ปริมาณเอนไซม์ (A)	3	1.40422644	0.46807548	2038.31	0.0001
อุณหภูมิ (B)	2	12.20712422	6.10356211	26578.96	0.0001
AB	6	0.28652622	0.04775437	207.95	0.0001
Error	24	0.00551133	0.00022964		

ตารางที่ ง.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนจากเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ปริมาณเอนไซม์(A)	3	0.18490100	0.06163367	14.37	0.0001
อุณหภูมิ(B)	2	0.84130972	0.42065486	98.09	0.0001
AB	6	0.04070183	0.00678364	1.58	0.1956
Error	24	0.10292600	0.00428858		

ตารางที่ ง.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
BLOCK	2	0.23512017	0.11756008	304.67	0.0001
ปริมาณเอนไซม์	3	0.09090333	0.03030111	78.53	0.0001
Error	6	0.00231517	0.00038586		

ตารางที่ ง.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่อุณหภูมิต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
BLOCK	3	0.09090333	0.03030111	78.53	0.0001
อุณหภูมิ	2	0.23512017	0.11756008	304.67	0.0001
Error	6	0.00231517	0.00038586		

ตารางที่ ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
pH (A)	2	4.30706478	2.15353239	6644.43	0.0001
เวลา (B)	1	1.56881089	1.56881089	4840.35	0.0001
AB	2	0.10671144	0.05335572	164.62	0.0001
Error	12	0.00388933	0.00032411		

ตารางที่ ง.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ pH และเวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
PH (A)	2	0.65493733	0.32746867	632.65	0.0001
เวลา (B)	1	1.42974050	1.42974050	2762.19	0.0001
AB	2	0.10630933	0.05315467	102.69	0.0001
Error	12	0.00621133	0.00051761		

ตารางที่ ง.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่ปริมาณกรด และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ปริมาณกรด (A)	3	0.13957838	0.04652613	377.16	0.0001
อุณหภูมิ (B)	1	0.77260405	0.77260405	6263.07	0.0001
AB	3	0.04844038	0.01614679	130.89	0.0001
Error	16	0.00197374	0.00012336		

ตารางที่ ง.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่ปริมาณกรด และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ปริมาณกรด (A)	3	2.33038713	0.77679571	2205.24	0.0001
อุณหภูมิ (B)	1	2.23809338	2.23809338	6353.71	0.0001
AB	3	0.35413846	0.11804615	335.12	0.0001
Error	16	0.00563600	0.00035225		

ตารางที่ ง.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากน้ำต้มปูที่เวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
เวลา	2	0.00141867	0.00070933	0.68	0.5426
Error	6	0.00627533	0.00104589		

ตารางที่ ง.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนที่ผลิตได้จากเปลือกปูที่เวลาในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
เวลา	2	0.17780689	0.08890344	39.34	0.0004
Error	6	0.01355867	0.00225978		

ตารางที่ ง.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ผู้ทดสอบ	9	6.50000000	0.72222222	2.89	0.0158
Treatment	3	12.12500000	4.04166667	16.17	0.0001
Error	27	6.75000000	0.25000000		

ตารางที่ ง.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ผู้ทดสอบ	9	3.80625000	0.42291667	1.65	0.1509
Treatment	3	11.76875000	3.92291667	15.31	0.0001
Error	27	6.91875000	0.25625000		

ตารางที่ ง.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นจากน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ผู้ทดสอบ	9	4.88000000	0.54222222	0.69	0.7095
Treatment	4	27.08000000	6.77000000	8.67	0.0001
Error	36	28.12000000	0.78111111		

ตารางที่ ง.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวเกรียบปูที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นจากน้ำต้มปูและเปลือกปูที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ

Source of variance	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
ผู้ทดสอบ	9	15.5200000	1.7244444	3.06	0.0080
Treatment	4	107.3200000	26.8300000	47.63	0.0001
Error	36	20.2800000	0.5633333		