การผลิตโปรตีนปลาสกัดจากหัวและเครื่องในปลา

Production of Fish Protein Isolates from Fish Heads and Viscera

จิตรวดี ไตรเรกพันธุ์

Chitwadee Trirekphan

เลขหมู่ TP 453.P4 จ63 2540 ฉ.2
Bib Key 131804
19 ธ.ค. 2543

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Prince of Songkla University

2540

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตโปรตีนปลาสกัดจากหัวและเครื่องในปลา

ผู้เขียน นางสาว จิตรวดี ไตรเรกพันธุ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพรัตน์ โสภโณดร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพรัตน์ โสภโณดร)

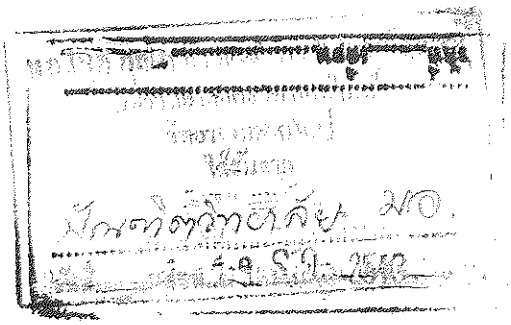
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล)

.....กรรมการ
(ดร.สุกัญญา จันทะชุม)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ก้าน จันทร์พรหมมา)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

.....
(ดร. ไพรัตน์ สงวนไทร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตโปรตีนปลาสกัดจากหัวและเครื่องในปลา

ผู้เขียน นางสาว จิตรวดี ไตรเรกพันธุ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2540

บทคัดย่อ

การทดลองใช้หัวและเครื่องในปลาทูน่าและปลาซาร์ดีนสดซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปสัตว์น้ำที่มีคุณภาพในระดับที่สามารถบริโภคได้ เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตโปรตีนปลาสกัด โดยทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัดและการตกตะกอนโปรตีน ผลการทดลองพบว่า เพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนสกัดสูงสุดสามารถทำการสกัดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิด ดังนี้ คือ สภาวะการสกัดโปรตีนจากส่วนหัวปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีนและเครื่องในปลาทูน่าโดยใช้สารละลายสกัดชนิดเดียวกัน คือ โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ อัตราส่วน 1 : 10 แต่มีสภาวะที่แตกต่างกัน คือ หัวปลาทูน่าสกัดที่พีเอช 13 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หัวปลาซาร์ดีน สกัดที่พีเอช 13 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และสำหรับเครื่องในปลาทูน่าสกัดที่พีเอช 11 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ส่วนเครื่องในปลาซาร์ดีน สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุดโดยใช้สารสกัด 2 ชนิด คือ โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ที่พีเอช 11 และโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ ที่พีเอช 13 โดยใช้อัตราส่วน 1 : 10 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที หลังจากนั้นทำการตกตะกอนโปรตีนที่สกัดจากหัวและเครื่องในปลาทูน่าโดยใช้ไอโซโพรพิล-แอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 3 และโปรตีนที่สกัดจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีนด้วยวิธีปรับพีเอชเป็น 4.0 - 4.5 ตะกอนที่ได้นำมาผ่านการกำจัดไขมันด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ก่อนการทำแห้งด้วยวิธีสูญญากาศ

โปรตีนสกัดที่ผลิตได้มีสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลดำ มีกลิ่นปลาเจือจาง โดยโปรตีนสกัดจากส่วนหัวปลาซาร์ดีนและหัวปลาทูน่ามีผลผลิตโดยน้ำหนักแห้งสูงสุด คือมีปริมาณร้อยละ 74.94 และ 64.78 ตามลำดับ ซึ่งประกอบด้วยปริมาณโปรตีนร้อยละ 78 และมีกรดอะมิโนรวม 67.32 และ 63.45 กรัมของกรดอะมิโนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วนโปรตีนสกัดจาก

เครื่องในปลาทูน่ามีปริมาณผลผลิตโดยน้ำหนักแห้งร้อยละ 54.33 แต่พบว่ามีองค์ประกอบของปริมาณโปรตีนสกัดสูงสุด คือ ร้อยละ 87.10 และมีปริมาณกรดอะมิโนรวม 70.61 กรัมของกรดอะมิโนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง สำหรับโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนพบว่ามีองค์ประกอบของโปรตีนและปริมาณผลผลิตต่ำกว่าที่พบในตัวอย่างชนิดอื่น ๆ ส่วนคุณสมบัติเชิงหน้าที่โปรตีนพบว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตมีคุณสมบัติการละลายสูงสุดร้อยละ 43.00 โปรตีนหัวปลาทูน่าสกัดมีค่าการเกิดอิมัลชั่นสูงสุด เท่ากับ 130.33 มิลลิลิตรน้ำมันต่อกรัมโปรตีน และโปรตีนเครื่องในปลาทูน่าสกัดและหัวปลาซาร์ดีนสกัดมีค่าการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงสุด คือ มีค่าประมาณร้อยละ 40.83 - 46.67 และ 16.89 - 17.01 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาทั้งในแง่ขององค์ประกอบทางเคมี ปริมาณผลผลิต และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะใช้โปรตีนสกัดจากหัวปลาซาร์ดีน เครื่องในปลาทูน่า และหัวปลาทูน่า เป็นโปรตีนเสริมในสูตรอาหารพวกแครกเกอร์ คุกกี้ ขนมขบเคี้ยว เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

Thesis Title	Production of Fish Protein Isolates from Fish Heads and Viscera
Author	Miss Chitwadee Trirekaphan
Major Program	Food Technology
Academic Year	1997

Abstract

Fish protein isolates were produced from good quality heads and viscera of skipjack tuna and sardine obtaining as by-product from processing factory. Various factors affecting the extraction and precipitation of fish protein were studied. The result showed that to obtain the maximum yield from each kinds of raw material, they were treated in different conditions. Optimum conditions for extraction of protein from tuna heads, sardine heads and tuna viscera were using the same extracting medium of 0.2 M. KCl at the ratio 1:10 under other conditions as follows : pH 13, 50°C and 30 min for tuna heads, pH 13, 45°C and 60 min for sardine heads ,and pH 11, 45°C and 120 min for tuna viscera, respectively. It was also found that sardine viscera could be extracted for maximum yield using both 0.4 M. KCl pH 13 and 0.01 M. $(NaPO_3)_6$ pH 11 at the ratio of 1:10, 45°C and 120 min. After that protein isolates from tuna heads and viscera could be precipitated by isopropanol at the ratio of 1:3 whereas protein isolates from sardine head and viscera were precipitated by adjusting pH to 4.0-4.5. The precipitants were further treated with isopropanol to remove fat and then were dried under vacuum.

The products were light brown to dark brown color and slightly fishy smell. The maximum yields were obtained from sardine heads and tuna heads of 74.94 and 64.78% by weight, containing about 78% protein with total amino acid of 67.32 and 63.45 g amino/100 g sample, respectively. Fish protein isolates from tuna viscera contained the highest protein at 87.10% and total amino acid of 70.61 g amino/100 g sample whereas the isolates from sardine viscera contained the lowest yield and protein content.

The results from functional properties testing showed that fish protein isolates from sardine viscera using $(NaPO_3)_6$ had the highest nitrogen solubility of 43.00%. Protein isolates from tuna heads gave the highest emulsion capacity of 130.33 ml. oil / g

protein. The products from tuna viscera and sardine heads showed the highest foaming capacity and stability of 40.83-46.67% and 16.89-17.01%, respectively. It can be concluded that fish protein isolates from sardine heads, tuna viscera and tuna heads were promising protein source for cracker, cookies and other snack foods.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ไพรัตน์ โสภโณดร ประธานกรรมการที่ปรึกษา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะในการศึกษาค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ ดร.สุกัญญา จันทะซุม และรองศาสตราจารย์ ดร.ก้าน จันทร์พรหมมา กรรมการสอบที่กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษาและค้นคว้าวิจัย ขอขอบคุณ บริษัทสงขลาแคนนิ่ง จำกัด และ บริษัทโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านวัตถุดิบ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ คุณย่า คุณนิทัศ พรรักษมณี และขอบคุณเพื่อนกลุ่มเตตระ พี่ ๆ น้อง ๆ ที่เป็นกำลังใจเสมอมา

จิตรวดี ไตรเรกพันธุ์

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพ	(11)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
1) ปลาทูน่า	3
2) ปลาซาร์ดีน	6
3) โปรตีนในกล้ามเนื้อปลา	7
4) เทคโนโลยีการแปรรูปโปรตีนปลา	11
โปรตีนปลาเข้มข้น	11
โปรตีนปลาสกัด	15
กระบวนการผลิตโปรตีนปลาสกัด	15
ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด	19
การตกตะกอนโปรตีน	26
5) คุณภาพโปรตีนปลาสกัด	30
6) การใช้ประโยชน์โปรตีนปลา	36
วัตถุประสงค์	37
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	38

สารบาญ (ต่อ)

	หน้า
3. ผลและวิจารณ์	44
ตอนที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ	44
ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดและการตกตะกอนโปรตีน	49
ตอนที่ 3 คุณสมบัติโปรตีนปลาสกัด	65
4. สรุป	75
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	
ก. วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี	90
ข. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ	105
ประวัติผู้เขียน	116

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาวของปลา	8
2	องค์ประกอบของโปรตีนในเนื้อปลาและเนื้อสัตว์	10
3	คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนของมารีนบีฟและแหล่งอื่นๆ	13
4	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้น โปรตีนสกัด และโปรตีนเส้นใย	31
5	ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนปลา และโปรตีนแหล่งอื่น	32
6	องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพของวัตถุดิบ	46
7	ผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนปลาสกัด	50
8	ผลการตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ที่อัตราส่วนต่างกัน และที่จุดไอโซอิเล็กตริก	64
9	ผลผลิตโปรตีนสกัด	67
10	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนปลาสกัด	69
11	ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในตัวอย่างปลาสดและโปรตีนปลาสกัด (กรัมของกรดอะมิโน / 100 กรัมของตัวอย่าง)	71
12	คุณสมบัติการทำหน้าที่ของโปรตีนปลาสกัด	73

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการแยกโปรตีนและสารประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนของเนื้อปลา	17
2	กระบวนการเตรียมไมโอไฟบริลลาโปรตีนด้วยวิธีดัดแปลงโดยใช้เอนไซม์	18
3	ผลของค่าพีเอชต่อการสกัดโปรตีนจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน	20
4	วัตถุดิบหัวและเครื่องในปลาทูน่าและปลาซาร์ดีน	45
5	ผลของค่าพีเอชร่วมกับสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากหัวปลา (โดยใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด)	53
6	ผลของค่าพีเอชร่วมกับสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลา	55
7	ผลของระยะเวลาสกัดต่อปริมาณโปรตีน	57
8	ผลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายสกัด	58
9	ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณโปรตีน	60
10	การตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก	62
11	โปรตีนปลาสกัด	66

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

จากแนวโน้มการขยายตัวของอุตสาหกรรมการผลิตปลาบรรจุกระป๋องที่เพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้มีปริมาณของวัสดุเศษเหลือเพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ Prasertsan และคณะ (1988) ทำการสำรวจวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเล ในเขตจังหวัดสงขลา 6 โรงงาน พบว่า การแปรรูปปลาทูน่ามีปริมาณการใช้วัตถุดิบสูงถึง 135 ตัน/วัน ปลาซาร์ดีนและแมคเคอเรล 100 ตัน/วัน โดยผลผลิตเฉลี่ยของปลาทูน่าและปลาซาร์ดีน ร้อยละ 33 และ 55 ตามลำดับ ที่เหลือจัดเป็นวัสดุเศษเหลือ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็ง มีปริมาณร้อยละ 25 - 30 ของวัตถุดิบ ได้แก่ เศษกระดูก หัว และหนังปลา ประมาณร้อยละ 20 - 24 นอกจากนี้อาจพบเศษเนื้อปลาทูน่าที่มีขนาดเล็กที่ผ่านความร้อนแล้วและยังไม่ผ่านความร้อน สำหรับโรงงานขนาด 34 - 40 ตันต่อวัน จะมีวัสดุเศษเหลือประมาณ 12 ตัน ส่วนมากมักขายรวมกันให้กับโรงงานปลาป่นในราคาประมาณ 1.5 - 3.0 บาทต่อกิโลกรัม และวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลว มีปริมาณร้อยละ 30 - 35 คือ น้ำเลือดปลาปริมาณร้อยละ 7 และน้ำนึ่งปลาปริมาณร้อยละ 10 - 14 ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญที่อาจนำมาสกัดสารที่ใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น โปรตีน ไขมัน เอนไซม์ และวิตามินหลายชนิด ส่วนใหญ่โรงงานแปรรูปยังไม่ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ จะปล่อยลงสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย

ผลิตภัณฑ์จากวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง ที่สามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม เช่น น้ำสกัดเข้มข้นจากปลา ซึ่งผลิตโดยการย่อยโปรตีนในน้ำนึ่งปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอส ผ่านการกรอง ฆ่าเชื้อ กำจัดไขมันและสารแขวนลอยออก และทำให้เข้มข้นขึ้น สามารถใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส หรือทำเป็นเครื่องจิ้มอาหาร น้ำมันปลา สามารถแยกจากส่วนของเครื่องในและส่วนของของเหลวที่ออกจากตัวปลา ใช้เป็นน้ำมันบริโภค ใช้ในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง ทำอาหารสัตว์ อุตสาหกรรมฟอกหนังเพื่อให้หนังนิ่ม เจลาตินเป็นสารประกอบโปรตีนที่ได้จากหนังปลา นำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมฟิล์มถ่ายรูป เป็นต้น และอาหารแมวบรรจุกระป๋อง ใช้วัตถุดิบจำพวกหัว หาง กระดูก หนัง

และเศษเนื้อสีดำ บรรจุรวมกับส่วนผสมของเหลว เช่น น้ำเกลือ เจลลี่ หรือ น้ำผัก ซึ่งจะมีชื่อเรียกตามส่วนผสมที่ใช้ เช่น ทูน่าในน้ำเกลือ หรือเจลลี่ หรือ น้ำผัก เป็นต้น (นิรนาม, 2534 ก)

เนื่องจากปลาเป็นแหล่งอาหารซึ่งมีโปรตีนอยู่ในปริมาณสูง และบริบูรณ์ไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นอย่างครบถ้วน จึงมีงานค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับการสกัดโปรตีนจากปลา โดยเฉพาะวัสดุเศษเหลือ ปลาเล็กปลาน้อย ปลาราคาถูก เพื่อผลิตโปรตีนสกัดและโปรตีนเข้มข้น ได้แก่ เส้นใยโปรตีนจากทั้งหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน (Tanaka, *et al.*, 1983) โปรตีนสกัดจากปลาเก๋า (Meinke, *et al.*, 1972 ; Meinke and Mattil , 1973) โปรตีนสกัดจากปลา Rockfish (Spinelli, *et al.*, 1972 ; Koury and Spinelli, 1975 ; Groninger and Miller, 1975 ; Miller and Groninger, 1976) โปรตีนสกัดจากปลา Flounder frame (Montecalvo, *et al.*, 1984 a ; b) โปรตีนเข้มข้นจากปลาซาร์ดีน (Moorjani, *et al.*, 1968 ; Moorjani and Lahiry, 1970) โปรตีนเข้มข้นจากปลา Bombay duck (Warrier and Ninjoor, 1981 ; Sen and Satyanarayana Rao, 1966 ; Sen, *et al.*, 1969) โปรตีนเข้มข้นจากปลาเฮกแดง (Tannenbaum, *et al.*, 1970 ; Cheftel, *et al.*, 1971) โปรตีนสกัดจากแหล่งอื่น ๆ เช่น ปลาหมึก (Kahn, *et al.*, 1974 ; Lee, *et al.*, 1974) คริล (Yanase , 1979 ; Suzuki, 1981) แต่การใช้วัสดุเศษเหลือจากหัวและเครื่องในเป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนสกัดยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งศึกษาแนวทางในการแยกโปรตีนด้วยเทคนิคอย่างง่าย จากหัวและเครื่องในปลาทูน่าและปลาซาร์ดีน ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือที่มีปริมาณมาก และอุดมด้วยโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการ มาใช้ประโยชน์ในการนำไปสู่การผลิตโปรตีนเพื่อการบริโภค เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมสัตว์น้ำอย่างคุ้มค่า

ตรวจเอกสาร

1.) **ปลาทูน่า** เป็นปลากระดูกแข็ง ที่อาศัยอยู่ตามผิวน้ำ จัดอยู่ในครอบครัว Scombridae วงศ์ Thunnini มีนิสัยออกหากินเป็นฝูง พบแหล่งที่อยู่อาศัยทั้งเขตชายฝั่งและเขตน้ำลึกบริเวณมหาสมุทรแปซิฟิก แอตแลนติก อินเดีย และอ่าวไทย (อมรา ชื่นพันธุ์ และ ไพโรจน์ ช้ายเกลี้ยง, 2534 ; Fonteneau and Marcille, 1993 ; Anonymous, 1993)

ปลาทูน่าหรือปลาโอที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมี 10 ชนิด คือ

1. ปลาโอดำ (*Thunnus tonggol*) หรือชื่อสามัญว่า Longtail tuna ลำตัวค่อนข้างกลมและส่วนหางยาว มีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ พื้นท้องด้านล่างสีขาวปนน้ำเงิน มีจุดกลมสีขาวจาง ๆ เรียงไปตามด้านล่างของลำตัวยาวเกือบจรดหาง ครีบก้นสีเทาเหลือง ส่วนครีบหางสีดำ

2. ปลาโอลาย (*Euthynnus affinis*) หรือชื่อสามัญว่า Kawakawa มีลักษณะคล้าย *Euthynnus alletteratus* หรือชื่อสามัญว่า Little Tunny ลำตัวด้านหลังมีสีน้ำเงินปนดำ มีจุดดำรูปไข่อยู่บริเวณครีบอกและครีบท้อง ด้านพื้นท้องมีสีเทาเงิน ลักษณะเด่น คือ มีเส้นดำลากพาดจากแนวท้องไปจรดเส้นข้างลำตัว

3. ปลาโอแกลบ (*Auxis thazard*) หรือชื่อสามัญว่า Frigate tuna มีรูปร่างค่อนข้างคล้ายปลาโอลาย แต่ลำตัวค่อนข้างกลม ความยาวลำตัวประมาณ 40 - 55 เซนติเมตร และครีบหลังทั้ง 2 ครีบแยกห่างกัน มีเส้นดำเป็นรอยประมากมายพาดจากแนวท้องไปจรดเส้นข้างลำตัว เหนือเส้นข้างลำตัวมีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ บริเวณท้องออกสีเงิน

4. ปลาโอหลอด (*Auxis rochei*) หรือชื่อสามัญว่า Bullet tuna เป็นปลาทูน่าขนาดเล็ก ความยาวลำตัวประมาณ 35 - 50 เซนติเมตร มีรูปร่างค่อนข้างกลมยาวคล้ายปลาโอแกลบ แต่รอบลำตัวกลมกว่า ครีบหลังทั้ง 2 ครีบห่างกันมาก และมีแถบสีเข้มพาดเฉียงลำตัวเล็กน้อย ประมาณ 12 - 16 แถบ ลำตัวด้านบนมีสีเข้ม ด้านท้องสีขาว ด้านในครีบอกสีดำ

5. ปลาโอแถบ (*Katsuwonus pelamis*) หรือชื่อสามัญว่า Skipjack tuna เป็นปลาทูน่าที่มีความยาวลำตัวประมาณ 80 - 100 เซนติเมตร มีรูปร่างกลมกว้างและเรียวคล้ายปลาโอลาย ครีบอกสั้นมาก ลำตัวมีสีดำปนเทา ด้านท้องมีสีเงินและแถบสีเข้มจำนวน 4 - 6 แถวขนานลำตัว

6. ปลาทูน่าครีบเหลือง (*Thunnus albacares*) หรือชื่อสามัญว่า Yellowfin tuna เป็นปลาทูน่าที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ความยาวลำตัวประมาณ 150 - 200 เซนติเมตร ลำตัวกว้างส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัวอยู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางครีบอกที่ 1 และมีสีน้ำเงินเข้มเป็นเงา ด้านท้องมีระดับสีอยู่ระหว่างสีน้ำเงินถึงเหลือง มีจุดสีขาวซีดเรียงตัวกันเป็นเส้นตรงพาดขวางลำตัว ครีบอกมีความยาวปานกลาง ครีบท้องและครีบหลังที่ 2 มีก้านยาวสังเกตได้ชัดเจน ครีบหลัง ครีบหางและครีบก้นมีสีเหลือง

7. ปลาทูน่าตาโต (*Thunnus obesus*) หรือชื่อสามัญว่า Bigeye tuna เป็นปลาทูน่าที่มีขนาดใหญ่ ความยาวลำตัวประมาณ 180 - 236 เซนติเมตร มีสีและรูปร่างภายนอกคล้ายกับปลาทูน่าครีบเหลือง เมื่อโตเต็มวัยมีรอบลำตัวกว้างและสั้นกว่า มีตาโต และมีเส้นสีขาวเรียงตัวกันเป็นเส้นตรงพาดขวางลำตัว

8. ปลาทูน่าครีบยาว (*Thunnus alalunga*) มีชื่อสามัญว่า Albacore tuna เป็นปลาทูน่าที่มีขนาดใหญ่ ความยาวลำตัวประมาณ 100 - 130 เซนติเมตร ส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัวอยู่ตรงครีบหลังที่ 2 ลำตัวด้านบนมีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ มีลักษณะเด่นที่ ครีบอกยาวเลยตำแหน่งของครีบหลังที่ 2 และครีบหางสีดำมีเส้นตัดขอบสีขาว

9. ปลาทูน่าครีบน้ำเงิน (*Thunnus thynnus*) มีชื่อสามัญว่า Bluefin tuna เป็นสายพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ความยาวลำตัวประมาณ 250 - 325 เซนติเมตร มีสีและรูปร่างลักษณะภายนอกคล้ายปลาทูน่าครีบเหลือง แต่มีครีบอกสั้น และครีบหลังที่ 2 สูงกว่าครีบหลังที่ 1

10. ปลาทูน่าครีบดำ (*Thunnus atlanticus*) มีชื่อสามัญว่า Blackfin tuna ความยาวลำตัวประมาณ 72 - 95 เซนติเมตร มีสีและรูปร่างลักษณะภายนอกคล้ายปลาทูน่าครีบเหลือง และมีครีบหลัง ครีบก้น ครีบหางสีดำ

ปริมาณการจับปลาทูน่าทั่วโลกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เพิ่มขึ้นจาก 2.85 ล้านเมตริกตัน ใน พ.ศ.2531 เป็น 3.21 ล้านเมตริกตัน ใน พ.ศ. 2536 ประเทศที่ทำประมงปลาทูน่า ได้แก่ ญี่ปุ่น ไตหวัน สเปน เกาหลี สหรัฐอเมริกา อินโดนีเซีย ฝรั่งเศส ฟิลิปปินส์ เม็กซิโก และประเทศไทย โดยประเทศญี่ปุ่นจับเฉพาะปลาทูน่าได้มากที่สุด ปริมาณร้อยละ 24.25 ของปริมาณผลผลิตปลาทูน่าทั่วโลก ปลาโอแถบเป็นสายพันธุ์ที่จับได้ปริมาณมากที่สุดร้อยละ 50 รองลงมาคือปลาทูน่าครีบเหลือง ซึ่งจับได้ในปริมาณสูงสุด ในปี 2536 คือ 1.1 ล้านเมตริกตัน ส่วนปลาทูน่าตาโต ปลาทูน่าครีบยาว และปลาทูน่าครีบน้ำเงิน มีสถิติการจับปริมาณรวม 2 แสนเมตริกตันต่อปี แหล่งจับปลาทูน่าที่ใหญ่ที่สุด คือ มหาสมุทรแปซิฟิก มหาสมุทรอินเดีย

และมหาสมุทรแอตแลนติก จับได้ปริมาณร้อยละ 65 20 และ 15 ตามลำดับ (Peckham, 1995) ตั้งแต่ปี 2535 - 2537 ในบริเวณมหาสมุทรอินเดียตะวันตกแถบเกาะซีเชล ในประเทศสเปนจับได้ประมาณร้อยละ 60 ของผลผลิตที่จับได้บริเวณนี้ รองลงมาเป็นประเทศฝรั่งเศส ซึ่งเน้นการจับปลาทูน่าครีบเหลือง ส่วนประเทศญี่ปุ่น ประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศเอควาดอร์ เน้นการจับปลาโอแถบ (นิรนาม, 2537) ส่วนปลาทูน่าขนาดเล็ก ซึ่งได้แก่ ปลาโอดำ ปลาโอลาย นั้นส่วนมากจับได้โดยประเทศอินเดียและอินโดนีเซีย (ธรรมศักดิ์ โปรียานนท์, 2532)

อุตสาหกรรมแปรรูปปลาทูน่า

ปลาทูน่าจัดว่าเป็นปลาที่มีมูลค่าสูงทางเศรษฐกิจของหลาย ๆ ประเทศทั่วโลก ซึ่งในช่วงตั้งแต่ คศ.1980 ปริมาณ ร้อยละ 80 ของปลาทูน่าที่มีการจับทั่วโลก นำไปใช้ทางด้านการผลิตเป็นปลาทูน่ากระป๋อง (จุมพล นาคะลักษณ์, 2531) ส่วนมากนิยมบรรจุในน้ำมันพืช น้ำหรือน้ำเกลือ นอกจากนี้ปลาทูน่ายังสามารถนำไปทำผลิตภัณฑ์ปลาดิบ (Sashimi) นิยมผลิตจากปลาทูน่าครีบน้ำเงิน ปลาทูน่าตาโต และปลาทูน่าครีบเหลือง ซึ่งเป็นปลาที่มีรสชาติดี ในประเทศญี่ปุ่นมีการผลิตมากกว่า 5 แสนเมตริกตันต่อปี เนื้อปลาทูน่าแช่เยือกแข็ง (Tuna loin) เป็นผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปเพื่อนำไปนึ่งหรือย่าง ผลิตภัณฑ์รมควัน ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาทูน่า และคัทซึโอบูชิ (Kutsuobushi) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์แห้งคล้ายท่อนไม้นำมาต้มเอาส่วนน้ำมาทำน้ำซุป หรือน้ำจิ้มเทปุระ หรืออาจนำไปผัดปรุงรสหวาน (Subasinghe, 1996) สำหรับประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและผู้ส่งออกปลาทูน่ากระป๋องรายใหญ่ พ.ศ. 2536 มีกำลังการผลิต 30.8 ล้านหีบ (48 X 6.5 ออนซ์) เป็นอันดับ 2 รองจากประเทศสหรัฐอเมริกา วัตถุดิบส่วนใหญ่ใช้ปลาโอแถบ ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ คิดเป็นร้อยละ 80 ของปริมาณวัตถุดิบทั้งหมด ในขณะที่เป็นผู้ส่งออกมากที่สุด ปริมาณส่งออก 29.2 ล้านหีบ (48 X 6.5 ออนซ์) คิดเป็นร้อยละ 52.15 ของผลผลิตรวมที่ส่งออกทั่วโลก ตามมาด้วย ประเทศฟิลิปปินส์ ประเทศไอโวรี และประเทศอินโดนีเซีย ตามลำดับ ตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศสมาคมร่วมยุโรป ประเทศแคนาดา ประเทศญี่ปุ่น และประเทศอังกฤษ (Peckham, 1995)

2.) **ปลาซาร์ดีน** เป็นปลากระดูกแข็งที่มีขนาดเล็ก อาศัยอยู่ตามผิวน้ำ และจัดอยู่ในครอบครัว Clupeidae สกุล *Sardinella spp.* พบทั่วไปตาม 2 ชายฝั่งทะเลมหาสมุทรแอตแลนติก ในเมดิ - เตอร์เรเนียน และบริเวณเขตน้ำอุ่นในอินโดแปซิฟิก มหาสมุทรอินเดีย มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่น เช่น ปลาหลังเขียว ปลาอกแล ปลาแซลั้น เป็นต้น (ดำริห์ สมใจวงษ์, 2536 ; Anonymous, 1985)

ปลาซาร์ดีนที่มีแหล่งอาศัยบริเวณน่านน้ำประเทศไทยมี 7 ชนิด คือ

1. *Sardinella albella* (White sardinella) มีจุดสีดำบริเวณครีบหลัง มีลักษณะใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *S. fimbriata* และ *S. dayi* ขนาดลำตัว 10 - 14 เซนติเมตร

2. *Sardinella brachysoma* (Deepbody sardinella) มีลักษณะลำตัวกว้างและสั้น มีจุดสีดำบริเวณครีบหลัง มีขนาดความยาวลำตัวประมาณ 12 - 13 เซนติเมตร

3. *Sardinella fimbriata* (Fringescale sardinella) มีชื่อสามัญว่า Chalamathi หรือ Washi หรือ Saudai รูปร่างเป็นทรงกระบอก และลำตัวกว้างปานกลาง มีจุดดำที่บริเวณครีบหลังของลำตัว มีขนาดความยาวลำตัว 11 - 13 เซนติเมตร

4. *Sardinella gibbosa* (Goldstripe sardinella) มีชื่อสามัญว่า Chalamathi Hwang lum หรือ Tembang หรือ Kavallu หรือ Ju shi sha-tin หรือ ปลาหลังเขียว (pha lang keo) มีลำตัวเป็นวงรีปานกลาง มีแถบข้างลำตัวสีทองตั้งแต่ช่วงกลางลำตัว ที่บริเวณครีบหลังและหางมีสีเทาดำ และมีจุดสีดำบริเวณครีบหลัง ความยาวลำตัวประมาณ 15 - 17 เซนติเมตร เป็นสายพันธุ์ที่มีความสำคัญมากที่สุดในเขต อินโดแปซิฟิกตะวันตก

5. *Sardinella longiceps* (Indian oil sardine) มีชื่อสามัญว่า Mathi หรือ Boothai หรือ Taralai มีขนาดลำตัวยาว มีจุดสีดำบริเวณขอบกระพุงแก้ม และเส้นข้างลำตัวเป็นสีทอง ความยาวลำตัวประมาณ 20 - 23 เซนติเมตร

6. *Sardinella lemuru* (Bali sardinella) มีชื่อสามัญว่า Hwang tseih หรือ Lemuru หรือ Hwang sha-tin มีลำตัวยาว ลักษณะภายนอกคล้ายกับ *S. longiceps* แต่ส่วนหัวสั้นกว่า ความยาวลำตัวประมาณ 20 - 23 เซนติเมตร

7. *Sardinella atricauda* (Bleeker' s blacktip sardinella) รูปร่างเป็นทรงกระบอก ไม่มีจุดสีดำที่ครีบหลัง แต่มีแถบสีดำที่ปลายครีบหาง เช่นเดียวกับสายพันธุ์ *S. melanura* ความยาวลำตัวประมาณ 10 - 12.6 เซนติเมตร

ปลาซาร์ดีนจัดเป็นปลาชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ โดยเฉพาะประเทศที่ทำประมงในบริเวณอินโดแปซิฟิกตะวันตก ประเทศอินเดีย และประเทศแถบเอเซียตะวันตกเฉียงใต้ สายพันธุ์ที่พบมากที่สุด คือ *S. longiceps* และ *S. aurita* จากสถิติการประมงปี 2534 ประเทศไทยมีผลผลิตปลาทะเลรวม 2.02 ล้านตัน เป็นปลาซาร์ดีนปริมาณมากที่สุด 140.9 พันตัน แต่มีมูลค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาทูและปลาโอดำ ในช่วงระหว่าง พ.ศ. 2530 - 2534 ปริมาณปลาซาร์ดีนที่จับได้ในประเทศค่อนข้างคงที่ ส่วนใหญ่จับจากบริเวณอ่าวไทยปริมาณร้อยละ 79.65 และฝั่งมหาสมุทรอินเดียปริมาณร้อยละ 20.69 (นิรนาม, 2534 ข) โดยในบริเวณอ่าวไทยจับปลาซาร์ดีนในสกุล *S. gibbosa* ได้มากที่สุด ประมาณร้อยละ 80 - 95 ของปริมาณปลาซาร์ดีนที่จับได้ทั้งหมด (ดำริห์ สมใจวงษ์, 2536)

ปลาซาร์ดีนเป็นปลาเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง นิยมผลิตเป็นปลาซาร์ดีนในซอสมะเขือเทศ ปลาซาร์ดีนราดพริก ปลาซาร์ดีนในซอสมัสตาด ปลาซาร์ดีนในน้ำมัน เป็นต้น

3.) โปรตีนในกล้ามเนื้อปลา

สัดส่วนที่รับประทานได้ของเนื้อปลา จะขึ้นอยู่กับ ชนิด รูปร่าง อายุ และฤดูกาลจับก่อนและหลังการวางไข่ โดยทั่วไปคิดเป็นร้อยละ 45 - 50 ของน้ำหนักตัวปลา ปลาที่มีรูปร่างเป็นวงรีหรือรูปไข่ เช่น ปลาทูน่า ปลาแซลมอน มีส่วนที่รับประทานได้มากกว่าร้อยละ 60 ส่วนปลาที่มีส่วนหัวหรือท้องใหญ่ เช่น ปลาคอด ปลาอลาสก้าพอลแลค หรือปลาที่มีรูปร่างแบน เช่น ปลาโซล จะมีส่วนที่รับประทานได้ร้อยละ 35 - 40 (Suzuki, 1981) กล้ามเนื้อปลาแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ กล้ามเนื้อขาวและกล้ามเนื้อดำ ปลาทูน่าและปลาซาร์ดีนจะมีปริมาณกล้ามเนื้อดำมากกว่าร้อยละ 12 ของปริมาณกล้ามเนื้อทั้งหมด พบกล้ามเนื้อดำอยู่สองข้างตามเส้นข้างตัวภายใต้ผิวหนัง ในกล้ามเนื้อดำของปลาซาร์ดีน ปลาทูน่า ปลาแมคเคอเรล จะพบสารไตรเมทิลลามีนออกไซด์ (TMAO) เมื่อเกิดการสลายตัวได้สารไตรเมทิลามีน (TMA) เป็นสารประกอบที่ระเหยได้และมีกลิ่นคาว ในปริมาณที่สูงมากกว่าในกล้ามเนื้อขาว (Watabe, 1979) องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาวของปลาชนิดเดียวกันมีความแตกต่างกัน (ตารางที่1) กล้ามเนื้อปลาโดยทั่วไปประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 15 - 24 ไขมันร้อยละ 0.1 - 22 สารประกอบอินทรีย์ร้อยละ 0.8 - 2 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 1 - 3 และน้ำร้อยละ 66 - 84 (The Ministry of Science and Technology of Japan , 1980)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาวของปลา

ชนิดปลา	ชนิดกล้ามเนื้อ	ปริมาณ (ร้อยละ)			ที่มา
		ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	
ทูน่า (ครีบน้ำเงิน)	ดำ	66.4	22.9	6.7	1
(*Thunnus thynnus*)	ขาว	68.5	25.1	4.6	1
ทูน่า (โอแถบ)	ดำ	66.4	28.7	2.2	2
(*Euthynnus pelamis*)	ขาว	67.5	30.0	0.3	2
ซาร์ดีน	ดำ	70.0	15.9	12.8	1
(*Sardinops melanosticta*)	ขาว	72.0	23.1	2.9	1
แมคเคอเรล	ดำ	54.2	14.9	29.7	1
(*Scomber scombrus*)	ขาว	65.5	21.2	13.1	1
แฮริ่ง	ดำ	57.8	15.5	28.2	1
(*Clupea harengus pallasi*)	ขาว	74.0	22.0	13.0	1
คอด	ดำ	77.8	18.6	2.5	1
(*Gadus morhua macrocephalus*)	ขาว	78.4	19.9	0.5	1
ฮาลิบัช	ดำ	62.0	11.3	27.3	1
(*Hippoglossus stenolepis*)	ขาว	77.7	14.5	7.0	1

ที่มา : 1 ดัดแปลงจาก Watabe (1979)

2 ดัดแปลงจาก Geiger (1951)

ปลาทูน่าจัดเป็นปลาที่มีไขมันต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 5) และมีปริมาณโปรตีนสูง (มากกว่าร้อยละ 20) (Stansby and Hall , 1967) ปลาโอแถบประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 19.32 - 25.57 ไขมันร้อยละ 1.40 - 3.58 เถ้าร้อยละ 1.47 - 2.85 และความชื้นร้อยละ 68.43 - 75.81 (Balogun and Talabi, 1986) Vlieg และคณะ (1983) รายงานองค์ประกอบทางเคมีของส่วนหัวปลาโอแถบว่าพบโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ปริมาณร้อยละ 20.0 11.0 7.7 และ 61.3 ตามลำดับ ส่วนในเครื่องในมีปริมาณร้อยละ 21.8 6.9 2.3 และ 69.0 ตามลำดับ สำหรับปลาซาร์ดีน (*Sardina pilchardus*) มีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าว ร้อยละ 15.5 - 18.4 1.6 - 22.4 2.6 - 3.9 และ 58.2 - 78.6 ตามลำดับ (Nunes, *et al.*, 1992) ส่วนหัวปลาซาร์ดีน (*Sardinops melanosticta*) มีปริมาณร้อยละ (น้ำหนักแห้ง) 10.6 13.4 และ 6.8 ตามลำดับ ส่วนเครื่องในมีปริมาณร้อยละ (น้ำหนักแห้ง) 7.6 55.5 และ 0.8 ตามลำดับ (Tanaka, *et al.*, 1983)

องค์ประกอบของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลา

โปรตีนในกล้ามเนื้อปลาประกอบด้วยไมโอไฟบริลลาโปรตีน ประมาณร้อยละ 70 - 80 ซาร์โคพลาสมิกโปรตีนร้อยละ 20 - 30 และสโตรมาร้อยละ 2 - 3 กล้ามเนื้อปลาซาร์ดีนมีไมโอไฟบริลลาโปรตีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงที่สุด คือร้อยละ 62.5 - 59.2 และซาร์โคพลาสมิกโปรตีนร้อยละ 29 - 34 ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าในปลาที่มีกล้ามเนื้อขาวเป็นองค์ประกอบสูง สโตรมาโปรตีนมีปริมาณร้อยละ 1.6 - 2.3 ส่วนกล้ามเนื้อวัวมีสโตรมาโปรตีนในปริมาณที่สูง (ตารางที่ 2) (Suzuki, 1981)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของโปรตีนในเนื้อปลาและเนื้อสัตว์

ชนิดของปลาและเนื้อสัตว์	ซาร์โคพลาสมิก โปรตีน	ไมโอไฟบริลลา โปรตีน	สโตรมา
	(ร้อยละ ของโปรตีนทั้งหมด)		
ปลาคอด	21	76	3
ปลาคาร์พ	23 - 25	70 - 72	5
ปลาซาร์ดีน	29 - 34	62.4 - 59.2	1.6 - 2.3
กระต่าย เนื้อวัว	16 - 28	39 - 68	16 - 28

ที่มา : ดัดแปลงจาก Suzuki (1981)

ปัจจัยที่มีผลทำให้ปลามีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน ได้แก่ อายุ ขนาดของลำตัว ฤดูกาลก่อนและหลังการวางไข่ และสภาวะอาหาร เป็นต้น จากรายงานของ Balogun และ Talabi (1986) กล่าวว่าขนาดของปลาโอแถบไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน ความชื้น และเถ้า แต่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นปริมาณไขมันและการลดลงของปริมาณเกลือ ($P<0.05$) นั่นคือปลาตัวที่มีขนาดใหญ่กว่าจะมีปริมาณไขมันเป็นองค์ประกอบสูงกว่า และมีปริมาณเกลือต่ำกว่าปลาที่มีขนาดเล็ก และพบว่าฤดูกาลมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี ($P<0.05$) โดยปริมาณโปรตีนสูงในช่วงเดือนมกราคมและต่ำในช่วงเดือนตุลาคม ปริมาณน้ำและไขมันในปลาสายพันธุ์เดียวกันมีความสัมพันธ์กันแบบผกผัน นั่นคือระหว่างฤดูกาลที่ทำให้ปริมาณไขมันในตัวปลาสูงปริมาณน้ำจะต่ำลง และในทางกลับกันในระหว่างฤดูกาลที่มีปริมาณน้ำสูงก็มีปริมาณไขมันต่ำ เช่น ปลาซาร์ดีนที่มีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 20 มีปริมาณน้ำร้อยละ 60 ใน

ช่วงเดือน สิงหาคม ถึงตุลาคม ส่วนที่มีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 5 พบว่ามีปริมาณน้ำร้อยละ 73 ในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ ถึงมีนาคม (Sato, *et al.*, 1978 ; Nunes, *et al.*, 1992)

4.) เทคโนโลยีการแปรรูปโปรตีนปลา

การแปรรูปโปรตีนปลาเริ่มต้นจากการผลิตปลาแห้งผง ในปี คศ.1890 ประเทศนอร์เวย์ผลิตปลาแห้งผงเป็นการค้า และต่อมาหลายประเทศพยายามพัฒนากระบวนการผลิต จนปี คศ. 1960 - 1970 การผลิตโปรตีนปลาเริ่มพัฒนาขึ้นในรูปของโปรตีนปลาเข้มข้น เพื่อแก้ไขปัญหาการขาดแคลนสารอาหารโปรตีนของประชากรในประเทศด้อยพัฒนา เช่น ประเทศอินเดีย ประเทศบราซิล ประเทศแอฟริกา เป็นความร่วมมือของประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก ขณะเดียวกันก็เล็งเห็นถึงศักยภาพการใช้ประโยชน์จากปลาเล็กปลาน้อยจำนวนมากที่สูญเสียไป โดยไม่มีการเก็บรักษาที่ดีในระหว่างการขนส่ง โปรตีนปลาเข้มข้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ประสบความสำเร็จในด้านการนำไปใช้งานเท่าที่ควร เหตุผลสำคัญเนื่องจากการสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ทั้งหมด จึงเริ่มมีพัฒนาการผลิตโปรตีนด้วยการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซส ใช้เทคโนโลยีพัฒนาโปรตีนเป็นรูปแบบต่าง ๆ เช่น โปรตีนเส้นใย และโปรตีนปลาแบบเนื้อเทียม เป็นต้น

โปรตีนปลาเข้มข้น

เป็นผลิตภัณฑ์ปลาป่นที่ผลิตด้วยวิธีที่เหมาะสมเพื่อใช้สำหรับบริโภค ผลิตโดยการสกัดเอาไขมันและขจัดสารที่ละลายได้ที่นอกเหนือจากโปรตีนออกจากปลาด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ แอลกอฮอล์ เฮกเซน และ เอทิลอะซิเตต เป็นต้น ภายใต้อุณหภูมิ 70 - 100 องศาเซลเซียส 2 - 3 ครั้ง ระเหยเอาน้ำและสารละลายสกัดที่ตกค้างออก ทำให้ได้โปรตีนที่เข้มข้นขึ้น และบดเป็นผงละเอียด ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีกลิ่นและรส และประกอบด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Pariser ,*et al.*, 1978 ; Sikorski and Naczk, 1981 ; Mackie, 1994)

สามารถแบ่งโปรตีนปลาเข้มข้นออกเป็น 2 ชนิด ตามลักษณะของผลิตภัณฑ์ ความบริสุทธิ์ ตลอดจนกรรมวิธีการผลิต ดังนี้

1. โปรตีนปลาเข้มข้น Type A เป็นโปรตีนเข้มข้นจากปลาที่ผ่านการแยกสกัดโดยตัวทำละลาย ผลิตภัณฑ์เป็นผง ไม่มีกลิ่นและรส มีปริมาณไขมันในองค์ประกอบไม่เกินร้อยละ 0.75 และมีโปรตีนอย่างต่ำร้อยละ 67.5

2. โปรตีนปลาเข้มข้น Type B เป็นโปรตีนเข้มข้นจากปลาที่ไม่ได้ผ่านการแยกสกัดโดยตัวทำละลาย ผลิตด้วยวิธีที่ถูกสุขลักษณะ ผลิตภัณฑ์เป็นผง มีกลิ่นได้ในปริมาณที่จำกัด มีปริมาณไขมันในองค์ประกอบต่ำกว่าร้อยละ 3

แม้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่ยังมีปัญหาที่สูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญ เช่น สมบัติการกระจายตัว การละลาย การเกิดเจล และการเป็นอิมัลชั่น ทั้งยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ส่วนโปรตีนเข้มข้น Type A จะมีราคาแพงจนไม่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนในประเทศด้อยพัฒนาได้ จึงปรับปรุงการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติที่ดีขึ้น โดยใช้วิธีการต่าง ๆ เช่น การผลิตภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง (Cobb and Hyder, 1972 ; Toledo, 1973) ได้แก่ การปรับปรุงด้วยวิธีทางเคมี ใช้ด่างร่วมในกระบวนการผลิต หรือการผลิตโปรตีนโดยอาศัยการสังเคราะห์พลาสตินขึ้นมาใหม่ และวิธีการใช้เอนไซม์ (Cheftel, *et al.*, 1971 ; Atcher , *et al.*, 1973 ; Hevia and Olcott, 1977) ทั้งนี้ผลิตผลโปรตีนที่ผ่านการใช้เอนไซม์อาจทำให้เกิดรสขม เช่น การใช้เอนไซม์โบรมิเลนจะย่อยได้พันธะเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 800 พบว่าที่บริเวณ N-terminal มีสัดส่วนกรดอะมิโนที่เป็นเบส เช่น ไกลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน ฟีนิลอะลานีน และวาลีน สูงกว่ากรดอะมิโนที่เป็นกรด เช่น กลูตามิก Tannenbaum และคณะ (1970) ใช้ด่างเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติการละลาย แต่จะทำให้สูญเสียกรดอะมิโนบางส่วนจากปฏิกริยา racemization ส่วนการประเมินคุณภาพของโปรตีน พบว่าค่า PER (Protein Efficiency Ratio) เท่ากับ 3.5 โดยทั้งหนูทดลองและเด็กที่มีอายุ 6 ถึง 12 ปี หลังได้รับอาหารที่ผสมโปรตีนปลาเข้มข้น 6 เดือน จะมีความสูง น้ำหนัก ปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณฮีโมโกลบินสูงกว่าชุดควบคุม (Moorjani and Lahiry, 1970)

ในประเทศญี่ปุ่นมีการพัฒนาโปรตีนปลาเข้มข้น โดยใช้เทคโนโลยีการแปรรูปใหม่ ๆ ทำให้ได้โปรตีนที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสคล้ายคลึงกับเนื้อวัว คืนรูปได้ง่าย เรียกว่า **มารีนบีฟ (Marine beef)** มีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ สีน้ำตาลอ่อน ไม่มีกลิ่นคาวปลา เมื่อแช่อยู่ในน้ำจะสามารถพองตัวจนมีน้ำหนักเป็น 5 เท่า ประกอบด้วยโปรตีนสูงถึงร้อยละ 90 ปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักแห้ง วัตถุดิบที่นิยมใช้ในการผลิตมารีนบีฟ ได้แก่ ปลาอลาสก้า - พอลแลค ปลาบลูไวติ้ง ปลาเฮก ปลากระตัก และปลาซาร์ดีน เป็นต้น วิธีการผลิตโดยการล้างเนื้อปลาด้วยน้ำเย็นพร้อมมีการกวนตลอดเวลา สำหรับปลาที่มีไขมันสูงจะล้างในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 0.5 ก่อนที่จะล้างต่อด้วยน้ำ กำจัดน้ำและไขมันส่วนเกินออก ให้เนื้อปลาบดมีน้ำอยู่ประมาณร้อยละ 83 - 84 นวดด้วยเครื่องจนมีลักษณะข้น

ในสภาวะที่มีค่าพีเอชประมาณ 7.4 - 7.8 ผ่านเข้าเครื่องเอ็กซ์ทรูดครั้งที่ 1 และตกตะกอนในถังเอธานอลที่เย็น หลังจากนั้นจะบีบอัดผ่านเครื่องเอ็กซ์ทรูดอีกครั้ง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเม็ดเล็ก ๆ (Pellet) ส่งเข้าสู่ถังเอธานอลถังที่ 2 แล้วทำแห้ง ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยสำหรับการบริโภคและมีคุณค่าทางโภชนการสูง ใกล้เคียงคุณค่าทางโภชนาการกับไข่ทั้งฟองและสูงกว่าโปรตีนนมและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (ตารางที่ 3) ปัจจุบันมีการผลิตภายใต้ชื่อทางการค้าว่า Marinbeef ® โดย บริษัท Niigata Engineering จำกัด ผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยโปรตีนมากกว่าร้อยละ 85 ปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักแห้ง และมีความชื้นร้อยละ 5 - 12 (Suzuki, 1981 ; Mackie, 1994)

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนมารีนบีฟและแหล่งอื่น ๆ

ค่าทางโภชนาการ	มารีนบีฟ		ไข่ทั้งฟอง	เคซีน	ถั่วเหลือง
	อลาสก้าพอลแลค	ซาร์ดีน			
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของหนูทดลอง	5.1	5.3	5.7	3.4	1.7
PER	3.7	3.5	3.9	2.8	1.8
NER	5.9	5.5	6.1	5.4	3.8
Digestibility (ร้อยละ)	99	98	95	98	95
Biological value	89	92	100	78	58
NPU	88	90	95	76	55

ที่มา : Suzuki (1981)

การพัฒนาการผลิตโปรตีนปลาโดยใช้เทคโนโลยีเข้าร่วมอีกชนิดหนึ่ง คือ เส้นใยโปรตีน ซึ่งนำเอาโปรตีนมาละลายในสารละลายด่าง แล้วผ่านเข้าเครื่องทำเป็นเส้นใยและให้อยู่ตัวในสารละลายกรด หลังจากนั้นนำมายืดให้ตึงโดยใช้ลูกกลิ้งรีด ยึดรวมเข้าด้วยกันด้วยตัวเชื่อมที่รับประทานได้ ปรุงแต่งสี กลิ่น รส และทำให้เป็นรูปลักษณะที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์มีลักษณะคล้ายเนื้อเทียม (Boyer, 1954) Mackie และ Thomson (1982) เตรียมเส้นใยโปรตีนปลา โดยการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง ที่พีเอช 11.5 แล้วทำให้โปรตีนมีความเข้มข้นร้อยละ 3 - 4 ผ่านเครื่องทำเป็นเส้นใยที่มีรูขนาด 100 - 200 ไมโครเมตร และตกตะกอนในสารละลายผสมที่ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 1นอร์มอล และกรดอะซิติกเข้มข้น 0.5 นอร์มอล Tanaka และคณะ (1983) ตกตะกอนเส้นใยโปรตีนที่สกัดจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีนด้วยสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1 นอร์มอลในเอธานอล พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า ปริมาณเถ้าและไขมันต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการตกตะกอนในสารละลายกรด เส้นใยโปรตีนปลาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการการพัฒนาในหลายด้าน ได้แก่ รูปลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีการผลิต การป้องกันการเสื่อมเสียระหว่างการเก็บรักษา และความปลอดภัยต่อการบริโภค

โปรตีนสังเคราะห์ด้วยหลักการ Plastein reaction เป็นอีกแนวทางหนึ่งเพื่อปรับปรุงคุณภาพของโปรตีน ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ได้เกิดจากปฏิกิริยาการย่อยโปรตีนเพียงบางส่วน ด้วยเอนไซม์ ร่วมกับการทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ตรงกันข้ามกับปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ปกติ เพื่อกำจัดรสขม กำจัดสารปนเปื้อน หรือลดปริมาณกรดอะมิโนบางชนิด ออกจากการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซสและโปรตีนสกัด สภาวะปกติของการผลิตโปรตีนสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้ จะต้องใช้ความเข้มข้นของกรดอะมิโนและพันธะเปปไทด์ตั้งต้นเกินร้อยละ 30 และให้ระดับพีเอชแตกต่างกันระหว่างพีเอชของการไฮโดรไลซ์โปรตีนและพีเอชของการเกิดสังเคราะห์พลาสติน เช่น ย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์เปปซินที่พีเอช 2 และทำให้เกิดการสังเคราะห์พลาสตินที่พีเอชเป็นกลาง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะประกอบด้วยสัดส่วนของพันธะเปปไทด์และกรดอะมิโนที่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น ได้ผลผลิตโปรตีนร้อยละ 35 (Hudson , 1994) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีนเริ่มต้น เอนไซม์ และสภาวะของการเกิดปฏิกริยา Montecalvo และคณะ (1984b) ผลิตโปรตีนพลาสติน โดยย่อยสลายโปรตีนปลาสกัดด้วยเอนไซม์เปปซินที่พีเอช 1.65 แล้วทำการสังเคราะห์พลาสตินด้วยเอนไซม์เปปซิน ภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้นของสารเริ่มต้นร้อยละ 40 ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1 ที่พีเอช 5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 50

หลังจากนั้นทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง ได้ปริมาณผลผลิตโปรตีนร้อยละ 46.1 ผลิตภัณฑ์โปรตีนมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าร้อยละ 90 ไม่มีไขมัน และปริมาณเถ้าต่ำกว่าร้อยละ 1

โปรตีนปลาสกัด (Fish Protein Isolates)

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแยกโปรตีนออกจากแหล่งวัตถุดิบ เช่น ปลาหรือวัสดุเศษเหลือจากปลา ทำให้ความบริสุทธิ์ของโปรตีนเพิ่มขึ้น กระบวนการผลิตรวมถึงการขจัดปริมาณเถ้า น้ำ ไขมัน ของแข็งทั้งส่วนที่ละลายและไม่ละลายน้ำออกไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีองค์ประกอบของโปรตีนสูงมากกว่าร้อยละ 80 โดยทั่ว ๆ ไปจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงสีขาว กลิ่นเจือจาง มีคุณค่าทางโภชนาการและกรดอะมิโนที่จำเป็นสูง โปรตีนปลาสกัดจากปลา Rockfish มีคุณสมบัติการทำหน้าที่ที่ดี ผลิตภัณฑ์มีสีขาว มีกลิ่นเจือจาง และไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 93.5 ไขมันร้อยละ 0.15 และฟอสเฟตร้อยละ 1.4 โดยน้ำหนักแห้ง มีค่า PER เท่ากับ 3.1 ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ใช้เคซีน (Spinelli, *et al.*, 1972b) ทั้งนี้ยังไม่มีมาตรฐานกำหนดคุณภาพสำหรับโปรตีนปลาสกัดที่แน่นอน เนื่องจากไม่มีการผลิตเป็นการค้าอย่างแพร่หลายเหมือนเช่นโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

กระบวนการผลิตโปรตีนปลาสกัด

หลักการผลิตโปรตีนสกัดโดยทั่วไปมี 4 ขั้นตอน (Meinke, *et al.*, 1972)

1. การสกัดโปรตีน ด้วยน้ำที่มีค่าพีเอชที่เหมาะสม หรือ / และสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสม

2. การแยกส่วนที่ไม่ละลาย ได้แก่ กระดูก เกล็ด หนัง ผังผืด เป็นต้น ออกจากสารละลายโปรตีน โดยการหมุนเหวี่ยงหรือการกรอง

3. การตกตะกอนโปรตีนออกมาจากสารละลายที่พีเอชหรือการเจือจางที่เหมาะสม

4. การกำจัดส่วนอื่นที่ไม่ต้องการ ได้แก่ กลิ่น สี ไขมัน เกลือและตัวทำละลาย เป็นต้น แล้วทำแห้งด้วยวิธีการที่เหมาะสม

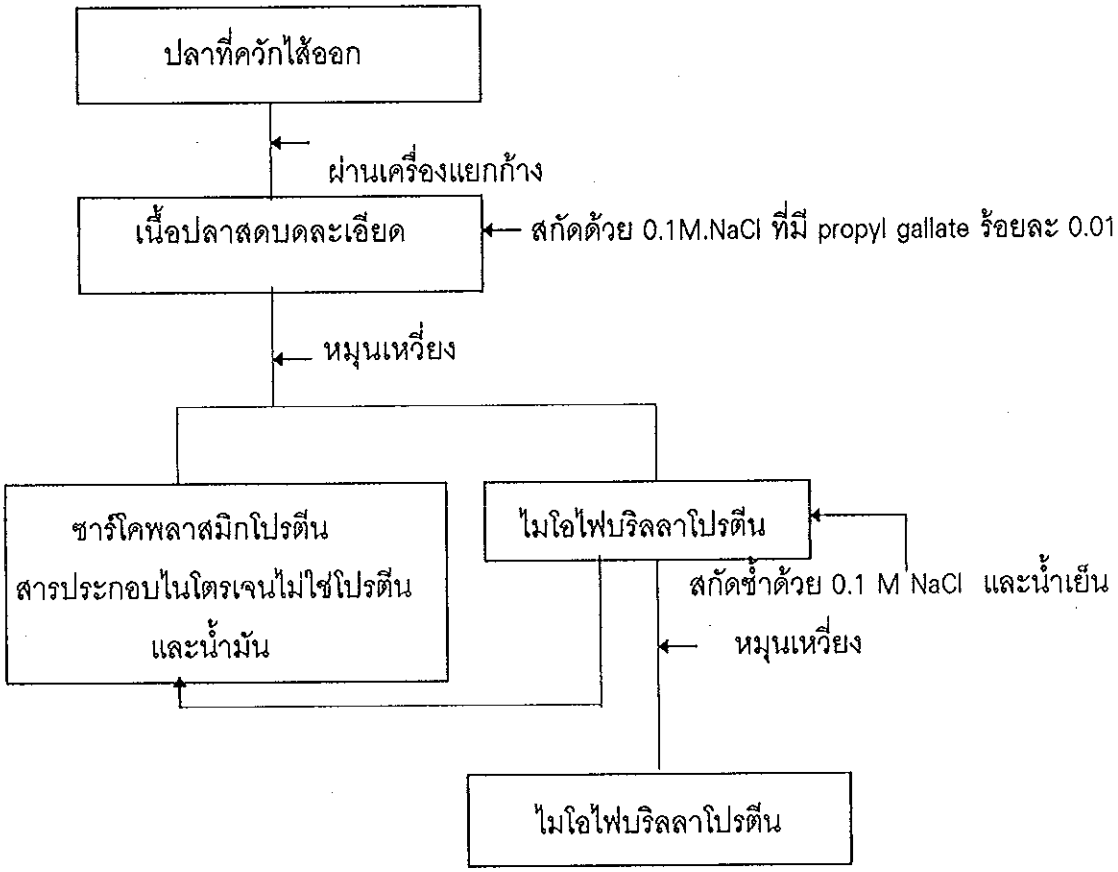
การสกัดโปรตีน

Tanaka และคณะ (1983) ผลิตโปรตีนปลาสกัดจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน (*Sardinops melanostica*) ในรูปเส้นใยโปรตีน โดยแยกสกัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอช 10.5 อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตกตะกอนโปรตีนที่พีเอช 5 หลังจากนั้นนำโปรตีนมาผลิตเส้นใย โดยละลายโปรตีนในสารละลายด่าง ที่มีอัตราส่วนของโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อโปรตีนประมาณ 0.03 และความเข้มข้นของโปรตีนจากหัวและเครื่องใน

เท่ากับ 45 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 55 มิลลิกรัมต่อกรัม แล้วผ่านเข้าเครื่องทำเป็นเส้นใย และทำให้อยู่ตัวในสารละลายแอลกอฮอล์ร่วมกับกรดอะซิติกเข้มข้น 1 นอร์มอล ได้ผลิตภัณฑ์เส้นใยโปรตีนจากส่วนหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน ที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 85.7 และ 74.1 ตามลำดับ

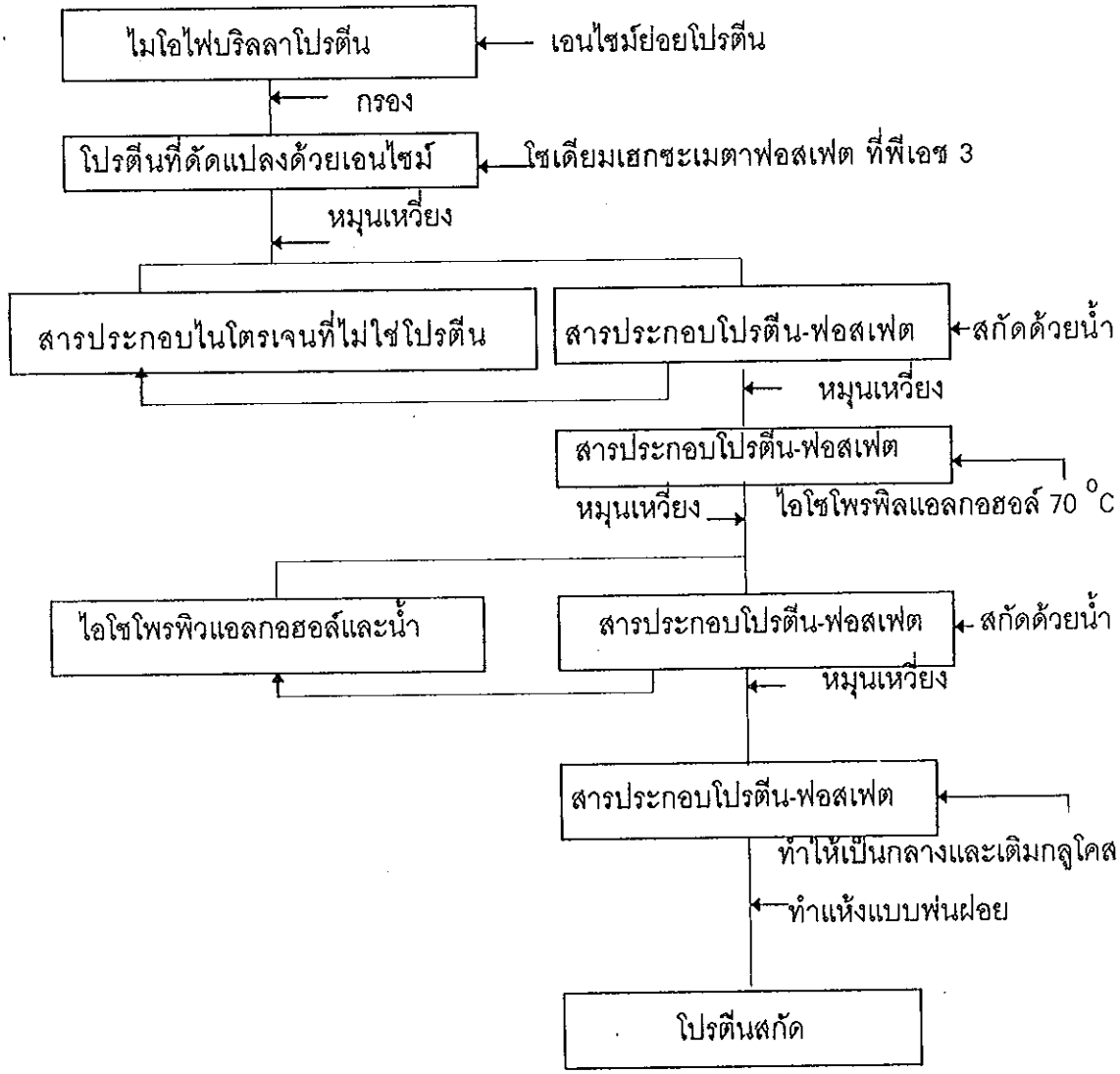
Spinelli และคณะ (1972a) ผลิตโปรตีนสกัดจากปลา Pacific Ocean rockfish (*Sebastes spp.*) ดังขั้นตอนที่ปรากฏอยู่ในภาพที่ 1 โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ อัตราส่วน 1 : 4 เวลา 10 นาที เพื่อแยกเอาส่วนประกอบของน้ำมัน สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนและซาร์โคพลาสมิกออกจากส่วนของไมโอไฟบริลลาโปรตีน และแยกออกจากกันโดยการหมุนเหวี่ยง จากนั้นนำส่วนตะกอนที่ประกอบด้วยไมโอไฟบริลลามาสกัดซ้ำด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ อัตราส่วน 1 : 2 และน้ำอัตราส่วน 1 : 2 ทำให้ได้ไมโอ - ไฟบริลลาโปรตีนที่มีความบริสุทธิ์มากขึ้น แล้วนำโปรตีนมาทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง ในกรรมวิธีมีการผสม Propyl gallate ร้อยละ 0.01 ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้สกัดเพื่อลดปริมาณมาโลนอัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือนส่วนซาร์โค - พลาสมิกโปรตีนตกตะกอนโดยใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (สารละลายโปรตีนเข้มข้นร้อยละ 1) ที่พีเอช 3.8 - 4.0 ปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริก แล้วนำมาสกัดไขมันออกโดยใช้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spinelli and Koury, 1970) นอกจากนี้ Spinelli และคณะ (1972b) ยังได้ปรับปรุงวิธีการผลิตโปรตีนสกัดจากปลา Rockfish เพื่อให้ได้โปรตีนที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี ดังขั้นตอนที่ปรากฏในภาพที่ 2 โดยใช้เอนไซม์ Rhozyme P-110 เพื่อไฮโดรไลซ์โปรตีนบางส่วน ก่อนนำมาตกตะกอนโดยใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 5 ที่พีเอช 3 แล้วสกัดส่วนอื่น ๆ ออกโดยใช้น้ำและไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ หลังจากนั้นปรับพีเอชให้เป็นกลางพร้อมผสมกลูโคสเพื่อลดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนเนื่องจากผลของการทำแห้ง หลังการทำแห้งแบบฟนฝอยโปรตีนสกัดที่ได้มีโปรตีนร้อยละ 93.5

Meinke และคณะ (1972) ผลิตโปรตีนสกัดจากปลา Golden croaker ภายใต้สภาวะสกัดที่เหมาะสม คือ ที่พีเอช 11 อัตราส่วนเนื้อปลาบดต่อสารละลายสกัด 1 : 3.3 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และตกตะกอนที่พีเอช 6.0 โปรตีนสกัดที่ได้มีองค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีนร้อยละ 75.3 ไขมันร้อยละ 7.2 และเถ้าร้อยละ 3.2 ได้ผลผลิตโปรตีนร้อยละ 51 ของปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้น



ภาพที่ 1 กระบวนการแยกโปรตีนและสารประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนของเนื้อปลา

ที่มา : ดัดแปลงจาก Spinelli และคณะ (1972a)



ภาพที่ 2 กระบวนการเตรียมไมโอไฟบริลลาโปรตีนด้วยวิธีดัดแปลงโดยใช้เอนไซม์

ที่มา : ดัดแปลงจาก Spinelli และคณะ (1972b)

Kahn และคณะ (1974) ผลิตโปรตีนสกัดจากปลาหมึก (*Loligo spp.*) ซึ่งในวัตถุดิบมีองค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นร้อยละ 17 1.5 1.3 และ 80 ตามลำดับ โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 4 หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอช 11 (ปรับพีเอชโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์) อัตราส่วน 1 : 10 อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที ซึ่งพบว่าสามารถสกัดโปรตีนปลาหมึกได้มากกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณโปรตีนเริ่มต้น ตกตะกอนที่พีเอช 5 และทำแห้งแบบพ่นฝอย

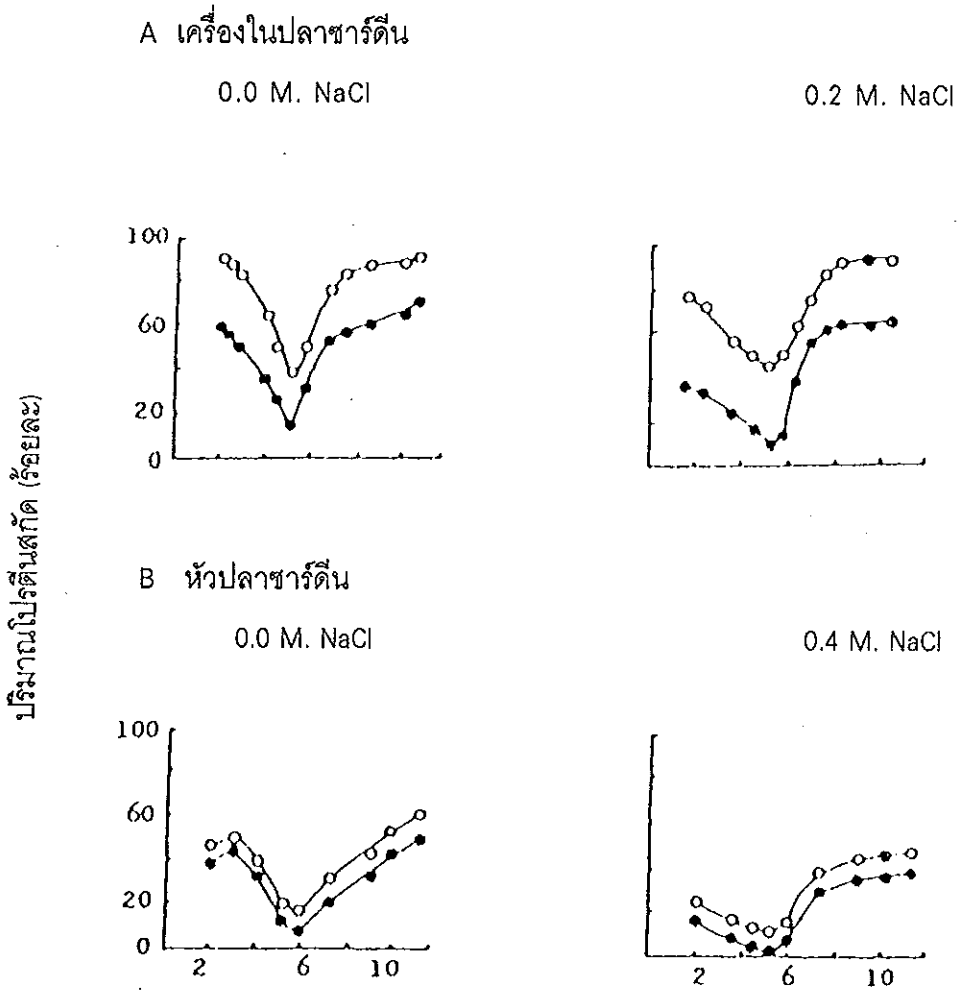
Montecalvo และคณะ (1984 a) ผลิตโปรตีนสกัดจากปลา Flounder frame ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอช 11 อัตราส่วน 1 : 10 ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที สกัดได้ปริมาณโปรตีนทั้งหมดร้อยละ 70 หลังจากนั้นตกตะกอนที่พีเอช 5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ได้ปริมาณตะกอนโปรตีนร้อยละ 58.1 ทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง โปรตีนสกัดที่ได้มีสีน้ำตาลดำ มีองค์ประกอบของปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นร้อยละ 81.5 10.6 0.9 และ 3.7 ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในส่วนใสสามารถตกตะกอนโดยใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 0.4 ที่พีเอช 2.5 ได้ผลผลิตร้อยละ 80 ของโปรตีน ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นร้อยละ 49.5 7.7 37.9 และ 6.3 ตามลำดับ ปริมาณเถ้าที่สูงน่าจะเกิดจากมีสารโซเดียมคลอไรด์เกิดขึ้น ระหว่างการสกัดและการตกตะกอน

ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดโปรตีน มีดังนี้ คือ

1. ค่าพีเอช โปรตีนในสารละลายมีทั้งประจุบวกและประจุลบขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลาย ที่พีเอชสูงโปรตีนมีประจุลบ ที่พีเอชต่ำโปรตีนมีประจุบวก โมเลกุลของโปรตีนมีประจุที่เหมือนกันจึงผลักกันและเกิดการละลายได้มากขึ้น ส่วนที่พีเอชเป็นกลาง โปรตีนจะมีประจุรวมของโมเลกุลเป็นศูนย์ โมเลกุลโปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำสุด เรียกพีเอชนี้ว่า จุดไอโซอิเล็กตริก (isoelectric point : pI) (บุญยืน สาริกะภูติ, 2522) โดยทั่วไปลักษณะกราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลของพีเอชต่อการละลายของโปรตีนของสัตว์น้ำทุกชนิด จะมีรูปแบบเป็นรูปตัววี (V) และมีจุดที่การละลายของโปรตีนต่ำที่สุดอยู่ในช่วง ค่าพีเอช 4 - 6 โดยสามารถสกัดโปรตีนปลาในช่วงของสารละลายด่างได้สูงกว่าในสารละลายกรด (Meinke and Mattil, 1973)

Tanaka และคณะ (1983) รายงานว่าค่าพีเอชที่มีผลต่อการสกัดโปรตีนจากทั้งหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน (ภาพที่ 3) โดยสามารถสกัดโปรตีนจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีนที่พีเอช 10.5 ได้สูงกว่าที่พีเอช 7.5 และพีเอช 2 สกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาซาร์ดีนได้ปริมาณไนโตรเจน

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY



ภาพที่ 3 ผลของค่าพีเอชต่อการสกัดโปรตีนจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน

A. เครื่องในปลาซาร์ดีน B. หัวปลาซาร์ดีน

ที่มา : ดัดแปลงจาก Tanaka และคณะ (1983)

ทั้งหมดร้อยละ 90 เป็นปริมาณโปรตีนไนโตรเจนร้อยละ 60 และสกัดโปรตีนจากส่วนหัวได้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 60 เป็นปริมาณโปรตีนไนโตรเจนประมาณร้อยละ 50 ซึ่งผลเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยอื่นที่สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุดในช่วงที่พีเอชดังกล่าว คือ สกัดโปรตีนจากปลาหมึกกล้วยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอช 11 (Kahn, *et al.* 1974) สกัดโปรตีนจากปลาเก๋าที่พีเอช 11.1 (Meinke, *et al.*, 1972) สกัดโปรตีนจากปลา Flounder frame ที่พีเอช 11 (Montecalvo, *et al.*, 1984 a) เป็นต้น

2. อุณหภูมิในการสกัด โดยทั่วไปการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 0 ถึง 40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิมากกว่า 40 หรือ 50 องศาเซลเซียส โปรตีนจะเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติมีผลให้การละลายลดลง (Zapaslis and Beck, 1985) Tanaka และคณะ (1983) ศึกษาการสกัดโปรตีนจากปลาซาร์ดีนที่อุณหภูมิ 15 22 30 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิการสกัดที่ดีที่สุด โดยที่การสกัดโปรตีนจะเพิ่มขึ้นจากที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสและลดลงที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส

Montecalvo และคณะ (1984a) กล่าวถึงผลของอุณหภูมิต่อการสกัดโปรตีนจากปลา Flounder frame ว่าสามารถสกัดปริมาณไนโตรเจนได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ปริมาณร้อยละ 88 และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 40 องศาเซลเซียสไม่ส่งผลให้การสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Kahn และคณะ (1974) ซึ่งรายงานผลของอุณหภูมิต่อการละลายของโปรตีนในปลาหมึกกล้วย ว่าอุณหภูมิที่ดีที่สุด คือ 22 องศาเซลเซียสเมื่อใช้น้ำที่มีพีเอช 11 หรือใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ที่พีเอช 7.0 เป็นสารละลายสกัด และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะสามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณลดลง แต่เมื่อใช้น้ำที่พีเอช 5 จะสามารถสกัดได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทั้งนี้โปรตีนสกัดจะมีกลิ่นสุกและมีสีเข้มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสกัด เป็น 45 - 60 องศาเซลเซียส

แตกต่างจาก Meinke และคณะ (1972) ซึ่งพบว่า เมื่อใช้อุณหภูมิสกัดเป็น 55 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 และพีเอช 11 สกัดได้ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้จากปลาเก๋าสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นเมื่อสกัดโปรตีนที่พีเอช 3 สกัดได้ปริมาณโปรตีนที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสสูงกว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส สารละลายโปรตีนจะเกิดความหนืดและเจลเพิ่มขึ้นทำให้แยกปริมาตรของสารละลายโปรตีนได้ลดลง

3. เวลาที่ใช้ในการสกัด เมื่อระยะเวลาสกัดเพิ่มขึ้น การละลายของไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 30 - 60 นาทีจนสูงสุดและมีแนวโน้มคงที่หรืออาจลดลงเล็กน้อย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น อุณหภูมิการสกัด ค่าพีเอช เป็นต้น Tanaka และคณะ (1983) กล่าวถึงปริมาณโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีน ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิต่างๆ ในช่วง 22 - 40 องศาเซลเซียสที่พีเอช 2 7.5 และ 10.5 ว่าส่วนใหญ่สามารถสกัดไนโตรเจนทั้งหมดได้ร้อยละ 80 ภายในระยะเวลา 30 นาที เมื่อระยะเวลาสกัดนานขึ้น ปรากฏว่าปริมาณโปรตีนไนโตรเจนสกัดลดลง โดยเฉพาะภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิและพีเอช 7.5 และพีเอช 10.5 ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการย่อยตัวเองของโปรตีนในเครื่องในปลา ส่วนกรณีการสกัดโปรตีนจากหัวปลาซาร์ดีน พบว่าปริมาณโปรตีนและปริมาณไนโตรเจนที่สกัดได้ต่ำกว่าปริมาณที่สกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนในทุกสภาวะ สามารถสกัดได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดร้อยละ 40 - 60 ภายในระยะเวลา 30 นาที เมื่อระยะเวลานานขึ้นปริมาณโปรตีนสกัดมีแนวโน้มคงที่ Montecalvo และคณะ (1984a) สรุปว่าสามารถสกัดปริมาณโปรตีนจากปลา Flounder frame ได้ปริมาณร้อยละ 86 ซึ่งเป็นระดับสูงสุดภายใน 60 นาที (ที่พีเอช 11) เมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้นเป็น 60 - 120 นาที ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณคงที่ ตัวอย่าง ปลาหมึกกล้วยสามารถสกัดได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดภายในระยะเวลา 45 นาที (Kahn, *et al.*, 1974)

4. ความแรงอิออนของสารละลายสกัด ค่าความแรงอิออน (ionic strength) ของสารละลายเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น สภาวะของประจุและค่าความแรงอิออนของสารละลายเกลือแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับประจุของอิออนของเกลือและมีผลต่อการละลาย เนื่องจากหมู่ที่มีประจุของโปรตีนทำปฏิกริยากับอิออนของเกลือ ทำให้การละลายเพิ่มขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง เรียกว่า salting-in effect แต่เมื่อความเข้มข้นของประจุสูงขึ้น ค่า a_w จะถูกลดลง เกิดการทำปฏิกริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนทำให้การละลายลดลง เรียกว่า salting-out effect เช่นที่ความแรงอิออน (U) = 0.03 สกัดโปรตีนได้ร้อยละ 16.8 ของโปรตีนทั้งหมด และเมื่อ U = 0.12 จะสกัดโปรตีนได้ร้อยละ 22.8 (Zapaslis and Beck, 1985) และประสิทธิภาพการสกัดของโปรตีนปลาจะลดลงเมื่อ U>1.0 (Dyer,*et al.*, 1950)

Tanaka และคณะ (1983) รายงานผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (0 ถึง 1 โมลาร์) ต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีน ว่าปริมาณโปรตีนสกัดลดลงอย่างเห็น

ได้ชัด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่พีเอช 2 ในขณะที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนสกัดที่พีเอช 7.5 และ 10.5 อย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) จึงเสนอแนะให้ใช้น้ำเป็นสารสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาซาร์ดีน ส่วนผลของอิออนของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากหัวปลาซาร์ดีน พบว่าสามารถสกัดปริมาณโปรตีนโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่ำได้สูงกว่าที่ความเข้มข้นสูง ยกเว้นที่พีเอช 7.5 สามารถสกัดโปรตีนได้สูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ และผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับสภาวะพีเอช 2 ทำให้สกัดปริมาณโปรตีนลดลงอย่างมากเช่นเดียวกับกรณีสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีน ทั้งนี้การสกัดด้วยสารละลายสกัดที่พีเอช 10.5 โดยไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ จะสามารถสกัดได้ปริมาณโปรตีนจากหัวปลาซาร์ดีน ได้สูงกว่าทุกชุดการทดลอง

Montecalvo และคณะ (1984a) รายงานถึงผลของด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียม-ไฮดรอกไซด์ซึ่งใช้ปรับพีเอชของสารละลายสกัด ต่อปริมาณไนโตรเจนที่สกัดได้จากปลา Flounder frame ว่าการใช้ด่างแก่ปรับพีเอชจะสกัดปริมาณไนโตรเจนได้สูงกว่าที่ทุก ๆ พีเอช โดยที่พีเอช 11 สกัดได้ปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าร้อยละ 21 ซึ่งอาจเกิดการจับกันระหว่างแคลเซียมกับโปรตีนมีผลต่อต้านการละลายของโปรตีน

Kahn และคณะ (1974) ศึกษาผลของเกลือโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต โซเดียมไตร - ฟอสเฟต และโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งมีความเข้มข้นร้อยละ 1 - 5 ต่อการละลายของโปรตีนปลาหมึก *Loligo spp.* พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นจะสกัดได้โปรตีนเพิ่มขึ้น และสกัดได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยสกัดโปรตีนปลาหมึกร้อยละ 88 เมื่อใช้โซเดียมเฮกซะ - เมตาฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ และสกัดได้ร้อยละ 84 เมื่อใช้โซเดียมไตรฟอสเฟต ส่วนเมื่อความเข้มข้นของเกลือทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 5 ปริมาณโปรตีนละลายลดลง และสรุปว่าการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ให้ผลผลิตดีเทียบเท่าสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น รวมทั้งมีความปลอดภัยและต้นทุนการผลิตต่ำ

Meinke และคณะ (1972) ศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือร่วมกับสภาวะพีเอช 3.5 4.2 6.2 8.4 และ 11.1 ต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากปลาเก๋า พบจุดสำคัญที่น่าสนใจคือ ปริมาณโปรตีนสกัดลดลง ที่พีเอชของสารละลายสกัดมีค่าต่ำและสูงร่วมกับการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ และปริมาณโปรตีนละลายได้สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือที่จุดของการละลายต่ำสุด (พีเอชใกล้เคียง6) ทั้งนี้ที่พีเอช 8.4 ปริมาณโปรตีนละลายได้สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้น

ของเกลือจาก 0.1 ถึง 1.0 นอร์มอลเช่นกัน และกล่าวว่าผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เกิดจากการเติมกรดอะซิติกและโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อปรับสภาวะพีเอชของสารละลายสกัด มีผลต่อการละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นทำให้เก็บเกี่ยวได้ผลผลิตตะกอนโปรตีนลดลง

5. อัตราส่วนปลาต่อสารละลายสกัด ผลผลิตโปรตีนสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาตรสารละลายสกัดต่อเนื้อปลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนมีพื้นที่สัมผัสกับสารละลายมากขึ้น แต่การใช้อัตราส่วนปริมาตรสารละลายสกัดต่อเนื้อปลาสูง จะทำให้สารละลายโปรตีนมีความเจือจาง ส่งผลเพิ่มต้นทุนการผลิต และทำให้เกิดน้ำทิ้งเพิ่มมากขึ้น ในทางกลับกันการเพิ่มส่วนของเนื้อปลาต่อสารละลายสกัด จะทำให้ได้สารละลายโปรตีนสกัดเข้มข้นขึ้นก่อให้เกิดปัญหาในการเพิ่มความหนืดหรือการเกิดเจล ดังนั้นจึงควรพิจารณา ทั้งปริมาณผลผลิตโปรตีนที่ได้และความสะดวกต่อการกำจัดของเหลวเหลือทิ้ง เพื่อให้ได้อัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีน

Tanaka และคณะ (1983) สกัดโปรตีนจากปลาซาร์ดีน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อสารละลายสกัด 1 : 10 Montecalvo และคณะ (1984a) ศึกษาถึงอัตราส่วนของเนื้อปลาต่อสารละลายสกัด ที่อัตราส่วนเป็น 1 : 2 1 : 4 1 : 6.7 1 : 10 และ 1 : 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อการสกัดโปรตีนปลา flounder frame พบว่าเมื่อใช้อัตราส่วน 1 : 2 สกัดได้ปริมาณไนโตรเจนประมาณร้อยละ 75 และสกัดได้ปริมาณไนโตรเจนมากขึ้นเมื่อสัดส่วนของปริมาณเนื้อปลาลดลง โดยที่อัตราส่วน 1 : 10 สกัดได้ปริมาณไนโตรเจนร้อยละ 90 ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างจากเมื่อใช้อัตราส่วน 1 : 20 จึงเสนอแนะว่าอัตราส่วน 1 : 10 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนปลา Flounder frame ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่สอดคล้องกับรายงานวิจัยการสกัดโปรตีนจากปลาเก๋า (Meinke, *et al.*, 1972) และสกัดโปรตีนจากปลาหมึก (Kahn, *et al.*, 1974)

6. ขนาดชิ้นปลา ปริมาณโปรตีนปลาสกัดในสารละลายเพิ่มขึ้น เมื่อบดให้ได้ขนาดของเนื้อเยื่อละเอียดยิ่งขึ้น เนื่องจากเป็นการเพิ่มพื้นที่สัมผัสของเนื้อปลาให้โมเลกุลโปรตีนมีโอกาสสัมผัสหรือถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของน้ำหรือสารละลายสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้โปรตีนสามารถละลายได้สูงขึ้น Kahn และคณะ (1974) แสดงถึงผลของขนาดชิ้นปลาหมึกต่อปริมาณไนโตรเจนสกัด ว่าเมื่อบดปลาหมึกให้มีขนาด 2.38 มิลลิเมตร สามารถสกัดไนโตรเจนได้มากกว่าร้อยละ 80 ในขณะที่เมื่อบดให้ชิ้นปลาหมึกมีขนาด 8 มิลลิเมตร จะสกัดไนโตรเจนได้ต่ำกว่าร้อยละ 50 ภายใต้สภาวะการสกัดเดียวกัน

7. เอนไซม์ย่อยโปรตีน เอนไซม์ย่อยโปรตีนในปลาแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ เอนไซม์ในเครื่องในและทางเดินอาหาร ได้แก่ ทริพซิน ไคโมทริพซิน และเปปซิน และอีกกลุ่ม คือ เอนไซม์ในเนื้อเยื่อ ได้แก่ คาเธปซิน เมื่อบดปลาทั้งตัวรวมทั้งเครื่องใน เอนไซม์จะย่อยเนื้อปลาในระยะเริ่มต้น และมีการย่อยเกิดขึ้นในระหว่างการสกัด การหมุนเหวี่ยง จนถึงขั้นการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งการย่อยเริ่มต้นมีผลทำให้ปริมาณการสกัดเพิ่มมากกว่าปลาที่ไม่เกิดการย่อยเริ่มต้น โดยเฉพาะที่พีเอช 3 และพีเอช 10 โดยที่การสกัดโปรตีนในสภาวะที่เป็นกรดจะช่วยเสริมกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์คาเธปซิน ส่วนการสกัดในสภาวะที่เป็นด่างจะเสริมการทำงานของเอนไซม์ย่อยตัวเองจากเครื่องใน (Meinke and Mattil, 1973) ซึ่งสอดคล้องกับ Tanaka และคณะ (1983) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการที่สามารถสกัดปริมาณโปรตีนจากส่วนเครื่องในปลาซาร์ดีนได้ค่าต่ำกว่าปริมาณไนโตรเจนมาก ซึ่งพบความแตกต่างระหว่าง 2 ค่านี้เพียงเล็กน้อยในการสกัดส่วนหัวปลาเกิดจากผลของเอนไซม์ย่อยตัวเองในส่วนเครื่องใน

8. การแช่เยือกแข็งปลา การแช่เยือกแข็งอย่างถูกวิธีเป็นการถนอมรักษาปลา เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายทั้งจากจุลินทรีย์และเอนไซม์ย่อยตัวเอง แต่การเก็บในสภาพแช่เยือกแข็งไว้เป็นเวลานานอาจส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของโปรตีน โดยพบว่าเมื่อละลายน้ำแข็ง ปลามีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มและสูญเสียกลิ่น-รสที่ดี และเมื่อนำไปให้ความร้อนจะสังเกตเห็นว่าเนื้อปลาที่ได้มีความหยาบคล้ายเศษไม้แห้งและสูญเสียความฉ่ำน้ำ การแช่เยือกแข็งทำให้โปรตีนปลาเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพ ส่งผลให้คุณสมบัติการทำหน้าที่และคุณสมบัติการละลายต่ำกว่าปลาสด ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็ง การแช่เยือกแข็งแบบรวดเร็วอุณหภูมิของปลาจะลดลงผ่านช่วงอุณหภูมิที่มีการตกผลึกมากที่สุด คือ อุณหภูมิ - 2 ถึง - 6 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาสั้นกว่าการแช่เยือกแข็งแบบช้า ซึ่งช่วงอุณหภูมินี้จะเกิดการแปลงสภาพของโปรตีนสูงที่สุด ดังนั้นการแช่เยือกแข็งหรือการละลายน้ำแข็งแบบช้าจะทำให้การละลายของโปรตีนต่ำกว่าแบบเร็ว มีผลทำให้การสกัดโปรตีนลดลง และมีการแปลงสภาพของโปรตีนที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิการเก็บรักษาที่สูงขึ้น (Dyer and Dingle , 1961) นอกจากนี้พบว่าปลาคอด ซึ่งเก็บรักษาอุณหภูมิ - 4 องศาเซลเซียส โปรตีนเกิดการแปลงสภาพอย่างสมบูรณ์เมื่อเก็บรักษานาน 3 - 4 เดือน และเมื่อเก็บปลาคอดไว้ที่อุณหภูมิ - 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าไม่มีการแปลงสภาพของโปรตีน โดย Suzuki และคณะ (1964) ทดลองแช่เยือกแข็งปลาด้วย

ไนโตรเจนเหลวและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 30 ถึง - 80 องศา เป็นเวลา 11 สัปดาห์ พบว่าปริมาณของโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือลดลงเล็กน้อย ปลาที่มีปริมาณไขมันสูงจะทนต่อการเก็บรักษาได้ดีกว่าปลาที่มีปริมาณไขมันต่ำกว่า ดังนั้นการแปลงสภาพจากการแช่เยือกแข็งจึงเกิดในปลาเนื้อขาวที่มีปริมาณน้ำสูงได้เร็ว และพบว่าความคงทนของโปรตีนเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง จะแตกต่างกันตามฤดูกาลและสภาพทางชีววิทยาอื่น ๆ เช่น สภาพทางโภชนาการและสรีระปลา (Suzuki, 1981)

Montecalvo และคณะ (1984a) กล่าวถึงผลของการใช้ปลา Flounder frame ที่ผ่านการเก็บรักษาที่ - 20 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ว่าทำให้สกัดได้ปริมาณไนโตรเจนได้ลดลงประมาณร้อยละ 10 เมื่อใช้น้ำเป็นสารละลายสกัดที่ปรับพีเอช 11 ด้วยสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นไปในแนวทางเดียวกับ Meinke และคณะ (1972) ที่ให้ข้อสังเกตว่าปริมาณโปรตีนที่สกัดด้วยด่างจากเนื้อปลาเก๋าที่ผ่านการเก็บรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับปลาเก๋าสด จะมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญและสรุปว่าเกิดจากการแปลงสภาพของไมโอไฟบริลลาโปรตีน อย่างไรก็ตาม Kahn และคณะ (1974) พบว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยระหว่างปริมาณไนโตรเจน ที่สกัดจากปลาหมึกสดและปลาหมึกที่แช่เยือกแข็ง

การตกตะกอนโปรตีน

วิธีการตกตะกอนที่นิยมใช้สำหรับการตกตะกอนโปรตีนปลา ได้แก่

1. การใช้ความร้อน มีผลทำให้โปรตีนเกิดการแปลงสภาพแล้วรวมตัวกันตกตะกอน นิยมใช้ร่วมกับวิธีอื่น Romo และ Anderson (1979) ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนคริลสกัดด้วยวิธีใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ร่วมกับวิธีปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.7 การใช้ความร้อนในระยะสั้นทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ดีขึ้นประมาณร้อยละ 4 และพบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนนานขึ้น ไม่ส่งผลต่อการตกตะกอนเพิ่มขึ้น

2. การปรับพีเอชของสารละลาย เป็นวิธีที่นิยมใช้ตกตะกอนโปรตีนปลาสกัด เนื่องจากเป็นวิธีที่สามาถควบคุมได้ง่าย ใช้พลังงานน้อย และใช้สารเคมีที่มีใช้แพร่หลาย การปรับพีเอชให้โปรตีนละลายได้น้อยที่สุด เรียกพีเอชในช่วงนี้ว่า จุดไอโซอิเล็กตริก โปรตีนจะตกตะกอนและสามารถแยกโปรตีนออกจากสารละลายหรือของผสมได้ ซึ่งโปรตีนปลามีจุดไอโซอิเล็กตริกประมาณพีเอช 4.5 - 5.0 ถ้าโปรตีนมีกรดอะมิโนชนิดเบสเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ฮิสติดีน ไลซีน อาร์จินีน อยู่มากค่าจุดไอโซอิเล็กตริกจะสูงกว่า 7 และเมื่อมีกรดอะมิโนชนิดแอซิดิก

ได้แก่ กรดแอสพาติก และกรดกลูตามิก เป็นองค์ประกอบอยู่มาก ค่าจุดไอโซอิเล็กตริกจะต่ำกว่า 7 เมื่อสารละลายโปรตีนมีพีเอชที่สูงกว่าจุดไอโซอิเล็กตริก โปรตีนจะมีประจุรวมเป็นลบ ถ้ามีพีเอชสูงขึ้นโปรตีนก็ยิ่งมีประจุลบเพิ่มขึ้น ทำให้โปรตีนละลายได้สูงขึ้นและตกตะกอนลดลง (บุญยืน สาริกะภูติ, 2522)

Tanaka และคณะ (1983) ตกตะกอนโปรตีนสกัดจากหัวและเครื่องในปลาชาร์ดีน ด้วยการปรับพีเอชของสารละลายให้ใกล้เคียงพีเอช 5 ซึ่งเป็นพีเอชที่มีปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารสกัดต่ำสุด คือร้อยละ 4 - 15 Montecalvo และคณะ (1984a) ตกตะกอนโปรตีนสกัดจากปลา Flounder frame ด้วยการปรับค่าพีเอชเป็น 4.5 - 5.5 ได้ร้อยละ 80 Meinke และคณะ (1972) ตกตะกอนโปรตีนสกัดจากปลาเก๋าด้วยการปรับพีเอชเป็น 6.0 ได้ร้อยละ 63 Kahn และคณะ (1974) ตกตะกอนโปรตีนสกัดจากปลาหมึกด้วยการปรับค่าพีเอชเป็น 5.0 ได้ประมาณร้อยละ 65 - 70 Spinelli และคณะ (1972b) ตกตะกอนโปรตีนสกัดจากปลา Rockfish ด้วยการปรับพีเอชเป็น 4.0 - 5.0 ได้ร้อยละ 90 ส่วนการตกตะกอนโปรตีนจากสัตว์น้ำอื่น เช่น Tagawa และคณะ (1977) ตกตะกอนโปรตีนในน้ำทิ้งจากการผลิต คามาโบโคะด้วยการปรับค่าพีเอชเป็น 2 Toma และ Meyers (1975) ตกตะกอนโปรตีนจากการแปรรูปกุ้งด้วยการปรับพีเอชเป็น 4.4 - 4.7 Hang และคณะ (1980) ตกตะกอนโปรตีนในน้ำล้างหอยลาย ด้วยการปรับพีเอชเป็น 4.0 เป็นต้น

3. การใช้เกลือของโลหะ ได้แก่ Hg^{2+} Pb^{2+} Ag^{+} Fe^{2+} Fe^{3+} เป็นต้น อนุมูลโลหะ เช่น อะลูมิเนียมซัลเฟต เฟอร์ริกคลอไรด์ เฟอร์รัสคลอไรด์ เฟอร์รัสซัลเฟต และปูนขาว ที่มีประจุบวกของโลหะ สามารถจับและเชื่อมโยงกับประจุลบของโปรตีน ทำให้โปรตีนตะกอนเช่นกัน (บุญยืน สาริกะภูติ , 2522) วิธีนี้นิยมใช้ตกตะกอนโปรตีนและลดสารแขวนลอยในน้ำทิ้งจากโรงงาน เช่น การใช้เฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อลดสารแขวนลอยในน้ำทิ้งจากการแปรรูปปู ปลาซาลมอน และกุ้ง ซึ่งสามารถลดสารแขวนลอยได้ร้อยละ 93 98 และ 98 ตามลำดับ (Johnson and Gallanger, 1984) สามารถใช้เฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 2 - 6 กรัมต่อลิตรเพื่อตกตะกอนโปรตีนในน้ำนึ่งปลา (Ziminska, 1987)

4. การเติมตัวทำละลาย ได้แก่ แอลกอฮอล์ อะซิโตน เป็นต้น เนื่องจากผลของคุณสมบัติไดอิเล็กตริกของตัวทำละลายต่อการละลายของโปรตีน พบว่า เมื่อค่าคงตัวไดอิเล็กตริกน้อยลงแรงดึงดูดระหว่างประจุบวกกับประจุลบย่อมมีค่าเพิ่มขึ้น ค่าคงตัวไดอิเล็กตริกของ

แอลกอฮอล์ และอะซิโตน มีค่า 24 และ 21.4 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าเมื่อเทียบกับน้ำที่มีค่าเท่ากับ 80 (บุญยืน สาริกะภูติ, 2522) เมื่อเติมแอลกอฮอล์หรืออะซิโตน ลงในสารละลายโปรตีนมาก ทำให้แรงดึงดูดระหว่างอิออนของโปรตีนเพิ่มขึ้น โปรตีนแตกตัวเป็นอิออนได้น้อยลง จึงจับตัวกันเป็นก้อนและเกิดการตกตะกอนของโปรตีน Tanaka และคณะ (1983) ตกตะกอนโปรตีนสกัดที่ทำเป็นเส้นใยโดยใช้แอลกอฮอล์ร่วมกับกรด ซึ่งแอลกอฮอล์ยังเป็นตัวช่วยกำจัดไขมันออกจากผลิตภัณฑ์ Montecalvo และคณะ (1984b) ตกตะกอนโปรตีนปลา Flounder frame ที่สังเคราะห์พลาสติน ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 50 ได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 40.6 - 46 และพบปริมาณโปรตีนในองค์ประกอบสูงกว่าร้อยละ 90

5. การใช้สารประกอบฟอสเฟต สารประกอบฟอสเฟตที่อยู่ในสภาพสารละลายจะแตกตัวให้ประจุลบมากกว่า 1 โดยเฉพาะถ้าเป็นประเภทโพลีฟอสเฟต เช่น ไพโรฟอสเฟต โพลี - ฟอสเฟต เฮกซะเมตาฟอสเฟต เป็นต้น จำนวนประจุลบก็จะมากขึ้น โดยพบว่าเมื่อความยาวของสายโซ่โมเลกุลเพิ่มขึ้นจะมีคุณสมบัติเป็นโพลีอิเล็กโตรไลท์ (Ellinger, 1972) ซึ่งเป็นความสามารถในการจับกับประจุบวกของสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน จะช่วยเพิ่มการจับตัวของโมเลกุลกับน้ำ การเกิดเจลของโปรตีน และการตกตะกอนโปรตีน Spinelli และ Koury (1970) ศึกษาการใช้สารประกอบฟอสเฟต ในการตกตะกอนซาร์โคพลาสมิกโปรตีนของปลา Rockfish โดยใช้กรดเมตาฟอสฟอริก โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต เตตระเมตาฟอสเฟต โซเดียมเฮกซะ - เมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ที่พีเอช 4.0 พบว่าการตกตะกอนของโปรตีนจะสัมพันธ์กับขนาดโมเลกุลของสารประกอบฟอสเฟต นั่นคือสามารถตกตะกอนด้วยเฮกซะเมตาฟอสเฟตได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 98 สูงกว่าการใช้เตตระเมตาฟอสเฟต ไตรเมตาฟอสเฟต และเมตา - ฟอสฟอริก ตามลำดับ Spinelli และคณะ (1972) ตกตะกอนโปรตีนสกัดจากปลา Rockfish ได้ทั้งหมดโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตร้อยละ 5 ที่พีเอช 2 - 5 โดยปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริก

6. การใช้ไคโตแซน ซึ่งเป็นสารโพลิเมอร์ชนิดหนึ่ง ได้จากการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากโครงสร้างของไคติน มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ การใช้ไคโตแซนจึงใช้ในรูปสารละลายกรด ปริมาณไคโตแซนและสภาวะต่าง ๆ ในการตกตะกอนแตกต่างกันไปตามชนิดของสารละลายผสม และสารละลายชนิดอื่นที่ใช้ร่วมกับไคโตแซนในการตกตะกอน Bough (1976) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารโพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติช่วยการตกตะกอนในน้ำทิ้งจากการบรรจุเนื้อ

ที่พีเอช 7.5 พบว่าไคโตแซนมีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนสารตกตะกอนชนิดอื่น ๆ เช่น Attasep 105C Notron 86 และ Bet 21190 ให้ผลดีรองลงมา ตามลำดับ ปริมาณไคโตแซนที่เหมาะสมในการตกตะกอนคือ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 1.5 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณของแข็งที่แขวนลอยและค่าซีโอดีได้ ร้อยละ 89 และ 55 ของปริมาณเริ่มต้นตามลำดับ ตะกอนที่ได้มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ โปรตีนร้อยละ 41 ไขมันร้อยละ 17 และเถ้าร้อยละ 11

7. การเติมกรด ได้แก่ กรดไตรคลอโรอะซิติก กรดทังสติก กรดพิกริก กรดฟอสโฟทังสติก กรดฟอสโฟโมลิบดิก กรดซัลโฟซาลิซิลิก กรดเพอร์คลอริก เป็นต้น โดยกรดดังกล่าวสามารถแตกตัวแล้วให้หมู่ไฮโดรเจนอิออน ทำให้โปรตีนในสารละลายที่มีประจุเป็นบวกรวมกับอนุมูลกรดที่มีขนาดใหญ่และมีประจุลบ เกิดเป็นเกลือที่ไม่ละลายน้ำทำให้โปรตีนตกตะกอนลงมา (บุญยืน สาริกะภูติ, 2522) เช่น การใช้กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 10 ตกตะกอนโปรตีนไฮโดรไลซ์จากปลา Flounder frame ได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 27.3 - 33.8 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 71 - 72.7 แต่จะทำให้โปรตีนสกัดที่ผลิตได้มีปริมาณเถ้าสูงถึงร้อยละ 18.9 - 19.4 (Montecalvo, *et al.*, 1984b) การใช้กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 10 ตกตะกอนโปรตีนซีรัมอัลบูมิน เคอราติน ไมโอซิน เบต้า-แลกโตกลอบูลิน และฮีโมโกลบิน ได้มากกว่าร้อยละ 80 การใช้กรดไตรคลอโรแอซิติกเข้มข้นร้อยละ 10 กรดทังสติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 และกรดซัลโฟซาลิซิลิกเข้มข้นร้อยละ 20 ตกตะกอนโปรตีนไฮโดรไลซ์จากไข่ขาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Greenberg and Shipe,1979)

5.) คุณภาพโปรตีนปลาสกัด

คุณภาพของผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาสกัด ขึ้นอยู่กับคุณภาพของวัตถุดิบและวิธีการผลิต คุณภาพของโปรตีนปลาประกอบด้วย คุณภาพทางเคมี คุณภาพทางประสาทสัมผัส และคุณสมบัติเชิงหน้าที่

คุณภาพทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ สามารถบอกถึงคุณภาพทางเคมีของโปรตีนปลาได้ ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ที่ดีควรมีปริมาณโปรตีนสูงประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วนในปริมาณสูง และมีปริมาณไขมันต่ำ

1. องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนปลาเข้มข้น โปรตีนปลาสกัด มารีนบีฟ และโปรตีนเส้นใย (ตารางที่ 4) พบว่าผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าร้อยละ 80 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต และปริมาณโปรตีนในองค์ประกอบของวัตถุดิบเริ่มต้น ผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้น โปรตีนสกัด และมารีนบีฟ ที่ผ่านการกำจัดไขมันบางส่วนออกด้วยแอลกอฮอล์มีปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 0.75 เป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับโปรตีนเข้มข้น Type A ปริมาณไขมันในองค์ประกอบโปรตีนสกัดควรต่ำกว่าร้อยละ 0.2 เพื่อควบคุมการเกิดออกซิเดชั่นของไขมัน เนื่องจากไขมันปลาจะประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ปริมาณไขมันที่พอเหมาะจะช่วยรักษาให้โปรตีนมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับ (Spinelli, *et al.*, 1972a) และปริมาณความชื้นในองค์ประกอบของโปรตีนสกัดมีผลต่อความคงตัวของคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์ ความชื้นร้อยละ 2.5 เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการรักษาคุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟซ์ของโปรตีนปลาสกัดจากปลา Rockfish โดยพบว่าปลาสกัดที่มีความชื้นในองค์ประกอบร้อยละ 2.5 - 4.0 สูญเสียคุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟซ์ร้อยละ 15 - 20 ระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Koury and Spinelli, 1975) นอกจากนี้โปรตีนสกัดที่มีคุณภาพดี ควรมีเถ้าและสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ ในปริมาณต่ำ

2. ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน บ่งบอกถึงคุณค่าทางโภชนาการและอาจส่งผลต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ด้วย โปรตีนแต่ละชนิดประกอบด้วยชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่แตกต่างกันออกไป (ตารางที่ 5) อัตราส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อกรดอะมิโนทั้งหมด สามารถบ่งชี้ถึงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ โดยถ้าอัตราส่วนดังกล่าวใกล้เคียง 1 แสดงว่าผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้น โปรตีนสกัด และโปรตีนเส้นใย

ชนิดของโปรตีน	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)				ที่มา
	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น	
คริลเข้มข้น	75.2	3.82	12.7	-	Yanase, (1979)
ไก่เข้มข้น	82.9	1.4	-	4.7	Toledo, (1973)
ปลา บอมเบย์ ดักเข้มข้น	75.90	4.33	12.4	6.66	Warrier and Ninjoor, (1981)
ปลาหมึกเข้มข้น	81.20	2.11	4.10	4.4	Lee, *et al.*, (1974)
ปลาคอดเข้มข้น	90.8	0.4	2.1	10.0	Nikkila, *et al* ., (1976)
ปลาแฮริ่งเข้มข้น	90.7	0.3	8.1	3.3	Nikkila, *et al* ., (1976)
ปลาเฮกเข้มข้น	87.25	0.70	-	5.11	Marinou, *et al.*, (1974)
มารีนบีฟจากปลาซาร์ดีน	89.2	Trace	3.5	9.5	Suzuki, (1981)
มารีนบีฟจากปลาอลาสก้าพอลแลค	91.8	0	3.0	8.0	Suzuki, (1981)
เส้นใยโปรตีนจากหัวซาร์ดีน	85.7	1.2	2.2	-	Tanaka, *et al.*,(1983)
เส้นใยโปรตีนจากเครื่องในซาร์ดีน	74.1	1.6	0.6	-	Tanaka, *et al.*,(1983)
ปลาเก๋าสกัด	75.3	7.2	3.2	-	Meinke, *et al* .,(1972)
ปลา Flounder frame สกัด	84.5	7.4	1.2	3.4	Montecalvo,*et al.*,(1984)
ปลา Rockfish สกัด	93.5	0.15	-	5-7	Spinelli, *et al.*,(1972a)
ปลา Rockfish สกัด	87.7	8.1	0.1	4.5	Groninger and Miller, (1975)
ถั่วเหลืองสกัด	87.7	-	-	5.7	Hayashi, *et al.*,(1991)
ดอกคำฝอยสกัด	92.60	0.42	0.76	-	Betschart and Saunders, (1978)
ทานตะวันสกัด	98.30	0.45	5.83	-	Lawhon,*et al.*,(1982)
Faba beanสกัด	75.17	1.55	4.81	-	Abdel-Aal , *et al.*,(1986)

ตารางที่ 5 ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนปลา และโปรตีนจากแหล่งอื่น

ชนิดกรดอะมิโน	ปริมาณ (กรัมของกรดอะมิโน / 100 กรัมของโปรตีน)											
	ปลาสด				โปรตีนปลาเข้มข้น			โปรตีนปลาสกัด				มารีนบีฟ
	ก[1]	ข[1]	ค[3]	ง[4]	ก[1]	ข[1]	จ[2]	ก[1]	ข[2]	ฉ[5]	ช[6]	ง[4]
ไลซีน	7.4	6.9	8.65	11.7	8.9	8.9	8.2	9.5	7.8	2.71	6.1	11.3
ธีสทีดีน	2.3	1.7	3.01	2.5	1.8	1.9	2.33	2.4	1.9	2.86	2.5	2.3
ทรีโอนีน	4.4	3.7	5.05	4.6	3.8	4.1	3.32	4.9	3.9	2.74	3.7	4.9
วาลีน	4.8	4.2	7.66	4.9	4.2	4.0	3.54	5.8	4.6	3.47	4.8	4.8
เมธไธโอนีน	3.9	2.7	2.96	3.1	2.8	2.8	2.19	3.2	2.6	0.85	1.1	3.5
ไอโซลูซีน	4.2	3.4	6.03	6.2	3.6	3.5	3.88	5.2	4.5	2.56	4.9	7.2
ลูซีน	7.5	6.2	10.2	10.6	6.5	6.3	6.45	9.2	7.6	6.16	7.7	8.5
ทริพโตเฟน	-	-	-	1.3	-	-	-	-	-	1.83	1.4	1.4
ฟีนิลอะลานีน	4.1	3.3	4.23	3.8	3.6	3.3	3.44	4.7	3.7	4.21	5.4	3.6
อาร์จินีน	5.4	6.1	5.67	7.0	6.5	6.4	6.58	6.1	4.9	12.5	7.8	6.5
กรดแอสพาติก	9.9	8.1	7.91	11.6	8.9	8.1	8.66	11.5	8.9	9.73	11.9	11.0
เซียรีน	4.4	3.5	4.93	5.2	3.9	2.5	2.59	4.6	3.8	4.25	5.5	6.0
กรดกลูตามิก	13.7	12.5	13.2	18.9	12.8	12.7	12.1	17.0	13.3	23.1	20.5	18.4
โปรลีน	5.9	5.2	4.36	4.5	6.4	5.9	2.45	4.3	3.5	2.02	5.3	5.2
ไกลซีน	10.2	8.9	3.31	3.6	9.1	7.5	2.64	5.7	4.1	5.18	4.0	3.8
อะลานีน	7.4	6.4	7.66	6.5	6.5	6.0	4.05	6.8	5.3	2.84	3.9	6.1
ซีสตีน	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-	-	1.0	1.1
ไทโรซีน	3.0	2.7	4.27	3.6	2.6	2.7	2.45	3.8	3.2	2.75	3.7	4.1
กรดอะมิโนทั้งหมด	98	86	100	111	92	87	75	105	84	90	101	110
อัตราส่วน กรดอะมิโนที่จำเป็น/ทั้งหมด	0.39	0.37	0.48	0.44	0.38	0.40	0.45	0.43	0.44	0.31	0.37	0.43

หมายเหตุ

ก. แทนปลาคราฟ ข. แทนปลาเก๋า ค. แทนปลาซาร์ดีน ง. แทนปลาอลาสก้าพอลแลค

จ. แทน ปลาหมึก ฉ. แทน ดอกคำฝอย ช. แทนถั่วเหลือง

[1] ดัดแปลงจาก Meinke และคณะ (1972)

[2] ดัดแปลงจาก Lee และคณะ (1974)

[3] ดัดแปลงจาก Iwasaki และ Harada (1985)

[4] ดัดแปลงจาก Suzuki (1981)

[5] ดัดแปลงจาก Paredes-Lopez และ Ordorica-Falomir (1986)

[6] ดัดแปลงจาก Wolf และ Cowan (1986)

โปรตีนอุดมไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสูงยิ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นขึ้นเองได้ ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นที่พบในเนื้อปลา 200 กรัม มีปริมาณเกือบครบถ้วนตามความต้องการกรดอะมิโนของร่างกายคนที่มีน้ำหนัก 68 กิโลกรัมต่อวัน (Stansby and Hall 1967)

Meinke และคณะ (1972) พบว่าโปรตีนสกัดจากปลาเก๋าและปลาคราฟ ประกอบด้วยกรดอะมิโนอย่างครบถ้วนและมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นทุกชนิด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นที่พบในโปรตีนปลากับที่พบในโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองและจากดอกคำฝอย พบว่าโปรตีนปลามีปริมาณกรดอะมิโนไลซีน เมธไธโอนีนและทรีโอนีนสูงกว่าโปรตีนสกัดจากพืชทั้ง 2 แหล่ง โดยเฉพาะปริมาณกรดอะมิโนเมธไธโอนีน จะพบในโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองและดอกคำฝอยในปริมาณต่ำ จึงทำให้สัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อกรดอะมิโนทั้งหมดของโปรตีนพืชต่ำกว่าโปรตีนสกัดจากปลา ส่วนปริมาณกรดอะมิโนที่พบในมารีนบีฟจากปลาอลาสก้าพอคแลค และเนื้อปลาสด พบว่ามีสัดส่วนของชนิดและปริมาณไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าวิธีการผลิตสามารถรักษาคุณภาพทางโภชนาการของโปรตีนให้เหมือนธรรมชาติได้ดี ในขณะที่โปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ เช่นโปรตีนหลายชนิดที่พบในเนื้อเยื่อพืช มักพบว่าขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายตั้งแต่หนึ่งชนิดขึ้นไป

คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ลักษณะของสี กลิ่นคาวปลา และความขม เป็นคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสสำคัญที่มีผลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์

1. สี สีของผลิตภัณฑ์โปรตีนปลา ขึ้นอยู่กับปริมาณเม็ดสีที่มีอยู่ในวัตถุดิบ และการเกิดสีน้ำตาลโดยปฏิกิริยาที่ไม่เกิดจากเอนไซม์ในระหว่างการผลิต เช่น โปรตีนสกัดจากปลา Flounder frame ซึ่งสกัดในสารละลายด่างมีสีน้ำตาลอ่อนเมื่อใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปรับพีเอช ในขณะที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับพีเอช ผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลดำ (Montecalvo, *et al.*, 1984a) โปรตีนสกัดจากปลา Rockfish มีสีขาวไม่ดูดความชื้น (Spinelli, *et al.*, 1972b) โปรตีนเข้มข้นจากปลาซาร์ดีนทั้งตัวมีสีเทา โปรตีนปลาเข้มข้นจากเนื้อปลาซาร์ดีนมีสีขาว (Moorjani and Lahiry, 1970) การยอมรับของสีจะขึ้นอยู่กับการนำไปใช้ประโยชน์ หากนำไปใช้เติมในผลิตภัณฑ์ที่มีสี เช่น เนื้อคืนรูปซึ่งสีของโปรตีนจะกลมกลืนกับผลิตภัณฑ์ แต่อาจจะไม่เป็นที่ยอมรับหรือเป็นปัจจัยวิกฤตเมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีสีขาว (Sikorski and Naczk, 1981)

2. กลิ่น เป็นคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่สำคัญต่อการยอมรับและการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้งาน โปรตีนสกัดที่ดีควรไม่มีกลิ่นหรือมีกลิ่นคาวปลาอ่อน ๆ ซึ่งเกิดจากสารประกอบเอมีนและสารประกอบที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ สารประกอบเหล่านี้สามารถระเหยได้และถูกกำจัดออกโดยวิธีการกำจัดกลิ่น กลิ่นเฉพาะซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการออกซิเดชั่นของไขมันที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณไขมันที่มีอยู่ในองค์ประกอบของโปรตีน ในทางการค้าโปรตีนสกัดควรมีปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 0.2 เพื่อรักษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ดีของโปรตีนสกัดตลอดการเก็บรักษา (Spinelli, *et al.*,1972a) กลิ่นหืนและกลิ่นคาวปลาเป็นข้อด้อยที่ทำให้โปรตีนสกัดจากปลาถูกนำไปใช้ไม่แพร่หลายเท่าโปรตีนจากแหล่งอื่นทั้งที่คุณค่าทางโภชนาการสูงกว่า ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเลือกผลิตภัณฑ์ให้เหมาะสมกับการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในแต่ละประเภท

3. รส รสชาติของโปรตีนปลาสกัดขึ้นอยู่กับวิธีการผลิต และองค์ประกอบกรดอะมิโนในพันธะเปปไปด์ ความขมที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตเกิดจากปฏิกริยาไฮโดรไลซ์ซึ่งขึ้นอยู่กับระดับการย่อยโปรตีนและความจำเพาะของเอนไซม์โปรตีน เช่น ขนาดและชนิดของพันธะเปปไทด์เกิดจากหมู่ไม่ชอบน้ำของกรดอะมิโน เช่น ไอโซลูซีน ลูซีน ฟีนิลอะลานีน และวาลีน ที่รวมกันเป็นสายเปปไทด์ที่มีโมเลกุลต่ำ (Hevia and Olcott ,1977) ส่วนรสยูมามิ (Umami) หรือรสคล้ายกลูตาเมตเกิดเนื่องจากมีพันธะเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดกลูตามิกสูง (Noguchi, *et al.*, 1975)

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัด

สมบัติการละลาย

โปรตีนปลาเข้มข้นและปลาป่น มีคุณสมบัติการกระจายตัว การละลาย และความสามารถจับกับน้ำต่ำ เนื่องจากโปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพอย่างรุนแรงจากการใช้ความร้อนและตัวทำละลายสกัด การปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีทางเอนไซม์ เช่น ย่อยสลายโปรตีนปลาซาร์ดีน (*Sardina pilchardus*) ด้วยเอนไซม์ Acalase ที่ระดับการย่อยร้อยละ 20 ทำให้ได้โปรตีนที่สามารถละลายมากกว่าร้อยละ 90 ในช่วงพีเอช 5 - 9 (Quaglia and Orban, 1987) วิธีสกัดใต้อุณหภูมิต่ำ และวิธีทางเคมี เช่น ใช้กรดอะซิติก หรือซัคซินิคแอนไฮไดรด์ หมู่ซัคซินิลจะเพิ่มประจุลบให้กับกรดอะมิโนของโปรตีน (Miller and Groninger, 1976) โดยทำปฏิกิริยากับหมู่ ε - อะมิโนของไลซีนและหมู่อื่น ๆ เช่น ซัลไฟดริลของซีสตีน ฟีนอลิกของไทโรซีน และไฮดรอกซิลของเซอรีนและทรีโอนีน (Mackie, 1994) ทำให้โปรตีนสามารถจับน้ำและละลายได้สูงขึ้น เช่น การดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นจากประมาณ 10 มิลลิลิตรต่อกรัมโปรตีน เป็น 50 มิลลิลิตรต่อกรัมโปรตีน (Miller and Groninger, 1976)

สมบัติการเป็นอิมัลชั่น

เป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร โปรตีนปลาเข้มข้นมีคุณสมบัติการเป็นอิมัลชั่นต่ำ ในขณะที่โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตมีคุณสมบัติการเป็นอิมัลชั่นที่ดี (Sikorski and Naczk, 1981) Spinelli และคณะ (1972b) สามารถปรับปรุงคุณสมบัติอิมัลชั่นของโปรตีนสกัดจากปลา Rockfish ด้วยเอนไซม์และตกตะกอนด้วยฟอสเฟตเข้มข้น คุณสมบัติอิมัลชั่นและความคงตัวของอิมัลชั่นของโปรตีนปลาสกัดสูงสุด เมื่อไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งให้ค่าการเกิดอิมัลชั่น 225 กรัมน้ำมันต่อกรัมโปรตีน และความคงตัวของการเป็นอิมัลชั่นเท่ากับ 120 นาที และคุณสมบัตินี้ลดลงในโปรตีนสกัดที่เอาไขมันออกด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูง เช่น แอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ โปรตีนสกัดซึ่งไม่ได้ดัดแปลงด้วยเอนไซม์ เมื่อนำมาสกัดเอาไขมันออกด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จะทำลายคุณสมบัติการเกิดอิมัลชั่นทั้งหมด นอกจากนี้คุณสมบัติการเป็นอิมัลชั่นของโปรตีนปลาสกัด มีความสัมพันธ์กับปริมาณความชื้น คุณสมบัตินี้จะมีความคงตัวเมื่อความชื้นเท่ากับ 2.5 และเมื่อโปรตีนสกัดมีความชื้นร้อยละ 2.5 - 4.0 จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน โดยสูญเสียคุณสมบัติการเป็นอิมัลชั่น ร้อยละ 15 - 20 เมื่อมีความชื้นต่ำกว่า 2.5 และพบว่าผล

ของบรรยากาศในภาชนะบรรจุมีผลน้อยต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัด (Koury and Spinelli , 1975)

สมบัติการเกิดฟอง

โปรตีนปลาเข้มข้นสูญเสียความสามารถในการคงตัวและเกิดฟอง การปรับปรุงคุณสมบัติการเกิดฟองในผลิตภัณฑ์โปรตีนสกัด ทำโดยดัดแปลงโปรตีนด้วยซัคซินิค แอนไฮไดรด์ ซึ่งทำให้โปรตีนมีความสามารถเกิดฟอง 900 มิลลิลิตร (3 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ในขณะที่ไข่ขาวและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีสมบัติการเกิดฟอง 1100 และ 3000 มิลลิลิตร (4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ตามลำดับ แต่จะมีความคงตัวของฟองมากกว่าโปรตีนจากไข่ขาวและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (Groninger and Miller ,1975) และเมื่อดัดแปลงด้วยซัคซินิค แอนไฮไดรด์ ร่วมกับการไฮโดรไลซ์จะทำให้ความสามารถในการเกิดฟองเพิ่มเป็น 1050 มิลลิลิตร (Miller and Groninger, 1976)

6.) การใช้ประโยชน์โปรตีนปลา

ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่แปรรูปจากปลายังมีการใช้ประโยชน์ที่ไม่แพร่หลาย มักใช้เฉพาะในประเทศด้อยพัฒนาหรือประเทศที่ขาดแคลนอาหารโปรตีน เนื่องจากมีปัญหาในด้านราคาซึ่งมีราคาแพงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับราคาวัตถุดิบและขาดการพัฒนารูปแบบและคุณภาพ อย่างไรก็ตามพบว่าส่วนใหญ่มีการใช้ประโยชน์โปรตีนเข้มข้นในสูตรอาหารพวกเบเกอรี่ อาหารเช้าจากธัญพืช มักกะโรนี และซุปผัก สามารถนำไปใช้เป็นสารอาหารเสริมทดแทนโปรตีนจากธัญพืช (Yanez, *et al.*, 1976) และสารทดแทนนมวัว (Meckie, 1974) ในประเทศญี่ปุ่นใช้มารีนบีฟผสมในสูตรอาหารพวกเนื้อคืนรูปและแฮมเบอเกอร์ โปรตีนสกัดที่ผลิตให้มีลักษณะเป็นเส้นใย (Mackic and Thomson, 1982 : Tanaka, *et al.*, 1983) เป็นการปรับปรุงเนื้อสัมผัสและรูปแบบให้สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น Vareltzis และคณะ (1990) ใช้โปรตีนเข้มข้นผสมในสูตรเนื้อบดแฮมเบอเกอร์ซึ่งได้รับการยอมรับที่ดี แม้จะมีกลิ่นปลาเมื่อทดแทนโปรตีนเข้มข้นร้อยละ 20 โปรตีนไฮโดรไลเซสเหลวผสมกับถั่วเหลืองสำหรับโครงการอาหารกลางวัน ใช้เป็นซุป ขนมขบเคี้ยว ของหวาน ซอส และเนื้อเทียม ผลิตภัณฑ์แห้งใช้เป็นส่วนผสมในขนมปังกรอบ (Yu and Tan, 1990) Groninger และ Miller (1975) ใช้โปรตีนสกัดซึ่งดัดแปลงด้วยเอนไซม์และวิธีทางเคมีด้วยซัคซินิคแอนไฮไดร์ด แทนไข่ขาวในสูตรอาหารหลายชนิด เช่น ของหวานเจลาติน ของหวานแช่แข็ง ของหวานแต่งหน้า โปรตีนสกัดซึ่งมีโครงสร้างแบบโปรตีน-ฟอสเฟตใช้แทนไข่ขาวในสูตรเค้กไข่ขาว เนื้อคืนรูปในผลิตภัณฑ์แฟรงเฟอเตอร์ เป็นต้น (Miller and Groninger ,1976

; Spinelli, *et al*.,1977) Ostrander (1977) ใช้โปรตีนปลาสกัดซึ่งดัดแปลงเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการตีขึ้น (Whippability) ร้อยละ 30 60 และ 100 แทนไข่ขาวในสูตรผลิตภัณฑ์เจลาติน พบว่าสูตรเสริมโปรตีนไม่มีความแตกต่างทั้งรสชาติ และลักษณะปรากฏจากสูตรปกติ ส่วนในงานวิจัยของ บุหลัน พิทักษ์ผล และคณะ (2531) ผลิตบะหมี่ปลาโดยผสมปลาแห้งซึ่งบดด้วยลูกกลิ้ง

จากการใช้ประโยชน์โปรตีนปลาในหลาย ๆ รูปแบบ เป็นเครื่องแสดงว่าโปรตีนปลาสกัดซึ่งผลิตด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อการบริโภค และยังคงไว้ซึ่งคุณภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ดี จะสามารถเพิ่มศักยภาพในการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสกัดให้แพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารได้ เหมือนเช่นโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีจำหน่ายในระดับอุตสาหกรรมและมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนและการตกตะกอนโปรตีนจากส่วนหัวและเครื่องในปลาทูน่าและปลาซาดีน
2. ประเมินคุณสมบัติทางเคมี และคุณสมบัติการทำหน้าที่ของโปรตีนปลาสกัดที่ผลิตขึ้น
3. พัฒนาแนวทางการใช้ประโยชน์วัสดุเศษเหลือจากสัตว์น้ำ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัตถุดิบ ประกอบด้วย

- หัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน (*Sardinella spp.*) จาก บริษัท สงขลาแคนนิ่ง จำกัด อ.เมือง จ.สงขลา เป็นหัวและเครื่องในสดจากปลาซาร์ดีนที่หัวมีความยาว 2.5 - 3.5 เซนติเมตร จับจากบริเวณอ่าวไทยในช่วงเดือน พฤศจิกายน 2536 ถึง เดือน กันยายน 2537 สำหรับการศึกษาปัจจัยการผลิต และเดือน ธันวาคม 2539 ถึง มกราคม 2540 สำหรับการศึกษาคุณสมบัติการทำหน้าที่ของโปรตีน

- หัวและเครื่องในปลาทูน่า (ปลาโอแถบ : Skipjack tuna : *Euthynnus pelamis*) จาก บริษัท สงขลาแคนนิ่ง จำกัด อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา เป็นหัวและเครื่องในปลาทูน่าที่หัวมีขนาดความยาว 12 - 17 เซนติเมตร ผ่านการแช่เยือกแข็งและนำเข้าจากต่างประเทศ จากแถบมหาสมุทรแปซิฟิคในช่วงเดือน กันยายน 2536 ถึง สิงหาคม 2537 สำหรับการศึกษาปัจจัยการผลิต และเดือนพฤศจิกายน 2539 ถึง ธันวาคม 2539 สำหรับการศึกษาการทำหน้าที่ของโปรตีน

2. สารเคมี ประกอบด้วย

- สารเคมีที่ใช้สำหรับการเตรียมโปรตีนสกัด ได้แก่ โพแทสเซียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟูริก เป็นต้น

- สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ กรดอะซิติก กรดบอริก กรดไธโอบาบิทูริก โฟลิน-ฟีนอล ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นต้น

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ เครื่องบดไฟฟ้า และเครื่องบดเนื้อไฟฟ้าที่รูของแผ่นตะแกรงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 / 8 นิ้ว
2. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับเตรียมโปรตีนสกัด ได้แก่
   - เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ PR รุ่น PHM
   - เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Himac รุ่น SCR 20B
   - เครื่องอบไฟฟ้า ยี่ห้อ Memmert รุ่น ULM 50
   - เครื่องโฮโมจีไนซ์ ยี่ห้อ ACE รุ่น AM - 8
   - เครื่องสเปกโตรโฟมิเตอร์ ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U - 2 000
   - เครื่องชั่งไฟฟ้า ยี่ห้อ Mettler รุ่น P163
   - เตาเผา ยี่ห้อ Carbolite รุ่น ELF 10 / 6
3. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี
4. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงทำหน้าที่ของโปรตีน

วิธีการ

ตอนที่ 1 การเตรียมและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำวัตถุดิบแต่ละชนิด มาล้างทำความสะอาดและทำให้สะเด็ดน้ำ แบ่งบรรจุใส่ถุงโพลีเอธิลีนถุงละ 500 กรัมและเก็บรักษาไว้ในกล่องโฟม ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งทำการทดลอง จึงนำมาสับให้เป็นชิ้นเล็กลง ก่อนที่จะนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดเนื้อไฟฟ้า โดยทำการทดลองภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากเตรียมตัวอย่าง

1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

สุ่มตัวอย่างวัตถุดิบที่บดละเอียดชนิดละ 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ประกอบด้วย

- ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า ปริมาณโปรตีน โดยวิธีเจลดาล ปริมาณไขมัน โดยวิธีซอคเลค ปริมาณเถ้า โดยวิธีเผาในเตาเผา ชนิดและปริมาณกรด

อะมิโน (A.O.A.C. ,1990) ค่าทีบีเอ โดยวิธีกรดไธโอบาบิทูริก (Egan, *et al.* , 1984) ปริมาณไนโตรเจนในรูปด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด โดยวิธีคอนเวย์ และค่าความสด (ค่าเค) (Hasegawa, *et al.* , 1987)

ตอนที่ 2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนและตกตะกอนโปรตีน

2.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีน

ใช้วัตถุดิบทั้ง 4 ชนิด ๆ ละ 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อศึกษาปัจจัยต่อไปนี้

2.1.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่ประกอบด้วย

- สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์
- สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.001 0.005 0.01 0.02 และ 0.05 โมลาร์
- สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โมลาร์

โดยใช้วัตถุดิบบดละเอียดที่เตรียมไว้ 20 กรัม เติมสารละลายสกัด และปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร หลังจากปรับค่าพีเอชของสารละลายผสม ให้เท่ากับ 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 โมลาร์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์ (ยกเว้น กรณีที่ใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเป็นสารสกัด จะใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 โมลาร์แทนกรดไฮโดรคลอริก) หลังจากนั้นนำไปเขย่าเป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ / นาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสไปวิเคราะห์โปรตีน โดยวิธี Lowry และคณะ (1951) บันทึกผล วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance : ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดทดลองโดยวิธี DMRT (Duncan' s multiple range test) (จิราพร ชมพิกุล , 2532) คัดเลือกชนิดและความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิด เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.1.2 ผลของค่าพีเอชร่วมกับสารละลายสกัด

ศึกษาผลของค่าพีเอชที่มีค่าเท่ากับ 1 3 5 7 9 11 และ 13 ร่วมกับชนิดและความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.1.1 ต่อการสกัดโปรตีนปลา โดยทำการทดลองกับวัตถุดิบทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธีการ การบันทึกและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 เพื่อคัดเลือกค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิดในการทดลองต่อไป

2.1.3 ผลของระยะเวลาสกัด

ศึกษาผลของระยะเวลาต่อการสกัดโปรตีนปลา ทำการทดลองกับวัตถุดิบทั้ง 4 ชนิดภายใต้สภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 โดยใช้ระยะเวลาสกัดแตกต่างกัน คือ 30 60 และ 120 นาที วิเคราะห์ผลการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 เพื่อคัดเลือกระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิดในการทดลองต่อไป

2.1.4 ผลของอัตราส่วนของน้ำหนักวัตถุดิบต่อปริมาตรของสารละลายสกัด

ศึกษาผลของอัตราส่วนของน้ำหนักวัตถุดิบต่อปริมาตรของสารละลายสกัดต่อการสกัดโปรตีนปลา คือ อัตราส่วน 1 : 5 และ 1 : 10 โดยทำการทดลองกับวัตถุดิบทั้ง 4 ชนิด ภายใต้วิธีการและสภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 2.1.1 2.1.2 และ 2.1.3 บันทึกและวิเคราะห์ผลการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิด เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.1.5 ผลของอุณหภูมิการสกัด

ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีค่าเท่ากับ 25 35 45 50 และ 55 องศาเซลเซียส ต่อการสกัดโปรตีนปลา โดยทำการทดลองกับวัตถุดิบทั้ง 4 ชนิด ภายใต้วิธีการที่ได้คัดเลือกจากข้อ 2.1.1 ถึง 2.1.4 บันทึกและวิเคราะห์ผลทางสถิติเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 เพื่อคัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิด เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 วิธีการที่เหมาะสมต่อการตกตะกอนโปรตีน

ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนด้วยวิธีการปรับพีเอชที่จุดไอโซอิเล็กตริก และการตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ โดยใช้สารละลายโปรตีนสกัดจากวัตถุดิบทั้ง 4 ชนิด ๆ ละ 2 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.1 การตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก

นำสารละลายโปรตีนที่ได้จากข้อ 2.1 มาปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 และ 6.0 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 โมลาร์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์ (ยกเว้นกรณีที่ใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต เป็นสารสกัด จะใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 โมลาร์แทนกรดไฮโดรคลอริก) หลังจากนั้นทำการแยกโปรตีน โดยนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ / นาที เป็นเวลา 10 นาที

ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แยกเก็บสารละลายส่วนใสเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่คงเหลืออยู่ โดยวิธี Lowry และคณะ (1951) บันทึกและวิเคราะห์ผลทางสถิติเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 คัดเลือกชุดการทดลองที่ให้ปริมาณโปรตีนคงเหลืออยู่ในสารละลายส่วนใสน้อยที่สุด เป็นจุดไอโซอิเล็กตริกของสารละลายโปรตีนทั้ง 4 ชนิด ทำการตกตะกอนโปรตีนออกจากสารละลายที่จุดไอโซอิเล็กตริก

2.2.2 การตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์

นำสารละลายโปรตีนที่ได้จากข้อ 2.1 มาทำการตกตะกอนโปรตีนด้วยไอโซ - โพรพิลแอลกอฮอล์ โดยการปรับพีเอชของสารละลายโปรตีนเท่ากับ 7 เติมไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ให้มีอัตราส่วนของสารละลายโปรตีนต่อไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์เป็น 1 : 1 1 : 1.5 1 : 2 และ 1 : 3 ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นทำการแยกโปรตีนจากทั้ง 4 ชุดการทดลอง ด้วยวิธีการและวิเคราะห์ผลการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนโปรตีนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์

เปรียบเทียบผลการตกตะกอนชุดที่ดีที่สุดด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ กับการตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก คัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมต่อการตกตะกอน เพื่อใช้ในการทดลองตอนต่อไป

ตอนที่ 3 การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติของโปรตีนปลาสกัด

ทำการสกัดและตกตะกอนโปรตีนปลาโดยใช้วัตถุดิบทั้ง 4 ชนิด ทำการทดลองภายใต้วิธีการและสภาวะที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากข้อ 2.1 และ 2.2 แยกเก็บตะกอนเปียกของโปรตีน แล้วทำการสกัดเอาไขมันบางส่วนออกด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 อัตราส่วน 1 : 3 (น้ำหนักโปรตีนเปียกต่อปริมาตรแอลกอฮอล์) โดยกวนของผสมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และทิ้งให้ตกตะกอน เป็นเวลา 25 นาที หมุนเหวี่ยงความเร็ว 10,000 รอบ / นาที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำตะกอนมาทำแห้งโดยใช้ตู้อบไฟฟ้าแบบสุญญากาศที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 - 12 ชั่วโมง บันทึกปริมาณผลผลิต หลังจากนั้นนำโปรตีนสกัดมาตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติ ดังนี้

3.1 **องค์ประกอบทางเคมี** ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และ ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน (A.O.A.C.,1990)

3.2 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

- การละลาย (Nitrogen solubility Index) โดยวิธี Adler - Nissen (1986)
- การเกิดฟอง (Foam capacity) โดยวิธี Olsen และ Adler - Nissen (1981)
- การเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifying capacity) โดยวิธี Webb และคณะ (1970)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

ตอนที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ (ภาพที่ 4) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 มีรายละเอียดดังนี้ หัวและเครื่องในปลาทูน่ามีองค์ประกอบทางเคมีหลัก คือ โปรตีน ไขมัน เถ้า โดยน้ำหนักแห้ง ร้อยละ 39.84 35.35 และ 24.65 ตามลำดับ สำหรับหัวปลาทูน่า และ ร้อยละ 69.52 22.99 และ 7.66 สำหรับเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Vlieg และคณะ (1983) ว่าปลาโอแถบที่จับได้บริเวณเขตเศรษฐกิจจำเพาะของประเทศนิวซีแลนด์และนิวคลีโอเนียในปี ค.ศ 1982 มีองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าว ร้อยละ 51.69 28.43 และ 19.16 ตามลำดับ สำหรับส่วนหัว และร้อยละ 70.43 22.26 และ 7.47 สำหรับส่วนเครื่องใน ตามลำดับ โดยพบว่าในส่วนเครื่องในมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าในส่วนหัว ในขณะที่มีปริมาณไขมันและเถ้าต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากในส่วนหัวปลาทูน่าประกอบด้วย โครงกระดูก เหงือก และกระพุงแก้มขนาดใหญ่ จึงมีองค์ประกอบเถ้าและแร่ธาตุสูงกว่า ความแตกต่างองค์ประกอบอื่น ๆ น่าจะเกิดจาก อายุของปลา ฤดูกาล และแหล่งที่อยู่อาศัย

Balogun และ Talabi (1986) รายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาโอแถบที่จับบริเวณเขตเศรษฐกิจจำเพาะของประเทศไนจีเรียในปี ค.ศ 1982 - 1983 ซึ่งมีขนาดความยาวลำตัว 41.65 - 46.60 เซนติเมตร ว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยน้ำหนักแห้ง ร้อยละ 85.06 7.63 และ 7.31 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบที่นำมาใช้ในงานวิจัยพบว่าในเนื้อปลามีองค์ประกอบโปรตีนสูงกว่าและไขมันต่ำกว่าส่วนหัวและเครื่องในปลาทูน่า เนื่องจากในเนื้อปลาประกอบด้วยมัดกล้ามเนื้อที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก จึงทำให้พบองค์ประกอบโปรตีนสูง ส่วนในหัวปลาทูน่ามีไขมันสะสมอยู่บริเวณรอบกล้ามเนื้อของตาปลาและชั้นกล้ามเนื้อใต้ผิวหนัง ในขณะที่ส่วนเครื่องในมีไขมันสะสมมากในตับ กระเพาะอาหาร และไข่ปลา เป็นต้น จึงทำให้มีปริมาณไขมันสูง

ภาพที่ 4 วัตถุดิบหัวและเครื่องในปลาทูน่าและปลาซาร์ดีน

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพของวัตถุดิบ

องค์ประกอบ	ชนิดของวัตถุดิบ			
	หัวปลาทูน่า	เครื่องในปลาทูน่า	หัวปลาซาร์ดีน	เครื่องในปลาซาร์ดีน
โปรตีน (ร้อยละ) [1]	39.84 ± 0.20	69.52 ± 0.50	42.33 ± 0.34	40.21 ± 0.49
ไขมัน (ร้อยละ) [1]	35.35 ± 0.40	22.99 ± 0.28	24.56 ± 0.34	47.92 ± 0.56
เถ้า (ร้อยละ) [1]	24.65 ± 0.54	7.66 ± 0.13	33.28 ± 0.40	11.88 ± 0.20
ความชื้น (ร้อยละ)	69.90 ± 1.03	73.57 ± 0.70	71.06 ± 0.86	74.80 ± 0.63
ค่าทีบีเอ	4.36 ± 0.24	5.57 ± 0.77	5.02 ± 1.18	6.57 ± 0.16
มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ / กก.ตัวอย่าง				
ปริมาณไนโตรเจนทั้ง	11.52 ± 1.50	19.66 ± 0.62	13.86 ± 1.01	22.28 ± 2.82
หมดในรูปด่างที่ระเหยได้ (ค่าทีวีบี) มก.ไนโตรเจน/100กรัมตัวอย่าง				
ความสด (ค่าเค)	9.83 ± 0.99	13.28 ± 0.93	13.86 ± 2.08	15.67 ± 1.94
(ร้อยละ)				

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ๆละ 3 ซ้ำ

[1] คำนวณจากน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

สำหรับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน พบว่า มีองค์ประกอบหลัก คือ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยน้ำหนักแห้ง ร้อยละ 42.33 24.56 และ 33.28 สำหรับส่วนหัว และร้อยละ 40.21 47.92 และ 11.88 สำหรับเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยของ Tanaka และคณะ (1983) ที่รายงานว่าปลาซาร์ดีน (*Sardinops melanosticta*) มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า 10.6 13.4 และ 6.8 ตามลำดับ สำหรับส่วนหัว และร้อยละ 7.9 55.5 และ 0.8 สำหรับเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนและเถ้าในส่วนหัวสูงกว่าส่วนเครื่องใน อาจเนื่องจากส่วนหัวปลาประกอบด้วยโครงกระดูก เหงือก และกระพุงแก้ม ส่วนเครื่องในมีไขมันปริมาณสูง น่าจะเกิดจากปลาซาร์ดีนเป็นปลาที่มีไขมันสูงและมีการเก็บสะสมไขมันสำรองไว้ในช่องท้อง โดยเฉพาะในส่วนตับซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของเครื่องในปลาซาร์ดีน สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Nunes และคณะ (1992) ถึงองค์ประกอบทางเคมีของปลาซาร์ดีนทั้งตัว (*Sardina pilchardus*) ว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นร้อยละ 15.5 - 18.4 1.6 - 22.4 2.6 - 3.9 และ 58.2 - 78.6 ตามลำดับ ปริมาณไขมันและความชื้นมีความแปรปรวนในช่วงกว้าง โดยปริมาณไขมันมีค่าสูงสุดในช่วงเดือนสิงหาคมถึงตุลาคม และต่ำสุดในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคม ส่วนความแตกต่างอื่น ๆ อาจเนื่องจาก สายพันธุ์ ขนาด แหล่งอาหาร ฤดูกาล และแหล่งจับ เป็นต้น

คุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยโดยทั่วไปอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยพบว่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ซึ่งเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลังปลาตาย โดยสาเหตุจากเอนไซม์ภายในตัวปลา และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ (Sikorski, 1990) ของหัวปลาทูน่า เครื่องในปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน และเครื่องในปลาซาร์ดีน มีค่าเท่ากับ 11.52 19.66 13.86 และ 22.28 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ มีรายงานว่า ปลาซาร์ดีนสด (*Sardina pilchardus*) ที่จับในบริเวณชายฝั่งแอตแลนติก มีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด เท่ากับ 13.41 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และเมื่อแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 18 วัน ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 37.46 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (El Marrakchi, *et al* ., 1990) สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานถึงปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในปลาซาร์ดีน (*Sardina pilchardus*) ซึ่งจับในบริเวณชายฝั่งประเทศนอร์เวย์ว่ามีปริมาณต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาไว้ในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 วัน ปริมาณด่างที่ระเหยได้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนมีค่า 50 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วัน (Nunes, *et al* ., 1992) ซึ่งความแตกต่างระหว่างปริมาณที่ตรวจพบ อาจเนื่อง

จากสายพันธุ์ ฤดูกาล และชิ้นส่วนที่นำมาวิเคราะห์ เช่น ส่วนเครื่องในอาจมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนและเอนไซม์มากกว่าในส่วนหัว เป็นต้น โดยทั่วไปปลาที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับ ควรมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดไม่เกิน 30 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (Ng, 1987) แต่เกณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำแต่ละชนิด อาจมีระดับที่แตกต่างกัน เช่น ปลาไขมันสูง ได้แก่ ปลาแฮริ่ง ปลาทูควรมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ไม่เกิน 20 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ปลาหมึกควรมีค่าไม่เกิน 45 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ100 กรัมตัวอย่าง (Sikorski, 1990)

จากการตรวจค่าความสดด้วยวิธีการหาค่าเค พบว่า หัวปลาทูน่า เครื่องในปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน และเครื่องในปลาซาร์ดีน มีค่าร้อยละ 9.83 13.28 13.86 และ 15.67 ตามลำดับ ค่าความสดสำหรับปลาทูน่าที่มีคุณภาพดีควรมีค่าไม่เกินร้อยละ 18.7 (Sikorski, 1990) ซึ่งโดยปกติปลาจะเริ่มเน่าเมื่อค่าความสดสูงกว่าร้อยละ 60 (Ehira, 1976) ค่าความสดหลังจับปลาได้ ควรมีค่าไม่เกินร้อยละ 10 และมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงแรกเกิดจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ หลังจากนั้นค่าจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วด้วยการย่อยสลายจากจุลินทรีย์ การเพิ่มขึ้นของค่าความสดในกล้ามเนื้อดำเร็วกว่าในกล้ามเนื้อขาวประมาณ 5 เท่า (Sikorski, 1990) นอกจากนี้ความแตกต่างของค่าความสดอาจขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ และสภาวะในการขนส่งและเก็บรักษา เป็นต้น

ส่วนค่าทีบีเอ (ปริมาณกรดไธโอบาบิทูริก) ของหัวปลาทูน่า เครื่องในปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน และเครื่องในปลาซาร์ดีน มีค่าเท่ากับ 4.36 5.57 5.02 และ 6.57 มิลลิกรัมมาโลอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งนับว่ามีคุณภาพในระดับดี ส่วนปลาที่มีคุณภาพไม่ดีจะมีค่าทีบีเอ 4 - 27 มิลลิกรัมมาโลอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (Sinnhuber and Yu, 1958) มีรายงานว่าปลาซาร์ดีน (*Sardina pilchardus*) ที่จับจากบริเวณประเทศนอร์เวย์ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ มีค่าทีบีเอ 6 - 9 มิลลิกรัมมาโลอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ในขณะที่เมื่อจับในช่วงเดือนพฤศจิกายน มีค่าทีบีเอ 16 - 17 มิลลิกรัมมาโลอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็ง เป็นเวลา 12 วัน (Nunes, *et al* ., 1992) ความแตกต่างดังกล่าวอาจเนื่องจาก สายพันธุ์ปลา สภาวะในการเก็บรักษา และองค์ประกอบทางเคมี เป็นต้น

ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดและตกตะกอนโปรตีน

2.1 การสกัดโปรตีน

2.1.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายสกัด

ตารางที่ 7 แสดงผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลาย ต่อการสกัดโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือปลา พบว่า เมื่อสกัดหัวปลาทูน่าด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 และ 0.4 โมลาร์ สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) แต่มีค่าสูงกว่า ($P>0.05$) เมื่อใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 - 1.0 โมลาร์ ซึ่งการใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่ำๆ แล้วส่งผลให้สกัดโปรตีนได้สูง อาจเกิดจากคลอไรด์อิออนเป็นตัวเพิ่มประจุลบแก่โปรตีน ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างสายโซ่เปปไทด์ที่ติดกัน โมเลกุลของน้ำจึงสามารถแทรกเข้าไปได้ ทำให้โปรตีนสามารถละลายได้เพิ่มขึ้น (Kinsella, 1982) ส่วนเมื่อใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.001 - 0.05 โมลาร์ พบว่าปริมาณโปรตีนสกัดมีค่าสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับเมื่อใช้สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.2 - 1.0 โมลาร์เป็นสารละลายสกัด ทั้งนี้อาจเนื่องจากซัลเฟตอิออนมีความสามารถในการจับน้ำโดยทำปฏิกริยากับอะตอมไฮโดรเจนของน้ำได้ต่ำกว่าคลอไรด์อิออน หรืออาจเนื่องจากการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตทำให้สารละลายสกัดมีค่าความแรงอิออนสูง จึงทำให้ไม่มีผลต่อการละลายของโปรตีน และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนสกัดระหว่างสารละลายสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด ดังนั้นจึงคัดเลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นสารละลายสกัดสำหรับหัวปลาทูน่าในการทดลองต่อไป

การสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาทูน่า (ตารางที่ 7) พบว่าชุดการทดลองที่ใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 และ 0.4 โมลาร์ สามารถสกัดโปรตีนที่ละลายได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) แต่มีค่ามากกว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.6 - 1.0 โมลาร์ สำหรับการใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเป็นสารละลายสกัด พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นจาก 0.001 เป็น 0.02 โมลาร์ จะส่งผลให้แนวโน้มปริมาณโปรตีนสกัดมีค่าสูงขึ้น แต่หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายสกัดเป็น 0.05 โมลาร์ พบว่ามีผลให้ปริมาณโปรตีนสกัดลดลงเป็น 118.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งน่าจะเกิดจากที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ อิออนของเกลือที่

ตารางที่ 7 ผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนปลาสกัด

สารละลายสกัด	ปริมาณโปรตีนสกัด (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)			
	หัวทูน่า	เครื่องในทูน่า	หัวซาร์ดีน	เครื่องในซาร์ดีน
โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์	91.12±6.40^{b}	156.50±5.67^{b}	82.56±5.49^{c}	77.18±3.41^{a}
โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.4 โมลาร์	105.70±5.06^{b}	166.67±7.35^{b}	74.77±5.69$^{b c}$	110.53±8.25^{c}
โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์	53.25±2.38^{a}	128.58±9.06^{a}	49.17±6.40^{a}	89.85±8.33^{b}
โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.8 โมลาร์	58.77±6.26^{a}	127.30±4.70^{a}	63.29±7.35^{b}	79.63±3.13$^{a b}$
โพแทสเซียมคลอไรด์ 1.0 โมลาร์	55.46±5.71^{a}	129.77±2.82^{a}	70.40±7.89$^{b c}$	103.12±7.22^{c}
โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.001 โมลาร์	50.69±6.36^{a}	93.50±7.36^{ab}	40.83±2.91^{a}	93.79±9.39^{a}
โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.005 โมลาร์	55.78±7.95^{a}	83.28±5.52^{a}	46.74±4.64^{a}	105.67±4.27$^{a b}$
โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.01 โมลาร์	56.32±5.06^{a}	100.50±9.43^{b}	49.44±5.00^{a}	110.49±2.59^{b}
โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.02 โมลาร์	63.11±10.17^{a}	139.97±3.66^{d}	44.08±5.09^{a}	102.50±5.04$^{a b}$
โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.05 โมลาร์	64.73±8.79^{a}	118.40±5.48^{c}	48.10±4.04^{a}	99.66±9.15$^{a b}$
แอมโมเนียมซัลเฟต 0.2 โมลาร์	57.94±2.07^{a}	110.36±3.41^{b}	51.06±3.21$^{b c}$	80.71±7.26$^{a b}$
แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4 โมลาร์	59.19±3.02^{a}	107.72±2.65^{b}	55.58±4.69^{c}	83.81±8.74^{b}
แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 โมลาร์	58.89±6.90^{a}	101.45±2.15^{a}	42.96±4.83^{a}	70.21±1.41^{a}
แอมโมเนียมซัลเฟต 0.8 โมลาร์	55.76±6.27^{a}	110.34±1.67^{b}	47.63±2.59$^{a b}$	77.57±3.70$^{a b}$
แอมโมเนียมซัลเฟต 1.0 โมลาร์	55.15±2.95^{a}	99.91±3.15^{a}	41.16±3.90^{a}	88.90±7.82^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d ที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันของสารละลายแต่ละชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆ ละ 3 ซ้ำ

เติมลงไปจะเกิดการแข่งขันจับโมเลกุลน้ำหรือแย่งน้ำจากโมเลกุลโปรตีน ทำให้โปรตีนละลายได้ลดลง ส่วนผลการใช้สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นมีผลต่อปริมาณโปรตีนสกัดได้ไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มที่จะลดลง แสดงให้เห็นว่าแอมโมเนียมซัลเฟตไม่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนสกัดทั้งจากส่วนหัวและเครื่องในปลาทูน่า เมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้สารละลายสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าชุดทดลองที่ใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เป็นสารละลายสกัด สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด จึงคัดเลือกสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นสารสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าในการทดลองต่อไป

การสกัดโปรตีนจากหัวปลาซาร์ดีน (ตารางที่ 7) พบว่า การใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เป็นสารละลายสกัด จะให้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าการใช้สารละลายสกัดอีก 2 ชนิด โดยที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์สามารถสกัดปริมาณโปรตีนได้สูงสุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 82.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตพบว่าไม่เหมาะสมในการใช้เป็นสารละลายสกัดหัวปลาซาร์ดีน ทั้งนี้เพราะสามารถสกัดโปรตีนได้ในปริมาณต่ำ และการเพิ่มระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.001 - 0.05 โมลาร์ ไม่ช่วยให้สกัดปริมาณโปรตีนได้เพิ่มสูงขึ้น สำหรับการใช้สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นสารละลายสกัด ปรากฏว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด แต่ไม่แตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีนสกัดที่ได้โดยใช้สารละลายสกัดทั้ง 3 ชนิด จึงคัดเลือกสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นสารละลายที่ใช้เพื่อสกัดโปรตีนจากหัวปลาซาร์ดีนในการทดลองต่อไป

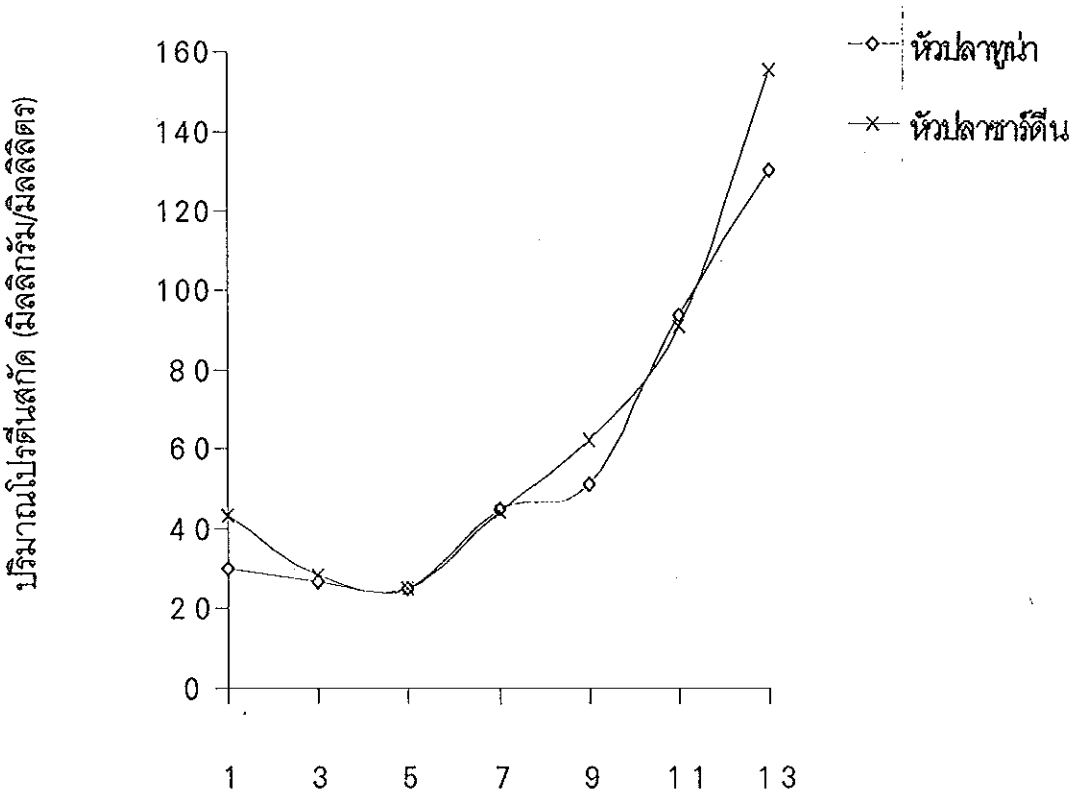
สำหรับวัตถุดิบเครื่องในปลาซาร์ดีน พบว่าการใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 และ 1.0 โมลาร์ สามารถสกัดโปรตีนได้ไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ($P>0.05$) คือสกัดได้เท่ากับ 110.53 และ 103.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ในกรณีที่ใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเป็นสารละลายสกัด พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด มีค่าเท่ากับ 110.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการใช้สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตสามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณต่ำกว่าเมื่อใช้สารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต และพบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.2 - 1.0 โมลาร์ ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ซึ่งการที่ผลการสกัดโปรตีน

ด้วยโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตจากเครื่องในปลาซาร์ดีนแตกต่างจากส่วนหัวปลา อาจเนื่องจากลำดับการจัดเรียงตัวของโครงสร้างของกรดอะมิโนและปริมาณไขมันที่สูงในองค์ประกอบที่สูงกว่าวัตถุดิบชนิดอื่น เมื่อพิจารณาถึงปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้สารละลายสกัดทั้ง 3 ชนิดพบว่ามีสภาวะที่ให้ผลผลิตสูงใกล้เคียงกันถึง 2 สภาวะ ดังนั้นจึงคัดเลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ และสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ เป็นสารละลายสกัดในการทดลองต่อไป

2.1.2 ผลร่วมของค่าพีเอชและสารละลายสกัด

การศึกษาผลของค่าพีเอชของสารละลายสกัด ที่พีเอชเท่ากับ 1 3 5 7 9 11 และ 13 ตามลำดับ ต่อการสกัดโปรตีนปลา โดยใช้สารละลายสกัดที่คัดเลือกจากข้อ 2.1.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 5 และ 6 ดังนี้

ปริมาณโปรตีนสกัดจากหัวปลาทั้งสองชนิด โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ภาพที่ 5) พบว่าเมื่อสารละลายมีค่าพีเอชในช่วงที่เป็นกรดสามารถสกัดโปรตีนได้ต่ำกว่าเมื่อใช้สารละลายสกัดมีค่าพีเอชในช่วงที่เป็นด่างมาก ซึ่งน่าจะเกิดจากที่ค่าพีเอชต่ำ โมเลกุลโปรตีนที่มีประจุเป็นบวกถูกทำให้เป็นกลางด้วยคลอไรด์ไอออน ทำให้ความสามารถในการจับน้ำลดลง เกิดการตกตะกอนโปรตีนบางส่วน และพบว่าสามารถสกัดโปรตีนจากหัวปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีนได้ต่ำที่สุด ในช่วงพีเอช 3 - 5 ซึ่งเป็นช่วงไอโซอิเล็กตริกของโปรตีนปลา (Meinke, *et al.*, 1972) ในช่วงพีเอชที่สูงขึ้นสามารถสกัดโปรตีนปลาได้เพิ่มขึ้น ($P>0.05$) โดยสกัดได้สูงสุดที่พีเอช 13 เนื่องจากด่างสามารถแตกตัวและให้ประจุแก่โปรตีนได้โดยตรง โดยโมเลกุลโปรตีนได้รับประจุลบจากไฮดรอกไซด์ไอออน ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลโปรตีนและโมเลกุลในสายโซ่เปปไทด์ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Tanaka และคณะ (1983) ว่าสามารถสกัดโปรตีนจากหัวปลาซาร์ดีนได้ต่ำสุดที่พีเอช 5 และสกัดได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดที่พีเอช 10.5 เช่นเดียวกับ Meinke และคณะ (1973) ที่รายงานว่า ผลของพีเอชต่อการละลายของโปรตีนปลาเก๋าจะให้ลักษณะกราฟเป็นรูปตัววี (V) โดยสกัดโปรตีนได้สูงสุดที่พีเอช 11.1 ดังนั้นเนื่องจากที่พีเอช 13 สามารถสกัดโปรตีนจากส่วนหัวปลาได้สูงสุดสำหรับการทดลองนี้ จึงคัดเลือกเป็นพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนจากหัวปลาทั้ง 2 ชนิดในการทดลองต่อไป

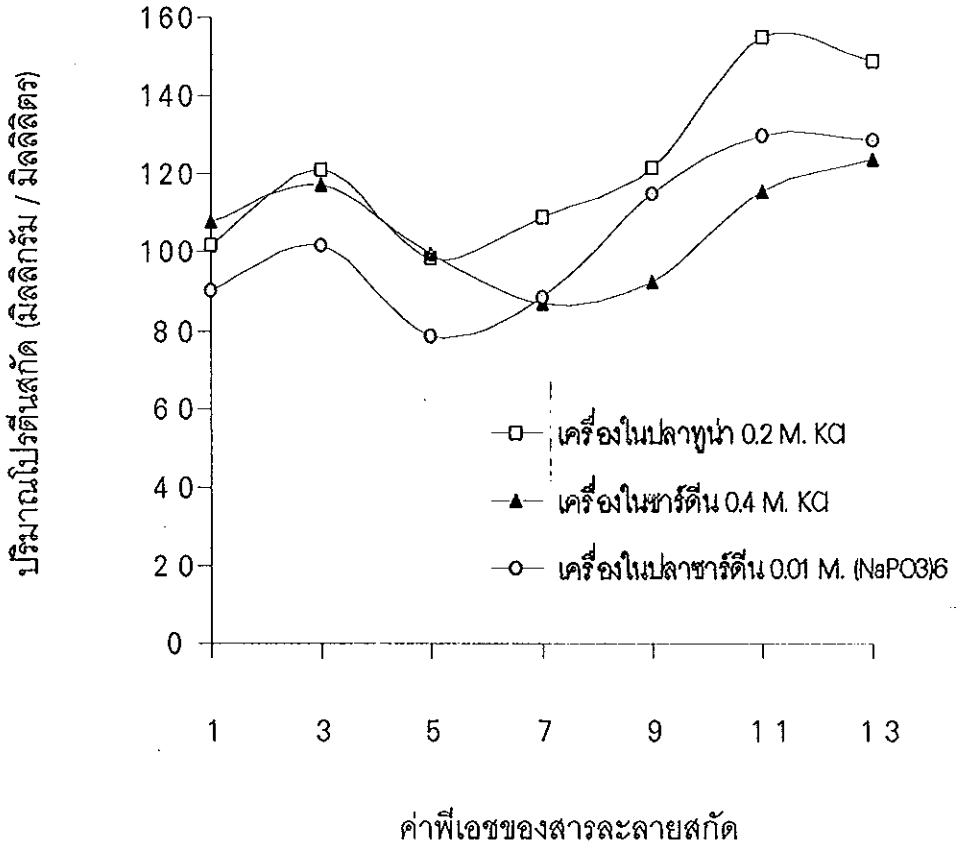


ภาพที่ 5 ผลของค่าพีเอชร่วมกับสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากหัวปลา (โดยใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด)

ในกรณีของเครื่องในปลา (ภาพที่ 6) พบว่าในช่วงพีเอชเป็นกรดปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีค่าไม่สูงมากนักและแปรปรวนตามพีเอช โดยพบว่าที่พีเอช 5 สามารถสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาทูน่าด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ได้ต่ำสุด ส่วนโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ มีค่าต่ำสุดที่พีเอช 7 ปรากฏว่า ปริมาณโปรตีนจากเครื่องในปลาทูน่าโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ เป็นสารละลายสกัดมีค่าต่ำสุดที่พีเอช 5 ส่วนปริมาณโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนที่ใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ เป็นสารละลายสกัด มีค่าต่ำสุดที่พีเอช 7

สำหรับในช่วงพีเอชที่สูงขึ้น สามารถสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาทั้งสองชนิดได้สูงขึ้น ($P<0.05$) และพบว่าที่พีเอช 11 สามารถสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาทูน่าด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และจากเครื่องในปลาซาร์ดีนด้วยสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ส่วนเครื่องในปลาซาร์ดีนที่สกัดด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ สามารถสกัดได้ปริมาณโปรตีนสูงสุด ($P>0.05$) ที่พีเอช 13

ปริมาณโปรตีนสกัดจากปลาต่างชนิดมีปริมาณแตกต่างกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Meinke และคณะ (1972) ที่พบว่าปริมาณโปรตีนสกัดจากปลาคาร์พ ปลากระบอก และปลาเก๋า มีค่าแตกต่างกันมาก น่าจะเกิดจากองค์ประกอบของโปรตีนปลาแต่ละชนิดมีส่วนประกอบของชนิด ปริมาณ และการจัดลำดับของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน นอกจากนี้อาจเกิดจากผลของสภาวะการเก็บรักษาวัตถุดิบที่ทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพแล้ว ทำให้สกัดโปรตีนปลาได้ต่ำลง จึงเป็นอีกปัญหาหนึ่งในแง่ของวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนปลาสกัด หากจำเป็นต้องแช่เยือกแข็งปลาที่จะใช้เป็นวัตถุดิบควรคำนึงถึงผลของการแช่เยือกแข็งต่อคุณภาพของโปรตีนปลาแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นจึงคัดเลือกพีเอช 11 สำหรับสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาซาร์ดีนที่ใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตและเครื่องในปลาทูน่า และพีเอช 13 สำหรับเครื่องในปลาซาร์ดีนที่สกัดโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เป็นสภาวะที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 6 ผลของค่าพีเอชร่วมกับสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลา

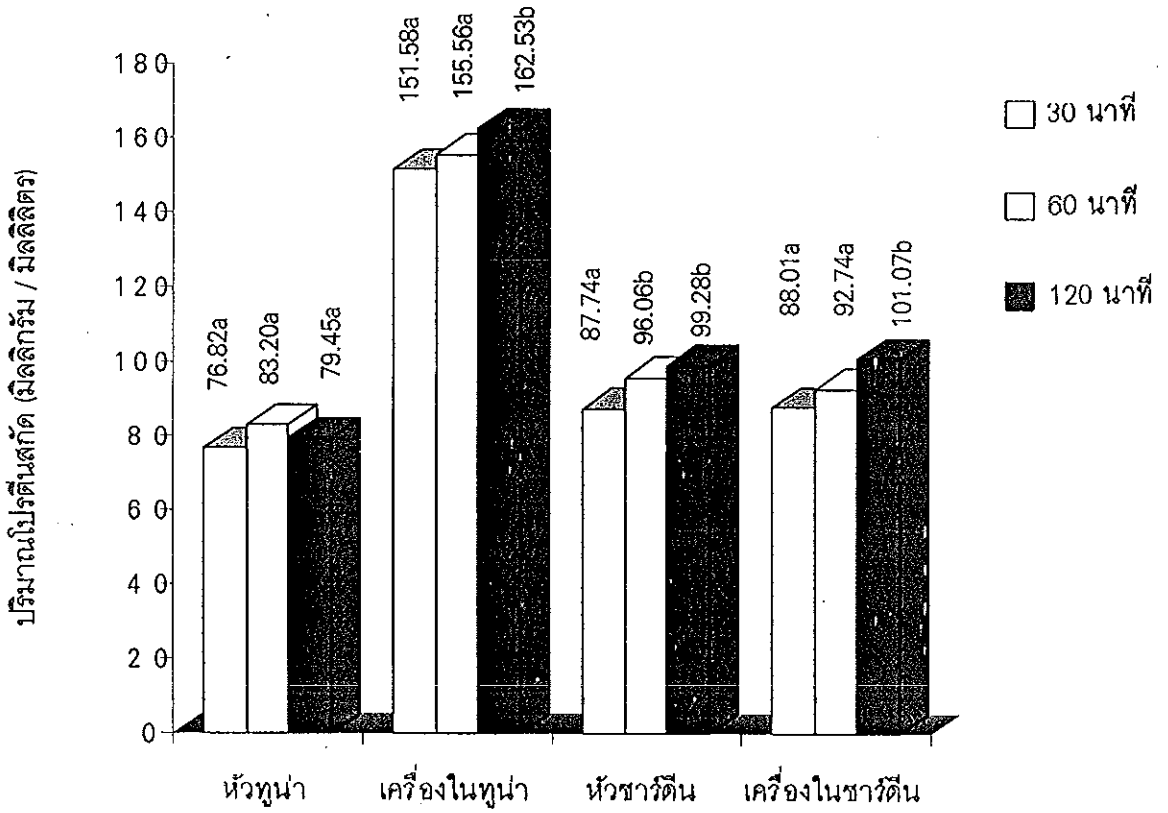
2.1.3 ผลของระยะเวลาในการสกัด

หลังจากการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 แล้วต่อมาจึงได้ศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดที่ 30 60 และ 120 นาที ต่อปริมาณโปรตีนได้ผลดังแสดงในภาพที่ 7 โดยพบว่าปริมาณโปรตีนสกัด จากหัวปลาทูน่ามีค่าไม่แตกต่างกัน ($P<0.05$) เมื่อใช้เวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ส่วนวัตถุดิบชนิดอื่นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนสกัดเพิ่มขึ้น ($P>0.05$) ซึ่งอาจให้ผลที่แตกต่างจากการทดลองของผู้อื่นเช่น Tanaka และคณะ (1983) ที่รายงานว่าสามารถสกัดโปรตีนจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน (*Sardinops melanosticta*) ภายใต้สภาวะสกัด ที่พีเอช 10.5 อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณสูงสุดภายใน 30 นาที Montecalvo และคณะ (1984) สามารถสกัดโปรตีนจากปลา Flounder Frame ได้สูงสุดภายในเวลา 60 นาที ส่วน Kahn และคณะ (1974) สามารถสกัดโปรตีนจากปลาหมึกได้สูงสุดภายในเวลา 45 นาที เป็นต้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างสภาวะในการสกัด ขนาดของชิ้นปลา และสายพันธุ์ปลา เป็นต้น

สำหรับกรณีเครื่องในปลา (ภาพที่ 7) พบว่าสามารถสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาทั้ง 2 ชนิด ได้ปริมาณสูงสุด ($P>0.05$) ที่เวลาสกัด 120 นาที ดังนั้นจึงคัดเลือกใช้ระยะเวลา 30 นาที สำหรับหัวปลาทูน่า และ 60 นาที สำหรับหัวปลาซาร์ดีน และเวลา 120 นาที เพื่อใช้ในการสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลา ทั้ง 2 ชนิดต่อไป

2.1.4 ผลของอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อสารละลายสกัด

จากการทดลองเตรียมวัตถุดิบในสารละลายสกัดที่มีอัตราส่วน 1 : 5 และ 1 : 10 แล้วทำการสกัดโปรตีนภายใต้สภาวะที่คัดเลือกมาจากข้อ 2.1.1 ถึง 2.1.3 ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 8 พบว่าเมื่อใช้อัตราส่วน 1 : 10 ได้ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้สูงกว่า ($P>0.05$) ชุดที่ใช้อัตราส่วน 1 : 5 สำหรับวัตถุดิบทุกชนิด แสดงว่าอัตราส่วนของสารละลายที่พอเหมาะช่วยเพิ่มโอกาสในการสัมผัสระหว่างโปรตีนกับสารละลายสกัด ทำให้สามารถสกัดโปรตีนได้สูงขึ้น ดังนั้นจึงคัดเลือกอัตราส่วนของน้ำหนักวัตถุดิบต่อปริมาตรของสารละลายต่อการสกัดโปรตีนปลาทั้ง 4 ชนิดเท่ากับ 1 : 10 ซึ่งสอดคล้องกับ Montecalvo และคณะ (1984) ที่รายงานว่า อัตราส่วน 1 : 10 มีความเหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนจากปลา Flounder frame นอกจากนี้ยังกล่าวว่า การใช้สารสกัดที่เจือจางเกินไป แม้ทำให้สกัดโปรตีนได้เพิ่มขึ้นแต่ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการทำให้เข้มข้น และในทางกลับกันการเพิ่มสัดส่วนของวัตถุดิบจะทำให้สาร



ภาพที่ 7 ผลของระยะเวลาสกัดต่อปริมาณโปรตีน

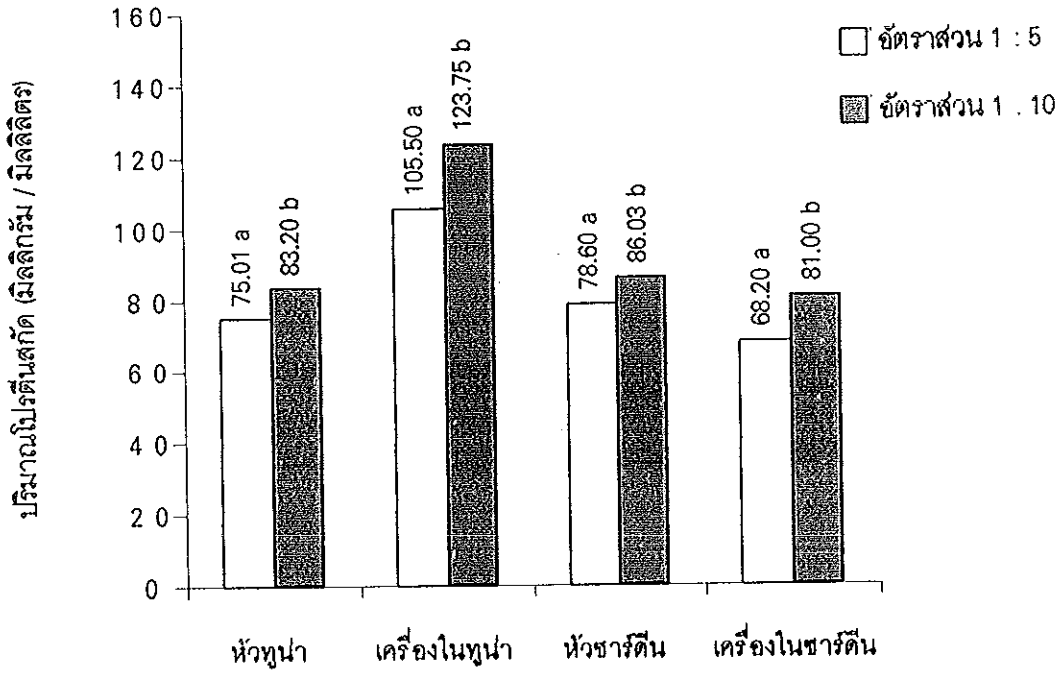
หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d เหมือนกันในชนิดตัวอย่างเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

หัวปลาทูน่าใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

เครื่องในปลาทูน่าใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

หัวปลาซาร์ดีนใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

เครื่องในปลาซาร์ดีน ใช้ 0.4 M. KCl เป็นสารละลายสกัด



ภาพที่ 8 ผลของอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อสารละลายสกัด

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d เหมือนกันในชนิดตัวอย่างเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

หัวปลาทูน่าใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

เครื่องในปลาทูน่าใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

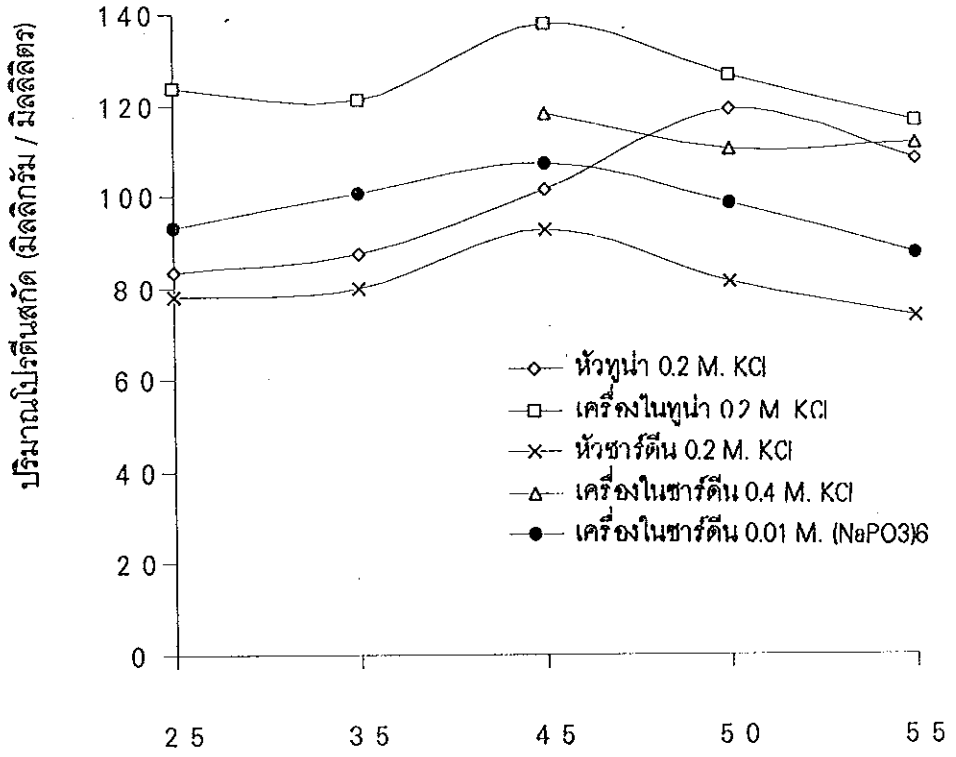
หัวปลาซาร์ดีนใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

เครื่องในปลาซาร์ดีนใช้ 0.4 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

ละลายสกัดเข้มข้น อาจส่งผลให้เกิดความหนืดและเกิดเจลได้ง่าย ส่งผลให้สกัดโปรตีนได้ลดลง เช่นเดียวกันกับ Kahn และคณะ (1974) เสนอแนะสภาวะสกัดโปรตีนจากปลาหมึกโดยใช้อัตราส่วน 1 : 10 และ Tanaka และคณะ (1983) ใช้อัตราส่วน 1 : 10 เพื่อสกัดโปรตีนจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน

2.1.5 ผลของอุณหภูมิในการสกัด

ผลของอุณหภูมิการสกัดที่ 25 35 45 50 และ 55 องศาเซลเซียส ต่อการสกัดโปรตีนปลา (ภาพที่ 9) ปรากฏว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด สามารถสกัดโปรตีนได้เพิ่มมากขึ้นในตัวอย่างทุกชนิดไปจนกระทั่งอุณหภูมิจุดหนึ่งแล้วลดลง โดยพบว่าสามารถสกัดโปรตีนจากหัวปลาทูน่าได้สูงสุด ที่ 50 องศาเซลเซียส และสามารถสกัดโปรตีนจากเครื่องในปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้สารละลายสกัดทั้ง 2 ชนิด ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับ Meinke และคณะ (1972) ซึ่งรายงานว่าสามารถสกัดโปรตีนจากปลาเก๋า ภายใต้สภาวะสกัดที่พีเอช 11 และ 6 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณสูงกว่าที่ 22 องศาเซลเซียส แต่ในชุดตัวอย่างที่มีพีเอชของสารสกัดเป็น 3 พบว่า ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส สกัดได้ปริมาณลดลง เนื่องจากภายใต้สภาวะสกัดดังกล่าวจะเกิดเจลและมีลักษณะข้นหนืด อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีนในการทดลองนี้ แตกต่างจากรายงานวิจัยของ Tanaka และคณะ (1983) ซึ่งกล่าวว่าสามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด เมื่ออุณหภูมิการสกัดเท่ากับ 22 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องจากสายพันธุ์ปลา ความคงทนต่ออุณหภูมิของโปรตีน เป็นต้น ดังนั้นจึงคัดเลือกใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิการสกัดสำหรับโปรตีนทุกชนิด ยกเว้นเมื่อสกัดโปรตีนจากหัวปลาทูน่าจะใช้อุณหภูมิการสกัดเป็น 50 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

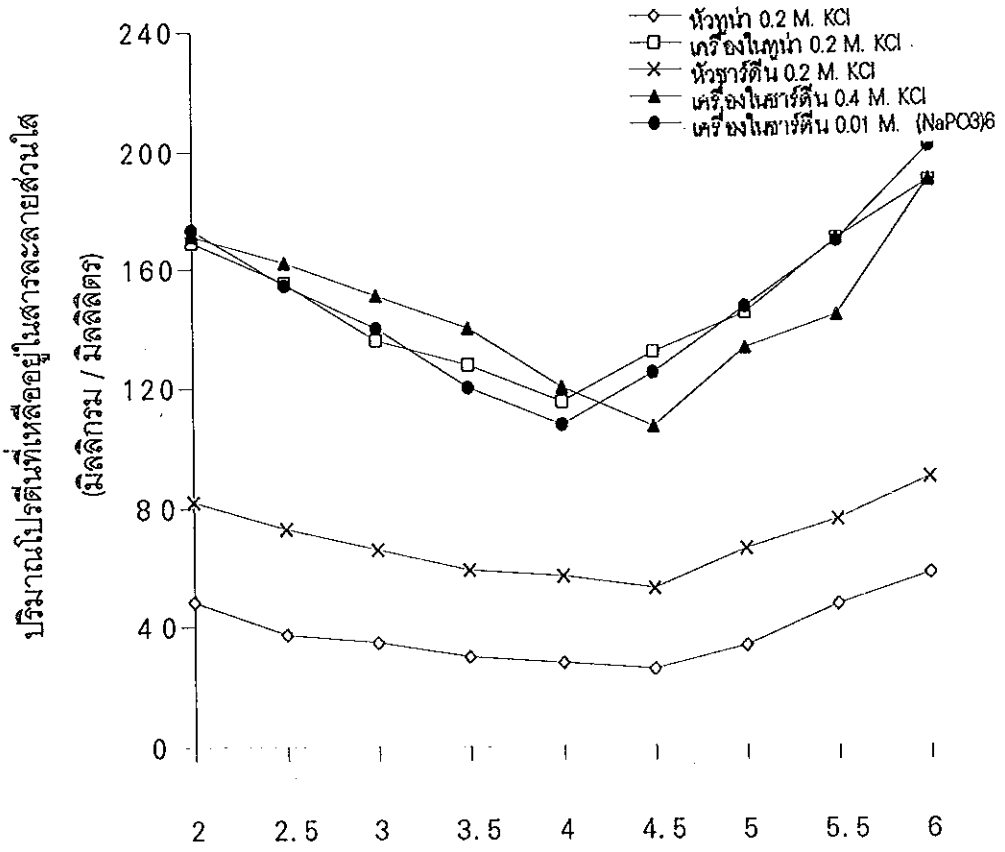


ภาพที่ 9 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณโปรตีน

2.2 การตกตะกอนโปรตีน

2.2.1 การตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก

นำสารละลายโปรตีนที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากการคัดเลือกใน ข้อ 2.1 มาศึกษาการตกตะกอนที่พีเอช 2.0 ถึง 6.0 เพื่อคัดเลือกพีเอชที่เหมาะสมต่อการตกตะกอนโปรตีนแต่ละชนิดได้ผล ดังนี้คือ (ภาพที่ 10) เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 2.0 ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในสารละลายส่วนใสหลังจากการแยกตะกอนไปแล้วลดลง จนกระทั่งถึงพีเอชที่เหมาะสมของวัตถุดิบแต่ละชนิดที่พบว่าปริมาณโปรตีนต่ำสุด หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่จะมีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าที่จุดที่พีเอชมีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่น้อยที่สุดเป็นสภาวะที่เหมาะสมสามารถตกตะกอนโปรตีนได้สูงสุด ซึ่งเรียกว่าจุดไอโซอิเล็กตริก โดยโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ ตกตะกอนสูงสุดที่พีเอช 4.5 ส่วนโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าและเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ตกตะกอนสูงสุดที่พีเอช 4.0 จากการสังเกตพบว่าในขณะตกตะกอนด้วยการปรับค่าพีเอชให้เหมาะสม ตะกอนโปรตีนของหัวปลาทั้ง 2 ชนิด มีลักษณะคล้ายฟองน้ำที่มีรูพรุน รวมตัวกันตกตะกอนลงมาจากสารละลายสกัดและแยกชั้นระหว่างตะกอนและสารละลายส่วนใสอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่ตะกอนของเครื่องในปลา มีลักษณะเป็นเนื้อละเอียด รวมตัวกันเป็นกลุ่มเล็ก ๆ และตกตะกอนลงมา ไม่แยกชั้นระหว่างตะกอนโปรตีนและสารละลายส่วนในอย่างชัดเจน มีตะกอนโปรตีนบางส่วนจับตัวกับไขมันที่ลอยอยู่ด้านบน ทั้งนี้การตกตะกอนด้วยวิธีนี้เป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย เช่น การตกตะกอนโปรตีนสกัดจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีนที่พีเอช 5.0 (Tanaka, *et al.*, 1983) การตกตะกอนโปรตีนจากคริลที่พีเอช 5.8 - 6.4 (Romo and Anderson, 1979) การตกตะกอนโปรตีนจากปลาแองโชวี่ที่พีเอช 5.5 (Meinke and Mattil, 1973) การตกตะกอนโปรตีนจากปลาเก๋าที่พีเอช 6.0 (Meinke, *et al.*, 1972) การตกตะกอนซาร์โคพลาสมิกโปรตีนจากปลา Rockfish (*Sebastodes melanops*) ที่พีเอช 4.0 - 4.5 ร่วมกับการใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (Spinelli, *et al.*, 1972a) และการตกตะกอนโปรตีนสกัดจากปลาหมึกที่พีเอช 5.0 (Kahn, *et al.*, 1974) เป็นต้น เนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ต้นทุนการผลิตต่ำ และสะดวกต่อการผลิตในเชิงอุตสาหกรรม ดังนั้นจากผลการทดลองจึงคัดเลือกวิธีการปรับพีเอชเป็น 4.5 เพื่อตกตะกอนโปรตีนในสารละลายสกัดจากหัวปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ และปรับพีเอชเป็น 4.0 เพื่อตกตะกอนโปรตีนในสารละลายสกัดจากเครื่องในปลาทูน่า และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้



ภาพที่ 10 การตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก

โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต เพื่อเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนแต่ละชนิด ในการทดลองต่อไป

2.2.2 การตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์

ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายนำมาใช้ในการสกัดไขมัน ออกจากโปรตีนปลาเข้มข้น (TYPE B) (Suzuki ,1981) และสามารถช่วยในการตกตะกอนของโปรตีนได้ เนื่องจากคุณสมบัติไดอิเล็กตริก โดยมีค่าคงตัวไดอิเล็กตริกที่ต่ำกว่าน้ำ จึงนำมาใช้เพื่อศึกษาการตกตะกอนที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน ที่พีเอชเป็นกลาง ใช้อัตราส่วนของปริมาตรสารละลายโปรตีนต่อปริมาตรไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เท่ากับ 1 : 1 1 : 1.5 1 : 2 และ 1 : 3 พร้อมกับการตกตะกอนด้วยวิธีไอโซอิเล็กตริกที่เหมาะสมตามที่ได้คัดเลือกจากข้อ 2.2.1 พบว่าเมื่อสัดส่วนของไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ปริมาณสูงขึ้น (ตารางที่ 8) โดยเมื่อใช้อัตราส่วน 1 : 3 พบว่าปริมาณโปรตีนที่เหลือในสารละลายส่วนใสหลังจากการแยกโปรตีนต่ำกว่าที่อัตราส่วนอื่น ($P>0.05$) นั่นคือ มีปริมาณโปรตีนที่เหลือในสารละลายส่วนใสภายหลังการตกตะกอนโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่า เครื่องในปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน เครื่องในปลาซาร์ดีน โดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต มีค่า 23.60 ± 2.08 59.01 ± 1.50 55.40 ± 1.05 55.05 ± 2.22 และ 51.56 ± 0.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก พบว่าการใช้ไอโซ - โพรพิลแอลกอฮอล์โดยใช้อัตราส่วน 1 : 3 สามารถตกตะกอนโปรตีนสกัดจากส่วนหัวและส่วนเครื่องในปลาทูน่าได้สูงกว่าวิธีไอโซอิเล็กตริก ($P>0.05$) อาจเกิดจากโปรตีนปลาทูน่ามีส่วนที่ไม่ชอบน้ำอยู่ในองค์ประกอบสูงส่งผลให้จับกับไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ได้สูง จึงทำให้การละลายลดลงและตกตะกอนลงมา โดยสังเกตพบว่าตะกอนเป็นเนื้อละเอียดอัดเรียงตัวกันแน่นและสารละลายส่วนใสมีสีเข้ม เนื่องจากการใช้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์จะสกัดสีและไขมันบางส่วนออกพร้อมกันไปด้วย ส่วนกรณีโปรตีนสกัดจากส่วนหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน พบว่าสามารถตกตะกอนด้วยวิธีไอโซอิเล็กตริกได้สูงกว่า ($P>0.05$) การใช้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 3 ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากโปรตีนปลาซาร์ดีนโดยเฉพาะจากเครื่องในปลามีขนาดโมเลกุลเล็กจึงสามารถกระจายตัวได้ดีและมีไขมันเป็นองค์ประกอบสูง ทำให้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพลดลง ดังนั้นจึงคัดเลือกวิธีตกตะกอนที่เหมาะสม ดังนี้คือ ใช้วิธีไอโซอิเล็กตริกที่คัดเลือกจากข้อ 2.2.1 สำหรับหัว

ตารางที่ 8 ผลการตกตะกอนโปรตีนปลาสกัดด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ที่อัตราส่วนต่างกันและที่จุดไอโซอิเล็กตริก

ชนิดสารละลาย	ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในสารละลายส่วนใส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)[1]				
	ไอโซอิเล็กตริก	อัตราส่วนของสารละลายโปรตีนสกัดต่อไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์			
	(pI)	1 : 3	1 : 2	1 : 1.5	1 : 1
หัวทูน่า [1]	52.13±0.85[b] (pI 4.5)	23.60±2.08[a]	60.17±2.91[c]	77.42±1.95[d]	124.02±1.94[e]
เครื่องในทูน่า [1]	83.72±1.26[c] (pI 4.0)	59.01±1.50[a]	73.24±1.71[b]	82.27±4.74[c]	90.42±1.24[d]
หัวซาร์ดีน [1]	52.67±0.74[a] (pI 4.5)	55.40±1.04[b]	128.17±1.95[c]	148.08±1.79[d]	129.95±2.80[c]
เครื่องในซาร์ดีน [2]	34.51±2.00[a] (pI 4.5)	55.05±2.21[b]	67.95±2.51[c]	66.67±2.79[c]	82.34±1.29[d]
เครื่องในซาร์ดีน [3]	42.44±1.24[a] (pI 4.0)	51.56±0.67[b]	59.34±1.32[c]	73.34±1.41[d]	76.51±1.37[e]

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d ที่เหมือนกันในแนวนอนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

[1] ใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

[2] ใช้ 0.4 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

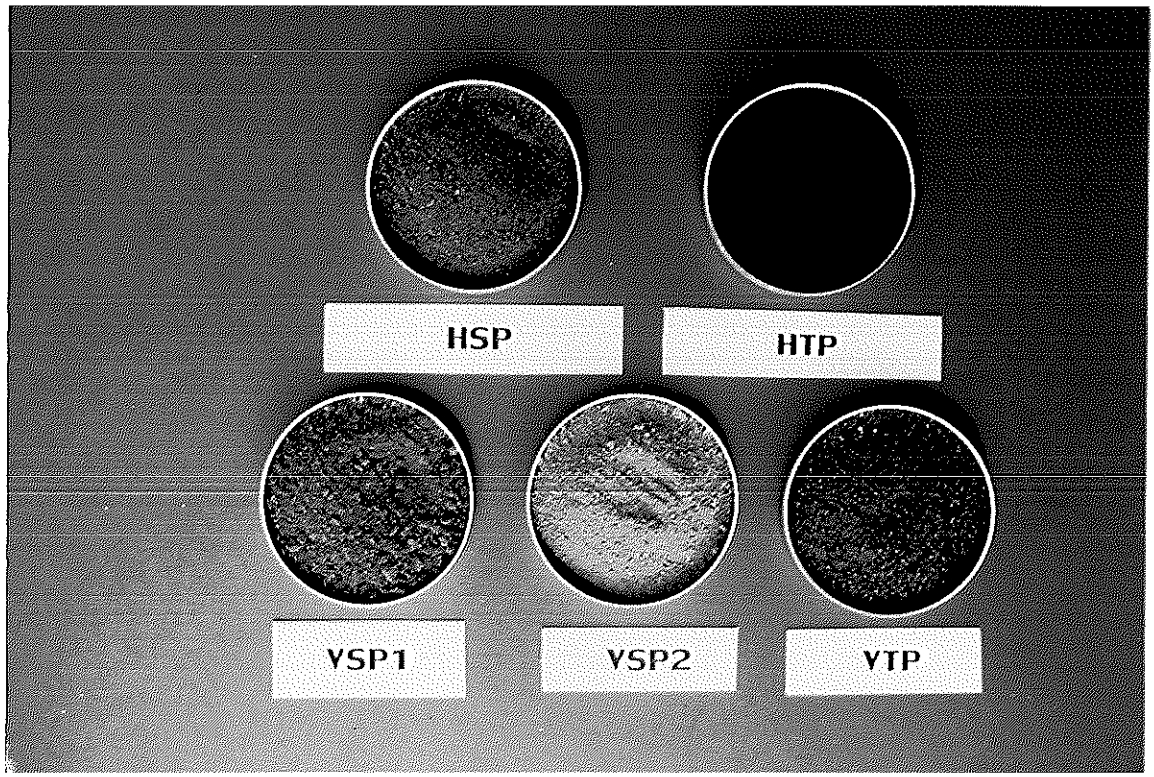
[3] ใช้ 0.1 M. $(NaPO_3)_6$ เป็นสารละลายสกัด

และเครื่องในปลาซาร์ดีน และใช้วิธีไอโซโพลพิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 3 สำหรับหัวและเครื่องในปลาทูน่า เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ตอนที่ 3 คุณสมบัติของโปรตีนปลาสกัด

โปรตีนปลาสกัดที่ผลิตภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากผลในข้อ 2.1 - 2.2 แยกสกัดไขมันบางส่วนออกด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และทำแห้งมีลักษณะดังแสดงในภาพที่ 11 โปรตีนสกัดที่ได้มีกลิ่นปลาและกลิ่นไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์เล็กน้อย มีสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลดำ สีที่แตกต่างในผลิตภัณฑ์ อาจเกิดจากปริมาณที่แตกต่างกันของเม็ดสี ฮีโมโกลบิน กล้ามเนื้อดำ ไขมันเริ่มต้นในวัตถุดิบ และปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิต โดยปัจจัยที่มีผลคือ ค่าพีเอช อุณหภูมิ และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ที่ใช้สกัดไขมัน เป็นต้น และพบว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยที่ใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ มีสีเข้มกว่าชุดที่ใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ซึ่งอาจเกิดจากการใช้เกลือต่างชนิดกันประกอบกับเมื่อใช้โพแทสเซียมคลอไรด์สกัดต้องใช้ควบคู่กับพีเอชที่สูงกว่า นอกจากนี้สีอาจเกิดจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ปรับพีเอช ดังที่มีรายงานในงานวิจัย Montecalvo และคณะ (1984) ที่กล่าวว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับพีเอชโปรตีนปลา Flounder frame จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเข้มกว่าที่ใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์

ปริมาณผลผลิตโปรตีนร้อยละ 38.40 และ 40.37 สำหรับโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีน ตามลำดับ และร้อยละ 17.99 และ 13.88 - 15.79 สำหรับโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าและเครื่องในปลาซาร์ดีน ทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 9 ซึ่งความแตกต่างระหว่างค่าผลผลิตโดยน้ำหนักแห้งของโปรตีนสกัดจากส่วนเครื่องในและส่วนหัว เกิดจากในขั้นตอนการตกตะกอนสามารถแยกตกตะกอนโปรตีนออกจากสารละลายโปรตีนสกัดจากส่วนเครื่องในได้ต่ำกว่าส่วนหัวมาก โดยพบว่าแม้สภาวะการตกตะกอนที่ดีที่สุดก็ยังมีโปรตีนเหลืออยู่ในสารละลายส่วนใส จึงทำให้ค่าปริมาณผลผลิตแห้งของเครื่องในต่ำกว่าส่วนหัว



ภาพที่ 11 โปรตีนปลาสกัด

หมายเหตุ

HTP แทนโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่า

VTP แทนโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่า

HSP แทนโปรตีนสกัดจากหัวปลาซาร์ดีน

VSP1 แทนโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์

VSP2 แทนโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

ตารางที่ 9 ผลผลิตโปรตีนปลาสกัด

ชนิดโปรตีนสกัด	ผลผลิต (ร้อยละ)	
	คำนวณจากน้ำหนักแห้ง	คำนวณจากปริมาณโปรตีน
หัวปลาทูน่า	64.78	38.40
เครื่องในปลาทูน่า	54.33	17.99
หัวปลาซาร์ดีน	74.94	40.37
เครื่องในปลาซาร์ดีน [1]	32.90	13.88
เครื่องในปลาซาร์ดีน [2]	36.47	15.79

หมายเหตุ [1] ใช้ 0.4 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

[2] ใช้ 0.01 M. $(NaPO_3)_6$ เป็นสารละลายสกัด

ตัวอย่างการคำนวณ

หัวปลาทูน่า 100 กรัม (ปริมาณโปรตีนร้อยละ 39.84) สกัดได้โปรตีนสกัดแห้ง 19.50 กรัม (ปริมาณโปรตีนร้อยละ 78.48)

1. วัตถุดิบแห้ง (100 - 69.90) กรัม ให้ตะกอนโปรตีนสกัดแห้ง = 19.50 กรัม

วัตถุดิบแห้ง 100 กรัม ให้ตะกอนโปรตีนสกัดแห้ง = $\frac{19.5 \times 100}{30.1}$ กรัม

ผลผลิตคำนวณจากน้ำหนักแห้งของหัวปลาทูน่าร้อยละ 64.78

2. โปรตีนในวัตถุดิบ 39.84 กรัม ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีน = 19.50 X 0.7848 กรัม

โปรตีนในวัตถุดิบ 100 กรัม ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีน = $\frac{15.30 \times 100}{39.84}$ กรัม

ผลผลิตคำนวณจากปริมาณโปรตีนร้อยละ 38.40

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนปลาสกัด

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนปลาสกัดจากหัวปลาทูน่า เครื่องในปลาทูน่า หัวปลาซาร์ดีน เครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต และเครื่องในปลาซาร์ดีนโดยใช้โซเดียมคลอไรด์ (ตารางที่ 10) ประกอบด้วยปริมาณโปรตีนร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง 78.48 ± 1.65 87.10 ± 1.01 78.85 ± 0.21 69.07 ± 0.77 และ 67.37 ± 0.55 ตามลำดับ ใกล้เคียงกับโปรตีนสกัดที่ผลิตในงานวิจัยอื่น เช่น หัวปลาซาร์ดีนร้อยละ 66.29 - 96.16 เครื่องในปลาซาร์ดีนร้อยละ 47.10 - 97.12 (Tanaka, *et al.*, 1983) ปลาเก๋าทั้งตัวร้อยละ 75.3 (Meinke, *et al.*, 1972) ปลา Flounder frame ร้อยละ 81.5 - 84.5 (Montecalvo, *et al.*, 1984b) และปลา Rockfish ร้อยละ 87.7 (Groninger and Miller, 1975) เป็นต้น ความแตกต่างระหว่างปริมาณโปรตีนในองค์ประกอบเนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีในวัตถุดิบ เช่น เครื่องในปลาทูน่ามีโปรตีนในวัตถุดิบสูงจึงส่งผลให้โปรตีนในผลิตภัณฑ์สกัดสูง และกรรมวิธีการผลิต เช่น Tanaka และคณะ (1983) พบว่าโปรตีนสกัดที่ตกตะกอนในสารละลายเกลือ จะมีปริมาณเถ้าสูงและปริมาณโปรตีนต่ำมากกว่าโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ เป็นต้น ปริมาณเถ้าในโปรตีนปลาสกัด ทั้ง 5 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง ร้อยละ 5.25 - 10.45 ซึ่งเป็นค่าต่ำกว่าที่พบในวัตถุดิบแต่ละชนิดมาก โดยเฉพาะส่วนหัวปลาเนื่องจากมีการแยกกระดูก ผังผืด ก้าง และเกล็ด เป็นต้น ออกหลังจากขั้นตอนการสกัดโปรตีน ทำให้ปริมาณเถ้าลดลง โปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีนทั้ง 2 ชนิด มีไขมันในปริมาณสูงสุด คือมีค่าร้อยละ 20.82 - 22.18 โดยน้ำหนักแห้ง อาจเนื่องจากวัตถุดิบมีไขมันสูงและกำจัดไขมันด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์เพียง 1 ครั้งไม่เพียงพอต่อการลดไขมันในผลิตภัณฑ์ เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าซึ่งมีไขมัน ร้อยละ 4.75 โดยน้ำหนักแห้ง พบว่าปริมาณไขมันต่ำกว่าโปรตีนสกัดจากตัวอย่างอื่นมาก อาจเนื่องจากผ่านการตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ ก่อนสกัดเอาไขมันออกและในวัตถุดิบมีไขมันปานกลาง ส่วนโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีน มีไขมันร้อยละ 16.27 และ 11.29 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การกำจัดไขมันอย่างมีประสิทธิภาพมีกล่าวถึงในงานวิจัยอื่น เช่น การใช้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์สกัดไขมันจากโปรตีนปลา Rockfish 3 ครั้ง อัตราส่วน 1 : 10 ที่อุณหภูมิ 60 - 70 องศาเซลเซียส ลดปริมาณไขมันได้ร้อยละ 70 (Spinelli, *et al.*, 1972b) การใช้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์สกัดไขมันจากโปรตีนคริล 2 ครั้ง อัตราส่วน 1.3 - 2 ต่อ 1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ลดปริมาณไขมันได้ร้อยละ 80 - 94 ของ

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนปลาสกัด

ชนิดโปรตีนปลาสกัด	ปริมาณ (ร้อยละ)			
	โปรตีน[1]	ไขมัน[1]	เถ้า[1]	ความชื้น
หัวปลาทูน่า[2]	78.48 ± 1.65	16.27 ± 1.14	5.25 ± 0.69	4.29 ± 0.07
เครื่องในปลาทูน่า[2]	87.10 ± 1.01	4.75 ± 0.66	8.14 ± 0.52	5.01 ± 0.16
หัวปลาซาร์ดีน[2]	78.85 ± 0.21	11.29 ± 0.87	9.81 ± 0.75	6.02 ± 0.10
เครื่องในปลาซาร์ดีน[3]	67.37 ± 0.55	22.18 ± 0.83	10.45 ± 0.44	4.54 ± 0.77
เครื่องในปลาซาร์ดีน[4]	69.07 ± 0.77	20.82 ± 1.44	10.10 ± 1.38	4.12 ± 0.85

หมายเหตุ

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

[1] คำนวณจากน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

[2] ใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

[3] ใช้ 0.4 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

[4] ใช้ 0.01 M. $(NaPO_3)_6$ เป็นสารละลายสกัด

วัตถุดิบ (Yanase, 1979) ทั้งนี้ในทางการค้าควรมีปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 0.2 เพื่อให้มีกลิ่น-รสที่ดีระหว่างการเก็บรักษา (Spinelli *et al* . , 1972)

ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในวัตถุดิบและในโปรตีนปลาสกัด (ตารางที่ 11) พบว่าโปรตีนสกัดประกอบด้วยปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดในสัดส่วนที่สูงกว่าที่พบในวัตถุดิบแต่ละชนิด แสดงว่าโปรตีนสกัดมีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น ยกเว้นโปรตีนสกัดจากส่วนเครื่องในปลาทั้งสองชนิดมีไลซีนและไกลซีนต่ำกว่าในวัตถุดิบเล็กน้อย โปรตีนสกัดจากส่วนหัวปลามีปริมาณกรดแอสพาติกและกลูตามิกสูงกว่าส่วนเครื่องใน และพบว่าอัตราส่วนกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อกรดอะมิโนทั้งหมดสำหรับโปรตีนสกัดจากวัตถุดิบแต่ละชนิดมีค่าสูงกว่าในวัตถุดิบ โดยโปรตีนสกัดจากหัวปลาซาร์ดีนมีอัตราส่วนสูงสุด ในขณะที่โปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่ามีค่าต่ำสุด มีรายงานว่าโปรตีนสกัดจากปลาคราฟและปลาเก๋า มีอัตราส่วนดังกล่าว 0.43 - 0.44 สูงกว่าอัตราส่วนในวัตถุดิบสด ซึ่งมีค่า 0.38 - 0.39 (Meinke, *et al*., 1972) เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง ซึ่งเท่ากับ 0.37 (Wolf and Cowan,1986)

เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแต่ละชนิดกับมาตรฐานของ FAO (Pomeranze , 1991) พบว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีน มีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นยกเว้นเมธไธโอนีนและไอโซลูซีนสูงกว่าที่กำหนดและพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองในงานวิจัยของ Wolf และ Cowan (1986) โดยจะประกอบด้วยเมธไธโอนีนปริมาณสูงกว่า และไลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน และฟีนิลอะลานีน ปริมาณต่ำกว่าที่พบโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองเล็กน้อย และมีปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดสูงกว่าโปรตีนสกัดจากดอกคำฝอย (Paredes-Lopez and Ordorica-Falomir, 1986)

สำหรับโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีน ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณกรดอะมิโนรวมต่ำ คือ เพียงร้อยละ 38.87 - 43.32 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง จึงเห็นว่าไม่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต ส่วนโปรตีนสกัดจากส่วนหัวปลาทูน่ายังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบผลิตโปรตีนได้ เนื่องจากมีปริมาณกรดอะมิโนรวมสูงและมีค่าใกล้เคียงกับหัวปลาซาร์ดีน คือ 63.45 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง

จากคุณภาพทางเคมีดังที่กล่าวมาแล้ว แสดงให้เห็นว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีน มีคุณภาพสูงสุด รองลงมา คือ โปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่า

ตารางที่ 11 ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในตัวอย่างปลาสดและโปรตีนปลาสกัด (กรัมของกรดอะมิโน / 100 กรัมของตัวอย่าง)

กรดอะมิโน	ปลาสด				โปรตีนสกัด					FAO[1] ref.
	หัวทูน่า	เครื่องในทูน่า	หัวซาร์ดีน	เครื่องในซาร์ดีน	หัวทูน่า	เครื่องในทูน่า	หัวซาร์ดีน	เครื่องในซาร์ดีน (KCl)	เครื่องในซาร์ดีน $(NaPO_3)_6$	
กรดอะมิโนที่จำเป็น										
ไลซีน	2.69	4.80	3.22	2.36	3.92	4.52	5.22	2.27	2.25	4.20
ฮีสทีดีน	1.11.	1.18	0.95	0.56	1.61	2.10	1.68	1.06	1.13	-
ทรีโอนีน	1.89	3.15	1.96	0.91	2.29	3.86	3.10	2.01	2.36	2.80
วาลีน	2.27	4.47	2.76	2.46	3.42	4.53	4.82	2.67	3.21	4.20
เมธไธโอนีน	0.56	1.65	0.77	0.89	1.45	1.59	1.91	0.93	1.04	2.20
ไอโซลูซีน	1.56	3.36	1.76	1.93	2.83	3.71	3.33	2.14	2.35	4.20
ลูซีน	2.96	5.91	3.23	3.21	5.56	6.51	6.09	3.74	4.00	4.80
ฟีนิลอะลานีน	1.59	2.73	1.87	1.44	2.74	3.74	3.68	2.21	2.65	2.80
รวม	14.63	27.25	16.52	13.76	23.82	30.56	29.83	17.03	18.99	25.20
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น										
อาร์จินีน	2.54	3.97	2.59	2.18	3.68	4.83	3.87	2.29	2.73	-
แอสพาติก	3.91	5.94	4.22	4.01	6.92	7.07	7.30	4.34	4.80	-
เซียรีน	1.87	3.11	1.96	1.66	1.97	3.70	2.90	1.89	2.16	-
กลูตามิก	5.76	8.92	6.61	5.98	10.70	8.67	10.12	4.97	5.35	-
โปรลีน	2.83	3.43	3.01	1.78	3.33	3.40	2.47	1.70	1.97	-
ไกลซีน	4.74	4.74	5.18	3.27	5.23	4.34	3.02	2.19	2.51	-
อะลานีน	3.36	4.38	3.87	2.74	4.61	4.32	4.06	2.43	2.62	-
ไทโรซีน	1.17	2.58	1.16	1.57	2.36	3.24	2.63	1.78	1.91	-
รวม	26.5	37.57	28.96	23.43	39.63	40.05	37.49	21.84	24.33	-
รวมกรดอะมิโนทั้งหมด	41.13	64.82	45.46	37.19	63.45	70.61	67.32	38.87	43.32	-
อัตราส่วน กรดอะมิโนที่จำเป็น/ทั้งหมด	0.356	0.420	0.363	0.370	0.375	0.433	0.443	0.438	0.438	-

หมายเหตุ 1 ดัดแปลงจาก Pomeranz (1991)

3.2 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

ผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัด พบว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถการละลายซึ่งแสดงในรูปของ NSI (Nitrogen Solubility Index) สูงกว่าโปรตีนสกัดจากส่วนหัวปลา โดยโปรตีนจากเครื่องในปลาซาร์ดีนที่ใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตสกัดมีค่าการละลายสูงสุด ($P>0.05$) คือ ประมาณร้อยละ 43 ดังแสดงในตารางที่ 12 อาจเนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตช่วยให้โปรตีนจับกับโมเลกุลของน้ำและละลายได้สูงขึ้น ส่วนโปรตีนสกัดที่มีค่าการละลายรองลงมาคือโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาซาร์ดีน เครื่องในปลาทูน่า และหัวปลาทูน่า มีค่าอยู่ในช่วง 21.90 - 27.49 และโปรตีนสกัดจากหัวปลาซาร์ดีนมีค่าการละลายต่ำสุด ($P>0.05$) ความแตกต่างอาจเนื่องจากการสกัดโปรตีนที่พีเอช 13 และการตกตะกอนโปรตีนด้วยวิธีไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ส่งผลให้ค่าการละลายของโปรตีนต่ำกว่าชุดที่ไม่ได้ใช้สภาวะดังกล่าว นอกจากนั้นลักษณะโครงสร้างของโปรตีน สัดส่วนปริมาณกรดอะมิโนที่มีประจุ ถ้ามีสูงกว่าก็สามารถจับกับพันธะไฮโดรเจนในโมเลกุลของน้ำรอบ ๆ ได้มากกว่า และลักษณะการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโน ถ้ามีการยื่นส่วนที่มีประจุออกไปจับกับน้ำมากขึ้นจะส่งผลให้เกิดการละลายสูงขึ้น (Paredes-Lopez and Ordorica-Falomir, 1986) ซึ่งแม้โปรตีนจะมีค่าการละลายไม่สูง แต่สามารถนำโปรตีนสกัดไปผสมในผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการเนื้อสัมผัสละเอียด เป็นสีขาว เช่น ขนมปังกรอบ ธัญพืชอาหารเช้า เครื่องปรุงเคลือบขนมขบเคี้ยว ข้าวเกรียบเป็นต้น

ส่วนคุณสมบัติอิมัลชั่น ซึ่งเป็นคุณสมบัติของโปรตีนที่มีความสำคัญต่ออาหารหลายชนิด พบว่าโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่า เครื่องในปลาทูน่า มีค่า 125.66 - 130.33 มิลลิลิตรน้ำมันต่อกรัมโปรตีน สูงกว่าโปรตีนสกัดจากหัวและเครื่องในปลาซาร์ดีน ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างค่าที่ได้น่าจะเกิดจากองค์ประกอบและโครงสร้างของโปรตีน โดยพบว่าโปรตีนสกัดที่ผลิตได้มีค่าอิมัลชั่นต่ำกว่าโปรตีนสกัดจากปลา Rockfish ในงานวิจัยของ Spinelli และคณะ (1972 a , b) ที่มีวิธีการผลิต คือมีค่า 145 กรัมน้ำมันต่อกรัมโปรตีน อาจเกิดจากในงานวิจัยใช้ไอโซโพร-พิลแอลกอฮอล์กำจัดไขมันก่อนการทำแห้งมีผลลดความสามารถในการเกิดอิมัลชั่นของโปรตีน (Spinelli, *et al.*,1970a) โปรตีนสกัดจากหัวและเครื่องในปลาทูน่ามีความสามารถในการเกิดอิมัลชั่นระดับหนึ่งจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นส่วนผสมในสูตรขนมคุกกี้ น้ำสลัดครีม บะหมี่ เป็นต้น และถ้าพัฒนาการผลิตเพื่อเพิ่มความสามารถเกิดอิมัลชั่นของโปรตีนสกัดให้สูงขึ้น ก็จะสามารถนำไปใช้แทนไข่ขาวในเค้ก ของหวานแต่งหน้าได้

ตารางที่ 12 คุณสมบัติการทำหน้าที่ของโปรตีนปลาสกัด

ชนิดโปรตีนสกัด	คุณสมบัติการทำหน้าที่			
	การละลาย (NSI) (ร้อยละ)	การเกิดอิมัลชั่น (มล.น้ำมันต่อกรัมโปรตีน)	การเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)
โปรตีนสกัดที่ผ่านการทำแห้ง				
หัวปลาทูน่า [1]	21.90±1.06 [b]	130.33±5.85 [d]	33.33±4.08 [b]	2.87± 3.19 [a]
เครื่องในปลาทูน่า [1]	24.37±3.57b [bc]	125.66±5.32 [cd]	46.67±9.83 [c]	17.01±3.22 [b]
หัวปลาซาร์ดีน [1]	15.50±2.68 [a]	120.00±5.66 [bc]	40.83±9.17 [bc]	16.89±3.64 [b]
เครื่องในปลาซาร์ดีน [2]	27.49±2.58 [c]	100.33±5.24 [a]	22.17±3.92 [a]	3.18± 4.57 [a]
เครื่องในปลาซาร์ดีน [3]	43.00±7.41 [d]	115.00±7.01 [b]	32.67±5.35 [b]	2.95±2.42 [a]
โปรตีนสกัดที่ไม่ผ่านการทำแห้ง				
หัวปลาทูน่า [1]	84.11±2.52 [b]	143.30±5.24 [a]	48.33±5.16 [a]	26.67±7.24 [a]
เครื่องในปลาทูน่า [1]	96.64±2.62 [c]	135.00±8.37 [a]	49.33±8.16 [a]	28.45±5.40 [ab]
หัวปลาซาร์ดีน [1]	66.16±3.22 [a]	136.66±5.05 [a]	43.33±10.33 [a]	26.67±8.75 [a]
เครื่องในปลาซาร์ดีน [2]	98.08±1.52 [c]	158.33±6.83 [c]	48.33±9.83 [a]	36.50±3.94 [bc]
เครื่องในปลาซาร์ดีน [3]	99.86±4.08 [c]	148.33±7.53 [b]	53.33±12.11 [a]	38.33±8.17 [c]

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d,e ที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1] ใช้ 0.2 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

[2] ใช้ 0.4 M. KCl เป็นสารละลายสกัด

[3] ใช้ 0.01 M. $(NaPO_3)_6$ เป็นสารละลายสกัด

สำหรับการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง พบว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีน มีความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงกว่าโปรตีนสกัดอีก 3 ชนิด คือเกิดฟองร้อยละ 46.67 และ 40.83 ตามลำดับ และพบว่าโปรตีนสกัดมีค่าการเกิดฟองลดลงเมื่อใช้พีเอชและอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนและความสามารถทนต่อการแปลงสภาพของโปรตีนต่างชนิดกัน นอกจากนี้พบว่าโปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่าและเครื่องในปลาซาร์ดีน มีค่าความคงตัวของฟองต่ำ ร้อยละ 2.87 - 3.18 ซึ่งน่าจะเกิดจากผลของการทำแห้งด้วยวิธีสุญญากาศซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ความร้อนนาน โปรตีนอาจเกิดการแปลงสภาพจึงทำให้ห่อหุ้มอากาศและกักเก็บอากาศได้ลดลง

จากการพิจารณาคุณสมบัติเชิงหน้าที่โดยรวม พบว่าโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่าและหัวปลาซาร์ดีน มีคุณสมบัติดีที่สุด รองลงมาคือ โปรตีนสกัดจากหัวปลาทูน่า และเครื่องในปลาซาร์ดีนที่ใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ซึ่งสามารถนำไปใช้ผสมในสูตรอาหารต่าง ๆ ตามความเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ ส่วนเครื่องในปลาซาร์ดีนที่ใช้โพแทสเซียมคลอไรด์สกัดมีคุณสมบัติโดยรวมต่ำสุด

บทที่ 4

สรุป

การผลิตโปรตีนจากหัวปลาชาร์ดีนและหัวปลาทูน่า ให้ผลผลิตสูงสุด คือ ร้อยละ 74.94 และ 64.98 ตามลำดับ โดยปริมาณโปรตีนในองค์ประกอบมีค่าใกล้เคียงกันคือ มีค่าประมาณร้อยละ 78 ซึ่งสามารถผลิตโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดและตกตะกอนโปรตีนได้สูงสุดดังนี้ คือ ใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่พีเอช 13 อัตราส่วน 1 : 10 เป็นสารละลายสกัด ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันเล็กน้อย คือ หัวปลาชาร์ดีนสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และตกตะกอนที่พีเอช 4.5 ส่วนหัวปลาทูน่าสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 3 ส่วนโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาทูน่า ให้ผลผลิตโดยน้ำหนักแห้ง รองลงมา คือ ร้อยละ 54.33 แต่ประกอบด้วยปริมาณโปรตีนร้อยละ 87.10 และกรดอะมิโนรวมสูงสุด และมีคุณสมบัติการเกิดฟอง ความคงตัวของฟอง และการเป็นสารอิมัลชั่นสูงสุด สามารถผลิตโดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่พีเอช 11 เป็นสารสกัด โดยใช้อัตราส่วน 1 : 10 ที่อุณหภูมิ 45 องศา - เซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และตกตะกอนด้วยไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 3 สำหรับโปรตีนสกัดจากเครื่องในปลาชาร์ดีนพบว่ามีผลผลิตโดยน้ำหนักแห้งและองค์ประกอบของโปรตีนต่ำสุด ซึ่งสามารถผลิตโดยใช้สารละลายสกัด 2 ชนิด คือ โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.4 โมลาร์ ที่พีเอช 13 และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ที่พีเอช 11 เป็นสารสกัดโดยใช้อัตราส่วน 1 : 10 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

โปรตีนสกัดจากหัวปลาทั้ง 2 ชนิด และเครื่องในปลาทูน่า มีองค์ประกอบของโปรตีนสูง และมีสัดส่วนของปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดในงานวิจัย ของ Wolf และ Cowan (1986) ซึ่งแม้ว่ามีความสามารถในการละลายเพียงร้อยละ 15.50 - 24.37 แต่เนื่องจากสามารถเกิดอิมัลชั่น 120 - 130.33 มิลลิลิตรน้ำมันต่อกรัมโปรตีนและเกิดฟองร้อยละ 33.33 - 46.67 จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ในสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำมันหรือมีการตีปั่น เช่น คุกกี้ ขนมปังกรอบ และ พวกขนมขบเคี้ยว เป็นต้น ซึ่งถ้ามีการพัฒนากระบวนการผลิต รูปแบบโปรตีนสกัด และรูปแบบของสูตรอาหารให้เหมาะสม จะเป็นการเพิ่มศักยภาพในการนำโปรตีนแหล่งใหม่จากโปรตีนปลาสกัด ไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายมากขึ้นต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1.วัตถุดิบที่นำมาใช้ในงานวิจัยควร มีความสดในระดับที่สามารถนำมาบริโภคได้ และควรเป็นสายพันธุ์ที่โปรตีนทนต่อการแปลงสภาพในระหว่างการเก็บรักษา และหากมีการใช้วัตถุดิบหลายชนิด ควรทำการทดลองทุก ๆ ปัจจัยให้เสร็จสิ้นสำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิด เพื่อลดระยะเวลาการเก็บรักษาวัตถุดิบให้สั้นลง

2.จากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนสกัดมีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ ดังนั้นจึงควรพิจารณาเลือกวัตถุดิบที่มีปริมาณโปรตีนสูง ไขมันและเถ้าในปริมาณต่ำเพื่อให้ได้โปรตีนสกัดที่มีคุณภาพทางเคมีสูง ซึ่งนอกจากหัวและเครื่องในปลาที่นำมาใช้ในงานวิจัยแล้วปลาเล็กปลาน้อยอื่น ๆ ก็มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาผลิตโปรตีนสกัดที่มีคุณภาพสูงได้เช่นกัน

3.การตกตะกอนโปรตีนเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญต่อปริมาณผลผลิตที่ได้ ดังนั้นจึงควรมีศึกษาวิจัยวิธีการที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้นและเพื่อผลิตโปรตีนสกัดที่มีคุณสมบัติการทำหน้าที่ที่ดี

4.สภาวะการสกัด การตกตะกอน การทำแห้ง และการกำจัดไขมันมีผลต่อลักษณะปรากฏ เช่น สี กลิ่น และรส โดยเฉพาะคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัด จึงควรมีการศึกษาผลของวิธีการแต่ละขั้นตอนต่อคุณสมบัติของโปรตีนในโอกาสต่อไป

5.โปรตีนสกัดโดยทั่วไปจะอยู่ในรูปของแห้ง ด้วยวิธีฟนฝอยหรือแช่เยือกแข็ง ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยให้โปรตีนสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่น้อยกว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศ แต่มีข้อเสียค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงขั้นตอนการทำแห้ง น่าจะมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นรูปน้ำเข้มข้นหรืออยู่ในรูปครีมแทน ทั้งนี้ควรศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาผลทางจุลินทรีย์ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

6.จากการวิจัยแสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำโปรตีนปลาสกัดมาใช้ประโยชน์ในการบริโภค จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความปลอดภัยในการบริโภค และการวิจัยในด้านการนำโปรตีนปลาสกัดไปผสมในสูตรอาหารหลาย ๆ ชนิด เช่น ขนมขบเคี้ยวปรุงรส ปลาสวรรค์ ข้าวเกรียบ ขนมปังกรอบ เป็นต้น และศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จิราพร ชมพิกุล. 2532. สถิติและการวางแผนการทดลอง ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาสงขลานครินทร์

จุมพล นาคะลักษณ์. 2531. การพัฒนาอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง ว. การประมง 41 (6) : 595 - 605

ดำริห์ สมใจวงษ์. 2536. การศึกษาพลวัตประชากรปลาหลังเขียว *Sardinella gibbosa* (Bleeker 1849) ในบริเวณอ่าวไทย. ว.การประมง 45 (6) : 521 - 537

ธรรมศักดิ์ โปรียานนท์. 2532. ภาวะการประมงจับปลาทูน่าในมหาสมุทรอินเดีย ว.การประมง 42 (4) : 230 - 293

นิรนาม. 2534 ก. อุตสาหกรรมเกษตรสินค้า (by product) จากเศษเหลือจากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง. เอกสารเผยแพร่จากกองพัฒนาอุตสาหกรรม. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

นิรนาม. 2534 ข. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย ฝ่ายสถิติและประมวลผล กองนโยบายและแผนงานประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

นิรนาม. 2537. อุตสาหกรรมอาหารทะเลในตลาดโลก ว.การประมง 47 (5) : 431 - 436

บุญยืน สาริกะภูติ. 2522. โปรตีน. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

บุหลัน พิทักษ์ผล, สุภารัตน์ เรืองมณีไพฑูรย์, มาฤดี ผ่องพิพัฒน์พงศ์ และ พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล. 2531. การพัฒนาอาหารจากปลาเหลือใช้จากอุตสาหกรรมอาหารใน

ประเทศไทย. รายงานการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2526 - 2530 สถาบันค้นคว้า และพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 66 - 74.

อมรา ชื่นพันธุ์ และไพโรจน์ ช้ายเกลี้ยง. 2534. การประมงปลาทูน่าของประเทศไทย. ว.การประมง 44 (4) : 343 - 362

Abdel-Aal, E-S.M., Shehata, A.A., El-Mahdy, A.R. and Youssef, M.M. 1986. Extractability and functional properties of some legume protein isolated three different methods. J. Sci. Food Agri. 37 : 553-559

Adler-Nissen, J. 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Protein. Elsevrier Applied Science Publishers. London. ; p. 126-131.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15 th ed. The Association of Official Analytical Chemists , Inc. Verginia Alrington.

Anonymous. 1985. Sardinella. In FAO Species Catalogue Clupeoid Fish of the World : Chirocentridae, Clupiedae and Pristgasteridae part I. FAO Fisheries Synopsis. No.125 (7) ; p. 90-114

Anonymous. 1993. Scomberesocidae. In Commercial Marine and Brackish-Water Resource of the Northern Coast of South America. FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes ; p. 414- 419

Archer, M.C., Ragnarsson, J.O., Tannenbaum, S.R. and Wang, D.I.C. 1973. Enzymatic solubilisation of an insoluble fish protein concentrate : Process and kinetic considerations. Biotech. Bioeng. 15 : 181-196

Balogun, A.M. and Talabi, S.O. 1986. Studies on size distribution of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) : Effect on chemical composition and implications for its utilization. J. Food Technol. 21 : 443- 449

Betschart, A.A. and Saunders, R.M. 1978. Safflower protein isolates : Influence of recovery conditions upon composition, yield and protein quality. J. of Food Sci. 43 : 964-968

Bough, W.A. 1976. Chitosan a polymer from seafood waste, for use in treatment of food processing wastes and activated sludge. Process Biochem. 11 (1) : 13- 16

Boyer, R.A. 1954. US Patent No. 2 682 466.

Cheftel, C., Ahern, M., Daniel, I.C. and Tannenbaum, S.R. 1971. Enzymatic solubilization of fish protein concentrate : Batch studies applicable to continuous enzyme recycling processes. J. Agri. Food Chem. 19 (1) : 155 - 161

Cobb, B.F. and Hyder, K. 1972. Development of a process for preparing a fish protein concentrate with rehydration and emulsifying capacities. J. of Food Sci. 37 : 743-750

Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test Biometrices. 11 : 1- 42.

Dyer, W.I., French, H.V. and Snow, J.M. 1950. Proteins in fish muscle.1.Extraction of protein. J. Fish. Res. Board. Can. 7: 585 Cited by Spinelli, J., Barbara, K. and Ruth, M. 1972. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. : Enzymic modifications of myofibrillar fish protein. J. of Food Sci. 37 : 604-608

Dyer, W.J. and Dingle, J.R. 1961. Fish Proteins with Reference to Freezing. In Fish as Food vol 1. Borgstrom, G. (Ed.) Academi Press. New york. ; p. 275 - 327.

Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. 1984. Pearson's Chemical Analysis of Foods. Churchill Livingstone, London. ; p. 404

Ehira, S.A., 1976. Biochemical study on the freshness of fish. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 88 : 1- 9

Ellinger, R.H. 1972. Some General Chemical Characteristics of Phosphate. In Phosphate as Food Ingredients. Boca Raton Fla CRC press ; p. 3

El Marrakchi, A., Bennour, M., Bouchriti, N., Hamama, A. and Tagafait, H. 1990. Sensory, chemical and microbiological assesments of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus.*) stored in ice. J. Food Protection. 53 (7) : 600 - 605

Fonteneau,A. and Marcille, J., 1993. Resource Fishing and Biology of the Tropical Tunas of the Eastern Central Atlantic. FAO Fisheries Technical Paper 292 : 1-9

Geiger, E. 1951. Extra-caloric function of dietary components in relation to protein utilization. Federation Proc. 10 : 670 - 671

Greenberg, N.A. and Shipe, W.F. 1979. Comparison of the abilitis of trichloroacetic picric sulfosalicylic and tungstic acids to precipitate protein hydrolysates and proteins. J. of Food Sci. 44 : 735-737

Groninger, H.S. Jr. and Miller, R. 1975. Preparation and aeration properties of an enzyme modified succinylated fish protein. J. of Food Sci. 40 : 327- 330

Hang, Y.D., Woodams, E.E. and Parsons, G.F. 1980. Isolation and chemical evaluation of protein from clam wash water. J. of Food Sci. 45 : 1040-1041

Hasegawa,H. 1987. Laboratory Manual on Analytical Manual on Analytical. Methods and Procedures for Fish and Products Marine Fisheries Research Department . SEAFDEC : Singapore.

Hayashi, N., Hayakawa, I. and Fujio, Y. 1991. Entrance effect correction on the flow of moisturized soy protein isolates melt in an extrusion viscometer. Inter. J. of Food Sci. Technol. 26 : 567- 574

Hevia, P. and Olcott, H.S. 1977. Flavour of enzyme-solubilised fish protein concentrate with proteolytic enzymes. J. Agri. Food Chem. 24 : 772-775

Iwasaki, M. and Harada, R. 1985. Proximate and amino acid composition of the roe and muscle selected marine species. J. of Food Sci. 50 : 1585-1587

Kahn, L.N., Berk, Z., Pariser, E.R., Goldblith, S.A. and Flink, J.M. 1974. Squid protein isolate : Effect of processing conditions on recovery yields. J. of Food Sci. 39 : 592- 595

Kinsella, J.E. 1982. Relationships Between Structure and Functional Properties of Food Proteins. In Food Proteins. Fox, P.F. and Condon, J.J. (Eds.) Applied Science publisher. London. ; p. 50 -101

Koury, B.J. and Spinelli, J. 1975. Effect of moisture , carbohydrate and atmosphere on the functional stability of fish protein isolates. J. of Food Sci. 40 : 58 - 61

Johnson, R.A. and Gallanger, S.M. 1984. Use of coagulants to treat seafood processing wastewater. J. WPCF 56 (8) : 970 - 976

Lawhon, J.T., Glass, R.W., Manak, L.J. and Lusas, E.W. 1982. White-color protein isolates from sunflower : Processes and products. Food Technol. 36:76-87

Lee, C.M., Toledo, R.T., Nakayama, T.O.M. and Chichester, C.O. 1974. Process requirements and properties of spray-dried squid protein. J. of Food Sci. 39 : 735- 738

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265- 275

Mackie, I.M. 1974. Proteolytic enzymes in recovery of proteins from fish waste. Process Biochem. 9 (10) : 12 - 14

Mackie, I.M. and Thomson, B.W. 1982. _____ . J. Food Technol. 17 : 483 - 498 Cited by : Tanaka, M., Suzuki, K. and Taguchi, T. 1983. Recovery of proteins as a spun product from sardine viscera and heads. Bull. of Jap. Soc. Sci. Fish. 49 : 1701 - 1705

Mackie, I.M. 1982. New Approaches in the Use of Fish Proteins. In Developments in Food Protein2. Hudson, B.J.F. (Ed) Applied science publishers. London. ; p. 215 - 261

Mackie, I.M. 1994. Fish Protein In New and Developing Sources of Food Protein. Hudson, B.J.F. (Ed) Chapman & Hall . London. ; p. 100-143

Marinou, A., Denise, Y.C.L. and Livingston, G.E. 1974. Evaluation of fish protein concentrate as a replacement for dry skim milk in laubina weaning food mixture. J. of Food Sci. 39 : 883-886

Meinke, W.W., Rahman, M.A and Mattil, K.F. 1972. Some factors influencing the production of protein isolates from whole fish. J. of Food. Sci. 37 : 195 - 198

Meinke, W.W. and Mattil, K.F. 1973. Autolysis as a factor in the production of protein isolates from whole fish. J. of Food Sci. 38 : 864 - 866

Miller, R. and Groninger, H.S. 1976. Functional properties of enzyme-modified acylated fish protein derivatives. J of Food Sci. 41 : 268 - 272

Montecalvo, J.Jr., Constantinides, S.M. and Yang, C.S.T. 1984a. Optimization of processing parameters for the preparation of flounder frame protein product. J. of Food Sci. 49 : 172-187

Montecalvo, J.Jr., Constantinides, S.M. and Yang, C.S.T. 1984b. Enzymatic modification of fish frame protein isolate. J. of Food Sci. 49 : 1350 - 1309

Moorjani, M.N. and Lahiry N.H. 1970. The fish protein concentrate story : 9. Efforts in India. Food Technol. 24 : 56 - 59

Moorjani, M.N., Nair, R.B. and Lahiry, N.L. 1968. Quality of fish protein concentrate prepared by direct extraction of fish with various solvents. Food Technol. 22 (12) : 1557 - 1561

Ng, C.S. 1987. Determination of Trimetylamine oxide (TMAO-N) , Trimetylamine (TMA-N) , Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) by Conway's Method. In Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products. Marine Fisheries Research Dep. Singapore. SEAFDEC.

Nikkila, E.M., Constantinides, M. and Meade, T.L. 1976. Supplementation of arabic with fish protein concentrate. J. Agri. Food Chem. 24(6) : 1144 - 1147

Noguchi, M., Arai, S., Yamashita, M., Kato, H. and Fujimaki, M. 1975. Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate. J. Agri. Food Chem. 23 (1) : 49 - 53

Nunes, M.L., Batista, I. and Morao de Campos, R. 1992. Physical , chemical and sensory analysis of sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice. J. Sci. Food Agric. 59 : 37 - 43

Olsen, H.S. and Alder-Nissen , J. 1981. Application of Ultra and Hyperfitration during Production of Enzymatically Modified Protein. ACS Symp. Ser. 154 : 133 - 169

Ostrander, J.G. 1977. Utilization of a fish protein isolate in whipped gelatin desserts. J. of Food. Sci. 42 (2) : 559 - 562

Paredes-Lopez, O. and Ordorica-Falomir, C. 1986. Production of safflower protein isolates : Composition, Yield and protein quality. J. Sci. Food Agric. 37 : 1097-1103

Pariser, E.R., Wallerstein, M.B., Corkery, C.J. and Brown, N.L. 1978. Fish Protein Concentrate : Panacea for Protein Malnutrition. MIT Press Cambridge Mass.

Peckham, C.J. 1995. Tuna production and usage global trends. INFOFISH International 4 : 14-19

Pomeranz, Y. 1991. Functionality of Proteins. In Functional Properties of Food Components. 2nd ed. Acadimic Press, Inc. San Diego California ; p. 148 - 192.

Prasertsan, P., Wuttijumnong, P., Sophanodora, P. and Choorit, W. 1988. Seafood processing industries within Songkhla-Hat yai region : The survey of basic data emphasis on waste. Songkhlanakarin. J. Sci. Technol. 20 : 17-21

Quaglia, G.B. and Orban,E. 1987. Influence of the degree of hydrolysis on the solubility of the protein hydrolysates from sardine (*Sardina pilchardus*). J. Sci. Food Agric. 38 : 271 - 276

Romo, C.R. and Anderson, C.G. 1979. Determination of optimum parameters for protein isolation from krill (*Euphasia superba*) waste products. J. of Food. Sci. 44:1425-1430

Sato, B. Sasaki, Y. and Abe, S. 1978. Developing Technology of Utilization Small Pelagic Fish. Fisheries Agency. Japan.

Sen, D.P. and Satyanarayana Rao, T.S. 1966. Deodorizaton of fish protein concentrate from Bombay duck (*Harpoden nehereus*). J. of Food Sci Tech.(Mysore) 31(3) : 27 - 28

Sen, D.P. and Satyanarayana Rao, T.S. and Lahiry, N.L. 1966. Defatting and deodorization of fish protein concentrate from *Harpodon nehereus*. J. of Food Sci Tech. (Mysore) 31(3) : 344-350

Sen, D.P., Satyanarayana Rao, T.S., Kadkol, S.B., Krishnaswamy Rao, S.V. and Lahiry, N.L. 1969. Fish protein concentrate from Bombay duck (*Harpoden nehereus*) fish : Effect of processing variables on the nutritional and organoleptic qualities. Food Technol. 23 (5) : 85 - 90

Sikorski, Z.E. 1990. Resources, Nutritional Composition, and Preservation. CRC Press, Inc. U.S.A.

Sikorski, Z.E. and Naczk, K.M. 1981. Modification of protein concentrate. Crit. Rev. Food Sci. Nutrit. 38 : 201 - 230

Spinelli, J. and Koury, B. 1970. Phosphate complexes of soluble fish proteins : Their formation and possible uses. J. Agric. Food Chem. 18 (2) : 284-288 Cited by Mackie, I.M. 1982. New Approaches in the Use of Fish Poteins. In Developmants in Food Proteins. Applied Science Publishers. London. ; p. 215 - 260

Spinelli, J., Koury, B. and Miller, R. 1972a. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. : Isolation and properties of myofibrillar and sarcoplasmic fish proteins. J. of Food Sci. 37 : 599 - 603

Spinelli, J., Koury, B. and Miller, R. 1972b. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. : Enzymic modifications of myofibrillar fish protein. J. of Food Sci. 37 : 604 - 608

Spinelli, J., Koury, B., Groninger, H. Jr. and Miller, R. 1977. Expanded uses for fish protein from underutilized species. Food Technol. 31(5) : 184-187

Stansby, M.E. and Hall, A.S. 1967 Chemical composition of commercially important fish of the United States Fish Ind. Res. 3 (4) : 29 - 34 Cited by Sikorski, Z.E. 1990. The Nutritive Composition of the Major Groups of Marine Food Organisms Seafood : Resources , Nutritional Compositon , and Preservation. CRC Press, Inc. United State : p 31-36

Subasinghe, S. 1996. Innovative and value-added tuna products and markets. INFOFISH International 1 : 43-50

Suzuki, T. 1981. Characteristics of Fish Meat and Fish Protein In Fish and Krill Protein : Processing Technology. Applied Science Publishers Ltd. London ; p. 1- 55

Suzuki, T., Kanna, K. and Tanaka, T. 1964. ____. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 30 : 1022-1037. Cited by Suzuki, T. 1981. Fish and Krill Protein Processing Technology. Applied Science Publishers Ltd. London. : p. 39 - 47

Tagawa, S., Kochi, M. Oba, Y., Yamada, K. and Kojima, Y. 1977. Removal of constituents from the waste water discharged from " Kamaboko" processing plants by an pH shifting method. Chem. Abs. 87,1972326y.

Tanaka, M., Suzuki, K. and Taguchi, T. 1983. Recovery of proteins as a spun product from sardine viscera and heads. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 49 (11) : 1701-1705

Tannenbaum,S.R., Ahern, M.. and Bates, R.P. 1970. Solubilization of fish protein concentrate : 1 An alkaline process. Food Technol. 24 : 604-607 ; 2 Utilization of the alkaline process product. Food Technol. 24 : 99-101

The Ministry of Science and Technology of Japan. 1980. Table of chemical composition in Japannese food, Supplement of 3 rd ed. Cited by Suzuki, T. 1981. Fish and Krill Protein Processing Technology. Applied Science Publishers Ltd. London.

Toledo, R.T. 1973. Preparation and properties of low temperature extracted animal protein concentrates. J. of Food Sci. 38 : 141-144

Toma, R.B. and Meyers, S.P. 1975. Isolation and chemical evaluation of protein from shrimp cannery effluent. J. Agri. Food Chem. 23(4) : 632-635

Vlieg, P., Habib, G. and Clement, G.I.T. 1983. Proximate composition of skipjack tuna *Katsuwonas pelamis* from New Zewland and New Caledonia waters. N.Z.N. Sci. 26 : 243-249

Warrier,S.B. and Ninjoor, V. 1981. Fish protein concentrate (FPC) from Bombay duck isolates by radiation-heat combination procedure : functional and nutritional properties. J. of Food Sci. 46: 234-238

Watabe, S. 1979. J. Fish Sauage. 209 : 54-68 ____. Cited by Suzuki, T. 1981. Fish and Krill Protein Processing Technology. Applied Science Publishers Ltd. London.

Webb, N.B., Ivey, H.B., Jones, V.A. and Monroe, R.J. 1970. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. J. of Food Sci. 35 : 501-504

Wolf, W.J. and Cowan, J.C. 1986. Soybeans As a Food. Ohio Cleveland : CRC Press,Inc.

Vareltzis, K., Soultos, N., Zetou, F. and Tsiaras, I. 1990. Proximate composition and quality of a hamburger type product made from minced beef and fish protein concentrate. Lebensm. Wiss. Technol. 23 : 112-116 Cited by Martin, A.M. Fisheries Processing Biotechnological Applications. Chapman & Hall. London. : 207 - 221

Yanase, M.. 1979. Isopropyl alcohol extraction of krill to yeild fish protein concentrate. Bull. Tokai. Reg. Fish. Res. Lab. 99 (10) : 43-54

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

Yu, S.Y. and Tan, L.K. 1990. Acceptability of cracker ('Keropok') with fish protein hydrolysate. Inter. J. Food Sci. Technol. 25 : 204 - 208

Zapsalis, C. and Beck, R.A. 1985. Food Chemistry and Nutritional Biochemistry. John Wiley & Sons. U.S.A.

Ziminska, H. 1987. Protein recovery from fish wastewaters. Chem. Abs. 106, 31575c.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมี

ก1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางเคมี

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (A.O.A.C, 1990)

อุปกรณ์

1 ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส

2 ภาชนะหาความชื้น (จานอลูมิเนียม พร้อมฝา)

3 โถดูดความชื้น

4 เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1 อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2 กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

3 ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1 - 3 กรัม ใส่ลงในภาชนะ หาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 - 6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำเข้ากลับตู้อบอีก และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$M = [(W_1 - W_2) \times 100]/W_1$$

เมื่อ M คือปริมาณความชื้น (ร้อยละ)

W_1 คือน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน Crude fat (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดกลมสำหรับใส่ตัวทำละลาย ซอคเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)

2 หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

3 สำลี

4 ตู้อบไฟฟ้า

5 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

6 โถดูดความชื้น

วิธีการ

1 อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2 ชั่งตัวอย่างกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

3 นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต

4 เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด 40 - 60 องศาเซลเซียส) ลงในขวดหาไขมันปริมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

5 ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

6 เมื่อครบ 14 ชั่งโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย

7 นำขวดหาไขมันนั้นไปอบในตู้ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

8 ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 กรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

1,3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ใช้วิธีเจลดาล (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1 ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

2 ชุดขวดกลั่นโปรตีน

3 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

4 ขวดรูปชมพูขนาด 50 มิลลิลิตร

5 ปิเปต ขนาด 5 , 10 มิลลิลิตร

6 บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร

7 ลูกแก้ว

8 กระดาษกรอง

สารเคมี

1 กรดซัลฟุริกเข้มข้น

2 สารเร่งปฏิกริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต 1 ส่วน ต่อโพแทสเซียมซัลเฟต 9 ส่วน

3 . สารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไธโอซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 60 ชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และโซเดียมไธโอซัลเฟต 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ละลายกรดบอริก 40 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

5 สารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.02 นอร์มอล

6 อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution (ชั่งเมทธิลลีนบูล (methylene blue) 0.2 กรัม ละลายในเอธานอล (ethanol) 200 มิลลิลิตร และชั่งเมทธิลเรด (mehtyl red) 0.05 กรัม ละลายในเอธานอล 50 มิลลิลิตร) เวลาใช้นำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน : น้ำกลั่น 2 ส่วน

วิธีการ

1 ชั่งตัวอย่างอาหารบนกระดาษกรอง ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1 - 2 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน

2 เติมสารเร่งปฏิกริยา 5 กรัม และกรดซัลฟุริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

3 ใส่ลูกแก้ว 2 เม็ด นำไปย่อยบนเตาไฟฟ้าในตู้ควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งให้เย็น

4 เติมน้ำกลั่นร้อนลงไปล้างบริเวณคอขวดให้ทั่ว และให้ความร้อนต่อไปจนเกิดควันของกรดซัลฟุริก ปล่อยทิ้งให้เย็น

5 นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีนให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

6 จัดอุปกรณ์กลั่น

7 นำขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วลงไปรองรับของเหลวที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้

8 ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาดความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องตัวอย่าง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร

9 กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

10 ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.02 นอร์มอล จะได้จุดยุติเป็นสีม่วง

11 ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(a - b) \times N \times 14 \times \text{Factor}}{W}$$

โดยที่ a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็น มิลลิลิตร

b = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็น มิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเป็น นอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างเป็น กรัม

Factor = ตัวเลขที่เหมาะสม 6.25

(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Lowry และคณะ (1951)

อุปกรณ์

1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

2 ปิเปต ขนาด 10 , 1 มิลลิลิตร

3 หลอดทดลอง

สารเคมี

1 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 2 ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ละลาย 20 กรัมของ Na_2CO_3 และ 4 กรัมของ NaOH ด้วยน้ำปราศจากอิออนปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

2. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) เข้มข้นร้อยละ 0.5 ใน sodium potassium tartrate เข้มข้นร้อยละ 1.0 ละลาย 0.5 กรัมของ $CuSO_4.5H_2O$ และ 1 กรัมของ sodium potassium tartrate ด้วยน้ำปราศจากอิออนปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3. สารละลาย alkali copper เตรียมโดยผสมสารละลายในข้อ 1. ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กับสารละลายในข้อ 2. ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ควรเตรียมในวันที่ใช้)

4. สารละลาย folin-ciocateus phenol reagent นำมาเจือจางกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 ก่อนใช้

วิธีการ

1. ใส่สารตัวอย่างที่เจือจางอย่างเหมาะสม 0.5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง

2. เติมสารละลาย alkali copper ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง

3. เติมสารละลาย folin-ciocateus reagent ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง

4. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

การเตรียมกราฟมาตรฐานของโปรตีน

เตรียมโดยใช้ Bovine serum albumin ที่ระดับความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1 เตาเผา (muffle furnace)

2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ

3 โถดูดความชื้น

4 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1 เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง รอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2 เผาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิลิกรัม

3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 - 2

การคำนวณ

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

1.5 การหาค่าความหืนใช้วิธีการหา TBA No. (Egan. *et al.*, 1981)

อุปกรณ์

1 ชุดกลั่น

2 ลูกแก้ว

3 เตาไฟฟ้า

4 ปิเปต

5 หลอดทดสอบชนิดมีจุก

6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

สารเคมี

1 สารละลายกรดเกลือ 4 นอร์มอล

2 สารป้องกันการเกิดฟอง (antifoam liquid)

3 สารละลายกรดไธโอบาบิทูริก ละลาย 0.2883 กรัมของกรดไธโอบาบิทูริกลงในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 90

วิธีการ

1 แช่ตัวอย่างอาหาร 10 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 นาที แล้วถ่ายลงในขวดกลั่นใช้น้ำ 47.5 มิลลิลิตร ล้างภาชนะที่ใส่ตัวอย่างแล้วเทลงขวด

2 เติม 2.5 มิลลิลิตรของสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 4 นอร์มอล (pH ควรจะเป็น 1.5) แล้วเติมลูกแก้วและสารป้องกันการเกิดฟอง

3. กลั่นให้ได้ของเหลว 50 มิลลิลิตร ภายใน 10 นาที

4. ดูดสารที่กลั่นได้ 5 มิลลิลตร ลงในหลอดทดลองที่มีจุกปิด

5. เติม 5 มิลลิลิตรของสารละลายกรดไธโอบาบิทูริก เขย่าและให้ความร้อนด้วยน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาที

6. ทำ blank โดยใช้วิธีเดียวกัน ใช้ 5 มิลลิลิตร ของน้ำกลั่นให้ความร้อน 35 นาที

7. นำตัวอย่างและ blank ที่เย็นแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

การคำนวณ

ค่าความหืน (มก.มาโลนอัลดีไฮด์/กก.ตัวอย่าง) = 7.8 x ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่หัก blank แล้ว

1.6 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในรูปด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ใช้วิธีคอนเวย์ (Hasegawa ,1987)

อุปกรณ์

1. จานระเหยแบบคอนเวย์ (conwey unit)
2. ไมโครบิวเรต (micro burett) ขนาด 10 มล.
3. ปิเปตขนาด 1.10 มล.
4. ถ้วยบด
5. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. วาสลีน (Vasaline)
2. อินดิเคเตอร์ ใช้ Tashiro อินดิเคเตอร์ วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

3. สารละลายของวงแหวนชั้นใน (Inner ring) ละลาย 10 กรัม ของกรดบอร์ริกในเอทธานอล ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1,000 มิลลิลิตร

4. สารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมคาร์บอเนต 60 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดประมาณ 10 นาที ทำให้เย็น แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

5. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid) เข้มข้นร้อยละ 4 ชั่งกรดไตรคลอโรอะซิติก 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

6. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มอล

วิธีการ

1. สกัดตัวอย่างอาหาร นำตัวอย่างอาหารทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยบด เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บดให้ละเอียด ปล่อยทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง No.41 สารละลายที่ได้หากไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันที นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. วิเคราะห์

2.1 ทาวาสลีนที่ขอบจานคอนเวย์

2.2 ปิเปต 1 มิลลิลิตร ของสารละลายวงแหวนชั้นใน (Inner ring) ใส่ในขอบจานชั้น

2.3 ปิเปต 1 มิลลิลิตร ของสารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมคาร์บอเนตใส่ในขอบจานชั้นนอก

2.4 ปิเปต 1 มิลลิลิตร ของสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ ลงในขอบจานชั้นนอกอีกชั้นหนึ่ง ระวังไม่ให้ผสมกับสารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมคาร์บอเนต

2.5 ปิดจานคอนเวย์ ให้สารละลายตัวอย่างและสารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.6 ไตเตรตสารละลายชั้นในด้วยสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งได้จุดยุติสีม่วง

2.7 ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันแต่ใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (มก./100 ก.)} = \frac{(a-b) \times N \times 14 \times V \times 100}{W}$$

โดยที่ a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็น มิลลิลิตร

b = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็น มิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเป็น นอร์มัล

V = ปริมาตรรวมของตัวอย่างและกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเป็น มิลลิลิตร

W = น้ำหนักของตัวอย่างเป็น กรัม

(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

1.7 การหาค่าเค (K value)(Hasegawa ,1987)

อุปกรณ์

1. Column ที่ทำด้วยแก้วมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 6 มิลลิลิตร สูง 50 มม.

สารเคมี

ก. สำหรับเตรียมตัวอย่าง (ควรเก็บสารเคมีไว้ในตู้เย็น 5 องศาเซลเซียส)

1. สารละลายกรดเพอร์คลอริก เข้มข้นร้อยละ 10 ละลาย 10 กรัมของกรดเพอร์คลอริก ความเข้มข้น ร้อยละ 60-70 กับน้ำกลั่นจำนวน 90 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดเพอร์คลอริก เข้มข้นร้อยละ 5 ละลาย 10 กรัมของกรดเพอร์คลอริกกับน้ำกลั่นจำนวน 190 มิลลิลิตร

3. สารละลายกรดเพอร์คลอริกที่เป็นกลาง นำสารละลายกรดเพอร์คลอริกร้อยละ 5 จำนวน 100 มล. มาทำให้เป็นกลาง ปรับพีเอชเป็น 6.4 ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 นอร์มอล โดยใช้ pH meter กรองตะกอน $KClO_4$ ที่เกิดขึ้นโดยใช้กระดาษกรอง หลังจากทำให้เย็นที่ 5 องศาเซลเซียส

4. สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 นอร์มอล ละลาย 56 กรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

5. สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล ละลาย 5 - 6 กรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล.

ข. สำหรับ ion-exchange chromatography

1. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยเจือจางสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 25 จำนวน 4 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 96 มิลลิลิตร

2. สารละลาย A เป็นสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.001 นอร์มัล โดยเจือจางสารละลายมาตราฐานกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มอล จำนวน 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. สารละลาย B เป็นสารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.01 นอร์มอล ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ โดยละลาย 35.07 กรัม ของโซเดียมคลอไรด์กับน้ำกลั่น แล้วจึงเติมลงไปในสารละลายมาตราฐานกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. Anion exchange resin AG(R) 1- X_4, 400 mesh Cl (chloride) - from (Bio-Rad Col.)

ค. สำหรับการเตรียม ion-exchange resin

1. อะซิโตน

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

3. สารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

วิธีการ

ก. การเตรียม ion-exchange resin

1. ใช้ Anion exchange resin ประมาณ 100 กรัม ผสมกับอะซิโตน ปริมาตร 1 ลิตร

2. ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับการคนโดยสม่ำเสมอ กรอง resin ผ่าน Buchner funnel ภายใต้สุญญากาศ

3. ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากอิออนจำนวน 1 ลิตร กรอง resin ผ่าน Buchner funnel ภายใต้สุญญากาศ

4. ล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ประมาณ 500 มิลลิลิตร

5. ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับการคนโดยสม่ำเสมอ กรอง resin ผ่าน Buchner funnel ภายใต้สุญญากาศ

6. ล้างด้วยน้ำกลั่น ประมาณ 1 ลิตร กรอง resin ผ่าน Buchner funnel ภายใต้สุญญากาศ

7. ล้างด้วยสารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ประมาณ 1 ลิตร

8. ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับการคนโดยสม่ำเสมอ กรอง resin ผ่าน Buchner funnel ภายใต้สุญญากาศ

9. ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วกรอง resin ผ่าน Buchner funnel หลายๆ ครั้ง จนกระทั่ง filtrate เป็นกลางทดสอบโดยใช้กระดาษวัดพีเอช

10. เก็บ resin ที่ได้ในขวดที่มีน้ำกลั่นปราศจากอิออนไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ข. การเตรียมการสกัดเนื้อปลา

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม บดผสมด้วยสารละลายกรดเพอร์คลอริก(แช่เย็น) เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน

2. เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2000 - 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 - 3 นาที แล้วแยกส่วนใส เก็บไว้

3. นำส่วนตะกอน บดผสมด้วยสารละลายกรดเพอร์คลอริก(แช่เย็น) เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2000 - 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 - 3 นาที แล้วแยกส่วนใสเก็บไว้

4. นำส่วนตะกอน บดผสมด้วยสารละลายกรดเพอร์คลอริก(แช่เย็น) เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ซ้ำอีกครั้ง นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2000 - 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 - 3 นาที แล้วแยกส่วนใสเก็บไว้

5. นำส่วนใสที่เก็บไว้ทั้งหมดมารวมกัน ปริมาตรประมาณ 6 มิลลิลิตร

6. ทำให้เป็นกลางด้วยการเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 นอร์มอล (ประมาณ 6 - 8 หยด)

7. ปรับให้มีพีเอชเป็น 3 ด้วยกรด ทดสอบโดยใช้ thymol blue (TB) paper

8. ทำให้เป็นกลางด้วยการเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล (ประมาณ 4 หยด) ปรับให้มีพีเอชเป็น 6.5 - 6.8 ทดสอบโดยใช้ Bromothymol (BTB) paper

10. นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 2000 - 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 - 3 นาที และแยกส่วนใสเก็บใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร

11. นำส่วนตะกอนล้างด้วยสารละลายกรดเพอร์คลอริกที่เป็นกลาง(แช่เย็น) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 - 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 - 3 นาที แล้วแยกส่วนใสเก็บไว้ และแยกตะกอนของ Potassium perchlorate

12. นำส่วนใสที่เก็บได้ทั้งหมดมารวมกันแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายกรดเพอร์คลอริกที่เป็นกลาง (ถ้ายังไม่ใช้ทันที ควรเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส)

ค. การหาค่าเค

1. นำส่วนที่สกัดได้จากข้อ ข. ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 9.4 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.5 นอร์มอล

2. นำไปเติมลงใน column ที่ได้เตรียมไว้ก่อนแล้ว

3. ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากอิออน 20 มิลลิลิตร

4. ชะไฮโปแซนธีน ไรโบไซด์ (HxR) และไฮโปแซนธีน (Hx) ด้วย สารละลาย A ปริมาตร 45 มิลลิลิตร และเก็บส่วนที่ชะได้ ใส่ใน volumetric flask ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย A วัดค่า OD ที่ 250 นาโนเมตร

5. ชะอะดรีโนซีน ไตรฟอสเฟต (ATP) , อะดรีโนซีน ไดฟอสเฟต (ADP) , ไอโนซีน โมโนฟอสเฟต (IMP) และ อะดรีโนซีน โมโนฟอสเฟต (AMP) ที่ถูกดูดซับอยู่บนเรซินต่อด้วยสารละลาย B ปริมาตร 45 มิลลิลิตร และเก็บส่วนที่ชะได้ ใส่ใน volumetric flask ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย B วัดค่า OD ที่ 250 นาโนเมตร

การคำนวน

$$\text{ค่า K (ร้อยละ)} = \frac{\text{ค่า OD ของ elute A ที่ 250 nm} \times 100}{\text{ค่า OD ของ elute A ที่ 250 nm + ค่า OD ของ elute B ที่ 250 nm}}$$

ก2. การประเมินคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

2.1 คุณสมบัติการเกิดฟอง Foam Expansion และความคงตัวของโฟม Foam Liquid Stability (Olsen and adler-Nissen, 1981)

อุปกรณ์

1 เครื่อง Ystral Mixer (Model GmbH D - 7081)

2 กระบอกตวงขนาด 250 มล.

วิธีการ

1 เตรียมสารละลายโปรตีนเข้มข้น ร้อยละ 3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2 เทใส่กระบอกตวง ขนาด 250 มิลลิลิตร วัดปริมาตรเริ่มต้น (A)

3 นำไปตีให้เกิดเป็นฟอง โดยใช้เครื่องผสม Ystral Mixer (Model GmbH D - 7081) ที่ความเร็วระดับ 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที และ ความเร็วระดับ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

4 วัดปริมาตรฟองที่เกิดขึ้น (B)

5 ปล่อยวางทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที และวัดปริมาตรของฟองคงอยู่ได้ภายในเวลา 30 นาที (C)

การคำนวณ

$$\text{Foam Expansion (ร้อยละ)} = \frac{B - A}{A} \times 100$$

$$\text{Foam liquid stability (ร้อยละ)} = \frac{(B - C)}{B - A} \times 100$$

2.2 **คุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟซ์** Emulsifying capacity (Webb , *et al.*, 1986)

อุปกรณ์

1 เครื่อง Ystral Mixer (Model GmbH D - 7081)

2 เครื่องวัดความต้านทาน Baushch and Lomb VOM ohm recorder Model 33-0106

3 เครื่อง EURO - STPCV mixer

วิธีการ

1 นำสารละลายโปรตีนเข้มข้นร้อยละ 1 ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่พีเอช 7 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในปีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร

2 ปั่นให้เข้าที่กัน โดยใช้เครื่อง EURO-STPCV mixer ที่ความเร็วต่ำ เป็นเวลา 2 นาที

3 เติมน้ำมันถั่วเหลือง 50 มิลลิลิตร แล้วปั่นให้เข้ากัน ที่ความเร็วต่ำ โดยใช้เครื่อง EURO-STPCV mixer ภายใต้ ice bath เป็นเวลา 3 นาที

4 ค่อย ๆ เติมน้ำมันถั่วเหลือง ในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่อวินาที พร้อมกับปั่นด้วยเครื่อง Ystral Mixer (Model GmbH D - 7081) จนกระทั่งอิมัลชั่น เปลี่ยนรูปไปถึงจุดสุดท้าย โดยการสังเกต พบว่าความหนืดลดลง และวัดการเปลี่ยนแปลงความต้านทานด้วยเครื่อง Baushch and Lomb VOM ohm recorder Model 33-0106

การคำนวณ

Emulsifying capacity = มิลลิลิตรของน้ำมัน / กรัมของโปรตีน

2.3 **การหาค่าการละลายของโปรตีน โดยวิธี** Nitrogen solubility index (NSI) (Adler - Nissen, 1986)

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจลดาล

วิธีการ

1 นำตัวอย่างโปรตีน 1 - 3 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 100 มล. ที่พีเอช 7.0 มาปั่นผสมในเครื่อง Homoginizer เป็นเวลา 2 นาที

2 ล้างเครื่องปั่นด้วย 50 มิลลิลตร ของ สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ แล้วนำของเหลวมารวมกันวัดค่าพีเอช 7

3 กวนผสมด้วย Magnetic stirrer เป็นเวลา 45 นาที

4 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบ / นาที เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน โดยวิธีเจลดาล = A

$$\text{การคำนวณ} = \frac{A \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนในวัตถุดิบ}}$$

ตารางภาคผนวก ค1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของวัตถุดิบ

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
โปรตีน	means	3	259.34	86.45	535.77	7.36e-15
	error	20	3.23	0.16		
	total	23	262.56			
ไขมัน	means	3	128.34	42.78	206.15	6.15e-13
	error	20	4.15	0.21		
	total	23	132.50			
เถ้า	means	3	223.11	74.37	585	5.25e-15
	error	20	2.54	0.13		
	total	23	225.65			
ความชื้น	means	3	90.99	30.33	45.09	1.25e-08
	error	20	13.45	0.67		
	total	23	104.44			
ค่าทีบีเอ	means	3	15.73	5.24	10.18	<1
	error	20	10.29	0.51		
	total	23	26.03			

ตารางภาคผนวก ค1(ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทางเคมี และทางกายภาพของวัตถุดิบ

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
ค่าทีวีบี	means	3	448.67	149.56	51.59	4.70e-09
	error	20	57.98	2.90		
	total	23	506.65			
ค่าเค	means	3	107.39	35.79	14.37	<1
	error	20	49.82	2.49		
	total	23	157.20			

ตารางภาคผนวก ค2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการประเมินคุณภาพทางเคมีของโปรตีนสกัด

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
โปรตีน	means	4	971.27	242.82	258.67	$4.71e^{-16}$
	error	25	23.47	0.94		
	total	29	994.74			
ไขมัน	means	4	1154.24	288.56	275.57	$3.29e^{-16}$
	error	25	26.18	1.05		
	total	29	1180.42			
เถ้า	means	4	100.25	25.06	36.63	$1.33e^{-09}$
	error	25	17.11	0.68		
	total	29	117.36			
ความชื้น	means	4	26.63	6.66	24.27	$5.11e^{-08}$
	error	25	6.86	0.27		
	total	29	33.48			

ตารางภาคผนวก ค3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายต่อการสกัดโปรตีนจากปลาทูน่า

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า						
โพแทสเซียมคลอไรด์	means	4	6892.68	1723.17	29.40	< 1
	error	10	586.12	58.62		
	total	14	7478.80			
โซเดียมเฮกซะเมตา	means	4	400.63	100.16	1.82	0.20
ฟอสเฟต	error	10	550.61	55.06		
	total	14	951.24			
แอมโมเนียมซัลเฟต	means	4	39.96	9.99	0.46	0.77
	error	10	218.22	21.82		
	total	14	258.18			
เครื่องในปลาทูน่า						
โพแทสเซียมคลอไรด์	means	4	4093.82	1023.45	25.80	< 1
	error	10	396.64	39.66		
	total	14	4490.46			
โซเดียมเฮกซะเมตา	means	4	6010.84	1502.71	34.66	< 1
ฟอสเฟต	error	10	433.53	43.36		
	total	14	6444.37			
แอมโมเนียมซัลเฟต	means	4	295.66	73.92	10.37	< 1
	error	10	71.98	7.20		
	total	14	367.64			

ตารางภาคผนวก ค4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของชนิดและความเข้มข้นของสารละลายต่อการสกัดโปรตีนจากปลาซาร์ดีน

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาซาร์ดีน						
โพแทสเซียมคลอไรด์	means	4	1927.69	481.92	11.09	<1
	error	10	434.54	43.45		
	total	14	2362.24			
โซเดียมเฮกซะเมตา	means	4	141.25	35.31	1.82	0.20
ฟอสเฟต	error	10	194.33	19.43		
	total	14	335.58			
แอมโมเนียมซัลเฟต	means	4	416.16	104.04	6.71	<1
	error	10	155.12	15.51		
	total	14	571.29			
เครื่องในปลาซาร์ดีน						
โพแทสเซียมคลอไรด์	means	4	2537.87	634.47	14.51	< 1
	error	10	437.11	43.71		
	total	14	2974.99			
โซเดียมเฮกซะเมตา	means	4	472.95	118.24	2.68	0.09
ฟอสเฟต	error	10	441.53	44.15		
	total	14	914.48			
แอมโมเนียมซัลเฟต	means	4	593.04	148.26	3.63	0.04
	error	10	408.74	40.87		
	total	14	1001.79			

ตารางภาคผนวก ค5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของค่าพีเอชร่วมกับสารละลายส์กัดต่อการสกัดโปรตีนปลา

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า	means	6	57908.17	9651.36	211.42	$5.36e^{-20}$
	error	35	1597.73	45.65		
	total	41	59505.90			
เครื่องในปลาทูน่า	means	6	17763.22	2960.53	93.63	$4.90e^{-17}$
	error	35	1106.68	31.62		
	total	41	18869.89			
หัวปลาซาร์ดีน	means	6	76162.11	12693.68	487.25	$3.11e^{-22}$
	error	35	911.81	26.05		
	total	41	77073.92			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	6	6813.43	1135.57	55.47	$1.04e^{-14}$
(KCl 0.4 molar)	error	35	716.48	20.47		
	total	41	7529.91			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	6	15032.96	2505.49	115.22	$7.22e^{-18}$
($(NaPO_3)_6$ 0.01 molar)	error	35	761.10	21.74		
	total	41	15794.06			

ตารางภาคผนวก ค6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของระยะเวลาสกัด

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า	means	2	123.35	61.67	2.48	0.12
	error	15	372.49	24.83		
	total	17	495.84			
เครื่องในปลาทูน่า	means	2	368.61	184.30	6.05	0.01
	error	15	457.10	30.47		
	total	17	825.70			
หัวปลาซาร์ดีน	means	2	425.65	212.83	7.28	<1
	error	15	438.45	29.22		
	total	17	864.10			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	2	525.20	262.60	8.54	<1
($(NaPO_3)_6$ 0.01 molar)	error	15	461.06	30.74		
	total	17	986.26			

ตารางภาคผนวก ค7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อสารละลายต่อการสกัดโปรตีนปลา

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า	means	1	201.15	201.15	8.75	0.02
	error	10	229.90	22.99		
	total	11	431.04			
เครื่องในปลาทูน่า	means	1	999.19	999.18	31.45	<1
	error	10	317.74	31.77		
	total	11	1316.93			
หัวปลาซาร์ดีน	means	1	165.99	165.99	8.73	0.01
	error	10	189.94	18.99		
	total	11	355.92			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	1	491.52	491.52	30.36	<1
($(NaPO_3)_6$ 0.01 molar)	error	22	161.88	16.19		
	total	23	653.40			

ตารางภาคผนวก ค8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของอุณหภูมิการสกัด

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า	means	4	5238.38	1039.59	73.16	$3.38e^{-12}$
	error	25	447.53	17.90		
	total	29	5685.91			
เครื่องในปลาทูน่า	means	4	1602.76	400.69	40.77	$5.14e^{-10}$
	error	25	245.68	9.83		
	total	29	1848.44			
หัวปลาซาร์ดีน	means	4	1179.78	294.94	45.38	$2.00e^{-10}$
	error	25	162.47	6.50		
	total	29	1342.25			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	2	235.85	117.93	4.90	0.02
(KCl 0.4 molar)	error	15	361.01	24.07		
	total	17	596.87			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	4	1308.39	327.10	27.01	$1.99e^{-08}$
($(NaPO_3)_6$ 0.01 molar)	error	25	302.74	12.11		
	total	29	1611.13			

ตารางภาคผนวก ค9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของการตกตะกอนด้วยวิธีไอโซอิเล็กตริก

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า	means	8	5710.10	713.76	65.08	$1.03e^{-18}$
	error	45	493.50	10.97		
	total	53	6203.60			
เครื่องในปลาทูน่า	means	8	27374.27	3421.78	255.73	$2.09e^{-24}$
	error	45	602.12	13.38		
	total	53	27976.39			
หัวปลาซาร์ดีน	means	8	7010.64	876.33	87.35	$3.55e^{-20}$
	error	45	451.44	10.03		
	total	53	7462.08			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	8	31713.53	3964.19	199.02	$1.44e^{-23}$
(KCl 0.4 molar)	error	45	896.34	19.92		
	total	53	32609.87			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	8	42283.38	5285.42	513.16	$2.51e^{-26}$
($(NaPO_3)_6$ 0.01 molar)	error	45	463.48	10.30		
	total	53	42746.87			

ตารางภาคผนวก ค10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของการตกตะกอนด้วยวิธีใช้ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์

คุณลักษณะ	SV	DF	SS	MS	F	P
หัวปลาทูน่า	means	4	33057.25	8264.31	1959.03	$1.49e^{-19}$
	error	25	105.46	4.22		
	total	29	33162.72			
เครื่องในปลาทูน่า	means	4	3527.53	881.88	143.38	$1.99e^{-14}$
	error	25	158.76	6.15		
	total	29	3681.30			
หัวปลาซาร์ดีน	means	4	49144.79	12286.20	3711.79	$3.53e^{-20}$
	error	25	82.75	3.31		
	total	29	49227.54			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	4	7636.16	1909.04	385.95	$5.57e^{-17}$
(KCl 0.4 molar)	error	25	123.66	4.95		
	total	29	7759.82			
เครื่องในปลาซาร์ดีน	means	4	4970.73	1242.68	817.28	$2.22e^{-18}$
($(NaPO_3)_6$ 0.01 molar)	error	25	38.01	1.52		
	total	29	5008.74			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาว จิตรวดี ไตรเรกพันธุ์

วัน เดือน ปี เกิด 12 มิถุนายน 2513

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	พ.ศ. 2535