



โปรตีนไฮโดรไลเสทและน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ  
Protein Hydrolysate and Crude Oil from Black Tiger Prawn Head

8  
/  
38

๖๐  
๖๕๐

ไตรตะวัน คงแก้ว  
Tritawan Kongkeaw

Order Key... 25819  
BIB Key... 170930

๗  
เลขที่ OLAA-M23 019A  
เลขทะเบียน ๖๕๕๒ ๓.๒  
...../...../.....

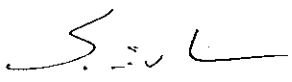
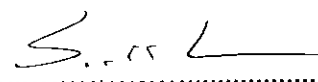
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
Master of Science Thesis in Fishery Product Technology  
Prince of Songkla University

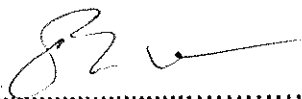
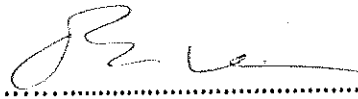
ชื่อวิทยานิพนธ์ โปรตีนไฮโดรไลเสทและน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ  
ผู้เขียน นายไตรตะวัน คงแก้ว  
สาขาวิชา เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง

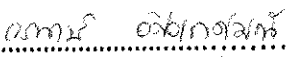

---

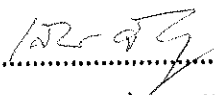
คณะกรรมการที่ปรึกษา

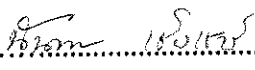
คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ      .....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทรวัดณ์ เบญจกุล)      (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทรวัดณ์ เบญจกุล)

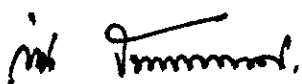
.....กรรมการ      .....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงษ์ศักดิ์กุล)      (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงษ์ศักดิ์กุล)

.....กรรมการ      .....กรรมการ  
(อาจารย์ วรพงษ์ อัสวเกษตรณี)      (อาจารย์ วรพงษ์ อัสวเกษตรณี)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทา เชิงเขาว์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์  
ประมง

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ก้าน จันทรพรหมมา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ โปรตีนไฮโดรไลเสทและน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ  
ผู้เขียน นายไตรตะวัน กงแก้ว  
สาขาวิชา เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง  
ปีการศึกษา 2542

### บทคัดย่อ

หัวกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์จากกุ้งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท ก่อนการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำด้วยเอนไซม์โปรตีเนส ได้ทำการสกัดไขมันจากหัวกุ้งสดด้วยไอโซโพรพานอลที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนระหว่างหัวกุ้งกุลาดำต่อตัวทำละลายอินทรีย์เท่ากับ 1:3 (นน/ปริมาตร) หัวกุ้งกุลาดำบดซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว นำมาย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ซึ่งมีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานดังนี้ คือ พีเอช 9.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และพีเอช 6.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ระยะเวลาในการย่อยสลายและความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดและระดับการย่อยสลายสูงขึ้น ระดับการย่อยสลายมีผลโดยตรงต่อปริมาณผลผลิต ปริมาณ nitrogen recovery และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสท ซึ่งเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการย่อยสลายสูงกว่าเอนไซม์นิวเทรสและปาเปน ปริมาณผลผลิตที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 มีค่าร้อยละ 2.54 - 5.72 3.75 -10.14 และ 5.81 - 11.25 โปรตีนไฮโดรไลเสทประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 87.51 - 92.15 และมีไขมันต่ำกว่าร้อยละ 0.3 โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 65 ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่ให้กลิ่นรสสูง ได้แก่ กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก และไกลซีน โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีระดับการย่อยสลายร้อยละ 65 ซึ่งเตรียมจากเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการละลายสูงกว่าร้อยละ 80 ในช่วงพีเอช 7-9 ส่วนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ที่ระดับการย่อยสลายต่ำคือ

ร้อยละ 35 มีสมบัติการเกิดอิมัลชันสูงสุดแต่ไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีสมบัติการเกิดฟองและความคงตัวของฟองต่ำ

เมื่อศึกษาความคงตัวระหว่างการเก็บรักษาของไฮโดรไลเซทจากหัวกุ้งกุลาดำที่มีระดับการย่อยสลายร้อยละ 65 ที่สภาวะต่างๆ (อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส) ต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้น คือ การเกิดสีน้ำตาลโดยไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง และ ค่าทีบีเออาร์เอส พบว่าไฮโดรไลเซทแห่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณความชื้น ค่าสี การเกิดสีน้ำตาลชนิดไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง และค่าทีบีเออาร์เอสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (4 และ -20 องศาเซลเซียส)

น้ำมันดิบที่สกัดได้จากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยฟอสโฟไลปิดร้อยละ 46.09 ไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 53.99 มีค่าไอโอดีน 101.79 กรัมไอโอดีนต่อ 100 กรัมไขมัน ค่าเปอร์ออกไซด์ 22.86 มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัมไขมัน และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 40.46 มิลลิกรัมแอตทาแซนทีนต่อ 100 กรัมไขมัน น้ำมันดิบประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 39.4 กรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 55.7 โดยมีกรดปาล์มมิก (16:0) ร้อยละ 25.1 ดีเอชเอ (22:6) ร้อยละ 21.9 และอีพีเอ (20:5) ร้อยละ 4.1 เมื่อศึกษาความคงตัวของน้ำมันดิบ พบว่าทีบีเอชคิวและอีทอกซีคิววินมีสมบัติเป็นสารกันหืนที่ดีในน้ำมันจากหัวกุ้ง

**Thesis Title**            **Protein Hydrolysate and Crude Oil from  
Black Tiger Prawn Head**

**Author**                    **Mr. Tritawan Kongkeaw**

**Major Program**        **Fishery Product Technology**

**Academic Year**        **1999**

### **Abstract**

Protein hydrolysate was produced from black tiger prawn head, by-product from prawn processing plant. Enzymatic hydrolysis of black tiger prawn head protein was studied using various proteinases, including alcalase, neutrase, and papain. Prawn heads were ground and defatted using isopropanol with the solid to solvent ratio of 1:3 (w/v) at 50 °C for 30 min. The optimum conditions for hydrolysis by alcalase, neutrase, and papain were 60 °C pH 9.5, 50 °C pH 7.0, and 35 °C pH 6.5, respectively. Enzyme concentration and reaction time affected the hydrolysis of prawn head protein. Hydrolysis products expressed as  $\alpha$ -amino acid increased when higher enzyme concentrations were used. Alcalase showed a higher proteolytic activity towards prawn head protein when compared to neutrase and papain. Degree of hydrolysis directly affected yields, nitrogen recovery and functional properties of freeze-dried hydrolysate. At degree of hydrolysis (DH) of 35, 50, and 65%, the yields of 2.54 - 5.72, 3.75 - 10.14, and 5.81 - 11.25 % were obtained, respectively. Protein hydrolysate contained 87.51 - 92.15 % protein and less than 0.3 % fat. The major amino acids in hydrolysate prepared by using alcalase at 65 % DH were glutamic acid, aspartic acid and glycine. Solubility of the hydrolysate with 65 % DH prepared by all enzymes was higher than 80 % over the pH range of 7-9. The hydrolysate prepared by using

neutrase with DH of 35 % showed the highest emulsion activity and emulsion stability. However, most of protein hydrolysates had poor foaming properties.

Storage stability of hydrolysate with 65 % DH was investigated at room temperature (27-30 °C), 4 °C, and -20 °C. It was found that moisture, color, non-enzymatic browning and TBARS slightly increased when kept at room temperature, whereas no change was observed at 4 °C and -20 °C

Crude oil from black tiger prawn head contained 46.09% phospholipid and 53.99% triglyceride. The oil had iodine value of 101.79 g.iodine/100 g.oil with peroxide value of 22.86 meq./kg.oil and carotenoid content of 40.46 mg.astaxanthin/100g.oil. Crude oil consisted of 39.4 % saturated fatty acids and 55.7 % unsaturated fatty acids. The major fatty acids in crude prawn oil were palmitic acid (25.1%), DHA (21.9%) and EPA (4.1%)

The stability evaluated by accelerated oxidation test was studied in prawn head oil in presence and absence of antioxidants. TBHQ and ethoxyquin were shown to be the effective antioxidants in prawn head oil.

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทธีวัฒน์ เบญจกุล ประธานกรรมการ  
ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัย และการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้  
ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกุล และ อาจารย์ วรพงษ์  
อัสวเกษตรณี กรรมการที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำแนะนำต่างๆและตรวจทานแก้ไขวิทยา  
นิพนธ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล ผู้แทนจากคณะ  
อุตสาหกรรมเกษตร และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทา เขิงขาว ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย  
ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาอนุญาตให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ขอกราบ  
ขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่สาว พี่ชาย พี่เขย และพี่สะใภ้ ที่ให้การสนับสนุนและเป็น  
กำลังใจในการศึกษาตลอด ขอขอบคุณบริษัทห้องเย็น โชคดีวัฒน์หาดใหญ่จำกัด ที่  
กรุณาเอื้อเฟื้อวัสดุคิบบสำหรับการวิจัย รวมถึงเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่  
มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ไตรตะวัน คงแก้ว

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการตารางภาคผนวก	(13)
รายการภาพประกอบ	(17)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
กึ่งกลาคำ	3
อุตสาหกรรมการแปรรูปกึ่งกลาคำ	4
โปรตีนไฮโดรไลเสท	6
การกำจัดไขมัน	10
การจำแนกเอนไซม์โปรตีเอส	16
ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีน โดยเอนไซม์โปรตีเอส	19
องค์ประกอบและสมบัติบางประการของโปรตีนไฮโดรไลเสท	22
สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสท	29
การใช้ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเสท	31
วัตถุประสงค์	33
2 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	34
วัสดุ	34
อุปกรณ์	34
วิธีการ	36
	(8)



สาขาญ (ต่อ)

	หน้า
1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ	36
2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์	36
3 ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์	38
4 ศึกษาผลของระดับการย่อยสลายต่อปริมาณผลผลิตและสมบัติบางประการของโปรตีนไฮโดรไลเสท	39
5 ศึกษาความคงตัวของโปรตีนไฮโดรไลเสทแห่งต่อการเก็บรักษา	40
6 ศึกษาองค์ประกอบ สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและความคงตัวของน้ำมันดิบ	40
3 ผลและวิจารณ์	43
1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ	43
2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์	44
3 ผลการศึกษการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์	48
4 ผลการศึกษาผลของระดับการย่อยสลายต่อปริมาณผลผลิตและสมบัติบางประการของโปรตีนไฮโดรไลเสท	59
5 ผลการศึกษาความคงตัวของโปรตีนไฮโดรไลเสทแห่งต่อการเก็บรักษา	83
6 ผลการศึกษารวมองค์ประกอบ สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและความคงตัวของน้ำมัน	97
4 สรุป	106
เอกสารอ้างอิง	109
ภาคผนวก	121
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ค่าทางเคมี	121
ภาคผนวก ข ตารางผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ	136
ประวัติผู้เขียน	159
	(9)

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า	
1	ชนิดของเอนไซม์และช่วงพีเอชที่เหมาะสม	13
2	ชนิดของเอนไซม์ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท จากวัสดุเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล	18
3	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัตถุดิบต่างๆ	23
4	กรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลา แปซิฟิกไวทิง วัสดุเศษเหลือและเนื้อปลาแปซิฟิกไวทิง	25
5	ค่าสีของโปรตีนปลาไฮโดรไลเสทจากปลาแฮร์ริง ที่เตรียมโดยใช้ เอนไซม์อัลคาเลส และปาเปนซึ่งเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส	27
6	องค์ประกอบทางเคมีของหัวกุ้งกุลาดำและเนื้อ	44
7	ผลของตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิต่อการสกัดไขมัน ในหัวกุ้งกุลาดำ	45
5	ผลของระยะเวลา และ อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายอินทรีย์ ต่อการสกัดไขมันในหัวกุ้งกุลาดำ	47
9	ปริมาณผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน จากหัวกุ้งโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน	60
10	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสท	62
11	องค์ประกอบของกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำ ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส	65
12	ค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำซึ่งเตรียมโดย ใช้เอนไซม์โปรตีเอสต่างชนิดกัน	66

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	68
14	ความคงตัวของอิมัลชันเมื่อใช้ไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน	78
15	ความจุฟองของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ต่างๆที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน	81
16	ความคงตัวของฟองของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	82
17	ค่าการดูดกลืนแสงช่วง 420 นาโนเมตร ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ระหว่างการเก็บรักษา ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	90
18	ค่าการดูดกลืนแสงช่วง 420 นาโนเมตร ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ระหว่างการเก็บรักษา ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	91
19	ค่าการดูดกลืนแสงช่วง 420 นาโนเมตร ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ระหว่างการเก็บรักษา ที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	92
20	ค่า L a และ b ของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	94

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
21	ค่า $L$ , $a$ และ $b$ ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดย เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	95
22	ค่า $L$ , $a$ และ $b$ ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดย เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ $-20$ องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	96
23	องค์ประกอบและสมบัติของน้ำมันดิบ	99
24	องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ	105

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของตัวทำละลายอินทรีย์และ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดไขมัน	136
2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาและอัตราส่วนของ วัตถุดิบต่อตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการสกัดไขมัน	136
3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณผลผลิต โปรตีน ไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลาย โปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดย เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน	137
4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ ของไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	137
5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ของไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	138
6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเถ้าที่เป็นองค์ประกอบของ ไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและ ปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	138
7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของไฮโดรไลเซส ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	139
8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี (ค่า L)ของไฮโดรไลเซสที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ระดับ การย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	139

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี (ค่า a) ของไฮโดรไลสเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	140
10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี (ค่า b) ของไฮโดรไลสเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65	140
11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ nitrogen recovery ของโปรตีนไฮโดรไลสเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน	141
12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลสเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรไลสเสทต่างกัน	142
13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลสเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรไลสเสทต่างกัน	143
14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความจุของฟองของโปรตีนไฮโดรไลสเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรไลสเสทต่างกัน	144
15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชื้นของไฮโดรไลสเสทแห้งที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลสเสทที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	145

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
16 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	146
17 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์นิวเทรสระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	147
18 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์ปาเปนระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	148
19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	149
20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปน ระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	150
21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	151

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดสีน้ำตาล โดยไม่มีเอนไซม์ เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	151
23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดสีน้ำตาล โดยไม่มีเอนไซม์ เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	152
24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเสทที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	153
25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเสทที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	154
26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเสทที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	155
27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเสทที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	156
28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเสทที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	157
29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเสทที่ได้ จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	158



## รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของกึ่งกลาดำ	3
2	กระบวนการผลิตกึ่งแซ่แข็ง	5
3	กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์	7
4	ส่วนแบ่งแหล่งของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ	17
5	กระบวนการสกัดไขมันในหัวกึ่งกลาดำ	42
6	ผลของพีเอชต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส(b) และปาเปน (c) ในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกึ่งกลาดำ ที่อุณหภูมิ 50 45 และ 27 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 ยูนิตต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 10 นาที	50
7	ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส(a) นิวเทรส (b) และ ปาเปน (c) ในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกึ่งกลาดำ ที่พีเอช 9.5 7.0 และ 6.5 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 ยูนิตต่อกิโลกรัมระยะเวลา 10 นาที	53
8	ผลของระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกึ่งกลาดำบดต่อปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่พีเอช 9.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นิวเทรสที่พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และปาเปน ที่พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	55
9	ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ต่อปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกึ่งกลาดำบดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด	57
10	ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกึ่งกลาดำบดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด	57

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\log_{10}$ (ความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส (b) และปาเปน (c) ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำบด ที่สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด ระยะเวลา 60 นาที	58
12	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายและปริมาณ nitrogen recovery ของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำบดที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส (b) และปาเปน (c)	69
13	สมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยเอนไซม์อัลคาเลส(a) นิวเทรส (b) และปาเปน (c) ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ในช่วงพีเอช 2-9	71
14	ดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสท ร้อยละ 0.5 1 3 และ5	74
15	ดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสท ร้อยละ 0.5 1 3 และ5	75
16	ดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสท ร้อยละ 0.5 1 3 และ5	76
17	การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสท จากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	86

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
18	การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสท จากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์นิวเทรส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	86
19	การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสท จากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปาเปน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ ต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	87
20	การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของโปรตีนไฮโดรไลเสท จากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	87
21	การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของโปรตีนไฮโดรไลเสท จากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์นิวเทรส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ ต่างๆเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	88
22	การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของโปรตีนไฮโดรไลเสท จากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปาเปน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	88
23	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เค็มสารกันหืน ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดย วิธี accelerated oxidation test	101
24	ปริมาณทีบีเออาร์เอส ของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เค็มสารกันหืน ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดย วิธี accelerated oxidation test	102
25	ปริมาณเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เค็มสาร กันหืนชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบ โดยวิธี accelerated oxidation test	102

- |    |   |     |
|----|---|-----|
| 26 | ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสาร<br>กันหืนชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดยวิธี<br>accelerated oxidation test | 105 |
| 27 | ปริมาณคอนจูเกตไดอินของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสาร<br>กันหืนชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดยวิธี<br>accelerated oxidation test | 105 |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### บทนำต้นเรื่อง

กึ่งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร กึ่งกุลาดำมีคุณค่าทางอาหารสูงและมีรสชาติที่ดีและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่นไฮดรอกซีโปรตีน อลานีน ไกลซีน เซอรีน และทรีโอนีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสชาติที่ดี (Pan, 1990)

การแปรรูปกึ่งกุลาดำ ส่วนใหญ่ร้อยละ 98 นิยมนำมาผลิตเป็นกึ่งกุลาดำสดแช่แข็ง (เศรษฐกิจการพาณิชย์, 2540) ได้แก่กึ่งเอาหัวออก (headless) หรือ กึ่งปอกเปลือกแช่แข็ง ซึ่งในกระบวนการผลิตทำให้เกิดวัสดุเศษเหลือประมาณร้อยละ 37 โดยมีหัวกึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก (Bhuwaphathapun, 1996) จากแนวโน้มการส่งออกกึ่งแช่แข็งที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของวัสดุเศษเหลือเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ สำหรับการใช้อย่างประโยชน์ของวัสดุเศษเหลือดังกล่าวส่วนใหญ่ใช้เป็นอาหารสัตว์โดยตรง หรือใช้ผลิตเป็นเปลือกกึ่งป่นสำหรับผสมในอาหารสัตว์ซึ่งมีมูลค่าต่ำ ดังนั้นการใช้อย่างประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือเหล่านี้จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิต ปัจจุบันได้มีการศึกษาการนำวัสดุเศษเหลือ โดยเฉพาะหัวกึ่งมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารเช่น การผลิตสารให้สีจากเปลือกกึ่ง (Chen and Meyers, 1982) การผลิตสารให้กลิ่นรสจากหัวกึ่ง (Pan, 1990) และการผลิตเปปโตนสำหรับใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Adler-Nissen, 1986)

น้ำมันจากสัตว์น้ำ เช่น น้ำมันปลา ได้รับความนิยมนิยมจากผู้บริโภค ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันจากสัตว์น้ำมีองค์ประกอบของไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะกรดไขมันชนิด โอเมก้า 3 (ω-3) ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการและมีประโยชน์ทางการแพทย์ (Sander, 1985) ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปสัตว์น้ำมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Benjakul and Morrissey, 1997) รวมทั้งมีสมบัติเชิงหน้าที่บาง

ประการที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร (Christopher, 1994) ดังนั้น การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทและน้ำมันดิบจากหัวกุ้งจึงเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์ จากวัสดุเศษเหลือ รวมทั้งสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาการใช้ประโยชน์จาก หัวกุ้งในอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้งต่อไป

## ตรวจเอกสาร

### 1 กุ้งกุลาดำ /

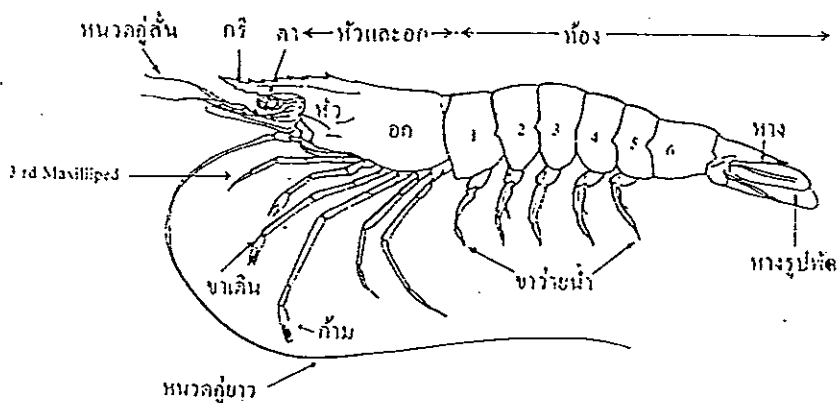
ชื่อสามัญ Black tiger shrimp หรือ Giant tiger shrimp หรือ Grass prawn

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Penaeus monodon*

### ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำจัดเป็นกุ้งทะเลในกลุ่ม Penaeid ชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มีลักษณะเปลือกแข็ง ไม่มีขน มีลำตัวยาว โค้งงอเล็กน้อย แต่ละปล้องจะมีระยาง 1 คู่ (ภาพที่ 1) ถ้าตัดตามขวางของลำตัวกุ้ง จะมองเห็นส่วนต่างๆของกุ้งได้ชัดเจน ด้านบนตัวกุ้งเรียกว่า เทอโกต์ (tergite) เปลือกหุ้มตัวส่วนด้านล่างที่คลุมโคนขาว่ายน้ำเรียกว่า พรุรา (pleura) และส่วนด้านท้องของกุ้งเรียกว่า สเตอไนท์ (sternite) เปลือกคลุมหัว (carapace) จะคลุมส่วนของหัว-อก ด้านบนรวมทั้งบริเวณเหงือก ด้านข้างที่คลุมเหงือกทั้ง 2 ด้านเรียกว่า branchiostegite ส่วนหน้าของเปลือกคลุมหัวจะยื่นแหลมออกไปเรียกว่า กรี (rostrum) ส่วนกรีที่ยื่นยาวออกไปนี้จะมีเขี้ยวบางๆยึดไว้ ทำให้ปลายกรีสสามารถโยกคลอนได้ (ประจวบ หล้าอุบล, 2527) ในประเทศไทยสามารถพบได้ทั่วไปในบริเวณอ่าวไทย แต่บริเวณที่พบชุกชุม ตั้งแต่ ชุมพรถึงนราธิวาส

(ผุสดี วาณิชกุล และคณะ, 2530)



ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

ที่มา : ประจวบ หล้าอุบล (2527)

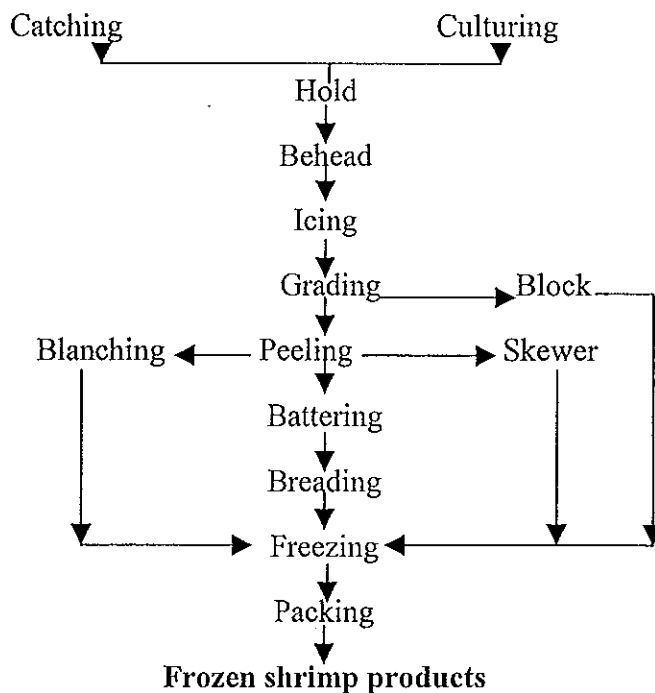
## 2 อุตสาหกรรมแปรรูปกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำจัดเป็นสัตว์น้ำที่มีมูลค่าสูงทางเศรษฐกิจและมีความสำคัญต่อการพัฒนาประเทศของหลายประเทศทั่วโลก กุ้งที่ใช้ในการแปรรูปส่วนใหญ่ ได้จากการเพาะเลี้ยง เนื่องจากปริมาณกุ้งที่จับได้จากธรรมชาติลดลง ประเทศไทยนับเป็นประเทศหนึ่งที่มีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสูงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกุ้งทะเล เนื่องจากมีพื้นที่ชายฝั่งทะเลเป็นแนวยาว มีอากาศอบอุ่นตลอดปี ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ประกอบด้วยวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารกุ้งมีปริมาณเพียงพอและมีราคาถูก แรงงานหาง่าย และเมื่อนำเทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามาช่วยพัฒนาทางด้านการเพาะเลี้ยงกุ้งแล้ว ไทยจึงเป็นประเทศที่ผลิตกุ้งได้มากที่สุดประเทศหนึ่ง ด้วยต้นทุนที่ต่ำกว่าประเทศอื่นๆ ทำให้สามารถเป็นสินค้าส่งออกของไทยที่สำคัญในตลาดโลก พื้นที่การเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย ร้อยละ 60 ของนาุ้งอยู่ทางภาคใต้ ร้อยละ 35 อยู่ทางภาคตะวันออก และอีกร้อยละ 5 อยู่ในภาคกลาง ซึ่งมีเนื้อที่ประมาณ 500,000 ไร่ (คะเนกิตติโกวิท, 2537) กุ้งส่วนใหญ่นิยมนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์กุ้งสดแช่แข็ง กุ้งต้มสุกแช่แข็ง และกุ้งบรรจุกระป๋อง ซึ่งปริมาณการส่งออกผลิตภัณฑ์จากกุ้งของไทยมีปริมาณ 4 พันกว่าล้านบาท (เศรษฐกิจการพาณิชย์, 2540) ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น สหภาพยุโรป และจีน เป็นต้น

แต่ในช่วงสามเดือนแรกของปี พ.ศ. 2542 สถานการณ์การค้าและการส่งออกกุ้งของไทยชะลอตัวลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการส่งออกไปยังตลาดสหภาพยุโรป (อียู) มีปริมาณลดลงถึงร้อยละ 70 เมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปีที่แล้ว เนื่องจากสหภาพยุโรปได้ยกเลิกการให้สิทธิพิเศษทางศุลกากร (จีเอสพี) แก่ผู้ส่งออกไทย ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2542 ทำให้ไทยต้องเสียภาษีนำเข้าสูงถึงร้อยละ 15-20 ผู้นำเข้าของสหภาพยุโรปจึงหันไปซื้อกุ้งจากประเทศอื่น ที่เสียภาษีนำเข้าในอัตราที่ต่ำกว่าไทย หรือไม่เสียเลย เช่น มาเลเซีย อินโดนีเซีย เวียดนาม และอินเดีย ขณะที่ตลาดอื่นๆก็ได้ชะลอการสั่งซื้อลงเช่นกัน ประเทศไทยส่งออกผลิตภัณฑ์จากกุ้งเป็นมูลค่าทั้งสิ้น 6,490 ล้านบาท ลดลงร้อยละ 46 โดยส่งออกไปสหรัฐอเมริกามากที่สุด 2,390 ล้านบาท รองลงมาได้แก่ ญี่ปุ่น 1,340 ล้านบาท จีน 805 ล้านบาท ตามลำดับ (รายงานเศรษฐกิจ ธ.กรุงไทยจำกัด



มหาชน, 2542) กุ้งส่วนใหญ่นำมาใช้แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แช่แข็ง (ภาพที่ 2) ได้แก่ผลิตภัณฑ์กุ้งเอาหัวออก (headless) หรือ กุ้งปอกเปลือกแช่แข็งตลอดจนผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม เช่น กุ้งชุบแป้งขนมปังแช่แข็ง ในกระบวนการผลิตมีวัสดุเศษเหลือเกิดขึ้นประมาณร้อยละ 37-40 ซึ่งหัวกุ้งเป็นองค์ประกอบหลักของวัสดุเศษเหลือดังกล่าว (Bhuwaphathapun, 1996) ถึงแม้แนวโน้มการส่งออกกุ้งแช่แข็งจะลดลง แต่ปริมาณการส่งออกก็ยังอยู่ในระดับสูง ดังนั้นปริมาณของวัสดุเศษเหลือจึงอยู่ในปริมาณสูงเช่นกัน



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำแช่แข็ง

ที่มา : Pan (1990) \*

### 3 โปรตีนไฮโดรไลเสท /

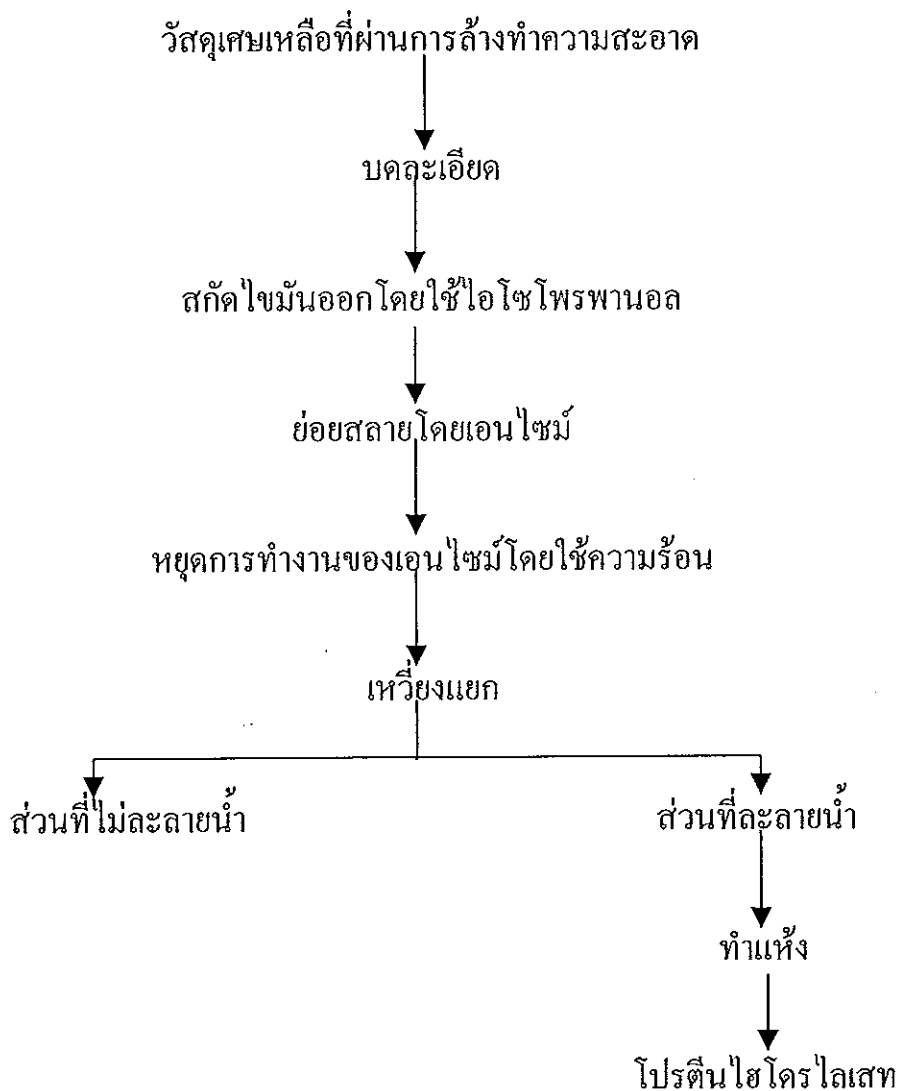
ลักษณะโดยทั่วไป

โปรตีนไฮโดรไลเสท (Protein hydrolysate) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีน โดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาว ให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ <sup>โดยการใช้กรด</sup> การเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถกระทำได้โดยการใช้กรดต่าง หรือเอนไซม์ (Adler-Nissen, 1986) และจำเป็นต้องควบคุมสถานะเช่น ระยะเวลา อุณหภูมิ พีเอช เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามความต้องการ (Windsor and Barlow, 1981; Mackie, 1982) การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยทั่วไปกระทำได้ 2 วิธี ได้แก่ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกลุ่มโปรตีเอส และการย่อยสลายด้วยสารเคมี เช่นกรดหรือด่าง

การใช้เอนไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทมีความจำเพาะสูงและเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ และพีเอชปานกลาง ซึ่งกิจกรรมที่เหมาะสมของเอนไซม์สามารถกำหนดระดับการย่อยสลาย และขนาดของเปปไทด์ที่เกิดขึ้น (Adler-Nissen, 1986) โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีสีสว่าง มีปริมาณคลอไรด์ (chlorhydric) และเถ้า และยังมีกลิ่นรสที่ไม่รุนแรง (Howell, 1996) ในขณะที่การย่อยด้วยกรดและด่างไม่สามารถกำหนดอัตราการย่อยสลายพันธะได้อย่างมีประสิทธิภาพ การย่อยสลายด้วยด่างสามารถทำลายกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิด เช่น ทรีปโตเฟน นอกจากนี้ ซีสเตอีน ซีรีน และทรีโอนีนอาจถูกทำลายเช่นกัน รวมทั้งมีผลทำให้เกิดเรซิไมเซชัน (racemization) ของกรดอะมิโน เปลี่ยนจาก L-form เป็น D-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดต่ำลง (Hall and Ahmad, 1992) ดังนั้นการใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการย่อยสลายโปรตีนจึงมีบทบาทมากกว่าการย่อยสลายด้วยสารเคมี

## การผลิตโปรตีนไฮโดรไลสัทโดยการใช้ออนไซม์

กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสัทประกอบด้วยขั้นตอนพื้นฐานที่คล้ายคลึงกัน คือ เริ่มจากการนำวัตถุดิบมาบดให้ละเอียด เติมน้ำ และย่อยสลายด้วยเอนไซม์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ หลังจากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และทำการแยกส่วนของเหลวซึ่งมีส่วนประกอบของโปรตีนที่ต้องการ ผ่านการทำแห้ง จะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลสัท ขั้นตอนแสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสัทโดยใช้เอนไซม์

ที่มา : Quaglia และ Orban (1987b)

แหล่งที่วาง

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทได้จากพืชและสัตว์ แต่นิยมใช้วัตถุดิบจากสัตว์มากกว่าวัตถุดิบจากพืช ทั้งนี้เนื่องจากสัตว์มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นที่ร่างกายต้องการครบถ้วนและมีปริมาณมากพอ ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเป็นวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท เนื่องจากโปรตีนจากสัตว์น้ำสามารถย่อยสลายได้ง่าย และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนครบถ้วน ช่วงก่อนปี 1960 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท ได้รับความสนใจโดยเน้นใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นอาหารสัตว์ หลังจากนั้นมีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์ป่าปนในการย่อยสลายโปรตีนจากปลาเพื่อผลิตเปปไทด์สำหรับเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Adler-Nissen, 1986)

วัตถุดิบจากสัตว์น้ำที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท แบ่งเป็น 2 ประเภท

1. ปลาสด หรือสัตว์น้ำสด ปลาสดที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทควรมีราคาต่ำ โดยทั่วไปเป็นปลาขนาดเล็กซึ่งได้จากการลากอวน ปลาทุกชนิดสามารถใช้เป็นวัตถุดิบได้ แต่ปลาที่มีปริมาณไขมันสูง เช่น แฮร์ริง แมกเคอรอล เมนฮาเดน สเปรท และ แอนโชวี จำเป็นต้องกำจัดไขมันออกเพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นหืนและเกิดสารพิษจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โปรตีนปลาไฮโดรไลเสทประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 85-90 ไขมันร้อยละ 2-4 และเถ้าร้อยละ 6-7 (Mackie, 1982) Hoyle และ Merritt (1994) รายงานการใช้ปลาแฮร์ริงในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท แต่ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเกิดการออกซิเดชันของไขมันได้ง่าย เนื่องจากเป็นปลาชนิดที่มีปริมาณไขมันสูง

Yu และ Tan (1992) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลา *Oreochromis mossambica* ด้วยเอนไซม์อัลคาเลส โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 2 ของน้ำหนักปลาและใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 150 นาที พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีปริมาณไนโตรเจนสูงสุด ส่วน Quaglia และ Orban (1987b) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาชาร์ดินด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเข้มข้นร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักปลา โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่ดี

Shahidi และคณะ (1994) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากแมวน้ำ โดยใช้เอนไซม์ อัลคาเลส และ นิวเทรส ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 77.3 มีความสามารถในการละลายมากกว่าร้อยละ 93.5 ที่พีเอช 2.5-10.4

2. วัสดุเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูป ซึ่งได้จากโรงงานแปรรูปสัตว์น้ำโดยเฉพาะ อุตสาหกรรมการผลิตปลากระป๋อง และอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้ง ปริมาณของวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาทูน่าบรรจุกระป๋องได้แก่ หัวปลาและเครื่องในปลาร้อยละ 10 น้ำเลือดปลาและน้ำนึ่งปลาร้อยละ 35 กระดุกปลาและหนังปลาร้อยละ 5 เศษเนื้อขาวและเศษเนื้อดำร้อยละ 20 (Wheaton and Lawson, 1985) วัสดุเศษเหลือที่ได้จากการแปรรูปกุ้งได้แก่ หัวกุ้ง เศษเนื้อ และเปลือก ร้อยละ 40-45 เป็นต้น (Subasinghe, 1999)

นอกจากนี้มีการใช้เศษเหลือจากสัตว์น้ำชนิดต่างๆเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท Beak และ Cadwallader (1995) ศึกษาการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้วัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งแม่น้ำเป็นวัตถุดิบ Rebeca และคณะ (1991) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเครื่องในปลากระบอก (*Mugil cephalus*) โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากแบคทีเรีย พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสมบัติการละลายสูงมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่ดีและไม่มีรสขม Benjakul และ Morrissey (1997) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 79.97 ส่วน Bhuwaphapun (1996) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยใช้เอนไซม์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกรดอะมิโนชนิด กรดกลูตามิก โกลซีน กรดแอสพาร์ติก โกลซีน อลานีน ลูซีน ไอโซลูซีน และ อาร์จินีน ในปริมาณสูง

Linder และคณะ (1996) รายงานการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเนื้อติดกระดูกแกะ โดยใช้เอนไซม์ในการย่อยสลาย ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสามารถในการละลายสูงกว่าร้อยละ 74 ส่วน Surowka และ Fik (1994) ศึกษาการใช้เอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวไก่ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีรสขม แต่มีสมบัติการเกิดอิมัลชันต่ำ Surowka และ Fik (1992) ศึกษาการใช้เอนไซม์นิวเทรสในการย่อยสลายโปรตีนจากหัว

ไก่ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 78.1 มีสีน้ำตาล และปราศจากรสขม

#### 4 การกำจัดไขมัน X

การกำจัดไขมันเป็นขั้นตอนที่สำคัญต่อการผลิตไฮโดรไลเซสและมีผลโดยตรงต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้ เนื่องจากไขมันมีผลต่อคุณภาพและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเซส การกำจัดไขมันสามารถกระทำก่อน หรือ หลังจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ซึ่งวิธีการกำจัดไขมันอาจทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ การใช้ความร้อน การใช้กรดหรือด่าง การใช้วิธีทางกล ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและวัตถุประสงค์ (Bimbo, 1990) สัตว์น้ำประกอบด้วยไขมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงและมีปริมาณแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับ ชนิด อาหาร ฤดูกาล ตลอดจนระยะเวลาการสืบพันธุ์ (Wheaton and Lowson, 1985) Bhuwaphathapun (1996) ศึกษาองค์ประกอบของไขมันในกุ้งกุลาดำ กุ้งน้ำจืด และกุ้งทะเล พบว่ากุ้งน้ำจืดมีปริมาณไขมันสูงสุด ร้อยละ 12.20 และกุ้งกุลาดำมีไขมันร้อยละ 4.60 สาเหตุที่ไขมันในกุ้งน้ำจืดมีปริมาณสูงกว่า เนื่องจากส่วนหัวของกุ้งน้ำจืดมีขนาดใหญ่ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 55 ของน้ำหนักตัว ในขณะที่กุ้งกุลาดำคิดเป็นร้อยละ 37 ของน้ำหนักตัว ดังนั้นการใช้วัตถุดิบที่มีปริมาณไขมันสูงในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซสจำเป็นต้องสกัดไขมันออก

Sikorski และ Nacak (1981) พบว่ากลิ่นคาวในโปรตีนไฮโดรไลเซสจากปลา มีอิทธิพลมาจากไขมันที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซส และการลดปริมาณของไขมันในผลิตภัณฑ์ทำให้สามารถลดกลิ่นคาวลงได้ นอกจากนี้ Lalasidis และคณะ (1978) รายงานว่ากลิ่นคาวปลาที่มีอิทธิพลมาจากสารประกอบโมเลกุลต่ำ เช่น ไตรเมทิลามีน และ 2- บิวทานอล ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซสจากปลา Winsor และ Barlow (1981) แนะนำว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซสควรมีปริมาณไขมันได้ไม่เกิน ร้อยละ 1 Quaglia และ Orban (1987a) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซสจากปลาซาร์ดีนที่ผ่านการสกัดไขมันโดยใช้ไอโซโพรพานอล พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้มีความสามารถในการละลายสูงและมีสมบัติการเกิดอิมัลชันใกล้เคียงกับเคซีน

Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษาคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลสจากปลาแฮร์ริง โดยใช้ปลาแฮร์ริงสด ปลาแฮร์ริงที่สกัดไขมันออกโดยการบีบอัด และปลาแฮร์ริงที่สกัดไขมันออกโดยใช้เอทานอล พบว่าการใช้เอทานอลในการสกัดไขมันให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเป็นที่ยอมรับสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลสที่ผลิตจากปลาแฮร์ริงที่สกัดไขมันโดยการบีบอัด และปลาแฮร์ริงสด

### ✓ เอนไซม์ โปรตีเอส ✓

เอนไซม์ เป็นกลุ่มโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีน คือมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเคมี นอกจากนี้เอนไซม์สามารถทำงานได้ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง ซึ่งเหมาะสมกับ สภาวะภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เอนไซม์มีความจำเพาะ (specification) ต่อสับสเตรทสูง (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2533)

เรื่องลักษณะ จามิกรณ์ (2536) รายงานการแบ่งเอนไซม์ โดย The Enzyme Commission (EC) แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่มออกซิโดรีดักเตส (Oxidoreductases) กลุ่มทรานส์เฟอเรส (Transferases) กลุ่มไฮโดรเลส (Hydrolases) กลุ่มไลเอส (Lyase) กลุ่มไอโซเมอเรส (Isomerases) และกลุ่มไลเกส (Lygases) แต่มีเฉพาะเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส เท่านั้นที่นิยมใช้ในระดับอุตสาหกรรม และในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลส จะใช้เอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลสที่เรียกว่าโปรตีเอส (Hall and Ahmad, 1992) เอนไซม์โปรตีเอสทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์ 2 กลุ่มคือ (Adler-Nissen, 1986)

1. เอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ภายในโซ่โพลีเมอร์ของโปรตีนได้เป็นสายโซ่เปปไทด์สั้นๆ

2. เอกโซเปปติเดส (Exopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะเปปไทด์ด้านปลายโซ่ของโพลีเมอร์ ถ้าเป็นการสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มอะมิโน เรียกว่าอะมิโนเปปติเดส ขณะที่การสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มคาร์บอกซิล เรียกว่า คาร์บอกซิเปปติเดส เอนไซม์กลุ่มเอนโดเปปติเดสจากพืชหรือจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง เนื่องจากมีความจำเพาะแบบกว้าง ทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว

(Mackie, 1982) ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมและช่วงพีเอชที่เหมาะสมแสดง  
ในตารางที่ 1



ตารางที่ 1 ชนิดของเอนไซม์และช่วงพีเอชที่เหมาะสม

Source	Type of protease	Common names, tradenames	Typical pH range	Preferential specificity
<b>Animals</b>				
Ox,pig	Aspartic protease	Pepsin, pepsin A	pH1-4	Aromatic -COOH and -NH <sub>2</sub> Leu-, Asp-, Glu-COOH
	Serine protease	Trypsin	pH7-9	Lys-,Arg-COOH
	Serine protease	Chymotrypsin	pH8-9	Phe-,Tyr-, Trp-COOH
	Mixture of trypsin, Chymotrypsin	Pancreatin	pH7-9	Very broad specificity
	Carboxypeptidase A or B			
Calf	Aspartic protease	Chymosin, rennin	pH3-6	Rennet specificity
<b>Plants</b>				
Papaya fruit	Cysteine protease	Papain, pure	pH5-7	Lys-, Arg-, Phe-X-COOH
	Mixture of papain, chymopapain And lysozyme	Papain, crude	pH5-9	Broad specificity
Fig latex	Cysteine protease	Ficin	pH5-8	Phe-, Tyr-X-COOH
	Cysteine protease	Bromelain	pH5-8	Lys-, Arg-, Phe-, Tyr-COOH

ตารางที่ 1 (ต่อ)

**Bacteria**

<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Metalloprotease	Neutrase	pH6-8	Leu-, Phe-NH <sub>2</sub> and other
<i>(Bacillus subtilis)</i>	Serineprotease	Subtilisin Novo, Subtilisin BPN	pH6-10	Broad specificity, mainly Hydrophobic-COOH
	Mixture of the above	Biopraxe, Nagase, Rapidermase, Rhozyme P 53, MKC protease	pH6-9	Broad specificity
<i>Bacillus licheniformis</i>	Serine protease	Subtilisin Carlsberg, Alcalase, Maxatase, Optimase	pH6-10	Broad specificity, mainly Hydrophobic-COOH
<i>Bacillus sp. Alkalophilic</i>	Serine protease	Esperase, Savinase Highly alkaline protease	pH7-12	Broad specificity, mainly Hydrophobic-COOH
<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>	Metalloprotease	Thermolysin, Ternoase	pH7-9	Lle-,LEU-, Val-,Phe-NH <sub>2</sub>
<b>Fungi</b>				
<i>Aspergillus oryzae</i>	Mixture of aspartic protease, Metalloprotease, Serineprotease And carboxypeptidase	Takadiastase, Fungal protease Sumzyme LP, Veron P, Panazyme, Prozyme Biozyme A, Sanzyme	pH4-8	Very broad specificity
<i>Aspergillus niger (A. saitoi)</i>	Aspartic protease usually Mixed with carboxypeptidase	Aspergillopeptidase A (pure aspartic protease),	pH2.5-5	Pure aspartic protease : as pepsin Mixed preparat on : broad specificity

		Sumzyme AP, Protase		
		Molsin, Pamprosin		
<i>Rhizopus sp.</i>	Aspartic protease	Sumzyme RP, Newlase	pH3-5	As pepsin
	Mixture of alkaline and Neutral protease plus Aminopeptidase and Carboxypeptidase	Pronase	pH7-9	Very broad specificity
<i>Mucor miehei</i>	Aspartic protease	Rennilase, Fromase	pH3-6	Rennet specificity
		Marzyme, Mercurd		
<i>Mucor pusillus</i>	Aspartic protease	Emporase, Meito rennet, Neury Lab	pH3-6	
<i>Endothia parasitica</i>	Aspartic protease	Surecurd, Suparen	pH3-6	
<i>Penicillium duponti</i>	Aspartic protease with some Carboxypeptidase	<i>P. duponti protease</i>	pH2-5	Broad specificity
<i>Trametes sanguinea</i>	Aspartic protease with some Carboxypeptidase	<i>T. sanguinea protease</i>	pH2-4	Broad specificity

ที่มา : Adler-Nissen (1986)

## 5 การจำแนกเอนไซม์โปรตีเอส

โปรตีเอสที่สำคัญในอุตสาหกรรมสามารถจำแนกเป็น 4 ประเภทตามหมู่ปฏิกิริยาในบริเวณเร่ง (active site) คือ

### 1. ซีรีนโปรตีเอส

ซีรีนโปรตีเอสประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิด ซีรีน และฮิสทีดีน ที่บริเวณเร่ง สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยๆคือ Trypsin-like proteinases, Alkaline proteinases, Myxobacter- $\alpha$ -lytic proteinases และ Staphylococcal proteinases โดยเอนไซม์ 2 ชนิดหลังไม่ได้ใช้ในอุตสาหกรรม ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ ทริปซิน ไคโมทริปซิน และอีลาสเทส (Loffler, 1986)

### 2. ไธโอลโปรตีเอส

ไธโอลโปรตีเอสจัดเป็นเอนไซม์ที่มีซีสเตอินที่บริเวณเร่ง สารรีดิวซิ่งเช่น ซีสเตอิน และไฮโดรโซยาไนด์สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ พืชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์มักเป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อย เอนไซม์ที่สำคัญในอุตสาหกรรมมักได้จากพืช ได้แก่ ปาเปน ฟิซิน และโบรมิเลน เอนไซม์ปาเปนได้จากยางมะละกอ ประกอบด้วยไคโมปาเปน ซึ่งเป็นสารประกอบพวก ไกลโคโปรตีน สำหรับฟิซินสามารถสกัดได้จากผลมะเดื่อ (Loffler, 1986)

### 3. แอซิดโปรตีเอส

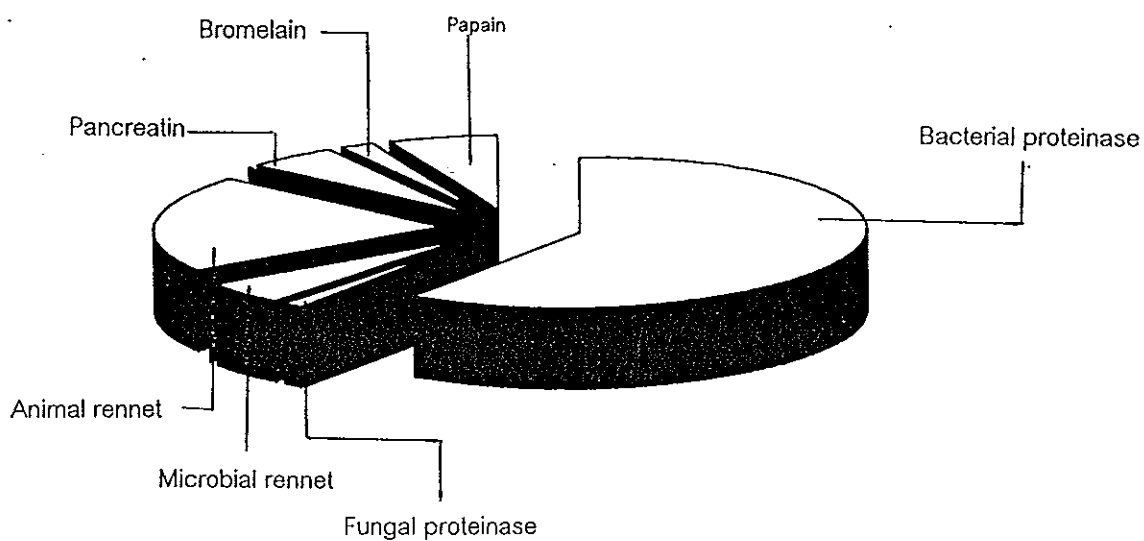
เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีหลายชนิดเช่น เรนิน (Webster, 1969) ไคโมซิน และเปปซิน (Loffler, 1986) แต่ที่สำคัญในอุตสาหกรรม มี 2 ชนิด ได้แก่ เรนิน และ เปปซิน

### 4. เมทัลโลโปรตีเอส

เอนไซม์ในกลุ่มนี้ต้องอาศัยไอออนของโลหะบางชนิดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นสารที่มีสมบัติจับโลหะ (chelating agent) เช่น EDTA สามารถยับยั้งการ

ทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรม คือ นิวทรีล และ อัลคาไลน์ เมทัลโลโปรตีนเอส

เอนไซม์โปรตีเอสเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมต่างๆ เอนไซม์ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายส่วนใหญ่ได้จากแบคทีเรีย ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 60 ของการใช้เอนไซม์ทั้งหมด ดังภาพที่ 4.



ภาพที่ 4. ส่วนแบ่งแหล่งของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ

ที่มา : Rehn และ Reed (1987)

การประยุกต์ใช้เอนไซม์กับผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้แก่ การใช้เอนไซม์โบรมิเลน ปาเปน และ ฟิชซิน ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Makie, 1974; Beddows, *et al.*, 1976; Beddows and Atdehir, 1979; Owen and Memdosa, 1985) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสตามต้องการ นอกจากนี้ยังมีการใช้เพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ชนิดของเอนไซม์ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษ

เหลือจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

วัตถุดิบ	เอนไซม์	อ้างอิง
Crayfish processing by-product	Alcalase 2.4L	
	Prozyme 6	
	APL-440	
	Proleather	
	Trypsin	
	HT-proteolytic 200	
	Protease 2A	
	Papain	
	Bromelain	
Lobster head	Protase S	Baek และ Cadwallader (1995)
	Papain	
	Pepsin	
Shrimp head	Fungal protease	Vieira และคณะ (1995)
	Neutrase 0.5L	
	Rapidase 9319	Bhuwathapun (1996)
Eviscerated mullet	Bacterial Protease	Rebeca และคณะ(1991)
Pacific whiting solid waste	Alcalase 2.4L	
	Neutrase 0.5L	Benjakul และ Morrissey (1997)
<i>Parophrys reyulus</i>	Pepsin	Tarky และคณะ (1973)

## 6 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรตีเอส

การย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรตีเอส มีปัจจัยหลายประการเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น สัมสเตรท เอนไซม์ พีเอช อุณหภูมิ ระยะเวลาการย่อยสลาย เป็นต้น

1. สัมสเตรท ชนิดของสัมสเตรท การเตรียมสัมสเตรทและความเข้มข้นของสัมสเตรท มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรตีเอส Mohr (1980) อธิบายว่าชนิดและลักษณะของสัมสเตรทมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ ถ้าโปรตีนมีการยึดเกาะกันหนาแน่นทำให้ไม่เหมาะสมต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ การเตรียมสัมสเตรทก่อนนำไปย่อยสลายต้องทำให้รูปร่างของโปรตีนมีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ โดยทั่วไปจึงมีการเติมน้ำในอัตราส่วนเท่ากับสัมสเตรทเพื่อให้เกิดการกระจายตัวของเอนไซม์ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการไฮโดรไลซิสสูงขึ้น (Mackie, 1982; Hoyle and Merritt, 1994) Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าอัตราส่วนของสารละลายบัฟเฟอร์กับสัมสเตรทมีผลต่อการย่อยสลาย เมื่ออัตราส่วนของสารละลายบัฟเฟอร์กับสัมสเตรทเพิ่มขึ้นปริมาณความเข้มข้นของ แอลฟาอะมิโนแอซิดเพิ่มขึ้น ซึ่งบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนที่เพิ่มขึ้น

2. เอนไซม์ ธรรมชาติของเอนไซม์และปริมาณของเอนไซม์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรตีเอส โดยทั่วไปเอนไซม์เอนโคเปปติเดสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์อัลคาเลส จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนสูง (Mohr, 1980) Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงได้อย่างมีประสิทธิภาพ สูงกว่าเอนไซม์นิวเทรส Vicira และคณะ (1995) พบว่าเอนไซม์เปปซินมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งมังกร ได้ดีกว่าเอนไซม์ปาเปน และ โปรตีเอสจากเชื้อรา Baek และ Cadwallader (1995) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งแม่-

น้ำ พบว่าเอนไซม์เอพีแอล-440 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่าเอนไซม์อัลคาเลส และ โปรไซม์ 6 Hoyle และ Merritt (1994) ใช้เอนไซม์อัลคาเลสและปาเปนในการย่อยสลายโปรตีนจากปลาแฮร์ริง พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีประสิทธิภาพสูงกว่าเอนไซม์ปาเปน

3. พีเอช พีเอชที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนมีความสัมพันธ์กับพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่เลือกใช้ เช่น เอนไซม์ปาเปนมีความสามารถในการทำงานได้ดีในช่วงพีเอชเป็นกลางและเอนไซม์อัลคาเลสสามารถทำงานได้ดีที่พีเอชเป็นด่าง และเอนไซม์เปปซินทำงานได้ดีที่พีเอชเป็นกรด Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงได้ดีที่สุดที่พีเอช 9.5 ส่วนเอนไซม์นิวเทรลมีพีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายเท่ากับ 7.0 Vieira และคณะ (1995) ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งมังกร พบว่าเอนไซม์ปาเปน และโปรตีเอสจากเชื้อราสามารถทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอช 7.5 และเอนไซม์เปปซินสามารถทำงานได้ดีที่พีเอช 2.0 Surowka และ Fik (1992) ศึกษาการนำโปรตีนจากหัวไก่มาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์นิวเทรล พบว่าเอนไซม์นิวเทรลสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดที่พีเอช 7.0 Shahidi และคณะ (1994) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดีที่สุดที่พีเอช 8.5 และเอนไซม์นิวเทรลทำงานได้ดีที่พีเอช 6.5 โดยใช้เนื้อแมวน้ำเป็นสับสเตรท

4. อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เลือกใช้ในการย่อยสลายโปรตีนมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่เลือกใช้ Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส คือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเอนไซม์นิวเทรลสามารถทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส Baek และ Cadwallader (1995) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากผลพลอยได้จากกระบวนการแปรรูปกุ้งแม่น้ำโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส และ เอพีแอล-



440 คือที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส Surowka และ Fik (1994) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวไก่โดยใช้เอนไซม์เปปซิน พบว่าเอนไซม์เปปซินสามารถทำงานได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส Shahidi และคณะ (1994) ศึกษาการใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนจากแมวน้ำ พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส Linder และคณะ (1996) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเนื้อคุดกระดูกแกะโดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

5. ระยะเวลาการย่อยสลาย อัตราการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีค่าสูงสุดระหว่างชั่วโมงแรกๆของการย่อยสลาย หลังจากนั้นอัตราการย่อยสลายจะคงที่หรือเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (Tarky *et al.*, 1997; Mackie, 1982) Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากปลาแปซิฟิกไวทิงโดยการใส่เอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรส พบว่าระดับการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรกของการย่อยสลาย Baek และ Cadwallader (1995) ศึกษาการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งแม่น้ำ พบว่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรกของการย่อยสลายเช่นกัน

## 7 องค์ประกอบและสมบัติบางประการของโปรตีนไฮโดรไลเซต \* ไบอนด์

องค์ประกอบและสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซตขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลายโปรตีน การควบคุมสภาวะการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนให้ได้เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเหมาะสมมีความสำคัญต่อสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซต (Adler-Nissen, 1986 ; Nielsen, 1997)

### 1. สมบัติทางเคมี

1.1 องค์ประกอบทางเคมีโดยเฉพาะปริมาณของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซต โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีคุณภาพดี ควรประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วนในปริมาณสูง และมีปริมาณไขมันต่ำ ปริมาณของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงกลิ่นรส และคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ (Hall and Ahmad, 1992) องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากวัตถุดิบต่างชนิดกัน พบว่ามีปริมาณของ โปรตีน ไขมัน และเถ้า แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3.

Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาแฮร์ริง โดยใช้วัตถุดิบที่ผ่านการสกัดไขมันออกโดยการใช้ความร้อนร่วมกับการบีบอัด และใช้เอทานอล พบว่าปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาแฮร์ริงสด เมื่อย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสมีค่าสูงกว่าปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดไขมันโดยการใช้ความร้อนร่วมกับการบีบอัด และการใช้เอทานอล โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสมีปริมาณเถ้าสูง เนื่องจากมีการเติมค่าเพื่อควบคุมพีเอชระหว่างการย่อยสลาย และปริมาณไขมันมีค่าน้อยที่สุดเมื่อใช้เอทานอลในการสกัดไขมันดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัตถุดิบชนิดต่างๆกัน

SOURCE	Compositions(%)					
	Protein	Fat	Ash	Moisture	Enzyme	Reference
Freezed-dried hydrolysate	82.25	3.94	13.82	2.77	alcalase	Benjakul and Morrissey(1997)
Pacific whiting solid waste	69.36	20.31	20.74	81.10	"	"
Pacific whiting muscle	92.05	2.53	6.50	84.62	"	"
Raw herring	87.9	4.0	12.5	4.7	"	"
Herring presscake	85.3	4.7	9.6	4.8	Papain	Hoyle and Merritte(1994)
	82.3	3.7	13.3	3.9	Alcalase	"
	83.4	3.6	9.9	3.2	Papain	"
Ethanol extraction herring	83.7	1.8	12.0	3.3	Alcalase	"
	85.7	0.9	7.5	3.9	Papain	"
White fish	89.00	2.80	6.95	-	"	Mackie (1982)
Offal	90.46	2.70	7.13	-	Alcalase	"
Bluewhiting	75.55	11.76	7.08	-	Papain	"
Sprate	64.49	34.00	5.51	-	"	"
Cod fillet	84.40	2.00	6.20	-	"	"
Cod fillet waste	81.80	4.20	6.90	-	"	"

## 1.2 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน อีกชื่อ: กรดอะมิโน

ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสทมีผลจากวัตถุดิบเริ่มต้น กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสที่ดีสามารถพบได้จากโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากวัสดุเศษเหลือ เช่น <sup>บทบรรณานุกรมหน้า 42 หน้า 150</sup>อลานีน <sup>กรดอะมิโน</sup> กรดกลูตามิก ไกลซีน เป็นต้น Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทของวัสดุเศษเหลือที่ได้จากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงประกอบด้วย กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก ปริมาณสูงซึ่งจัดเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสที่ดี เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสกับปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อปลาสด พบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในโปรตีนไฮโดรไลเสทมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในเนื้อปลาสด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 กรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูป  
ปลาแปซิฟิกไวทิง วัสดุเศษเหลือและเนื้อปลาแปซิฟิกไวทิง

Amino acid (%)	Freezed-Dried	Pacific Whiting	Pacific Whiting
	Hydrolysate	Solid Waste	Muscle
Alanine	6.53	6.45	5.51
Arginine	7.29	7.71	7.28
Aspartic acid	10.10	9.72	10.50
Cysteine	0.92	0.82	1.13
Glutamic acid	13.80	18.50	15.00
Glycine	7.88	8.09	3.87
Histidine	2.10	2.19	2.35
Isoleucine	4.30	4.28	4.97
Leucine	7.16	7.08	8.05
Lysine	8.33	8.19	10.20
Methionine	3.02	2.96	3.20
Phenylalanine	3.80	3.87	4.06
Proline	6.00	6.25	4.04
Serine	5.33	5.35	4.80
Threonine	5.12	4.86	4.86
Tryptophane	0.14	0.65	0.95
Tyrosine	3.50	3.38	4.18
Valine	4.72	4.61	4.94

ที่มา : Benjakul และ Morrissey (1997)

## 2. สมบัติทางกายภาพ

Windsor และ Barlow (1982) กล่าวว่าสมบัติทางกายภาพของ ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่สำคัญคือ สี การยอมรับสีของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทขึ้นอยู่กับ การนำผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทไปใช้ประโยชน์ Hoyle และ Merritt (1994) รายงานว่าการใช้เอทานอลในการสกัดไขมันออกจากปลาแฮร์ริงก่อนการย่อยสลายด้วย เอนไซม์จะให้ไฮโดรเสทที่มีสีเป็นที่ยอมรับสูงกว่า และโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จาก ปลาแฮร์ริง ซึ่งย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปลาเป็ดมีความสว่างมากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสท ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (ตารางที่ 5) และพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ ผ่านการสกัดไขมันออกโดยการใช้ความร้อนร่วมกับการบีบอัดและใช้เอนไซม์อัลคาเลส ย่อยสลายมีความสว่างน้อยที่สุด แต่ให้ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองสูงสุด เมื่อเก็บรักษาเป็น ระยะเวลา 3 เดือน พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทมีสีคล้ำขึ้น การกำจัดไขมันในวัตถุดิบโดย ใช้ไอน้ำร่วมกับการบีบอัดสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลชนิดไม่มีเอนไซม์เกี่ยว ข้องได้สูงสุด ดังนั้นการใช้อุณหภูมิสูงในการเตรียมวัตถุดิบและการใช้อุณหภูมิสูงใน กระบวนการผลิตมีผลให้ไฮโดรไลเสทมีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 5 ค่าสีของโปรตีนปลาไฮโดรไลสจากปลาแฮร์ริงที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์  
อัลคาเลส และปาเปนซึ่งเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ  
20 องศา เซลเซียส

Sample	0 month			3 month		
	L	a	b	L	a	b
Alcalase						
Raw herring	91.2 <sup>a</sup>	-0.8 <sup>c</sup>	12.5 <sup>a</sup>	89.8 <sup>b</sup>	-0.1 <sup>d</sup>	15.8 <sup>f</sup>
Herring presscake	86.4 <sup>a</sup>	+0.1 <sup>b</sup>	15.6 <sup>c</sup>	87.5 <sup>a</sup>	+0.3 <sup>b</sup>	17.2 <sup>d</sup>
Ethanol extracted herring	93.5 <sup>a</sup>	-0.4 <sup>c</sup>	0.8 <sup>a</sup>	94.2 <sup>b</sup>	-0.9 <sup>d</sup>	7.7 <sup>a</sup>
Papain						
Raw herring	93.0 <sup>a</sup>	-0.5 <sup>c</sup>	11.7 <sup>a</sup>	89.6 <sup>b</sup>	+0.1 <sup>d</sup>	15.5 <sup>f</sup>
Herring presscake	90.3 <sup>a</sup>	-0.4 <sup>c</sup>	13.8 <sup>a</sup>	88.4 <sup>b</sup>	+0.7 <sup>d</sup>	18.0 <sup>f</sup>
Ethanol extracted herring	92.2 <sup>a</sup>	-0.6 <sup>c</sup>	8.1 <sup>a</sup>	93.2 <sup>b</sup>	-1.0 <sup>d</sup>	7.1 <sup>f</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b, c, d, e และ f ที่เหมือนกันในสคมส์เดียวกันของเอนไซม์  
แต่ละชนิดกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ที่มา : Hoyle and Merritt (1994)

### 3. สมบัติทางประสาทสัมผัส

สมบัติทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่สำคัญคือ ความขม และกลิ่นคาว ซึ่งจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค จากการศึกษาของ Hoyle และ Merritt (1994) พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปนย่อยสลายโปรตีนปลาแฮร์ริง ให้ผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทที่มีความขมมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ใช้เอนไซม์อัลคาเลส ไฮโดรไลเสทที่เตรียมจากเนื้อปลาซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกโดยใช้เอทานอลมีความขมน้อยที่สุด ซึ่งความขมที่เกิดขึ้นในโปรตีนไฮโดรไลเสทเกิดจากหมู่ไม่ชอบน้ำของกรดอะมิโน โดยเฉพาะไอโซลูซีน ลูซีน ฟีนิลอลานีน ทริปโตเฟน และวาซีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของสายโซ่เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Hevia and Oledtt, 1977; Mackie, 1982) ความขมของสายโซ่เปปไทด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสทมีความสำคัญต่อการเกิดรสขมและความขมจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีจำนวนหมู่ไม่ชอบน้ำมากกว่า 3 หมู่ในสายโซ่เปปไทด์ สายเปปไทด์ที่เป็นสาเหตุของความขม สามารถพบในโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์หลายชนิด (Hevia and Oledtt, 1977) ความขมของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทจึงเป็นข้อจำกัดในการนำผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไปใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร

กลิ่นคาวปลาของโปรตีนไฮโดรไลเสทมีอิทธิพลมาจากไขมัน (Medwadowski *et al.*, 1971) และสารประกอบโมเลกุลต่ำ เช่น ไตรเมทิลามีน และ 2-บิวทานอล (Lalasis *et al.*, 1978) Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษากลิ่นคาวปลาของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาแฮร์ริงสด ปลาแฮร์ริงที่สกัดไขมันออกด้วยไอน้ำและการบีบอัดและปลาแฮร์ริงที่สกัดไขมันออกด้วยเอทานอลแล้วย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส และปาเปน พบว่าการสกัดไขมันก่อนการผลิตสามารถลดกลิ่นคาวปลาได้ การใช้เอทานอลสกัดไขมันออกให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นคาวปลาน้อยที่สุดและการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นคาวปลาน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปน



## 8 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต X

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตสัมพันธ์กับธรรมชาติของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในสายโซ่เปปไทด์ทั้งหมดหรือกรดอะมิโนอิสระที่เกิดจากการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ ขนาดความยาวของสายโซ่เปปไทด์ในโปรตีนไฮโดรไลเซตมีความสำคัญต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Hall and Ahmad, 1992) ดังนั้นการกำหนดขนาดของสายโซ่เปปไทด์ จึงมีความสัมพันธ์กับสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต ได้แก่ สมบัติการละลาย สมบัติการเป็นอิมัลชัน และสมบัติการเกิดฟอง (Nielsen, 1997) การใช้ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตสามารถกระทำได้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากความหลากหลายของสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต

### 1. สมบัติการละลาย

สมบัติการละลายเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่มีความสัมพันธ์กับสมบัติอื่นๆ เช่น การเกิดฟอง การเป็นอิมัลชันและการเกิดเจล สมบัติการละลายเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญของโปรตีนไฮโดรไลเซต (Hall and Ahmad, 1992) สมบัติการละลายจะบ่งบอกถึงอัตราการย่อยสลายของโปรตีน รวมทั้งมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆของโปรตีนไฮโดรไลเซต (Nielsen, 1997) Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษาความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาแฮร์ริง โดยการใช้เอนไซม์อัลคาเลสและปาเปนในการย่อยสลาย พบว่าการใช้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดในการย่อยสลายสามารถเพิ่มคุณสมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซต โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากวัตดูคิบที่ผ่านการสกัดไขมันออกโดยใช้เอทานอลมีสมบัติการละลายสูงกว่าไฮโดรไลเซตที่ได้จากวัตดูคิบที่ไม่ผ่านการกำจัดไขมัน Quaglia และ Orban (1987a) ศึกษาอัตราการย่อยสลายที่มีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซาร์ดีน โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส พบว่าไฮโดรไลเซตมีความสามารถในการละลายได้สูงกว่าร้อยละ 90 ในช่วง พีเอช 5 - 9 และพบว่าในช่วงพีเอช 2-4 เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นและอัตราการย่อยสลายเพิ่มขึ้นความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ระดับการย่อยสลายที่แตกต่างกัน (ร้อยละ 5, 10, 15 และ 20) มีผลต่อการ

ละลายที่แตกต่างกันโดยระดับการย่อยสลายสูงมีผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติการละลายสูงขึ้น

## 2. สมบัติการเป็นอิมัลชัน

สมบัติการเป็นอิมัลชันของโปรตีนมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับสมบัติการละลาย (Hall and Ahmad, 1992) Quaglia และ Orban (1987b) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากปลาซาร์ดีนด้วยเอนไซม์อัลคาเลสเข้มข้นร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักปลา ได้โปรตีนไฮโดรไลสที่มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่ดี สามารถใช้แทนโซเดียมเคซิเนทในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆได้ สุปราณี แยมพราย (2539) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากวัสดุเศษเหลือจากโรงงานผลิตซูริมีด้วยเอนไซม์อัลคาเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.075 (โดยน้ำหนัก) ย่อยสลายนาน 150 นาที พบว่าสามารถใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆได้ Spinelli และคณะ (1972) ศึกษาสมบัติการเป็นอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลสจากปลา rockfish ซึ่งเตรียมโดยการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ไรโซไซม์พี-11 เป็นเวลา 15 30 60 และ 90 นาที พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสที่ย่อยสลายเป็นระยะเวลา 60 นาทีให้ค่าความจุของอิมัลชัน (emulsion capacity) สูงสุด และโปรตีนไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยสลายเป็นเวลา 30 นาที ให้ความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) สูงสุด ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสมบัติการเป็นอิมัลชันดีกว่าโซเดียมเคซิเนท

## 3. สมบัติการเกิดฟอง

Nielsen (1997) ศึกษาสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนไฮโดรไลสจากถั่วเหลือง พบว่า ระดับการย่อยสลาย พีเอช และ ชนิดของเอนไซม์ มีผลต่อสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนไฮโดรไลส โดยที่ระดับการย่อยสลวยร้อยละ 3.5 โปรตีนไฮโดรไลสที่มีค่าความจุของฟอง (foaming capacity) สูงสุด และเมื่อระดับการย่อยสลวยเพิ่มขึ้น ค่าความคงตัวของฟอง (foaming stability) ลดลง แต่ค่าความจุของฟองจะเพิ่มขึ้น และที่ช่วงพีเอช 4-5 มีค่าการขยายตัวของฟอง (foaming expansion) สูงสุด การใช้เอนไซม์

## อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนให้ค่าการขยายตัวของฟอง 12 เท่าของตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย

### 9 การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเสท ✓

การย่อยสลายโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์สามารถปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ต่างๆ ให้ดีขึ้น เช่น การละลาย การเกิดฟองและการเป็นอิมัลชัน ดังนั้นจึงสามารถใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเสทได้อย่างกว้างขวาง

#### 1. อาหารสัตว์

Mackie (1982) ผลิตโปรตีนไฮโดรเสทจากปลาสด โดยใช้เอนไซม์ปาเปน ในการย่อยสลายเป็นเวลา 30 นาที ได้โปรตีนร้อยละ 30-50 ผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย เปปไทด์สายสั้นลงและมีความสามารถในการละลายดีขึ้น ดังนั้นจึงเหมาะสมต่อการใช้เป็นอาหารสัตว์ โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีโปรตีนร้อยละ 84.8 เถ้าร้อยละ 6.2 ไขมันร้อยละ 2 สามารถใช้ทดแทนเคซีนได้แต่ไม่ควรเกินร้อยละ 60 เพราะอาจทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารของสัตว์มีค่าลดลง ส่วน Dodsworth และ Owen (1977) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทเข้มข้นทดแทนหางนมผงร้อยละ 67 ในการเลี้ยงลูกวัว พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกวัว สามารถลดต้นทุนการผลิต เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลา มีราคาถูกกว่าหางนมผง Green และ Mattick (1979) ใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทด้วยเอนไซม์ปาเปน กรดอะมิโนที่ได้มีกลิ่นรสคล้ายเคซีน สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารไก่และอาหารสุกรได้

#### 2. อาหารมนุษย์

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทมีจุดประสงค์เพื่อช่วยปรับปรุงคุณสมบัติต่างๆ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส สามารถแบ่งรูปแบบการใช้ประโยชน์ได้ 3 รูปแบบ คือ (Adler-Nissen, 1986)

## 2.1 ส่วนประกอบเพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ (Functional ingredients)

การย่อยสลายของโปรตีนสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติของโปรตีน เช่น การละลาย การเกิดอิมัลชัน การเกิดฟอง มีการนำโปรตีนไฮโดรไลเสทผสมกับแป้งดัดแปลงปริมาณร้อยละ 10 เพื่อผลิต milk analog พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการใช้ประโยชน์ของโปรตีนจากร้อยละ 0.66 เป็นร้อยละ 2.5 นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลามีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ผลิตภัณฑ์ที่มีการจับตัวกันเป็นเนื้อเดียวได้ดี (Mohr, 1978) Yu และ Tan (1994) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลา *Oreohiomis mossembicus* เป็นส่วนผสมในการผลิตข้าวเกรียบ โดยใช้ปริมาณร้อยละ 10 พบว่ามีอัตราการพองตัวของข้าวเกรียบสูงสุด

## 2.2 ส่วนประกอบเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ (Nutritional ingredients)

สุปราณี แยมพราย (2539) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาผสมในไส้กรอกแพรงเฟอร์เตอร์หมูเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดยให้โปรตีนสูงถึงร้อยละ 38.39 และ Christopher (1994) ศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มซึ่งพบว่าร่างกายจะดูดซึมโปรตีนและนำไปใช้ประโยชน์ได้เร็วกว่าโปรตีนทั่วไป และยังมีการใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพให้กับผู้ป่วย ผู้บาดเจ็บ ผู้ผ่านการผ่าตัด ผู้ที่มีปัญหาในด้านการย่อยอาหารที่เกิดจากตับอักเสบและใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับนักกีฬา และมีการปรับปรุงโปรตีนไฮโดรไลเสทเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้อาหารประเภทโปรตีน

2.3 สารปรุงแต่งกลิ่นรส โปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือที่ได้จากการแปรรูปสัตว์น้ำ จำพวก ปลา กุ้ง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสปริมาณสูง ดังนั้นจึงมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เช่น ในผลิตภัณฑ์จากซูริมิ ผลิตภัณฑ์อาหารเข้าจากธัญพืช และการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์ เช่น ปลา และกุ้ง (Pan, 1990)

## 3. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

Gildberg (1993) ผลิตเปปไทด์จากโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลา เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาเรดเฮก ด้วยเอนไซม์ในเนื้อปลา

และอาหารเลี้ยงเชื้อจากบีฟอกแทรก พบว่า <sup>ขพบข</sup>จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยง  
 เชื้อที่ได้จากโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาได้ดีเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อจากบีฟอกแทรก  
 และจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการย่อยสลายตัวของ  
เนื้อปลาเรดเฮก

#### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการสกัดไขมันจากหัวกุ้ง
2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี สมบัติบางประการ และความคงตัวของ  
 น้ำมันกุ้งดิบ
3. ศึกษากรรมวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัว  
 กุ้งโดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
4. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสทจาก  
 หัวกุ้ง

## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

#### วัสดุ

1. หัวกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) จากบริษัทห้องเย็น โชติวัฒน์ขนาดใหญ่ จำกัด
2. เอนไซม์ อัลคาเลส 2.4L และนิวเทรล 0.5L (Novo industry, Denmark)
  - 2.6 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ 0.6 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ
  - ปาเปิน (Sigma Chemical, USA. ) 1.7 ยูนิต/มิลลิกรัมของแข็ง
- 3.เคมีภัณฑ์
  - เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ห่อหุ้มประกอบเคมี
  - เคมีภัณฑ์สำหรับตรวจสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสท
  - เคมีภัณฑ์สำหรับสกัดไขมันและตรวจสอบคุณภาพของน้ำมัน

#### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ เครื่องบดเนื้อไฟฟ้าประกอบด้วยรูตะแกรง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1/8 นิ้ว
2. ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ห่อหุ้มประกอบทางเคมี
3. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสท ได้แก่
  - เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ยี่ห้อ DENVER INSTRUMENT รุ่น 15 ประเทศสหรัฐอเมริกา
  - เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ HITACHI รุ่น SCR 20B ประเทศสหรัฐอเมริกา
  - เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ GFL รุ่น 3525- ICC ประเทศเยอรมัน

- เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ SARTORIUS รุ่น BP 2100S ประเทศเยอรมัน และ 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น AB204 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
  - อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ MEMMERT รุ่น W350 ประเทศเยอรมัน
4. เครื่องวัดสี ยี่ห้อ JUKI รุ่น JP7100F ประเทศไต้หวัน
  5. เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ ยี่ห้อ EYELA รุ่น N-N ประเทศญี่ปุ่น
  6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-1601 ประเทศญี่ปุ่น

## วิธีการ

### ตอนที่ 1 การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

1.1 การเตรียมหัวกุ้งบด ล้างทำความสะอาดหัวกุ้ง ทำให้สะเด็ดน้ำ บรรจุถุง โพลีเอทิลีน ถุงละ 1 กิโลกรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้ในการทดลอง

#### 1.2 การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี

นำหัวกุ้งมาบดจนละเอียดโดยใช้เครื่องบดเนื้อ ทำการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของหัวกุ้ง ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า โดยวิธีตาม AOAC. (1990)

### ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

#### 2.1 การเตรียมตัวอย่างหัวกุ้งกุลาดำ

นำหัวกุ้งแช่แข็ง (ตอนที่ 1) มาทำละลายโดยใช้น้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดเนื้อ

#### 2.2 ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิที่มีผลในการสกัดไขมันดังนี้

- ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ (ไอโซโพรพานอล และ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 90)

- อุณหภูมิ (40 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส)

ผสมหัวกุ้งบดละเอียดกับตัวทำละลายอินทรีย์ในอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที แล้วแยกตัวทำละลายอินทรีย์ออกโดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ล้างของแข็งที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 5 เท่าโดยน้ำหนักของของแข็ง แยกน้ำออกโดยการหมุนเหวี่ยงเช่นเดิมอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะสุญญากาศ (ภาพที่ 5) วิเคราะห์ปริมาณไขมันและปริมาณความชื้นโดยวิธีตาม AOAC (1990)



วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (2x4) แบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

คัดเลือกตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการกำจัดไขมันจากหัวกุ้งกุลาค่า โดยพิจารณาจากชุดการทดลองที่มีปริมาณไขมันต่ำสุด

### 2.3 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดไขมัน

เติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อ 2.2 ในตัวอย่างกึ่งบดละเอียด โดยใช้อัตราส่วนหัวกุ้งบดละเอียดต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) สกัดไขมันที่ระยะเวลาต่างๆ (30 60 90 และ 120 นาที) กำจัดตัวทำละลายอินทรีย์เช่นเดียวกับข้อ 2.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันและความชื้นเช่นเดียวกับข้อ 2.2 และวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA และความแตกต่างโดยใช้ DMRT

คัดเลือกชุดทดลองที่ใช้ระยะเวลาที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากชุดทดลองที่มีปริมาณไขมันต่ำสุด

### 2.4 ศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม

เติมตัวทำละลายที่คัดเลือกได้ อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัดที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 2.2 และ 2.3 โดยใช้อัตราส่วนหัวกุ้งต่อตัวทำละลายอินทรีย์ต่างกันคือ 1:1 1:2 และ 1:3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) กำจัดตัวทำละลายอินทรีย์เช่นเดียวกับข้อ 2.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน และความชื้นโดยวิธี AOAC (1990) และวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA และความแตกต่างโดยใช้ DMRT (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

คัดเลือกอัตราส่วนของหัวกุ้งต่อตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากชุดการทดลองที่มีปริมาณไขมันต่ำสุด

### ตอนที่ 3 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลสัทโดยใช้เอนไซม์

3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาค่าโดยใช้เอนไซม์

#### 3.1.1 พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

นำตัวอย่างกุ้งบดที่ผ่านการสกัดไขมัน (ตอนที่ 2) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ดังนี้คือ 0.2 M MacIlvaine buffer (พีเอช 4.5-8.0) และ 0.2 M Borate buffer (พีเอช 8.5-11.5) อัตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน ปรับให้ได้พีเอช 6 6.5 7 7.5 8 8.5 9 9.5 10 และ 11 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 นอร์มอล หรือ สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มอล เติมเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้น 10 ยูนิต/กก. และนำไปย่อยสลายที่อุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียสสำหรับอัลคาเลส อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสสำหรับนิวเทรส และอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) สำหรับปาเปน เป็นระยะเวลา 10 นาที หลังจากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิด โดยวิธีตาม Benjakul และ Morrissey (1997)

คัดเลือกพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด โดยพิจารณาจากชุดการทดลองที่มีปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดสูงสุด

#### 3.1.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

นำตัวอย่างหัวกุ้งบดมาเติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่คัดเลือกได้ (ข้อ 3.1.1) ด้วยอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมให้เข้ากันและปรับพีเอชให้เท่ากับพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด (ข้อ 3.1.1) เติมเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้น เช่นเดียวกับข้อ 3.1.1 นำไปย่อยสลายที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกันคือ 40 45 50 55 60 65 70 และ 80 องศาเซลเซียส สำหรับเอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรสและที่ระดับอุณหภูมิ 25 30 35 40 45 50 55 60 และ 65 องศาเซลเซียส สำหรับเอนไซม์ปาเปน หลังจากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดโดยวิธีตาม Benjakul และ Morrissey (1997)

คัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด โดยพิจารณาจากชุดการทดลองที่มีปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดสูงสุด

### 3.1.3 ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่เหมาะสม

นำตัวอย่างหัวกุ้งบดมาเติมสารละลายบัฟเฟอร์โดยใช้ 0.2 M MacIlvain buffer หรือ 0.2 M Borate buffer ในอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน และปรับค่าพีเอชและอุณหภูมิให้เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายของเอนไซม์แต่ละชนิด (ข้อ 3.1.1 และ ข้อ 3.1.2) ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในหัวกุ้งดังนี้ คือ

- ปริมาณเอนไซม์ (10 30 50 และ 70 ยูนิต/กก.)
- ระยะเวลา (10 20 40 60 90 และ 120 นาที)

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (4x6) แบบ CRD ตรวจสอบปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิด และ ตรวจสอบระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis ; DH) ตามวิธีตาม Benjakul และ Morrissey (1997) หาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา และ ระดับการย่อยสลายที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ต่างกัน และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง  $\log_{10}$ (ความเข้มข้นเอนไซม์) กับระดับการย่อยสลาย

### ตอนที่ 4 ผลของระดับการย่อยสลายต่อปริมาณผลผลิตและสมบัติบางประการของโปรตีนไฮโดรไลเสท

เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสทด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ให้มีระดับการย่อยสลายแตกต่างกัน (ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65) ทำแห้งไฮโดรไลเสทโดย Freeze-drying และตรวจสอบปริมาณผลผลิต องค์ประกอบและสมบัติบางประการดังนี้ คือ

4.1 ปริมาณผลผลิต โดยวิธีตาม Rebeca และคณะ (1991)

4.2 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธีตาม AOAC (1990) และองค์ประกอบของกรดอะมิโนโดยใช้ แก๊สโครมาโทกราฟี

4.3 nitrogen recovery โดยวิธีตาม Benjakul และ Morrissey (1997)

4.4 ค่าสีในระบบ Hunter (L, a, b)

4.5 สมบัติเชิงหน้าที่

- สมบัติการละลาย โดยวัดค่า nitrogen soluble index (NSI) ที่พีเอชต่างๆ ด้วยวิธีตาม Adler-Nissen (1986)

- สมบัติการเกิดอิมัลชัน โดยวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion activity index ; EAI) ด้วยวิธีตาม Vaghela และ Kilara (1996) และความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion stability) ด้วยวิธีตาม Chobert และคณะ (1988) ศึกษาผลของความเข้มข้นของไฮโดรไลส (ร้อยละ 0.5 1 3 และ 5) ต่อสมบัติการเกิดอิมัลชัน

- สมบัติการเกิดฟอง โดยวัดค่าความจุของฟอง (Foaming capacity) และความคงตัวของฟอง (Foaming stability) ด้วยวิธีตาม Shahidi และคณะ (1995) ศึกษาผลของความเข้มข้นของไฮโดรไลส (ร้อยละ 0.5 1 3 และ 5) ต่อสมบัติการเกิดฟอง

#### ตอนที่ 5 ศึกษาความคงตัวของโปรตีนไฮโดรไลส

เก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลสที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส ในถุงโพลีเอทิลีนความหนา 0.2 มิลลิเมตร ที่ปิดผนึกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ

1. การเกิดสีน้ำตาลชนิดไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง (non-enzymatic browning) โดยวิธีตาม Hoyle และ Merritt (1994)
2. ปริมาณทีบีเออาร์เอส โดยวิธีตาม Guntensperger และคณะ (1998)
3. ปริมาณความชื้นวิเคราะห์โดยวิธีตาม AOAC (1990)
4. สีในระบบ Hunter (L, a, b)

#### ตอนที่ 6 ศึกษาองค์ประกอบ สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและ

ความคงตัวของน้ำมันกึ่งดิบ

##### 6.1 การเตรียมน้ำมันกึ่งดิบ

นำสารละลายผสมระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ (ไอโซโพรพานอล) กับไขมันจากการสกัดไขมันจากหัวกุ้ง (ตอนที่ 2) มากรองและระเหยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้

เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศจนหมดกลิ่นของตัวทำละลายอินทรีย์ นำส่วนน้ำมันดิบที่ได้มาตรวจสอบองค์ประกอบ สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและความคงตัว

#### 6.2 วิเคราะห์องค์ประกอบ สมบัติทางเคมี และสมบัติทางกายภาพ

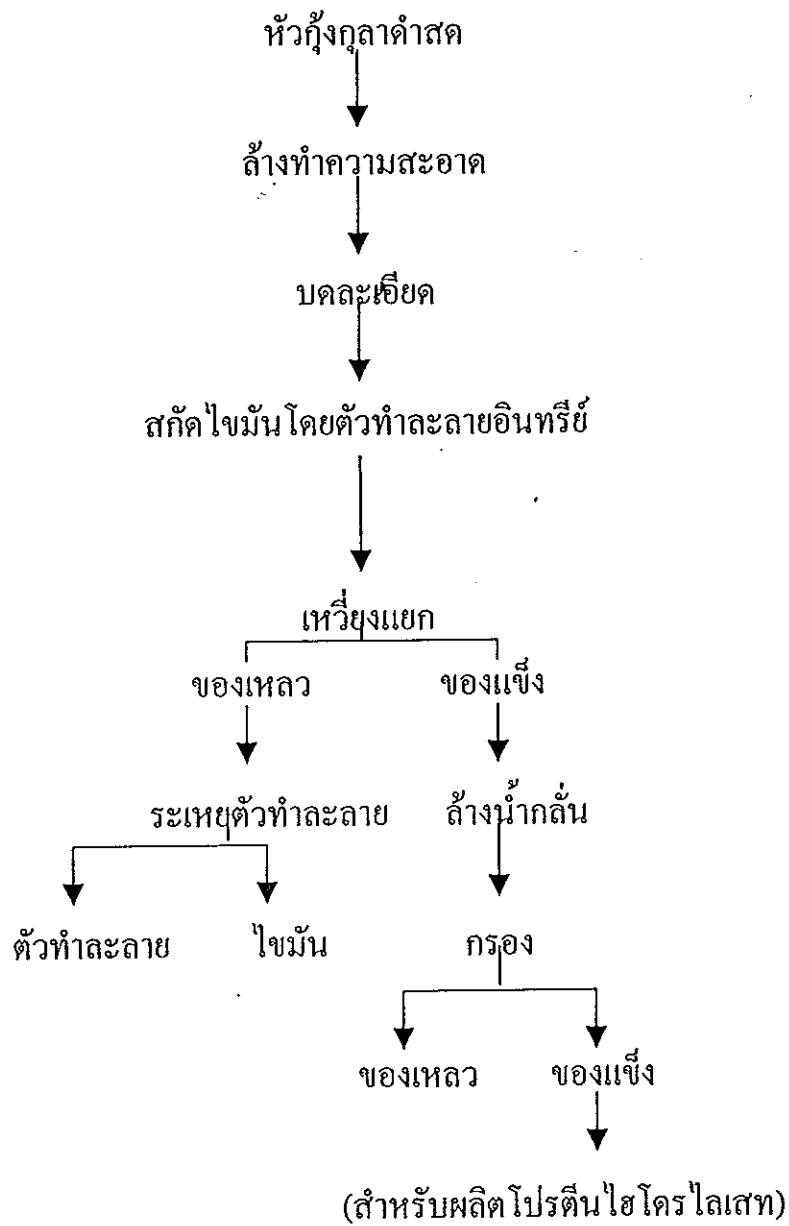
- ค่าไอโอดีนแบบวีน ( IUPAC, 1979 )
- ค่าสปอนนิฟิเคชัน ( IUPAC, 1979 )
- ค่ากรดไขมันอิสระ ( IUPAC, 1979 )
- ค่าเปอร์ออกไซด์ ( IUPAC, 1979 )
- ค่าความชื้น ( IUPAC, 1979 )
- ค่าสี ( AOCS, 1986 )
- ดัชนีหักเหของแสง ( AOAC, 1990 )
- จุดหลอมเหลว ( AOAC, 1990 )
- ฟอสโฟไลปิดและไตรกลีเซอไรด์ (Low and Ng, 1987)
- องค์ประกอบของกรดไขมันในรูป Fatty acid methyl ester ( FAME) โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี

โครมาโตกราฟี

- ปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยวิธีตาม Chen และ Meyers (1982)

#### 6.3 ความคงตัวของน้ำมันกึ่งดิบ

ศึกษาความคงตัวของน้ำมันกึ่งดิบที่สกัดได้ด้วยไฮโซโพรพานอลในสถานะที่เดิม สารกันหืนชนิดต่างๆ (ทีบีเอชคิว บีเอชที อีทอกซีควิน) ในระดับ 200 พีพีเอ็ม เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมสารกันหืน) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมัน โดยวิธี accelerated oxidation test โดยวิธีตาม Kaitaranta (1992) ตรวจสอบน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นทุก 1 ชั่วโมง และตรวจสอบประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืน ค่าเปอร์ออกไซด์ทีบีเออาร์เอส ค่ากรดไขมันอิสระ และปริมาณคอนจูเกตไดอิน (IUPAC, 1979) ทุก 5 ชั่วโมง เป็นเวลา 50 ชั่วโมง



ภาพที่ 5. กระบวนการสกัดไขมันในหัวกุ้งกุลาดำ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Bimbo (1990)

### บทที่ 3

#### ผลและวิจารณ์

##### ตอนที่ 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวกุ้งกุลาดำ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6. หัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และ เถ้า ร้อยละ 12.84 6.32 และ 7.24 ตามลำดับ ส่วนเนื้อกุ้งกุลาดำประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 21.20 0.50 และ 0.27 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Bhuwaphathan (1996) ซึ่งพบว่า หัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วย โปรตีนร้อยละ 13.90 ไขมันร้อยละ 4.60 ปริมาณโปรตีนในเนื้อกุ้งสูงกว่าในส่วนหัว ในขณะที่มีปริมาณไขมันและเถ้าต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจาก ส่วนหัวกุ้งประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นโครงร่างแข็ง โดยมีองค์ประกอบของ แคลเซียมคาร์บอเนตปริมาณสูง (ร้อยละ 35.7 ของน้ำหนักกุ้ง) ส่วนหัวและเปลือก ประกอบด้วยไคตินร้อยละ 11 และ 27 ตามลำดับ (Subasinghe, 1999) สำหรับปริมาณ ไขมันในส่วนหัวมีปริมาณสูงกว่าในเนื้อ เนื่องจากส่วนหัวกุ้งประกอบด้วยอวัยวะที่กักเก็บไขมัน (ประจวบ หล้าอุบล, 2527)

Pan (1990) รายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อและหัวกุ้งกุลาดำ พบว่าเนื้อกุ้งประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และ เถ้า ร้อยละ 21.20 0.3 และ 2.2 ตามลำดับ สำหรับหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และเถ้า 13.1 3.4 และ 7.9 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบที่นำมาใช้ในงานวิจัย พบว่ามีองค์ประกอบของ โปรตีนใกล้เคียงกัน แต่ไขมันจะมีปริมาณสูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากความแตกต่างของ อายุ เพศ ระยะสืบพันธุ์ ขนาด ฤดูกาล และแหล่งที่อยู่อาศัยของกุ้ง เป็นต้น (Wheaton and Lawson, 1985) Teerasuntonwat และ Raksakulthai (1995) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหัวกุ้งกุลาดำ พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน และ เถ้า ร้อยละ 13.6 3.1 และ 5.0 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของหัวกุ้งกุลาดำและเนื้อ

ตัวอย่าง	องค์ประกอบ (ร้อยละน.เปียก)			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
หัวกุ้ง	71.03±0.13*	12.84±0.34	6.32±0.57	7.24±0.32
เนื้อกุ้ง	73.20±1.21	21.20±1.91	0.50±0.20	0.27±0.13

\* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

ตอนที่ 2 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

2.1 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิต่อการสกัดไขมัน

จากการศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิต่อการสกัดไขมันจากหัวกุ้งกุลาดำบด (ตารางที่ 7) พบว่า การใช้ไอโซโพรพานอลสามารถสกัดไขมันจากหัวกุ้งกุลาดำบดได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 90 ( $p < 0.05$ ) ความสามารถในการสกัดไขมันเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) ไอโซโพรพานอลสามารถสกัดไขมันได้ดีกว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 90 เนื่องจากสภาพความมีขี้ของไอโซโพรพานอลมีความเหมาะสมกว่ากล่าวคือ ไอโซโพรพานอลจัดเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่สามารถสกัดน้ำมันได้ทั้งน้ำมันที่อยู่ในรูปอิสระและน้ำมันชนิดผูกพัน (bound lipid) (ลักษณะ และ นิธิยา, 2533) การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดที่ไม่มีขี้ เช่น ปีโตรเลียมอีเทอร์ และ ไดเอทิลอีเทอร์สามารถสกัดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระ (free lipid) เป็นส่วนใหญ่ แต่ถ้าสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ทั้งมีขี้และไม่มีขี้ เช่น แอลกอฮอล์ น้ำมันที่สกัดได้ประกอบด้วยน้ำมันที่อยู่ในรูปอิสระ และ น้ำมันชนิดผูกพันเนื่องจากเอทานอลมีสภาพเป็นขี้สูงกว่าไอโซโพรพานอล แต่น้ำมันจากหัวกุ้งประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 53.90 และฟอสโฟไลปิดร้อยละ 46.09 (ตารางที่ 23)



ดังนั้นไอโซโพรพานอลซึ่งมีสภาพความเป็นขี้ต้ำกว่าเอทานอลจึงสามารถสกัดไขมันทั้งหมดได้สูงกว่า และเมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสกัดไขมันโดยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด พบว่าการใช้อุณหภูมิสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณไขมันที่เหลือในหัวกึ่งบดลดลง ( $p < 0.05$ ) และที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ไขมันที่เหลือในหัวกึ่งบดมีปริมาณไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) ดังนั้นจึงคัดเลือกใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์และใช้อุณหภูมิในการสกัดไขมัน ที่ 50 องศาเซลเซียส ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 7 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิต่อการสกัดไขมันในหัวกึ่งกลาดำ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณไขมันที่เหลือในหัวกึ่งบด(ร้อยละ นน.แห้ง)	
	เอทานอลเข้มข้นร้อยละ90	ไอโซโพรพานอล
40	$6.25 \pm 0.05^a$	$1.07 \pm 0.05^a$
50	$6.20 \pm 0.05^b$	$1.05 \pm 0.04^{ab}$
60	$6.09 \pm 0.12^c$	$0.94 \pm 0.01^{ab}$
70	$4.73 \pm 0.10^d$	$0.92 \pm 0.02^b$

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d ที่เหมือนกันในสทมส์เดียวกันของตัวทำละลายแต่ละชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

\* ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

## 2.2 ผลของระยะเวลา และ อัตราส่วนของวัตุดิบต่อตัวทำละลายอินทรีย์

การศึกษาผลของอัตราส่วนของวัตุดิบต่อไอโซโพรพานอลและระยะเวลาในการสกัดไขมันต่อปริมาณไขมันที่เหลือในหัวกึ่งบด (ตารางที่ 8) โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อระยะเวลาในการสกัดไขมันเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณไขมันที่เหลือในหัวกึ่งบดลดลง ( $p < 0.05$ ) โดยเฉพาะเมื่อใช้อัตราส่วนวัตุดิบต่อไอโซโพรพานอล 1:1 และ 1:2 แต่ระยะเวลาไม่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดไขมัน ( $p > 0.05$ ) เมื่อใช้อัตราส่วน 1:3 ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้อัตราส่วนที่สูงขึ้นมีผลให้ตัวทำละลายอินทรีย์สามารถสัมผัสกับตัวอย่างได้อย่างทั่วถึง และมีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันมากขึ้น ดังนั้นเวลาที่เพิ่มขึ้นจึงไม่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดไขมันดังกล่าว เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของวัตุดิบต่อไอโซโพรพานอลที่เหมาะสมพบว่าที่ระยะเวลาการสกัดเดียวกัน ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของวัตุดิบต่อไอโซโพรพานอลเพิ่มขึ้น โดยที่อัตราส่วน 1:3 (นน./ปริมาตร) ให้ผลการสกัดไขมันได้ดีที่สุด Quaglia และ Orban (1987a) ใช้ไอโซโพรพานอลในการสกัดไขมันจากปลาซาร์ดีนและใช้สภาวะในการสกัดใกล้เคียงกัน โดยใช้อัตราส่วน 1:1 อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ทำการสกัด 3 ครั้ง ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราส่วนระหว่างวัตุดิบต่อไอโซโพรพานอล 1:3 (นน./ปริมาตร) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 8 ผลของระยะเวลา และ อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการสกัดไขมันในหัวกุ้งกุลาคำ

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณไขมันที่เหลือในหัวกุ้งบด(ร้อยละ)		
	อัตราส่วน(นน./ปริมาตร)		
	1:1	1:2	1:3
30	1.06±0.02 <sup>aa*</sup>	1.03±0.02 <sup>aa</sup>	0.19±0.01 <sup>ab</sup>
60	0.99±0.00 <sup>ba</sup>	0.84±0.04 <sup>bcB</sup>	0.16±0.00 <sup>ac</sup>
90	0.99±0.01 <sup>ba</sup>	0.86±0.04 <sup>bb</sup>	0.17±0.01 <sup>ac</sup>
120	0.97±0.01 <sup>ba</sup>	0.79±0.00 <sup>cb</sup>	0.15±0.00 <sup>ac</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d ที่เหมือนกันในสคมส์เดียวกันและอักษร A, B และ C ที่เหมือนกันในแนวนอนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

\* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

### ตอนที่ 3 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลสทโดยใช้เอนไซม์โปรตีเนส

#### 3.1 สถานะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยเอนไซม์โปรตีเนส

##### 3.1.1 พีเอชที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีน

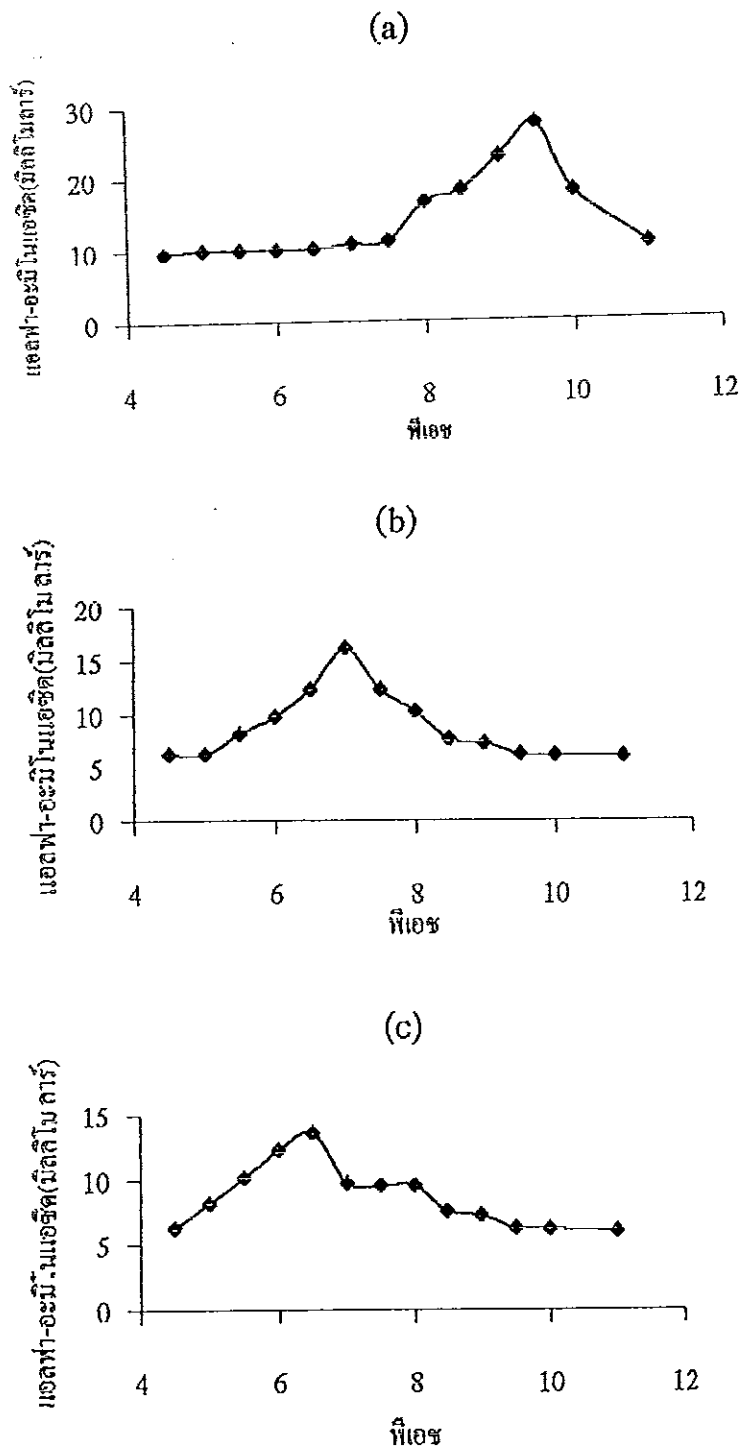
การศึกษาผลของพีเอชช่วง 4.5-11 ต่อการย่อยสลายเปปไทด์ของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน โดยใช้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิด ในการบ่งชี้ปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 6 7 และ 8 ตามลำดับ เอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นด่าง และสูญเสียกิจกรรมการย่อยสลายที่พีเอชเป็นกรด (ภาพที่ 6a) อย่างไรก็ตามเอนไซม์อัลคาเลสสูญเสียกิจกรรมอย่างช้าๆเมื่อพีเอชสูงกว่า 10 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากพีเอชที่เป็นกรดหรือเป็นด่างมากเกินไปมีผลต่อการสูญเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ ส่งผลให้กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนลดลง พีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายเปปไทด์ของเอนไซม์อัลคาเลส คือ ที่พีเอช 9.5 โดยให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดที่ได้จากการย่อยสลายสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งพบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงโดยเอนไซม์อัลคาเลส คือพีเอช 9.5 Shahidi และคณะ (1994) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อจากเมวน้ำได้ดีที่สุดที่พีเอช 8.5

Baek และ Cadwallader (1995) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งแม่น้ำ โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสพบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายคือ พีเอช 9.0 Quaglia และ Orban (1990) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนจากปลาซาร์ดีนได้ดีที่สุดที่พีเอช 8.5 ส่วน Hoyle และ Merritt (1994) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนจากปลาแฮร์ริงได้ดีที่พีเอช ช่วง 8.0-8.5 ความแตกต่างของพีเอชที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบต่างชนิดกันอาจเกิดจากความแตกต่างขององค์ประกอบของเปปไทด์หรือโปรตีนของวัตถุดิบ โดยเฉพาะความแตกต่างของชนิดของกรดอะมิโน ตลอดจนโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิของโปรตีนที่แตกต่างกัน ส่งผลให้พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แตกต่างกัน ทั้งนี้พีเอชอาจมี

ผลต่อการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของเอนไซม์เพื่อให้เหมาะสมกับการย่อยสลาย  
 สับสเตรท ดังนั้นสับสเตรทที่ต่างกันอาจมีผลต่อพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานที่ต่างกัน  
 Adler-Nissen (1986) กล่าวว่า เอนไซม์อัลคาเลส จัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มอัลคาไลโปรตี-  
 เอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำงานได้ดีที่พีเอชเป็นด่าง

พีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์นิวเทรสในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ  
 บด คือ พีเอช 7.0 (ภาพที่ 6b) เอนไซม์นิวเทรสสามารถย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งได้ดีที่  
 พีเอชเป็นกลาง กิจกรรมการย่อยสลายเปปไทด์ลดลงเมื่อพีเอชเป็นกรดหรือด่าง โดยที่  
 พีเอชเป็นกรดสูงหรือเป็นด่างสูง มีผลให้เอนไซม์สูญเสียกิจกรรมการย่อยสลายทำให้  
 ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดลดลง ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Benjakul  
 และ Morrissey (1997) ซึ่งใช้เอนไซม์นิวเทรสในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือ  
 จากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง พบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายเปปไทด์คือ  
 7.0 Vieira และคณะ (1995) พบว่า พีเอช 7.5 เป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของ  
 เอนไซม์นิวเทรสในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งก้ามกราม ซึ่งเอนไซม์นิวเทรสจัดเป็น  
 เอนไซม์ในกลุ่มนิวทรัลโปรตีเอส คือมีความสามารถในการทำงานได้ดีในช่วงพีเอชเป็น  
 กลาง (Adler-Nissen, 1986)

เอนไซม์ปาเปนสามารถย่อยสลายเปปไทด์ได้ดีที่พีเอชเป็นกรด แต่เมื่อพีเอชเป็น  
 กรดหรือเป็นด่างเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการย่อยสลายเปปไทด์ลดลง (ภาพที่ 6c) ทำให้  
 ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดลดลง พีเอชที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนของ  
 เอนไซม์ปาเปน คือ พีเอช 6.5 เนื่องจากปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดมีค่าสูงสุด ซึ่งผล  
 การทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Hoyle และ Merritt (1994) ซึ่งใช้เอนไซม์  
 ปาเปนในการย่อยสลายโปรตีนจากปลาแฮร์ริง พบว่าพีเอชที่เหมาะสมคือ ช่วง 6.0-7.0  
 Adler-Nissen (1986) กล่าวว่าเอนไซม์ปาเปนมีช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานที่  
 พีเอชช่วง 6.0-7.0



ภาพที่ 6 ผลของพิเอซต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิเวทรส (b) และ ปาเปน (c) ในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ ที่อุณหภูมิ 50 45 และ 27 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 ยูนิตต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 10 นาที

### 3.1.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีน

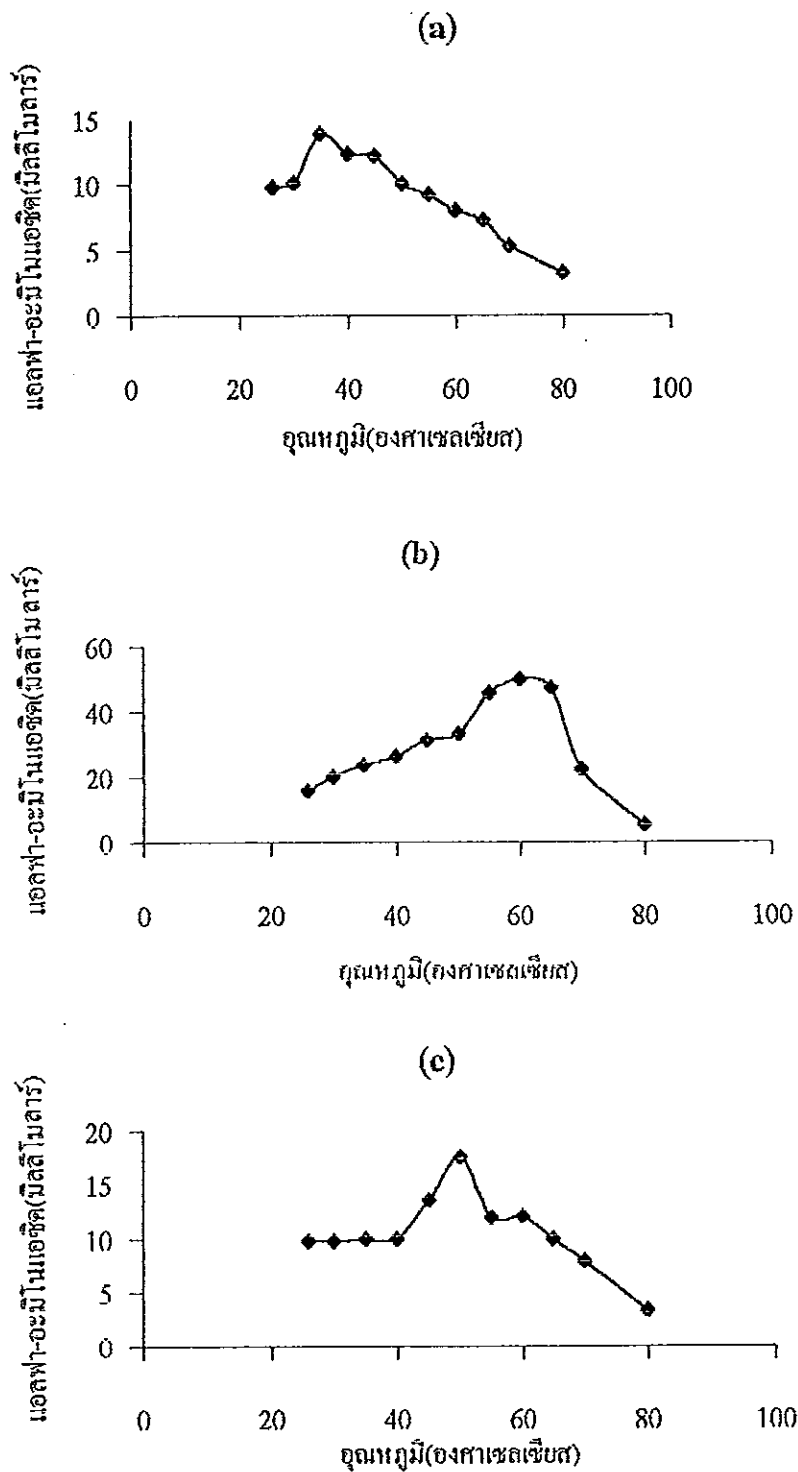
การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ช่วงอุณหภูมิ 26-80 องศาเซลเซียส ภายใต้พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของแต่ละเอนไซม์ ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 7 เอนไซม์อัลคาเลสมีกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำได้สูงในช่วงอุณหภูมิสูง (50-65 องศาเซลเซียส) และมีกิจกรรมลดลงเมื่ออุณหภูมิต่ำลง อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่สูงเกิน 65 องศาเซลเซียส มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง และเอนไซม์สูญเสียกิจกรรมอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 7a) ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนมีผลให้เอนไซม์อัลคาเลสคือ ที่ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดที่ได้จากการย่อยสลายสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส คือ 60 องศาเซลเซียส Shahidi และคณะ (1994) ศึกษาการใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนจากแมวน้ำ พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เอนไซม์อัลคาเลสจัดเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูง ช่วง 55-70 องศาเซลเซียส และความสามารถในการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลสลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส อันเป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์เนื่องจากการใช้ความร้อนสูง และที่อุณหภูมิต่ำ (20 องศาเซลเซียส) ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ต่ำเป็น 4 เท่า เมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Adler-Nissen, 1986)

เอนไซม์นิวเทรสมีกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำได้สูงในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (50 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิต่ำลงและสูงขึ้นมีผลให้กิจกรรมการย่อยสลายเปปไทด์ของเอนไซม์ลดลง และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เอนไซม์นิวเทรสสูญเสียกิจกรรมการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์โดยปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดมีค่าต่ำสุด (ภาพที่ 7b) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายเปปไทด์จากหัวกุ้งกุลาดำของเอนไซม์นิวเทรสคือ ที่ระดับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดที่

ได้จากการย่อยสลายสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายเปปไทด์ของเอนไซม์นิวเทรสคือ 55 องศาเซลเซียส เอนไซม์นิวเทรสสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส (Adler-Nissen, 1986)

เอนไซม์ปาเปนสามารถย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำได้สูงในช่วงอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำลงหรือสูงขึ้นส่งผลให้กิจกรรมการย่อยสลายเปปไทด์ของเอนไซม์ปาเปนลดลง และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เอนไซม์ปาเปนสูญเสียกิจกรรมการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ (ภาพที่ 7c) ดังนั้นปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดจึงมีค่าต่ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายเปปไทด์จากหัวกุ้งกุลาดำของเอนไซม์ปาเปนคือ 35 องศาเซลเซียส เนื่องจากปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดที่ได้จากการย่อยสลายมีค่าสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Vieira และคณะ (1995) ซึ่งศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งก้ามกรามโดยใช้เอนไซม์ปาเปน พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายคือ 37 องศาเซลเซียส

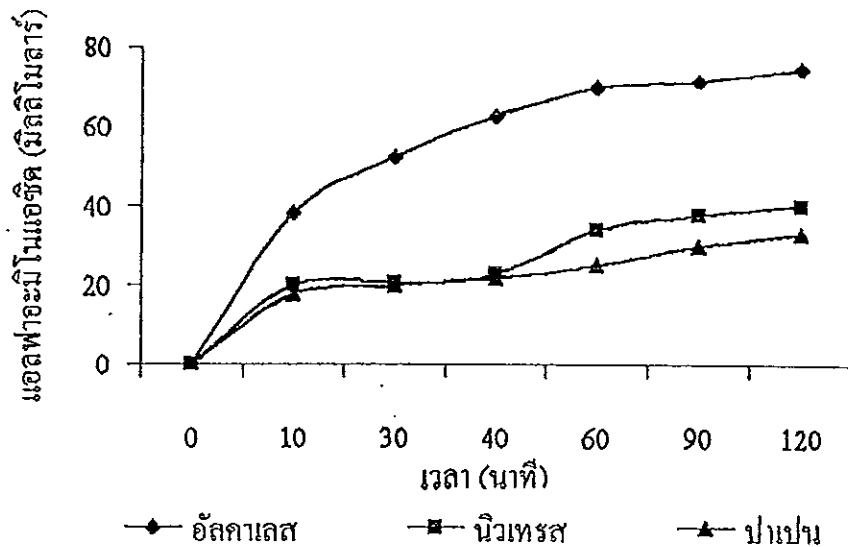




ภาพที่ 7 ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส (b) และ ป่าแปน (c) ในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ ที่พีเอช 9.5 7.0 และ 6.5 ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 ยูนิตต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 10 นาที

### 3.2 ผลของระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยเอนไซม์โปรตีนเอส

การศึกษาผลของระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละเอนไซม์ ดังแสดงในภาพที่ 8 พบว่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในช่วง 10 นาทีแรกของการย่อยสลาย หลังจากนั้นระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนเกิดกรดอะมิโนชนิดที่ไม่ชอบน้ำมากขึ้นซึ่งจะเป็นตัวขัดขวางการจับกันของเอนไซม์กับโปรตีน เนื่องจากกรดอะมิโนชนิดไม่ชอบน้ำจะแย่งจับกับบริเวณเร่งของเอนไซม์ทำให้ความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ลดลง ระดับการย่อยสลายจึงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (Adler-Nissen, 1986) เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของเอนไซม์ อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีประสิทธิภาพสูงสุด ส่วนเอนไซม์นิวเทรสและปาเปนมีกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสไม่มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโน สามารถย่อยสลายโปรตีนได้กว้างส่งผลให้การย่อยสลายสูง ซึ่งต่างจากเอนไซม์นิวเทรสที่มีความจำเพาะต่อ ลูซีน ฟีนอลานีน และเอนไซม์ปาเปนมีความจำเพาะต่อ ไลซีน อาร์จีนีน และ ฟีนอลานีน เป็นต้น (Adler-Nissen, 1986) ผลการทดลองสอดคล้องกับ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส พบว่าระดับการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรกของการย่อยสลาย และเอนไซม์อัลคาเลสให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่าเอนไซม์นิวเทรส ส่วน Baek และ Cadwallader (1995) ศึกษาการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งแม่น้ำ พบว่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรกของการย่อยสลายเช่นกัน



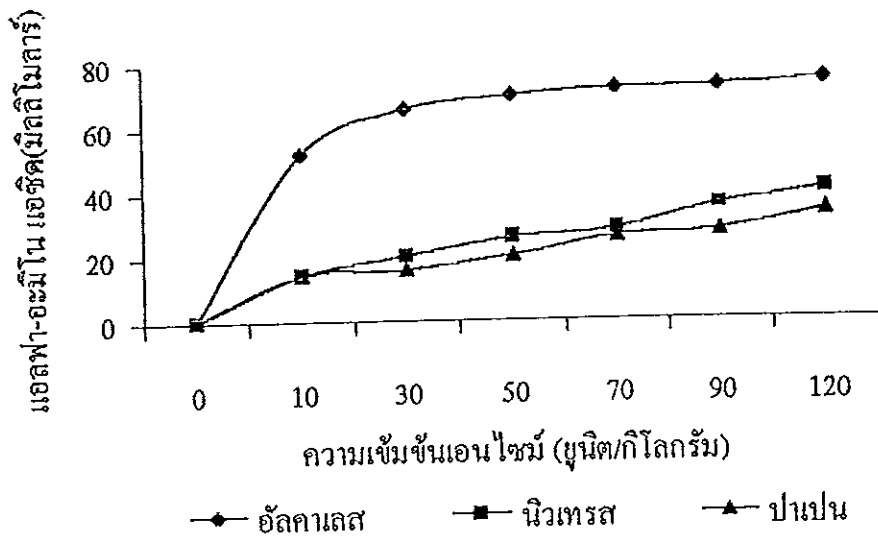
ภาพที่ 8 ผลของระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำบดโดยใช้ เอนไซม์ อัลคาเลสที่พีเอช 9.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นิวเทรลที่พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และปาเปน ที่พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

### 3.3 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนเอสต่อระดับการย่อยสลายและ ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิด

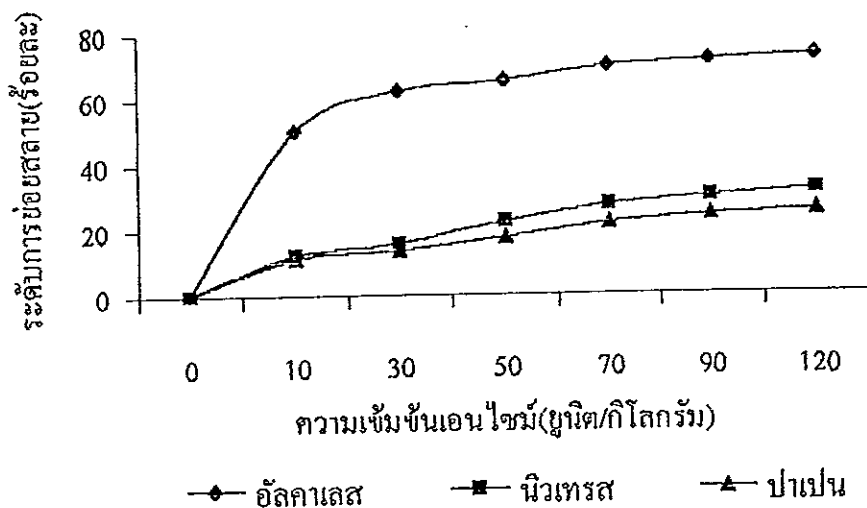
ภาพที่ 9 และ 10 แสดงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดของโปรตีนไฮโดรไลเสท พบว่าในช่วงความเข้มข้นของเอนไซม์ 0-120 ยูนิตต่อกิโลกรัม ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์และปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากัน เอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำสูงกว่า เอนไซม์ชนิดอื่น โดยให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดและระดับการย่อยสลายสูงสุด การย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งโดยเอนไซม์นิวเทรลและปาเปนให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนแอซิดและระดับการย่อยสลายใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีความ

สามารถในการย่อยสลายโปรตีนที่แตกต่างกัน กล่าวคือเอนไซม์อัลคาเลสมีสมบัติในการตัดสายเปปไทด์แบบสุ่มและมีความจำเพาะแบบกว้าง สามารถย่อยสลายโปรตีนได้สูงกว่าเอนไซม์นิวเทรสและปาเปนที่มีสมบัติในการตัดสายเปปไทด์แบบจำเพาะต่อกรดอะมิโนบางชนิดทำให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายต่ำกว่า ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง ซึ่งพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นระดับการย่อยสลายสูงขึ้นเช่นกัน

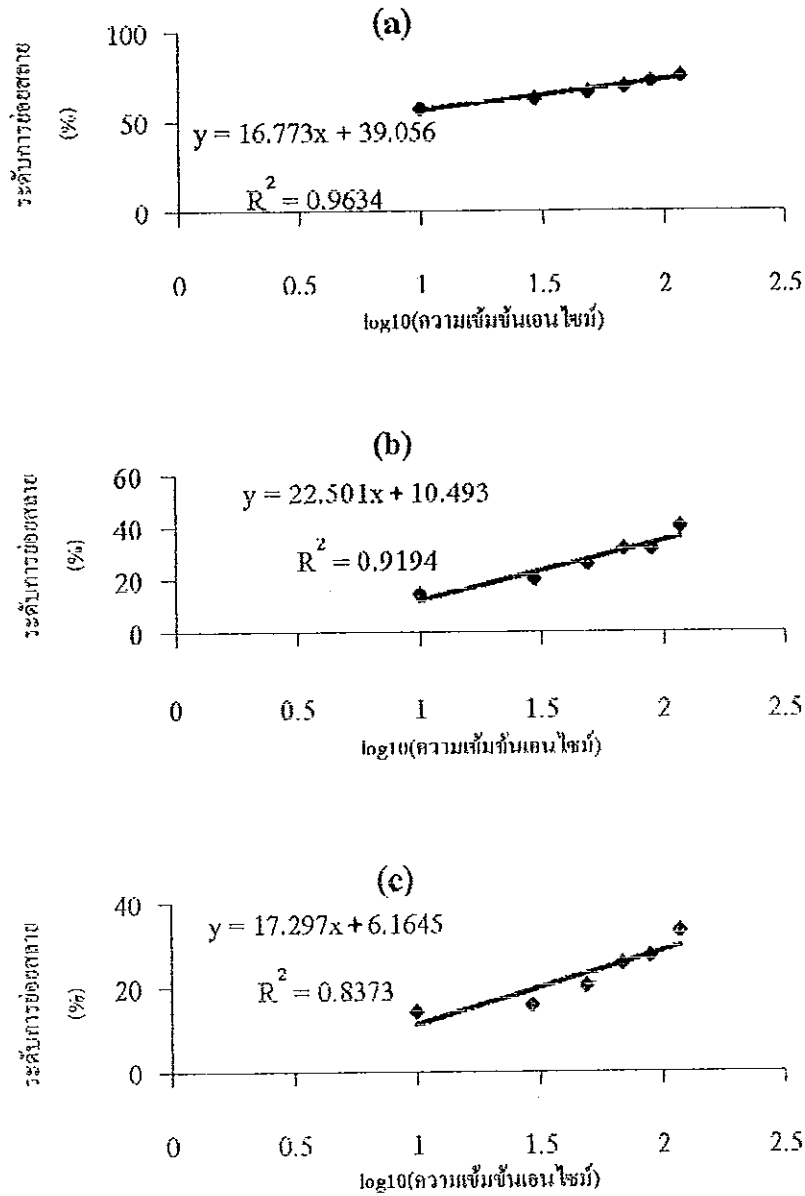
เมื่อนำข้อมูลมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่าง  $\text{Log}_{10}$ (ความเข้มข้นของเอนไซม์) ต่อระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน (ภาพที่ 11) ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.96 0.92 และ 0.84 ตามลำดับ จากความสัมพันธ์ดังกล่าวจึงสามารถกำหนดระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งโดยเอนไซม์แต่ละชนิดได้ โดยใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากการหาความสัมพันธ์ระหว่าง  $\text{Log}_{10}$ (ความเข้มข้นของเอนไซม์) ต่อระดับการย่อยสลายที่ต้องการ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งรายงานความสัมพันธ์ระหว่าง  $\text{Log}_{10}$ (ความเข้มข้นของเอนไซม์) ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงโดยเอนไซม์อัลคาเลส และนิวเทรส นอกจากนี้ Beak และ Cadwallader (1995) พบว่า  $\text{Log}_{10}$ (ความเข้มข้นของเอนไซม์) มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงกับระดับการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งแม่น้ำ



ภาพที่ 9 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ต่อปริมาณแอสคอร์บิกที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำบดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด



ภาพที่ 10 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำบดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละชนิด



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $\log_{10}$ (ความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส (b) และปาเปน (c)) ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ ที่สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด เป็นระยะเวลา 60 นาที

## ตอนที่ 4 ผลของระดับการย่อยสลายต่อปริมาณผลผลิต และสมบัติบางประการ ของโปรตีนไฮโดรไลเสท

### 4.1 ปริมาณผลผลิต

ปริมาณผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 มีค่าแตกต่างกัน (ตารางที่ 9) ปริมาณผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส มีค่าเท่ากับร้อยละ 5.72 10.14 และ 11.25 ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์นิวเทรสให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 2.91 3.68 และ 5.81 ตามลำดับ และเอนไซม์ปาเปนให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 2.54 3.75 และ 5.21 ตามลำดับ เมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นปริมาณผลผลิตที่ได้มีค่าสูงขึ้น เนื่องจากกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์ขนาดเล็กที่ได้จากการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีความสามารถในการละลายสูงขึ้น ในขณะที่ที่ระดับการย่อยสลายต่ำ ปริมาณกรดอะมิโนอิสระมีน้อยและเปปไทด์ส่วนใหญ่มีขนาดสายโซ่ยาว ซึ่งมีความสามารถในการละลายต่ำทำให้ปริมาณผลผลิตต่ำกว่า โดยที่ระดับการย่อยสลายต่ำคือร้อยละ 35 ปริมาณผลผลิตที่ได้จะต่ำกว่าที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 และ 65 ( $p < 0.05$ ) และที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 และ 65 ปริมาณผลผลิตที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน สำหรับเอนไซม์นิวเทรส และปาเปน เมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นปริมาณผลผลิตที่ได้มีค่าสูงขึ้น ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับการย่อยสลายเดียวกัน เอนไซม์อัลคาเลสให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด ( $p < 0.05$ ) ส่วนปริมาณผลผลิตที่ระดับการย่อยสลายเดียวกันโดยเอนไซม์นิวเทรส และ ปาเปนมีค่าไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้อาจมีผลมาจากคุณสมบัติในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิดที่แตกต่างกัน คือ เอนไซม์อัลคาเลสมีคุณสมบัติในการตัดสายพันธะแบบสุ่ม และไม่มี ความจำเพาะต่อกรดอะมิโน (Adler-Nissen, 1986) ทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีน และตัดพันธะเปปไทด์ได้มากกว่าจึงทำให้ปริมาณผลผลิตที่ได้มีค่าสูงกว่า ส่วนเอนไซม์นิวเทรสจัดเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนชนิด ลูซีน อาร์จินีน ฟีนอลานีน เป็นต้น และเอนไซม์ปาเปนมีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนชนิด ไลซีน

อาร์จีนิน และ ฟีนิลอลานีน (Adler-Nissen, 1986) ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย เปปไทด์ต่ำกว่า ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตที่ได้ต่ำ

ตารางที่ 9 ปริมาณผลผลิต โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้ง โดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรต และปาเปน

ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ปริมาณผลผลิต(ร้อยละ)		
	อัลคาเลส	นิวเทรต	ปาเปน
35	5.72±1.10 <sup>CA*</sup>	2.91±0.26 <sup>CB</sup>	2.54±0.07 <sup>CC</sup>
50	10.14±0.54 <sup>BA</sup>	3.68±1.13 <sup>BB</sup>	3.75±0.21 <sup>BB</sup>
65	11.25±0.54 <sup>AA</sup>	5.81±0.57 <sup>AB</sup>	5.21±1.02 <sup>AC</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b และ c ที่เหมือนกันในสคมส์เดียวกันและ A, B และ C ที่เหมือนกันในแนวนอนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

\* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

#### 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสท

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำบด โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรต และ ปาเปนมีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 10) โปรตีนไฮโดรไลเสทที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 87.72 89.78 และ 92.15 ไขมันร้อยละ 0.29 0.25 และ 0.29 และเถ้าร้อยละ 7.71 6.20 และ 5.99 ตามลำดับ ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรต ซึ่งมีระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 87.55 88.42 และ 88.25 ไขมันร้อยละ 0.27 0.26 และ 0.27 เถ้าร้อยละ 6.27 7.92 และ 7.15 และองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์ปาเปน



ซึ่งมีระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ประกอบด้วย โปรตีน ร้อยละ 87.51 88.65 และ 88.27 ไขมันร้อยละ 0.25 0.28 และ 0.27 เถ้าร้อยละ 7.3 6.12 และ 6.34 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับการย่อยสลาย ร้อยละ 35 50 และ 65 พบว่าปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นขนาดของโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายมีขนาดเล็กลง ความสามารถในการละลายสูงขึ้น ทำให้ปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทสูงขึ้น โดยทั่วไปปริมาณไขมันในไฮโดรไลเสทในทุกะดับการย่อยสลายมีปริมาณต่ำ (ร้อยละ 0.25-0.29) ทั้งนี้เนื่องจากไขมันส่วนใหญ่ถูกกำจัดก่อนกระบวนการไฮโดรไลซิส โปรตีนไฮโดรไลเสทมีปริมาณเถ้าร้อยละ 5.79-7.92 ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเติมกรดหรือด่างเพื่อปรับพีเอชของไฮโดรไลเสทให้เป็นกลาง ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดเกลือในผลิตภัณฑ์ Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 82.25 ไขมัน 3.94 และ เถ้า 13.82 Hoyle และ Merritt (1994) รายงานองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากปลาแฮร์ริง พบว่ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 82.3-87.9 ไขมันร้อยละ 0.9-4.7 และเถ้าร้อยละ 7.5-13.3

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสท

เอนไซม์	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	องค์ประกอบ(ร้อยละ)			
		โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น
อัลคาเลส	35	87.72±0.05 <sup>c*</sup>	0.29±0.05 <sup>a</sup>	7.71±1.21 <sup>a</sup>	3.25±1.15 <sup>b</sup>
	50	89.78±0.13 <sup>b</sup>	0.25±0.05 <sup>b</sup>	6.20±1.13 <sup>b</sup>	4.34±1.23 <sup>a</sup>
	65	92.15±1.13 <sup>a</sup>	0.29±0.04 <sup>a</sup>	5.99±1.11 <sup>b</sup>	4.72±0.98 <sup>a</sup>
นิวเทรส	35	87.55±0.51 <sup>b</sup>	0.27±0.03 <sup>a</sup>	6.27±0.05 <sup>b</sup>	3.91±0.50 <sup>a</sup>
	50	88.42±1.19 <sup>a</sup>	0.26±0.05 <sup>a</sup>	7.92±0.50 <sup>a</sup>	4.27±1.25 <sup>a</sup>
	65	88.25±1.21 <sup>a</sup>	0.27±0.5 <sup>a</sup>	7.15±0.91 <sup>a</sup>	3.33±1.13 <sup>b</sup>
ปาเปน	35	87.51±0.54 <sup>b</sup>	0.25±1.0 <sup>b</sup>	7.3±1.02 <sup>a</sup>	4.34±0.5 <sup>a</sup>
	50	88.65±1.25 <sup>a</sup>	0.28±1.12 <sup>a</sup>	6.12±0.57 <sup>b</sup>	3.95±0.05 <sup>a</sup>
	65	88.27±1.31 <sup>a</sup>	0.27±0.5 <sup>a</sup>	6.34±0.5 <sup>b</sup>	4.71±0.05 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b และc ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันของไฮโดรไลเสทที่ผลิต

จากเอนไซม์ชนิดเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

\* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

#### 4.3 องค์ประกอบของกรดอะมิโน

ปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทขึ้นกับองค์ประกอบของกรดอะมิโนในวัตถุดิบเริ่มต้น ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 65 แสดงดังตารางที่ 11 โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้ประกอบด้วยกรดกลูตามิกสูงสุด คือร้อยละ 11.92 รองลงมาคือ กรดแอสพาร์ติกร้อยละ 8.81 ลูซีนร้อยละ 5.59 และไกลซีนร้อยละ 5.47 โดยมีปริมาณซีสเทอีนต่ำสุดคือร้อยละ 0.84 และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบของกรดอะมิโนชนิดที่ให้กลิ่นรสที่ดี ซึ่งประกอบด้วย กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก ไกลซีน ซีรีน ทรีโอนีน อลานีน และโพรลีน ซึ่งให้รสหวาน (Pan, 1990) พบว่าไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยกรดกลูตามิก และ กรดแอสพาร์ติกในปริมาณสูง ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำสามารถใช้เป็นแหล่งของกลิ่นรสที่ดี ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Pan (1990) พบว่าหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่ให้กลิ่นรสที่ดีปริมาณสูง เมื่อย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการตัดสายพันธะเปปไทด์ที่มีความจำเพาะแบบกว้างทำให้สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ และได้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสคืออย่างมีประสิทธิภาพ โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบถ้วน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำกับปริมาณกรดอะมิโนที่พบในปลาเทราส์ไซว์ พบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่เตรียมจากหัวกุ้งกุลาดำมีค่าต่ำกว่า เนื่องจากความแตกต่างของวัตถุดิบเริ่มต้นต่างชนิดกัน

Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิงโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส พบว่าไฮโดรไลเสทประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่ให้กลิ่นรส คือ กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก และไกลซีน ในปริมาณสูง และโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบถ้วน เช่นเดียวกับ Shahidi และคณะ (1994) ซึ่งศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากแมวน้ำโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรส พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสที่อยู่ในปริมาณ

สูง ปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน โกลซีน และไลซีน มีปริมาณเพิ่มขึ้น ไอโซลูซีน ฟีนิลอลานีน ทรีโอนีน และวาเลีน มีปริมาณลดลงจากวัตถุดิบเริ่มต้น ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างระหว่างองค์ประกอบของโปรตีนที่เหลือจากการย่อยสลายและโปรตีนไฮโดรไลเสท ส่งผลให้สัดส่วนของกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทแตกต่างจากองค์ประกอบของของกรดอะมิโนในเนื้อเริ่มต้น Teerasuntonwat และ Raksakulthai (1995) ศึกษาการผลิตสารให้กลิ่นรสจากหัวกุ้งโดยใช้เอนไซม์โบรมิเลน พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสที่คือนอยู่ในปริมาณสูง โดยเฉพาะ กรดกลูตามิก และ กรดแอสพาร์ติก

ตารางที่ 11 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการ  
ย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส

Amino Acid	Content (g./100 g.)		
	Black Tiger prawn head*	Channel catfish**	Rainbow trout**
Aspartic acid	8.81	9.74	9.94
Threonine	3.92	4.41	4.76
Serine	4.42	4.89	4.66
Glutamic acid	11.93	14.39	14.22
Proline	3.59	6.02	4.89
Glycine	5.48	8.14	7.76
Alanine	4.76	6.31	6.57
Cysteine	0.85	0.86	0.80
Valine	4.73	5.15	5.09
Methionine	1.75	2.92	2.88
Isoleucine	3.71	4.29	4.34
Leucine	5.59	7.40	7.59
Tyrosine	3.55	3.28	3.38
Phenylalanine	4.77	4.14	4.38
Histidine	2.50	2.17	2.96
Lysine	4.24	8.51	8.49
Arginine	4.47	6.67	6.41
Tryptophane	1.47	0.78	0.93

\* ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ศูนย์ทดสอบและมาตรฐานวิทยา  
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จตุจักร กรุงเทพฯ.

\*\* ที่มา : Wilson (1994)

#### 4.4 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สำคัญได้แก่ สีของโปรตีนไฮโดรไลเซต ซึ่งส่งผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ตลอดจนการยอมรับ สีของโปรตีนไฮโดรไลเซตซึ่งเตรียมจากเอนไซม์ต่างชนิดกันมีความแตกต่างกัน ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 12) โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนมีสีเข้มที่สุด คือมีค่า L (ค่าความสว่าง) ต่ำสุดทุกระดับการย่อยสลาย ( $L = 87.40-90.40$ ) ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรสมีสีอ่อนกว่า คือมีค่าความสว่าง (L) สูง คือ (90.90 - 93.10) และ (93.21- 95.01) ตามลำดับ และมีค่าสีเหลือง (yellowness) สูงคือ (12.80 - 14.13) และ (13.30 - 15.90) ตามลำดับ ซึ่งผลสอดคล้องกับการทดลองของ Hoyle and Merritt (1994) ซึ่งพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนมีสีเข้มกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส

ตารางที่ 12 ค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์โปรตีเอสต่างชนิดกัน

เอนไซม์	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	L	a	b
อัลคาเลส	35	90.90 <sup>a</sup>	+1.40 <sup>a</sup>	13.21 <sup>a</sup>
	50	93.10 <sup>a</sup>	+1.20 <sup>a</sup>	12.80 <sup>a</sup>
	65	92.20 <sup>a</sup>	+1.30 <sup>a</sup>	14.13 <sup>a</sup>
นิวเทรส	35	95.01 <sup>a</sup>	+0.90 <sup>a</sup>	13.30 <sup>a</sup>
	50	93.72 <sup>a</sup>	+1.20 <sup>a</sup>	15.90 <sup>a</sup>
	65	93.40 <sup>a</sup>	+1.00 <sup>a</sup>	15.40 <sup>a</sup>
ปาเปน	35	89.72 <sup>b</sup>	-0.40 <sup>b</sup>	7.70 <sup>b</sup>
	50	87.40 <sup>b</sup>	-0.60 <sup>b</sup>	8.00 <sup>b</sup>
	65	90.40 <sup>b</sup>	-0.50 <sup>b</sup>	8.20 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b ที่เหมือนกันในสคมส์เดียวกันของไฮโดรไลเซตที่ผลิตจากเอนไซม์ชนิดเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 4.5 การวิเคราะห์ปริมาณ nitrogen recovery

จากการวิเคราะห์ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 พบว่าปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น คือ ร้อยละ 54.47 65.22 และ 79.61 และปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสมีค่า ร้อยละ 44.72 48.68 และ 52.20 ตามลำดับ ส่วนปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนมีค่าร้อยละ 36.70 46.88 และ 49.75 ตามลำดับ (ตารางที่ 13) ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น ทั้งนี้เมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นปริมาณของเปปไทด์ที่ถูกย่อยสลายมีปริมาณสูงขึ้น ทำให้มีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้สูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณ nitrogen recovery สูงขึ้น และที่ระดับการย่อยสลายต่างกันปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีค่าต่างกัน ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับการย่อยสลายเท่ากันปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสมีค่าสูงสุดในขณะที่ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสและปาเปนมีค่าใกล้เคียงกันทั้งนี้อาจเนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสสามารถไฮโดรไลซ์พันธะเปปไทด์ให้มีขนาดเล็กกว่าการใช้เอนไซม์นิวเทรสหรือปาเปนที่ระดับการย่อยสลายเดียวกัน ส่งผลให้เปปไทด์สามารถละลายและเก็บเกี่ยวได้มากขึ้น ทั้งนี้เป็นผลจากเอนไซม์อัลคาเลสสามารถไฮโดรไลซ์พันธะเปปไทด์แบบสุ่มได้อย่างกว้างขวางและมีประสิทธิภาพ

เมื่อนำปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายและปริมาณ nitrogen recovery ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) = 0.95 0.92 และ 0.89 ตามลำดับ (ภาพที่ 12) โดยที่ระดับการย่อยสลายที่สูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณ nitrogen recovery สูงขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Benjakul และ Morrissey (1997) ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายของเอนไซม์กับปริมาณ nitrogen recovery พบว่าเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณ nitrogen recovery สูงขึ้น เมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นขนาดความยาวของสายโซ่เปปไทด์ที่ได้

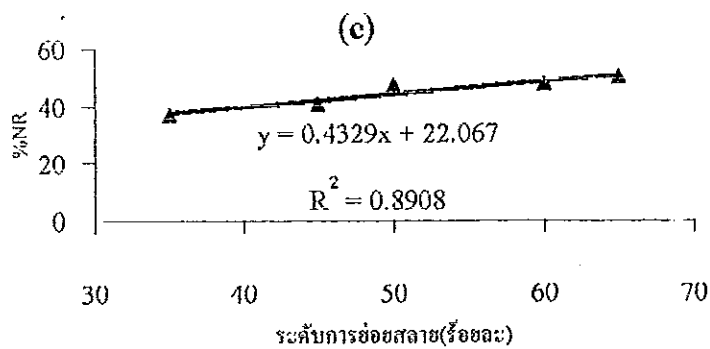
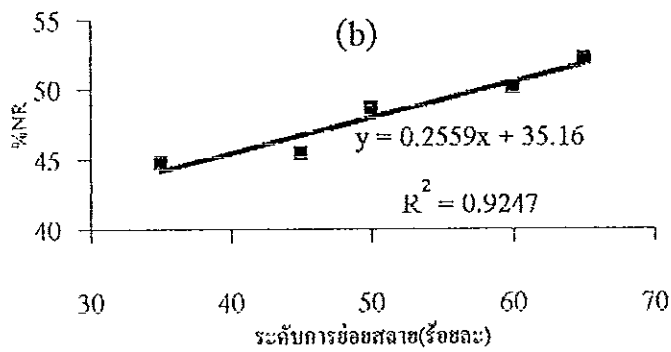
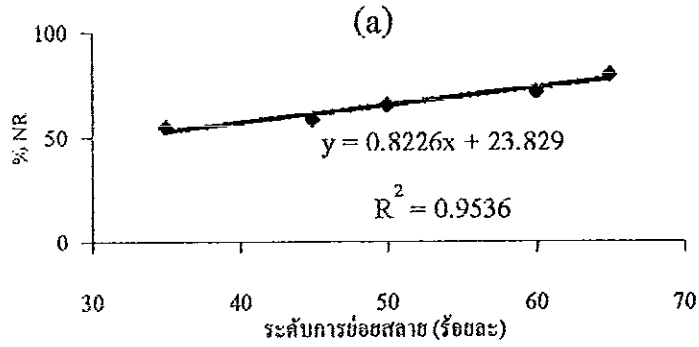
มีขนาดสั้นลง และมีความสามารถในการละลายได้ดีทำให้ปริมาณ nitrogen recovery สูงขึ้น

ตารางที่ 13 ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ปริมาณ nitrogen recovery (ร้อยละ)		
	อัลคาเลส	นิวเทรส	ปาเปน
35	54.47 <sup>cA</sup>	44.72 <sup>cB</sup>	36.70 <sup>cC</sup>
50	65.22 <sup>bA</sup>	48.68 <sup>bB</sup>	46.88 <sup>bC</sup>
65	79.61 <sup>aA</sup>	52.20 <sup>aB</sup>	49.75 <sup>aC</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b และ c ที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันและ A, B และ C ที่เหมือนกันในแนวนอนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )





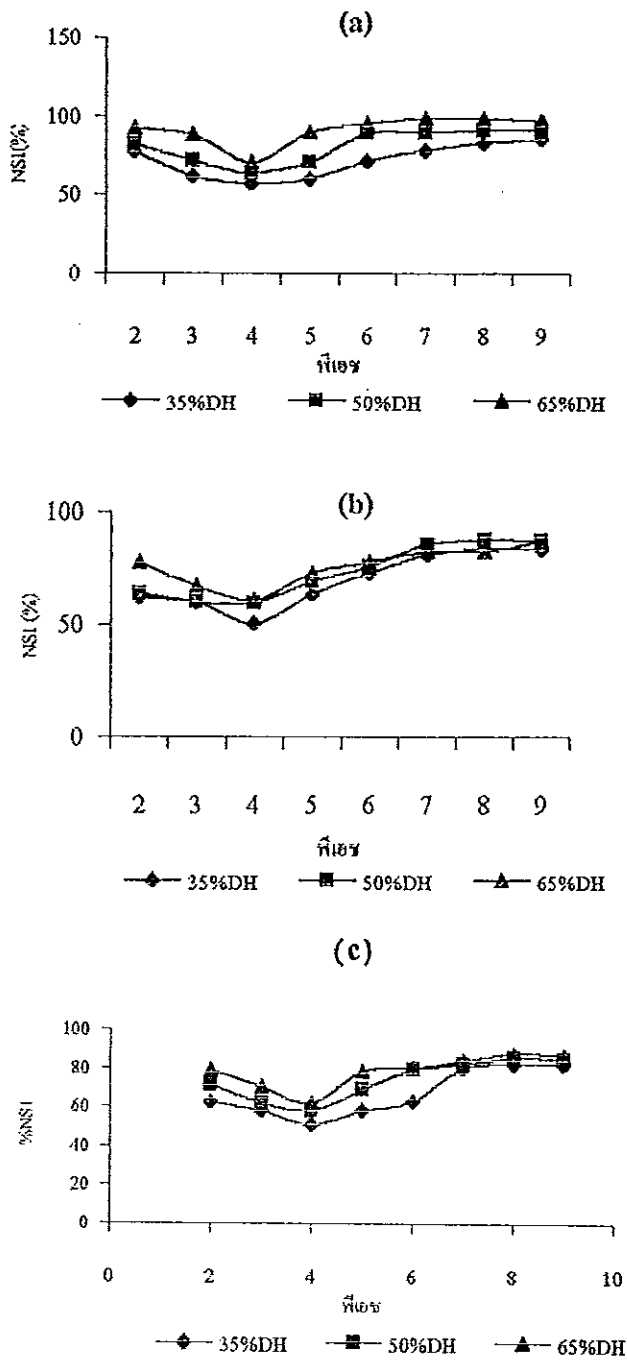
ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายและปริมาณ nitrogen recovery ของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำบดที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส (b) และ ปาเปน (c)

## 4.6 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต

### 4.6.1 สมบัติการละลาย

สมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาค่าโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรต และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 แสดงดังภาพที่ 13 สมบัติการละลายของโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์ ทั้ง 3 ชนิดที่ระดับการย่อยสลายเท่ากัน พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสมีสมบัติการละลายสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์นิวเทรตและปาเปนทุกช่วงพีเอช และพบว่าที่พีเอชเดียวกันการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น โปรตีนถูกย่อยสลายเป็นสายโซ่เปปไทด์ที่มีขนาดสั้นลงทำให้มีสมบัติการละลายสูงขึ้น (Adler-Nissen, 1986) โดยที่โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับการย่อยสลาย 35 50 และ 65 มีความสามารถในการละลายสูงกว่าร้อยละ 80 ที่ช่วงพีเอช 7-9 และสมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตต่ำสุดที่พีเอช 4.0 เนื่องจากเป็นจุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีน (Slattery and Fitzgerald, 1998)

Quaglia และ Orban (1987b) ศึกษาสมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซาร์ดีน ที่ระดับการย่อยสลายต่างกัน ในช่วงพีเอช 2-9 พบว่าเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นสมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจะสูงขึ้น Linder และคณะ (1996) พบว่าไฮโดรไลเซตจากเนื้อติดกระดูกของแกะมีค่าการละลายสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น Nielsen (1997) กล่าวว่า สมบัติการละลายของโปรตีนจะสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น โปรตีนเกิดการย่อยสลายมีขนาดเล็กลง ทำให้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลงและหมู่ที่มีขั้วของโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีความสามารถในการรวมตัวกับน้ำได้ดี Chobert และคณะ(1988) พบว่าโปรตีนเวย์มีคุณสมบัติการละลายเพิ่มขึ้นในทุกช่วงพีเอชภายหลังการไฮโดรไลซิส Damodaran (1997) กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติการละลายของโปรตีนประกอบด้วย พีเอช ความเข้มข้นของอออน ชนิดของอออน อุณหภูมิ ความมีขั้วของตัวทำละลาย และสถานะในการแปรรูป



ภาพที่ 13 สมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจาก หัวกุ้งกุลาดำโดยเอนไซม์อัลคาเลส (a) นิวเทรส (b) และปาเปน (c) ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ในช่วงฟิเอช 2-9

#### 4.6.2 สมบัติการเกิดอิมัลชัน

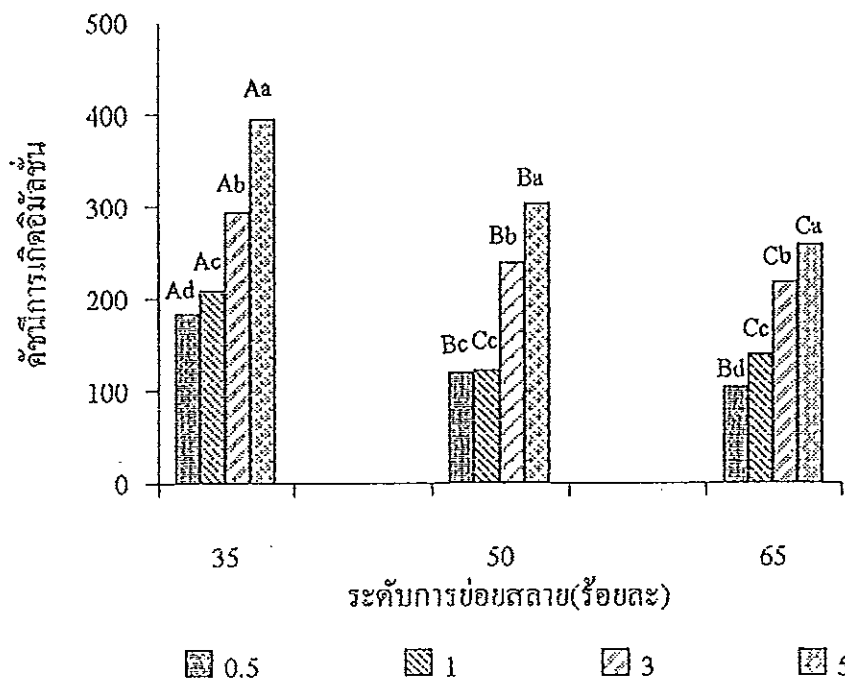
##### 4.6.2.1 ดัชนีการเกิดอิมัลชัน

การเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรต และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 (ภาพที่ 14 15 และ 16) มีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion activity index ; EAI) แตกต่างกันขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรไลเสทที่ใช้ โปรตีนไฮโดรไลเสทซึ่งเตรียมจากเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ปาเปนมีดัชนีการเกิดอิมัลชันลดลงเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) แต่โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโคเอนไซม์นิวเทรตมีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น โดยเฉพาะที่ระดับการย่อยสลายเท่ากับร้อยละ 50 อย่างไรก็ตามค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันลดลงเมื่อระดับการย่อยสลายเท่ากับร้อยละ 6 ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับการย่อยสลายเท่ากันโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผลิตโดยใช้นิวเทรตและปาเปนให้ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงกว่าไฮโดรไลเสทที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 0.5 1 3 และ 5 ต่อดัชนีการเกิดอิมัลชัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทเพิ่มขึ้น ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงขึ้น ( $p < 0.05$ ) ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรต และ ปาเปน มีสมบัติการเกิดอิมัลชันที่ดีเมื่อระดับการย่อยสลายต่ำ (ร้อยละ 35) ทั้งนี้เนื่องจากความยาวเปปไทด์มีผลในการเกิดอิมัลชัน ไฮโดรไลเสทที่มีระดับการย่อยสลายสูงประกอบด้วยเปปไทด์สายสั้น ซึ่งไม่สามารถเกิดฟิล์มที่คงตัวห่อหุ้มโมเลกุลของไขมัน Chobert และคณะ (1988) รายงานว่าเปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลมากกว่า 5,000 ดาลตันสามารถให้คุณสมบัติการเกิดอิมัลชันที่ดี ดังนั้นการไฮโดรไลซ์เปปไทด์ในระดับที่เหมาะสมจึงมีความจำเป็นต่อการเกิดอิมัลชัน การย่อยสลายโปรตีนในระดับที่สูงเกินไปส่งผลให้โปรตีนมีลักษณะเป็น nonamphiphilic น้อยลง ดังนั้นเปปไทด์ดังกล่าวสามารถถูกดูดซับที่อินเตอร์เฟซระหว่างน้ำและไขมันต่ำลง กิจกรรมการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์จึงต่ำลง (Chobert *et al*, 1988) จากการทดลองไฮโดรไลเสทจากอัลคาเลสให้ดัชนีการเกิดอิมัลชันต่ำกว่าเอนไซม์ชนิดอื่น ซึ่งอาจเป็นผลจากเอนไซม์อัลคาเลสให้ผลิตภัณฑ์

เปปไทด์ที่มีสายสั้นกว่า รวมทั้งมีลักษณะเป็น nonamphiphilic สูงกว่าส่งผลให้ประสิทธิภาพการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ลดต่ำลงเมื่อเทียบกับเอนไซม์นิวเทรสและปาเปน

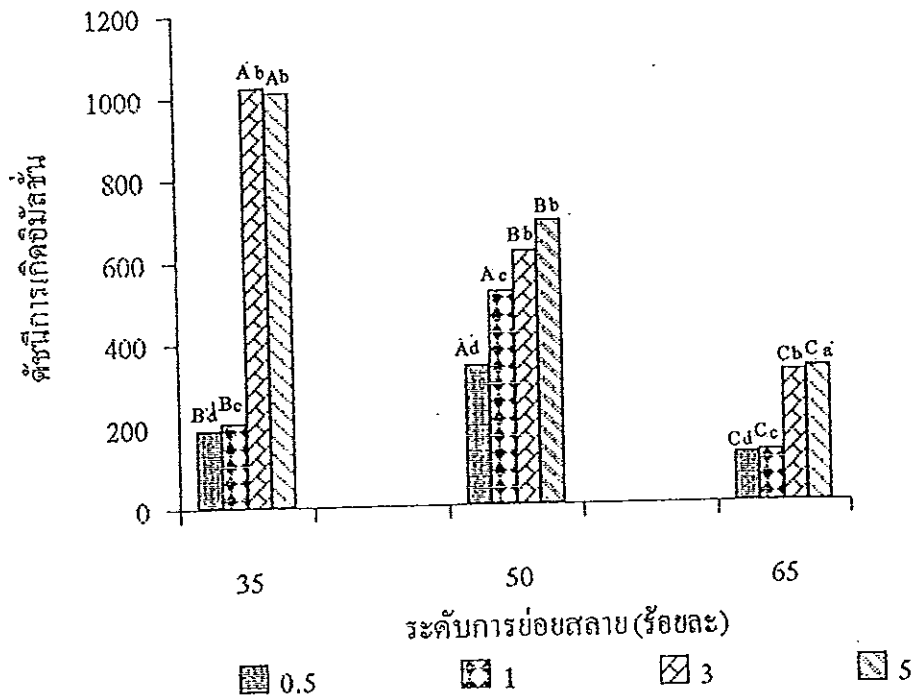
การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซสที่ผลิตโดยเอนไซม์นิวเทรสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 มีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงสุด ( $p < 0.05$ ) คือ 1023.04 ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ผลิตโดยเอนไซม์ปาเปน พบว่าที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 ให้ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงสุด (1010.72) เมื่อใช้ความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเซสร้อยละ 5 ส่วนที่ผลิตโดยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่าที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 ให้ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงสุด (393.86) โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเซสร้อยละ 5 ซึ่งต่ำกว่าค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส และ ปาเปน ดังนั้นความเข้มข้นของโปรตีนจึงมีผลโดยตรงต่อการเกิดอิมัลชัน ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดอิมัลชันจำเป็นต้องอาศัยโปรตีนหรือเปปไทด์ที่มีความยาวที่เหมาะสมซึ่งสามารถสร้างฟิล์มที่มีความแข็งแรงและมีความคงตัว (Nielsen, 1997) ดังนั้นปริมาณโปรตีนจึงมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดฟิล์มดังกล่าว การใช้โปรตีนในปริมาณสูงจึงมีผลให้แผ่นฟิล์มเกิดได้มากขึ้นและแข็งแรงขึ้นส่งผลให้ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงขึ้น

Nielsen (1997) กล่าวว่าโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีขั้วและมีหมู่ที่ไม่ชอบน้ำสูงขึ้น และมีน้ำหนักโมเลกุลลดลง ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ และความจำเพาะของเอนไซม์มีผลต่อสมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเซส Quaglia และ Orban (1990) รายงานสมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเซสจากปลาซาร์ดีน พบว่า ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 5 โปรตีนไฮโดรไลเซสมีสมบัติการเกิดอิมัลชันดีกว่าที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 10



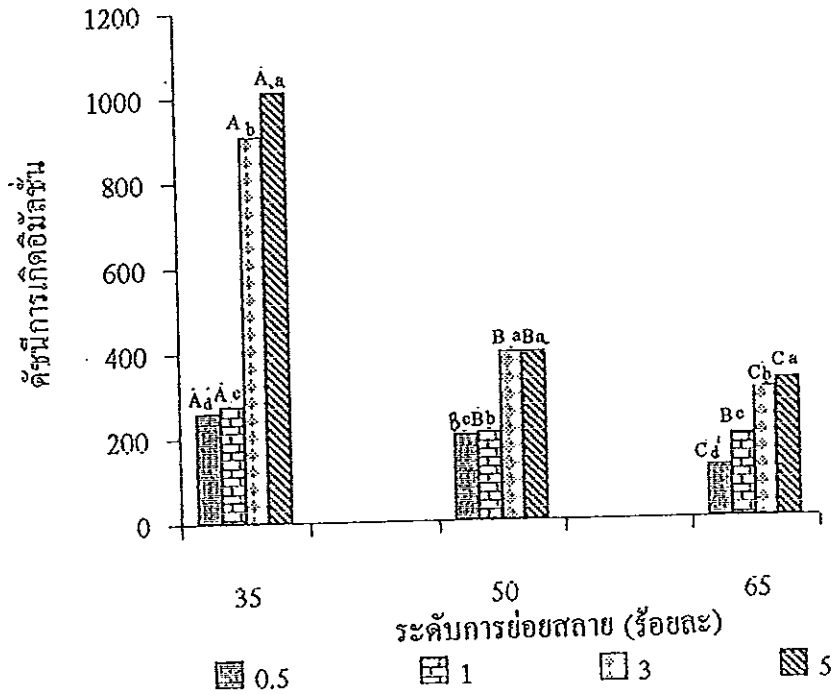
หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c และ d ที่เหมือนกันในไฮโดรไลสที่มีระดับการย่อยสลายเดียวกัน และอักษร A, B และ C ที่เหมือนกันในไฮโดรไลสที่มีระดับความเข้มข้นเดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ภาพที่ 14 จำนวนการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลสร้อยละ 0.5 1 3 และ 5



หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c และ d ที่เหมือนกันในไฮโครไลสที่มึระดับการย่อยสลายเดียวกัน และอักษร A, B และ C ที่เหมือนกันในไฮโครไลสที่มึระดับการความเข้มข้นเดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ภาพที่ 15 ดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโครไลสจากหัวกึ่งสุดาค่าที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโครไลสร้อยละ 0.5 1 3 และ 5



หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c และ d ที่เหมือนกันในไฮโดรไลสที่มึระดับการย่อยสลายเดียวกัน และอักษร A, B และ C ที่เหมือนกันในไฮโดรไลสที่มึระดับความเข้มข้นเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ภาพที่ 16 ดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกึ่งกลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลสร้อยละ 0.5 1 3 และ 5



#### 4.6.2.2 ความคงตัวของอิมัลชัน

จากการศึกษาความคงตัวของอิมัลชันเมื่อใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และ ปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทเท่ากับร้อยละ 0.5 1 3 และ 5 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 ให้ค่าความคงตัวของอิมัลชันดีที่สุด คือมีค่า 6.17 5.32 5.17 และ 5.24 ตามลำดับ (ตารางที่ 17) โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น ร้อยละ 3 จะให้ค่าความคงตัวของอิมัลชันดีที่สุด ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกับเอนไซม์ปาเปน ซึ่งพบว่าที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1 3 และ 5 ให้ค่าความคงตัวของอิมัลชันเท่ากับ 7.92 7.07 6.98 และ 7.12 โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 จะให้ค่าความคงตัวของอิมัลชันดีที่สุด ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส ให้ค่าความคงตัวของอิมัลชันต่ำสุดทุกระดับการย่อยสลาย คือมีค่าอยู่ในช่วง 25.81-47.91 ซึ่งอาจเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส มีสายโซ่เปปไทด์ขนาดเล็กไม่สามารถห่อหุ้มไขมันได้นาน จึงมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันต่ำและอิมัลชันไม่มีความคงตัว ในขณะที่เคซีนมีความคงตัวดีเมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำคือร้อยละ 0.5 (6.81) และเมื่อความเข้มข้นของเคซีนเพิ่มขึ้นอิมัลชันมีความคงตัวลดลง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากเคซีนกับโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนและนิวเทรส ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 และใช้ความเข้มข้นของไฮโดรไลเสทร้อยละ 3 มีความคงตัวของอิมัลชันใกล้เคียงกับอิมัลชันที่เตรียมจากเคซีน Quaglia และ Orban (1990) รายงานว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากปลาซาร์ดีนมีสมบัติการเป็นอิมัลชันและมีความคงตัวสูงสุดที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 5

ดังนั้น โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีสมบัติการเป็นอิมัลชันและมีความคงตัวดีที่สุดคือ โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 3 รองลงมาคือ โปรตีน

ไฮโดรไลสเทสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลสเทสร้อยละ 3 เช่นกัน

ตารางที่ 14. ความคงตัวของอิมัลชัน เมื่อใช้ไฮโดรไลสเทสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

ระดับการ ย่อยสลาย (ร้อยละ)	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ความคงตัวของอิมัลชัน*			
		อัลคาเลส	นิวเทรส	ปาเปน	เคซีน
35	0.5	30.91 <sup>a</sup>	7.72 <sup>c</sup>	13.70 <sup>a</sup>	6.81
	1	29.57 <sup>b</sup>	10.32 <sup>b</sup>	13.10 <sup>a</sup>	8.74
	3	25.81 <sup>c</sup>	9.78 <sup>b</sup>	8.72 <sup>c</sup>	10.87
	5	30.80 <sup>a</sup>	11.17 <sup>a</sup>	9.78 <sup>b</sup>	15.17
50	0.5	32.12 <sup>c</sup>	6.17 <sup>a</sup>	7.92 <sup>a</sup>	
	1	41.82 <sup>a</sup>	5.32 <sup>b</sup>	7.07 <sup>b</sup>	
	3	39.81 <sup>b</sup>	5.17 <sup>b</sup>	6.98 <sup>b</sup>	
	5	42.10 <sup>a</sup>	5.24 <sup>b</sup>	7.12 <sup>b</sup>	
65	0.5	45.30 <sup>b</sup>	10.10 <sup>a</sup>	9.92 <sup>d</sup>	
	1	42.92 <sup>c</sup>	7.32 <sup>c</sup>	11.34 <sup>c</sup>	
	3	47.91 <sup>a</sup>	10.39 <sup>a</sup>	15.12 <sup>a</sup>	
	5	45.54 <sup>b</sup>	8.13 <sup>b</sup>	12.72 <sup>b</sup>	

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันของไฮโดรไลสเทสที่ผลิตจากเอนไซม์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

\* คำนวณจากความแตกต่างของดัชนีการเกิดอิมัลชันที่เวลา 0 และ 24 ชั่วโมง

#### 4.6.3 สมบัติการเกิดฟอง

ความจุฟองและความคงตัวของฟองของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 0.5 1 3 และ 5 แสดงดังตารางที่ 15 และ 16 ความจุฟองของโปรตีนไฮโดรไลเสทสัมพันธ์กับปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ใช้ กล่าวคือเมื่อปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทสูงขึ้นความจุฟองสูงขึ้น ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามการเกิดฟองยังขึ้นกับขนาดของโปรตีนที่ใช้ในการให้ความคงตัวกับฟอง (Britten and Lavori, 1992) โปรตีนที่มีประจุรวมสูงก่อให้เกิดการผลัดกันของโมเลกุลที่อินเตอร์เฟสส่งผลให้เกิดแผ่นฟิล์มหรือความคงตัวของแผ่นฟิล์มลดลง (Phillips *et al.*, 1994) เมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น ความจุฟองและความคงตัวของฟองจะลดลง โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 มีความจุฟองสูงสุด นอกจากนี้พบว่าความจุฟองเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรไลเสทเพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) โปรตีนไฮโดรไลเสทเข้มข้นร้อยละ 0.5 1 3 และ 5 ให้ความจุฟองเท่ากับ 17.18 21.13 32.78 และ 35.43 ตามลำดับ ส่วนไฮโดรไลเสทที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์ปาเปนที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 ให้ความจุฟองสูงเช่นกัน โปรตีนไฮโดรไลเสทร้อยละ 0.5 1 3 และ 5 ให้ความจุฟองเท่ากับ 11.23 17.38 25.91 และ 27.35 ตามลำดับ ไฮโดรไลเสทที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสมีความจุฟองต่ำสุด โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มีความจุฟองและความคงตัวของฟองต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีขนาดความยาวของสายโซ่เปปไทด์สั้นจึงไม่สามารถห่อหุ้มอากาศไว้ได้ ลักษณะของโมเลกุลซึ่งรวมถึงความไม่ชอบน้ำของโมเลกุลและประจุมมีผลต่อการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง กล่าวคือโมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดไม่ชอบน้ำในปริมาณสูง ส่งผลให้เกิดการจับยึดกันของโมเลกุลดังกล่าวเป็นสายโซ่ที่มีความแข็งแรง ทำให้ฟองที่ได้คงตัวอยู่ได้นาน (Damodaran, 1997) ลักษณะเฉพาะของเอนไซม์แต่ละชนิดมีผลต่อสมบัติดังกล่าว โดยทั่วไปสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนไฮโดรไลเสทขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลาย และชนิดของเอนไซม์ กล่าวคือเปปไทด์สายสั้นหรือกรดอะมิโนอิสระมีสมบัติที่ต่อต้านสมบัติการเกิดฟองของโปรตีน

ไฮโดรไลเซส ดังนั้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นขนาดความยาวของสายโซ่เปปไทด์สั้นและมีน้ำหนักโมเลกุลลดลงส่งผลให้ความคงตัวของฟองลดลง (Nielsen, 1997) Xiong (1997) พบว่าการเกิดฟองของโปรตีนมีกลไกเช่นเดียวกับการเกิดอิมัลชัน ซึ่งจะต่างกันก็เฉพาะการเกิดฟองจะมีส่วนของอากาศแต่การเกิดอิมัลชันมีส่วนของน้ำมัน ซึ่งฟองเป็นระบบคอลลอยด์ที่มีฟองอากาศกระจายตัวอยู่ในของเหลว โปรตีนที่มีความสามารถในการเกิดฟองที่ดีจะต้องมีสมบัติที่ดีคือ การดูดซับอากาศและน้ำเอาไว้อย่างรวดเร็วในระหว่างการตีหรือการทำให้เกิดฟอง โดยที่ค่าแรงตึงผิวต้องไม่ลดลงอย่างรวดเร็ว ไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาด ทำให้เกิดฟิล์มที่มีความยืดหยุ่นระหว่างโมเลกุล ซึ่งจะทำให้ฟองที่ได้มีความคงตัวยิ่งขึ้น

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติเชิงหน้าที่โดยรวม พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส มีสมบัติการละลายสูงที่สุด แต่มีสมบัติการเกิดอิมัลชัน และการเกิดฟองต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nielsen (1997) พบว่าสมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไม่มีความสัมพันธ์กับการละลายของโปรตีน ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ นิวเทรส และปาเปนจะมีสมบัติการละลายต่ำกว่า แต่มีสมบัติการเกิดอิมัลชัน และการเกิดฟองสูงกว่า

ตารางที่ 15 ความจุฟองของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลาย  
โดยเอนไซม์ต่างๆที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ความจุฟอง (ร้อยละ)		
		อัลคาเลส	นิวเทรส	ปาเปน
35	0.5	3.25 <sup>c</sup>	17.18 <sup>d</sup>	11.23 <sup>d</sup>
	1	3.78 <sup>c</sup>	21.13 <sup>c</sup>	17.38 <sup>c</sup>
	3	5.42 <sup>b</sup>	32.78 <sup>b</sup>	25.91 <sup>b</sup>
	5	7.92 <sup>a</sup>	35.43 <sup>a</sup>	27.35 <sup>a</sup>
50	0.5	1.12 <sup>b</sup>	5.27 <sup>c</sup>	5.15 <sup>c</sup>
	1	1.78 <sup>a</sup>	5.43 <sup>c</sup>	5.17 <sup>c</sup>
	3	1.83 <sup>a</sup>	7.81 <sup>b</sup>	6.43 <sup>b</sup>
	5	1.85 <sup>a</sup>	9.54 <sup>a</sup>	7.92 <sup>a</sup>
65	0.5	0.95 <sup>a</sup>	1.34 <sup>b</sup>	1.10 <sup>b</sup>
	1	1.10 <sup>a</sup>	1.52 <sup>b</sup>	1.21 <sup>b</sup>
	3	0.98 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>	1.95 <sup>a</sup>
	5	1.10 <sup>a</sup>	2.12 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d ที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันของไฮโดรไลสที่ผลิตจาก  
เอนไซม์ชนิดเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ตารางที่ 16 ความคงตัวของฟองของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการ  
ย่อยสลายโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ความคงตัว (ร้อยละ)		
		อัลคาเลส	นิวเทรส	ปาเปน
35	0.5	-*	-	-
	1	-	2.17	-
	3	0.21	3.54	2.35
	5	0.33	3.72	2.79
50	0.5	-	-	-
	1	-	-	-
	3	-	0.72	0.10
	5	0.07	0.77	0.10
65	0.5	-	-	-
	1	-	-	-
	3	-	0.10	-
	5	-	0.13	-

หมายเหตุ \* ไม่มีความคงตัว

## ตอนที่ 5 การศึกษาความคงตัวของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเก็บรักษา

### 5.1 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลส

การเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 65 ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ให้ผลแสดงดังภาพที่ 27 28 และ 29 โปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำซึ่งเตรียมโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสมีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 6.21 เมื่อผ่านการเก็บรักษาที่สภาวะการเก็บต่างกัน (ภาพที่ 17) พบว่าภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้น เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลสไม่เปลี่ยนแปลงในช่วง 3 สัปดาห์แรก แต่ความชื้นจะเพิ่มขึ้นหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์หลังจากนั้นความชื้นมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบสภาวะการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลสที่สภาวะการเก็บทั้ง 3 สภาวะ พบว่า ที่อุณหภูมิห้องความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าสูงกว่าการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส ( $P < 0.05$ ) การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงความชื้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

ภาพที่ 18 แสดงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ซึ่งเก็บรักษาภายใต้สภาวะการเก็บรักษาต่างกัน พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสมีปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 4.25 เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความชื้นมีค่าเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะการเก็บที่อุณหภูมิห้อง ในขณะที่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นเริ่มสูงขึ้นหลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ส่วนการเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ความชื้นเพิ่มขึ้นหลังจากสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษา ความชื้นที่เพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณสูงกว่าตัวอย่างซึ่งผ่านการเก็บรักษาที่ 4 และ -20 องศาเซลเซียส ( $P < 0.05$ )

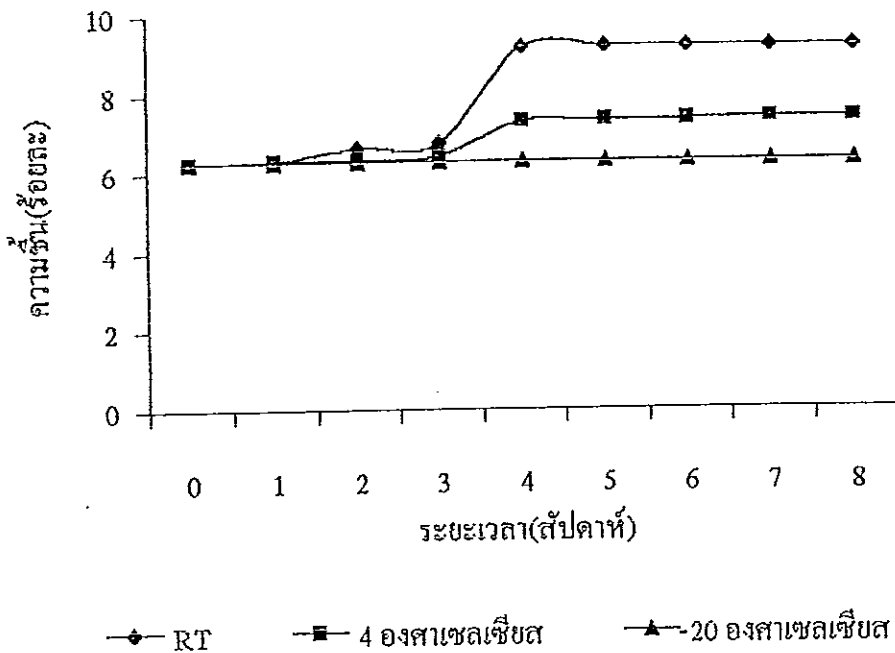
ภาพที่ 19 แสดงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปน (ความชื้นร้อยละ 4.71) ซึ่งผ่านการเก็บรักษาที่สภาวะการเก็บต่างกัน พบว่าเมื่อเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงขึ้นหลังจากเก็บรักษา 1 สัปดาห์ และมีค่าสูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ตัวอย่างซึ่งผ่านการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ  $-20$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 4 สัปดาห์แรก ภายใต้สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ  $-20$  องศาเซลเซียส พบว่ามีความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสและปาเปน ทั้งนี้ อาจเป็นผลเนื่องจากเอนไซม์อัลคาเลสย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาค่าได้เป็ปโทด์ที่มีสายโซ่สั้นกว่า ส่งผลให้สามารถดูดซับความชื้นจากอากาศได้ดีกว่า การเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทในถุงโพลีเอทิลีนไม่สามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามการเก็บโปรตีนไฮโดรไลเสทในถุงโพลีเอทิลีนที่อุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงความชื้นของไฮโดรไลเสทได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง

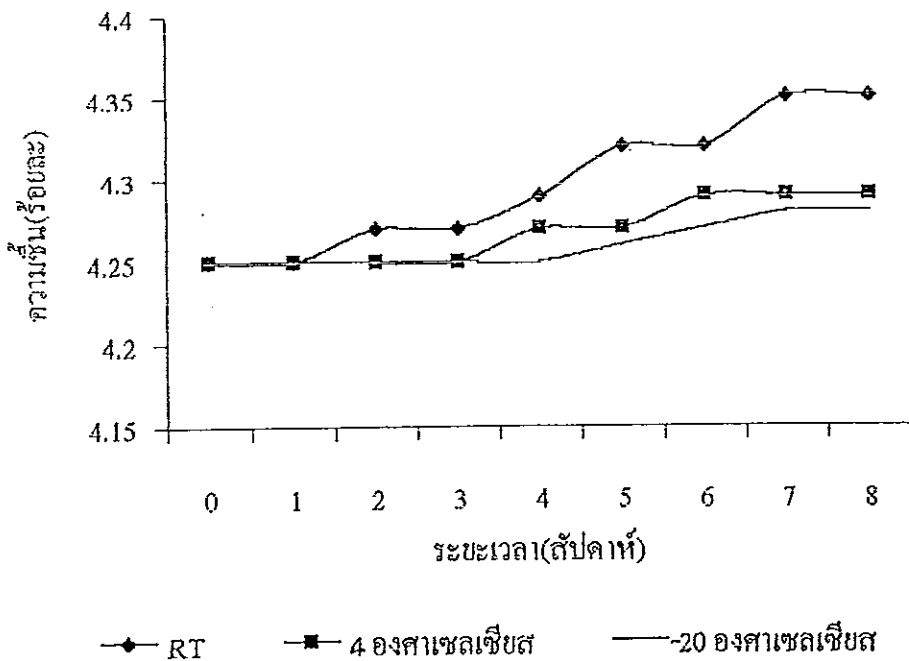


## 5.2 การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของ โปรตีนไฮโดรไลเสท

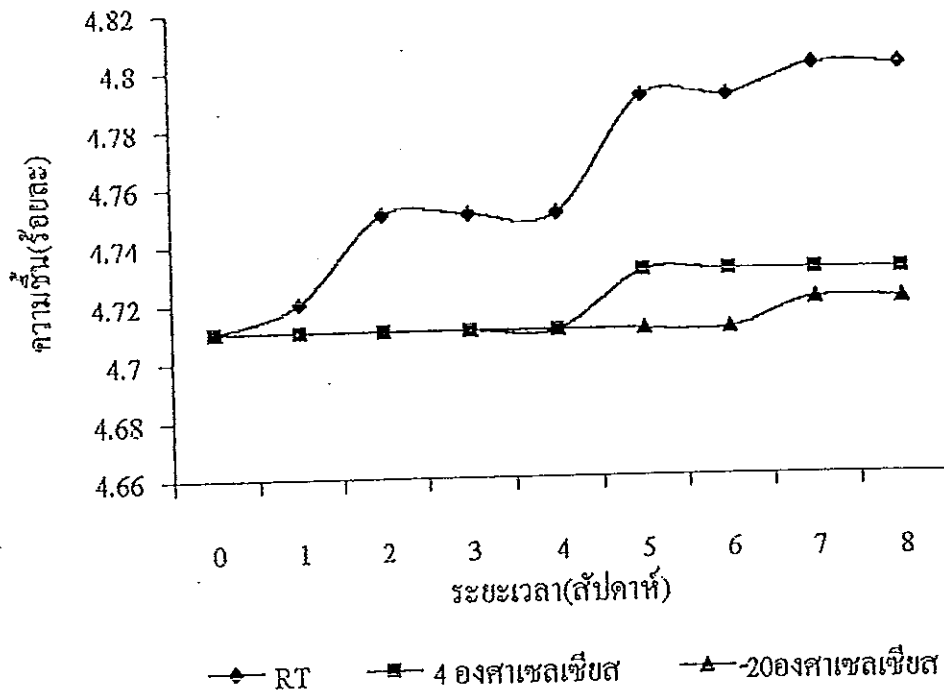
การกำจัดหรือการแยกไขมันออกจากโปรตีนไฮโดรไลเสทมีผลต่อคุณภาพทางด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสทและยังส่งผลกระทบต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสทเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน (Edward, 1967) เนื่องจากไขมันในผลิตภัณฑ์อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะการเกิดออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดกลิ่นหืนได้ ดังนั้นการตรวจหาปริมาณทีบีเออาร์เอสจึงเป็นวิธีบ่งบอกถึงการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสท เมื่อเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส (ภาพที่ 20) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาต่างกันคือ ที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ไฮโดรไลเสทมีปริมาณทีบีเออาร์เอสสูงกว่าไฮโดรไลเสทซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสให้ค่าทีบีเออาร์เอสของไฮโดรไลเสทสูงกว่าการเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส เนื่องจากการเก็บรักษาภายใต้สภาวะอุณหภูมิห้องมีผลเร่งให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันที่เหลือในผลิตภัณฑ์ ในขณะที่อุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของไขมันได้ดี โดยเฉพาะการเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิเวเทสและปาเปน (ภาพที่ 21 และ 22 ) ซึ่งพบว่าเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องส่งผลให้ค่าทีบีเออาร์เอสเพิ่มขึ้น โดยในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา ปริมาณทีบีเออาร์เอสมีค่าเพิ่มขึ้นและหลังจากนั้นมีค่าคงที่ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากโปรตีนไฮโดรไลเสทมีไขมันเหลืออยู่ในปริมาณต่ำ (ตารางที่ 10) และอาจเป็นผลสืบเนื่องจากการเปปไทด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสทสามารถแสดงสมบัติการป้องกันการออกซิเดชัน (Shahidi and Amarowicz, 1996) Shahidi และ Amarowicz (1996) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายจากเคปลิน (*Mallotus villosus*) และ แมวน้ำ (*Phoca groenlandica*) แสดงสมบัติเป็นสารกันหืนในไขมัน การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทในปริมาณ 5 และ 10 มิลลิกรัมสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี



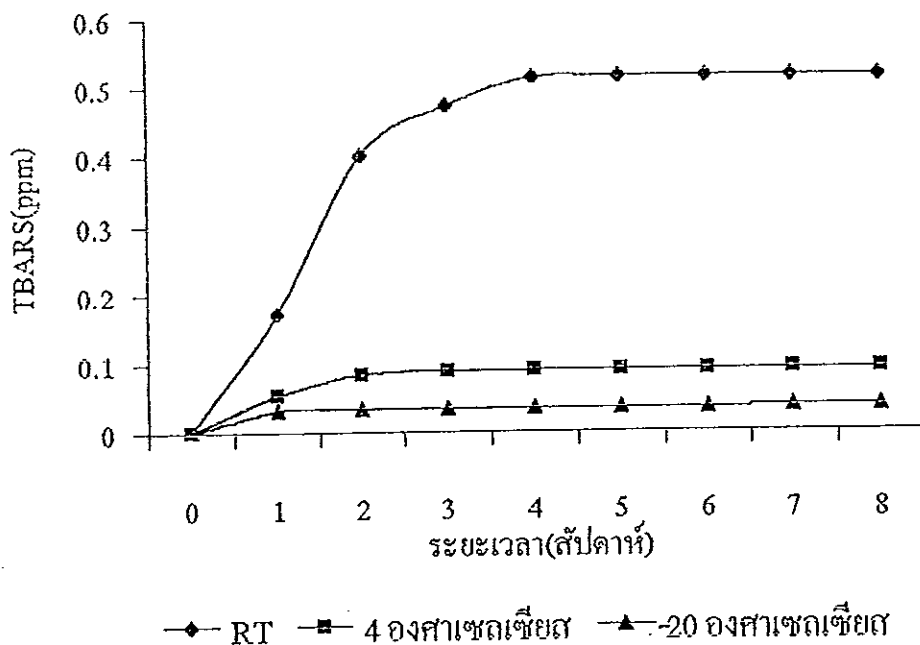
ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



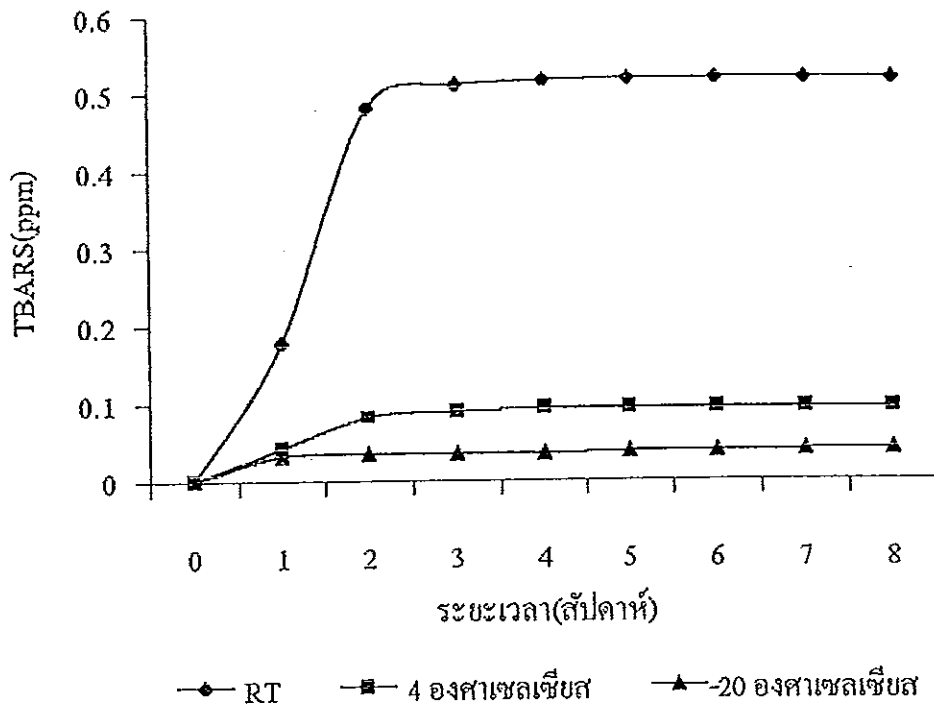
ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์นิวเทรสระหว่าง การเก็บรักษา ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



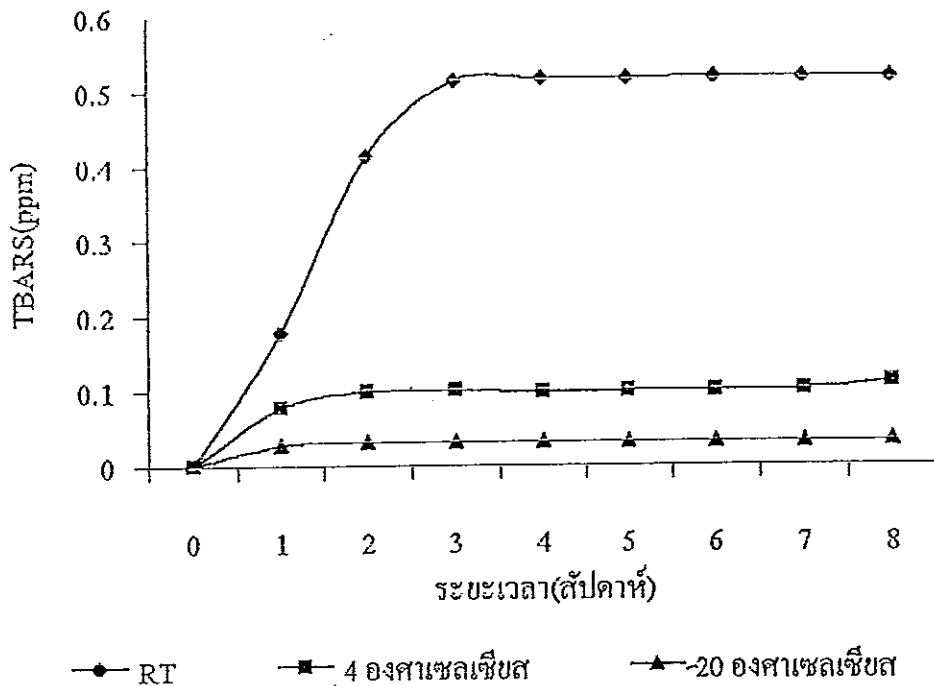
ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ป่าเป็นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำ ที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์นิวเทรสระหว่างการรักษาที่อุณหภูมิต่างๆเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงค่าทีบีเออาร์เอสของโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำ ที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปาเปนระหว่างการรักษา ที่อุณหภูมิ ต่างๆเป็น ระยะเวลา 8 สัปดาห์

### 5.3 การเปลี่ยนแปลงของสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง

การเกิดสีน้ำตาลโดยเฉพาะปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) จัดเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของอาหารทั้งทางด้านโภชนาการและความปลอดภัย และมีผลต่อลักษณะกายภาพของอาหารเช่น สี กลิ่น รสและเนื้อสัมผัส สีน้ำตาลเกิดจากการทำปฏิกิริยาที่ซับซ้อนระหว่างโปรตีน หมูอัลดีไฮด์หรือคีโตนของน้ำตาลรีดิวซ์ เกิดเป็นสารประกอบเมลานอยดินซึ่งมีสีน้ำตาล (Rizzi, 1994)

การเปลี่ยนแปลงของสีน้ำตาลในโปรตีนไฮโดรไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ผ่านการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ที่สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันคือ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27-28 องศาเซลเซียส) การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 17 18 และ 19 ตามลำดับ การเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้องเกิดขึ้นน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โปรตีนไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาล ( $p > 0.05$ ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส ในขณะที่เมื่อเก็บไฮโดรไลสที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ( $p < 0.05$ ) สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในตัวอย่างที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ต่างกันไม่ต่างกัน ( $p > 0.05$ ) การเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลสที่อุณหภูมิสูง และมีความชื้น โปรตีนไฮโดรไลสสามารถเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้รวดเร็วยิ่งขึ้น นอกจากนี้ไขมันที่หลงเหลือจากการสกัดอาจส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลโดยเฉพาะไลโปโปรตีนซึ่งมีหมู่ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อัลดีไฮด์ของน้ำตาลรีดิวซ์ได้ (Rizzi, 1994) ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือเอมีนเกิดเป็นสารประกอบสีน้ำตาลได้เช่นกัน

Hoyle และ Merritt (1994) กล่าวว่า การเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้องในอาหารโปรตีนเกิดขึ้นเมื่อมีการใช้พลังงานสูง หรือการใช้ความร้อนสูง เช่น การปรุง การระเหย และการทำแห้ง เป็นต้น Rizzi (1994) กล่าวว่า การเกิดสีน้ำตาลโดยเฉพาะปฏิกิริยาเมลลาร์ด จะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงและพีเอชสูง โดยเฉพาะเมื่อโปรตีน

ประกอบด้วยแอลฟา-อะมิโนแอซิดชนิดไลซีนเป็นองค์ประกอบและอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสม

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนไฮโครไลสจากหัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ระหว่างการเก็บรักษา ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ระยะเวลา(สัปดาห์)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 420 นาโนเมตร		
	อัลคาเลส	นิวเทรส	ปาเปน
1	0.516 <sup>aA</sup>	0.509 <sup>aA</sup>	0.497 <sup>aA</sup>
2	0.518 <sup>aA</sup>	0.510 <sup>aA</sup>	0.512 <sup>aA</sup>
3	0.517 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>
4	0.516 <sup>aA</sup>	0.508 <sup>aA</sup>	0.506 <sup>aA</sup>
5	0.508 <sup>aA</sup>	0.508 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>
6	0.512 <sup>aA</sup>	0.507 <sup>aA</sup>	0.502 <sup>aA</sup>
7	0.509 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>	0.499 <sup>aA</sup>
8	0.508 <sup>aA</sup>	0.499 <sup>aA</sup>	0.502 <sup>aA</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันและอักษร A ที่เหมือนกันในแนวนอนเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลสจาก  
หัวกุ้งกุลาดำที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรต และ  
ปาเปนระหว่างการเก็บรักษา ที่ อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา  
8 สัปดาห์

ระยะเวลา(สัปดาห์)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 420 นาโนเมตร		
	อัลคาเลส	นิวเทรต	ปาเปน
1	0.484 <sup>ca</sup>	0.491 <sup>bcA</sup>	0.490 <sup>ca</sup>
2	0.494 <sup>bcA</sup>	0.487 <sup>ca</sup>	0.495 <sup>bcA</sup>
3	0.499 <sup>abA</sup>	0.500 <sup>abA</sup>	0.501 <sup>ba</sup>
4	0.499 <sup>abA</sup>	0.501 <sup>abA</sup>	0.503 <sup>abA</sup>
5	0.501 <sup>abA</sup>	0.502 <sup>aA</sup>	0.507 <sup>abA</sup>
6	0.509 <sup>aA</sup>	0.508 <sup>aA</sup>	0.501 <sup>abA</sup>
7	0.507 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>	0.504 <sup>abA</sup>
8	0.506 <sup>aA</sup>	0.509 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันและอักษร A ที่เหมือนกันใน  
แนวนอนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ตารางที่ 19 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลสจาก

หัวกุ้งกุลาค่าที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และ  
ปาเปนระหว่างการเก็บรักษา ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8  
สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 420 นาโนเมตร		
	อัลคาเลส	นิวเทรส	ปาเปน
1	0.498 <sup>aA</sup>	0.495 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>
2	0.499 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>	0.498 <sup>aA</sup>
3	0.507 <sup>aA</sup>	0.507 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>
4	0.502 <sup>aA</sup>	0.500 <sup>aA</sup>	0.508 <sup>aA</sup>
5	0.503 <sup>aA</sup>	0.505 <sup>aA</sup>	0.503 <sup>aA</sup>
6	0.506 <sup>aA</sup>	0.507 <sup>aA</sup>	0.505 <sup>aA</sup>
7	0.505 <sup>aA</sup>	0.505 <sup>aA</sup>	0.509 <sup>aA</sup>
8	0.503 <sup>aA</sup>	0.507 <sup>aA</sup>	0.508 <sup>aA</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันและอักษร A ที่เหมือนกันในแนวนอนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ )



#### 5.4 การเปลี่ยนแปลงสีของโปรตีนไฮโดรไลเซต

โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้องมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย โดยเฉพาะโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนมีสีเข้มขึ้น โดยมีค่าความสว่าง (L) ลดลง และค่าสีแดง (a) เพิ่มขึ้น ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรรมีค่าความสว่างลดลงเล็กน้อยแต่ค่าสีแดง (a) และค่าสีเหลือง (b) มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ตารางที่ 20) ในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลโดยปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้องทำให้ไฮโดรไลเซตมีสีคล้ำเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 21 แสดงค่า L a และ b ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มีการเปลี่ยนแปลงของสีน้อยกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง การเปลี่ยนแปลงสีของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดเกิดขึ้นน้อย เนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลต่ำกว่า และชะลอการเกิดการออกซิเดชันของไขมันที่เหลืออยู่ในไฮโดรไลเซต

เมื่อเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเซตในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $-20$  องศาเซลเซียส (ตารางที่ 22) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ซึ่งเป็นผลเนื่องจากในสภาวะการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ อุณหภูมิต่ำ ( $-20$  องศาเซลเซียส) มีผลชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลและป้องกันการเปลี่ยนแปลงของไขมันได้ดี สารคาร์บอนิลเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์สามารถเป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Maillard reaction) ดังนั้นการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจึงสามารถลดอัตราการเกิดสีน้ำตาลในไฮโดรไลเซต

ตารางที่ 20 ค่า L a และ b ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดย  
เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนระหว่างการเก็บรักษา  
ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ระยะ เวลา (สัปดาห์)	อัลคาเลส			นิวเทรส			ปาเปน		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	90.92 <sup>d</sup>	0.96 <sup>a</sup>	13.88 <sup>a</sup>	91.16 <sup>d</sup>	0.93 <sup>a</sup>	13.98 <sup>a</sup>	88.06 <sup>b</sup>	-0.29 <sup>a</sup>	8.8 <sup>d</sup>
2	90.82 <sup>d</sup>	1.03 <sup>ab</sup>	14.29 <sup>b</sup>	91.05 <sup>cd</sup>	0.96 <sup>a</sup>	14.56 <sup>b</sup>	88.17 <sup>b</sup>	-0.29 <sup>a</sup>	8.8 <sup>d</sup>
3	90.21 <sup>c</sup>	1.13 <sup>bc</sup>	14.29 <sup>b</sup>	90.96 <sup>cd</sup>	0.86 <sup>a</sup>	14.65 <sup>b</sup>	88.29 <sup>b</sup>	-0.31 <sup>a</sup>	8.2 <sup>c</sup>
4	90.10 <sup>c</sup>	1.03 <sup>ab</sup>	14.65 <sup>c</sup>	90.31 <sup>abc</sup>	1.00 <sup>a</sup>	14.65 <sup>b</sup>	88.21 <sup>b</sup>	-0.10 <sup>b</sup>	7.6 <sup>c</sup>
5	90.08 <sup>c</sup>	1.16 <sup>bc</sup>	15.22 <sup>d</sup>	90.15 <sup>ab</sup>	1.00 <sup>a</sup>	14.85 <sup>b</sup>	88.10 <sup>b</sup>	-0.11 <sup>b</sup>	7.6 <sup>c</sup>
6	89.63 <sup>b</sup>	1.26 <sup>c</sup>	15.23 <sup>d</sup>	90.89 <sup>bcd</sup>	1.23 <sup>b</sup>	15.10 <sup>c</sup>	87.71 <sup>b</sup>	-0.11 <sup>b</sup>	7.24 <sup>b</sup>
7	89.55 <sup>b</sup>	1.16 <sup>bc</sup>	15.31 <sup>d</sup>	90.37 <sup>acd</sup>	1.25 <sup>b</sup>	15.11 <sup>c</sup>	85.38 <sup>a</sup>	0.22 <sup>c</sup>	7.26 <sup>b</sup>
8	89.26 <sup>a</sup>	1.16 <sup>bc</sup>	15.38 <sup>d</sup>	89.91 <sup>a</sup>	1.27 <sup>b</sup>	15.26 <sup>d</sup>	85.39 <sup>a</sup>	0.21 <sup>c</sup>	7.19 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c และd ที่เหมือนกันในสคมส์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน  
ทางสถิติ( $p>0.05$ )

ตารางที่ 21 ค่า L a และ b ของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดย  
เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนระหว่างการศึกษา  
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สัปดาห์	อัลคาเลส			นิวเทรส			ปาเปน		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	90.86 <sup>de*</sup>	1.03 <sup>ab</sup>	14.04 <sup>b</sup>	91.18 <sup>a</sup>	0.88 <sup>ab</sup>	14.68 <sup>a</sup>	87.35 <sup>a</sup>	-0.31 <sup>c</sup>	8.21 <sup>a</sup>
2	90.54 <sup>bcd</sup>	1.10 <sup>b</sup>	13.33 <sup>a</sup>	91.70 <sup>b</sup>	1.07 <sup>bc</sup>	14.82 <sup>b</sup>	87.23 <sup>a</sup>	-0.47 <sup>a</sup>	8.22 <sup>a</sup>
3	89.84 <sup>a</sup>	1.22 <sup>c</sup>	13.63 <sup>a</sup>	91.80 <sup>b</sup>	1.12 <sup>bc</sup>	15.13 <sup>cd</sup>	87.49 <sup>b</sup>	-0.40 <sup>b</sup>	8.67 <sup>b</sup>
4	90.60 <sup>cde</sup>	1.31 <sup>c</sup>	14.39 <sup>bc</sup>	92.04 <sup>c</sup>	0.63 <sup>a</sup>	15.36 <sup>c</sup>	89.37 <sup>d</sup>	-0.30 <sup>c</sup>	9.00 <sup>c</sup>
5	90.11 <sup>ab</sup>	1.29 <sup>c</sup>	14.66 <sup>c</sup>	92.31 <sup>d</sup>	0.89 <sup>ab</sup>	15.07 <sup>c</sup>	89.04 <sup>c</sup>	-0.19 <sup>d</sup>	9.28 <sup>d</sup>
6	91.03 <sup>e</sup>	1.22 <sup>c</sup>	15.15 <sup>d</sup>	92.60 <sup>ef</sup>	1.10 <sup>bc</sup>	15.21 <sup>d</sup>	89.71 <sup>c</sup>	-0.32 <sup>c</sup>	9.29 <sup>d</sup>
7	90.37 <sup>bc</sup>	1.00 <sup>a</sup>	15.26 <sup>d</sup>	92.66 <sup>f</sup>	1.22 <sup>c</sup>	15.16 <sup>cd</sup>	90.04 <sup>f</sup>	0.30 <sup>c</sup>	9.22 <sup>d</sup>
8	91.70 <sup>f</sup>	1.23 <sup>c</sup>	15.32 <sup>d</sup>	92.47 <sup>de</sup>	1.11 <sup>bc</sup>	15.24 <sup>d</sup>	90.34 <sup>e</sup>	0.31 <sup>c</sup>	9.31 <sup>d</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d,e,f และ g ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันไม่มีความแตกต่าง  
กันทางสถิติ(p>0.05)

ตารางที่ 22 ค่า L a และ b ของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์  
อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปนระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ -20  
องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สัปดาห์	อัลคาเลส			นิวเทรส			ปาเปน		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	90.96 <sup>de</sup>	1.03 <sup>ab</sup>	14.04 <sup>b</sup>	91.18 <sup>a</sup>	0.88 <sup>ab</sup>	14.68 <sup>ab</sup>	87.35 <sup>a</sup>	-0.31 <sup>a</sup>	8.81 <sup>a</sup>
2	90.74 <sup>bcd</sup>	1.09 <sup>b</sup>	13.63 <sup>a</sup>	91.70 <sup>b</sup>	1.07 <sup>bc</sup>	14.82 <sup>b</sup>	87.23 <sup>a</sup>	-0.47 <sup>c</sup>	8.72 <sup>a</sup>
3	89.94 <sup>a</sup>	1.12 <sup>c</sup>	13.63 <sup>a</sup>	91.80 <sup>b</sup>	1.12 <sup>bc</sup>	14.63 <sup>a</sup>	87.49 <sup>b</sup>	-0.40 <sup>b</sup>	8.67 <sup>a</sup>
4	90.60 <sup>cdc</sup>	1.14 <sup>c</sup>	14.69 <sup>bc</sup>	92.04 <sup>c</sup>	0.83 <sup>a</sup>	14.36 <sup>a</sup>	88.37 <sup>b</sup>	-0.30 <sup>c</sup>	9.00 <sup>ba</sup>
5	90.61 <sup>ab</sup>	1.20 <sup>c</sup>	14.66 <sup>c</sup>	92.31 <sup>d</sup>	0.89 <sup>ab</sup>	15.07 <sup>c</sup>	88.04 <sup>b</sup>	-0.29 <sup>a</sup>	9.12 <sup>b</sup>
6	91.03 <sup>e</sup>	1.22 <sup>c</sup>	14.25 <sup>d</sup>	92.60 <sup>ef</sup>	1.10 <sup>bc</sup>	15.01 <sup>c</sup>	89.71 <sup>d</sup>	-0.32 <sup>a</sup>	9.12 <sup>b</sup>
7	90.37 <sup>bc</sup>	1.00 <sup>a</sup>	14.26 <sup>d</sup>	92.66 <sup>f</sup>	1.12 <sup>c</sup>	15.16 <sup>bd</sup>	89.04 <sup>c</sup>	-0.30 <sup>a</sup>	9.12 <sup>b</sup>
8	91.70 <sup>f</sup>	1.23 <sup>c</sup>	14.32 <sup>d</sup>	92.47 <sup>de</sup>	1.11 <sup>bc</sup>	15.14 <sup>d</sup>	90.34 <sup>c</sup>	-0.31 <sup>a</sup>	9.11 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d และ e ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน  
ทางสถิติ(p>0.05)

## ตอนที่ 6 การศึกษาองค์ประกอบและสมบัติของน้ำมันดิบ

### 6.1 องค์ประกอบและสมบัติของน้ำมันดิบ

องค์ประกอบและสมบัติของน้ำมันจากหัวกึ่งกลาคำที่ได้จากกระบวนการสกัดไขมันโดยใช้ไอโซโพรพานอลเป็นสารสกัด (ตอนที่ 2) แสดงในตารางที่ 23 น้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟไลปิด ปริมาณร้อยละ 53.90 และ 46.09 ตามลำดับ เนื่องจากน้ำมันประกอบด้วยฟอสโฟไลปิดปริมาณสูง ดังนั้นน้ำมันดิบดังกล่าวอาจประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในปริมาณสูง ทั้งนี้เนื่องจากฟอสโฟไลปิดส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (Bakir, *et al.*, 1993) กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในฟอสโฟไลปิดที่พบในน้ำมันจากปลาเทราท์ไซว์ ประกอบด้วยกรดไขมันชนิด 14:0 16:0 16:1 $\omega$ 7 18:1 $\omega$ 9 18:1 $\omega$ 7 18:1 $\omega$ 6 20:5 $\omega$ 3 และ 22:6 $\omega$ 3 สูง (Bakir, *et al.*, 1993)

ค่าไอโอดีนของน้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำมีค่าเท่ากับ 101.79 ซึ่งอยู่ในช่วงข้อกำหนดคุณภาพของน้ำมันปลาเคปติน ค่าไอโอดีนเป็นค่าแสดงความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมัน โดยโมเลกุลของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากจะให้ค่าไอโอดีนสูงกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่น้อยกว่า (Swern, 1964a)

ค่าสปอนนิฟิเคชันของน้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำมีค่าเท่ากับ 212.52 ซึ่งค่าสปอนนิฟิเคชันของไขมันหรือน้ำมัน เป็นตัวบ่งบอกถึงขนาดหรือน้ำหนักโมเลกุลของน้ำมันหรือไขมัน ไขมันหรือน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำหรือขนาดของโมเลกุลเล็กหรือมีจำนวนของคาร์บอนในโมเลกุลน้อยจะให้ค่าสปอนนิฟิเคชันสูง และในทางตรงข้ามไขมันหรือน้ำมันที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง หรือมีขนาดของโมเลกุลใหญ่หรือมีจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลมาก จะมีค่าสปอนนิฟิเคชันต่ำ (Mounts and List, 1996)

น้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำมีกรดไขมันอิสระร้อยละ 17.29 และค่าเปอร์ออกไซด์ 22.86 มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าข้อกำหนดคุณภาพของน้ำมันปลาเคปติน ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดน้ำมันที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30

นาที่ อาจมีผลเร่งให้เกิดการออกซิเดชันของน้ำมัน ค่ากรดไขมันอิสระเป็นค่าบ่งบอกถึง การสลายตัวของพันธะเอสเทอร์ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ซึ่งสามารถเร่งโดย เอนไซม์ไลเปส ถ้ากรดไขมันอิสระมีค่าสูงแสดงว่าไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซ์ได้เป็น กรดไขมันอิสระมากขึ้นส่งผลให้เกิดการหืนชนิด hydrolytic rancidity เกิดขึ้นในไขมัน หรือน้ำมัน (Sonntag, 1979b) ส่วนค่าเปอร์ออกไซด์เป็นค่าบ่งบอกการออกซิเดชันของ น้ำมันหรือไขมันขณะที่เก็บน้ำมันหรือไขมันสัมผัสกับอากาศ โดยเกิดการหืนชนิด oxidative rancidity ที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว น้ำมันหรือไขมันที่ ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงสามารถเกิด oxidative rancidity ได้ง่าย (Mounts and List, 1996) จากการทดลองพบว่าค่าเปอร์ออกไซด์มีค่าสูงกว่าข้อกำหนด ของน้ำมันปลาทุกชนิด อาจเป็นผลจากน้ำมันกึ่งดิบที่สกัดได้เกิดการออกซิเดชันทั้งใน ขั้นตอนการสกัดไขมันและการเก็บตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์

น้ำมันที่ได้จากหัวกุ้งกุลาดำมีความชื้นและสิ่งทีระเหยได้ร้อยละ 6.21 ซึ่งมีค่าสูง กว่าค่ากำหนดคุณภาพของน้ำมันปลาดิบ ความชื้นมีผลต่อคุณภาพของน้ำมันเพราะ สามารถสนับสนุนให้เกิดการสลายตัวของไตรกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันอิสระได้ (Mounts and List, 1996) น้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ มีลักษณะสีส้ม-แดง ซึ่งมีค่าสีเท่ากับ 42.71 เนื่องจากน้ำมันที่สกัดได้จากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยแคโรทีนอยด์สูงถึง 40.46 มิลลิกรัมแอสทาแซนทีนต่อ 100 กรัม ซึ่งส่งผลให้น้ำมันที่ได้มีลักษณะสีส้ม-แดง

เมื่อวัดค่าดัชนีหักเหของแสงในน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ พบว่าอยู่ในช่วง 1.330-1.340 ซึ่งค่าดัชนีหักเหของแสงสามารถบ่งชี้ระดับความไม่อิ่มตัวของน้ำมัน หรือไขมัน ค่าดัชนีหักเหของแสงสูงแสดงถึงระดับความไม่อิ่มตัวของน้ำมันหรือไขมันสูงซึ่งสัมพันธ์กับค่าไอโอดีน กล่าวคือน้ำมันที่มีค่าไอโอดีนสูง ค่าดัชนีหักเหของ แสงมีค่าสูงเช่นกัน (Swern, 1964a) น้ำมันจากหัวกุ้งกุลาดำมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิสามารถบ่งชี้ระดับความไม่อิ่มตัวของไขมันหรือน้ำมันเช่นกัน คือจุดหลอมเหลวต่ำบ่งบอกถึงระดับความไม่อิ่มตัวของไขมันหรือน้ำมันสูง และค่า จุดหลอมเหลวสัมพันธ์กับค่าไอโอดีนและค่าดัชนีหักเหของแสง กล่าวคือเมื่อน้ำมันมี ค่าดัชนีหักเหของแสงและค่าไอโอดีนสูงจุดหลอมเหลวของน้ำมันมักมีค่าต่ำ ดังนั้น น้ำมันจากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวปริมาณสูง

ตารางที่ 23 องค์ประกอบและสมบัติของน้ำมันดิบ

องค์ประกอบ/สมบัติ	น้ำมันดิบจากหัว กึ่งกลาค่า	ค่ากำหนดคุณภาพของ* น้ำมันปลาคีบ
ฟอสโฟไลปิด(ร้อยละ นน./นน.)	46.09	ND**
ไตรกลีเซอไรด์(ร้อยละ นน./นน.)	53.90	ND
ค่าไอโอดีน (กรัมไอโอดีนต่อร้อยกรัมน้ำมัน)	101.79	95-160 (ปลาคาเปลิน) 115-160(ปลาแฮร์ริง) 150-200(ปลาเมนฮาเดน) 160-200(ปลาชาร์ดีน) 180-200(ปลาแอนโชวี)
ค่าสปอนนิฟิเคชัน (มิลลิลิตร KOH/กรัมน้ำมัน)	212.52	ND
ค่ากรดไขมันอิสระ(ร้อยละ)	17.29	2-5
ค่าเปอร์ออกไซด์ (มิลลิลิตรสมมูลย์/กิโลกรัม น้ำมัน)	22.86	3-20
ความชื้นและสิ่งที่ระเหยได้(ร้อยละ)	6.21	0.5-1.0
ค่าสี	42.71	ND
ค่าครรชนีหักเหของแสง	1.330 -1.340	ND
ค่าจุดหลอมเหลว(องศาเซลเซียส)	20	ND
ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิลิตรแอสทาแซนทีน/100กรัม น้ำมัน)	40.46	ND

\* คัดแปลงจาก Bimbo (1990)

\*\* ND = non detect

## 6.2 การศึกษาความคงตัวของน้ำมันดิบ

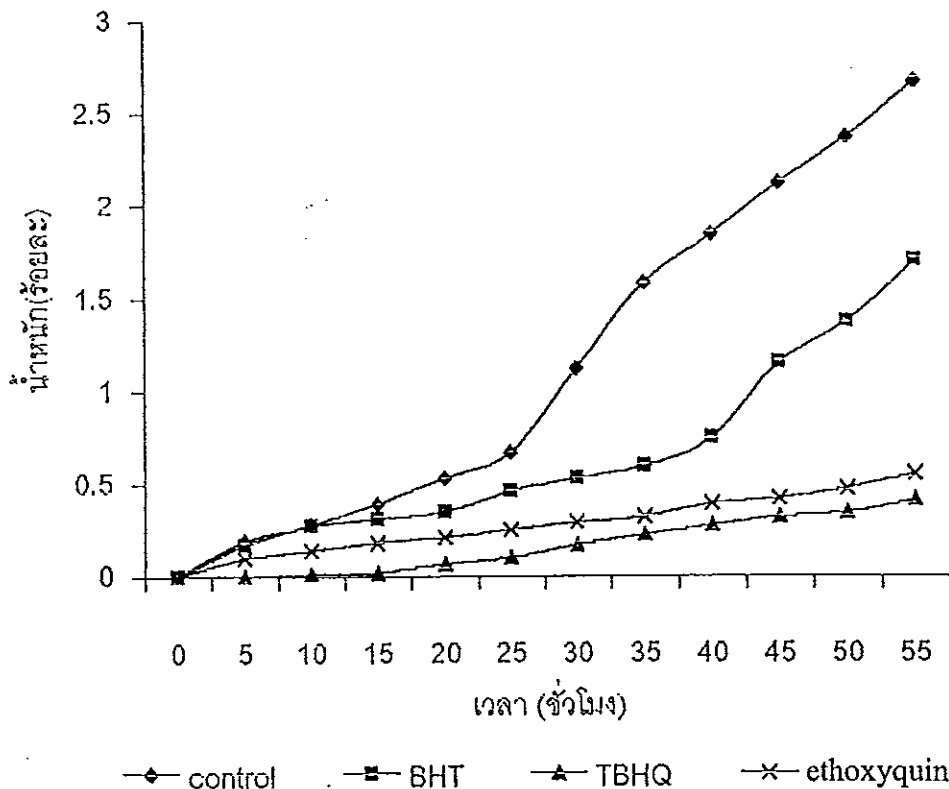
ทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่างน้ำมันดิบ และน้ำมันดิบที่เติมสารกันหืน 3 ชนิด คือ บีเอชที ทีบีเอชคิว และ อีทอกซีควิน ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และตรวจวัดน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ทุก 1 ชั่วโมง (ภาพที่ 23) และวิเคราะห์ปริมาณ ทีบีเออาร์เอส เปอร์ออกไซด์ กรดไขมันอิสระ และปริมาณคอนจูเกตไดอิน ทุก 5 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 24 25 26 และ 27 ตามลำดับ การวิเคราะห์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของน้ำมัน (ภาพที่ 23) พบว่า น้ำมันที่ไม่เติมสารกันหืนมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.6 เมื่อระยะเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง โดยที่ปริมาณทีบีเออาร์เอส และ ค่าเปอร์ออกไซด์ รวมถึงคอนจูเกตไดอิน เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมัน โดยมีอุณหภูมิสูงและออกซิเจน เป็นตัวเร่งให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว เมื่อเกิดการออกซิเดชันของน้ำมันที่พันธะคู่ทำให้น้ำมันมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น จำนวนพันธะคู่ลดลงโดยถูกแทนที่โดยอะตอมของออกซิเจน (Guntensperger, 1998) ในขณะที่น้ำมันผ่านการเติมสารกันหืน น้ำหนักจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยพบว่า น้ำมันที่เติมบีเอชที น้ำหนักจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.6 ในชั่วโมงที่ 35 ส่วนน้ำมันที่ผ่านการเติมอีทอกซีควิน และ ทีบีเอชคิว มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นไม่ถึงร้อยละ 0.6 ภายใน 55 ชั่วโมง โดยเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.55 และ 0.41 ตามลำดับ และปริมาณทีบีเออาร์เอสเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเช่นกันคือมีค่า 19.81 และ 15.41 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (ภาพที่ 24) ดังนั้นน้ำมันที่เติมสารกันหืนมีอัตราการเสื่อมเสียช้ากว่าน้ำมันที่ไม่เติมสารกันหืน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าเปอร์ออกไซด์ (ภาพที่ 25) และปริมาณคอนจูเกตไดอิน (ภาพที่ 27) การเติมสารกันหืนชนิดต่างๆ ไม่มีผลให้ปริมาณกรดไขมันอิสระที่ต่างกัน (ภาพที่ 26)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมัน เริ่มจากน้ำมันดูดซับออกซิเจนในอากาศและทำปฏิกิริยากับน้ำมันเกิดเป็นสารเปอร์ออกไซด์ ในระยะเริ่มต้นของปฏิกิริยา (initial phase) ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ การสร้างสารเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นเร็วกว่าการสลายตัว อัตราการสร้างสารเปอร์ออกไซด์จะขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนที่ถูกดูดซับ และเมื่อปฏิกิริยาคำเนินไปจนถึงระดับหนึ่งน้ำมันเริ่มเกิดกลิ่นหืน ช่วงนี้จะเป็นระยะเริ่มต้นของระยะที่สองในปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารเปอร์ออกไซด์จะสลายตัวเกิดเป็นสาร

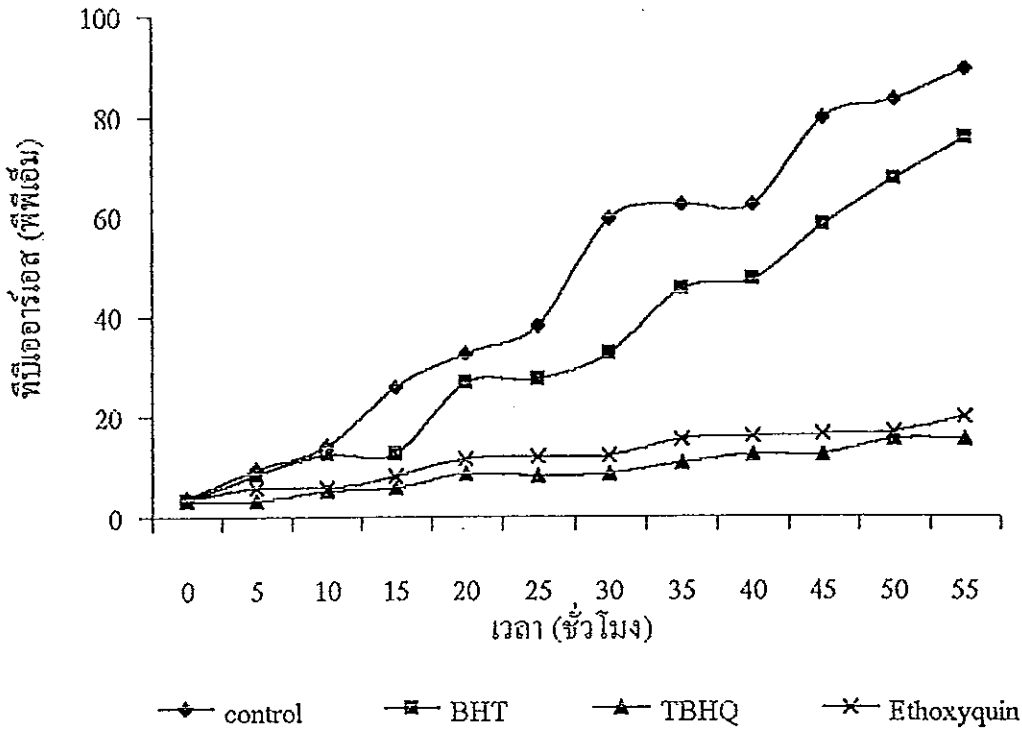


ประกอบที่ระเหยได้และสารประกอบที่ระเหยไม่ได้ ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีของน้ำมัน เมื่อเวลาผ่านไปจนถึงระยะสุดท้ายของปฏิกิริยาออกซิเดชัน น้ำมันจะรวมตัวโดยกระบวนการโพลีเมอไรเซชันอย่างรวดเร็ว เกิดการเสื่อมเสียและมีความหนืดสูงขึ้น (Mounts and List, 1996) อัตราการดูดซับออกซิเจนของน้ำมันจะถูกเร่งด้วยความร้อน ซึ่งอาจเกิดร่วมกับแสงหรือแสงอุลตราไวโอเลตที่สัมผัสกับน้ำมัน (Somntag, 1979b)

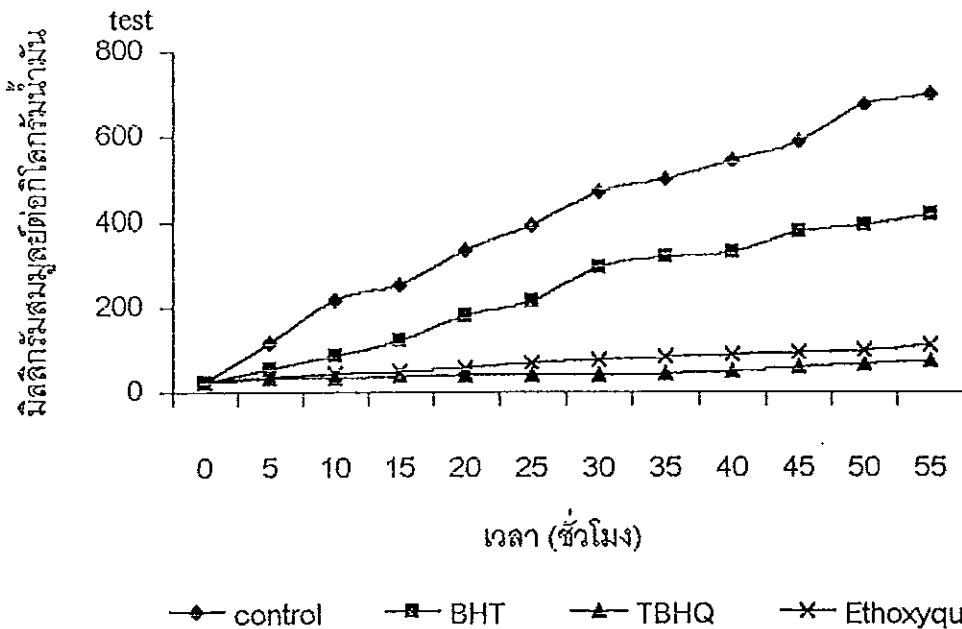
เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสารกันหืนทั้ง 3 ชนิดพบว่าทีบีเอชคิว และอีทอกซีควินมีประสิทธิภาพในการเป็นสารกันหืนในน้ำมันจากหัวกุ้งกุลาดำคั่วที่สุด คือมีค่ามากกว่า 2.39 ในขณะที่ บีเอชที มีประสิทธิภาพในการเป็นสารกันหืนเท่ากับ 1.52 ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ ทีบีเอชคิวและอีทอกซีควิน สูงกว่า บีเอชที



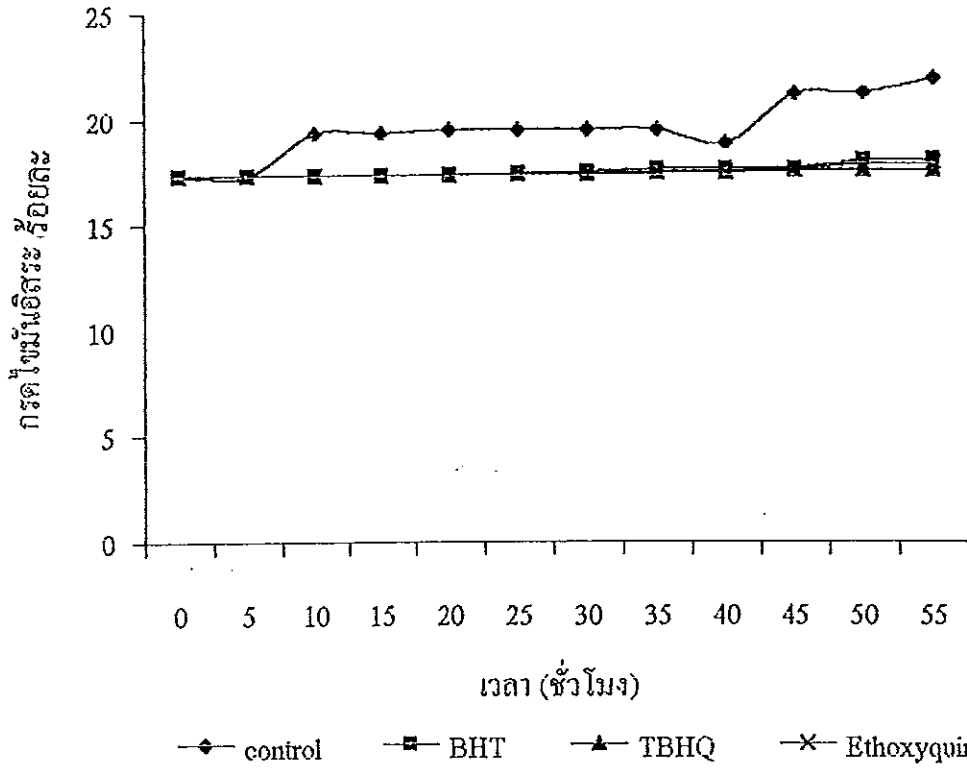
ภาพที่ 23 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสารกันหืนชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบ โดยวิธี accelerated oxidation test



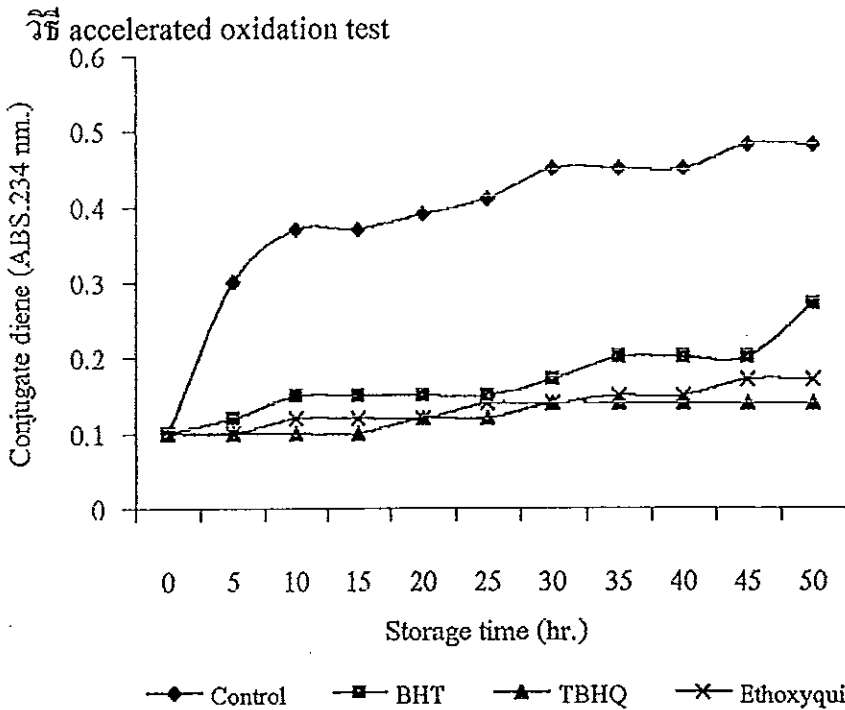
ภาพที่ 34 ปริมาณที่บีเออาร์เอสของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสารกันหืนชนิดต่างๆ  
เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดยวิธี accelerated oxidation



ภาพที่ 35 ปริมาณเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสารกันหืนชนิด  
ต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดยวิธี accelerated  
oxidation test



ภาพที่ 36 ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสารกันหืนชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดย



ภาพที่ 37 ค่าคอนจูเกตไดเอนของน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำที่เติมสารกันหืนชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการตรวจสอบโดย

วิธี accelerated oxidation test

### 6.3 องค์ประกอบของกรดไขมัน

ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในตัวอย่างน้ำมันกึ่งดิบ แสดงดังตารางที่ 24 น้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 39.4 กรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 55.7 กรดไขมันที่ไม่สามารถจำแนกชนิดร้อยละ 4.9 ดังนั้นน้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอยู่ในสัดส่วนที่สูง กรดไขมันที่พบอยู่ในปริมาณสูงที่สุด คือ กรดไขมันชนิดปาล์มิติก (16:0) ร้อยละ 25.1 รองลงมาคือกรดไขมันดีเอชเอ (22:6 n-3) ร้อยละ 21.9 ส่วนกรดไขมันชนิดอีพีเอ (20:5 n-3) มีปริมาณร้อยละ 4.1 ซึ่งแสดงว่าน้ำมันดิบจากหัวกึ่งกลาคำจัดเป็นแหล่งของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงชนิดโอเมก้า 3 Bhuwapathapun (1996) ศึกษาการผลิตน้ำมันกึ่งจากหัวกึ่งกลาคำโดยใช้เฮกเซนในการสกัดไขมัน พบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันประกอบด้วย กรดปาล์มิติก (16:0) ร้อยละ 24.3 กรดโอเลอิก (18:1) ร้อยละ 2 และกรดลิโนเลนิก ร้อยละ 18.9 ซึ่งกรดไขมันชนิดปาล์มิติก (16:0) มีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้ ส่วนกรดไขมันชนิดอื่นมีค่าแตกต่างกัน อาจเนื่องจากการใช้สารสกัดและสภาวะในการสกัดต่างกันส่งผลให้ไขมันที่ได้ประกอบด้วยองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันที่ได้จากหัวกึ่งกลาคำกับปริมาณกรดไขมันจากปลาหูจากการศึกษาของ สุมาลัย ศรีกำไลทอง และคณะ (2538) พบว่ารูปแบบของกรดไขมันที่ได้จากหัวกึ่งกลาคำใกล้เคียงกับกับรูปแบบกรดไขมันของน้ำมันปลาหู กล่าวคือกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงชนิด อีพีเอ และ ดีเอชเอ มีปริมาณใกล้เคียงกัน และกรดไขมันชนิดอื่น ๆ มีปริมาณใกล้เคียงเช่นกัน Edward (1967) พบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันที่ได้จากปู *Callinectes sapidus* ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด อีพีเอ และ ดีเอชเอ ร้อยละ 13.4 และ 11.0 ตามลำดับ และพบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสัตว์ทะเลได้แก่ หอยนางรม ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงโดยเฉพาะ อีพีเอ ร้อยละ 21.5-22.8 และ ดีเอชเอ ร้อยละ 10.7-20.2 และจำพวกหอย 2 ผา ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง อีพีเอ ร้อยละ 21.3 และ ดีเอชเอ ร้อยละ 26.2

ตารางที่ 24 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ

ชนิดของกรดไขมัน	น้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำ* (ร้อยละ)	น้ำมันดิบจากการทดลอง ของ สุมาลัย ศรีคำไลทอง และคณะ(2538)
C14:0	3.6	2.6-4.7
C16:0	25.1	20.2-24.9
C16:1 n-7	5.8	5.1-7.5
C17:0	1.6	1.6-2.2
C18:0	8.0	5.6-7.8
C18:1 n-7	3.0	10.8-18.6
C18:1 n-9	11.5	ไม่รายงาน
C18-2 n-6	1.4	0.9-1.5
C18:3 n-3	0.6	0.3-0.7
C18:4 n-3	0.6	0.4-0.9
C20:0	0.5	0.2-0.6
C20:1 n-9	0.8	0.3-1.7
C20:4 n-6, n-3	2.2	0.2-0.4
C20:5 n-3	4.1	4.3-6.2
C22:0	0.3	ไม่รายงาน
C22:4 n-6	0.4	ไม่รายงาน
C22:5 n-6, n-3	2.9	ไม่รายงาน
C22:6 n-3	21.9	19.1-26.9
C24:0	0.3	0.1-0.4
C24:1	0.5	ไม่รายงาน
Unidentified peak	4.9	ไม่รายงาน

\* ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา  
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จตุจักร กรุงเทพฯ.

## บทที่ 4

### สรุป

1. สภาพที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากหัวกุ้งกุลาดำ คือการใช้ไอโซโพรพานอลที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนระหว่างหัวกุ้งกุลาดำบดต่อตัวทำละลายอินทรีย์ เท่ากับ 1:3 (นน./ปริมาตร) และใช้ระยะเวลา 30 นาที

2. สภาพที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำที่ผ่านการสกัดไขมันโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน คือ พีเอช 9.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

3. ระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงขึ้นเมื่อระยะเวลา และความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น เมื่อนำข้อมูลมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $\text{Log}_{10}$  (ความเข้มข้นของเอนไซม์) ต่อระดับการย่อยสลายของเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.96 0.92 และ 0.84 ตามลำดับ

4. ปริมาณผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ขึ้นกับระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์ ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 เอนไซม์อัลคาเลส ให้ปริมาณผลผลิตเท่ากับร้อยละ 5.72 10.14 และ 11.25 ส่วนเอนไซม์นิวเทรสให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 2.91 3.68 และ 5.81 และเอนไซม์ปาเปนให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 2.54 3.75 และ 5.21 ตามลำดับ

5. โปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน ประกอบด้วยโปรตีนสูง (ร้อยละ 87.51-92.15) มีปริมาณไขมันร้อยละ 0.25-0.29 และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 5.99-7.92 องค์ประกอบของไฮโดรไลเซสขึ้นกับระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์

6. โปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 65 ประกอบด้วย กรดกลูตามิกร้อยละ 11.92 กรดแอสพาร์ติกร้อยละ

8.81 ลูกชิ้นร้อยละ 5.59 และไกตชิ้นร้อยละ 5.47 โดยมีปริมาณซีตเตอินต่ำสุดคือร้อยละ 0.84

7. โปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนมีสีเข้มที่สุดคือมีค่าความสว่างต่ำสุดทุกระดับการย่อยสลาย (ค่า L เท่ากับ 87.4-90.4) ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรสมีสีอ่อนกว่าคือมีค่าความสว่างสูงคือ มีค่า L เท่ากับ 90.9-93.10 และ 93.21-95.01 ตามลำดับ

8. ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส มีค่า 54.47 65.22 และ 79.61 ส่วนเอนไซม์นิวเทรสมีค่า 44.72 48.68 และ 52.20 และเอนไซม์ปาเปนมีค่า 36.70 46.88 และ 49.75 ตามลำดับ ปริมาณ nitrogen recovery ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน มีความสัมพันธ์กับระดับการย่อยสลาย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์  $R^2$  เท่ากับ 0.95 0.92 และ 0.89 ตามลำดับ

9. โปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65 มีความสามารถในการละลายสูงกว่าร้อยละ 80 ที่ช่วงพีเอช 7-9 ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเซสร้อยละ 3 มีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงสุดคือ 1023.04 ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 ให้ค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันสูงสุดคือ 1010.72 โปรตีนไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีค่าความจุฟองและความคงตัวของฟองต่ำ

10. การเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเซสที่อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของค่าความชื้น ค่าทีเออาร์เอส ค่าสีน้ำตาลที่ไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง และค่าสีอย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) และ 4 องศาเซลเซียส

11. น้ำมันดิบที่ได้จากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 53.90 และฟอสโฟไลปิดร้อยละ 46.09 ค่าไอโอดีนมีค่า 101.79 มีค่าสปอนนิฟิเคชันเท่ากับ 212.52 มีค่ากรดไขมันอิสระร้อยละ 17.29 และค่าเปอร์ออกไซด์มีค่า 22.86 มิลลิกรัม

สมมุทธ์ต่อกิโลกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 40.46 มิลลิกรัมแอสทาแซนทีนต่อ100 กรัม น้ำมัน และน้ำมันดิบที่ได้จากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยกรดไขมันชนิดกรดปาล์มิติกร้อยละ 25.1 คีเอสเอ ร้อยละ 21.9 อีพีเอร้อยละ 4.1 น้ำมันดิบจากหัวกุ้งกุลาดำมีความคงตัวสูงเมื่อเติมอีทอกซีดีวินหรือทีบีเอสคิวที่ระดับความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม โดยสารกันหืนทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการเป็นสารกันหืนมากกว่า 2.39



## เอกสารอ้างอิง

กะเน กิตติโกวิท. 2537. เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับกุ้งกุลาดำ ว.แลได้ 14 : 22-25.

นิรนาม .2542. รายงานเศรษฐกิจ ธนาคาร กรุงไทย จำกัด มหาชน. ฝ่ายวิจัยธุรกิจ. 4/42

นิรนาม. 2540. โอกาสของสินค้าเกษตรของไทยหลังการเปิดตลาด. เศรษฐกิจการพาณิชย์  
บทความ. 254/26. หน้า 12-18.

นงลักษณ์ สุทธิวิช. 2531. คุณภาพสัตว์น้ำ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะ  
ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 262 หน้า.

บุศราภา สีละวัฒน์ และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2536. การผลิตสารสกัดจากปลาอย่าง  
ต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพโปรติเอสตรังรูป ตอนที่ 2: สมบัติทางเคมี  
ของสารสกัดจากปลาแบบแห้งและแบบเข้มข้น และการใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่น  
รสอาหาร. อาหาร.23(3):177-187.

ประจวบ หล้าอุบล. 2527. เอกสารคำสอนวิชากุ้ง ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล  
คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 19.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2533. เอนไซม์ทางอาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยา  
ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 305 หน้า

สุสดี วาณิชกุล สมนึก โภชนาสมบุรณ์ และ อารณ ศรีพิพัฒน์. 2530. การจำแนก  
ชนิดของกุ้งทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอ่าวไทย. กองสำรวจและค้นคว้า  
กรมประมง กระทรวงเกษตร และสหกรณ์.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2531. สถิติสำหรับการวิจัยทางการเกษตร. : คณะ  
ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 278 หน้า.

เรื่องลักษณะ จามิกรณ. 2536. ซีวเคมี2. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
สงขลานครินทร์. 156 หน้า.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนปนนท์. 2533. หลักการวิเคราะห์อาหาร.  
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
เชียงใหม่. 270 หน้า

สุปราณี เข้มพราย. 2539. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากของเหลือจากโรงงานผลิต  
ซูริมิเพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต จุฬาลง  
กรณ์มหาวิทยาลัย. 192 หน้า.

สุมาลัย ศรีกำไลทอง เรวดี นาคดี จีระวัฒน์ เอี่ยมวัฒน์ และ สมนึก อาษา. 2538. การ  
พัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของเหลือใช้ในอุตสาหกรรมปลากระป๋อง : การผลิต PUFA  
จากวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมปลากระป๋อง. รายงานฉบับที่ 1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า3 จากน้ำนิ่งปลาของอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง. กรุงเทพฯ  
: สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

อาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล. 2535. การผลิตไฮโดรไลเสทจากน้ำนิ่งปลาทูน่าเพื่อใช้เป็น  
สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย. 187 หน้า.

Adler-Nissen, J. 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Protein. London; Elsevier Applied Science.

Adler-Nissen, J. 1979. Determination of the degree of food protein hydrolysate by trinitrobenzenesulfonic acid . J Agric. Food Chem. 27: 1256-1262.

Adler-Nissen, J. 1976. Enzymtic hydrolysis of protein for increased solubility. J. Agric. Food Chem. 24: 1090-1093.

AOAC. 1990. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15<sup>th</sup> ed . The Association of Official Analytical Chemists, Inc.

AOCS. 1986. Official and Tentative Methods of American Oil Chemist's Society. Vol. 1., Champaign, Ilinoid.

Baek, H. H. and Cadwallader, K. R. 1995. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. J. Food Sci. 60: 929-935.

Bakir, H. M., Melton, S.L., and Wilson, J.L. 1993. Fatty acid composition, lipids and sensory characteristics of white amur (*Ctenopharyngodon idella*) fed different diets. J. Food Sci. 58: 90-95.

Beddow, C. G. and Ardeshir, A. G. 1979. The production of soluble fish protein solution for use in fish sauce manufacture : I. The use of added enzymes. Food Technol. 14 : 603-612.

- Beddow, C. G., Ismdil, M., and Steinkraus, K. H. 1976. The use of bromelain in the hydrolysis of mackerel and the investigation of fermented fish aroma. *Food Technol.* 11 : 379-388.
- Benjakul, S and Morrissey, M. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid waste. *J. Agric. Food Chem.* 45: 3423-3430.
- Bhuwaphathapun, S. 1996. Protease enzymes in chitin and chitosan production from shrimp waste products. *In Asia Pacific Chitin Symposium* (eds. W. F., Stevens, M. H Rao., and S, Chandkrachang) pp. 41-49. Bangkok, Thailand.
- Bimbo, A. P. 1990. Processing of fish oils. *In Fish Oils in Nutrition* (ed. M.E. Stanby) pp. 181-222, New York : Van Nostrand Reinhold.
- Bimbo, A. P. 1987. The emerging marine oil industry. *JAOCS.* 64 : 706-715.
- Britten, M. and Lavori, L. 1992. Foaming properties of proteins as affected by concentration. *J. Food Sci.* 57 : 1219-1222.
- Chen, H. M. and Meyers, S. P. 1982. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. *J. Food Sci.* 47: 892-896.
- Chobert, J., Bertrand-Harb, C. and Nicolas, M. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J. Agric. Food Chem.* 36: 883-892.

- Chobert, J., Sitohy, N. Z., and Whitaker, J. R. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins modified enzymatically by *Staphylococcus aureus* V8 protease. *J. Agric. Food Chem.* 36 : 220-244.
- Chritopher, T. 1994. Control of food allergies using protein hydrolysates. *Food Technol.* 62: 72-76.
- Damodaran, S. 1997. Food proteins ; an overview. *In* Food Proteins and their Application (eds. S. Damodaran and A. Paraf) pp. 1-24, 57-110. New York Marcel Dekker, Inc.
- Dodsworth, T. L. and Owen, J. B. 1977. Fish protein hydrolysate as a substitute for milk protein in calf feeding . *Animal Production.* 25: 19-26.
- Edward, H. G. J. 1967. Fatty acid composition. *In* Fish Oils (ed. M.E. Stansby) pp. 3-30. Washington : AVI publishing company, Inc.
- Giese, J. 1994. Proteins as ingredients : types, functions, applications. *Food Technol.* 62: 50-60.
- Gildberg, A. 1993. Enzymic processing of marine raw material. *Process Biochem.* 28: 1-15.
- Green, J. H. and Mattick, J. F. 1979. Fishery waste management. *In* Food Processing Waste Management ( eds. R.. J. Lefkowitz and P. Handler) pp. 208-210. New York: VCH Publishers, Inc.

Guntensperger, B., Hammerli-Meier, D.E., and Escher, F.F. 1998. Rosemary extract and precooking effects on lipid oxidation in heat-sterilized meat. *J. Food Sci.* 63: 955-957.

/ Hall, G. M. and Ahmad, N. H. 1992. Functional properties of fish protein hydrolysate *In* Fish Processing Technology (ed. G. M. Hall)pp. 249-270. London: Blackie Academic Professional.

Hevia, P. and Olcott, H. S. 1977. Flavour of enzyme-solubilised fish protein concentrate with proteolytic enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 25: 772-775.

/ Howell, N. K. 1996. Chemical and enzymatic modification . *In* Food Proteins Properties and Characterization (eds. S. Nakai, and H. W. Modler).pp 235-269. New York. VCH Publishers, Inc

Hoyle, N. T. and Merritt, J.H. 1994. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*) *J. Food Sci.* 59: 309-314.

IUPAC. 1979. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fat and Derivatives, 6.<sup>th</sup> ed Part I. Paris. Pergamon Press.

Lahl, W. J., and Braun, S.D. 1994. Enzymatic production of protein hydrolysate for food use. *Food Technol.* 62: 68-71.

Kaitaranta, J. K. 1992. Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds. *JAACS.* 69 : 810-813.

- Lalasis, G., Bostrom, S., and Sjoberg, L. 1978. Low molecular weight enzymatic fish protein hydrolysates : chemical composition and nutritive value. *J. Agric. Food Chem.* 26: 751-756.
- Linder, M., Fanni, J. and Parmentier, M. 1996. Functional properties of veal bone hydrolysate. *J. Food. Sci.* 61 : 712-716.
- Loffler, A. 1986. Proteolytic enzymes : sources and applications. *Food Technol.* 40: 63-70.
- Low, L. K. and Ng, C. S. 1987. Significance of analysis of lipids. *In Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Product, Part C* (ed. Hasegawa, H. ). Marine Fisheries Research Dept. SEAFDEC. Singapore.
- ✓ Mackie, L. M. 1982. Fish protein hydrolysates. *Process Biochem.* 17: 26-31.
- Makie, L. M. 1974. Proteolytic enzymes in recovery of proteins from fish waste. *Process. Biochem.* 9: 12-14
- Miller, R. and Groninger, H. S. 1976. Functional property of enzyme modified acetylated fish protein derivatives. *J. Food Sci.* 41: 268-272.
- Minakawa, E, Kaminogawa, S., Tsukasaki, F., and Yamauchi, K. 1989. Debittering mechanism in bitter peptides of enzymatic hydrolysates from milk casein by aminopeptidase T. *J. Food Sci.* 54 : 1225-1229.

- Mohr, V. 1980. Enzyme technology in the meat and fish industries. *Process Biochem.* 32 : 19-21.
- Mohr, V. 1978. Fish protein concentrate production by enzymic hydrolysis . *In* *Biochemical Aspects of New Protein Food* (eds. J. Adler-Nissen, B. O. Eggum, L. Munck and H. S. Olsen) pp. 53-62. London: Pergamon Press.
- Mounts, T. L. and List, G.R. 1996. Storage, stability and transport of fat and oil. *In* *Bailey's Industrial Oil and Fat Product* (ed. Y.H. Hui) pp. 411-452. New York : John Wiley & Sons, Inc.
- Mutilangi, W. A. M., Panyam, D. and Kilara, A. 1996. Functional properties of hydrolysate from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *J. Food Sci.* 61 : 270-274.
- Nielsen, P. M. 1997. Functionality of protein hydrolysates. *In* *Food Protein and Their Application* (eds. S. Damodaran and A. Paraf) pp. 443-473. New York Marcel Dekker, Inc.
- Owens, J. D. and Mendosa, L. S. 1985. Enzymically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. *Food Technol.* 20: 273-293.
- Pan, B. S. 1990. Recovery of shrimp waste for flavorant. *In* *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* (eds. M. N. Voigt and J. R. Botta) pp. 437-447. Technomic Pub. Co. Ltd., Basel.



- Phillips, L. G., Whitehead, D.M. and Kinsella, J.E.1994. Protein stabilized foams. *In* Structure – Function of Food Proteins (eds. L.G. Phillips., D.M. Whitehead and J.E. Kinsella) pp. 131-152. Academic Press, New York.
- Quaglia, G. B. and Orban, E. 1990. Influence of hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina pilchardus*) protein hydrolysates. *J. Food Sci.* 55 :1571-1573.
- Quaglia, G. B. and Orban, E.1987a. Influence of the degree of hydrolysis on the solubility of the protein hydrolysates from sardine (*Sardina pilchardus*) . *J. Sci. Food Agric.* 38 : 271- 276.
- Quaglia, G. B. and Orban, E. 1987b. Enzymic solubilisation of proteins of sardine (*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. *J. Sci. Food Agric.* 38: 263-269.
- Rebeca, B. D., Pena-Vera, M. T., and Diaz-Castaneda, M. 1991. Production of fish protein hydrolysates with bacterial proteases ; yield and nutritional value. *J. Food. Sci.* 56 : 309-314.
- Rehn, H. J. and Reed, G. 1987. *Biotechnology : Enzyme Technology.* New York.
- Rizzi, G. P. 1994. The maillard reaction in food. *In* Maillard reaction in chemistry, food and health (eds. T.P Labuza, G.A. Reineccius, V.M. Monnier, J.O'Brien, and J.W. baynes) pp.10-39.Cambridge: Royal Society of Chemistry.

- Sander, T. A. 1985. Influence of fish oil supplements on man. *Proc. Nutr. Soc.* 44: 391-397.
- Schwenke, K. D. 1997. Enzyme and chemical modification of protein. *In Food Protein and Their Application* (eds. S. Damodaran and A. Paraf) pp. 393-423. New York :Marcel Dekker, Inc.
- Shahidi, F. and Amarowicz, R. 1996. Antioxidant activity of protein hydrolysates from aquatic species. *JAOCS.* 73: 1197-1199.
- Shahidi, F., Ham, X., and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chem.* 53 : 285-293.
- Shahidi, F., Synowiecki, J., and Balejko, J. 1994. Proteolytic hydrolysis of muscle proteins of harp seal (*Phoca groenlandica*). *J. Agric. Food Chem.* 42 : 2634-2638.
- Sikorski, E. Z. and Nacak, M. 1981. Modification of technological properties of fish concentrates. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 4: 201-230.
- Sonntag, N. O. V. 1979b. Reaction of fats and fatty acids. *In Bailey's Industrial Oil and Fat Product* (ed. S. Daniel) pp. 99-175. New York : John Wiley & Son, Inc.

- Spinelli, J., Koury, B. J., and Miller, R. 1972. Approaches to the utilisation of fish for the preparation of protein isolate : Enzymic modification of myofibrillar fish protein. *J. Food Sci.* 37 : 604-608.
- Swern, D. 1964a. Reactions of fat and fatty acid . *In* Bailey's Industrial Oil & Fat Product (ed. D. Swern) pp. 55-96. New York : John Wiley & Son, Inc.
- Subasinghe, S. 1999. Chitin from shellfish waste-health benefits over-shadowing industrial use. *INFOFISH international* 3 : 58-61.
- Surowka, K. and Fik, M. 1992. Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken heads : I An application of neutrase to the production of protein hydrolysate. *J. Sci. Food Agric.* 27 : 9-20.
- Surowka, K. and Fik, M. 1994. Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken heads : II Application of pepsin to the production of protein hydrolysate. *J. Sci. Food Agric.* 65: 289-296.
- Tarky, W., Agawara, O. P. and Pigott, G. M. 1973. Protein hydrolysate from fish waste. *J. Food Sci.* 38: 917-917.
- Teerasuntonwat, P. and Raksakulthai, N. 1995. Production of flavouring agent from shrimp heads. *ASEAN Food J.* 10: 131-137.
- Vaghela, M. N. and Kilara, A. 1996. Foaming and emulsifying properties of whey protein concentrates as affected by lipid composition . *J. Food Sci.* 61 : 275-280.

- Vieira, G. H. F., Martin, A. M., Saker-Sampaio, S., Omar, S., and Goncalves, R. C. F. 1995. Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazilian lobster (*Panulirus spp*) processing wastes. *J. Sci. Food Agric.* 69: 61-65.
- Webster, N. 1969. Webster's Third New International Dictionary. G.&C. Merriam company. pp. 2662.
- Were, L., Hettiarachchy, F. and Kalapathy, U. 1997. Modified soy proteins with improved foaming and water hydration properties. *J. Food Sci.* 62 : 821-827.
- Wheaton, F. W., and Lawson, T.B. 1985. Waste production and management. *In* Processing Aquatic Food Products (eds. F.W. Wheaton, and T.B. Lawson) pp. 349-359. New York : John Wiley & Son, Inc.
- Wilson, R. P. 1994. Amino acids requirements of finfish. *In* Amino Acids in Farm Animal Nutrition (ed. J.P.F. D'Mello) pp. 377-399. Wallingford, UK.
- Windsor, M. L. and Barlow, S. 1981. Hydrolysed fish product. *In* : Introduction to Fishery By-product (ed. M.L. Windsor and Barlow) pp. 100-110. Farnham : Fishing News Books.
- Xiong, Y. L. 1997. Structure – functional relationships of muscle proteins. *In* Food Proteins and Their Application (eds. S. Damodaran and A. Paraf) pp. 341-392. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Yu, S. Y. and Tan, L. K. 1994. Acceptability of cracker (keropok) with fish protein hydrolysate. *J. Food Sci.* 25: 204-20

## ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมี

#### ก1. การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี

##### 1.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (AOAC,1990)

#### อุปกรณ์

1. ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
2. ภาชนะหาคความชื้น (จานอลูมิเนียม พร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

#### วิธีการ

1. อบอุ่นสำหรับหาคความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่น ข้อ 1 ช้าจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาคความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาคความชื้นที่ทราบน้ำหนักแล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับเข้าตู้อบอีก และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

## การคำนวณ

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

M คือปริมาณความชื้น (ร้อยละ)

$W_1$  คือน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

$W_2$  คือน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

## 1.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน Crude fat (AOAC, 1990)

### อุปกรณ์

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

2 หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

3 สำลี

4 ตู้อบไฟฟ้า

5 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

6 โถดูดความชื้น

### วิธีการ

1 อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมันซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2 ชั่งตัวอย่างกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดและใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง กลุ่มด้วยสำลีเพื่อใส่ตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

3 นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอกเลต

4 เติมน้ำมันตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส) ลงในขวดหาไขมันปริมาณ 150 มิลลิลิตร และวางบนเตาให้ความร้อน

5 ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

6 เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารละลายในขวดกลมเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย

7 นำขวดไขมันนั้นไปในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

8 ชั่งน้ำหนักและอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 กรัม

#### การคำนวณ

ปริมาณไขมัน (ร้อยละ) =  $100X$  [น้ำหนักไขมันหลังอบ/น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น]

### 1.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ใช้วิธีเจลดาล (AOAC,1990)

#### อุปกรณ์

- 1 ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 2 ชุดขวดกลั่นโปรตีน
- 3 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
- 4 ขวดรูปชมพูขนาด 50 มิลลิลิตร
- 5 บีเปต ขนาด 5, 10 มิลลิลิตร
- 6 บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
- 7 ลูกแก้ว
- 8 กระดาษกรอง

#### สารเคมี

- 1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- 2 สารเร่งปฏิกิริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต 1 ส่วน ต่อโพแทสเซียมซัลเฟต 9 ส่วน

3 สารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไฮโอซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 60 ซึ่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และโซเดียมไฮโอซัลเฟต 5 กรัมละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ละลายกรดบอริก 40 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

5 สารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.02 นอร์มอล

6 อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution (ซึ่งเมทิลีนบลู (methylene blue) 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล (ethanol) 200 มิลลิลิตร และซังเมทิลเรด (methyl red) 0.05 กรัม ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร) เวลาใช้นำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน : น้ำกลั่น 2 ส่วน

#### วิธีการ

1 ชั่งตัวอย่างอาหารบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่งในขวดย่อยโปรตีน

2 เติมหาสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

3 ใส่ลูกแก้ว 2 เม็ด นำไปย่อยบนเตาไฟฟ้าในตู้ควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็น

4 เติมน้ำกลั่นร้อนลงไปล้างบริเวณคอขวดให้ทั่ว และให้ความร้อนต่อไปจนเกิดควันของกรดซัลฟูริก ปล่อยให้เย็น

5 นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีนให้หมดสารละลายตัวอย่างแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

6 จัดชุดกลั่น

7 นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มิลลิลิตรผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วลงไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์แก้วแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้

8 ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาดความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่งในช่องตัวอย่าง แล้วเติมหาสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร



9 กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ที่วางแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ  
10 โดเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.02 นอร์มอล จะ  
ได้จุดยุติเป็นสีม่วง

11 ทำblank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

#### การคำนวณ

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

โดยที่ a=ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

b=ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็นมิลลิลิตร

N=ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ เป็นนอร์มอล

W=น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม

Factor = ตัวเลขที่เหมาะสม 6.25

(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

#### 1.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC,1990)

##### อุปกรณ์

- 1 เตาเผา (muffle furnace)
- 2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
- 3 โถดูดความชื้น
- 4 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

##### วิธีการ

1 เมาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง รอปประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2 เฝ้าซ้ำอีกหลายๆ ละ ประมาณ 30 นาที และกระทำเช่น ข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสและกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

#### การคำนวณ

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

#### ก2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำมัน

##### 2.1 การวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ

##### วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ขวดแก้ว (Erlenmeyer flask)
2. กระบอกตวง (Cylinder)
3. บuret
4. เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95
5. ฟีนอล์ฟทาเลอินเข้มข้นร้อยละ 1 (ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์)

#### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-10 กรัม ในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกลาง โดยการเติมฟีนอล์ฟทาเลอิน 5 หยด และปรับให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล หยดค่าที่ละหยดพร้อมทั้งเขย่าหรือกวน จนได้สารละลายเป็นแอลกอฮอล์เป็นสีชมพูถาวร
3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ที่เป็นกลาง 50 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง เขย่าอย่างแรงให้ตัวอย่างละลายในแอลกอฮอล์ ถ้าละลายได้ไม่ดี ให้อุ่นที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส

4. ไตรเตทสารละลายตัวอย่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ขณะไตรเตทต้องเขย่าอย่างแรง จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูคงที่อยู่ประมาณ 1 นาที

5. คำนวณค่ากรดและปริมาณกรดไขมันอิสระจากสูตร

#### การคำนวณ

$$\text{ค่ากรดไขมันอิสระ} = \frac{\text{ปริมาณด่างที่ใช้ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นด่าง (นอร์มอล)} \times 28.2}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

หมายเหตุ น้ำหนักโมเลกุลของ กรดลอริก = 200

กรดพาลมิติก = 256 กรดโอเลอิก = 282

## 2.2 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (IUPAC, 1979)

### วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ขวดแก้ว (Erlenmeyer flask)
2. บิวเรตต์ ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. บีเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร
4. สารละลายผสมกรดแอซีติกกับคลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 3:2
5. สารละลายอิ่มตัวโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)
6. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) เข้มข้น 0.01 นอร์มอล
7. น้ำแป้ง (Soluble starch) เข้มข้นร้อยละ 1

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนใส่ในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร

ค่าเปอร์ออกไซด์ที่คาดคะเนไว้ (มิลลิกรัมสมมูล)	น้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการชั่ง (กรัม)
0-12	5.0-2.0
12-20	2.0-4.2
20-30	1.2-0.8
30-50	0.8-0.5
50-90	0.5-0.3

ที่มา : Paquot (1979)

2.เติมสารละลายกรดแอสซิติคกลอโรฟอร์ม 25 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างละลาย

3.เติมสารละลายอิมตัวโพแทสเซียมไอโอไดค์ 1 มิลลิลิตร ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 5 นาที

4.เติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร

5.ไตเตรท กับสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟต พร้อมเขย่าอย่างแรงจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแข็ง 0.5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไป

หมายเหตุ ถ้าการไตเตรทใช้สารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ในปริมาณน้อยกว่า 0.5 มิลลิลิตร ให้เปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเป็น 0.002 นอร์มอล

6.เตรียมและไตเตรท blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง

7.คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์จากสูตร

การคำนวณ

ค่าเปอร์ออกไซด์ =  $(a-b) \times N \times 1000$

W

## 2.3 การวิเคราะห์ค่าสปอนนิฟิเคชัน (IUPAC, 1979)

### อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ชุดกลั่นแบบรีฟลักซ์ (reflux) ซึ่งประกอบด้วย ขวดกลั่นขนาด 250 มิลลิลิตร ต่อกับเครื่องควบแน่น (reflux condenser) ตั้งบนเตา (heating mantle)
2. ลูกแก้วหรือเศษกระเบื้องสำหรับใส่ก้นกระแทก
3. 0.5 นอร์มอลของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเตรียมไว้อย่างน้อย 5 วันก่อนการใช้ และสารละลายที่ได้ควรไม่มีสีหรือมีสีเหลืองฟาง
4. กรดเกลือ เข้มข้น 0.5 นอร์มอล
5. ฟีนอล์ฟทาลีนร้อยละ 1

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัมใส่ในขวดกลั่นที่สะอาดและแห้ง
2. เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปต และใส่ลูกแก้วด้วย
3. จัดเครื่องกลั่นพร้อมเปิดน้ำหล่อชุดควบแน่นและเปิดสวิทซ์ไฟ รีฟลักซ์สารละลาย(ให้เดือดเบาๆ) นาน 60 นาที
4. นำขวดใส่สารละลายออกจากอุปกรณ์ควบแน่นของชุดกลั่น
5. เติมฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด แล้วไตเตรทด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.5 นอร์มอล
6. เตรียมและไตเตรท blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง
7. คำนวณค่าสปอนนิฟิเคชันจากสูตร

### การคำนวณ

$$\text{ค่าสปอนนิฟิเคชัน} = \frac{(a-b) \times N \times 56.1}{W}$$

## 2.4 การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (IUPAC, 1979)

### วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวดขนาด 500 มิลลิลิตร
2. จุกยาง
3. ปิเปตขนาด 25 มิลลิลิตร
4. บuret ขนาด 25 มิลลิลิตร
5. ลูกแก้วกันกระแทก
6. สารละลายวิจส์ (Wij's solution)
7. โพแทสเซียมไอโอไดด์ เข้มข้นร้อยละ 10
8. โซเดียมโซอซัลเฟต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล
9. คาร์บอนเตตราคลอไรด์

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน ใส่ในขวดขนาด 500 มิลลิลิตร ที่สะอาดและแห้ง (ในกรณีตัวอย่างเป็นของแข็งให้หลอมและกรองตัวอย่างก่อนชั่ง)
2. เติมคาร์บอนเตตราคลอไรด์ 15 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายวิจส์ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตและให้ปลายปิเปตจรดข้างขวดด้วยจำนวนครั้งที่แน่นอนและเท่ากันทุกครั้งที่ทำทดลอง
4. เขย่าขวดแล้วตั้งไว้ในที่มืด 1-2 ชั่วโมง
5. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์เข้มข้น (ร้อยละ 10) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร และน้ำดื่มใหม่ซึ่งเย็นแล้ว 150 มิลลิลิตร
6. ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมโซอซัลเฟต 0.1 นอร์มอล เขย่าอย่างสม่ำเสมอ ขณะไตเตรตจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแข็ง 2-3 หยด จะกลายเป็นสีน้ำเงิน แล้วไตเตรตต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไป ก่อนปฏิบัติการสิ้นสุดถึงจุดยุติให้ปิดขวดด้วยจุกยาง

เขย่าอย่างแรง เพื่อให้ไอ โอได้นที่เหลืออยู่ในชั้นของคาร์บอนเตตราคลอไรด์ถูกดึงออกมาให้หมด

7.เตรียม blank

8.คำนวณค่าไอ โอได้นตามสูตร

การคำนวณ

$$\text{ค่าไอโอได้น(กรัมไอโอได้นต่อ 100 กรัมน้ำมัน)} = \frac{(b-a) \times N \times 12.69}{W}$$

ก3 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ nitrogen soluble index (Adler-Nissen, 1986)

อุปกรณ์

- 1 เครื่องผสม (Homoginizer)
- 2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
- 3 เครื่องหมุนเหวี่ยง

วิธีการ

- 1 ชั่งตัวอย่างโปรตีน 2 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 2 ปั่นผสมเป็นเวลา 2 นาที และล้างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 3 ปรับพีเอชของสารละลายและกวนเป็นระยะเวลา 45 นาที
- 4 ชั่งน้ำหนัก และวัดปริมาตร
- 5 นำตัวอย่างมา 25 มิลลิลิตร หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

การคำนวณ

$$NSI (\%) = [\text{ปริมาณไนโตรเจนในสารละลายส่วนใส/ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง}] \times 100$$

### 3.2 การวิเคราะห์สมบัติการเกิดฟอง โดยวัดค่า Whippability และ Foaming stability

(Shahidi, *et al.*, 1995)

#### อุปกรณ์

- 1 เครื่องผสมรุ่น T25 Basic จากบริษัท Ki Ka (Asia) ประเทศมาเลเซีย
- 2 กระจกบอทดวงขนาด 250 มิลลิลิตร

#### วิธีการ

- 1 ชั่งตัวอย่าง โปรีติน 3-5 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 2 เทใส่กระจกบอทดวงขนาด 250 มิลลิลิตร วัดปริมาตรเริ่มต้น (A)
- 3 นำไปตีให้เกิดฟองโดยใช้เครื่องผสม (Set No. 4) เป็นเวลา 1 นาที
- 4 วัดปริมาตรฟองที่เกิดขึ้น (B)
- 5 ปล่อยางทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที และวัดปริมาตรของฟองคงอยู่ภายใน 30 นาที (C)

#### การคำนวณ

$$\text{Whippability (\%)} = (B-A)/A \times 100$$

$$\text{Foaming stability (\%)} = (B/C) \times 100$$



### 3.3 การวิเคราะห์สมบัติการเกิดอิมัลชัน

วัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Activity Index; EAI) (Vaghela and Kilara, 1996)

#### อุปกรณ์

- 1 เครื่องปั่นผสม
- 2 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
- 3 น้ำมันข้าวโพด

#### วิธีการ

- 1 ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- 2 ตวงตัวอย่างสารละลายโปรตีน ปริมาตร 75 มิลลิลิตร
- 3 เติมน้ำมันข้าวโพดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปั่นผสมที่ความเร็วรอบ 19000 รอบ/นาที
- 4 เจือจางกับสารละลาย SDS เข้มข้น ร้อยละ 0.1 500 เท่า
- 5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และคำนวณดัชนีการเกิดอิมัลชัน

#### การคำนวณ

$$EAI = 2T/\phi c$$

เมื่อ  $T = 2.3 A/l$

$A =$  ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร

$l =$  path length ( $1 \times 10^{-2}$ )

$c =$  ความเข้มข้นของตัวอย่าง (ร้อยละ)

$\phi = 0.25$

การวิเคราะห์ความคงตัวของอีมีลชัน (Chobert, *et al.*, 1988)

### อุปกรณ์

- 1 เครื่องปั่นผสม
- 2 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
- 3 น้ำมันข้าวโพด

### วิธีการ

- 1 ชั่งตัวอย่างโปรตีน 1 กรัม ละลายน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 2 นำสารละลายตัวอย่างมา 21 มิลลิลิตร เติมน้ำมันข้าวโพด 7 มิลลิลิตร
- 3 ปั่นผสมที่ความเร็ว 21000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 วินาที
- 4 วัดค่าดัชนีการเกิดอีมีลชัน (EAI<sub>max</sub>) และปล่อยให้ทิ้งไว้ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 5 นำมาให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
- 6 ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และกวนอีกครั้ง
- 7 วัดค่าดัชนีการเกิดอีมีลชัน (EAI<sub>min</sub>)

### การคำนวณ

$$EAI\% = [EAI(\max) - EAI(\min)] / EAI(\max) \times 100$$

### 3.4 การวิเคราะห์การเกิดสึน้ำตาลชนิดไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง (Hoyle and Merritt, 1994)

#### อุปกรณ์

- 1 กระดาษกรอง Whatman No. 1
- 2 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
- 3 เครื่องกวนแบบแม่เหล็ก

#### วิธีการ

- 1 ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ละลายในเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 2 กวนโดยใช้เครื่องกวนแบบแม่เหล็ก เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง
- 3 กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
- 4 นำสารละลายที่กรองได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดไขมัน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	7	154.8743194	22.1249028	3648.43 **
Solvent (S)	1	148.1611703	148.1611703	24431.98 **
Temperature (T)	3	3.8282579	1.2760860	210.43 **
S x T	3	2.8848911	0.9616304	158.57 **
Error	16	0.0970277	0.0060642	
Total	23	154.9713470		

CV = 2.2 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาและอัตราส่วนของวัสดุคัปต่อตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการสกัดไขมัน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	5.05372330	0.45942939	532.19 **
Time(T)	3	0.07087860	0.02362620	27.37 **
Ratio(A)	2	4.94561656	2.47280828	2864.41 **
T x A	6	0.03722814	0.00620469	7.19 **
Error	24	0.02071889	0.00086329	
Total	35	5.07444219		

CV = 4.3 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณผลผลิตโปรตีนไฮโดรไล  
 เสพที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำโดยเอนไซม์อัลคาเลส  
 นิวเทรส และปาเปน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	229.5074296	28.6884287	4186.96 **
Enzyme (T)	2	154.7104963	77.3552481	11289.68 **
DH (D)	2	61.2993185	30.6496593	4473.19 **
T x D	4	13.4976148	3.3744037	492.48 **
Error	18	0.1233333	0.0068519	
Total	26	229.6307630		

CV = 1.5 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ  
 ของไฮโดรไลเสพที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส  
 และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	54.35293333	6.79411667	184.83 **
Treatment (T)	2	17.79162222	8.89581111	242.00 **
DH(D)	2	21.58162222	10.79081111	293.55 **
T x D	4	14.97968889	3.74492222	101.88 **
Error	18	0.66166667	0.03675926	
Total	26			

CV = 0.2 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบ  
ของไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส  
และปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	0.00354074	0.00044259	6.29 **
Treatment (T)	2	0.00027407	0.00013704	1.95 **
DH(D)	2	0.00134074	0.00067037	9.53 ns
T x D	4	0.00192593	0.00048148	6.84 **
Error	18	0.00126667	0.00007037	
Total	26	0.00480741		

CV = 3.1 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเถ้าที่เป็นองค์ประกอบของ  
ไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและ  
ปาเปน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	13.24960741	1.65620093	1847.83 **
Treatment (T)	2	1.49976296	0.74988148	836.64 **
DH(D)	2	1.69991852	0.84995926	948.30 **
T x D	4	10.04992593	2.51248148	2803.18 **
Error	18	0.01613333	0.00089630	
Total	26	13.26574074		

CV = 0.4%

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของไฮโดรไลเสท  
ที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่  
ระดับการย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	7.11991852	0.88998982	603.76 **
Treatment (T)	2	1.20831852	0.60415926	409.86 **
DH(D)	2	0.84191852	0.42095926	285.58 **
T x D	4	5.06968148	1.26742037	859.81 **
Error	18	0.02653333	0.00147407	
Total	26	7.14645185		

CV = 0.9%

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี (ค่า L) ของไฮโดรไลเสทที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ระดับ  
การย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	108.8042000	13.6005250	60.24 **
Treatment (T)	2	84.1592000	42.0796000	186.38 **
DH(D)	2	1.1396222	0.5698111	2.52 ns
T x D	4	23.5053778	5.8763444	26.03 **
Error	18	4.0640000	0.2257778	
Total	26	112.8682000		

CV = 0.5%

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี (ค่า a) ของไฮโดรไลเซสที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ระดับ  
การย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	17.82345185	2.22793148	797.80 **
Treatment (T)	2	17.57845185	8.78922593	3147.34 **
DH(D)	2	0.00036296	0.00018148	<1
T x D	4	0.24463704	0.06115926	21.90 **
Error	18	0.05026667	0.00279259	
Total	26	17.87371852		

CV = 8.4%

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี (ค่า b) ของไฮโดรไลเซสที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน ที่ระดับ  
การย่อยสลายร้อยละ 35 50 และ 65

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	231.5466840	28.9433355	397.27 **
Treatment (T)	2	221.0078082	110.5039041	1516.76 **
DH(D)	2	5.6784749	2.8392374	38.97 **
T x D	4	4.8604009	1.2151002	16.68 **
Error	18	1.3113940	0.0728552	
Total	26	232.8580780		

CV = 2.2%

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )



ตารางผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ nitrogen recovery ของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	8	3802.644467	475.330558	955.84 **
Enzyme (T)	2	2535.867489	1267.933744	2549.69 **
DH (D)	2	995.738600	497.869300	1001.17 **
T x D	4	271.038378	67.759594	136.26 **
Error	18	8.951200	0.497289	
Total	26	3811.595667		

CV = 1.3 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดอิมัลชันของโปรตีน  
ไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส  
และป่าปงที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรไลเสทต่างกัน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	35	7330010.972	209428.885	57902.69 **
DH (D)	2	1458517.141	729258.570	201624.69 **
Conce. (C)	3	2474056.596	824685.532	228008.24 **
Enzyme (E)	2	1091459.811	545729.905	150882.86 **
D x C	6	879948.750	146658.125	40547.89 **
D x E	4	590962.738	147740.684	40847.20 **
C x E	6	385616.068	64269.345	17769.12 **
D x C x E	12	449449.868	37454.156	10355.29 **
Error	72	260.418	3.617	
Total	107	7330271.389		

CV = 0.5 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชันของ  
โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส  
นิวเทรส และปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรไลเสทต่างกัน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	35	21767.92935	621.94084	2682.37 **
DH (D)	2	19506.95199	9753.47600	42065.86 **
Conce. (C)	3	630.17567	315.08784	1358.95 **
Enzyme (E)	2	13.19799	4.39933	18.97 **
D x C	6	1208.34582	302.08646	1302.87 **
D x E	4	43.75835	7.29306	31.45 **
C x E	6	164.13024	27.35504	117.98 **
D x C x E	12	201.36928	16.78077	72.37 **
Error	72	16.69407	0.23186	
Total	107	21784.62342		

CV = 2.6 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความจุของฟองของโปรตีน  
ไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส นิวทราส และ  
ปาเปน ที่ระดับความเข้มข้นของไฮโดรไลเซตต่างกัน

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	35	9475.599961	270.731427	6901.75 **
DH (D)	2	1635.001478	817.500739	20840.52 **
Conce. (C)	3	5035.092476	2517.546238	64179.72 **
Enzyme (E)	2	497.437662	165.812554	4227.05 **
D x C	6	1524.858321	381.214580	9718.29 **
D x E	4	128.566354	21.427726	546.26 **
C x E	6	520.619974	86.769996	2212.02 **
D x C x E	12	134.023697	11.168641	284.72 **
Error	72	2.824309	0.039227	
Total	107	9478.424269		

CV = 2.5 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่  
 ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บรักษา  
 โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศา  
 เซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	23	80.26753333	3.48989275	4119.22 **
Temperature(T)	2	30.56610000	15.28305000	18039.01 **
Time (S)	7	27.94973333	3.99281905	4712.84 **
T x S	14	21.75170000	1.55369286	1833.87 **
Error	48	0.04066667	0.00084722	
Total	71	80.30820000		

CV = 0.4 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความชื้นของไฮโดรไล  
 เสพแห้งที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลส ระหว่างการเก็บ  
 รักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20  
 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	อุณหภูมิห้อง	4 องศาเซลเซียส	-20 องศาเซลเซียส
1	6.21 <sup>e</sup>	6.21 <sup>f</sup>	6.23 <sup>a</sup>
2	6.26 <sup>d</sup>	6.26 <sup>ef</sup>	6.21 <sup>a</sup>
3	6.66 <sup>c</sup>	6.27 <sup>e</sup>	6.21 <sup>a</sup>
4	6.76 <sup>b</sup>	6.34 <sup>d</sup>	6.22 <sup>a</sup>
5	9.11 <sup>a</sup>	7.22 <sup>c</sup>	6.24 <sup>a</sup>
6	9.14 <sup>a</sup>	7.28 <sup>b</sup>	6.24 <sup>a</sup>
7	9.15 <sup>a</sup>	7.33 <sup>a</sup>	6.24 <sup>a</sup>
8	9.15 <sup>a</sup>	7.35 <sup>a</sup>	6.25 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c,d,e และ f ที่เหมือนกันในสทมส์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่าง  
 ทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความชื้นของไฮโดรไล  
 เสพแห้งที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ระหว่างการเก็บ  
 รักษาโปรตีนไฮโดรไลเสพที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20  
 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	อุณหภูมิห้อง	4 องศาเซลเซียส	-20 องศาเซลเซียส
1	4.24 <sup>d</sup>	4.24 <sup>c</sup>	4.25 <sup>a</sup>
2	4.25 <sup>d</sup>	4.24 <sup>c</sup>	4.25 <sup>a</sup>
3	4.28 <sup>c</sup>	4.26 <sup>b</sup>	4.25 <sup>a</sup>
4	4.27 <sup>c</sup>	4.24 <sup>c</sup>	4.24 <sup>a</sup>
5	4.29 <sup>c</sup>	4.28 <sup>a</sup>	4.25 <sup>a</sup>
6	4.34 <sup>b</sup>	4.30 <sup>a</sup>	4.25 <sup>a</sup>
7	4.36 <sup>a</sup>	4.29 <sup>a</sup>	4.25 <sup>a</sup>
8	4.35 <sup>ab</sup>	4.29 <sup>a</sup>	4.26 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c และd ที่เหมือนกันในสดมส์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทาง  
 สถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความชื้นของไฮโดรไล  
 เสทแห้งที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปน ระหว่างการเก็บ  
 รักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20  
 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	อุณหภูมิห้อง	4 องศาเซลเซียส	-20 องศาเซลเซียส
1	4.71 <sup>d</sup>	4.71 <sup>ab</sup>	4.71 <sup>a</sup>
2	4.72 <sup>d</sup>	4.70 <sup>b</sup>	4.70 <sup>a</sup>
3	4.74 <sup>c</sup>	4.71 <sup>ab</sup>	4.71 <sup>a</sup>
4	4.75 <sup>c</sup>	4.71 <sup>ab</sup>	4.71 <sup>a</sup>
5	4.78 <sup>b</sup>	4.71 <sup>ab</sup>	4.71 <sup>a</sup>
6	4.79 <sup>b</sup>	4.71 <sup>a</sup>	4.71 <sup>a</sup>
7	4.80 <sup>b</sup>	4.72 <sup>a</sup>	4.72 <sup>a</sup>
8	4.82 <sup>a</sup>	4.72 <sup>a</sup>	4.72 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c และ d ที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทาง  
 สถิติ ( $p < 0.05$ )



ตารางผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชื้นของไฮโดรไลสเทสแห้งที่  
 ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรส ระหว่างการเก็บรักษา  
 โปรตีนไฮโดรไลสเทสที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศา  
 เซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	23	0.08782400	0.00381844	30.43 **
Temperature(T)	2	0.02920433	0.01460217	116.35 **
Time (S)	7	0.03641600	0.00520229	41.45 **
T x S	14	0.02220367	0.00158598	12.64 **
Error	48	0.00602400	0.00012550	
Total	71	0.09384800		

CV = 0.3 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชื้นของไฮโดรไลเสทแห้งที่  
 ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปน ระหว่างการเก็บรักษา  
 โปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศา  
 เซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	23	0.07951111	0.00345701	36.60 **
Temperature(T)	2	0.04461944	0.02230972	236.22 **
Time (S)	7	0.01835556	0.00262222	27.76 **
T x S	14	0.01653611	0.00118115	12.51 **
Error	48	0.00453333	0.00009444	
Total	71	0.08404444		

CV = 0.2 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่มีเอนไซม์  
เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิห้อง  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	23	0.00232533	0.00010110	1.08 ns
Enzyme(T)	2	0.00123258	0.00061629	6.59 **
Time (S)	7	0.00065022	0.00009289	<1
T x S	14	0.00044253	0.00003161	<1
Error	48	0.00448667	0.00009347	
Total	71	0.00681200		

CV = 1.9 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่มีเอนไซม์  
เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ 4 องศาเซลเซียส  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	23	0.00092054	0.00004002	<1
Enzyme(T)	2	0.00004408	0.00002204	<1
Time (S)	7	0.00056365	0.00008052	1.79 ns
T x S	14	0.00031281	0.00002234	<1
Error	48	0.00216333	0.00004507	
Total	71	0.00308388		

CV = 1.3 %

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่มีเอนไซม์  
เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ -20 องศาเซลเซียส  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	23	0.00323265	0.00014055	3.96 **
Enzyme(T)	2	0.00000853	0.00000426	<1
Time (S)	7	0.00278576	0.00039797	11.21 **
T x S	14	0.00043836	0.00003131	<1
Error	48	0.00170467	0.00003551	
Total	71	0.00493732		

CV = 1.2 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลสที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรลเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
ค่า L				
Treatment (T)	7	5.51980000	0.78854286	72.21 **
Error	16	0.17473333	0.01092083	
Total	23	5.69453333		
ค่า a				
Treatment (T)	7	0.77073333	0.11010476	3.87 **
Error	16	0.45560000	0.02847500	
Total	23	1.22633333		
ค่า b				
Treatment (T)	7	1.07571667	0.15367381	36.02 **
Error	16	0.06826667	0.00426667	
Total	23	1.14398333		
CV ค่า L = 0.1%		CV ค่า a = 16.8 %		CV ค่า b = 0.4%

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเซตที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
ค่า L				
Treatment (T)	7	34.19409583	4.88487083	793.75 **
Error	16	0.09846667	0.00615417	
Total	23	34.29256250		
ค่า a				
Treatment (T)	7	0.14198333	0.02028333	99.35 **
Error	16	0.00326667	0.00020417	
Total	23	0.14525000		
ค่า b				
Treatment (T)	7	4.69519583	0.67074226	299.77 **
Error	16	0.03580000	0.00223750	
Total	23	4.73099583		
CV ค่า L = 0.1%		CV ค่า a = 4.4 %		CV ค่า b = 0.5 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลเซตที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
ค่า L				
Treatment (T)	7	6.97100000	0.99585714	16.77 **
Error	16	0.95040000	0.05940000	
Total	23	7.92140000		
ค่า a				
Treatment (T)	7	0.28532917	0.04076131	17.31 **
Error	16	0.03766667	0.00235417	
Total	23	0.32299583		
ค่า b				
Treatment (T)	7	12.13398333	1.73342617	36.03 **
Error	16	0.76980000	0.04811250	
Total	23	12.90378333		
CV ค่า L = 0.3%		CV ค่า a = 4.1 %		CV ค่า b = 1.5 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b)ของไฮโดรไลเซสที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาเลสเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
ค่า L				
Treatment (T)	7	7.26466667	1.03780952	164.95 **
Error	16	0.10066667	0.00629167	
Total	23	7.36533333		
ค่า a				
Treatment (T)	7	0.20000000	0.02857143	3.43 **
Error	16	0.13333333	0.00833333	
Total	23	0.33333333		
ค่า b				
Treatment (T)	7	7.05009583	1.00715655	69.50 **
Error	16	0.23186667	0.01449267	
Total	23	7.28196250		
CV ค่า L = 0.1%		CV ค่า a = 8.2 %		CV ค่า b = 0.8 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )



ตารางผนวกที่ 28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b)ของไฮโดรไลสที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นิวเทรสเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
ค่า L				
Treatment (T)	7	4.60229583	0.65747083	3.80 *
Error	16	2.77100000	0.17318750	
Total	23	7.37329583		
ค่า a				
Treatment (T)	7	0.54226250	0.07746607	12.40 **
Error	16	0.09993333	0.00624583	
Total	23	0.64219583		
ค่า b				
Treatment (T)	7	7.05009583	1.00715655	69.50 **
Error	16	0.23186667	0.01449267	
Total	23	7.28196250		
CV ค่า L = 0.5%		CV ค่า a = 7.4 %		CV ค่า b = 0.8 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ตารางผนวกที่ 29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าสี (L, a, b) ของไฮโดรไลสเสทที่ได้  
จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

SV	DF	SS	MS	F
ค่า L				
Treatment (T)	7	33.59753333	4.79964762	21.95 **
Error	16	3.49840000	0.21865000	
Total	23	37.09593333		
ค่า a				
Treatment (T)	7	0.96736250	0.13819464	705.67 **
Error	16	0.00313333	0.00019583	
Total	23	0.97049583		
ค่า b				
Treatment (T)	7	7.05009583	1.00715655	69.50 **
Error	16	0.23186667	0.01449267	
Total	23	7.28196250		
CV ค่า L = 0.5%		CV ค่า a = 13.9 %		CV ค่า b = 0.8 %

\*\* = มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )



ชื่อ ไตรตะวัน กงแก้ว

วัน เดือน ปีเกิด 12 มีนาคม 2514

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการอาหาร)	คณะเกษตรศาสตร์ นครศรีธรรมราช สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล	2538