การใช้โปรติเอสในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinina* Linnaeus

นางสาวดวงใจ ลาภยืนยง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-1910-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

USE OF PROTEASE IN THE PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYSATE FROM ABALONE *Haliotis asinina* Linnaeus

Miss Doungjai Lapyernyong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2005
ISBN 974-14-1910-4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้โปรติเอสในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinina* Linnaeus
โดย	นางสาวดวงใจ ลาภยืนยง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นินนาท ชินประหัษฐ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.จิรารัตน์ ทัตติยกุล)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดวงใจ ลาภยืนยง : การใช้โปรติเอสในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinina* Linnaeus (USE OF PROTEASE IN THE PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYSATE FROM ABALONE *Haliotis asinina* Linnaeus) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. รมณี สงวนดีกุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อ. ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์, 126 หน้า. ISBN 974-14-1910-4

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อของหอยเป๋าฮื้อ *H. asinina* ตัวเล็กซึ่งไม่ได้ขนาดและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ในขั้นต้นได้ศึกษาอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme®500L ต่อการย่อยโปรตีนในส่วนเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ โดยใช้ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย แปรอุณหภูมิการย่อยที่อุณหภูมิ 40^{0}C, 50^{0}C และ 60^{0}C และที่ pH 5.0, 6.0 และ 7.0 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิ และ pH มีผลต่อค่าระดับการย่อยสลาย (DH) ของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะการย่อยสลายเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีค่า DH สูงสุด และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสต พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 มีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุด นอกจากนี้พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 มีกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อในปริมาณสูงกว่าภาวะการย่อยสลายอื่นๆทุกภาวะ แต่กรดอะมิโนที่ให้รสขมก็มีในปริมาณสูงเช่นกัน เมื่อเทียบปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 จะพบว่ามีปริมาณการเพิ่มที่สูงกว่ากรดอะมิโนที่ให้รสขมอยู่มาก จึงเลือกภาวะในการย่อยสลายดังกล่าวสำหรับการทดลองขั้นต่อไป ขั้นต่อมาศึกษาเวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในส่วนเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ย่อยโปรตีนโดยใช้ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที พบว่าเวลามีผลต่อค่า DH ของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่เวลา 180 นาที ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีค่า DH สูงสุด เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสต พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเป็นเวลา 180 นาที มีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุด แต่เมื่อวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส พบว่าเวลามีผลต่อคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเป็นเวลา 90 นาที และ 60 นาที ตามลำดับ มีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงสุด ในขั้นสุดท้ายได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ AMP, volatile compound, ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด, ค่าสี (L*, a*, b*) และค่าความขุ่นแตกต่างกัน แต่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์, ค่าความหนาแน่น, ค่า pH, total soluble solids และค่าความหนืดใกล้เคียงกัน

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....	ลายมือชื่อนิสิต.....ดวงใจ ลาภยืนยง.....
สาขาวิชา....เทคโนโลยีทางอาหาร....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2548.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4572298123 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEY WORD: ABALONE/FOOD FLAVOR/PROTEIN HYDROLYSATE

DOUNGJAI LAPYERNYONG : USE OF PROTEASE IN THE PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYSATE FROM ABALONE *Haliotis asinina* Linnaeus. THESIS ADVISOR : ASST.PROF. ROMANEE SANGUANDEEKUL, Ph.D. THESIS COADVISOR : KAITTISAK DUANGMAL, Ph.D., 126 pp. ISBN 974-14-1910-4

This study aimed at comparing the quality of protein hydrolysate derived from meat of undersized abalones *H. asinina* and viscera. The extracted protein was decided to be used as a food flavor. The first part of the experiment dealt with determining the optimal temperature and pH for hydrolysis by Flavourzyme®500L, an enzyme used to digest the meat and the viscera of abalones. The enzyme of 1% concentration (by the weight of the abalone) was employed with varying temperatures of 40^0C, 50^0C and 60^0C at pH 5.0, 6.0 and 7.0 for one hour. Statistical analysis result showed that the temperature and pH significantly alter the degree of hydrolysis (DH) with $p \leq 0.05$. The result also suggested that the optimal condition for the digestion was at 60^0C and pH 6.0. With this optimal condition, the enzyme yielded the highest DH value. Furthermore, when the amount of total amino acids in the protein hydrolysate was analyzed, this optimal condition yielded the highest amount of amino acids. As for the flavor and taste, the amount of amino acids contributing to this aspect was yielded more in this condition as well. The amino acids creating the bitter taste was released more in this condition. However, the amino acids creating the flavor and good taste of abalone were much more higher. Hence, this hydrolytic condition was chosen to be used to determine the optimum digestion time. The digestion was allowed to last for 30, 60, 90, 120 and 180 minutes (at 60^0C and pH 6.0). The result showed that the hydrolysis time significantly alter the degree of hydrolysis (DH) with $p \leq 0.05$. There was the highest release of protein hydrolysate with the 180 minute duration. However, the sensory analysis result suggested that 90 and 60 minute durations created the best flavor and taste. Lastly, the physical and chemical composition of protein hydrolysate from the meat and the viscera was compared. There were significant differences in the amount of AMP, volatile compounds, total nitrogen, color (L*, a*, b*) and turbidity. On the other hand, the amount of sodium chloride, density, pH, total soluble solids and viscosity were relatively the same.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department.....Food Technology..... Student's signature.....Doungjai Lapyernyong.....
Field of study....Food Technology..... Advisor's signature.....Romanee Sanguandeekul.....
Academic year.....2005..... Co-Advisor's signature.....K. Duangmal.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.เกียรติ-ศักดิ์ ดวงมาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นินนาท ชินประหัษฐ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ และอาจารย์ ดร.จิรารัตน์ ทัตติย-กุล ที่ร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณาชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เก็บตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อ ณ สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง และเจ้าหน้าที่ หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีวิจัยการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อ สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการไปเก็บตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล ที่ช่วยแนะนำวิธีการใช้และให้ความช่วยเหลือเรื่องเครื่องมือ HPLC

ขอขอบพระคุณ บริษัท อีสต์เอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ Flavourzyme®500L เพื่อใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนวิจัยในโครงการการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากหอยเป๋าฮื้อโดยใช้เทคโนโลยีการแปรรูปและการบรรจุ และบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย

ขอบคุณเพื่อน ๆ ปริญญาโททุกคนที่ให้ความช่วยเหลือให้คำแนะนำและให้กำลังใจกันมาตลอดการวิจัย พี่ น้อง และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา น้องสาว ที่สนับสนุนในด้านการเงิน คำแนะนำ และให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ฌ

สารบัญรูป.....ฐ

บทที่

1 บทนำ.....1

2 วารสารปริทัศน์.....3

หอยเป๋าฮื้อ.....3

รสและกลิ่นรสของสัตว์น้ำ.....10

โปรตีนไฮโดรไลเสต (Protein Hydrolysate).....19

3 การทดลอง.....30

วัตถุดิบ.....30

เอนไซม์.....30

สารเคมี.....30

เครื่องมือ.....32

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....34

4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....44

องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป๋าฮื้อทั้งส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina*..... ...44

ปัจจัยที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ.....47

ปัจจัยที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ....61

องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ.....76

5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....86

บทที่ หน้า
รายการอ้างอิง.....89
ภาคผนวก.....95
ภาคผนวก ก.....96
ภาคผนวก ข.....105
ภาคผนวก ค.....108
ภาคผนวก ง.....110
ภาคผนวก จ.....111
ภาคผนวก ฉ.....113
ภาคผนวก ช.....120
ภาคผนวก ซ.....123
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....126

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ชนิดหอยเป๋าฮื้อที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ.....7
2.2 สมบัติของหอยเป๋าฮื้อไทย.....8
2.3 ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล.....22
2.4 องค์ประกอบของกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากหัวกุ้ง วัสดุเศษเหลือจากปลาค็อด (cod) และเนื้อปลาค็อด.....24
2.5 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ...25
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina*.....44
4.2 ปริมาณ AMP ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ.....45
4.3 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ..46
4.4 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....48
4.5 ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเนื้อหอยเป๋าฮื้อ.....50
4.6 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 40^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....51
4.7 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 50^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....52
4.8 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....53
4.9 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....56

ตารางที่ หน้า

4.10 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....58
4.11 คะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....59
4.12 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆเป็นเวลา1ชั่วโมง.....62
4.13 ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ.....64
4.14 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 40^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....65
4.15 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 50^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1ชั่วโมง.....66
4.16 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....67
4.17 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....71
4.18 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....72

ตารางที่ หน้า

4.19 คะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....73
4.20 ปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ.....76
4.21 volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ.....80
4.22 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ.....81
4.23 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ.....82
4.24 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ.....83
ก.1 การเตรียมสารละลาย bovine serum albumin ความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร.....101
ช.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....120
ช.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....120
ช.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....121
ช.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....121

ตารางที่ หน้า

ช.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....121

ช.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....122

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ส่วนต่างๆของหอยเป๋าฮื้อ.....4
2.2 ปริมาณความต้องการของตลาดหอยเป๋าฮื้อในปีค.ศ.1975, 1999 และ 2004.....5
2.3 การสลายตัวของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา.....13
2.4 การสลายตัวของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของสัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks.....14
2.5 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต.....23
3.1 การเตรียมหอยเป๋าฮื้อ.....35
3.2 วิธีการเตรียมสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ AMP.....36
3.3 วิธีการเตรียมสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน.....37
4.1 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....55
4.2 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....60
4.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1ชั่วโมง.....69
4.4 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ.....74
4.5 โครมาโทแกรมของ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ.....78
4.6 โครมาโทแกรมของ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ.....79

รูปที่ หน้า

ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin ความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร.....102
ค.1 หอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina* ทั้งตัว.....108
ค.2 เนื้อหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina*.....108
ค.3 หอยเป๋าฮื้อที่พบในประเทศไทย (a) *H. asinina* (b) *H. ovina* (c) *H. varia*.....109
ง.1 High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....110
จ.1 โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 นาที.....111
จ.2 โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที.....112
ฉ.1 acetic acid.....113
ฉ.2 methyl-d3-1-dideuterio-2-propenyl ether.....114
ฉ.3 2-ethyl-1-hexanol.....115
ฉ.4 benzenemethanol.....116
ฉ.5 benzothiazole.....117
ฉ.6 2,6-dimethoxyphenol.....118
ฉ.7 2,2,4-trimethyldihydroquinoline.....119

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ผลิตภัณฑ์ประมงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายแสนล้านบาท ในปี พ.ศ. 2547 การส่งออกผลิตภัณฑ์ประมงของไทยมีมูลค่าประมาณ 161,791 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547) สัตว์น้ำแต่ละชนิดโดยเฉพาะสัตว์ทะเลมีเนื้อเยื่อส่วนที่บริโภคได้ที่มีรสชาติหลากหลายและเฉพาะตัว รสเหล่านี้เป็นผลจากองค์ประกอบของสารสกัดชนิดต่างๆในเนื้อเยื่อของสัตว์ทะเล เช่น กรดอะมิโนอิสระ สารประกอบของกรดอะมิโน และสารประกอบนิวคลี-โอไทด์ เป็นต้น

หอยเป๋าฮื้อ (abalone) เป็นหอยทะเลฝาเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีราคาแพง และเป็นที่นิยมบริโภคกันมากในประเทศทางเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี จีน ไต้หวัน และหลายประเทศในแถบยุโรปและอเมริกา เนื่องจากมีรสชาติดี เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยคุณค่าโปรตีน มีไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ บางคนยังมีความเชื่อว่าเป็นอาหารสิริมงคล ส่วนที่นิยมนำมาบริโภคเป็นเนื้อส่วนเท้าของหอยเป๋าฮื้อ การบริโภคหอยเป๋าฮื้อในอเมริกามีมูลค่าประมาณ 750 ล้านบาทต่อปี ในขณะที่ประเทศในเอเชียบริโภคสูงสุดประมาณ 7,500–10,000 ล้านบาทต่อปี ผลผลิตของหอยเป๋าฮื้อเกือบทั้งหมดได้มาจากการจับจากธรรมชาติ อย่างไรก็ดีในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมานี้ผลผลิตหอยเป๋าฮื้อโดยรวมของโลกมีแนวโน้มที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด แนวคิดในการผลิตหอยเป๋าฮื้อโดยการเพาะเลี้ยงจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง (พายัพ ยังปักษี, 2541) ปัจจุบันในประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อชนิด *H.asinina* และ *H.diversicolor* เพื่อส่งภัตตาคารในลักษณะหอยสด ส่วนการบริโภคหอยแปรรูปหรือหอยบรรจุกระป๋องของไทยนำเข้าจากต่างประเทศทั้งสิ้น

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้หอยเป๋าฮื้อเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากมีรสชาติที่ดี สัตว์จำพวกหอยและปลาหมึกจะมีกรดอะมิโนอิสระ taurine, proline, glycine, alanine และ arginine สูง โดยปริมาณจะขึ้นกับสายพันธุ์ของสัตว์ นอกจากนี้ยังมี Adenosine 5’ monophosphate (AMP) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกกรดนิวคลีอิก กรดอะมิโนหลายตัวมีผลในการทำให้เกิดรสในอาหารทะเล เช่น glycine, alanine และ proline ทำให้เกิดรสหวาน (Nishimura and Kato, 1988) glutamic acid, glycine, alanine, arginine และ serine ทำให้การรับรู้รส umami ชัดเจนขึ้นเมื่ออยู่รวมกับ

สารประกอบ AMP (Konosu et al., 1987 and Kimura et al., 1969) leucine, isoleucine และ valine ทำให้เกิดรสขมและฝาด (Konosu et al., 1987., Nishimura and Kato, 1988)

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นจึงทำให้หอยเป๋าฮื้อเป็นอาหารที่มีราคาสูงมาก ดังนั้นถ้าได้มีการนำส่วนวัสดุเศษเหลือของหอยเป๋าฮื้อซึ่งมีทั้งส่วนของหอยเป๋าฮื้อขนาดเล็ก ซึ่งเป็นหอยเป๋าฮื้อที่ต้องคัดแยกออกจากกระบวนการเลี้ยง เนื่องจากไม่สามารถเติบโตตามกลุ่มได้ และส่วนของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากการแปรรูป ซึ่งยังคงมีองค์ประกอบที่ให้รส (taste active components) อยู่มาก และยังคงมีคุณค่าทางโภชนาการสูงอยู่มาผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารก็จะเป็นการช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบริโภค นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์อีกด้วย ซึ่งจากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้เกิดความสนใจที่จะนำส่วนเนื้อของหอยเป๋าฮื้อขนาดเล็กซึ่งไม่ได้ขนาดตามที่ต้องการ และส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อที่เหลือทิ้งจากการตัดแต่งแล้วมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อของหอยเป๋าฮื้อตัวเล็กซึ่งไม่ได้ขนาดและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

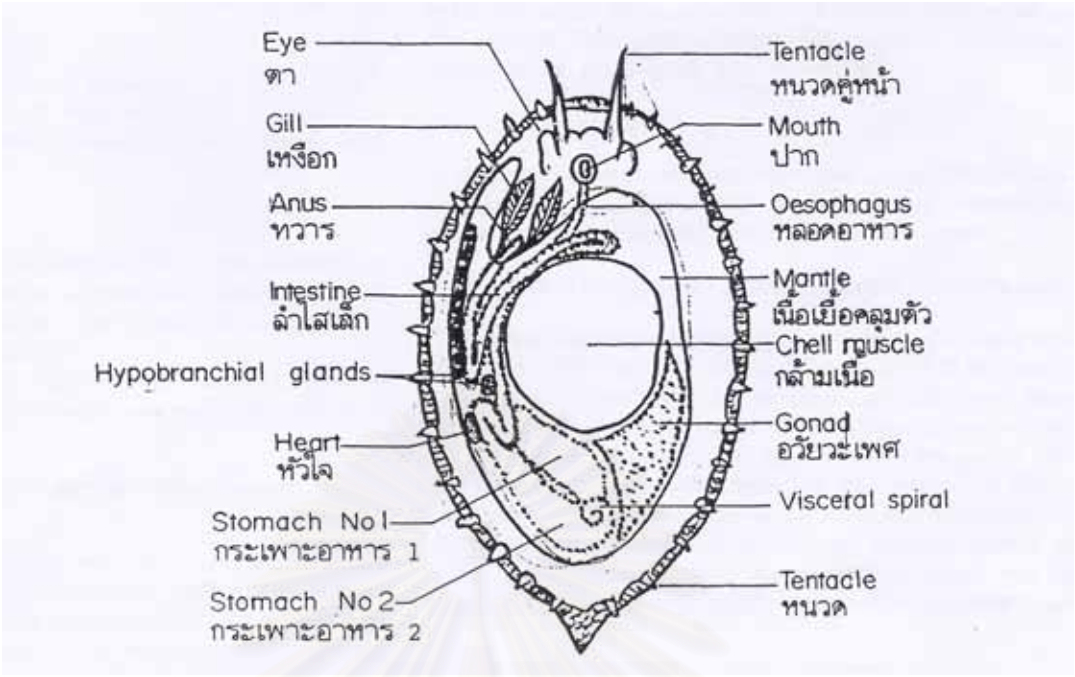
วารสารปริทัศน์

2.1 หอยเป๋าฮื้อ

หอยเป๋าฮื้อ หรือหอยร้อยรู หรือหอยโข่งทะเล เป็นสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังประเภทหอยฝาเดียว อยู่ใน Class Gastropoda, Order Archaeogastropoda, Family Haliotidae, Genus Haliotis พบแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก ขนาดจะต่างกันตามสภาพภูมิอากาศ โดยหอยเป๋าฮื้อที่อาศัยอยู่ในเขตอบอุ่นจะมีขนาดใหญ่กว่าหอยเป๋าฮื้อที่อาศัยอยู่ในเขตร้อน หอยเป๋าฮื้อเป็นผู้บริโภคระดับต้นของห่วงโซ่อาหาร เนื่องจากมีนิสัยการกินแบบขูดขีด (grazer) โดยบริโภคสิ่งมีชีวิตตามซอกหิน ใช้อวัยวะส่วนหน้าที่เรียกว่า radula ขูดอาหาร อาหารของหอยเป๋าฮื้อ คือ สาหร่ายทะเลที่มีอยู่ในธรรมชาติรวมทั้งสิ่งมีชีวิตเล็กๆที่อาศัยอยู่ตามพื้นผิวต่างๆ เช่น ไดอะตอม ประเภทเกาะติด โดยปกติหอยเป๋าฮื้อจะหลบซ่อนตัวตามซอกหินและแนวปะการังในเวลากลางวัน และออกหากินในเวลากลางคืน (พายัพ ยังปักษี, 2541)

หอยเป๋าฮื้อเป็นหอยโบราณ เปลือกมีรูปร่างยาวรี มีสีเขียวเข้ม น้ำตาล หรือแดงคล้ำ ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของหอย แหล่งบริเวณที่อยู่อาศัย รวมทั้งชนิดของอาหารที่กิน เปลือกนอกไม่เรียบ ส่วนเปลือกในเรียบเงาเป็นมุกเหลือบสีน้ำเงิน บริเวณเปลือกมีรูเรียงเป็นแถว รูบนเปลือกจะสร้างเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อหอยโตขึ้น ส่วนรูเก่าจะถูกปิดไปเหลือรูเปิดไว้เป็นจำนวนตายตัวตามชนิดของหอย รูเหล่านี้จะใช้ในการแลกเปลี่ยนน้ำเพื่อประโยชน์ในการหายใจ ขับถ่ายของเสีย และปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ หอยเป๋าฮื้อ มีตา 1 คู่ หนวด 2 เส้น มีเหงือกเป็นคู่อยู่ในแอ่งด้านซ้ายของลำตัว มีเท้าและกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้เป็นอาหาร กล้ามเนื้อเท้ามีหลายสี เช่นสีขาว สีครีม สีส้ม สีดำ ซึ่งใช้เป็นลักษณะภายนอกอย่างหนึ่งในการจำแนกชนิดของหอยเป๋าฮื้อ (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) โดยส่วนต่างๆของหอยเป๋าฮื้อแสดงดังรูปที่ 2.1

หอยเป๋าฮื้อเป็นสัตว์ที่มีเพศแยกจากกัน มีการผสมพันธุ์แบบภายนอก อวัยวะสืบพันธุ์จะพัฒนาอยู่รอบๆส่วนที่เรียกว่า ต่อมสร้างน้ำย่อย อวัยวะเพศของหอยเป๋าฮื้อจะยื่นออกมาคล้ายเขาวัว สามารถมองเห็นได้โดยการหงายท้องขึ้น และเปิดกล้ามเนื้อเท้าทางขวาตอนล่างของเปลือกออก ถ้าเป็นเพศผู้จะเห็นอวัยวะนี้เป็นสีขาวครีมชัดเจน ส่วนรังไข่ของเพศเมียเป็นสีเขียวเข้ม มองเห็นไม่ชัดเจนเนื่องจากมีสีคล้ายกับสีของอวัยวะภายใน (สมปอง วิชญวิเชียร, 2542)

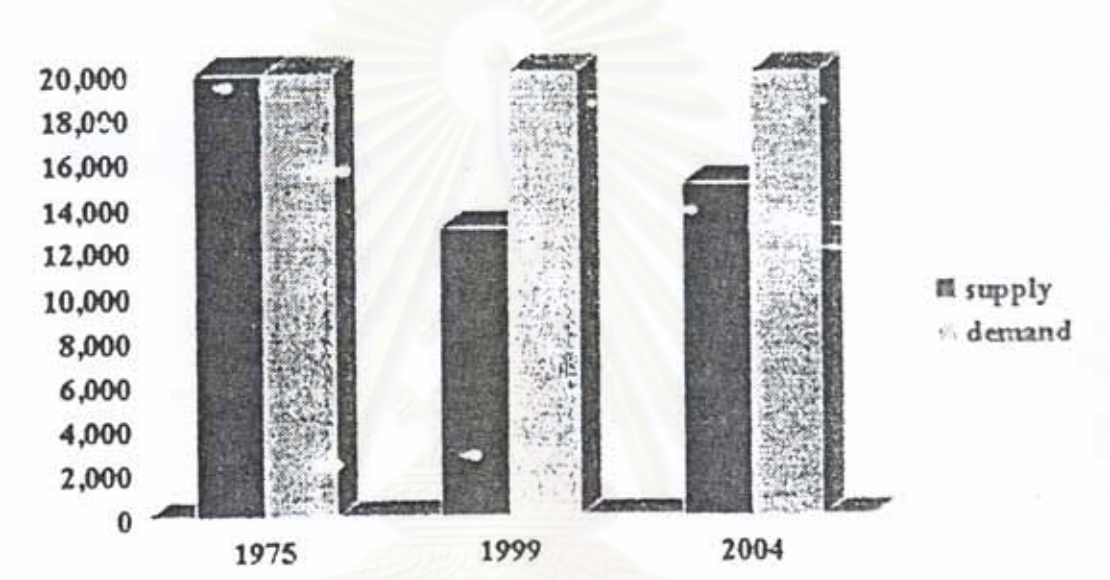


รูปที่ 2.1 ส่วนต่างๆของหอยเป๋าฮื้อ
ที่มา: พายัพ ยังปักษี (2541)

เท้าของหอยเป๋าฮื้อมีขนาดใหญ่เห็นได้อย่างชัดเจนและเป็นอวัยวะที่สำคัญอย่างมากต่อความเป็นอยู่ของหอยเป๋าฮื้อ เนื่องจากใช้สำหรับการเคลื่อนที่และยึดเกาะกับพื้นผิวโดยประกอบด้วยส่วนของกล้ามเนื้อที่มีความหนาและแข็งแรง เนื้อส่วนเท้าของหอยเป๋าฮื้อเป็นส่วนที่นิยมรับประทานและมีราคาแพงที่สุดเพราะเป็นเนื้อที่มีลักษณะพิเศษเฉพาะตัวประกอบกับกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ทำให้เนื้อของหอยเป๋าฮื้อทั่วโลกเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (พายัพ ยังปักษี, 2541) และในบางครั้งอาจมีการบริโภคส่วนของเครื่องในด้วย

หอยเป๋าฮื้อเป็นหอยที่มีรสชาติดีที่สุด ดังนั้นหอยเป๋าฮื้อจึงขายได้ราคาสูง ชาวญี่ปุ่นนำหอยเป๋าฮื้อไปทำเป็นอาหารได้หลายรูปแบบและหลากหลายรสชาติ เช่น การต้มและอบด้วยความร้อน แต่วิธีที่นิยมกันมากที่สุดคือ การรับประทานหอยดิบที่เรียกว่า ซาชิมิ (sashimi) หรือทำเป็นชิ้นแล้ววางบนก้อนข้าวเรียกว่า ซูชิ (sushi) สำหรับชาวยุโรปและอเมริกานั้น วิธีที่ใช้กันแพร่หลายที่สุดคือ นำหอยเป๋าฮื้อไปย่าง (grilling) หรือนำไปทอดในน้ำมันที่ร้อนจัดจนเนื้อกรอบ แต่ก่อนที่จะย่างหรือทอดต้องทำให้เนื้อหอยนิ่มลงโดยการทุบด้วยฆ้อนก่อน (ลิลา เรืองแป้น, 2543) สำหรับชาวจีนเชื่อกันว่านอกจากรสชาติที่ดีแล้วหอยเป๋าฮื้อยังเป็นอาหารที่บำรุงสุขภาพ โดยช่วยบำรุงสายตา ตับ ไต ช่วยเจริญอาหารและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ในขณะเดียวกันยังอุดมไปด้วยโปรตีนและแร่ธาตุนานาชนิด แต่มีไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ (สิทธิศักดิ์ เหมืองสิน, 2545) หอย

เป๋าฮื้อที่มีขนาดใหญ่พบได้ในเขตอบอุ่น มักบริโภคในลักษณะสเต็กเป็นชิ้นบางๆหรือตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนหอยเป๋าฮื้อขนาดเล็กเป็นสายพันธุ์ที่อาศัยในเขตร้อน สามารถนำมาบริโภคในลักษณะค็อกเทล ซึ่งประเทศที่นิยมบริโภคหอยขนาดเล็กคือไต้หวัน (พายัพ ยังปักษี, 2541) สำหรับในประเทศไทยก็มีคนนิยมบริโภคหอยเป๋าฮื้อจำนวนไม่น้อย จากการสำรวจพบว่าหอยเป๋าฮื้อที่นำมาทำเป็นอาหารในประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นหอยที่นำเข้ามาจากต่างประเทศทั้งในลักษณะของหอยแช่แข็ง หอยรมควัน และหอยบรรจุกระป๋อง โดยปริมาณความต้องการของตลาดหอยเป๋าฮื้อทั่วโลกในปีค.ศ. 1975, 1999 และ 2004 แสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ปริมาณความต้องการของตลาดหอยเป๋าฮื้อทั่วโลกในปีค.ศ. 1975, 1999 และ 2004
ที่มา: Gordon และ Cook (2001)

ประเทศผู้ผลิตเนื้อหอยเป๋าฮื้อจำหน่ายสู่ตลาดโลกมีอยู่หลายประเทศ เช่น เม็กซิโก ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ แอฟริกาใต้ สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส ไต้หวัน และเกาหลี หอยเป๋าฮื้อที่พบในโลกมีประมาณ 100 ชนิด แต่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมีประมาณ 20 ชนิด โดยชนิดหอยเป๋าฮื้อที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แสดงดังตารางที่ 2.1 ในจำนวนนี้เป็นหอยเป๋าฮื้อเขตอบอุ่นเกือบทั้งหมด ซึ่งเป็นหอยขนาดใหญ่มีความยาวเปลือก 15-30 เซนติเมตร มีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่เป็นหอยเป๋าฮื้อเขตร้อนซึ่งมีขนาดเล็ก มีความยาวเปลือก 8-12 เซนติเมตร หอยเป๋าฮื้อเขตอบอุ่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่

- หอยเป๋าฮื้อปากดำ black-lip abalone *(H. rubra)* หอยเป๋าฮื้อปากน้ำตาล brown-lip abalone *(H. concipora)* และหอยเป๋าฮื้อปากเขียว green-lip abalone *(H. laevigata)* พบในออสเตรเลียทางฝั่งตะวันออก ฝั่งตะวันตกเฉียงใต้และฝั่งตะวันออกเฉียงใต้ ตามลำดับ

- หอยเป๋าฮื้อแดง red abalone *(H. rufescens)* พบทางฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิก แถบประเทศชิลี เม็กซิโก และรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา

- หอยเป๋าฮื้อ paua *(H. iris)* ของนิวซีแลนด์

- หอยเป๋าฮื้อ the ormer *(H. tuberculata)* ของฝรั่งเศส

- หอยเป๋าฮื้อ pinto abalone *(H. kamtschatkana)* ของอเมริกาเหนือ

- หอยเป๋าฮื้อ ezo abalone *(H. discus)* พบทางฝั่งแปซิฟิกของญี่ปุ่น

- หอยเป๋าฮื้อ perlemoen abalone *(H. midae)* ของแอฟริกาใต้

หอยเป๋าฮื้อเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่

- หอยเป๋าฮื้อเล็ก small abalone *(H. diversicolor)* พบตามชายฝั่งของประเทศญี่ปุ่นและไต้หวัน เป็นชนิดที่เพาะเลี้ยงในประเทศจีนและไต้หวัน

- หอยเป๋าฮื้อหูลา ass'ear หรือ donkey's ear abalone *(H. asinina)* เป็นชนิดที่ส่งเสริมให้เพาะเลี้ยงในประเทศไทย (มะลิ บุญยรัตผลิน, 2545)

หอยเป๋าฮื้อที่มีขนาดใหญ่ที่สุดคือ *H. rufescens* ในอเมริกาเหนือ ส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่จัดอันดับว่ารสชาติดีที่สุดในอเมริกาเหนือคือ *H. fulgens* และ *H. sorenseni* ในประเทศญี่ปุ่นและเกาหลี หอยเป๋าฮื้อที่มีความสำคัญมากที่สุดคือ *H. discus hannai* นอกจากนี้ยังพบว่าหอยเป๋าฮื้อที่มีประวัติการศึกษามานานทำให้มีข้อมูลพื้นฐานมากที่สุด ได้แก่ *H. rufescens*, *H. discus hannai* และ *H. discus* (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544)

หอยเป๋าฮื้อในประเทศไทยเป็นหอยเป๋าฮื้อในเขตร้อน มีขนาดเล็ก (4-8 เซนติเมตร) อาศัยตามโขดหินชายทะเลหรือเกาะอยู่ตามปะการังที่อยู่ใต้น้ำ กินตะไคร่ตามโขดหินและปะการังเป็นอาหาร หอยเป๋าฮื้อที่พบในประเทศไทย มี 3 ชนิด ได้แก่ *H. asinina*, *H. ovina* และ *H. varia* โดยชนิดที่มีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงและได้รับการส่งเสริมให้เกิดการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยคือชนิด *H. asinina* โดยสมบัติของหอยเป๋าฮื้อไทยแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 ชนิดหอยเป๋าฮื้อที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ (scientific name)	ชื่อสามัญ (common name)	ขนาดความยาวเปลือก (mm)
H. rufescens	Red	> 275
H. fulgens	Green, southern green or blue	125–200
H. corrugata	Pink or corrugated	150–175
H. sorenseni	White or Sorensen	125–200
H. assimilis	Threaded	< 100
H. cracherodii	Black	75-125
H. walallensis	Flat or northern green	75–125
H. Kamtschatkana	Pinto	100
H. discus hannai	Ezo awabi	180–200
H. discus	Kuro awabi, oni or onigai	200
H. diversicolor supertexta [a]	Tokobushi	50
H. gigantean	Madaka	250
H. sieboldii	Megae	170
H. asinina [a]	Mimigai, donkey' s ear	70–100
H. rubra	Black lip	120-140
H. laevigata	Green lip	130-140
H. roei	Roe 's	70–80
H. iris	Paua or black	170
H. australis	Silver or queen paua	125
H. virginea	Virgin	70
H. tuberculata	Ormer	120
H. midae	Perlemon	90

ที่มา: Jarayabhand และ Paphavasit (1996) [a] ชนิดที่พบในเขตร้อน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2 สมบัติของหอยเป๋าฮื้อไทย

ชนิด	สมบัติของหอยเป๋าฮื้อในไทย			
	ขนาดสูงสุด ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนัก (กรัม)	% ของน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักตัว	การแพร่กระจาย
H. asinina	10	170	85	อ่าวไทยและอันดามัน
H. ovina	8	65	40	อ่าวไทยและอันดามัน
H. varia	6	6	30	อันดามัน

ที่มา: คเชนทร เฉลิมวัฒน์ (2544)

หอยเป๋าฮื้อของไทยมีศักยภาพสำหรับการพัฒนาพอสมควร โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina* ที่มีศักยภาพทางการตลาดสูง เนื่องจากเป็นชนิดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในกลุ่มหอยเป๋าฮื้อในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งมีสัดส่วนน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักตัวสูงถึง 85% และมีอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว เมื่ออายุครบ 1 ปี มีความยาวเปลือก 42.7 มิลลิเมตร ดังนั้นการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อชนิดนี้จึงมีความเป็นไปได้เชิงธุรกิจค่อนข้างสูง เพราะตลาดต่างประเทศนิยมหอยขนาดไม่ใหญ่นักโดยมีประเทศออสเตรเลีย อเมริกา และประเทศในเอเชียเป็นผู้รับซื้อแล้วแปรรูปบรรจุกระป๋องส่งออกอีกทีหนึ่ง (ลิลา เรืองแป้น, 2543)

หอยเป๋าฮื้อเป็นหอยที่มีราคาสูงในท้องตลาด ราคาของหอยเป๋าฮื้อขึ้นอยู่กับขนาด ชนิด สีสัน คุณภาพของเนื้อและที่มา หอยที่มีราคาดีจะเป็นหอยที่รับมาจากทะเล มีขนาดใหญ่ เนื้อแน่น มีสีขาวครีม ในตลาดสหรัฐอเมริกาเนื้อส่วนเท้าและกล้ามเนื้อที่นิยมนำมาปรุงอาหารราคากิโลกรัมละ 1,000-1,650 บาท ในญี่ปุ่นราคากิโลกรัมละ 2,000–2,400 บาท ในประเทศไทยหอยเป๋าฮื้อขนาดกลางที่เรียกว่าขนาดคอกเทล (cocktail size) ราคา 1,000-1,500 บาทต่อกิโลกรัม ถ้าเป็นหอยสดแกะเครื่องในและเปลือกออกแล้วราคาประมาณ 800–1,200 บาทต่อกิโลกรัม (สมปอง วิชญวิเชียร, 2542)

หอยเป๋าฮื้อจากการเลี้ยง ที่นิยมบริโภคในปัจจุบันมี 2 ขนาด (สิทธิศักดิ์ เหมืองสิน, 2545)

- ขนาดคอกเทล (cocktail size) หรือ เบบี้ อะบาโลนี่ (baby abalone) มีความยาวเปลือกระหว่าง 4–10 เซนติเมตร ประเทศผู้ผลิตหลักคือ ไต้หวันและจีน มีขนาด 20–25 กรัมต่อตัว (40–50 ตัวต่อกิโลกรัม) โดยมีราคาหอยเป๋าฮื้อเป็น (live abalone) ประมาณ 1,000–1,500 บาทต่อกิโลกรัม

- ขนาดสเต็ก (steak size) ประเทศผู้ผลิตหลักคือ ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา มีขนาดตั้งแต่ 100 กรัม (10 ตัวต่อกิโลกรัม) โดยมีราคาหอยเป๋าฮื้อเป็น ประมาณ 2,300–3,800 บาทต่อกิโลกรัม

จากการที่ราคาของหอยขนาดสเต็กสูงกว่าขนาดคอกเทลเป็นอย่างมาก ทำให้เกิดโอกาสและความต้องการในการผลิตหอยเป๋าฮื้อขนาดสเต็กเข้าสู่ตลาด แต่ประเทศไต้หวันและจีนไม่สามารถผลิตขนาดสเต็กได้จำนวนมาก เพราะสายพันธุ์หลักของประเทศไต้หวันและจีนนั้นมีขนาดเล็ก การเจริญเติบโตช้ากว่าสายพันธุ์ที่มีในประเทศไทย โดยหอยที่มีสายพันธุ์ของไต้หวันและจีนสามารถเจริญเติบโตได้น้ำหนัก 100 กรัม (steak size) ต้องใช้ระยะเวลาถึง 4–5 ปี แต่สายพันธุ์ของประเทศไทยใช้เวลาสั้นกว่า โดยสามารถเติบโตได้ถึง 100 กรัม ในระยะเวลาเพียง 2-2.5 ปี (สิทธิศักดิ์ เหมืองสิน, 2545)

หอยเป๋าฮื้อ *H. asinina* มีลักษณะ ขนาด และน้ำหนัก ใกล้เคียงกับหอยเป๋าฮื้อของไต้หวันชนิด *H. diversicolor supertexta* ที่ประสบความสำเร็จอย่างสูงในด้านการตลาดของหอยเป๋าฮื้อขนาดคอกเทล ดังนั้นหอยเป๋าฮื้อที่พบในประเทศไทยชนิด *H. asinina* ก็มีโอกาสที่จะเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจชนิดใหม่ของโลกได้ โดยตอบสนองต่อตลาดหอยเป๋าฮื้อขนาดคอกเทลได้เช่นกัน (วรวุฒิ วีระชิงไชย, 2541)

การตลาดและการแปรรูปผลิตภัณฑ์ที่ได้จากหอยเป๋าฮื้อ (สิทธิศักดิ์ เหมืองสิน, 2545)

- หอยเป๋าฮื้อเป็น (live abalone) สามารถส่งตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยเป็นที่นิยมอย่างสูงในประเทศญี่ปุ่น ลักษณะการบริโภคแบบ sashimi หรือ sushi เป็นหลัก

- หอยเป๋าฮื้อแช่แข็ง (frozen abalone) สามารถนำไปปรุงอาหารในภัตตาคารต่างๆ หรือส่งเข้าซุปเปอร์มาร์เก็ต ตลาดหลักจะเป็นประเทศในแถบเอเชีย เช่น เกาหลี ฮ่องกง ไต้หวัน สิงคโปร์

- หอยเป๋าฮื้อกระป๋อง (canned abalone) นิยมบริโภคในแถบเอเชีย เช่นเดียวกันกับในประเทศไทยซึ่งไม่คุ้นเคยกับการบริโภคหอยเป๋าฮื้อสด มีเพียงตลาดหอยเป๋าฮื้อกระป๋องเท่านั้น เนื่องจากยังไม่เคยมีการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อในประเทศไทยในเชิงพาณิชย์มาก่อน

- หอยเป๋าฮื้อแห้ง (dry abalone) เป็นที่นิยมในตลาดเช่นเดียวกัน และมีราคาสูงมากถึง 7,000-20,000 บาทต่อกิโลกรัม โดยจะต้องนำมาตุ๋น 1 คืนก่อนบริโภค

- ซอสหอยเป๋าฮื้อ (abalone sauce) ใช้ในการปรุงรสอาหารให้มีความหอมและรสชาติกลมกล่อมขึ้นซึ่งกำลังเป็นที่นิยมในแถบเอเชีย

- ซุปหอยเป๋าฮื้อสกัด (abalone essence) เริ่มเข้าสู่ตลาดเอเชียเมื่อไม่นานมานี้ เป็นซุปสกัดซึ่งมีคุณค่าต่อผู้ต้องการบำรุงร่างกายและผู้พักฟื้นหลังเจ็บป่วย

2.2 **รสและกลิ่นรสของสัตว์น้ำ**

อาหารทะเลแต่ละชนิดจะมีรสและกลิ่นรสเฉพาะตัวที่เกิดจากองค์ประกอบของสารสกัด (extractive components) องค์ประกอบของสารสกัดที่ให้รสของอาหารทะเลเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำและมีมวลโมเลกุลต่ำ ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบของสารสกัดที่สำคัญที่สุดคือพันธุกรรมซึ่งมีผลทำให้สัตว์แต่ละชนิดมีรสและกลิ่นรสเฉพาะตัว นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบของสารสกัด เช่น ฤดูกาล กระบวนการให้ความร้อน ระยะของการเจริญเติบโต การอพยพเพื่อวางไข่ สภาวะแวดล้อม อาหาร ส่วนของเนื้อเยื่อ และความสด เป็นต้น

2.2.1 **องค์ประกอบของสารสกัดที่ให้กลิ่นรส**

องค์ประกอบของสารสกัดแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารประกอบไนโตรเจน (nitrogenous compounds) เช่น กรดอะมิโนอิสระ สารประกอบของกรดอะมิโน สารประกอบนิวคลีโอไทด์ และ organic bases เป็นต้น และสารที่ไม่ใช่สารประกอบไนโตรเจน (non-nitrogenous compounds) ได้แก่ น้ำตาลและกรดอินทรีย์ เป็นต้น (Fuke, 1994., Konosu and Yamaguchi, 1982)

2.2.1.1 **สารประกอบไนโตรเจน** (nitrogenous compounds)

ความแตกต่างของปริมาณสารประกอบไนโตรเจนในสัตว์น้ำต่าง ๆ นั้นเนื่องมาจากชนิดและอาหารที่ได้รับ จากการแยกองค์ประกอบของกล้ามเนื้อปลาและหอย พบว่าประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระ อิมิดาโซลไดเพปไทด์ สารประกอบกัวนิดีน ไตรเมธิลามีนออกไซด์ ยูเรีย บีเทน นิวคลีโอไทด์ และสารอื่นๆ มากกว่า 95 % (นงลักษณ์ สุทธิวณิช, 2531)

<u>กรดอะมิโนอิสระ</u> <u>(free amino acids)</u>

กล้ามเนื้อสัตว์น้ำมีกรดอะมิโนรวมอยู่ 3 รูปแบบ คือ กรดอะมิโนอิสระ กรดอะมิโนที่รวมอยู่กับโปรตีน (protein bound amino acid) และกรดอะมิโนที่รวมอยู่กับเพปไทด์ (peptide bound amino acid) กรดอะมิโนที่รวมกันอยู่นี้แยกออกจากกันได้โดยการย่อยด้วยกรดเกลือ กรดอะมิโนอิสระที่พบในสัตว์น้ำมีปริมาณ 0.5-2% ของน้ำหนักกล้ามเนื้อ โดยกรดอะมิโน

อิสระดังกล่าวมีความสำคัญในการควบคุมกระบวนการออสโมซิสในสัตว์จำพวก crustaceans และสัตว์ทะเลชนิดอื่น ๆ (นงลักษณ์ สุทธิวณิช, 2531)

สัตว์น้ำแต่ละชนิดมีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระแตกต่างกัน โดยปริมาณในปลาจะมีมากที่สุด รองลงมาคือสัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks ตามลำดับ ปลาเนื้อขาวบางชนิด ปลาเนื้อแดง ปลาทะเลและปลาน้ำจืดจะมีปริมาณ taurine สูง ส่วนสัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks จะมีปริมาณ taurine, proline, glycine, alanine และ arginine สูง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ glycine ระหว่างปูและกุ้ง พบว่าเนื้อกุ้งประกอบด้วย glycine ในปริมาณที่สูงกว่า โดยมีปริมาณมากกว่าร้อยละ 1 ของเนื้อกุ้งสด โดย glycine มีบทบาทสำคัญต่อรสหวานในกุ้ง แต่สัตว์จำพวก mollusks จะมีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระชนิดดังกล่าวแตกต่างกันขึ้นกับพันธุ์ของสัตว์แต่ละชนิด เช่น glycine จะพบในปริมาณ 1,455 มิลลิกรัม/100 กรัมในหอยเชลล์ แต่พบเพียง 10 มิลลิกรัม/100 กรัมในปลาหมึกกล้วย ซึ่งจะเห็นได้ว่ากรดอะมิโนอิสระที่พบมากในสัตว์น้ำแต่ละชนิดคือ taurine ซึ่งในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ taurine ประมาณ 1,000 มิลลิกรัม/กรัม (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

<u>เพปไทด์</u> (peptides)

ในสารสกัดจากกล้ามเนื้อของปลาและสัตว์จำพวกหอยจะมีเพปไทด์ในปริมาณจำกัด ชนิดของเพปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำที่พบในสารสกัด เช่น carnosine, anserine, balenine และ glutathione ซึ่ง carnosine เป็นไดเพปไทด์ที่ประกอบด้วย β-alanine และ histidine พบมากในปลาไหลและปลาทูน่า สำหรับ anserine เป็นไดเพปไทด์ที่ประกอบด้วย β-alanine กับ methionine พบมากในปลาทูน่า ปลาแซลมอน และปลาฉลามบางชนิด ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 300-600 มิลลิกรัม/100 กรัม โดย carnosine และ anserine มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกล้ามเนื้อ (Konosu and Yamaguchi, 1982)

<u>สารประกอบกัวนิดีน</u> (guanidine compounds)

สารประกอบกัวนิดีนในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำที่สำคัญคือ creatine และ arginine โดยจะพบ creatine มากในกล้ามเนื้อปลา ในช่วง 300-700 มิลลิกรัม/100 กรัม และพบ arginine เป็นจำนวนมากในกล้ามเนื้อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ในกล้ามเนื้อของสัตว์ที่ยังมีชีวิตสารประกอบทั้งสองตัวนี้จะอยู่ในรูป phosphorylated form ทำหน้าที่เป็นสารประกอบที่ให้หมู่ฟอสเฟต (phosphagen) ใน energy metabolism ของกล้ามเนื้อ ส่วน creatinine เกิดจาก

ปฏิกิริยา dehydration ของ creatine พบในปริมาณที่น้อยมาก (10-50 มิลลิกรัม/100 กรัม) (Konosu and Yamaguchi, 1982)

สารประกอบ Quaternary ammonium bases

Trimethylamine-N-oxide (TMAO) เป็นสารประกอบในสัตว์น้ำที่พบมากในปลา ทำหน้าที่คล้ายยูเรียหรือกรดยูริกในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ช่วยกำจัดและปรับสภาพไนโตรเจนให้คงที่ TMAO จะทำหน้าที่เป็น osmoregulator (Botta, 1994) trimethylamine (TMA) เป็นสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นไม่ดีในเนื้อปลา ซึ่งจะมีปริมาณน้อยมากในกล้ามเนื้อสด แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา reduction ของ TMAO ด้วยจุลินทรีย์หลังจากที่สัตว์ตาย ปริมาณของ TMAO ในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำขึ้นกับชนิดและฤดูกาล ปลากระดูกอ่อนมีปริมาณมากกว่าปลากระดูกแข็ง ส่วนกุ้ง ปู มีปริมาณปานกลาง ประมาณ 50 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม โดย TMAO เป็นสารที่ให้รสหวานในกุ้งสด ส่วนพวกที่มี TMAO ต่ำ ได้แก่ ปลาตัวแบนและหอยสองฝา (Hayashi, Yamaguchi and Konosu, 1978)

ยูเรีย (urea)

ปริมาณยูเรียในปลากระดูกแข็งมีค่าน้อยกว่า 50 มิลลิกรัม/100 กรัม ส่วนในปลากระดูกอ่อนสามารถพบได้สูงถึง 1,400-2,000 มิลลิกรัม/100 กรัม ยูเรียในกล้ามเนื้อจะทำหน้าที่ในปฏิกิริยา detoxification ของ ammonia และทำหน้าที่ควบคุม osmotic pressure ในกล้ามเนื้อ (Konosu and Yamaguchi, 1982) ยูเรียเมื่อรวมตัวกับ Trimethylamine (TMA) จะทำให้เกิดกลิ่นรุนแรงในสัตว์น้ำ ยูเรียเกิดจากปฏิกิริยาการแตกตัวของ arginine และเมื่ออุณหภูมิในสัตว์น้ำสูงขึ้น ยูเรียจะสลายตัวให้แอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์

บีเทน (betaines)

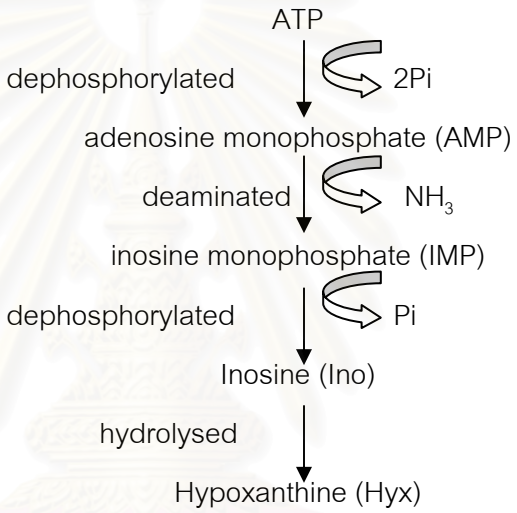
betaines พบมากในกล้ามเนื้อสัตว์จำพวก mollusks และ crustaceans (400-1,000 มิลลิกรัม/100กรัม) โดย betaines ทำหน้าที่เป็นสารตัวกลางในกระบวนการ metabolism ของ choline ในสิ่งมีชีวิต (นงลักษณ์ สุทธิวณิช, 2531)

สารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้อง (nucleotides and related compounds)

สารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้องมีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดรส umami คือ สารประกอบ 5'-nucleotide สำหรับ IMP (inosine monophosphate) และ GMP (guanosine monophosphate) จะทำหน้าที่ทำให้เกิดรส umami

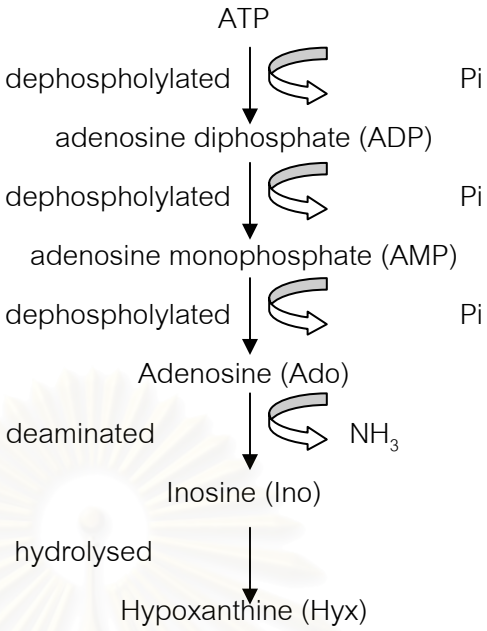
เมื่ออยู่ร่วมกับ glutamic acid สารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้องส่วนใหญ่ในกล้ามเนื้อปลาและสัตว์จำพวกหอยเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบพิวรีนและยังพบอนุพันธ์ของ uracil และ cytosine ในปริมาณเล็กน้อย (Seki, 1971)

ATP (adenosine triphosphate) เป็นนิวคลีโอไทด์ที่สำคัญซึ่งมีอยู่ในกล้ามเนื้อสัตว์ที่มีชีวิต ภายหลังการตายเอนไซม์จะย่อย ATP สัตว์จำพวกหอยและปลาหมึกมีปริมาณ ATP และนิวคลีโอไทด์ชนิดอื่นในปริมาณสูงกว่าปลา โดยวิถีของการสลายตัวของสารประกอบตัวนี้ในกล้ามเนื้อปลา แสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การสลายตัวของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา
ที่มา: Konosu และ Yamaguchi (1982)

เนื่องจากปฏิกิริยาการสลายตัวของ IMP ไปเป็น inosine เกิดค่อนข้างช้า ทำให้ในกล้ามเนื้อของปลาสดมีปริมาณ IMP สูง ส่วนสัตว์จำพวก crustaceans มีแนวโน้มที่จะมี AMP สูง เนื่องจากเอนไซม์ AMP deaminase มี activity ต่ำ และสัตว์จำพวก mollusks จะมีเอนไซม์ AMP deaminase น้อย ดังนั้นวิถีหลักของการสลายตัวของ ATP แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 การสลายตัวของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของสัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks

ที่มา: Konosu และ Yamaguchi (1982)

แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ชนิดต่างๆยังขึ้นกับความสดของสัตว์น้ำด้วย (Konosu and Yamaguchi, 1982)

2.2.1.2 **สารที่ไม่ใช่สารประกอบไนโตรเจน (non-nitrogenous compounds)**

<u>กรดอินทรีย์ (organic acids)</u>

นอกจาก lactic acid ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการ glycolysis ยังพบ propionic acid, acetic acid, pyruvic acid, succinic acid และ oxalic acid ในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ โดย lactic acid เป็นกรดอินทรีย์ที่พบในปริมาณสูงสุด (100 มิลลิกรัม/100 กรัม) สำหรับหอยสองฝา เช่น short necked clam หรือ hard clam มี succinic acid เป็นกรดอินทรีย์หลักที่พบ โดยมีบทบาทต่อรสชาติของหอยดังกล่าว (Konosu and Yamaguchi, 1982)

<u>น้ำตาล (sugars)</u>

glucose และ ribose เป็นน้ำตาลอิสระที่พบมากในกล้ามเนื้อปลาและสัตว์น้ำจำพวกหอย โดยทั่วไปจะพบน้ำตาลอิสระในกล้ามเนื้อปลาและสัตว์น้ำจำพวกหอยใน

ปริมาณค่อนข้างน้อย แต่น้ำตาลอิสระปริมาณเพียงเล็กน้อยนี้ สามารถทำให้เกิดรสและรสชาติในสัตว์น้ำได้ นอกจากน้ำตาลอิสระแล้วยังพบน้ำตาลฟอสเฟตในกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังพบน้ำตาลแอลกอฮอล์ เช่น inositol ในเนื้อปลาและ mollusks อีกด้วย (Konosu and Yamaguchi, 1982)

<u>เกลืออนินทรีย์ (inorganic salts)</u>

ปริมาณเกลืออนินทรีย์มีมากมายหลายชนิดในสัตว์น้ำ โดยพบว่าไอออนของเกลืออนินทรีย์ที่มีผลทำให้เกิดรสและรสชาติที่สำคัญและพบมาก ได้แก่ Na, K^+ และ Cl^- และยังพบ PO_4^{3-} แต่ในปริมาณน้อย (Hayashi, Yamaguchi and Konosu, 1981)

2.2.2 องค์ประกอบที่ทำให้เกิดรสในหอยเป๋าฮื้อ

ในปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีการเปลี่ยนแปลงจาก Adenosine 5'-triphosphate (ATP) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกกรดนิวคลีอิกไปเป็น Adenosine 5'-diphosphate (ADP) จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น AMP จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น Inosine 5'-monophosphate (IMP) จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น inosine และสุดท้ายเปลี่ยนไปเป็น hypoxanthine ตามลำดับ ในสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงจาก ATP ไปเป็น ADP จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น AMP จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น adenosine จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น inosine และสุดท้ายเปลี่ยนไปเป็น hypoxanthine แต่สำหรับหอยเป๋าฮื้อจะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ทั้งสองแบบ อย่างไรก็ตาม activity ของเอนไซม์ AMP-deaminase และ adenosine-deaminase ต่ำ ทำให้หอยเป๋าฮื้อมีการสะสมสารประกอบพวก AMP เป็นส่วนใหญ่แทนที่จะเป็น IMP หรือ adenosine ถึงแม้ AMP จะเป็นสารประกอบที่ไม่มีรสชาติ แต่เมื่ออยู่รวมกับกรดอะมิโนชนิด glutamic acid จะทำให้เกิดรสที่เรียกว่า umami ในหอยเป๋าฮื้อ (Hatae et al., 1995)

Konosu (1973) วิเคราะห์องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. discus* และรายงานว่า glutamic acid, glycine, glycine betaine และ AMP เป็น องค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ โดย glutamic acid เป็นตัวให้รส umami และรสชาติเฉพาะของหอยเป๋าฮื้อ glycine ทำให้เกิดรสหวาน ส่วน AMP นั้นไม่ทำให้เกิดรส แต่เมื่ออยู่ร่วมกับ glutamic acid จะทำให้เกิดรส umami และพบว่าถ้าไม่มี glutamic acid และ AMP ในระบบจะทำให้รส umami และกลิ่นรสเฉพาะของหอยเป๋าฮื้อหายไป ส่วนกรดอะมิโนที่มีปริมาณมาก เช่น taurine และ arginine นั้นไม่ทำให้เกิดรส แต่ taurine จะทำหน้าที่ช่วยปรับสภาพความเข้มข้นของสารละลายในเนื้อเยื่อให้เหมาะสมกับความเข้มข้นของน้ำทะเล (osmoregulation) (Powell et al., 1982) ส่วน

arginine แม้จะไม่ทำให้เกิดรสแต่ก็ช่วยให้เกิดความรู้สึก continuity, thickness, complexity และ mildness (Fuke,1994)

2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบของสารสกัด

2.2.3.1 ผลของพันธุ์ (species) ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

องค์ประกอบของกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในสัตว์จำพวกหอยมีปริมาณมากกว่าในปลาแต่มีปริมาณน้อยกว่าในสัตว์จำพวกปู กุ้ง และปลาหมึก ซึ่งวิเคราะห์พบ taurine, proline, glycine, alanine และ arginine ในปริมาณมากโดยระดับของกรดอะมิโนจะแปรผันตามชนิดของสัตว์ ปริมาณ glycine จะแปรผันตั้งแต่ 1,455 มิลลิกรัม/100 กรัมในกล้ามเนื้อหอยแครงสด ถึง 10 มิลลิกรัม/100 กรัมในกล้ามเนื้อปลาหมึกสด และมีรายงานถึงความแตกต่างระหว่างปลาหมึกและหอยคือ ปลาหมึกมีปริมาณ proline มากกว่าหอยแต่มีปริมาณ glutamic acid น้อยกว่าหอย ปลาหมึกมีปริมาณ TMAO อยู่ในช่วง 129-1,045 มิลลิกรัม/100 กรัมกล้ามเนื้อสด และหอยมีปริมาณ TMAO อยู่ในช่วง 3-107 มิลลิกรัม/100 กรัมกล้ามเนื้อสด (Fuke, 1994)

2.2.3.2 ผลของฤดูกาลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

Watanabe, Uehara และ Sato (1985) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบที่เป็นสารประกอบไนโตรเจนของสารสกัด (extractive nitrogenous compounds) ในกล้ามเนื้อของเพรียงหัวหอม (ascidians) พันธุ์ *Halocynthia roretzi* ที่เพาะเลี้ยงตามฤดูกาล โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม ปีค.ศ. 1983 ถึงเดือนมกราคม ปีค.ศ. 1984 ที่อ่าว Okkirai อำเภอ Iwate พบว่าสารสกัดจากกล้ามเนื้อ ascidians มีปริมาณกรดอะมิโนสูงโดยเฉพาะ taurine, proline, glutamic acid, glycine, alanine และ histidine และพบ quaternary ammonium bases เช่น glycine betaine และ homarine แต่เกือบจะไม่พบ arginine และ creatine ไนโตรเจนที่สกัดได้ส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนอิสระและสารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบที่เกี่ยวข้อง โดยจะมีปริมาณสูงสุดในฤดูร้อนและฤดูใบไม้ร่วง และมีปริมาณต่ำสุดในฤดูหนาวของทุกปี

Watanabe, Yamanaka, และ Yamakawa (1992) ศึกษาผลของฤดูกาลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณองค์ประกอบของสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อ พบว่าองค์ประกอบของสาร

สกัดหลัก คือ ATP ADP และ AMP และมีปริมาณแปรผันตามฤดูกาล โดย AMP มีปริมาณค่อนข้างสูง ในขณะที่ IMP และ adenosine ตรวจพบตลอดทั้งปีแต่พบในปริมาณเล็กน้อย ปริมาณของ ATP และสารประกอบที่เกี่ยวข้องจะสูงที่สุดในเดือนกันยายน ส่วนปริมาณกรดอะมิโนอิสระมีความแปรผันตามฤดูกาลเช่นกันโดยจะมีปริมาณสูงที่สุดในเดือนกันยายนและลดลงครึ่งหนึ่งในเดือนอื่น ๆ กรดอะมิโนอิสระชนิดหลักที่พบ ได้แก่ taurine, arginine, glutamine, glycine, glutamic acid, alanine และ leucine โดยในเดือนกันยายน glutamine, arginine, glycine, glutamic acid, alanine และ serine มีปริมาณสูงที่สุด ส่วน taurine ไม่มีความแปรผันตามฤดูกาล มีปริมาณ 1,000–1,300 มิลลิกรัม/100กรัม ตลอดทั้งปี และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ ซึ่งได้แก่ AMP, glutamic acid และ glycine พบว่ามีปริมาณสูงที่สุดในเดือนกันยายน (470 ไมโครโมล/กรัม) และต่ำที่สุดในเดือนกุมภาพันธ์ (130 ไมโครโมล/กรัม) ดังนั้นเนื้อหอยเป๋าฮื้อจึงมีรสชาติดีในฤดูร้อนเนื่องจากมีปริมาณองค์ประกอบของสารสกัดที่เป็นตัวให้กลิ่นรสสูง

Hatae และคณะ (1995) ศึกษาผลของฤดูกาลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณองค์ประกอบของสารสกัดของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. discus* พบว่าปริมาณ ATP และสารประกอบที่เกี่ยวข้อง กรดอะมิโนอิสระทั้งหมด และ oligopeptides ของหอยเป๋าฮื้อมีความผันแปรตามฤดูกาล โดยจะมีปริมาณสูงสุดในฤดูร้อนและต่ำสุดในฤดูหนาว กรดอะมิโนอิสระที่มีปริมาณมากที่สุด คือ taurine รองลงมา ได้แก่ arginine, glycine, glutamine และ glutamic acid ตามลำดับ ในทั้ง 2 ฤดู และ peptide-bond ที่มีปริมาณมากที่สุด คือ peptide-bond ของ glutamic acid กับ glutamine

Hwang และคณะ (1997) ศึกษาผลของฤดูกาลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโนอิสระในเนื้อและเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. diversicolor* พบว่ากรดอะมิโนอิสระที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ taurine รองลงมา ได้แก่ arginine, glycine, glutamic acid และ alanine ตามลำดับ และพบว่ากรดอะมิโนอิสระทั้งหมด, taurine และกรดอะมิโนที่เป็นตัวให้รส ได้แก่ arginine, glycine, glutamic acid และ alanine ของตัวอย่างที่เก็บในเดือนตุลาคมถึงเดือนมกราคมมีปริมาณสูงกว่าเดือนอื่นจึงสรุปได้ว่าหอยเป๋าฮื้อชนิด*H. diversicolor* จะมีรสชาติดีในฤดูใบไม้ร่วงและฤดูหนาว

2.2.3.3ผลของกระบวนการให้ความร้อนที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

Hatae และคณะ (1996) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านรสชาติของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. discus* ที่ต้มนาน 0, 15, 30, 60, 180 และ 360 นาที พบว่าหลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ ATP ในสารสกัดลดลงจนเกือบหมด ในขณะที่ AMP มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ไม่พบ IMP เช่นเดียวกับในหอยสด ซึ่ง AMP ที่เกิดขึ้นนี้เป็นตัวที่ทำให้เกิดรส umami โดยการเกิด synergism กับ glutamic acid ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่ว่ารส umami ของหอยเป๋าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากมี AMP สูงขึ้น

Kawashima และ Yamanaka (1996) ศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อปริมาณ ATP และสารอนุพันธ์ของหอย scallop โดยนำไปต้มที่อุณหภูมิ 30, 45, 60, 75, 90 $^{\circ}$C และที่อุณหภูมิ 110 $^{\circ}$C เป็นเวลา 90 นาที พบว่า ATP จะลดลงอย่างรวดเร็วตอนเริ่มให้ความร้อนและสลายตัวหมดเมื่ออุณหภูมิสูง 60 $^{\circ}$C ในขณะที่ AMP มีปริมาณค่อย ๆ สูงขึ้นจนคงที่เมื่ออุณหภูมิในการความร้อนสูงถึง 90 $^{\circ}$C และเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 $^{\circ}$C AMP จะเริ่มเปลี่ยนไปเป็น adenosine

2.2.3.4 ผลของอาหารที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

Chiou และคณะ (2002) ศึกษาผลของอาหารที่ใช้เลี้ยงต่อปริมาณองค์ประกอบของสารสกัดของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. diversicolor* โดยเปรียบเทียบระหว่างหอยเป๋าฮื้อที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria* sp.) กับอาหารสำเร็จ พบว่าหอยทั้งสองตัวอย่างมีกรดอะมิโนชนิดหลักที่พบ ได้แก่ taurine, arginine, glycine, glutamic acid, alanine, proline และ serine ตามลำดับ หอยที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จจะมีปริมาณ glycine, glutamic acid, alanine, proline และ serine สูงกว่าหอยที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผมนาง ปริมาณ ATP และสารอนุพันธ์ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน โดยมี AMP เป็นองค์ประกอบหลัก และเมื่อนำหอยทั้งสองตัวอย่างไปทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติพบว่าหอยเป๋าฮื้อที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จได้รับคะแนนดีกว่าหอยที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผมนางโดยผู้ทดสอบให้เหตุผลว่าหอยที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จมีรสชาติดีกว่าและมีรสหวานกว่าหอยที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผมนางในขณะที่รส umami ไม่แตกต่างกัน ผู้วิจัยจึงสรุปว่ากรดอะมิโนตัวสำคัญที่มีผลต่อรสหวาน คือ glycine เนื่องจากหอยทั้งสอง

ตัวอย่างมีปริมาณแตกต่างกันอย่างชัดเจนในขณะที่กรดอะมิโนที่ให้รสหวานตัวอื่น เช่น alanine, serine และ proline มีปริมาณไม่แตกต่างกันมาก

2.3 **โปรตีนไฮโดรไลเสต** (Protein Hydrolysate)

โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผลิตผลที่ได้จากการย่อยโปรตีนโดยการตัดสายเพปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเพปไทด์สายสั้นๆ การเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสามารถกระทำได้โดยการใช้กรด ด่าง หรือเอนไซม์ โดยมีการควบคุมสภาวะเช่นระยะเวลา อุณหภูมิ พีเอช เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามความต้องการ (Adler-Nissen, 1986)

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยทั่วไปมี 2 วิธีได้แก่ การย่อยสลายด้วยสารเคมี เช่น กรดหรือด่าง และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส

การย่อยสลายด้วยกรด อาจใช้กรดซัลฟูริกหรือกรดเกลือซึ่งนิยมมากกว่า เพราะมีประสิทธิภาพในการสลายพันธะดีกว่า ตัวอย่างภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายโปรตีนในกลูเตนด้วยกรดเกลือเข้มข้นปริมาณ 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ 110^{0}C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แยกกรดเกลือออกภายหลังการย่อยสลายโดยระเหยภายใต้ความดัน ที่ภาวะดังกล่าวให้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า Degree of Hydrolysis (DH) 89.50% (Prendergast, 1974)

การย่อยสลายด้วยด่าง นิยมใช้ sodium hydroxide, potassium hydroxide และ barium hydroxide ภาวะที่ใช้โดยทั่วไปคือ ใช้ด่างเข้มข้น 4-5 M ที่ 110^{0}C 4-8 ชั่วโมง (Prendergast, 1974)

การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดย proteolytic enzymes ตัดพันธะเปปไทด์ในโมเลกุลของโปรตีน ให้อัตราการย่อยสลายค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการใช้กรดหรือด่าง แต่การย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีสารประกอบรสขมเกิดขึ้นเนื่องจาก hydrophobic groups ในโมเลกุลของโปรตีนแตกตัว แต่เมื่อย่อยสลายถึงระดับหนึ่งแล้วรสขมจะไม่เกิดขึ้นเพราะกรดอะมิโนอิสระมีรสขมน้อยที่สุด และ peptide chains ที่มี hydrophobic group อยู่ที่ C- หรือ N-terminal มีรสขมน้อยมาก ดังนั้นจึงควบคุมรสขมได้ด้วยการควบคุมอัตราการย่อยสลาย (Matoba and Hata, 1972)

2.3.1 ข้อดีของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยการใช้เอนไซม์

การใช้เอนไซม์มีข้อดีหลายประการคือ มีความจำเพาะสูงและเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรงรวมทั้งสามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและพีเอชปานกลาง ซึ่งกิจกรรมที่เหมาะสมของเอนไซม์สามารถกำหนดระดับการย่อยสลายและขนาดของเพปไทด์ที่เกิดขึ้น ในขณะที่การย่อยด้วยกรดและด่างไม่สามารถกำหนดอัตราการย่อยสลายพันธะได้อย่างมีประสิทธิภาพ การย่อยสลายด้วยด่างทำลายกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิด เช่น tryptophan นอกจากนี้ cysteine, serine และ threonine อาจถูกทำลายได้เช่นกัน รวมทั้งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของกรดอะมิโนจาก L-form เป็น D-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดลง และทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี การย่อยสลายด้วยกรดเสียค่าใช้จ่ายต่ำแต่มีข้อเสียเนื่องจากการสลายของ tryptophan เป็นต้น ในบางภาวะ cystine และ threonine อาจถูกทำลายได้ นอกจากนั้นยังมีกลิ่นกรดตกค้างในโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วย ดังนั้นจึงควรใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนมากกว่าการใช้สารเคมี (Adler-Nissen, 1986)

2.3.2 เอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตใช้เอนไซม์พวกโปรติเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส ที่ช่วยย่อยพันธะเพปไทด์ (peptide bond) ของโปรตีน มีการจัดแบ่งกลุ่มของโปรติเอสไว้หลายวิธีเช่น จัดตามแหล่งกำเนิดคือจากสัตว์ พืช และจุลินทรีย์

-เอนไซม์ที่ได้จากสัตว์ เช่น เอนไซม์เปปซิน (pepsin) เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) เอนไซม์ไคโมทริปซินเอ (chymotrypsin A) จากตับอ่อนของหมู เป็นต้น

-เอนไซม์ที่ได้จากพืช เช่น เอนไซม์ปาเปน (papain) เอนไซม์โบรมิเลน (bromelain) เอนไซม์ฟิซิน (ficin) เป็นต้น

-เอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์สเตร็ปโตคอคคัสโปรติเอส (Streptococcus protease) เป็นเอนไซม์ที่ได้จากแบคทีเรีย เป็นต้น

หรือจัดตามลักษณะการย่อยสลายพันธะเพปไทด์คือ

-เอนโดเพปติเดส (Endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเพปไทด์อย่างอิสระภายในโซ่โมเลกุลของโปรตีนได้เป็นสายโซ่เพปไทด์สั้นๆ เอนไซม์กลุ่มเอนโดเพปติเดสจากพืชหรือจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับสเตรท

ที่เป็นเพปไทด์โมเลกุลใหญ่หลายชนิดและ สับสเตรทที่เป็นโปรตีน ทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว (Adler-Nissen, 1986)

-เอกโสเพปติเดส (Exopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเพปไทด์ด้านปลายโซ่ของโมเลกุล ถ้าเป็นการสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มอะมิโนเรียกว่า อะมิโนเพปติเดส ขณะที่การสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มคาร์บอกซิลเรียกว่า คาร์บอกซิเพปติเดส (Adler-Nissen, 1986)

หรือจัดแบ่งตามลักษณะบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ซึ่งสามารถแบ่งได้ 4 ชนิดได้แก่

- ซีรีนโปรติเอส (serine protease) มีอนุมูลเซริล (seryl) อยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ เอนไซม์ทั้งหมดเป็นพวกเอนโดเพปติเดส มีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 7-11 จัดเป็นโปรติเอสที่เป็นด่าง (alkaline protease) ได้แก่ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) และทริปซิน (trypsin)

- ซัลไฟดริลโปรติเอส (sulfhydryl protease) มีอนุมูลซัลไฟดริลที่บริเวณเร่งสามารถถูกยับยั้งโดยสารที่เรียกว่าซัลไฟดริลรีเอเจนต์ เป็นพวกเอนโดเพปติเดส มีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 6-7.5 จัดเป็นโปรติเอสที่เป็นกลาง (neutral protease) ได้แก่ ปาเปน (papain), ฟิซิน (ficin) และโบรมิเลน (bromelain)

- โปรติเอสที่มีหมู่โลหะ (metal-containing protease) เป็นโปรติเอสที่มีอิออนของโลหะร่วมในโมเลกุลเอนไซม์ในลักษณะของโคแฟคเตอร์ (cofactor) สามารถถูกยับยั้งด้วยสารจับอิออนของโลหะ (metal-chelating agents) เป็นเอกโสเพปติเดสเกือบทั้งหมด เป็นเอนไซม์ที่มีแอคติวิตีสูงในช่วง pH 6.5-7.5 จัดเป็นโปรติเอสที่เป็นกลาง ได้แก่ คาร์บอกซีเพปติเดสเอ (carboxypeptidase A), โปรลิเดส (prolidase) และอิมิโนไดเพปติเดส (iminodipeptidase)

- โปรติเอสที่เป็นกรด (acid protease) เป็นโปรติเอสที่มีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 2-4 และไม่แสดงอนุมูลของกรดอะมิโนที่มีบทบาทในบริเวณเร่งชัดเจน แต่พบว่ามีหมู่คาร์บอกซิลมากกว่า 1 หมู่อยู่บริเวณเร่งได้แก่ เรนนิน (rennin) และเปปซิน (pepsin)

ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลแสดงดังตารางที่ 2.3 ซึ่งได้แก่เอนไซม์จากพืช เช่น ปาเปน เป็นต้น เอนไซม์ทางการค้า เช่น Alcalase 2.4 L, Neutrase 0.5 L, Rapidase 9319 เป็นต้น และเอนไซม์จากสัตว์น้ำ เช่น ซีรีนโปรติเอสที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของปลาแซลมอน (salmon pyloric caeca) เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของปลาทูน่า เป็นต้น

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

วัตถุดิบ	เอนไซม์	อ้างอิง
Cod frame	Crude proteinase[1]	Jeon et al. (1999)
Atlantic salmon muscle	Visceral serine protease[2]	Kristinsson and Rasco (2000)
	Alcalase 2.4 L	Kristinsson and Rasco (2000)
	Flavourzyme 1000 L	Kristinsson and Rasco (2000)
	Corolase PN-L	Kristinsson and Rasco (2000)
	Corolase 7089	Kristinsson and Rasco (2000)
Lobster head	Papain	Vieira et al. (1995)
	Pepsin	Vieira et al. (1995)
	Fungal protease	Vieira et al. (1995)
Black tiger shrimp head	Neutrase 0.5 L	Bhuwapathapun (1996)
	Rapidase 9319	Bhuwapathapun (1996)
Pacific whiting solid waste	Alcalase 2.4 L	Benjakul and Morrissey (1997)
	Neutrase 0.5 L	Benjakul and Morrissey (1997)
Eviscerated mullet	Bacterial protease	Rebeca et al. (1991)

[1]extracted from tuna pyloric caeca [2]extracted from Atlantic salmon pyloric caeca

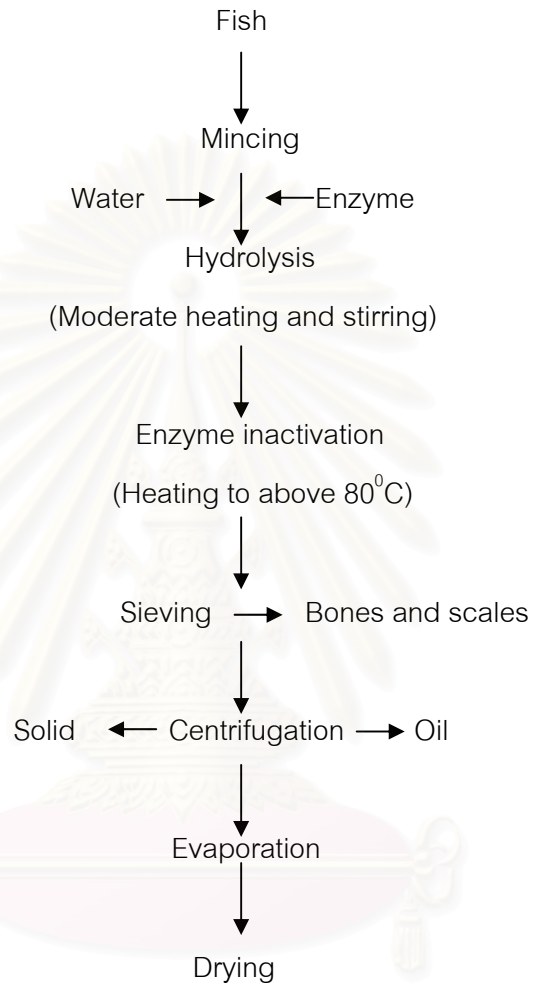
ที่มา: Madmarn และ Prasertsan (2002)

2.3.3 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วยเอนไซม์

กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต (รูปที่ 2.5) เริ่มจากการนำวัตถุดิบมาบดให้ละเอียด เติมน้ำ และย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสภายใต้ภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ หลังจากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และแยกส่วนของเหลวซึ่งมีส่วนประกอบของโปรตีนที่ต้องการ นำไปทำแห้งจะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสต (Gildberg, 1993)

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้เอนไซม์จำเป็นต้องควบคุมระดับการย่อยของเอนไซม์ให้เหมาะสม ระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากถ้าระดับการย่อยของเอนไซม์มากเกินไปเป็นผลทำให้เกิดเพปไทด์ที่มีรสขมซึ่ง

เป็นกลุ่มของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, tyrosine และ tryptophan ในจำนวนมาก ดังนั้นการควบคุมการย่อยและการเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในแต่ละผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (Synowiecki et al., 1996)



รูปที่ 2.5 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต
ที่มา: Madmarn และ Prasertsan (2002)

นอกจากองค์ประกอบของกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเสตจะขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการย่อยสลาย (ตารางที่ 2.4) องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสตยังขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายด้วยดัง ตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบของกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากหัวกุ้ง วัสดุเศษเหลือจากปลาค็อด (cod) และเนื้อปลาค็อด

Amino acid	Content (mg/100g)		
	Shrimp head[1]	Cod offal[2]	Cod fillet[2]
Aspartic acid	8.81	5.50	6.32
Threonine	3.92	2.43	2.65
Serine	4.42	3.07	2.77
Glutamic acid	11.93	7.77	9.24
Proline	3.59	3.23	2.73
Glycine	5.48	5.69	2.83
Alanine	4.76	3.91	3.56
Cysteine	0.85	0.56	0.44
Valine	4.73	2.22	2.33
Methionine	1.75	1.81	1.80
Isoleucine	3.71	1.79	2.00
Leucine	5.59	3.92	4.56
Tyrosine	3.55	1.74	2.09
Phenylalanine	4.77	2.03	2.18
Lysine	4.24	4.54	6.38
Histidine	2.50	0.63	1.57
Arginine	4.47	3.98	3.85

[1]Kongkeaw (1999) [2]Mackie (1982)

ที่มา: Madmarn และ Prasertsan (2002)

จากตารางพบว่าองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยหัวกุ้งอยู่ในระดับที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนที่ได้จากวัสดุเศษเหลือจากปลาค็อด (cod) และเนื้อปลาค็อด

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ

Source	Composition				Enzyme	Reference
	Protein	Fat	Ash	Moisure		
Raw herring	85.3	4.7	9.6	4.8	Papain	Hoyle and Merritt(1994)
Herring	82.3	3.7	13.3	3.9	Alcalase	Hoyle and Merritt(1994)
presscake	83.4	3.6	9.9	3.2	Papain	Hoyle and Merritt(1994)
White fish	89.0	2.80	6.95	-	Papain	Mackie (1982)
Offal	90.46	2.70	7.13	-	Alcalase	Mackie (1982)
Blue whiting	75.55	11.76	7.08	-	Papain	Mackie (1982)
Cod fillet	84.4	2.00	6.20	-	Papain	Mackie (1982)
Codfillet	81.8	4.20	6.90	-	Papain	Rebeca et al. (1991)
waste						
Eviscerated	82.3	7.7	3.3	3.3	HT-proteolytic200	Rebeca et al. (1991)
mullet	86.9	3.3	3.5	2.7	Protease N	Rebeca et al. (1991)
	83.7	6.8	3.4	4.4	Pescalase 560	

ที่มา: Madmarn และ Prasertsan (2002)

2.3.4 Degree of Hydrolysis ; DH

DH เป็นดัชนีซึ่งใช้อธิบายปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ การติดตามค่า DH ทำได้หลายวิธี ขึ้นกับชนิดของไฮโดรไลเสต และยังขึ้นกับระดับความละเอียดและเที่ยงตรงที่ต้องการด้วย วิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ การวัดปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ การวัดปริมาณกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้น และการวัดปริมาณด่าง

การวัดปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่อาศัยหลักการที่ว่าระหว่างการเกิดปฏิกิริยาโปรตีนถูกย่อยสลายไปเป็น polypeptides และกรดอะมิโน ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสตจึงลดลง ขณะที่ปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น การวัดปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่จึงเป็นดัชนีที่ใช้ติดตามความก้าวหน้าของกระบวนการ hydrolysis ได้ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใช้วิธี Kjeldahl, UV absorbance, Folin-Lowry Color Development, Bicinchroninic acid และวิธี Coomasie Brilliant Blue G-250 ค่า DH ในกรณีนี้หมายถึง

$$DH = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด}} \times 100$$

การวัดปริมาณกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นในไฮโดรไลเสต ส่วนใหญ่ใช้ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีระหว่างกรดอะมิโนกับสารเคมีบางชนิด ปฏิกิริยาที่รู้จักกันดี ได้แก่ colorimetric ninhydrin reaction, trinitrobenzenesulfonic fluorometric reaction ซึ่งสารที่ทำให้เกิดสี ได้แก่ fluorescamine, O-phthalaldehyde ความหมายของค่า DH สำหรับวิธีนี้คือ

$$DH = \frac{\text{ปริมาณพันธะเพปไทด์ที่แตกออก}}{\text{ปริมาณพันธะเพปไทด์ทั้งหมด}} \times 100$$

ปริมาณพันธะเปปไทด์ทั้งหมดในโปรตีนคือ ผลรวมของมิลลิโมลกรดอะมิโนใน 1 กรัมโปรตีน (ปริมาณโปรตีนทั้งหมดวิเคราะห์โดยวิธี Kjeldahl, N×6.25) ส่วนปริมาณพันธะเพป-ไทด์ที่แตกออก คำนวณได้จากการวิเคราะห์หมู่ alpha amino ในไฮโดรไลเสต

การวัดปริมาณด่างที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสทำโดยอาศัยหลักการที่ว่า ระหว่างการย่อยสลายโปรตีนไปเป็นเพปไทด์ และกรดอะมิโน ในสารละลายที่มี pH มากกว่า 7.5 หมู่อะมิโนที่ N-terminal จะรับโปรตอนได้น้อยลง ขณะที่หมู่คาร์บอกซิลของ C-terminal ให้โปรตอนได้เต็มที่ ซึ่งจะทำให้ pH ของไฮโดรไลเสตลดลง ทำให้ activity ของเอนไซม์ลดลงด้วย ดังนั้นจึงต้องมีการเติมด่างอย่างต่อเนื่อง เพื่อรักษาระดับของ pH ให้เป็นไปตามต้องการ โดยทั่วไปจะใช้ sodium hydroxide และ calcium hydroxide เรียกวิธีนี้ว่า pH-stat method เครื่องมือประกอบด้วย pH meter, เครื่องบันทึก และเครื่องควบคุม pH ค่า DH คำนวณจากปริมาณด่างที่ใช้ระหว่างปฏิกิริยา โดยปริมาณพันธะเปปไทด์ที่แตกออก เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณด่างที่ใช้ไป (Adler-Nissen, 1986)

$$DH = B \times \frac{N_b}{M_b} \times \frac{1}{\alpha} \times \frac{1}{h_{tot}} \times 100$$

B = ปริมาณด่างที่ใช้ (ลิตร)

N_b = normality ของด่าง

M_b = มวลของโปรตีน (กิโลกรัม)

$\frac{1}{\alpha}$ = ค่า calibration สำหรับ pH–stat ที่ pH 8.5 อุณหภูมิ 50-55^0 C, มีค่าเท่ากับ 1.04

h_{tot} = จำนวนพันธะ peptide ในโปรตีน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 8.3 กรัมสมมูล ต่อกิโลกรัมโปรตีน

ปราณิศา และนงนุช (2534) เปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ papain และ bromelin ในปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนและศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำหอยนางรมสกัดโดยนำเนื้อหอยนางรมบดมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ papain และ bromelin โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7%ของน้ำหนักหอยพบว่า papain 0.7% หรือ bromelin 0.3% ให้ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ (โปรตีนที่ละลายได้) ในน้ำหอยสกัดสูงสุด

Stanley (1981) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อไก่ถอดกระดูกที่กำจัดไขมันออกแล้วด้วยเอนไซม์ pancreatin เข้มข้น 4.3% ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 8.5 และนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยสลายที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติ พบว่าผู้ทดสอบสามารถรับรสขมในตัวอย่างที่ใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 นาทีขึ้นไป

Yu และ Fazidah (1994) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาคาร์พ *(Aristichthys nobilis)* โดยใช้เอนไซม์ protease P 'Amano' ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น 2% ย่อยสลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีระดับการย่อยสลาย 15% มีค่า nitrogen recovery 60% มีความชื้น 3% โปรตีน 87% ไขมัน 0.85% เถ้า 8.65% มีปริมาณกรดอะมิโนสูงขึ้นและตรวจพบรสขมเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายมากกว่า 3 ชั่วโมง

Shahidi และคณะ (1995) เปรียบเทียบการย่อยสลายปลา capelin *(Mallotus villosus)* ด้วยเอนไซม์ทางการค้าคือ Alcalase®, Neutrase®, Papain และ endogenous enzyme ซึ่งเป็นเอนไซม์ในอวัยวะภายในของปลา พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยสลายจะได้ค่า protein recovery อยู่ในช่วง 51.6-70.6% ในขณะที่ใช้ endogenous enzyme จะได้ protein recovery เท่ากับ 22.9% และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตที่เตรียมได้จากเอนไซม์ทุกตัวพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 71-78%

Sarabok และ Kittikun (1999) เปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์ Alcalase® และ Neutrase® และศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0% ปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำนึ่งปลาทูน่าย่อยสลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในการทดลองใช้ เอนไซม์ Alcalase® ย่อยสลายที่ pH 8.0 อุณหภูมิ

60^0C และเอนไซม์ Neutrase® ที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 45^0C เก็บตัวอย่างน้ำนึ่งปลาทูน่าในระหว่างการย่อยสลายที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที พบว่าเอนไซม์ Alcalase® 2.0% ที่ pH 8.0 อุณหภูมิ 60^0C และเอนไซม์ Neutrase® 2.0% ที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 45^0C มีระดับการย่อยสลายแปรผันกับเวลา เมื่อย่อยสลายเป็นเวลา 180 นาทีสามารถย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าได้ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้สูงสุดเป็น 23.14% และ 21.59% ตามลำดับ และมีระดับการย่อยสลายสูงสุดเป็น 85.54% และ 83.09% ตามลำดับ

Guerard และคณะ (2002) ศึกษาการย่อยสลายวัสดุเศษเหลือของปลาทูน่าด้วยเอนไซม์ Umamizyme โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์ต่อสารตั้งต้นที่เป็นโปรตีนในช่วง 0.1-1.5%(w/w) ของโปรตีนที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 45^0C พบว่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เอนไซม์ความเข้มข้นสูงขึ้น โดยเมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์ต่อสารตั้งต้นเป็น 1.5% จะได้ระดับการย่อยสลายเป็น 22.5% ภายหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.3.5 การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

ปัจจุบันสารปรุงแต่งกลิ่นรสมีบทบาทสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารและมีการใช้อย่างกว้างขวางทั้งประเภทสังเคราะห์และจากธรรมชาติ สารปรุงแต่งกลิ่นรสจากธรรมชาติส่วนใหญ่ผลิตจากโปรตีนไฮโดรไลเสตจากพืชและสัตว์โดยนำมาปรุงแต่งด้วยองค์ประกอบอื่นๆเพื่อให้ได้กลิ่นรสตามต้องการ หรือเพื่อลดต้นทุนการผลิต ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารสำเร็จรูปที่จำเป็นต้องใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสได้มีการพัฒนาและขยายตัวอย่างกว้างขวาง จึงมีการศึกษาวิจัยด้านการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลอันจะเป็นการลดต้นทุนด้านวัตถุดิบ

โปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือที่ได้จากการแปรรูปสัตว์น้ำจำพวกปลาและกุ้งประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสปริมาณสูง ดังนั้นจึงมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารเช่นในผลิตภัณฑ์จากซูริมิ ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช และการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์เช่นปลาและกุ้ง (Prendergast, 1974)

การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารใช้ได้ใน 2 ลักษณะคือ สารให้กลิ่นรส (flavor donor) และสารเสริมกลิ่นรส (flavor enhancer) การใช้เป็นสารให้กลิ่นรสนั้นเพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีกลิ่นรสเหมือนกับสารให้กลิ่นรส ส่วนการใช้เป็นสารเสริมกลิ่นรสใช้

เพื่อเพิ่มกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารที่มีกลิ่นรสอยู่แล้วให้สูงขึ้น การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารต้องคำนึงถึงปริมาณที่เหมาะสมซึ่งขึ้นกับชนิดของอาหารและโดยทั่วไปอยู่ในช่วง 0.20-1.30% (Prendergast, 1974)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ

วัสดุเศษเหลือ (หอยเป๋าฮื้อขนาดเล็กซึ่งไม่ได้ขนาดตามต้องการที่จะนำไปบริโภคสดหรือนำไปแปรรูปในรูปแบบต่างๆและส่วนของเครื่องใน) ของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina* จากสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี นำมาบรรจุถุงพลาสติกแล้วผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18^{0}C ตลอดระยะเวลาก่อนนำมาใช้ทดลอง

เอนไซม์

Flavourzyme®500L จากบริษัท อีสต์เอเชียติกประเทศไทย จำกัด เป็น protease/peptidase complex สามารถทำหน้าที่เป็นได้ทั้ง endoprotease และ exopeptidase เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Aspergillus oryzae* มีภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานในช่วง pH 5.0-7.0 อุณหภูมิ 40-60^{0}C มี activity 500 LAPU/g (Leucine Amino Peptidase Units per gram) โดยเอกสารประกอบเอนไซม์แสดงไว้ในภาคผนวก ซ

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

กรดซัลฟูริก (J.T. Baker, USA)	(A. R.)
กรดบอริก (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A. R.)
เซเลเนียมรีเอเจนท์มิกซ์เจอร์ (Merck, Darmstadt, Germany)	(A. R.)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A. R.)
โซเดียมคาร์บอเนต (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A. R.)
โบรโมครีซอลกรีน (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A. R.)
ปิโตรเลียมอีเธอร์(Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A. R.)
โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A. R.)
เมธทิลเรด (Merck, Darmstadt, Germany)	(A. R.)

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารสกัด

กรดเปอร์คลอริก (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy) (A. R.)

โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy) (A. R.)

กรดไตรคลอโรอะซิติก (Merck, Darmstadt, Germany) (A. R.)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ATP และสารอนุพันธ์

สารมาตรฐาน

inosine (Ino) purity 100% (บริษัท Wako Pure Chemical Industries, Ltd., ประเทศญี่ปุ่น)

adenosine 5'-triphosphate, disodium (ATP-Na_2) purity 99 % (บริษัท Sigma Chem. Co)

adenosine 5'-diphosphate, disodium (ADP-Na_2) purity 98 % (บริษัท Sigma Chem. Co)

adenosine 5'-monophosphate, disodium (AMP-Na_2) purity 99 % (บริษัท Sigma Chem. Co)

inosine 5'-monophosphate, disodium (IMP- Na_2) purity 98-100 % (บริษัท Sigma Chem. Co)

adenosine (Ado) purity 99 % (บริษัท Sigma Chem. Co)

hypoxanthine (Hyx) purity 99 % (บริษัท Sigma Chem. Co)

ตัวทำละลาย

เมทานอล (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy) (HPLC grade)

น้ำบริสุทธิ์ เป็นน้ำที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์แบบ reverse osmosis และ deionization จนน้ำมีความต้านทานไฟฟ้าต่ำกว่า 18.2 Ω ซม

กรดฟอสฟอริก (Univa, Ajax Finechem, Australia) (A. R.)

โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต (Univa, Ajax Finechem, Australia) (A. R.)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนอิสระ

Waters AccQ-Tag eluent A concentrate (gradient mobile phase) (Waters, Milford, USA)

Waters amino acid hydrolysate standard ampoules (Pierce, Rockford, USA)

60% acetonitrile (Fisher Scientific UK Limited, Loughborough, UK)

Waters AccQ.fluor reagent kit ประกอบด้วย

- Waters AccQ. fluor borate buffer (Waters, Milford, USA)
- Waters AccQ. fluor reagent powder (2A) (Waters, Milford, USA)
- Waters AccQ. fluor reagent diluent (2B) (Waters, Milford, USA)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Biuret method

คอปเปอร์ซัลเฟต (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy) (A. R.)

โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต

(APS Ajax Finechem, New South Wales, Australia) (A.R.)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Univa, Ajax Finechem, Australia) (A. R.)

โบวิน ซีรัม อัลบูมิน (Fluka, Steinheim, Switzerland) (A. R.)

เครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Buchi, B-324, Flawil, Switzerland)

เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet Apparatus) (Gerhardt, EV-16, Konigswinter, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BP210S, Gottingen, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, BP310S, Gottingen, Germany)

ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100-110^{0}C (hot air oven) (Memmert, model 600, Oxford, Connecticut, USA)

เตาเผา (Isotherm Muffle Furnace) (Carbolite, CWF1200, England)

เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมสารสกัด

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BP210S, Gottingen, Germany)

เครื่องวัด pH (HORIBA, F-21, Kyoto, Japan)

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo IEC, multi-RF, Miami, Florida, USA)

homogenizer (Ace homogenizer) (Kenwood, A907, Long Beach, California, USA)

ตู้แช่แข็งชนิดควบคุมอุณหภูมิต่ำ (Sanyo, SF-C95, Osaka, Japan)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ ATP และสารอนุพันธ์

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Milford, USA) ประกอบด้วย

- ระบบฉีดตัวอย่าง (Waters, 717 Plus Autosampler)
- คอลัมน์ Pursuit 3 μm C8 ขนาด 4.6 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร อนุภาคขนาด 3 ไมครอน
- เครื่องตรวจวัด (Waters, 2487 Dual λ Absorbance Detector)

เครื่องวัด pH (HORIBA, F-21, Kyoto, Japan)

เครื่องคนสารละลายแม่เหล็กอัตโนมัติ (Thermix, 210T)

ชุดกรอง (Gast Manufacturing, Inc., Michigan, USA)

แผ่นกรองแบบบาง (National Scientific Company) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร nylon syringe pore size 0.45 ไมครอน

แผ่นกรองแบบบาง (Pall Corporation, Michigan) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร pore size 0.45 ไมครอน

ขวดใส่สารตัวอย่างขนาด 1 มิลลิลิตร (Waters 150 μL clear glass concial)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนอิสระ

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Milford, USA) ประกอบด้วย

- ระบบฉีดตัวอย่าง (Waters 717 plus Autosampler)
- คอลัมน์ Waters AccQ-Tag amino acid analysis column ขนาด 3.9 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 4 ไมครอน
- เครื่องตรวจวัด (Waters 2487 Dual Absorbance Detector: 254 นาโนเมตร)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Biuret method

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BP210S, Gottingen, Germany)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) (Shimadzu, UV-240, Kyoto, Japan)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ volatile compounds

Headspace (Agilent, 7694, USA)

Gas Chromatography (GC) (Agilent, 6890N, USA)

Mass Spectrometer (MS) (Agilent, MSD 5973, USA)

คอลัมน์ Capillary column ขนาด 30 เมตร × 250 ไมโครเมตร × 0.25 ไมโครเมตร (J&W Scientific, DB-5MS, USA)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

ขวด pycnometer

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BP210S, Gottingen, Germany)

เครื่องวัด pH (HORIBA, F-21, Kyoto, Japan)

เครื่องคนสารละลายแม่เหล็กอัตโนมัติ (Thermix, 210T)

hand refractometer 0-32 °brix (Atago, NO1)

เครื่องวัดความหนืด (Brookfield, DVI+, Stoughton, USA)

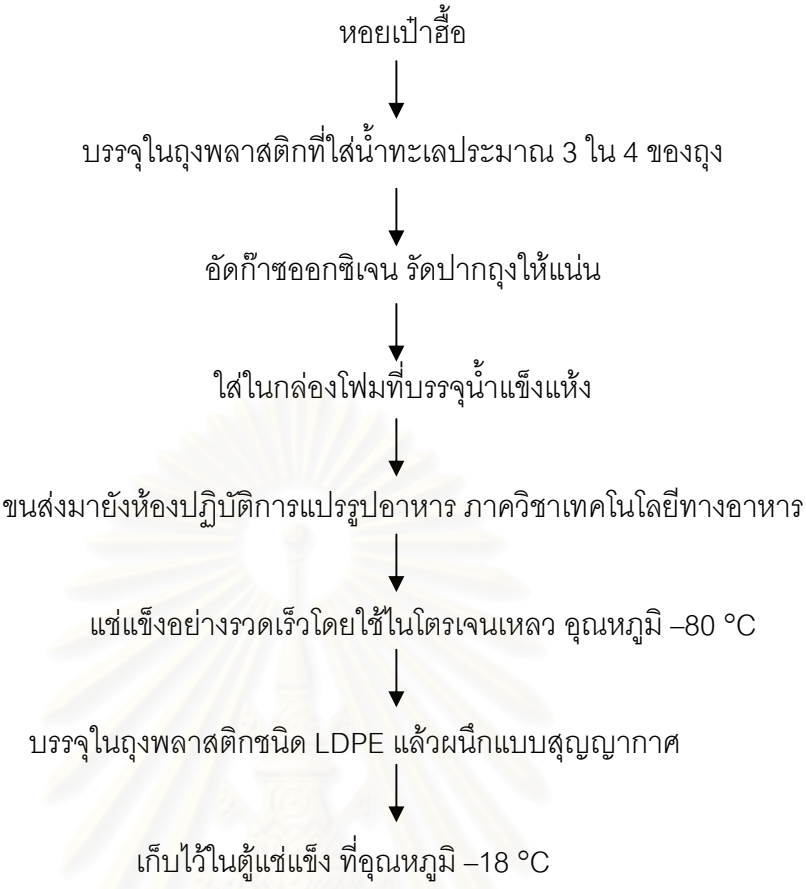
เครื่องวัดสี (Minolta, CR300 series, Tokyo, Japan)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) (Shimadzu, UV-240, Kyoto, Japan)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป๋าฮื้อทั้งส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina*

ใช้วัสดุเศษเหลือ (หอยเป๋าฮื้อขนาดเล็กซึ่งไม่ได้ขนาดตามต้องการที่จะนำไปบริโภคสดหรือนำไปแปรรูปในรูปแบบต่างๆและส่วนของเครื่องใน) ของหอยเป๋าฮื้อชนิด ***H. asinina*** จากสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี โดยหอยเป๋าฮื้อมีขนาดประมาณ 100 ตัว/กิโลกรัม และให้หอยเป๋าฮื้ออดอาหารประมาณ 2 วันก่อนนำหอยเป๋าฮื้อมาใช้ในงานทดลอง โดยการเตรียมหอยเป๋าฮื้อแสดงดังรูปที่ 3.1

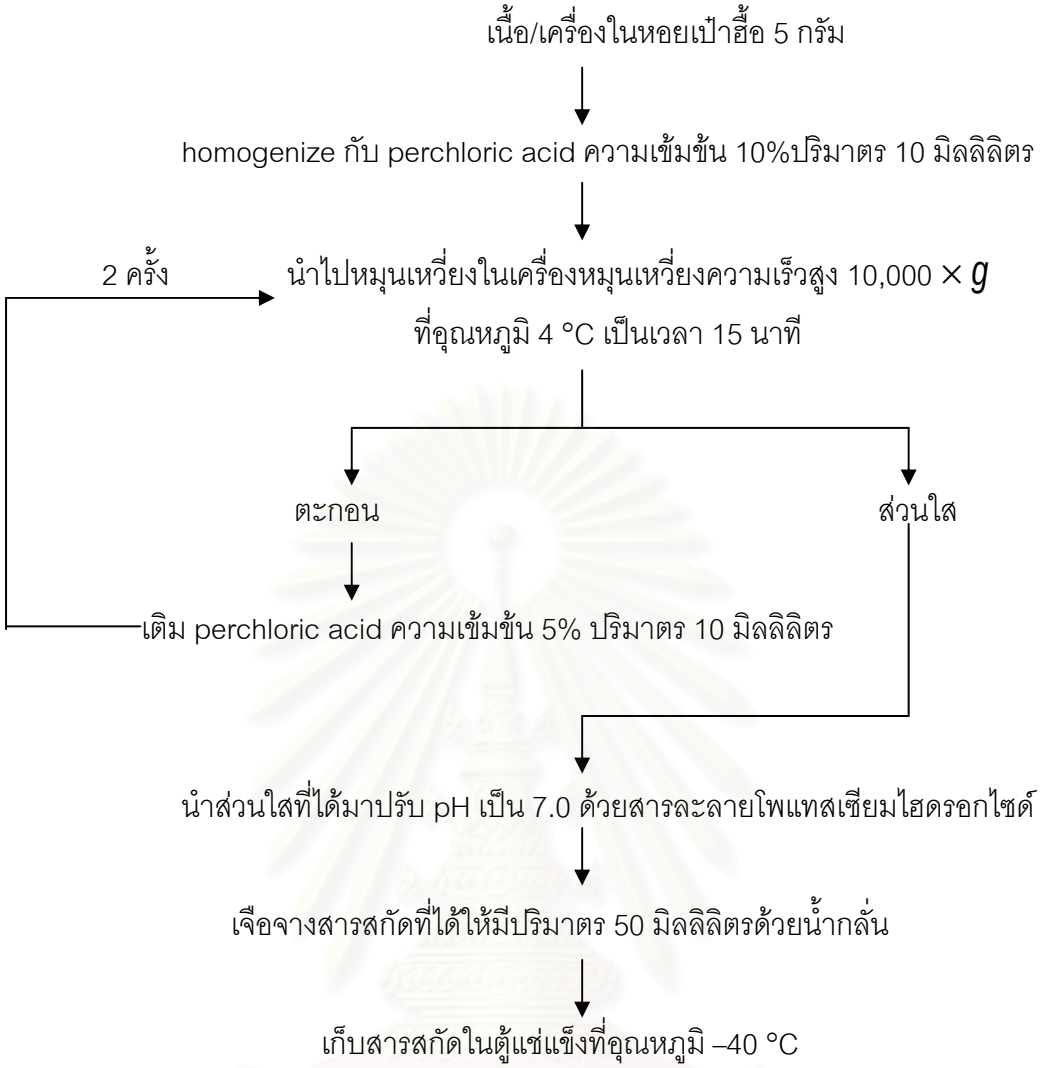


รูปที่ 3.1 การเตรียมหอยเป๋าฮื้อ

นำหอยเป๋าฮื้อแช่แข็งมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา แกะเปลือก แยกเอาเนื้อและเครื่องในออกจากกัน ล้างทำความสะอาดอีกครั้ง นำเนื้อและเครื่องในที่ได้มาสับให้ละเอียดเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณเถ้า (AOAC, 1995) โดยวิธีวิเคราะห์แสดงไว้ในภาคผนวก ก.1-ก.4 ตามลำดับ

3.1.2 วิเคราะห์ปริมาณ AMP ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ที่ได้จากการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี HPLC (Hatae et al., 1995) โดยวิธีการเตรียมสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ AMP แสดงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 วิธีการเตรียมสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ AMP

ภาวะในการวิเคราะห์

ปริมาตรสารสกัดที่ใช้ : 10 ไมโครลิตร

ความเข้มข้นของสารละลายเฟสเคลื่อนที่: สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์

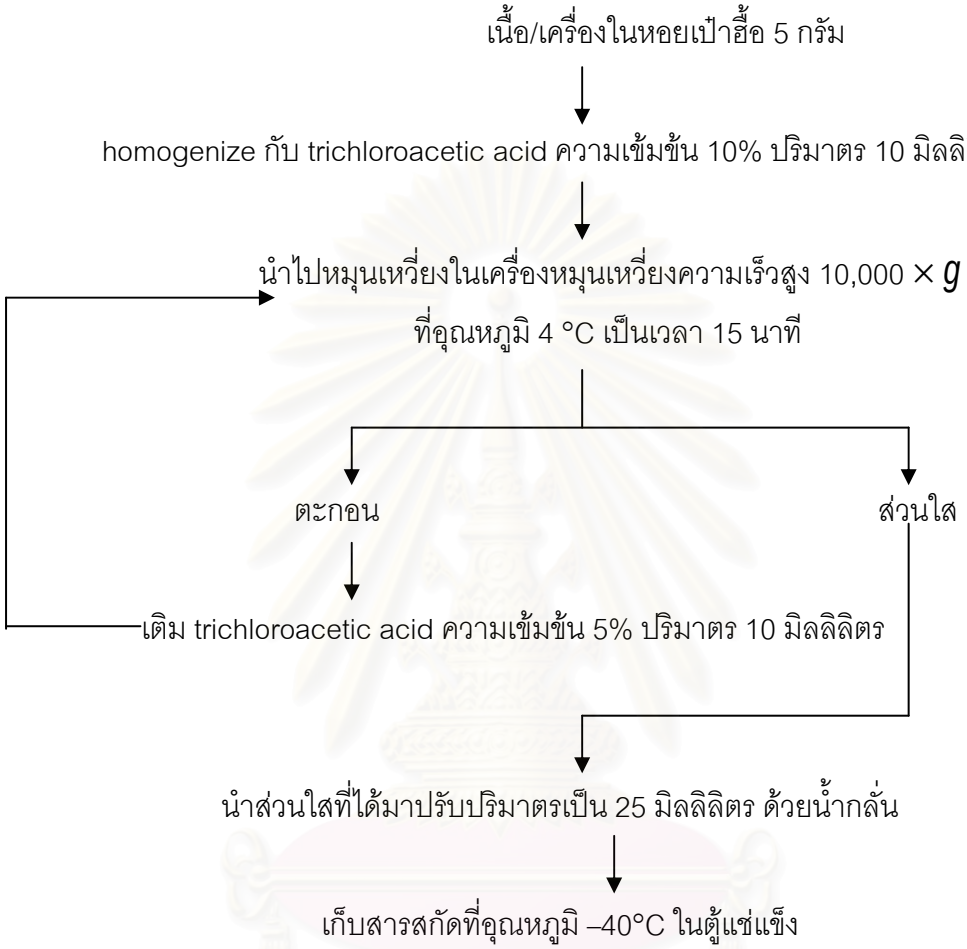
pH ของสารละลายเฟสเคลื่อนที่: 6.00

อัตราการไหล: 1.0 มิลลิลิตร/นาที

คอลัมน์: คอลัมน์ Pursuit 3 μm C8 ขนาด 4.6 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร อนุภาคขนาด 3 ไมครอน

เครื่องตรวจวัด: Waters, 2487 Dual λ Absorbance Detector

3.1.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ที่ได้จากการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี HPLC (Hatae et al., 1995) โดยวิธีการเตรียมสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนแสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 วิธีการเตรียมสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน

ภาวะในการวิเคราะห์

ปริมาตรสารสกัดที่ใช้: 10 ไมโครลิตร

สารละลายเฟสเคลื่อนที่: AccQ Tag Eluent A และ acetonitrile

คอลัมน์: AccQ Tag column ขนาด 3.9 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร

อนุภาค hydrophilic polymer ขนาด 4 ไมครอน

: สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนได้ทั้งหมด 17 ตัว

เครื่องตรวจวัด: Waters 2487 Dual Absorbance Detector 254 นาโนเมตร

3.2 ปัจจัยที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

นำหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากข้อ 3.1 ซึ่งเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18^{0}C มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา แกะเปลือก แยกเอาเนื้อและเครื่องในออกจากกัน ล้างทำความสะอาดอีกครั้ง นำเนื้อที่ได้มาสับให้ละเอียด

3.2.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

นำเนื้อหอยเป๋าฮื้อปริมาณ 15 กรัม มาสับละเอียด ผสมส่วนของหอยเป๋าฮื้อสับละเอียดกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ย่อยโปรตีนโดยใช้ Flavourzyme® 1.0% ของน้ำหนักหอย แปรอุณหภูมิการย่อยที่อุณหภูมิ 40^{0}C, 50^{0}C และ 60^{0}C และที่ pH 5.0, 6.0 และ 7.0 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.2.1.1 วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยการคำนวณและหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret method (Copeland, 1994)

นำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Copeland, 1994) และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้โดยตกตะกอนกับสารละลาย trichloro acetic acid (TCA) 10% แล้วแยกส่วนของเหลวใสไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (Copeland, 1994) แล้วหาระดับการย่อยสลายได้จาก

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (DH)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนหลังจากตกตะกอนด้วย 10\% TCA} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด}}$$

วางแผนการทดลองแบบ Symmetric Factorial Design ขนาด 3×3 ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) แล้วเลือกอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการย่อยสลายของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยพิจารณาจากค่าระดับการย่อยสลาย

3.2.1.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อด้วยวิธี HPLC (Hatae et al., 1995) วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอันเนื่องมาจากเอนไซม์

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อเมื่อไม่ใช้เอนไซม์ และคำนวณปริมาณกรดอะมิโนที่ก่อให้เกิดรสขม และรสหวาน

ในการทดลองจะวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเอนไซม์ Flavourzyme® ด้วยเพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาว่ามีผลต่อปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตหรือไม่

เลือกภาวะที่เหมาะสมในการย่อยจากปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในภาวะการย่อยสลายต่างๆ โดยเลือกภาวะที่ให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อสูงสุด และกรดอะมิโนที่ให้รสขมต่ำสุด

3.2.2 เวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

เลือกภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.1 แล้วศึกษาเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีน

นำเนื้อหอยเป๋าฮื้อปริมาณ 15 กรัม มาสับละเอียด ผสมส่วนของหอยเป๋าฮื้อสับละเอียดกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ย่อยโปรตีนโดยใช้ Flavourzyme® 1.0% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่า pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ ซึ่งเลือกจากข้อ 3.2.1 เป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที

3.2.2.1 วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยการคำนวณและหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret method เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan' s New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) แล้วเลือกเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยพิจารณาจากค่าระดับการย่อยสลาย

3.2.2.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อด้วยวิธี HPLC วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอันเนื่องมาจากเอนไซม์ วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อเมื่อไม่ใช้เอนไซม์ และคำนวณปริมาณกรดอะมิโนที่ก่อให้เกิดรสขม และรสหวาน เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

3.2.2.3 วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยวิธี Descriptive Analysis with Scoring (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 10 คน (Piggott, 1984)

คัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีความสามารถในการแยกความแตกต่างด้านความแรงของกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อได้จำนวน 10 คน จาก 30 คน โดยนำสารปรุงแต่งกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อทางการค้ามาละลายน้ำให้มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00% โดยน้ำหนัก ใช้วิธีทดสอบแบบ Ranking Test (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan' s New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) แล้วเลือกเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยพิจารณาจากคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่สูงที่สุดเพื่อนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารต่อไป

3.3 ปัจจัยที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

นำหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากข้อ 3.1 ซึ่งเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18^{0}C มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา แกะเปลือก แยกเอาเนื้อและเครื่องในออกจากกัน ล้างทำความสะอาดอีกครั้ง นำเครื่องในที่ได้มาสับให้ละเอียด

3.3.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

นำเครื่องในหอยเป๋าฮื้อปริมาณ 15 กรัม มาสับละเอียด ผสมส่วนของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสับละเอียดกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ย่อยโปรตีนโดยใช้ Flavourzyme® 1.0% ของน้ำหนักเครื่องในหอย แปรอุณหภูมิการย่อยที่อุณหภูมิ 40^{0}C, 50^{0}C และ 60^{0}C และที่ pH 5.0, 6.0 และ 7.0 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.3.1.1 วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ โดยการคำนวณและหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret method เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1

วางแผนการทดลองแบบ Symmetric Factorial Design ขนาด 3×3 ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) แล้วเลือกอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการย่อยสลายของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยพิจารณาจากค่าระดับการย่อยสลาย

3.3.1.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ด้วยวิธี HPLC วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอันเนื่องมาจากเอนไซม์ วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเมื่อไม่ใช้เอนไซม์ และคำนวณปริมาณกรดอะมิโนที่ก่อให้เกิดรสขม และรสหวาน เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

เลือกภาวะที่เหมาะสมในการย่อยจากปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในภาวะการย่อยสลายต่างๆ โดยเลือกภาวะที่ให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อสูงสุด และกรดอะมิโนที่ให้รสขมต่ำสุด

3.3.2 เวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

เลือกภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.1 แล้วศึกษาเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีน

นำเครื่องในหอยเป๋าฮื้อปริมาณ 15 กรัม มาสับละเอียด ผสมส่วนของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสับละเอียดกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ย่อยโปรตีนโดยใช้ Flavourzyme® 1.0% ของน้ำหนักเครื่องในหอย ที่อุณหภูมิและค่า pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ ซึ่งเลือกจากข้อ 3.3.1 เป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที

3.3.2.1 วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ โดยการคำนวณและหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret method เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan' s New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) แล้วเลือกเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยพิจารณาจากค่าระดับการย่อยสลาย

3.3.2.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ด้วยวิธี HPLC วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอันเนื่องมาจากเอนไซม์ วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเมื่อไม่ใช้เอนไซม์ และคำนวณปริมาณกรดอะมิโนที่ก่อให้เกิดรสขม และรสหวาน เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

3.3.2.3 วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ โดยวิธี Descriptive Analysis with Scoring ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 10 คน เช่นเดียวกับข้อ 3.2.2.3

วางแผนการทดลองแบบ RCBD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan' s New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992) แล้วเลือกเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยคัดเลือกภาวะที่ดีสุดโดยพิจารณาจากคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่สูงที่สุดเพื่อนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารต่อไป

3.4 องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ และส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

3.4.1 วิเคราะห์ปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ด้วยวิธี HPLC (Hatae et al., 1995)

3.4.2 วิเคราะห์ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรส เช่น สารพวก aldehyde ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ด้วยวิธี Headspace GC-MS (Sun Pan and Kuo, 1994) โดยรายละเอียดการวิเคราะห์แสดงไว้ในภาคผนวก ก.11

3.4.3 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (AOAC, 1995) และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ด้วยวิธี Mohr method ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ โดยวิธีวิเคราะห์แสดงไว้ในภาคผนวก ก.2 และ ก.5 ตามลำดับ

3.4.4 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ โดยวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น ค่า pH วัดปริมาณ Total Soluble Solids ค่าความหนืด ค่าสี และค่าความขุ่น (วิธีวิเคราะห์ค่า pH ค่าความหนืด และค่าสีแสดงไว้ในภาคผนวก ก.8, ก.9 และ ก.10 ตามลำดับ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป๋าฮื้อทั้งส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H.asinina*

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด ***H.asinina***

จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณเถ้า ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อชนิด ***H.asinina***

องค์ประกอบหอยเป๋าฮื้อ	ความชื้น (% wet basis)	โปรตีน (% wet basis)	ไขมัน (% wet basis)	เถ้า (% wet basis)
เนื้อหอยเป๋าฮื้อ	83.78 ± 0.61	14.91 ± 1.74	0.28 ± 0.16	1.02 ± 0.02
เครื่องในหอยเป๋าฮื้อ	83.65 ± 0.75	11.20 ± 0.77	3.95 ± 0.47	1.16 ± 0.12

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อและเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด ***H.asinina*** พบว่า ปริมาณโปรตีนและไขมันของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อแตกต่างกัน แต่มีปริมาณความชื้นและเถ้าใกล้เคียงกัน โดยเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณโปรตีน (14.91%) สูงกว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (11.20%) แต่ปริมาณไขมันของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (0.28%) ต่ำกว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมาก (3.95%) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อและเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด ***H.asinina*** มีค่าใกล้เคียงกับหอยเป๋าฮื้อชนิดอื่นๆเช่น หอยเป๋าฮื้อที่พบในประเทศญี่ปุ่น ได้แก่ ชนิด ***H. gigantea sieboldii*** ที่มีความชื้น 78-83% โปรตีน 12–17% ชนิด ***H. gigantea discus*** มีความชื้น 78–90% โปรตีน 9.4-17.5% ชนิด ***H. discus hannai*** มีความชื้น 72-78% โปรตีน 7.5-12.5% (Takayama et al., 1970) หอยเป๋าฮื้อชนิด ***H. cracheroidii*** ที่พบในประเทศสหรัฐอเมริกา มีความชื้น 68–72% โปรตีน 18–23 % (Webber, 1970) หอยเป๋าฮื้อชนิด ***H. ruber*** ที่พบในประเทศออสเตรเลีย มีความชื้น 74-78% โปรตีน 16–19.5% การที่ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของหอยเป๋าฮื้อแตกต่างกันก็จะส่งผลให้กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏแตกต่างกัน (Olley and

Thrower, 1977) ซึ่งปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสัตว์น้ำที่แตกต่างกันนั้นขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด กายวิภาค ฤดูกาล เพศ และฤดูกาลวางไข่ เป็นต้น (นงลักษณ์ สุทธิวณิช, 2531)

4.1.2 ปริมาณ AMP ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H.asinina*

จากการวิเคราะห์ปริมาณ AMP ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H.asinina* ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณ AMP ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

องค์ประกอบหอยเป๋าฮื้อ	ปริมาณ AMP (mg/100g sample)*
เนื้อหอยเป๋าฮื้อ	33.33 ± 1.53
เครื่องในหอยเป๋าฮื้อ	55.33 ± 3.06

* wet basis

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ AMP ซึ่งเป็นองค์ประกอบของสารสกัดช่วยให้เกิดกลิ่นรส ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณ AMP ของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อแตกต่างกัน โดยเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ AMP (55.33 mg/100g sample) สูงกว่าเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (33.33 mg/100g sample) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีกลิ่นรสดีกว่าเนื้อหอยเป๋าฮื้อเนื่องจากมีปริมาณ AMP สูงกว่า โดย AMP จะทำให้เกิดรส umami เมื่ออยู่ร่วมกับ glutamic acid (Konosu et al., 1987 and Kimura et al., 1969)

คอลัมน์ที่ใช้สามารถวิเคราะห์ปริมาณ ATP และสารอนุพันธ์ได้ทุกตัว แต่ในงานวิจัยมุ่งเน้นถึงการใช้ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ดังนั้นจึงรายงานผลการวิเคราะห์เป็นปริมาณ AMP เพียงอย่างเดียว เนื่องจาก AMP เป็นองค์ประกอบของสารสกัดตัวหนึ่งที่ช่วยให้เกิดกลิ่นรส

4.1.3 ปริมาณกรดอะมิโนในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H.asinina*

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อชนิด *H.asinina* ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.3 พบว่าเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลักแตกต่างกัน โดยเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนชนิดหลักคือ arginine, threonine, glutamic acid และ aspartic acid ส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนชนิดหลักคือ arginine, threonine, glutamic acid, aspartic acid, serine และ glycine

ตารางที่ 4.3 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)* ในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

กรดอะมิโน	เนื้อหอยเป๋าฮื้อ	เครื่องในหอยเป๋าฮื้อ
Aspartic acid	16.50 ± 2.12	16.50 ± 0.71
Serine	5.00 ± 0.00	14.00 ± 0.00
Glutamic acid	22.50 ± 0.71	32.50 ± 2.12
Glycine	6.50 ± 0.71	13.50 ± 0.71
Histidine	7.50 ± 0.71	1.00 ± 1.41
Arginine	188.50 ± 4.95	307.50 ± 2.12
Threonine	34.50 ± 0.71	40.00 ± 2.83
Alanine	7.50 ± 0.71	8.50 ± 2.12
Proline	5.00 ± 0.00	4.50 ± 4.95
Cysteine	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Tyrosine	3.50 ± 0.71	0.75 ± 0.35
Valine	3.00 ± 0.00	1.00 ± 1.41
Methionine	0.75 ± 0.07	0.50 ± 0.71
Lysine	6.50 ± 0.71	5.00 ± 0.00
Isoleucine	2.00 ± 0.00	0.75 ± 0.35
Leucine	3.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00
Phenylalanine	2.50 ± 0.71	1.50 ± 0.71
Total	314.75 ± 5.59	449.50 ± 13.44

* wet basis

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่เป็นตัวให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ ได้แก่ glycine, alanine และ proline ทำให้เกิดรสหวาน (Nishimura and Kato, 1988) glutamic acid, glycine, alanine, arginine และ serine ทำให้การรับรู้รส umami ชัดเจนขึ้น (Konosu et al., 1987 and Kimura et al., 1969) พบว่าเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ glycine, alanine, glutamic acid, arginine และ serine (6.50, 7.50, 22.50, 188.50 และ 5.00 mg/100g sample ตามลำดับ) ต่ำกว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (13.50, 8.50, 32.50, 307.50 และ 14.00 mg/100g sample ตามลำดับ) แต่มีปริมาณ proline (5.00 mg/100g sample) สูงกว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (4.50 mg/100g sample) โดยปริมาณของกรดอะมิโนจะขึ้นกับสายพันธุ์ของหอยเป๋าฮื้อด้วย จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่ากรดอะมิโนที่มีปริมาณสูงสุดของเนื้อหอยเป๋าฮื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อคือ arginine (188.50 และ 307.50 mg/100g sample ตามลำดับ) โดย arginine ช่วยให้เกิดความรู้สึก continuity, thickness, complexity และ mildness ด้วย (Fuke, 1994) เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโน leucine, isoleucine และ valine ที่ทำให้เกิดรสขมและฝาด (Konosu et al., 1987., Nishimura and Kato, 1988) พบว่าเนื้อหอยเป๋าฮื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ leucine 3.00 และ 2.00 mg/100g sample ตามลำดับ ปริมาณ isoleucine 2.00 และ 0.75 mg/100g sample ตามลำดับ และ valine 3.00 และ 1.00 mg/100g sample ตามลำดับ นอกจากนี้กรดอะมิโน threonine ซึ่งพบว่าทั้งในเนื้อหอยเป๋าฮื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณสูง แม้จะไม่มีรายงานไว้ว่าเป็นตัวที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ แต่ threonine ให้รสหวาน (Fuke, 1994) ซึ่งเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณสูงกว่าเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (40.00 และ 34.50 mg/100g sample ตามลำดับ) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีกลิ่นรสดีกว่าเนื้อหอยเป๋าฮื้อ เนื่องจากมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อสูงกว่าและมีปริมาณกรดอะมิโนที่ทำให้เกิดรสขมและฝาดต่ำกว่า

นอกจากนี้ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนชนิดหลักยังขึ้นกับชนิดและพันธุ์ของสัตว์ด้วย โดยสัตว์จำพวกหอยและปลาหมึกจะมีกรดอะมิโนอิสระ taurine, proline, glycine, alanine และ arginine สูง (Nishimura and Kato, 1988) จึงทำให้สัตว์ทะเลแต่ละชนิดมีกลิ่นรสเฉพาะตัวที่แตกต่างกัน

4.2 ปัจจัยที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

4.2.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่ใช้ในการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อของเอนไซม์ Flavourzyme® แปรอุณหภูมิการย่อยที่อุณหภูมิ 40^{0}C, 50^{0}C และ 60^{0}C และที่ pH 5.0, 6.0 และ 7.0 วิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้ผลดังนี้

4.2.1.1 ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (^{0}C)	ระดับการย่อยสลาย ; DH (%)		
	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0
40	$26.92^{Ba} \pm 0.00$	$28.17^{Ba} \pm 0.23$	$24.34^{Aa} \pm 0.93$
50	$32.29^{Bb} \pm 0.04$	$33.60^{Cb} \pm 0.38$	$30.43^{Ab} \pm 0.18$
60	$38.19^{ABc} \pm 1.05$	$41.41^{Cc} \pm 1.33$	$35.80^{Ac} \pm 0.49$

A,B,C ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a,b,c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Symmetric Factorial Design ขนาด 3×3 พบว่าอุณหภูมิและ pH มีผลต่อระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิ และ pH ไม่มีผลต่อระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยแยกปัจจัย โดยเมื่อพิจารณาที่ระดับ pH เดียวกัน เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ระดับการย่อยสลายก็จะเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 60^{0}C จะให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด เมื่อพิจารณาที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่าที่ pH 6.0 จะให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด ดังนั้นภาวะการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นภาวะที่ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุดคือ ประมาณ 41%

จากผลการทดลองจะเห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยสลายจาก 40 เป็น 60^{0}C และการปรับ pH เป็น 6.0 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะปฏิกิริยาเคมีส่วนใหญ่จะให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น การเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ของโมเลกุลสาร ส่งผลให้เกิดการชนกันของ reactants ต่อหน่วยเวลาได้มากขึ้น เช่นเดียวกับปฏิกิริยาของเอนไซม์ การเพิ่มอุณหภูมิมีผลให้ความเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเพิ่มอัตราเร็วของการชนกันระหว่างเอนไซม์และสารตั้งต้น แต่เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน ซึ่งถ้าโมเลกุลสารมีพลังงานมากเกินไป คือ ย่อยที่อุณหภูมิสูงกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) ต่อการทำงานของเอนไซม์ จะมีผลทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) และสูญเสีย activity ไป (Whitaker, 1972) โดยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในการทดลองมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 60^{0}C ดังนั้นในการทดลองจึงย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ในช่วงอุณหภูมิดังกล่าวเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ และผลวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Birch และคณะ (1981) ที่ย่อยสลายเลือดซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมเนื้อด้วยเอนไซม์ Neutrase® ที่อุณหภูมิ 30^{0}C, 40^{0}C, 50^{0}C และ 60^{0}C พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยสลายจาก 30 เป็น 60^{0}C activity ของเอนไซม์ในการย่อยสลายเลือดจะเพิ่มขึ้น

เมื่อปรับ pH เป็น 6.0 พบว่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะ pH มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ โดย pH ที่เหมาะสม (optimum pH) ของเอนไซม์ Flavourzyme® อยู่ในช่วง pH 5 ถึง 7 เมื่อ pH สูงหรือต่ำเกินไปจะส่งผลให้โครงสร้างบางส่วนของเอนไซม์ถูกทำลายและเกิดการสูญเสีย activity ของเอนไซม์ จึงทำให้เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบที่ pH ต่างๆได้ไม่เท่ากัน (Eskin and Henderson, 1971)

4.2.1.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

ก่อนวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อได้เริ่มต้นการทดลองโดยการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยใช้เนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำสกัดเป็นตัวอย่างควบคุมที่ 1 และใช้เนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 ในการสกัดเป็นตัวอย่างควบคุมที่ 2 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5 จากนั้นจึงวิเคราะห์

ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.6, 4.7 และ 4.8

ตารางที่ 4.5 ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

กรดอะมิโน	ตัวอย่างควบคุมที่ 1* (mg/100g sample)	ตัวอย่างควบคุมที่ 2** (mg/100g sample)
Aspartic acid	4.50 ± 0.71	6.50 ± 0.71
Serine	1.50 ± 0.71	3.50 ± 0.71
Glutamic acid	12.50 ± 0.71	16.50 ± 0.71
Glycine	3.50 ± 0.71	6.50 ± 0.71
Histidine	3.50 ± 0.71	5.50 ± 0.71
Arginine	132.50 ± 2.12	148.50 ± 2.12
Threonine	19.00 ± 1.41	20.50 ± 2.12
Alanine	2.50 ± 0.71	4.50 ± 0.71
Proline	1.50 ± 0.71	3.50 ± 0.71
Cysteine	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Tyrosine	2.50 ± 0.71	3.00 ± 0.00
Valine	1.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00
Methionine	0.15 ± 0.07	0.35 ± 0.07
Lysine	2.50 ± 0.71	5.50 ± 0.71
Isoleucine	1.50 ± 0.71	2.00 ± 0.00
Leucine	1.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00
Phenylalanine	1.50 ± 0.71	2.50 ± 0.71
Total	191.15 ± 5.59	232.85 ± 3.46

* ตัวอย่างควบคุมที่ 1 คือ เนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำสกัด

** ตัวอย่างควบคุมที่ 2 คือ เนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำสกัดที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.6 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 40^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)			
	เอนไซม์* Flavourzyme®	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 5.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 6.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 7.0
Aspartic acid	0.00 ± 0.00	19.50 ± 2.12	23.00 ± 1.41	16.50 ± 2.12
Serine	0.03 ± 0.00	20.00 ± 0.00	27.00 ± 0.00	14.00 ± 0.00
Glutamic acid	0.03 ± 0.00	32.00 ± 0.00	38.00 ± 0.00	24.50 ± 2.12
Glycine	0.02 ± 0.00	14.00 ± 1.41	16.50 ± 0.71	9.50 ± 3.54
Histidine	0.04 ± 0.00	22.50 ± 0.71	19.50 ± 0.71	8.50 ± 2.12
Arginine	0.04 ± 0.00	378.50 ± 2.12	382.50 ± 2.12	190.00 ± 7.07
Threonine	0.03 ± 0.00	81.00 ± 1.41	83.50 ± 2.12	37.50 ± 4.95
Alanine	0.03 ± 0.00	16.00 ± 2.83	17.00 ± 2.83	9.50 ± 2.12
Proline	0.05 ± 0.00	35.50 ± 0.71	38.00 ± 2.83	16.50 ± 0.71
Cysteine	0.05 ± 0.00	4.50 ± 0.71	7.00 ± 1.41	5.50 ± 0.71
Tyrosine	0.06 ± 0.00	15.50 ± 0.71	10.50 ± 0.71	4.00 ± 1.41
Valine	0.03 ± 0.00	17.50 ± 2.12	20.00 ± 1.41	9.00 ± 1.41
Methionine	0.06 ± 0.01	15.00 ± 0.00	14.50 ± 0.71	5.00 ± 0.00
Lysine	0.04 ± 0.01	35.50 ± 0.71	35.00 ± 0.00	16.50 ± 0.71
Isoleucine	0.04 ± 0.00	12.50 ± 0.71	15.50 ± 0.71	9.00 ± 1.41
Leucine	0.03 ± 0.00	44.00 ± 2.83	40.50 ± 0.71	16.50 ± 0.71
Phenylalanine	0.06 ± 0.00	21.00 ± 1.41	24.50 ± 0.71	9.00 ± 1.41
Total	0.63 ± 0.01	784.50 ± 3.54	812.50 ± 9.19	401.00 ± 24.04

* ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในสดมภ์ที่ 2 มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ

ตารางที่ 4.7 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 50^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)			
	เอนไซม์* Flavourzyme®	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 5.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 6.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 7.0
Aspartic acid	0.00 ± 0.00	31.50 ± 0.71	34.50 ± 0.71	25.50 ± 9.19
Serine	0.03 ± 0.00	34.50 ± 0.71	53.50 ± 0.71	29.50 ± 2.12
Glutamic acid	0.03 ± 0.00	65.50 ± 2.12	69.50 ± 2.12	42.50 ± 4.95
Glycine	0.02 ± 0.00	21.00 ± 1.41	26.50 ± 4.95	18.00 ± 1.41
Histidine	0.04 ± 0.00	27.50 ± 3.54	52.00 ± 2.83	26.00 ± 1.41
Arginine	0.04 ± 0.00	678.50 ± 0.71	1110.50 ± 3.54	436.50 ± 3.54
Threonine	0.03 ± 0.00	145.50 ± 4.95	171.50 ± 0.71	92.00 ± 7.07
Alanine	0.03 ± 0.00	24.00 ± 2.83	34.00 ± 5.66	18.00 ± 2.83
Proline	0.05 ± 0.00	62.50 ± 2.12	66.00 ± 2.83	42.00 ± 2.83
Cysteine	0.05 ± 0.00	9.00 ± 1.41	10.00 ± 2.83	5.00 ± 0.00
Tyrosine	0.06 ± 0.00	15.00 ± 1.41	34.50 ± 0.71	19.00 ± 0.00
Valine	0.03 ± 0.00	39.00 ± 7.07	28.50 ± 0.71	20.50 ± 0.71
Methionine	0.06 ± 0.01	22.00 ± 2.83	43.50 ± 0.71	17.50 ± 2.12
Lysine	0.04 ± 0.01	49.00 ± 0.00	83.50 ± 0.71	44.00 ± 0.00
Isoleucine	0.04 ± 0.00	30.50 ± 3.54	22.50 ± 2.12	17.00 ± 2.83
Leucine	0.03 ± 0.00	95.00 ± 7.07	53.00 ± 0.00	48.00 ± 1.41
Phenylalanine	0.06 ± 0.00	31.50 ± 3.54	54.50 ± 0.71	26.50 ± 0.71
Total	0.63 ± 0.01	1381.50 ± 0.71	1948.00 ± 11.31	927.50 ± 36.06

* ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในสดมภ์ที่ 2 มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.8 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

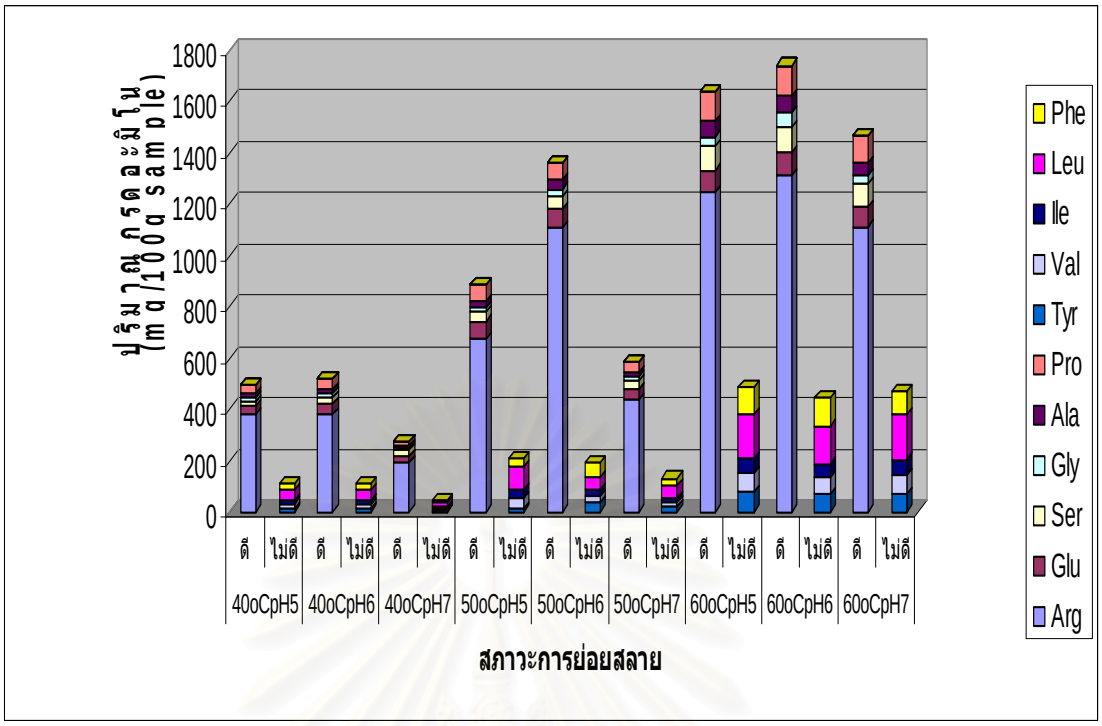
กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)			
	เอนไซม์* Flavourzyme®	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 5.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 6.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 7.0
Aspartic acid	0.00 ± 0.00	42.50 ± 0.71	46.50 ± 0.71	41.50 ± 0.71
Serine	0.03 ± 0.00	91.50 ± 2.12	97.50 ± 0.71	87.50 ± 0.71
Glutamic acid	0.03 ± 0.00	83.50 ± 0.71	93.50 ± 0.71	76.50 ± 0.71
Glycine	0.02 ± 0.00	39.50 ± 3.54	58.50 ± 4.95	33.50 ± 2.12
Histidine	0.04 ± 0.00	85.00 ± 0.00	85.50 ± 0.71	82.00 ± 1.41
Arginine	0.04 ± 0.00	1250.00 ± 253.14	1310.50 ± 286.38	1113.00 ± 299.81
Threonine	0.03 ± 0.00	244.50 ± 2.12	255.00 ± 1.41	241.50 ± 0.71
Alanine	0.03 ± 0.00	60.50 ± 3.54	64.50 ± 4.95	51.50 ± 3.54
Proline	0.05 ± 0.00	114.00 ± 2.83	118.00 ± 2.83	107.50 ± 0.71
Cysteine	0.05 ± 0.00	19.50 ± 0.71	23.50 ± 0.71	14.00 ± 0.00
Tyrosine	0.06 ± 0.00	75.00 ± 1.41	70.00 ± 2.83	67.50 ± 0.71
Valine	0.03 ± 0.00	76.50 ± 0.71	66.00 ± 2.83	76.50 ± 3.54
Methionine	0.06 ± 0.01	58.50 ± 0.71	71.50 ± 0.71	50.00 ± 1.41
Lysine	0.04 ± 0.01	146.00 ± 0.00	148.50 ± 0.71	117.50 ± 0.71
Isoleucine	0.04 ± 0.00	59.50 ± 2.12	52.00 ± 0.00	60.50 ± 4.95
Leucine	0.03 ± 0.00	166.50 ± 4.95	148.00 ± 0.00	175.50 ± 2.12
Phenylalanine	0.06 ± 0.00	108.00 ± 0.00	108.00 ± 0.00	93.00 ± 1.41
Total	0.63 ± 0.01	2720.50 ± 253.85	2817.00 ± 299.81	2489.00 ± 291.33

* ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในสดมภ์ที่ 2 มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างควบคุมที่ 1 และ ตัวอย่างควบคุมที่ 2 ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.5 พบว่า ตัวอย่างควบคุมที่ 1 มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ 2 ไม่มากนัก ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าภาวะการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อโดยใช้น้ำที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 แทบจะไม่มีผลต่อปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโน แสดงว่าเอนไซม์ที่มีในเนื้อหอยเป๋าฮื้อไม่มีบทบาทต่อการย่อยสลาย เกิด autolysis น้อย แต่เมื่อพิจารณาปริมาณ

กรดอะมิโนในตัวอย่างควบคุมที่ 1 และ ตัวอย่างควบคุมที่ 2 ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ เทียบกับปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ (ตารางที่ 4.6, 4.7 และ 4.8) จะพบว่า กรดอะมิโนในตัวอย่างควบคุมที่ 1 และ ตัวอย่างควบคุมที่ 2 ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ มีปริมาณต่ำกว่ากรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆอย่างเห็นได้ชัดมาก ดังนั้นปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อจึงเป็นผลมาจากการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเอนไซม์ Flavourzyme® ในตารางที่ 4.6, 4.7 และ 4.8 พบว่าเอนไซม์ Flavourzyme® มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำมาก (ปริมาณที่ใช้มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ) ดังนั้นปริมาณกรดอะมิโนในเอนไซม์จึงไม่มีผลต่อปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ และจากการศึกษาผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่มีต่อปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.6, 4.7 และ 4.8 พบว่าเมื่อพิจารณาที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่าที่ pH 6.0 จะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงกว่าที่ pH 5.0 และ 7.0 เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยที่อุณหภูมิ 60^{0}C จะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับระดับการย่อยสลาย (ตารางที่ 4.4) ทั้งนี้เป็นเพราะเมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โปรตีนจะแตกตัวเป็นกรดอะมิโน และเมื่อการย่อยสลายเกิดมากขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย ดังนั้นภาวะการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นภาวะที่ให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อซึ่งเป็นภาวะเดียวกับที่ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุดด้วย อย่างไรก็ตามภาวะที่มีระดับการย่อยสลายและปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดไม่ได้หมายความว่าเป็นภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเสมอไป เพราะถ้าเกิดการย่อยสลายมากเกินไปจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีรสขม ดังนั้นจึงพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในภาวะการย่อยสลายต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อในรูปที่ 4.1 พบว่าที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นภาวะที่ให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อได้แก่ proline, alanine, glycine, serine, glutamic acid และ arginine ในปริมาณสูงกว่าภาวะการย่อยสลายอื่นๆทุกภาวะ ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมได้แก่ phenylalanine, leucine, isoleucine, valine และ tyrosine ก็มีในปริมาณสูงเช่นกัน แต่เมื่อเทียบปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีจะพบว่ามีปริมาณการเพิ่มที่สูงกว่ากรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีอยู่มาก ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 จะมีกลิ่นรสดีกว่าที่ภาวะการย่อยสลายอื่นๆทุกภาวะ จึงเลือกภาวะในการย่อยสลายดังกล่าวสำหรับการทดลองขั้นต่อไป

ในการทดลองไม่ได้ย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิสูงกว่า 60^{0}C เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งถ้าย่อยที่อุณหภูมิสูงกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ (อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ Flavourzyme® อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 60^{0}C) จะมีผลทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติและสูญเสีย activity ไป

4.2.2 เวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

จากการศึกษาอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้เลือกภาวะในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0 มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป จากนั้นศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยแปรการย่อยสลายที่ 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที วิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้ผลดังนี้

4.2.2.1 ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เวลา (นาที)	ระดับการย่อยสลาย ; DH(%)
30	$36.69^a \pm 0.30$
60	$39.77^b \pm 0.54$
90	$41.75^c \pm 0.70$
120	$44.27^d \pm 0.34$
180	$47.77^e \pm 0.39$

a,b,c,.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design (CRD) พบว่าเวลามีผลต่อระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ระดับการย่อยสลายก็จะเพิ่มขึ้น โดยที่เวลา 180 นาที จะให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด

จากผลการทดลองจะเห็นว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นจาก 30 เป็น 180 นาที ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะเวลาที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายพันธะเพปไทด์ของโปรตีนได้สมบูรณ์

ยิ่งขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sarabok และ Kittikun (1999) ที่ศึกษาเวลาการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์ Alcalase® และ Neutrase® ที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที พบว่าทั้งเอนไซม์ Alcalase®และ Neutrase® มีระดับการย่อยสลายแปรผันกับเวลาเมื่อย่อยสลายเป็นเวลา 180 นาที สามารถย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าได้สูงสุด นอกจากนี้ Guerard และคณะ (2002) ศึกษาการย่อยสลายวัสดุเศษเหลือของปลาทูน่าด้วยเอนไซม์ Umamizyme พบว่าปฏิกิริยาการย่อยสลายจะเกิดอย่างรวดเร็วในช่วงต้น หลังจากนั้นปฏิกิริยาการย่อยสลายจะช้าลง และระดับการย่อยสลายจะแปรผันกับเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย

4.2.2.2 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.10

จากการศึกษาผลของเวลาที่มีต่อปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.10 พบว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายมากขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยที่เวลา 180 นาที จะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับระดับการย่อยสลาย (ตารางที่ 4.9) ทั้งนี้เป็นเพราะเมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โปรตีนจะแตกตัวเป็นกรดอะมิโน และเมื่อการย่อยสลายเกิดมากขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามควรพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสด้วย ซึ่งจะส่งผลต่อกลิ่นรสและคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ จึงนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อไปวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส และแยกดูปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.10 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)				
	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที	180 นาที
Aspartic acid	27.67±0.58	42.33±0.58	56.00±1.00	67.67±0.58	80.67±4.04
Serine	59.33±1.15	93.67±0.58	128.00±1.73	132.67±2.52	146.67±3.51
Glutamic acid	41.33±0.58	85.67±3.21	154.33±6.43	153.67±3.06	153.67±3.51
Glycine	39.67±0.58	59.00±4.36	81.67±0.58	82.67±0.58	82.67±0.58
Histidine	83.67±0.58	87.67±0.58	158.00±6.00	184.00±2.00	212.67±1.53
Arginine	983.00±1.00	1066.67±1.53	1440.33±28.94	1391.00±4.58	1384.00±1.73
Threonine	240.00±2.00	250.67±1.53	571.33±0.58	544.00±3.61	520.67±0.58
Alanine	58.67±1.15	74.67±0.58	138.00±24.27	153.67±6.66	157.00±11.79
Proline	7.33±4.62	33.00±17.09	52.00±29.51	15.67±3.21	11.33±5.13
Cysteine	40.00±1.00	66.33±1.15	126.00±14.53	95.33±8.50	49.67±33.01
Tyrosine	9.67±0.58	12.67±0.58	15.67±1.53	104.00±2.00	151.33±5.13
Valine	39.33±2.52	58.67±1.53	82.67±12.01	162.67±1.15	185.67±17.93
Methionine	44.33±4.73	71.33±3.51	73.33±7.77	146.33±0.58	170.00±2.00
Lysine	105.67±1.53	109.33±0.58	158.00±1.00	205.67±0.58	263.00±1.00
Isoleucine	26.67±0.58	43.00±2.00	60.00±6.08	94.67±0.58	138.67±14.01
Leucine	60.00±2.00	146.67±0.58	151.67±4.51	241.33±16.17	472.00±1.00
Phenylalanine	48.00±2.00	65.00±1.00	100.67±0.58	164.00±1.00	231.67±0.58
Total	1914.33±9.71	2366.33±25.03	3547.67±56.08	3939.00±28.93	4411.33±53.82

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

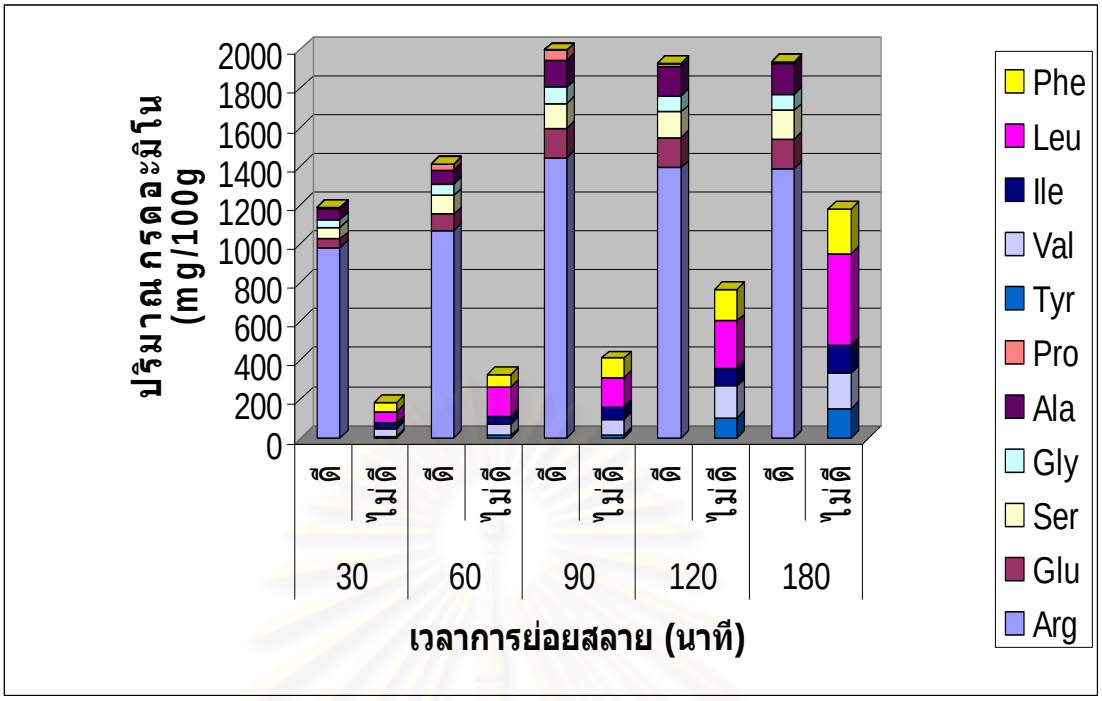
จากการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไล-เสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยใช้แบบทดสอบชนิด Descriptive Analysis with Scoring คะแนน 1-5 โดยให้คะแนน 1 ไม่มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ และคะแนน 5 มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 10 คน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 คะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1%ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เวลา (นาที)	คะแนนด้านกลิ่นรส
30	$2.30^a \pm 0.79$
60	$3.80^c \pm 0.85$
90	$4.43^d \pm 0.97$
120	$3.10^b \pm 0.84$
180	$2.27^a \pm 0.98$

a,b,c,.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) พบว่าเวลามีผลต่อคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเป็นเวลา 90 นาที พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองที่ได้ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 4.10 คือ เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเป็นเวลา 180 นาที พบว่าจะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ จากนั้นจึงวิเคราะห์ดูปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ เพื่อตัดสินใจเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

และเมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อในรูปที่ 4.2 พบว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายมากขึ้นจะได้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมในปริมาณมากขึ้น ดังนั้นจึงต้องเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยพบว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อเป็นเวลา 90 นาที จะได้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อได้แก่ proline, alanine, glycine, serine, glutamic acid และ arginine ในปริมาณสูงสุด ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมได้แก่ phenylalanine, leucine, Isoleucine, valine และ tyrosine ก็ไม่ได้มีในปริมาณสูงเกินไป ดังนั้นจึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงสุดเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 นาที จึงเลือกเวลาในการย่อยสลายดังกล่าวมาใช้ในการผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อต่อไป Hill (1965) รายงานว่าในการย่อยสลายโปรตีน กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นพวก hydrophilic amino acids จะถูกย่อยสลายออกมาได้ง่ายกว่ากรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นพวก hydrophobic amino acids จึงทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีถูกย่อยสลายออกมาได้ก่อน เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีจะถูกย่อยสลายตามออกมา เนื่องจากกรด

อะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า และมี side chains ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลาย ในงานทดลองนี้จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อต่ำกว่า 90 นาที กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีอาจมีในปริมาณต่ำเกินไป โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อจึงมีคะแนนด้านกลิ่นรสไม่ดีพอ ต่อมาเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยสลายเป็น 90 นาที ทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีมีปริมาณมากขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จึงมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงขึ้น แต่เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากกว่า 90 นาที ทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีย่อยสลายออกมามากขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จึงมีคะแนนด้านกลิ่นรสด้อยลง ผลดังกล่าวนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับทฤษฎีของ Schrodter และ Wolm (1980) ซึ่งได้อธิบายไว้ว่าเมื่อการย่อยสลายโปรตีนเกิดมากขึ้น ทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีได้แก่ tryptophan, tyrosine, phenylalanine, valine, leucine และ isoleucine ถูกย่อยสลายออกมามากขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสไม่ดี

4.3 ปัจจัยที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

4.3.1 อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่ใช้ในการย่อยสลายเครื่องในหอยเป๋าฮื้อของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยแปรอุณหภูมิการย่อยที่อุณหภูมิ 40^{0}C, 50^{0}C และ 60^{0}C และที่ pH 5.0, 6.0 และ 7.0 วิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้ผลดังนี้

4.3.1.1 ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (^{0}C)	ระดับการย่อยสลาย ; DH (%)		
	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0
40	$27.42^{Ba} \pm 0.18$	$30.85^{Ca} \pm 0.86$	$25.25^{Aa} \pm 0.62$
50	$34.96^{Ab} \pm 0.95$	$38.17^{Bb} \pm 0.71$	$33.29^{Ab} \pm 0.06$
60	$41.04^{Bc} \pm 0.58$	$44.48^{Cc} \pm 1.50$	$37.43^{Ac} \pm 0.16$

A,B,C ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a,b,c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Symmetric Factorial Design ขนาด 3X3 พบว่าอุณหภูมิและ pH มีผลต่อระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิ และ pH ไม่มีผลต่อระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จึงวิเคราะห์ข้อมูลโดยแยกปัจจัย โดยเมื่อพิจารณาที่ระดับ pH เดียวกัน เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ระดับการย่อยสลายก็จะเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 60^{0}C จะให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด เมื่อพิจารณาที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่าที่ pH 6.0 จะให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด ดังนั้นภาวะการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นภาวะที่ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุดคือ ประมาณ 44% ซึ่งภาวะที่ได้ (อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0) เป็นภาวะเดียวกับที่ใช้ในการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

จากผลการทดลองจะเห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยสลายจาก 40 เป็น 60^{0}C และการปรับ pH เป็น 6.0 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะปฏิกิริยาเคมีส่วนใหญ่จะให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น การเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ของโมเลกุลสาร ส่งผลให้เกิดการชนกันของ reactants ต่อหน่วยเวลาได้มากขึ้น เช่นเดียวกับปฏิกิริยาของเอนไซม์ การเพิ่มอุณหภูมิมีผลให้ความเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเพิ่มอัตราเร็วของการชนกันระหว่างเอนไซม์และสารตั้งต้น แต่เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน ซึ่งถ้าโมเลกุลสารมีพลังงานมากเกินไป คือย่อยที่อุณหภูมิสูงกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) ต่อการทำงานของเอนไซม์ จะมีผลทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) และสูญเสีย activity ไป (Whitaker, 1972) โดยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในการทดลองมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการ

ย่อยสลายอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 60^{0}C ดังนั้นในการทดลองจึงย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ในช่วงอุณหภูมิดังกล่าวเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

เมื่อปรับ pH เป็น 6.0 พบว่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะ pH มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ โดย pH ที่เหมาะสม (optimum pH) ของเอนไซม์ Flavourzyme® อยู่ในช่วง pH 5 ถึง 7 เมื่อ pH สูงหรือต่ำเกินไปจะส่งผลให้โครงสร้างบางส่วนของเอนไซม์ถูกทำลายและเกิดการสูญเสีย activity ของเอนไซม์ จึงทำให้เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบที่ pH ต่างๆได้ไม่เท่ากัน (Eskin and Henderson, 1971)

4.3.1.2 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

ก่อนวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อได้เริ่มต้นการทดลองโดยการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ โดยใช้เครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำสกัดเป็นตัวอย่างควบคุมที่ 1 และใช้เครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 ในการสกัดเป็นตัวอย่างควบคุมที่ 2 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.13 จากนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.14, 4.15 และ 4.16

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.13 ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

กรดอะมิโน	ตัวอย่างควบคุมที่ 1*	ตัวอย่างควบคุมที่ 2**
Aspartic acid	4.50 ± 0.71	6.50 ± 0.71
Serine	4.50 ± 0.71	8.50 ± 0.71
Glutamic acid	14.00 ± 1.41	19.50 ± 2.12
Glycine	4.50 ± 0.71	8.50 ± 0.71
Histidine	0.50 ± 0.71	1.00 ± 0.00
Arginine	249.50 ± 4.95	265.50 ± 2.12
Threonine	23.50 ± 0.71	26.50 ± 2.12
Alanine	4.50 ± 0.71	6.00 ± 0.00
Proline	1.50 ± 0.71	3.50 ± 0.71
Cysteine	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Tyrosine	0.40 ± 0.14	0.50 ± 0.00
Valine	0.50 ± 0.71	1.00 ± 0.00
Methionine	0.15 ± 0.21	0.45 ± 0.07
Lysine	1.50 ± 0.71	3.50 ± 0.71
Isoleucine	0.50 ± 0.00	0.75 ± 0.35
Leucine	1.00 ± 0.00	1.50 ± 0.71
Phenylalanine	1.00 ± 0.00	1.50 ± 0.71
Total	312.05 ± 7.14	354.70 ± 1.84

* ตัวอย่างควบคุมที่ 1 คือ เครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำสกัด
** ตัวอย่างควบคุมที่ 2 คือ เครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ใช้น้ำสกัดที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.14 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 40^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)			
	เอนไซม์* Flavourzyme®	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่า pH 5.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 6.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 7.0
Aspartic acid	0.00 ± 0.00	56.00 ± 0.00	62.00 ± 0.00	49.00 ± 1.41
Serine	0.03 ± 0.00	50.00 ± 5.66	60.00 ± 8.49	46.00 ± 0.00
Glutamic acid	0.03 ± 0.00	69.00 ± 1.41	88.00 ± 2.83	68.00 ± 0.00
Glycine	0.02 ± 0.00	55.00 ± 1.41	66.00 ± 0.00	41.50 ± 0.71
Histidine	0.04 ± 0.00	28.00 ± 0.00	33.50 ± 3.54	28.00 ± 0.00
Arginine	0.04 ± 0.00	404.50 ± 0.71	707.50 ± 0.71	309.50 ± 9.19
Threonine	0.03 ± 0.00	49.00 ± 9.90	53.00 ± 9.90	47.50 ± 0.71
Alanine	0.03 ± 0.00	39.50 ± 0.71	50.00 ± 0.00	35.00 ± 1.41
Proline	0.05 ± 0.00	41.00 ± 4.24	47.00 ± 4.24	37.00 ± 1.41
Cysteine	0.05 ± 0.00	17.50 ± 0.71	18.50 ± 0.71	18.00 ± 0.00
Tyrosine	0.06 ± 0.00	25.50 ± 0.71	27.50 ± 0.71	27.00 ± 0.00
Valine	0.03 ± 0.00	42.50 ± 0.71	50.00 ± 0.00	40.50 ± 0.71
Methionine	0.06 ± 0.01	22.00 ± 0.00	23.50 ± 0.71	20.50 ± 0.71
Lysine	0.04 ± 0.01	56.00 ± 0.00	62.00 ± 0.00	53.50 ± 0.71
Isoleucine	0.04 ± 0.00	22.00 ± 0.00	23.50 ± 0.71	20.50 ± 0.71
Leucine	0.03 ± 0.00	46.00 ± 0.00	41.50 ± 0.71	45.50 ± 0.71
Phenylalanine	0.06 ± 0.00	23.00 ± 1.41	22.50 ± 0.71	21.50 ± 2.12
Total	0.63 ± 0.01	1046.50 ± 16.26	1436.00 ± 25.46	908.50 ± 0.71

* ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในสดมภ์ที่ 2 มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ

ตารางที่ 4.15 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 50^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)			
	เอนไซม์* Flavourzyme®	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 5.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 6.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 7.0
Aspartic acid	0.00 ± 0.00	67.00 ± 7.07	80.00 ± 0.00	67.00 ± 2.83
Serine	0.03 ± 0.00	67.50 ± 7.78	74.00 ± 0.00	66.00 ± 8.49
Glutamic acid	0.03 ± 0.00	95.00 ± 1.41	121.50 ± 0.71	93.00 ± 1.41
Glycine	0.02 ± 0.00	71.00 ± 21.21	76.50 ± 19.09	66.50 ± 17.68
Histidine	0.04 ± 0.00	33.50 ± 3.54	42.00 ± 2.83	36.50 ± 3.54
Arginine	0.04 ± 0.00	740.50 ± 0.71	764.50 ± 0.71	710.50 ± 30.41
Threonine	0.03 ± 0.00	59.00 ± 9.90	65.00 ± 9.90	57.00 ± 9.90
Alanine	0.03 ± 0.00	60.00 ± 8.49	74.00 ± 8.49	54.00 ± 0.00
Proline	0.05 ± 0.00	58.50 ± 20.51	58.00 ± 19.80	51.50 ± 17.68
Cysteine	0.05 ± 0.00	18.50 ± 0.71	18.50 ± 0.71	19.50 ± 0.71
Tyrosine	0.06 ± 0.00	31.00 ± 0.00	33.50 ± 0.71	32.50 ± 0.71
Valine	0.03 ± 0.00	54.50 ± 0.71	64.00 ± 2.83	53.50 ± 0.71
Methionine	0.06 ± 0.01	23.50 ± 0.71	24.50 ± 0.71	23.00 ± 0.00
Lysine	0.04 ± 0.01	67.50 ± 0.71	90.00 ± 0.00	72.00 ± 0.00
Isoleucine	0.04 ± 0.00	26.00 ± 0.00	27.50 ± 3.54	26.00 ± 0.00
Leucine	0.03 ± 0.00	45.50 ± 0.71	62.00 ± 0.00	63.50 ± 0.71
Phenylalanine	0.06 ± 0.00	23.50 ± 0.71	30.50 ± 3.54	30.50 ± 2.12
Total	0.63 ± 0.01	1542.00 ± 79.20	1706.00 ± 55.15	1522.50 ± 94.05

* ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในสดมภ์ที่ 2 มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ

ตารางที่ 4.16 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C และที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

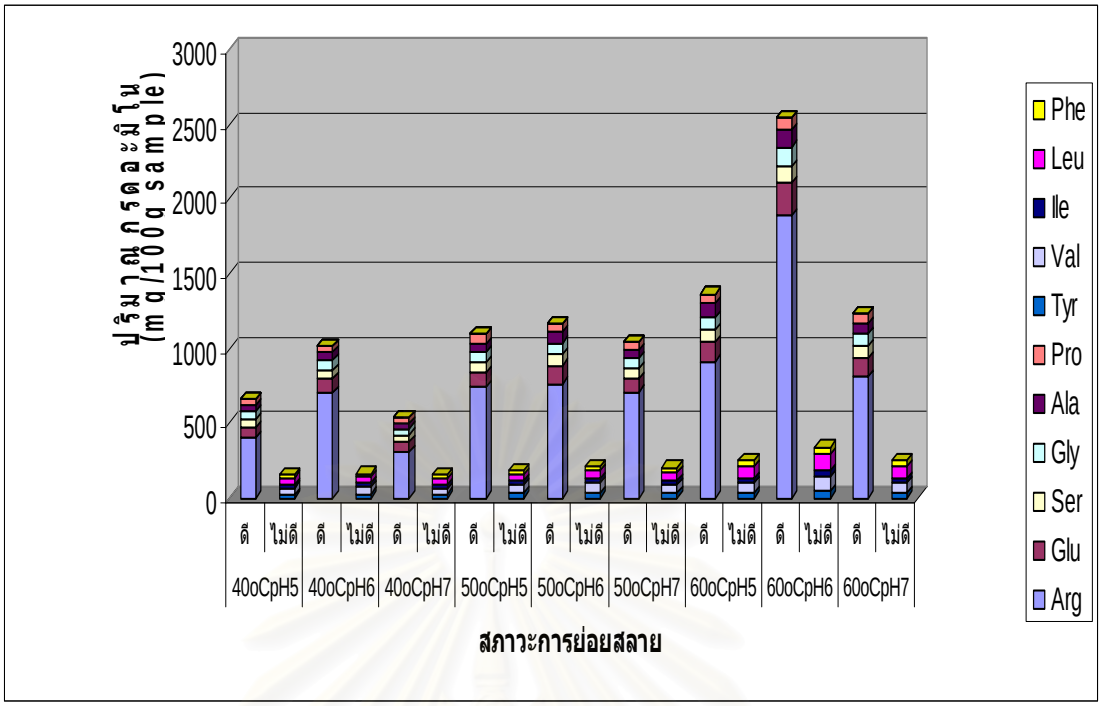
กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)			
	เอนไซม์* Flavourzyme®	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 5.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 6.0	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ค่าpH 7.0
Aspartic acid	0.00 ± 0.00	76.00 ± 0.00	128.50 ± 0.71	92.00 ± 2.83
Serine	0.03 ± 0.00	79.00 ± 4.24	110.00 ± 0.00	75.00 ± 7.07
Glutamic acid	0.03 ± 0.00	135.00 ± 7.07	210.00 ± 0.00	124.00 ± 16.97
Glycine	0.02 ± 0.00	82.00 ± 14.14	134.00 ± 7.07	81.00 ± 21.21
Histidine	0.04 ± 0.00	43.50 ± 3.54	58.00 ± 0.00	43.50 ± 3.54
Arginine	0.04 ± 0.00	913.00 ± 1.41	1891.00 ± 1.41	813.00 ± 0.00
Threonine	0.03 ± 0.00	75.00 ± 24.04	91.00 ± 4.24	73.00 ± 9.90
Alanine	0.03 ± 0.00	88.00 ± 16.97	121.00 ± 18.38	78.00 ± 16.97
Proline	0.05 ± 0.00	66.00 ± 22.63	74.00 ± 22.63	63.00 ± 24.04
Cysteine	0.05 ± 0.00	20.00 ± 0.00	21.50 ± 0.71	19.00 ± 0.00
Tyrosine	0.06 ± 0.00	37.50 ± 0.71	52.00 ± 0.00	36.50 ± 0.71
Valine	0.03 ± 0.00	64.00 ± 2.83	92.00 ± 2.83	66.00 ± 2.83
Methionine	0.06 ± 0.01	26.00 ± 1.41	27.50 ± 2.12	26.00 ± 1.41
Lysine	0.04 ± 0.01	92.00 ± 0.00	127.50 ± 2.12	90.00 ± 0.00
Isoleucine	0.04 ± 0.00	28.50 ± 2.12	40.00 ± 2.83	30.00 ± 4.24
Leucine	0.03 ± 0.00	82.00 ± 0.00	112.00 ± 2.83	80.00 ± 0.00
Phenylalanine	0.06 ± 0.00	35.50 ± 2.12	45.00 ± 0.00	36.00 ± 0.00
Total	0.63 ± 0.01	1943.00 ± 91.92	3335.00 ± 49.50	1826.00 ± 90.51

* ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ใช้ในสดมภ์ที่ 2 มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างควบคุมที่ 1 และ ตัวอย่างควบคุมที่ 2 ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.13 พบว่า ตัวอย่างควบคุมที่ 1 มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ 2 ไม่มากนัก ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าภาวะการย่อยสลายเครื่องในหอยเป๋าฮื้อโดยใช้น้ำที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 แทบจะไม่มีผลต่อปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโน แสดงว่า

เอนไซม์ที่มีในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อไม่มีบทบาทต่อการย่อยสลาย เกิด autolysis น้อย แต่เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างควบคุมที่ 1 และ ตัวอย่างควบคุมที่ 2 ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ เทียบกับปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ (ตารางที่ 4.14, 4.15 และ 4.16) จะพบว่ากรดอะมิโนในตัวอย่างควบคุมที่ 1 และ ตัวอย่างควบคุมที่ 2 ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ มีปริมาณต่ำกว่ากรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆอย่างเห็นได้ชัดมาก ดังนั้นปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจึงเป็นผลมาจากการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเอนไซม์ Flavourzyme® ในตารางที่ 4.14, 4.15 และ 4.16 พบว่าเอนไซม์ Flavourzyme® มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำมาก (ปริมาณที่ใช้มีปริมาณเท่ากับปริมาณที่ใช้ในการย่อยสลายตัวอย่างอื่นๆ) ดังนั้นปริมาณกรดอะมิโนในเอนไซม์จึงไม่มีผลต่อปริมาณการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ และจากการศึกษาผลของอุณหภูมิ และ ค่าความเป็นกรดด่างที่มีต่อปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.14, 4.15 และ 4.16 พบว่าเมื่อพิจารณาที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน พบว่าที่ pH 6.0 จะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงกว่าที่ pH 5.0 และ 7.0 เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยที่อุณหภูมิ 60^{0}C จะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับระดับการย่อยสลาย (ตารางที่ 4.12) ทั้งนี้เป็นเพราะเมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรตีนจะแตกตัวเป็นกรดอะมิโน และเมื่อการย่อยสลายเกิดมากขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย ดังนั้นภาวะการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นภาวะที่ให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อซึ่งเป็นภาวะเดียวกับที่ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุดด้วย อย่างไรก็ตามภาวะที่มีระดับการย่อยสลายและปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดไม่ได้หมายความว่าเป็นภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเสมอไป เพราะถ้าเกิดการย่อยสลายมากเกินไปจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีรสขม ดังนั้นจึงพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในภาวะการย่อยสลายต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 เช่นเดียวกับที่ทำในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ



รูปที่ 4.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อในรูปที่ 4.3 พบว่าที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เป็นภาวะที่ให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อได้แก่ proline, alanine, glycine, serine, glutamic acid และ arginine ในปริมาณสูงกว่าภาวะการย่อยสลายอื่นๆทุกภาวะอย่างเห็นได้ชัด ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมได้แก่ phenylalanine, leucine, isoleucine, valine และ tyrosine ก็มีในปริมาณไม่ค่อยต่างจากภาวะการย่อยสลายอื่นๆ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 จะมีกลิ่นรสดีกว่าที่ภาวะการย่อยสลายอื่นๆทุกภาวะ จึงเลือกภาวะในการย่อยสลายดังกล่าวสำหรับการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งภาวะที่เลือก (อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0) เป็นภาวะเดียวกับที่ใช้ในการย่อยสลายเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

ในการทดลองไม่ได้ทำการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิสูงกว่า 60^{0}C เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งถ้าย่อยที่อุณหภูมิสูงกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ (อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ Flavourzyme® อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 60^{0}C) จะมีผลทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติและสูญเสีย activity ไป

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ (ตารางที่ 4.6, 4.7 และ 4.8) และส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (ตารางที่ 4.14, 4.15 และ 4.16) ที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อทุกภาวะการย่อยสลาย ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมด (449.50 mg/100g sample) สูงกว่าในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (314.75 mg/100g sample) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 นอกจากนี้ในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อยังมีค่าระดับการย่อยสลายสูงกว่าในเนื้อหอยเป๋าฮื้อทุกภาวะการย่อยสลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.12 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ (รูปที่ 4.1) และส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (รูปที่ 4.3) ที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 ซึ่งเป็นภาวะที่เลือกเพื่อใช้ในการย่อยสลายในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสำหรับการทดลองขั้นต่อไป พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดี ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อได้แก่ proline, alanine, glycine, serine, glutamic acid และ arginine ในปริมาณสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมได้แก่ phenylalanine, leucine, isoleucine, valine และ tyrosine ก็มีในปริมาณไม่ค่อยต่างกัน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีกลิ่นรสดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

4.3.2 เวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

จากการศึกษาอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ได้เลือกภาวะในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป จากนั้นศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเครื่องในหอยเป๋าฮื้อของเอนไซม์ Flavourzyme® โดยแปรการย่อยสลายที่ 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที วิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้ผลดังนี้

4.3.2.1 ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ; DH) ของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เวลา (นาที)	ระดับการย่อยสลาย ; DH(%)
30	$41.05^a \pm 0.17$
60	$44.24^b \pm 0.90$
90	$46.31^c \pm 0.09$
120	$49.05^d \pm 0.46$
180	$52.89^e \pm 0.22$

a,b,c,.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design (CRD) พบว่าเวลามีผลต่อระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ระดับการย่อยสลายก็จะเพิ่มขึ้น โดยที่เวลา 180 นาที จะให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด

จากผลการทดลองจะเห็นว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นจาก 30 เป็น 180 นาที ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะเวลาที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายพันธะเพปไทด์ของโปรตีนได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

4.3.2.2 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.18

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.18 ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g sample)				
	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที	180 นาที
Aspartic acid	69.67±1.53	136.67±0.58	226.67±0.58	230.00±3.00	272.67±3.51
Serine	73.67±2.31	161.00±8.72	167.00±2.00	173.33±0.58	180.67±1.53
Glutamic acid	153.67±10.69	205.67±6.66	220.00±11.27	213.67±0.58	154.33±3.06
Glycine	73.00±2.00	135.67±1.53	139.00±1.00	134.00±2.00	130.67±13.80
Histidine	35.33±0.58	53.33±1.53	139.00±1.00	176.00±2.00	180.67±1.53
Arginine	973.00±2.00	1847.00±1.73	2067.00±2.00	2052.67±0.58	1993.33±3.06
Threonine	44.33±2.52	71.33±0.58	154.33±0.58	88.00±2.00	75.33±0.58
Alanine	73.67±2.31	154.67±2.52	167.00±2.00	176.00±2.00	175.33±0.58
Proline	42.33±1.53	66.00±9.54	67.00±2.00	74.33±3.21	76.67±2.08
Cysteine	26.67±1.53	47.67±1.53	138.33±0.58	134.00±2.00	114.67±2.52
Tyrosine	25.33±0.58	47.00±1.73	130.00±2.00	133.33±3.06	164.67±0.58
Valine	47.33±0.58	54.00±1.73	103.33±3.51	158.33±0.58	181.67±0.58
Methionine	22.33±2.52	25.67±0.58	28.33±2.08	33.33±2.08	45.33±1.53
Lysine	95.67±0.58	166.00±1.00	228.67±3.79	233.33±0.58	236.33±3.51
Isoleucine	34.00±2.65	47.67±1.53	67.00±2.00	87.33±2.31	141.00±1.00
Leucine	92.67±4.93	146.00±16.46	230.00±6.08	263.00±1.73	290.33±3.51
Phenylalanine	27.67±1.53	32.00±2.00	37.67±0.58	72.67±0.58	101.33±0.58
Total	1910.33±10.50	3397.33±11.93	4310.33±4.73	4433.33±14.19	4515.00±20.95

จากการศึกษาผลของเวลาที่มีต่อปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.18 พบว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายมากขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยที่เวลา 180 นาที จะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับระดับการย่อยสลาย (ตารางที่ 4.17) ทั้งนี้เป็นเพราะเมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โปรตีนจะแตกตัวเป็นกรดอะมิโน และเมื่อการย่อยสลายเกิดมากขึ้นก็จะได้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามควรพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสด้วย ซึ่งจะส่งผลต่อกลิ่นรสและคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ จึงนำ

โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อไปวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส และแยกดูปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อต่อไป

ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ (ตารางที่ 4.10) และส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (ตารางที่ 4.18) ที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อทุกเวลาการย่อยสลาย ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมด (449.50 mg/100g sample) สูงกว่าในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (314.75 mg/100g sample) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 นอกจากนี้ในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อยังมีค่าระดับการย่อยสลายสูงกว่าในเนื้อหอยเป๋าฮื้อทุกเวลาการย่อยสลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และ 4.17 ตามลำดับ

4.3.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

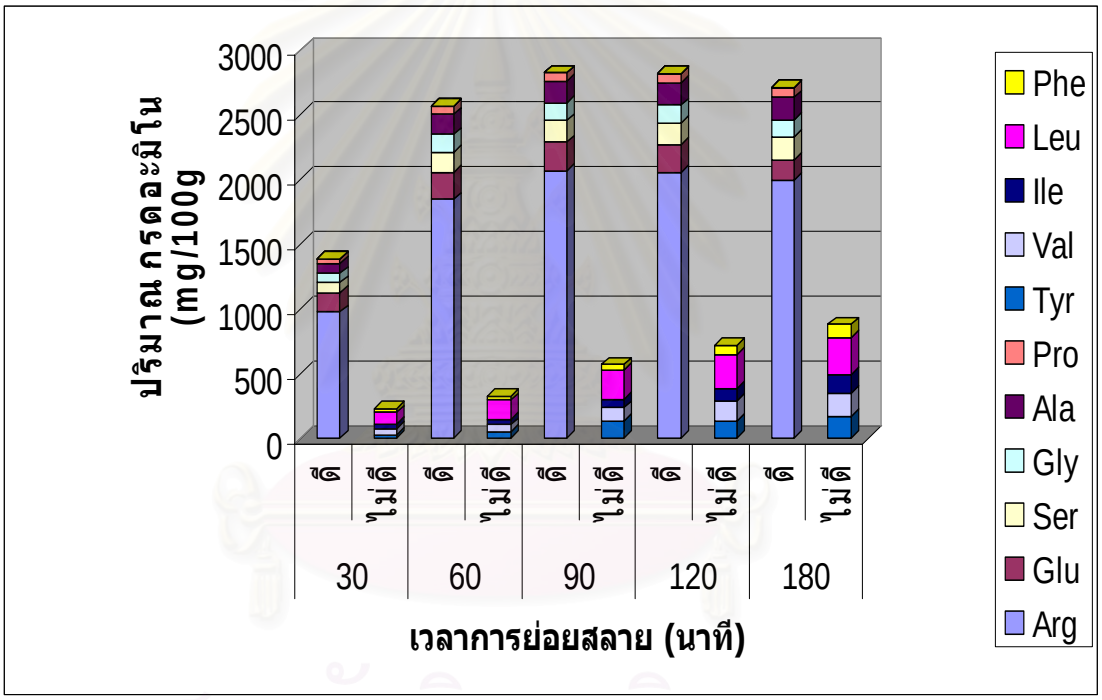
จากการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ โดยใช้แบบทดสอบชนิด Descriptive Analysis with Scoring คะแนน 1-5 โดยให้คะแนน 1 ไม่มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ และคะแนน 5 มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 10 คน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 คะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1%ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^0C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เวลา (นาที)	คะแนนด้านกลิ่นรส
30	$3.67^{c} \pm 0.88$
60	$4.43^{d} \pm 1.01$
90	$3.83^{c} \pm 0.83$
120	$3.13^{b} \pm 0.90$
180	$2.17^{a} \pm 0.91$

a,b,c,.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) พบว่าเวลามีผลต่อคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป้าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเป็นเวลา 60 นาที พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป้าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองที่ได้ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 4.18 คือ เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเป็นเวลา 180 นาที พบว่าจะให้ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมดสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป้าฮื้อ จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ดูปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป้าฮื้อ เพื่อตัดสินใจเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป้าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรส (mg/100g sample) ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป้าฮื้อ ที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป้าฮื้อในรูปที่ 4.4 พบว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายมากขึ้นจะได้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมในปริมาณมากขึ้น ดังนั้นจึงต้องเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนในเครื่องในหอยเป้าฮื้อ โดยพบว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเครื่องในหอยเป้าฮื้อเป็นเวลา 60 นาที จะได้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสของหอย

เป๋าฮื้อได้แก่ proline, alanine, glycine, serine, glutamic acid และ arginine ในปริมาณสูง ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมได้แก่ phenylalanine, leucine, Isoleucine, valine และ tyrosine ก็ไม่ได้มีในปริมาณที่สูงมากนัก ดังนั้นจึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงสุดเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที จึงเลือกเวลาในการย่อยสลายดังกล่าวมาใช้ในการผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อต่อไป และจากเหตุผลที่ว่าในการย่อยสลายโปรตีนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นพวก hydrophilic amino acids จะถูกย่อยสลายออกมาได้ง่ายกว่ากรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีซึ่งเป็นพวก hydrophobic amino acids จึงทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีถูกย่อยสลายออกมาได้ก่อน เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีจะถูกย่อยสลายตามออกมา เนื่องจากกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า และมี side chains ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลาย (Hill, 1965) ในงานทดลองนี้จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเครื่องในหอยเป๋าฮื้อต่ำกว่า 60 นาที กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีอาจมีในปริมาณต่ำเกินไป โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจึงมีคะแนนด้านกลิ่นรสไม่ดีพอ ต่อมาเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยสลายเป็น 60 นาที ทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีมีปริมาณมากขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จึงมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงขึ้น แต่เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากกว่า 60 นาที ทำให้กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีย่อยสลายออกมามากขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จึงมีคะแนนด้านกลิ่นรสด้อยลง

ซึ่งเมื่อพิจารณาคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ (ตารางที่ 4.11) และส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (ตารางที่ 4.19) ที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงที่สุดเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 นาที ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงที่สุดเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที ซึ่งใช้เวลาในการย่อยสลายน้อยกว่าในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ และเมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ (รูปที่ 4.2) และส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (รูปที่ 4.4) ที่ได้จากการย่อยที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ ซึ่งได้นำไปใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 นาที ซึ่งมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงสุดมีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีและกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีในปริมาณใกล้เคียงกับโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 60 นาทีมากที่สุด ซึ่งมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงสุดเช่นเดียวกัน แต่การที่โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อใช้เวลาในการ

ย่อยสลายน้อยกว่า ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมด (449.50 mg/100g sample) สูงกว่าในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (314.75 mg/100g sample) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 นอกจากนี้ในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อยังมีค่าระดับการย่อยสลายสูงกว่าในเนื้อหอยเป๋าฮื้อทุกเวลาการย่อยสลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และ 4.17 ตามลำดับ จึงทำให้ส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อไม่ต้องใช้เวลาในการย่อยสลายนานเท่ากับส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อ (รูปที่ 4.2) และส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (รูปที่ 4.4) เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 และ 60 นาที ตามลำดับ) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีในปริมาณสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีก็มีในปริมาณใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีกลิ่นรสดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

4.4 องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

4.4.1 ปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.20 ปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

ตัวอย่างที่วิเคราะห์	ปริมาณ AMP (mg/100g sample)
โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ	16.33 ± 1.53
โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ	46.00 ± 2.65

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ AMP ซึ่งเป็นองค์ประกอบของสารสกัดช่วยให้เกิดกลิ่นรส ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.20 พบว่าปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อแตกต่างกัน โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ AMP (46.00 mg/100g

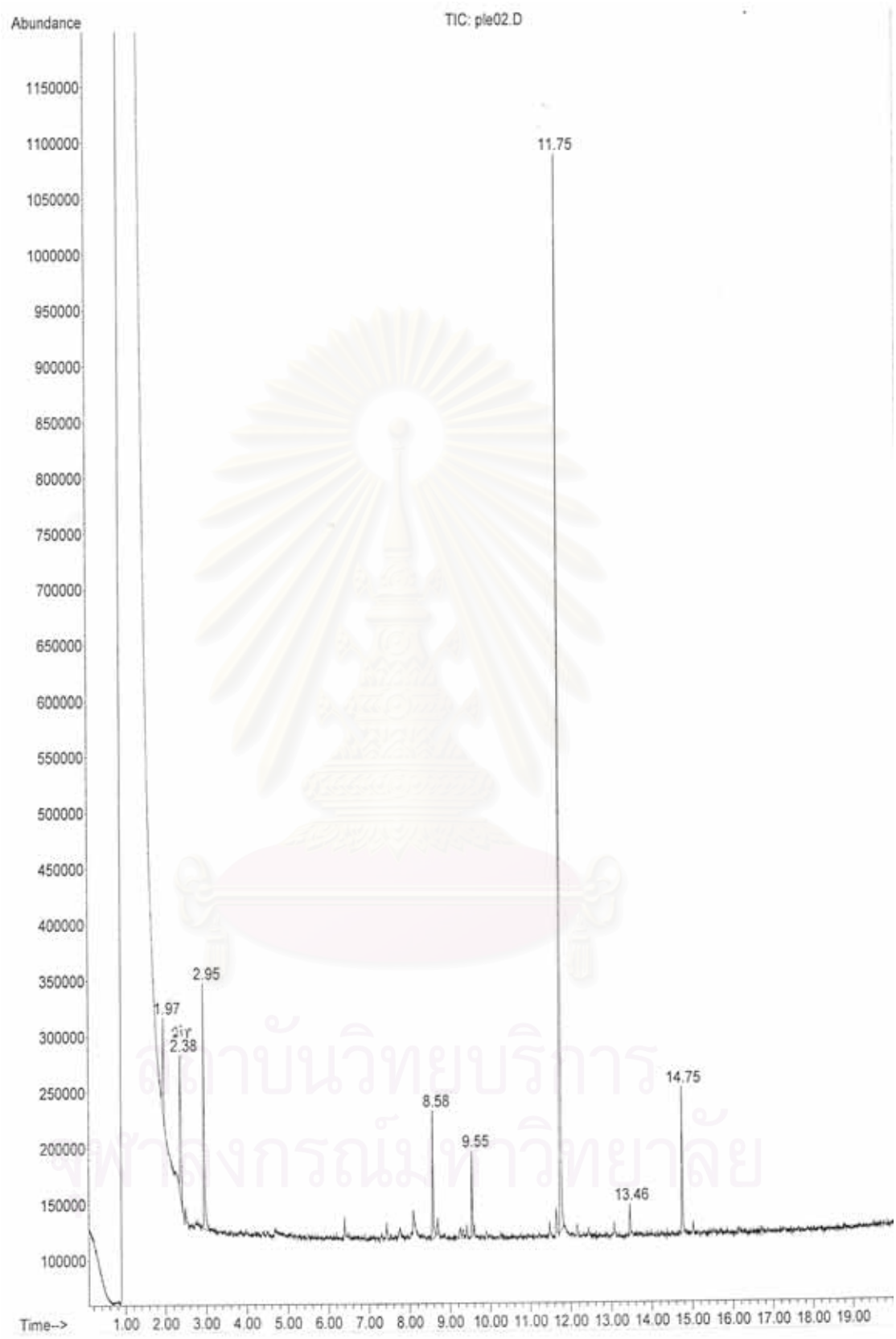
sample) สูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (16.33 mg/100g sample) เช่นเดียวกับในเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสด (ตารางที่ 4.2) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีกลิ่นรสดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อเนื่องจากมีปริมาณ AMP สูงกว่า โดย AMP จะทำให้เกิดรส umami เมื่ออยู่ร่วมกับ glutamic acid (Konosu et al., 1987 and Kimura et al., 1969) และพบว่าปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อลดลงเมื่อเทียบกับปริมาณ AMP ในเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสด การที่ปริมาณ AMP ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อลดลงอาจเกิดเนื่องจากในขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตนั้นมีการให้ความร้อน (อุณหภูมิ 60^{0}C) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ AMP เกิดการสลายตัวไปเป็นสารอนุพันธ์ตัวอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจาก AMP เป็นสารประกอบกลุ่มนิวคลีโอไทด์ซึ่งมีพันธะเคมีไม่แข็งแรง เช่น glucosidic linkage และ ester linkage เมื่อได้รับความร้อนพันธะ phosphoric ester ของนิวคลีโอไทด์จะถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็นนิวคลีโอไซด์และกรดฟอสฟอริก จากนั้นพันธะ N-glucosidic จะถูกไฮโดรไลซ์ทำให้นิวคลีโอไซด์สลายตัวเป็นพิวรีนและน้ำตาลไรโบส (Matoba et al., 1988)

4.4.2 volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในโครมาโทแกรมในรูปที่ 4.5-4.6 และตารางที่ 4.21

จากการวิเคราะห์ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรส เช่น สารพวก aldehyde ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อด้วยวิธี Headspace GC-MS ดังแสดงในโครมาโทแกรมในรูปที่ 4.5-4.6 ผลที่ได้คือ ไม่พบสารพวก volatile compounds กลุ่มที่ให้กลิ่นเฉพาะของอาหารทะเล ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ แต่พบในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.21

รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมของ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ



รูปที่ 4.6 โครมาโทแกรมของ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

ตารางที่ 4.21 volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

volatile compound	% of total
acetic acid	5.11
methyl-d3-1-dideuterio-2-propenyl ether	11.39
2-ethyl-1-hexanol	6.85
benzenemethanol	3.89
benzothiazole	55.12
2,6-dimethoxyphenol	1.50
2,2,4-trimethyldihydroquinoline	7.08

จากผลการวิเคราะห์ volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อด้วยวิธี Headspace GC-MS ในตารางที่ 4.21 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ benzothiazole, methyl-d3-1-dideuterio-2-propenyl ether, 2,2,4-trimethyldihydroquinoline, 2-ethyl-1-hexanol, acetic acid, benzenemethanol และ 2,6-dimethoxyphenol (55.12, 11.39, 7.08, 6.85, 5.11, 3.89 และ 1.50% of total) ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่า volatile compounds ที่มีปริมาณสูงสุดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อคือ benzothiazole (55.12% of total) โดย benzothiazole เป็นสารประกอบซัลไฟด์ชนิดวงแหวนและซัลเฟอร์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่ให้กลิ่นเฉพาะของอาหารทะเล นอกจากนี้สารพวกแอลกอฮอลล์เช่น 2-ethyl-1-hexanol, benzenemethanol, 2,6-dimethoxyphenol และสารพวกคีโตน เช่น 2,2,4-trimethyldihydroquinoline ก็เป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นรสในอาหารทะเลเช่นกัน (Sikorski et al., 1990) โดยสูตรโครงสร้าง volatile compounds แสดงไว้ในภาคผนวก ฉ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อจะมีกลิ่นรสดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ เนื่องจากมี volatile compounds ที่ให้กลิ่นเฉพาะของอาหารทะเลเป็นองค์ประกอบ

นอกจากนี้ชนิดของ volatile compounds ยังขึ้นกับชนิดของสัตว์ด้วย โดย hexanal เป็นแอลดีไฮด์ที่พบในเนื้อปลาดิบทุกชนิด ส่วน 2-hexenal, 2-octenal, 2-nonenal และ 2,6-nonadienal พบในปลาน้ำจืดเท่านั้น การมีแอลดีไฮด์ที่ไม่อิ่มตัวดังกล่าวร่วมกับแอลกอฮอลล์ที่มีคาร์บอน 8 อะตอมซึ่งไม่อิ่มตัวจะให้กลิ่นคล้ายแตงหวาน (sweet melon) ในปลาเนื้อขาว คีโตน

ชนิดอิ่มตัวที่พบในปลาสด เช่น 2-alkanone ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 5, 7, 8, 9, 10, 11, 15 อะตอม และ 3-alkanones ซึ่งมีคาร์บอน 7 และ 8 อะตอม ส่วน 2,3-octanedione พบในปลาน้ำจืด 1-octen-3-one และ 1,5-octadien-3-one พบในปลาน้ำจืดแต่ไม่พบในปลาน้ำเค็ม เป็นต้น ส่วนแอลกอฮอลล์ที่ไม่อิ่มตัว เช่น 1-octone-3-ol, 1,5-octadien-3-ol และ 2,5-octadiene-1-ol สามารถพบได้ในหอยนางรม แอลกอฮอลล์ชนิดไม่อิ่มตัวดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้นสูงให้กลิ่นคล้ายแตงในหอยนางรมแปซิฟิก แต่ไม่ให้กลิ่นดังกล่าวในหอยนางรมแอตแลนติก แอลกอฮอลล์ชนิดไม่อิ่มตัวชนิดอื่น เช่น 1-pentene-3-ol และแอลกอฮอลล์ชนิดวงแหวนเช่น cyclopentanol พบมากในหอยนางรมทั้ง 2 ชนิด (Sikorski et al., 1990)

4.4.3 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

จากการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

ตัวอย่างที่วิเคราะห์	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด* (% w/v)	ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (% w/v)
โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ	9.58 ± 0.40	0.23 ± 0.00
โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ	7.20 ± 0.30	0.23 ± 0.00

* วิเคราะห์ด้วย Kjeldahl method

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.22 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อแตกต่างกัน แต่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์เท่ากัน โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (9.58% w/v) สูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (7.20% w/v) เช่นเดียวกับในเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสด (ตารางที่ 4.1) ซึ่งพบว่าปริมาณ

โปรตีนของเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อแตกต่างกัน โดยเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณโปรตีน (14.91%) สูงกว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (11.20%) ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ (9.58% w/v) จึงมีปริมาณสูงกว่าในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (7.20% w/v) และจากการระบุองค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 6% w/v (Anonymous, 2006) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (9.58 และ 7.20% w/v ตามลำดับ) ได้ตามกำหนด นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ พบว่ามีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (0.23% w/v) เท่ากัน และจากการระบุองค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตให้มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ไม่เกิน 1.5% w/v (Anonymous, 2006) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (0.23% w/v) ได้ตามกำหนด ซึ่งการที่โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ในปริมาณต่ำทำให้สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายมากขึ้น เพราะมีผู้บริโภคบางกลุ่มที่ไม่สามารถบริโภคอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ปริมาณสูงได้ เช่น ผู้บริโภคที่มีปัญหาเกี่ยวกับไตหรือความดันโลหิต เป็นต้น (นิธิยา รัตนาปนนท์ และวิบูลย์ รัตนาปนนท์, 2543)

4.4.4 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ

โดยวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น, ค่า pH, ปริมาณ total soluble solids, ค่าความหนืด, ค่าสี (L*, a*, b*) และค่าความขุ่น ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.23-4.24

ตารางที่ 4.23 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

สมบัติทางกายภาพที่วิเคราะห์	ค่าที่วัดได้
ค่าความหนาแน่น (g/mL)	1.12 ± 0.02
ค่า pH	6.32 ± 0.01
total soluble solids (^{0}brix)	1.70 ± 0.00
ค่าความหนืด (cP)	22.00 ± 0.42
ค่าสี L*	16.90 ± 1.50
ค่าความขุ่น(%T)	63.84 ± 0.74

ตารางที่ 4.24 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

สมบัติทางกายภาพที่วิเคราะห์	ค่าที่วัดได้
ค่าความหนาแน่น (g/mL)	1.13 ± 0.02
ค่า pH	6.42 ± 0.01
total soluble solids (^{0}brix)	2.00 ± 0.00
ค่าความหนืด (cP)	24.24 ± 0.22
ค่าสี L*	24.69 ± 0.14
a*	3.94 ± 0.11
b*	18.23 ± 0.30
ค่าความขุ่น(%T)	1.46 ± 0.05

จากผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ในตารางที่ 4.23-4.24 พบว่าค่าความหนาแน่น, ค่า pH, total soluble solids และค่าความหนืดของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อใกล้เคียงกัน แต่มีค่าสี (L*, a*, b*) และค่าความขุ่นแตกต่างกัน โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีค่าความหนาแน่น, ค่า pH, total soluble solids และค่าความหนืด (1.12 g/mL, 6.32, 1.70^{0}brix และ 22.00 cP ตามลำดับ) ต่ำกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเล็กน้อย (1.13 g/mL, 6.42, 2.00^{0}brix และ 24.24 cP ตามลำดับ) ซึ่งการที่โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อมีค่าความหนาแน่นและ total soluble solids ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์เท่ากัน (ตารางที่ 4.22) โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีค่า pH ใกล้เคียงกัน แต่โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อมีค่า pH ลดลงเมื่อเทียบกับในเนื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อสด ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากเมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โปรตีนจะแตกตัวเป็นกรดอะมิโน จึงทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อมีค่า pH ลดลง และเมื่อพิจารณาระดับการลดลงของค่า pH ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีระดับการลดลงของค่า pH มากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ทั้งนี้เป็นเพราะในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีค่าระดับการย่อยสลายมากกว่าในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อจึงทำให้โปรตีนในส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเกิดการย่อยสลายและแตกตัวเป็นกรดอะมิโนมากกว่าในส่วนเนื้อหอย

เป๋าฮื้อ ส่งผลให้ระดับการลดลงของค่า pH ในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมากกว่าในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ และจากการระบุสมบัติทางกายภาพของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตให้มีค่าความหนาแน่นอยู่ในช่วง 1.10-1.15 g/mL และค่า pH อยู่ในช่วง 4.0-6.5 (Anonymous, 2006) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีค่าความหนาแน่น (1.12 และ 1.13 g/mL ตามลำดับ) และค่า pH (6.32 และ 6.42 ตามลำดับ) ได้ตามกำหนด

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงค่าสี (L*, a*, b*) และค่าความขุ่นของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ พบว่ามีค่าสี (L*, a*, b*) และค่าความขุ่นแตกต่างกัน โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีค่าสี (L*, a*, b*) (16.90, -1.12, -3.27 ตามลำดับ) ต่ำกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (24.69, 3.94, 18.23 ตามลำดับ) แสดงว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีสีอ่อนกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (ลักษณะตัวอย่างของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อเป็นสารละลายมีสีเหลืองอ่อน ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเป็นสารละลายมีสีน้ำตาลเข้ม) โดยรูปผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อแสดงไว้ในภาคผนวก จ และเมื่อพิจารณาถึงค่าความขุ่นของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีค่าความขุ่น 63.84%T ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีค่าความขุ่น 1.46%T แสดงว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อขุ่นน้อยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

จากผลที่ได้ในงานวิจัยนี้พบว่าสามารถนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อที่ผลิตได้มาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารในรูปแบบต่างๆได้ เช่น ซอสหอยเป๋าฮื้อ และสารปรุงแต่งกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อชนิดผง เป็นต้น โดยในการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารควรมีการทำโปรตีนไฮโดรไลเสตให้เข้มข้นก่อน ซึ่งนอกจากจะทำให้ปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์ลดต่ำลง สะดวกต่อการนำไปใช้แล้ว การให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์ขณะทำให้เข้มข้นยังทำให้เกิดสารระเหยที่ให้กลิ่นหอมหลายชนิด ได้แก่ สารประกอบประเภท thiol เช่น thiazole ซึ่งมีจุดเดือด 93-246°C จากปฏิกิริยา Maillard เป็นต้น นอกจากสารประกอบพวก thiol แล้วยังมีสารประกอบพวกเอมีน เช่น pyrazine, pyridine ซึ่งมีจุดเดือด 155-180°C จาก Strecker degradation โดยมีสารประกอบ dicarbonyl ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา Maillard กับ ∝-amino groups ของกรดอะมิโนเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยา (Eskin and Henderson,

1971) การให้ความร้อนที่ความดันบรรยากาศเพื่อระเหยน้ำต้องใช้อุณหภูมิสูงจึงอาจเกิดการสูญเสียสารระเหยได้ จึงอาจมีการทำผลิตภัณฑ์ให้เข้มข้นโดยให้ความร้อนภายใต้ภาวะสุญญากาศด้วยเครื่องระเหยหมุนแบบสุญญากาศได้

ปราณิศา และนงนุช (2534) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยนางรม โดยย่อยสลายเนื้อหอยนางรมบดด้วยเอนไซม์ papain และ bromelin ปริมาณ 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7% พบว่าเมื่อใช้ papain 0.7% หรือ bromelin 0.3% โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้สูงสุด และเมื่อนำมาผลิตซอสหอยนางรมและใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ผัดผักบุ้ง พบว่าผัดผักบุ้งกับซอสหอยนางรมที่ผลิตได้มีคะแนนการยอมรับสูงกว่าตัวอย่างที่ผัดกับซอสหอยนางรมทางการค้า

Ishida และ Yamamoto (1976) เตรียมสารปรุงแต่งกลิ่นรสไก่โดยการบดเนื้อไก่ให้ละเอียด จากนั้นนำมาละลายน้ำให้มีโปรตีนในสารละลาย 3-10% โดยน้ำหนัก ย่อยสลายด้วยซีรีนโปรติเอสที่ pH 8.0 อุณหภูมิ 40-70°C จนมีระดับการย่อยสลาย 25-35% พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้ไม่มีรสขม มีความสามารถในการละลายสูง ให้กลิ่นรสดี ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในซุป, ซอส และขนมขบเคี้ยวได้

Lahl และ Braun (1994) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยนางรมโดยใช้เอนไซม์ papain 0.1% และ bromelin 0.1% ย่อยสลายที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 ชั่วโมง พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีกลิ่นหอยนางรม แต่ถ้าย่อยสลายที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีกลิ่นคล้ายปลา (fishy) นำโปรตีนไฮโดรไลเสตทั้ง 2 ชนิดไปผลิตซอสหอยนางรมแล้วทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ามีคะแนนการยอมรับไม่แตกต่างจากซอสหอยนางรมทางการค้า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

1. เนื้อหอยเป๋าฮื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณความชื้น (83.78 และ 83.65% ตามลำดับ) และเถ้า (1.02 และ 1.16% ตามลำดับ) ใกล้เคียงกัน แต่มีปริมาณโปรตีน (14.91 และ 11.20% ตามลำดับ) และไขมัน (0.28 และ 3.95% ตามลำดับ) แตกต่างกัน

2. เนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ AMP (33.33 mg/100g sample) ต่ำกว่าเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (55.33 mg/100g sample) ซึ่งส่งผลต่อการรับรู้รส umami เมื่ออยู่ร่วมกับ glutamic acid

3. เนื้อหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนชนิดหลักคือ arginine, threonine, glutamic acid และ aspartic acid เครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีกรดอะมิโนชนิดหลักคือ arginine, threonine, glutamic acid, aspartic acid, serine และ glycine

4. ภาวะและเวลาในการย่อยสลายที่ทำให้มีระดับการย่อยสลายและปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมด (mg/100g sample) สูงสุดคือ ปรับ pH ของเนื้อหอยเป๋าฮื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อเป็น 6.0 ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60^{0}C เป็นเวลา 180 นาที แต่เวลาในการย่อยสลายที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากเนื้อหอยเป๋าฮื้อและเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีคะแนนด้านกลิ่นรสสูงสุดคือ 90 และ 60 นาที ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อใช้เวลาในการย่อยสลายน้อยกว่าในส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยพบว่าที่ภาวะและเวลาในการย่อยสลายดังกล่าวโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีในปริมาณสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อ ส่วนกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีมีในปริมาณใกล้เคียงกัน

5. โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ AMP (16.33 mg/100g sample) ต่ำกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (46.00 mg/100g sample)

6. โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมี volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรส ได้แก่ acetic acid 5.11%, methyl-d3-1-dideuterio-2-propenyl ether 11.39%,

2-ethyl-1-hexanol 6.85%, benzenemethanol 3.89%, benzothiazole 55.12%, 2-6-dimethoxyphenol 1.50% และ 2,2,4-trimethyldihydroquinoline 7.08%

7. โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (9.58% w/v) สูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ (7.20% w/v) แต่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์เท่ากัน (0.23% w/v) และพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีค่าความหนาแน่น 1.12g/mL, ค่า pH 6.32, total soluble solids 1.70^{0}brix, ค่าความหนืด 22.00cP, ค่าสี (L* 16.90, a* -1.12, b* -3.27) และค่าความขุ่น 63.84%T ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อมีค่าความหนาแน่น 1.13g/mL, ค่า pH 6.42, total soluble solids 2.00^{0}brix, ค่าความหนืด 24.24cP, ค่าสี (L* 24.69, a* 3.94, b* 18.23) และค่าความขุ่น 1.46%T ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าสี (L*, a*, b*) และค่าความขุ่นของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ แสดงว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีสีอ่อนกว่าและขุ่นน้อยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลที่ได้ในงานวิจัยนี้พบว่าได้ข้อมูลเกี่ยวกับภาวะที่เหมาะสมในการย่อยของเอนไซม์ Flavourzyme® ต่อการย่อยโปรตีนในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อ ดังนั้นอาจมีการศึกษาในเรื่องของชนิดของเอนไซม์ และปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนในส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อด้วย นอกจากนี้อาจมีการศึกษาผลของการใช้ส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อเป็นวัตถุดิบร่วมกันในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

2. ควรมีการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสต ได้แก่ สมบัติการละลาย, สมบัติการเกิดอิมัลชัน, สมบัติการเกิดโฟม และสมบัติการดูดซับไขมันของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อเพื่อที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างเหมาะสม

3. ควรมีการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อและส่วนเครื่องในของหอยเป๋าฮื้อเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารในรูปแบบต่างๆเช่น ซอสหอยเป๋าฮื้อ, การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงด้วยเครื่อง spray dryer หรือ freeze dryer เพื่อนำไปผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อชนิดผง และผลิตภัณฑ์ซุปหอยเป๋าฮื้อก้อนได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

คเชนทร เฉลิมวัฒน์. 2544. หอยโข่งทะเล. ใน การเพาะเลี้ยงหอย, หน้า 211-228. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์รั้วเขียว.

นงลักษณ์ สุทธิวณิช. 2531. องค์ประกอบทางเคมีของสัตว์น้ำ. ใน คุณภาพสัตว์น้ำ, หน้า 48-79. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นิธิยา รัตนาปนนท์ และ วิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2543. สารพิษในอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก และ นงนุช รักสกุลไทย. 2534. การใช้เอนไซม์ปาเปนและบรอมเมลินในการทำซอสหอยนางรม. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์. 25: 65-74.

พายัพ ยังปักษี. 2541. หอยเป๋าฮื้อ. สัตว์น้ำ 10 (มกราคม): 169-174.

มะลิ บุณยรัตผลิน. 2545. การพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทยหอยเป๋าฮื้อ. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทย, หน้า 1-18. 2 กุมภาพันธ์ 2545 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร.

ลิลา เรืองแป้น. 2543. การเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อ. สัตว์น้ำ 12 (มกราคม): 126-136.

วรวุฒิ วีระชิงไชย. 2541. การเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้ออาจเป็นทางเลือกใหม่ของเกษตรกร. เกษตรพัฒนา 17 (ธันวาคม): 25-27.

เศรษฐกิจการเกษตร, สำนักงาน. 2547. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2546/2547. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 309 หน้า.

สมปอง วิชญวิเชียร. 2542. หอยเป๋าฮื้อ. ข่าวกรมประมง 23 (มกราคม-มิถุนายน): 19-31.

สิทธิศักดิ์ เหมืองสิน. 2545. หอยเป๋าฮื้อสัตว์น้ำเศรษฐกิจตัวใหม่ของไทย. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทย, หน้า 1-12. 2 กุมภาพันธ์ 2545 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ภาษาอังกฤษ

Adler-Nissen, J. 1986. A review of food hydrolysis-Specific areas. In Enzymic Hydrolysis of Food Proteins. Elsevier Applied Science Publishers, Copenhagen, Denmark. pp. 57-109.

Anonymous. 2006. Protein Hydrolysate Solution. [Online]. Available from: http://www.priyachem.com/prohyd.htm

A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 16th ed. Washington D.C., pp. 39-1-39-23.

Benjakul, S., and Morrissey, M. T. 1997. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 3423-3430.

Bhuwapathapun, S. 1996. Protease enzymes in chitin and chitosan production from shrimp waste products. In W. F. Stevens, M. H. Rao, and S. Chandrkrachang (eds.), Asia Pacific Chitin Symposium, pp. 41-49.

Botta, J. R. 1994. Freshness quality of seafood: A review. In F. Shahidi, and J. R. Botta (eds.), Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality, pp.140-167. Glasglow: Blackie Academic and Professional.

Birch, G. G., Blakebrough, N., and Parker, K. J. 1981. Enzyme and Food Processing. London: Applied Science Publishers.

Chiou, T. K., Lai, M. M., Lan, H. L., and Shiau, C. Y. 2002. Extractive component changes in the foot muscle of live small abalone during storage. Fisheries Science 68(2): 380-387.

Cochran, W. C., and Cox, G. M. 1992. Experimental Designs. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons.

Copeland, R. A. 1994. Methods for protein quantitation. In Methods for Protein Analysis, pp. 39-58. New York: Chapman&Hall.

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

Fuke, S. 1994. Taste–active components of seafood with special reference to umami substances. In F. Shahidi, and J. R. Botta (eds.), Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality, pp. 115-139. Glasglow: Blackie Academic and Professional.

Gildberg, A. 1993. Enzymic processing of marine raw material. Process Biochemistry 29: 1-15.

Guerard, F., Guimas, L., and Binet, A. 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 19-20: 489-498.

Hatae, K., Nakai, H., Shimada, A., Murakami, T., Takada, K., Shirojo, Y., and Watanabe, S. 1995. Abalone (*Haliotis discus*): Seasonal variations in chemical composition and textural properties. Journal of Food Science 60(1): 32-39.

Hatae, K., Nakai, H., Tanaka, C., Shimada, A., and Watabe, S. 1996. Taste and texture of abalone meat after extended cooking. Fisheries Science 62(4): 643-647.

Hayashi, T., Yamaguchi, K., and Konosu, S. 1978. Studies on flavor components in boiled crab-II. Nucleotides and organic based in the extracts. Nippon Suisan Gakkaishi 44(8): 1357-1362.

Hayashi, T., Yamaguchi, K., and Konosu, S. 1981. Sensory analysis of taste active components in the extract of boiled snow crab meat. Journal of Food Science 46(2): 479-483.

Hill, R. L. 1965. Advances in Protein Chemistry. New York: John Wiley & Sons.

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

Hwang, D. F., Liang, W. P., Shiau, C. Y., Chiou, T. K., and Jeng, S. S. 1997. Seasonal variations of free amino acids in the muscle and viscera of small abalone *Haliotis diversicolor*. Fisheries Science 63(4): 625-629.

Ishida, K., and Yamamoto, A. 1976. Studies on flavoring substances. Part III. Enzymatic hydrolysis of chicken meat and flavor of the hydrolysates. Nippon Shokuhin-Kogyo Gakkaishi 24: 1005-1012.

Jarayabhand, P., and Paphavasit, N. 1996. A review of the culture of tropical abalone with special reference to Thailand. Aquaculture 140: 159-168.

Jeon, Y. J., Byun, H. G., and Kim, S. K. 1999. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes. Process Biochemistry 35: 471-478.

Kawashima, K., and Yamanaka, H. 1996. Relations between glycolysis and browning of cooked scallop adductor muscle. Fisheries Science 62(5): 800-805.

Kimura, J., Shimizu, A., Kimizuka, A., Ninomiya, T., and Katsuya, N. 1969. The contribution of peptides and amino acids to the taste of food stuffs. Journal of Agricultural and Food Chemistry 17(2): 689-695.

Kongkeaw, T. 1999. Protein Hydrolysate and Crude Oil from Black Tiger Prawn Head. Master of Science Thesis in Fishery Product Technology. Prince of Songkla University.

Konosu, S. 1973. Taste of fish and shellfish with special difference to taste-producing substances. Nippon Shokuhin-Kogyo Gakkaishi 20(2): 432-439.

Konosu, S., Hayashi, T., and Yamaguchi, K. 1987. Role of extractive components of boiled crab in producing the characteristic flavor. In K. Kawamura, and M. R. Karo (eds.), Umami: A Basic Taste, pp. 235-253. New York: Marcel Dekker.

Konosu, S., and Yamaguchi, K. 1982. The flavor components in fish and shellfish. In R. E. Martin, G. J. Flick, C. E. Hebard, and D. R. Ward (eds.), Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, pp. 367-404. Westport: AVI Publishing.

Kristinsson, H. G., and Rasco, B. A. 2000. Kinetic of the hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. Process Biochemistry 36: 131-139.

Lahl, W. J., and Braun, S. D. 1994. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. Food Technology 48(10): 68-71.

Mackie, I. M. 1982. Fish protein hydrolysates. Process Biochemistry 17: 26-31.

Madmarn, W., and Prasertsan, P. 2002. Products from bioconversion of seafood processing wastes. Songklanakarin Journal of Science and Technology 24(2): 341-356.

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

Matoba, T., Kuchiba, M., Kimura, M., and Hasegawa, K. 1988. Thermal degradation of flavor enhancers, inosine 5'-monophosphate, and guanidine 5'-monophosphate in aqueous solution. Journal of Food Science 53(4): 1156-1159.

Nishimura, T., and Kato, H. 1988. Taste of free amino acids and peptides. Food Reviews International 4(1):175 -194.

Olley, J., and Thrower, S. J. 1977. Abalone-An esoteric food. Advance in Food Research 23(1):143-185.

Piggott, J. R. 1984. Sensory Analysis of Foods. London: Elsevier Applied Science Publishers. pp. 179-242.

Powell, E. N., Margaret, K., Chen, E., Koeing, M., and Pecon, J. 1982. Changes in free amino acid pool during environmental stress in the gill of the oyster, *Crassostrea virginica*. Comparative Biochemistry and Physiology 71(2): 591-598.

Prendergast, K. 1974. Protein hydrolysate-A review. Food Trade Review 44(14): 16-21.

Rebeca, B. D., Pena-Vera, M. T., and Diaz-Castaneda, M. 1991. Production of fish protein hydrolysates with bacterial protease; Yield and nutritional value. Journal of Food Science 56: 309-314.

Gordon, H. R., and Cook, P. A. 2001. World abalone supply, markets and pricing: Historical, current and future. Journal of Shellfish Research 20(2): 567-570.

Sarabok, A., and H-Kittikun, A. 1999. Tuna condensate for flavour sauce production. Songklanakarin Journal of Science and Technology 21(4): 497-500.

Schrodter, R., and Wolm, G. 1980. Optimization of conditions for flavour formation in amino acid / glucose model system. Nahrung 24(2): 175-183.

Seki, N. 1971. Nucleotides in aquatic animals and seaweed. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 37(3): 777-783.

Shahidi, F., Han, X. Q., and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry 53: 285-293.

Sikorski, Z. E. 1990. Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation. Florida: CRC Press, Inc.

Stanley, D. W. 1981. Non-bitter protein hydrolysates. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal 14: 49-52.

Sun Pan, B., and Kuo, J. M. 1994. Flavour of shellfish and Kamaboko flavorants. In F. Shahidi, and J. R. Botta (eds.), Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality, pp. 85-88. Glasglow: Blackie Academic and Professional.

Synowiecki, J., Jagielka, R., and Shahidi, F. 1996. Preparation of hydrolysates from bovine red blood cells and their debittering following plasteine reaction. Food Chemistry 57: 435-439.

Takayama, N., Yamamoto, Y., Kadowaki, Y., and Endo, K. 1970. Chemical components of abalone meat. Kaseikaku Zasshi 21(1): 239-245.

Vieira, G. H. F., Martin, A. M., Saker-Sampaiao, S., Omar, S., and Goncalves, R. C. F. 1995. Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazillian lobster (*Panulirus spp.*) processing wastes. Journal of the Science of Food and Agriculture 69: 61-65.

Watanabe, H., Yamanaka, H., and Yamakawa, H. 1992. Seasonal variations of extractive components in the muscle of disk abalone. Nippon Suisan Gakkaishi 58(5): 921-925.

Watanabe, K., Uehara, H., and Sato, M. 1985. Seasonal variation of extractive nitrogenous constituents in the muscle of the ascidian *Halocynthia roretzi*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 51(8): 1293-1298.

Webber, H. H. 1970. Changes in metabolite composition during the reproductive cycle of the abalone *Haliotis cracheroidii* (Gastropoda: Prosobranchiata). Physiological Zoology 43(1): 213-217.

Whitaker, J. R. 1972. Principles of Enzymology for the Food Sciences. New York: Marcel Dekker.

Yu, S. Y., and Fazidah, S. 1994. Enzymatic hydrolysis of proteins from *Aristichthys nobilis* by protease P 'Amano' 3. Tropical Science 34(4): 381-386.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

อุปกรณ์

ตู้อบ

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ภาชนะอะลูมิเนียมซึ่งอบแห้ง และชั่งน้ำหนักไว้แล้ว

2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่

3. นำมาทิ้งให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณความชื้นโดยใช้สูตร

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\left[\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง (กรัม)} - \text{น้ำหนักหลังอบแห้ง (กรัม)}\right]}{\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง (กรัม)}} \times 100$$

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

อุปกรณ์

ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น
2. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.1N
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35 โดยปริมาตร
4. สารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร
5. ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst-selenium mixture)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในขวดย่อย
2. เติมตัวเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. เติมสารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 20 มิลลิลิตร

4. ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Buchi Digestion จนกระทั่งได้สารละลายสีเหลืองอ่อน

5. กลั่นตัวอย่างที่ย่อยได้ด้วยเครื่อง Buchi Distillation โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวทำปฏิกิริยา และเก็บสารละลายที่กลั่นได้ในสารละลายบอริก ซึ่งเติม methyl red-methylene blue เป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

6. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.1 N คำนวณปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{A \times B \times 6.25 \times 1.4}{C}$$

A = ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ที่ใช้ไตเตรท

B = ปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

C = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

ก.3 การวิเคราะห์ไขมัน

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

อุปกรณ์

1. เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet Apparatus) (Gerhardt, EV-16, Konigswinter, Germany)
2. ihimble
3. ตู้อบลมร้อน
4. กระดาษกรอง Whatman No.1
5. เดซิกเคเตอร์

สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether)

วิธีทดลอง

1.ชั่งตัวอย่างแล้วนำไปอบแห้งให้ได้น้ำหนักประมาณ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

2.ใส่ตัวอย่างในทิมเบิลซึ่งบรรจุในขวดสกัดที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

3. เติม petroleum ether ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัด แล้วต่อเข้ากับชุดสกัดใช้เวลาในการสกัดไขมันนาน 3-4 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ระเหยเอา petroleum ether ออกจากไขมันที่สกัดได้

5. นำไขมันที่ได้หรือน้ำมันที่ได้ในขวดสกัดไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C ประมาณ 2 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักคงที่ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิกเคเตอร์

6. ชั่งน้ำหนักของน้ำมันที่ได้จากการสกัด คำนวณปริมาณไขมันโดยใช้สูตร

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

A = น้ำหนักที่แน่นอนของขวดก้นกลมและไขมันที่สกัดได้ (กรัม)

B = น้ำหนักที่แน่นอนของขวดก้นกลม (กรัม)

C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

อุปกรณ์

1. เตาเผา

2. เตาให้ความร้อน

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในครูซิเบิล ที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำตัวอย่างไปให้ความร้อนเพื่อไล่ควัน จนกระทั่งตัวอย่างไม่มีควัน

2. นำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาที่ 500-550 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว

3. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณเถ้าโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณเถ้า (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ โดยวิธี Mohr method

สารเคมี

1. สารละลายซิลเวอร์ไนเทรต เข้มข้น 0.1 M

2. สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตร

วิธีทดลอง

1. ปิเปตผลิตภัณฑ์ตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. ปิเปตผลิตภัณฑ์เจือจางจากข้อ 1 จำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมอินดิเคเตอร์โพแทสเซียมไดโครเมตจำนวน 1 มิลลิลิตร

3. ไทเทรตด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ความเข้มข้น 0.1 M จนกระทั่งเกิดตะกอนสีแดงอิฐ บันทึกปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเทรต คำนวณปริมาณโซเดียมคลอไรด์โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (\% w/v)} = \frac{V \times 0.1 \times 58.5 \times 2}{5}$$

V = ปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตที่ใช้ไป (มิลลิลิตร)

ก.6 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนอิสระด้วยวิธี HPLC

AccQ.Tag. เป็นวิธีการหากรดอะมิโนที่ Waters พัฒนาขึ้น โดยการทำอนุพันธ์ของกรดอะมิโนด้วยวิธี pre-column โดยสารเคมีที่ใช้ในการทำอนุพันธ์ ได้แก่ AQC. (AccQ-fluor reagent) มีชื่อทางเคมี คือ 6-amino quinolyl-N-hydroxy succinimidyl carbamate ซึ่งสามารถเกิดอนุพันธ์กับ primary และ secondary amino acids ได้เป็นอนุพันธ์ของกรดอะมิโนที่มีความเสถียร เก็บที่อุณหภูมิห้องได้นานและสามารถแยกได้ง่ายด้วย reverse phase HPLC โดยใช้ column ที่ Waters พัฒนาขึ้น อนุพันธ์ที่แยกได้สามารถตรวจวัดด้วยเครื่อง UV detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร นอกจากนี้สาร AQC. ที่มากเกินพอจะถูกโฮโดรไลซ์ ด้วยน้ำได้เป็น AMQ.(aminoquinoline) ที่ตรวจวัดได้น้อย ทำให้ไม่มีการรบกวนจากปริมาณ AQC. ที่มากเกินพอ

อุปกรณ์

1. ระบบฉีดตัวอย่าง (Waters 717 plus Autosampler)

2. คอลัมน์ Waters AccQ-Tag amino acid analysis column ขนาด 3.9 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 4 ไมครอน

3. เครื่องตรวจวัด (Waters 2487 Dual Absorbance Detector: 254 นาโนเมตร)

สารเคมี

1. Waters AccQ-Tag eluent A concentrate (gradient mobile phase)

2. Water amino acid hydrolysate standard ampoules

3. 60% acetonitrile

4. Water AccQ.fluor reagent kit ประกอบด้วย

- Water AccQ. fluor borate buffer
- Water AccQ. fluor reagent powder (2A)
- Water AccQ. fluor reagent diluent (2B)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียม Waters AccQ. reagent เพื่อทำอนุพันธ์

นำ Water AccQ. fluor reagent (2B) 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Water AccQ. fluor reagent (2A) ปิดฝาเขย่า 10 วินาที ให้ความร้อน 55 °C จนผงใน (2A) ละลายหมด ระวังอย่าให้ความร้อนนานเกิน 10 นาที เมื่อเตรียมเสร็จสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 สัปดาห์

2. การเตรียมสารมาตรฐานและอนุพันธ์ของสารมาตรฐาน

2.1 การเตรียมสารมาตรฐาน

เติม amino acid hydrolysate standard 40 ไมโครลิตร และ internal standard stock solution 40 ไมโครลิตร (ละลาย 2-amino butyric acid 6.45 มิลลิกรัม ใน 0.1M HCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ –20 °C ได้นาน 6 เดือน) จากนั้นเติมน้ำ Milli-Q 920 ไมโครลิตร สารมาตรฐานที่เตรียมได้จะประกอบด้วย 100 pmol/ไมโครลิตร ของกรดอะมิโนแต่ละชนิด และ internal standard 100 pmol/ไมโครลิตร

2.2 การเตรียมอนุพันธ์สารมาตรฐาน

นำสารมาตรฐาน 10 ไมโครลิตรที่เตรียมไว้ใส่ใน sample tube ขนาด 6 × 50 มิลลิเมตร เติม Waters AccQ. fluor borate buffer ประมาณ 70 ไมโครลิตร เติม ACQ. reagent 20 ไมโครลิตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที

3. การเตรียมตัวอย่างและอนุพันธ์ของตัวอย่าง

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำ internal standard ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ที่เตรียมไว้ใน 20 mM HCl ปริมาตร 980 ไมโครลิตร จากนั้นใส่สารมาตรฐานแบบ internal standard ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ในตัวอย่าง

3.2 การเตรียมอนุพันธ์ของตัวอย่าง

เติม AccQ. fluor borate ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างที่เตรียมไว้ จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและเติม ACQ. reagent ที่เตรียมไว้ 20 ไมโครลิตร เขย่าเป็นเวลา 10 วินาที ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อรอให้ ACQ. ที่มากเกินพอถูก hydrolysed ด้วยน้ำไปเป็น AMQ. นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที

3.3 การแยกอนุพันธ์ของกรดอะมิโน

ใช้ปั๊มขับดัน mobile phase เข้ารวมกับตัวอย่างเพื่อพาเข้าสู่ separating column ที่อุณหภูมิ 37°C โดยใช้ mobile phase 2 ชนิด คือ

- eluent A เป็น AccQ. Tag eluent 200 มิลลิลิตร ใน Milli-Q 2 ลิตร
- eluent B เป็น acetronitrile 60%

ตรวจวัดด้วย Waters 2487 Dual Absorbance Detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโน-เมตร

ก. 7 การทำกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Biuret method

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายไบยูเร็ต เตรียมโดยแยกละลาย $CuSO_4.5H_2O$ หนัก 1.5 กรัม และ sodium potassium tartrate หนัก 6.0 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกันกับ 10% (w/v) NaOH 300 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2. สารละลายมาตรฐาน bovine serum albumin เตรียมโดยละลาย bovine serum albumin หนัก 1 กรัม ในน้ำกลั่นเล็กน้อย ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

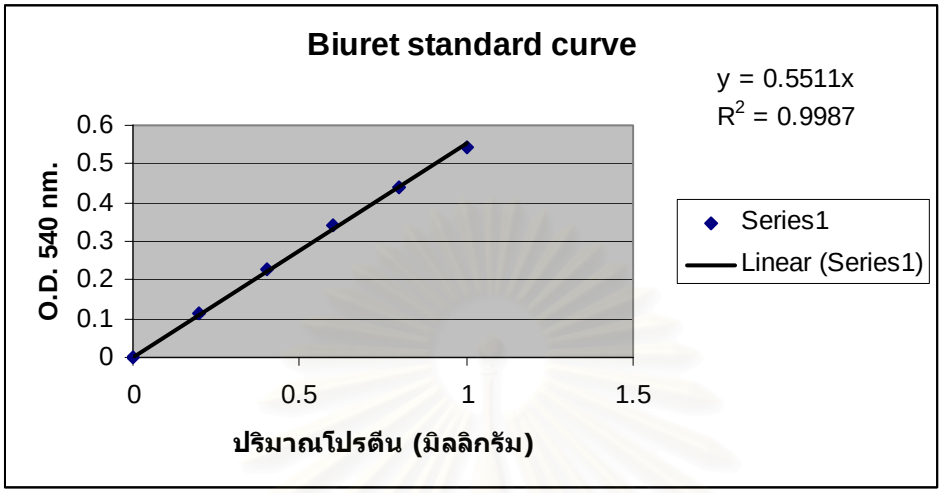
วิธีทำการทดลอง

ปิเปตสารละลายตามลำดับในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ ก.1 การเตรียมสารละลาย bovine serum albumin ความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

สารละลาย (ml)	หลอดทดลองที่					
	1	2	3	4	5	6
Bovine serum albumin	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
น้ำกลั่น	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0.0
สารละลายไบยูเร็ต	4	4	4	4	4	4

เขย่าสารละลายทุกหลอดให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin ความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ก.8 การวิเคราะห์ค่า pH

ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BP210S, Gottingen, Germany)
2. เครื่องวัด pH (HORIBA, F-21, Kyoto, Japan)
3. เครื่องคนสารละลายแม่เหล็กอัตโนมัติ (Thermix, 210T)

วิธีทดลอง

1. ปรับมาตรฐาน (calibrate) เครื่องวัด pH ตามคู่มือของเครื่องด้วย standardized pH buffer pH 7.00 และ pH 4.00 ตามลำดับ
2. กวนอย่างสม่ำเสมอด้วยเครื่องคนสารละลายแม่เหล็กอัตโนมัติ แล้ววัดค่า pH ของสารละลายโดยใช้เครื่องวัด pH

ก.9 การวิเคราะห์ค่าความหนืด

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความหนืด (Brookfield, DVI+, Stoughton, USA)

วิธีทดลอง

1. เปิด switch power ด้านหลังเครื่องแล้วเซ็คระดับลูกน้ำ
2. ถอดเข็มออก กดปุ่มใดปุ่มหนึ่งบนเครื่อง เครื่องจะปรับศูนย์โดยอัตโนมัติ
3. จุ่มเข็มเบอร์ที่ต้องการลงในตัวอย่างจนถึงรอยกึ่งกลางเข็ม ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ
4. ป้อนข้อมูลของเข็มที่จะใช้วัดโดย กดปุ่ม select spindle กดปุ่มลูกศรขึ้น ลง เพื่อเลือกรหัสของเข็มที่จะใช้ กดปุ่ม select spindle อีกครั้งเมื่อได้รหัสของเข็มที่ต้องการ
5. เลือกความเร็วรอบที่จะใช้โดย กดปุ่ม set speed กดปุ่มลูกศรขึ้น ลง เพื่อเลือกความเร็วรอบที่ต้องการ กดปุ่ม set speed อีกครั้งเมื่อได้ความเร็วรอบที่ต้องการ
6. ในกรณีต้องการหยุดเครื่องขณะทำงาน ให้กดปุ่ม motor on/off
7. ในกรณีต้องการดูข้อมูลในค่าอื่นๆ เช่น % scale, viscosity ให้กดปุ่ม select display
8. ปุ่ม auto range ใช้ในกรณีต้องการทราบว่า เข็ม ความเร็วรอบที่ใช้ขณะนั้นสามารถวัดค่าความหนืดได้สูงสุดเท่าไร

ก.10 การวิเคราะห์ค่าสี

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (Minolta, CR300 series, Tokyo, Japan)

วิธีทดลอง

1. เลื่อนสวิทช์ power on พร้อมกับกดปุ่ม all data clear
2. กดปุ่ม index set
3. เลือกแหล่งแสง C หรือ D_{65} แล้วกดปุ่ม enter
4. กดปุ่ม calibrate เพื่อป้อนค่า Y, x, y ซึ่งได้จากค่าที่อยู่บนตัวเครื่อง
5. กดปุ่ม measure แล้วรอจนเกิดการ reflect ของแสงครบ 3 ครั้ง
6. กดปุ่ม color space select เพื่อเลือกระบบสีที่ต้องการ เช่น L*, a*, b* เป็นต้น
7. นำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ต้องการวัดสีใส่ cell แล้วนำไปใส่ในตัวเครื่อง
8. กดปุ่ม measure
9. ถ้าต้องการวิเคราะห์สถิติ กดปุ่ม stat เครื่องจะแสดงค่า max, min, mean และ SD

ก.11 การวิเคราะห์ volatile compounds ด้วยวิธี Headspace GC-MS

อุปกรณ์

1. Headspace (Agilent, 7694, USA)
2. Gas Chromatography (GC) (Agilent, 6890N, USA)

3. Mass Spectrometer (MS) (Agilent, MSD 5973, USA)
4. คอลัมน์ Capillary column ขนาด 30 เมตร × 250 ไมโครเมตร × 0.25 ไมโครเมตร (J&W Scientific, DB-5MS, USA)

การตั้งสภาวะของ Headspace ที่เหมาะสม

oven temperature program: 80°C

loop temperature: 85°C

transfer line temperature: 85°C

GC cycle time: 50 นาที

vial equivalent time: 30 นาที

pressurize time: 0.20 นาที

loop fill time: 0.20 นาที

loop equivalent time: 0.05 นาที

inject time: 1.0 นาที

การตั้งสภาวะของเครื่อง Gas Chromatography ที่เหมาะสม

injector temperature: 200°C

splitless mode: 30 มิลลิลิตรต่อนาที @ 0.75 นาที

oven temperature program: 40°C hold time 2 นาที

ramp rate: 10°C/นาที

final temperature: 250°C hold time 10 นาที

column flow rate: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

transfer line temperature: 250°C

การตั้งสภาวะของเครื่อง Mass Spectrometer ที่เหมาะสม

mode: Electron Ionization (EI)

mass range: 10-350 unit

electron multiplier: 1400 volt

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของสารปรุงแต่งกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อ (RANKING TEST)

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่.....

คำชี้แจง : โปรดประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของสารปรุงแต่งกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อในด้านกลิ่นรส โดยตัวอย่างที่มีความแรงของกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อมากที่สุดให้ระดับความแรงของกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อลำดับแรก และตัวอย่างที่มีความแรงของกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อน้อยที่สุดเป็นลำดับสุดท้าย

โปรดทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่เสนอต่อไปนี้..... ....

ระดับความแรงของกลิ่นรสหอยเป๋าฮื้อ	รหัสตัวอย่าง
ลำดับที่ 1	.....
ลำดับที่ 2	.....
ลำดับที่ 3	.....
ลำดับที่ 4	.....

ข้อเสนอแนะ :.....
.....
.....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบทดสอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของไฮโดรไลเสตของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ

ชื่อ..... วันที่.....

คำแนะนำ: กรุณาทดสอบกลิ่นรสของไฮโดรไลเสตของเนื้อหอยเป๋าฮื้อ แล้วให้คะแนนลงในแบบทดสอบตามเกณฑ์ดังนี้

คะแนนกลิ่นรส 1 = ไม่มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ
2 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อน้อย
3 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อปานกลาง
4 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อมาก
5 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อมากที่สุด

ตัวอย่าง	คะแนน
.....	……
.....	…….
.....	…….
.....	…….
.....	…….

ข้อเสนอแนะ:
……
……
……
……

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบทดสอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของไฮโดรไลเสตของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ

ชื่อ..... วันที่.....

คำแนะนำ: กรุณาทดสอบกลิ่นรสของไฮโดรไลเสตของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อ แล้วให้คะแนนลงในแบบทดสอบตามเกณฑ์ดังนี้

คะแนนกลิ่นรส 1 = ไม่มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อ
2 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อน้อย
3 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อปานกลาง
4 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อมาก
5 = มีกลิ่นรสของหอยเป๋าฮื้อมากที่สุด

ตัวอย่าง	คะแนน
.....	……
.....	…….
.....	…….
.....	…….
.....	…….

ข้อเสนอแนะ:
……
……
……
……..

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

หอยเป๋าฮื้อที่ใช้ในงานวิจัย

รูปที่ ค.1 หอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina* ทั้งตัว

รูปที่ ค.2 เนื้อหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina*

(a)

(b)

(c)

รูปที่ ค.3 หอยเป๋าฮื้อที่พบในประเทศไทย (a) *H. asinina* (b) *H. ovina* (c) *H. varia*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

รูปที่ ง.1 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ประกอบด้วย

- ระบบฉีดตัวอย่าง (Waters 717plus Autosampler)
- เครื่องตรวจวัด (Waters 2487 Dual Absorbance Detector: 254 นาโนเมตร)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสต

รูปที่จ.1 โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 90 นาที

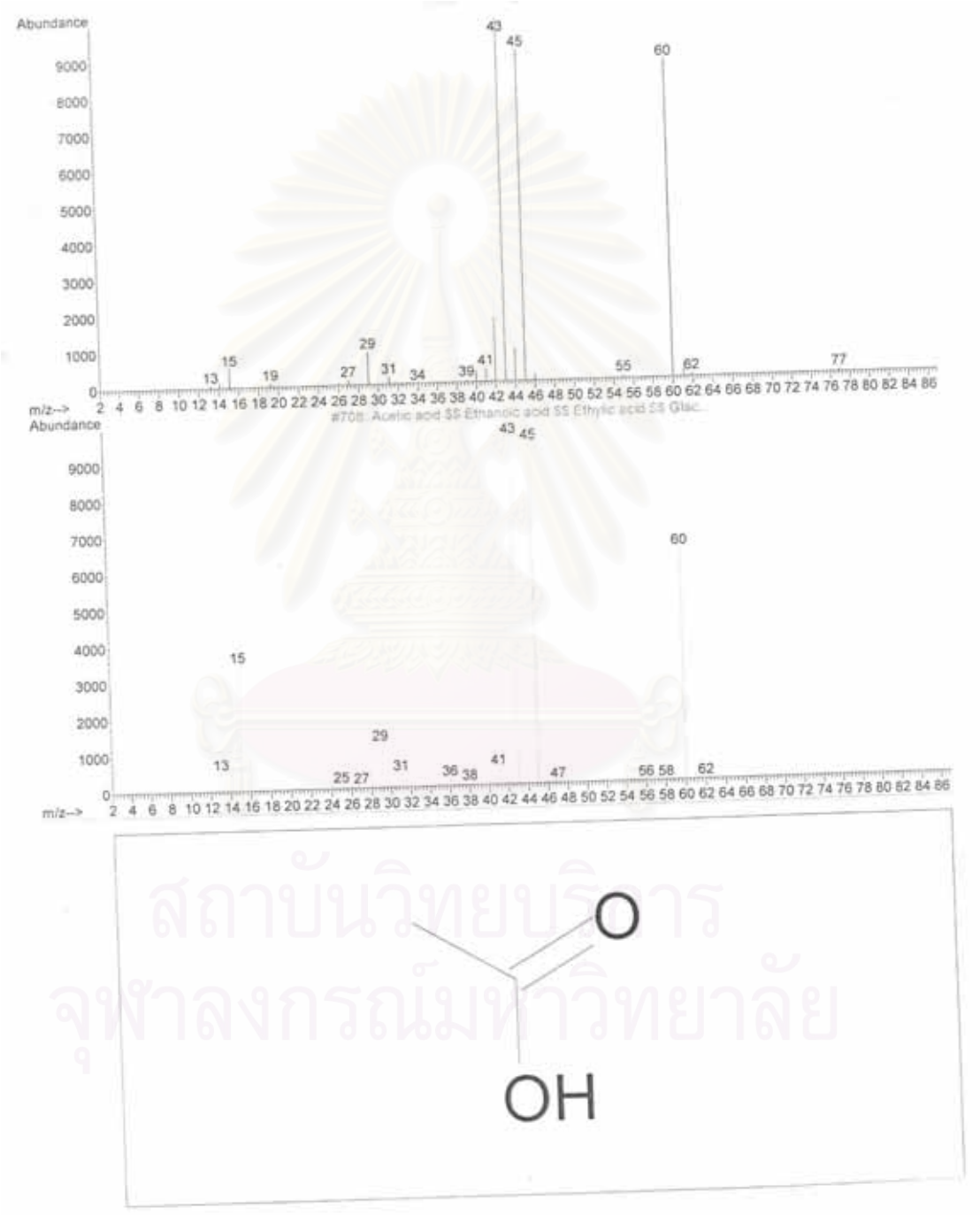
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ จ.2 โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 60 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

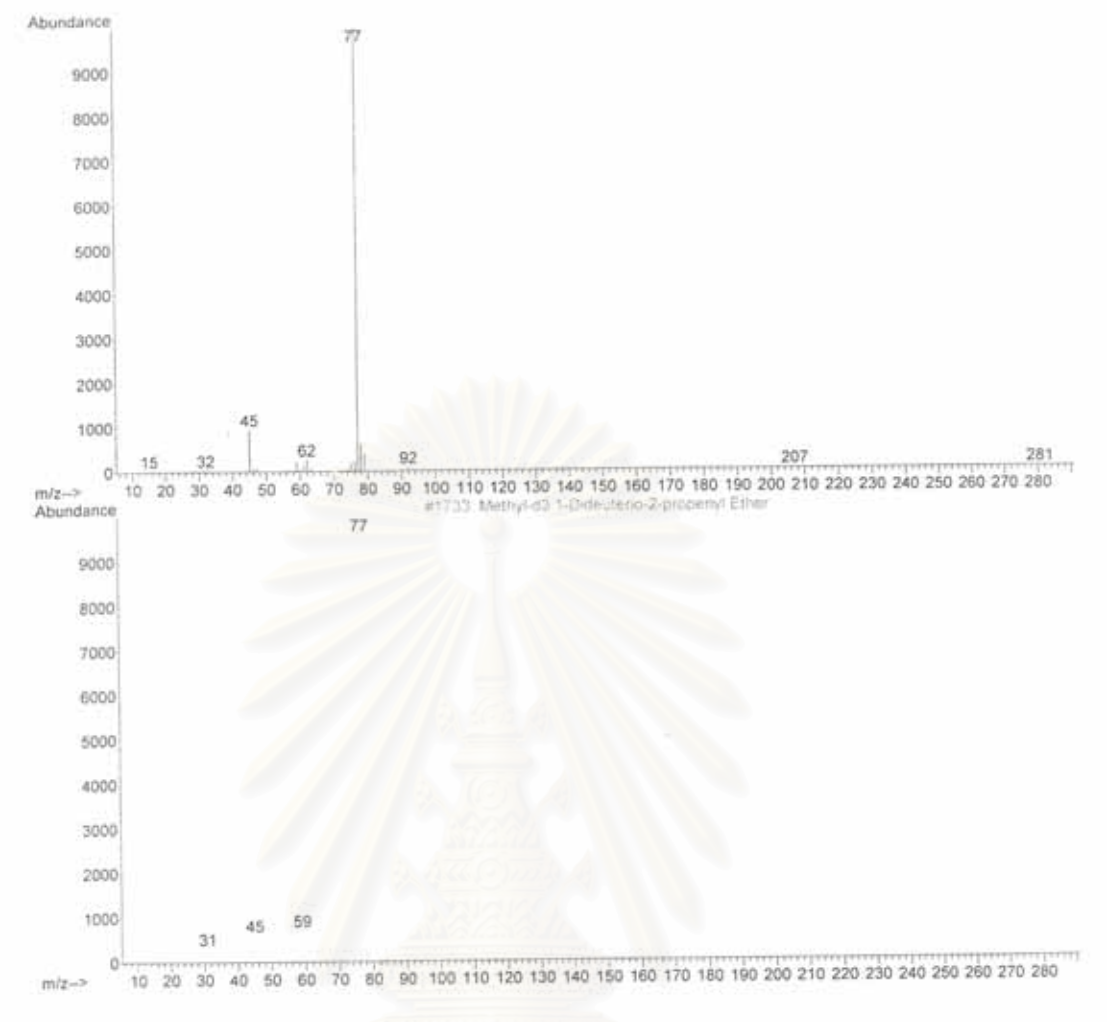
ภาคผนวก ฉ

volatile compounds ที่มีผลต่อกลิ่นรสในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Headspace GC-MS



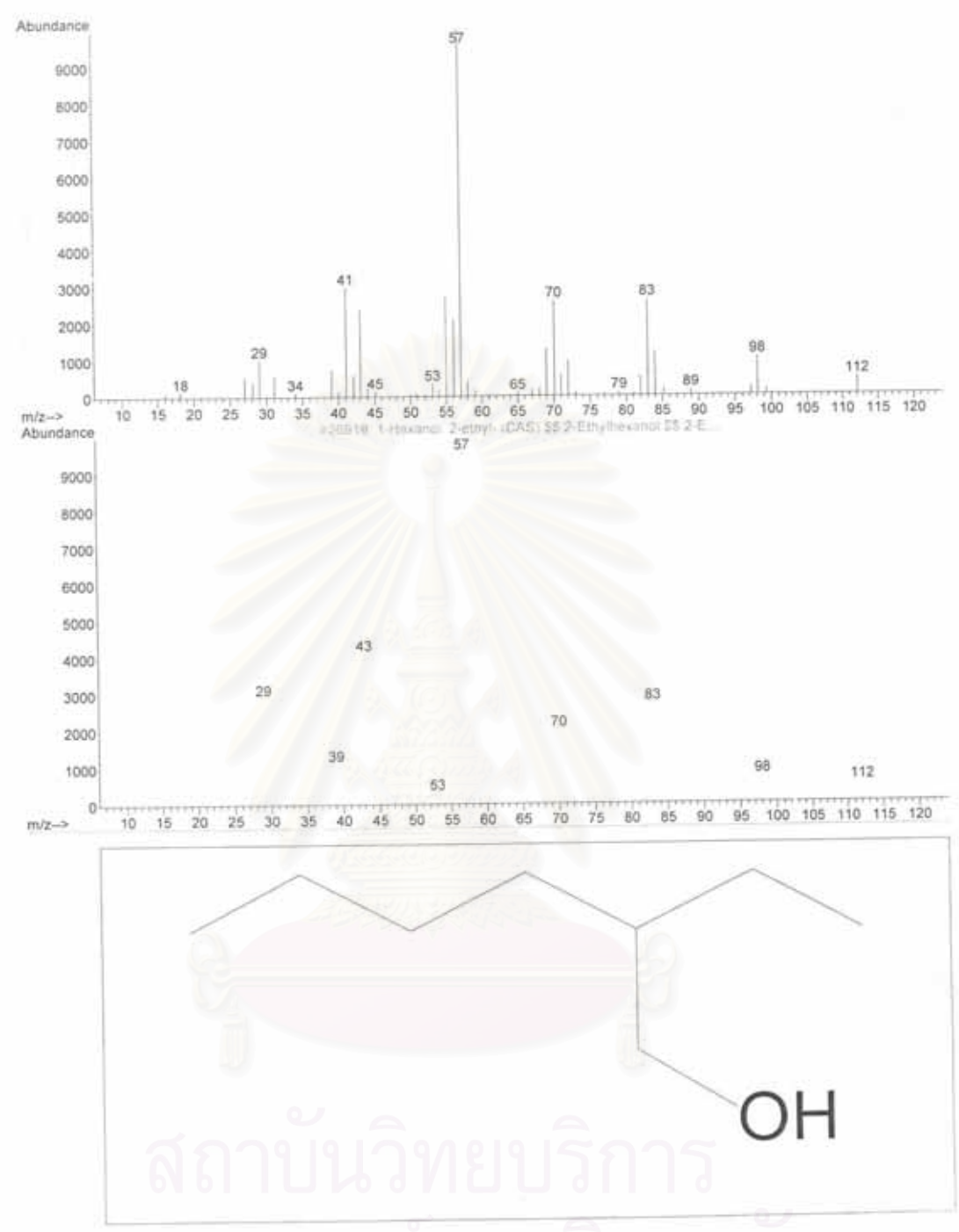
รูปที่ ฉ.1 acetic acid

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



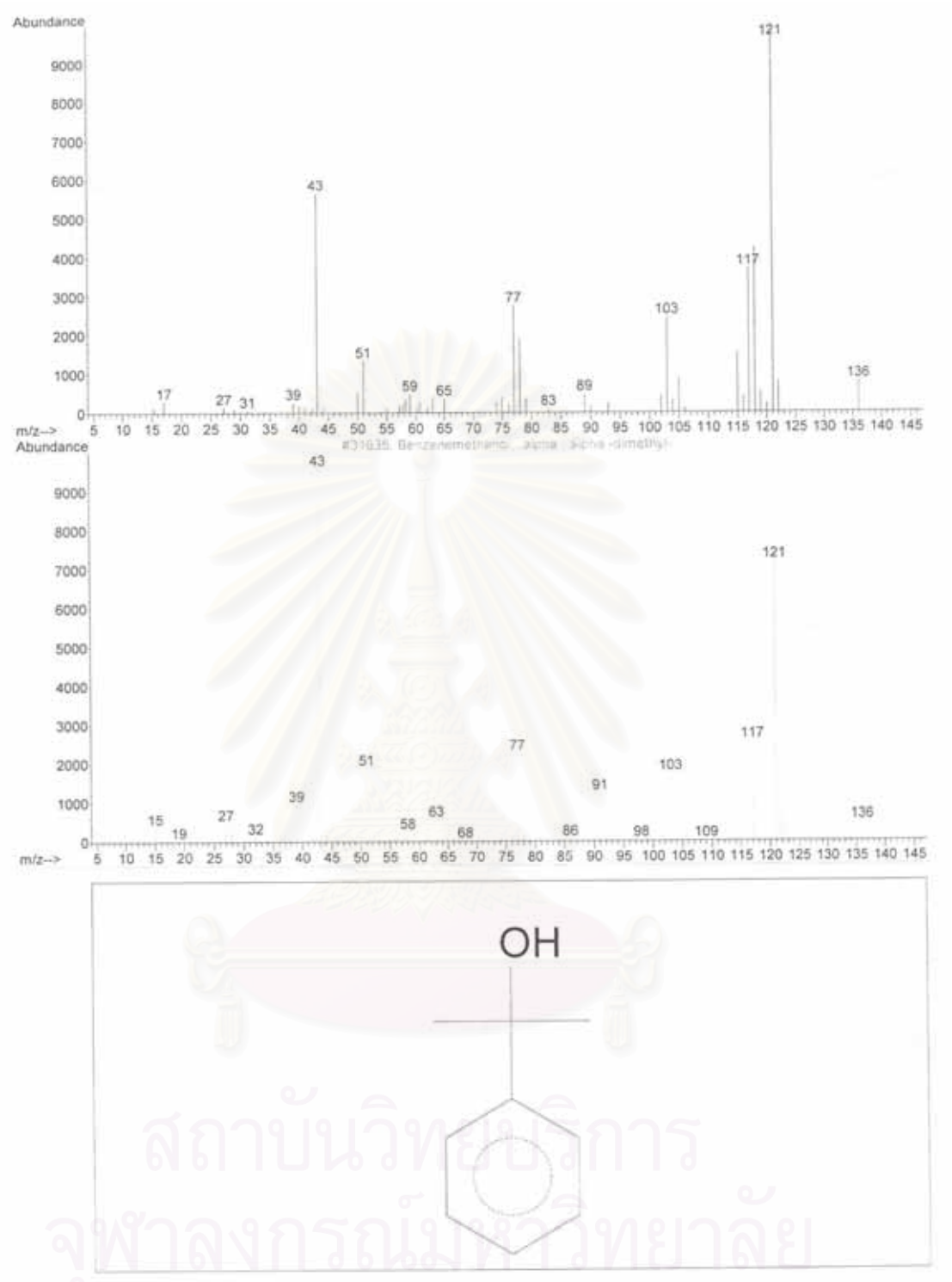
รูปที่ ฉ.2 methyl-d3-1-dideuterio-2-propenyl ether

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



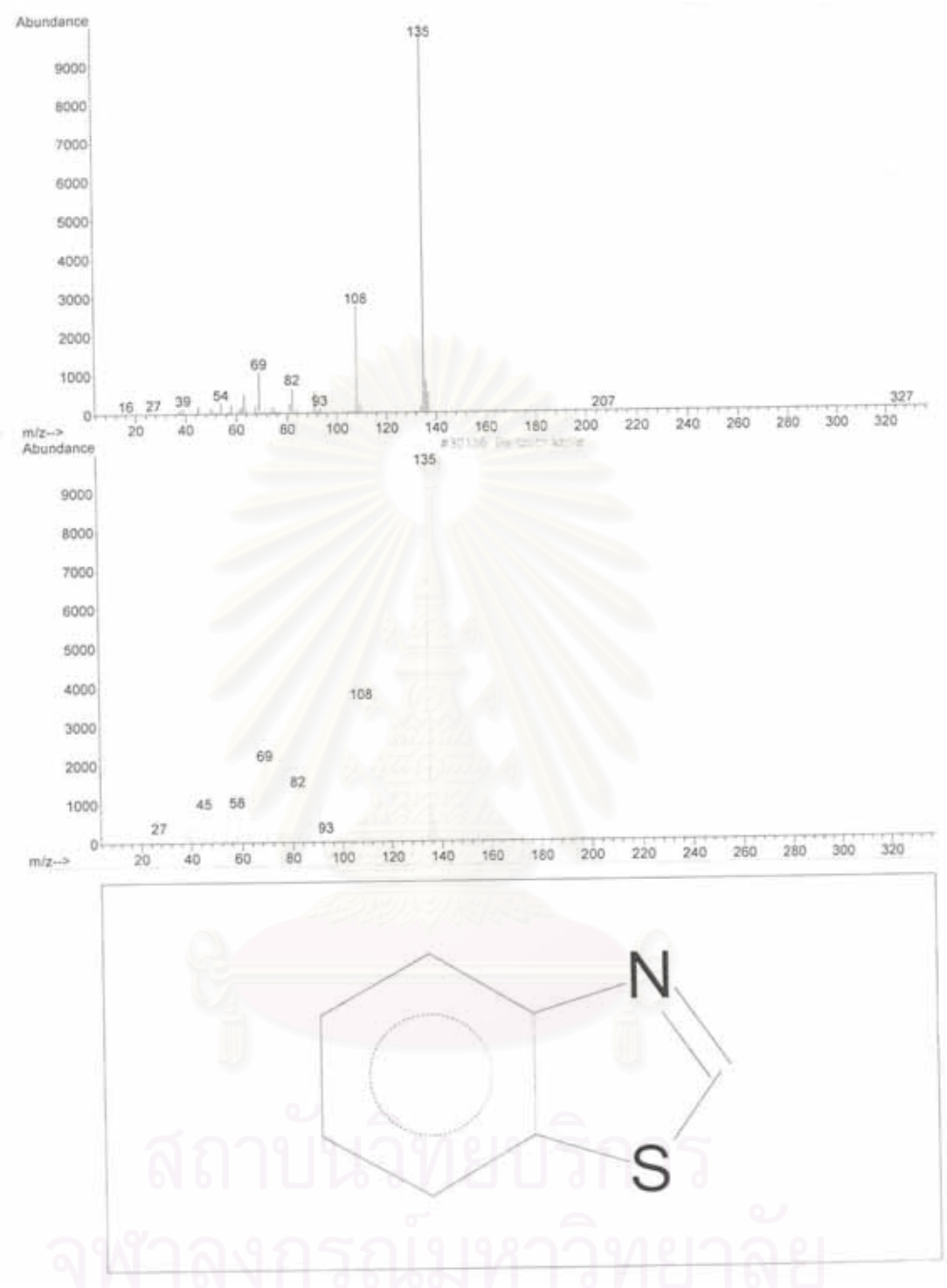
รูปที่ ฉ.3 2-ethyl-1-hexanol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



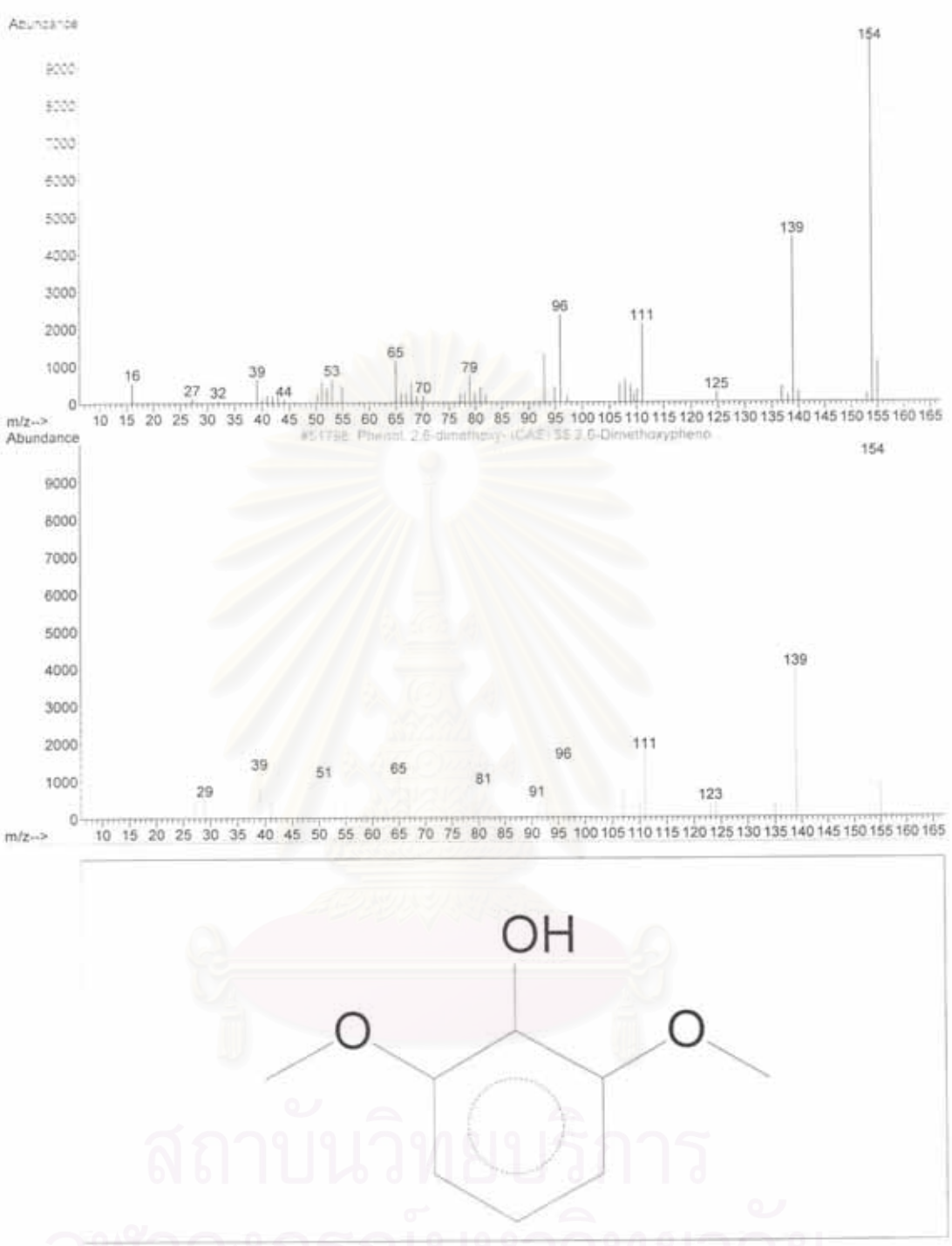
รูปที่ ฉ.4 benzenemethanol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



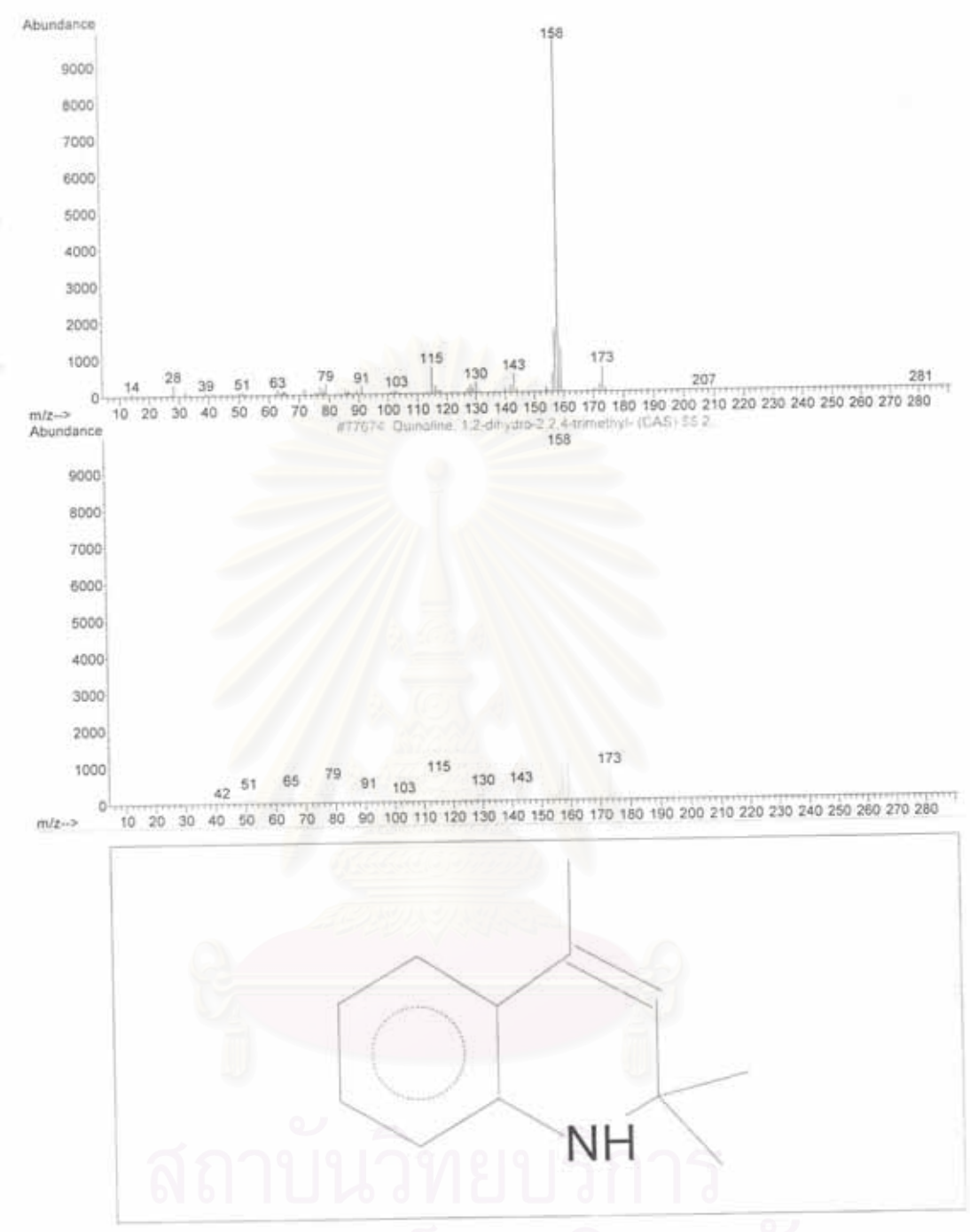
รูปที่ ฉ.5 benzothiazole

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ฉ.6 2,6-dimethoxyphenol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ฉ.7 2,2,4-trimethyldihydroquinoline

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ช

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางที่ ช.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

SOV	df	MS
อุณหภูมิ (A)	2	215.907*
pH (B)	2	26.563*
AB	4	1.000
Error	9	0.467

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ช.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

SOV	df	MS
เวลา	4	53.763*
Error	10	0.228

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ช.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

SOV	df	MS
เวลา	4	26.777*
ผู้ทดสอบ	9	0.697
Error	136	0.800

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ช.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

SOV	df	MS
อุณหภูมิ (A)	2	261.499*
pH (B)	2	51.629*
AB	4	0.750
Error	9	0.575

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ช.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับการย่อยสลายของเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

SOV	df	MS
เวลา	4	61.531*
Error	10	0.221

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ซ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนด้านกลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากส่วนเครื่องในหอยเป๋าฮื้อที่ย่อยโดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® ความเข้มข้น 1% ของน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60^{0}C pH 6.0 เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่างๆ

SOV	df	MS
เวลา	4	21.810*
ผู้ทดสอบ	9	0.416
Error	136	0.854

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ซ

เอกสารประกอบเอนไซม์

Flavourzyme®

Description

Flavourzyme is a fungal protease/peptidase complex produced by submerged fermentation of a selected strain of *Aspergillus oryzae* which has not been genetically modified, and it contains both endoprotease and exopeptidase activities.

The optimal pH for the enzyme complex is in the range of 5.0-7.0. The optimal pH for the exopeptidase is approx. 7.0, as determined by application trials. The optimal pH for debittering is also approx. 7.0.

The optimal temperature for the enzyme complex as well as for the exopeptidase is around 50°C (122°F).

Product Properties

Product Type

Flavourzyme is available as Flavourzyme 500 L, a liquid product, and Flavourzyme 500 MG, a brown, free-flowing, non-dusting microgranulate granulated on NaCl. The colour may vary from batch to batch and colour intensity is not an indication of product strength.

Activity

Flavourzyme is standardized in Leucine Amino Peptidase Units per gram (LAPU/g).

Flavourzyme 500 MG.....Declared activity: 500 LAPU/g
Flavourzyme 500 L.....Declared activity: 500 LAPU/g

One LAPU is the amount of enzyme which hydrolyzes 1 µmol of L-leucine-p-nitroanilide per minute. See the Analytical Method for further information.

Solubility

Flavourzyme 500 MG and Flavourzyme 500 L are both readily soluble in water.

Food-grade status

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes issued by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC).

Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

Flavourzyme is a fungal protease/peptidase complex for the hydrolysis of proteins under neutral or slightly acidic conditions.
Flavourzyme can be used for debittering bitter protein hydrolysates at low degrees of hydrolysis and for extensive hydrolysis of proteins resulting in flavour development.
For debittering, Flavourzyme can be used at dosages of 5-10 LAPU/g protein.
For extensive hydrolysis, dosages of 10-50 LAPU/g protein are recommended.

Reaction Parameters

The activity of Flavourzyme varies with pH and temperature as can be seen in Figures 1 and 2.

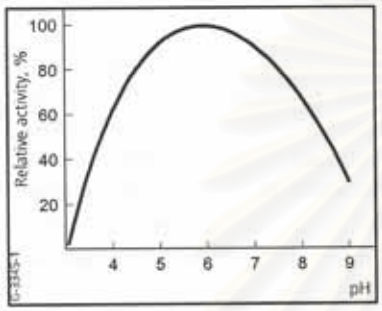


Fig. 1. Influence of pH on the activity of Flavourzyme.

Substrate:	8% soy protein isolate
Enzyme conc.:	33 LAPU/g protein
Temperature:	50°C (122°F)
Method:	TNBS

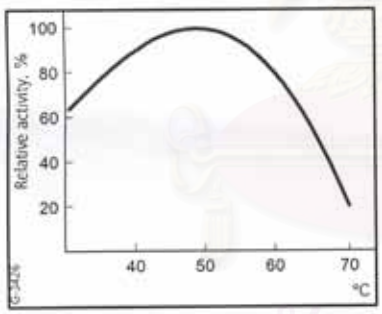


Fig. 2. Influence of temperature on the activity of Flavourzyme.

Substrate:	8% soy protein isolate
Enzyme conc.:	33 LAPU/g protein
pH:	7.0
Method:	TNBS

Inactivation

Flavourzyme can be inactivated in 10 minutes at 75°C (167°F) or higher. However, the inactivation is very much dependent on the substrate (substrate concentration, pH, etc.). Thus, the documentation for efficient elimination of Flavourzyme must be based on actual analysis for the detection of residual activity.
See the Method for the detection of residual protease activity in protein hydrolysate for further information.

Safety

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact.

Flavorzyme 500 MG

The product has been developed to resist some mechanical effects. However, excessive mechanical wear and tear or crushing may create dust.
All spills, however minor, should be removed immediately. Use respiratory protection. Major spills should be carefully shovelled into plastic-lined containers. Minor spills and the remains of major spills should be removed by vacuum cleaning or flushing with water (avoid splashing). Vacuum cleaners and central vacuum systems should be equipped with HEPA filters.

Flavourzyme 500 L

The product may create easily inhaled aerosols if splashed or vigorously stirred.
Spilled product may dry out and create dust.
Spilled material should be flushed away with water. Avoid splashing. Left-over material may dry out and create dust.
A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

Storage

Enzymes gradually lose activity over time depending on storage temperature and humidity. Cool and dry conditions are recommended.
When stored in closed containers at 5°C (41°F), the product will maintain its declared activity for at least 3 months.
Extended storage and/or adverse conditions, including higher temperatures or high humidity, may lead to a higher dosage requirement.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวดวงใจ ลาภยืนยง เกิดวันที่ 16 กันยายน พ.ศ.2522 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในปี พ.ศ.2544 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ.2545

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย