การผลิตสารสกัดจากปลาอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพโปรติเอสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์

นางสาวบุศราภา ลีละวัฒน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2536

ISBN 974-581-088-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CONTINUOUS PRODUCTION OF FISH EXTRACTS USING IMMOBILIZED PROTEASES FLUDIZED BIOREACTOR

Miss Bootsrapa Leelawat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Food Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-581-088-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารสกัดจากปลาอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพโปรติเอสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์
โดย	นางสาวบุศราภา ลีลยะวัฒน์
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อรรถพล นุ่มหอม)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. พาสวดี ฤทัยยานนท์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

บุศราภา ลีละวัฒน์ : การผลิตสารสกัดจากปลาอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพโปรติเอสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์ (CONTINUOUS PRODUCTION OF FISH EXTRACTS USING IMMOBILIZED PROTEASES FLUIDIZED BIOREACTOR)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง, 227 หน้า. ISBN 974-581-088-6

จากการทดลองเตรียมปาเปน และนิวเตรสตรึงรูปสำหรับใช้ในการผลิตสารสกัดจากปลา พบว่าภาวะที่เหมาะสมสำหรับปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปบนทรายแม่น้ำขนาด 35 - 50 เมช โดยวิธีการเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์ ประกอบด้วยสารละลายเอพีที่เอสเข้มข้นร้อยละ 3 โดยปริมาตร และร้อยละ 1 โดยปริมาตร เป็นสารกระตุ้นตัวพยุง สารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 7 และร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวาง ตามลำดับ และสารละลายปาเปน (169,550 ยูนิต/มก.) เข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่พีเอช 8.5 และสารละลายนิวเตรส (172,410 ยูนิต/มล.) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร ที่พีเอช 6.0 ในการย่อยสลายเคซีนด้วยปาเปน และนิวเตรสตรึงรูปเทียบกับเอนไซม์อิสระ พบว่าทุกช่วงพีเอชที่เหมาะสมเปลี่ยนไป 0.5 หน่วยทางกรด และ 0.4 หน่วยทางด่าง ตามลำดับ แต่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยายังคงเดิม ค่า Km ของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปเท่ากับ $1.06X10^{-3}$ มิลลิโมลาร์ และ $4.10X10^{-3}$ มิลลิโมลาร์ ซึ่งต่ำกว่าเมื่อเทียบกับรูปอิสระ 7.29 และ 4.88 เท่า ตามลำดับ ค่าแอคติวิตีจำเพาะของปาเปนและนิวเตรสมีค่าเท่ากับ 452.0 และ 337.9 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งต่ำกว่ารูปอิสระ 1.07 และ 13.6 เท่า ตามลำดับ ปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปมีเสถียรภาพสำหรับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 7.0-8.5 และพบว่ามีเสถียรภาพต่อความร้อนมากกว่าเอนไซม์อิสระที่อุณหภูมิ 70 ^{o} C แต่ที่อุณหภูมิ 50 ^{o} C เอนไซม์ทั้งหมดมีเสถียรภาพต่อความร้อนเท่ากัน ภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเอนไซม์ตรึงรูปคือ เ ก็บปาเปนตรึงรูปในสารละลายอีดีทีเอ 0.002 โมลาร์ และซีสเตอีน 0.08 โมลาร์ ในทรีสบัฟเฟอร์ พีเอช 8.5 ที่อุณหภูมิ 8-10 ^{o} C ส่วนนิวเตรสตรึงรูปเก็บในสารละลายแคลเซียมซัลเฟตเข้มข้น $2X10^{-3}$ โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 8-10 ^{o} C และพบว่าในปฏิกิริยาการย่อยสลายเคซีนด้วยเอนไซม์ตรึงรูปที่เก็บไว้ภายใต้ภาวะการเก็บดังกล่าวเป็นเวลา 65 วัน แอคติวิตีของเอนไซม์ตรึงรูปทั้งสองชนิด จะคงที่ตั้งแต่วันที่ 16 ถึงวันที่ 65 ของการเก็บ นอกจากนี้พบว่าหลังจากการย่อยสลายเคซีนซ้ำ 3 ครั้ง ด้วยเอนไซม์ตรึงรูปเดิม ปาเปนตรึงรูปมีแอคติวิตีคงเหลือร้อยละ 29 ขณะที่นิวเตรสตรึงรูปคงเหลือแอคติวิตีร้อยละ 50 จากการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิไดซ์เบดขนาด 1.7X75 ซม. จำนวน 3 คอลัมน์ต่อเนื่องกัน พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำนึ่งปลา Skipjack ด้วยทั้งปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปคือที่อุณหภูมิ 50 ^{o} C และมีค่า space velocity ที่เหมาะสม 5.5 $(นาที)^{-1}$ เวลา 4 ชม. สำหรับปาเปนตรึงรูป และมีค่า space velocity ที่เหมาะสม 7.9 $(นาที)^{-1}$ เวลา 3 ชม. สำหรับนิวเตรสตรึงรูปตามลำดับ ภายใต้ภาวะการย่อยสลายด้วยปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปดังกล่าว ทำให้ได้ระดับการย่อยสูงสุดร้อยละ 65 และร้อยละ 78 ตามลำดับ สารสกัดจากปลาที่ได้ประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 92.9 โปรตีนร้อยละ 4.59 ไขมันร้อยละ 0.20 เถ้าร้อยละ 1.73 และเกลือร้อยละ 1.37 สัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวไม่ต่างไปจากสารสกัดจากปลาที่แปรรูปในแบบเข้มข้น และแบบแห้ง จากการทดสอบสมบัติด้านการละลายของสารสกัดจากปลาแบบแห้งที่ผลิตโดยเครื่องปฏิกรณ์ที่เตรียมนี้ พบว่ามีระดับการละลายดีกว่ากรณีของน้ำนึ่งปลาแบบแห้งมาก นอกจากนี้ผลการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของยาคิโทริ (บาบิคิวไก่) ที่ใช้สารสกัดจากปลาเข้มข้นเป็นสารเพิ่มรสปลา (fish flavor enhancer) และซุปบะหมี่รสปลาที่ใช้สารสกัดจากปลาแบบแห้งเป็นสารให้รสปลา (fish flavor) พบว่าอยู่ในระดับดีทั้งลักษณะสี กลิ่น รส และการยอมรับรวม

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

ที่พัฒนาบัณฑิตอาสาสมัครเพื่อการพัฒนาชนบทและชุมชนแห่งประเทศไทย

C326574 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : PAPAIN / NEUTRASE/ IMMOBILIZATION/ SAND/ FISH COOKING JUICE

BOOTSRAPA LEELAWAT : CONTINUOUS PRODUCTION OF FISH EXTRACTS USING IMMOBILIZED PROTEASES FLUIDIZED BIOREACTOR. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRANEE ANPRUNG, Ph.D. 227 pp. ISBN 974-581-088-6

The optimum conditions for the preparation of immobilized papain(IP) and Neutrase® (IN) on 35-50 mesh river-bed sand by a covalent bonding method were with 3% and 1% by volume of APTS as carrier activator, 7% and 5% by volume of glutaraldehyde as cross-linker respectively, and 5% by volume of papain solution (169,550 u/g) at pH 8.5 and 3% by volume of Neutrase® solution (172,410 u/ml) at pH 6.0. For the casein hydrolysis using IP and IN, it was found that optimum pH values shifted 0.5 pH units toward the acid side compared to the native enzyme and 0.4 pH units toward the alkaline side, respectively, but the optimum temperatures were the same. Km values of IP and IN was 1.06×10^{-3} mM and 4.10×10^{-3} mM which was 7.29 and 4.88 times lower than that of free papain and free Neutrase®, respectively. The specific activities of the IP and IN were 452.0 and 337.9 unit/mg protein which were 1.07 and 13.6 times smaller than that of free papain and Neutrase®, respectively. The optimum pH range for reaction stability of IP and IN was at pH 7.0-8.5. The IP and IN were more heat stable than soluble enzymes at 70 °C, but the heat stability of all enzymes at 50 °C was the same. The optimum storage conditions of immobilized enzymes were found at 8-10 °C in 0.002 M EDTA, 0.08 M cysteine in tris buffer at pH 8.5 for IP and in 2×10^{-3} M $CaSO_4$ solution for IN. Under the above storage conditions, the activities of both immobilized enzymes for casein hydrolysis was observed for 65 days. It was found that the activities of both enzymes were stable at 16^{th}-65^{th} day. Moreover after using the same immobilized enzymes 3 times in casein hydrolysis, the IP retained activity of 29% while the IN retained activity 50%. The proteolytic hydrolysis of fish cooking juice (FCJ) using the three connected immobilized proteases bioreactors 1.7x75 cm. was studied. For Skipjack cooking juice hydrolysis, both IP and IN have an optimum temperature of 50 °C and the optimum space velocity of 5.5 $(min)^{-1}$, 4 hrs. for the former and 7.9 $(min)^{-1}$, 3 hrs. for the latter. Under such condition, the maximum degree of hydrolysis using IP and IN was found to be 65% DH and 78% DH, respectively. Fish extracts produced under such conditions contained 92.90% moisture, 4.59% protein, 0.20% fat, 1.73% ash and 1.37% NaCl, which was similar ratio to that of fish extracts converted to concentrated and dried forms. Solubility test on dried fish extracts produced using the immobilized enzymes bioreactors showed much better solubility degree than that of the dried FCJ. Furthermore, organoleptic tests on the concentrated fish extracts as fish flavor enhancer in Yaki-Tori (chicken barbecue) and the dried fish extracts as fish flavor in cubed noodle soup mix showed good ratings for colour, odour, taste and total acceptance.

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม –

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนวิทยานิพนธ์มีความรู้สึกซาบซึ้งในพระคุณของรองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา senior project ของข้าพเจ้าตั้งแต่ระดับปริญญาตรี ที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการช่วยส่งเสริมให้ข้าพเจ้าได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท โดยให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหาในทุก ๆ ด้าน และส่งเสริมให้ข้าพเจ้าได้มีส่วนร่วมในงานทางด้านวิชาการในระดับประเทศ เป็นอาจารย์ที่มอบความภาคภูมิใจให้กับข้าพเจ้าในการทำงานวิทยานิพนธ์นี้ จึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ได้ช่วยเหลือข้าพเจ้าในทุก ๆ ทาง จนงานวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ในการอนุญาตให้ข้าพเจ้าขอตัวอย่างน้ำนึ่งปลาและเอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัย และอนุญาตให้ใช้เครื่องมือที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ ได้ในนามของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตุลยธัญ ประธานกรรมการ อาจารย์ ดร. พาสวดี ฤทัยยานนท์ และรองศาสตราจารย์ ดร. อรรถพล นุ่มหอม แห่งสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย กรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ได้ประสิทธ์ประสาทวิชาความรู้พื้นฐานต่าง ๆ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ขอขอบพระคุณบริษัท ยูนิคอร์ด (ประเทศไทย) จำกัด ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างน้ำนึ่งปลาตลอดการวิจัย ขอขอบพระคุณบริษัท อีสต์เอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ Neutrase® ตลอดงานวิจัย ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (STDB) ที่กรุณาให้เงินทุนอุดหนุนการวิจัยและเงินทุนอุดหนุนการศึกษาประจำปีการศึกษา 2533 - 2534 ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือ รวมทั้งทำให้บรรยากาศในการทำปฏิบัติการเป็นไปอย่างราบรื่น ขอขอบพระคุณคุณสนิท ปรีนคร ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ขอขอบพระคุณคุณเพ็ญศิริ ศรีบุรี คุณพิชญ์อร วนาอินทรายุธ เพื่อน พี่ และน้องภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกคนที่ให้กำลังใจแก่ผู้เขียนเสมอมา สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และน้อง ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนในทุกด้าน คอยให้กำลังใจ ให้ความสะดวกและเอาใจใส่ดูแลให้ผู้เขียนบรรลุเป้าหมาย และประสบความสำเร็จในการศึกษาตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฏ

สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่

1. บทนำ 1

2. วารสารปริทัศน์ 5

2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา 5

2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสารสกัดจากปลา 7

2.3 การย่อยสลายโปรตีน 9

2.4 การใช้ประโยชน์จากสารที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน 29

2.5 ระดับการย่อยสลายโปรตีน 33

2.6 โปรติเอสตริงรุป 34

2.7 ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับการตริงรุปโปรติเอส 37

2.8 เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตริงรุป 42

2.9 ฟลูอิไดเซชั่น 45

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย 48

3.1 อุปกรณ์ 48

3.2 วัสดุและสารเคมี 50

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย 59

4. ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตริงรูปปาเปนและนิวเตรสบนทราย ... 78

4.1.1 ศึกษาความเร็วรอบของเครื่องเขย่าและเวลาที่เหมาะสม ในการตริงรูป 78

4.1.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเอพีทีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ ที่เหมาะสมในการตริงรูป 81

4.1.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเกาะเกี่ยวของนิวเตรสบน ทราย 89

4.1.4 ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการตริงรูป 93

4.1.5 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการตริงรูป . 96

4.2 ศึกษาโครงสร้างของปาเปนและนิวเตรสตริงรูปเปรียบเทียบกับ โครงสร้างของทรายสะอาดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน. 100

4.2.1 ศึกษาโครงสร้างของทรายละเอียดที่พร้อมสำหรับการ ตริงรูป 100

4.2.2 ศึกษาโครงสร้างของปาเปนและนิวเตรสตริงรูปบนทราย . 101

4.3 ศึกษาสมบัติเกี่ยวกับจลนพลศาสตร์ของปาเปนและนิวเตรสตริงรูป เทียบกับปาเปนและนิวเตรสอิสระ 104

4.3.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 104

4.3.2 พีเอชที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 107

4.3.3 ผลของความร้อนต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ 110

4.3.4 ผลของพีเอชต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ 113

4.3.5 ค่าคงที่ไมคีลิส 118

4.3.6 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ 121

4.4 ศึกษาประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของปาเปนและนิวเตรสตริงรูป 123

4.5 ศึกษาผลของสารปฏิกิริยาต่อเสถียรภาพของปาเปนและนิวเตรสตริงรูป 125
4.5.1 ศึกษาผลของอีดีทีเอและซีสเตอีนต่อเสถียรภาพของปาเปน ตริงรูป 125
4.5.2 ศึกษาผลของแคลเซียมอิออนต่อเสถียรภาพของนิวเตรส ตริงรูป 126
4.6 ศึกษาเสถียรภาพของปาเปนและนิวเตรสตริงรูปในระหว่างการเก็บ . 127
4.7 ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ปาเปน และนิวเตรสตริงรูปแบบฟลูอิไดซ์เบด 130
4.7.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิและจำนวนรอบต่อระดับการย่อยสลาย โปรตีนในน้ำนึ่งปลา 130
4.7.2 ศึกษาผลของปริมาณปาเปนและนิวเตรสตริงรูปต่อระดับการ ย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลา..... 134
4.8 การเตรียมและศึกษาสมบัติทางเคมีของสารสกัดจากปลาแบบแห้งและ แบบเข้มข้น 141
4.9 การใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากปลาเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร. 147
4.9.1 การใช้สารสกัดจากปลาแบบเข้มข้นในผลิตภัณฑ์บาบีคิวไก่ . 147
4.9.2 การใช้สารสกัดจากปลาผงแห้งในผลิตภัณฑ์เครื่องปรุง บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสซุปปลา 150
5 อภิปรายผลการทดลอง
5.1 ภาวะที่เหมาะสมในการตริงรูปปาเปนและนิวเตรสบนทราย 154
5.1.1 ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าและเวลาที่เหมาะสมในการ ตริงรูป 154
5.1.2 ความเข้มข้นของสารละลายเอนีทีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ที่ เหมาะสมในการตริงรูป 155
5.1.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเกาะเกี่ยวของนิวเตรสบน ทราย 156

5.1.4 พีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการตรึงรูป 157
5.1.5 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการตรึงรูป 158
5.2 โครงสร้างของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปเปรียบเทียบกับโครงสร้างของทรายสะอาดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน 159
5.3 สมบัติเกี่ยวกับจลนพลศาสตร์ของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปเทียบกับปาเปนและนิวเตรสอิสระ 160
5.3.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 161
5.3.2 พีเอชที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 162
5.3.3 ผลของความร้อนต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ 164
5.3.4 ผลของพีเอชต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ 165
5.3.5 ค่าคงที่ไมคีลิส 166
5.3.6 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ 167
5.4 ประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูป .. 168
5.5 ผลของสารปฏิกิริยาต่อเสถียรภาพของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูป .. 169
5.5.1 ผลของอีดีทีเอและซิสเตอีนต่อเสถียรภาพของปาเปนตรึงรูป 169
5.5.2 ผลของแคลเซียมอิออนต่อเสถียรภาพของนิวเตรสตรึงรูป . 170
5.6 เสถียรภาพของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปในระหว่างการเก็บ 170
5.7 การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์เบด 172
5.7.1 ผลของอุณหภูมิและจำนวนรอบต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลา 172
5.7.2 ผลของปริมาณปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลา 175
5.8 การเตรียมและศึกษาสมบัติทางเคมีของสารสกัดจากปลาแบบแห้งและแบบเข้มข้น 178

5.9 การใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากปลาเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร 181
5.9.1 การใช้สารสกัดจากปลาแบบเข้มข้นในผลิตภัณฑ์บาบิคิวไก่ 181
5.9.2 การใช้สารสกัดปลาผงแห้งในผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสซุปปลา 182
6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 184
6.1 สรุปผลการทดลอง 184
6.1.1 ภาวะที่เหมาะสมในการตริงรูปป่าเปนและนิวเตรสบนทราย 184
6.1.2 สมบัติเกี่ยวกับจลนพลศาสตร์ของป่าเปนและนิวเตรสตริงรูปเทียบกับป่าเปนและนิวเตรสอิสระ 185
6.1.3 ประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของป่าเปนและนิวเตรสตริงรูป 185
6.1.4 ผลของสารปฏิกิริยาต่อเสถียรภาพของป่าเปนและนิวเตรสตริงรูป 186
6.1.5 เสถียรภาพของป่าเปนและนิวเตรสตริงรูปในระหว่างการเก็บ 186
6.1.6 การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ป่าเปนและนิวเตรสตริงรูปแบบฟลูอิไดซ์เบด 187
6.1.7 การเตรียมและศึกษาสมบัติทางเคมีของสารสกัดจากปลาแบบแห้งและแบบเข้มข้น 187
6.1.8 การใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากปลาเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร 188
6.2 ข้อสังเกตและข้อเสนอแนะ 188
เอกสารอ้างอิง 192
ภาคผนวก 200
ประวัติผู้เขียน 227

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1.1 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าและส่งออกสิ่งสกัด และน้ำคั้นที่ได้จากเนื้อสัตว์ ปลา หรือสัตว์น้ำ จำพวกครัสตาเชีย (crustaceans) โมลุส (molluscs) หรือจากสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ 2

2.1 องค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนชนิดต่าง ๆ ในอาหาร 6

3.1 อุปกรณ์ 48

4.1 ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของนิวเตรสตริงรูปบนทรายเมื่อใช้ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าและเวลาที่ใช้ในการตริงรูปต่าง ๆ 79

4.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของนิวเตรสตริงรูปบนทรายที่ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าและเวลาที่ใช้ในการตริงรูปต่าง ๆ 80

4.3 ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของปาเปนตริงรูปบนทราย เมื่อใช้สารละลายเอนีทีเอส และกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นต่าง ๆ 82

4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของปาเปนตริงรูปบนทรายที่ความเข้มข้นของสารละลายเอนีทีเอส และกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นต่าง ๆ 84

4.5 ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของนิวเตรสตริงรูปบนทราย เมื่อใช้สารละลายเอนีทีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นต่าง ๆ 86

4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของนิวเตรสตริงรูปบนทรายที่ความเข้มข้นของสารละลายเอนีทีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นต่าง ๆ 88

4.7 เปรียบเทียบแอคติวิตีของนิวเตรสตริงรูปบนทรายที่ภาวะเอนีทีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยพิจารณาการหลุดของเอนไซม์จากตัวพยุงขณะทำปฏิกิริยา . 90

4.8 แอคติวิตีของปาเปนตริงรูปบนทราย เมื่อใช้สารละลายเอนไซม์พีเอชต่าง ๆ ในการตริงรูป 93

4.9 แอคติวิตีของนิวเตรสตริงรูปบนทราย เมื่อใช้สารละลายเอนไซม์พีเอชต่าง ๆ ในการตริงรูป 94

4.10 ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของปาเปนตรึงรูปบนทราย เมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการตรึงรูป 96
4.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของปาเปนตรึงรูปบนทรายที่ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ต่าง ๆ ในการตรึงรูป 97
4.12 ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของนิวเตรสตรึงรูปบนทรายเมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการตรึงรูป 98
4.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของนิวเตรสตรึงรูปบนทรายที่ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ต่าง ๆ ในการตรึงรูป 99
4.14 แอคติวิตีที่อุณหภูมิต่าง ๆ ของปาเปนอิสระและตรึงรูปที่พีเอช 7.1 104
4.15 แอคติวิตีที่อุณหภูมิต่าง ๆ ของนิวเตรสอิสระและตรึงรูปที่พีเอช 7.1 105
4.16 แอคติวิตีที่พีเอชต่าง ๆ ของปาเปนอิสระและตรึงรูปที่อุณหภูมิ 37 ° C 107
4.17 แอคติวิตีที่พีเอชต่าง ๆ ของนิวเตรสอิสระและตรึงรูปที่อุณหภูมิ 37 ° C 108
4.18 แอคติวิตีที่เวลาต่าง ๆ ของปาเปนอิสระและตรึงรูป เมื่อบ่มในบัฟเฟอร์ พีเอช 7.1 ที่อุณหภูมิ 50 ° C และ 70 ° C 110
4.19 แอคติวิตีที่เวลาต่าง ๆ ของนิวเตรสอิสระและตรึงรูป เมื่อบ่มในบัฟเฟอร์พีเอช 7.1 ที่อุณหภูมิ 50 ° C และ 70 ° C 112
4.20 แอคติวิตีที่เวลาต่าง ๆ ของปาเปนตรึงรูปเมื่อบ่มในบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 37 ° C 113
4.21 แอคติวิตีที่เวลาต่าง ๆ ของปาเปนอิสระเมื่อบ่มในบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 37 ° C 114
4.22 แอคติวิตีที่เวลาต่าง ๆ ของนิวเตรสตรึงรูปเมื่อบ่มในบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 37 ° C 115
4.23 แอคติวิตีที่เวลาต่าง ๆ ของนิวเตรสอิสระเมื่อบ่มในบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 37 ° C 116
4.24 การหาค่า Km ของปาเปนอิสระและตรึงรูปที่พีเอช 6.4 และ 5.9 ตามลำดับที่อุณหภูมิ 80 ° C 118

4.25 การหาค่า Km ของนิวเตรสอิสระและตรึงรูปที่พีเอช 6.7 และ 7.1 ตามลำดับที่อุณหภูมิ 50 ° C 119

4.26 ค่า Km ของนิวเตรสและปาเปนอิสระและตรึงรูป 121

4.27 เปรียบเทียบค่าแอคติวิตีจำเพาะของปาเปนและนิวเตรสอิสระและตรึงรูป 122

4.28 แอคติวิตีของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูป เมื่อใช้ทำปฏิกิริยาซ้ำหลาย ๆ ครั้งที่อุณหภูมิ 37 ° C พีเอช 7.1 123

4.29 ผลของอีดีทีเอและซีสเตอีนต่อเสถียรภาพของปาเปนตรึงรูปที่เวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง 125

4.30 ผลของแคลเซียมอิออนต่อเสถียรภาพของนิวเตรสตรึงรูปที่เวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง 126

4.31 แอคติวิตีสัมพัทธ์ของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปที่อุณหภูมิห้อง (28-30 ° C) และอุณหภูมิตู้เย็น (8-10 ° C) 128

4.32 ค่าความดันตกของเบดเมื่อแปรอัตราการไหลขาออกของน้ำนึ่งปลาในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 1.7 x 75 เซนติเมตร จำนวน 1 คอลัมน์ เมื่อใช้เอนไซม์ตรึงรูปจำนวน 15 กรัม ที่อุณหภูมิ 35 ° C และ 50 ° C 131

4.33 ระดับการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาโดยปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปในเครื่องปฏิกรณ์ที่อุณหภูมิ 35 ° C และ 50 ° C 133

4.34 ค่าความดันตกของเบดเมื่อแปรอัตราการไหลขาออกของน้ำนึ่งปลาในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 1.7 x 75 เซนติเมตร จำนวน 3 คอลัมน์ต่อเนื่องกัน เมื่อใช้เอนไซม์ตรึงรูปจำนวน 10, 15 และ 25 กรัม 136

4.35 ระดับการย่อยสลายโปรตีนของสารสกัดจากปลาที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปขนาด 1.7 x 75 เซนติเมตร จำนวน 3 คอลัมน์ต่อเนื่องกัน ที่เวลาต่าง ๆ 138

4.36 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปลาเริ่มต้น สารสกัดจากปลาเข้มข้นและสารสกัดจากปลาผงแห้ง 141

4.37 ดรรชนีการละลายของไนโตรเจน (% NSI) ของน้ำนึ่งปลา และสารสกัดจากปลาผงแห้งที่ได้จากวิธีพ่นฝอย และวิธีแช่เยือกแข็ง 145
4.38 เปรียบเทียบกรดอะมิโนอิสระในน้ำนึ่งปลาเริ่มต้นกับสารสกัดจากปลาที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรสตริงรูป 146
4.39 คะแนนเฉลี่ยการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสปลาย่างของสารสกัดจากปลาเข้มข้นเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์บาบิคิวไก่ 149
4.40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนเฉลี่ยการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสปลาย่างในผลิตภัณฑ์บาบิคิวไก่ซึ่งใช้สารสกัดจากปลาเข้มข้นเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส 150
4.41 คะแนนเฉลี่ยการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส ความใส กลิ่นรสแปลกปลอม และการยอมรับรวมของสารสกัดจากปลาผงแห้ง เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสปลาในเครื่องปรุงอัดก้อนบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป 152
6.1 สรุปภาวะที่เหมาะสมในการตริงรูปปาเปนและนิวเตรสบนทราย 184
6.2 สรุปสมบัติทางด้านจลนพลศาสตร์ของปาเปนและนิวเตรสตริงรูปเทียบกับอิสระ ... 185

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

4.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเกาะเกี่ยวของนิวเตรสตริงรูปบนทราย 92

4.2 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีสัมพัทธ์ของปาเปนตริงรูป และนิวเตรสตริงรูป กับพีเอชของสารละลายเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการตริงรูป 95

4.3 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีสัมพัทธ์ของปาเปน และนิวเตรสตริงรูป กับความเข้มข้นของสารละลายปาเปนและนิวเตรสที่ใช้ในการตริงรูป 99

4.4 โครงสร้างของทรายสะอาดจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 350 เท่า 100

4.5 โครงสร้างของทรายสะอาดจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 5,000 เท่า 101

4.6 โครงสร้างของนิวเตรสตริงรูปบนทรายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 5,000 เท่า 102

4.7 โครงสร้างของปาเปนตริงรูปบนทรายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 5,000 เท่า 102

4.8 โครงสร้างของนิวเตรสตริงรูปบนทรายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 5,000 เท่า 103

4.9 โครงสร้างของนิวเตรสตริงรูปบนทรายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกนที่กำลังขยาย 5,000 เท่า 103

4.10 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของปาเปนและนิวเตรสอิสระและตริงรูปที่พีเอช 7.1 106

4.11 พีเอชที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของปาเปนและนิวเตรสอิสระและตริงรูปที่อุณหภูมิ 37 ° C 109

4.12 ผลของความร้อนต่อเสถียรภาพของปาเปน และนิวเตรสอิสระและตริงรูปที่อุณหภูมิ 50 ° C และ 70 ° C 111

4.13 ผลของพีเอชต่อเสถียรภาพของปาเปน และนิวเตรสอิสระและตรึงรูปที่อุณหภูมิ 37 ° C 117
4.14 เปรียบเทียบกราฟแบบ Lineweaver Burk Plot ของปาเปนและนิวเตรสอิสระและตรึงรูป 120
4.15 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูป 124
4.16 แอคติวิตีสัมพัทธ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ ของปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น 129
4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันตก และอัตราการไหลเมื่อใช้เอนไซม์ตรึงรูปจำนวน 15 กรัม ในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 1.7 x 75 เซนติเมตร จำนวน 1 คอลัมน์ ที่อุณหภูมิ 35 ° C และ 50 ° C 132
4.18 เปรียบเทียบระดับการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาจากการรวนซ้ำรอบต่าง ๆ ในเครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรสตรึงรูปที่อุณหภูมิ 35 ° C และ 50 ° C 134
4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันตกและอัตราการไหล เมื่อใช้เอนไซม์ตรึงรูปจำนวน 10, 15 และ 25 กรัม ในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 1.7 x 75 เซนติเมตร จำนวน 3 คอลัมน์ต่อเนื่องกันที่อุณหภูมิ 50 ° C 137
4.20 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลา และระยะเวลาในการย่อยสลาย ในเครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรส ตรึงรูปขนาด 1.7 x 75 เซนติเมตร จำนวน 3 คอลัมน์ต่อเนื่องกัน ที่ SV ต่าง ๆ อุณหภูมิ 50 ° C 139
4.21 เปรียบเทียบน้ำนึ่งปลาเริ่มต้นและสารสกัดจากปลาที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรสตรึงรูป 140
4.22 สารสกัดจากปลาเข้มข้นซึ่งผ่านการระเหยน้ำภายใต้ความดัน 142
4.23 สารสกัดจากปลาผงแห้งที่ได้จากการทำแห้งด้วยวิธีพ่นฝอย 143
4.24 สารสกัดจากปลาผงแห้งที่ได้จากการทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง 144
4.25 เปรียบเทียบกรดอะมิโนอิสระในน้ำนึ่งปลาเริ่มต้นกับสารสกัดจากปลาที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์ปาเปนและนิวเตรสตรึงรูป 147
4.26 ผลิตภัณฑ์บาบิคิวไก่ (ยาคิโทริ) 148

4.27 เครื่องปรุงอัดก้อนรสซุปปลา 151
4.28 น้ำซุปที่ได้จากเครื่องปรุงอัดก้อนรสซุปปลา 151
4.29 บะหมี่น้ำรสซุปปลา 152