บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

น้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งสองตัวอย่างที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท ในงานวิจัยนี้เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลาทูน่าบรรจุกระป๋องจากบริษัท แรงค์แคนนิ่ง จำกัด ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 4.1) พบว่า น้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack มีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน 6.54, 0.47 และ 0.41 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ส่วนพันธุ์รวมมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน 8.32, 0.37 และ 0.57 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ของน้ำนึ่งปลาทูน่าในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท เนื่องจากโปรตีนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับการย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์ ซึ่งมีสมบัติเป็นสารให้กลิ่นรส และเป็น precursor ในการเกิดปฏิกิริยาร่วมกับคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ได้สารให้กลิ่นหอมหลายชนิด ส่วนไขมันจะเป็นตัวขัดขวางการย่อยสลายโปรตีน เนื่องจากไขมันสามารถสร้างพันธะกับโปรตีนทำให้โปรตีนมีโครงสร้างใหญ่ขึ้น จึงเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลาย (Roach และ Gehrke, 1970) และในขั้นตอนการปรับ pH เป็นกลางไขมันจะทำให้เกิด saponification ได้เกลือโซเดียมของกรดไขมันทำให้ต้องใช้ sodium hydroxide ปริมาณมากในการปรับ pH (วิเชียร, 2534) แต่วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองมีไขมันต่ำ จึงไม่ก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวมากนัก ดังนั้นน้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งสองชนิดเป็นวัตุดิบที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท นอกจากนี้ปลาทูน่าต่างชนิดกันจะมีกลิ่นแตกต่างกัน จึงส่งผลให้น้ำนึ่งปลาทูน่าชนิดต่างๆ มีกลิ่นไม่เหมือนกัน สารปรุงแต่งกลิ่นรสปลาทูน่าทางการค้าผลิตจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack เท่านั้น (เกรียงไกร, 2533) แต่งานวิจัยนี้นำน้ำนึ่งปลาทูน่าจากพันธุ์ต่างๆ มารวมกันด้วยเพื่อศึกษาเปรียบเทียบและเพิ่มศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์

5.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์

เอนไซม์ทางการค้าที่นิยมใช้ในการย่อยสลายโปรตีนได้แก่ Alcalase® และ Neutrase® ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ Alcalase® คือ pH 7.5-9.5 อุณหภูมิ 55-65 °C (Novo, 1984) ส่วนภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ Neutrase® คือ pH 5.5-7.5 อุณหภูมิ 45-55 °C (Novo, 1987) ก่อนการศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ได้ศึกษาเบื้องต้น (preliminary study) เพื่อเลือกชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมโดยย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าแต่ละพันธุ์ที่ pH 7.5 ด้วยสารละลายเอนไซม์ Alcalase® (0.6 unit/g) และสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ปริมาณ 0.5 % โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 30 นาที การที่ใช้เวลาในการย่อยสลายในขั้นตอนนี้เป็น 30 นาที เนื่องจาก Novo (1987) รายงานว่า หลังจากเวลาผ่านไป 30 นาที ที่อุณหภูมินี้ activity ของเอนไซม์ Neutrase® จะลดลงประมาณ 40 % โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวม ที่ย่อยสลายด้วยสารละลายเอนไซม์ Alcalase® (0.6 unit/g) มีค่า DH 87 และ 89 % ตามลำดับ ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวมที่ย่อยสลายด้วยสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) มีค่า DH 74 และ 75 % ตามลำดับ และจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น พบว่า ผลิตภัณฑ์จากน้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งสองพันธุ์จากการย่อยสลายด้วยสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) มีกลิ่นดีกว่า แม้เอนไซม์ Alcalase® และ Neutrase® เป็น endopeptidase เช่นเดียวกัน แต่ผลิตได้จากแบคทีเรียต่างชนิดกันคือ Alcalase® ได้จาก *Bacillus licheniformis* ส่วน Neutrase® ได้จาก *Bacillus subtilis* เอนไซม์จาก 2 แหล่งนี้มี specific activity ในการย่อยสลายโปรตีนแตกต่างกันไป (Novo, 1984; Novo, 1987 ; Quaglia และ Orban, 1987) และอาจเป็นไปได้ว่า Alcalase® อาจมี specificity ในการย่อยสลายกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดี เช่น tryptophan, tyrosine, phenylalanine, valine, leucine และ isoleucine ได้มากกว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จึงมีกลิ่นไม่ดี จึงเลือกเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) สำหรับใช้ในงานวิจัยนี้

5.2.1 ปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ ได้แก่ ปริมาณสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) แปรเป็น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 % โดยปริมาตร และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายแปรเป็น 45, 50, 55 และ 60 °C

ผลจากการวัดค่า DH และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.2-4.3) แสดงว่า ปริมาณเอนไซม์ อุณหภูมิที่ใช้ขณะย่อยสลาย รวมทั้งอิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยมีผลต่อค่า DH ของผลิตภัณฑ์ที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า DH กับปริมาณเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ (รูปที่ 4.1-4.2) จะเห็นว่า เมื่อปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นผลิตภัณฑ์มีค่า DH เพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น โอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนย่อมมีมากขึ้น จึงเกิดการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นเป็นผลให้ค่า DH เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นจนกระทั่งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ ค่า DH จะคงที่ (Whitaker, 1972) แม้เพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นอีก ก็ไม่ทำให้ค่า DH เพิ่มขึ้น และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 45-55 °C ค่า DH จะเพิ่มขึ้นจนถึงที่อุณหภูมิ 60 °C ค่า DH ลดลง แสดงว่าอุณหภูมิ 60 °C ไม่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับรายงานของ Brich และคณะ (1981) ที่ย่อยสลายเลือด pH 7.5 ด้วยเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ปริมาณ 2.7 % โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 30-60 °C พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 °C activity ของเอนไซม์ในการย่อยสลายเลือดจะเพิ่มขึ้นและสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 °C หลังจากนั้น activity ของเอนไซม์จะลดลง และที่อุณหภูมิ 60 °C เอนไซม์มี activity เพียง 70 % ของที่อุณหภูมิ 55 °C เท่านั้น จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test จะเห็นว่า การใช้สารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) 1.0 % โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack ที่ 55 °C 30 นาที ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่า DH สูงสุด 77.04 % ส่วนการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมด้วยเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ใช้ปริมาณเอนไซม์ 1.5 % โดยปริมาตร ที่ภาวะเดียวกัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้ค่า DH สูงสุด 79.34 % ความแตกต่างของค่า DH และปริมาณเอนไซม์ที่ใช้อาจเนื่องจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมมีโปรตีนสูงกว่าน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack 1.73 % โดยน้ำหนัก จึงต้องใช้ปริมาณเอนไซม์ในการย่อยสลายสูงกว่า จากผลการทดลองเลือกภาวะที่ให้ค่า DH สูงสุด ซึ่งเป็น

ภาวะที่เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพดีที่สุด ได้แก่ สารละลายเอนไซม์ Neutrase ® (0.5 unit/g) 1.0 และ 1.5 % โดยปริมาตร สำหรับน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และ พันธุ์รวม ตามลำดับ และอุณหภูมิขณะย่อยสลาย 55 °C

5.2.2 ค่า pH และเวลาในการย่อยสลาย

ศึกษาผลของ pH ต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์และกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ โดยแปร pH เป็น 5.5, 6.5 และ 7.5 แปรเวลาในการย่อยสลายเป็น 10 และ 20 นาที เนื่องจากการทดลองเบื้องต้นพบว่า แม้การย่อยสลายถึง 30 นาที จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า DH สูงสุด แต่ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสดีที่สุดจะมีค่า DH อยู่ในช่วง 25 ถึง 35 % (Leiske และ Konrad, 1988) จึงเลือกศึกษาเวลาในการย่อยสลายในช่วง 10-20 นาที

ผลจากการวัดค่า DH และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.4-4.5) แสดงว่า pH และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายมีผลต่อค่า DH อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ขณะที่อิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัยไม่มีผลต่อค่าดังกล่าว ($p \geq 0.05$) น้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งสองพันธุ์ที่ pH 7.5 ให้ค่า DH สูงกว่าตัวอย่างที่มีค่า pH 5.5 และ 6.5 การที่ pH มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ เพราะเอนไซม์เป็นสารประกอบที่มีสมบัติโปรตีน pH ที่สูงหรือต่ำเกินไปทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ถูกทำลายและสูญเสีย activity ได้ (Eskin และ Henderson, 1971; ปราณี, 2533) นอกจากนั้น pH ยังมีผลต่อ optimum activity ของเอนไซม์แต่ละชนิดด้วย เช่น rennin มี optimum activity ที่ pH ประมาณ 5 และ pepsin ที่ pH 1.8 ถ้า pH สูงหรือต่ำกว่าค่าดังกล่าว activities ของเอนไซม์จะลดลง (Eskin และ Henderson, 1971) เอนไซม์จึงย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบชนิดเดียวกันที่มี pH ต่างกันได้ไม่เท่ากัน ผลของเวลาในการย่อยสลายแสดงว่า ค่า DH ของผลิตภัณฑ์เพิ่มเมื่อเวลาเพิ่ม ทั้งนี้เพราะ เวลาที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของโปรตีนได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นปริมาณโปรตีนที่ย่อยสลายได้ และค่า DH จึงเพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่าการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวม ที่ pH 7.5 เป็นเวลา 20 นาที ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า DH 59.01 และ 63.15 % ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น (ตารางที่ 4.8-4.9) จะเห็นว่า เมื่อย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวม ที่ pH 6.5 เป็นเวลา 10 นาที ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคะแนนกลิ่นสูงสุดคือ 7.57 และ 7.58 คะแนน ตามลำดับ คะแนนในช่วงดังกล่าวนี้ หมายถึง มีกลิ่นหอมของปลาทูน่าปานกลาง ที่ภาวะดังกล่าวผลิตภัณฑ์มีค่า DH เพียง 48.93 และ 53.49 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่า DH ที่ต่ำที่สุดของการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่า skipjack และพันธุ์รวม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ผลดังกล่าวนี้อาจใช้เหตุผลของ Schrodter และ Wolm (1980) ซึ่งได้อธิบายไว้ว่า เมื่อการย่อยสลายโปรตีนเกิดมากขึ้นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีได้แก่ tryptophan, tyrosine, phenylalanine, valine, leucine และ isoleucine ถูกย่อยสลายออกมามากขึ้นด้วยทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสไม่ดี แต่เมื่อพิจารณาผลจากการทดลองของ Leiske และ Konrad (1988) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเนื้อไก่โดยใช้เอนไซม์ serine protease และได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีกลิ่นรสที่ดีจาก hydrolysate ที่มีค่า DH 25-35 % ซึ่งต่ำกว่าค่า DH ของผลิตภัณฑ์ที่มีคะแนนกลิ่นสูงสุดจากการทดลองนี้ จึงน่าจะมีการศึกษาต่อไปเพื่อหาค่า DH ของผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นดีที่สุด อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้คะแนนการทดสอบสูงสุดของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวมที่ได้คือ 7.57 และ 7.58 คะแนนตามลำดับ ซึ่งหมายถึง มีกลิ่นหอมของปลาทูน่าปานกลาง จัดเป็นคะแนนที่อยู่ในระดับที่น่าพอใจแล้ว และยังอาจปรับปรุงให้ดียิ่งขึ้นไปอีกได้ในขั้นตอนการปรับปรุงกลิ่น ในขั้นนี้จึงได้เลือกภาวะเหมาะสมในการใช้เอนไซม์ย่อยสลายเป็น pH 6.5 และย่อยสลาย 10 นาที

5.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยกรดเกลือ

5.3.1 ปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย

ขั้นตอนนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเกลือ ได้แก่ ปริมาณกรดเกลือเข้มข้น 6 M. แปรเป็น 5, 10, 15, 20 และ 25 % โดยปริมาตร และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายแปรเป็น 50 และ 60 °C เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 70 °C ค่า DH เพิ่มขึ้นน้อยกว่า 5 % จึงไม่จำเป็นต้องแปรอุณหภูมิให้สูงถึง 70 °C

ผลจากการวัดค่า DH และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.10-4.11) แสดงว่า ปริมาณกรดเกลือ อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัย มีผลต่อค่า DH ของผลิตภัณฑ์ที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า DH กับปริมาณกรดเกลือที่อุณหภูมิต่างๆ (รูปที่ 4.3-4.4) จะเห็นว่า เมื่อเพิ่มปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิ มีผลให้ค่า DH เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนเป็นปฏิริยาเคมีประเภท endothermic reaction (Ketelaar, 1958) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณกรดเกลือและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายมีผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นเกิดการย่อยสลายโปรตีนมากขึ้นเป็นผลให้ค่า DH เพิ่มขึ้น (Sair, 1968) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณกรดเกลือจนถึงปริมาณหนึ่งค่า DH จะคงที่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hall (1949) ที่ทดลองย่อยสลายโปรตีนจาก wheat gluten โดยใช้กรดเกลือเข้มข้นปริมาณ 0.10-2.0 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความดัน 200 psi เป็นเวลา 30 นาที พบว่า เมื่อใช้กรดเกลือเพิ่มขึ้นจาก 0.10-1.0 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้ย่อยสลายโปรตีนได้มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มกรดเกลือเป็น 1.1 - 2.0 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อัตราการย่อยสลายคงที่เท่ากับการใช้กรดเกลือ 1.0 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผู้ทดลองอธิบายว่าการเพิ่มกรดเกลือปริมาณที่มากเกินพอทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูกทำลาย การย่อยสลายโปรตีนจึงเกิดได้ยากขึ้น

ในงานทดลองนี้จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่า การใช้กรดเกลือเข้มข้น 6 M. ปริมาณ 15 % โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวม ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่า DH สูงสุด คือ 40.29 และ 43.40 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ จะเห็นว่า เอนไซม์มีประสิทธภาพในการย่อยสลายสูงกว่าคือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่า DH สูงถึง 77.04 และ 79.34 % ตามลำดับ Smith และคณะ (1983) อธิบายว่า กรดเกลือทำลาย noncovalent structure ของโปรตีนทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนแปลงจาก native structure ความสามารถในการละลายของโปรตีนจึงลดลง จนเกิดการตกตะกอนบางส่วน การย่อยสลายโปรตีนจึงเกิดได้ยากขึ้น ซึ่งปรากฏการณ์นี้ไม่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ จากการทดลองเลือกภาวะที่ให้ค่า DH สูงสุดเป็นภาวะที่การทำงานของกรดมีประสิทธิภาพดีที่สุด คือใช้กรดเกลือเข้มข้น 6 M. ปริมาณ 15 % โดยปริมาตร ย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าแต่ละพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 60 °C

5.3.2 เวลาในการย่อยสลาย

ศึกษาผลของเวลาต่ออัตราการย่อยสลายโปรตีน และคุณภาพด้านกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ โดยแปรเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเป็น 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง เพื่อสามารถเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นดีที่สุดได้

ผลจากการวัดค่า DH และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.12-4.13) แสดงว่า เมื่อเวลาในการย่อยสลายเพิ่มค่า DH จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนเป็นปฏิกิริยาเคมี ดังนั้นการเพิ่มเวลามีผลทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้น (Gortner และ Holm,1971) ซึ่งส่งผลให้ค่า DH เพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของเพ็ญศิริ (2534) ที่ใช้กรดเกลือเข้มข้น 4 M. ปริมาณ 5 % โดยน้ำหนัก ย่อยสลายเลือด ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่า เวลาในการย่อยสลาย 6 ชั่วโมง ให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีค่า DH สูงสุด

เมื่อพิจารณาคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น (ตารางที่ 4.14-4.15) จะเห็นว่า การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวมเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคะแนนกลิ่นสูงสุด ($p \leq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่า DH 32.50 และ 38.53 % ตามลำดับ Hill (1965) รายงานว่า ในการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเกลือ กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดี ซึ่งเป็นพวก hydrophilic amino acids ย่อยสลายออกมาได้ก่อน เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีหรือ hydrophobic amino acids จึงถูกย่อยสลายตามออกมา เนื่องจากมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า และมี side chains ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ จึงอาจเป็นไปได้ว่า ในงานทดลองนี้เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลายต่ำกว่า 3 ชั่วโมง กรดอะมิโนอิสระที่ให้กลิ่นรสดีอาจมีเกิดขึ้นในปริมาณต่ำเกินไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีกลิ่นไม่ดีพอ ต่อมาเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยสลายเป็น 3 ชั่วโมง มีกรดอะมิโนอิสระที่ให้กลิ่นรสดีปริมาณมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีคะแนนกลิ่นสูงขึ้น แต่เมื่อเวลาเพิ่มมากกว่า 3 ชั่วโมง กรดอะมิโนอิสระที่ให้กลิ่นรสไม่ดีอาจเริ่มมีการย่อยสลายออกมาโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จึงมีกลิ่นด้อยลง เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทในขั้นตอนนี้ต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นดีที่สุด การเลือกภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าแต่ละพันธุ์จึงพิจารณาภาวะที่ให้กลิ่นดีที่สุด จึงเลือกเวลา 3 ชั่วโมง เป็นภาวะเหมาะสมสำหรับการทดลองนี้

5.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการปรับปรุงกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซท

5.4.1 โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่า อาจมีกลิ่นรสแปลกปลอมจากกรดอะมิโนอิสระบางตัว ดังกล่าวมาแล้วในข้อ 5.2.2 นอกจากนั้นในผลิตภัณฑ์ยังอาจมีสาร dimethylamine, trimethylamine ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นคาวซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนและไขมันในเนื้อปลา โดยเอนไซม์จากตัวปลาเองและจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ก่อนการนึ่ง (นงลักษณ์, 2531) การกำจัดกลิ่นจากสารเหล่านี้ทำได้โดยการดูดซับด้วย activated carbon (Hassler,1963,1974; Micheal และ คณะ, 1981) ขั้นตอนนี้จึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปรับปรุงกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซท ได้แก่ ปริมาณ activated carbon และเวลาในการดูดซับ

ภาวะที่ศึกษาในการทดลองนี้ได้จากการทดลองเบื้องต้น ซึ่งได้ลองปรับปรุงกลิ่นผลิตภัณฑ์โดยใช้ activated carbon powder ปริมาณ 0.01 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ตัวอย่างที่ได้มีคะแนนกลิ่นสูงกว่าพวกที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงกลิ่น และที่อุณหภูมิ 50 °C ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคะแนนกลิ่นสูงสุด จึงเลือกอุณหภูมิดังกล่าวต่อมาทดลองแปรปริมาณ activated carbon powder ที่ใช้เป็น 0.01, 0.02 และ 0.03 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 °C 30 นาที พบว่า ตัวอย่างที่ใช้ activated carbon powder 0.03 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีกลิ่นด้อยกว่าตัวอย่างที่ใช้ activated carbon powder 0.01 และ 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้ activated carbon powder ปริมาณมากเกินไป นอกจากจะดูดซับกรดอะมิโนและสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรสไม่ดีแล้วยังดูดซับกรดอะมิโนและสารประกอบอื่นๆ ซึ่งมีส่วนสำคัญในการให้กลิ่นรสที่ดีออกไปด้วย (Hassler,1963,1974; Suffet และ McGuire, 1980) จึงเลือกปริมาณ activated carbon powder 0.01 และ 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สำหรับการทดลองต่อไป ต่อมาทดลองแปรเวลาในการปรับปรุงกลิ่นเป็น 10, 20 และ 30 นาที พบว่าตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที มีคะแนนกลิ่นสูงสุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากเวลา 10 และ 20 นาที ไม่เพียงพอต่อการดูดซับกรดอะมิโน และสารประกอบที่ให้กลิ่นรสไม่ดี จึงเลือกแปรเวลาในการทดลองต่อไปเป็น 30 และ 60 นาที

จากผลการทดลองเบื้องต้นที่กล่าวมาแล้ว ได้นำมาออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการปรับปรุงกลิ่นโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้โดยแปร ปริมาณ activated carbon powder เป็น 0.01 และ 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแปรเวลาในการดูดซับเป็น 30 และ 60 นาที

จากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.16-4.17) จะเห็นว่า ชนิดของโปรตีนไฮโดรไลเซท เวลา และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของโปรตีนไฮโดรไลเซทกับปริมาณ activated carbon powder มีผลต่อคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ชนิดของโปรตีนไฮโดรไลเซทต่างกันใช้ activated carbon powder ในการดูดซับกลิ่นที่ไม่ต้องการในปริมาณต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซทต่างชนิดกันมีสารประกอบเอมีนและกรดอะมิโนอิสระที่ให้กลิ่นรสไม่ดีในปริมาณไม่เท่ากัน จึงต้องใช้ activated carbon powder ปริมาณต่างกัน การเพิ่มเวลาในการทำปฏิกิริยาจาก 30 นาที เป็น 60 นาที ทำให้กลิ่นหอมของโปรตีนไฮโดรไลเซทด้อยลง Hassler (1974) รายงานว่า โดยทั่วไป activated carbon powder ดูดซับกรดอะมิโนประเภท hydrophobics ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีได้มากกว่ากรดอะมิโนประเภท hydrophilics แต่เมื่อใช้เวลาในการทำปฏิกิริยามากขึ้น เมื่อ activated carbon ดูดซับกรดอะมิโนประเภท hydrophobics หมดแล้ว ยังมีพื้นที่ผิวเหลือพอที่จะดูดซับกรดอะมิโนประเภท hydrophilics และสารประกอบอื่นๆ ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดีในโปรตีนไฮโดรไลเซทไปด้วยกลิ่นจืดด้อยลง ผลจากการเปรียบเทียบคะแนนกลิ่นพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมที่ผ่านการปรับปรุงกลิ่นรสด้วย activated carbon powder ปริมาณ 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที มีคะแนนกลิ่นสูงสุด จึงเลือกผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการปรับปรุงกลิ่นดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทดลองนี้

5.4.2 โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปรับปรุงกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack และพันธุ์รวมที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ได้แก่ ปริมาณ activated carbon powder ที่ใช้แปรเป็น 0.01 และ 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเวลาในการดูดซับแปรเป็น 30 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 50 °C

จากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.20-4.21) แสดงว่า ชนิดของโปรตีนไฮโดรไลเซทมีผลต่อคะแนนกลิ่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมมีคะแนนกลิ่นสูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวม มีกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีมากกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ U.S. Department of Health, Education and Welfare (1972) ที่กล่าวว่า ปลาทูน่าพันธุ์รวม (skipjack, tonggol, yellow fin, bonito และ albacore) มีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีถึง 14,760 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน ขณะที่กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีมีโดยเฉลี่ยเพียง 2,050 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนเท่านั้น ส่วนปลาทูน่าพันธุ์ skipjack มีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดี 14,201 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน และพวกที่ให้กลิ่นรสไม่ดี 2,146 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน จากรายงานดังกล่าวจะเห็นว่า ปลาทูน่าพันธุ์รวมมีปริมาณกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีมากกว่าปลาทูน่าพันธุ์ skipjack ถึง 559 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน และมีกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีอยู่น้อยกว่าเป็นจำนวน 96 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน ความแตกต่างที่กล่าวมานี้อาจส่งผลให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมมีกลิ่นดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์ skipjack ก็ได้

การเพิ่มปริมาณ activated carbon powder จาก 0.01 เป็น 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ไม่ทำให้คะแนนกลิ่นของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) Hill (1965) รายงานว่า ในการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเกลือ กรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดีซึ่งเป็นพวก hydrophilic amino acids ถูกย่อยสลายออกมาง่ายกว่ากรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีหรือ hydrophobic amino acids เนื่องจากมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าและมี side chains ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลายด้วยกรดเกลือ ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้น่าจะมีกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดีปริมาณต่ำ และจากรายงานของ Hassler (1974) ที่กล่าวว่า activated carbon ดูดซับ hydrophobic amino acids ได้ดีกว่า hydrophilic amino acids ดังนั้นการใช้ activated carbon powder ปริมาณ 0.01 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อาจเพียงพอที่จะดูดซับกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสไม่ดี ซึ่งเป็นพวก hydrophobic amino acids ได้หมด การเพิ่มปริมาณ activated carbon powder เป็น 0.02 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แม้จะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซับกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสดี ซึ่งเป็นพวก hydrophilic amino acids ได้ แต่เนื่องจาก

การดูดซับ hydrophilic amino acids ไว้ที่ผิวของ activated carbonอาจต้องใช้เวลานาน (Garten และ Weiss, 1957) จากการทดลองนี้ใช้เวลาเพียง 30 เละ 60 นาที น่าจะเพียงพอที่จะดูดซับ hydrophobic amino acids แต่อาจไม่เพียงพอที่จะดูดซับ hydrophilic amino acids ดังนั้นการเพิ่มปริมาณ และเวลาในงานวิจัยนี้ จึงไม่มีผลต่อการปรับปรุงกลิ่น

5.5 <u>การทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้น</u>

การทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้นเป็นการทำให้ปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์ต่ำลง ความเข้มข้นของสารให้กลิ่นรสสูงขึ้น ทำให้สะดวกแก่การขนส่ง จำหน่าย และนำไปใช้ การให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์เข้มข้นยังทำให้ทำให้เกิดสารระเหยที่ให้กลิ่นหอมของปลาหลายชนิด ได้แก่ สารประกอบประเภท thiols เช่น thiazoles ซึ่งมีจุดเดือด 93-246 °C จาก Maillard reaction โดยมีกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือโปรตีน กับ reducing sugar ที่มีอยู่ในปลา ได้แก่ ribose, glucose และ glucose-6-phosphate เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยา นอกจากสารประกอบ thiols แล้ว ยังมีสารประกอบเอมีน เช่น pyrazine, pyridine ซึ่งมีจุดเดือด 155-180 °C จาก Strecker degradation โดยมี dicarbonyl compounds ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับ α-amino groups ของกรดอะมิโนเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยา (Eskin และ Henderson,1971; Dean, 1979; DeMan,1980; Zapsalis and Beck, 1985; Wong, 1989) การให้ความร้อนที่ความดันบรรยากาศอาจเกิดการสูญเสียสารระเหยได้ จึงเลือกการทำผลิตภัณฑ์ให้เข้มข้นโดยให้ความร้อนภายใต้ภาวะสุญญากาศด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ปัจจัยอื่นนอกจากอุณหภูมิที่มีผลต่อ Maillard reaction และ Strecker degradation ได้แก่ ความชื้นของผลิตภัณฑ์และเวลาขณะให้ความร้อน (Eskin และ Henderson, 1971; DeMan, 1980; Wong, 1989) โดยปฏิกิริยาทั้งสองเกิดได้ดีเมื่อผลิตภัณฑ์มีความชื้นประมาณ 30 % (DeMan,1980) และเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความเข้มข้นเท่ากับSkipjack Extract ® จึงทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้นเป็น 65 °Brix ส่วนอุณหภูมิและเวลาในการทำให้เข้มข้นจะมีความสัมพันธ์กันจากผลการทดลองเบื้องต้นดังนี้คือ ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 65 °Brix ถ้าใช้โปรตีนไฮโดรไลเซท 250 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 °C ความดัน 26 นิ้วปรอท ความเร็ว 240 รอบต่อนาที ต้องใช้เวลาประมาณ 90, 60 และ 30 นาที ตามลำดับ ส่วนการทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิ 70 °C ตามภาวะดังกล่าวมาแล้วนั้นไม่สามารถทำได้ เนื่องจากที่อุณหภูมินี้จะ

เกิดฟองไอสารละลายซึ่งก่อตัวแล้วลอยสู่ผิวหน้าและสะสมอยู่มากจนไหลล้นออกจากเครื่องระเหย และในขณะที่การทำให้เข้มข้นที่อุณหภูมิ 40 °C ใช้เวลามากกว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 60 °C ถึง 2 และ 3 เท่าตามลำดับ จึงเลือกแปรอุณหภูมิเป็น 50 และ 60 °C

ผลการทดลองจากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น และการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดังกล่าว (ตารางที่ 4.23-4.24) แสดงว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้เข้มข้นไม่มีผลต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์ ($p \geq 0.05$) โดยทั่วไปนั้นการระเหยน้ำออกจากสารละลายที่มีสารระเหยได้ภายใต้ภาวะสุญญากาศเพื่อทำให้เข้มข้น นอกจากน้ำจะระเหยไปแล้ว สารระเหยได้ที่ให้กลิ่นบางชนิดยังสูญเสียไปด้วย การเพิ่มอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการระเหยทำให้สูญเสียสารระเหยได้เพิ่มขึ้น (Fellows, 1990) ดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 °C เป็น 60 °C อาจทำให้มีการสูญเสียสารระเหยได้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสารระเหยได้ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่ามีจุดเดือดสูงดังกล่าวมาแล้วในตอนต้น (Dean, 1979) และส่วนใหญ่สูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดคือ 60 °C ที่ใช้ในการระเหยเพื่อทำให้เข้มข้น จึงน่าจะมีการสูญเสียเพียงเล็กน้อยเท่านั้นส่งผลให้กลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่ต่างกัน แม้อุณหภูมิระเหยจะต่างกัน และผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับ Skipjack Extract ® ก็แสดงว่ากลิ่นไม่ต่างกัน (ตารางที่ 4.23-4.24) จึงเลือกอุณหภูมิ 60 °C ในการทำผลิตภัณฑ์ให้เข้มข้นเพื่อประหยัดเวลา

5.6 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นเปรียบเทียบกับ Skipjack Extract ®

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (เอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้น) และกรดเกลือ (แอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้น) เปรียบเทียบกับ Skipjack Extract ® (ตารางที่ 4.25) พบว่า เอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้น แอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้น และ Skipjack Extract ® มีโปรตีน 53.50, 51.95 และ 54.21 % ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนและสารระเหยได้ที่ให้กลิ่น (Grace, 1974; May, 1974) น่าจะมีปริมาณใกล้เคียงกันด้วย ส่วนเกลือแกงซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ทำให้เกิดรสชาติ (Zapsalis และ Beck, 1985) นั้นจะเห็นว่า

แอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีปริมาณเกลือแกงสูงกว่าเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้น และ Skipjack Extract ® 7.06 และ 5.91 % ตามลำดับ เนื่องจากในการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดเกลือต้องหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide จึงมีเกลือเกิดขึ้นในปริมาณสูง ปริมาณเถ้า ซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากที่เผาสารประกอบอินทรีย์สลายไปหมดแล้วจึงสูงตามไปด้วย (ลักขณา และนิธิยา, 2533) ส่วนความชื้นของตัวอย่างทั้งสามไม่แตกต่างกันมากนัก เนื่องจากมีความเข้มข้น 65 °Brix เท่ากัน เมื่อคำนวณปริมาณไขมันโดยน้ำหนักแห้ง พบว่า น้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมและโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้ทั้งสองชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกันคือประมาณ 5% เนื่องจากไม่มีการสูญเสียไขมันในกระบวนการผลิต ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณไขมันของ Skipjack Extract ® ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์มีปริมาณลดลงคือ น้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์รวมมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต 3.55 % โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นและแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีคาร์โบไฮเดรต 2.40 และ 0.68 % โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ เนื่องจากในระหว่างการทำให้เข้มข้นเกิดปฏิกิริยา Maillard reaction และ Strecker degradation โดยคาร์โบไฮเดรตที่มีในวัตถุดิบทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน เปปไทด์ และโปรตีน ให้สารระเหยที่ให้กลิ่นหอมหลายชนิด (Eskin และ Henderson, 1971; DeMan, 1980; Zapsalis และ Beck, 1985; Wong, 1989)

5.7 การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้

5.7.1 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ต้องคำนึงถึงปริมาณที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด (Strong, 1968) เนื่องจากถ้าใช้ในปริมาณต่ำเกินไปจะไม่ช่วยเสริมหรือปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารให้ดีขึ้นได้ และถ้าใช้ในปริมาณสูงเกินไปทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและต้นทุนในการผลิตสูงโดยไม่จำเป็น ขั้นตอนนี้จึงศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นและแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เพื่อเป็นแนวทางในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์อาหารที่เลือกมาศึกษาคือ แซนด์วิชปลาทูน่า เนื่องจากใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าให้กลิ่นทดแทนเนื้อปลาทูน่าได้ แปรปริมาณเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นและแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้น เป็น 0, 1.5, 2.5 และ 3.5 % โดยน้ำหนัก ทดสอบการทางยอมรับประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและรสชาติ

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.26-4.27) พบว่า ปริมาณเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีผลต่อคะแนนความชอบด้านกลิ่นและรสชาติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่า แซนด์วิชปลาทูน่าเลียนแบบที่เติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีคะแนนความชอบด้านกลิ่นและรสชาติสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติม แต่ผลิตภัณฑ์ที่เติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นปริมาณ 2.5 และ 3.5 % โดยน้ำหนัก มีคะแนนความชอบด้านกลิ่น และรสชาติสูงสุดและไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมื่อเติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้เพียง 2.5 % โดยน้ำหนัก ก็ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นและรสชาติดีที่ผู้บริโภคยอมรับได้อยู่แล้ว ดังนั้นแม้เพิ่มปริมาณมากขึ้นก็ไม่มีผลมากนักต่อความชอบด้านกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ จึงเลือกปริมาณ 2.5 % โดยน้ำหนัก สำหรับผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

เมื่อพิจารณาผลของแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ จะเห็นว่าแซนด์วิชปลาทูน่าเลียนแบบที่เติมแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นปริมาณ 1.5 % โดยน้ำหนัก ได้รับความชอบด้านกลิ่น และรสชาติสูงสุด ($p \leq 0.05$) เนื่องจากแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีปริมาณเกลือแกงสูงกว่าเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้น 7.06 % โดยน้ำหนัก ดังนั้นการเติมแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นปริมาณมากกว่า 1.5 % โดยน้ำหนัก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสเค็มเกินไปผู้บริโภคไม่ยอมรับ จึงเลือกปริมาณ 1.5 % โดยน้ำหนัก เป็นปริมาณสูงสุดสำหรับแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้น

5.7.2 เปรียบเทียบคุณภาพโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิตได้กับ Skipjack Extract ®

ขั้นตอนนี้ศึกษาเปรียบเทียบการยอมรับด้านกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์แซนด์วิชปลาทูน่าที่เลือกได้จากข้อ 5.7.1 กับผลิตภัณฑ์แซนด์วิชปลาทูน่าเลียนแบบที่เติม Skipjack Extract ® ปริมาณ 2.5 % โดยน้ำหนัก เนื่องจากการทดลองเบื้องต้นเติม Skipjack Extract ® ในผลิตภัณฑ์แซนด์วิชปลาทูน่าปริมาณ 0, 1.5, 2.5 และ 3.5 % โดยน้ำหนัก พบว่า ตัวอย่างที่เติม Skipjack Extract ® ปริมาณ 2.5 % โดยน้ำหนัก มีคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นและรสชาติสูงสุด จึงเลือกเติม Skipjack Extract ® ปริมาณ 2.5 % โดยน้ำหนัก จากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและรสชาติ (ตารางที่ 4.28-4.29) พบว่า ผลิตภัณฑ์แซนด์วิชปลาทูน่าเลียนแบบที่เติมเอนไซม์ไฮโดรไลเซทเข้มข้น และ Skipjack Extract ® ได้รับการยอมรับด้านกลิ่นและรสชาติไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ส่วนตัวอย่างที่เติมแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นมีกลิ่นด้อยกว่าเนื่องจากข้อจำกัดด้านปริมาณของไฮโดรไลเซทเข้มข้นชนิดนี้ซึ่งใช้ได้เพียง 1.5 % โดยน้ำหนักเท่านั้น

ดังนั้นเอนไซม์ไซโดรไลเซทเข้มข้นจึงมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์มากกว่าแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้น และปริมาณที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์แซนด์วิชปลาทูน่าเลียนแบบคือ 2.5 % โดยน้ำหนัก แต่ทั้งนี้ไม่ได้หมายความว่าแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นจะให้กลิ่นและรสชาติที่ไม่ดี แต่ข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์ของแอซิดไฮโดรไลเซทเข้มข้นอยู่ที่มีปริมาณเกลือสูง (ตารางที่ 4.25) ดังนั้นการลดปริมาณเกลือก่อนนำไปใช้จะทำให้สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้กว้างขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย