การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์

นางสาวพรอริยา ฉิรินัง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2548
ISBN 974-533-565-7

ACID, ALKALINE AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF MUSHROOMS FOR FLAVORED SAUCE PRODUCTION

Pornariya Chirinang

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Food Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2005

ISBN 974-533-565-7

การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ศาสตราจารย์ ดร.นันทกร บุญเกิด)
ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.กนกอร อินทราพิเชฐ)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล)
กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศุกฤตย์ ไทยอุดม)
กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวณีย์ รัตนพานี)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

พรอริยา ฉิรินัง : การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์ (ACID, ALKALINE AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF MUSHROOMS FOR FLAVORED SAUCE PRODUCTION) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. กนกอร อินทราพิเชฐ, 119 หน้า. ISBN 974-533-565-7

การผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) โดยการย่อยด้วยกรดแบบปราศจากความดัน ด้วยด่างภายใต้ความดัน และด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตที่ไม่ก่อให้เกิดสาร 3-MCPD รวมถึงคุณภาพและการยอมรับผลิตภัณฑ์ การย่อยโปรตีนด้วยกรดโดยไม่ใช้ความดัน ย่อยเห็ดแห้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง พบว่า ที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้ไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด การย่อยโปรตีนด้วยด่างภายใต้ความดัน ย่อยเห็ดแห้งด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 และ 6 โมลาร์ อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มิลลิลิตร) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง พบว่า ด่าง 5 โมลาร์ อัตราส่วน 1:2 (กรัม:มิลลิลิตร) ได้ไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด

ผลิตซอสเห็ดปรุงรสจากไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง และไฮโดรไลเสทเห็ดนางรมย่อยด้วยด่าง 5 โมลาร์ ปรุงรสด้วยน้ำตาล 4 ระดับ คือ 3, 5, 7 และ 9 เปอร์เซ็นต์ และผงชูรส (MSG:Sodium-5′-inosinate:Sodium-5′-guanylate = 98:1:1) ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสด้วยวิธี QDA พบว่า ซอสปรุงรสจากไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดปรุงรสด้วยน้ำตาลปริมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนคุณลักษณะรวมมากที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับซอสปรุงรสทางการค้า ซึ่งซอสที่ได้มีกลิ่นของเห็ดอย่างชัดเจน และพบว่าซอสเห็ดปรุงรสจากไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยด่าง 5 โมลาร์ อัตราส่วน 1:4 (กรัม:มิลลิลิตร) มีคะแนนคุณลักษณะรวมมากที่สุด

การย่อยโปรตีนในเห็ดแห้งด้วยเอนไซม์ทางการค้า Flavourzyme® และ Neutrase® ที่พีเอช 6.5 ได้สภาวะการย่อยที่เหมาะสมประกอบด้วยอุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ย่อยที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มิลลิลิตร) นอกจากนี้การให้ความร้อนที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

เวลา 10 นาทีกับเห็ดก่อนเติมเอนไซม์ ได้ไฮโดรไลเสทที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุดที่เวลาย่อย 6 ชั่วโมง เป็น 53.91 เปอร์เซ็นต์

ผลิตซอสเห็ดปรุงรสแบบข้นโดยเติมแป้งดัดแปรจากไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มอก. 1317-2538) และมีปริมาณโปรตีนไนโตรเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงกว่าซอสเห็ดปรุงรสทางการค้า ($p<0.05$) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสเห็ดปรุงรสด้วยวิธี QDA พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความหนืด ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย รสขม และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับซอสทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดสูงกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และไฮโดรไลเสทจากกระบวนการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์ที่สภาวะต่างกัน ด้วยวิธี High-performance liquid chromatography พบว่า ในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิกมากที่สุด (500.62 และ 422.17 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ) ไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นทำให้แอสพาราจีนหายไป ในขณะที่ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างและไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® ไม่พบไฮดรอกซีโพรลีนและซาร์โคซีน

วิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MCPD ด้วยวิธี GC-MS พบสาร 3-MCPD 85.51 และ 17.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก อุณหภูมิ 100 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่เวลา 12 ชั่วโมง และปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสาร 3-MCPD คือ อุณหภูมิและระยะเวลาในการย่อยวัตถุดิบ ในขณะที่ไม่พบสารนี้ในไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่าง

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2548 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

PORNARIYA CHIRINANG : ACID, ALKALINE AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF MUSHROOMS FOR FLAVORED SAUCE PRODUCTION. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KANOK-ORN INTARAPHICHET, Ph.D. 119 PP. ISBN 974-533-565-7

ACID/ALKALINE/ENZYME/PROTEIN HYDROLYSATE/FLAVORED SAUCE/ MUSHROOMS/AMINO ACID/3-MCPD

Flavored sauce was produced from mushrooms; nangrom (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) and nangpha (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) by hydrolysis with hydrochloric acid (HCl) without pressure, sodium hydroxide (NaOH) under pressure and commercial proteases. Formation of 3-MCPD in protein hydrolysate, qualities and sensory evaluation of the sauce products were investigated. For acid hydrolysis without pressure, dried mushrooms were hydrolyzed by HCl at the concentrations of 18 and 22% (v/v), temperature of 80, 90 and 100 °C for 4, 6, 8 and 12 h. At hydrolysis temperature of 100 ^{o}C for 12 h, the highest protein content was obtained. For alkaline hydrolysis, dried mushrooms were hydrolyzed by NaOH at the concentrations of 5 and 6 M, ratio of mushroom to NaOH; 1:2, 1:3 and 1:4 (g:mL), temperature at 100 ^{o}C at 15 lb/in^{2} for 3 h. The highest protein content was obtained by using 5 M NaOH and the ratio of 1:2 (g:mL).

Flavored mushroom sauces were made using protein hydrolysate produced from selected conditions of 18 % HCl, 100 °C for 12 h and from alkaline hydrolysate of 5 M NaOH by adding sugar at 4 levels; 3, 5, 7 and 9% (w/v) and sodium glutamate plus sodium-5′-inosinate:sodium-5′-guanylate (98:1:1) 0.25 % (w/v). Sensory evaluation

by QDA showed that the sauces made with 9% (w/v) sugar showed the highest score of overall attribute. There were no significant differences ($p>0.05$) in overall attribute among these flavored mushroom sauces and commercial soybean sauce. The flavored mushroom sauces had a good characteristic mushroom flavor. The sauce from alkaline hydrolysate with the ratio of 1:4 (g:mL) exhibited the highest score of overall attribute.

For enzymatic hydrolysis, two dried mushrooms were hydrolyzed by commercial Flavourzyme® and Neutrase® at pH 6.5. The optimum conditions for enzyme hydrolysis were temperature at 50 and 45 °C, respectively, enzyme concentration at 2.5% (w/w) and with the ratio of mushroom to water of 1:5 (g:mL). In addition, heating the mushroom substrate at 121 ^{o}C at 15 lb/in^2 for 10 min before adding enzyme and hydrolysis for 6 h, the highest degree of hydrolysis (DH) was obtained up to 53.91% DH from *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer.

The thick flavored mushroom sauces were made from enzymatic hydrolysis by adding modified starch. The mushroom sauces had chemical and physical qualities within the range of the Thai Industrial Standard for oyster sauce (TIS.1317-1995) and had higher protein, total nitrogen and amino acid nitrogen contents than commercial sauce ($p<0.05$). Sensory evaluation by QDA showed that the sauce made from mushrooms had similar ($p>0.05$) color, viscosity, salty, umami, bitterness and overall attribute to those of commercial sauce. However, the flavored mushroom sauces had distinct characteristic of mushroom flavor than commercial sauce ($p<0.05$).

Amino acid contents were analyzed in fresh mushrooms and hydrolysates from acid, alkaline and enzymatic hydrolysis at different conditions by High-performance liquid chromatography. Glutamic acid was the highest amino acid in both *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer and *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers (500.62 and 422.17

mg/100 g fresh weight, respectively). For acid hydrolysate, when hydrolysis time increased, asparagine disappeared. While, in alkaline hydrolysate of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers and enzyme Neutrase® hydrolysate, hydroxyproline and sarcosine were not detected.

3-MCPD contents were analyzed by GC-MS, 3-MCPD 85.51 and 17.72 mg/kg were found in acid hydrolysate at 100 and 80 °C, respectively, for 12 h. The factors affected the occurrence of 3-MCPD were temperature and hydrolysis time while there was no 3-MCPD detected in alkaline hydrolysate.

School of Food Technology

Academic Year 2005

Student's Signature P. Chinnang

Advisor's Signature K. Intarapichet

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กนกอร อินทราพิเชฐ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำสั่งสอนมาโดยตลอด กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้ กราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.นันทกร บุญเกิด และ อาจารย์ ดร.ศุกฤตย์ ไทยอุดม คณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวชื่อมา ณ ที่นี้ ที่ให้ความรู้ในด้านวิชาการตลอดระยะเวลา 8 ปีที่ศึกษาอยู่ในรั้ว มทส.

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่อาคารศูนย์เครื่องมือ 3 ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ เครื่องมือต่าง ๆ ในงานวิจัย ขอบคุณ เพื่อน พี่ และน้อง ๆ ทุกคน ที่ร่วมทุกข์ ร่วมสุข คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้กันตลอดระยะเวลา 4 ปี ขอบคุณนายเจิมธง ปรารถนารักษ์ ที่คอยให้กำลังใจทุก ๆ เรื่อง ทั้งผลักดันให้ตั้งใจทำงานจนมีวันนี้ในที่สุด

ขอขอบพระคุณ บริษัท อีสต์ เอเชียติกส์ (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ บริษัท สงวนวงษ์อุตสาหกรรม (จำกัด) ที่ให้ความอนุเคราะห์แป้งดัดแปรในการผลิตซอส และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้ทุนสนับสนุนตลอดงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้กำเนิด ให้ความรัก การเลี้ยงดูอย่างดีเสมอมาและให้ทุนทรัพย์ในการศึกษาครั้งนี้ พี่ชาย น้องสาว และญาติ ๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

พรอริยา ฉิรินัง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....ค
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ญ
สารบัญภาพ.....ฐ
บทที่
1. บทนำ.....1
    1.1 บทนำ.....1
    1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....3
    1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....3
    1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....3
    1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....4
    1.6 รายการอ้างอิง.....4
2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....7
    2.1 กรรมวิธีในการผลิตซอส.....8
    2.2 เอนไซม์โปรตีเนสหรือโปรตีเอส.....11
    2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีเนสในอุตสาหกรรมอาหาร.....14
    2.4 เห็ด.....17
    2.5 คุณประโยชน์ของเห็ด.....18
    2.6 ชีววิทยาและประวัติของเห็ดที่ใช้ในงานวิจัย.....23
    2.7 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาร 3-MCPD และ DCP.....24
    2.8 รายการอ้างอิง.....29
3. การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรด.....35
    3.1 บทคัดย่อ.....35

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 บทนำ....36
3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง....37
3.4 ผลการทดลองและวิจารณ์....40
3.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ....40
3.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือและคุณภาพของไฮโดรไลเสท....41
3.4.3 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด....47
3.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด....50
3.5 สรุปผลการทดลอง....52
3.6 รายการอ้างอิง....53
4. การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยด่าง....56
4.1 บทคัดย่อ....55
4.2 บทนำ....57
4.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง....58
4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์....61
4.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ....61
4.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยด่างและคุณภาพของไฮโดรไลเสท....62
4.4.3 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด....65
4.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด....68
4.5 สรุปผลการทดลอง....70
4.6 รายการอ้างอิง....71
5. การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์....74
5.1 บทคัดย่อ....74
5.2 บทนำ....75
5.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง....77
5.4 ผลการทดลองและวิจารณ์....82
5.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ....82
5.4.2 สภาวะอุณหภูมิการย่อยของเอนไซม์....83

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.4.3 ปริมาณเอนไซม์ในการย่อยเห็ดและคุณภาพของไฮโดรไลเสท.....84
5.4.4 โปรตีนไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดที่ผ่านการให้ความร้อน ภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®.....86
5.5 สรุปผลการทดลอง.....91
5.6 รายการอ้างอิง.....92
6. ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดและไฮโดรไลเสทจากเห็ด.....95
6.1 บทคัดย่อ.....95
6.2 บทนำ.....96
6.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....97
6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....101
6.4.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า.....101
6.4.2 ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า.....105
6.5 สรุปผลการทดลอง.....113
6.6 รายการอ้างอิง.....113
7. บทสรุป.....117
ประวัติผู้เขียน.....119

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 โปรตีเอสที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร....13
2.2 ตัวอย่างชนิดและสรรพคุณของเห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพรในอดีต....19
2.3 ส่วนประกอบทางอาหารของเห็ดส่วนที่กินได้ 100 กรัม....20
2.4 ดรรชนีของกรดอะมิโนจำเป็นและดรรชนีทางโภชนาการของเห็ด
เปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ต่าง ๆ....20
2.5 เปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของเห็ดกับอาหารชนิดอื่น....21
3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า....41
3.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า
อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ....42
3.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม
และเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ....44
3.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม
และเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ....45
3.5 ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่ความเข้มข้น
กรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v)....47
3.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรม....49
3.7 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้า....49
3.8 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วน
เห็ด:กรดเกลือ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v)
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง....51
3.9 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้าที่อัตราส่วน
เห็ด:กรดเกลือ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v)
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง....52
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า....61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าโดย
การย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว.....62

4.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม
และเห็ดนางฟ้า โดยการย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว.....63

4.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม
และเห็ดนางฟ้า โดยการย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว.....64

4.5 ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมที่ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์
อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง.....65

4.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสเห็ดนางรม
ย่อยด้วยด่าง 5 โมลาร์ ที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่างต่าง ๆ.....67

4.7 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วน
เห็ด:ด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์
อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง.....70

5.1 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า.....88

5.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดผ่านการให้ความร้อน
ภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®.....90

6.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (มก./100 กรัม น้ำหนักสด).....103

6.2 เปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในเห็ดและผักต่าง ๆ.....104

6.3 ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือความเข้มข้น 18
เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (มก./100 มล.).....106

6.4 ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 โมลาร์
เวลา 3 ชั่วโมง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
(มก./100 มล.).....108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

6.5 ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมย่อยด้วยเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (มก./100 มล.).....111
6.6 ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (มก./100 มล.).....112

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการผลิตซอสปรุงรสย่อยด้วยกรด....9

2.2 ปฏิกิริยาการเกิดสาร 3-MCPD....25

5.1 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TNBS กับ primary amines....76

5.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ในการย่อยเห็ดนางรมที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)....83

5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ในการย่อยเห็ดนางฟ้าที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)....83

5.4 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่สภาวะเหมาะสม เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.)....84

5.5 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่สภาวะเหมาะสม เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.)....85

5.6 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่สภาวะเหมาะสม เวลาการย่อย 0-24 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.)....86

5.7 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่สภาวะเหมาะสม อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) เข้า autoclave เป็นเวลา 10 และ 30 นาที เติมน้ำอีกครั้ง ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง....87

6.1 แสดงโครมาโทแกรมของ amino acids standard mix ที่ความเข้มข้น 700 พิโคโมล/ไมโครลิตร....101

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำ

ซอสปรุงรสจัดว่าเป็นเครื่องปรุงรสที่ได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน จากการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคเครื่องปรุงรสของผู้บริโภคในประเทศ (สถาบันอาหาร, 2545) พบว่า ผู้บริโภคมีค่าใช้จ่ายในการซื้อน้ำปลามากที่สุด เป็นอันดับแรก ส่วนซอสปรุงรสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคเสียค่าใช้จ่ายในการซื้อบริโภคเป็นอันดับที่ 4 ทั้งนี้เนื่องจากมีผู้นิยมบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพประเภทมังสวิรัติหรืออาหารเจกันมากขึ้นโดยเฉพาะคนรุ่นใหม่ ที่มีการศึกษาและมีฐานะ มีแนวโน้มที่จะใช้ซอสปรุงรสเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์

สำหรับตลาดซอสในประเทศไทย ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจำหน่ายได้เป็นอันดับ 4 และยี่ห้อที่มียอดจำหน่ายสูงสุดคือ ยี่ห้อภูเขาทอง โรงงานขนาดใหญ่ซึ่งจัดเป็นผู้นำทางการตลาดของซอสปรุงรสได้แก่ ผู้ผลิตยี่ห้อภูเขาทอง ยี่ห้อเด็กสมบูรณ์ ยี่ห้อง่วนเชียงและฉลากทอง ลักษณะการผลิตจะเป็นการผลิตเพื่อจำหน่ายภายในประเทศประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณการผลิตทั้งหมด โดยส่งจำหน่ายทุกจังหวัดทั่วประเทศ มูลค่าการส่งออกซอสปรุงรสของไทย ปีพ.ศ. 2539-2543 มีอัตราการเจริญเติบโตถึง 18.28 เปอร์เซ็นต์ (สถาบันอาหาร, 2545)

วัตถุดิบสำคัญในการผลิตซอสปรุงรส คือ กากถั่วเหลืองโดยมีสภาวะในการผลิต และคุณภาพที่ได้แตกต่างกันไปตามลักษณะแต่ละโรงงาน ซึ่งวัตถุดิบอื่น ๆ ที่ใช้ในการผลิตซอสปรุงรสที่มีรายงานไว้เช่น น้ำนึ่งปลาทูน่า (อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกุล, 2542) กากถั่วลิสง (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) และโปรตีนถั่วเขียวที่เหลือจากโรงงานทำวุ้นเส้น (อรสา สุริยาพันธ์, 2531) เป็นต้น

วัตถุดิบที่น่าสนใจในกระบวนการผลิตซอสปรุงรสนอกเหนือจากที่กล่าวมาข้างต้นคือ เห็ดที่เป็นที่นิยมและรู้จักกันดีของคนไทยส่วนใหญ่ในการนำมาทำเป็นอาหารเนิ่นนานแล้ว จากการวิเคราะห์ พบว่า เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผัก และเห็ดยังมีกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ (ปัญญา โพธิฐิติรัตน์, 2539) และสามารถทดแทนโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น คาร์โบไฮเดรท แคลเซียม ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส วิตามินต่าง ๆ และไนอาซิน (กลิ้งกลางดง, 2544) ในประเทศ

จีนพบว่า มีเห็ดประมาณ 200 ชนิดที่สามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยารักษาโรค รวมทั้งใช้ในการบำรุงสุขภาพด้วย เช่น การใช้เห็ดเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค บำรุงตับ รักษาโรคความดันโลหิต โรคไขมันในเส้นเลือดสูง โรคเบาหวาน มีฤทธิ์ในการต่อต้านเนื้องอก เป็นต้น (มนที, 2542; Zhang, Cheung, Zhang, Chiu, and Ooi, 2004; ศิริวรรณ สุทธจิตต์และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548)

นอกจากนี้ชาวต่างชาติก็นิยมบริโภคเห็ดเช่นเดียวกับคนไทย จะเห็นได้ว่าปริมาณการส่งออกเห็ดของไทยปีละไม่ต่ำกว่า 7,000 ตัน มูลค่ากว่า 250 ล้านบาท (ปราโมทย์ จันทรัมพร, 2543) ในปี 2545/2546 ประเทศไทยมีผลผลิตเห็ดประมาณ 121,900 ตัน มูลค่ากว่า 5,480 ล้านบาท (ชาญยุทธ์ ภาณุทัต, 2545) ในปัจจุบันมีการส่งเสริมจากทั้งรัฐบาลและเอกชนให้เกษตรกรเพาะเห็ดมากขึ้นตามลำดับ ทั้งยังเพาะกันได้ทุกฤดูกาลของประเทศ (บรรณ บูรณะชนบท, 2545) โดยเห็ดที่มีการผลิตและบริโภคสูงที่สุด คือ เห็ดฟาง (70 เปอร์เซ็นต์ ของผลผลิตเห็ดในตลาดของประเทศไทยทั้งหมด) รองลงมาได้แก่ เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดแชมปิยอง เห็ดหลินจือ เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดชนิดอื่น ๆ (มนที, 2542) แต่เห็ดสกุลนางรมนั้นได้รับความนิยมในการเพาะอย่างแพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากทำได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเห็ดชนิดอื่น ๆ เช่น เห็ดฟาง ที่จำเป็นต้องใช้ประสบการณ์ในการเพาะค่อนข้างสูง ผู้ที่สนใจเพียงรับการอบรมจากทางราชการเพียงครั้งเดียวก็สามารถกลับไปเพาะได้ด้วยตัวเอง (ยงยุทธ์ สายฟ้า, สุวิชัย วงศ์ษา และสันชัย ตันตยาภรณ์, 2537) ทำให้ตลาดของเห็ดสกุลนางรมกว้าง ผู้บริโภคสามารถหาซื้อได้ง่ายมีราคาถูก อีกทั้งมีอายุการเก็บนานกว่าเห็ดฟาง นอกจากนี้ยังมีคุณค่าทางอาหารสูง ยกตัวอย่างเช่นเห็ดนางฟ้า มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 3.36 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรท 4.79 เปอร์เซ็นต์ และ พลังงาน 33.32 แคลอรี (ยงยุทธ ขจรวิทย์, 2546) เห็ดนางรม มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 2.73 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรท 5.08 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 34.55 แคลอรี อีกทั้งยังไม่มีไขมันอิ่มตัว (มนที, 2542) จากคุณลักษณะดังกล่าวนี้จึงน่าจะมีการขยายประโยชน์ได้มากขึ้น แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจคือ ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสนั่นเอง

ปัจจุบันได้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของสาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากถั่วเหลืองขึ้น สาเหตุหลักเกิดจากกระบวนการผลิตซอสปรุงรสที่ใช้วิธีย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองด้วยกรดไฮโดรคลอริก (acid hydrolysis) ที่มีความเข้มข้นสูง ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงและใช้ความดัน ขณะที่โปรตีนถูกย่อยสลายอยู่นั้นจะเกิดกระบวนการคลอริเนชั่นไขมันและน้ำมันในถั่วเหลืองทำให้เกิดสารปนเปื้อน 2 ชนิดคือ 3-MCPD และ 1,3-Dichloro-2-propanol (1,3-DCP) ที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง จากการศึกษาพบว่า ไม่เกิดพิษเฉียบพลัน แต่จะเกิดพิษได้ในระยะยาว แต่ยังไม่มีรายงานทางด้านพิษวิทยาต่อมนุษย์ (สถาบันอาหาร, 2545; Fromberg, 2001; Hamlet, Sadd, Crews, Velisek, and Baxter, 2002; Ministry of Industry, Office of the National Codex Alimentarius Committee of

Thailand, 2003; Lee, et al., 2004) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาวิธีการที่จะลดปริมาณของสารพิษดังกล่าวนี้ลงให้ได้ แนวทางที่น่าสนใจในการลดปริมาณสาร 3-MCPD คือ การปรับลดปริมาณกรดที่ใช้ในการผลิต อุณหภูมิ และเวลา การปรับเปลี่ยนวิธีการใช้เอนไซม์แทนกรดเกลือ การย่อยโปรตีนโดยใช้ด่างร่วม และการใช้วัตถุดิบที่มีไขมันน้อย เช่น แป้งถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว หรือการใช้เห็ด เป็นต้น (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

จากการศึกษานี้จึงคาดว่าจะได้รับข้อมูลที่เกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม ด้วยการย่อยโดยกรดเกลือ เอนไซม์และด่าง เพื่อผลิตซอสปรุงรสและ ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตรและได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยวิธีทางกายภาพ คือ การย่อยด้วยกรดปราศจากความดันและใช้ความร้อนต่ำ และการย่อยด้วยด่าง

1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยวิธีทางชีวภาพ คือ การย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า (commercial protease)

1.2.3 เพื่อศึกษาคุณภาพทางเคมี กายภาพ และ การยอมรับทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ด

1.2.4 เพื่อศึกษาสภาวะการผลิตซอสปรุงรสที่ไม่ก่อให้เกิดสาร 3-MCPD

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 การไม่ใช้ความดันร่วมกับการย่อยด้วยกรดเกลือในกระบวนการย่อยโปรตีนในเห็ดจะทำให้ไม่เกิดสาร 3-MCPD และได้ผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัส

1.3.2 การใช้ด่างในกระบวนการย่อยโปรตีนในเห็ดจะทำให้ไม่เกิดสาร 3-MCPD และได้ผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัส

1.3.3 การใช้เอนไซม์ในกระบวนการย่อยโปรตีนในเห็ดจะทำให้ไม่เกิดสาร 3-MCPD และได้ผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัส

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยกระบวนการใช้กรดและความร้อนปราศจากความดัน

1.4.2 ผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการใช้ด่าง

1.4.3 ผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการใช้เอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า

1.4.4 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ทราบวิธีการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนและความดันสูงและการใช้ด่าง เพื่อเป็นการหาแนวทางในการลดปริมาณสาร chlorinated compounds (3-MCPD)

1.5.2 สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสด้วยวิธีทางชีวภาพซึ่งเป็นวิธีที่ใช้สภาวะการย่อยไม่รุนแรง และลดปริมาณสาร chlorinated compounds (3-MCPD) ได้

1.5.3 เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ให้แก่ผู้บริโภคในการบริโภคซอสปรุงรสจากเห็ดสำหรับผู้บริโภคที่เกิดอาการแพ้โปรตีนจากถั่วเหลือง

1.5.4 นำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเผยแพร่ และเป็นแนวทางพื้นฐานในการทำการวิจัยต่อไป

1.6 รายการอ้างอิง

กลิ้งกลางดง. (2544). เห็ดสมุนไพรทางเลือกใหม่สำหรับคนรัก “ชีวจิต”. **โลกเกษตร& อุตสาหกรรม**.17: 51-53.

ชาญยุทธ์ ภาณุทัต. (2545). **การส่งเสริมการเพาะเลี้ยงเห็ดในประเทศไทย.** [เอกสาร]. กองส่งเสริมพืชสวน. กรมส่งเสริมการเกษตร.

บรรณ บูรณะชนบท. (2545). **การเพาะเห็ดนางรม-นางฟ้า.** นนทบุรี: กรุงเทพมหานคร.

ปราโมทย์ จันทรัมพร. (2543). การแปรรูปเห็ด. **ข่าวสารเกษตรศาสตร์.** 46(1): 55-56.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. (2539). สารพัดเรื่องเห็ด. **เกษตรคิวเซ.** 5(16): 35-39.

มนที. (2542). “เพาะเห็ด”อาชีพสร้างรายได้ยอดฮิต. ใน เปรมปรี ณ สงขลา (บรรณาธิการ). **เคหการเกษตร.** 23(8): 210-216.

ยงยุทธ ขจรวิทย์. (2546). **คุณค่าทางอาหารของเห็ด** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.co.th/เห็ดนางรม.html

ยงยุทธ์ สายฟ้า, สุวิชัย วงศ์ษา และ สนชัย ตันตยาภรณ์. (2537). การเพาะเห็ดนางรมด้วยวิธีการแบบใหม่ที่ไม่ต้องนึ่ง. **เกษตรพัฒนา** 13(18): 31-33.

สถาบันอาหาร. ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ. (2545). **3-MCPD และ 1,3-DCP** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.nfi.or.th

สุธีรา เสาวภาคย์. (2535). **การใช้ประโยชน์จากกากถั่วลิสงในการผลิตน้ำซอสปรุงรส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2545). **สาร 3-MCPD และ 1,3-DCP ในซอสปรุงรส** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.co.th/สาร 3-MCPD และ 1,3-DCP ในซอสปรุงรส.html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กองเผยแพร่และควบคุมการโฆษณา. (2545). **อย.รุกขจัดปัญหาสารก่อมะเร็งในซอสปรุงรส** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/สาร MCPD.html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กลุ่มงานพัฒนาความปลอดภัยด้านเคมีวัตถุ. (2545). **พิษวิทยาของสาร MCPD** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/พิษวิทยาของสาร MCPD.html

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. (2548). **เห็ดสมุนไพร: จากอดีต สู่ปัจจุบัน และอนาคต** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thaiagro.com/article/mushrooms/47051701.html

อรสา สุริยาพันธ์. (2531). **การใช้โปรตีนถั่วเขียวเหลือใช้จากอุตสาหกรรมวุ้นเส้นในการผลิตน้ำซอสปรุงรส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกุล. (2542). การย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตซอสปรุงรส. **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 21(4): 419-500.

Chou, C.C., and Ling, M.Y. (1994). Biochemical changes in soy sauce prepared with extruded and traditional raw materials. **Food Res. Int.** 31(6-7): 487-492.

Fromberg, A. (2001). **Survey of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in food and food ingredients** [on-line]. Available: http://www.google.co.th/3-MCPD.html

Hamlet, G.C., Sadd, P.A., Crews, C., Velisek, J., and Baxter, D.E. (2002). Occurrence of 3-chloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods: a review. **Food Addit. Contam.** 19(7): 619-631.

Lee, J.K., Byun, J.A., Park, S.H., Kim, H.S., Park, J.H., Eom, J.H., and Oh, H.Y. (2004). Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1,2-propanediol in balb/c mice I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. **Toxicity**. 204: 1-11.

Ministry of Industry, Office of the National Codex Alimentarius Committee of Thailand. (2003). **Position of Thailand on 3-MCPD** [on-line]. Available: http://www.google.co.th/3-MCPD.html.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Zhang, L., Chiu, C.M., and Ooi, V.E.C. (2004). Carboxymethylated β-glucans from mushroom sclerotium of *Pleurotus tuber-regium as* novel water-soluble anti-tumor agent. **Carb. Polym.** 57: 319-325.

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นับตั้งแต่อดีต การประกอบอาหารจะมีการปรุงรสให้เป็นที่ถูกปากแก่ผู้บริโภค ซึ่งการปรุงรสในอดีตมักใช้วัตถุดิบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในธรรมชาติในท้องถิ่นนั้น ๆ เช่น เกลือ มะนาว มะขามเปียก น้ำผึ้ง เป็นต้น ต่อมาวิวัฒนาการของเครื่องปรุงรสมีความก้าวหน้ามากขึ้น กล่าวคือ มีความสำเร็จรูปและมีความสะอาดมากขึ้น อีกทั้งยังสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานขึ้น สำหรับตัวอย่างของเครื่องปรุงรสที่พบเห็นในปัจจุบัน เช่น น้ำตาล ซุปก้อนกึ่งสำเร็จรูป น้ำปลา ซีอิ๊ว และซอสปรุงรส เป็นต้น

น้ำซอสปรุงรส (seasoning sauce) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ของเหลวที่ใช้ปรุงรสอาหาร มีโปรตีนพืชที่ย่อยสลายแล้วด้วยกรดเป็นส่วนประกอบสำคัญ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539)

การใช้ประโยชน์ของซอสปรุงรสและซีอิ้วมีความคล้ายคลึงกัน คือใช้เพื่อปรุงรสอาหารและผลิตภัณฑ์ทั้งสองก็ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองเหมือนกัน แต่สิ่งที่แตกต่างกัน คือ กรรมวิธีการผลิต โดยซีอิ๊ว ใช้วิธีการผลิตโดยการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองด้วยการหมัก ในขณะที่ซอสปรุงรสใช้กรดเข้มข้นในการย่อยโปรตีนจากพืช (acid hydrolysis) แล้วจึงทำการปรับสภาพกรดด้วยการเติมด่าง (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2546)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยกรดนอกจากน้ำซอสปรุงรสแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์ที่เรียกชื่ออื่น ๆ และนิยมใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหาร (food flavoring) ได้ เช่น โปรตีนไฮโดรไลเซท โดยเฉพาะที่เป็นโปรตีนพืช ซึ่งนิยมเรียกชื่อย่อว่า HVP ซึ่งย่อมาจาก hydrolyzed vegetable protein (สายสนม ประดิษฐดวง, 2543) ซึ่งแหล่งโปรตีนที่นิยมคือ แป้งถั่วเหลือง แป้งสาลี หรือ แป้งข้าวโพด เป็นต้น โดยทั่วไปนอกจากวิธีการย่อยด้วยกรดแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ เรียกว่า EVP หรือ enzyme-hydrolyzed vegetable protein ซึ่งข้อแตกต่างของทั้งสองกระบวนการจะเกิดขึ้นในด้านของสีและกลิ่นรส โดย การย่อยด้วยกรดจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาลเข้มในขณะที่ การย่อยด้วยเอนไซม์จะให้สีที่ค่อนข้างอ่อนและมีกลิ่นของเนื้อหรือกลิ่นอร่อยจางกว่า (Aaslyng, Elmore and Mottram, 1998)

สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสปรุงรสโดยทั่วไป คือ กากถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว นอกจากนี้สุธีรา เสาวภาคย์ (2535) รายงานว่า กากถั่วลิสงที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมสามารถใช้เป็นวัตถุดิบได้ ผลิตภัณฑ์ซอสที่ได้ได้รับการยอมรับจากผู้ชิมมากกว่า

ผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดและหลังจากทำการบ่ม ผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ชอบเล็กน้อยถึงชอบมาก

อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกุล (2542) นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋องมาผลิตซอสปรุงรส พบว่า ซอสปรุงรสที่ได้มีองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มอก. 1317-2538) และได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบไม่แตกต่างทางสถิติกับซอสหอยนางรมในท้องตลาด แต่จะมีกลิ่นและรสปลามากกว่าซอสหอยนางรมที่มีขายตามท้องตลาด

Chou and Ling (1998) ศึกษาการใช้วัตถุดิบคือ ถั่วเหลืองที่ทำการสกัดเอาไขมันออกแล้วกับแป้งสาลีที่ผสมให้เข้ากันแล้วผ่านเครื่องอัดพอง (extruder) กับวัตถุดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการดังกล่าว เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของซอสปรุงรสที่ได้จากทั้งสองกระบวนการ พบว่า การใช้วัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการอัดพอง จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบทางเคมีมากกว่าวัตถุดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการและยังให้สีของซอสที่เข้มข้นกว่าอีกด้วย

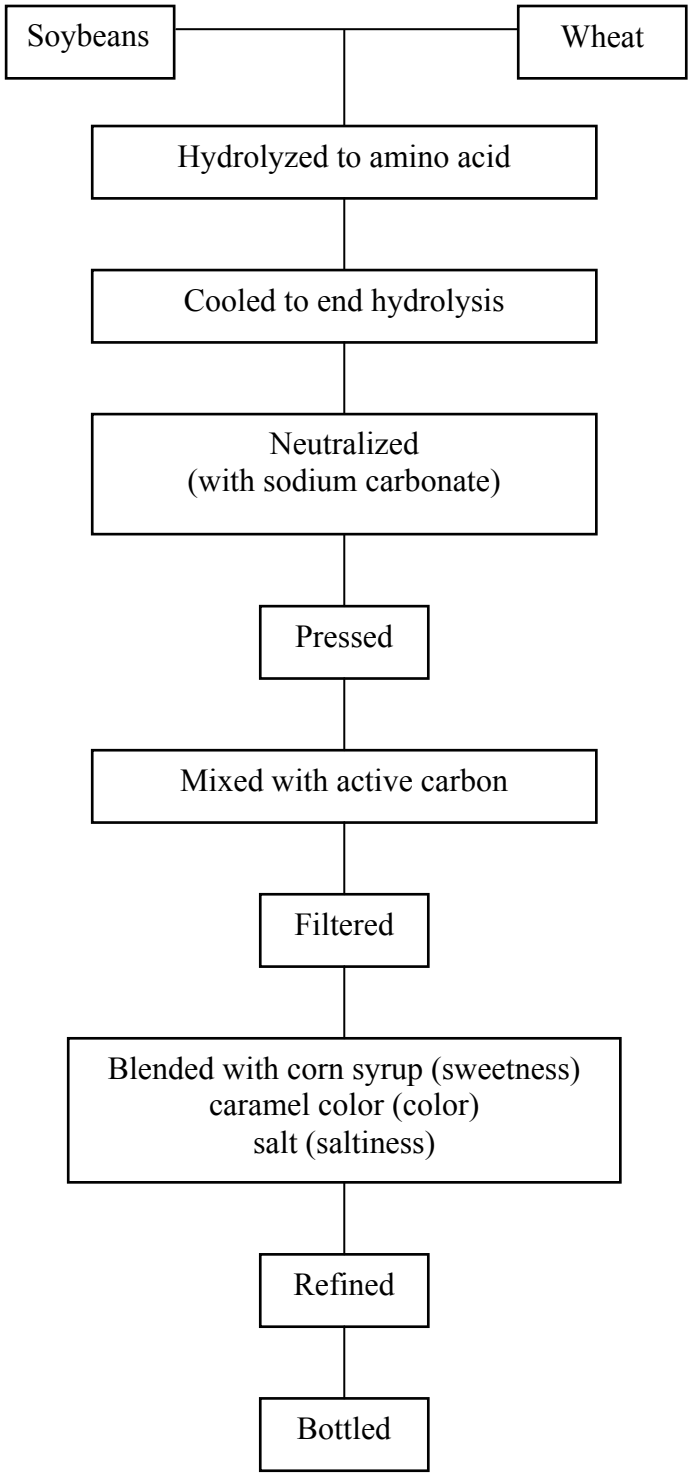
2.1 กรรมวิธีในการผลิตซอส

ซอสปรุงรสสามารถทำได้ 2 วิธี คือ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

2.1.1 วิธีการย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) วิธีการนี้เป็นวิธีการที่อาศัยการย่อยสลายวัตถุดิบ ส่วนผสมระหว่างถั่วเหลือง ข้าวสาลีหรือข้าวเจ้า โดยใช้กรดเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง แล้วจึงใช้ด่าง เช่น โซเดียมคาร์บอเนต หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นตัวปรับให้มีสภาพเป็นกลางเพื่อให้กรดที่เหลือกลายสภาพเป็นเกลือและน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 2.1 (สถาบันอาหาร, 2545)

สารอาหารที่ถูกย่อยโดยกรด คือ แป้งและโปรตีน แป้งที่ถูกย่อยก็จะกลายเป็นน้ำตาล ส่วนโปรตีนก็จะถูกย่อยกลายเป็นกรดอะมิโน กรดอะมิโนนั้นก็คือ กรดกลูตามิก (glutamic acid) นั่นเอง วิธีนี้เป็นวิธีที่ต้นทุนต่ำกว่าและย่นระยะเวลา เนื่องจากใช้เวลาในการผลิตประมาณ 24 ชั่วโมง แต่เกิดสารปนเปื้อน 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD)

สารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่เกิดจากการย่อยโปรตีนด้วยกรด ได้แก่ Methanol, Ethanol, Acetaldehyde, Propanol, Acetone, Ethyl formate, Methyl acetate, 1-Propanol, 2-Methylpropanol, Ethyl acetate, 2-Methyl-1-propanol, 1-Butanol, 3-Methylbutanal, 2,3-Pentanodione และ 3-Methyl-butanol (นิรนาม, 2546)



ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตซอสปรุงรสย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis)
แหล่งที่มา: นิรนาม (2546)

จากกระบวนการผลิตซอสทางเคมี สารตั้งต้น (precusor) ที่มีความสำคัญอย่างมากต่อการเกิดสีในไฮโดรไลเสท คือ กรดอะมิโน และน้ำตาลเชิงเดี่ยว (reducing sugar) จากคาร์โบไฮเดรตที่ผ่านการย่อยสลายในวัตถุดิบ โดยสารทั้งสองตัวนี้จะทำปฏิกิริยาเกิดเป็น Maillard reaction ขึ้น ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดได้ดีเมื่อให้ความร้อน ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจะเกิดจากกรดอะมิโนทำปฏิกิริยากับน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น สารประเภท furfural, furans กลายเป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาลนั่นเอง (Anslyng, Elmore and Motham, 1998; สุธีรา เสาวภาคย์, 2535)

2.1.2 การหมักด้วยจุลินทรีย์ (microbiological fermentation) เป็นกระบวนการธรรมชาติที่อาศัยการทำงานของเอนไซม์ผลิตจากเชื้อราที่ใช้ในการหมักได้ผลิตภัณฑ์ โดยนึ่งหรือต้มถั่วเหลืองให้สุก ทิ้งไว้จนเย็นแล้วจึงผสมกับแป้งสาลี และหัวเชื้อรา ชนิด *Aspergillus oryzae* หลังจากนั้นแผ่ให้แห้งประมาณ 3-4 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญ ซึ่งส่วนผสมที่มีเชื้อราขึ้นนี้เรียกว่า โคจิ (koji) หมักต่อที่สภาพความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยเชื้อราจะย่อยโปรตีนในถั่วเหลือง และแป้งสาลีเป็นกรดอะมิโนและน้ำตาล ซึ่งกรดอะมิโนที่ได้คือ กรดกลูตามิก (glutamic acid) จึงต้องใช้ระยะเวลานานในการผลิตประมาณ 3 เดือนขึ้นไป และไม่เกิดสาร 3-MCPD

สาร 3-MCPD ที่เกิดจากกระบวนการผลิตซอสโดยวิธีย่อยด้วยกรดเป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม Chloropropanol (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) ข้อมูลการเกิดพิษของสาร 3-MCPD นั้นมีรายงานว่า การเกิดพิษในระยะสั้นจะเกิดพิษต่อไตของหนูทดลองและในระยะยาวจะทำให้หนูทดลองเกิดมะเร็งได้ที่ตับ ไต เยื่อบุปากและลิ้น (Hamlet, Sadd, Crews, Velisek and Baxter, 2002) ซึ่งจากที่กล่าวมาเป็นข้อมูลที่รายงานจากการศึกษาทดสอบสารพิษโดยตรงกับสัตว์ทดลองเท่านั้น แต่ยังไม่มีข้อมูลที่แน่ชัดถึงการเกิดอันตรายจากการบริโภคซอสปรุงรสในคน อย่างไรก็ตามได้มีความพยายามของทั้งหน่วยงานราชการและเอกชนที่จะหาวิธีร่วมกันในการที่จะลดปริมาณสาร 3-MCPD นี้โดยเร่งด่วน ซึ่งมีแนวทางที่น่าสนใจสำหรับผู้ประกอบกิจการผลิต ซอสปรุงรส คือ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

1. การไฮโดรไลซ์โปรตีนโดยใช้ด่างร่วม
2. การใช้วัตถุดิบที่มีไขมันน้อย เช่น ใช้แป้งถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว
3. การปรับลดปริมาณกรดที่ใช้ในกระบวนการผลิต อุณหภูมิและเวลา
4. ปรับเปลี่ยนวิธีการผลิตใช้เอนไซม์โปรตีเอสซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนแทนการใช้กรดเกลือ

การใช้เอนไซม์โปรตีเอสมีข้อดีคือ เป็นการย่อยภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถควบคุมระดับการย่อย และควบคุมการกระจายตัวของขนาดผลิตภัณฑ์ได้ดี การใช้เอนไซม์มีผลกระทบต่อโครงสร้างทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้อยกว่าการย่อยด้วยสารเคมี โดยการย่อยด้วยสารเคมีจะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของกรดอะมิโนจาก L-form เป็น D-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดลง (Hall and Ahmad, 1992) และการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2545) แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าระดับการย่อยของเอนไซม์มากเกินไปเป็นผลทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีรสขมซึ่งเป็นกลุ่มของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ลิวซีน วาลีน ไอโซลิวซีน ไทโรซีน เฟนิลอะลานีน และทริปโทเฟน ระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการควบคุมการย่อยและการเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในแต่ละผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

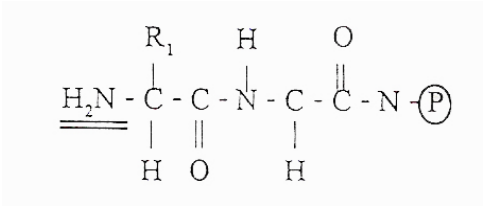
2.2 เอนไซม์โปรตีเนส (proteinase) หรือ โปรตีเอส (protease)

โปรตีเนส (proteinase) หรือ โปรตีเอส (protease) คือกลุ่มเอนไซม์ไฮโดรเลส (hydrolase) ซึ่งสามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของสายโปรตีนรวมทั้งพันธะเอไมด์และเอสเทอร์ของกรดอะมิโน โปรตีเนสสามารถแบ่งตามการเกิดไฮโดรไลซิสของพันธะเปปไทด์ ได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 2541; วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2545) คือ

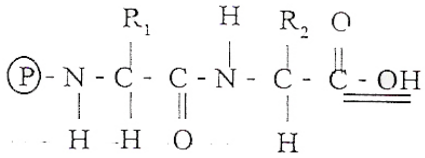
2.2.1 Endopeptidases (EC 3.4.21-99) คือ กลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์ ซึ่งอยู่ภายในสายโมเลกุลของโปรตีนได้เป็นสายโซ่เปปไทด์สั้น ๆ เอนไซม์กลุ่มเอนโดเปปติเดสจากพืชหรือจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับสเตรทที่เป็นเปปไทด์โมเลกุลใหญ่หลายชนิด และสับสเตรทที่เป็นโปรตีนทำให้สามารถย่อยลสายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว

2.2.2 Exopeptidases (EC 3.4.11) คือ กลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์ด้านปลายโซ่ของโมเลกุล โดยเริ่มจากปลายด้านกลุ่มอะมิโน เรียก N-terminal หรือ ทางปลายด้านกลุ่มคาร์บอกซิล เรียก C-terminal ของสายโปรตีน (Adler-Nissen, 1986) ซึ่งแบ่งออกเป็น

2.2.2.1 Aminopeptidase (EC 3.4.11) คือเอนไซม์ซึ่งสลายพันธะเปปไทด์จากทางด้าน N-terminal ความจำเพาะเจาะจงของ Aminopeptidase นี้ขึ้นอยู่กับโซ่ข้าง (side chain) R_1 ดังโครงสร้างทางเคมีข้างล่าง



2.2.2.2 Carboxypeptidase (EC 3.4.16-18) คือเอนไซม์ซึ่งสลายพันธะเปปไทด์จากทางด้าน C-terminal ของโปรตีน โดยกลุ่มคาร์บอกซิลของโปรตีนนั้นมีความสำคัญต่อการจับตัวระหว่างเอนไซม์และโปรตีน ความจำเพาะเจาะจงของ Carboxypeptidase ขึ้นอยู่กับโซ่ข้าง R_2 ดังโครงสร้างทางเคมีข้างล่าง



2.2.2.3 Dipeptidase (EC 3.4.3) คือเอนไซม์ซึ่งสลายพันธะไดเปปไทด์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดอะมิโน

ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอาหารของ Exopeptidase คือ ใช้กำจัดความขมในโปรตีนไฮโดรไลเสท ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากเปปไทด์

โปรตีเอสที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 โปรตีเอสที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

Type of proteinase	Source	Common names, trade names	Typical pH range	Preferential specificity
Serine proteinase	Ox, pig	Trypsin	pH 7-9	Lys-, Arg-COOH
		Chymtrypsin	pH 8-9	Phe-, Tyr-, Trp-COOH
	Bacillus licheniformis	Subtilisin Carlsberg, Alcalase, Maxatase, Optimase	pH 6-10	Broad specificity, mainly hydrophobic-COOH
	Bacillus amyloliquefaciens (Bacillus subtilis)	Subtilisin Novo, Subtilisin BPN'	pH 6-10	
	Bacillus sp. Alkalophilic	Subtilisin Esperase, Subtilisin Savinase	pH 7-12	
Cysteine proteinase	Papaya latex	Papain	pH 5-8	Broad specificity, mainly hydrophobic-X-COOH
	Pineapple stem	Bromelain	pH 5-8	
	Fig latex	Ficin	pH 5-8	
Aspartic proteinase	Ox, pig	Pepsin, pepsin A	pH 1-4	Mainly hydrophobic-COOH and -NH_2
	Calf	Chymosin, rennin	pH 4-6	Rennet specificity on casein;
	Mucor miehei	Rennilase, Fromase, Marzyme, Morcurd	pH 4-6	Mainly hydrophobic-COOH and -NH_2 on protein
	Mucor pusillus	Emporase, Meito rennet, Noury lab	pH 4-6	substrates in general
	Endothia parasitica	Surecurd, Suparen	pH 4-6	Also Glx-COOH
	Aspergillus niger (Aspergillus soitoi)	Aspergillopeptidase A (pure aspartic protease), Sumyzyme AP, Proctase, Molsin, Pamprosin (mixed with carboxypeptidase)	pH 2-5	Pure aspartic protease: like pepsin; mixed preparations: broad specificity
	Rhizopus sp.	Sumyzyme RP, Newlase	pH 3-6	Like pepsin
Mettalloproteinase	*Bacillus thermoprotiolyticus*	Thermolysin, Termoase	pH 7-9	Ile-, Leu-, Val-, Phe-, NH_2
	B. amyloliquefaciens (B. subtilis)	Neutrase	pH 6-8	Leu-, Phe-NH_2, and other

แหล่งที่มา: จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล (2541)

2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีเนสในอุตสาหกรรมอาหาร

2.3.1 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท (Protein hydrolysate)

โปรตีนไฮโดรไลเซท คือ โอลิโกเปปไทด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีนโดยเอนไซม์ ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ เช่น ความสามารถในการอุ้มน้ำ อิมัลซิไฟเออร์ ความหนืด และอื่น ๆ แตกต่างไปจากโปรตีนเริ่มต้น การใช้เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีน มีประโยชน์กับอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น การผลิตซอสปรุงรส และปรับเปลี่ยนคุณภาพเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง การผลิตโปรตีนจากของเหลือทิ้งจากสัตว์

Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษาการย่อยสลายปลาแฮริ่ง โดยใช้เอนไซม์ Alcalase 2.4 L ที่ พีเอช 8.0-8.5 อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส และ ปาเปนที่สกัดจากยางมะละกอย่อยสลายที่ พีเอช 6.0-7.0 อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส พบว่า เอนไซม์ Alcalase 2.4 L สามารถย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาแฮริ่งได้ดีกว่าเอนไซม์ปาเปน โดยเมื่อย่อยสลายเป็นเวลา 60 นาที มีระดับการย่อยสลายสูงสุดเท่ากับ 44.7 เปอร์เซ็นต์ และ 43.1เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทผลิตจากเศษปลา Pacific whiting ที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตซูริมิ ด้วยเอนไซม์ Alcalase และ Neutrase พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้มีค่าปริมาณโปรตีนเพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากโปรตีนในปลาถูกเอนไซม์ย่อยสลาย ทำให้มีขนาดเล็กลงและมีความสามารถในการละลายได้เพิ่มมากขึ้น แต่ปริมาณไขมันมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการย่อยสลายไขมันบางส่วนถูกย่อยสลายไปนั่นเอง

Kristinsson และ Rasco (2000) ศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษปลา Atlantic salmon *(Salmo salar)* ที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตซูริมิด้วยเอนไซม์โปรตีเอสชอบด่าง (alkaline proteases) 4 ชนิด คือ Alcalase 2.4L, Flavourzyme 1000L, Cololase PN-L and Corolase 7089 พบว่า ไฮโดรไลเสทที่ได้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี เช่น มีความสามารถในการละลายได้ได้ดี มีความสามารถเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี และสามารถดูดซับไขมันได้ดี

อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตตกุล (2542) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alcalase 2 เปอร์เซ็นต์ และ Neutrase 2 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตซอสปรุงรสจาก น้ำนึ่งปลาทูน่า พบว่า การใช้เอนไซม์ Alcalase 2 เปอร์เซ็นต์ ทำการย่อยสลายที่พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ Neutrase 2 เปอร์เซ็นต์ ย่อยสลายที่พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีระดับการย่อยสลายสูงสุดที่ 85.54 เปอร์เซ็นต์ และ 83.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการปรุงรสไฮโดรไลเสทและทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า การย่อยสลายวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดเป็นเวลา 60 นาที ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบมากที่สุด

คงศักดิ์ สหะศักดิ์มนตรี (2544) ได้ทำการศึกษาถึงการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ แอลฟา-อะมัยเลสเพื่อย่อยสารประกอบคาร์โบไฮเดรท และโปรตีเอสเพื่อย่อยสลาย โปรตีนของถั่วเหลือง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง ในขั้นตอนแรก และใช้เวลา 13 ชั่วโมงในขั้นตอนที่สอง ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละเอนไซม์ ปรุงแต่งกลิ่นรสไฮโดรไลเสทที่ได้ให้เป็นซอสปรุงรส พบว่า ซอสที่ได้ให้รสชาติของซอสที่ดี ผู้บริโภคให้คะแนนในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก และตรวจวัดค่าปริมาณสาร 3-MCPD ได้ 3.99 ไมโครกรัม/กก. ซึ่งถือว่าต่ำกว่าที่มาตรฐานของประเทศไทยกำหนดไว้มาก คือ 1 มก./กก. จากข้อมูลนี้อาจดัดแปลงโดยการใช้เอนไซม์จากพืช เช่น เอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด เพื่อทำการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบได้ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

ระดับการทำไฮโดรไลซิสขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความเข้มข้นของโปรตีน อัตราส่วนระหว่างโปรตีนและเอนไซม์ อุณหภูมิ และพีเอช โดยปกติแล้วเมื่อเวลาของการเกิดปฏิกิริยานานขึ้น ระดับการไฮโดรไลซิสจะเพิ่มมากขึ้น และที่เวลาเดียวกันระดับการเกิดไฮโดรไลซิสจะแปรผันตามอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์และโปรตีน (Beak and Cadwallader, 1995) ดัชนีการบอกระดับการเกิดไฮโดรไลซิส ดังนี้

2.3.1.1 ระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis, DH)

คือ ปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ เมื่อเกิดไฮโดรไลซิสของพันธะเปปไทด์นั้น จะมีผลให้จำนวนกลุ่มคาร์บอกซิลและอะมิโนที่ปลายสายโปรตีนเพิ่มขึ้น ซึ่งกลุ่มคาร์บอกซิลและอะมิโนนี้สามารถแตกตัวขึ้นอยู่กับพีเอชของระบบ กล่าวคือ หากค่าพีเอชมากกว่า pKa ของคาร์บอกซิล (3.1-3.6) ก็จะมีผลให้อยู่ในรูป COO^- และหากพีเอชมีค่ามากกว่า pKa ของกรดอะมิโน (7.5-7.8) กลุ่มอะมิโนจะอยู่ในรูป NH_2 ซึ่งทั้ง 2 กรณีมีผลให้ H^+ ของระบบเพิ่มขึ้น ดังนั้นการติดตามปริมาณ H^+ ที่เพิ่มขึ้นโดยการไทเทรตกับสารละลายด่างจึงเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้สำหรับติดตามจำนวนพันธะเปปไทด์ที่เกิดไฮโดรไลซิส ซึ่งเป็นหลักการของเครื่องมือ pH-stat (Qui, Sreedharan and Brocklehurst, 1998)

นอกจากหลักการของ pH-stat แล้วยังสามารถวิเคราะห์ DH ได้จากปริมาณแอลฟา-อะมิโน ที่เพิ่มขึ้น (Adler-Nissen, 1986) ค่า DH สามารถเขียนในรูปทั่วไปได้เป็น

$$DH = \frac{h}{h_{to}} \times 100$$

เมื่อ h = จำนวนพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อยสลาย

h_{to} = จำนวนพันธะเปปไทด์ทั้งหมด

ข้อดีของการใช้ค่า DH ในการติดตามระดับการเกิดไฮโดรไลซิสของโปรตีนคือ ค่าดังกล่าวไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณสารตั้งต้น อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์และสารตั้งต้น และอุณหภูมิ ถึงแม้ปริมาณสารตั้งต้นและเอนไซม์ของ 2 ตัวอย่างไม่เท่ากัน แต่มีอัตราส่วนที่เท่ากัน DH ของทั้งสองตัวอย่างก็จะเท่ากัน เวลาเป็นตัวแปรซึ่งบ่งบอกถึงระดับการเกิดไฮโดรไลซิสที่ไม่ดีนัก เนื่องจากระดับการเกิดไฮโดรไลซิสที่เวลาต่าง ๆ จะขึ้นอยู่กับปริมาณสารตั้งต้น เอนไซม์ และอุณหภูมิ (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 2541)

2.3.1.2 Protein solubility index (PSI)

คือ อัตราส่วนระหว่างปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ต่อโปรตีนที่ใช้เป็นสารตั้งต้นทั้งหมด การเกิดไฮโดรไลซิสของโปรตีนทำให้ได้เปปไทด์มีขนาดสั้นลงและสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่านี้เป็นตัวบ่งบอกระดับการเกิดไฮโดรไลซิสได้ (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 2541)

2.3.1.3 Peptide chain length (PLC)

คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ที่ละลายได้ (soluble peptide) เมื่อเกิดไฮโดรไลซิสของโปรตีนทำให้ได้เปปไทด์สายสั้นลงและมีความสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น ส่วนสายโปรตีนซึ่งยังคงมีขนาดใหญ่จะไม่ละลายน้ำ ดังนั้น เมื่อระดับไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น ค่า PLC จะลดลง เนื่องจากเปปไทด์ที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสมีขนาดสั้นลง (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 2541)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีนมักจะเกิดปัญหาในเรื่องรสขมเนื่องจากการเกิดเปปไทด์สายสั้น โดยเฉพาะเปปไทด์ที่เกิดจากกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ซึ่งพบว่าเปปไทด์จะมีแนวโน้มที่ให้รสขมหากมีค่าความไม่ชอบน้ำสูง และยังพบว่า รสขมจะเพิ่มขึ้นตามระดับการเกิดไฮโดรไลซิส การลดปัญหารสขมนี้สามารถทำได้โดยตกตะกอนเปปไทด์ โดยปรับ pH = pI ของเปปไทด์นั้น ๆ และแยกตะกอนโดยการปั่นเหวี่ยง (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 2541)

2.3.2 การทำเบียร์ให้ใส

สาเหตุของความขุ่นในเบียร์ (haze) เกิดจากการรวมตัวของโพลีเปปไทด์และแทนนิน (tannin) จากฮอพโดยเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลุ่ม –OH ของแทนนินและกลุ่มคาร์โบนิลของพันธะเปปไทด์และในที่สุดเกิดการรวมตัวเป็นสารเชิงซ้อนด้วยพันธะโควาเลนท์ ดังนั้นการใช้เอนไซม์โปรตีเอสจึงสามารถช่วยกำจัดปัญหาดังกล่าวได้ เอนไซม์ที่นิยมใช้คือ ปาเปน เปปซิน ฟิซิน โบรมิเลน และทริปซิน เป็นต้น ทั้งในลักษณะเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป ซึ่งนับว่าได้ผลดี

แต่อาจมีผลต่อคุณภาพการเกิดฟองของเบียร์ คือ หากใช้เอนไซม์ที่ทำการตัดสายโปรตีนแบบไม่จำกัดและไม่จำเพาะ จะทำให้ได้เบียร์ที่ไม่มีฟองแต่มีการไหลรินดี (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

2.3.3 การผลิตเนยแข็ง

โปรตีเอสที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตเนยแข็งคือ เรนนิน หรือชื่อทางการค้าคือ เรนเนท (rennet) มีบทบาทสำคัญในการลดระยะเวลาในการบ่มเนยแข็ง โดยจะทำการตัดสายพันธะเปปไทด์ในโปรตีนนม (เคซีน) ได้ผลผลิตเป็น para-kappa-casein หรือเคซีนสายสั้น เกิดเป็นตะกอนลิ่มนมที่ไม่ละลายน้ำและนำไปสู่อุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็งด้วยกรรมวิธีเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (วิทยา มีวุฒิกุล, 2540)

2.3.4 ผลิตภัณฑ์ขนมอบ

การเติมโปรติเอสจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มีผลให้โมเลกุลของกลูเตนเกิดไฮโดรไลซิสมีขนาดเล็กลง ส่งผลให้ก้อนโด (dough) มีความสามารถในการยืดตัว (extensible) และความอ่อนตัว (pliable) มากขึ้น ทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมปังมีความเป็นรูพรุนสม่ำเสมอ ขนาดก้อนโต (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

2.4 เห็ด (Mushroom)

เห็ดเป็นราที่มีความสำคัญต่อมนุษย์มากทั้งด้านอาหาร ยา และสิ่งแวดล้อม ในโลกนี้มีเห็ดประมาณ 38,000 ชนิด แต่ที่คนรู้จักนำมารับประทานได้มีเพียงประมาณ 2,000 ชนิด จากรายงานปริมาณการผลิตเห็ดทั่วโลกในปี 1997 พบว่ามีปริมาณเพิ่มสูงถึง 6.34 ล้านเมตริกตัน เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณการผลิตในปี 1994 พบว่ามีเพียง 4.92 ล้านเมตริกตัน (Matila et al., 2001)

นอกจากจะใช้ประโยชน์ในด้านการนำไปประกอบและปรุงอาหารให้มีรสชาติอร่อยแล้ว ในอดีตยังมีการใช้เห็ดเป็นสมุนไพรมานานกว่า 4,000 ปี ในประเทศจีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน และเกาหลี ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ตัวอย่างเห็ดสมุนไพรที่ใช้ เช่น เห็ดหอม เห็ดหลินจือ ไมตาเกะ (maitake) คอร์ดีเซพ (cordyceps) และเห็ดอื่น ๆ เห็ดสมุนไพรที่ใช้กันมานานและแพร่หลายมากที่สุดในประเทศจีนและญี่ปุ่นคือ เห็ดหลินจือ ซึ่งต่อมาประมาณปี ค.ศ.1960 ได้ขยายตลาดไปทางยุโรป และอเมริกา เห็ดสมุนไพรบางชนิดยังใช้เป็นอาหารด้วย เช่น เห็ดหอม

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างชนิดและสรรพคุณของเห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพรในอดีต

ชื่อ	สรรพคุณ
เห็ดขิง	แก้หวัด ปวดตามข้อ
เห็ดแคระ	แก้อ่อนเพลีย รักษาโรคสตรี
เห็ดตับเต่า	แก้หวัด ปวดในข้อ รักษาตกขาว
เห็ดนางรม	ช่วยให้หายใจสะดวกขึ้น ระงับการปวดตามข้อ ยับยั้งมะเร็ง
เห็ดเป๋าฮื้อ	ต่อต้านแบคทีเรียพวกกรัมบวก ต่อต้านมะเร็ง
เห็ดหูหนูขาว	ช่วยการทำงานของอวัยวะ ไต ปอด สำไส้ กระเพาะ หัวใจ และสมอง แก้ไอ
เห็ดหูหนูดำ	แก้ร้อนใน หายใจไม่สะดวก แก้เจ็บคอ แก้ไข้ ลดความดันโลหิต ห้ามเลือด แก้ปวดแผล บำรุงร่างกาย

แหล่งที่มา**:** ศิริวรรณ สุทธจิตต์และ ไมตรี สุทธจิตต์ (2548)

การจำแนกประเภทของเห็ดอาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามการใช้ประโยชน์ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548) คือ

1. เห็ดที่ใช้เป็นอาหาร (Dietary mushroom) มีอยู่ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ของเห็ดที่พบทั่วไป เช่น เห็ดฟาง เห็ดนางรม เห็ดหอม เห็ดหูหนู เห็ดโคน เห็ดเข็มทอง และเห็ดระโงกที่ไม่มีพิษ ซึ่งมีทั้งสีขาวและสีเหลืองเป็นต้น

2. เห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพร (Medicinal mushroom) เห็ดสมุนไพรมีค่อนข้างจำกัด อาจเป็นเห็ดที่กินได้และรู้จักกันคุ้นเคยกันดี เช่น เห็ดหอม เห็ดหลินจือ และเห็ดหูหนู เป็นต้น หรือเห็ดบางอย่างอาจไม่เป็นที่รู้จักและหายาก เช่น เห็ดหัวลิง และเห็ดไมตาเกะ เป็นต้น นอกจากนี้เห็ดสมุนไพรยังได้จากเห็ดพิษบางชนิดด้วย เช่น เห็ดพิษเบื่อเมา เห็ดร่างแห และเห็ดอื่น ๆ ที่ยังไม่มีการวิจัยและพัฒนาอีกหลายชนิด นอกจากจะนำเห็ดเหล่านี้มาเป็นยาสมุนไพรได้แล้ว ยังอาจนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้อีกด้วย

2.5 คุณประโยชน์ของเห็ด

2.5.1 แหล่งของสารอาหาร

สำหรับด้านโภชนาการถือว่าเห็ดเป็นอาหารที่ดี เห็ดสดมีองค์ประกอบ ความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์มีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบ คือ

มีดรรชนีกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid index) เท่ากับ 72-98 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อสัตว์ และมีกรดนิวคลีอิกค่อนข้างสูง เห็ดสดมีคาร์โบไฮเดรต ระหว่าง 3-28 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 3-32 เปอร์เซ็นต์ และให้พลังงานน้อยเพียง 60-90 แคลอรี่/ปอนด์ น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเห็ดมีหลายชนิด ความหวานของเห็ดเนื่องจากน้ำตาลพิเศษ เช่น แอลฟา-ทรีฮาโลส (α-trehalose) ซึ่งถูกเรียกเฉพาะว่าเป็น น้ำตาลเห็ด (mushroom sugar) น้ำตาลนี้จะพบมากในเห็ดอ่อน เมื่อเห็ดโตเต็มที่น้ำตาลทรีฮาโลสนี้จะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่มีรสหวานลดลง (ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และไมตรี สุทธจิตต์, 2548)

เห็ดทั่วไปมีไขมันต่ำมากประมาณ 2-8 เปอร์เซ็นต์ เห็ดหลายชนิดจะมี ergosterol สูง 0.2-270 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสารชนิดนี้ถือสารเริ่มต้น (precusor) ในการผลิตไวตามิน D ในสภาวะที่มีแสงแดดหรือมีการฉายรังสี (Mattila et al., 2001) ทำให้เห็ดเป็นแหล่งที่ดีของไวตามินบีหนึ่ง บีสอง ไนอะซิน ไบโอติน ไวตามินซี และไวตามินดี เห็ดบางชนิดจะมีเบต้า-แคโรทีน (β-carotene) ด้วย ส่วนเกลือแร่ที่พบได้มากในเห็ดหลินจือ คือ ฟอสฟอรัส โซเดียม และโปแตสเซียม รองลงมาคือ แคลเซียม และชนิดที่มีน้อย คือ เหล็ก

ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบทางอาหารของเห็ดส่วนที่กินได้ 100 กรัม

ชื่อ	พลังงาน (Kcal)	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	แป้งและน้ำตาล (กรัม)	Ca (มก.)	P (มก.)	Fe (มก.)	Vit B_1 (นก.)	Vit B_2 (นก.)	Niacin (นก.)	Vit C (นก.)
เห็ดโคน	38	7.2	-	5.4	9	6	1.6	0.12	0.35	-	9
เห็ดฟาง	43	3.0	1.8	3.8	8	20	1.1	0.16	0.25	13.7	2
เห็ดหูหนู	-	1.4	0.1	9.1	60	นม.	6.1	0.04	0.71	2.8	21
เห็ดนางรม	32.39	2.1	0.3	4.3	8.9	170	1.9	0.02	0.13	2.7	21
เห็ดเป๋าฮื้อ	-	3.4	0.2	3.2	-	18	22.2	9.7	0.47	3.0	7
เห็ดขมิ้น	-	2.7	0.5	2.3	2	17	1.6	0.03	0.44	3.7	7

หมายเหตุ: นม. = น้อยมาก

แหล่งที่มา: สาธิต ไทยทัตกุล (2546)

ดังนั้นในปัจจุบันนี้จึงเป็นที่ยอมรับกันว่า เห็ดเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น ๆ (ตารางที่ 2.3, 2.4 และ 2.5) อีกทั้งมีราคาถูก มีกลิ่นและรสดี มีความหลากหลายให้เลือกได้มาก เห็ดพื้นบ้าน

เช่น เห็ดโคน เห็ดเผาะ เห็ดไข่ห่าน และเห็ดเพาะเลี้ยงเช่น เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหอม จึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเพื่อสุขภาพเป็นแหล่งของโปรตีน และสารชูรสในอาหารมังสวิรัติและอาหารเจ รวมทั้งเป็นวัตถุดิบในการเตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมน้ำหนักหลายชนิด

ตารางที่ 2.4 ดรรชนีของกรดอะมิโนจำเป็นและดรรชนีทางโภชนาการของเห็ดเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ต่าง ๆ

ชนิดอาหาร	Essential amino acid index (EAA)	Amino acid scores (AAS)	Nutritional indexes (NI)
หมู ไก่ เนื้อวัว	100	100	59
เห็ด	72-98	32-89	5-28

แหล่งที่มา**:** ศิริวรรณ สุทธจิตต์และ ไมตรี สุทธจิตต์ (2548)

ตารางที่ 2.5 เปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของเห็ดกับอาหารชนิดอื่น (เปอร์เซ็นต์)

ชนิดของอาหาร	แคลอรี่ 100 กรัม	น้ำ	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรท	เกลือแร่
เห็ด	25	92	3.5	0.3	4.5	1.0
นม	62	87	3.5	3.7	4.8	0.7
มันฝรั่ง	85	75	2.0	0.1	21.0	1.1
เนื้อ	189	68	18.0	13.0	0.5	0.5

แหล่งที่มา : ยงยุทธ ขจรวิทย์ (2546)

2.5.2 เห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพร

2.5.2.1 บทบาทการลดไขมันในเลือด

เห็ดกินได้หลายชนิดเช่น เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหอมมีฤทธิ์ในการลดไขมันในเลือด Choi and Shin (1998) สามารถสกัดเอนไซม์สลายไฟบรินจากดอกเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีความสำคัญเกี่ยวกับโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยเอนไซม์ตัวนี้จะไปมีผลละลายลิ่มเลือดที่อาจเกิดขึ้นได้ในหัวใจและหลอดเลือด

ปัจจุบันการค้นหาสารที่มีผลไปละลายลิ่มเลือดเพื่อที่จะนำมาใช้ในทางการแพทย์ได้รับความสนใจอย่างมาก

สารสกัดจากพวกเห็ดเป๋าฮื้อ ทำให้ความดันโลหิตในหนูพุกขาว และหนูแฮมสเตอร์ (hamster) ลดลงและสารสกัดจากเห็ดหลายชนิดก็มีฤทธิ์ลดไขมัน กลไกการลดไขมันอาจเกิดโดยสารจำพวกเส้นใยที่มีปริมาณสูงในเห็ด ช่วยดูดซับและขัดขวางการดูดซึมไขมันในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังพบในหนูทดลองอีกว่าสารสกัดจากเห็ดบางชนิดช่วยเพิ่มการนำสารไขมันบางชนิดไปใช้ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548)

2.5.2.2 บทบาทการต่อต้านมะเร็ง

เห็ดหลายชนิด เช่น เห็ดหลินจือ เห็ดหอม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดเข็มทอง เห็ดหูหนู เห็ดแชมปิยอง เห็ดตับเต่า และเห็ดจั่น (*Tricholoma* spp.) มีสารช่วยป้องกันมะเร็ง ซึ่งอาจเนื่องมาจากกลไกในการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกายของมนุษย์ (Zhang, Cheung, Zhang, Chiu and Ooi, 2004) นอกจากนี้ Zhuang et al. (1993) ทำการทดลองสกัดโพลีแซคคาไรด์ในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า และนำมาใช้กับสัตว์ทดลอง พบว่า โพลีแซคคาไรด์ในเห็ดสามารถช่วยลดโอกาสในการเกิดมะเร็งได้

2.5.2.3 บทบาทการลดระดับคอเลสเตอรอล

เห็ดนางรมช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในสัตว์ทดลอง ซึ่งจากการศึกษาวิจัยพบว่า เห็ดมีสารหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นยา และมักจะมีสารที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ ใยอาหารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ และ protein-bound polysaccharide เช่น (1-3) β-D-glucan จากเห็ดหลายชนิด ใยอาหารเหล่านี้จะมีบทบาทในการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดให้อยู่ในช่วง 5-10 เปอร์เซ็นต์ได้ อันเนื่องมาจากเส้นใยเป็นตัวแยกกรดน้ำดี สารคอเลสเตอรอล และไขมัน โดยป้องกันการดูดซึมกลับเข้าไปในทางเดินโลหิตของสารเหล่านี้ จึงทำให้คอเลสเตอรอลที่ถูกสร้างขึ้นมาถูกขับออกจากเลือดเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดลดลงไปนั่นเอง (Cheung and Lee, 1998; Mattila, Vaananen, Konko, Aro and Jalava, 2002)

2.5.2.4 บทบาทการมีฤทธิ์ต่อต้านไวรัส

จากการศึกษาของ Zhang, Cheung, Ooi, and Zhang (2004) พบว่าเมื่อทำการสกัด β-glucan จากเห็ด *Pleurotus tuber-rigium* หรือเห็ดนางรมหัว ด้วยสารละลายด่างจะได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส HIV และ HSV สารที่สกัดได้คือ dextran sulfate โดยจากการทดลองที่ปริมาณ 200 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งเป็นค่า IC_{50} จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

ไวรัสสายพันธุ์ HSV ได้ดีกว่ายาทางการค้า กลไกของการต่อต้านไวรัสเกิดจากการที่ประจุลบบนสายพอลิแซ็กคาไรด์ของสารประกอบซัลเฟตทำปฏิกิริยากับประจุบวกในไกลโคโปรตีนของเชื้อไวรัส มีผลขัดขวางการจับกันระหว่างเชื้อไวรัสกับ host cell

2.5.2.5 บทบาทการเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมน้ำหนัก

บทบาทของเห็ดทวีความสำคัญยิ่งขึ้นในการเตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมน้ำหนัก เช่น ไคโตแซน (chitosan) และกรดนิวคลิอิก เป็นที่ทราบและยอมรับกันว่า สารไคโตแซนเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมน้ำหนักและส่งเสริมสุขภาพที่ดีชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่ไคโตแซนที่มีจำหน่ายนั้นเตรียมมาจากสารไคติน (chitin) ในเปลือกหอยและปู ซึ่งปัจจุบันได้มีการศึกษาพบว่า ผนังเซลล์ของเห็ดมีไคตินเป็นองค์ประกอบอยู่เป็นจำนวนมาก (Cheung, 1996; Cheung and Lee, 2000; Mattila, Vaananen, Konko, Aro and Jalava, 2002) เมื่อกินเข้าไป ไคตินจะถูกเอนไซม์ในทางเดินอาหาร เปลี่ยนให้เป็นสารไคโตแซน ที่มีคุณสมบัติละลายในน้ำได้ดี มีคุณสมบัติดูดซับไขมันและลดระดับไขมันในเลือดได้ นอกจากนี้ สารไคโตแซนนี้สามารถรวมกับเกลือน้ำดีในลำไส้ได้ การขาดเกลือน้ำดีจะทำให้การละลายและการดูดซึมของไขมันลดลงด้วยไคโตแซนจึงถูกนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ลดหรือชะลอความอ้วน ป้องกันการเพิ่มไขมันในเลือดได้ดี (วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2545)

สารไคโตแซนนอกเหนือจากใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ไขมัน และลดความอ้วนควบคุมรูปร่างแล้ว ยังใช้เป็นสารช่วยการเตรียมยา (pharmaceutical aids) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้อีกหลายชนิด เช่น O-carboxymethylchitin และ O-hydroxypropylchitosan ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง นอกจากนี้ยังมีการใช้ไคตินในการรักษาแผล เป็นตัวผสมกับยาทำให้เกิดการปลดปล่อยของยาเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ในเนื้อเยื่อสัตว์ เป็นต้น (วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2545)

จากคุณประโยชน์ของเห็ดข้างต้น จึงน่าจะมีการแปรรูปเห็ดเป็นอาหารประเภทต่าง ๆ เพื่อที่จะเป็นการเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบทางการเกษตร และยังเป็นการใช้วัตถุดิบที่มีมากในท้องตลาดให้มีความหลากหลายเพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคโดยเฉพาะผู้ที่รับประทานอาหารมังสวิรัติ เช่น การทำผลิตภัณฑ์เลียนแบบแหนมจากเห็ดนางฟ้า นางรม ซึ่งพบว่าได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคสูง (รัฐพล ศรประเสริฐ และสุภัทรา การันทรรัตน์, 2543) และการแปรรูปเห็ดบรรจุกระป๋อง เป็นต้น และอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ คือการผลิตเป็นซอสปรุงรส เพื่อเป็นทางเลือกสำหรับผู้บริโภคที่แพ้โปรตีนในถั่วเหลือง หรือผู้ที่ต้องการความปลอดภัยจากวัตถุดิบที่มีการตัดต่อทางพันธุกรรม เช่น GMOs ซึ่งมีมากในวัตถุดิบถั่วเหลือง

โดยเห็ดที่น่าสนใจในการศึกษาและมีราคาถูกเหมาะในการแปรรูป คือ เห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า เนื่องจากเป็นเห็ดที่นิยมเพาะและบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ทั้งนี้เพราะการเพาะเห็ดในสกุลนางรมนั้นเพาะได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเห็ดชนิดอื่น เช่น เห็ดฟาง ซึ่งต้องอาศัยประสบการณ์ค่อนข้างสูง (ยงยุทธ์ สายฟ้า, สุวิชัย วงศ์ษา และสันชัย ตันตยาภรณ์, 2537) ต่างจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่ผู้สนใจสามารถเรียนรู้ได้จากการดูแบบอย่างจากผู้ที่กำลังทำอยู่หรือเข้ารับการฝึกอบรมจากทางราชการเพียงครั้งเดียวก็สามารถเพาะได้ด้วยตัวเอง

2.6 ชีววิทยาและประวัติของเห็ดที่ใช้ในงานวิจัย

ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าเห็ดที่นิยมนำมาแปรรูปคือ เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะใช้เห็ดดังกล่าวเป็นวัตถุดิบในการทดลอง

2.6.1 เห็ดนางรม

เห็ดนางรมมีชื่อตรงกับภาษาอังกฤษว่า Oyster mushroom และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer เป็นเห็ดในตระกูล Tricholomataceae มีน้ำย่อยที่ใช้ย่อยสารประกอบเชิงซ้อนจำพวกเซลลูโลสและลิกนินได้เป็นอย่างดี บางครั้งจะพบว่าเป็นปรสิตอย่างอ่อน คือ กินต้นไม้เป็น ๆ ได้ (บรรณ บูรณะชนบท, 2545) ลักษณะของเห็ดนางรมโดยทั่วไป มีหมวกเห็ดคล้ายหอยนางรม ดอกเห็ดมีสีขาว ก้านดอกจะเป็นเนื้อเดียวกันกับหมวก ลักษณะของหมวกดอกเห็ดจะเว้าตรงกลาง ผิวด้านบนโค้งเรียบ อ่อนนุ่มและกลม ขอบดอกจะห้อยย้อยลงมาด้านล่าง เมื่อโตเต็มที่ด้านหลังดอกจะมีลักษณะเป็นครีบ เจริญเติบโตได้ดีที่พีเอช 5-5.2 เป็นกรดเล็กน้อย อุณหภูมิที่เหมาะสำหรับสร้างดอกเห็ดคือ 25 องศาเซลเซียส พันธุ์ที่เพาะในเมืองไทย ดร.วินิจ แจ้งศรี นำสายพันธุ์มาจากฟลอริด้า เป็นพันธุ์ที่ปรับตัวได้ง่าย สามารถขึ้นได้ดีในช่วงที่อากาศร้อนอย่างเดือนเมษายนของไทย จากการประเมินผลผลิตของเห็ดนางรม เมื่อ พ.ศ. 2535 พบว่า ผลผลิตของเห็ดชนิดนี้ ส่งขายที่ปากคลองตลาด และตลาดสี่มุมเมืองถึงวันละ 10 ตัน ส่วนในเทศกาลกินเจ การผลิตจะเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว (กัญญาณัฐ ระวิงทอง, 2538)

2.6.2 เห็ดนางฟ้า

เห็ดนางฟ้า มีรูปร่างลักษณะคล้ายคลึงกับเห็ดนางรม เห็ดทั้งสองชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกัน ซึ่งชื่อนี้เป็นชื่อที่ตั้งขึ้นที่เมืองไทย คนไทยบางคนเรียกเห็ดแขก เนื่องจากมีผู้พบเห็นเห็ดนี้ครั้งแรกที่ประเทศอินเดีย บริเวณเชิงเขาหิมาลัย ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers เห็ดนางฟ้าถูกนำไปเลี้ยงในอาหารวุ้นเป็นครั้งแรกโดย Jandaik ในปี ค.ศ. 1947 ต่อมา Rangaswami และ Nadu แห่ง Agricultural University, Coimbattore ในอินเดีย

เป็นผู้นำเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดนางฟ้าไปฝากไว้ที่ American Type Culture Collection (ATCC) ในอเมริกาเมื่อปี ค.ศ. 1975 ต่อมาประมาณปี ค.ศ. 1977 ทางกองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร เป็นผู้นำเชื้อจาก ATCC เข้ามาประเทศไทยเพื่อทดลองเพาะปรากฏว่าสามารถเจริญได้ดี (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2545) ลักษณะของดอกเห็ดนางฟ้า มีลักษณะคล้ายกับดอกเห็ดเป๋าฮื้อ และดอกเห็ดนางรม สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นได้นานหลายวัน เนื่องจากเห็ดชนิดนี้ไม่มีการหดตัวเหมือนกับเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้ามีรสอร่อย สามารถนำไปตากแห้ง เก็บไว้เป็นอาหารได้ เมื่อปรุงอาหารก็แช่น้ำเห็ดจะคืนรูปได้ (บรรณ บูรณะชนบท, 2545)

เห็ดทั้งสองชนิดจัดเป็นเห็ดที่อยู่ในสกุลเดียวกัน คือ เป็นเห็ดในตระกูลนางรม มีประโยชน์คือ จะมีส่วนประกอบของวิตามิน บี 1, บี 2 และมีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่หลายชนิด จะแตกต่างกันบ้างในเรื่องปริมาณที่มีอยู่ไม่เท่ากัน สำหรับเห็ดนางรมมีไอโซลิวซีน 266 มิลลิกรัม ทริปโตเฟน 87 มิลลิกรัม และวาลีน 291 มิลลิกรัม ตัวดอกเห็ดใช้บำบัดอาการปวดเอว ปวดขา อาการชาตามแขน ขา ขยายหลอดเลือด และอาการเอ็นยืด น้ำสารสกัดจากเห็ดยับยั้งเซลล์มะเร็ง sarcoma ในหนูขาว ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ และเซลล์ ehrlich carcinoma ได้ 60 เปอร์เซ็นต์ (สาธิต ไทยทัตกุล, 2546)

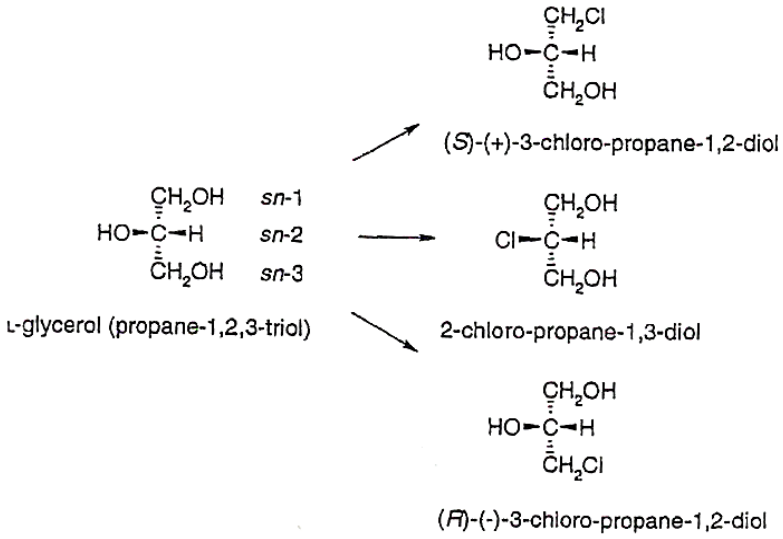
เห็ดในตระกูลนางรมเพิ่งจะมีการศึกษาค้นคว้าเชิงวิทยาศาสตร์เมื่อประมาณ 2 ทศวรรษที่ผ่านมา Chang (1993 and 1996) ให้ข้อมูลว่าเห็ดตระกูลนางรมมีคุณสมบัติกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันมีผลต่อการลดปริมาณน้ำตาลในเลือด มีผลต่อการเกาะตัวเป็นก้อนของเลือด ช่วยปรับสภาพความดันโลหิตและความเข้มข้นของไขมันในเลือด ยับยั้งการเติบโตของเนื้อร้าย ลดอาการอักเสบ ลดการก่อโรคของจุลินทรีย์ มีการใช้เห็ดตระกูลนางรมเป็นอาหารพิเศษในการควบคุมอาหารเพื่อสุขภาพทั้งในยุโรป สหรัฐ และเอเชีย (กลิ้งกลางดง, 2544)

2.7 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาร 3-MCPD และ DCP

3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) และ 1,3-dichloro-2-propanol (DCP) เป็นสารปนเปื้อนกลุ่ม chloropropanols สาร 3-MCPD เป็นสารที่พบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์โปรตีนของพืชที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรด (acid-hydrolysis vegetable protein – HVP) เช่น โปรตีนในถั่วเหลืองที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก เป็นซอสปรุงรสที่ผลิตจำหน่ายทั่วโลกในขณะนี้ (Wong, Cheong and Seah, 2005) ซึ่งส่วนใหญ่ยังไม่สามารถหลีกเลี่ยงที่จะใช้วิธีการผลิตดังกล่าวเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่มีรสชาติหอมอย่างในขณะนี้

สาร 3-MCPD เกิดจากกระบวนการผลิตที่ใช้วิธีย่อยสลายโปรตีนของพืชโดยการใช้กรด เช่น กรดเกลือที่มีความเข้มข้นสูง ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งในขณะเดียวกันนั้น จะเกิด

กระบวนการคลอริเนชั่นของน้ำมันและไขมันที่เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในวัตถุดิบพืช ซึ่งกระบวนการดังกล่าวทำให้เกิดสารปนเปื้อน 3-MCPD และ DCP ขึ้น (Chung, Hui and Chen, 2002; Hamlet et al., 2002; Lee et al., 2004; คณะกรรมการอาหารและยา, 2546) ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ปฏิกิริยาการเกิดสาร 3-MCPD
แหล่งที่มา: Hamlet et al. (2002)

2.7.1 ความเป็นพิษของสาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD)

สาร 3-monochloropropane-1,2-diol หรือ 3-MCPD สามารถกระจายตัวอยู่ในของเหลวของร่างกาย และบางส่วนถูกออกซิไดซ์เป็นสาร β-chlorolactic acid และ oxalic acid อีก 30 เปอร์เซ็นต์ จะแตกตัวและถูกขับออกไปในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ (สถาบันอาหาร, 2548) ปริมาณที่เป็นพิษ Oral LD_{50} เท่ากับ 152 มก./กก. น้ำหนักตัว ในหนูทดลอง (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

2.7.1.1 การศึกษาในสัตว์ทดลอง

ก. การศึกษาในสัตว์ทดลองระยะสั้น พบว่า สาร 3-MCPD มีพิษต่อไต จากการศึกษาในหนู ที่ปริมาณ 75 มก. โดยฉีดหนึ่งครั้งเข้าใต้ผิวหนัง ทำให้หนูเกิดท่อไตผิดปกติ (renal tubular necrosis and dilatation) โดยตรวจพบความผิดปกติของไตในสัตว์ทดลองทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจาก oxalic acid ซึ่งเป็นเมตาโบไลท์ของ 3-MCPD ทำให้เกิด calcium oxalate ในท่อไต และยังมีฤทธิ์ทำให้น้ำหนักไต (relative weight) เพิ่มขึ้น ถ้าได้รับ 30 มก./กก. น้ำหนัก

ตัว ใน 4 สัปดาห์ หรือ 9 มก./กก. น้ำหนักตัว ในน้ำดื่มเป็นเวลา 3 เดือน นอกจากนี้ทำให้น้ำหนักไตของหนู (absolute weight) เพิ่มขึ้นถ้าได้รับ 1.1 มก./กก. น้ำหนักตัวต่อวัน ในน้ำดื่มเป็นเวลา 104 สัปดาห์

จากการศึกษาในลิง พบว่า ทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง (anaemia) ภาวะเม็ดเลือดขาวลดลง (leucopenia) และภาวะเกล็ดเลือดลดลง (thrombocytopenia) ในขนาด 30 มก./กก. น้ำหนักตัวต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ทางปาก (สถาบันอาหาร, 2548)

ข. การศึกษาในสัตว์ทดลองระยะยาว เป็นการศึกษาในหนู (rat) พบว่าเกิดผลการก่อมะเร็ง (carcinogenic effect) และอุบัติการณ์เกิดเนื้องอก (tumor) ในไตของหนูทั้งสองเพศ และเนื้องอกที่ลูกอัณฑะ (testis) ต่อมน้ำนม (mammary gland) และ ต่อมพรีพิวเชียล (preputial gland) ของหนูตัวผู้ เมื่อได้รับสาร 3-MCPD ขนาด 1.1, 5.2 และ 28 มก./กก. น้ำหนักตัวต่อวัน ตามลำดับ ในน้ำดื่มเป็นเวลา 104 สัปดาห์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการตอบสนองของ target organ (ไต) หรือ ระดับฮอร์โมนถูกรบกวน (ความเป็นพิษที่ testis, mammary gland) (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

2.7.1.2 การศึกษาในมนุษย์

จากการทดลองในหลอดทดลองพบว่า 3-MCPD จะออกฤทธิ์ลดการเคลื่อนที่ของ human spermatozoa (เชื้ออสุจิ) และล่าสุดเมื่อปี 2005 สถาบัน Committee of Mutagenicity of Chemicals in Food (COM) ได้สรุปว่า สาร 3-MCPD ไม่มีศักยภาพในการเป็นพิษทางพันธุกรรม (genotoxic) ในร่างกายมนุษย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (นิรนาม, 2548)

2.7.1.3 การประมาณการได้รับสาร 3-MCPD

จากข้อมูลของประเทศอังกฤษพบว่า ค่าเฉลี่ยของสาร 3-MCPD ในซอสถั่วเหลืองจำนวน 90 ตัวอย่างอยู่ที่ 18 มก./กก. และข้อมูลจากสหรัฐอเมริกาพบว่า ค่าเฉลี่ยของการบริโภคของคนอเมริกันได้รับอยู่ที่ 140 ไมโครกรัม/คน/วัน (สถาบันอาหาร, 2545)

2.7.2 ความเป็นพิษของสาร 1,3-dichloro-2-propanol (DCP)

ในกระบวนการ การดูดซึม การกระจายตัว เมตาบอลิซึ่มและการขับถ่ายในร่างกายประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของสาร DCP จะถูกขับถ่ายทางปัสสาวะในรูป β-chlorolactate acid บางส่วนถูกไฮโดรไลซ์เป็นสาร 3-MCPD และถูกขับถ่ายในรูปของ β-chlorolactate acid และต่อมากลายเป็น oxalic acid ในที่สุด (สถาบันอาหาร, 2548) ปริมาณที่เป็นพิษ Oral LD_{50} เท่ากับ 122 มก./กก. น้ำหนักตัว ในหนู (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

2.7.2.1 การศึกษาในสัตว์ทดลอง

จากการทดลองในหนู (rat) พบว่า สาร DCP มีพิษต่อตับ ไต ชักนำทำให้เกิดเนื้องอกชนิดร้ายแรงและไม่ร้ายแรงในตับ ไต ต่อมไทรอยด์ เยื่อเมือกช่องปากและลิ้น ถ้าให้สารนี้ในปริมาณกลางและสูง และยังพบผลการก่อมะเร็งในขนาด 2.1, 6.3 และ 19 มก./กก. น้ำหนักตัวต่อวัน ในน้ำดื่มเป็นเวลา 104 สัปดาห์ สาร DCP ยังมีฤทธิ์เป็นพิษทางพันธุกรรม รวมทั้งมีผลต่อโครโมโซมในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมของเซลเพาะเลี้ยงเกิดการกลายพันธุ์ (gene mutations) ในแบคทีเรีย และสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลเพาะเลี้ยง M2-fibroblast ของหนูได้

2.7.2.2 การศึกษาในมนุษย์

หลังจากรับประทานจะเกิดการระคายเคืองอย่างรุนแรงที่ลำคอและกระเพาะอาหาร

2.7.2.3 การประมาณการได้รับสาร DCP

จากข้อมูลจากสหรัฐอเมริกาพบว่า การบริโภคซอสถั่วเหลืองจะได้รับสาร DCP เฉลี่ยประมาณ 7 ไมโครกรัม/คน/วัน และข้อมูลจากออสเตรเลียพบว่า การบริโภคซอสถั่วเหลือง 11 กรัม/คน/วัน จะได้รับ DCP 10 ไมโครกรัม/คน/วัน

คณะกรรมการ JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) ได้ใช้อัตรา 3-MCPD:DCP เท่ากับ 20:1 ในการได้รับจากการบริโภคซอสถั่วเหลือง ดังนั้นจะคาดประมาณได้ว่าถ้าในซอสถั่วเหลืองมีสาร 3-MCPD 18 มก./กก. ก็จะมีสาร DCP ประมาณ 0.9 มก./กก. (สถาบันอาหาร, 2545)

2.7.3 แหล่งอาหารที่อาจพบสาร 3-MCPD ปนเปื้อน

2.7.3.1 Acid-hydrolysis vegetable protein (acid-HVP) ตั้งแต่ศตวรรษที่ 1980 เป็นต้นมา เริ่มพบว่าในกระบวนการผลิตในโรงงานผลิตอาหารคาวที่มีส่วนผสมของ acid-HVP นั้น ในขณะที่โปรตีนจากพืชถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดเกลือที่อุณหภูมิสูง สาร 3-MCPD สามารถก่อตัวขึ้นมาได้ (Hamlet et al., 2002) จากการสำรวจของ MAFF ซึ่งเป็นสถาบันเกี่ยวกับความปลอดภัยในอาหารของประเทศอังกฤษในปี 1990 และ 1992 พบว่า อาหาร acid-HVP มีการปนเปื้อนสาร 3-MCPD ถึง 100 มก./กก. ในระยะต่อมาคือเมื่อเร็ว ๆ นี้จากการสำรวจของ The Joint Food Safety and Standards Group (JFSSG) ภายในอังกฤษพบว่า ตัวอย่างอาหาร acid-HVP มีการปนเปื้อนของ 3-MCPD ในระดับที่ต่ำกว่า 0.01 มก./กก. (The Joint Food Safety and Standards Group, 2004)

2.7.3.2 ผลิตภัณฑ์ธัญชาติอบ ข้าวบาร์เลย์คั่วสำหรับทำเบียร์ (สีเข้ม) และอาหารบำรุงจากข้าวบาร์เลย์คั่ว ข้อมูลจากภาคอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์และข้าวบาร์เลย์คั่ว ทำให้ทราบว่าในผลิตภัณฑ์ธัญชาติอบและข้าวบาร์เลย์คั่ว (สีเข้ม) ที่ใช้เติมในเบียร์ดำและลาเกอร์เบียร์ (เบียร์ที่ไม่แรงนัก) เพื่อทำให้เกิดสีและเพิ่มกลิ่นรสนั้น พบว่ามีสาร 3-MCPD ปนเปื้อนในปริมาณ 0.3-0.4 มก./กก. ดังนั้น สารสกัดจากส่วนผสมดังกล่าวนี้ถ้าเติมในอาหารและเครื่องดื่มเพื่อเพิ่มกลิ่นรส จะทำให้อาหารและเครื่องดื่มชนิดนั้น ๆ มีสาร 3-MCPD ปนเปื้อนในระดับที่มากกว่า 0.1 มก./กก. ขึ้นไป (สถาบันอาหาร, 2545) ในปัจจุบันถึงแม้ว่าผู้ประกอบการจะพยายามลดการปนเปื้อนของสาร 3-MCPD ในส่วนผสมดังกล่าว แต่ก็ยังไม่สามารถหาวิธีที่จะลดสาร 3-MCPD โดยไม่กระทบต่อคุณลักษณะกลิ่นรสที่ต้องการในผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามถ้าผู้ประกอบการใช้ส่วนผสมดังกล่าวนี้เติมลงในผลิตภัณฑ์ในระดับต่ำก็อาจจะทำให้ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีการปนเปื้อนสาร 3-MCPD ต่ำกว่า 0.01 มก./กก. ได้

2.7.3.3 ไส้กรอกหมัก ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก เช่น ซาลามี่ พบว่า อาจมีสาร 3-MCPD ปนเปื้อนได้ในระดับ 0.1 มก./กก. (Crews, Hough, Brereton, Harvey, and Matthews, 2001) เนื่องจากสาร 3-MCPD สามารถก่อตัวได้ภายในเนื้อสัตว์ในขณะหมัก โดยเกิดจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างไขมันที่มีในเนื้อสัตว์และเกลือร่วมกับการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้ยังเกิดจากวัสดุที่นำมาใช้เป็นไส้บรรจุไส้กรอกมีสาร 3-MCPD เป็นส่วนประกอบอยู่ ทำให้อาจปนเปื้อนไส้กรอกได้

2.7.3.4 ซอสปรุงรสจากถั่วเหลือง ซึ่งผลิตในประเทศแถบตะวันออกไกลส่วนใหญ่มี 2 ชนิดได้แก่ ซอสจากถั่วเหลืองที่ผลิตโดยวิธีการหมักแบบดั้งเดิมซึ่งเป็นซอสที่มีรสชาติดี ส่วนอีกชนิดเป็นซอสจากถั่วเหลืองที่ผลิตโดยวิธีไฮโดรไลซ์โปรตีนในถั่วเหลืองด้วยกรด ซึ่งเป็นซอสที่มีรสชาติด้อยกว่าวิธีแรก และการผลิตซอสวิธีหลังนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อนของสาร 3-MCPD ในระดับที่สูงอีกด้วย (Fromberg, 2002; Chung et al., 2002)

2.7.3.5 อาหารที่สัมผัสกับภาชนะบรรจุ จากข้อมูลของผู้ประกอบการบรรจุภัณฑ์อาหารและที่เกี่ยวข้อง แสดงให้ทราบว่าการปนเปื้อนของสาร 3-MCPD ที่มาจากภาชนะบรรจุอาหารและเครื่องดื่มนั้นอยู่ในระดับที่ต่ำมาก ภาชนะบรรจุอาหารและเครื่องดื่มที่มีสาร 3-MCPD เป็นส่วนประกอบนั้นได้แก่ ภาชนะบรรจุชนิดที่ทำจากกระดาษ (เช่น ซองกระดาษห่อใบชาและถุงกรองกาแฟ) และปลอกหุ้ม เซลลูโลส ที่มีส่วนผสมของยาง epichlorohydrin-based wet strength (Hamlet et al., 2002) ซึ่งในปัจจุบันผู้ประกอบการได้พยายามพัฒนาเพื่อผลิตยางรุ่นใหม่ที่มีคุณภาพดีขึ้นและมีปริมาณสาร 3-MCPD น้อยลง

2.7.4 ข้อกำหนดปริมาณ 3-MCPD ของประเทศต่าง ๆ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548)

2.7.4.1 สหภาพยุโรป พบในอาหารได้ไม่เกิน 0.02 มก./กก.

2.7.4.2 อังกฤษพบในอาหารได้ไม่เกิน 0.01 มก./กก.

2.7.4.3 เนเธอร์แลนด์พบในอาหารได้ไม่เกิน 0.02 มก./กก.

2.7.4.4 แคนาดาพบในอาหารได้ไม่เกิน 1 มก./กก.

2.7.4.5 ฟินแลนด์ ออสเตรียพบในอาหารได้ไม่เกิน 1 มก./กก.

2.7.4.6 สหรัฐอเมริกา พบใน acid-HVP ได้ไม่เกิน 1 มก./กก. สำหรับ 3-MCPD และ 0.05 มก./กก. สำหรับ 1,3-DCP

2.7.4.7 ญี่ปุ่น ยังไม่กำหนด ส่วน Codex ยังอยู่ในระหว่างการพิจารณา

2.8 รายการอ้างอิง

กลิ้งกลางดง. (2544). เห็ดสมุนไพรทางเลือกใหม่สำหรับคนรัก “ชีวจิต”. **โลกเกษตร& อุตสาหกรรม**. 17: 51-53.

กัญญาณัฐ ระวิงทอง. (2538). โรคดอกหงิกของเห็ดสกุลนางรม. **เกษตรก้าวหน้า.** 10(5): 51-52.

คงศักดิ์ สหะศักดิ์มนตรี. (2544). **การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำซอสปรุงรสโดยใช้เอนไซม์เพื่อลดสาร 3-MCPD.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. (2541). **เอกสารประกอบการสอนเรื่อง Food enzyme**. สำนักวิชาเทคโนโลยีอาหาร. เทคโนโลยีการเกษตร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

นิรนาม. (2546). **Soy sauce**. กรุงเทพมหานคร: บริษัท Kikkoman (เอกสารเผยแพร่).

นิรนาม. (2548). **3-MCPD** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/สาร MCPD.html

บรรณ บูรณะชนบท. (2545). **การเพาะเห็ดนางรม-นางฟ้า**. นนทบุรี: กรุงเทพมหานคร.

บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร. (2545). **เห็ดนางฟ้า**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: เกษตรบุ๊ค.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). **เอนไซม์ทางอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ยงยุทธ ขจรวิทย์. (2546). **คุณค่าทางอาหารของเห็ด** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.co.th/เห็ดนางรม.html

ยงยุทธ์ สายฟ้า, สุวิชัย วงศ์ษา และ สนชัย ตันตยาภรณ์. (2537). การเพาะเห็ดนางรมด้วยวิธีการแบบใหม่ที่ไม่ต้องนึ่ง. **เกษตรพัฒนา.** 13(18): 31-33.

รัฐพล ศรประเสริฐ และ สุภัทรา การันทรรัตน์. (2543). การทำผลิตภัณฑ์เลียนแบบแหนมจากเห็ด. **ว. อาหาร** 25(3): 28-41.

วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. (2545). ผลิตภัณฑ์จากการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและการประยุกต์ใช้. **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 24(2): 341-356.

วิทยา มีวุฒิกุล. (2540). เอนไซม์ในการดัดแปรผลผลิตทางการเกษตร. **ว.วิทยาศาสตร์** ของสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย. 51(3): 196-199.

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. (2548). **เห็ดสมุนไพร: จากอดีต สู่ปัจจุบัน และอนาคต** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thaiagro.com/article/mushrooms/47051701.html

สถาบันอาหาร. ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ. (2545). **3-MCPD และ 1,3-DCP** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.nfi.or.th

สาธิต ไทยทัตกุล. (2546). เห็ดสมุนไพร " เห็ด อาหารที่เป็นยา ". **เห็ดไทย**. สมาคมนักวิจัยและ เพาะเห็ดแห่งประเทศไทย: 18-34.

สายสนม ประดิษฐดวง. (2543). ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส. **ว. อุตสาหกรรมเกษตร**. 23: 4-13.

สุธีรา เสาวภาคย์. (2535). **การใช้ประโยชน์จากกากถั่วลิสงในการผลิตน้ำซอสปรุงรส.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2545). **สาร 3-MCPD และ 1,3-DCP ในซอสปรุงรส** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.co.th/สาร 3-MCPD และ 1,3-DCP ในซอสปรุงรส. html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กองเผยแพร่และควบคุมการโฆษณา. (2545). **อย.รุกขจัดปัญหาสารก่อมะเร็งในซอสปรุงรส** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/สาร MCPD.html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กองเผยแพร่และควบคุมการโฆษณา. (2546). **ซอสปรุงรสและซีอิ้ว** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/ ซอสปรุงรสและซีอิ้ว.html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กลุ่มงานพัฒนาความปลอดภัยด้านเคมีวัตถุ. (2545). **พิษวิทยาของสาร MCPD** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/พิษวิทยาของสาร MCPD.html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กองควบคุมอาหาร. (2548). **เกาะติดสถานการณ์สาร 3-MCPD** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/พิษวิทยาของสาร MCPD.html

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2539). **มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรส.** กระทรวงอุตสาหกรรม.

อรสา สุริยาพันธ์. (2531). **การใช้โปรตีนถั่วเขียวเหลือใช้จากอุตสาหกรรมวุ้นเส้นในการผลิตน้ำซอสปรุงรส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกุล. (2542). การย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตซอสปรุงรส. **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 21(4): 419-500.

Adler-Nissen J. (1986). **Enzymic Hydrolysis of food Proteins**. Barking: Elsevier Applied Science Publishers.

Anslyng, M.D., Elmore, J.S., and Mottram, D.S. (1998). Comparison of the aroma characteristics of acid-hydrolyzed and enzyme-hydrolyzed vegetable proteins produced from soy. **J. Agric. Food Chem.** 46: 5225-5231.

Baek, H., and Cadwallader, K.R. (1995). Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. **J. Food Sci.** 60(5): 929-935.

Benjakul, S., and Morrissey, M.T. (1997). Protein hydrolysate from pacific whiting solid wastes. **J. Agric. Food Chem.** 45: 3423-3430.

Chang, R. (1996). Functional properties of edible mushrooms. **Nutr. Rev.** 54 (11): 91-93.

Chang, S.T. (1993). **Mushroom biology : the impact on mushroom products**. Keynote lecture. First International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, 23-26 August, Hong Kong.

Cheung, P.C.K., and Lee, M.Y. (1998). Comparative chemical analysis of fiber material prepared by enzymatic and chemical methods from two mushrooms (*Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus tuber-regium*). **J. Agric. Food Chem.** 46: 4854-4857.

Cheung, P.C.K., and Lee, M.Y. (2000). Fractionation and characterization of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) as potential nutraceuticals from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. **J. Agric. Food Chem.** 48: 3148-3151.

Choi, H.S., and Shin, H.H. (1998). Purification and partial characterization of fibrinolytic protease in *Pleurotus ostreatus*. **Mycologia.** 90(4): 674-679.

Chou, C.C., and Ling, M.Y. (1994). Biochemical changes in soy sauce prepared with extruded and traditional raw materials. **Food Res. Int.** 31(6-7): 487-492.

Chung, W-C., Hui, K-Y., and Cheng, S-C. (2002). Sensitive method for the determination of 1,3-chloropropane-2-ol and 3-monochloro-1,2-propanediol in soy sauce by capillary gas chromatography with mass spectrometric detection. **J. Chromatogr.** 952: 185-192.

Crews, C., Hough, P., Brereton, P., Harvey, D., and Matthews, W. (2001). Survey of 3-chloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) in selected food groups, **Food Addit. Contam.** 19: 22-27

Fromberg, A. (2002). **Survey of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in food and food ingredients** [on-line]. Available: http://www.google.co.th/3-MCPD.html.

Hall, G.M., and Ahmad, N.H. (1992). **Functional properties of fish protein hydrolysate. In fish processing technology**. G.M. Hall (ed). London: Blackle Academic

Hamlet, G.C., Sadd, P.A., Crews, C., Velisek, J., and Baxter, D.E. (2002). Occurrence of 3-chloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods: a review. **Food Addit Contam.** 19(7): 619-631.

Hoyle, N.T, and Merritt, J.H. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). **J. Food Sci.** 59(1):76-79.

Kristinsson, H.G, and Rasco, B.A. (2000). Biochemical and functional properties of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. **J. Agric. Food Chem.** 48:657-666.

Lee, J.K., Byun, J.A., Park, S.H., Kim, H.S., Park, J.H., Eom, J.H., and Oh, H.Y. (2004). Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1,2-propanediol in balb/c mice I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. **Toxicity.** 204: 1-11.

Leelawat, B., and Anprung, P. (1993). Production of fish extract using immobilized proteases bioreactor part I: Characterization of immobilized papain and neutrase for fish extract production from fish cooking juice. **Food J.** 23(2): 115-127.

Mattila, P., Konko, K., Eurola, M., Pihlava, J-M., Astola, J., Vahteristo, L., Hietaniemi, V., Kumpulainen, J., Valtonen, M., and Piironen, V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolics compounds in cultivated mushrooms. **J. Agric. Food Chem.** 49: 2343-2348.

Mattila, P., Vaananen, P.S., Konko, K., Aro, H., and Jalava, T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. **J. Agric. Food Chem.** 50: 6419-6422.

Ministry of Industry, Office of the National Codex Alimentarius Committee of Thailand. (2003). **Position of Thailand on 3-MCPD** [on-line]. Available: http://www.google.co.th/3-MCPD.html

Qui, S., Sreedharan, S.K., and Brocklehurst, K. (1998). **Enzyme assays essential data**. Chichester: John Wiley&son.

Sarabok, A., and H-Kittikun, A. (1999). Enzymatic hydrolysis of tuna condensate for condensate for flavor sauce production. **Songklanakarin J. Sci. Technol**. 21(4):491-500.

The Joint Food Safety and Standards Group. (2004). **Survey of 3-MCPD in foods.** [on-line]. Available: http://www.google.co.th/3-MCPD.html

Weir, G.S.D. (1992). **Proteins as a source of flavour**. In: Hudson BJF, editors. Biochemistry of food proteins. 1st ed. New York: Elsevier Applied Science. 363-408.

Wong, K.O., Cheong, Y.H., and Seah, H.L., (2006). 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in soy and oyster sauce: Occurrence and dietary intake assessment. **Food control**. 17(5): 408-413.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.C.E., and Zhang, L. (2004). Evaluation of sulfated fungal β-glucans from the sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as a potential water-soluble anti-viral agent. **Carb. Res.** 339: 2297-2301.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Zhang, L., Chiu, C.-M., and Ooi, V.C.E.,. (2004). Carboxymethylated β-glucans from mushroom sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as novel water-soluble anti-tumor agent. **Carb. Polym**. 57: 319-325.

Zhuang, C., Mizuno, T., Shimada, A., Ito, H., Suzuki, C., Mayuzumi., Y. Okamoto, H., Ma, Y., and Li, J. (1993). Antitumor protein-containing polysaccharides from a Chinese mushroom Fengweiguor Houbitake. *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sings. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 57: 901-906.

บทที่ 3
การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรด
ACID HYDROLYSIS OF MUSHROOMS FOR FLAVORED SAUCE PRODUCTION

3.1 บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เพื่อทำการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยกรด (acid hydrolysis) โดยไม่ใช้ความดัน สำหรับการผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรสจากเห็ดนางรม *(Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า *(Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers*)* ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน 20.82, 21.30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.56, 0.29 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรททั้งหมด 68.35, 65.14 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหารโภชนา 45.5, 42.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 4.44, 5.32 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อย่อยเห็ดแห้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่อุณหภูมิ 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง พบว่า ที่เวลาในการย่อย 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด โดยปริมาณโปรตีนสูงสุดในเห็ดนางรมและนางฟ้า ที่ระดับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีค่าเป็น 4.95, 5.21 เปอร์เซ็นต์ และ 6.26, 6.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสท ผลิตซอสโดยย่อยเห็ดด้วยกรดที่ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการบ่มเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนการปรุงรสด้วยปริมาณน้ำตาล 4 ระดับ คือ 3, 5, 7 และ 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และผงชูรส (MSG:Sodium-5′-inosinate:Sodium-5′-guanylate = 98:1:1) ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มอีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่เตรียมได้ โดยใช้ผู้ประเมินที่ได้รับการฝึกฝนแล้วจำนวน 8 คน พบว่า ซอสปรุงรสที่ได้จากเห็ดทั้งสองชนิดที่ผ่านการปรุงรสด้วยน้ำตาลปริมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีคะแนนคุณลักษณะรวมมากที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับซอสทางการค้า และซอสที่ได้มีกลิ่นของเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์อย่างชัดเจน

3.2 บทนำ

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจัดเป็นการย่อยสลายโปรตีนเพื่อเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ให้แก่วัตถุดิบทางการเกษตร หรือของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ ได้ การย่อยสลายโปรตีนนั้นปฏิบัติกันมาเป็นเวลานานแล้ว เข้าใจกันว่าเกิดขึ้นครั้งแรกในประเทศจีน ต่อมาได้นำมาผลิตในประเทศญี่ปุ่นและประเทศอื่น ๆ (Yong and Wood, 1974) ซึ่งการสลายตัวของโปรตีนทำได้โดยการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ส่วนโปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุดิบคือ ถั่วเหลือง ข้าวโพด เคซีน แป้งสาลี นอกจากนี้ยังมีการย่อยสลายเนื้อปลาและเนื้อกุ้งด้วย สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็มี น้ำปลา ซีอิ๊ว ซอสปรุงรส น้ำมันหอย HVP (hydrolyzed vegetable protein) ฯลฯ (คงศักดิ์ สหะศักดิ์มนตรี, 2544) การสลายตัวของโปรตีนให้สารประกอบมากมาย มีทั้งสารให้กลิ่น สารให้รส และสารให้สี (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) ซึ่งผลิตภัณฑ์หนึ่งในประเภทนี้ที่สำคัญและได้รับความนิยมในการบริโภคคือ ซอสปรุงรส

วัตถุดิบสำคัญในการผลิตซอสปรุงรส คือ กากถั่วเหลืองโดยมีสภาวะในการผลิต และคุณภาพที่ได้แตกต่างกันไปตามลักษณะแต่ละโรงงาน โดยทั่วไปกระบวนการผลิตซอสปรุงรสสามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธีการหมักด้วยจุลินทรีย์ ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า ซีอิ๊ว ในขณะที่อีกวิธีหนึ่งจะใช้วิธีการย่อยวัตถุดิบด้วยกรดเกลือ ที่ความเข้มข้นสูงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะอุณหภูมิและความดันสูง ได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า ซอสปรุงรส (สถาบันอาหาร, 2545) วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้ระยะเวลาในการผลิตน้อย และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าวิธีแรก แต่มีปัญหาที่เกิดขึ้นคือ เนื่องจากคาร์โบไฮเดรทในวัตถุดิบจะถูกย่อยได้เร็วกว่าโปรตีน ทำให้สามารถเปลี่ยนไปเป็นองค์ประกอบที่ไม่ต้องการได้ เช่น สารประกอบสีประเภท ฮิวมิน, กรดลิวูลินิก, กรดฟอร์มิก นอกจากนี้วิธีการนี้ยังสูญเสียกรดอะมิโนจำเป็นชนิดทริปโตเฟนอย่างสมบูรณ์ เกิดสารประกอบซัลเฟอร์ และขาดกลิ่นหมัก (Yong and Wood, 1974)

วัตถุดิบที่น่าสนใจในกระบวนการผลิตซอสปรุงรสนอกเหนือจากถั่วเหลืองก็คือ เห็ด ซึ่งเป็นที่นิยมและรู้จักกันดีของคนไทยในการทำเป็นอาหารเนิ่นนานแล้ว จากการวิเคราะห์ พบว่า เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผัก และเห็ดยังมีกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกันซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ (ปัญญา โพธิฐิติรัตน์, 2539) และสามารถทดแทนโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ และยังใช้เห็ดบางชนิดเป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้อีกด้วย (ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548) นอกจากคนไทยจะบริโภคเห็ดแล้ว ชาวต่างชาติก็นิยมเช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่าปริมาณการส่งออกเห็ดของไทยปีละไม่ต่ำกว่า 7,000 ตัน มูลค่ากว่า 250 ล้านบาท (ปราโมทย์ จันทรัมพร, 2543) ในปัจจุบันมีการส่งเสริมจากทั้งรัฐบาลและเอกชนให้เกษตรกรเพาะเห็ดกันมากขึ้นตามลำดับ ทั้งยัง

เพาะกันได้ทุกฤดูกาลของประเทศ (บรรณ บูรณะชนบท, 2545) นอกจากนี้เห็ดแต่ละชนิดยังมีความนิยมและคุณค่าทางอาหารแตกต่างกันไป ยกตัวอย่างเช่นเห็ดนางฟ้า มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 3.36 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรท 4.79 เปอร์เซ็นต์ และ พลังงาน 33.32 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น (ยงยุทธ ขจรวิทย์, 2546) คุณลักษณะดังกล่าวนี้จึงน่าจะมีการขยายประโยชน์ได้มากขึ้น แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจคือ ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสนั่นเอง

ปัจจุบันได้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของสาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากถั่วเหลืองขึ้น สาเหตุหลักเกิดจากกระบวนการผลิตซอสปรุงรสที่ใช้วิธีย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองด้วยกรดไฮโดรคลอริก (acid hydrolysis) ที่มีความเข้มข้นสูง ในสภาวะที่มีอุณหภูมิและความดันสูง ซึ่งขณะที่โปรตีนถูกย่อยสลายอยู่นั้นจะเกิดกระบวนการคลอริเนชั่นของไขมันและน้ำมันในถั่วเหลืองทำให้เกิดสารปนเปื้อน 2 ชนิดคือ 3-MCPD และ 1,3-Dichloro-2-propanol (DCP) ที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ไม่เกิดพิษเฉียบพลัน แต่จะเกิดพิษได้ในระยะยาว แต่ยังไม่มีรายงานทางด้านพิษวิทยาต่อมนุษย์ (สถาบันอาหาร, 2545)

จากการศึกษานี้จึงคาดว่าจะได้รับข้อมูลที่เกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม ด้วยการย่อยโดยกรดเกลือที่สภาวะอุณหภูมิต่ำและไม่ใช้ความดัน เพื่อผลิตซอสปรุงรส ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตรและได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

เห็ดที่เลือกใช้เป็นเห็ดที่นิยมบริโภคและมีขายตามท้องตลาด คือ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) จากฟาร์มเห็ดคุณแดง อ.เมือง จ.นครราชสีมา อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบระบบลมร้อน (TD 372, New Way Manufacturing Co., Ltd., Thailand) เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง จนเห็ดแห้งมีความชื้นประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงบดให้ละเอียด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสต่อไป

3.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

3.3.2.1 ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC (2000)

3.3.2.2 ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000) (N×6.25) ด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

3.3.2.3 ปริมาณไขมัน โดยวิธี AOAC (2000) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขมัน (2050 Soxtec Auto Extraction unit, Sweden)

3.3.2.4 ปริมาณเถ้า โดยวิธี AOAC (2000)

3.3.2.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด โดยคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

3.3.2.6 ปริมาณเยื่อใยอาหารโภชนาด้วยวิธี enzymatic-gravimetric method โดยวิธี AOAC (2000) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เอนไซม์ในการย่อยตัวอย่าง แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณ โดยนำค่าแบลงก์ปริมาณโปรตีน และปริมาณเถ้าของสิ่งที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณปริมาณใยอาหาร

3.3.3 การย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยกรดเกลือ

3.3.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยกรดเกลือ

ชั่งเห็ดแห้ง 30 ± 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่ในฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร จำนวน 2 ฟลาสก์ เติมกรดเกลือ เข้มข้น 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ ปริมาณวัตถุดิบต่อกรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มิลลิลิตร) ปิดจุกซึ่งทำด้วยสำลีหุ้มผ้าขาวบางแล้วทำการย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิ 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นเวลา 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง ตามแต่ละชุดทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) จัดชุดทดลองเป็นแบบแฟกตอเรียล รวม 48 ชุดทดลอง ทำการทดลอง 2 ซ้ำในแต่ละชนิดของเห็ด หลังการย่อยปล่อยให้อุณหภูมิของไฮโดรไลเสทที่ได้ลดลงเหลือประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับพีเอชโดยค่อย ๆ เติมโซเดียมคาร์บอเนตพร้อมกับคนเพื่อป้องกันการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากปฏิกิริยาเป็นจำนวนมากทันที ซึ่งจะมีผลให้ของเหลวพ่นออกตามฟองและป้องกันมิให้โซเดียมคาร์บอเนตจับตัวกันเป็นก้อนและช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดได้ดี จนวัดพีเอชได้ประมาณ 5.5 แล้วจึงกรองแยกกากออก ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (BUCHI B-169, Switzerland) และฆ่าเชื้อไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.3.3.2 วิเคราะห์คุณภาพของเหลวที่ได้จากการกรองหลังปรับพีเอช

1) ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000) โดยวิธี Kjeldahl Method (N×6.25) ด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

2) ปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539) กลั่นหาแอมโมเนียคัลไนโตรเจนด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

3) ปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539)

4) ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539)

5) ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539) โดยคำนวณจากผลต่างระหว่าง ปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย

6) ปริมาณสาร 3-MCPD โดยวิธี AOAC (2002) ด้วย GC-MS ซึ่งวิเคราะห์โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพมหานคร

คัดเลือกชุดทดลองที่เหมาะสม 2 ชุดการทดลอง โดยพิจารณาที่สภาวะที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เพื่อใช้ผลิตในขั้นตอนการปรุงรสต่อไป

3.3.3.3 การปรุงแต่งกลิ่นรสของซอส

บ่มไฮโดรไลเสทที่คัดเลือกได้จากกระบวนการผลิตโดยการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยกรดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นจึงทำการปรุงรสโดยเติมน้ำตาลทรายปริมาณ 3, 5, 7 และ 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และเติมผงชูรส (MSG: Sodium-5′-inosinate: Sodium-5′-guanylate = 98:1:1) ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เมื่อทำการปรุงรสแล้วก็บ่มซอสที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอีก 2 สัปดาห์ รวมเป็นระยะเวลาในการบ่ม 1 เดือนก่อนการประเมินทางประสาทสัมผัส

3.3.3.4 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและกายภาพผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสหลังบ่ม

ทำการวิเคราะห์ซอสปรุงรสหลังบ่มนาน 1 เดือน เช่นเดียวกับในข้อ 3.3.3.2 ค่าสีโดยใช้ Spectrophotometer รุ่น Double Beam UV-VIS (Scientific equipment PTY Co., Ltd, Melbourne, Australia) ที่ความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร ความถ่วงจำเพาะ ณ อุณหภูมิห้อง โดยใช้ไฮโดรมิเตอร์ และพีเอช ณ อุณหภูมิห้อง โดยใช้พีเอชมิเตอร์

3.3.3.5 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากท้องตลาดยี่ห้อ “ภูเขาทอง” โดยใช้ผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว 8 คน ใช้วิธี QDA (Quantitative Descriptive Analysis) โดยเสนอตัวอย่างให้ประเมินชุดละ 5 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยและจัดเรียงในถาดด้วยวิธีสุ่ม (Watts, Ylimaki and Elias, 1989) ให้ผู้ประเมินใช้ปลายช้อนแตะตัวอย่างชิมโดยตรง แล้วทำเครื่องหมายในแบบประเมินคุณภาพ คัดเลือกชุดทดลองที่มีคุณลักษณะรวมสูงสุด

3.3.4 การเก็บรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ โดยวิเคราะห์ 3 ซ้ำในทุกการวิเคราะห์ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan’s Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS institute, Inc., 1995) สำหรับทุกการวิเคราะห์

3.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

3.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบคือ เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (ตารางที่ 3.1) พบว่า ความชื้นในเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าน้อยมากคือ 4.46 และ 5.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณโปรตีน 20.82 และ 21.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งในเห็ดทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกันมาก เนื่องจากเห็ดทั้งสองชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกัน (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2545) เมื่อพิจารณาปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด และใยอาหารโภชนา พบว่า มีค่าค่อนข้างสูงมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากเห็ดประกอบด้วยใยอาหารหยาบเป็นองค์ประกอบหลัก โดยเฉพาะสารประกอบประเภท β-glucan และไคติน (Zhang, Cheung and Zhang, 2001) นอกจากนี้ Cheung (1996) รายงานว่าเห็ดนางฟ้าอุดมไปด้วยใยอาหารโภชนา ซึ่งมีค่า 42.4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และใยอาหารเหล่านี้ยังสามารถเป็นสารต่อต้านมะเร็งในลำไส้และต่อต้านไวรัสได้อีกด้วย (Zhang, Cheung and Zhang, 2001; Zhang, Cheung, Zhang, Chiu and Ooi, 2004; Zhang, Cheung, Ooi and Zhang, 2004)

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (น้ำหนักแห้ง)

Compositions (%)	Nangrom	Nangpha
Protein	20.82 ± 0.45	21.30 ± 0.29
Fat	0.56 ± 0.03	0.29 ± 0.02
Moisture	4.46 ± 0.27	5.32 ± 0.30
Ash	5.81 ± 0.05	7.95 ± 0.05
Total carbohydrate	68.35	65.14
Dietary fiber	45.50 ± 0.05	42.50 ± 0.09

3.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

3.4.2.1 ปริมาณโปรตีน

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยกรดเกลือ โดยพิจารณาความเข้มข้นของกรด เวลา และอุณหภูมิในการย่อยแสดงในตารางที่ 3.2 ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทจัดเป็นปัจจัยสำคัญในการใช้คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอสปรุงรสต่อไป พิจารณาปริมาณโปรตีนที่ค่าความเข้มข้นกรดเท่ากัน แต่อุณหภูมิและเวลาการย่อยต่างกันในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า พบว่า อุณหภูมิการย่อยที่ 100 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนมากกว่าที่อุณหภูมิการย่อย 80 และ 90 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) พิจารณาที่อุณหภูมิเดียวกัน แต่เวลาการย่อยต่างกัน พบว่า ที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดในเห็ดทั้งสองชนิด ($p<0.05$) ยกเว้นไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมที่ความเข้มข้นกรดเกลือ 22 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงสุดที่เวลาย่อย 8 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิเดียวกันแต่เวลาการย่อยต่างกันในเห็ดทั้งสองชนิด พบว่า แม้เพิ่มเวลาการย่อยให้นานขึ้น ปริมาณโปรตีนมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) สรุปได้ว่า ปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นเป็นผลจากอุณหภูมิในการย่อยเพิ่มขึ้นมากกว่าการเพิ่มเวลาการย่อย โดยปริมาณโปรตีนสูงที่สุดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า คือ ที่สภาวะความเข้มกรดเกลือ 22 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และที่สภาวะความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของกรดเกลือ 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า พบว่า ค่าปริมาณโปรตีนสูงที่สุดมีค่าเป็น 4.95, 5.21 เปอร์เซ็นต์ และ 6.26, 6.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 3.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ

Time (h.)	Temp. (°C)	Nangrom		Nangpha	
		18% HCl	22% HCl	18% HCl	22% HCl
4	80	4.30 ef[1], A[2]	4.32 e, A	3.96 g, B	4.19 de, AB
	90	4.44 bcdef, A	4.42 de, AB	4.02 fg, C	4.30 de, D
	100	4.65 b, A	4.50 cde, A	4.26 e, B	4.19 de, B
6	80	4.21 f, A	4.28 e, A	4.25 ef, A	4.13 e, A
	90	4.53 bce, AB	4.37 e, B	4.68 d, A	4.68 c, A
	100	4.60 b, B	4.68 bc, B	5.06 c, A	5.28 b, A
8	80	4.30 ef, A	4.35 e, A	4.24 ef, A	4.28 de, A
	90	4.34 def, B	4.60 cd, A	4.23 ef, B	4.41 d, AB
	100	4.62 b, B	5.21 a, A	4.72 d, B	4.88 c, B
12	80	4.36 cdef, B	4.48 cde, B	5.16 c, A	5.25 b, A
	90	4.25 f, B	4.46 de, B	5.39 b, A	5.37 b, A
	100	4.95 a, B	4.84 b, B	6.26 a, A	6.10 a, A

[1] ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[2] ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่ออุณหภูมิและเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากกระบวนการย่อยด้วยกรดพร้อมทั้งให้ความร้อนจะทำให้โปรตีนในเห็ดเสียสภาพและเกิดการคลายตัว ดังนั้นจึงง่ายต่อการย่อยสลายด้วยสภาวะนี้ อีกทั้งเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาให้มากขึ้น จะมีผลในการเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสกันระหว่างกรดกับโปรตีนที่มีอยู่ในเห็ดให้มากยิ่งขึ้นด้วย ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นนั่นเอง โดยทั่วไปการย่อยวัตถุดิบด้วยกรดพร้อมกับให้ความร้อนจะทำให้องค์ประกอบต่าง ๆ ภายในวัตถุดิบถูกสลายพันธะโดยมีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และไขมัน การย่อยโปรตีนในผลิตภัณฑ์ประเภทนี้จัดเป็นการย่อยเพียงบางส่วน (partial acid hydrolysis) เท่านั้น ซึ่งแสดงความจำเพาะในการสลายพันธะเปปไทด์ในโมเลกุลของโปรตีน (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนระหว่าง

ไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด พบว่า ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นในวัตถุดิบต่ำกว่านั่นเอง นอกจากนี้ประเด็นที่น่าพิจารณา คือ เห็ดนางรมประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรทและใยอาหารโภชนาในปริมาณที่มากกว่าเห็ดนางฟ้ามาก (ตารางที่ 3.1) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้อาจจะมีส่วนในการเกิดโครงสร้างที่ซับซ้อนและยึดกับโปรตีน ทำให้เกิดการย่อยสลายด้วยกรดและความร้อนเป็นไปได้ยากและได้ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทน้อยกว่า

3.4.2.2 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน

ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนเป็นค่าที่คำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย และมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสท คือ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลซ์มากขึ้นเมื่อปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ผลการวิเคราะห์อะมิโนแอซิดไนโตรเจนในไฮโดรไลเสทแสดงในตารางที่ 3.3 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนของไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีผลเมื่อเพิ่มเวลาการย่อย โดยที่ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงสุดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ใช้เวลาย่อย 8 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีแนวโน้มลดลงแต่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับที่เวลาย่อย 12 ชั่วโมง ($p>0.05$) การที่ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีแนวโน้มลดลงอาจเนื่องจากการเพิ่มเวลาให้นานขึ้น จะทำให้อะมิโนแอซิดบางตัวถูกทำลายไปได้ทำให้ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนลดลงนั่นเอง (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) Fountoulakis และ Lahm (1998) กล่าวว่า กระบวนการย่อยโปรตีนด้วยกรดเกลือนั้น จะทำให้กรดอะมิโนชนิด ทริปโตเฟนและซีสตีนถูกทำลายได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่กรดอะมิโนบางชนิดจะถูกทำลายบางส่วน ทำให้มีปริมาณลดลง 5-10 เปอร์เซ็นต์ เช่น ไทโรซีน ซีรีน และทรีโอนีน

สำหรับไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าเมื่อเพิ่มเวลาการย่อย ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิการย่อยในแต่ละช่วงเวลาปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลาย่อย 12 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีค่าเป็น 8.23 กรัม/ลิตร และ 8.24 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 3.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ

Time (h.)	Temp. (°C)	Nangrom		Nangpha	
		18% HCl	22% HCl	18% HCl	22% HCl
4	80	3.11 c[(1)], C[(2)]	3.67 e, B	4.55 f, A	3.86 d, A
	90	3.98 b, A	4.08 cde, A	4.10 f, A	4.27 d, A
	100	4.11 b, B	5.18 ab, A	4.21 f, B	4.16 d, B
6	80	2.86 c, C	3.97 de, B	4.42 f, A	4.24 d, A
	90	3.26 c, B	4.84 abcd, AB	5.03 def, AB	6.19 bc, A
	100	4.19 b, B	5.60 a, A	5.98 cd, A	5.38 cd, AB
8	80	3.95 b, B	4.73 abcd, A	4.39 f, AB	4.12 d, AB
	90	4.35 b, A	4.57 bcde, A	4.72 ef, A	4.16 d, B
	100	5.60 a, A	5.52 ab, A	5.75 cde,	4.68 d, B
12	80	5.09 a, B	4.58 bcde, B	6.57 bc, A	7.15 ab, A
	90	4.42 b, B	4.65 bcd, B	7.23 ab, A	7.29 ab, A
	100	5.58 a, B	4.96 abc, B	8.23 a, A	8.24 a, A

[(1)] ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[(2)] ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.4.2.3 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์

เกลือที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตซอส จะเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างคลอไรด์ในกรดเกลือกับโซเดียมคาร์บอเนตที่ใช้ในขั้นตอนการปรับพีเอช ดังสมการ (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535)

$$2HCl + Na_2CO_3 \longrightarrow 2NaCl + CO_2 + H_2O$$

ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่เกิดขึ้นนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดเกลือที่ใช้ในกระบวนการผลิต และค่าพีเอชที่ต้องการจะปรับให้มีความเป็นกลาง (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ,

2534) ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์แสดงดังตารางที่ 3.4 พบว่า ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงสุด ที่ความเข้มข้นกรด 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีค่าเป็น 246.33 และ 244.20 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ไม่แตกต่างกันในทุกสภาวะ ($p>0.05$) โดยมีค่าสูงสุดคือ 248.57 กรัม/ลิตร และที่ความเข้มข้นกรด 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงสุดที่เวลาย่อย 6 ชั่วโมง อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีค่า 249.79 กรัม/ลิตร

ตารางที่ 3.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ

Time (h.)	Temp. (°C)	Nangrom		Nangpha	
		18% HCl	22% HCl	18% HCl	22% HCl
4	80	228.58 bc[(1)], B[(2)]	224.23 bcd, B	248.57 a, A	241.71 b, A
	90	221.49 bc, B	216.11 de, B	247.42 a, A	239.48 b, A
	100	230.84 ab, BC	225.65 bc, C	243.47 a, A	236.46 b, AB
6	80	212.23 cd, B	221.58 bcde, B	243.37 a, A	249.79 a, A
	90	212.23 cd, B	213.08 e, B	236.23 a, A	229.55 c, A
	100	222.24 bc, B	215.13 de, C	232.28 a, A	237.04 b, A
8	80	213.65 cd, C	227.44 bc, B	248.29 a, A	248.52 a, A
	90	213.45 cd, B	219.50 cde, B	241.44 a, A	238.60 b, A
	100	203.07 d, C	214.78 e, B	239.51 a, A	236.95 b, A
12	80	246.33 a, A	244.20 a, A	234.18 a, B	213.33 e, C
	90	226.38 bc, B	240.67 a, A	228.77 a, B	219.70 d, C
	100	234.36 ab, A	228.70 a, A	248.27 a, A	230.71 c, A

[(1)] ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[(2)] ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

พิจารณาโดยรวมพบว่า เมื่อเวลาและอุณหภูมิในการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณเกลือมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากกรดเกลือเป็นกรดแก่ซึ่งสามารถแตกตัวได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะสามารถแตกตัวได้มากขึ้น เมื่อมีการปรับพีเอชให้เป็นกลางจึงเกิดปฏิกิริยากลายเป็นเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้มากขึ้นนั่นเอง นอกจากนี้การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานานในระบบเปิดจะทำให้ได้ปริมาตรไฮโดรไลเสทน้อยกว่าการย่อยที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นปริมาณเกลือที่เกิดขึ้นจึงมีความเข้มข้นสูงกว่าไฮโดรไลเสทที่ย่อยในสภาวะอุณหภูมิต่ำและใช้เวลาในการย่อยน้อยกว่า

3.4.2.4 ปริมาณสาร 3-MCPD

คัดเลือกตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่สภาวะการย่อยความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 80 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง ส่งตัวอย่างไฮโดรไลเสทวิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MCPD ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ใช้ตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าเพียงชนิดเดียว เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงและไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียงกันมาก อันเนื่องมาจากสาเหตุที่กล่าวมาข้างต้น ค่าปริมาณสาร 3-MCPD แสดงดังตารางที่ 3.5 พบว่าพิจารณาที่อุณหภูมิเดียวกัน (100 องศาเซลเซียส) เมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยจาก 4 ชั่วโมง จนถึง 12 ชั่วโมง ปริมาณสาร 3-MCPD มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยมีค่าเป็น 25.31, 50.83, 78.89 และ 85.51 มก./กก. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเวลาการย่อยเท่ากัน (12 ชั่วโมง) แต่อุณหภูมิที่ใช้ต่างกัน คือ 80 และ 100 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณสาร 3-MCPD ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีค่ามากกว่าที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ถึง 4.8 เท่า มีค่าเป็น 17.72 และ 85.51 มก./กก. ตามลำดับ เปรียบเทียบปริมาณสาร 3-MCPD ระหว่างไฮโดรไลเสทที่ย่อย 4 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และเวลา 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอย่างที่ใช้เวลาย่อยน้อยกว่า (4 ชั่วโมง) แต่อุณหภูมิสูงกว่ามีปริมาณสาร 3-MCPD มากกว่าตัวอย่างที่ใช้เวลาย่อยนาน (12 ชั่วโมง) แต่อุณหภูมิต่ำกว่า แสดงว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสาร 3-MCPD มากที่สุด คือ อุณหภูมิ รองลงมาคือเวลาในการย่อยนั่นเอง ซึ่งที่สภาวะการย่อยนาน 12 ชั่วโมงและ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณ 3-MCPD ต่ำที่สุด คือ 17.72 มก./กก. ดังนั้นวิธีการที่จะลดปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทเห็ดให้ต่ำลงเท่ากับปริมาณที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข โดยกระบวนการย่อยด้วยกรดเกลือคงเป็นไปได้ยาก เนื่องจากแม้ว่าจะใช้ความร้อนต่ำถึง 80 องศาเซลเซียส แล้ว แต่ยังเกิดสาร 3-MCPD ในปริมาณสูงกว่าที่กำหนด เนื่องจากในวัตถุดิบคือ เห็ด มีไขมันเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 3.5 ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

Time (h.)	Temp. (°C)	3-MCPD (mg/kg)
4	100	25.31
6	100	50.83
8	100	78.89
12	80	17.72
12	100	85.51

แม้กระบวนการนี้จะไม่ใช้ความดันในการเกิดปฏิกิริยาแต่เป็นกระบวนการย่อยด้วยกรดและให้ความร้อนจึงยังทำให้เกิดกระบวนการคลอริเนชั่น อันเนื่องมาจากปริมาณไขมันในเห็ดและสารคลอไรด์จากกรดเกลือ จากข้อกำหนดของปริมาณ 3-MCPD ในประเทศไทย คือ ไม่เกิน 1 มก./กก. จะเห็นได้ว่า ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม ยังคงมีค่าเกินกว่าข้อกำหนด แต่เนื่องจากปริมาณการบริโภคของคนไทยที่มีต่อซอสปรุงรสยังถือว่ามีการบริโภคต่อวันไม่มากนักถึงจะบริโภคเป็นประจำก็ตาม โดยจากการสำรวจพบว่า มีปริมาณ 150 ไมโครกรัม/คน/วัน ซึ่งระดับที่ทำให้เกิดพิษได้ในมนุษย์จะต้องบริโภค 1 มิลลิกรัม/คน/วัน (สถาบันอาหาร, 2545) ดังนั้นวิธีการป้องกันก็คือ ลดการบริโภคซอสปรุงรสให้น้อยลง

3.4.3 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า แสดงดังตารางที่ 3.6 และ 3.7 เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พบว่า ค่าพีเอช ก่อนการปรุงรสมีค่า 5.22 เมื่อบ่มและปรุงรสแล้ว พีเอชมีค่าค่อนข้างคงที่โดยมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย คือ มีค่า 5.19-5.20 ซึ่งถือว่ายังอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม Yong และ Wood (1976) พบว่า ในการหมักซีอิ๊วในขั้นโมโรมิแม้แต่การหมักที่ปราศจากจุลินทรีย์ ค่าพีเอชของน้ำหมักถั่วเหลือง (soy-mash) สามารถลดลงจาก 6.5 หลังการบ่มเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเหลือ 4.5 หลังการบ่มเป็นเวลา 18 วัน และคงที่อยู่ที่ระดับนี้

ความถ่วงจำเพาะ และสีที่วัดได้มีค่าไม่แตกต่างกันทั้งก่อนและหลังปรุงรส และทุกระดับการปรุงรสด้วยน้ำตาล ซึ่งความถ่วงจำเพาะมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.208-1.224

ปริมาณโปรตีนในซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้ามีค่ามากกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมดังสาเหตุที่กล่าวมาแล้วข้างต้น (ตารางที่ 3.1, 3.2) ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนก่อนปรุงรส (5.11 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าหลังปรุงรสเล็กน้อย เช่นเดียวกับซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้าที่มีปริมาณโปรตีนก่อนปรุงรส (6.21 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าหลังปรุงรสเพียงเล็กน้อย ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน ซึ่งปริมาณโปรตีนและอะมิโนแอซิดไนโตรเจนจากการทดลองนี้มีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก., 2539) ทั้งนี้อาจเนื่องจากองค์ประกอบของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น (ตารางที่ 3.1) มีปริมาณโปรตีนต่ำ มีค่า 20.82 และ 21.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมทั้งมีคาร์โบไฮเดรททั้งหมดและใยอาหารโภชนาเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มากในเห็ดทั้งสองชนิด โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมดสูงถึง 68.35 และ 65.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปริมาณใยอาหารโภชนา 45.50 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณโปรตีนและ อะมิโนแอซิดไนโตรเจนน้อย Pham และ Del Rosario (1983, อ้างถึงใน สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) รายงานว่า ไขมันและคาร์โบไฮเดรทในวัตถุดิบจะยับยั้งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ดังนั้นวัตถุดิบที่มีไขมันและคาร์โบไฮเดรทสูงจึงมีอัตราการย่อยลดลง ซึ่งอาจแก้ไขโดยการเติมสารเพิ่มปริมาณโปรตีนในซอสเห็ดปรุงรส หรือทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยการระเหยน้ำออก

ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ของน้ำซอสปรุงรสจากเห็ดพบว่า มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ซึ่งจากปริมาณโซเดียมคลอไรด์จัดว่ามีค่าค่อนข้างสูง โดยมีค่าลดลงและน้อยที่สุดที่ปริมาณน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีค่าเป็น 217.30 และ 217.50 กรัม/ลิตร ในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า ตามลำดับ

ตารางที่ 3.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรม

	Hydrolysate	Level of sugar (%)				TISI 8-2539[(1)]
		3	5	7	9	
pH	5.22 ± 0	5.19 ± 0	5.20 ± 0	5.20 ± 0	5.20 ± 0	5.0-6.2
Specific gravity	1.218 ± 0.01	1.210 ± 0.01	1.210 ± 0.01	1.210 ± 0.01	1.216 ± 0.01	>1.240
Color	0.567 ± 0	0.555 ± 0.04	0.539 ± 0.06	0.520 ± 0.04	0.513 ± 0.03	-
Protein (%)	5.11 ± 0	4.96 ± 0.28	5.02 ± 0.09	4.87 ± 0.17	4.92 ± 0.28	>10
Amino acid nitrogen (g/L)	5.78 ± 0.29	5.73 ± 0.37	5.84 ± 0.24	5.49 ± 0.57	5.52 ± 0.33	>20.0
Sodium chloride (g/L)	226.15 ± 3.36	226.44 ± 1.35	219.40 ± 0.27	219.40 ± 1.08	217.30 ± 1.08	200-230

[(1)] TISI 8-2539 means Thai Industrial Standard Institute Ministry of Industry

ตารางที่ 3.7 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้า

	Hydrolysate	Level of sugar (%)				TISI 8-2539[(1)]
		3	5	7	9	
pH	5.22 ± 0	5.19 ± 0	5.19 ± 0	5.19 ± 0	5.19 ± 0	5.0-6.2
Specific gravity	1.220 ± 0.01	1.208 ± 0.01	1.216 ± 0	1.218 ± 0.01	1.224 ± 0	>1.240
Color	0.572 ± 0	0.563 ± 0.02	0.558 ± 0.03	0.548 ± 0.02	0.542 ± 0.02	-
Protein (%)	6.21 ± 0.14	6.30 ± 0.14	6.11 ± 0.13	5.95 ± 0.16	5.88 ± 0.16	>10
Amino acid nitrogen (g/L)	7.56 ± 0.22	7.48 ± 0.32	7.35 ± 0.38	7.31 ± 0.24	7.07 ± 0.26	>20.0
Sodium chloride (g/L)	225.20 ± 4.44	228.06 ± 3.10	225.39 ± 3.10	223.01 ± 1.08	217.50 ± 2.02	200-230

[(1)] TISI 8-2539 means Thai Industrial Standard Institute Ministry of Industry

3.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยกรดเกลือความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับซอสทางการค้ายี่ห้อ “ภูเขาทอง” ซึ่งเป็นซอสที่ผลิตด้วยกระบวนการย่อยด้วยกรดเช่นเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 3.8 และ 3.9 ตามลำดับ พบว่า คะแนนของลักษณะปรากฏหรือสีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีสีน้ำตาลเข้มอยู่ในช่วงปานกลาง มีค่า 5.89-6.53 ในขณะที่ซอสภูเขาทองมีค่า 6.84 การเกิดสีในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นผลจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่มีเอนไซม์ (non-enzymatic browning) ซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยามิลลาจ (Maillard reaction) ปฏิกิริยาการเกิดสารคาราเมล (caramelization) และปฏิกิริยาการรวมตัวของสารประกอบคาร์โบนิลและสารประกอบเอมีน (carbonyl-amine reaction) (Weir, 1986)

การประเมินคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนกลิ่นที่ชอบ (pleasant) อยู่ในช่วง 5.32-6.17 ซึ่งมีค่าสูงกว่าซอสภูเขาทอง (4.61) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่กลิ่นผิดปกติ (off-odor) ของตัวอย่างซอสภูเขาทองมีคะแนนสูงที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับซอสปรุงรสเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า ($p<0.05$) โดยมีคะแนน 4.21 การเกิดกลิ่นในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่ย่อยด้วยกรดอาจเกิดจากองค์ประกอบต่าง ๆ ในน้ำซอสปรุงรส เช่น กรดอะมิโน สารประกอบอัลดีไฮด์ และกรดอินทรีย์บางชนิด (นิรนาม, 2546)

การประเมินคุณภาพกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนความหวานและความเค็มของซอสปรุงรสจากเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติทุกระดับการปรุงรสและซอสภูเขาทอง ($p>0.05$) จะเห็นได้ว่าความหวานของซอสเห็ดปรุงรสใกล้เคียงกับซอสภูเขาทองมากเมื่อปรุงรสด้วยน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าการปรุงรสด้วยน้ำตาลระดับนี้มีความเหมาะสมที่สุด ความเค็มของซอสปรุงรสเป็นผลมาจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างกรดเกลือกับโซเดียมคาร์บอเนตในขั้นตอนการปรับพีเอช กลิ่นรสอร่อย (umami) ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสผู้ประเมินให้คะแนนอยู่ในช่วง 3.28-4.00 ในซอสปรุงรสเห็ดนางรม และ 2.14-3.09 ในซอสปรุงรสเห็ดนางฟ้า โดยซอสปรุงรสเห็ดนางรมมีคะแนนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่ซอสปรุงรสเห็ดนางฟ้าที่ระดับการเติมน้ำตาล 3 และ 9 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนไม่แตกต่างทางสถิติกับซอสภูเขาทอง (4.50) กลิ่นรสอร่อยอาจเกิดจากกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำซอสปรุงรส เช่น กรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติก ซึ่งเป็นสารประเภทที่ให้กลิ่นรสคล้ายผงชูรส (monosodium glutamate-like, MSG-like) (Mau, Lin, Ma and Song, 2001) และจากผงชูรสที่เติม จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าในบทที่ 6 (ตารางที่ 6.3) พบว่า มีปริมาณกรดกลูตามิกเป็นองค์ประกอบสูงที่สุด มีค่าเป็น 823.46 และ 1126.44 มก./100 มล. ตามลำดับ ซอสภูเขาทองมี

กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavor) มากที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับซอสปรุงรสจากเห็ดที่ความเข้มข้นน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) ซอสเห็ดปรุงรสมีกลิ่นรสของเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติทุกระดับน้ำตาล ($p>0.05$) แต่ไม่พบกลิ่นรสเห็ดในซอสปรุงรสจากถั่วเหลือง แสดงว่าผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่ได้มีกลิ่นรสของเห็ดที่ผู้ประเมินให้การยอมรับและจัดเป็นกลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามคะแนนคุณลักษณะรวมของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า และซอสทางการค้า ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาเฉพาะซอสเห็ดปรุงรสแต่ละชนิด พบว่า ที่การปรุงรสด้วยน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ ได้รับคะแนนคุณลักษณะรวมสูงที่สุด มีค่าเป็น 5.65 และ 5.41 ตามลำดับ และค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันซอสทางการค้ามาก (5.43)

ตารางที่ 3.8 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วน เห็ด:กรดเกลือ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง

	Level of sugar (%)				Commercial sauce[2]
	3	5	7	9	
1. Appearance					
Color	6.10 a[1]	6.10 a	5.96 a	5.89 a	6.84 a
2. Aroma					
Pleasant	6.11 a	5.32 a	5.53 a	6.17 a	4.61 a
Off-odor	1.66 b	2.48 b	2.48 b	1.90 b	4.21 a
3. Flavor					
Salty	6.84 a	7.48 a	7.26 a	6.58 a	6.60 a
Sweet	2.32 a	2.18 a	1.78 a	2.80 a	2.96 a
Umami	4.00 a	3.35 a	3.28 a	3.93 a	4.50 a
Off-flavor	1.82 ab	1.93 ab	1.76 ab	1.30 b	3.27 a
Mushroom-flavor	3.01 a	3.54 a	3.84 a	3.42 a	-
Aftertaste	5.17 a	4.87 a	4.88 a	4.34 a	3.76 a
Overall	5.18 a	4.84 a	4.56 a	5.65 a	5.43 a

[1] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[2]Commercial sauce หมายถึง ซอสปรุงรสภูเขาทอง

ตารางที่ 3.9 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้าที่อัตราส่วน เห็ด: กรดเกลือ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง

	Level of sugar (%)				Commercial sauce[2]
	3	5	7	9	
1. Appearance					
Color	6.33 a[1]	6.53 a	6.42 a	6.34 a	6.84 a
2. Aroma					
Pleasant	5.24 a	5.26 a	5.48 a	5.39 a	4.61 a
Off-odor	2.11 b	1.93 b	1.86 b	2.38 b	4.21 a
3. Flavor					
Salty	7.33 a	7.74 a	7.25 a	7.28 a	6.60 a
Sweet	2.08 a	2.13 a	1.82 a	2.42 a	2.96 a
Umami	3.06 ab	2.51 b	2.14 b	3.09 ab	4.50 a
Off-flavor	1.77 ab	1.76 ab	1.70 ab	1.32 b	3.27 a
Mushroom-flavor	2.51 a	3.78 a	3.30 a	3.39 a	-
Aftertaste	4.47 a	4.59 a	4.64 a	3.88 a	3.76 a
Overall	5.10 a	5.00 a	4.60 a	5.41 a	5.43 a

[1] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[2]Commercial sauce หมายถึง ซอสปรุงรสภูเขาทอง

3.5 สรุปผลการทดลอง

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณไนโตรเจนมากที่สุดเพื่อผลิตเป็นซอสปรุงรสต่อไป คือ ที่อัตราส่วนกรดต่อวัตถุดิบ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 4.95 และ 6.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่า 5.58 และ 8.23 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า 234.36 และ 248.27 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

ปริมาณสาร 3-MPCD วิเคราะห์เฉพาะไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้ามีค่าเป็น 85.51 มก./กก. และมีค่าต่ำที่สุดที่สภาวะการย่อยอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง มีค่าเป็น 17.72 มก./กก. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสาร 3-MCPD มากที่สุด คือ อุณหภูมิ รองลงมาคือ ระยะเวลาในการย่อยวัตถุดิบ

องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ ปริมาณโปรตีน และปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตัวอย่างทางการค้า และการปรุงรสด้วยน้ำตาลที่มีคะแนนคุณลักษณะรวมสูงสุด คือ ระดับการเติมน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะอย่างชัดเจนและผู้ประเมินสามารถให้การยอมรับได้โดยมีค่าของกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์น้อยกว่าในผลิตภัณฑ์ทางการค้าและแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.6 รายการอ้างอิง

คงศักดิ์ สหะศักดิ์มนตรี. (2544). **การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำซอสปรุงรสโดยใช้เอนไซม์เพื่อลดสาร 3-MCPD.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ นิยมวิทย์. (2538). **องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ฟอร์แมทพริ้นติ้ง จำกัด.

นิรนาม. (2546). **Soy sauce**. กรุงเทพมหานคร: บริษัท Kikkoman (เอกสารเผยแพร่).

บรรณ บูรณะชนบท. (2545). **การเพาะเห็ดนางรม-นางฟ้า**. นนทบุรี: กรุงเทพมหานคร.

บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร. (2545). **เห็ดนางฟ้า**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: เกษตรบุ๊ค.

ปราโมทย์ จันทรัมพร. (2543). การแปรรูปเห็ด. **ข่าวสารเกษตรศาสตร์.** 46(1): 55-56.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. (2539). สารพัดเรื่องเห็ด. **เกษตรคิวเซ**. 5(16): 35-39.

ยงยุทธ ขจรวิทย์. (2546). **คุณค่าทางอาหารของเห็ด** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2534). **ซีอิ๊ว**. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. (2548). **เห็ดสมุนไพร: จากอดีต สู่ปัจจุบัน และอนาคต** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thaiagro.com/article/mushrooms/47051701.html

สถาบันอาหาร. ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ. (2545). **3-MCPD และ 1,3-DCP** [ออนไลน์]ได้จาก: http://www.nfi.or.th

สุธีรา เสาวภาคย์. (2535). **การใช้ประโยชน์จากกากถั่วลิสงในการผลิตน้ำซอสปรุงรส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2539). **มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรส.** กระทรวงอุตสาหกรรม.

AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17ed., AOAC International, Gaitersberg, Maryland.

Cheung, P.C.K. (1996). Dietary fiber content and composition of some cultivated edible mushroom fruiting bodies and mycelia. **J. Agric. Food Chem.** 44: 468-471.

Fountoulakis, M., and Lahm, H-W. (1998). Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. **J. Chromatogr.** 826: 109-134.

Mau, J.L., Lin, H.C., Ma, J.T., and Song, S.F. (2001). Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. **Food Chem.** 73: 461-466.

Pham, C.B., and Del Sario, R.R. (1983). The preparation of protein hydrolysate from defatted coconut and soybean meal, I. Effect of process variable on amino acid released and flavour development. **J. Food Technol.** 18(1): 21-24.

อ้างถึงใน สุธีรา เสาวภาคย์. (2535). การใช้ประโยชน์จากกากถั่วลิสงในการผลิตน้ำซอสปรุงรส. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

SAS. 1995. SAS 6.08.04 WIN. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Watt, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E., and Elias, L.G. (1989). **Basic Sensory method for food evaluation**.The International Development Research Centre, Ottawa.

Weir, G.S.D. (1986). **Protein hydrolysates as flavourings**. In development in food protein – 4. Hudson, B.J.F. (eds). New York: Elsevier Applied Science Publishers. pp 175-217.

Yong, F.M., and Wood, J.B. (1974). Microbiological and biochemistry of soy sauce fermentation. **Adv. Appl. Microb**. 17:157-195.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.C.E., and Zhang, L. (2004). Evaluation of sulfated fungal β-glucans from the sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as a potential water-soluble anti-viral agent. **Carb. Res**. 339: 2297-2301.

Zhang M, Cheung, P.C.K., and Zhang L. (2001). Evaluation of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer as a potential antitumor agent. **J. Agric. Food Chem.** 49: 5059-5062.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Zhang, L., Chiu, C.-M., and Ooi, V.C.E.,. (2004). Carboxymethylated β-glucans from mushroom sclerotium of *Pleurotus tuber regium* as novel water-soluble anti-tumor agent. **Carb. Polym.** 57: 319-325.

บทที่ 4
การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยด่าง
ALKALINE HYDROLYSIS OF MUSHROOMS FOR FLAVORED SAUCE PRODUCTION

4.1 บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เพื่อทำการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยด่าง (alkali hydrolysis) โดยใช้ความดันสำหรับการผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรสจากเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน 21.34, 18.82 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.88, 0.84 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรททั้งหมด 65.58, 68.92 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหารโภชนา 42.65, 44.20 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 4.67, 5.44 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อย่อยเห็ดแห้งด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 โมลาร์ และ 6 โมลาร์ อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง พบว่า อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด และจะมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณด่างมากขึ้น ความเข้มข้นด่างที่ 5 โมลาร์ มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่ 6 โมลาร์ ($p>0.05$) โดยมีค่าสูงสุดเป็น 4.10 และ 3.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสท ผลิตซอสจากเห็ดนางรมโดยย่อยเห็ดด้วยด่างที่ความเข้มข้น 5 โมลาร์ อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ในสภาวะอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง ทำการบ่มเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนการปรุงรสด้วยน้ำตาลปริมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และผงชูรส (MSG:Sodium-5′-inosinate:Sodium-5′-guanylate = 98:1:1) ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มอีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่เตรียมได้ โดยใช้ผู้ประเมินที่ได้รับการฝึกฝนแล้วจำนวน 8 คน พบว่า ซอสจากเห็ดที่ผ่านการปรุงรสมีคะแนนคุณลักษณะรวมมากที่สุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) และไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับอัตราส่วน 1:3 (กรัม:มล.) แต่ซอสที่ได้มีรสขมซึ่งผู้ประเมินบางคนสามารถรับ รสขมนี้ได้

4.2 บทนำ

ซอสปรุงรสเป็นเครื่องปรุงรสที่ได้รับความนิยมมากโดยเฉพาะกลุ่มผู้บริโภคอาหารมังสวิรัติ โดยทั่วไปสามารถผลิตได้ 2 วิธีคือ การหมักด้วยจุลินทรีย์ เรียกว่า ซีอิ๊ว และวิธีการย่อยสลายด้วยกรด เรียกว่า ซอสปรุงรส (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) ปัจจุบันได้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของสาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) ในผลิตภัณฑ์ที่ย่อยด้วยกรด ซึ่งสารดังกล่าวมีการประเมินความเป็นพิษตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 และประเทศในกลุ่มยุโรปได้เฝ้าระวังสุ่มเก็บตัวอย่างตรวจสอบตลอดมา สาร 3-MCPD เริ่มมีการตรวจสอบเมื่อปี พ.ศ. 2542 ในผลิตภัณฑ์อาหารของประเทศสมาชิกสหภาพยุโรปพบว่า ผลิตภัณฑ์อาหารที่จำหน่ายตามท้องตลาดมีสาร 3-MCPD ปนเปื้อนในปริมาณสูงมาก (6-124 มก./กก.) โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส จึงมีการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ซ้ำ ผลปรากฏว่า 1 ใน 3 ของตัวอย่างซอสปรุงรสที่สุ่มตรวจมีปริมาณเกินกว่าที่องค์การทางอาหารแนะนำไว้ คือ 0.1 มก./กก. ต่อมาประเทศในสหภาพยุโรปจึงสั่งยกเลิกผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่นำเข้าจากประเทศแถบเอเชีย ในปีเดียวกันประเทศเดนมาร์กได้สั่งห้ามนำเข้าซอสปรุงรสจากไทย เนื่องจากตรวจพบในปริมาณสูงมาก คือ 2.7-85 มก./กก. (สถาบันอาหาร, 2545) จากสาเหตุดังกล่าวหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งภาครัฐและเอกชนจึงได้มีการพยายามหาวิธีผลิตเพื่อจะลดปริมาณสาร 3-MCPD ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส วิธีหนึ่งที่น่าสนใจคือ การย่อยสลายวัตถุดิบด้วยด่าง ซึ่งวิธีการนี้มีข้อดีคือ กรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟนจะไม่ถูกทำลาย แต่จะมีข้อเสียคือ สูญเสียกลิ่นรสอาหารไปบางส่วน (สถาบันอาหาร, 2545)

กระบวนการย่อยด้วยด่างเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการแตกตัวของโมเลกุลโปรตีนโดยการเติมโมเลกุลของน้ำเข้าไปแทรกในระหว่างพันธะของสาย building block ที่ถูกตัด (Kaye, Weber and William, 2004) โดยทั่วไปกระบวนการย่อยด้วยด่างนิยมใช้ในการย่อยสลายซากสัตว์เพื่อเปลี่ยนซากให้อยู่ในรูปของสารละลายที่ประกอบไปด้วยผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายต่าง ๆ เช่น กรดอะมิโน เปปไทด์สายสั้น และน้ำตาล เป็นต้น (Waste Reduction by Waste Reduction, Inc., 2004) นอกจากนี้ Usman, Ibiyemi, Oluwaniyi and Ameen (2003) ศึกษาการลดปริมาณสารพิษประเภทไกลโคไซด์ (glycosides) ซึ่งทำให้เกิดรสขมในพืชตระกูลเมล็ดสายพันธุ์ *Thevetia peruviana* โดยการย่อยด้วยกรดเกลือ และด่าง 2 ชนิด คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์พบว่า การย่อยสลายด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ และ 0.5 โมลาร์ จะสามารถทำลายสารพิษได้อย่างสมบูรณ์

จากการศึกษานี้จึงคาดว่าจะได้รับข้อมูลที่เกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม โดยการย่อยด้วยด่างที่สภาวะอุณหภูมิสูงและใช้ความดัน

เพื่อผลิตซอสเห็ดปรุงรส ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตรและได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

4.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

4.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

เห็ดที่เลือกใช้เป็นเห็ดที่นิยมบริโภคและมีขายตามท้องตลาด คือ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) จากฟาร์มเห็ดคุณแดง อ.เมือง จ.นครราชสีมา อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบระบบลมร้อน (TD 372, New Way Manufacturing Co., Ltd., Thailand) เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง จนเห็ดแห้งมีความชื้นประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงบดให้ละเอียด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสต่อไป

4.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

4.3.2.1 ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC (2000)

4.3.2.2 ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000) (N×6.25) ด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

4.3.2.3 ปริมาณไขมัน โดยวิธี AOAC (2000) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขมัน (2050 Soxtec Auto Extraction unit**,** Sweden)

4.3.2.4 ปริมาณเถ้า โดยวิธี AOAC (2000)

4.3.2.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด โดยคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

4.3.2.6 ปริมาณเยื่อใยอาหารโภชนาด้วยวิธี enzymatic-gravimetric method โดยวิธี AOAC (2000) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เอนไซม์ในการย่อยตัวอย่าง แล้วชั่งนำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณ โดยนำค่าแบลงก์ปริมาณโปรตีน และปริมาณเถ้าของสิ่งที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณปริมาณใยอาหาร

4.3.3 การย่อยสลายโปรตีนจากเห็ดด้วยด่าง

4.3.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยด่าง

ชั่งเห็ดแห้ง 40 ± 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่ในฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร จำนวน 2 ฟลาสก์ เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 โมลาร์ (20 เปอร์เซ็นต์) และ 6 โมลาร์ (24

เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ปริมาณวัตถุดิบต่อด่าง คือ 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มิลลิลิตร) ปิดจุกซึ่งทำด้วยสำลีหุ้มผ้าขาวบางแล้วทำการย่อยในหม้อนึ่งความดัน (SANYO รุ่น MLS-2420/MLS-3020, บริษัท Sanyo Electric Co, Ltd., Japan) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง ตามแต่ละชุดทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) จัดชุดทดลองเป็นแบบแฟกตอเรียล รวม 12 ชุดทดลอง ทำการทดลอง 2 ซ้ำในแต่ละชนิดของเห็ด หลังการย่อยปล่อยให้อุณหภูมิของไฮโดรไลเสทที่ได้ลดลงเหลือประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับพีเอชโดยค่อย ๆ เติมกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) พร้อมกับคนเพื่อป้องกันของเหลวพ่นออกตามฟอง จนวัดพีเอชได้ประมาณ 5.5 แล้วจึงกรองแยกกากออกด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (BUCHI B-169, Switzerland) และฆ่าเชื้อไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4.3.3.2 วิเคราะห์คุณภาพของเหลวที่ได้จากการกรองหลังปรับพีเอช

1) ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000) โดยวิธี Kjeldahl Method (N×6.25) ด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

2) ปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539) กลั่นหาแอมโมเนียคัลไนโตรเจนด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

3) ปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539)

4) ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539)

5) ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539) โดยคำนวณจากผลต่างระหว่าง ปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย

6) ปริมาณสาร 3-MCPD โดยวิธี AOAC (2002) ด้วย GC-MS ซึ่งวิเคราะห์โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพมหานคร

คัดเลือกชุดทดลองที่เหมาะสม 6 ชุดการทดลอง โดยพิจารณาที่สภาวะที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เพื่อใช้ผลิตในขั้นตอนการปรุงรสต่อไป

4.3.3.3 การปรุงแต่งกลิ่นรสของซอส

บ่มไฮโดรไลเสทที่คัดเลือกได้จากกระบวนการผลิตโดยการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยด่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นจึงทำการปรุงรสโดยเติมน้ำตาลทรายปริมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และเติมผงชูรส (MSG: Sodium-5′-inosinate: Sodium-5′-guanylate = 98:1:1) ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เมื่อทำการปรุงรสแล้วก็บ่มซอสที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอีก 2 สัปดาห์ รวมเป็นระยะเวลาในการบ่ม 1 เดือนก่อนการประเมินทางประสาทสัมผัส

4.3.3.4 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและกายภาพผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสหลังบ่ม

ทำการวิเคราะห์ซอสปรุงรสหลังบ่มนาน 1 เดือน เช่นเดียวกับในข้อ 4.3.3.2 ค่าสีโดยใช้ Spectrophotometer รุ่น Double Beam UV-VIS (Scientific equipment PTY Co., Ltd, Melbourne, Australia) ที่ความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร ความถ่วงจำเพาะ ณ อุณหภูมิห้อง โดยใช้ไฮโดรมิเตอร์ และพีเอช ณ อุณหภูมิห้อง โดยใช้พีเอชมิเตอร์

4.3.3.5 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

การประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสใช้ผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว 8 คน ใช้วิธี QDA (Quantitative Descriptive Analysis) โดยเสนอตัวอย่างให้ประเมินชุดละ 5 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยและจัดเรียงในถาดด้วยวิธีสุ่ม (Watts, Ylimaki and Elias, 1989) ให้ผู้ประเมินใช้ปลายช้อนแตะตัวอย่างชิมโดยตรง แล้วทำเครื่องหมายในแบบประเมินคุณภาพ คัดเลือกชุดทดลองที่มีคุณลักษณะรวมสูงสุด

4.3.4 การเก็บรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ โดยวิเคราะห์ 3 ซ้ำในทุกการวิเคราะห์ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS institute, Inc., 1995) สำหรับทุกการวิเคราะห์

4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบคือ เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (ตารางที่ 4.1) พบว่า ความชื้นในเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าน้อยมากคือ 4.67 และ 5.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าปริมาณโปรตีน 21.34 และ 18.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งในเห็ดทั้งสองชนิดนี้มีค่าปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน โดยเห็ดนางรมจะมีปริมาณมากกว่า เนื่องจากเห็ดทั้งสองชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกัน (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2545) เมื่อพิจารณาที่ค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมดและใยอาหารโภชนา พบว่า มีค่าค่อนข้างสูงมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากเห็ดประกอบด้วยใยอาหารหยาบเป็นองค์ประกอบหลัก โดยเฉพาะสารประกอบประเภท β-glucan และไคติน (Zhang, Cheung and Zhang, 2001) นอกจากนี้ Cheung (1996) รายงานว่าเห็ดนางฟ้าอุดมไปด้วยใยอาหารโภชนา ซึ่งมีค่า 42.4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และใยอาหารเหล่านี้ยังสามารถเป็นสารต่อต้านมะเร็งในลำไส้และต่อต้านไวรัสได้อีกด้วย (Zhang, Cheung and Zhang, 2001; Zhang, Cheung, Zhang, Chiu and Ooi, 2004; Zhang, Cheung, Ooi and Zhang, 2004)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (น้ำหนักแห้ง)

Compositions (%)	Nangrom	Nangpha
Protein	21.34 ± 0.29	18.82 ± 0.15
Fat	0.88 ± 0.08	0.84 ± 0.17
Moisture	4.67 ± 0.18	5.44 ± 0.27
Ash	7.53 ± 0.39	5.98 ± 0.08
Total carbohydrate	65.58	68.92
Dietary fiber	42.65 ± 0.05	44.20 ± 0.10

4.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยด่างและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

4.4.2.1 ปริมาณโปรตีน

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยพิจารณาความเข้มข้นของด่าง และอัตราส่วนเห็ดต่อด่างในการย่อยแสดงดังตารางที่ 4.2 ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทจัดเป็นปัจจัยสำคัญในการใช้คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอสปรุงรสต่อไป

พิจารณาค่าอัตราส่วนเห็ดต่อด่างต่างกันในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า พบว่า ที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ($p<0.05$) ที่ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ มีค่าเป็น 4.10 และ 3.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเห็ดต่อด่างมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากที่การใช้ปริมาณด่างมากทำให้การเจือจางของวัตถุดิบมากขึ้น อีกทั้งยังต้องใช้กรดเกลือในการปรับพีเอชมากขึ้นไปด้วย

พิจารณาที่ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ในกรณีของไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเข้มข้นสูงจำเป็นต้องใช้ปริมาณกรดเกลือซึ่งอยู่ในรูปของสารละลายในการปรับ pH เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณไฮโดรไลเสทที่ได้มีค่ามากขึ้นตามไปด้วย จึงเป็นการเจือจางปริมาณโปรตีน ในขณะที่ไฮโดรไสเสทจากเห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ที่ความเข้มข้นด่างต่างกัน สรุปได้ว่า ปริมาณโปรตีนที่ลดลงเป็นผลมาจากการเพิ่มอัตราส่วนเห็ดต่อด่างมากกว่าเป็นผลจากความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

ตารางที่ 4.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	Nangrom	Nangpha
1:2	5	4.10 a[(1)]	3.46 a
	6	3.89 a	3.00 b
1:3	5	3.12 b	2.62 c
	6	3.05 b	2.38 d
1:4	5	2.58 c	2.23 d
	6	2.37 c	2.01 e

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.4.2.2 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน

ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนเป็นค่าที่คำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย และมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสท คือ กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลซ์มากขึ้นเมื่อปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ผลการวิเคราะห์อะมิโนแอซิดไนโตรเจนในไฮโดรไลเสท

จากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่า อัตราส่วนเห็ดต่อด่างที่ใช้ให้ผลในทำนองเดียวกับปริมาณโปรตีนคือ ที่ปริมาณเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) ให้ค่าอะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงที่สุด และการใช้ด่างในปริมาณมากขึ้น ให้อะมิโนแอซิดไนโตรเจนลดลงเป็นลำดับ การใช้ด่างความเข้มข้นต่างกันในการย่อย ให้ค่าอะมิโนแอซิดไนโตรเจนใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) ซึ่งค่าอะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงที่สุดที่ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) มีค่าเป็น 4.35 และ 4.39 กรัม/ลิตร ตามลำดับ Waste Reduction by Waste Reduction, Inc. (2004) กล่าวว่า การย่อยวัตถุดิบด้วยด่างเช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้กรดอะมิโนบางชนิดถูกทำลายไป เช่น อาร์จีนีน แอสพาราจีน กลูตามีน และเซอรีน ในขณะที่กรดอะมิโนชนิดอื่นอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป

ตารางที่ 4.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	Nangrom	Nangpha
1:2	5	4.35 a[(1)]	4.39 a
	6	4.16 ab	4.10 a
1:3	5	4.17 ab	3.49 b
	6	3.46 bc	3.27 bc
1:4	5	3.21 c	2.81 c
	6	2.86 c	2.91 c

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.4.2.3 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์

เนื่องจากกระบวนการย่อยด้วยด่างเป็นกระบวนการย้อนกลับของการผลิตซอสปรุงรสโดยทั่วไป เกลือที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตซอสย่อยด้วยด่างน่าจะเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์กับคลอไรด์ในกรดเกลือที่ใช้ในขั้นตอนการปรับพีเอช ดังสมการ

$$2HCl + 2NaOH \longrightarrow 2NaCl + 2H_2O$$

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าแสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่า พิจารณาที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่างเพิ่มขึ้น ปริมาณเกลือจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ($p<0.05$) เช่นเดียวกับเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของด่างที่ความเข้มข้น 6 โมลาร์ จะมีค่าสูงกว่าความเข้มข้น 5 โมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่เมื่อใช้อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 6 โมลาร์ ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณเกลือสูงสุด เป็น 170.99 และ 164.88 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในขั้นตอนการปรับพีเอชต้องใช้ปริมาณกรดเกลือสูงมากกว่าไฮโดรไลเสทที่ได้จากสภาวะอื่น ๆ ทำให้เกิดเป็นเกลือได้มากดังสมการข้างต้น

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	Nangrom	Nangpha
1:2	5	147.68 d[(1)]	146.02 f
	6	152.37 c	149.26 e
1:3	5	148.87 d	153.63 d
	6	163.23 b	156.83 c
1:4	5	164.98 b	161.19 b
	6	170.99 a	164.88 a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.4.2.4 ปริมาณสาร 3-MCPD

คัดเลือกตัวอย่างเห็ดนางรมที่สภาวะการย่อยอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง ส่งตัวอย่างไฮโดรไลเสทวิเคราะห์ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ใช้ตัวอย่างเห็ดนางรมเพียงชนิดเดียว เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงและเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียงกันมาก (ตารางที่ 4.1) ปริมาณสาร 3-MCPD แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่า ตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมไม่พบสาร 3-MCPD ทั้งนี้อาจสันนิษฐานได้ว่ากระบวนการย่อยด้วยด่างแม้จะเป็นการย่อยภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงและใช้ความดัน แต่จะไม่

เกิดปฏิกิริยา chlorination ของสาร 3-MCPD ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาของสาร 3-MCPD อาจเกิดที่ภายใต้สภาวะการย่อยด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้นและอุณหภูมิสูง ขณะเดียวกันนั้นจะเกิดกระบวนการ chlorination ของน้ำมันและไขมันที่เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในวัตถุดิบกับกรดเกลือ ทำให้เกิดสารปนเปื้อน3-MCPD ขึ้น (Chung, Hui and Chen, 2002; Hamlet et al., 2002; Lee et al., 2004; คณะกรรมการอาหารและยา, 2546) กระบวนการย่อยด้วยด่างในขั้นตอนการให้ความร้อนไม่มีคลอไรด์อิออนอันเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาดังกล่าว จึงน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ไม่พบปริมาณ 3-MCPD

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมที่ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	3-MCPD (mg/kg)
1:3	5	ND[(1)]
1:4	5	ND

[(1)]ND = Not detected.

กระบวนการย่อยด้วยด่างนี้ แม้จะเป็นกระบวนการที่เหมาะสมและไม่เกิดสาร 3-MCPD แต่รสชาติของไฮโดรไลเสทที่ได้ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่น่าจะต้องพิจารณา สถาบันอาหาร (2545) รายงานว่า การเพิ่มความเป็นด่างโดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในโปรตีนจากพืชที่ถูกย่อยแล้วจนมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 8.5 แล้วให้ความร้อนจนที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จะลดสาร 3-MCPD ลงได้เหลือต่ำกว่า 10 ส่วนต่อพันล้านส่วน (ppb) แต่มีข้อเสียคือ จะสูญเสียกลิ่นรสอาหารไปบางส่วน

4.4.3 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก., 2539) (ตารางที่ 4.6) พบว่า ค่าพีเอช ก่อนการปรุงรสมีค่าประมาณ 5.81-5.93 เมื่อบ่มและปรุงรสแล้วพีเอชมีค่าค่อนข้างคงที่โดยมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย คือ มีค่า 5.78-5.90 ซึ่งถือว่ายังอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ความถ่วงจำเพาะที่วัดได้มีค่าไม่แตกต่างกันทั้งก่อนและหลังปรุงรส ซึ่งความถ่วงจำเพาะมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.116-

1.122 ค่าสีเป็นค่าที่ได้จากการเจือจางตัวอย่าง 5 เท่าด้วยน้ำ แล้วจึงทำการวัดค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer พบว่า มีค่าลดลงตามการเพิ่มปริมาณด่าง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อมีปริมาณด่างมาก จำเป็นต้องใช้กรดในการปรับพีเอชมากตามไปด้วย ค่าสีหลังการบ่มและปรุงรสแล้วมีค่าลดลงใน แต่ละระดับปริมาณด่าง วิเชียร ลีลาวัชรมาศ (2534) กล่าวว่า ในระหว่างการบ่มซอสจะเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ ทำให้กลิ่นรสของน้ำซอสดีขึ้นและในช่วงนี้จะมีการตกตะกอนของสารประกอบสีน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้ซอสปรุงรสมีความใสมากขึ้น

ปริมาณโปรตีนในเห็ดนางรมก่อนปรุงรสมากกว่าหลังปรุงรสเล็กน้อย โดยมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) มีค่าก่อนและหลังปรุงรสเป็น 4.73 และ 4.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน โดยมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) มีค่าก่อนและหลังปรุงรสเป็น 5.13 และ 4.92 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนและอะมิโนแอซิดไนโตรเจนจากการทดลองนี้มีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก., 2539) ทั้งนี้อาจเนื่องจากองค์ประกอบของเห็ดที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นยังมีปริมาณโปรตีนไม่มากเท่าที่ควร รวมทั้งมีคาร์โบไฮเดรททั้งหมดและใยอาหารโภชนาเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มาก (ตารางที่ 4.1) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้อาจจะมีส่วนในการเกิดโครงสร้างที่ซับซ้อนและยึดกับโปรตีนทำให้เกิดการย่อยด้วยด่างและความร้อนเป็นไปได้ยากและได้ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทน้อย Waste Reduction by Waste Reduction, Inc. (2004) กล่าวว่า คาร์โบไฮเดรทที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่บางชนิด เช่น β-1,4 glycans เป็นคาร์โบไฮเดรทที่พบมากในเห็ดนางรมจะมีความคงทนต่อปฏิกิริยาการย่อยด้วยด่างมาก

ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ของไฮโดรไลเสทจากเห็ดเกิดจากการใช้กรดเกลือเพื่อปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 5.5 พบว่า มีค่าน้อยกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมซึ่งจัดว่ามีค่าค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเข้มข้นของด่างที่ใช้ยังน้อยเกินไป โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณด่างมากขึ้นและจะมีค่าลดลงในตัวอย่างซอสที่ผ่านการปรุงรสแล้วในแต่ละระดับของปริมาณด่าง การเลือกปรุงรสด้วยปริมาณน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) พิจารณาจากผลการยอมรับรวมของซอสเห็ดปรุงรสในกระบวนการย่อยด้วยกรดในบทที่ 3 แต่เนื่องจากในการทดลองย่อยด้วยด่างนี้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ก่อนปรุงรสมีค่าค่อนข้างน้อย ดังนั้นเมื่อทำการปรุงรสทำให้ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ได้เจือจางลงไปอีก

ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสเห็ดนางรมย่อยที่สภาวะความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่างต่าง ๆ

	Hydrolysate			Flavored sauce (9% sugar)			TISI 8-2539 [(1)]
Ratio	1:2	1:3	1:4	1:2	1:3	1:4	
pH	5.84 ± 0.16	5.81 ± 0.09	5.93 ± 0.18	5.81 ± 0.17	5.78 ± 0.11	5.90 ± 0.16	5.0-6.2
Specific gravity	1.134 ± 0.02	1.121 ± 0	1.117 ± 0	1.122 ± 0	1.120 ± 0	1.116 ± 0	>1.240
Color	1.738 ± 0.01	1.167 ± 0.05	0.866 ± 0.03	1.653 ± 0.04	0.958 ± 0.02	0.717 ± 0.01	-
Protein (%)	4.73 ± 0.14	3.33 ± 0.08	2.55 ± 0.06	4.42 ± 0.15	3.18 ± 0.12	2.48 ± 0.08	>10
Amino acid nitrogen (g/L)	5.13 ± 0.31	3.58 ± 0.19	2.99 ± 0.21	4.92 ± 0.24	3.64 ± 0.20	2.85 ± 0.15	>20.0
Sodium chloride (g/L)	154.78 ± 0.67	160.02 ± 0.54	172.29 ± 0.94	138.80 ± 1.75	153.45 ± 0.67	164.02 ± 0.54	200-230

[(1)] TISI 8-2539 means Thai Industrial Standard Institute Ministry of Industry

4.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมย่อยด้วยด่างอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 5 และ 6 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แสดงในตารางที่ 4.7 พบว่า ลักษณะปรากฏหรือสีของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีสีน้ำตาลเข้มอยู่ในช่วงค่อนข้างสูง มีคะแนน 7.27-7.97 การเกิดสีในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสย่อยด้วยด่างน่าจะเป็นผลจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่มีเอนไซม์ (non-enzymatic browning) ปฏิกิริยามิลลาจ (Maillard reaction) ปฏิกิริยาการเกิดสารคาราเมล (caramelization) และปฏิกิริยาการรวมตัวของสารประกอบคาร์โบนิลและสารประกอบเอมีน (carbonyl-amine reaction) เช่นเดียวกับกระบวนการย่อยด้วยกรดเกลือ (Weir, 1986)

การประเมินคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนกลิ่นที่ชอบ (pleasant) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งก่อนและหลังปรุงรส อยู่ในช่วง 3.20-4.06 เช่นเดียวกับกลิ่นผิดปกติ (off-odor) ผู้ประเมินให้คะแนนไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งก่อนและหลังปรุงรส ($p>0.05$) โดยมีคะแนน 1.89-2.80

การประเมินคุณภาพกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนความเค็มของไฮโดรไลเซทและซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมมีความเค็มสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) ในไฮโดรไลเสทก่อนปรุงรส ($p<0.05$) มีคะแนน 6.10 ในขณะที่หลังจากบ่มและปรุงรสแล้วความเค็มมีคะแนนน้อยที่สุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) ($p<0.05$) มีคะแนน 4.31 เมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่า ซอสปรุงรสแล้วมีความเค็มน้อยกว่าก่อนปรุงรส ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่วิเคราะห์ได้ (ตารางที่ 4.4) ซึ่งความเค็มของซอสปรุงรสเป็นผลมาจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์กับกรดเกลือในขั้นตอนการปรับพีเอชของไฮโดรไลเสท ไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยด้วยด่างทั้งหมดมีรสหวานน้อยกว่าในซอสปรุงรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยก่อนปรุงรสมีคะแนนประมาณ 1.38-2.16 และเมื่อปรุงรสแล้วมีคะแนนประมาณ 3.68-4.05 กลิ่นรสอร่อย (umami)ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสผู้ประเมินให้คะแนนที่อัตราส่วน 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) สูงที่สุด ($p<0.05$) มีคะแนนเป็น 3.18 และ 3.20 ตามลำดับ กลิ่นรสอร่อยอาจเกิดจากกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำซอสปรุงรส เช่น กรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติก ซึ่งเป็นสารประเภทที่ให้กลิ่นรสคล้ายผงชูรส (monosodium glutamate-like, MSG-like) (Mau, Lin, Ma and Song, 2001) และจากผงชูรสที่เติม จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (ตารางที่ 6.4) พบว่า มีกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิกมากที่สุด มีค่า 581.21 และ 501.05 มก./100 มล. ตามลำดับ ไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสมีกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavor) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับกลิ่นเห็ดในผลิตภัณฑ์ ($p>0.05$)

ซึ่งผู้ประเมินสามารถรับได้แต่มีค่าค่อนข้างต่ำคือ ประมาณ 1.04-1.56 ทั้งนี้อาจเนื่องจากการย่อยด้วยด่างเป็นการย่อยที่ทำให้กลิ่นรสของอาหารสูญเสียไปบางส่วน (สถาบันอาหาร, 2545) รสขมของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และมีคะแนนค่อนข้างต่ำระหว่าง 0.83-1.93 ก่อนปรุงรสและ 0.85-1.24 หลังปรุงรส เมื่อพิจารณาที่คะแนนของผู้ประเมินแต่ละคน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) พบว่า ผู้ประเมินบางคนสามารถรับรสขมได้ ในขณะที่บางคนไม่สามารถรับได้ รสขมที่เกิดขึ้นอาจเนื่องจากการย่อยด้วยด่างทำให้เกิดเป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ ที่ให้ความขมและกรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟน กระบวนการย่อยด้วยด่างกรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟนไม่ถูกทำลาย กรดอะมิโนชนิดนี้เป็นกรดอะมิโนจำเป็นต่อร่างกาย แต่มีข้อเสียคือ ทำให้เกิดรสขมในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสท (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยด่าง (ตารางที่ 6.4, บทที่ 6) มีปริมาณหมู่อะมิโนที่ไม่ชอบน้ำชนิดเฟนีลอะลานีน ไทโรซีน และทริปโทเฟนมากกว่าไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยกรดที่อัตราส่วนเห็ดต่อกรดหรือด่างเท่ากัน คือ 1:3 (กรัม:มล.) โดยเฟนีลอะลานีนมีปริมาณมากกว่า 6 เท่า ไทโรซีนมีปริมาณมากกว่าถึง 10 เท่า และไม่พบทริปโทเฟนในการย่อยด้วยกรด ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดรสขมในกระบวนการย่อยด้วยด่างได้ มีผู้ทำการศึกษาหาปริมาณกรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟนในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทต่าง ๆ เพื่อทดสอบหารสขมในผลิตภัณฑ์ เช่น ในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลา (Nilsang, Lertsiri, Suphantharika and Assavaning, 2005) เป็นต้น พิจารณาคะแนนคุณลักษณะรวมของไฮโดรไลเสทมีค่าน้อยกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาเฉพาะซอสปรุงรส พบว่า ซอสผลิตจากอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) มีคะแนนสูงที่สุดเป็น 4.35 แต่ไม่แตกต่างกับซอสที่ผลิตจากอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 (กรัม:มล.)

ตารางที่ 4.7 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วน เห็ด:ด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง

	Hydrolysate			Flavored sauce (9% sugar)		
	1:2	1:3	1:4	1:2	1:3	1:4
1. Appearance						
Color	7.97 a[(1)]	7.81 a	7.47 a	7.97 a	7.58 a	7.27 a
2. Aroma						
Pleasant	3.20 a	3.92 a	3.85 a	3.92 a	4.06 a	3.92 a
Off-odor	2.80 a	2.01 a	2.04 a	2.13 a	1.89 a	2.06 a
3. Flavor						
Salty	5.78 ab	5.87 ab	6.10 a	4.31 b	4.75 ab	4.82 ab
Sweet	2.16 b	1.90 b	1.38 b	4.04 a	4.05 a	3.68 a
Umami	1.86 cb	2.11 abc	1.53 c	2.95 ab	3.18 a	3.20 a
Off-flavor	1.63 a	1.19 a	1.05 a	1.09 a	1.13 a	1.22 a
Mushroom-flavor	1.38 a	0.93 a	0.98 a	1.54 a	1.02 a	1.16 a
Bitterness	1.93 a	1.19 a	0.83 a	1.24 a	0.85 a	0.95 a
Aftertaste	3.04 a	2.55 a	2.84 a	3.01 a	3.13 a	2.97 a
Overall	2.33 d	3.16 bcd	2.91 cd	3.60 bc	3.97 ab	4.35 a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.5 สรุปผลการทดลอง

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 โมลาร์ ใช้อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 4.10 และ 3.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าเป็น 4.35 และ 4.39 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แต่มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ำที่สุดมีค่าเป็น 147.68 และ 146.02 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าสูงที่สุดคือ ที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้น 6 โมลาร์ มีค่าเป็น 170.99 และ 164.88 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

วิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MCPD เฉพาะไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) พบว่า ไม่พบสารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์

องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรส ได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ ปริมาณโปรตีน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน และปริมาณเกลือมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของซอสปรุงรส ผล

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่ทุกระดับปริมาณด่างและความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความชอบ กลิ่นรสผิดปกติ กลิ่นเห็ดและรสขมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับไฮโดรไลเสท แต่มีค่าความหวานและความเค็มต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปรุงรสด้วยระดับน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) คะแนนคุณลักษณะรวมสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.)

4.6 รายการอ้างอิง

บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร. (2545). **เห็ดนางฟ้า**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: เกษตรบุ๊ค.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). **เอนไซม์ทางอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2534). **ซีอิ๊ว**. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

สถาบันอาหาร. ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ. (2545). **3-MCPD และ 1,3-DCP** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.nfi.or.th

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กองเผยแพร่และควบคุมการโฆษณา. (2546). **ซอสปรุงรสและซีอิ๊ว** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/ ซอสปรุงรสและซีอิ๊ว.html

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กลุ่มงานพัฒนาความปลอดภัยด้านเคมีวัตถุ. (2545). **พิษวิทยาของสาร MCPD** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.com/พิษวิทยาของสาร MCPD.html

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2539). **มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำซอสปรุงรส.** กระทรวงอุตสาหกรรม.

AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17ed., AOAC International, Gaitersberg, Maryland.

Cheung, P.C.K. (1996). Dietary fiber content and composition of some cultivated edible mushroom fruiting bodies and mycelia. **J. Agric. Food Chem.** 44: 468-471.

Chung, W-C., Hui, K-Y., and Cheng, S-C. (2002). Sensitive method for the determination of 1,3-chloropropane-2-ol and 3-monochloro-1,2-propanediol in soy sauce by capillary gass chromatography with mass spectrometric detection. **J. Chromatogr.** 952: 185-192.

Hamlet, G.C., Sadd, P.A., Crews, C., Velisek, J., and Baxter, D.E. (2002). Occurrence of 3-chloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods: a review. **Food Addit. Contam.** 19(7): 619-631.

Kaye, G.I., Weber, P.B., and William, M.W. (2004). **Alkaline hydrolysis** [On-line]. http://www.google.co.th/alkaline hydrolysis.html

Lee, J.K., Byun, J.A., Park, S.H., Kim, H.S., Park, J.H., Eom, J.H., and Oh, H.Y. (2004). Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1,2-propanediol in balb/c mice I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. **Toxicity**. 204: 1-11.

Mau, J.L., Lin, H.C., Ma, J.T., and Song, S.F. (2001). Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. **Food Chem.** 73: 461-466.

Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., and Assavanig, A. (2005). Optimization of Enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. **J. Food Eng.** 70: 571-578.

SAS. 1995. SAS 6.08.04 WIN. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Usman, L.A., Ibiyemi,S.A., Oluwaniyi, O.O., and Ameen, O.M. (2003). Effect of acid and alkaline hydrolysis on the concentration of albumin and globulin in *Thevetia peruviana* seed cake protein extract. **Biokemistri.** 15(1): 16-21.

Waste Reduction by Waste Reduction, Inc. (2004). **Biological waste management by alkaline hydrolysis** [On-line]. Available: http://www.google.co.th/alkaline hydrolysis.html (Technical monograph).

Watt, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E., and Elias, L.G. (1989). **Basic Sensory method for food evaluation**. The International Development Research Centre, Ottawa.

Weir, G.S.D. (1986). **Protein hydrolysates as flavourings**. In development in food protein – 4. Hudson, B.J.F. (eds). New York: Elsevier Applied Science Publishers. pp 175-217.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.C.E., and Zhang, L. (2004). Evaluation of sulfated fungal β-glucans from the sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as a potential water-soluble anti-viral agent. **Carb. Res.** 339: 2297-2301.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., and Zhang, L. (2001). Evaluation of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer as a potential antitumor agent. **J. Agric. Food Chem.** 49: 5059-5062.

Zhang, M., Cheung, P.C.K., Zhang, L., Chiu, C.-M., and Ooi, V.C.E. (2004). Carboxymethylated β-glucans from mushroom sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as novel water-soluble anti-tumor agent. **Carb. Polym**. 57: 319-325.

บทที่ 5
การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์
ENZYMATIC HYDROLYSIS OF MUSHROOMS FOR FLAVORED SAUCE PRODUCTION

5.1 บทคัดย่อ

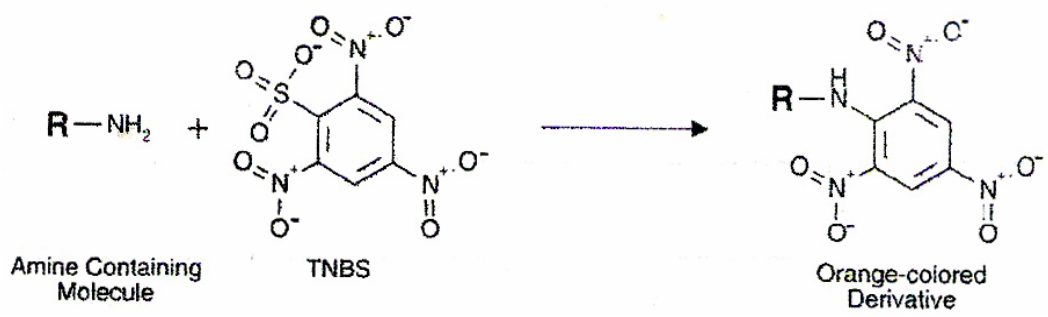
การวิจัยนี้เพื่อทำการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยเอนไซม์ทางการค้า (enzymatic hydrolysis) สำหรับการผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรสจากเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน 20.82, 21.30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.56, 0.29 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรททั้งหมด 68.35, 65.14 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหารโภชนา 45.5, 42.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 4.44, 5.32 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้งตามลำดับ ทำการย่อยเห็ดแห้งด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้าสองชนิดคือ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่า การย่อยที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) ให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีก่อนการเติมเอนไซม์ ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุดที่เวลาย่อย 6 ชั่วโมง เป็น 53.91 เปอร์เซ็นต์ ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม ผลิตซอสเห็ดปรุงรสจากสภาวะที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุด พบว่าซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มอก. 1317-2538) และมีปริมาณโปรตีน ไนโตรเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงกว่าซอสเห็ดปรุงรสทางการค้า ($p<0.05$) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่เตรียมได้ เปรียบเทียบกับซอสทางการค้าใช้ผู้ประเมินที่ได้รับการฝึกฝนแล้วจำนวน 7 คน พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความหนืด ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย รสขม และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับตัวอย่างทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะสูงกว่าตัวอย่างทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.2 บทนำ

เห็ด (mushroom) เป็นอาหารที่นิยมนำมาทำอาหารกันแพร่หลาย ทั้งอาหารแบบธรรมดาและอาหารประเภทมังสวิรัติหรืออาหารเจ คุณค่าทางอาหารของเห็ดจากการวิเคราะห์ พบว่า เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผัก เห็ดประกอบด้วยกรดอะมิโนมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2539) นอกจากนี้ยังสามารถทดแทนโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ เห็ดบางชนิดใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้อีกด้วย ปัจจุบันมีการส่งเสริมจากรัฐบาลและเอกชนให้เกษตรกรเพาะเห็ดกันมากขึ้นตามลำดับ ซึ่งเห็ดหลายชนิดสามารถเพาะได้ทุกฤดูกาลของประเทศ (บรรณ บูรณะชนบท, 2545) จากประโยชน์ของเห็ดดังกล่าว สามารถแปรสภาพเห็ดเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่น ๆ ได้ เช่น การทำเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสทเพื่อผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรส เป็นต้น ซึ่งวิธีการในการผลิตสามารถทำได้ทั้งวิธีทางเคมีหรือวิธีทางชีวภาพ

โปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นผลิตผลที่ได้จากการย่อยโปรตีน โดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์ที่มีสายสั้น ๆ การเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสามารถกระทำได้โดยการใช้กรด ด่าง หรือเอนไซม์ โดยมีการควบคุมสภาวะ เช่น ระยะเวลา อุณหภูมิ พีเอช เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามต้องการ วิธีที่นิยมในปัจจุบันคือ การใช้เอนไซม์ ซึ่งมีข้อดีคือ เป็นการย่อยภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถควบคุมระดับการย่อย และควบคุมการกระจายตัวของขนาดผลิตภัณฑ์ได้ดี การใช้เอนไซม์มีผลกระทบต่อโครงสร้างทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้อยกว่าการย่อยด้วยสารเคมี และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2545) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากถ้าระดับการย่อยของเอนไซม์มากเกินไปเป็นผลทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีรสขมซึ่งเป็นกลุ่มของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ลิวซีน วาลีน ไอโซลิวซีน ไทโรซีน เฟนีลอะลานีน และทริปโทเฟน ระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการควบคุมการย่อยและการเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในแต่ละผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

การหาระดับการย่อยสลายสามารถทำได้หลายวิธี วิธีหนึ่งที่มีความเหมาะสมและนิยมคือ วิธีการหาปริมาณแอลฟา-อะมิโนด้วย 2, 4, 6-Trinitrobenzene-1-sulfonic acid (TNBS) เป็นการหาปริมาณแอลฟา-อะมิโนที่เกิดขึ้นเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้แอล-ลิวซีนเป็นสารมาตรฐาน หลักการของวิธีนี้คือ primary amines ทำปฏิกิริยากับสาร TNBS ได้ผลิตภัณฑ์ที่ให้สีเหลืองและสามารถวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงได้ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (Adler-Nissen, 1979) ดังภาพที่ 5.1



ภาพที่ 5.1 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TNBS กับ primary amines
แหล่งที่มา: Pierce Chemical Company (1999)

ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ในสภาวะเป็นด่างอ่อน ๆ (phosphate buffer pH 8.2) และจะหยุดปฏิกิริยาได้โดยการใช้สภาวะที่เป็นกรดด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล หากตัวอย่างมีสภาวะเป็นกรดมาก ๆ จะทำให้ไม่สามารถหาค่าแอลฟา-อะมิโนได้

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทส่วนใหญ่ผลิตโดยใช้วัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบ เช่น การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเครื่องในปลากระบอก (*Mulgil cephalus*) โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากจุลินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีองค์ประกอบของโปรตีน 83-86 เปอร์เซ็นต์ และมีคุณสมบัติการละลายในน้ำสูง (Rebeca, Pena-Vera and Diaz-Castaneda, 1991) นอกจากนี้ Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษาการย่อยสลายปลาแฮริ่งด้วยเอนไซม์ Alcalase 2.4 L ที่พีเอช 8.0-8.5 อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส และเอนไซม์ปาเปน ย่อยสลายที่พีเอช 6.0-7.0 อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส พบว่า เอนไซม์ Alcalase 2.4 L สามารถย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาแฮริ่งได้ดีกว่าเอนไซม์ปาเปน โดยเมื่อย่อยสลายเป็นเวลา 60 นาที มีระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis) สูงสุดเท่ากับ 44.7 และ 43.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตตกุล (2542) ศึกษาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alcalase 2 เปอร์เซ็นต์ และ Neutrase® 2 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าและทำให้เข้มข้นเพื่อผลิตเป็นซอสปรุงรส พบว่า การใช้เอนไซม์ Alcalase 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ย่อยสลายที่พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ Neutrase® 2 เปอร์เซ็นต์ ย่อยสลายที่พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีระดับการย่อยสลายสูงสุดที่ 85.54 และ 83.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้การย่อยสลายวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดเป็นเวลา 60 นาที ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิมมากที่สุด

Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษปลา Pacific Whiting (*Merluccius productus*) ที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตซูริมิโดยใช้เอนไซม์

Alcalase และ Neutrase ที่สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกับวัตถุดิบและ Alcalase มีระดับการย่อยสลายมากกว่า Neutrase

Kristinsson และ Rusco (2000) ศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลาแซลมอน โดยใช้ซีรีนโปรตีเอสที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาแซลมอน เปรียบเทียบกับโปรตีเอสชอบด่าง (alkaline protease) ทางการค้า 4 ชนิด คือ Alcalase 2.4 L, Flavourzyme 1000 L, Corolase PN-L และ Corolase 7089 โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 7.5 เป็นเวลา 180 นาที พบว่า Corolase 7089 มีระดับการย่อยสลาย สูงสุดเท่ากับ 14.4 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ โปรตีเอสที่สกัดได้จากปลาแซลมอน, Flavourzyme 1000 L, Corolase PN-L และ Alcalase 2.4 L โดยมีระดับการย่อยสลายเท่ากับ 14.1, 7.5 และ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Guerard, Guimas และ Binet (2002) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมปลากระป๋อง โดยใช้โปรตีเอสทางการค้า คือ Umamizyme® ย่อยที่พีเอช 7 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.1-1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) พบว่า เอนไซม์เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงสุดคือ 22.5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาย่อย 4 ชั่วโมง

Nilsang, Lertsiri, Suphantharika และ Assavaning (2005) ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษน้ำทิ้งในอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า 2 ชนิด คือ Flavourzyme® และ Kojizyme® พบว่า ไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อย 6 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ให้ปริมาณโปรตีนสูงถึง 66 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแนวโน้มการเกิดรสขมจากกรดอะมิโนทริปโทเฟน ในขณะที่ไฮโดรไลเสทย่อยด้วย Kojizyme® พบกรดอะมิโนชนิดนี้ เมื่อทดสอบรสขม พบว่า ไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีรสขมน้อยกว่าแคฟฟีอีนความเข้มข้น 1 ส่วนในล้านส่วน ที่ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ

จากการศึกษานี้จึงคาดว่าจะได้รับข้อมูลที่เกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม โดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า 2 ชนิดเพื่อผลิตซอสปรุงรส ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตรและได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

5.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

5.3.1 สารเคมี

Sodium dodecyl sulfate (SDS), Trichloroacetic acid (TCA), Hydrochloric acid, Sodium hydroxide (NaOH), Disodium hydrogenphosphate (Na_2HPO_4), Hydrochloric acid และ 2,4,6-Trinitrobenzene-1-sulfonic acid (TNBS), L-

Leucine จากบริษัท Sigma Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA) และแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด hydroxypropyl-crosslink ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สงวนวงษ์ อุตสาหกรรม (จำกัด) จ.นครราชสีมา

5.3.2 วัสดุ

เห็ดที่เลือกใช้เป็นเห็ดที่นิยมบริโภคและมีขายตามท้องตลาด คือ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) จากฟาร์มเห็ดคุณแดง อ.เมือง จ.นครราชสีมา โดยอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบระบบลมร้อน (TD 372, New Way Manufacturing Co., Ltd., Thailand) เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง จนเห็ดแห้งมีความชื้นประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงบดให้ละเอียด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรส และเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า 2 ชนิด คือ เอนไซม์ Flavourzyme® 500 L (endopeptidase and exopeptidase from *Aspergillus oryzae*) และเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L (endopeptidase from *Bacillus amyloliquefaciens*) จากบริษัท Novo Industry ประเทศเดนมาร์ก ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อีสเอเชียติกส์ (ประเทศไทย) จำกัด

5.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

5.3.3.1 ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC (2000)

5.3.3.2 ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000) (N×6.25) ด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30**,** Germany)

5.3.3.3 ปริมาณไขมัน โดยวิธี AOAC (2000) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขมัน (2050 Soxtec Auto Extraction unit, Sweden)

5.3.3.4 ปริมาณเถ้า โดยวิธี AOAC (2000)

5.3.3.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด โดยคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

5.3.3.6 ปริมาณเยื่อใยอาหารโภชนาด้วยวิธี enzymatic-gravimetric method โดยวิธี AOAC (2000) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เอนไซม์ในการย่อยตัวอย่าง แล้วชั่งนำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณ โดยนำค่าแบลงก์ปริมาณโปรตีน และปริมาณเถ้าของสิ่งที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณปริมาณใยอาหาร

5.3.4 การย่อยสลายโปรตีนจากเห็ดด้วยเอนไซม์

5.3.4.1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยเอนไซม์

กรณีเอนไซม์ Flavourzyme® ศึกษาที่ช่วงอุณหภูมิ 40, 45, 50, 55, 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์ Neutrase® ศึกษาที่ช่วงอุณหภูมิ 30, 40, 45, 50, 55 องศาเซลเซียส นำเห็ดแห้งที่บดให้ละเอียดผสมน้ำในอัตราส่วน 1:5 (กรัม:มิลลิลิตร) ใช้เอนไซม์ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ของน้ำหนักเห็ดแห้ง ย่อยสลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยคนตัวอย่างระหว่างการย่อยสลายทุก 30 นาที เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ หาค่าปริมาณแอลฟา-อะมิโนด้วยวิธี TNBS (Trinitrobenzenesulfonic acid) คัดเลือกอุณหภูมิที่มีปริมาณแอลฟา-อะมิโนสูงที่สุด

5.3.4.2 การศึกษาปริมาณเอนไซม์และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยเอนไซม์

ผสมเห็ดแห้งกับน้ำในอัตราส่วน1:5 (กรัม:มิลลิลิตร) โดยพีเอชของส่วนผสมมีค่าอยู่ในช่วง 6.0-6.5 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ทั้งสองชนิด บ่มตัวอย่างก่อนเติมเอนไซม์ที่อุณหภูมิที่คัดเลือกได้จากข้อ 5.3.4.1 สำหรับเอนไซม์แต่ละชนิดเป็นเวลา 10 นาที ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ 4 ระดับ 0, 1.0, 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ของน้ำหนักเห็ดแห้ง และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 0-7 ชั่วโมง คนตัวอย่างระหว่างการย่อยสลายทุก 30 นาที เก็บตัวอย่างระหว่างการย่อยสลายทุก 1 ชั่วโมง ต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ แยกกากออกโดยปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7994 g (Hollywood PK 121R, ALC International srl., Italy) เป็นเวลา 30 นาที เก็บเฉพาะส่วนใสเพื่อหาระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis, DH) ด้วยวิธี TNBS (Trinitrobenzenesulfonic acid) พิจารณาจากปริมาณเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุด ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

5.3.4.3 การย่อยเห็ดด้วยความร้อนและความดันก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์

ผสมเห็ดนางรมแห้งกับน้ำในอัตราส่วน1:5 (กรัม:มิลลิลิตร) ให้ความร้อนส่วนผสมที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (SANYO MLS-2420/MLS-3020, Sanyo Electric Co., Ltd., Japan) เป็นเวลา 10 และ 30 นาที เมื่อครบกำหนดเติมน้ำในอัตราส่วน 1:5 (กรัม:มิลลิลิตร) อีกครั้ง ทิ้งตัวอย่างให้เย็น บ่มตัวอย่างก่อนเติมเอนไซม์เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด เติมเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ของน้ำหนักเห็ดแห้ง ปัจจัยที่ศึกษาคือ เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 0-7 ชั่วโมง คนตัวอย่างระหว่างการย่อย

สลายทุก 30 นาที เก็บตัวอย่างระหว่างการย่อยสลายทุก 1 ชั่วโมง นำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ หาระดับการย่อยสลายด้วยวิธี TNBS (Trinitrobenzenesulfonic acid) พิจารณาจากปริมาณเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายที่ให้ค่า DH สูงที่สุด ทำการทดลอง 2 ซ้ำ คัดเลือกเอนไซม์และสภาวะที่มีค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดเพื่อทำการปรุงรสต่อไป

5.3.4.4 การหาปริมาณแอลฟา-อะมิโนและระดับการย่อยสลาย (DH) ด้วยวิธี TNBS

จากวิธีการของ Adler-Nissen (1979) เพื่อหาปริมาณแอลฟา-อะมิโนใช้แอล-ลิวซีน เป็นสารมาตรฐานในการทำ Standard curve โดยเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้ในแต่ละช่วงเวลา เติม TCA เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เก็บเฉพาะส่วนใส เจือจางตัวอย่างให้เหมาะสมโดยใช้ตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2125 โมลาร์ พีเอช 8.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย TNBS เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันอีกครั้ง บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทันทีโดยไม่ให้มีแสงเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเติมกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ปริมาณแอลฟา-อะมิโนคำนวณได้เป็นค่าแอล-ลิวซีนจาก standard curve และคำนวณค่าระดับการย่อยสลายจากสูตร

$$\mathrm{DH} = \frac{\text{10\% TCA-soluble } \alpha\text{-amino acids}}{\text{Total } \alpha\text{-amino acids in sample}} \times 100$$

หาค่าปริมาณแอลฟา-อะมิโนทั้งหมดได้จากวิธีการย่อยด้วยกรดดัดแปลงจากวิธีของ Benjakul และ Morrissey (1997) โดยชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของเห็ดแห้งประมาณ 0.2-0.4 กรัม ใส่ลงในหลอดแก้วที่มีฝาปิดสนิท เติมกรดเกลือ 6 นอร์มัล ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ไล่ออกซิเจนออกให้หมดโดยการแทนที่ด้วยก๊าซไนโตรเจนแล้วปิดฝาให้สนิทที่สุด ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำหลอดตัวอย่างตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 นอร์มัล กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ก่อนนำไปหาปริมาณแอลฟา-อะมิโนและระดับการย่อยสลาย

5.3.4.5 การปรุงแต่งกลิ่นรสของซอส

คัดเลือกไฮโดรไลเสทจากกระบวนการผลิตโดยการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยเอนไซม์ที่มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุด ปรุงรสโดยเลียนแบบผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดหอมชนิดข้นในท้องตลาด ยี่ห้อ เด็กสมบูรณ์ ประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลังดัดแปรปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) น้ำตาลทราย 8 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซีอิ๊วขาว 20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เกลือ 4 เปอร์เซ็นต์ (w/v) น้ำตาลกลูโคส 4 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ผงชูรส (MSG: Sodium-5′-inosinate: Sodium-5′-guanylate = 98:1:1) 4 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และโซเดียมเบนโซเอต 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โดยผสมส่วนผสมทุกอย่างเข้าด้วยกัน ต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อทำการปรุงรสแล้วบ่มซอสที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนการประเมินทางประสาทสัมผัส

5.3.4.6 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและกายภาพผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสหลังบ่ม

ทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณโปรตีน ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (AOAC, 2000) ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (มอก. 8-2539) ค่าสี L, a, b โดยใช้เครื่องวัดสี (CR-300 Chroma Meter, Minolta Camera, Japan) ความหนืด ด้วยเครื่อง D III Ultra (Brookfield Engineering Laboratory Inc., Middleboro, MA) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที และ พีเอช ณ อุณหภูมิห้อง โดยใช้พีเอชมิเตอร์

5.3.4.7 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดหอมชนิดข้นจากท้องตลาดยี่ห้อ “เด็กสมบูรณ์” โดยใช้ผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว 7 คน ใช้วิธี QDA (Quantitative Descriptive Analysis) โดยเสนอตัวอย่างให้ประเมินชุดละ 5 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยและจัดเรียงในถาดด้วยวิธีสุ่ม (Watts, Ylimaki and Elias, 1989) ให้ผู้ประเมินใช้ปลายช้อนแตะตัวอย่างชิมโดยตรง แล้วทำเครื่องหมายในแบบประเมินคุณภาพ คัดเลือกชุดทดลองที่มีคุณลักษณะรวมสูงสุด

5.3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ โดยวิเคราะห์ 3 ซ้ำในทุกการวิเคราะห์ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan’s Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS institute, Inc., 1995) สำหรับทุกการวิเคราะห์

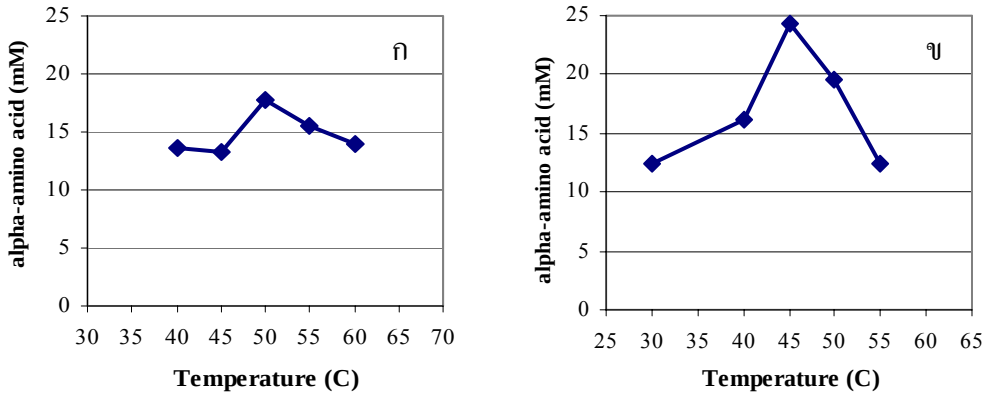
5.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

5.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ

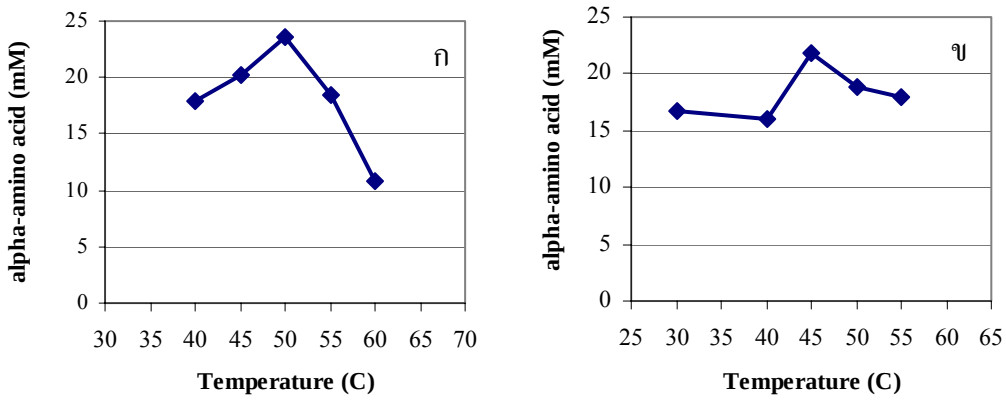
ผลการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบได้ผลเช่นเดียวกับตาราง 3.1 (บทที่ 3) พบว่า ความชื้นในเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าน้อยมากคือ 4.46 และ 5.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณโปรตีน 20.82 และ 21.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่ค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด พบว่า มีค่าค่อนข้างสูงมาก คือ 68.35 และ 65.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีใยอาหารโภชนา 45.50 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากเห็ดประกอบด้วยใยอาหารหยาบเป็นองค์ประกอบหลัก โดยเฉพาะสารประกอบประเภท β-glucan และไคติน (Zhang, Cheung and Zhang, 2001)

5.4.2 สภาวะอุณหภูมิการย่อยของเอนไซม์

ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยโปรตีนจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วย เอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® แสดงดังภาพที่ 5.2 และ 5.3 พบว่า กรณีของเอนไซม์ Flavourzyme® เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมากกว่า 50 องศาเซลเซียส ปริมาณแอล-อะมิโนมีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่เอนไซม์ Neutrase® ปริมาณแอล-อะมิโนมีค่าใกล้เคียงกันมากที่ช่วงอุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส หลังจากนี้ค่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าลดลง แสดงว่า เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จัดว่าเป็นเอนไซม์ที่ทำงานได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิไม่สูงนัก คือในช่วง 40-55 องศาเซลเซียส จากกราฟแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® คือที่ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การศึกษาของ Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยเศษปลา Pacific whiting ด้วยเอนไซม์ Neutrase® คือที่ 55 องศาเซลเซียส ขณะที่อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกูล (2542) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์ Neutrase® คือที่ 45 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับกรณีเอนไซม์ Flavourzyme® ที่มีผู้ทำการวิจัยอื่น ๆ ระบุว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนมีค่าแตกต่างกันไป เช่น การย่อยโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลาแซลมอน (*Salmo salar*) ใช้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Kristinsson and Rasco, 2000) และการย่อยเศษน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตปลากระป๋องใช้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Nilsang, Lertsiri, Suphantharika and Assavaning, 2005) เป็นต้น ซึ่งความแตกต่างของอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแต่ละเอนไซม์ อาจเนื่องจากสับสเตรทและสภาวะที่ใช้ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีความแตกต่างกัน



ภาพที่ 5.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ในการย่อยเห็ดนางรมที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

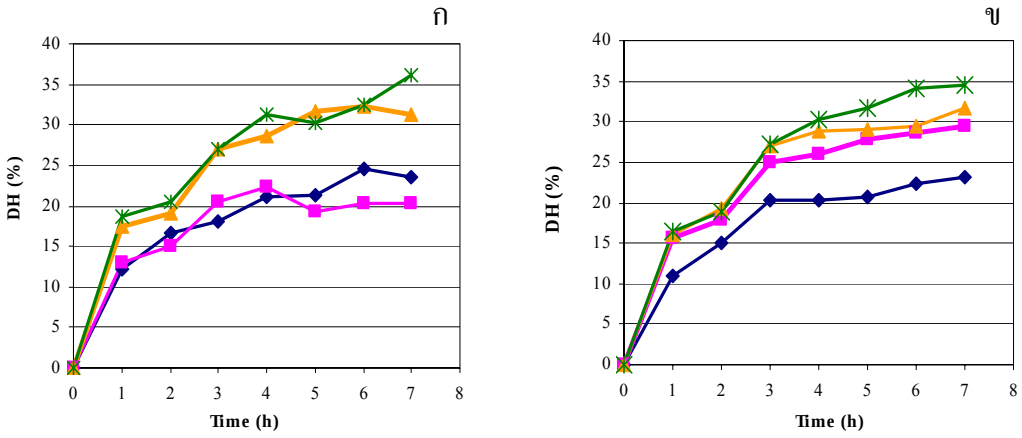


ภาพที่ 5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ในการย่อยเห็ดนางฟ้าที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

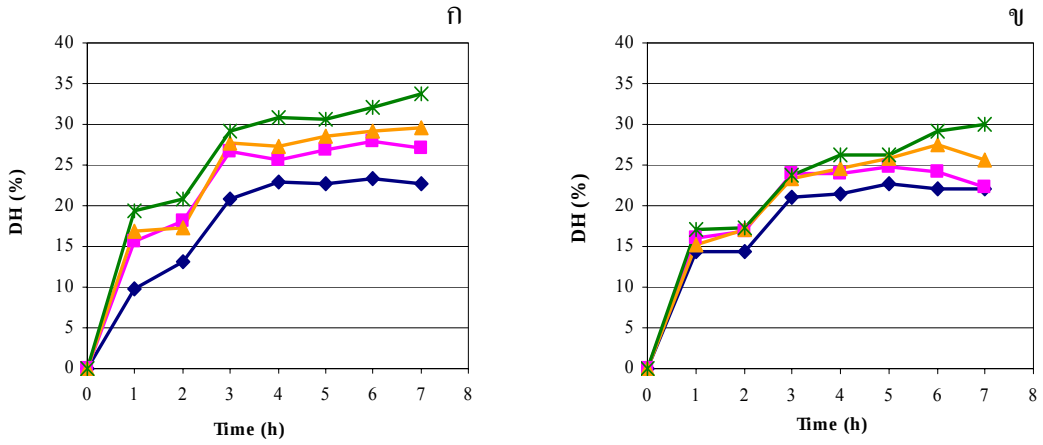
5.4.3 ปริมาณเอนไซม์ในการย่อยเห็ดและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

ใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเอนไซม์ Neutrase® ที่พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และเวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 5.4 และ 5.5 ตามลำดับ พบว่า ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ความเข้มข้น 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อย

สลายใกล้เคียงกัน ในขณะที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุด ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุด พิจารณาระดับการย่อยสลายในไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด พบว่า จะมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วที่ช่วงเวลาย่อย 0-3 ชั่วโมง และจะเริ่มลดลงหรือคงที่จนกระทั่งถึงเวลาการย่อย 7 ชั่วโมง การย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาการย่อย 7 ชั่วโมงมีระดับการย่อยสลายสูงสุด โดยมีค่าเป็น 36.24 และ 34.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในไฮโดรไลเสทเห็ดนางรม และมีค่าเป็น 33.83 และ 29.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในไฮโดรไลเสทเห็ดนางฟ้า



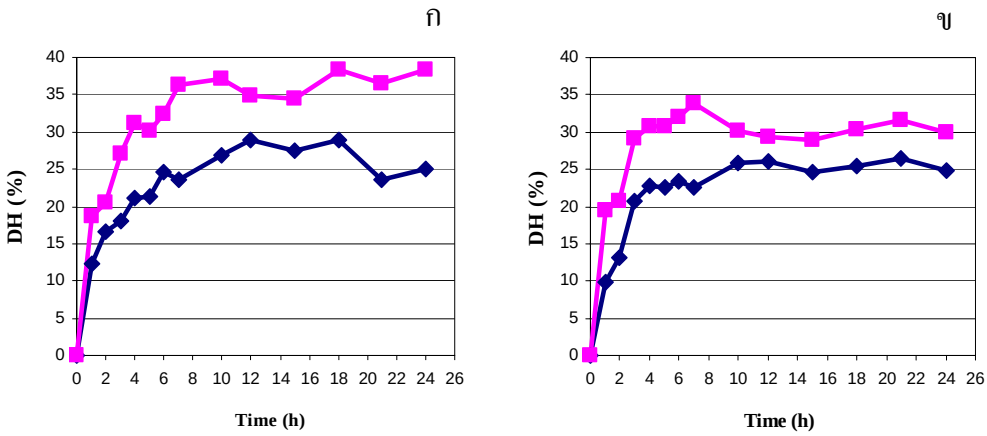
ภาพที่ 5.4 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.); โดย ◆ คือ 0%, ■ คือ 1%, ▲ คือ 2% และ ✳ คือ 2.5%



ภาพที่ 5.5 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.); โดย ◆ คือ 0%, ■ คือ 1%, ▲ คือ 2% และ ✳ คือ 2.5%

เนื่องจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงสุดและยังมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการย่อยนานขึ้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่เวลา 0-24 ชั่วโมง โดยใช้เพียงเอนไซม์ Flavourzyme® ชนิดเดียวที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ผลแสดงดังรูปที่ 5.6 พบว่า กราฟแสดงกิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ Flavourzyme® ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นระดับการย่อยสลายมีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าจะมีค่าระดับการย่อยสลายลดลงเมื่อเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น แสดงว่าระดับการย่อยสลายของเอนไซม์จะมีค่าคงที่ภายหลังจากใช้เวลาย่อย 7 ชั่วโมงในเห็ดทั้งสองชนิด กราฟแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ที่ให้ผลในทำนองเดียวกันนี้ เช่น การย่อยเศษกุ้งด้วยเอนไซม์โปรตีเอสชอบด่าง (alkaline protease) (Beak and Cadwallader, 1995) และการย่อยเศษปลาที่เหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ (Benjakul and Morrissey, 1997) เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสับสเตรทที่เอนไซม์สามารถย่อยได้ (available substrate) ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปเอนไซม์จะถูกดูดซับในส่วนโปรตีนที่ละลายได้อย่างรวดเร็ว จากนั้นจะตัดพันธะเปปไทด์ระหว่างสายโมเลกุลโปรตีนที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ ส่วนโปรตีนที่เกาะกันด้วยพันธะเปปไทด์อย่างแข็งแรงจะถูกตัดด้วยอัตราที่ช้าจนไม่

สามารถตัดได้ในที่สุด ซึ่งอัตราในการตัดพันธะเปปไทด์นี้จะเป็นตัวควบคุมอัตราการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมด (Archer, Ragnarsson, Tannenbaum and Wang, 1973)



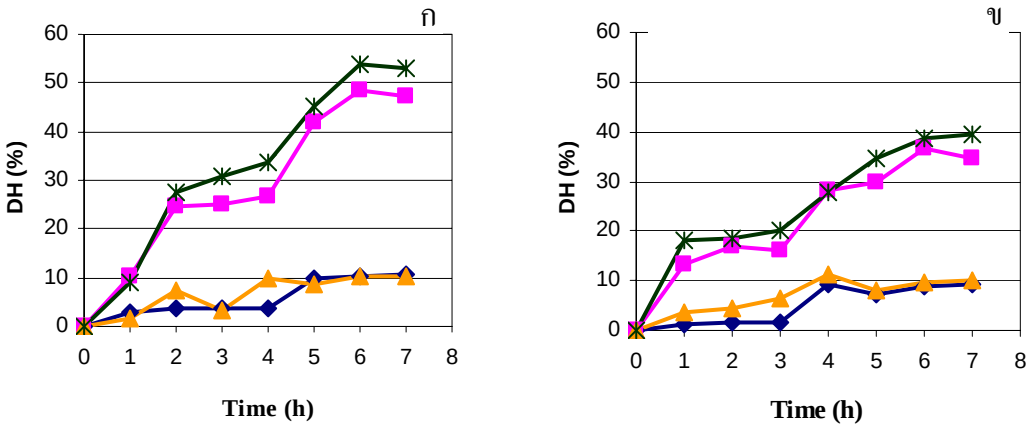
ภาพที่ 5.6 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรม (ก) และเห็ดนางฟ้า (ข) ด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาการย่อย 0-24 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.); โดย ◆ คือ 0% และ ■ คือ 2.5%

5.4.4 โปรตีนไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®

5.4.4.1 ผลการให้ความร้อนสูงภายใต้ความดันก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์

เนื่องจากการย่อยด้วยเอนไซม์ข้างต้น พบว่า ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทั้งสองชนิดยังมีค่าค่อนข้างต่ำ สันนิษฐานว่าอาจเนื่องจากโปรตีนที่เอนไซม์โปรตีเอสทางการค้าทั้งสองชนิดสามารถย่อยได้ (available protein) นั้นอยู่ในรูปเชิงซ้อนกับสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรทซึ่งมีมากในเห็ด จึงทำให้การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์เป็นไปได้ยาก นอกจากนี้ปริมาณไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยก็มีปริมาณน้อยมาก ดังนั้นจึงทำการศึกษาโดยการให้ความร้อนภายใต้ความดันสูงกับเห็ดก่อนแล้วจึงย่อยด้วยเอนไซม์ โดยย่อยเห็ดนางรมด้วยหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ก่อนการเติมเอนไซม์ ความเข้มข้นที่ศึกษาได้คือ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 5.7 พบว่า เปรียบเทียบกับการทดลองข้างต้น ระดับการย่อยสลายมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการให้ความร้อนแก่เห็ดก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะทำให้โปรตีนในส่วนที่ยึดกับโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรทเกิดการคลายตัวและมีความสามารถในการละลายได้มากขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายโปรตีนเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ พบว่า เวลาการให้ความร้อนก่อนเติมเอนไซม์ 10 นาทีมีระดับการย่อยสลายไม่แตกต่าง

ทางสถิติกับการให้ความร้อน 30 นาที ($p>0.05$) โดยระดับการย่อยสลายสูงสุดเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® เป็นเวลา 6 ชั่วโมงมีค่า 53.91 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 5.7 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม: มล.) เข้า autoclave เป็นเวลา 10 และ 30 นาที เติมน้ำอีกครั้ง ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ; โดย ◆ คือ 0% (30 นาที), ■ คือ 2.5% (30 นาที), ▲ คือ 0% (10 นาที) และ ✳ คือ 2.5% (10 นาที)

5.4.4.2 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสเห็ดปรุงรส

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® 2.5 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับซอสเห็ดปรุงรสเห็ดหอมชนิดข้นทางการค้ายี่ห้อ “เด็กสมบูรณ์” แสดงดังตารางที่ 5.1 พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีพีเอชเท่ากับ 6.0 และ 5.97 ซึ่งมีค่าพีเอชสูงกว่าซอสทางการค้าเพียงเล็กน้อย (5.29) ($p>0.05$) ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 38 และ 38.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่ามากกว่าซอสทางการค้า (32.30 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ในซอสเห็ดปรุงรสมีค่าใกล้เคียงกับซอสทางการค้ามากโดยมีค่า 11.17 และ 11.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($p>0.05$) คุณลักษณะทางเคมีของซอสหอยนางรมซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ใกล้เคียงกับซอสเห็ดปรุงรสในงานวิจัยนี้ ตามที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนดไว้ (มอก. 1317-2538) ค่าพีเอชไม่น้อยกว่า 4.4 ปริมาณของแข็งทั้งหมดไม่น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่เกิน 13 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ปริมาณโปรตีนและไนโตรเจนทั้งหมดเป็นองค์ประกอบสำคัญและจำเป็นด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสและการกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จากการทดลองพบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนสูงกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีปริมาณโปรตีนเป็น 4.68, 4.53 และ 3.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่า ($p<0.05$) ซอสทางการค้า (0.48 เปอร์เซ็นต์) แต่ซอสเห็ดทั้งสองชนิดมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (0.75 และ 0.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ปริมาณโปรตีนในซอสเห็ดปรุงรสทั้งสองชนิดมีค่าใกล้เคียงกันมากเนื่องจากมีปริมาณในเห็ดเริ่มต้นใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 5.1) ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าสูงสุดในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมมีค่า 0.92 กรัม/ลิตร ในซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้ามีค่า 0.78 กรัม/ลิตร โดยซอสทางการค้ามีค่าน้อยที่สุด (0.58 กรัม/ลิตร)

ตารางที่ 5.1 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า

	Nangrom	Nangpha	Commercial sauce[(2)]
pH	6 ± 0a[(1)]	5.97 ± 0a	5.29 ± 0a
Total solid (%)	38 ± 1.41a	38.1 ± 0.71a	32.30 ± 0b
Sodium chloride (%)	11.86 ± 0.48a	11.17 ± 0.81a	11.38 ± 0.63a
Protein (%)	4.68 ± 0.10a	4.53 ± 0.08a	3.02 ± 0.09b
Total nitrogen (%)	0.75 ± 0.02a	0.72 ± 0.01a	0.48 ± 0.01b
Amino acid nitrogen (g/L)	0.92 ± 0.09a	0.78 ± 0.10a	0.58 ± 0.12b
Viscosity (centipoise, cP)	4011.09 ± 101.29a	4008.34 ± 41.25a	3535.42 ± 26.46b
Color (Hunter Lab)			
L	37.55 ± 0.52a	36.78 ± 0.08a	37.37 ± 0.40a
a	4.28 ± 0.21a	4.36 ± 0.17a	5.25 ± 0.03a
b	2.97 ± 0.91b	2.42 ± 0.43b	4.19 ± 0.70a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[(2)]Commercial sauce หมายถึง ซอสปรุงรสชนิดข้นตราเด็กสมบูรณ์

ความหนืดในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีค่า 4011.09 cP และ 4008.34 cP ตามลำดับ โดยมีค่ามากกว่าซอสทางการค้าที่มีค่า 3535.42 cP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การวัดค่าสีด้วยเครื่อง Minolta CR-300 พิจารณาเฉพาะค่า L หมายถึง ความสว่าง ค่า a หมายถึง สีแดง-สีเขียว และค่า b หมายถึง สีเหลือง-สีน้ำเงิน พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดที่ผลิตได้และซอสทางการค้ามีค่าความสว่าง (L) ใกล้เคียงกันมาก ($p>0.05$) โดยมีค่าเป็น 37.55, 36.78 และ 37.37 ตามลำดับ

5.4.4.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมน้ำอัตราส่วน 1:5 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับซอสทางการค้ายี่ห้อ “เด็กสมบูรณ์” ซึ่งเป็นซอสที่ใช้วัตถุดิบเป็นเห็ดเช่นเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 5.2 พบว่า คะแนนลักษณะปรากฏหรือสีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีสีน้ำตาลอยู่ในช่วงปานกลาง มีค่า 4.12 และ 4.98 ตามลำดับ ในขณะที่ซอสทางการค้ามีคะแนนน้อยมาก คือ 2.51 โดยทั่วไปการย่อยด้วยเอนไซม์สีของไฮโดรไลเสทมักจะมีน้ำตาลอ่อนและมีความใสกว่ากระบวนการย่อยด้วยกรดมาก (Anslyng, Elmore and Motham, 1998) ซึ่งสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในซอสปรุงรสที่ได้จากการทดลองน่าจะเกิดจากขั้นตอนในการให้ความร้อนก่อนการเติมเอนไซม์ การเกิดสีในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นผลจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่มีเอนไซม์ (non-enzymatic browning) ซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยามิลลาจ (Maillard reaction) ปฏิกิริยาการเกิดสารคาราเมล (caramelization) และปฏิกิริยาการรวมตัวของสารประกอบคาร์โบนิลและสารประกอบเอมีน (carbonyl-amine raction) (Weir, 1986) ซอสปรุงรสจากเห็ดทั้งสองชนิดมีคะแนนความหนืดสูงกว่าซอสทางการค้าแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

การประเมินคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่า ซอสเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีคะแนนกลิ่นที่ชอบ (pleasant) 3.55 และ 4.43 ตามลำดับ ซึ่งมีคะแนนต่ำกว่าซอสทางการค้า (6.75) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่กลิ่นผิดปกติ (off-odor) มีคะแนนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับซอสทางการค้า ($p>0.05$) แต่มีค่ามากกว่าเล็กน้อยโดยมีคะแนน 2.49, 2.29 และ 1.71 ตามลำดับ กลิ่นที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นสารประกอบประเภท แอลกอฮอล์ ฟีนอล และ ไพราซีน (Anslyng, Elmore and Motham, 1998)

ตารางที่ 5.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®

	Nangrom	Nangpha	Commercial sauce[2]
1. Appearance			
Color	4.12 a[1]	4.98 a	2.51 b
Viscosity	6.83 a	6.32 a	5.91 a
2. Aroma			
Pleasant	3.55 b	4.43 b	6.75 a
Off-odor	2.49 a	2.29 a	1.71 a
3. Flavor			
Salty	4.45 a	3.64 a	4.30 a
Sweet	3.25 a	3.93 a	3.15 a
Umami	5.30 a	5.31 a	5.59 a
Off-flavor	1.19 a	1.36 a	0.65 a
Mushroom-flavor	1.42 a	1.56 a	0.56 b
Bitterness	0.29 a	0.37 a	0.66 a
Aftertaste	3.22 a	2.96 a	2.80 a
Overall	5.19 a	5.15 a	6.56 a

[1] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[2]Commercial sauce หมายถึง ซอสปรุงรสชนิดข้นตราเด็กสมบูรณ์

การประเมินคุณภาพกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนความหวาน ความเค็ม รสอร่อย (umami) และ กลิ่นรสผิดปกติ (off-flavor) ของซอสปรุงรสจากเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติกับซอสทางการค้า ($p>0.05$) จะเห็นได้ว่ากลิ่นรสอร่อย (umami) ของผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสผู้ประเมินให้คะแนนอยู่ในระดับปานกลางคือ 5.30 และ 5.31 ตามลำดับ กลิ่นรสอร่อยเกิดจากกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำซอสปรุงรส เช่น กรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติก ซึ่งเป็นสารประเภทที่ให้กลิ่นรสคล้ายผงชูรส (monosodium glutamate-like, MSG-like) (Mau, Lin, Ma and Song, 2001) และจากผงชูรสที่เติมในส่วนผสม จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าในบทที่ 6 (ตารางที่ 6.5 และ 6.6) พบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่พบมากที่สุด คือ กรดกลูตามิก เวลาการย่อย 7 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® มีค่า 49.17 มก./100 มล. ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และ 70.75 มก./100 มล. ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า ซอสเห็ดปรุงรสมีกลิ่นรสของเห็ดแตกต่างกันทางสถิติกับซอสทางการค้า ($p<0.05$) โดยมีคะแนนมากกว่าถึง 3 เท่า แสดงว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ให้กลิ่นเห็ดอย่าง

ชัดเจน รสขมในซอสเห็ดปรุงรสมีคะแนนต่ำมากคือ 0.29 และ 0.37 ตามลำดับ ผู้ประเมินให้คะแนนน้อยกว่าตัวอย่างทางการค้าแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยทั่วไปในกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์หากระดับในการย่อยสลายไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดรสขมอันเนื่องมาจากการย่อยที่ไม่สมบูรณ์ได้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ และหมู่ของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น วาลีน ไทโรซีน เฟนีลอะลานีน และทริปโทเฟน เป็นต้น ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในบทที่ 6 (ตารางที่ 6.5 และ 6.6) พบว่า จะเกิดกรดอะมิโนที่ให้รสขม ได้แก่ วาลีน ไทโรซีน เฟนีลอะลานีน และทริปโทเฟนในปริมาณค่อนข้างน้อย นอกจากนี้เอนไซม์ Flavourzyme® มีคุณสมบัติเป็นทั้งแบบ endo- และ exopeptidases ทำให้โอกาสในการเกิดรสขมเป็นไปได้น้อยนั่นเอง (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) อย่างไรก็ตามคะแนนคุณลักษณะรวมของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (5.19 และ 5.15 ตามลำดับ) และซอสทางการค้า (6.56) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ซอสเห็ดปรุงรสมีค่าน้อยกว่าเพียงเล็กน้อย แสดงว่าซอสปรุงรสจากเห็ดมีกลิ่นรสเห็ดที่เป็นเอกลักษณ์และมีความเด่นชัดที่ผู้ประเมินให้การยอมรับได้

5.5 สรุปผลการทดลอง

ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าคือ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ซึ่งทำให้ได้ระดับการย่อยสลายสูงที่สุดโดยสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์คือ พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การย่อยเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) เมื่อให้ความร้อนกับเห็ดที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาทีก่อนเติมเอนไซม์ แล้วย่อย 6 ชั่วโมง ได้ค่าระดับการย่อยสลายสูงสุด 53.91 เปอร์เซ็นต์

องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสเห็ดปรุงรสได้แก่ ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม ในขณะที่ปริมาณโปรตีน ไนโตรเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจน และความหนืดมีค่ามากกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความหนืด ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย รสขม และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และไม่ต่างจากตัวอย่างทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะสูงกว่าตัวอย่างทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าผู้ประเมินสามารถให้การยอมรับกลิ่นเห็ดที่มีในผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสนี้ได้

5.6 รายการอ้างอิง

บรรณ บูรณะชนบท. (2545). **การเพาะเห็ดนางรม-นางฟ้า.** นนทบุรี: กรุงเทพมหานคร.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). **เอนไซม์ทางอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปราโมทย์ จันทรัมพร. (2543). การแปรรูปเห็ด. **ข่าวสารเกษตรศาสตร์** 46(1): 55-56.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. (2539). สารพัดเรื่องเห็ด. **เกษตรดิวเซ** 5(16): 35-39.

วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. (2545). ผลิตภัณฑ์จากการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและการประยุกต์ใช้. **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 24(2): 341-356.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2538). **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม.** กระทรวงอุตสาหกรรม.

อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกุล. (2542). การย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตซอสปรุงรส. **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 21(4): 419-500.

Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein by Trinitrobenzenesulfonic acid. **J. Agric. Food Chem.** 27(6): 1256-1262.

Anslyng, M.D., Elmore, J.S., and Mottram, D.S. (1998). Comparison of the aroma characteristics of acid-hydrolyzed and enzyme-hydrolyzed vegetable proteins produced from soy. **J. Agric. Food Chem.** 46: 5225-5231.

AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17^{ed}., AOAC International, Gaitersberg, Maryland.

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

Baek, H., and Cadwallader, K.R. (1995). Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. **J. Food Sci.** 60(5):929-935.

Benjakul, S., and Morrissey, M.T. (1997). Protein hydrolysate from pacific whiting solid wastes. **J. Agric. Food Chem.** 45:3423-3430.

Guerard, F., Guimas, L., and Binet, A. (2002). Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. **J. Mol. Catal. B: Enzymol.** 19-20: 489-498.

Hoyle, T.N., and Merritt, H.J. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea Hurengus*). **J. Food Sci.** 59: 76-79.

Kristinsson, H.G., and Rasco, B.A. (2000). Biochemical and functional properties of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. **J Agric. Food Chem.** 48:657-666.

Mau, J.L., Lin, H.C., Ma, J.T., and Song, S.F. (2001). Non-volatile taste components of several specialty mushrooms. **Food Chem.** 73: 461-466

Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., and Assavaning, A. (2005). Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. **J. Food Eng.** 70: 571-578.

Pierce Chemical Company. (1999). **Instructions TNBS** [On-line]: http://www.piercenet.com/

Rebecca, B.D., Pena-Vera, M.T., and Diaz-Castaneda, M. (1991). Production of fish protein hydrolysates with bacterial proteases; Yield and nutritional value. **J. Food Sci.** 56:309-314.

SAS. 1995. SAS 6.08.04 WIN. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Watt, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E., and Elias, L.G. (1989). **Basic Sensory method for food evaluation**. The International Development Research Centre, Ottawa.

Weir, G.S.D. (1986). **Protein hydrolysates as flavourings**. In development in food protein – 4. Hudson, B.J.F. (eds). New York: Elsevier Applied Science Publishers. pp 175-217.

Zhang M, Cheung, P.C.K., and Zhang L. (2001). Evaluation of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer as a potential antitumor agent. **J. Agric. Food Chem.** 49: 5059-5062.

บทที่ 6
ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดและไฮโดรไลเสทจากเห็ด
AMINO ACID CONTENTS IN MUSHROOMS AND MUSHROOM HYDROLYSATE

6.1 บทคัดย่อ

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และไฮโดรไลเสทจากกระบวนการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์ที่สภาวะต่างกัน ด้วยวิธี High-performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้ Derivatizing agent 2 ชนิดคือ *o*-phthalaldehyde (OPA) และ 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC) เปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าพบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิกมากที่สุด คือ 500.62 และ 422.17 มก./100 กรัม น้ำหนักสด เมื่อพิจารณาโดยรวมเห็ดทั้งสองชนิดมีปริมาณกรดอะมิโนที่ใกล้เคียงกันมาก เนื่องจากเป็นเห็ดในวงศ์ (family) เดียวกัน ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากการย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ดต่อกรด 1:3 (กรัม:มล.) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 และ 12 ชั่วโมง ชนิดที่พบมากที่สุด คือ กรดกลูตามิก มีค่าสูงสุดที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง มีค่าเป็น 823.46 และ 1126.44 มก./100 มล. ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยด่าง (NaOH) ความเข้มข้น 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสภายใต้ความดัน เวลา 3 ชั่วโมง อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) พบว่า ไฮโดรไลเสทที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 (กรัม:มล.) มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าที่อัตราส่วน 1:4 (กรัม:มล.) ($p< 0.05$) โดยกรดอะมิโนที่พบมากที่สุดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า คือ กรดกลูตามิก มีค่า 581.21 และ 501.05 มก./100 มล. ตามลำดับ

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เป็นเวลา 6 และ 7 ชั่วโมง พบว่า ไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® จะมีปริมาณกรดอะมิโนส่วนใหญ่สูงกว่าไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปริมาณกรดอะมิโนที่พบมากที่สุด คือ กรดกลูตามิก ที่เวลาการย่อย 7 ชั่วโมงด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® มีค่าเป็น 49.17 มก./100 มล. ในเห็ดนางรม และ 70.75 มก./100 มล. ในเห็ดนางฟ้า

6.2 บทนำ

เห็ด (mushroom) เป็นอาหารที่นิยมทำอาหารรับประทานกันมากมาย ทั้งอาหารแบบธรรมดา อาหารประเภทมังสวิรัติ และอาหารเจ เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูง อันประกอบไปด้วย โปรตีน วิตามิน และเกลือแร่หลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเนื่องจากมีส่วนประกอบที่เป็นไขมันและคาร์โบไฮเดรทในปริมาณน้อย จึงเหมาะสำหรับเป็นอาหารประเภทมีแคลอรี่ต่ำ (low-calories diet) (ศิริวรรณ สุทธจิตต์และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548) ใช้เห็ดบางชนิดเป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้อีกด้วย เช่น เห็ดหอม เห็ดฟาง เห็ดหลินจือ เห็ดนางฟ้า และเห็ดนางรม เป็นต้น

เนื่องจากประโยชน์ของเห็ดที่เป็นที่ทราบกันแล้วนั้น แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากเห็ดนอกเหนือจากการนำมาประกอบอาหาร คือ การผลิตซอสเห็ดปรุงรส ทั้งนี้เนื่องจากในการผลิตซอสถั่วเหลืองนั้นจำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดกลิ่นถั่วให้หมดไป (Boatright and Lei, 1999) ทำให้สิ้นเปลืองต้นทุนในการผลิต ดังนั้นหากใช้เห็ดเป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรส จึงน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนการผลิตให้น้อยลง

ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดและผลิตภัณฑ์น้ำซอสจากเห็ดจึงมีความสำคัญทั้งนี้เนื่องจากกรดอะมิโนที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบด้วยกระบวนการต่าง ๆ จะมีผลต่อกลิ่นรสของอาหาร โดยรสที่เกิดจากกรดอะมิโนแบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ รสหวาน รสขม รสเปรี้ยว และรสอร่อย (delicious) กรดอะมิโนที่ให้รสหวานคือ ไกลซีน อะลานีน เซอรีน ทรีโอนีน โพรลีน ไฮดรอกซีโพรลีน ไลซีน และกลูตามีน รสขมเกิดจากกรดอะมิโน วาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน เมไทโอนีน เฟนีลอะลานีน ทริปโทเฟน อาร์จินีน และฮิสทิดีน รสเปรี้ยวเกิดจากกรดอะมิโน กรดแอสพาร์ติก และกรดกลูตามิก ส่วนรสอร่อยเกิดจากโซเดียมแอสพาร์เทต และโมโนโซเดียมกลูตาเมท (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538; Lopez-Cervantes, Sanchez-Machado and Rosas-Rodriquez, 2006) ซึ่งได้มีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในเห็ด โดย Mattila, Vaananen, Konko, Aro and Jalava (2002) ทำการศึกษาหาชนิดของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในเห็ดชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่อง amino acid analyzer พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนชนิดกลูตามิกมากที่สุด รองลงมาคือ กรดแอสพาร์ติก ไทโรซีน และอะลานีน ตามลำดับ รัฐพล ศรประเสริฐ (2538) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดฟางและเห็ดหมื่นปีพบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่สูง โดยเฉพาะเฟนีลอะลานีน และไทโรซีน นอกจากนี้ Longvah และ Deosthale (1998) วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดป่าจากทางภาคเหนือของประเทศอินเดียสายพันธุ์ *Schizophyllum commune* และ *Lentinus edodes* (เห็ดกระดุม) พบว่า ในเห็ดทั้งสองชนิดมีปริมาณกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิกมากที่สุดเช่นเดียวกัน รองลงมาคือ อาร์จีนีน และลิวซีน และมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่

สูงถึง 34 และ 39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามข้อมูลของปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดอาจมีค่าแตกต่างกันไปแม้ว่าจะเป็นเห็ดชนิดเดียวกันก็ตาม ทั้งนี้ขึ้นอยู่ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ สายพันธุ์ของเห็ดที่แตกต่างกัน สภาวะในการเพาะปลูกเห็ดรวมไปถึงสภาพภูมิศาสตร์ของบริเวณที่เพาะเลี้ยง การให้น้ำและอาหาร และระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว เป็นต้น (Mattila et al, 2002)

ปัจจุบันวิธีที่นิยมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในอาหารที่ให้ความละเอียดในการวิเคราะห์สูงและน่าสนใจคือ วิธี High-performance liquid chromatography (HPLC) วิธีนี้นอกจากใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนแล้ว ยังสามารถวิเคราะห์องค์ประกอบอื่น ๆ ในอาหารได้อีกด้วย Tomita, Motomura, Kitahara, Yoshiki และ Okubo (1998) ได้ใช้วิธี HPLC ในการวิเคราะห์สารตั้งต้นที่ทำให้เกิดการตกตะกอนในซอสถั่วเหลืองระหว่างการบ่มพบว่า เป็นสารประเภทโปรตีนเป็นสำคัญ หรือการใช้ HPLC ในการตรวจสอบสารประกอบระเหยง่าย (volatile compound) ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ (Kinoshita, Sugimoto, Ozawa and Aishima, 1998)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนด้วยวิธี HPLC จำเป็นจะต้องมีการ derivatization ตัวอย่างก่อน ซึ่งสารที่นิยมใช้ในการ derivatization มีหลายชนิด เช่น phenylisothiocyanate (PITC), *o*-phthalaldehyde (OPA) และ 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC) เป็นต้น (Antoine, Wei, Littell and Marshall, 1999) โดยทั่วไปนิยมใช้สารเพียงชนิดเดียว แต่ปัจจุบันได้มีการพัฒนาให้ใช้สารร่วมกัน 2 ชนิดในการ derivatization เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ เช่น การใช้ร่วมกันระหว่าง OPA/FMOC ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไวน์ ซึ่ง OPA เป็นตัว derivative สำหรับ primary amino acid และ FMOC เป็นตัว derivative สำหรับ secondary amino acid ชนิดโพรลีนกับไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งโดยปกติในกรณีของโพรลีนจะไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ OPA ทำให้ในงานวิจัยที่ใช้เพียง OPA ไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนชนิดนี้ได้ (Herbert et al., 2000)

ดังนั้นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นของเห็ดบางสายพันธุ์คือ เห็ดนางรมและนางฟ้าที่ใช้ในการผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรส จึงทำการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในเห็ดและไฮโดรไลเสทจากเห็ดด้วยวิธี HPLC โดยใช้สารในการ derivatization ร่วมกัน 2 ชนิด คือ OPA/FMOC เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป

6.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

6.3.1 สารเคมี

17 Amino acids standard mix 250 พิโคโมล/ไมโครลิตร ประกอบด้วย L-alanine, L-arginine, L-aspartic acid, L-cystine, L-glutamic acid, L-histidine

hydrochloride monohydrate, glycine, L-isoleucine, L-leucine, L-lysine hydrochloride, L-methionine, L-phenylalanine, L-proline, L-serine, L-threonine, L-tyrosine and L-valine (Agilent PN 5061-3331), Supplemental amino acids (L-glutamine, L-asparagine, L-tryptophan, L-norvaline, hydroxyproline, sarcosine) (Agilent PN 5062-2478), borate buffer (Agilent PN 5061-3339), o-phthaldialdehyde 3-mercaptopropionic acid (OPA-3MPA) (Agilent PN 5061-3335), 9-Fluorenylmethyl chloroformate (FMOC) (Agilent PN 5061-3337), acetronitrile for HPLC grade, methanol for HPLC grade, NaH_2PO_4, 6 N HCL, 4 N NaOH, ascorbic acid

6.3.2 Derivatization

การ derivatization วิเคราะห์ตามวิธีของ Henderson, Ricker, Brian and Woodward (2000) โดยใช้สาร 2 ชนิดร่วมกันแบบ precolumn ด้วยเครื่อง HPLC รุ่น Agilent 1100 โดยตั้งโปรแกรมการทำงานแบบอัตโนมัติ เริ่มจากเติม borate buffer 2.5 ไมโครลิตร ในตัวอย่าง 0.5 ไมโครลิตร และ OPA 0.5 ไมโครลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันโดยใช้ max speed, 6x แล้วจึงเติมด้วย FMOC ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้งโดยใช้ max speed, 6x ก่อนทำการฉีดเข้าเครื่อง HPLC

6.3.3 วิธีการทดลอง

6.3.3.1 การเตรียม Amino acid mixs สำหรับ calibration curve

ทำการเตรียม stock solution จาก 1 นาโนโมล/ไมโครลิตร โดย 17 amino acids standard mix และ supplemental amino acids เตรียมที่ 4 ความเข้มข้น คือ 100, 250, 500 และ 700 พิโคโมล/ไมโครลิตร จากค่าที่ได้สร้างกราฟความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างแบบ external standard

6.3.3.2 การเตรียมตัวอย่างเห็ดแบบย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis)

การเตรียมตัวอย่างดัดแปลงจากวิธีการของวรนุช ศรีเจษฎารักษ์ (2540) โดยชั่งตัวอย่างเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรมสดจากฟาร์มเห็ดคุณแดง อ.เมือง จ.นครราชสีมา ให้มีน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.2-1 กรัม เติมกรดเกลือเข้มข้น 6 นอร์มัล ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ทำการไล่อากาศ (flush) ด้วยก๊าซไนโตรเจนเพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส แบบไม่ใช้ความดันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทิ้งตัวอย่างให้เย็น ปรับให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 4 นอร์มัล จนได้พีเอชเท่ากับ 7 (โดยใช้ด่างน้อยที่สุด) กรอง

ของเหลวที่ได้ผ่านเมมเบรนชนิด cellulose acetate ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมครอน วิเคราะห์กรดอะมิโนด้วยเครื่อง HPLC ทำการฉีดเพื่อวิเคราะห์ 4 ซ้ำในแต่ละชนิดของเห็ด

6.3.3.3 การเตรียมตัวอย่างเห็ดแบบย่อยด้วยด่าง (alkaline hydrolysis)

เนื่องจากทริปโทเฟนเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและในกระบวนการผลิตซอสปรุงรสที่ใช้กรดในการย่อยสลายวัตถุดิบนั้นจะทำให้ทริปโทเฟนถูกทำลายไปจนหมด ดังนั้นในการหาปริมาณของทริปโทเฟนจะทำการตรวจหาเฉพาะในตัวอย่างเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าสด และใช้วิธีการย่อยด้วยด่างได้หลายชนิด เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และลิเทียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น โดยจะต้องเติมสารป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น (antioxidant) เข้าไปด้วย เช่น สตาร์ช และกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น ดัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างจากวิธีการของ Wu and Tanoue (2001) ดังนี้ ชั่งตัวอย่างเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าสดให้มีน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-3 กรัม เติมกรดแอสคอร์บิกปริมาณ 200 ไมโครกรัม และเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 4 นอร์มัล ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ไล่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจนเพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส แบบไม่ใช้ความดันเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทำให้เย็น ปรับพีเอชด้วยกรดเกลือเข้มข้น 4 นอร์มัล จนได้พีเอชเท่ากับ 9 กรองของเหลวที่ได้ผ่านเมมเบรนชนิด cellulose acetate ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมครอน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ทำการฉีดวิเคราะห์ 4 ซ้ำ

6.3.3.4 การเตรียมตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า

ก. ตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากการย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อัตราส่วนเห็ดต่อกรด 1:3 (กรัม:มล.) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 4 และ 12 ชั่วโมง

ข. ตัวอย่างไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้น 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (SANYO MLS-2420/MLS-3020, Sanyo Electric Co., Ltd., Japan) เวลา 3 ชั่วโมง อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.)

ค. ตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) ให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นเติมน้ำที่อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) และเติมเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ย่อยเป็นเวลา 6 และ 7 ชั่วโมงที่สภาวะเหมาะสมของแต่ละเอนไซม์

กรองไฮโดรไลเสทจากทั้ง 3 กระบวนการด้วยกระดาษกรองชนิด cellulose acetate ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ทำการทดลอง 2 ซ้ำในแต่ละชนิดของเห็ดและสภาวะการย่อย

6.3.4 สภาวะในการวิเคราะห์

วิเคราะห์ตามวิธีของ Henderson et al. (2000) ซึ่งประกอบด้วย

6.3.4.1 เครื่องมือวิเคราะห์

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง HPLC รุ่น Agilent 1100 series HPLC (Agilent Technologies Deutschland GMBH, Waldbronn, Germany) ประกอบด้วย Fluorescence detecter (FLD), Agilent 1100 Quaternary pump (G1311A), autosampler ใช้ คอลัมน์ซึ่งภายในเป็น reversed-phase material ชนิด Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 µm) และ guard column Zorbax Eclipse-AAA (4.6 × 12.5 mm, 5 µm) คำนวณค่าความเข้มข้นของกรดอะมิโนโดยใช้โปรแกรม Chemstation Rev.A.09.03 (1417) (Agilent Technologies 1990-2002)

Mobile phases: Eluent A: 40 mM Na_2HPO_4 ปรับพีเอชให้เป็น 7.8 ด้วย 10 N NaOH และ Eluent B: ACN:MeOH:water (45/45/10, v/v/v)

Flow rete: 2 mL/min และ Stop time: 30 min

Column temperture: 40 °C

Flow gradients:

Times (min)	% A	% B
0	100	0
1.90	100	0
18.1	43	57
18.6	0	100
22.3	0	100
23.2	100	0
26	100	0

Detector settings:

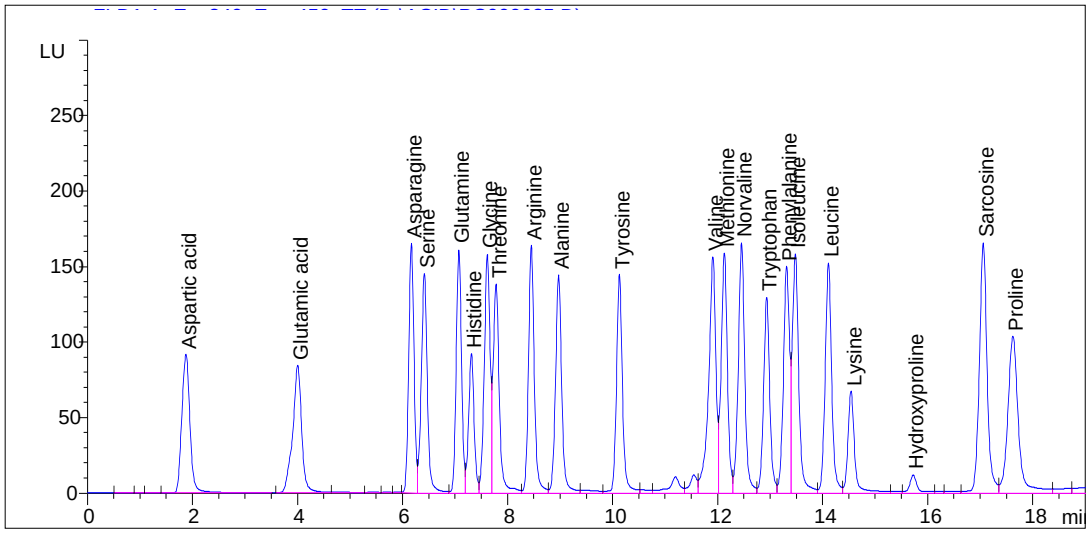
Times (min)	Ex/Em (nm)
0	340/450
15	266/305

6.3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS institute, Inc., 1995) สำหรับทุกการวิเคราะห์

6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

สภาวะการวิเคราะห์ที่ใช้ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณของกรดอะมิโนชนิดซีสทีน ซึ่งจัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็นชนิดหนึ่งของร่างกายได้ ทั้งนี้เนื่องจากซีสทีนจะไม่เกิดการ fluoresce การวิเคราะห์หาซีสทีนจึงต้องใช้ diode array detector (Henderson et al., 2000) ดังนั้นจึงไม่ปรากฏซีสทีนในโครมาโทแกรมของ Standard amino acids mix แสดงดังภาพที่ 6.1



ภาพที่ 6.1 แสดงโครมาโทแกรมของ amino acids standard mix ความเข้มข้น 700 พิโคโมล/ไมโครลิตร

6.4.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า

การวิเคราะห์ปริมาณทริปโทเฟนโดยใช้ RP-HPLC นิยมใช้วิธีการย่อยด้วยด่างหรือการย่อยด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง เนื่องจากทริปโทเฟนจะสลายตัวได้ง่ายในสารละลายกรดและในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่ ด่างที่นิยมใช้คือ ลิเทียมไฮดรอกไซด์ (LiOH)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และแบเรียมไฮดรอกไซด์ ($Ba(OH)_2$) เวลาที่ใช้ในการย่อยประมาณ 4-8 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีนและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย (Alegria et al., 1996) แต่ได้มีผู้ทำการทดลองเปรียบเทียบสารทั้ง 3 ชนิดในการวิเคราะห์หาปริมาณทริปโทเฟนในตัวอย่างที่เป็นน้ำ สรุปได้ว่าสารที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด คือ แบเรียมไฮดรอกไซด์ ที่ย่อยในหม้อนึ่งความดัน เพราะจะทำให้เกิดการตกตะกอนของแบเรียมซัลเฟต ($BaSO_4$) และ แบเรียมคาร์บอเนต ($BaCO_3$) เนื่องจากในตัวอย่างมีไอออนของ SO_4^{2-} และ CO_3^{2-} อยู่ ส่วนที่ตกตะกอนนี้จะเป็นตัวดูดซับทริปโทเฟนเอาไว้ ทำให้มีผลต่อค่าการเก็บเกี่ยว (recovery) ด้วย (Coble, Green, Blough and Gagosian, 1990) แต่ในการทดลองนี้เลือกทำการย่อยเห็ดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4.5 โมลาร์ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ปราศจากความดัน เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เพราะที่สภาวะนี้ก็สามารถย่อยสลายพันธะของทริปโทเฟนได้เพียงพอต่อการวิเคราะห์ และเลือกใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นนั้น เพราะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของทริปโทเฟนได้ดีที่สุดและไม่เกิดการปนเปื้อนกับสารที่จะวิเคราะห์ ทำให้มีประสิทธิภาพในการเพิ่มค่าการเก็บเกี่ยวให้มากที่สุดด้วย (Wu and Tanoue, 2001)

ตารางที่ 6.1 แสดงปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า พบว่าเมื่อพิจารณาโดยรวม เห็ดทั้งสองชนิดมีในปริมาณกรดอะมิโนที่ใกล้เคียงกันมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากเห็ดทั้งสองชนิดเป็นเห็ดในวงศ์ (family) เดียวกัน คือในวงศ์ *Pleurotus* นั่นเอง แต่เห็ดนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนส่วนใหญ่มากกว่าเห็ดนางรม ($p<0.05$) ยกเว้นกรดอะมิโนชนิดกรดแอสพาร์ติก ฮิสทิดีน ทรีโอนีน และนอร์วาลีน ที่มีปริมาณไม่ต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กรดอะมิโนที่พบมากที่สุดในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าคือ กรดกลูตามิก มีค่า 500.62 และ 422.17 มก./100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ กรดอะมิโนที่ตรวจพบปริมาณมากในเห็ดนางรมคือ อาร์จินีน กรดแอสพาร์ติก อะลานีน และเซอรีน มีค่าเป็น 326.06, 203.79, 190.22 และ 109.04 มก./100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ในขณะที่เห็ดนางฟ้ากรดอะมิโนที่พบมากคือ อาร์จินีน กรดแอสพาร์ติก อะลานีน และลิวซีน มีค่าเป็น 251.79, 201.10, 179.69 และ 129.55 มก./100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Mattila et al. (2002) ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ในเห็ดนางรมปลูกในประเทศฟินแลนด์ พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิกมากที่สุด (364 มก./100 กรัม น้ำหนักสด) รองลงมาคือ กรดแอสพาร์ติกและไทโรซีน การที่ปริมาณกรดอะมิโนมีความแตกต่างกันนั้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาวะในการปลูกและลักษณะจำเพาะทางสายพันธุ์ของแต่ละภูมิภาคที่แตกต่างกัน ทำให้ปริมาณที่ตรวจวัดมีค่าต่างกันไป

ตารางที่ 6.1 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (มก./100 กรัม น้ำหนักสด)

Amino acids	Nangrom	Nangpha
Aspartic acid	203.79 ± 1.98 a[(1)]	201.10 ± 1.40 a
Glutamic acid	500.62 ± 1.45 a	422.17 ± 2.67 b
Serine	109.04 ± 0.92 a	99.27 ± 1.13 b
Histidine	55.25 ± 1.21 a	52.25 ± 1.34 a
Glycine	83.47 ± 1.92 b	96.12 ± 1.45 a
Threonine*	101.50 ± 0.98 a	98.20 ± 1.25 a
Arginine	326.06 ± 1.55 a	251.79 ± 0.63 b
Alanine	190.22 ± 1.50 a	179.69 ± 1.45 b
Tyrosine*	57.03 ± 0.79 b	66.75 ± 1.40 a
Valine*	90.84 ± 1.04 b	98.32 ± 1.25 a
Methionine*	28.45 ± 0.58 b	34.50 ± 0.92 a
Norvaline	2.85 ± 0.10 a	2.10 ± 0.18 a
Tryptophan*	14.88 ± 0.09 a	9.41 ± 0.48 b
Phenylalanine*	73.10 ± 0.65 b	85.60 ± 1.62 a
Isoleucine*	61.85 ± 0.69 b	74.86 ± 1.63 a
Leucine*	113.09 ± 0.77 b	129.55 ± 1.58 a
Lysine*	70.83 ± 0.71 b	78.14 ± 1.34 a
Proline	28.68 ± 0.77 b	33.25 ± 0.93 a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
n = 4, * คือ กรดอะมิโนจำเป็น

ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นถึงผลของชนิดกรดอะมิโนต่าง ๆ ที่มีความสำคัญต่อกลิ่นรสของอาหาร รสชาติที่พบมากในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าคือ รสหวานอันเนื่องมาจากกรดอะมิโนชนิด อะลานีน ไกลซีน เซอรีน ทรีโอนีน ไลซีน โพรลีน และสารประกอบที่เป็นน้ำตาลประเภท β-glucan ที่พบมากในเห็ด (Cheung and Lee, 2000) และอาจพบกลิ่นรสอร่อย (umami taste) อันเนื่องมาจากกรดกลูตามิก (Lopez-Cervantes, Sanchez-Machado, and Rosas-Rodriguez, 2006) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีสำคัญและพบมากในกระบวนการผลิตซอสปรุงรส (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในเห็ดทั้งสองชนิด (ตารางที่ 6.1) พบว่า เห็ดนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นชนิด ไทโรซีน วาลีน เมไทโอนีน เฟนีลอะลานีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน และไลซีน สูงกว่าเห็ดนางรม ($p<0.05$) โดยพบเป็น 66.75, 98.32, 34.50, 85.60, 74.86, 129.55 และ 78.14 มก./100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ในขณะที่เห็ดนางรมมีปริมาณกรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟนมากกว่าเห็ดนางฟ้า ($p<0.05$) โดยพบเป็น 14.88 มก./100 กรัม น้ำหนักสด แต่มีปริมาณทรีโอนีนไม่ต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ข้อมูลสรุปดังตารางที่ 6.2 เปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในเห็ดที่ได้จากงานวิจัยนี้กับผักบางชนิดและเห็ดนางรมที่ปลูกในประเทศฟินแลนด์ พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในเห็ดโดยรวมที่สูงพอสมควรเมื่อเปรียบเทียบกับผักซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคของคนทั่วไป โดยเฉพาะกรดอะมิโนชนิดมีหมู่ซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (sulfur-containning) ได้แก่ เมไทโอนีน ไทโรซีน และทรีโอนีน มีปริมาณสูงกว่าในผักทั้ง 3 ชนิดอย่างเห็ดได้ชัด (Mattila et al., 2002) จึงจัดได้ว่า เห็ดเป็นแหล่งอาหารที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นและมีความสำคัญต่อร่างกายได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 6.2 เปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในเห็ดและผักต่าง ๆ (มก./100 กรัม น้ำหนักสด)

Amino acids	Nangrom	Nangpha	Nangrom *	Potato	Carrot	Cauliflower
Isoleucine	75	62	82	77	29	88
Leucine	130	113	139	110	38	130
Methionine	35	29	35	29	9	31
Phenylalanine	84	73	111	84	26	84
Tyrosine	66	57	219	40	14	52
Valine	99	91	112	120	43	140
Threonine	98	102	106	71	26	84
Lysine	78	71	126	120	35	12

หมายเหตุ * คือ เห็ดนางรมในประเทศฟินแลนด์ จากงานวิจัยของ Mattila et al. (2002)

6.4.2 ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า

6.4.2.1 กรดอะมิโนของไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรด (HCl)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากการย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยกรดเกลือ (HCl) ที่ความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ดต่อกรด 1:3

(กรัม:มล.) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 4 และ 12 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 6.3 พบว่า ปริมาณกรดอะมิโนที่พบมากที่สุดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิดคือ กรดกลูตามิก มีปริมาณสูงสุดที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง เป็น 832.46 และ 1126.44 มก./100 มล. ตามลำดับ และชนิดอื่นที่มีปริมาณมากได้แก่ กรดแอสพาร์ติก เซอรีน ไกลซีน และลิวซีน

เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$) โดยเฉพาะกรดอะมิโนชนิดเมไทโอนีนที่ลดลงถึง 4 เท่า ยกเว้นกรดอะมิโนบางชนิด คือ อาร์จินีน ไทโรซีน กลูตามีน และฮิสทิดีน ที่มีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการย่อยที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมงนั้นจะถือว่านานเกินไปจนทำให้กรดอะมิโนถูกทำลายได้จนมีปริมาณส่วนใหญ่ลดลง ซึ่งช่วงที่เหมาะสมอาจจะอยู่ในช่วง 4-8 ชั่วโมงก็น่าจะเพียงพอแล้ว (สอดคล้องกับค่าปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนในบทที่ 3) กรดอะมิโนชนิดที่มีปริมาณไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มเวลาการย่อย ($p>0.05$) คือ กรดกลูตามิก เฟนีลอะลานีน ไอโซลิวซีน และไลซีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ในขณะที่กรดอะมิโนชนิดไกลซีน วาลีน นอร์วาลีน ซาร์โคซีน และโพรลีนมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยเช่นเดียวกัน

กรณีของไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า ปริมาณกรดอะมิโนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาการย่อย ($p<0.05$) โดยกรดอะมิโนชนิดกรดแอสพาร์ติก กรดกลูตามิก เซอรีน ไกลซีน ทรีโอนีน อาร์จินีน อะลานีน วาลีน ลิวซีน และซาร์โคซีน มีปริมาณเพิ่มขึ้น 2 เท่า กรดอะมิโนไกลซีนมีปริมาณเพิ่มขึ้น 3 เท่า และกรดอะมิโนโพรลีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 8 เท่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมื่อเวลาในการย่อยสลายนานขึ้น จะมีผลต่อการเพิ่มเวลาในการสัมผัสกันระหว่างกรดและโปรตีนในวัตถุดิบนานขึ้น ทำให้พันธะเปปไทด์ในโมเลกุลของโปรตีนถูกย่อยด้วยกรดและความร้อนเป็นกรดอะมิโนได้มากขึ้น กรดอะมิโนชนิดที่ลดลงเมื่อเพิ่มเวลาย่อย ($p<0.05$) คือ ไทโรซีนและนอร์วาลีนลดลง 2 เท่า และเมไทโอนีนลดลงถึง 3 เท่า เป็นที่น่าสังเกตว่า เมไทโอนีนมีปริมาณลดลงมากในไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องจากกรดอะมิโนชนิดนี้อาจถูกทำลายได้ง่ายในสภาวะการย่อยด้วยกรดและใช้เวลาในการย่อยนาน กรดอะมิโนชนิดที่ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มเวลาย่อย ($p>0.05$) คือ ไอโซลิวซีนเช่นเดียวกับในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม อาจเนื่องจากประสิทธิภาพในการย่อยนอกจากที่กล่าวมาข้างต้นแล้วยังขึ้นอยู่กับการจัดลำดับของกรดอะมิโนในวัตถุดิบ โดยพันธะที่จะถูกย่อยสลายได้ยาก เช่น ไอโซลิวซีน-ไอโซลิวซีน, วาลีน-วาลีน เป็นต้น นอกจากนี้กรดอะมิโนชนิดแอสพาราจีนจะไม่พบเมื่อย่อย 12 ชั่วโมง เนื่องจากกระบวนการย่อยด้วยกรดที่เวลาในการย่อยเหมาะสม กลูตามีนและแอสพาราจีนจะสามารถเปลี่ยนรูปกลายเป็นกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกได้ (Fountoulakis and Lahm, 1998) ทำให้พบกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้ได้มากที่สุดนั่นเอง

ตารางที่ 6.3 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (มก./100 มล.)

Amino acids	Nangrom		Nangpha	
	4 h.	12 h.	4 h.	12 h.
Aspartic acid	440.32 ± 1.05 b[(1)]	374.35 ± 2.97 c	289.26 ± 1.41 d	476.05 ± 0.89 a
Glutamic acid	799.87 ± 1.17 b	823.46 ± 0.85 b	543.18 ± 0.74 c	1126.44 ± 1.62 a
Asparagine	0.10 ± 0.02 a	ND[(2)]	0.24 ± 0.03 a	ND
Serine	260.66 ± 1.09 b	197.32 ± 1.85 c	142.86 ± 1.10 d	280.03 ± 0.61 a
Glutamine	2.23 ± 0.02 b	3.23 ± 0.19 a	0.89 ± 0.04 b	3.68 ± 0.45 a
Histidine	5.93 ± 0.04 b	10.00 ± 0.39 a	6.00 ± 0.07 b	9.34 ± 0.63 a
Glycine	199.97 ± 2.12 b	181.88 ± 0.93 b	108.44 ± 1.79 c	241.02 ± 0.57 a
Threonine	214.40 ± 2.16 b	173.69 ± 2.60 c	96.25 ± 1.88 d	269.71 ± 1.23 a
Arginine	218.03 ± 1.08 b	263.13 ± 0.79 a	112.95 ± 1.07 c	289.74 ± 1.50 a
Alanine	308.21 ± 1.30 b	276.43 ± 0.06 c	197.13 ± 1.87 d	354.05 ± 3.11 a
Tyrosine	4.31 ± 0.06 c	6.15 ± 0.21 b	7.40 ± 0.15 a	5.90 ± 0.15 b
Valine	193.75 ± 1.68 b	181.00 ± 2.13 b	94.87 ± 0.98 c	216.04 ± 0.81 a
Methionine	16.56 ± 0.96 a	3.80 ± 0.19 d	14.46 ± 0.22 b	5.17 ± 0.05 c
Norvaline	1.47 ± 0.02 b	1.30 ± 0.18 b	2.06 ± 0.16 a	1.07 ± 0.07 b
Phenylalanine	12.43 ± 0.34 ab	13.86 ± 0.62 a	11.40 ± 0.09 b	13.63 ± 0.84 a
Isoleucine	8.42 ± 0.23 a	9.72 ± 1.32 a	7.72 ± 0.67 a	9.07 ± 0.82 a
Leucine	247.20 ± 1.18 b	230.79 ± 1.81 c	138.41 ± 2.80 d	321.78 ± 0.84 a
Lysine	21.37 ± 0.82 a	22.67 ± 1.53 a	14.85 ± 0.62 b	20.26 ± 2.73 a
Hydroxyproline	42.16 ± 1.51 a	34.70 ± 0.62 b	24.59 ± 1.33 c	34.26 ± 0.74 b
Sarcosine	1.23 ± 0.06 ab	0.97 ± 0.24 ab	0.78 ± 0.02 b	1.34 ± 0.25 a
Proline	14.21 ± 0.81 b	11.33 ± 2.18 b	10.95 ± 0.05 b	81.21 ± 2.19 a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) $n = 2$, [(2)]ND = Not detected.

เมื่อพิจารณาที่เวลาการย่อยเท่ากันในไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด พบว่า ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนโดยรวมสูงกว่าไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม ที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง ($p<0.05$) อาจจะเป็นผลจากการที่ในเห็ดนางฟ้าเริ่มต้นมีปริมาณใยอาหาร โภชนาและคาร์โบไฮเดรททั้งหมดเป็นส่วนประกอบน้อยกว่าในเห็ดนางรม ซึ่ง

องค์ประกอบเหล่านี้เป็นองค์ประกอบหลักและพบมากในเห็ด โดยทั่วไปโปรตีนในเห็ดน่าจะอยู่ในลักษณะเชิงซ้อนกับคาร์โบไฮเดรท ซึ่งถ้ามีปริมาณใยอาหารหยาบและคาร์โบไฮเดรทมากจะทำให้การย่อยสลายโปรตีนในเห็ดเป็นไปได้ยากตามไปด้วย

การวิเคราะห์หาปริมาณทริปโทเฟนนั้น จะต้องทำการย่อยด้วยด่างแทนการใช้กรด เนื่องจากทริปโทเฟนจะถูกทำลายไปจนหมดในกระบวนการย่อยด้วยกรด ดังนั้นในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทที่ใช้กรดย่อยจึงไม่สามารถหาปริมาณกรดอะมิโนชนิดนี้ได้

6.4.2.2 กรดอะมิโนของไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่าง (NaOH)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่าง (NaOH) ความเข้มข้น 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) แสดงดังตารางที่ 6.4 พบว่า ไฮโดรไลเสทที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่า ($p<0.05$) ที่อัตราส่วน 1:4 เนื่องจากการใช้ปริมาณด่างเพิ่มขึ้นจะทำให้เพิ่มการเจือจางในไฮโดรไลเสทมากขึ้น (dilution effect) ยกเว้นบางชนิด เช่น เซอรีนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า โดยกรดอะมิโนที่พบมากที่สุดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า คือ กรดกลูตามิก มีค่า 581.21 และ 501.05 มก./100 มล. ตามลำดับ กรดอะมิโนชนิดอะลานีน ไกลซีน และกรดแอสพาร์ติกเป็นชนิดที่พบมากเช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาไฮโดรไลเสทที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 (กรัม:มล.) ของเห็ดต่างชนิดกัน พบว่า ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมมีปริมาณกรดอะมิโนส่วนใหญ่สูงกว่าไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า ($p<0.05$) โดยเฉพาะกรดอะมิโนชนิดไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งสามารถพบได้เฉพาะไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้นในเห็ดนางรมสูงกว่าเห็ดนางฟ้า (ตารางที่ 4.1 ในบทที่ 4) และไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมพบกรดอะมิโนชนิดซาร์โคซีนเฉพาะที่อัตราส่วน 1:3 (กรัม:มล.) เท่านั้น อาจเป็นผลจากการเพิ่มปริมาณด่างทำให้การเจือจางในไฮโดรไลเสทเพิ่มขึ้นนั่นเอง

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยกรดกับไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่างที่อัตราส่วน 1:3 (กรัม:มล.) เท่ากัน พบว่าปริมาณหมู่อะมิโนที่ไม่ชอบน้ำบางชนิดมีค่าแตกต่างกัน โดยไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยกรดมีปริมาณกรดอะมิโนชนิดไอโซลิวซีน ลิวซีน และวาลีนมากกว่า ในขณะที่ไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยด่างมีปริมาณกรดอะมิโนชนิดเฟนีลอะลานีน ไทโรซีน และทริปโทเฟนมากกว่า โดยเฟนีลอะลานีนมีปริมาณมากกว่า 6 เท่า ไทโรซีนมีปริมาณมากกว่าถึง 10 เท่า ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุที่

ทำให้เกิดรสขมในกระบวนการย่อยด้วยด่างได้ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) และไม่พบทริปโทเฟนในการย่อยด้วยกรด

ตารางที่ 6.4 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 โมลาร์ เวลา 3 ชั่วโมง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (มก./100 มล.)

Amino acids	Nangrom		Nangpha	
	Ratio1:3	Ratio1:4	Ratio1:3	Ratio1:4
Aspartic acid	204.82 ± 1.67 a[(1)]	173.65 ± 4.05 b	169.75 ± 2.06 b	132.50 ± 1.33 c
Glutamic acid	581.21 ± 0.58 a	409.49 ± 0.52 c	501.05 ± 1.02 b	355.49 ± 2.79 d
Asparagine	0.77 ± 0.08 a	0.27 ± 0.01 b	0.70 ± 0.01 a	0.47 ± 0.06 b
Serine	43.73 ± 1.71 a	44.10 ± 2.94 a	46.82 ± 3.41 a	37.57 ± 0.26 b
Glutamine	6.46 ± 0.27 a	4.36 ± 0.14 b	3.14 ± 0.02 c	2.14 ± 0.20 d
Histidine	25.15 ± 1.45 a	7.96 ± 0.49 c	15.04 ± 0.09 b	14.09 ± 1.73 b
Glycine	166.03 ± 1.58 a	122.64 ± 2.10 b	118.53 ± 1.15 b	83.49 ± 0.84 c
Threonine	15.45 ± 0.37 a	11.99 ± 0.61 b	15.38 ± 0.14 a	16.53 ± 1.85 a
Arginine	5.28 ± 0.19 b	4.75 ± 0.30 b	10.54 ± 0.07 a	9.38 ± 0.72 a
Alanine	249.59 ± 1.36 a	160.73 ± 2.87 c	185.20 ± 2.08 b	127.80 ± 1.39 d
Tyrosine	82.74 ± 0.18 a	67.20 ± 2.10 b	65.35 ± 1.02 b	51.09 ± 0.47 c
Valine	68.70 ± 0.55 a	54.44 ± 1.70 b	53.98 ± 1.35 b	44.14 ± 0.31 c
Methionine	31.58 ± 1.91 a	32.44 ± 2.24 a	15.77 ± 0.13 b	9.71 ± 0.92 c
Norvaline	4.19 ± 0.20 a	0.88 ± 0.04 c	1.23 ± 0.03 b	0.83 ± 0.04 c
Tryptophan	11.27 ± 0.43 ab	9.32 ± 0.53 c	12.42 ± 0.12 a	10.70 ± 0.97 bc
Phenylalanine	63.04 ± 0.48 a	63.08 ± 0.33 a	63.83 ± 0.59 a	50.80 ± 0.41 b
Isoleucine	18.15 ± 0.16 a	6.19 ± 1.02 b	19.58 ± 0.17 a	22.10 ± 2.76 a
Leucine	136.77 ± 1.33 a	101.91 ± 2.43 b	103.90 ± 3.01 b	83.42 ± 1.08 c
Lysine	115.96 ± 3.72 a	110.87 ± 0.98 a	79.05 ± 1.46 b	65.00 ± 1.50 c
Hydroxyproline	21.69 ± 0.57 a	23.02 ± 2.29 a	ND[(2)]	ND
Sarcosine	1.61 ± 0.23 a	1.22 ± 0.06 a	0.77 ± 0.02 b	ND
Proline	46.16 ± 0.67 a	28.60 ± 2.98 b	45.87 ± 2.53 a	33.33 ± 0.28 b

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
n = 2, [(2)]ND = Not detected.

วิธีการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยด่างไฮโดรไลเสทที่ได้มีกรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟนแต่ในปริมาณที่ไม่สูงนัก Fountoulakis and Lahm (1998) กล่าวว่า การย่อยด้วยด่างเหมาะสำหรับตัวอย่างโปรตีนที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบอยู่สูง แต่วิธีการนี้มีข้อเสีย คือ กรดอะมิโนบางชนิดจะถูกทำลาย เช่น เซอรีน ทรีโอนีน อาร์จินีน และซีสเทอีน ซึ่งจากการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยด้วยกรดที่อัตราส่วนเห็ดต่อกรดและด่างเท่ากันคือ ที่อัตราส่วน 1:3 (กรัม: มล.) พบว่า ไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดมีปริมาณกรดอะมิโนชนิด เซอรีน ทรีโอนีน และอาร์จินีน สูงกว่าไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่างมาก โดยเซอรีนมากกว่า 6 เท่า ทรีโอนีนมากกว่า 13 เท่า และอาร์จินีนมากกว่าถึง 44 เท่า

6.4.2.3 กรดอะมิโนของไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase®

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่เวลาการย่อยต่างกัน พบว่า ไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® มีปริมาณกรดอะมิโนส่วนใหญ่สูงกว่าไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นชนิดกรดกลูตามิก ทรีโอนีน และโพรลีนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และชนิดแอสพาราจีน นอร์วาลีน และโพรลีนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่มีปริมาณไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® มีกรดอะมิโนชนิดเซอรีน อาร์จินีน ไทโรซีน วาลีน ทริปโทเฟน ไลซีน ไอโซลิวซีน และเฟนีลอะลานีน มากกว่า 2 เท่าของไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® กรดอะมิโนลิวซีนมากกว่า 4 เท่า กรดอะมิโนเมไทโอนีน และกลูตามีนมากกว่าถึง 7 และ 10 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® มีกรดอะมิโนอาร์จินีนและลิวซีนมากกว่า 2 เท่าของไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® กรดอะมิโนเมไทโอนีนและกลูตามีนมากกว่า 3 และ 7 เท่า ตามลำดับ นอกจากนี้ไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® ไม่พบปริมาณกรดอะมิโนชนิดไฮดรอกซีโพรลีนและซาร์โคซีน ทั้งนี้อาจเนื่องจากเอนไซม์ Flavourzyme® เป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเป็นทั้ง endo- และ exo-peptidase ทำให้มีความสามารถในการตัดพันธะเปปไทด์ภายในสายโมเลกุลของโปรตีนได้ดีกว่าเอนไซม์ Neutrase ซึ่งเป็นเพียง endo-peptidase เท่านั้น นอกจากนี้เอนไซม์ Flavourzyme® ยังมีประโยชน์ในด้านของการช่วยกำจัดรสขมในผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล, 2541) โดยปริมาณกรดอะมิโนที่พบมากที่สุด คือ กรดกลูตามิก ที่เวลาการย่อย 7 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® มีค่า 49.17 มก./100 มล. ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และ 70.75 มก./100 มล. ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า

นอกจากนี้กรดอะมิโนที่พบในปริมาณมาก คือ ชนิดอะลานีน ลิวซีน และเซอรีน (แสดงดังตารางที่ 6.5 และ 6.6)

พิจารณาเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการย่อย 6 และ 7 ชั่วโมงในเอนไซม์ แต่ละชนิด พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า ($p>0.05$) ดังนั้นการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมงก็น่าจะเพียงพอ การย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสจัดเป็นวิธีการทางชีวภาพมีข้อดี คือ เป็นวิธีที่เหมาะสำหรับการหากรดอะมิโนที่มีความไวต่อกระบวนการย่อยทางเคมี เช่น แอสพาราจีน และกลูตามีน เป็นต้น แต่มีข้อเสียคือ อาจต้องใช้เวลานานในการย่อยเพื่อให้เกิดการย่อยอย่างสมบูรณ์ (วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2545) จากการทดลองพบว่า ไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณกรดอะมิโนชนิดแอสพาราจีนมากกว่าไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดและด่างประมาณ 10 เท่า และมี กลูตามีนมากกว่าไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดประมาณ 5 เท่า ในขณะที่มากกว่าไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่างประมาณ 2 เท่า

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทจากกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์กับกระบวนการย่อยด้วยกรดและด่างข้างต้น พบว่า ปริมาณกรดอะมิโนส่วนใหญ่ในไฮโดรไลเสทย่อยด้วยเอนไซม์มีค่าน้อยกว่าไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรดและด่างมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากอัตราส่วนในการผลิตไม่เท่ากัน โดยกระบวนการนี้ใช้อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำถึง 1:11 (กรัม:มล.) ในขณะที่การย่อยด้วยกรดและด่างใช้อัตราส่วนที่น้อยกว่าเพียง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) เท่านั้น นอกจากนี้ในกระบวนการแยกกากกับส่วนใสเพื่อให้ได้เป็นไฮโดรไลเสทยังต่างจากทั้งสองวิธี เพราะกระบวนการย่อยด้วยกรดและด่างจะใช้วิธีการกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ในขณะที่กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ใช้วิธีปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7994 g (8000 rpm) เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งอาจจะทำให้เปปไทด์บางส่วนตกตะกอน นอกจากนี้วิธีการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นวิธีการย่อยสลายที่เกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง ประกอบกับข้อจำกัดด้านโครงสร้างภายในของเห็ดซึ่งโปรตีนในเห็ดอาจอยู่ในรูปเชิงซ้อนกับคาร์โบไฮเดรท ทำให้การย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นไปได้ยากนั่นเอง

ตารางที่ 6.5 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมย่อยด้วยเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (มก./100 มล.)

Amino acids	Flavourzyme®		Neutrase®	
	6 h.	7 h.	6 h.	7 h.
Aspartic acid	10.10 ± 1.22 a[(1)]	10.98 ± 1.25 a	6.71 ± 0.46 b	6.77 ± 0.43 b
Glutamic acid	48.80 ± 0.13 a	49.17 ± 0.41 a	44.06 ± 3.87 a	48.22 ± 1.34 a
Asparagine	10.30 ± 1.16 a	11.22 ± 1.09 a	7.60 ± 0.85 b	8.08 ± 0.28 b
Serine	21.91 ± 1.29 a	22.23 ± 1.09 a	11.24 ± 0.01 b	11.54 ± 0.11 b
Glutamine	10.19 ± 0.90 a	10.29 ± 0.70 a	1.01 ± 0.00 b	1.03 ± 0.01 b
Histidine	7.19 ± 1.06 a	7.93 ± 0.97 a	4.73 ± 0.02 b	4.79 ± 0.07 b
Glycine	14.54 ± 0.32 a	13.89 ± 0.37 a	8.34 ± 0.22 b	8.56 ± 0.13 b
Threonine	12.30 ± 1.70 a	13.07 ± 1.77 a	11.49 ± 0.50 a	11.45 ± 0.68 a
Arginine	34.58 ± 1.55 a	34.41 ± 1.59 a	17.62 ± 0.08 b	18.15 ± 0.15 b
Alanine	22.86 ± 0.90 a	23.25 ± 0.75 a	17.51 ± 0.02 b	17.88 ± 0.18 b
Tyrosine	17.57 ± 1.21 a	18.20 ± 1.03 a	9.61 ± 0.13 b	9.97 ± 0.26 b
Valine	20.02 ± 0.76 a	20.55 ± 0.84 a	10.77 ± 0.05 b	10.93 ± 0.01 b
Methionine	7.38 ± 1.22 a	7.29 ± 1.09 a	1.19 ± 0.02 b	1.55 ± 0.48 b
Norvaline	0.87 ± 0.07 a	0.88 ± 0.08 a	0.68 ± 0.00 b	0.75 ± 0.05 ab
Tryptophan	5.59 ± 0.23 a	5.62 ± 0.25 a	2.53 ± 0.07 b	2.65 ± 0.12 b
Phenylalanine	19.22 ± 1.63 a	20.02 ± 1.48 a	8.13 ± 0.04 b	8.30 ± 0.18 b
Isoleucine	15.36 ± 1.22 a	16.01 ± 1.15 a	6.16 ± 0.01 b	6.30 ± 0.13 b
Leucine	32.64 ± 1.15 a	32.44 ± 0.99 a	9.36 ± 0.17 b	9.72 ± 0.08 b
Lysine	29.72 ± 0.15 a	29.56 ± 0.73 a	12.00 ± 0.35 b	12.30 ± 0.79 b
Hydroxyproline	0.43 ± 0.03 a	0.37 ± 0.03 a	ND[(2)]	ND
Sarcosine	0.38 ± 0.10 a	0.26 ± 0.11 b	ND	ND
Proline	4.06 ± 0.84 a	3.45 ± 1.08 a	3.76 ± 0.39 a	3.93 ± 0.51 a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
n = 2, [(2)]ND= Not detected.

ตารางที่ 6.6 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (มก./100 มล.)

Amino acids	Flavourzyme®		Neutrase®	
	6 h.	7 h.	6 h.	7 h.
Aspartic acid	8.60 ± 1.66 a[(1)]	8.35 ± 0.31 a	5.36 ± 0.02 b	5.34 ± 0.43 b
Glutamic acid	66.19 ± 0.40 a	70.75 ± 0.05 a	59.02 ± 0.07 b	57.31 ± 0.30 b
Asparagine	10.72 ± 1.09 a	10.73 ± 0.16 a	9.08 ± 0.11 a	9.48 ± 0.59 a
Serine	22.13 ± 1.17 a	21.82 ± 0.05 a	13.07 ± 1.64 b	15.23 ± 0.92 b
Glutamine	7.47 ± 0.46 a	7.82 ± 0.00 a	0.98 ± 0.03 b	1.03 ± 0.05 b
Histidine	6.87 ± 1.08 a	6.89 ± 0.29 a	4.71 ± 0.09 b	4.95 ± 0.68 b
Glycine	11.76 ± 0.48 a	11.36 ± 0.10 a	7.21 ± 0.00 b	7.34 ± 1.08 b
Threonine	13.08 ± 2.22 a	12.39 ± 0.42 a	11.31± 0.19 a	2.98 ± 0.08 b
Arginine	27.07 ± 1.53 a	26.59 ± 0.08 a	12.39 ± 0.08 b	13.47 ± 0.84 b
Alanine	23.75 ± 0.81 a	23.53 ± 0.12 a	20.51 ± 0.03 b	21.36 ± 0.76 b
Tyrosine	16.71 ± 0.54 a	16.08 ± 0.12 a	11.04 ± 0.12 b	12.14 ± 0.90 b
Valine	19.99 ± 1.45 a	19.74 ± 0.07 a	14.09 ± 0.07 b	15.06 ± 1.17 b
Methionine	6.83 ± 1.12 a	6.65 ± 0.70 a	2.12 ± 0.27 b	2.17 ± 0.14 b
Norvaline	0.88 ± 0.04 a	0.84 ± 0.09 a	0.76 ± 0.03 a	0.87 ± 0.06 a
Tryptophan	5.73 ± 0.31 a	5.69 ± 0.08 a	3.75 ± 0.03 b	4.09 ± 0.28 b
Phenylalanine	18.36 ± 0.28 a	19.14 ± 0.02 a	10.46 ± 1.06 b	12.40 ± 0.83 b
Isoleucine	16.56 ± 1.51 a	16.34 ± 0.12 a	10.71 ± 0.11 b	11.67 ± 0.84 b
Leucine	32.89 ± 0.96 a	32.46 ± 0.10 a	17.19 ± 0.21 b	19.46 ± 1.29 b
Lysine	28.85 ± 0.23 a	28.34 ± 1.88 a	18.03 ± 0.30 b	20.26 ± 2.10 b
Hydroxyproline	0.35 ± 0.01 a	0.33 ± 0.00 a	ND[(2)]	ND
Sarcosine	0.34 ± 0.02 a	0.30 ± 0.02 a	ND	ND
Proline	5.70 ± 0.16 a	5.51 ± 0.32 a	5.65 ± 0.25 a	4.78 ± 1.37 a

[(1)] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) n = 2, [(2)]ND= Not detected.

6.5 สรุปผลการทดลอง

ตัวอย่างเห็ดนางรมและนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนที่ตรวจพบมากที่สุดเป็นชนิดเดียวกัน คือ กรดกลูตามิก ซึ่งในตัวอย่างเห็ดนางรมและนางฟ้ามีกรดอะมิโนแต่ละชนิดในปริมาณที่ใกล้เคียงกันมาก ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดทั้งสองชนิดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกัน ซึ่งปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้ ในเห็ดนางรมมีค่าเป็น 500.62 มก./ 100 กรัม น้ำหนักสด และในเห็ดนางฟ้า มีค่าเป็น 422.17 มก./ 100 กรัม น้ำหนักสด

ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์ พบว่ากรดอะมิโนที่ตรวจพบมากที่สุดเป็นชนิดเดียวกัน คือ กรดกลูตามิก โดยกระบวนการย่อยด้วยกรดมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือกระบวนการย่อยด้วยด่างและการย่อยด้วยเอนไซม์ตามลำดับ ในกระบวนการย่อยด้วยกรดมีปริมาณสูงสุดที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง มีปริมาณกรดอะมิโนเป็น 1126.44 มก./100 มล. ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า

6.6 รายการอ้างอิง

จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. (2541). **เอกสารประกอบการสอนเรื่อง Food enzyme**. สำนักวิชาเทคโนโลยีอาหาร. เทคโนโลยีการเกษตร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ณรงค์ นิยมวิทย์. (2538). **องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ฟอร์แมทพริ้นติ้ง จำกัด.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). **เอนไซม์ทางอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รัฐพล ศรประเสริฐ. (2538). การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนในเส้นใยเห็ดและดอกเห็ด. **ว. อาหาร** 25(3): 178-184.

วรนุช ศรีเจษฎารักษ์. (2540). **เอกสารประกอบการสอนเรื่อง การวิเคราะห์อาหารโดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC).** ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. คณะเทคโนโลยี: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วาริท หมัดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. (2545). ผลิตภัณฑ์จากการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและการประยุกต์ใช้. **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 24(2): 341-356.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2534). **ซีอิ๊ว**. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. (2548). **เห็ดสมุนไพร: จากอดีต สู่ปัจจุบัน และอนาคต** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thaiagro.com/article/mushrooms/47051701.html

สุธีรา เสาวภาคย์. (2535). **การใช้ประโยชน์จากกากถั่วลิสงในการผลิตน้ำซอสปรุงรส.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2545). **สาร 3-MCPD และ 1,3-DCP ในซอสปรุงรส** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.google.co.th/สาร 3-MCPD และ 1,3-DCP ในซอสปรุงรส. html

Alegria, A., Barbera, R., Ferre, R., Ferreres, M., Lagarda, M.J., and Lopez, J.C. (1996). Isocratic high-performance liquid chromatography of tryptophan in infant formulas. **J. Chromatogr**. 721: 83-88.

Anslyng, M.D., Elmore, J.S., and Mottram, D.S. (1998). Comparison of the aroma characteristics of acid-hydrolyzed and enzyme-hydrolyzed vegetable proteins produced from soy. **J. Agric. Food Chem.** 46: 5225-5231.

Antoine, F.R., Wei, C.I., Littell, R.C., and Marshall, M.R. (1999). HPLC methods for analysis of free amino acid in fish using o-phthaldialdehyde precolumn derivatization. **J. Agric. Food Chem.** 47(12): 5100-5107.

Boatright, W.L., and Lei, Q. (1999). Compounds contributing to the beany odor of aqueous solution of soy protien isolates. **J. Food Sci.** 64(4): 667-670.

Cheung, P.C.K., and Lee, M.Y. (2000). Fractionation and characteristization of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) as potential nutraceuticals from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. **J. Agric. Food Chem.** 48: 3148-3151.

Coble, P.G., Green, S.A., Blough, N.V., and Gagosian, R.B. (1990). Characterization of dissolved organic matter in the Black sea by fluorescence spectroscopy. **Nature** 348: 432-435.

Fountoulakis, M., and Lahm, H-W. (1998). Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. **J. Chromatogr.** 826: 109-134.

Henderson, J.W., Ricker, R.D., Brian, A.B., and Woodward, C. (2000). **Rapid, accurate, sensitive and reproducible HPLC analysis of amino acids** [On-line]. http://www.agilent.com/chem/supplied

Herbert, P., Barros, P., Ratola, N., and Alves, A. (2000). HPLC determination of amino acids in musts and port wines using OPA/FMOC derivatives. **J. Food Sci**. 65(7): 1130-1133.

Kinoshita, E., Sugimoto, T., Ozawa, Y., and Aishima, T. (1998). Differentiation of soy sauce produced from whole soybeans and defatted soybeans by pattern recognition analysis of HPLC. **J. Agric. Food Chem.** 46: 877-883.

Longvh, T., and Deosthale, Y.T. (1998). Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India. **Food Chem.** 63(3): 331-334.

Lopez-Cervantes, J., Sanchez-Machado, D.I., and Rosas-Rodriguez, J.A. (2006). Analysis of free amino acids in fermented shrimp waste by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr**. 721: 83-88.

Mattila, P., Vaananen, P.S., Konko, K., Aro, H., and Jalava, T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. **J. Agric. Food Chem.** 1105 (1-2): 106-110.

Mau, J.L., Lin, H.C., Ma, J.T., and Song, S.F. (2001). Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. **Food Chem.** 73: 461-466.

SAS. 1995. SAS 6.08.04 WIN. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Tomita, M., Motomura, Y., Kitahara, H., Yoshiki, Y., and Okubo, K. (1998). Purification and identification of the promoter of sediment formation from raw Soy sauce by heating. **J. Ferment. Bioen.** 86(4): 373-378.

Wu, F., and Tanoue, E. (2001). Sensitive determination of dissolved tryptophan in freshwater by alkaline hydrolysis and HPLC. **Anal. Sci.** 17: 1063-1066.

บทที่ 7
สรุปผลการทดลอง

กระบวนการย่อยด้วยกรดแบบไม่ใช้ความดัน สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณไนโตรเจนมากที่สุดเพื่อผลิตเป็นซอสปรุงรส คือ ที่อัตราส่วนกรดต่อวัตถุดิบ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 4.95 และ 6.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่า 5.58 และ 8.23 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า 234.36 และ 248.27 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ปริมาณสาร 3-MPCD วิเคราะห์เฉพาะไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้ามีค่าเป็น 85.51 มก./กก. และมีค่าต่ำที่สุดที่สภาวะการย่อยอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง มีค่าเป็น 17.72 มก./กก. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสาร 3-MCPD มากที่สุด คือ อุณหภูมิ รองลงมาคือ ระยะเวลาในการย่อยวัตถุดิบ องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ ปริมาณโปรตีน และปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตัวอย่างทางการค้า และการปรุงรสด้วยน้ำตาลที่มีคุณลักษณะรวมสูงสุด คือ ระดับการเติมน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะอย่างชัดเจนและผู้ประเมินให้การยอมรับได้ โดยมีค่าของกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์น้อยกว่าในผลิตภัณฑ์ทางการค้าและแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 โมลาร์ ใช้อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 4.10 และ 3.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าเป็น 4.35 และ 4.39 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แต่มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ำที่สุดมีค่าเป็น 147.68 และ 146.02 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าสูงที่สุดคือ ที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้น 6 โมลาร์ มีค่าเป็น 170.99 และ 164.88 กรัม/ลิตร ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MPCD เฉพาะไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) พบว่า ไม่พบสารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรส ได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ

ปริมาณโปรตีน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน และปริมาณเกลือมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของซอสปรุงรส ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่ทุกระดับปริมาณด่างและความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสีความชอบ กลิ่นรสผิดปกติ กลิ่นเห็ดและรสขมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับไฮโดรไลเสท แต่มีค่าความหวานและความเค็มต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปรุงรสด้วยระดับน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ ค่าคุณลักษณะรวมสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.)

ปริมาณเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าคือ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ซึ่งทำให้ได้ระดับการย่อยสลายสูงที่สุดโดยสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์คือ พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การย่อยเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) ให้ความร้อนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาทีก่อนเติมเอนไซม์ เวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงสุดเป็น 53.91 เปอร์เซ็นต์ ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสเห็ดปรุงรส ได้แก่ พีเอช ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม ในขณะที่ปริมาณโปรตีน ไนโตรเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจน และความหนืดมีค่ามากกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความหนืด ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย รสขม และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับตัวอย่างทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะสูงกว่าตัวอย่างทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าผู้ประเมินสามารถให้การยอมรับกลิ่นเห็ดที่มีในผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสนี้ได้

ตัวอย่างเห็ดนางรมและนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนที่ตรวจพบมากที่สุดเป็นชนิดเดียวกัน คือ กรดกลูตามิก ซึ่งในตัวอย่างเห็ดนางรมและนางฟ้ามีกรดอะมิโนแต่ละชนิดในปริมาณที่ใกล้เคียงกันมาก ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดทั้งสองชนิดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกัน ซึ่งปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้ ในเห็ดนางรมมีค่าเป็น 500.62 มก. /100 กรัม น้ำหนักสด และในเห็ดนางฟ้า มีค่าเป็น 422.17 มก. /100 กรัม น้ำหนักสด ปริมาณกรดอะมิโนในไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อยด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์ พบว่า กรดอะมิโนที่ตรวจพบมากที่สุดเป็นชนิดเดียวกัน คือ กรดกลูตามิก โดยกระบวนการย่อยด้วยกรดมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือกระบวนการย่อยด้วยด่าง และการย่อยด้วยเอนไซม์ ตามลำดับ ในกระบวนการย่อยด้วยกรดมีปริมาณสูงสุดที่เวลาการย่อย 12 ชั่วโมง มีปริมาณกรดอะมิโนเป็น 1126.44 มก./100 มล. ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพรอริยา ฉิรินัง เกิดเมื่อวันที่ 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2522 ที่จังหวัดร้อยเอ็ด ศึกษาในระดับประถมที่โรงเรียนอนุบาลร้อยเอ็ด จากนั้นย้ายตามบิดาไปศึกษาต่อที่โรงเรียนประตูชัย จบการศึกษาในระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนจอมสุรางค์อุปถัมภ์ ในปี พ.ศ. 2539 และเข้ารับการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2543 ภายหลังได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในปี พ.ศ. 2545