รหัสโครงการ SUT3-305-42-24-09

รายงานการวิจัย

คุณภาพและการปนเปื้อนสาร 3-Monochloropropane-1,2-diol ของซอสเห็ดปรุงรสผลิตโดยการย่อยด้วยกรด และด่าง และคุณภาพซอสผลิตโดยเอนไซม์

(Qualities and 3-Monochloropropane-1,2-diol Contamination of Flavored Mushroom Sauce Produced by Acid and Alkaline, and Qualities of Sauce Produced by Enzymatic Hydrolysis)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-42-24-09

รายงานการวิจัย

คุณภาพและการปนเปื้อนสาร 3-Monochloropropane-1,2-diol ของซอสเห็ดปรุงรสผลิตโดยการย่อยด้วยกรด และด่าง และคุณภาพซอสผลิตโดยเอนไซม์

(Qualities and 3-Monochloropropane-1,2-diol Contamination of Flavored Mushroom Sauce Produced by Acid and Alkaline, and Qualities of Sauce Produced by Enzymatic Hydrolysis)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร.กนกอร อินทราพิเชฐ

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2542 และ 2545

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2549

บทคัดย่อ

การทดลองนี้เพื่อใช้ประโยชน์จากเห็ดสำหรับผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรส ทดลองย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าแห้งด้วยกรดเกลือ 18, 20 และ 22 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และปริมาณเห็ดต่อกรด 1:1.5, 1:2 และ 1:2.5 ภายใต้ความดันสูง (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียส) ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดจากเห็ดทั้งสองชนิด เท่ากับ 6.92 และ 8.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อใช้กรดเกลือเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:1.5 เวลา 6 ชั่วโมง การย่อยเห็ดด้วยกรดภายใต้ความดันสูงมีการเกิดสาร 3-MCPD ปนเปื้อนสูงมาก มีปริมาณระหว่าง 299.40 - 495.89 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แม้ซอสเห็ดปรุงรสที่ผลิตได้มีคุณภาพยอมรับทางประสาทสัมผัส แต่ไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค จึงได้ทดลองการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือที่ไม่ใช้ความดันสูง การย่อยด้วยด่างและการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า เพื่อผลิตเป็นซอสเห็ดปรุงรสต่อไป

การผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าโดยการย่อยด้วยกรดแบบปราศจากความดัน ด้วยด่างภายใต้ความดัน และด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตที่ไม่ก่อให้เกิดสาร 3-MCPD รวมถึงคุณภาพและการยอมรับผลิตภัณฑ์ การย่อยโปรตีนด้วยกรดโดยไม่ใช้ความดัน ย่อยเห็ดแห้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 6, 8 และ12 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 อัตราส่วน1:2 (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 ซอสปรุงรสจากไฮโดรไลเสทย่อยด้วยกรด ปรุงรสด้วยน้ำตาลปริมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนการยอมรับรวมมากที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับซอสปรุงรสทางการค้า ซึ่งซอสที่ได้มีกลิ่นของเห็ดอย่างชัดเจน และพบว่าซอสเห็ดปรุงรสจากไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยด่าง 5 โมลาร์ อัตราส่วน 1:4 (กรัม:มิลลิลิตร) มีคะแนนการยอมรับรวมมากที่สุด

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 10 นาทีกับเห็ดก่อนเติมเอนไซม์ ได้ไฮโดรไลเสทที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุดที่เวลาย่อย 6 ชั่วโมง เป็น 53.91 เปอร์เซ็นต์

ผลิตซอสเห็ดปรุงรสแบบข้นโดยเติมแป้งดัดแปรจากไฮโดรไลเสทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มอก. 1317-2538) และมีปริมาณโปรตีน ไนโตรเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงกว่าซอสเห็ดปรุงรสทางการค้า ($p<0.05$) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสเห็ดปรุงรสด้วยวิธี QDA พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความหนืด ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย รสขม และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับซอสทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดสูงกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

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 อุณหภูมิ และระยะเวลาในการย่อยวัตถุดิบ ในขณะที่ไม่พบสารนี้ในไฮโดรไลเสทย่อยด้วยด่าง

Abstract

The purpose of this experiment was to make use of mushrooms for making flavored mushroom sauce. Dried nangroam (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) and nangpha (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) mushrooms were mixed with hydrochloric acid (HCl) (18, 20 and 22%; v/v and mushroom to acid of 1:1.5, 1:2 and 1:2.5), hydrolyzed by under high pressure (15 lb/in^2, 121° C) for 4, 5 and 6 h. The highest protein contents in the hydrolysate obtained from both mushrooms were 6.92 and 8.05 %, respectively, when 18% HCl with the ratio of 1:1.5 was used for 6 h. By using acid hydrolysis under high pressure, the hydrolysate was contaminated with very high amounts of 3-MCPD ranging 299.40-495.89 mg/kg. Although the flavored mushroom sauce produced was accepted by the sensory panelists, the sauce was not suitable for consumption. Therefore, further experiments were done by using acid hydrolysis without applying high pressure, hydrolysis using alkali and enzymes for the flavored mushroom sauce production.

Flavored sauce was produced from mushrooms; nangroam and nangpha 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 °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 °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 acceptance. There were no significant differences ($p>0.05$) in overall acceptance 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 acceptance.

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 ^{o}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 nangroam mushroom.

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 acceptance to those of commercial sauce. However, the flavored mushroom sauces had distinct characteristic of mushroom flavor than commercial sauce ($p<0.05$).

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 occurence of 3-MCPD were temperature and hydrolysis time while there was no 3-MCPD detected in alkaline hydrolysate.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)....ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)....ค

สารบัญ....จ

สารบัญตาราง....ช

สารบัญภาพ....ญ

บทที่

1. บทนำ....1

1.1 บทนำ....1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย....3

1.3 ขอบเขตของการวิจัย....3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....3

2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....5

2.1 กรรมวิธีในการผลิตซอส....6

2.1.1 วิธีการย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis)....6

2.1.2 การหมักด้วยจุลินทรีย์ (microbiological fermentation)....8

2.1.3 สาร 3-MCPD....8

2.2 เอนไซม์โปรตีเนสหรือโปรตีเอส....9

2.2.1 Endopeptidases....9

2.2.2 Exopeptidases....9

2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีเนสสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท....10

2.4 เห็ด....11

2.4.1 การจำแนกประเภทของเห็ด....11

2.4.2 คุณประโยชน์ของเห็ดเชิงโภชนาการ....12

2.5 ชีววิทยาและประวัติของเห็ดที่ใช้ในงานวิจัย....13

2.5.1 เห็ดนางรม....13

2.5.2 เห็ดนางฟ้า....13

2.6 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาร 3-MCPD และ DCP....14

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.1 ความเป็นพิษของสาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD).....15
2.6.2 ความเป็นพิษของสาร 1,3-dichloro-2-propanol (DCP).....16
2.6.3 แหล่งอาหารที่อาจพบสาร 3-MCPD.....17
2.6.4 ข้อกำหนดปริมาณ 3-MCPD ของประเทศต่าง ๆ.....18
3. การทดลองผลิตไฮโดรไลเสทจากเห็ดเบื้องต้น.....19
3.1 บทนำ.....19
3.2 วัตถุประสงค์.....20
3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....20
3.4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....22
3.4.1 คุณภาพองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดวัตถุดิบ.....22
3.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือและคุณภาพของไฮโดรไลเสท.....22
3.4.3 คุณภาพทางเคมี กายภาพและทางประสาทสัมผัสของ
โปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ด.....28
3.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสเห็ดปรุงรส.....30
3.4.5 ปริมาณสาร 3-MCPD.....30
3.5 สรุปผลการทดลอง.....31
4. การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรด.....34
4.1 บทนำ.....34
4.2 วัตถุประสงค์.....34
4.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....34
4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....37
4.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ.....37
4.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือและคุณภาพของไฮโดรไลเสท.....37
4.4.3 ปริมาณสาร 3-MCPD ในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ด.....42
4.4.4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด.....43
4.4.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด.....44
4.5 สรุปผลการทดลอง.....47

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5. การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยด่าง....49
5.1 บทนำ....49
5.2 วัตถุประสงค์....50
5.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง....50
5.4 ผลการทดลองและวิจารณ์....52
5.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ....52
5.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยด่างและคุณภาพของไฮโดรไลเสท....53
5.4.3 ปริมาณสาร 3-MCPD....55
5.4.4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด....56
5.4.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด....59
5.5 สรุปผลการทดลอง....61
6. การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์....62
6.1 บทนำ....62
6.2 วัตถุประสงค์....64
6.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง....65
6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์....68
6.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ....68
6.4.2 สภาวะอุณหภูมิการย่อยของเอนไซม์....79
6.4.3 ปริมาณเอนไซม์ในการย่อยเห็ดและคุณภาพของไฮโดรไลเสท....70
6.4.4 โปรตีนไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®....72
6.4.5 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสเห็ดปรุงรส....73
6.4.6 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด....75
6.5 สรุปผลการทดลอง....77
7. สรุปผลการทดลอง....78
รายการอ้างอิง....80
ประวัติผู้วิจัย....86

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดชนิดต่าง ๆ (น้ำหนักสด).....23

3.2 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดกระด้าง (น้ำหนักแห้ง).....23

3.3 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือที่สภาวะต่าง ๆ...25

3.4 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วย กรดเกลือที่สภาวะต่าง ๆ.....26

3.5 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือ ที่สภาวะต่าง ๆ.....27

3.6 คุณภาพทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสทจากเห็ด ผลิตโดยย่อยด้วย กรดเกลือ 18 เปอร์เซนต์ ภายใต้ความดันสูง นาน 6 ชั่วโมง.....28

3.7 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสทจากเห็ดภายใต้สภาวะหม้อนึ่งความดันที่ ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลา 6 ชั่วโมง ไม่ผ่านการบ่ม.....29

3.8 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดย่อยภายใต้ความดันสูง ความเข้มข้น กรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลา 6 ชั่วโมง ผ่านการบ่ม 2 เดือน.....30

3.9 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดผ่านการบ่ม 2 เดือน ผลิตโปรตีน ไฮโดรไลเสทภายใต้ความดัน ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลา 6 ชั่วโมง.....33

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า.....37

4.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ.....38

4.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ.....40

4.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ.....41

4.5 ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่ความเข้มข้น กรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v).....43

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรม....45

4.7 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้า....45

4.8 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วน เห็ด:กรดเกลือ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง....46

4.9 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้าที่อัตราส่วน เห็ด:กรดเกลือ 1:3 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง....47

5.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า....53

5.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าโดย การย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว....54

5.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า โดยการย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว....54

5.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า โดยการย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว....55

5.5 ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมที่ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง....56

5.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสเห็ดนางรม ย่อยด้วยด่าง 5 โมลาร์ ที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่างต่าง ๆ....58

5.7 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วน เห็ด:ด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง....60

6.1 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า....74

6.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดผ่านการให้ความร้อน ภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme® 76

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 กระบวนการผลิตซอสปรุงรสย่อยด้วยกรด....7

2.2 ปฏิกิริยาการเกิดสาร 3-MCPD....15

6.1 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TNBS กับ primary amines....63

6.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ในการย่อยเห็ดนางรมที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)....69

6.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ในการย่อยเห็ดนางฟ้าที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)....70

6.4 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่สภาวะเหมาะสม เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.)....71

6.5 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ที่สภาวะเหมาะสม เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.)....71

6.6 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่สภาวะเหมาะสม เวลาการย่อย 0-24 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.)....72

6.7 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....73

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำ

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

สำหรับตลาดซอสในประเทศไทย ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจำหน่ายได้เป็นอันดับ 4 และยี่ห้อที่มียอดจำหน่ายสูงสุดคือ ยี่ห้อภูเขาทอง โรงงานขนาดใหญ่ซึ่งจัดเป็นผู้นำทางการตลาดของซอสปรุงรส ได้แก่ 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 จากการวิเคราะห์พบว่า เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผัก และเห็ดยังมีกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ (ปัญญา โพธิฐิติรัตน์, 2539) และสามารถทดแทนโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น คาร์โบไฮเดรท แคลเซียม ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส วิตามินต่าง ๆ และไนอาซิน (กลิ้งกลางดง, 2544) ในประเทศ จีน พบว่า มีเห็ดประมาณ 200 ชนิดที่สามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยารักษาโรค รวมทั้งใช้ในการบำรุงสุขภาพด้วย เช่น การใช้เห็ดเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค บำรุงตับ รักษาโรคความดันโลหิต โรคไขมัน

ในเส้นเลือดสูง โรคเบาหวาน มีฤทธิ์ในการต่อต้านเนื้องอก เป็นต้น (มนที, 2542; Zhang, Cheung, Zhang, Chiu, and Ooi, 2004; ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ 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) เห็ดนางรมมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 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 ขณะที่โปรตีนถูกย่อยสลายอยู่นั้นจะเกิดกระบวนการคลอริเนชั่น (chlorination) ของไขมันและน้ำมันในถั่วเหลืองทำให้เกิดสารปนเปื้อน 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 การปรับเปลี่ยน

วิธีการใช้เอนไซม์แทนกรดเกลือ การย่อยโปรตีนโดยใช้ด่างร่วม และการใช้วัตถุดิบที่มีไขมันน้อย เช่น แป้งถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

จากการวิจัยนี้จึงคาดว่าจะได้รับข้อมูลที่เกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรมโดยการย่อยด้วยกรดเกลือ เอนไซม์และด่าง เพื่อผลิตซอสปรุงรสและ ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตรและได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อให้ได้ซอสปรุงรสที่ผลิตได้โดยใช้เห็ดที่กินได้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตโดยการย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis)

1.2.2 เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยวิธีทางกายภาพ คือการย่อยด้วยกรดปราศจากความดันและใช้ความร้อนต่ำ และการย่อยด้วยด่าง

1.2.3 เพื่อให้ได้สภาวะในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยวิธีทางชีวภาพ คือ การย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า (commercial protease)

1.2.4 เพื่อทราบคุณภาพทางเคมี กายภาพ และ การยอมรับทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ด

1.2.5 เพื่อให้ได้สภาวะการผลิตซอสปรุงรสที่ไม่ก่อให้เกิดสาร 3-MCPD

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยกระบวนการย่อยด้วยกรดเกลือภายใต้ความร้อนและความดันสูง

1.3.2 ผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยกระบวนการย่อยด้วยกรดเกลือและความร้อน ปราศจากความดัน

1.3.3 ผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยด่าง

1.3.4 ผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า

1.4.4 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบความเป็นไปได้ว่าสามารถใช้เห็ดกินได้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตซอสปรุงรสได้ ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากเห็ดที่ผลิตได้เชิงการค้าได้อีกทางหนึ่ง

1.4.2 ได้วิธีการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดด้วยวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนและปราศจากความดันสูง การผลิตโดยการใช้ด่าง และการผลิตโดยการใช้เอนไซม์ เพื่อเป็นการหาแนวทางในการลดปริมาณสาร chlorinated compounds (3-MCPD)

1.4.3 ได้ผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสที่เป็นทางเลือกใหม่ให้แก่ผู้บริโภคในการบริโภคซอสปรุงรส โดยเฉพาะผู้มีอาการแพ้โปรตีนจากถั่วเหลือง

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน การประกอบอาหารมีการปรุงรสให้เป็นที่ถูกปากแก่ผู้บริโภค ซึ่งการปรุงรสในอดีตมักใช้วัตถุดิบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในธรรมชาติในท้องถิ่นนั้น ๆ เช่น เกลือ มะนาว มะขามเปียก น้ำผึ้ง เป็นต้น ต่อมาวิวัฒนาการของเครื่องปรุงรสมีความก้าวหน้ามากขึ้น กล่าวคือ มีความสำเร็จรูป และมีความสะอาดมากขึ้น อีกทั้งยังสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานขึ้น สำหรับตัวอย่างของเครื่องปรุงรสที่พบเห็นในปัจจุบัน เช่น น้ำตาล ซุปก้อนกึ่งสำเร็จรูป น้ำปลา ซีอิ๊ว และซอสปรุงรส เป็นต้น

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

การใช้ประโยชน์ของซอสปรุงรสและซีอิ๊วมีความคล้ายคลึงกัน คือใช้เพื่อปรุงรสอาหารและผลิตภัณฑ์ทั้งสองก็ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองเหมือนกัน แต่สิ่งที่แตกต่างกัน คือ กรรมวิธีการผลิต โดยซีอิ๊วใช้วิธีการผลิตโดยการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองด้วยการหมัก ในขณะที่ซอสปรุงรสใช้กรดเข้มข้นในการย่อยโปรตีนจากพืช (acid hydrolysis) แล้วจึงทำการปรับสภาพกรดด้วยการเติมด่าง (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2546)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยกรดนอกจากน้ำซอสปรุงรสแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์ที่เรียกชื่ออื่น ๆ และนิยมใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหาร (food flavoring) ได้ เช่น โปรตีนไฮโดรไลเซท โดยเฉพาะที่เป็นโปรตีนพืช ซึ่งนิยมเรียกชื่อย่อว่า HVP ซึ่งย่อมาจาก hydrolyzed vegetable protein (สายสนม ประดิษฐวง, 2543) ซึ่งแหล่งโปรตีนที่นิยมคือ แป้งถั่วเหลือง แป้งสาลี หรือแป้งข้าวโพด เป็นต้น โดยทั่วไปนอกจากวิธีการย่อยด้วยกรดแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ เรียกว่า EVP หรือ enzyme-hydrolyzed vegetable protein ซึ่งข้อแตกต่างของทั้งสองกระบวนการจะเกิดขึ้นในด้านของสีและกลิ่นรส โดยการย่อยด้วยกรดจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาลเข้ม ในขณะที่การย่อยด้วยเอนไซม์จะให้สีที่ค่อนข้างอ่อนและมีกลิ่นของเนื้อหรือกลิ่นอร่อยจางกว่า (Anslyng, Elmore and Mottram, 1998)

สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสปรุงรสโดยทั่วไป คือ กากถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว นอกจากนี้สุธีรา เสาวภาคย์ (2535) รายงานว่า กากถั่วลิสงที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมสามารถใช้เป็นวัตถุดิบได้ โดยผลิตภัณฑ์ซอสที่ได้ได้รับการยอมรับจากผู้ประเมินทางประสาทสัมผัสมากกว่าผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดและหลังจากทำการบ่ม ผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ชอบเล็กน้อยถึงชอบมาก

อัญชลี สาระโบก และอรัญ หันพงศ์กิตติกุล (2542) ใช้น้ำนึ่งปลาทูน่าที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋อง ผลิตซอสปรุงรส พบว่า ซอสปรุงรสที่ได้มีองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มอก. 1317-2538) และได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบไม่แตกต่างทางสถิติกับซอสหอยนางรมในท้องตลาด แต่จะมีกลิ่นและรสปลามากกว่าซอสหอยนางรมที่มีขายตามท้องตลาด

Chou and Ling (1998) ศึกษาการใช้วัตถุดิบคือ ถั่วเหลืองที่ทำการสกัดเอาไขมันออกแล้วกับแป้งสาลีที่ผสมให้เข้ากันแล้วผ่านเครื่องอัดพอง (extruder) กับวัตถุดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการดังกล่าว เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของซอสปรุงรสที่ได้จากทั้งสองกระบวนการ พบว่า การใช้วัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการอัดพองจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบทางเคมีมากกว่าวัตถุดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการ และยังให้สีของซอสที่เข้มข้นกว่าอีกด้วย

2.1 กรรมวิธีในการผลิตซอส

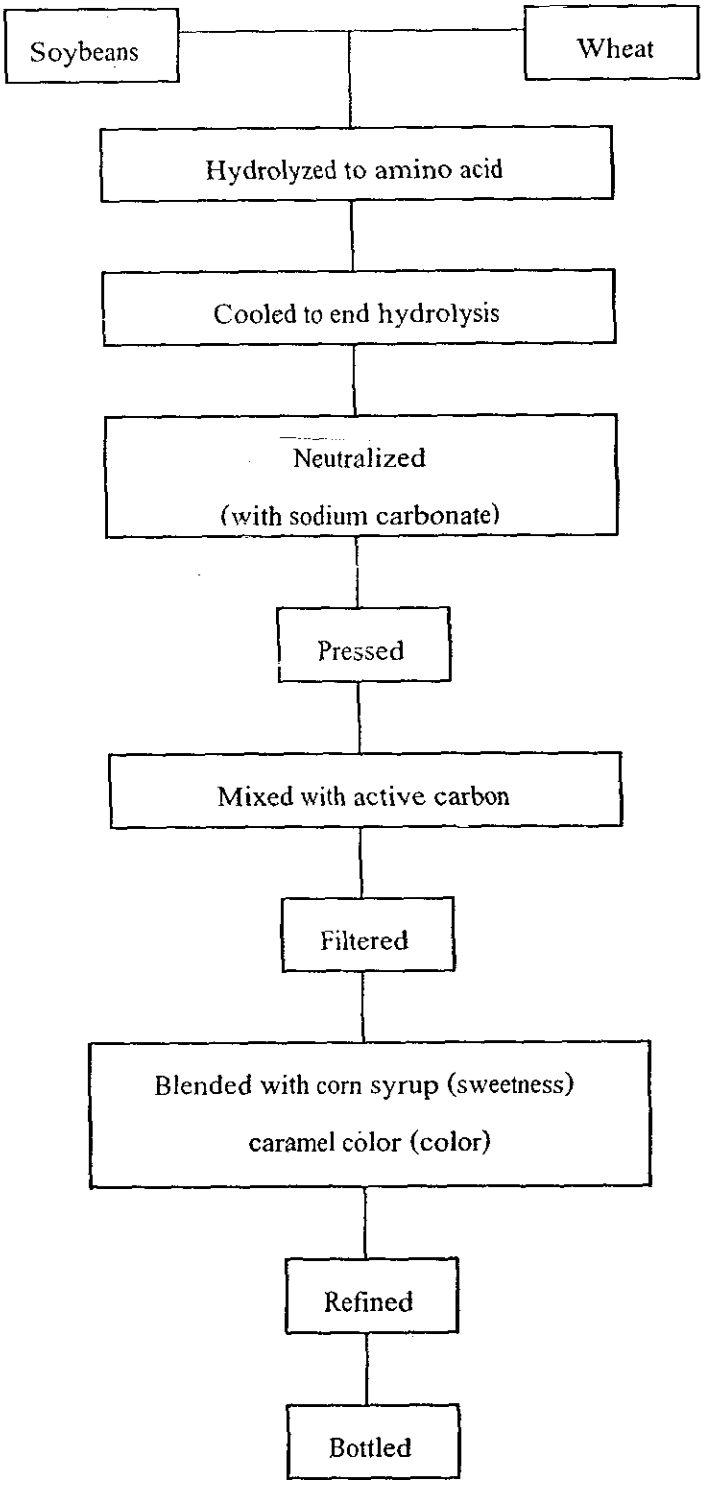
ผลิตซอสปรุงรสได้ 2 วิธี คือ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

2.1.1 วิธีการย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) วิธีการนี้เป็นวิธีการที่อาศัยการย่อยสลายวัตถุดิบส่วนผสมระหว่างถั่วเหลือง ข้าวสาลีหรือข้าวเจ้า โดยใช้กรดเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง แล้วจึงใช้ด่าง เช่น โซเดียมคาร์บอเนตหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นตัวปรับให้มีสภาพเป็นกลางเพื่อให้กรดที่เหลือกลายสภาพเป็นเกลือและน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 2.1 (สถาบันอาหาร, 2545)

สารอาหารที่ถูกย่อยโดยกรด คือ แป้งและโปรตีน แป้งที่ถูกย่อยก็จะกลายเป็นน้ำตาล ส่วนโปรตีนก็จะถูกย่อยกลายเป็นกรดอะมิโน 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)

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)



ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตซอสปรุงรสย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis)

แหล่งที่มา: นิรนาม (2546)

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

2.1.3 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 ซึ่งมีแนวทางที่น่าสนใจสำหรับผู้ประกอบกิจการผลิตซอสปรุงรส คือ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

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

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

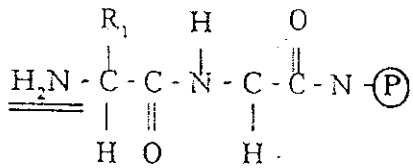
2.2 เอนไซม์โปรตีเนส (proteinase) หรือ โปรตีเอส (protease)

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

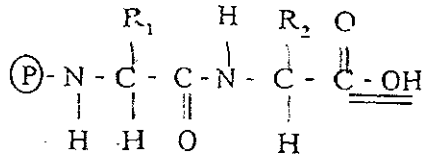
2.2.1 Endopeptidases (EC 3.4.21-99) คือ กลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์ ซึ่งอยู่ภายในสายโมเลกุลของโปรตีนได้เป็นสายโซ่เปปไทด์สั้น ๆ เอนไซม์กลุ่มเอนโดเปปติเดสจากพืชหรือจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับสเตรทที่เป็นเปปไทด์โมเลกุลใหญ่หลายชนิด และสับสเตรทที่เป็นโปรตีนทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว

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) คือ เอนไซม์ซึ่งสลายพันธะเปปไทด์จากทางด้าน 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

2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีเนสสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท (Protein hydrolysate)

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

Hoyle และ Merritt (1994) ศึกษาการย่อยสลายปลาแฮริ่ง โดยใช้เอนไซม์ Alcalase 2.4 L ที่พีเอช 8.0-8.5 อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส และ ปาเปนที่สกัดจากยางมะละกอ ย่อยสลายที่พีเอช 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 ทำให้มีขนาดเล็กลงและมีความสามารถในการละลายได้เพิ่มมากขึ้นแต่ปริมาณไขมันมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการย่อยสลายไขมันบางส่วนถูกย่อยสลายไปนั่นเอง

Kristinsson และ Rasco (2000) ศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเศษปลา Atlantic salmon *(Salmo salar)* ที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตซูริมิด้วยเอนไซม์โปรตีเอสชอบด่าง (alkaline protcases) 4 ชนิด คือ Alcalase 2.4L, Flavourzyme 1000L, Corolase PN-L and Corolase 7089 พบว่าไฮโดรไลเสทที่ได้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี เช่น มีความสามารถในการละลายได้ดี 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 เมื่อทำการปรุงรสไฮโดรไลเสทและ

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า การย่อยสลายวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดเป็นเวลา 60 นาที ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบมากที่สุด

คงศักดิ์ สหะศักดิ์มนตรี (2544) ได้ทำการศึกษาถึงการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ แอลฟา-อะมัยเลสเพื่อย่อยสารประกอบคาร์โบไฮเดรท และโปรตีเอสเพื่อย่อยสลายโปรตีนของ ถั่วเหลืองซึ่งใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมงในขั้นตอนแรก และใช้เวลา 13 ชั่วโมงในขั้นตอนที่สอง ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละเอนไซม์ ปรุงแต่งกลิ่นรสไฮโดรไลเสทที่ได้ให้เป็นซอสปรุงรส พบว่าซอสที่ได้ให้รสชาติของซอสที่ดี ผู้บริโภคให้คะแนนในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก และตรวจวัดค่าปริมาณสาร 3-MCPD ได้ 3.99 ไมโครกรัม/กก. ซึ่งถือว่าต่ำกว่าที่มาตรฐานของประเทศไทยกำหนดไว้มาก คือ 1 มก./กก. จากข้อมูลนี้อาจดัดแปลงโดยการใช้เอนไซม์จากพืช เช่น เอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด เพื่อทำการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบได้ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

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 ตัวอย่างเห็ดสมุนไพรที่ใช้ เช่น เห็ดหอม เห็ดหลินจือ ไมตาเกะ (maitake) คอร์ดีเซพ (cordyceps) และเห็ดอื่น ๆ เห็ดสมุนไพรที่ใช้กันมานานและแพร่หลายมากที่สุดในประเทศจีนและญี่ปุ่นคือ เห็ดหลินจือ ซึ่งต่อมาประมาณปี ค.ศ.1960 ได้ขยายตลาดไปทางยุโรป และอเมริกา เห็ดสมุนไพรบางชนิดยังใช้เป็นอาหารด้วย เช่น เห็ดหอม

2.4.1 การจำแนกประเภทของเห็ด อาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามการใช้ประโยชน์ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548) คือ

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

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

วิจัยและพัฒนาอีกหลายชนิด นอกจากจะนำเห็ดเหล่านี้มาเป็นยาสมุนไพรได้แล้ว ยังอาจนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้อีกด้วย

2.4.2 คุณประโยชน์ของเห็ดเชิงโภชนาการ ด้านโภชนาการถือว่าเห็ดเป็นอาหารที่ดี 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 และ ไมตรี 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

ดังนั้นในปัจจุบันนี้จึงเป็นที่ยอมรับกันว่า เห็ดเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น ๆ อีกทั้งมีราคาถูก มีกลิ่นและรสดี มีความหลากหลายให้เลือกได้มาก เห็ดพื้นบ้านเช่น เห็ดโคน เห็ดเผาะ เห็ดไข่ห่าน และเห็ดเพาะเลี้ยงเช่น เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหอม จึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเพื่อสุขภาพเป็นแหล่งของโปรตีน และสารชูรสในอาหารมังสวิรัติและอาหารเจ รวมทั้งเป็นวัตถุดิบในการเตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมน้ำหนักหลายชนิด

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

2.5 ชีววิทยาและประวัติของเห็ดที่ใช้ในงานวิจัย

ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าเห็ดที่นิยมนำมาแปรรูปคือ เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะใช้เห็ดดังกล่าวเป็นวัตถุดิบในการทดลอง

2.5.1 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 ส่งขายที่ปากคลองตลาดและตลาดสี่มุมเมืองถึงวันละ 10 ตัน ส่วนในเทศกาลกินเจการผลิตจะเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว (กัญญาณัฐ ระวิงทอง, 2538)

2.5.2 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 ในอินเดียเป็นผู้นำเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดนางฟ้าไปฝากไว้ที่ American Type Culture Collection (ATCC) ในอเมริกาเมื่อปี ค.ศ. 1975 ต่อมาประมาณปี ค.ศ. 1977 ทางกองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร เป็นผู้นำเชื้อจาก ATCC เข้ามาประเทศไทยเพื่อทดลองเพาะปรากฏว่าสามารถเจริญได้ดี (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2545) ลักษณะของดอกเห็ดนางฟ้า มีลักษณะคล้ายกับดอกเห็ดเป๋าฮื้อ และดอกเห็ดนางรมสามารถเก็บรักษาในตู้เย็น

ได้นานหลายวัน เนื่องจากเห็ดชนิดนี้ไม่มีการหดตัวเหมือนกับเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้ามีรสอร่อย สามารถนำไปตากแห้ง เก็บไว้เป็นอาหารได้ เมื่อปรุงอาหารก็แช่น้ำเห็ดจะคืนรูปได้ (บรรณ บูรณะชนบท , 2545)

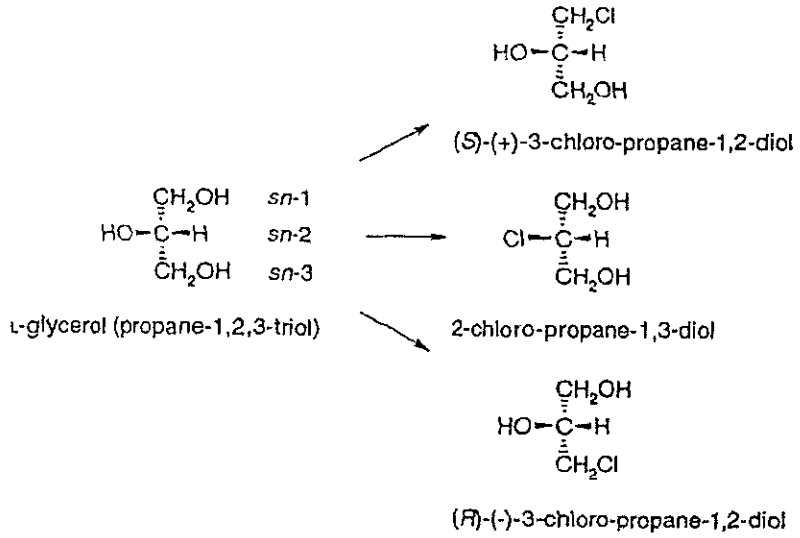
เห็ดทั้งสองชนิดจัดเป็นเห็ดที่อยู่ในสกุลเดียวกัน คือ เป็นเห็ดในตระกูลนางรม มีประโยชน์คือ จะมีส่วนประกอบของวิตามิน บี 1, บี 2 และมีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่หลายชนิด จะแตกต่างกันบ้างในเรื่องปริมาณที่มีอยู่ไม่เท่ากัน สำหรับเห็ดนางรมมีไอโซลิวซีน 266 มิลลิกรัม ทริปโตเฟน 87 มิลลิกรัม และวาลีน 291 มิลลิกรัม ตัวดอกเห็ดใช้บำบัดอาการปวดเอว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

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

2.6 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 จะเกิดกระบวนการคลอริเนชั่นของน้ำมันและไขมันที่เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในวัตถุดิบพืช 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)

2.6.1 ความเป็นพิษของสาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) สารกลุ่ม 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)

การศึกษาในสัตว์ทดลองระยะสั้น พบว่า สาร 3-MCPD มีพิษต่อไตจากการศึกษาในหนูที่ปริมาณ 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. น้ำหนักตัว 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)

การศึกษาในสัตว์ทดลองระยะยาว เป็นการศึกษาในหนู (rat) พบว่า เกิดผลการก่อมะเร็ง (carcinogenic effect) และอุบัติการณ์เกิดเนื้องอก (tumor) ในไตของหนูทั้งสองเพศ และเนื้องอกที่ลูก

อัณฑะ (testis) ต่อมน้ำนม (mammary gland) และต่อมพรีพิวเชียล (preputial gland) ของหนูตัวผู้ เมื่อได้รับสาร 3-MCPD ขนาด 1.1, 5.2 และ 28 มก./กก. น้ำหนักตัวต่อวัน ตามลำดับ ในน้ำดื่มเป็นเวลา 104 สัปดาห์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการตอบสนองของ target organ (ไต) หรือระดับฮอร์โมนถูกรบกวน (ความเป็นพิษที่ testis, mammary gland) (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

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)

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

2.6.2 ความเป็นพิษของสาร 1,3-dichloro-2-propanol (DCP) ในกระบวนการ การดูดซึม การกระจายตัว เมตาบอลิซึ่มและการขับถ่ายในร่างกาย ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของสาร DCP จะถูกขับถ่ายทางปัสสาวะในรูป β-chlorolactic acid บางส่วนถูกไฮโดรไลซ์เป็นสาร 3-MCPD และถูกขับถ่ายในรูปของ β-chlorolactic acid และต่อมากลายเป็น oxalic acid ในที่สุด (สถาบันอาหาร, 2548) ปริมาณที่เป็นพิษ Oral LD_{50} เท่ากับ 122 มก./กก. น้ำหนักตัว ในหนู (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

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

การศึกษาในมนุษย์ หลังจากรับประทานจะเกิดการระคายเคืองอย่างรุนแรงที่ลำคอและกระเพาะอาหาร

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 ดังนั้นจะคาดประมาณ

ได้ว่าถ้าในซอสถั่วเหลืองมีสาร 3-MCPD 18 มก./กก. ก็จะมีสาร DCP ประมาณ 0.9 มก./กก. (สถาบันอาหาร, 2545)

2.6.3 แหล่งอาหารที่อาจพบสาร 3-MCPD ผลิตภัณฑ์อาหารที่ปรากฏว่าพบการปนเปื้อนของสารกลุ่ม 3-MCPD มีดังต่อไปนี้

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)

ผลิตภัณฑ์ธัญชาติอบ ข้าวบาร์เลย์คั่วสำหรับทำเบียร์ (สีเข้ม) และอาหารบำรุงจากข้าวบาร์เลย์คั่ว ข้อมูลจากภาคอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์และข้าวบาร์เลย์คั่ว ทำให้ทราบว่าในผลิตภัณฑ์ธัญชาติอบและข้าวบาร์เลย์คั่ว (สีเข้ม) ที่ใช้เติมในเบียร์ดำและลาเกอร์เบียร์ (เบียร์ที่ไม่แรงนัก) เพื่อทำให้เกิดสีและเพิ่มกลิ่นรสนั้น พบว่ามีสาร 3-MCPD ปนเปื้อนในปริมาณ 0.3-0.4 มก./กก. ดังนั้นสารสกัดจากส่วนผสมดังกล่าวนี้ถ้าเติมในอาหารและเครื่องดื่มเพื่อเพิ่มกลิ่นรส 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

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

ซอสปรุงรสจากถั่วเหลือง ซึ่งผลิตในประเทศแถบตะวันออกไกลส่วนใหญ่มี 2 ชนิดได้แก่ ซอสจากถั่วเหลืองที่ผลิตโดยวิธีการหมักแบบดั้งเดิมซึ่งเป็นซอสที่มีรสชาติดี ส่วนอีกชนิดเป็นซอสจากถั่วเหลืองที่ผลิตโดยวิธีไฮโดรไลซ์โปรตีนในถั่วเหลืองด้วยกรด ซึ่งเป็นซอสที่มีรสชาติด้อยกว่าวิธี

แรก และการผลิตซอสวิธีหลังนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อนของสาร 3-MCPD ในระดับที่สูงอีกด้วย (Fromberg, 2002; Chung et al., 2002)

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

2.6.4 ข้อกำหนดปริมาณ 3-MCPD ของประเทศต่าง ๆ จากรายงานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2548) หลายประเทศได้กำหนดปริมาณที่อนุญาตให้มีสาร 3-MCPD ดังนี้

สหภาพยุโรป พบในอาหารได้ไม่เกิน 0.02 มก./กก. อังกฤษพบในอาหารได้ไม่เกิน 0.01 มก./กก. เนเธอร์แลนด์พบในอาหารได้ไม่เกิน 0.02 มก./กก. แคนาดาพบในอาหารได้ไม่เกิน 1 มก./กก. ฟินแลนด์ ออสเตรียพบในอาหารได้ไม่เกิน 1 มก./กก. สหรัฐอเมริกา พบใน acid-HVP ได้ไม่เกิน 1 มก./กก. สำหรับ 3-MCPD และ 0.05 มก./กก. สำหรับ 1,3-DCP ญี่ปุ่นยังไม่กำหนด ส่วน Codex ยังอยู่ในระหว่างการพิจารณา

บทที่ 3
การทดลองผลิตไฮโดรไลเสทจากเห็ดเบื้องต้น

3.1 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 กากถั่วเหลือง โดยมีสภาวะในการผลิตและคุณภาพที่ได้แตกต่างกันไปตามลักษณะแต่ละโรงงาน 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 เห็ดซึ่งเป็นที่นิยมและรู้จักกันดีของคนไทยในการทำเป็นอาหารเนิ่นนานแล้ว จากการวิเคราะห์ พบว่า เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผัก และเห็ดยังมีกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกันซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2539) และสามารถทดแทนโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ และยังใช้เห็ดบางชนิดเป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้อีกด้วย (ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์, 2548) นอกจากคนไทยจะบริโภคเห็ดแล้ว ชาวต่างชาติก็นิยมเช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่าปริมาณการส่งออกเห็ดของไทยปีละไม่ต่ำกว่า 7,000 ตัน มูลค่ากว่า 250 ล้านบาท (ปราโมทย์ จันทรัมพร, 2543) ในปัจจุบันมีการส่งเสริมจากทั้ง

รัฐบาลและเอกชนให้เกษตรกรเพาะเห็ดกันมากขึ้นตามลำดับ ทั้งยังเพาะกันได้ทุกฤดูกาลของประเทศ (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

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อคัดเลือกชนิดของเห็ดกินได้ที่ผลิตจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (มทส) และทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดโดยการย่อยด้วยกรดเกลือที่ใช้ผลิตซอสทางการค้าทั่วไป เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการทำวิจัยต่อไป

3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.3.1 วัตถุดิบ

ใช้เห็ดทั้งหมด 5 ชนิดประกอบด้วย เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singers) เห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) เห็ดหอม (*Lentinus edodes* (Berk.) Singers) และเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea* (Fr.) Singers) จากฟาร์มเห็ดมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา วิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแต่ละชนิด คัดเลือกชนิดที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรส

3.3.2 การเตรียมวัตถุดิบ

อบเห็ดที่คัดเลือกจากข้อ 3.3.1 ให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบระบบลมร้อน (TD 372, New Way Manufacturing Co., Ltd., Thailand) เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง จนเห็ดแห้งมีความชื้นประมาณ 4-6 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงบดให้ละเอียด สำหรับการผลิตซอสปรุงรสต่อไป

3.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (N×6.25) ด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt Vapodest 30, Germany) ปริมาณไขมัน ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขมัน (2050 Soxtec Auto Extraction unit, Sweden) และปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC (2000)

คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด โดยคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

3.3.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยกรดเกลือ

ชั่งเห็ดแห้ง 100 ± 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่ในฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร แต่ละฟลาสก์ เติมกรดเกลือ เข้มข้น 18, 20 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ด้วยอัตราส่วนปริมาณวัตถุดิบต่อกรดเกลือ คือ 1:1.5,

1:2 และ 1:2.5 (กรัม:มิลลิลิตร) ปิดจุกซึ่งทำด้วยสำลีหุ้มผ้าขาวบาง แล้วทำการย่อยในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 5 และ 6 ชั่วโมง ตามแต่ละชุดทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) จัดชุดทดลองเป็นแบบแฟกตอเรียล รวม 54 ชุดทดลอง ทำการทดลอง 2 ซ้ำในแต่ละชนิดของเห็ด หลังการย่อยปล่อยให้อุณหภูมิของไฮโดรไลเสทที่ได้ลดลงเหลือประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับ พีเอชโดยค่อย ๆ เติมโซเดียมคาร์บอเนตพร้อมกับคนจนวัดพีเอชได้ประมาณ 5.5 แล้วจึงกรองแยกกากออก ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (BUCHI B-169, Switzerland) และฆ่าเชื้อไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.3.5 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

คัดเลือกชุดทดลองที่เหมาะสมจากเห็ด 2 ชนิด โดยพิจารณาที่สภาวะที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เพื่อใช้ผลิตในขั้นตอนการปรุงรสต่อไป

3.3.6 การปรุงแต่งกลิ่นรสของซอส

บ่มไฮโดรไลเสทที่คัดเลือกได้จากกระบวนการผลิตโดยย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยกรดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน 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) ก่อนการประเมินทางประสาทสัมผัส เปรียบเทียบกับตัวอย่างไฮโดรไลเสทที่เตรียมเสร็จทันที และไฮโดรไลเสทที่บ่มเป็นเวลา 2 เดือนแต่ไม่มีการปรุงรส

3.3.7 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว 10 คน ใช้วิธี QDA (Quantitative Descriptive Analysis) โดยเสนอตัวอย่างให้ประเมินชุดละ 5 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยและ

จัดเรียงในถาดด้วยวิธีสุ่ม (Watts, Ylimaki and Elias, 1989) ให้ผู้ประเมินใช้ปลายช้อนแตะตัวอย่างชิมโดยตรง แล้วทำเครื่องหมายในแบบประเมินคุณภาพ

3.3.8 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 คุณภาพองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดวัตถุดิบ

คัดเลือกเห็ดที่มีปริมาณการผลิตค่อนข้างมากในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีขณะเริ่มการทดลอง 5 ชนิด ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น ดังแสดงดังตารางที่ 3.1 เมื่อพิจารณาที่ปริมาณโปรตีนของเห็ดแต่ละชนิด พบว่าเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนสูงสุดและมีค่าใกล้เคียงกันมาก โดยมีค่าเป็น 3.69 และ 3.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ เห็ดกระด้าง เห็ดฟาง และเห็ดหอม มีค่าเป็น 3.09, 2.85 และ 2.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกเห็ดที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสต่อไป คือ เห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า

เตรียมเห็ดแห้งเพื่อย่อยด้วยกรดเกลือต่อไป โดยทำการอบเห็ดให้แห้งและบดให้ละเอียดก่อนการย่อยด้วยกรดเกลือ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรม นางฟ้า และกระด้าง ที่ผ่านการอบให้แห้งแสดงดังตารางที่ 3.2 โดยเห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าเห็ดนางฟ้าเมื่อผ่านการอบให้แห้งแล้ว โดยมีค่าเป็น 19.39 และ 23.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเห็ดกระด้างมีโปรตีน 27.21 เปอร์เซ็นต์ ใช้เห็ดทั้ง 3 ชนิดผลิตไฮโดรไลเสท และปรุงรสเป็นซอสเพื่อศึกษาคุณภาพทางเคมี กายภาพ และประสาทสัมผัส

3.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

ปริมาณโปรตีน สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยกรดเกลือโดยพิจารณาความเข้มข้นของกรด อัตราส่วนเห็ดต่อกรด และเวลาในการย่อยแสดงดังตารางที่ 3.3 พิจารณาปริมาณโปรตีนที่ค่าความเข้มข้นกรดและอัตราส่วนเห็ดต่อกรดเดียวกัน แต่เวลาการย่อยต่างกัน พบว่า เมื่อเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นโดยมีค่าสูงสุดที่เวลาการย่อย 6 ชั่วโมงในไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด ($p<0.05$) พิจารณาที่อัตราส่วนเห็ดต่อกรดต่างกัน

ในแต่ละความเข้มข้นกรด พบว่าเมื่อปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ปริมาณกรดมากทำให้การเจือจางของวัตถุดิบมากขึ้นจากสารทำลายกรดที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณโปรตีนมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วน 1:1.5 (กรัม:มล.) ซึ่งการใช้วัตถุดิบต่อกรดเกลือที่อัตราส่วนนี้เป็นปริมาณกรดน้อยที่สุดที่จะทำให้สัมผัสกับวัตถุดิบได้ทั่วถึง ในขณะที่พิจารณาความเข้มข้นกรดเกลือต่างกัน ปริมาณโปรตีนมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นกรดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากที่ความเข้มข้นนี้มีความเหมาะสมเพียงพอต่อการย่อยโปรตีนในเห็ดแล้ว

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดชนิดต่าง ๆ (น้ำหนักสด)

ชนิดเห็ด	ความชื้น (%)	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)	ใยหยาบ (%)
เห็ดนางฟ้า	85.67 ± 0.47	3.35 ± 0.11	0.25 ± 0.02	0.91 ± 0.01	14.56 ± 0.46
เห็ดนางรม	85.63 ± 0.55	3.69 ± 0.05	1.35 ± 0.01	0.93 ± 0.01	17.47 ± 0.43
เห็ดหอม	88.98 ± 0.17	2.83 ± 0.05	0.13 ± 0.01	0.98 ± 0.00	10.16 ± 0.84
เห็ดกระด้าง	79.60 ± 0.75	3.09 ± 0.01	1.70 ± 0.14	0.85 ± 0.01	17.04 ± 0.46
เห็ดฟาง	89.67 ± 0.49	2.85 ± 0.05	1.34 ± 0.01	1.25 ± 0.01	16.67 ± 0.13

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าและเห็ดกระด้าง (น้ำหนักแห้ง)

Mushroom	Moisture (%)	Protein (%)
Nangroam	4.26 ± 0.10	23.83 ± 0.39
Nangpha	6.75 ± 0.10	19.39 ± 0.15
Kradang	8.58 ± 0.18	27.21 ± 0.09

ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนเป็นค่าที่คำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณ ฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย และมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสท คือ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลซ์มากขึ้นเมื่อปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ผลการวิเคราะห์อะมิโนแอซิดไนโตรเจนในไฮโดรไลเสทให้ผลในทำนองเดียวกับปริมาณโปรตีน ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3.4 พิจารณาที่เวลาย่อยต่างกัน ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า เมื่อเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสูงสุดที่เวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ($p<0.05$) ยกเว้นไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าที่อัตราส่วน 1:1.5 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ เวลาย่อย 6 ชั่วโมง มีปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนต่ำที่สุด ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากเวลาในการย่อยนานเกินไป ทำให้กรดอะมิโนบางชนิดถูกทำลายไป ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนจึงมีค่าลดลง ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ปริมาณกรดมากทำให้การเจือจางของวัตถุดิบมากขึ้นด้วยสารทำลายกรดที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณโปรตีนมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วน 1:1.5 (กรัม:มล.) ซึ่งการใช้วัตถุดิบต่อกรดเกลือที่อัตราส่วนนี้เป็นปริมาณกรดน้อยที่สุดที่จะทำให้สัมผัสกับวัตถุดิบได้ทั่วถึง ในขณะที่พิจารณาความเข้มข้นกรดเกลือต่างกัน ปริมาณโปรตีนมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นกรดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้พิจารณาได้ว่ากรดเกลือที่ความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์จึงควรเป็นความเข้มข้นที่ความเหมาะสมสำหรับการย่อยโปรตีนในเห็ด

เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นกรดต่างกัน แต่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อกรดเกลือและเวลาย่อยเดียวกัน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงว่าความเข้มข้นของกรดไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน

ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ ปริมาณเกลือที่เกิดขึ้นจะเกิดจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างกรดเกลือและโซเดียมคาร์บอเนตในขั้นตอนการปรับ pH ดังสมการ (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535)

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

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ในโปรตีนไฮโดรไลเสท แสดงดังตารางที่ 3.5 พิจารณาที่เวลาย่อยต่างกัน ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อความเข้มข้นและปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่าเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วน 1:2.5 (กรัม:มล.) และความเข้มข้นกรดเกลือ 22 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณกรดที่มากจำเป็นต้องใช้ด่างในการปรับ pH มาก ทำให้เกิดเกลือโซเดียมคลอไรด์มากนั่นเอง

ตารางที่ 3.3 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือที่สภาวะต่าง ๆ

Conc. HCl	ratio	Nangroam			Nangpha		
		4 hrs.	5 hrs.	6 hrs.	4 hrs.	5 hrs.	6 hrs.
18 %	1:1.5	5.96 ± 0.02 a[1], C[2]	6.74 ± 0.04 a, B	6.92 ± 0.08 a, A	6.72 ± 0.08 a, C	7.42 ± 0.31 b, B	8.05 ± 0.10 a, A
	1:2	5.24 ± 0.01 d, C	5.53 ± 0.03 d, B	6.14 ± 0.02 d, A	6.07 ± 0.04 d, C	6.67 ± 0.16 c, B	7.17 ± 0.27 c, A
	1:2.5	4.51 ± 0.02 g, C	4.93 ± 0.04 g, B	5.10 ± 0.02 g, A	5.46 ± 0.07 f, B	6.09 ± 0.18 e, A	6.00 ± 0.07 f, A
20%	1:1.5	5.83 ± 0.04 b, C	6.56 ± 0.02 b, B	6.67 ± 0.03 b, A	6.45 ± 0.06 b, B	8.00 ± 0.31 a, A	7.78 ± 0.22 b, A
	1:2	5.06 ± 0.02 e, B	5.40 ± 0.05 e, A	5.46 ± 0.04 e, A	5.80 ± 0.16 e, C	6.18 ± 0.28 de, B	6.76 ± 0.07 d, A
	1:2.5	4.22 ± 0.06 h, B	4.72 ± 0.02 h, A	4.75 ± 0.01 h, A	5.26 ± 0.06 g, B	5.33 ± 0.10 f, A	6.29 ± 0.09 e, A
22%	1:1.5	5.71 ± 0.02 c, C	6.46 ± 0.03 c, A	6.36 ± 0.02 c, B	6.27 ± 0.05 c, B	7.72 ± 0.16 ab, A	7.82 ± 0.05 b, A
	1:2	4.84 ± 0.02 f, C	5.31 ± 0.02 f, B	5.36 ± 0.01 f, A	5.68 ± 0.08 e, B	6.45 ± 0.16 cd, A	6.60 ± 0.19 d, A
	1:2.5	4.15 ± 0.09 i, C	4.26 ± 0.01 i, B	4.62 ± 0.01 i, A	5.02 ± 0.13 h, C	5.46 ± 0.24 f, B	6.00 ± 0.06 f, A

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

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

ตารางที่ 3.4 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือที่สภาวะต่าง ๆ

Conc. HCl	ratio	Nangroam			Nangpha		
		4 hrs.	5 hrs.	6 hrs.	4 hrs.	5 hrs.	6 hrs.
18 %	1:1.5	9.51 ± 0.22 b[1], C[2]	10.87 ± 0.10 a, B	11.47 ± 0.04 a, A	11.69 ± 0.19 a, A	11.72 ± 1.27 ab, A	8.05 ± 0.10 d, B
	1:2	8.13 ± 0.15 d, C	9.82 ± 0.07 b, B	10.08 ± 0.05 b, A	9.15 ± 0.77 b, B	10.60 ± 0.42 bc, A	10.61 ± 0.55 b, A
	1:2.5	6.91 ± 0.35 f, B	8.82 ± 0.13 d, A	9.10 ± 0.07 c, A	8.17 ± 0.61 c, B	9.32 ± 0.28 de, A	9.54 ± 0.39 c, A
20%	1:1.5	9.71 ± 0.28 b, C	10.84 ± 0.06 a, B	11.46 ± 0.03 a, A	11.36 ± 0.41 a, A	11.67 ± 0.84 ab, A	12.22 ± 0.59 a, A
	1:2	8.48 ± 0.14 c, C	9.56 ± 0.11 c, B	10.11 ± 0.12 b, A	9.01 ± 0.78 bc, B	9.99 ± 0.83 cd, AB	10.32 ± 0.32 b, A
	1:2.5	7.66 ± 0.13 e, C	8.71 ± 0.18 d, B	9.01 ± 0.05 c, A	8.36 ± 0.57 bc, B	8.42 ± 0.14 e, B	9.51 ± 0.39 c, A
22%	1:1.5	10.26 ± 0.22 a, C	10.76 ± 0.10 a, B	11.48 ± 0.07 a, A	11.71 ± 0.62 a, A	11.92 ± 1.24 a, A	12.19 ± 0.29 a, A
	1:2	8.59 ± 0.29 c, B	9.78 ± 0.05 b, A	10.05 ± 0.10 b, A	9.20 ± 0.42 b, B	10.22 ± 0.73 cd, A	10.15 ± 0.45 b, A
	1:2.5	7.06 ± 0.22 f, C	8.48 ± 0.05 e, B	9.04 ± 0.05 c, A	8.36 ± 0.59 bc, A	8.41 ± 0.31 e, A	9.00 ± 0.08 c, A

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

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

ตารางที่ 3.5 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยด้วยกรดเกลือที่สภาวะต่าง ๆ

Conc. HCl	ratio	Nangroam			Nangpha		
		4 hrs.	5 hrs.	6 hrs.	4 hrs.	5 hrs.	6 hrs.
18 %	1:1.5	208.88 ± 0.54i[(1)], A[(2)]	206.52 ± 1.40h, B	206.95 ± 0.61i, B	209.46 ± 3.48i, A	207.04 ± 0.56h, A	209.18 ± 1.24g, A
	1:2	231.69 ± 0.47f, A	230.70 ± 0.28e, B	227.44 ± 0.73f, C	232.14 ± 1.73f, A	226.81 ± 2.57e, B	234.93 ± 2.16d, A
	1:2.5	243.37 ± 0.77c, A	243.88 ± 1.99c, A	242.46 ± 0.46c, A	250.79 ± 1.23c, A	238.15 ± 0.99c, B	249.35 ± 1.74b, A
20%	1:1.5	215.09 ± 0.53h, B	211.34 ± 0.12g, C	218.00 ± 0.49h, A	214.10 ± 1.27h, B	211.41 ± 0.29g, B	220.10 ± 3.81f, A
	1:2	237.50 ± 0.85e, A	237.35 ± 4.23d, A	238.07 ± 0.28e, A	236.00 ± 2.98e, A	235.68 ± 1.74c, A	235.91 ± 1.48d, A
	1:2.5	247.14 ± 0.28b, C	249.63 ± 0.61b, B	248.27 ± 0.28b, A	255.48 ± 1.49b, A	247.02 ± 1.71b, C	252.43 ± 1.65b, B
22%	1:1.5	221.63 ± 0.54g, B	222.14 ± 1.11f, AB	223.25 ± 0.12g, A	220.13 ± 2.27g, B	216.35 ± 1.29f, C	226.25 ± 2.56e, A
	1:2	240.56 ± 0.45d, A	238.92 ± 0.55d, B	241.05 ± 0.74d, A	245.64 ± 0.85d, A	231.47 ± 2.25d, C	241.37 ± 1.67c, B
	1:2.5	253.86 ± 0.48a, A	252.81 ± 0.33a, B	254.03 ± 0.28a, A	260.52 ± 4.60a, A	254.14 ± 2.70a, B	259.70 ± 3.90a, AB

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

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

3.4.3 คุณภาพทางเคมี กายภาพและทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ด

เพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเสท เพื่อประโยชน์การใช้เป็นซอสเห็ดปรุงรสต่อไป จึงได้เลือกสภาวะการผลิตโดยการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือที่สภาะที่ได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อัตราส่วนวัตถุดิบต่อกรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลาการย่อย 6 ชั่วโมง โดยใช้เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดกระด้างเป็นวัตถุดิบ (ตารางที่ 3.2)

คุณภาพทางเคมี และกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ด ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไฮโดรไลเสทที่ผลิตจากเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดกระด้าง แสดงดังตารางที่ 3.6 เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมพบว่า ความถ่วงจำเพาะของไฮโดรไลเสทจากเห็ดมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.232-1.238

ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดกระด้างมีค่าสูงที่สุด เป็น 9.17 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนในเห็ดเริ่มต้นสูงที่สุดนั่นเอง (ตารางที่ 3.2) ซึ่งค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนดไว้มาก รองลงมาคือ ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม มีค่า 7.21 และ 6.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน ซึ่งปริมาณโปรตีนและอะมิโนแอซิดไนโตรเจนจากการทดลองนี้มีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมมาก (มอก., 2539) ทั้งนี้อาจเนื่องจากองค์ประกอบของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นมีปริมาณโปรตีนต่ำ (ตารางที่ 3.2) รวมทั้งเห็ดโดยทั่วไปจะมีคาร์โบไฮเดรททั้งหมดและใยอาหารเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มาก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณโปรตีนและอะมิโนแอซิดไนโตรเจนน้อย

ตารางที่ 3.6 คุณภาพทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสทจากเห็ด ผลิตโดยย่อยด้วยกรดเกลือ 18 เปอร์เซนต์ ภายใต้ความดันสูง นาน 6 ชั่วโมง

Quality/Composition	Nangroam	Nangpha	Kradang	TISI 8-2539[1]
Specific gravity (g/L)	1.232	1.237	1.238	1.240
Protein (%)	6.12	7.21	9.17	10
Amino acid nitrogen (g/L)	7.90	8.98	9.92	20.0
Sodium chloride (g/L)	202.60	219.77	213.53	200-230
Formaldehyde nitrogen (g/L)	11.83	10.31	13.22	-
Ammoniacal nitrogen (g/L)	2.85	2.48	3.30	-

[1] TISI 8-2539 Thai Industrial Standard Institute, Ministry of Industry

ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ของไฮโดรไลเสทจากเห็ด พบว่า มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ซึ่งจากปริมาณโซเดียมคลอไรด์จัดว่ามีค่าปานกลาง โดยมีค่าสูงสุดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า รองลงมาคือ เห็ดกระด้าง และเห็ดนางรม มีค่าเป็น 219.77, 213.53 และ 202.60 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

คุณภาพทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสทจากเห็ด ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสทที่ผลิตจากเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดกระด้าง โดยประเมินคุณภาพตัวอย่างที่ไม่ผ่านการบ่ม และบ่มเป็นเวลา 2 เดือน แสดงในตารางที่ 3.7 และ 3.8 พบว่า สีของไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีคะแนนค่อนข้างสูง และมีคะแนนสูงกว่าไฮโดรไลเสทจากเห็ดกระด้างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับคะแนนความพอใจในกลิ่น รสอร่อย และการยอมรับรวม ในขณะที่ไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสามชนิดมีคะแนนกลิ่นผิดปกติ รสเค็ม รสหวาน กลิ่นรสผิดปกติไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เป็นที่น่าสังเกตว่าทั้งกลิ่นและรสของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ดกระด้างมีมากกว่าไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า แต่เมื่อผ่านการบ่มระยะหนึ่งแล้วกลิ่นรสของเห็ดกระด้างดีขึ้น อย่างไรก็ตามการยอมรับรวมของผู้ประเมินที่มีต่อไฮโดรไลเสทจากเห็ดกระด้างต่ำกว่าการยอมรับที่มีต่อผลิตภัณฑ์จากเห็ดนางรมและนางฟ้า

ตารางที่ 3.7 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยภายใต้ความดันสูง ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลา 6 ชั่วโมง ไม่ผ่านการบ่ม

Attribute	Nangroam	Nangpha	Kradang
1. Appearance			
Color	7.67 a[(1)]	7.23 a	2.41 b
2. Aroma			
Pleasant odor	6.35 a	6.49 a	3.23 b
Off-odor	2.19 a	1.80 a	3.14 a
3. Flavor			
Salty	7.52 a	7.06 a	6.44 a
Sweet	1.37 a	1.51 a	1.80 a
Umami	5.32 a	5.54 a	3.23 b
Off-flavor	2.10 a	2.03 a	3.62 a
Aftertaste	5.79 a	5.41 a	4.87 a
Overall acceptance	5.78 a	5.77 a	3.64 b

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

ตารางที่ 3.8 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของไฮโดรไลเสทจากเห็ดย่อยภายใต้ความดันสูง ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลา 6 ชั่วโมง ผ่านการบ่ม 2 เดือน

Attribute	Nangroam	Nangpha	Kradang
1. Appearance			
Color	7.49 a	6.83 a	5.07 b
2. Aroma			
Pleasant odor	6.93 a	5.84 ab	5.14 b
Off-odor	1.23 a	2.33 a	2.93 a
3. Flavor			
Salty	7.75 a	7.28 a	7.53 a
Sweet	1.46 a	2.28 a	1.49 a
Umami	4.58 ab	5.60 a	3.27 b
Off-flavor	2.03 a	2.29 a	3.59 a
Aftertaste	4.96 a	5.68 a	5.92 a
Overall acceptance	4.83 ab	5.85 a	3.27 b

3.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสเห็ดปรุงรส

หลังจากบ่มโปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นเวลา 2 เดือน แล้วปรุงรสด้วยน้ำตาล 4 ระดับ คือ 3, 5, 7 และ 9 เปอร์เซ็นต์ หลังจากประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ประเมินแล้ว พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดทั้งสามชนิดมีคะแนนสี ความชอบ กลิ่นผิดปกติ รสเค็ม รสหวาน รสอร่อย กลิ่นรสผิดปกติ และการยอมรับรวม ไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกระดับน้ำตาล ($p>0.05$) (ตารางที่ 3.9) โดยในกรณีซอสปรุงรสจากเห็ดกระด้างมีแนวโน้มของคะแนนรสอร่อยและการยอมรับรวมสูงขึ้นเมื่อผ่านการปรุงรสแล้ว ในขณะที่ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีแนวโน้มคะแนนการยอมรับรวมไม่ต่างกันทั้งก่อนและหลังปรุงรส

3.4.5 ปริมาณสาร 3-MCPD

เนื่องจากระหว่างการทดลองวิจัยเพื่อผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดที่มีการเพาะในฟาร์ม มทส. ได้มีการเปิดเผยการค้นพบว่ามีการปนเปื้อนสารกลุ่ม 3-MCPD ในซอสปรุงรสที่ผลิตโดยกระบวนการย่อยด้วยกรดเกลือในระดับที่ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารปนเปื้อนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยการย่อย

เห็ดด้วยกรดเกลือ จึงทำการผลิตตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม นางฟ้า และกระด้างย่อยเห็ดภายใต้ความดันสูง ด้วยกรดที่สภาวะที่ให้ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทสูงที่สุด คือที่ความเข้มข้นกรด 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อัตราส่วนวัตถุดิบต่อกรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลาการย่อย 6 ชั่วโมง ส่งตัวอย่างไฮโดรไลเสทวิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MCPD ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จากการวิเคราะห์ปริมาณ 3-MCPD พบว่า ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมมีปริมาณ 3-MCPD สูงที่สุด รองลงมาคือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดกระด้าง โดยมีค่าเป็น 495.89, 313.39 และ 299.40 มก./กก. ตามลำดับ ซึ่งจากข้อกำหนดของปริมาณ 3-MCPD ในประเทศไทย คือ ไม่เกิน 1 มก./กก. จะเห็นได้ว่าปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดเห็ดนางรม นางฟ้า และกระด้างมีค่าเกินกว่าข้อกำหนดสูงมาก ซึ่งสาเหตุน่าจะมาจากการที่ไขมันในเห็ดทำปฏิกิริยากับคลอไรด์อิออนในกรดเกลือภายใต้สภาวะความดันและอุณหภูมิสูง (สถาบันอาหาร, 2545) นั่นเอง ดังนั้นหากพิจารณาถึงปริมาณ 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดที่ผลิตจากกระบวนการนี้จึงไม่เหมาะสมต่อการนำมาบริโภค โดยวิธีการที่จะลดการเกิดสาร 3-MCPD ตามที่กระทรวงสาธารณสุขได้แนะนำไว้มีหลายแนวทาง เช่น การลดอุณหภูมิในการย่อยหรือย่อยโดยปราศจากความดัน การปรับลดปริมาณและความเข้มข้นของกรดที่ใช้ การใช้ด่างหรือเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบแทนการใช้กรดเกลือ เป็นต้น

3.5 สรุปผลการทดลอง

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเพื่อผลิตเป็นซอสปรุงรสต่อไป คือ ที่สภาวะการย่อยในหม้อนึ่งความดันอัตราส่วนกรดต่อวัตถุดิบ 1:1.5 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 6.92 และ 8.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่า 11.47 และ 8.05 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า 206.95 และ 209.24 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในไฮโดรไลเสทจากเห็ดได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ ปริมาณโปรตีน และปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ที่กำหนดโดย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเสท และซอสปรุงรสจากเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดกระด้าง พบว่าไฮโดรไลเสท และซอสปรุงรสจากเห็ดแต่ละชนิดมีคะแนนสี ความชอบ กลิ่นผิดปกติ รสเค็ม รสหวาน รสอร่อย กลิ่นรสผิดปกติ และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกระดับน้ำตาล ($p>0.05$) และการบ่มทั้งไฮโดรไลเสท ก่อนการปรุงรสเป็นซอสเห็ด จะได้น้ำซอสที่มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภคมากขึ้น

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าและเห็ดกระด้าง ปรากฏว่ามีปริมาณสูงมาก เป็น 495.89, 313.39 และ 299.40 มก./กก. ตามลำดับ และเกินมาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ดังนั้นการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ดชนิดต่าง ๆ ด้วยกรดเกลือภายใต้ความดันสูงเพื่อใช้ปรุงรสเป็นซอสเห็ดปรุงรสจึงไม่เหมาะสม และควรต้องทดลองหาวิธีการผลิตที่ทำให้มีการปนเปื้อนด้วยสารกลุ่ม 3-MCPD ในซอสลดลงให้มากที่สุดและอยู่ในเกณฑ์กำหนดที่อนุญาตให้มีได้

ตารางที่ 3.9 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดผ่านการบ่ม 2 เดือน ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทภายใต้ความดัน ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ 1:1.5 (กรัม:มล.) เวลา 6 ชั่วโมง

Attribute	Level of sugar (%)											
	Nangroam				Nangpha				Kradang			
	3%	5%	7%	9%	3%	5%	7%	9%	3%	5%	7%	9%
Color	7.20 a[1]	7.13 a	7.23 a	7.35 a	6.87 a	7.10 a	6.90 a	6.69 a	3.84 a	4.05 a	3.84 a	3.66 a
Pleasant odor	5.75 a	6.58 a	6.37 a	7.24 a	6.83 a	5.73 a	6.68 a	6.25 a	5.61 a	5.83 a	5.48 a	5.65 a
Off-odor	1.39 a	1.57 a	1.00 a	0.85 a	1.21 a	1.23 a	1.08 a	1.37 a	1.00 a	0.96 a	0.90 a	1.34 a
Salty	7.61 a	7.67 a	6.94 a	7.35 a	7.63 a	7.44 a	7.35 a	6.72 a	7.26 a	7.02 a	6.62 a	6.69 a
Sweet	1.88 a	2.15 a	2.07 a	2.39 a	1.91 a	2.18 a	2.31 a	3.47 a	1.56 a	2.09 a	2.31 a	2.26 a
Umami	4.93 a	5.08 a	5.58 a	6.07 a	5.29 a	5.41 a	5.04 a	6.31 a	4.54 a	4.76 a	4.63 a	5.13 a
Off-flavor	1.04 a	1.20 a	2.14 a	1.39 a	1.10 a	1.19 a	1.23 a	0.79 a	1.29 a	1.81 a	2.37 a	1.66 a
Aftertaste	5.63 a	5.49 a	6.15 a	6.00 a	5.38 a	5.39 a	5.19 a	4.77 a	5.66 a	5.67 a	5.12 a	5.90 a
Overall acceptance	5.42 a	5.76 a	6.01 a	6.15 a	5.71 a	5.70 a	5.44 a	6.81 a	4.88 a	4.85 a	4.97 a	5.15 a

[1] ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบเฉพาะในชนิดของเห็ด

บทที่ 4
การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยกรดและไม่ใช้ความดัน

4.1 บทนำ

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) จากสาเหตุดังกล่าวหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งภาครัฐและเอกชนจึงได้มีการพยายามหาวิธีผลิตเพื่อจะลดปริมาณสาร 3-MCPD ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส วิธีหนึ่งที่น่าสนใจคือ การย่อยสลายวัตถุดิบด้วยกรดเกลือภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันต่ำ

4.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม โดยการย่อยด้วยกรดเกลือที่สภาวะอุณหภูมิต่ำและไม่ใช้ความดัน เพื่อผลิตซอสปรุงรส 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 แล้วจึงบดให้ละเอียดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสต่อไป

4.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน (Kjeldahl Method, N x 6.25) ไขมัน เถ้า โดยวิธี AOAC (2000) คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมดจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

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

4.3.3 การย่อยโปรตีนจากเห็ดด้วยกรดเกลือ

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 ซึ่งจะมีผลให้ของเหลวพ่นออกตามฟองและป้องกันมิให้ โซเดียมคาร์บอเนตจับตัวกันเป็นก้อนและช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดได้ดี จนวัดพีเอชได้ประมาณ 5.5 แล้วจึงกรองแยกกากออก ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (BUCHI B-169, Switzerland) และฆ่าเชื้อไฮโดรไลเสทที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

วิเคราะห์คุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสท

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) โดยคำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย

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

คัดเลือกชุดทดลองที่เหมาะสม 2 ชุดการทดลอง โดยพิจารณาที่สภาวะที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เพื่อใช้ผลิตในขั้นตอนการปรุงรสต่อไป

4.3.4 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

4. 3.5 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

4.3.6 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

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

4.3.7 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) พบว่าความชื้นในเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าน้อยมากคือ 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 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (น้ำหนักแห้ง)

Composition (%)	Nangroam	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

4.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยกรดเกลือและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

ปริมาณโปรตีน สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยกรดเกลือ โดยพิจารณาความเข้มข้นของกรด เวลา และอุณหภูมิในการย่อยแสดงในตารางที่ 4.2 ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทจัดเป็นปัจจัยสำคัญในการใช้คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอสปรุงรสต่อไป

ตารางที่ 4.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ

Time (h.)	Temp. (°C)	Nangroam		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 ($p<0.05$)

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 ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) สรุปได้ว่า ปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นเป็นผลจากอุณหภูมิในการย่อยเพิ่มขึ้นมากกว่าการเพิ่มเวลาการย่อย โดยปริมาณโปรตีนสูงที่สุดในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า คือ ที่สภาวะความเข้มกรดเกลือ 22 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และที่สภาวะความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อ

พิจารณาที่ความเข้มข้นของกรดเกลือ 18 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า พบว่า ค่าปริมาณโปรตีนสูงที่สุดมีค่าเป็น 4.95, 5.21 เปอร์เซ็นต์ และ 6.26, 6.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่ออุณหภูมิและเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากกระบวนการย่อยด้วยกรดพร้อมทั้งให้ความร้อนจะทำให้โปรตีนในเห็ดเสียสภาพและเกิดการคลายตัว ดังนั้นจึงง่ายต่อการย่อยสลายด้วยสภาวะนี้ อีกทั้งเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาให้มากขึ้น จะมีผลในการเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสกันระหว่างกรดกับโปรตีนที่มีอยู่ในเห็ดให้มากยิ่งขึ้นด้วย ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นนั่นเอง โดยทั่วไปการย่อยวัตถุดิบด้วยกรดพร้อมกับให้ความร้อนจะทำให้องค์ประกอบต่าง ๆ ภายในวัตถุดิบถูกสลายพันธะโดยมีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และไขมัน การย่อยโปรตีนในผลิตภัณฑ์ประเภทนี้จัดเป็นการย่อยเพียงบางส่วน (partial acid hydrolysis) เท่านั้น ซึ่งแสดงความจำเพาะในการสลายพันธะเปปไทด์ในโมเลกุลของโปรตีน (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนระหว่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด พบว่า ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้า เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นในวัตถุดิบต่ำกว่านั่นเอง นอกจากนี้ประเด็นที่น่าพิจารณา คือ เห็ดนางรมประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรทและใยอาหารโภชนาในปริมาณที่มากกว่าเห็ดนางฟ้ามาก (ตารางที่ 4.1) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้อาจจะมีส่วนในการเกิดโครงสร้างที่ซับซ้อนและยึดกับโปรตีน ทำให้เกิดการย่อยสลายด้วยกรดและความร้อนเป็นไปได้ยากและได้ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสทน้อยกว่า

ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนเป็นค่าที่คำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย และมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสท คือ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลซ์มากขึ้นเมื่อปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ผลการวิเคราะห์อะมิโนแอซิดไนโตรเจนในไฮโดรไลเสทแสดงในตารางที่ 4.3 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 ($p>0.05$) การที่ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีแนวโน้มลดลง อาจเนื่องจากการเพิ่มเวลาให้นานขึ้น จะทำให้อะมิโนแอซิดบางตัวถูกทำลายไปได้ทำให้ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนลดลงนั่นเอง (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) Fountoulakis และ Lahm (1998) กล่าวว่ากระบวนการย่อยโปรตีนด้วยกรดเกลือนั้น จะทำให้กรดอะมิโนชนิดทริปโตเฟนและซีสตีนถูกทำลายได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่กรดอะมิโนบางชนิดจะถูกทำลายบางส่วน ทำให้มีปริมาณลดลง 5-10 เปอร์เซ็นต์ เช่น ไทโรซีน ซีรีน และทรีโอนีน

ตารางที่ 4.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ

Time (h.)	Temp. (°C)	Nangroam		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 ($p<0.05$)

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

ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ เกลือที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตซอส จะเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างคลอไรด์ในกรดเกลือกับโซเดียมคาร์บอเนตที่ใช้ในขั้นตอนการปรับพีเอช ดังสมการ (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535)

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

ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่เกิดขึ้นนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดเกลือที่ใช้ในกระบวนการผลิต และค่าพีเอชที่ต้องการจะปรับให้มีความเป็นกลาง (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2534) ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์แสดงดังตารางที่ 4.4 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 4.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อัตราส่วนเห็ด:กรดเกลือ คือ 1:3 (กรัม:มล.) ที่สภาวะต่าง ๆ

Time (h.)	Temp. (°C)	Nangroam		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 ($p<0.05$)

เมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่า เวลาและอุณหภูมิในการย่อยเพิ่มขึ้น ปริมาณเกลือมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากกรดเกลือเป็นกรดแก่ซึ่งสามารถแตกตัวได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการให้ความร้อนที่

อุณหภูมิสูงขึ้นจะสามารถแตกตัวได้มากขึ้น เมื่อมีการปรับพีเอชให้เป็นกลางจึงเกิดปฏิกิริยากลายเป็นเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้มากขึ้นนั่นเอง นอกจากนี้การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานานในระบบเปิดจะทำให้ได้ปริมาตรไฮโดรไลเสทน้อยกว่าการย่อยที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นปริมาณเกลือที่เกิดขึ้นจึงมีความเข้มข้นสูงกว่าไฮโดรไลเสทที่ย่อยในสภาวะอุณหภูมิต่ำและใช้เวลาในการย่อยน้อยกว่า

4.4.3 ปริมาณสาร 3-MCPD ในโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเห็ด

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 4.5 พบว่า พิจารณาที่อุณหภูมิเดียวกัน (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 อุณหภูมิรองลงมาคือ เวลาในการย่อยนั่นเอง ซึ่งที่สภาวะการย่อยนาน 12 ชั่วโมงและ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณ 3-MCPD ต่ำที่สุด คือ 17.72 มก./กก. ดังนั้นวิธีการที่จะลดปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทเห็ดให้ต่ำลงเท่ากับปริมาณที่กำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข โดยกระบวนการย่อยด้วยกรดเกลือคงเป็นไปได้ยาก เนื่องจากแม้ว่าจะใช้ความร้อนต่ำถึง 80 องศาเซลเซียสแล้ว แต่ยังเกิดสาร 3-MCPD ในปริมาณสูงกว่าที่กำหนด เนื่องจากในวัตถุดิบคือ เห็ดมีไขมันเป็นองค์ประกอบ

แม้กระบวนการนี้จะไม่ใช้ความดันในการเกิดปฏิกิริยาแต่เป็นกระบวนการย่อยด้วยกรดและให้ความร้อนจึงยังทำให้เกิดกระบวนการคลอริเนชั่น อันเนื่องมาจากปริมาณไขมันในเห็ดและสารคลอไรด์จากกรดเกลือ จากข้อกำหนดของปริมาณ 3-MCPD ในประเทศไทย คือ ไม่เกิน 1 มก./กก. จะเห็นได้ว่าปริมาณสาร 3-MCPD ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม ยังคงมีค่าเกินกว่าข้อกำหนด แต่เนื่องจากปริมาณการบริโภคของคนไทยที่มีต่อซอสปรุงรสยังถือว่ามีการบริโภคต่อ

วันไม่มากนักถึงจะบริโภคเป็นประจำก็ตาม โดยจากการสำรวจพบว่า มีปริมาณ 150 ไมโครกรัม/คน/วัน ซึ่งระดับที่ทำให้เกิดพิษได้ในมนุษย์จะต้องบริโภค 1 มิลลิกรัม/คน/วัน (สถาบันอาหาร, 2545) ดังนั้นวิธีการป้องกันก็คือ ลดการบริโภคซอสปรุงรสให้น้อยลง

ตารางที่ 4.5 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

4.4.4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า แสดงดังตารางที่ 4.6 และ 4.7 เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมพบว่า ค่าพีเอช ก่อนการปรุงรสมีค่า 5.22 เมื่อบ่มและปรุงรสแล้ว พีเอชมีค่าค่อนข้างคงที่ โดยมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย คือ มีค่า 5.19-5.20 ซึ่งถือว่ายังอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม Yong และ Wood (1976) พบว่า ในการหมักซีอิ๊วในขั้นโมโรมิ แม้แต่การหมักที่ปราศจากจุลินทรีย์ 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 4.1) ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนก่อน ปรุงรส (5.11 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าหลังปรุงรสเล็กน้อย เช่นเดียวกับซอสปรุงรสจากเห็ดนางฟ้าที่มีปริมาณโปรตีนก่อนปรุงรส (6.21 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าหลังปรุงรสเพียงเล็กน้อย ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน ซึ่งปริมาณโปรตีนและอะมิโนแอซิดไนโตรเจนจากการทดลองนี้มีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก., 2539) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก

องค์ประกอบของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น (ตารางที่ 4.1) 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 ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณโปรตีนและอะมิโนแอซิดไนโตรเจนน้อย 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

4.4.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยกรดเกลือความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับซอสทางการค้ายี่ห้อ "ภูเขาทอง" ซึ่งเป็นซอสที่ผลิตด้วยกระบวนการย่อยด้วยกรดเช่นเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 4.8 และ 4.9 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)

ตารางที่ 4.6 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 4.7 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

ตารางที่ 4.8 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่อัตราส่วนเห็ด: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 acceptance	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

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 ซอสภูเขาทองมีกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavor) มากที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับซอสปรุงรสจากเห็ดที่ความเข้มข้นน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) ซอสเห็ดปรุงรสมีกลิ่น

รสของเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติทุกระดับน้ำตาล ($p>0.05$) แต่ไม่พบกลิ่นรสเห็ดในซอสปรุงรสจากถั่วเหลือง แสดงว่าผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสที่ได้มีกลิ่นรสของเห็ดที่ผู้ประเมินให้การยอมรับและจัดเป็นกลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามคะแนนการยอมรับรวมของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า และซอสทางการค้า ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาเฉพาะซอสเห็ดปรุงรสแต่ละชนิดพบว่า ที่การปรุงรสด้วยน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ ได้รับคะแนนการยอมรับรวมสูงที่สุด มีค่าเป็น 5.65 และ 5.41 ตามลำดับ และค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันซอสทางการค้ามาก (5.43)

ตารางที่ 4.9 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 acceptance	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

4.5 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 และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตัวอย่างทางการค้า และการปรุงรสด้วยน้ำตาลที่มีคะแนนการยอมรับรวมสูงสุด คือ ระดับการเติมน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะอย่างชัดเจนและผู้ประเมินสามารถให้การยอมรับได้โดยมีค่าของกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์น้อยกว่าในผลิตภัณฑ์ทางการค้าและแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 5
การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยด่าง

5.1 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 ผลิตภัณฑ์อาหารที่จำหน่ายตามท้องตลาด มีสาร 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) โดยทั่วไปกระบวนการย่อยด้วยด่างนิยมใช้ในการย่อยสลายซากสัตว์ เพื่อเปลี่ยนซากให้อยู่ในรูปของสารละลายที่ประกอบไปด้วยผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายต่าง ๆ เช่น กรดอะมิโน เปปไทด์สายสั้นและน้ำตาล เป็นต้น (Waste Reduction by Waste Reduction, Inc., 2004) นอกจากนี้ Usman, Ibiyemi, Oluwaniyi and Ameen (2003) ศึกษาการลดปริมาณสารพิษประเภทไกลโคไซด์ (glycosides) ซึ่งทำให้เกิดรสขมในพืชตระกูลเมล็ดสายพันธุ์ *Thevetia peruviana* โดยย่อยด้วยกรดเกลือและด่าง 2 ชนิด คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่า การย่อยสลายด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ และ 0.5 โมลาร์ จะสามารถทำลายสารพิษได้อย่างสมบูรณ์

5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม โดยการย่อยด้วยด่างที่สภาวะอุณหภูมิสูงและใช้ความดัน เพื่อผลิตซอสเห็ดปรุงรส ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตร และได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

5.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

5.3.1 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

5.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน (N×6.25) ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC (2000) คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมดจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

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

5.3.3 การย่อยสลายโปรตีนจากเห็ดด้วยด่าง

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 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตามแต่ละชุด

ทดลอง 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

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

5.3.4 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

5.3.5 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและกายภาพผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสหลังบ่ม

ทำการวิเคราะห์ซอสปรุงรสหลังบ่มนาน 1 เดือน เช่นเดียวกับในข้อ 5.3.3.2 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

5.3.6 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

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

5.3.7 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

ผลการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบคือ เห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (ตารางที่ 5.1) พบว่าความชื้นในเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าน้อยมากคือ 4.67 และ 5.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าปริมาณโปรตีน 21.34 และ 18.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งในเห็ดทั้งสองชนิดนี้มีค่าปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน โดยเห็ดนางรมจะมีปริมาณมากกว่า เนื่องจากเห็ดทั้งสองชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกัน (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2545) เมื่อพิจารณาที่ค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด 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 5.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (น้ำหนักแห้ง)

Compositions (%)	Nangroam	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

5.4.2 สภาวะการย่อยเห็ดด้วยด่างและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

ปริมาณโปรตีน สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยพิจารณาความเข้มข้นของด่าง และอัตราส่วนเห็ดต่อด่างในการย่อยแสดงดังตารางที่ 5.2 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

ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนเป็นค่าที่คำนวณจากผลต่างระหว่างปริมาณฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนเฉลี่ยและปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจนเฉลี่ย และมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสท คือ กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลซ์มากขึ้นเมื่อปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ผลการวิเคราะห์อะมิโนแอซิดไนโตรเจนในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าแสดงดังตารางที่ 5.3 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 5.2 ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	Nangroam	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 ($p<0.05$)

ตารางที่ 5.3 ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	Nangroam	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 ($p<0.05$)

ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ เนื่องจากกระบวนการย่อยด้วยด่างเป็นกระบวนการย้อนกลับของการผลิตซอสปรุงรสโดยทั่วไป เกลือที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตซอสย่อยด้วยด่างน่าจะเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์กับคลอไรด์ในกรดเกลือที่ใช้ในขั้นตอนการปรับพีเอช ดังสมการ

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

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าแสดงดังตารางที่ 5.4 พบว่า พิจารณาที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่างเพิ่มขึ้น ปริมาณเกลือจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ($p<0.05$) เช่นเดียวกับเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของด่างที่ความเข้มข้น 6 โมลาร์ จะมีค่าสูงกว่าความเข้มข้น 5 โมลาร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่เมื่อใช้อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 6 โมลาร์ ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณเกลือสูงสุด เป็น 170.99 และ 164.88 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในขั้นตอนการปรับพีเอชต้องใช้ปริมาณกรดเกลือสูงมากกว่าไฮโดรไลเสทที่ได้จากสภาวะอื่น ๆ ทำให้เกิดเป็นเกลือได้มากดังสมการข้างต้น

ตารางที่ 5.4 ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม/ลิตร) ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยด่างที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 3 ชั่วโมง

Ratio (g:mL)	Conc. (M)	Nangroam	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 ($p<0.05$)

5.4.3 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 ใช้ตัวอย่างเห็ด

นางรมเพียงชนิดเดียว เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงและเห็ดทั้งสองชนิดมีค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียงกันมาก (ตารางที่ 4.1) ปริมาณสาร 3-MCPD แสดงดังตารางที่ 5.5 พบว่า ตัวอย่างไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมไม่พบสาร 3-MCPD ทั้งนี้อาจสันนิษฐานได้ว่า กระบวนการย่อยด้วยด่างแม้จะเป็นการย่อยภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงและใช้ความดัน แต่จะไม่เกิดปฏิกิริยา chlorination ของสาร 3-MCPD ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาของสาร 3-MCPD อาจเกิดที่ภายใต้สภาวะการย่อยด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้นและอุณหภูมิสูง ขณะเดียวกันนั้นจะเกิดกระบวนการ chlorination ของน้ำมันและไขมันที่เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในวัตถุดิบกับกรดเกลือทำให้เกิดสารปนเปื้อน3-MCPD ขึ้น (Chung, Hui and Chen, 2002; Hamlet et al., 2002; Lee et al., 2004; คณะกรรมการอาหารและยา, 2546) กระบวนการย่อยด้วยด่างในขั้นตอนการให้ความร้อนไม่มีคลอไรด์อิออนอันเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาดังกล่าว จึงน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ไม่พบปริมาณ 3-MCPD

ตารางที่ 5.5 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) รายงานว่าการเพิ่มความเป็นด่างโดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในโปรตีนจากพืชที่ถูกย่อยแล้วจนมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 8.5 แล้วให้ความร้อนจนที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จะลดสาร 3-MCPD ลงได้เหลือต่ำกว่า 10 ส่วนต่อพันล้านส่วน (ppb) แต่มีข้อเสียคือ จะสูญเสียกลิ่นรสอาหารไปบางส่วน

5.4.4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก., 2539) (ตารางที่ 5.6) พบว่า ค่าพีเอช ก่อนการปรุงรสมีค่าประมาณ 5.81-5.93 เมื่อบ่มและปรุงรสแล้ว พีเอชมีค่าค่อนข้างคงที่โดยมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย คือ มีค่า 5.78-5.90 ซึ่งถือว่ายังอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ความถ่วงจำเพาะที่วัดได้มีค่าไม่แตกต่างกันทั้งก่อนและหลังปรุงรส ซึ่งความถ่วงจำเพาะมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.116-1.122 ค่าสีเป็นค่าที่ได้จากการเจือจางตัวอย่าง 5 เท่าด้วยน้ำ แล้วจึงทำการวัดค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer พบว่า มีค่าลดลงตามการเพิ่มปริมาณด่าง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อมีปริมาณด่างมากจำเป็นต้องใช้กรดในการปรับพีเอชมากตามไปด้วย ค่าสีหลังการบ่มและปรุงรสแล้วมีค่าลดลงใน แต่ละระดับปริมาณด่าง วิเชียร ลีลาวัชรมาศ (2534) กล่าวว่า ในระหว่างการบ่มซอสจะเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ ทำให้กลิ่นรสของน้ำซอสดีขึ้นและในช่วงนี้จะมีการตกตะกอนของสารประกอบสีน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้ซอสปรุงรสมีความใสมากขึ้น

ปริมาณโปรตีนในเห็ดนางรมก่อนปรุงรสมากกว่าหลังปรุงรสเล็กน้อย โดยมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2 (กรัม:มล.) มีค่าก่อนและหลังปรุงรสเป็น 4.73 และ 4.42 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ 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 5.6 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสเห็ดนางรมย่อยที่สภาวะความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 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

5.4.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมย่อยด้วยด่าง อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:2, 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นด่าง 5 และ 6 โมลาร์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แสดงในตารางที่ 5.7 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) และจากผงชูรสที่เติมไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสมีกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavor) ไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกับกลิ่นเห็ดในผลิตภัณฑ์ ($p>0.05$) ซึ่งผู้ประเมินสามารถรับได้แต่มีค่าค่อนข้างต่ำคือประมาณ 1.04-1.56 ทั้งนี้อาจเนื่องจากการย่อยด้วยด่างเป็นการย่อยที่ทำให้กลิ่นรสของอาหารสูญเสียไปบางส่วน (สถาบันอาหาร, 2545) รสขมของผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสไม่แตกต่างกัน

ทางสถิติ ($p>0.05$) 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) พิจารณาคะแนนการยอมรับรวมของไฮโดรไลเสทมีค่าน้อยกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาเฉพาะซอสปรุงรส พบว่า ซอสผลิตจากอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:4 (กรัม:มล.) มีคะแนนสูงที่สุดเป็น 4.35 แต่ไม่แตกต่างกับซอสที่ผลิตจากอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 (กรัม:มล.)

ตารางที่ 5.7 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 acceptance	2.33 d	3.16 bcd	2.91 cd	3.60 bc	3.97 ab	4.35 a

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

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

บทที่ 6
การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์

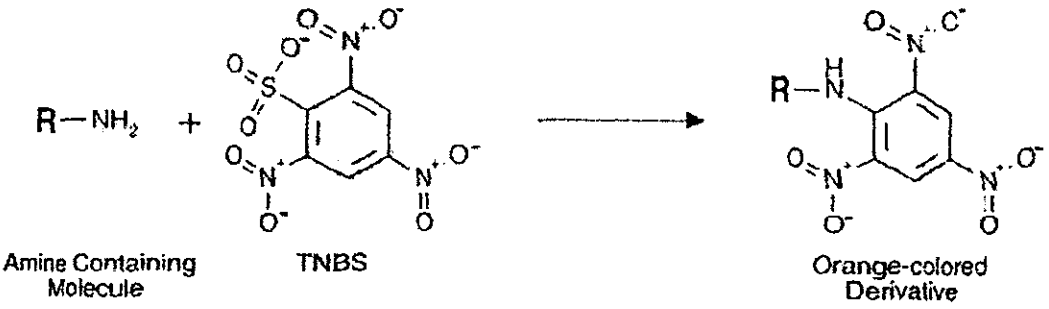
6.1 บทนำ

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 ได้ผลิตภัณฑ์ที่ให้สีเหลืองและ

สามารถวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงได้ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (Adler-Nissen, 1979) ดังภาพที่ 6.1



ภาพที่ 6.1 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 หันพงศ์กิตติกุล (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 มีระดับการย่อยสลายสูงสุดเท่ากับ 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 เมื่อทดสอบรสขมพบว่า ไฮโดรไลเสทจากการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีรสขมน้อยกว่าแคฟฟีอีน ความเข้มข้น 1 ส่วนในล้านส่วน ที่ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ

6.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากเห็ดต่าง ๆ คือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดนางรม โดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า 2 ชนิดเพื่อผลิตซอสปรุงรส ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าให้วัตถุดิบทางการเกษตรและได้ข้อมูลเพื่อเป็นพื้นฐานในการทำวิจัยต่อไป

6.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

6.3.1 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) และแป้งมันสำปะหลัง ดัดแปรชนิด hydroxypropyl-crosslink ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สงวนวงษ์ อุตสาหกรรม (จำกัด) จ.นครราชสีมา

6.3.2 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

6.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้นของเห็ดแห้ง

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน (N×6.25) ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC (2000) คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมดจากผลต่างของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างกับองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

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

6.3.4 การย่อยสลายโปรตีนจากเห็ดด้วยเอนไซม์

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

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

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 คนตัวอย่างระหว่างการย่อยสลายทุก 30 นาที เก็บตัวอย่างระหว่างการย่อยสลายทุก 1 ชั่วโมง นำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ หาระดับการย่อยสลายด้วยวิธี TNBS (Trinitrobenzenesulfonic acid) พิจารณาจากปริมาณ

เอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายที่ให้ค่า DH สูงที่สุด ทำการทดลอง 2 ซ้ำ คัดเลือกเอนไซม์และสภาวะที่มีค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดเพื่อทำการปรุงรสต่อไป

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

6.3.5 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

6.3.6 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและกายภาพผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสหลังบ่ม

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

6.3.7 ประเมินคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส

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

6.3.8 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

6.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

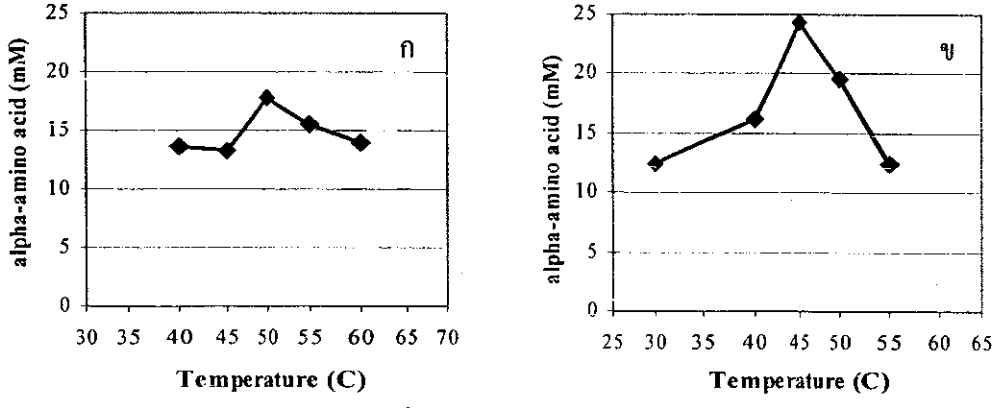
6.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบได้ผลเช่นเดียวกับตาราง 4.1 (บทที่ 4) 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

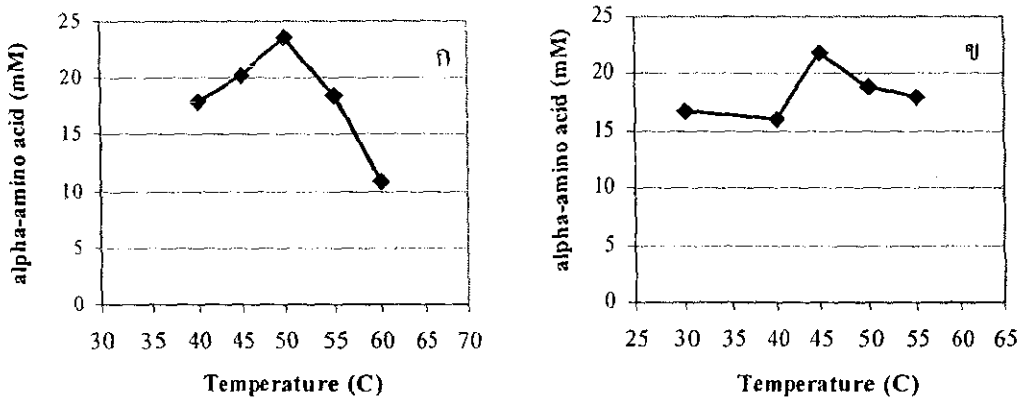
ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากเห็ดประกอบด้วยใยอาหารหยาบเป็นองค์ประกอบหลัก โดยเฉพาะสารประกอบประเภท β-glucan และไคติน (Zhang, Cheung and Zhang, 2001)

6.4.2 สภาวะอุณหภูมิการย่อยของเอนไซม์

ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยโปรตีนจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วย เอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® แสดงดังภาพที่ 6.2 และ 6.3 พบว่า กรณีของเอนไซม์ Flavourzyme® เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมากกว่า 50 องศาเซลเซียส ปริมาณแอล-อะมิโนมีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่เอนไซม์ Neutrase® ปริมาณแอล-อะมิโนมีค่าใกล้เคียงกันมากที่ช่วงอุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส หลังจากนี้ค่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าลดลง แสดงว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จัดว่าเป็นเอนไซม์ที่ทำงานได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิไม่สูงนัก คือในช่วง 40-55 องศาเซลเซียส จากกราฟแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® คือ ที่ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การศึกษาของ Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยเศษปลา Pacific whiting ด้วยเอนไซม์ Neutrase® คือ ที่ 55 องศาเซลเซียส ขณะที่อัญชลี สาระโบก และอรัญ หันพงศ์กิตติกุล (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 6.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ในการย่อยเห็ดนางรมที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

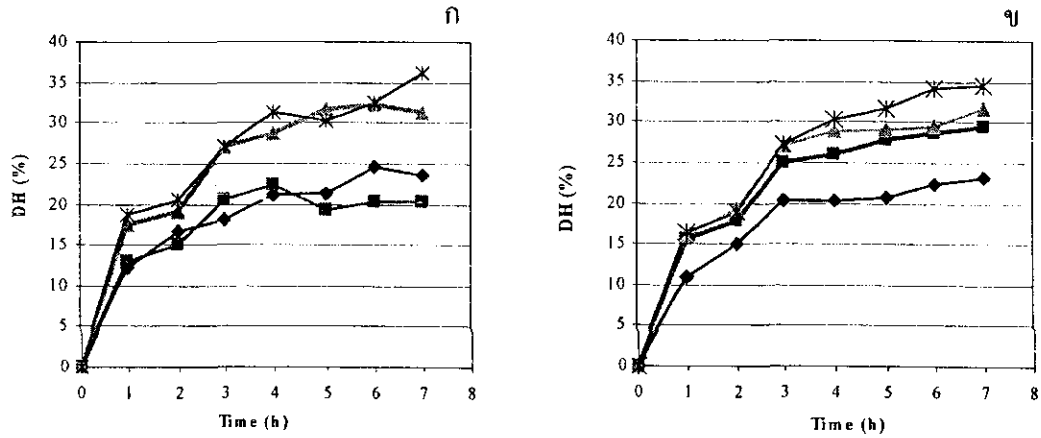


ภาพที่ 6.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ในการย่อยเห็ดนางฟ้าที่สภาวะอัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.) พีเอชเริ่มต้น 6.5 ความเข้มข้นเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

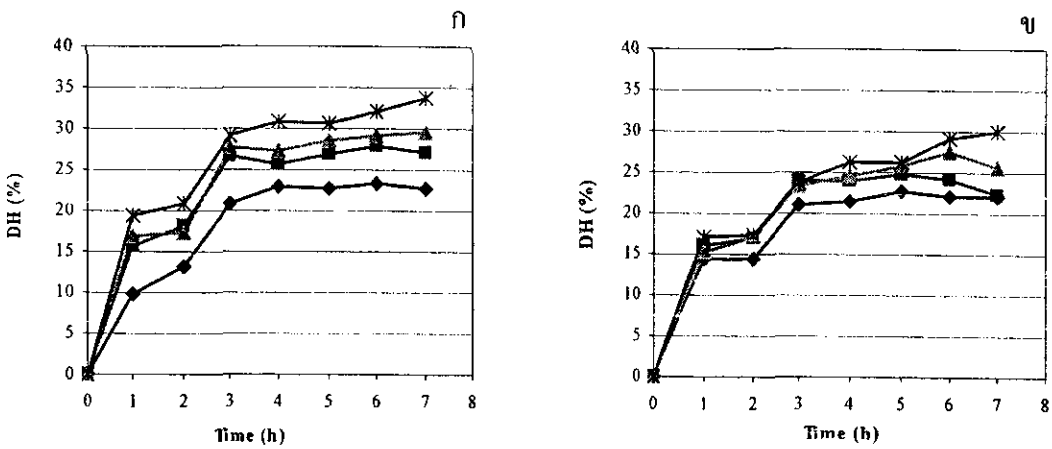
6.4.3 ปริมาณเอนไซม์ในการย่อยเห็ดและคุณภาพของไฮโดรไลเสท

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 6.4 และ 6.5 ตามลำดับ พบว่า ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ความเข้มข้น 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายใกล้เคียงกัน ในขณะที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุด ไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® และ Neutrase® ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุด พิจารณาระดับการย่อยสลายในไฮโดรไลเสทจากเห็ดทั้งสองชนิด พบว่าจะมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วที่ช่วงเวลาย่อย 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

เนื่องจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยสลายสูงสุดและยังมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการย่อยนานขึ้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาย่อยเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าที่เวลา 0-24 ชั่วโมง โดยใช้เพียงเอนไซม์ Flavourzyme® ชนิดเดียวที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ผลแสดงดังรูปที่ 6.6 พบว่า กราฟแสดงกิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ Flavourzyme® ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม



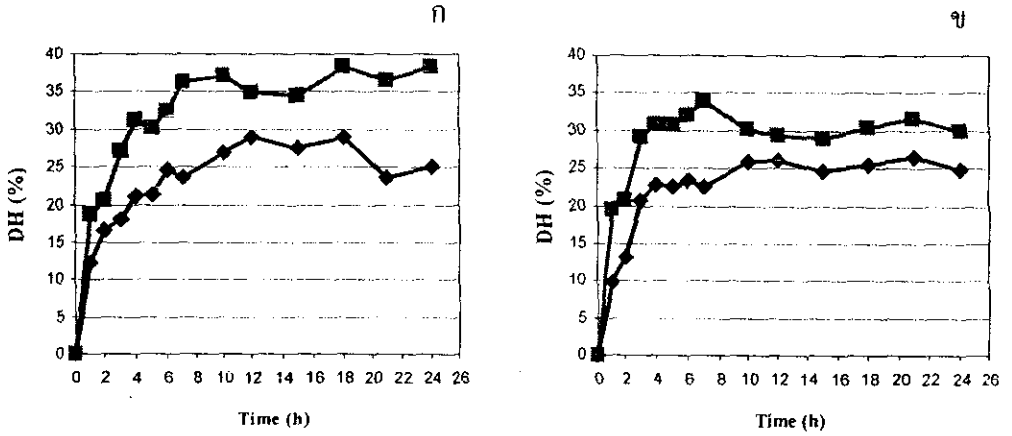
ภาพที่ 6.4 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® (ก) และ Neutrase® (ข) ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เวลาการย่อย 0-7 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.); โดย ◆ คือ 0%, ■ คือ 1%, ▲ คือ 2% และ ✳ คือ 2.5%



ภาพที่ 6.5 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%

เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นระดับการย่อยสลายมีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางฟ้าจะมีค่าระดับการย่อยสลายลดลงเมื่อเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น แสดงว่าระดับการย่อยสลายของ

เอนไซม์จะมีค่าคงที่ภายหลังจากใช้เวลาย่อย 7 ชั่วโมงในเห็ดทั้งสองชนิด กราฟแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ที่ให้ผลในทำนองเดียวกันนี้ เช่น การย่อยเศษกุ้งด้วยเอนไซม์โปรตีเอสชอบด่าง (alkaline protease) (Beak and Cadwallader, 1995) และการย่อยเศษปลาที่เหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ (Benjakul and Morrissey, 1997) เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสับสเตรทที่เอนไซม์สามารถย่อยได้ (available substrate) ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปเอนไซม์จะถูกดูดซับในส่วนโปรตีนที่ละลายได้อย่างรวดเร็ว จากนั้นจะตัดพันธะเปปไทด์ระหว่างสายโมเลกุลโปรตีนที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ ส่วนโปรตีนที่เกาะกันด้วยพันธะเปปไทด์อย่างแข็งแรงจะถูกตัดด้วยอัตราที่ช้าจนไม่สามารถตัดได้ในที่สุด ซึ่งอัตราในการตัดพันธะเปปไทด์นี้จะเป็นตัวควบคุมอัตราการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมด (Archer, Ragnarsson, Tannenbaum and Wang, 1973)



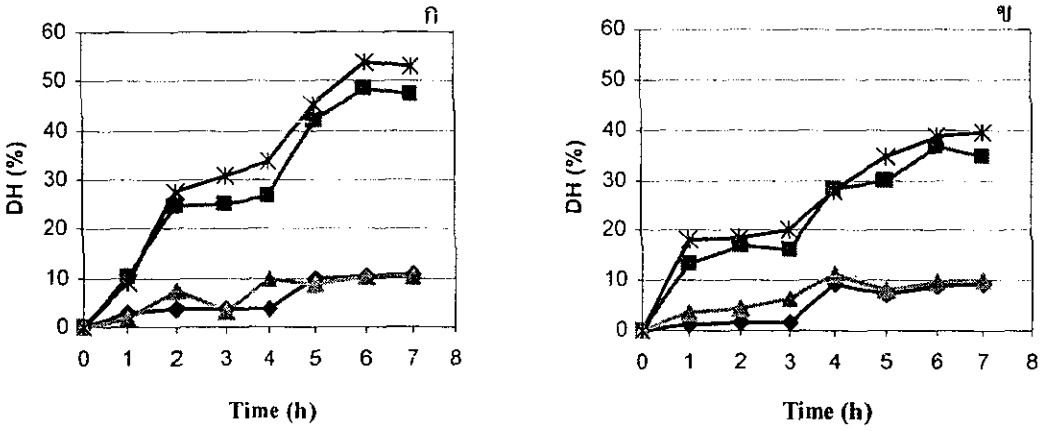
ภาพที่ 6.6 ระดับการย่อยสลายในเห็ดนางรม (ก) และเห็ดนางฟ้า (ข) ด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาการย่อย 0-24 ชั่วโมง ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) อัตราส่วนเห็ดต่อน้ำ 1:5 (กรัม:มล.); โดย ◆ คือ 0% และ ■ คือ 2.5%

6.4.4 โปรตีนไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®

ผลการให้ความร้อนสูงภายใต้ความดันก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์

เนื่องจากการย่อยด้วยเอนไซม์ข้างต้น พบว่า ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทั้งสองชนิดยังมีค่าค่อนข้างต่ำ สันนิษฐานว่าอาจเนื่องจากโปรตีนที่เอนไซม์โปรตีเอสทางการค้าทั้งสองชนิดสามารถย่อยได้ (available protein) นั้นอยู่ในรูปเชิงซ้อนกับสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรทซึ่งมีมากในเห็ด จึงทำให้การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์เป็นไปได้ยาก นอกจากนี้ปริมาณไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยก็มีปริมาณน้อยมาก ดังนั้นจึงทำการศึกษาโดยการให้ความร้อนภายใต้ความดันสูงกับเห็ดก่อนแล้วจึงย่อยด้วยเอนไซม์ โดยย่อยเห็ดนางรมด้วยหม้อนึ่งความดันเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ก่อนการเติมเอนไซม์ ความเข้มข้นที่ศึกษาได้คือ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 6.7 พบว่า

เปรียบเทียบกับการทดลองข้างต้น ระดับการย่อยสลายมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการให้ความร้อนแก่เห็ดก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะทำให้โปรตีนในส่วนที่ยึดกับโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรทเกิดการคลายตัวและมีความสามารถในการละลายได้มากขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายโปรตีนเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ พบว่า เวลาการให้ความร้อนก่อนเติมเอนไซม์ 10 นาที มีระดับการย่อยสลายไม่แตกต่างทางสถิติกับการให้ความร้อน 30 นาที ($p>0.05$) โดยระดับการย่อยสลายสูงสุดเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® เป็นเวลา 6 ชั่วโมงมีค่า 53.91 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 6.7 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)

6.4.5 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสเห็ดปรุงรส

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme® 2.5 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับซอสเห็ดปรุงรสเห็ดหอมชนิดข้นทางการค้ายี่ห้อ "เด็กสมบูรณ์" แสดงดังตารางที่ 6.1 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 ซอส ปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนสูงกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) 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 6.1 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า

	Nangroam	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-สี

เขียว และค่า b หมายถึง สีเหลือง-สีน้ำเงิน พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดที่ผลิตได้และซอสทางการค้ามีค่าความสว่าง (L) ใกล้เคียงกันมาก ($p>0.05$) โดยมีค่าเป็น 37.55, 36.78 และ 37.37 ตามลำดับ

6.4.6 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ด

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสที่ผลิตจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมน้ำอัตราส่วน 1:5 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับซอสทางการค้ายี่ห้อ "เด็กสมบูรณ์" ซึ่งเป็นซอสที่ใช้วัตถุดิบเป็นเห็ดเช่นเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 6.2 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 และไพราซีน (Anslyng, Elmore and Motham, 1998)

การประเมินคุณภาพกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนความหวาน ความเค็ม รสอร่อย (umami) และ กลิ่นรสผิดปกติ (off-flavor) ของซอสปรุงรสจากเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติกับซอสทางการค้า ($p>0.05$) จะเห็นได้ว่ากลิ่นรสอร่อย (umami) ของผลิตภัณฑ์ซอสเห็ด ปรุงรสผู้ประเมินให้คะแนนอยู่ในระดับปานกลางคือ 5.30 และ 5.31 ตามลำดับ กลิ่นรสอร่อยเกิดจากกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำซอสปรุงรส เช่น กรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติก ซึ่งเป็นสารประเภทที่ให้กลิ่นรสคล้ายผงชูรส (monosodium glutamate-like, MSG-like) (Mau, Lin, Ma and Song, 2001) และจากผงชูรสที่เติมในส่วนผสม ซอสเห็ดปรุงรสมีกลิ่นรสของเห็ดแตกต่างกันทางสถิติกับซอสทางการค้า

($p<0.05$) โดยมีคะแนนมากกว่าถึง 3 เท่า แสดงว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ให้กลิ่นเห็ดอย่างชัดเจน รสขมในซอสเห็ดปรุงรสมีคะแนนต่ำมากคือ 0.29 และ 0.37 ตามลำดับ ผู้ประเมินให้คะแนนน้อยกว่าตัวอย่างทางการค้าแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 6.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันและย่อยด้วย Flavourzyme®

	Nangroam	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 acceptance	5.19 a	5.15 a	6.56 a

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

[2]Commercial sauce หมายถึง ซอสปรุงรสชนิดข้นตราเด็กสมบูรณ์

โดยทั่วไปในกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์หากระดับในการย่อยสลายไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดรสขมอันเนื่องมาจากการย่อยที่ไม่สมบูรณ์ได้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ และหมู่ของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น วาลีน เฟนีลอะลานีน ไทโรซีน และทริปโทเฟน เป็นต้น แต่เอนไซม์ Flavourzyme® มีคุณสมบัติเป็นทั้งแบบ endo- และ exopeptidases ทำให้โอกาสในการเกิดรสขมเป็นไปได้น้อยนั่นเอง (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) อย่างไรก็ตามคะแนนการยอมรับรวมของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า (5.19 และ 5.15 ตามลำดับ) และซอสทางการค้า (6.56) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ซอสเห็ดปรุงรสมีค่าน้อยกว่าเพียงเล็กน้อย แสดงว่าซอสปรุงรสจากเห็ดมีกลิ่นรสเห็ดที่เป็นเอกลักษณ์และมีความเด่นชัดที่ผู้ประเมินให้การยอมรับได้

6.5 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 และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และไม่ต่างจากตัวอย่างทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะสูงกว่าตัวอย่างทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าผู้ประเมินสามารถให้การยอมรับกลิ่นเห็ดที่มีในผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสนี้ได้

บทที่ 7

สรุปผลการทดลอง

สภาวะการย่อยโปรตีนในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าด้วยกรดภายใต้สภาวะความดันสูงที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเพื่อผลิตเป็นซอสปรุงรส คือ ที่อัตราส่วนกรดต่อวัตถุดิบ 1:1.5 (กรัม:มล.) ความเข้มข้นกรดเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 6.92 และ 8.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่า 11.47 และ 8.05 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า 206.95 และ 209.24 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ปริมาณสาร 3-MCPD วิเคราะห์ในไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าและเห็ดกระด้างมีค่าสูงมาก เป็น 495.89, 313.39 และ 299.40 มก./กก. ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในไฮโดรไลเสทจากเห็ด ได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ ปริมาณโปรตีน และปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสปรุงรสจากเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าและเห็ดกระด้าง พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดแต่ละชนิดมีคะแนนสี ความชอบ กลิ่นผิดปกติ รสเค็ม รสหวาน รสอร่อย กลิ่นรสผิดปกติ และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกระดับน้ำตาล ($p>0.05$)

กระบวนการย่อยด้วยกรดโดยไม่ใช้ความดัน 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-MCPD 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 และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตัวอย่างทางการค้า และการปรุงรสด้วยน้ำตาลที่มีการยอมรับรวมสูงสุด 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-MCPD เฉพาะไฮโดรไลเสทจากเห็ดนางรมอัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 1:3 และ 1:4 (กรัม:มล.) พบว่า ไม่พบสารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสปรุงรส ได้แก่ ความถ่วงจำเพาะ ปริมาณโปรตีน ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน และปริมาณเกลือมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของซอสปรุงรส ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในไฮโดรไลเสทและซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมที่ทุกระดับปริมาณด่างและความเข้มข้นด่าง 5 โมลาร์ พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความชอบ กลิ่นรสผิดปกติ กลิ่นเห็ดและรสขมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับไฮโดรไลเสท แต่มีค่าความหวานและความเค็มต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปรุงรสด้วยระดับน้ำตาล 9 เปอร์เซ็นต์ ค่าการยอมรับรวมสูงสุดที่อัตราส่วนเห็ดต่อด่าง 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 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในซอสเห็ดปรุงรสได้แก่ พีเอช ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม ในขณะที่ปริมาณโปรตีน ไนโตรเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจน และความหนืดมีค่ามากกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมีสี ความหนืด ความเค็ม ความหวาน รสอร่อย รสขม และการยอมรับรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับตัวอย่างทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะสูงกว่าตัวอย่างทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าผู้ประเมินสามารถให้การยอมรับกลิ่นเห็ดที่มีในผลิตภัณฑ์ซอสเห็ดปรุงรสนี้ได้

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.** สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

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

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

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.

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

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

พนที. (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.

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.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Adler-Nissen J. (1986). **Enzymatic 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.

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.

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.

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). Servey of 3-chloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) in selected food groups, **Food Addit. Contam.** 19: 22-27.

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.

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.

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

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

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

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

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.

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.

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 nutural killer cell activity. **Toxicity**. 204: 1-11.

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.

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

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.

Pierce Chemical Company. (1999). **Instructions TNBS** [On-line]. Available: 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.

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

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. (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.

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., 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.

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.

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ นางสาว กนกอร นามสกุล อินทราพิเชฐ
2. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
3. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 044 22 4265
โทรสาร 044 22 4387

4. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2515 ปริญญาตรี วทบ. (วิทยาศาสตร์การอาหาร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสาตร์
พ.ศ. 2518 ปริญญาโท MS (Food Science) California State University, Fresno, USA
พ.ศ. 2533 ปริญญาเอก Ph.D. (Food Science) University of Missouri, Columbia, USA

5. สาขาวิชาที่มีความชำนาญการ

Food Chemistry (Food Flavor) and Meat Science