

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

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

ผลิตซอสเห็ดปรุงรสจากไฮโดรไลเซสย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง และไฮโดรไลเซสเห็ดนางรมย่อยด้วยต่าง 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 ซอสปรุงรสจากไฮโดรไลเซสย่อยด้วยกรด ปรุงรสด้วยน้ำตาลปริมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนคุณลักษณะรวมมากที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) กับซอสปรุงรสทางการค้า ซึ่งซอสที่ได้มีกลิ่นของเห็ดอย่างชัดเจน และพบว่าซอสเห็ดปรุงรสจากไฮโดรไลเซสที่ย่อยด้วยต่าง 5 โมลาร์ อัตราส่วน 1:4 (กรัม:มิลลิลิตร) มีคะแนนคุณลักษณะรวมมากที่สุด

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

เวลา 10 นาทีกับเห็ดก่อนเติมเอนไซม์ ได้ไฮโครไลสเสทที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุดที่เวลาย่อย 6 ชั่วโมง เป็น 53.91 เปอร์เซ็นต์

ผลิตซอสเห็ดปรุงรสแบบข้นโดยเติมแป้งคัดแปรจากไฮโครไลสเสทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ อยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มอก. 1317-2538) และมีปริมาณโปรตีน ในไฮโครเจนทั้งหมด อะมิโนแอซิดไนโตรเจนสูงกว่าซอสเห็ดปรุงรสทางการค้า ( $p < 0.05$ ) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอสเห็ดปรุงรสด้วยวิธี QDA พบว่า ซอสปรุงรสจากเห็ดมี สี ความหนืด ความเต็ม ความหวาน รสอโรย รสขม และคุณลักษณะรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) กับซอสทางการค้า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นเห็ดสูงกว่าซอสทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และไฮโครไลสเสทจาก กระบวนการย่อยด้วยกรด ค่าง และเอนไซม์ที่สภาวะต่างกัน ด้วยวิธี High-performance liquid chromatography พบว่า ในเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้ามีปริมาณกรดอะมิโนชนิดกรดกลูตามิก มากที่สุด (500.62 และ 422.17 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ) ไฮโครไลสเสทย่อยด้วยกรด เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นทำให้แอสพาราจินหายไป ในขณะที่ไฮโครไลสเสทจากเห็ดนางฟ้าย่อยด้วยค่างและ ไฮโครไลสเสทย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase® ไม่พบไฮดรอกซีโพรลีนและซาร์โคซีน

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

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร  
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนักศึกษา พณ ธี  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา MMO 82  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม 28

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

School of Food Technology

Academic Year 2005

Student's Signature P. Chinang

Advisor's Signature K. Intarapichet

Co-Advisor's Signature DS