

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒/๒๕๖๘



Technical Paper No. 2/2025

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823)  
และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่

The Production of Protein Hydrolysate from Sea Lettuce  
(*Ulva rigida* C. Agardh, 1823) and Its Functional Properties

วันวิสาข์ ยวงไย  
พิสิฐ วงศ์สง่าศรี  
มนทกานติ ท้ามตัน

Wanvisa Youngyai  
Pisit Wongsangasri  
Montakan Tamtin

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

กรมประมง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Fisheries Industrial Technology Research  
and Development Division  
Department of Fisheries  
Ministry of Agriculture and Cooperative

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒ /๒๕๖๘



Technical Paper No. 2/2025

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823)  
และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่

The Production of Protein Hydrolysate from Sea Lettuce  
(*Ulva rigida* C. Agardh, 1823) and Its Functional Properties

วันวิสาข์ ยวงไย  
พิสิฐ วงศ์สง่าศรี  
มนทกานติ ท้ามตัน

Wanvisa Youngyai  
Pisit Wongsangasri  
Montakan Tamtin

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

กรมประมง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

๒๕๖๘

Fisheries Industrial Technology Research  
and Development Division

Department of Fisheries

Ministry of Agriculture and Cooperative

2025

รหัสทะเบียนวิจัย 66 1 2 0703 66009 02

## สารบัญ

|                                                                                                                              | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อ                                                                                                                     | 1    |
| Abstract                                                                                                                     | 2    |
| คำนำ                                                                                                                         | 3    |
| วัตถุประสงค์                                                                                                                 | 7    |
| วิธีดำเนินการ                                                                                                                | 8    |
| 1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ                                                                                                | 8    |
| 2 วิธีดำเนินงาน                                                                                                              | 9    |
| ผลการทดลองและวิจารณ์ผล                                                                                                       | 16   |
| 1 ผลการศึกษาระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย<br>ผักกาดทะเล                                       | 16   |
| 2 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง                                                                     | 17   |
| 3 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                        | 17   |
| 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน (Amino Profile)                                                                              | 21   |
| 5 ผลการศึกษากการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                        | 22   |
| สรุปผลการทดลอง                                                                                                               | 27   |
| เอกสารอ้างอิง                                                                                                                | 28   |
| ภาคผนวก                                                                                                                      | 31   |
| ภาคผนวก ก การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                                        | 31   |
| ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging<br>activity (DPPH) (Hung <i>et al.</i> , 2021) | 32   |
| ภาคผนวก ค แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อ "เมอแรงค์" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซต<br>จากสาหร่ายผักกาดทะเล                              | 34   |
| ภาคผนวก ง แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อ "ซอสทสึยุ" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซต<br>จากสาหร่ายผักกาดทะเล                              | 35   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                                                                                 | หน้า |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | ส่วนผสมของสูตรผลิตเมอแรงค์สูตรลดน้ำตาลไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่าย<br>ผักกาดทะเล (NP) และสูตรผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (PH)                   | 14   |
| 2        | ส่วนผสมของสูตรซอสหอยผัสมิโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                                                                   | 15   |
| 3        | องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายผักกาดทะเลที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน                                                                                               | 16   |
| 4        | ปริมาณโปรตีนและระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล<br>ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 10, 20 และ 30 กรัม                            | 18   |
| 5        | ปริมาณโปรตีน ผลผลิต และระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่าย<br>ผักกาดทะเลที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง                                         | 19   |
| 6        | ความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล<br>ที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง                                                            | 20   |
| 7        | ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมจากโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก<br>สาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง                                        | 20   |
| 8        | สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลา<br>การย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง                                                        | 21   |
| 9        | องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ได้จาก<br>การคัดเลือกจากความสามารถในการละลาย การเกิดโฟม การคงตัวของโฟม และการ<br>ต้านอนุมูลอิสระ | 22   |
| 10       | ค่าความแข็งของเมอแรงค์ที่ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลและ<br>เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                       | 23   |
| 11       | ผลการสำรวจความชอบโดยรวมต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                                                       | 24   |
| 12       | ผลการสำรวจความชอบโดยรวมต่อหอยผัสมิโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                                                          | 25   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                           | หน้า |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | สาหร่ายผักกาดทะเล                                                                                                                                                         | 3    |
| 2      | ขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยเอนไซม์โบรมิเลนที่ปริมาณต่าง ๆ                                                                                      | 11   |
| 3      | ขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยเอนไซม์โบรมิเลนที่ระยะเวลาต่าง ๆ                                                                                    | 12   |
| 4      | ขั้นตอนการผลิตเมอแรงค์สูตรลดน้ำตาลผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                                                                 | 14   |
| 5      | ขั้นตอนการผลิตซอสหอยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่าย                                                                                                                         | 15   |
| 6      | ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายผักกาดทะเลในระหว่างการเพาะเลี้ยง 84 วัน                                                                                                             | 16   |
| 7      | ผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง                                                                                                                                                 | 17   |
| 8      | โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying)                                                                                       | 19   |
| 9      | เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล                                                                                                                           | 23   |
| 10     | (ก) เมนูซารุ ราเมน โดยใช้ซอสหอยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล<br>(ข) การจัดตัวอย่างทดสอบความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบต่อซอสหอยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล | 26   |

# การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823) และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่

วันวิสาข์ ยวงโย<sup>1\*</sup> พิลิฐ วงศ์สง่าศรี<sup>1</sup> และ มณฑกานติ ท้ามตัน<sup>2</sup>

<sup>1</sup> กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

<sup>2</sup> กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823) ด้วยเอนไซม์โบรมิเลน โดยศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บเกี่ยววัตถุดิบสาหร่ายผักกาดทะเลที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน พบว่า มีค่าโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 10.60 - 31.65 ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 21 วัน มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดร้อยละ 31.65 นำไปบดและบดเป็นผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง ซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 23.38 ของน้ำหนักแห้ง ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง โดยการย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลน แปรปริมาณเอนไซม์ 3 ระดับ คือ 10 กรัม (BR 10), 20 กรัม (BR 20) และ 30 กรัม (BR 30) ใช้เวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 °C พบว่า มีปริมาณโปรตีน 0.89, 1.20 และ 1.56 กรัม ตามลำดับ ซึ่ง BR 30 ได้ค่าโปรตีนมากที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) และให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดร้อยละ 48.47 ( $p > 0.05$ ) ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล โดยย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 30 กรัม แปรระยะเวลาการย่อย 1 ชั่วโมง (1H), 3 ชั่วโมง (3H) และ 6 ชั่วโมง (6H) พบว่า การย่อยที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 1.56 กรัม และร้อยละ 21.61 ( $p > 0.05$ ) ตามลำดับ ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ ความสามารถในการละลาย (Solubility) ความสามารถในการเกิดโฟม (Foam Capacity) และความคงตัวของโฟม (Foam stability) พบว่าทุกสภาวะในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล มีค่าไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) ศึกษาสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) พบว่าระยะเวลาในการย่อยที่ 6 ชั่วโมง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดร้อยละ 7.46 ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid เท่ากับ 0.70 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ( $p \leq 0.05$ ) คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลจากสมบัติเชิงหน้าที่มาวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน (Amino Profile) พบกรดอะมิโน จำนวน 16 ชนิด โดยกรดอะมิโนที่มีมากที่สุด ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) และกรดกลูตามิก (Glutamic acid) มีค่าเท่ากับ 678.21 และ 637.94 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล โดยผลิตเมอแรงค์และซอสสัณยุผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล พบว่า เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล ร้อยละ 2.16 ให้ค่าความแข็ง 453.65 กรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าเมอแรงค์ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล ( $p \leq 0.05$ ) ผลการทดสอบความชอบโดยรวม พบว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้คะแนน 8 คะแนน (ชอบมาก) คิดเป็นร้อยละ 44 และ 7 คะแนน (ชอบปานกลาง) คิดเป็นร้อยละ 38 และทดสอบความชอบโดยรวมต่อซอสสัณยุผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลร้อยละ 2 พบว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้คะแนน 8 คะแนน (ชอบมาก) คิดเป็นร้อยละ 54

**คำสำคัญ:** สาหร่ายผักกาดทะเล, โปรตีนไฮโดรไลเซต, สมบัติเชิงหน้าที่

\*ผู้รับผิดชอบ: 50 เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0 2940 6130-45 ต่อ 4408

E-mail: m2j\_one@hotmail.com

# The Production of Protein Hydrolysate from Sea Lettuce (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823) and Its Functional Properties

Wanvisa Youngyai<sup>1\*</sup> Pisit Wongsan-NGasri<sup>1</sup> and Montakan Tamtin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fisheries Industrial Technology Research and Development Division

<sup>2</sup> Coastal Aquaculture Research and Development Division

## Abstract

This study aimed to determine the optimal conditions for producing protein hydrolysate from sea lettuce (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823) using Bromelain enzyme. The effect of harvest time on protein content was investigated in cultivated sea lettuce over 84 days. The protein content ranged from 10.60% - 31.65%, with the highest protein content 31.65% observed at 21 days which was dried and milled to be sea lettuce powder containing 23.38% protein based on dry weight. The optimal conditions for hydrolysis of the dried sea lettuce powder were evaluated by varying the Bromelain concentration at three levels, 10 g (BR 10), 20 g (BR 20), and 30 g (BR 30), with a hydrolysis time of 3 hours at 50 °C. The protein contents were 0.89, 1.20, and 1.56 g, respectively, with BR 30 had the highest protein content ( $p \leq 0.05$ ) and the highest degree of hydrolysis at 48.47% ( $p > 0.05$ ). The effects of hydrolysis time were further examined at 1 hour (1H), 3 hours (3H), and 6 hours (6H) using 30 g of Bromelain. The 6 hours hydrolysis resulted in the highest protein content at 1.56 g and yield at 21.61% ( $p > 0.05$ ). Functional properties, including solubility, foam capacity, and foam stability, showed no significant differences across all hydrolysis conditions ( $p > 0.05$ ). Antioxidant activity (DPPH) was highest at 6 hours hydrolysis, with a value of 7.46% ( $p \leq 0.05$ ), compared to the standard Ascorbic acid solution 0.70 mg/mL ( $p \leq 0.05$ ). The optimum conditions for the production of protein hydrolysate from sea lettuce were selected based on functional properties for amino acid profile analysis. Sixteen amino acids were found, with the most abundant amino acids being Aspartic acid and Glutamic acid, with values of 678.21 and 637.94 mg per 100 g of sample, respectively. Study on product development using the hydrolysate included meringue and Tsuyu sauce. The meringue with 2.16% protein hydrolysate exhibited hardness 453.65 g which was higher than the meringue without protein hydrolysate ( $p \leq 0.05$ ). Sensory evaluation showed that 44% of panelists rated the meringue as highly liked (score 8), while 38% rated it moderately liked (score 7). For Tsuyu sauce with 2% protein hydrolysate, 54% of panelists rated it highly liked (score 8).

**Keywords:** Protein hydrolysate, Sea lettuce, Functional properties

**\*Corresponding author:** 50 Kaset-klang Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0 2940 6130-45 ext. 4408

E-mail: m2j\_one@hotmail.com

## คำนำ

สาหร่ายผักกาดทะเล มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ulva rigida* C. Agardh, 1823 มีชื่อสามัญว่า Sea Lettuce จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว วงศ์ Ulvaceae (มนทกานติ และคณะ, 2559) มีลักษณะแผ่นใบแผ่กว้าง หยักคล้ายใบผักกาด ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กมากต้องส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ไปจนถึงขนาดมากกว่า 65 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) สาหร่ายผักกาดทะเลจัดว่าเป็นสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยการแบ่งเซลล์ทั้งในแนวกว้างและแนวยาวแผ่ออกเป็นแผ่นและมีรอยจีบอยู่ตรงขอบ สามารถขึ้นได้ทุกฤดูกาลโดยเฉพาะฤดูหนาวและพบในบริเวณน้ำลงต่ำสุด นอกจากนี้ยังพบขึ้นอยู่ตามชายฝั่งทะเลของจังหวัดภูเก็ต โดยเฉพาะในพื้นที่แหล่งหญ้าทะเลจะมีสาหร่ายชนิดนี้ปะปนอยู่หรือหลุดลอยตามผิวที่เคลือบที่บนหญ้าทะเล (สุวรรณ และคณะ, 2552) ในปี 2544 ศูนย์วิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรี ได้นำสาหร่ายผักกาดทะเลมาขยายพันธุ์พบว่า สาหร่ายชนิดนี้สามารถเพาะขยายพันธุ์ต่อได้ง่าย มีความทนทาน สามารถเลี้ยงได้หลายรูปแบบ เพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมากและสามารถเก็บเกี่ยวได้ต่อเนื่อง (มนทกานติ และคณะ, 2559) สาหร่ายผักกาดทะเลอุดมไปด้วยธาตุอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีคุณค่าทางโภชนาการและสารอาหารสูง โดยพบว่าสาหร่ายผักกาดทะเลแห้งที่มีความชื้นร้อยละ 20.7 ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 23 เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนในอาหารชนิดอื่น เช่น ไข่มีโปรตีนร้อยละ 10 – 15 เนื้อวัวมีโปรตีนร้อยละ 18 – 20 และปลาทูมีโปรตีนร้อยละ 20 ซึ่งจะเห็นว่าสาหร่ายผักกาดทะเลมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง มีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 25.35 ไขมันร้อยละ 2.76 คากไยร้อยละ 9.79 นอกจากนี้ยังประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ได้แก่ แคลเซียม 388.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม โซเดียม 1,051.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ไอโอดีน 227.7 มิลลิกรัมต่อ 1,000 กรัม และให้พลังงาน 218.2 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม (สุวรรณ และคณะ, 2552) ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (2565) รายงานว่า สาหร่ายผักกาดทะเลแห้ง 100 กรัม มีโปรตีนสูงถึง 10 – 25 กรัม คาร์โบไฮเดรต 42 – 47 กรัม เยื่อใย 2.75 – 3.72 กรัม ไขมัน 0.25 – 2.4 กรัม และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด โดยกรดอะมิโนหลักที่พบมี 2 ชนิด คือ กรดกลูตามิก (Glutamic acid) และ กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสชาติดีและมีกลิ่นหอม



ภาพที่ 1 สาหร่ายผักกาดทะเล

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ ทำให้อาหารเพื่อสุขภาพมีความสำคัญมากขึ้น ไม่เพียงแต่เฉพาะผู้สูงอายุเท่านั้น แต่ยังรวมไปถึงผู้บริโภควัยอื่นด้วย จากความต้องการอาหารเพื่อสุขภาพที่เพิ่มมากขึ้นร่วมกับวิวัฒนาการทางด้านเทคโนโลยีต่าง ๆ ประกอบกับลักษณะและพฤติกรรมการใช้ชีวิตของผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญกับการรักษาสุขภาพ ทำให้ผู้ผลิตพยายามคิดค้นสร้างสรรค์ นวัตกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่ ๆ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค

อาหารฟังก์ชัน (Functional food) เป็นอาหารสุขภาพประเภทหนึ่งที่มีความนิยม หมายถึงอาหารหรือสารอาหารชนิดใด ๆ ที่อยู่ในรูปธรรมชาติหรือที่ผ่านการแปรรูปเพื่อให้ได้ประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้นนอกเหนือจากสารอาหารที่ได้รับในชีวิตประจำวัน เช่น อาหารที่ส่งผลต่อระบบการทำงานของร่างกายในด้านการป้องกันโรค เพิ่มภูมิคุ้มกัน ชะลอความเสื่อมของเซลล์อวัยวะต่าง ๆ ซึ่งอาหารนี้จะเป็นอาหารที่รับประทานร่วมกับมื้ออาหารได้ ไม่อยู่ในรูปของยา รวมทั้งอาหารที่ถูกปรับเปลี่ยนไปเป็นสมุนไพรหรือพืชเคมีเพื่อเพิ่มประโยชน์ (เอกราช, 2554) อีกทั้งในปัจจุบันความเจริญทางด้านวิทยาศาสตร์ทำให้ค้นพบความสามารถของสารประกอบตามธรรมชาติที่มีอยู่ในอาหารมากมายที่มีผลต่อการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทั้งยังสามารถต้านและป้องกันโรคต่าง ๆ ได้ (ศัลยา, 2546)

โปรตีนเป็นส่วนประกอบสำคัญของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเป็นแหล่งสารอาหารและพลังงาน นอกจากนี้ โปรตีนยังมีสมบัติด้านโครงสร้างช่วยในการปรับปรุงคุณสมบัติและเนื้อสัมผัสของอาหาร เนื่องจากโปรตีนมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญหลายประการ เช่น คุณสมบัติด้านการละลาย การเกิดเจล การอุ้มน้ำ การเกิดอิมัลชัน และการเกิดโฟม (Damodaran, 1996) โปรตีนจากแหล่งธรรมชาติส่วนใหญ่มีข้อจำกัดในการนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากมีสมบัติบางประการที่ไม่เหมาะสม เช่น มีโมเลกุลใหญ่เกินไป จึงต้องผ่านกระบวนการแปรรูปหรือดัดแปร เพื่อให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง (Moure *et al.*, 2006) การดัดแปรโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมวิธีหนึ่งคือ การดัดแปรโดยการย่อย เรียกว่า โปรตีนไฮโดรไลเซต (Protein hydrolysate)

โปรตีนไฮโดรไลเซต (Protein hydrolysate) เกิดจากกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) หรือที่เรียกว่า การแยกสลายด้วยน้ำ ทำให้สายพอลิเพปไทด์ถูกตัดเป็นเพปไทด์ที่มีสายสั้นลงและกรดอะมิโนอิสระ (เกียรติศักดิ์ และบุรฉัตร, 2557) ซึ่งมีประโยชน์สามารถใช้เป็นส่วนผสมในอาหารและอาหารสัตว์ เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร โดยทั่วไปขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มจากการบดวัตถุดิบให้ละเอียด ผสมน้ำ สารเคมี หรือเอนไซม์ แล้วนำไปย่อยในสภาวะที่เหมาะสม จากนั้นทำการยับยั้งการทำงานของสารเคมีหรือเอนไซม์ และนำไปปั่นเหวี่ยง เพื่อเก็บสารละลายส่วนใสไปทำให้แห้ง และวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซตต่อไป (พชร, 2559)

วิธีผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต สามารถทำได้ 3 วิธี ได้แก่

1. การย่อยโปรตีนด้วยวิธีทางธรรมชาติ อาศัยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) โดยปกติสามารถย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในกล้ามเนื้อสัตว์และเครื่องในสัตว์ เช่น ทริปซิน (Trypsin) เปปซิน (Pepsin) คาเปปซิน (Carpepsin) และไคโมทริปซิน (Chymotrypsin) ซึ่งเป็นวิธีการที่ค่อนข้างซับซ้อนเนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่อยู่ในเนื้อสัตว์และเครื่องในสัตว์มีอยู่หลายชนิดและแต่ละชนิดมีกิจกรรมการทำงานที่แตกต่างกัน ทำให้ยากต่อการควบคุมกระบวนการย่อยสลายของโปรตีน และใช้เวลาในการย่อยสลายนาน (เสาวภา, 2557)

2. การย่อยโปรตีนด้วยสารเคมี การย่อยด้วยสารเคมีเป็นการใช้กรดหรือด่างทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นเพื่อตัดสายเพปไทด์ให้สั้นลง ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่

2.1 การย่อยโปรตีนด้วยสารละลายกรด สารละลายกรดที่นิยมใช้ในการย่อยโปรตีน ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และกรดซัลฟูริก ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (วรพงษ์, 2538) โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดจะมีเกลือเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการที่ทำให้เป็นกลาง (Neutralization) โดยการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก จะเกิดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้ในอาหารทั่วไป (พชร, 2559) สารละลายกรดให้กลืนรสของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ดี และปฏิกิริยาในการย่อยโปรตีนเกิดขึ้นได้รวดเร็ว แต่การใช้กรดในการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตร่วมกับความร้อนมีผลทำให้เกิดตะกอนสีดำ (Black humin) ในผลิตภัณฑ์ (Peterson and Johnson, 1978) และยังทำให้กรดอะมิโนทริปโทเฟน (Tryptophan) ซีรีน (Serine) ทรีโอนีน (Threonine) ซิสเทอีน (Cysteine) และกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลถูกทำลาย นอกจากนี้การย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกยังทำให้เกิดสาร 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (รัชวรรณ, 2555)

2.2 การย่อยโปรตีนด้วยสารละลายด่าง สารละลายด่างที่นิยมใช้ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) หรือ แบเรียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ) ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายด้วยด่างจะเร็วกว่าการย่อยสลายด้วยกรด (Shih, 1992) แต่การใช้สารละลายด่างในการย่อยด่างจะไปทำลายกรดอะมิโนหลายชนิด ได้แก่ อาร์จินีน (Arginine) ซีรีน (Serine) ทรีโอนีน (Threonine) ซิสตีน (Cystine) และซิสเทอีน (Cysteine) (Bailey, 1967) และหากทำการย่อยด้วยสารละลายด่างที่สภาวะรุนแรงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเรซิไมเซชัน (Racemization) ของกรดอะมิโนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของกรดอะมิโนจากรูปแบบแอล (L-form) เป็นรูปแบบดี (D-form) ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และยังทำให้เกิดปฏิกิริยาเบตา-อีลิมีเนชัน ( $\beta$ -elimination) ของกรดอะมิโนซีรีน และซิสตีน เป็นผลทำให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะลานีน (Dehydroalanine) ซึ่งสารนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอื่น ๆ ได้ เช่น ซิสเทอีน (Cysteine) และไลซีน (Lysine) ทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด เช่น แลนทีโอนีน (Lanthionine) ไลซิโนอะลานีน (Lysinoalanine) เกิดการสูญเสียสารอาหารที่สำคัญและเกิดสารพิษขึ้น (Howell, 1996)

3. การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์เป็นการใช้เอนไซม์โปรติเอสตัดพันธะเพปไทด์ให้เป็นเพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับกรดย่อยด้วยสารเคมี เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อสารตั้งต้น ไม่จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณมาก มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิต สภาวะที่ใช้ในการย่อยไม่รุนแรง (Mild condition) (พชร, 2559) เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถกำหนดขอบเขตการย่อยสลายและขนาดของเพปไทด์ได้ (รัชวรรณ, 2555)

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส (Hydrolase) ทำหน้าที่ตัดพันธะเพปไทด์ของโปรตีน โดยสามารถจำแนกตามตำแหน่งของการตัดพันธะ ได้แก่ การตัดพันธะเพปไทด์ในสายโปรตีน (Endo-peptidase) ซึ่งมีทั้งการตัดพันธะแบบสุ่มและแบบจำเพาะ และการตัดพันธะเพปไทด์ทางปลายสายของโปรตีน (Exo-peptidase) โดยจะตัดพันธะตรงปลาย N-terminal และ C-terminal ของสายเพปไทด์เข้ามาให้เป็นกรดอะมิโน (รัชวรรณ, 2555) โดยแบบ Endo-peptidase นิยมใช้ในอุตสาหกรรมมากกว่าแบบ Exo-peptidase นอกจากนี้ เอนไซม์โปรติเอสยังมีการจำแนกตามความแตกต่างของกรดอะมิโนที่บริเวณเร่ง (Active site) ได้แก่ โปรติเอสที่มีซีรีน (Serine protease) โปรติเอสที่มีหมู่ซัลไฮดริล (Sulphydryl protease)

โปรตีเอสที่มีโลหะช่วยเร่งปฏิกิริยา (Metal-containing protease) และโปรตีเอสที่ทำงานได้ในสภาพกรด (Acid Protease) (Nielsen, 2010)

เอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain) จัดเป็นเอนไซม์กลุ่มซีรีนโปรตีเอส เป็นการตัดพันธะเพปไทด์ในสายโปรตีน (Endo-peptidase) พบในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ได้แก่ เปลือก ลำต้น ก้าน และใบในสับปะรด เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูงต่อการตัดจำเพาะกับกรดอะมิโนในสายเพปไทด์ และมีความจำเพาะกว้าง สามารถย่อยสารตั้งต้นได้กว้าง โบรมิเลนย่อยระหว่างพันธะ อาร์จินีน - อะลานีน และ อะลานีน - กลูตามีน แต่ไม่สามารถย่อยพันธะที่เชื่อมระหว่าง อาร์จินีน - อาร์จินีน และ ไลซีน - ไทโรซีน ทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วงความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6 - 8 อุณหภูมิ 25 - 60 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส เอนไซม์โบรมิเลนจะเสียสภาพไป สามารถละลายน้ำได้ แต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ และอะซิโตน (Murachi and Neurath, 1960; Yamada *et al.*, 1975) เป็นเอนไซม์ที่หาซื้อได้ง่าย สามารถผลิตได้ในประเทศไทย และราคาไม่แพง

การตัดพันธะเพปไทด์ด้วยเอนไซม์ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของการขบ่น้ำและปริมาณประจุของโปรตีน ซึ่งเกิดจากการเพิ่มการแตกตัวของหมู่อะมิโน และหมู่คาร์บอกซิลของโปรตีน โมเลกุลของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้เผยหมู่ที่ไม่ขบ่น้ำที่อยู่ในโครงสร้างโปรตีนให้ออกมาอยู่บริเวณผิวหน้า ซึ่งมีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้เมื่อความยาวของสายพอลิเพปไทด์สั้นลงมีผลในการลดความเป็นแอนติเจนของโปรตีน (เกียรติศักดิ์ และบุรฉัตร, 2557)

การวัดปริมาณการย่อยสลายโปรตีนเป็นการแสดงถึงจำนวนพันธะที่ถูกทำลายระหว่างเกิดการเกิดปฏิกิริยา โดยแสดงเป็นค่าระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis, DH) ซึ่งแสดงเป็นค่าร้อยละของพันธะเพปไทด์ที่ถูกทำลายเทียบกับพันธะเพปไทด์ที่มีอยู่เดิมในวัตถุดิบ ถ้าค่าระดับการย่อยสลายสูง แสดงว่าโปรตีนถูกย่อยสลายจนได้เพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระจำนวนมาก (วรารณา, 2549) การย่อยสลายโปรตีนที่ระดับการย่อยต่ำ (Limited hydrolysis) เป็นวิธีการตัดพันธะเพปไทด์เพียงบางส่วนของสายพอลิเพปไทด์ โดยส่วนใหญ่มีระดับการย่อยอยู่ในช่วงร้อยละ 1 - 20 ซึ่งการย่อยในลักษณะนี้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ได้หลายประการ เช่น การเปลี่ยนแปลงขนาดโมเลกุล โครงสร้าง ความยืดหยุ่น ความเสถียร และการกระจายของส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วบริเวณผิวหน้าของโปรตีน ส่วนการย่อยสลายโปรตีนที่ระดับการย่อยสูง (Extensive hydrolysis) เป็นการตัดพันธะเพปไทด์ของสายพอลิเพปไทด์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ทำให้ระดับการย่อยสูงขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นเพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระ โดยส่วนใหญ่จะมีระดับการย่อยมากกว่าร้อยละ 20 กระบวนการย่อยโปรตีนด้วยวิธีการนี้ทำได้โดยนำโปรตีนที่ต้องการตัดแปรมาผ่านกระบวนการย่อยโดยใช้เอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้นสูง หรือย่อยที่ระยะเวลาอันยาวนานเพื่อให้ได้ระดับการย่อยสูง (เกียรติศักดิ์ และบุรฉัตร, 2557) การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการย่อยที่ระดับการย่อยต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์อาหารจะแตกต่างกันขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้งาน

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตมีความสัมพันธ์กับคุณภาพทางเคมีและกายภาพของโปรตีน ได้แก่ ชนิด ปริมาณ และการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเพปไทด์ ความยาวและรูปร่างของสายเพปไทด์ ประจุสุทธิ สัดส่วนระหว่างความขบ่น้ำและความไม่ขบ่น้ำ (Hydrophobic - Hydrophilic ratio) และความสามารถของโมเลกุลโปรตีนในการทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ (Damodaran, 1996)

น้ำหนักโมเลกุล มีความสำคัญในการบอกถึงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต ถ้าโปรตีนไฮโดรไลเซตมี DH สูงจะมีกรดอะมิโนอิสระและเพปไทด์ขนาดเล็กทำให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี แต่ถ้าโปรตีนไฮโดรไลเซตประกอบด้วยเพปไทด์ขนาดใหญ่อาจไม่สามารถละลายได้เพียงพอที่จะแสดง

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ออกมาได้ (Greenberg and Shipe, 1979) น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีปริมาณต่ำเนื่องจากมีพันธะเพปไทด์ที่เชื่อมต่อกันในปริมาณน้อย ได้แก่ ไดเพปไทด์และไตรเพปไทด์ ทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีคุณลักษณะที่เฉพาะเจาะจงต่อเนื้อเยื่อเป้าหมาย อีกทั้งน้ำหนักโมเลกุลของเพปไทด์สัมพันธ์กับการปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต (Silvestre, 1997)

โดยทั่วไปโปรตีนไฮโดรไลเซตถูกผลิตขึ้นเพื่อ (1) ใช้เป็นสารสำหรับทำหน้าที่เฉพาะอย่าง (Functional ingredients) โดยมีการกำหนดลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์สุขภาพ ประเทศญี่ปุ่นเป็นประเทศที่มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ประเภทนี้มาก่อนประเทศอื่น ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านั้นต้องมีสภาพทางกายภาพที่เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่แท้จริง คือ ไม่อยู่ในรูปแคปซูลหรือเป็นผงเหมือนยา และเป็นอาหารที่ได้รับการดัดแปรจากวัตถุดิบตามธรรมชาติ บริโภคเป็นอาหารประจำวันได้ไม่มีข้อจำกัดเหมือนยา (เสาวภา, 2557) (2) ใช้เป็นสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในอาหาร (Nutritional ingredients) มีส่วนประกอบที่ให้ผลโดยตรงในการเสริมการทำงานของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย โปรตีนที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้มักอยู่ในรูปของกรดอะมิโนและเพปไทด์สายสั้น ดังนั้น จึงได้มีการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตมาใช้ในการอาหารสำหรับผู้มีปัญหาด้านการดูดซึมสารอาหาร นอกจากนี้ ยังใช้เพิ่มคุณค่าทางสารอาหารสำหรับผู้สูงอายุ นักกีฬา และผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (ธงชัย และศิริพร, 2556) และ (3) ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ให้กลิ่นรสที่ดี มีความคล้ายคลึงกับกลิ่นรสจริงของอาหาร

ดังนั้น จากศักยภาพของสาหร่ายผักกาดทะเลที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีสารที่มีประโยชน์สูง ซึ่งศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สามารถผลิตสาหร่ายชนิดนี้ได้ในปริมาณมาก และสามารถเก็บเกี่ยวได้ต่อเนื่อง โครงการวิจัยนี้จึงได้ให้ความสนใจในการนำสาหร่ายผักกาดทะเลมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต ซึ่งใช้เอนไซม์ในการย่อย ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม สมบัติเชิงหน้าที่ และสมบัติทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของสาหร่ายผักกาดทะเล สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารฟังก์ชันและอาหารเพื่อสุขภาพต่อผู้สูงอายุ และรวมถึงบุคคลวัยอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับแนวทางการขับเคลื่อนภาคการเกษตรด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG ในด้านการใช้เทคโนโลยีในการแปรรูปสาหร่ายผักกาดทะเลให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง ผลักดันให้เป็นสาหร่ายตัวใหม่สำหรับการบริโภค เพื่อเป็นการส่งเสริมและสนับสนุนให้เกิดการผลิตสาหร่ายอย่างยั่งยืน เกษตรกรสามารถเพิ่มรายได้จากการเป็นผู้ผลิตในระดับต้นน้ำ เพื่อส่งวัตถุดิบให้อุตสาหกรรมในระดับกลางน้ำและปลายน้ำนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น ขยายผลเชิงพาณิชย์อย่างยั่งยืน สามารถพัฒนาและยกระดับความสามารถในการแข่งขันของผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมต่อไป

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล
2. เพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการผลิต

## วิธีดำเนินการ

### 1. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

#### 1.1 วัตถุดิบ

1.1.1 สาหร่ายผักกาดทะเล *Ulva rigida* C. Agardh, 1823 จากศูนย์ศึกษาการพัฒนา  
อ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมากระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี บรรจุในกล่องโฟม ขนส่งมายังกองวิจัยและพัฒนา  
เทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

1.1.2 ซอสปรุงรสหวาน (Aji - Mirin) ยี่ห้อ คิคโคแมน

1.1.3 โซยุ ยี่ห้อ คิคโคแมน

1.1.4 น้ำส้มสายชูกลั่น ร้อยละ 25 ยี่ห้อ อสร.

1.1.5 น้ำตาลเบเกอรี่ ยี่ห้อ ลิน

1.1.6 ไข่ไก่ เบอร์ 2

#### 1.2 สารเคมี

1.2.1 เอนไซม์โบรมิเลน (Activity 200 GDU/g) ยี่ห้อ iKnowZyme

1.2.2 กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich

1.2.3 กรดบอริก ( $H_3BO_3$ ) ยี่ห้อ Ajax Finechem

1.2.4 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ยี่ห้อ Ajax Finechem

1.2.5 คอปเปอร์ซัลเฟต ( $CuSO_4$ ) ยี่ห้อ Ajax Finechem

1.2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ยี่ห้อ Ajax Finechem

1.2.7 เมทิลเรด (Methyl Red sodium salt) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich

1.2.8 เมทิลีนบลู (Methylene Blue) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich

1.2.9 เอทิลแอลกอฮอล์ ยี่ห้อ Ajax Finechem

1.2.10 แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต (Anhydrous  $Na_2SO_4$ ) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich

1.2.11 เฮกเซน ยี่ห้อ Ajax

1.2.12 อินดิเคเตอร์ผสม (Sher Indicator) ยี่ห้อ Buchi

1.2.13 ตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ( $K_2SO_4:CuSO_4$ ) อัตราส่วน 9:1 ยี่ห้อ Oskon

1.2.14 กรดบอริก ( $H_3BO_3$ ) AR grade ยี่ห้อ Ajax Finechem

1.2.15 เอทานอล (Ethanol) ยี่ห้อ Fisher Chemical

1.2.16 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) ยี่ห้อ Thermo Scientific

1.2.17 กรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic Acid, TCA) ยี่ห้อ Fisher Chemical

#### 1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.3.1 ตู้บลมร้อน ยี่ห้อ กล้วยน้ำไทย

1.3.2 เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Orion 2-Star pH Benchtop  
Meter

1.3.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PB4002-S

1.3.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PL3002

1.3.5 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius รุ่น LA230S

- 1.3.6 เครื่องย่อยโปรตีน ยี่ห้อ Buchi รุ่น K-436
- 1.3.7 เครื่องดักไอรด์ ยี่ห้อ Buchi รุ่น K-415
- 1.3.8 เครื่องกลั่นโปรตีน ยี่ห้อ Buchi รุ่น K-355
- 1.3.9 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ NUVE รุ่น BM402
- 1.3.10 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ New Brunswick รุ่น Innova 4230
- 1.3.11 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ยี่ห้อ KNF รุ่น RC600
- 1.3.12 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิความเร็วสูง (High Speed Refrigerated Centrifuge) ยี่ห้อ TOMY รุ่น Suprema 21
- 1.3.13 เครื่องบดสมุนไพร ขนาด 200 – 300 กรัม รุ่น WF-04
- 1.3.14 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ ยี่ห้อ Novasina - Depensor รุ่น TH 200
- 1.3.15 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น Pawkit
- 1.3.16 เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic stirrer) ยี่ห้อ Yellow line รุ่น Yellow MAG HS 7
- 1.3.17 เครื่องบดละเอียดความเร็วสูง (Homogenizer) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น Silent Crusher
- 1.3.18 เตาอบไฟฟ้า ยี่ห้อ Electrolux รุ่น EOT38MBA
- 1.3.19 เตาแม่เหล็กไฟฟ้า ยี่ห้อ AJ รุ่น IN-002
- 1.3.20 เครื่องผสมอาหารแบบมือจับ ยี่ห้อ Electrolux รุ่น EHM200
- 1.3.21 ตะแกรงร่อนสแตนเลส เบอร์ 80 (ขนาดรูตะแกรง 180 ไมครอน)
- 1.3.22 กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman เบอร์ 1
- 1.3.23 เครื่องปั๊มสุญญากาศ ยี่ห้อ KNF รุ่น NO35AN.18
- 1.3.24 สเปคโตรโฟมิเตอร์ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-1800
- 1.3.25 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Stable Micro System รุ่น TA.XT plus C
- 1.3.26 ไมโครปิเปต ยี่ห้อ LabPRO ปริมาตร 20 - 200 ไมโครลิตร
- 1.3.27 ไมโครปิเปต ยี่ห้อ Boeco ปริมาตร 100 - 1000 ไมโครลิตร
- 1.3.28 ไมโครปิเปต ยี่ห้อ Axygen ปริมาตร 1 - 5 มิลลิลิตร
- 1.3.29 เทอร์โมมิเตอร์ 0 - 100 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Sato
- 1.3.30 หัวปั๊มครีมสแตนเลส เบอร์ 2D

## 2. วิธีดำเนินงาน

2.1 ศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายผักกาดทะเล สุ่มเก็บเกี่ยวสาหร่ายผักกาดทะเล วันที่ 0, 7, 21, 35, 49, 63 และ 84 นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Proximate composition) ได้แก่ ความชื้น (AOAC 950.46, 2023a) โปรตีน (ISO 937, 1978) ไขมัน (AOAC 991.36, 2023b) เกลือ (ISO 936, 1998) และ เยื่อใย (AOAC 978.10, 2023c) คัดเลือกระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายที่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เพื่อนำไปผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตในขั้นตอนต่อไป

### 2.2 เตรียมผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง

นำสาหร่ายผักกาดทะเลที่คัดเลือกจาก ข้อ 2.1 มาล้างด้วยน้ำสะอาด จำนวน 2 ครั้ง ผึ่งบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ นำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ  $50 \pm 2$  องศาเซลเซียส ( $^{\circ}\text{C}$ ) จนมีปริมาณน้ำอิสระ ( $a_w$ ) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.40 บดสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งให้ละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร

นำมาผ่านตะแกรงที่มีขนาด 80 ช่องต่อตารางนิ้ว (Mesh) เก็บในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์โปรตีน

2.3 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลและศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพ

2.3.1 ศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

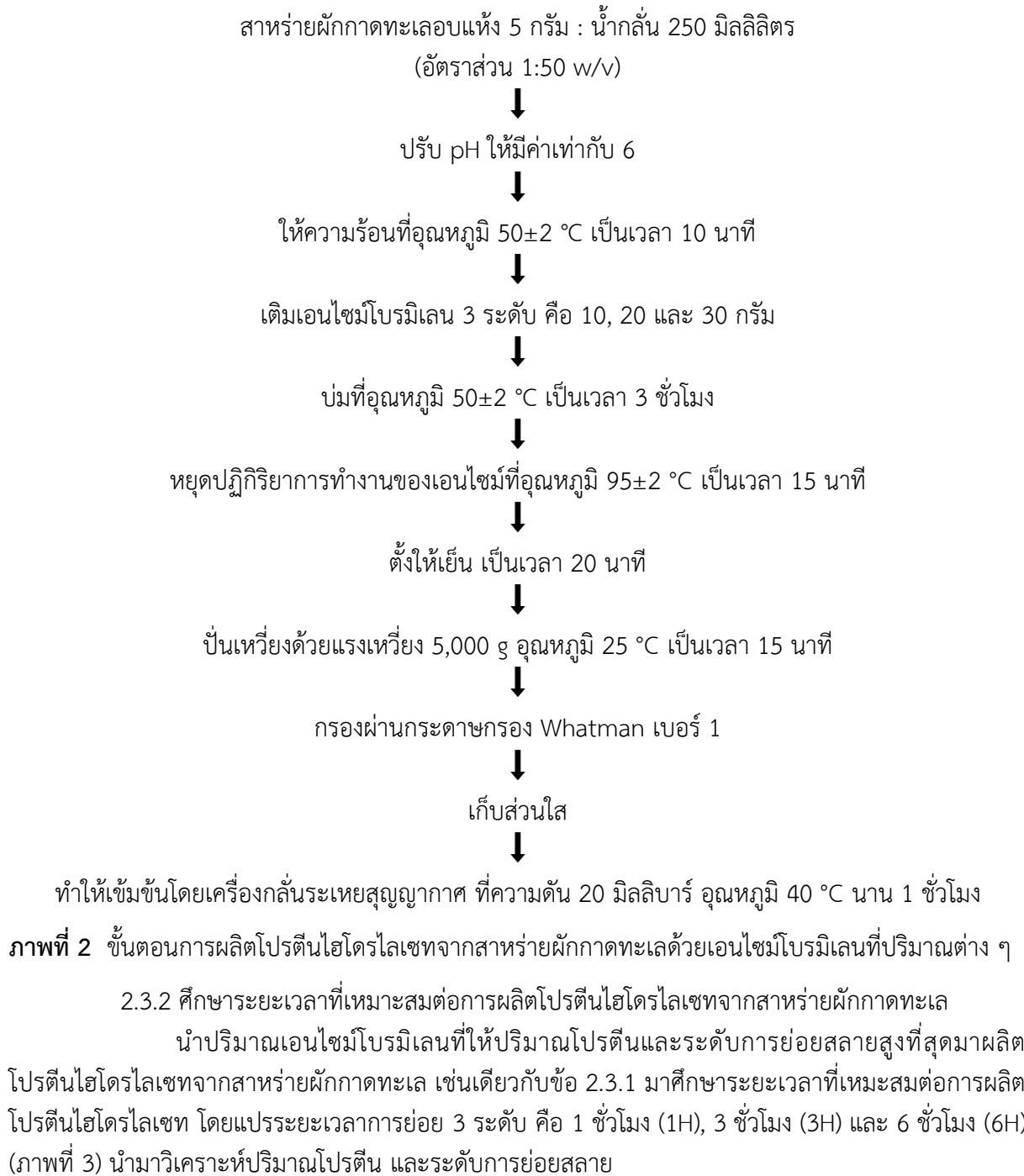
โดยดัดแปลงวิธีจากรัชวรรณ (2555) นำผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง ข้อ 2.2 อัตราส่วนสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้งปริมาณ 5 กรัมต่อน้ำกลั่น ปริมาตร 250 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:50 w/v) ผสมให้เข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ให้มีค่าเท่ากับ 6 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มัล และ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มัล แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ  $50 \pm 2$  °C เป็นเวลา 10 นาที ในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ เพื่อให้ตัวอย่างอยู่ในสถานะที่เอนไซม์พร้อมทำงาน แล้วจึงเติมเอนไซม์โบรมิเลน โดยแปรปริมาณเอนไซม์ 3 ระดับ คือ เอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 10 กรัม (BR 10), 20 กรัม (BR 20) และ 30 กรัม (BR 30) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $50 \pm 2$  °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อถึงเวลานำมาหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ  $95 \pm 2$  °C เป็นเวลา 15 นาที ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยง 5,000 g อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บส่วนใส นำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ ที่ความดัน 20 มิลลิบาร์ อุณหภูมิ 40 °C นาน 1 ชั่วโมง จนได้สารละลายเข้มข้น เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C (ภาพที่ 2) นำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ISO 937, 1978) และระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis, %DH) โดยดัดแปลงวิธีจาก อุไรวรรณ และคณะ (2563) ดังนี้

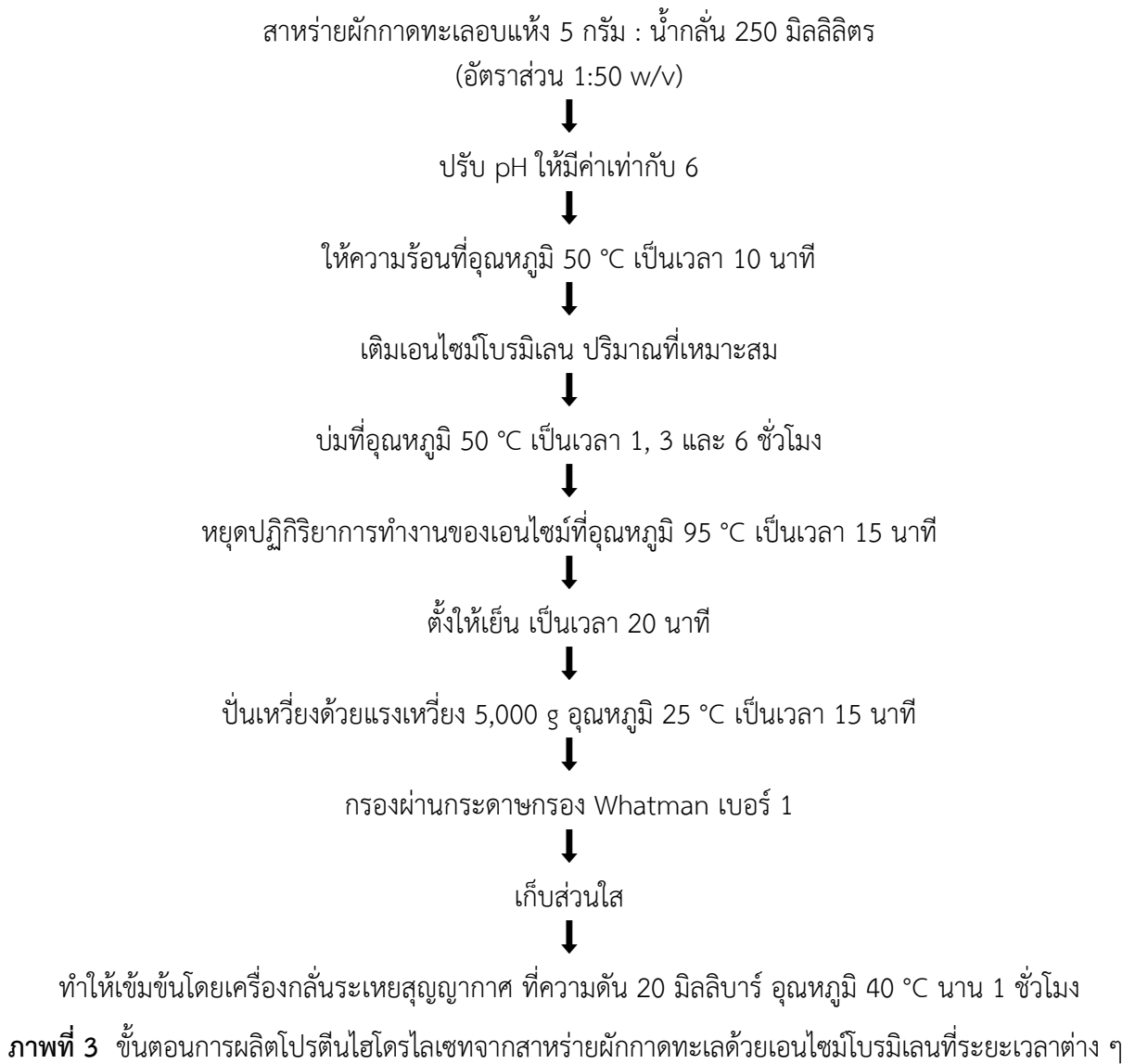
นำโปรตีนไฮโดรไลเซต ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ผสมกับ TCA ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:1 v/v) เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยง 5,000 g อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใส นำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ละลายใน TCA ความเข้มข้นร้อยละ 20 (20 % TCA soluble - N) และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในวัตถุดิบ (Total - N) ด้วยวิธี Kjeldahl method นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาระดับการย่อยสลาย ดังสมการที่ (1)

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)} = \frac{20 \% \text{ TCA soluble} - N}{\text{Total} - N} \times 100 \quad (1)$$

โดย Total - N คือ ร้อยละไนโตรเจนทั้งหมดในวัตถุดิบ

20 % TCA soluble - N คือ ร้อยละไนโตรเจนที่ละลายใน TCA ความเข้มข้นร้อยละ 20





### 2.3.3 ปริมาณผลผลิต (%yield)

นำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากข้อ 2.3.2 ทุกสภาวะในการผลิตไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต โดยชั่งน้ำหนักโปรตีนไฮโดรไลเซตก่อนและหลังการทำแห้ง คำนวณหาร้อยละผลผลิต ดังสมการที่ (2)

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนไฮโดรไลเซตหลังทำแห้ง}}{\text{โปรตีนไฮโดรไลเซตก่อนทำแห้ง}} \times 100 \quad (2)$$

### 2.3.4 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

#### 2.3.4.1 ความสามารถในการละลาย (Solubility)

ศึกษาความสามารถในการละลาย โดยดัดแปลงวิธีจาก Al-Kahtani and Hassan (1990) ซึ่งตัวอย่างผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลจากข้อ 2.3.3 ปริมาณ 5 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น ปริมาตร 125 มิลลิลิตร กวนด้วยเครื่องกวนสารละลาย ที่ระดับความเร็วเบอร์ 3 บันทึกระยะเวลาเป็นนาทีที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลละลายจนสมบูรณ์

#### 2.3.4.2 ความสามารถในการเกิดโฟม (Foam capacity)

วัดค่าความสามารถในการเกิดโฟม โดยดัดแปลงวิธีจาก Baharuddin *et al.*, (2016) ซึ่งตัวอย่างผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลปริมาณ 1.5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่องบดละเอียดความเร็วสูงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 1 นาที เทโฟมใส่ กระบอกตวง ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บันทึกปริมาตรฟองทั้งหมด คำนวณความสามารถในการเกิดโฟม ดังสมการที่ (3)

$$\text{ความสามารถในการเกิดโฟม (ร้อยละ)} = [(A-B)/B] \times 100 \quad (3)$$

โดย A คือ ปริมาตรของโฟมทั้งหมดหลังจากตีปั่น (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายก่อนตีปั่น (มิลลิลิตร)

#### 2.3.4.3 ความคงตัวของโฟม (Foam stability)

วัดค่าความคงตัวของโฟม โดยดัดแปลงวิธีจาก Baharuddin *et al.*, (2016) ใช้ตัวอย่างเดียวกับการหาค่าความสามารถในการเกิดโฟม บันทึกปริมาตรของสารละลายทั้งหมดหลังตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เป็นเวลา 30 นาที คำนวณความคงตัวของโฟม ดังสมการที่ (4)

$$\text{ความคงตัวของโฟม (ร้อยละ)} = (A/B) \times 100 \quad (4)$$

โดย A คือ ปริมาตรของโฟมหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของโฟมหลังจากตีปั่น (มิลลิลิตร)

#### 2.3.4.4 วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity

วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity

โดยดัดแปลงวิธีจาก Hung *et al.* (2021) (ภาคผนวก ก)

#### 2.4 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน (Amino profile)

นำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ได้จากการคัดเลือก ข้อ 2.3.4 โดยใช้เกณฑ์ คัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ให้ค่าการศึกษา ข้อ 2.3.4 ดีที่สุด ไปวิเคราะห์ปริมาณ กรดอะมิโน โดย บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพฯ ฯ

#### 2.5 การศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ได้จากการคัดเลือก ข้อ 2.3.4 ไปทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ 2 ผลิตภัณฑ์ ดังนี้

##### 2.5.1 เมอแรงค์สูตรลดน้ำตาลผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

โดยดัดแปลงสูตรการผลิตเมอแรงค์จากขวัญชนก (2561) มาศึกษาการผลิตเมอแรงค์สูตร ลดน้ำตาลลงร้อยละ 50 จำนวน 2 สูตร โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ไม่ใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่าย (NP) และสูตรใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (PH) จากข้อ 2.3.4 (ตารางที่ 1) โดยมีขั้นตอน ดังนี้

นำไข่ขาวผสมครีมออฟฟัททาร์ ตีด้วยเครื่องผสมอาหารแบบมือถือ ที่ระดับความเร็วปานกลาง (เบอร์ 3) นาน 30 วินาที จนเป็นฟองหยาบ เติมน้ำตาลครึ่งละ 1 ช้อนโต๊ะ จนน้ำตาลหมด ใส่ผงโปรตีนไฮโดรไลเซต จากสาหร่ายผักกาดทะเล ตีนาน 2 นาที จนครีมขึ้นฟูหลังจากนั้น ตีที่ระดับความเร็วสูงสุด (เบอร์ 5) ต่อมา 1 นาที ให้ครีมตั้งยอด ตักครีมใส่ถุงบีบ โดยบีบให้มีขนาดฐาน 2.5 เซนติเมตร อบด้วยเตาอบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 90 °C นาน 1 ชั่วโมง (ตั้งเตาอบไฟบนล่าง) พักในเตาอบโดยเปิดฝาเตาอบเล็กน้อยนาน 10 นาที (ภาพที่ 4) นำไปทดสอบ

- ค่าความแข็ง (Hardness) โดยดัดแปลงวิธีจาก Arno *et al.*, (2018) วัดค่าแรงที่กดลงบนตัวอย่าง ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) ใช้วิธีทดสอบแบบ 3-point-break test หัววัด HDP/3PB ที่ความเร็ว Pre-test speed และ Test speed 2 มิลลิเมตร/วินาที Post-test speed 10 มิลลิเมตร/วินาที และ Distance 10 มิลลิเมตร ระยะทาง 35 มิลลิเมตร น้ำหนักสูงสุดที่กดคือ 50 กรัม วางตัวอย่างบนคานแยกที่ตั้งระยะห่าง 14 มิลลิเมตร โดยวางตัวอย่างคว่ำลง วัดทางด้านฐานเมอแรงค์ที่มีผิวเรียบ ค่าความแข็งแสดงเป็นกรัม วิเคราะห์ตัวอย่างละ 10 ชิ้น

- ทดสอบทางประสาทสัมผัส ทดสอบความชอบโดยรวมต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล ใช้ผู้ทดสอบ 50 คน ด้วยวิธีทดสอบแบบ Hedonic scale โดยแบ่งคะแนนเป็น 9 ระดับ ซึ่งคะแนนน้อยกว่า 5 คะแนน แสดงถึงผู้ทดสอบไม่ยอมรับในผลิตภัณฑ์ เป็นแบบสอบถามประเภทเลือกตอบ (Check-list) แบ่งข้อมูลเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับสถานภาพทั่วไปของผู้ทดสอบ ได้แก่ เพศ อายุ รายได้ต่อเดือน

ส่วนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับความชอบโดยรวมต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาด และข้อเสนอแนะแบบปลายเปิด โดยแจกเมอแรงค์คนละ 1 ชิ้น เพื่อให้ผู้ทดสอบชิมและตอบแบบสอบถาม

**ตารางที่ 1** ส่วนผสมของสูตรผลิตเมอแรงค์สูตรลดน้ำตาลไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (NP) และสูตรผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล (PH)

| ส่วนผสม          | สูตร (NP)      | สูตร (PH)      |
|------------------|----------------|----------------|
|                  | น้ำหนัก (กรัม) | น้ำหนัก (กรัม) |
| ไข่ขาว           | 30             | 30             |
| น้ำตาลเบเกอรี่   | 15             | 15             |
| โปรตีนไฮโดรไลเซต | -              | 1              |
| ครีมออฟฟัททาร์   | 0.25           | 0.25           |

\*สูตรพื้นฐาน (ขวัญชนก, 2561)

นำไข่ขาวผสมครีมออฟฟัททาร์ ตีด้วยเครื่องผสมอาหารแบบมือถือ ที่ระดับความเร็วปานกลาง (เบอร์ 3)

จนเป็นฟองหยาบ นาน 30 วินาที จนเป็นฟองหยาบ



เติมน้ำตาล ครั้งละ 1 ช้อนโต๊ะ จนน้ำตาลหมด



ใส่ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลตี นาน 2 นาที



จนครีมขึ้นฟู ตีต่อที่ระดับความเร็วสูงสุด (เบอร์ 5) นาน 1 นาที



บีบให้ฐานมีขนาด 2.5 เซนติเมตร อบที่อุณหภูมิ 90 °C นาน 1 ชั่วโมง



พักในเตาอบเปิดฝาเตาอบเล็กน้อยนาน 10 นาที

**ภาพที่ 4** ขั้นตอนการผลิตเมอแรงค์สูตรลดน้ำตาลผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

### 2.5.2 ขอสทสี่ยมสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเล

ทดลองผลิตขอสทสี่ยมสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเล แสดงดังตารางที่ 2 ดัดแปลงจาก บริษัท แสงแดด มีเดีย กรุ๊ป จำกัด (2565) โดยนำผงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเล จากข้อ 2.3.3 ผลิตขอสทสี่ยม (ภาพที่ 5) ดังนี้

นำโซยุ มิริน น้ำส้มสายชู และน้ำเปล่า ใส่ลงในหม้อตั้งไฟอ่อน อุณหภูมิ  $150 \pm 5$  °C รอจนเดือด เมื่อเดือดแล้วจับเวลานาน 1 นาที เติมน้ำผงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลผสมให้ละลายเข้ากันนาน 1 นาที ยกออกจากเตา ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °C

- ทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 ราย ด้วยวิธีทดสอบแบบ Hedonic scale ให้คะแนนความชอบรวม โดยแบ่งคะแนนเป็น 9 ระดับ ซึ่งคะแนนน้อยกว่า 5 คะแนน แสดงถึงผู้ทดสอบ ไม่ยอมรับในผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 2 ส่วนผสมของสูตรขอสทสี่ยมสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเล

| ส่วนผสม                           | สูตรขอสทสี่ยมสมโปรตีนไฮโดรไลเซท<br>จากสาหร่ายผักกาดทะเล |        |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|--------|
|                                   | น้ำหนัก (กรัม)                                          | ร้อยละ |
| โซยุ                              | 50                                                      | 15.00  |
| มิริน                             | 50                                                      | 15.00  |
| น้ำเปล่า                          | 200                                                     | 66.00  |
| น้ำส้มสายชู                       | 5                                                       | 2.00   |
| โปรตีนไฮโดรไลเซทสาหร่ายผักกาดทะเล | 5                                                       | 2.00   |
| รวม                               | 310                                                     | 100.00 |

นำโซยุ มิริน น้ำส้มสายชู และน้ำเปล่า ใส่ลงในหม้อตั้งไฟอ่อน อุณหภูมิ  $150 \pm 5$  °C



รอจนเดือด จับเวลา 1 นาที



เติมน้ำผงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลผสมให้ละลายเข้ากันนาน 1 นาที



ยกออกจากเตา ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง



แล้วนำไปแช่เย็น อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  °C

ภาพที่ 5 ขั้นตอนการผลิตขอสทสี่ยมสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่าย

### 2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยการศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) และการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลใช้แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block

Design): RCBD) ทดสอบความแปรปรวนแบบ ANOVA และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วัดค่าความแข็งของเมอแรงค์ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาด และเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาด ตัวอย่างละ 10 ชิ้น โดยนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย แบบ T – test independent

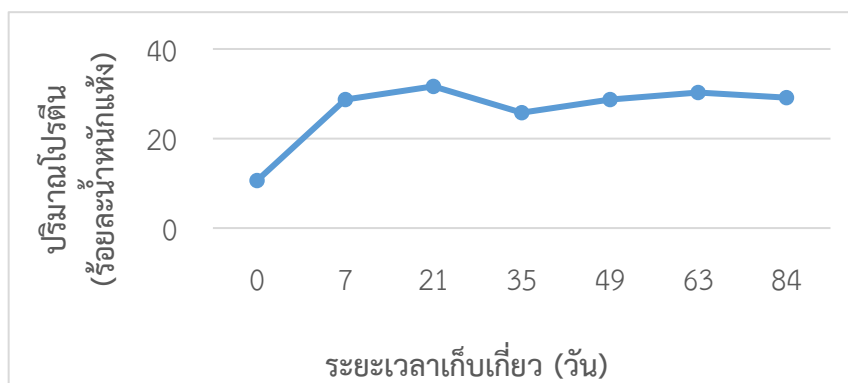
### ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

#### 1. ผลการศึกษาระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายผักกาดทะเล

จากการเก็บตัวอย่างสาหร่ายผักกาดทะเลที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน โดยศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในวันที่ 0, 7, 21, 35, 49, 63 และ 84 ของการเพาะเลี้ยง พบว่า สาหร่ายผักกาดทะเลที่เพาะเลี้ยงตลอดระยะเวลา 84 วัน มีค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 84.32 – 91.32 ไขมัน, เกล็ด, เยื่อใย และโปรตีน ร้อยละ 0 - 0.35, 10.20 - 30.07, 7.41 - 10.85 และ 10.60 - 31.65 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 3) โดยจะเห็นว่าปริมาณโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 7 วันแรกของการเพาะเลี้ยงและมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลง โดยโปรตีนมีค่ามากที่สุดร้อยละ 31.65 ในสาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 21 วัน (ภาพที่ 6) ดังนั้น จึงมีความเหมาะสมในการนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตเพื่อศึกษาขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายผักกาดทะเลที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน

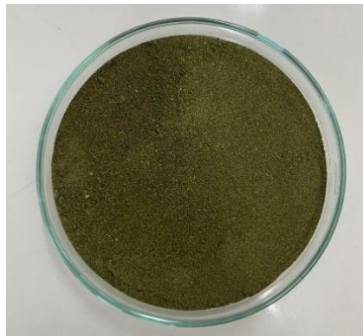
| องค์ประกอบทางเคมี<br>(ร้อยละน้ำหนักแห้ง) | ระยะเวลาเก็บเกี่ยว (วัน) |            |            |            |            |            |            |
|------------------------------------------|--------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                                          | 0                        | 7          | 21         | 35         | 49         | 63         | 84         |
| โปรตีน                                   | 10.60                    | 28.71±0.63 | 31.65±0.24 | 25.78±0.77 | 23.84±2.31 | 30.29±6.00 | 29.14±0.09 |
| เยื่อใย                                  | 8.99                     | 10.85±0.82 | 10.52±0.06 | 9.60±0.50  | 8.89±2.87  | 7.41±0.85  | 8.66±0.51  |
| เถ้า                                     | 30.07                    | 10.34±0.09 | 12.37±0.13 | 11.18±0.55 | 10.20±0.22 | 11.88±0.15 | 11.94±0.63 |
| ไขมัน                                    | 0.35                     | 0          | 0          | 0          | 0.04±0.05  | 0.04±0.06  | 0.08±0.01  |



ภาพที่ 6 ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายผักกาดทะเลในระหว่างการเพาะเลี้ยง 84 วัน

## 2. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง

ผลการวิเคราะห์ค่าโปรตีนของผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง (ภาพที่ 7) พบว่า ผงสาหร่ายผักกาดทะเลมีค่าโปรตีนร้อยละ 23.38 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ กุลยา และคณะ (2557) ในการเตรียมผงสาหร่ายผักกาดทะเลก่อนนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปแบบไม่ทอดเพื่อสุขภาพเสริมสาหร่าย มีค่าโปรตีนร้อยละ 22.07 ของน้ำหนักแห้ง และใกล้เคียงกับตัวอย่างสาหร่ายผักกาดทะเลแห้งของสุวรรณา และคณะ (2552) มีค่าโปรตีนร้อยละ 23.0 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งจะเห็นว่าผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้งมีปริมาณโปรตีนสูง ดังนั้น จึงมีความเหมาะสมในการนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลเพื่อศึกษาต่อไป



ภาพที่ 7 ผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง

## 3. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

3.1 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

จากการนำสาหร่ายผักกาดทะเลผงมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต ใช้เวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง อุณหภูมิ 50 °C โดยแปรปริมาณของเอนไซม์โบรมิเลน 3 ระดับ คือ 10 กรัม (BR 10), 20 กรัม (BR 20) และ 30 กรัม (BR 30) พบว่า มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.89, 1.20 และ 1.56 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่ง BR 30 ได้ค่าโปรตีนมากที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) โดยเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนมากขึ้นมีผลให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาค่าระดับการย่อยสลาย พบว่า ในระยะเวลาการย่อยเท่ากัน เมื่อใช้เอนไซม์โบรมิเลนปริมาณมากขึ้น ให้ระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) มีค่าระดับการย่อยสลายเท่ากับ 38.48, 48.41 และ 48.47 ตามลำดับ เนื่องจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาในการย่อยโปรตีนขึ้นกับปริมาณโปรตีนตั้งต้นและปริมาณเอนไซม์ เมื่อเอนไซม์มีปริมาณสูงขึ้นทำให้มีโอกาสที่เอนไซม์ไปจับกับโมเลกุลของโปรตีนได้มากขึ้น ทำให้ปฏิกิริยาการย่อยเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นผลให้ค่าโปรตีนและระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นจนปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ ค่าโปรตีนและระดับการย่อยสลายจะคงที่และมีแนวโน้มลดลง ถึงแม้จะเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นก็ไม่ทำให้ค่าโปรตีนและระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น (รัชวรรณ, 2555) ดังนั้น จึงเลือกใช้ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน 30 กรัม (BR 30) เป็นสภาวะที่ได้ปริมาณโปรตีนและค่าระดับการย่อยสูงที่สุดในการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาณโปรตีนและระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 10, 20 และ 30 กรัม

| ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน (กรัม) | ปริมาณโปรตีน (กรัม)    | ร้อยละระดับการย่อยสลาย (%DH) <sup>ns</sup> |
|------------------------------|------------------------|--------------------------------------------|
| 10 (BR 10)                   | 0.89±0.01 <sup>a</sup> | 38.48±14.87                                |
| 20 (BR 20)                   | 1.20±0.06 <sup>b</sup> | 48.41±5.08                                 |
| 30 (BR 30)                   | 1.56±0.04 <sup>c</sup> | 48.47±0.29                                 |

a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแต่ละแถว แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

3.2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลจากการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 30 กรัม (BR 30) โดยแปรรยะเวลาการย่อย 3 ระดับ คือ 1 ชั่วโมง (1H), 3 ชั่วโมง (3H) และ 6 ชั่วโมง (6H) ผลการทดลองพบว่า มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.47, 1.53 และ 1.56 กรัม ตามลำดับ และร้อยละผลผลิตเท่ากับ 20.55, 21.41 และ 21.61 ตามลำดับ ซึ่งการย่อยที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ได้ค่าโปรตีนเฉลี่ยและร้อยละผลผลิตเฉลี่ยมากที่สุด แต่แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และระดับการย่อยสลายเท่ากับร้อยละ 68.60, 62.08 และ 62.21 ตามลำดับ ซึ่งการย่อยที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ได้ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนมากที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) และระดับการย่อยสลายลดลงและมีแนวโน้มคงที่ในการย่อยที่ระยะเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง ( $p > 0.05$ ) (ตารางที่ 5) จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อย่อยสาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลาจาก 3 - 6 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีน ระดับการย่อยสลาย และร้อยละผลผลิต ไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) และมีแนวโน้มคงที่ ซึ่งอาจเกิดจากสารตั้งต้นคือปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายผักกาดทะเลได้ถูกย่อยจนหมดหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ดังนั้น การย่อยที่ระยะเวลามากกว่า 3 ชั่วโมง จึงเป็นระยะเวลาที่เกินความจำเป็น สอดคล้องกับระดับการย่อยสลายของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*) ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ (Flavourzyme) มีค่าการย่อยสลายเพิ่มสูงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 0.5 - 12 ชั่วโมง โดยสูงสุดที่ 12 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 90.62 หลังจากย่อยต่อที่ 18 ชั่วโมง พบว่ามีค่าการย่อยสลายลดลงเป็น 66.60 และเริ่มคงที่ (อุไรวรรณ และคณะ, 2563) เช่นเดียวกับงานวิจัยของจินดาพรและคณะ (2558) ในการย่อยโปรตีนเห็ดนางรมด้วยเอนไซม์โบรมิเลนที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 20 ด้วยระยะเวลา 0 - 12 ชั่วโมง พบว่าการย่อยที่ 0 - 3 ชั่วโมง มีค่าการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยสูงสุดที่ 6 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 65.32 หลังจากย่อยต่อที่ 12 ชั่วโมง การย่อยสลายมีแนวโน้มลดลงเป็น 62.11 ทั้งนี้เพราะอัตราการเกิดปฏิกิริยาขึ้นกับปริมาณเอนไซม์ตั้งต้นและระยะเวลาการเข้าทำปฏิกิริยา เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยาจนถึงระดับหนึ่งแล้ว ค่าการย่อยสลายจะลดลงและคงที่ เพราะปริมาณเอนไซม์มีมากกว่าโปรตีนที่มีอยู่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อความสามารถของเอนไซม์ในช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น นอกจากนี้ระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นส่งผลให้ได้กรดอะมิโนและเปปไทด์มากขึ้น ซึ่งเปปไทด์บางชนิดมีความคงตัวสูงจึงไม่ถูกย่อยสลายต่อ และผลิตภัณฑ์ที่ได้ อาจไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้การตัดจำเพาะในสายเปปไทด์ลดลงเอนไซม์ไม่สามารถทำงานต่อได้ (แพรวไพลิน, 2552) นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์โบรมิเลนมีความจำเพาะต่อชนิดของกรดอะมิโนภายในพันธะเปปไทด์ สามารถย่อยพันธะระหว่างกรดอะมิโนอะลานีนกับอาร์จินีน และอะลานีนกับกลูตามีน แต่ไม่สามารถย่อยพันธะระหว่างกรดอะมิโนอาร์จินีนกับอาร์จินีน และไลซีนกับไทโรซีนได้ (Kunst, 2003)

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีน ผลผลิต และระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเลที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง

| ระยะเวลาการย่อย<br>(ชั่วโมง) | ปริมาณโปรตีน<br>(กรัม) <sup>ns</sup> | ร้อยละผลผลิต<br>(%yield) <sup>ns</sup> | ร้อยละระดับการย่อยสลาย<br>(%DH) |
|------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------|
| 1 (1H)                       | 1.47±0.07                            | 20.55±3.79                             | 68.60±2.19 <sup>b</sup>         |
| 3 (3H)                       | 1.53±0.05                            | 21.41±3.48                             | 62.08±4.52 <sup>a</sup>         |
| 6 (6H)                       | 1.56±0.01                            | 21.61±0.63                             | 62.21±4.00 <sup>a</sup>         |

a, b, ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแนวนอน แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

### 3.3 ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

หลังจากทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการย่อยด้วยระยะเวลา 1, 3 และ 6 ชั่วโมง นำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (ภาพที่ 8) ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพของผงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเล (FD) ดังนี้



ภาพที่ 8 โปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเลที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying)

#### 3.3.1 ผลการศึกษาความสามารถในการละลาย (Solubility)

การวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของผงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเล (FD) (ตารางที่ 6) พบว่า ผงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเลทุกตัวอย่างละลายน้ำได้อย่างสมบูรณ์เมื่อใช้ระยะเวลาตั้งแต่ 3.32 – 4.76 นาที โดยระยะเวลาในการย่อยทั้ง 3 ระดับ มีค่าความสามารถในการละลายไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) แต่การย่อยที่ 3 ชั่วโมง ให้ค่าความสามารถในการละลายเฉลี่ยเร็วที่สุด คือ 3.32 นาที ดังนั้น ระยะเวลาในการย่อยที่มากขึ้นไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายฝักกาดทะเล สอดคล้องกับงานวิจัยของวิจิตร และคณะ (2564) ในการศึกษาสมบัติการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ดนางฟ้าโดยย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสเข้มข้นร้อยละ 5 ที่ระยะเวลาการย่อย 0 – 12 ชั่วโมง พบว่าสมบัติการละลายไม่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถอธิบายว่าเมื่อโปรตีนถูกย่อยสลาย โครงสร้างของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยเกิดการเปลี่ยนหมู่ของโปรตีนจากไม่มีขั้วเป็นหมู่ที่มีขั้ว ทำให้จำนวนหมู่ที่มีขั้วมากขึ้น (Kristinsson and Rasco, 2000) นอกจากนี้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ คลายตัว

เป็นเพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและกรดอะมิโน สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้ โปรตีนไฮโดรไลเซทจึงมีความสามารถในการละลายได้ดี (Wu *et al.*, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ย่อยระยะเวลา 1 ชั่วโมง มีค่าระดับการย่อยสลายสูงสุดจากข้อ 3.2

**ตารางที่ 6** ความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง

| ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง) | ความสามารถในการละลาย (นาที) <sup>ns</sup> |
|---------------------------|-------------------------------------------|
| 1 (1H)                    | 4.53±1.14                                 |
| 3 (3H)                    | 3.32±1.42                                 |
| 6 (6H)                    | 4.76±2.06                                 |

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

3.3.2 ผลการศึกษาความสามารถในการเกิดโฟม (Foam capacity) และ ความคงตัวของโฟม (Foam stability)

การวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟมของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเล (ตารางที่ 7) พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลทุกระยะเวลาในการย่อยมีความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟมไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) แต่จะพบว่าที่ระยะเวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง ความสามารถในการเกิดโฟมเฉลี่ยและความคงตัวของโฟมเฉลี่ยดีที่สุดที่ร้อยละ 37.86 และ 28.81 ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ พัสตราภรณ์ และคณะ (2559) ในการศึกษาสมบัติด้านอนุโมลิสระและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากกากทานตะวันที่ย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนและ ฟลาโวไซม์ พบว่าความสามารถในการเกิดโฟมจะลดลงเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ดังนั้น ระยะเวลาในการย่อยที่มากขึ้นไม่มีผลต่อความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเล แต่ขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลาย เนื่องจากระดับการย่อยสลายสูงให้เพปไทด์มีขนาดเล็กทำให้โครงสร้างของโปรตีนไม่แข็งแรงพอที่จะกักเก็บอากาศไว้ได้มากและคงความคงตัวของโฟมไว้ได้ โดยโฟมเกิดจากการที่โปรตีนละลายอยู่ในของเหลวเคลื่อนที่มาบริเวณผิวรอยต่อระหว่างอากาศและน้ำหรือของเหลวที่มีขี้ โปรตีนจะเคลือบตัวเป็นฟิล์มบางจัดเรียงตัวโดยหันส่วนที่ไม่มีขี้สู่อากาศและหันส่วนที่มีขี้สู่น้ำ ส่งผลให้โปรตีนสามารถกักเก็บฟองอากาศไว้ในโครงสร้างและฟองกระจายตัวอยู่ในของเหลวได้ (เกียรตติศักดิ์ และบุรณิตร, 2557)

**ตารางที่ 7** ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมจากโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง

| ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง) | ความสามารถในการเกิดโฟม (ร้อยละ) <sup>ns</sup> | ความคงตัวของโฟม (ร้อยละ) <sup>ns</sup> |
|---------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 (1H)                    | 35.70±13.74                                   | 26.52±6.21                             |
| 3 (3H)                    | 37.86±7.82                                    | 28.81±3.81                             |
| 6 (6H)                    | 34.84±9.42                                    | 25.63±5.28                             |

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

### 3.3.3 ผลการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งรายงานเป็นค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ และเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid แสดงดังตารางที่ 8 พบว่า การย่อยที่ 1, 3 และ 6 ชั่วโมง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 3.60, 5.89 และ 7.46 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid เท่ากับ 0.34, 0.55 และ 0.70 ตามลำดับ โดยการย่อยที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงให้ค่าสูงที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งระยะเวลาการย่อยมีผลต่อประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับการย่อยสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*) ด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ที่ระยะเวลาต่างกันแสดงการต้านอนุมูลอิสระต่างกัน โดยมีแนวโน้มการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และสูงสุดเมื่อย่อยนานที่สุด (อุไรวรรณ และคณะ, 2563) เนื่องจากระยะเวลาการย่อยที่มากขึ้นทำให้ย่อยสลายโปรตีนเป็นเปปไทด์สายสั้นลง และมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น กรดอะมิโนที่อยู่ปลายสายเปปไทด์สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

**ตารางที่ 8** สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง

| ระยะเวลาการย่อย<br>(ชั่วโมง) | ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ | การต้านอนุมูลอิสระเทียบกับ Ascorbic Acid<br>(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) |
|------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 1 (1H)                       | 3.60±0.39 <sup>a</sup>   | 0.34±0.04 <sup>a</sup>                                            |
| 3 (3H)                       | 5.89±0.99 <sup>b</sup>   | 0.55±0.09 <sup>b</sup>                                            |
| 6 (6H)                       | 7.46±1.43 <sup>c</sup>   | 0.70±0.13 <sup>c</sup>                                            |

a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

### 4. ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน (Amino Profile)

จากการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพ เพื่อคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลในสภาวะการผลิตที่เหมาะสมวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน โดยได้คัดเลือกสภาวะการย่อยที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง เนื่องจากความสามารถในการละลายเฉลี่ย ความสามารถในการเกิดโฟมเฉลี่ย และความคงตัวของโฟมเฉลี่ย ดีกว่าการย่อยที่ระยะเวลา 1 และ 6 ชั่วโมง ( $p > 0.05$ ) และมีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยและร้อยละผลผลิตเฉลี่ยสูงใกล้เคียงกับสภาวะการย่อยที่ 6 ชั่วโมง ถึงแม้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะน้อยกว่าการย่อยที่ 6 ชั่วโมง ( $p \leq 0.05$ ) นำโปรตีนไฮโดรไลเซตในสภาวะที่คัดเลือกวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน พบกรดอะมิโน จำนวน 16 ชนิด (ตารางที่ 9) เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ไอโซลิวซีน (Isoleucine) ลิวซีน (Leucine) เฟนิลอะลานีน (Phenylalanine) ทรีปโทเฟน (Tryptophan) วาลีน (Valine) อาร์จินีน (Arginine) ไลซีน (Lysine) และทรีโอนีน (Threonine) กรดอะมิโนไม่จำเป็น จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ออลานีน (Alanine) กรดกลูตามิก (Glutamic acid) กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) ไกลซีน (Glycine) โพรลีน (Proline) ซีรีน (Serine) และไทโรซีน (Tyrosine) กรดอะมิโนที่มีมากที่สุด ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) และกรดกลูตามิก (Glutamic acid) มีค่าเท่ากับ 678.21 และ 637.94 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ โดยกรดอะมิโนแต่ละชนิดจะให้กลิ่นรสที่แตกต่างกัน กรดอะมิโนกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสชาติที่ดี เรียกว่า อูมามิ (Umami) (รัชวรรณ, 2555) นอกจากนี้ ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเซตมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ต่าง ๆ ได้แก่ กรดอะมิโนในกลุ่มที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เนื่องจากในขั้นตอนการเกิดโฟมโปรตีนจะเกิดการคลายเกลียวทำให้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำหันไปจับกับโครงสร้างที่เป็นอากาศ และส่วนที่ชอบน้ำจะจับกับส่วนที่เป็น

ของเหลว ทำให้เกิดเป็นฟิล์มห่อหุ้มรอบๆ อากาศไว้ได้ จึงทำให้มีความสามารถในการเกิดโฟมมากขึ้น ส่วนกรดอะมิโนที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีมีหมู่ไซข้างที่มีวงแหวน (Aromatic ring) ซึ่งมีไฮโดรเจนอะตอมที่สามารถถูกดึงออกได้ง่าย ทำให้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

**ตารางที่ 9** องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ได้จากการคัดเลือกจากความสามารถในการละลาย การเกิดโฟม การคงตัวของโฟม และการต้านอนุมูลอิสระ

| ชนิดกรดอะมิโน                              | ปริมาณกรดอะมิโน<br>(มิลลิกรัม/100 กรัม ตัวอย่าง) |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| <u>กรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic)</u> |                                                  |
| ไอโซลิวซีน (Isoleucine)                    | 277.25                                           |
| ลิวซีน (Leucine)                           | 311.88                                           |
| เฟนิลอะลานีน (Phenylalanine)*              | 254.47                                           |
| ทริปโทเฟน (Tryptophan)*                    | <150.00                                          |
| วาเลีน (Valine)                            | 347.75                                           |
| อลานีน (Alanine)                           | 381.67                                           |
| โพรลีน (Proline)                           | 269.15                                           |
| <u>กรดอะมิโนชอบน้ำ (Hydrophilic)</u>       |                                                  |
| อาร์จินีน (Arginine)                       | 261.43                                           |
| ไลซีน (Lysine)                             | 399.69                                           |
| ทรีโอนีน (Threonine)                       | 268.29                                           |
| กรดกลูตามิก (Glutamic acid)                | 637.94                                           |
| กรดแอสพาร์ติค (Aspartic acid)              | 678.21                                           |
| ไกลซีน (Glycine)                           | 361.05                                           |
| ซิสทีน (Cystine)                           | 216.36                                           |
| ไทโรซีน (Tyrosine)*                        | 320.11                                           |
| ซีรีน (Serine)                             | 369.54                                           |

\* กรดอะมิโนที่มีโครงสร้างเป็น Aromatic ring

## 5. ผลการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ได้จากการคัดเลือกข้อ 2.3.4 นำไปทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ 2 ผลิตภัณฑ์ ดังนี้

### 5.1 เมอแรงค์สูตรลดน้ำตาลผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

เนื่องจากสมบัติที่ดีในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม จึงเลือกนำมาพัฒนาเป็นเมอแรงค์โดยเมอแรงค์ (Meringue) เป็นขนมที่มีความหวาน น้ำหนักเบา มีฟองอากาศแทรกอยู่ภายใน เนื้อสัมผัสกรอบและละลายในปาก ซึ่งเมอแรงค์มีส่วนประกอบหลัก คือ ไข่ขาว และน้ำตาลทราย (ขวัญชนก, 2561) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวในการเกิดโฟม โดยการตีไข่ขาวทำให้โปรตีนไข่ขาวเสียสภาพธรรมชาติ (Protein denaturation) เนื่องจากแรงกล ทำให้โปรตีนคลายตัวกักเก็บอากาศไว้มีลักษณะเป็นโฟมโปร่งฟู (อธิป

และ นภัทร, 2561) และเติมน้ำตาลลงไปในโพน ซึ่งน้ำตาลจะมีผลต่อความคงตัวของโพนและความแน่นแข็งของเนื้อเมอแรงค์ ซึ่งในการศึกษานี้ ทำการดัดแปลงสูตรเมอแรงค์จากสูตรพื้นฐานของขวัญชนก (2561) โดยลดน้ำตาลลงร้อยละ 50 จำนวน 2 สูตร คือ สูตรที่ไม่ใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล (NP) และสูตรที่ใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล 1 กรัม (ร้อยละ 2.16) (PH) โดยนำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากข้อ 2.3.4 มาผลิตเมอแรงค์ เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงโครงสร้างของโพนแทนการใช้น้ำตาล จากนั้นนำไปทดสอบ ดังนี้

- ค่าความแข็ง (Hardness)

ค่าความแข็ง วัดจากค่าแรงที่กดลงบนตัวอย่างที่ทำให้ตัวอย่างเสียรูป เป็นการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างเมอแรงค์ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาด (NP) และเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาด (HP) พบว่า เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล (ภาพที่ 9) ให้ค่าความแข็ง 453.65 กรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าเมอแรงค์ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล มีค่าความแข็ง 261.42 กรัม ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากน้ำตาลมีส่วนสำคัญต่อความคงตัวของโพนและความแน่นแข็งของเนื้อเมอแรงค์ จากผลการทดลอง เมอแรงค์สูตร (HP) มีค่าความแข็งมากกว่าเมอแรงค์สูตร (NP) แสดงว่าการใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเลสามารถช่วยการปรับปรุงโครงสร้างของโพนแทนการใส่น้ำตาลปริมาณได้

**ตารางที่ 10** ค่าความแข็งของเมอแรงค์ที่ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเลและเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

| ตัวอย่าง                                                | ค่าความแข็ง (กรัม)        |
|---------------------------------------------------------|---------------------------|
| เมอแรงค์ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล (NP) | 261.42±25.31 <sup>a</sup> |
| เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล (HP)    | 453.65±29.92 <sup>b</sup> |

<sup>a, b</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )



**ภาพที่ 9** เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

- ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส จากตารางที่ 11 พบว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง จำนวน 42 คน คิดเป็นร้อยละ 84 มีอายุ 50 ปีขึ้นไป จำนวน 26 คน คิดเป็นร้อยละ 32 มีรายได้ต่อเดือน 15,000 - 40,000 บาท จำนวน 39 คน คิดเป็นร้อยละ 78 ความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบที่มีต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีน

ไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาด พบว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้คะแนน 8 คะแนน (ชอบมาก) จำนวน 22 คน คิดเป็นร้อยละ 44 และ 7 คะแนน (ชอบปานกลาง) จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 38 โดยผู้ทดสอบชอบกลิ่น กลิ่นรสเฉพาะของสาหร่าย เนื้อสัมผัสที่กรอบ และละลายในปาก

ดังนั้น เมื่อพิจารณาจากการทดสอบด้านประสาทสัมผัส ทำให้ทราบว่าเมอแรงค์ผสมโปรตีน ไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคยอมรับ และดีต่อสุขภาพ เนื่องจากไม่มีการผสมแป้ง และลดปริมาณน้ำตาลลง โดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลทดแทนเพื่อช่วยในการคงตัว และยังได้กลิ่นรสเฉพาะของสาหร่ายผักกาดทะเล ซึ่งผู้ทดสอบชอบและให้การยอมรับ

**ตารางที่ 11** ผลการสำรวจความชอบโดยรวมต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

| ข้อมูล                         | ความถี่ (คน) | ร้อยละ |
|--------------------------------|--------------|--------|
| 1. เพศ                         |              |        |
| ชาย                            | 8            | 16.00  |
| หญิง                           | 42           | 84.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |
| 2. อายุ                        |              |        |
| 20-29                          | 9            | 18.00  |
| 30-39                          | 14           | 28.00  |
| 40-49                          | 11           | 22.00  |
| 50 ปีขึ้นไป                    | 26           | 32.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |
| 3. รายได้ต่อเดือน              |              |        |
| น้อยกว่าหรือเท่ากับ 15,000 บาท | 5            | 10.00  |
| 15,000-40,000                  | 39           | 78.00  |
| มากกว่า 40,000 บาท             | 6            | 12.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |
| 4. ความชอบโดยรวม               |              |        |
| 9 คะแนน ชอบมากที่สุด           | 9            | 18.00  |
| 8 คะแนน ชอบมาก                 | 22           | 44.00  |
| 7 คะแนน ชอบปานกลาง             | 19           | 38.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |

## 5.2 ขอสหสียุผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซตมีกรดอะมิโนกรดแอสพาร์ติกและกรดกลูตามิกสูง ซึ่งกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้ให้รสชาติที่ดี เรียกว่า อูมามิ และมีกลิ่นรสเฉพาะของสาหร่ายผักกาดทะเล จึงเลือกนำมาผลิตขอสหสียุ โดยสหสียุ (Tsuyu) คือ ขอสที่รับประทานกับอาหารญี่ปุ่นประเภทเส้น โดยมีส่วนผสมหลัก ได้แก่ โชยุ มิริน และดาชิ ซึ่งในส่วนผสมที่เรียกว่าดาชิ เป็นส่วนผสมที่ช่วยในการปรุงรสทำให้อาหารมีรสชาติกลมกล่อม ดาชิมักทำจากปลาโอ สาหร่ายคอมบุ ปลาตัวเล็ก เช่น ปลาซาร์ดีน แอนโชวีญี่ปุ่น หรือปลากระดัก และเห็ดชิตาเกะ หรือเห็ดหอมตากแห้ง นำไปเผา ร่มควัน อบแห้ง หรือตากแห้ง แล้วนำไปเคี่ยวจนได้เป็นซุ๊ป โดยนิยมใช้เป็นซุ๊ปตั้งต้นเพื่อนำไปประกอบอาหารในญี่ปุ่น ซึ่งในการศึกษานี้ ทำการผลิตขอสหสียุโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซต

สำหรับผักกาดทะเล จากข้อ 2.3.4 ปริมาณร้อยละ 2 แทนดาซี เพื่อให้ได้ข้อสงสัยที่มีกลิ่นรสเฉพาะตัวของ สำหรับผักกาดทะเล โดยให้ผู้ทดสอบใส่เส้นราเมนลงในข้อสงสัยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสำหรับผักกาดทะเลในรูปแบบการรับประทานซารุ ราเมน (ภาพที่ 10) เพื่อให้ผู้บริโภคมชิมและตอบแบบสอบถาม ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส จากตารางที่ 12 พบว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง จำนวน 42 คน คิดเป็นร้อยละ 84 มีอายุ 30-39 ปี และ 50 ปีขึ้นไป จำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 30 มีรายได้ต่อเดือน 15,000- 40,000 บาท จำนวน 36 คน คิดเป็นร้อยละ 72 ความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบที่มีต่อข้อสงสัยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก สำหรับผักกาดทะเล พบว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้คะแนน 8 คะแนน (ชอบมาก) จำนวน 27 คน คิดเป็นร้อยละ 54 โดยผู้ทดสอบชอบกลิ่น กลิ่นรสเฉพาะของสำหรับ และความเข้มข้นของข้อสงสัยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสำหรับผักกาดทะเล ดังนั้น การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสำหรับผักกาดทะเล สามารถใช้แทนส่วนผสมดาซีได้ โดยให้กลิ่นรสเฉพาะตัวของสำหรับผักกาดทะเล ช่วยลดขั้นตอนที่ซับซ้อนของการเตรียมซาดาซีญี่ปุ่น สะดวกต่อการใช้งาน ลดการนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น และปราศจากส่วนผสมของสารปรุงแต่งอื่น ๆ

**ตารางที่ 12** ผลการสำรวจความชอบโดยรวมต่อข้อสงสัยผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสำหรับผักกาดทะเล

| ข้อมูล                         | ความถี่ (คน) | ร้อยละ |
|--------------------------------|--------------|--------|
| 1. เพศ                         |              |        |
| ชาย                            | 8            | 16.00  |
| หญิง                           | 42           | 84.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |
| 2. อายุ                        |              |        |
| 20-29                          | 9            | 18.00  |
| 30-39                          | 15           | 30.00  |
| 40-49                          | 11           | 22.00  |
| 50 ปีขึ้นไป                    | 15           | 30.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |
| 3. รายได้ต่อเดือน              |              |        |
| น้อยกว่าหรือเท่ากับ 15,000 บาท | 4            | 8.00   |
| 15,000-40,000                  | 36           | 72.00  |
| มากกว่า 40,000 บาท             | 10           | 20.00  |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |
| 4. ความชอบโดยรวม               |              |        |
| 9 คะแนน ชอบมากที่สุด           | 8            | 16.00  |
| 8 คะแนน ชอบมาก                 | 27           | 54.00  |
| 7 คะแนน ชอบปานกลาง             | 10           | 20.00  |
| 6 คะแนน ชอบเล็กน้อย            | 4            | 8.00   |
| 5 คะแนน เฉยๆ                   | 1            | 2.00   |
| รวมทั้งสิ้น                    | 50           | 100.00 |



(ก)



(ข)

**ภาพที่ 10** (ก) เมนูซารุ ราเมน โดยใช้ซอสทสึยุผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล  
 (ข) การจัดตัวอย่างทดสอบความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบต่อซอสทสึยุผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

### สรุปผลการทดลอง

1. สาหร่ายผักกาดทะเลที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน เมื่อเก็บเกี่ยวในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ มีค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 84.32 – 91.32 มีไขมัน, เกล็ด, เยื่อใย และโปรตีนร้อยละ 0 - 0.35, 10.20 - 30.07, 7.41 - 10.85 และ 10.60 - 31.65 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสาหร่ายผักกาดทะเลระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 21 วัน มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด
2. ผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง มีโปรตีนร้อยละ 23.38 ของน้ำหนักแห้ง
3. ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล จากผงสาหร่ายผักกาดทะเล น้ำหนัก 5 กรัม ใช้เวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง อุณหภูมิ 50 °C คือ 30 กรัม ได้ค่าโปรตีนเฉลี่ยมากที่สุด 1.56 กรัม ( $p \leq 0.05$ ) และให้ค่าระดับการย่อยสลายที่ไม่แตกต่างกันจากเอนไซม์โบรมิเลน ปริมาณ 10 และ 20 กรัม
4. โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล จากผงสาหร่ายผักกาดทะเล น้ำหนัก 5 กรัม ย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 30 กรัม ระยะเวลาการย่อย 1, 3 และ 6 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนและ ร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) แต่การย่อยที่ 1 ชั่วโมงให้ระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงที่สุด ( $p \leq 0.05$ )
5. โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล ที่ย่อยนาน 1, 3 และ 6 ชั่วโมง มีค่าความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟม ไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ )
6. โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ย่อยนาน 6 ชั่วโมง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ สูงที่สุด ร้อยละ 7.46 และเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid เท่ากับ 0.70 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ( $p \leq 0.05$ )
7. โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลในสภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุด คือ การใช้เอนไซม์โบรมิเลน ปริมาณ 30 กรัม ระยะเวลาย่อย 3 ชั่วโมง มีกรดอะมิโน จำนวน 16 ชนิด โดยกรดอะมิโนที่มีมากที่สุด ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) และ กรดกลูตามิก (Glutamic acid) มีค่าเท่ากับ 678.21 และ 637.94 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ
8. เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล ร้อยละ 2.16 มีค่าความแข็ง 453.65 กรัม มากกว่าเมอแรงค์ไม่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลมีค่าความแข็ง 261.42 กรัม ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้คะแนน 8 คะแนน (ชอบมาก) จำนวน 22 คน คิดเป็นร้อยละ 44 และ 7 คะแนน (ชอบปานกลาง) จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 38 โดยผู้ทดสอบชอบกลิ่น กลิ่นรสเฉพาะของสาหร่าย และเนื้อสัมผัส
9. ซอสหอยนางรมผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล ร้อยละ 2 ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้คะแนน 8 คะแนน (ชอบมาก) จำนวน 27 คน คิดเป็นร้อยละ 54 โดยผู้ทดสอบชอบกลิ่น กลิ่นรสเฉพาะของสาหร่าย และความเข้มข้นของซอสหอยนางรมผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

### เอกสารอ้างอิง

- กุลยา ลิมรุ่งเรืองรัตน์, สมถวิล จริตควร, อโนชา สุขสมบุรณ์ และ บงกช วรรณะภูมิ. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปแบบไม่ทอดเพื่อสุขภาพเสริมสาหร่าย. โครงการวิจัย, มหาวิทยาลัยบูรพา. 123 หน้า.
- เกียรติศักดิ์ ดวงมัลย์ และ บุรฉัตร ศรีทองแท้. 2557. การดัดแปรสมบัติของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสและการประยุกต์ใช้. วารสารวิทยาศาสตร์ มข 42 (2): 274 - 288.
- ขวัญชนก เกิดทิพย์. 2561. การประยุกต์ใช้เทคนิคการกระจายหน้าที่เชิงคุณภาพในการพัฒนาขนมเมี่ยงแห้งเพื่อสุขภาพ. สารนิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 125 หน้า.
- จินดาพร คงเดช, ญัฏฐา เล่าหกุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2558. คุณลักษณะทางกายภาพเคมีและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนเห็ดนางรมที่ไฮโดรไลซ์ด้วยโบรมิเลน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 46 (3)(พิเศษ): 157 - 160.
- ธงชัย พุ่มทองศิริ และ ศิริพร ไชยสงคราม. 2556. สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยเอนไซม์. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 81 หน้า.
- นิรนาม. 2565. นีร่อนมาทำ “หมี่เย็น” กินกัน. แหล่งที่มา: [https://krua.co/video\\_post/zaru-ramen-video-and-recipe](https://krua.co/video_post/zaru-ramen-video-and-recipe). 15 ธันวาคม 2567.
- พชร การะเกตุ. 2559. 11 โปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลและปลากะพง: สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอชอี. ค้นคว้าอิสระการศึกษามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยนเรศวร. 154 หน้า.
- พัสดราภรณ์ ทองอัมพงษ์, ญัฏฐา เล่าหกุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2559. สมบัติต้านอนุมูลอิสระและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากกากทานตะวันที่ไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์โบรมิเลนและ Flavourzyme. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 39 (4): 565 - 583.
- แพรวไพลิน ต้นติบุตร. 2552. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดด้วยเอนไซม์โบรมิเลน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 157 หน้า.
- มนทกานติ ท้ามตัน, ชัชวาลิ ชัยศรี, ประพัฒน์ กอสวัสดิ์พัฒน์, จีรรัตน์ เกื้อแก้ว และ นฤา ไล่ทองคา. 2559. คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) และการประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12/2559. กองวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 24 หน้า.
- รัชวรรณ ฐานัตถวงศ์เจริญ. 2555. สารปรุงแต่งกลิ่นรสและสารต้านอนุมูลอิสระจากโปรตีนไฮโดรไลเซตสาหร่ายไส้ไก่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 158 หน้า.
- วรพงษ์ อัสวเกศมณี. 2538. การผลิตเปปไทด์จากหัวกุ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 83 หน้า.
- วรางคณา สมพงษ์. 2549. การผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจากของเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ. โครงการวิจัย, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 90 หน้า.
- วิจิตรา เหลียวตระกูล, วชิรญา เหลียวตระกูล และ จิระประภา แสงอยู่. 2564. สมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดนางฟ้าโดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสและน้ำร้อน. โครงการวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. 48 หน้า.
- ศัลยา คงสมบูรณ์เวช. 2546. อาหารฟังก์ชันและการส่งเสริมสุขภาพ. วารสารโภชนาบำบัด 14 (1): 6 - 17.

- ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2565. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายผักกาดทะเลแบบครัวเรือน. กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 18 หน้า.
- สุวรรณ วาสิน, ชวชัย ศรีวิชัย, อรุณ ศรีอนันต์ และ ภาคภูมิ วงศ์แข็ง. 2552. สัญฐานวิทยาการเลี้ยงและการนำมาใช้ประโยชน์ของสาหร่ายผักกาดทะเล *Uva rigida* C. Agardh, 1823. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2552. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 24 หน้า.
- เสาวภา จันทะเทศ. 2557. โปรตีนไฮโดรไลเสตชนิดผงแห้งจากเนื้ออกไก่ด้วยปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะด้วยเอนไซม์โปรติเอสเพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มต้นแบบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 126 หน้า.
- อติป บุญศิริวิทย์ และ นภัทร ศรีธรรมย์. 2561. การผลิตขนมอบจากไข่ขาวประเภทมาการองโดยใช้ถั่วลิสงผงและเม็ดมะม่วงหิมพานต์ผงทดแทนอัลมอนด์ผง. วารสารวิทยาลัยดุสิตธานี. 12 (2): 182 - 192.
- อุไรวรรณ วัฒนกุล, วัฒนา วัฒนกุล, วรณิณี จันทะแก้ว และ ผ่องศรี พัฒนภูมิ. 2563. สารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปสาหร่ายก้ามกุ้งแผ่นที่ผ่านการไฮโดรไลเซต. โครงการวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 66 หน้า.
- เอกราช บำรุงพิชัย. 2554. เรียนรู้เรื่องอาหารฟังก์ชันนอล...อาหารส่งเสริมสุขภาพ. วารสารพยาบาลทหารบก. 12 (2): 2 - 4.
- Al-Kahtani, H. A. and B. H. Hassan. 1990. Spray Drying of Reselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Extract. *J. Food Sci.* 55 (4): 1073 - 1076.
- Arno G. B. W., I. Rombouts, E. Fierens, K Brijns and J. A. Delcour. 2018. Enzymatically Hydrolyzed Wheat Gluten as a Foaming Agent in Food: Incorporation in a Meringue Recipe as a Proof-of-Concept. *J. Food Sci.* 83 (8): 2119 - 2126.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2023a. Official Method 950.46. Loss on Drying (Moisture) in Meat.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2023b. Official Method 991.36. Fat (Crude) in Meat and Meat Products.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2023c. Official Method 978.10. Fiber (Crude) in animal feed and pet food.
- Baharuddin, N. A., N. R. A. Halim. and N. M. Sarbon. 2016. Effect of Degree of Hydrolysis (DH) on The Functional Properties and Angiotensin I – Converting (ACE) Inhibitory Activity of Eel (*Monopterus* sp.) Protein Hydrolysate. *Int. Food Res. J.* 23 (4): 1424 - 1431.
- Bailey, J. 1967. Techniques in Protein Chemistry. (2 nd Edition). Elsevier Publishing Company, New York. 406 pp.
- Damodaran, S. 1996. Amino Acids, Peptides and Proteins. In: O. R. Fennema (eds.). Food Chemistry 3rd Edition. CRC Press, New York. pp. 321 - 416.
- Greenberg, N. A. and W. F. Shipe. 1979. Comparison of Abilities of Trichloroacetic, Picric, Sulphosalicylic and Tungstic Acids to Precipitate Protein Hydrolysates and Proteins. *J. Food Sci.* 44 (3): 735 - 737.

- Howell, N. K. 1996. Chemical and Enzymatic Modifications. In: S. Nakai and H.W.Modler (eds.). Food Proteins: Properties and Characterization. VCH Publishers, New York. pp. 235 - 280.
- Hung, Y. HR., G. W. Chen, C. L. Pan and H. TV. Lin. 2021. Production of Ulvan Oligosaccharides with Antioxidant and Angiotensin-Converting Enzyme-Inhibitory Activities by Microbial Enzymatic Hydrolysis. *Fermentation*. 7 (3): 160.
- International Organization for Standardization (ISO) 937. 1978. Meat and Meat Products - Determination of Nitrogen Content (Reference Method).
- International Organization for Standardization (ISO) 936. 1998. Meat and Meat Products Determination of Total Ash.
- Kristinsson, H. G. and B. A Rasco. 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Crit Rev Food Sci*. 40 (1): 43 - 81.
- Kunst, T. 2003. Protein Modification in Optimize Functionality: Protein Hydrolysates, In: Whitaker J, Voragen A. and Wong D. (Eds.), Handbook of Food Enzymology, New York. pp. 222 - 236.
- Moure, A., J. Sineiro, H. Dominguez, and J.C. Parajó. 2006. Functionality of Oilseed Protein Products: A review. *Food Res Int*. 39 (9): 945 - 963.
- Murachi, T. and H. Neurath, H. 1960. Fractionnation and Specificity Studies on Stem Bromelain. *J. Biol. Chem*. 235 (1): 99 - 107.
- Nielsen, P. M. 2010. Enzymes in Protein Modification. In: W.J. Robert and M. V. Oort (eds.). Enzymes in Food Technology. Wiley - Blackwell, New Jersey. pp. 292 - 319.
- Peterson, M. S. and A. H. Johnson. 1978. Encyclopedia of Food Technology and Food Science series. Vol 3. Encyclopedia of Food Science. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. 1005 pp.
- Shih, F. F. 1992. Modification of Food Proteins by Non-Enzymatic Methods. In: B. J. F. Hudson (eds.). Biochemistry of Food Proteins. Elsevier Applied Science, London. pp. 235 - 248.
- Silvestre, M. 1997. Review of Methods for The Analysis of Protein Hydrolysates. *Food chem*. 60 (2): 263 - 271.
- Wu, W.U., N. S. Hettiarachchy and M. Qi. 1998. Hydrophobicity, Solubility, and Emulsifying Properties of Soy Protein Peptides Prepared by Papain Modification and Ultrafiltration. *J. Am Oil Chem Soc*. 75 (7): 845 - 850.
- Yamada, F., I. N. Takahashi and T. Murachi. 1975. Purification and Characterization of a Proteinase from Pineapple Fruit, Fruit Bromelain FA2. *J. Biochem*. 79 (6): 1223 - 1234.

## ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



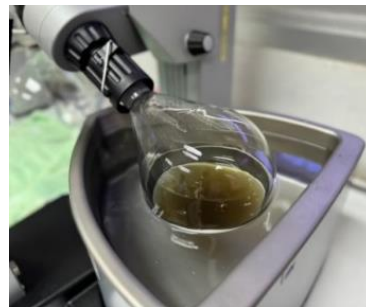
(จ)



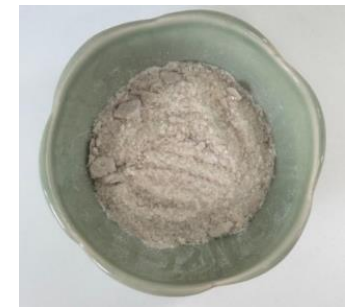
(ฉ)



(ช)



(ซ)



(ณ)

(ก) ผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง

(ข) ผสมผงสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้งกับน้ำกลั่น

(ค) ปรับค่าความเป็น กรด - ด่าง ให้มีค่าเท่ากับ 6

(ง) บ่มด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 °C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง (1H), 3 ชั่วโมง (3H) และ 6 ชั่วโมง (6H)

(จ) หยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 นาที

(ฉ) ได้ส่วนใสจากการปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยง 5,000 g อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 15 นาที

(ช) กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

(ซ) เก็บส่วนใสนำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหย

(ณ) ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง

**ภาคผนวก ข** การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity (DPPH) (Hung *et al.*, 2021)

- สารเคมี** 1. ดีฟีพีเอช (2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl:  $C_{18}H_{12}N_5O_6$ )  
2. เอทานอล (Ethanol:  $CH_3CH_2OH$ )

**การสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid**

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่ง Ascorbic acid 0.025 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรเก็บไว้เป็น Stock standard solution
2. สารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid (Stock standard solution) เพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานให้ได้ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมสารละลายมาตรฐานลงในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid ที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน
3. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM โดยชั่ง DPPH 0.0078 กรัม ละลายด้วยเอทานอล ร้อยละ 99 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid แต่ละความเข้มข้นจำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
5. เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปตั้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที
6. นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
7. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid กับค่าการดูดกลืนแสง

**การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน**

| ความเข้มข้นสารละลาย<br>Ascorbic acid<br>(มิลลิกรัมต่อลิตร) | ปริมาณสารละลาย Ascorbic acid<br>(มิลลิลิตร) | ปริมาตรน้ำกลั่น<br>(มิลลิลิตร) |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------|
| 0                                                          | 0                                           | 10                             |
| 5                                                          | 0.05                                        | 9.95                           |
| 10                                                         | 0.1                                         | 9.9                            |
| 20                                                         | 0.2                                         | 9.8                            |
| 30                                                         | 0.3                                         | 9.7                            |
| 40                                                         | 0.4                                         | 9.6                            |
| 50                                                         | 0.5                                         | 9.5                            |
| 100                                                        | 1                                           | 9                              |

### การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity

1. เตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซต 0.005 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตมา 4 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
2. เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิประมาณ 30 นาที สำหรับตัวอย่าง blank โดยทำเช่นเดียวกัน แต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง
3. นำหลอดทดลองที่เป็นสารละลายตัวอย่างและ blank ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
4. นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Ascorbic acid รายงานผลเป็นสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH แล้วคำนวณ %Radical Scavenging (เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ)

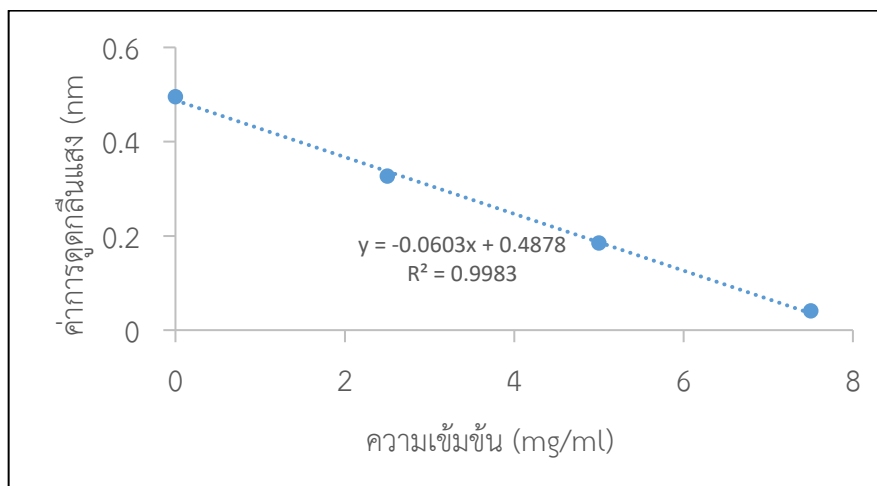
$$\text{การคำนวณ \% Radical Scavenging} = \frac{[1-(A-B)]}{C} \times 100$$

กำหนดให้ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง + DPPH

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง + ethanol

C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำกลั่น + DPPH

Set auto zero ด้วย น้ำกลั่น + ethanol



กราฟมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ภาคผนวก ค แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อ "เมอแรงค์" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อ "เมอแรงค์" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

คำอธิบาย: เมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

"เมอแรงค์" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล มีวัตถุดิบหลัก คือ ไข่ขาว และน้ำตาล โดยมีการลดปริมาณน้ำตาลลงและเติมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

### ส่วนที่ 1: ข้อมูลทั่วไป

เพศ

☐ ชาย

☐ หญิง

อายุ

☐ ต่ำกว่า 20 ปี ☐ 20 - 29 ปี ☐ 30 - 39 ปี ☐ 40 - 49 ปี ☐ 50 ปีขึ้นไป

รายได้เฉลี่ยต่อเดือน

☐ ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 15,000 บาท ☐ 15,001 - 40,000 บาท ☐ มากกว่า 40,000 บาท

### ส่วนที่ 2: การทดสอบด้านความชอบที่มีต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล

คำชี้แจง: กรุณาทดสอบเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล แล้วให้คะแนนความชอบโดยรวม โดยกำหนดให้คะแนนความชอบ ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง 6 = ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = ไม่ชอบปานกลาง 2 = ไม่ชอบมาก 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

ความชอบโดยรวมต่อเมอแรงค์ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายผักกาดทะเล .....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

ภาคผนวก ง แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อ "ซอสทสึยู" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อ "ซอสทสึยู" ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

คำอธิบาย: ซอสทสึยูผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

"ทสึยู (Tsuyu)" เป็นซอสใช้รับประทานกับอาหารญี่ปุ่นประเภทเส้น เช่น โซบะ โซเม่น ราเมน หรือ อุด้ง โดยปกติจะประกอบด้วยโชยุ มิริน และดาชิ แต่ซอสทสึยูผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล เป็นการใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเลทดแทนส่วนผสมที่เรียกว่าดาชิ

### ส่วนที่ 1: ข้อมูลทั่วไป

เพศ

☐ ชาย

☐ หญิง

อายุ

☐ ต่ำกว่า 20 ปี ☐ 20 - 29 ปี ☐ 30 - 39 ปี ☐ 40 - 49 ปี ☐ 50 ปีขึ้นไป

รายได้เฉลี่ยต่อเดือน

☐ ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 15,000 บาท ☐ 15,001 - 40,000 บาท ☐ มากกว่า 40,000 บาท

### ส่วนที่ 2: การทดสอบด้านความชอบที่มีต่อซอสทสึยูผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล

คำชี้แจง: กรุณาทดสอบซอสทสึยูผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล แล้วให้คะแนนความชอบโดยรวม โดยมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

1. นำเส้นราเมนใส่ในถ้วยที่มีซอสทสึยู
2. รับประทานเฉพาะเส้นราเมน
3. ให้คะแนนความชอบโดยรวม

กำหนดให้คะแนนความชอบ ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง 6 = ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ  
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = ไม่ชอบปานกลาง 2 = ไม่ชอบมาก 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

ความชอบโดยรวมต่อซอสทสึยูผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสาหร่ายฝักกาดทะเล .....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....