



การพัฒนากระบวนการผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยาม

Development of Biocalcium Production Process from Hybrid Catfish

(*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*) Bone

เจนจิรา นิเวศน์¹, เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน², วิจิตรา แดงปรก¹, กิตติมา ลีละพงศ์วัฒนา³,

สุธาสินี ญาณภักดี⁴ และธีระพล เสนพันธ์^{1*}

Jenjira Niwet¹, Kriangsak Mangumphon², Wichitra Daengprok¹, Kittima Leelapongwattana³,

Suthasinee Yarnpakdee and Theeraphol Senphan^{1*}

¹ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

¹ Program in Food Science and Technology, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University

² สาขาเทคโนโลยีประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University

³ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Division of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology, Phetchaburi Rajabhat University

⁴ สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ทางทะเล คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Division of Marine Product Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University

Received : 12 January 2021

Revised : 29 January 2021

Accepted : 5 February 2021

บทคัดย่อ

ไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาเป็นผลิตภัณฑ์แคลเซียมชนิดอินทรีย์ที่มีคุณภาพสูง การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากรรมวิธีการผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยาม (*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*) ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนต่อเนื่องกันดังนี้ 1) กระบวนการฉีดน้ำแรงดันสูง 2) กระบวนการแช่ในสารละลายต่าง 3) กระบวนการแช่ในตัวทำละลายเอทานอล 4) กระบวนการฟอกสีแล้วอบให้เป็นผงไบโอแคลเซียม จากนั้นนำกระดูกปลาจากทั้ง 4 กระบวนการข้างต้นไปวิเคราะห์ร้อยละผลผลิต องค์ประกอบทางเคมี ค่าสี การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และโครงสร้างทางจุลภาคพบว่าผงไบโอแคลเซียมที่ได้มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 14.466 % นอกจากนี้ผงไบโอแคลเซียมมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้นลดลง แต่กลับมีปริมาณเถ้า และค่าความสว่าง (L^*) เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามกระบวนการแช่กระดูกปลาในตัวทำละลายเอทานอลและฟอกสีแล้วอบให้เป็นผงไบโอแคลเซียมจะทำให้มีค่า Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) ลดลงอย่างมาก ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการก่อนหน้า และผงไบโอแคลเซียมที่ได้มีลักษณะเป็นก้อนขนาดเล็กขนาดประมาณ 2-10 ไมโครเมตร กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นกระบวนการข้างต้นมีความเหมาะสมที่จะทำได้มาซึ่งผงไบโอแคลเซียมที่มีคุณภาพดี เป็นผงละเอียด มีสีขาวบริสุทธิ์ ปราศจากกลิ่นคาวและกลิ่นเหม็นหืนสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมแคลเซียมได้

คำสำคัญ : กระดูกปลา ; กระบวนการ ; ไบโอแคลเซียม ; ปลาลูกผสมบีกสยาม



Abstract

Biocalcium from fish bones is a high quality of organic calcium product. The objective of this research was to develop a process for biocalcium production from hybrid catfish (*Pangasianodon gigas* x *Pangasianodon hypophthalmus*) bones including 4 steps: 1) high pressure water jet process 2) soaking in alkaline solution 3) ethanol immersion process and 4) bleaching and grinding to obtain biocalcium powder. %Yield, chemical composition, color values, lipid oxidation and the microstructure of all fish bone processes were analyzed. Obtained biocalcium had % yield of 14.46%. In addition, bio-calcium had a low protein, fat and moisture contents but increasing in ash content and the lightness values (L^*) were observed ($p \leq 0.05$). However, the process of ethanol immersion, bleaching and grinding to obtain biocalcium powder decreased in Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) values ($p \leq 0.05$) compared to the previous process. The particle sizes of biocalcium powder were in a range of 2-10 μm and distributed uniformly. Therefore, biocalcium production process of this study was suitable process to obtain a good quality biocalcium of fine powder, white color, without fishy and rancid odor. It can be developed as a calcium supplement in the further.

Keywords : biocalcium ; process ; fish bone ; hybrid catfish

บทนำ

ปลาลูกผสมบิกัสยาม (*Pangasianodon gigas x Pangasianodon hypophthalmus*) เป็นปลาที่มีการพัฒนาสายพันธุ์มาจากปลาบิก โดยนำปลาบิกสายพันธุ์แท้มาผสมกับปลาสวาย และคัดเลือกลักษณะพันธุ์หลาย ๆ รุ่นตามลำดับ จนได้เป็นปลาลูกผสมบิกัสยาม ซึ่งเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว คุณภาพเนื้อดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และทนต่อโรค ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงปลาลูกผสมบิกัสยาม เพื่อจำหน่ายทางการค้าเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อปลาแช่เยือกแข็ง และผลิตภัณฑ์แปรรูปต่าง ๆ เพื่อจำหน่ายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ สร้างรายได้อย่างมหาศาลให้กับกลุ่มเกษตรกรเพาะเลี้ยง และผู้ประกอบการ (Panase & Mengumphan, 2015) อย่างไรก็ตามหลังจากกระบวนการแปรรูปปลาลูกผสมบิกัสยาม จะเกิดวัสดุเศษเหลือ คือ โครงกระดูกปลา มากถึงร้อยละ 40 ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้ส่วนใหญ่ไม่ได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากย่อยสลายยาก และมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมรวมถึงมีค่าใช้จ่ายในการกำจัดที่สูงจึงนิยมนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ซึ่งมีราคาถูก (Luu & Nguyen, 2009) มีรายงานว่ากระดูกปลาลูกผสมบิกัสยาม มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง อุดมไปด้วยโปรตีน และแร่ธาตุที่สำคัญ คือ แคลเซียม และฟอสฟอรัส เป็นต้น (Logesh *et al.*, 2012) นอกจากนี้ผลึกแคลเซียมในกระดูกปลาส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($HA, Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) ซึ่งเป็นผลึกแคลเซียมรูปแบบเดียวกับที่พบในกระดูกมนุษย์ (Shi *et al.*, 2018) ส่วนแคลเซียมจากเปลือกไข่และเปลือกหอยจะอยู่ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต (Murakami *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามแคลเซียมจากแหล่งธรรมชาติเหล่านี้มีราคาถูกกว่ากลุ่มแคลเซียมคีเลต และแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งสามารถละลายน้ำได้เล็กน้อยและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดีที่ลำไส้ (Cross *et al.*, 2005) นอกจากกระดูกปลาจะเป็นวัสดุเศษเหลือที่มีแร่ธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสสูงแล้ว ยังพบว่ามีองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ได้แก่ คอลลาเจน และ คอนดรอยตินอีกด้วย ซึ่งคอลลาเจนเป็นสารกลุ่มโปรตีนจะมีกรดอะมิโนและอนุพันธุ์ของกรดอะมิโน คือ โปรลีน และไฮดรอกซีโปรลีน ตามลำดับ แคลเซียมที่จับเชื่อมต่อกับโครงสร้างคอลลาเจน (Calcium-binding proteins) จะสามารถดูดซึมร่วมกับผ่านทางลำไส้เล็กของหนูทดลองได้ดี (Vázquez *et al.*, 2013)

ไบโอแคลเซียม (Bio calcium) คือ สารประกอบอินทรีย์แคลเซียมที่มีสารประกอบอินทรีย์หลงเหลืออยู่ เนื่องจากผ่านกระบวนการแปรรูปไม่รุนแรงซึ่งใช้ความร้อนในระดับที่ต่ำทำให้ไบโอแคลเซียมที่ได้อุดมไปด้วยคอลลาเจนและเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ทำให้แคลเซียมถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่ลำไส้เล็กได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์อาหารเสริมแคลเซียมที่ใช้ความร้อนสูงจากการเผาเพื่อให้เหลือแต่สารประกอบอินทรีย์อย่างเดียว (Benjakul *et al.*, 2017) มีรายงานว่า Benjakul และคณะ (2017) ศึกษากระบวนการผลิตและคุณลักษณะของไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาทูน่าพันธุ์ทองแถบ (Skipjack tuna) ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาทูน่ากระป๋อง โดยนำกระดูกปลาทูน่าดังกล่าวมาผ่านกระบวนการชั่งน้ำด้วยเครื่องชั่งน้ำแรงดันสูงเพื่อกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน จากนั้นกำจัดไขมันด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ตามด้วยฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และลดขนาดด้วยการบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบดแบบลูกบอล (ball mill) ตามลำดับ ได้เป็นไบโอแคลเซียม จากนั้นเปรียบเทียบคุณลักษณะของไบโอแคลเซียมกับแคลเซียมจากกระดูกปลาทูน่าพันธุ์ทองแถบที่ผ่านกระบวนการเผาที่อุณหภูมิ 1,100 องศาเซลเซียส พบว่าแคลเซียมจากการเผามีปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสมากกว่าไบโอแคลเซียม แต่ไบโอแคลเซียมมีสมบัติการละลาย ฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการดูดซึมแคลเซียมในระบบจำลองการย่อยอาหารของร่างกายในหลอดทดลองสูงกว่าแคลเซียมที่ได้จากการเผา ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบิกัสยาม ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีมูลค่าสูง



วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมโครงกระดูกปลา

นำกระดูกแกน (axial skeleton) ของปลาลูกผสมบึงกษยาม หลังจากกระบวนการผลิตเนื้อปลาแล้วเนื้อแช่เยือกแข็งของบริษัทโลไฟ ฟาร์มแลนด์ จำกัด อำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ มาล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งสกปรก และเศษเนื้อที่ติดค้างอยู่จะได้กระดูกที่สะอาด ก่อนเก็บในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนแล้วนำไปบรรจุใส่ถังโฟมที่เติมน้ำแข็งในอัตราส่วนโครงกระดูกต่อ น้ำแข็ง 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้น้อยกว่า 4 องศาเซลเซียส ก่อนขนส่งมายังโรงงานนำร่องของสาขา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อเก็บรักษาไว้ในตู้แช่เยือกแข็ง (SF-PC997, Panasonic, Thailand) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (ไม่เกิน 2 เดือน) เพื่อนำมาศึกษากรรมวิธีการผลิตและคุณลักษณะของไบโอแคลเซียมต่อไป

2. การผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบึงกษยาม

ผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบึงกษยามโดยดัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างจาก Benjakul *et al.* (2017) นำตัวอย่างกระดูกปลาลูกผสมบึงกษยามแช่เยือกแข็งมาทำละลาย โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (24-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ก่อนใช้เครื่องชีดน้ำแรงดันสูง (Warrior101, Polo, China) มาชีดน้ำแรงดันสูงเพื่อกำจัดเศษเนื้อปลาที่ติดอยู่กับโครงกระดูกและล้างทำความสะอาด จะได้กระดูกปลาที่ผ่านกระบวนการชีดน้ำ (1) จากนั้นนำกระดูกปลาลูกผสมบึงกษยามไปต้มกับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 1% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในอัตราส่วนกระดูกต่อสารละลาย 1:10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหลายครั้งจนกระทั่งตัวอย่างมีค่าพีเอชเป็นกลาง (pH 7.0 – 7.5) จากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (FD56, Binder, China) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (ความชื้น $4.0 \pm 1.0\%$) และลดขนาดให้ได้ขนาดอนุภาคประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องบดของแห้ง (FDM303SS, Kenwood, Thailand) จะได้กระดูกปลาที่ผ่านกระบวนการล้างน้ำต่าง (2) จากนั้นนำกระดูกปลาที่ผ่านการบดแช่ในเอทานอล 95% ในอัตราส่วนกระดูกต่อตัวทำละลายเอทานอล 1: 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) กวนอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวน (OS20-S, Overhead Stirrer, China) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อทิ้งตัวทำละลาย ก่อนแยกเอากระดูกปลา โดยกระดูกปลาที่ผ่านการกรองตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) จนกว่ากลิ่นสารละลายจะหมดไปใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง จะได้กระดูกปลาที่ผ่านการแช่ตัวทำละลาย (3) จากนั้นนำกระดูกปลาไปแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เข้มข้นร้อยละ 1 (ปริมาตร/ปริมาตร) ในอัตราส่วนกระดูกต่อสารละลาย H_2O_2 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) กวนอย่างต่อเนื่องนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างทำความสะอาดด้วยน้ำก่อนนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (ความชื้น $4.0 \pm 1.0\%$) และบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดพินนิล (Retsch ZM1000, Centrifugal Grinding Mill, Singapore) จากนั้นร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 mesh จะได้เป็นผงไบโอแคลเซียม (4) เก็บไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟรอยด์ก่อนซีลปิดปากถุงให้สนิท และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสไม่เกิน 2 เดือน จนกว่าจะวิเคราะห์



3. วิเคราะห์ร้อยละผลผลิต (% yield)

การคำนวณหาค่าร้อยละผลผลิต (% Yield) ของกระดูกปลาที่ผ่านกระบวนการต่างๆ โดยการเปรียบเทียบน้ำหนักกระดูกปลาหลังผ่านกระบวนการต่างๆ กับน้ำหนักกระดูกปลาสดเริ่มต้นดังสมการ

$$\text{ร้อยละผลผลิต (\% yield)} = \frac{\text{น้ำหนักกระดูกปลาหลังผ่านกระบวนการต่างๆ}}{\text{น้ำหนักกระดูกปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

4. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Proximate analysis) และ ปริมาณแคลเซียม

เตรียมกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามจากกระบวนการการแปรรูปต่างๆ ทั้ง 4 กระบวนการข้างต้น จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิเคราะห์หาค่าร้อยละปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน ตามวิธี AOAC วิธีการที่ 927.05, 942.05, 920.38B และ 984.13 ตามลำดับ (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียมในตัวอย่างผงไบโอแคลเซียมด้วยเครื่อง inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES) (Model Optima 4300 DV, Perlin Elmer, Shelton, MA)

5. วิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสีของกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามจากกระบวนการการแปรรูปต่างๆ ทั้ง 4 กระบวนการข้างต้นด้วยเครื่องวัดค่าสี (ColorFlex EZ, Hunter Lab) ในระบบ CIE โดยวิเคราะห์ค่า L* value (ค่าความสว่าง), a* value (สีแดง/เขียว), b* value (สีเหลือง/สีน้ำเงิน) และวิเคราะห์ความต่างของสี ΔE^*

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

โดยที่ ΔL^* , Δa^* และ Δb^* คือ ความต่างระหว่างพารามิเตอร์สีของตัวอย่าง และพารามิเตอร์สีของสแตนด์การ์ดสีขาว ($L^* = 93.59$, $a^* = -0.98$ และ $b^* = 0.35$) ซึ่งใช้เป็นแผ่น Background

6. วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามจากกระบวนการการแปรรูปต่างๆ ทั้ง 4 กระบวนการ ด้วยวิธี Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) (Buege & Aust, 1978) โดยนำตัวอย่างกระดูกปลาบดละเอียด 1 กรัม ผสมกับสารละลายที่มี 0.375% thiobarbituric acid (w/v), 15% trichloroacetic acid (w/v) และ 0.25 M HCl รวมกันปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปโม่ในเครื่องโม่โมจิไนซ์เซอร์ (T25, Ultra-turrax, Burlin, Germany) ที่ความเร็ว 15000 rpm นาน 1 นาที และปิดฝาหลอดทดลองให้สนิท ก่อนนำไปให้ตั้งในน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส) นาน 10 นาที แล้วทำให้เย็นด้วยการแช่หลอดทดลองในน้ำประปา และนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (RC 5C plus, Sorvall, NY., USA.) ความเร็ว 5,600×g ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นแยกส่วนที่ละลายได้ (supernatant) ออกมาวัดค่าการดูดกลืนแสง วัดที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง

spectrophotometer (VIS-723G, Rayleigh, Beijing, China) เทียบกับกราฟมาตรฐานของ 1,1,3,3-tetramethoxypropane (MDA) ที่ช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 6 ppm แสดงผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัม malonaldehyde ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง

7. วิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาค

วิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาคโดยตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามที่ผ่านการฉีดน้ำด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูง (1) และผงไบโอแคลเซียม (4) โดยเตรียมตัวอย่างดีที่ขั้วบรอนซ์และเคลือบด้วยทองคำ (Sputter coater SPI-Module, West Chester, PA, USA) ก่อนส่องผ่านด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) (JSM-5410LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) ด้วยแรงดันไฟฟ้าเร่ง 15 kV และใช้กำลังขยาย 1,500 เท่า

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

1. ร้อยละผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมี

กระดูกปลาลูกผสมบีกสยามที่เป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตปลาแล่นเนื้อแช่เยือกแข็ง เมื่อนำมาผ่านกระบวนการต่อเนื่องทั้ง 4 ขั้นตอน (ภาพที่ 1) ได้เป็นไบโอแคลเซียม ซึ่งมีปริมาณร้อยละผลผลิตสูงถึง 14.46 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาค่าองค์ประกอบทางเคมี แสดงดังตารางที่ 1 พบว่าค่าปริมาณร้อยละความชื้น โปรตีนและไขมัน ของกระดูกปลามีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อผ่านขั้นตอนการแปรรูปต่างๆ โดยเริ่มจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการฉีดน้ำแรงดันสูงตามด้วยการแช่ในน้ำต่าง จากนั้นนำผ่านการแช่ตัวทำละลายเอทานอล ก่อนนำกระดูกปลาไปผ่านการฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และบดให้เป็นผงละเอียดจนได้เป็นไบโอแคลเซียม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณเถ้าของตัวอย่างกระดูกปลามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากกระบวนการเริ่มต้นจนถึงกระบวนการสุดท้ายที่ได้เป็นผงไบโอแคลเซียมซึ่งพบว่ามีปริมาณเถ้าสูงถึง 68.15 % และพบปริมาณแร่ธาตุแคลเซียม 34.84 ± 0.39 %



ฉีดน้ำแรงดันสูง (1)

แช่ในน้ำต่าง (2)

แช่ตัวทำละลาย (3)

ไบโอแคลเซียม (4)

ภาพที่ 1 กระดูกปลาลูกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการผลิตขั้นตอนต่าง ๆ

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของกระดูกปลาลูกผสมบึกสยามระหว่างกระบวนการผลิตไบโอแคลเซียม

กระบวนการ	ร้อยละผลผลิต (% yield)	องค์ประกอบทางเคมี (%wt)			
		ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
ฉีดน้ำแรงดันสูง	23.58 ± 5.06 ^{a**}	4.70 ± 0.46 ^a	10.46 ± 0.96 ^a	2.46 ± 0.07 ^a	46.77 ± 2.86 ^c
แช่น้ำต่าง	17.25 ± 3.21 ^{ab}	3.33 ± 0.80 ^b	7.26 ± 0.10 ^b	1.93 ± 0.09 ^b	59.54 ± 3.71 ^b
แช่ตัวทำละลาย	15.29 ± 2.43 ^b	3.11 ± 0.43 ^b	6.17 ± 0.18 ^c	0.13 ± 0.03 ^c	63.99 ± 2.90 ^{ab}
ไบโอแคลเซียม	14.46 ± 2.66 ^b	1.42 ± 0.45 ^c	2.86 ± 0.13 ^d	0.07 ± 0.03 ^d	68.15 ± 3.60 ^a

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น

ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2. คำสี

คำสีของตัวอย่างกระดูกปลาเมื่อผ่านกระบวนการผลิตขั้นตอนต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2 พบว่า ตัวอย่างกระดูกปลาเมื่อผ่านกระบวนการฉีดน้ำแรงดันสูงเริ่มต้นจนกระทั่งถึงกระบวนการสุดท้ายได้เป็นไบโอแคลเซียมมีค่าความสว่าง (L^*) และค่าความต่างสี (ΔE^*) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามตัวอย่างกระดูกปลาเมื่อผ่านกระบวนการผลิตขั้นตอนต่างๆ มีผลทำให้ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ลดลง และมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 คำสีของกระดูกปลาลูกผสมบึกสยามในระหว่างกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ไบโอแคลเซียม

กระบวนการ	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
ฉีดน้ำแรงดันสูง	43.04 ± 0.07 ^{c**}	-1.09 ± 0.02 ^a	11.98 ± 0.02 ^a	7.02 ± 0.05 ^c
แช่น้ำต่าง	46.56 ± 0.72 ^b	-1.10 ± 0.05 ^a	9.00 ± 0.33 ^b	10.35 ± 0.67 ^b
แช่ตัวทำละลาย	48.57 ± 0.12 ^a	-1.25 ± 0.02 ^b	5.77 ± 0.07 ^c	12.83 ± 0.11 ^a
ไบโอแคลเซียม	48.68 ± 0.23 ^a	-1.45 ± 0.00 ^c	5.89 ± 0.04 ^c	12.92 ± 0.20 ^a

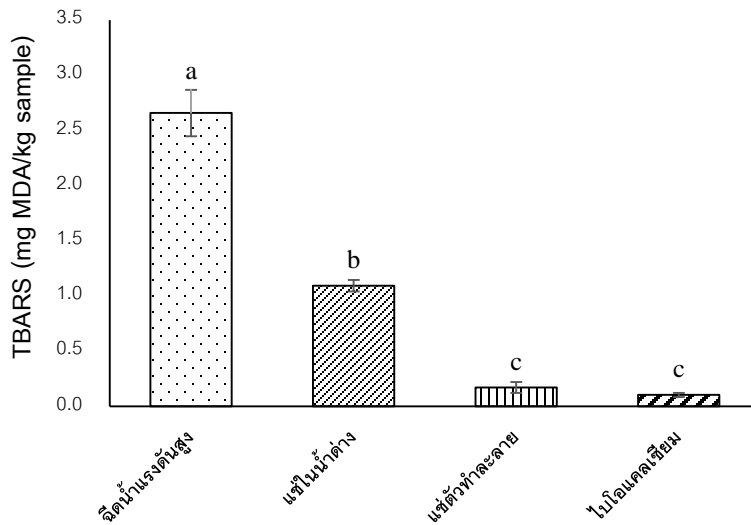
*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น

ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

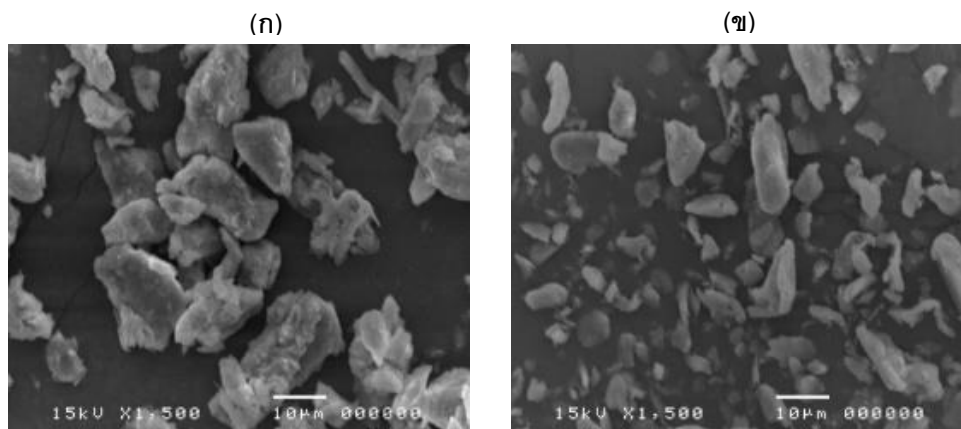
ค่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) ของตัวอย่างกระดูกปลาเมื่อผ่านกระบวนการผลิตขั้นตอนต่างๆ แสดงดังภาพที่ 2 พบว่า ค่า TBARS มีแนวโน้มลดลง จากขั้นตอนการล้างกระดูกปลาลูกผสมบึกสยามด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูงจนถึงขั้นตอนสุดท้ายที่ได้ไบโอแคลเซียมโดยลดลงจาก 2.66 ถึง 0.1 mg MDA/kg sample ตามลำดับ



ภาพที่ 2 ค่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันโดยวิธี TBARS ของกระดุกปลาอุกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการขั้นตอนต่างๆจนได้เป็นผงไบโอดีเซล

4. โครงสร้างทางจุลภาค

โครงสร้างทางจุลภาคของตัวอย่างผงกระดุกปลาอุกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการผลิตขั้นตอนการฉีดน้ำด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูง และผงไบโอดีเซลแสดงดังภาพที่ 3 พบว่ากระดุกปลาที่ผ่านกระบวนการฉีดน้ำด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูง มีขนาดใหญ่และมีการเกาะรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปต่าง ๆ จนถึงขั้นตอนสุดท้ายจะได้เป็นผงไบโอดีเซลที่มีลักษณะเป็นก้อนขนาดเล็กขนาด 2-10 ไมโครเมตร กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางจุลภาคกระดุกปลาอุกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการฉีดน้ำแรงดันสูง (ก) และผงไบโอดีเซล (ข)

วิจารณ์ผลการวิจัย

กระดูกปลาลูกผสมบีกสยามเป็นวัสดุพิเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแล้วเนื้อแช่เยือกแข็ง ก่อนนำมาผ่านกระบวนการแปรรูปต่าง ๆ ได้เป็นไบโอแคลเซียม พบว่ากระดูกปลาสดที่ฉีดล้างด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูงมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 23.58 ± 5.06 จนกระบวนการสุดท้ายได้เป็นผงไบโอแคลเซียมซึ่งมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 14.46 ± 2.66 เนื่องจากส่วนประกอบของสารอินทรีย์ที่ติดอยู่กับกระดูกปลาลูกผสมบีกสยาม ได้แก่ เศษเนื้อ น้ำเลือด ไขมัน และไขกระดูก เป็นต้น จะถูกกำจัดออกไปด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูงซึ่งใช้แรงดันน้ำที่สูงถึง 100 บาร์จะไปมีผลทำให้สารอินทรีย์ข้างต้นหลุดออกจากกระดูกเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้การแช่ในสารละลายด่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1 จะทำโมเลกุลของโปรตีนมีประจุลบมากขึ้นและมีประจุสุทธิห่างจากจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point, PI) ของโปรตีนจึงทำให้โปรตีนละลายออกจากกระดูกมากขึ้นอีกด้วย และการแช่ในตัวทำละลายเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วปานกลางก็จะสามารถสกัดไขมันออกจากกระดูกปลา อีกทั้งกระดูกแกนกลางของปลาลูกผสมบีกสยามมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อผ่านกระบวนการต่าง ๆ ทำให้เกิดการสูญเสียกระดูกได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตนี้ยังได้ผงไบโอแคลเซียมที่มีร้อยละผลผลิตที่สูง ซึ่งไบโอแคลเซียมมีแร่ธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบหลักที่พบ ซึ่งผงไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามนี้มีปริมาณแร่ธาตุแคลเซียมเท่ากับร้อยละ 24.84 ± 0.39 มีรายงานการผลิตผงแคลเซียมจากกระดูกปลาโพงที่เป็นแม่ใน้ำจืดเช่นเดียวกัน มีร้อยละผลผลิตผงแคลเซียมอยู่ที่ 10.37 ลักษณะผงแคลเซียมมีสีครีม จับตัวกันเป็นก้อน ไม่กระจายตัว และมีกลิ่นของคาวปลา (Suwansakornkul & Jongrittiporn, 2012) ซึ่งต่างจากไบโอแคลเซียมที่ผลิตได้ที่มีสีขาวขาวนวล เป็นผงละเอียด ไม่มีกลิ่นคาว

ในระหว่างกระบวนการผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของกระดูกปลา (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นผลมาจากการใช้กระบวนการต่าง ๆ ได้แก่ การฉีดน้ำแรงดันสูง การล้างน้ำต่าง การแช่ในตัวทำละลายเอทานอล และการแช่ในสารละลายไฮดรอกไซด์ก่อนบดให้เป็นผง เป็นต้น พบว่าค่าปริมาณความชื้นของกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามอยู่ในช่วง 1.4 – 4.7 % มีแนวโน้มลดลงเมื่อผ่านกระบวนการต่าง ๆ ซึ่งค่าปริมาณความชื้นนี้อยู่ในเกณฑ์อาหารแห้ง ทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน อย่างไรก็ตามปริมาณโปรตีนและไขมัน มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาเวลาการผลิตด้วยเช่นกัน ดังนั้นการใช้สารละลายด่าง (โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) มีความสามารถในการละลายเศษเนื้อที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบให้หลุดออกจากกระดูกปลาทำให้ได้โครงกระดูกที่บริสุทธิ์มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Idowu และคณะ (2020) ที่ศึกษากระบวนการผลิตไบโอแคลเซียมและไฮดรอกซีอะพาไทต์จากกระดูกปลาแซลมอนด้วยการแช่กระดูกปลาในสารละลายด่าง พบว่าการใช้สารละลายด่างสามารถกำจัดเศษเนื้อที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบออกจากกระดูกปลาแซลมอนได้ แต่ไม่มีผลในการละลายโปรตีนคอลลาเจนออกจากกระดูกปลา อย่างไรก็ตามปริมาณเถ้าบ่งบอกได้ถึงปริมาณแร่ธาตุและสารประกอบอินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ในกระดูกปลา จะเห็นได้ว่าเมื่อนำกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามมาผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นตอนต่าง ๆ พบว่าจะมีปริมาณเถ้าเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากในแต่ละขั้นตอนมีการกำจัดสารประกอบอินทรีย์ออกไปจึงทำให้ปริมาณสารประกอบอินทรีย์สูงตามปริมาณเถ้าที่เพิ่มมากขึ้นนั่นเอง นอกจากนี้ยังมีรายงานการผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาน้ำจืดครีบเหลือง พบว่าไบโอแคลเซียมมีปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้นลดลง แต่ปริมาณเถ้าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกระดูกปลาสดเริ่มต้น อย่างไรก็ตามการกำจัดไขมันออกจากกระดูกปลาเพื่อลดปริมาณกลิ่นเหม็นหืนและกลิ่นไม่พึงประสงค์ในไบโอแคลเซียมจะนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว จึงละลายไขมันออกมาจากกระดูกปลาได้ (Cascant *et al.*, 2017) จากการทดลองใช้เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งนิยมใช้สกัด



สารสำคัญออกจากพืชเนื่องจากเอทานอลจัดเป็นสารกลุ่มที่มีขั้วปานกลางทำให้สามารถสกัดสารที่มีขั้วและสารที่ไม่มีขั้วออกมาได้ มีความสามารถในการละลายสารได้กว้างขวางจึงสามารถสกัดไขมันออกมาจากกระดูกปลาได้ และมีความปลอดภัยสูงกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น (Baümle *et al.*, 2016) จึงทำให้กลิ่นคาวปลา กลิ่นเหม็นหืนและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามลดลงเป็นอย่างมาก

จากขั้นตอนการผลิตไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามตั้งแต่กระบวนการเริ่มต้นไปจนถึงสุดท้ายได้เป็นไบโอแคลเซียม พบว่าไบโอแคลเซียมที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงของสีที่ดีขึ้น (ตารางที่ 2) เพราะมีค่าความสว่าง (L^*) เพิ่มขึ้น ซึ่งในแต่ละกระบวนการส่งผลให้สีของกระดูกปลามีการเปลี่ยนแปลงไป ในขั้นตอนการแช่ล้างด้วยสารละลายต่าง ขั้นตอนนี้ยังสามารถกำจัดโปรตีนและสิ่งตกค้างที่เหลืออยู่ โดยต่างจะละลายโปรตีนออกจากกระดูกปลา (Batista, 1999) จึงทำให้กระดูกมีสีที่ขาวขึ้น และขาวเพิ่มขึ้นในขั้นการฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นองค์ประกอบที่ก่อปฏิกิริยาในสารฟอกสีกระดูก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารออกซิไดซ์ซึ่งแพร่กระจายไปทั่วกระดูก และสร้างอนุมูลอิสระ (free radical) ที่ไม่เสถียรออกมาคือไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radicals (HO^\bullet)), เปอร์ไฮดรอกซิลเรดิคัล (perhydroxyl radicals (HOO^\bullet)), เปอร์ไฮดรอกซิลแอนไอออน (perhydroxyl anions (OO^-)) และซูเปอร์ ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anions) โดยอนุมูลอิสระเหล่านี้จะไปมีผลกับโมเลกุลพันธะคู่ของรงควัตถุ (organic pigmented molecules หรือ chromophore molecules) ภายในเนื้อเยื่อของกระดูก พันธะคู่เหล่านี้จะแตกออกเป็นพันธะเดี่ยว จึงส่งผลให้โมเลกุลของรงควัตถุมีขนาดที่เล็กลงทำให้ความสามารถในการดูดซับแสงลดลง เกิดเป็นผลการฟอกสีกระดูก (bleaching effect) ทำให้กระดูกปลาดูขาวและสว่างขึ้น (Spiro & Griffith, 1997) ส่วนขั้นตอนการกำจัดไขมันในกระดูกปลาโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล เนื่องจากไขมันในผลิตภัณฑ์จะส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และการเกิดกลิ่นเหม็นหืนของไบโอแคลเซียมเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับ จากผลการทดลอง พบว่า การใช้ตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดไขมันออกมาทำให้มีค่าความสว่าง (L^*) สูงขึ้น มีรายงานว่า การใช้เอทานอลกำจัดไขมันในการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากปลาเฮลลิง พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ได้มีกลิ่นคาวลดลงอย่างมากจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเนื่องจากมีปริมาณไขมันที่ลดลง (Hoyle & Merritt, 1994) ดังนั้นการผลิตไบโอแคลเซียมที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายต่าง การกำจัดไขมันด้วยตัวทำละลาย และการฟอกสี ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะทำให้ได้ผงไบโอแคลเซียมมีคุณภาพดีขึ้น มีสีที่ขาวขึ้นอีกทั้งยังสามารถลดกลิ่นไม่พึงประสงค์ในไบโอแคลเซียมได้ (Benjakul *et al.*, 2018; Benjakul *et al.*, 2017) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ในอาหารทุกชนิดที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบรวมไปถึงวัตถุดิบเริ่มต้น หากไม่มีการกำจัดไขมันออกจากอาหารอาจจะทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ส่วนค่า TBARS ของกระดูกปลาลูกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการต่าง ๆ (ภาพที่ 2) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันขั้นที่สอง (secondary product) ซึ่งจะเกิดผลิตภัณฑ์ที่ระเหยได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันคือ สารกลุ่มอัลดีไฮด์ ซึ่งมีกลิ่นหืนและกลิ่นไม่พึงประสงค์ พบว่ากระดูกปลาลูกผสมบีกสยามที่ผ่านกระบวนการต่าง ๆ มีแนวโน้มเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันลดลง โดยขั้นตอนการกำจัดไขมันออกจากกระดูกปลาด้วยตัวทำละลายเอทานอล จะเห็นได้ว่าค่า TBARS ลดลงอย่างมาก เนื่องจากผลิตภัณฑ์ไม่มีไขมัน หรือสารตั้งต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งสอดคล้องกับกลิ่นหืนในไบโอแคลเซียมจากปลาหูช้างพันธุ์ทองแถบที่ได้ทดสอบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝนซึ่งพบว่ามีกลิ่นหืนลดลง (Benjakul *et al.*, 2017) ในขณะ



โครงสร้างทางจุลภาคตัวอย่างกระดูกปลาลูกผสมบิกสยามที่ผ่านการฉีดน้ำด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูง (ภาพที่ 3) พบว่า มีลักษณะเกาะกันเป็นกลุ่มก้อน เนื่องจากมีโปรตีน และไขมันรวมอยู่ด้วยจึงมีหลายโครงสร้างเกาะรวมกันเป็นกลุ่มก้อน เมื่อผ่านกระบวนการได้เป็นไบโอแคลเซียมพบว่า มีลักษณะเป็นก้อนขนาดเล็กกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ เพราะผ่านการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนและไขมันออก ทำให้เหลือเพียงสารประกอบอินทรีย์ มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนขนาดเล็ก อีกทั้งโครงสร้างทางเคมีของไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนและหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลที่มีภายในโครงสร้างไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Benjakul *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018)

สรุปผลการวิจัย

กระดูกปลาลูกผสมบิกสยามเมื่อนำมาผ่านกระบวนการผลิตต่างๆ จะทำให้ได้ผงไบโอแคลเซียมที่มีคุณภาพที่ดีขึ้น มีสีขาวบริสุทธิ์ขึ้น ปราศจากกลิ่นคาว และเป็นผงละเอียด ดังนั้นการผลิตผงไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลาลูกผสมบิกสยามไม่เพียงแต่เป็นการลดของเสียจากอุตสาหกรรม แต่ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกระดูกปลาได้สามารถนำไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมไบโอแคลเซียมที่มีคุณค่าและมูลค่าสูง ซึ่งผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่รุนแรงและมีความปลอดภัย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสำนักงานสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท 2/2561 รหัสโครงการ 6122049 สัญญาเลขที่ MSD6210062 และทุนกักตุนภูมิ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีการศึกษา 2561 ตลอดจนขอขอบคุณสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้อนุเคราะห์อุปกรณ์เครื่องมือและห้องปฏิบัติการสำหรับการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC, 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Batista, I., 1999. Recovery of proteins from fish waste products by alkaline extraction. *European Food Research and Technology*, 210(2), 84-89.
- Bäumler, E. R., M. E. Carrin & A. A. Carelli, 2016. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. *Journal of Food Engineering*, 178, 190-197.
- Benjakul, S., S. Mad-Ali, T. Senphan & P. Sookchoo, 2017. Biocalcium powder from precooked skipjack tuna bone: Production and its characteristics. *Journal of Food Biochemistry*, 41(6), 1-8.



- Benjakul, S., S. Mad-Ali, T. Senphan & P. Sookchoo, 2018. Characteristics of biocalcium from pre-cooked skipjack tuna bone as affected by different treatments. *Waste and Biomass Valorization*, 9(8), 1369-1377.
- Buege, J. A. & S. D. Aust, 1978. Microsomal lipid peroxidation Methods in enzymology. Elsevier, 52, 302-310.
- Cascant, M. M., C. Breil, S. Garrigues, M. de la Guardia, A. S. Fabiano-Tixier & F. Chemat, 2017. A green analytical chemistry approach for lipid extraction: computation methods in the selection of green solvents as alternative to hexane. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(14), 3527-3539.
- Cross, K. J., N. L. Huq, J. E. Palamara, J. W. Perich & E. C. Reynolds, 2005. Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *Journal of Biological Chemistry*, 280(15), 15362-15369.
- Hoyle, N. T. & J. H. Merritt, 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of food Science*, 59(1), 76-79.
- Idowu, A. T., S. Benjakul, S. Sinthusamran, T. Sae-leaw, N. Suzuki, Y. Kitani & P. Sookchoo, 2020. Effect of alkaline treatment on characteristics of bio-calcium and hydroxyapatite powders derived from salmon bone. *Applied Sciences*, 10(12), 1-12.
- Logesh, A., M. Pravinkumar, S. Raffi & M. Kalaiselvam, 2012. Calcium and phosphorus determination in bones of low value fishes, *Sardinella longiceps* (Valenciennes) and *Trichiurus savala* (Cuvier), from Parangipettai, Southeast Coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, 254-256.
- Luu, P. & M. Nguyen, 2009. Recovery and utilization of calcium from fish bones byproducts as a rich calcium source. *Journal of Science and Technology-Vietnam Academic of Science and Technology*, 47(6), 91-103.
- Murakami, F. S., P. O. Rodrigues, C. M. T. d. Campos & M. A. S. Silva, 2007. Physicochemical study of CaCO₃ from egg shells. *Food Science and Technology*, 27(3), 658-662.



- Panase, P. & K. Mengumphan, 2015. Growth performance, length-weight relationship and condition factor of backcross and reciprocal hybrid catfish reared in net cages. *International Journal of Zoological Research*, 11(2), 57-64.
- Shi, P., M. Liu, F. Fan, C. Yu, W. Lu & M. Du, 2018. Characterization of natural hydroxyapatite originated from fish bone and its biocompatibility with osteoblasts. *Materials Science and Engineering*, 90, 706-712.
- Spiro, M. & W. P. Griffith, 1997. The mechanism of hydrogen peroxide bleaching. *Textile Chemist and Colorist*, 29(11), 12-13.
- Suwansakornkul, P. & Jongrittiporn, S. (2012). *Value-added Products from Processing Waste of Pla Mong (Pangasius bocourti)*. (1/2012). Fishery Technological Development Division: Department of Fisheries. (in Thai)
- Vázquez, J. A., I. Rodríguez-Amado, M. I. Montemayor, J. Fraguas, M. D. P. González & M. A. Murado, 2013. Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/ chitosan production using marine waste sources: Characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Marine Drugs*, 11(3), 747-774.