วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 26 (ฉบับที่ 2) พฤษภาคม – สิงหาคม พ.ศ. 2564
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 26 (No.2) May – August 2021
บทความวิจัย

คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท

Antioxidant Activity of Cocoa Flavored Pasteurized Milk Supplemented with Whey Protein Hydrolysate

ชมภูนุช ฆ้องลา*, สุมาลี มุสิกา, กุ้งนาง บุญเสริม, อารยา รานอก,
ชนิดา กุประดิษฐ์ และ เสกสรร มังคลานันท์
Chompoonuch Khongla*, Sumalee Musika, Kungnang Bunsroem, Araya Ranok,
Chanida Kupradit and Seksan Mangkalanan
สาขาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
Department of Applied Biology, Faculty of Sciences and Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Isan
Received : 10 April 2020
Revised : 18 Septrmber 2020
Accepted : 13 November 2020

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาอัตราส่วนมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมสำหรับผลิตเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และพัฒนานมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง เตรียมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทโดยย่อยเวย์โปรตีนด้วยเอนไซม์เพปซินตามด้วยแพนครีเอติน และผสมมอลโทเดกซ์ทรินอัตราส่วน 5 10 20 และ 30%(w/v) จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นำเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงมาวิเคราะห์ความชื้น น้ำอิสระ ปริมาณแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เลือกเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่มีปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงไปเติมในนมปรุงแต่ง และวิเคราะห์คุณสมบัติต้านอุมูลอิสระ คุณภาพด้านจุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสของนมปรุงแต่ง พบว่าอัตราส่วนมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมคือ 20%(w/v) การทำแห้งเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทปริมาตร 220 มิลลิลิตร ผสมมอลโทเดกซ์ทริน 20%(w/v) ได้ผง 36 กรัม และมีค่าความชื้น น้ำอิสระ ปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโน คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS การรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริก และการจับโลหะเท่ากับ 5.65%, 0.37, 526.03 มิลลิกรัมสมมูลของลิวซีน 124.49 และ 12.96 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ และ 43.54 มิลลิกรัมสมมูลของ EDTA ตามลำดับ นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงมีปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสูตรควบคุม ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Fecal Coliform และ *E. coli* ของนมปรุงแต่งเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขของนมปรุงแต่ง คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 34 คน ได้คะแนนความชอบเท่ากับ 8.05-8.26 ต้นทุนการผลิตนมปรุงแต่งประมาณ 4 บาท ต่อขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร การทดลองนี้บ่งชี้ได้ว่าเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมีศักยภาพในการเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในนมปรุงแต่ง

คำสำคัญ : นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้ ; เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท ; คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The objectives of this study were to study the optimum ratio of maltodextrin for production of whey protein hydrolysate (WPH) with antioxidant properties and to develop cocoa flavored pasteurized milk supplemented with WPH powder. WPH was prepared by hydrolyzing whey protein with pepsin followed by pancreatin and mixed with maltodextrin at a ratio of 5, 10, 20 and 30%(w/v). Then, the mixture was spray dried at temperature of 150ºC. Moisture content, water activity (a_w), α-amino content and antioxidant activity of WPH powder was analyzed. WPH powder with high yield of α-amino content and antioxidant activity was selected for adding in flavored milk. Antioxidant activity, microbiological and sensorial quality of flavored milk was evaluated. The results found that the optimum ratio of maltodextrin was 20%(w/v). Drying of 220 ml of WPH mixed with 20%(w/v), 36 g of powder was obtained, and moisture content, a_w, yield of α-amino content, ABTS radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power, and metal chelating activity were 5.65%, 0.37, 526.03 mg Leucine eq., 124.49 and 12.96 mg Trolox eq., and 43.54 mg EDTA eq., respectively. Cocoa flavored pasteurized milk supplemented with WPH powder contained higher α-amino content and antioxidant activity than that control. Total plate count, fecal coliform and *E. coli* of flavored milk were under Notification of the Ministry of Public Health of milk products of flavored milk. Sensory attributes was accepted by 34 untrained panelists with likely score of 8.05-8.26. Production cost flavored milk should be around 4 Baht/100 ml of bottle. These indicated that WPH has a potential as antioxidative supplemented in flavored milk.

Keywords : cocoa flavored pasteurized milk ; whey protein hydrolysate ; antioxidant activity

***Corresponding author. E-mail :** chompoonuch.2840@gmail.com

บทนำ

ในปัจจุบันนมพร้อมดื่มถือเป็นทางเลือกหนึ่งของคนไทยในการบริโภคผลิตภัณฑ์นม นมพร้อมดื่มสามารถแบ่งได้ตามกระบวนการให้ความร้อน ได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ นมสเตอริไลส์ (sterilized milk) นมยูเอชที (UHT milk) และนมพาสเจอร์ไรส์ (pasteurized milk) อย่างไรก็ตาม การแบ่งประเภทของนมพร้อมดื่มดังกล่าวข้างต้นเป็นการแบ่งจากลักษณะการผลิต ซึ่งนมพร้อมดื่มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจะสามารถแบ่งประเภทของนมพร้อมดื่มออกได้เป็น 2 ประเภท คือ นมไม่ปรุงแต่ง หรือที่เรียกกันว่านมจืด นมพร้อมดื่มประเภทนี้จะผลิตจากนมโคทั้งหมด (100%) ไม่มีส่วนผสมอื่นใดเลย และอีกประเภทหนึ่ง คือ นมปรุงแต่ง ซึ่งได้แก่ นมประเภทที่มีรสหวาน เช่น รสช็อคโกแลต รสชาเขียว รสกล้วย และรสสตรอเบอรี่ เป็นต้น นมพร้อมดื่มประเภทนมปรุงแต่งจะเป็นที่นิยมของผู้บริโภค เนื่องจากการปรุงรสโดยการเติมน้ำตาล จะทำให้นมพร้อมดื่มมีรสชาติดีขึ้น (Thai Kasetsart, 2014) ปัจจุบันแนวโน้มด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มเน้นการเพิ่มสารที่มีประโยชน์เชิงหน้าที่ (functional ingredients) เพื่อตอบโจทย์ด้านสุขภาพในแต่ละกลุ่มวัย

เวย์โปรตีนเป็นผลผลิตที่เหลือจากการผลิตเนยแข็ง อุดมด้วยกรดอะมิโนจำเป็นสูง ร่างกายสามารถย่อยได้ง่าย และมักนำมาใช้ในรูปแบบเครื่องดื่มเสริมเวย์โปรตีน ช่วยเสริมสร้างกล้ามเนื้อ และทำให้ภูมิคุ้มกันดีขึ้น ซึ่งเวย์โปรตีนแบ่งออกเป็น 3 ชนิดใหญ่ ๆ ได้แก่ เวย์โปรตีนคอนเซนเทรท (whey protein concentrate) เวย์โปรตีนไอโซเลท (whey protein isolate) และเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท (hydrolyzed whey protein) (Sirisamut, 2015) นมปรุงแต่งเสริมเวย์โปรตีนคอนเซนเทรทที่มีขายตามท้องตลาด เช่น ยี่ห้อเมจิ และดัชมิลล์ เป็นต้น ส่วนเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทไม่ค่อยนิยมนำไปเป็นส่วนผสมในนมพร้อมดื่ม เนื่องจากเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสททางการค้ามีราคาค่อนข้างแพง และมีรสขม เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทได้จากการนำเวย์โปรตีนคอนเซนเทรทหรือไอโซเลทมาย่อยได้เพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโน ร่างกายจึงดูดซึมไปใช้ได้ดีกว่าในรูปของโปรตีนเวย์ นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระเป็นสารที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่นโรคหัวใจ และมะเร็ง เป็นต้น (Goodman *et al.*, 2011; Sugamura & Keaney, 2011) ดังนั้นการนำเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมาเติมในผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์จะเป็นการเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเป็นการเพิ่มมูลค่าของเวย์โปรตีนอีกทางหนึ่ง การเลือกชนิดเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและรสขมของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท มีรายงานว่าการผลิตเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารมีข้อดีคือเพปไทด์ที่ได้มีแนวโน้มที่จะทนต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหาร และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจะยังคงอยู่เมื่อผ่านระบบทางเดินอาหาร (Qian *et al.*, 2008) นอกจากชนิดของเอนไซม์แล้ววิธีการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเสทก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารแห้งที่มีลักษณะเป็นผง และสารที่นิยมใช้ในการเพิ่มเนื้อ (bulking agent) หรือเพิ่มผลผลิต ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ชบางส่วนให้เป็นสายสั้น ๆ ของน้ำตาลกลูโคส มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส หรือมีรสหวานเล็กน้อย สามารถละลายในน้ำได้ดี และมีราคาถูก ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างขว้างขวาง ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ อาหารสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (Pornchaloempong & Rattanapanon, 2020)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นผลิตเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารโดยการย่อยเวย์โปรตีนด้วยเอนไซม์เพปซินและตามด้วยเอนไซม์แพนครีเอติน และศึกษาอัตราส่วนมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบ

พ่นฝอยเพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตเพปไทด์และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มเชิงหน้าที่สำหรับผู้บริโภคที่รักสุขภาพ

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

เวย์ผง (โปรตีน 13-14%) นำเข้าจากประเทศฝรั่งเศส ซื้อจากร้านสุนิษา เบเกอรี่ (นครราชสีมา, ประเทศไทย) มอลโทเดกซ์ทริน (DE=10) ซื้อจากบริษัทเคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (กรุงเทพ, ประเทศไทย) สาร 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) สาร Trolox จากบริษัท Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ประเทศสหรัฐอเมริกา สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และ 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) จากบริษัท Biochemika, Buchs, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของมอลโทเดกซ์ทริน

ผลิตเวย์ไฮโดรไลเสทโดยเตรียมผงเวย์ความเข้มข้น 10%(w/v) ในน้ำสะอาดและปรับ pH เป็น 2.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอลิก จากนั้นเติมเอนไซม์เพปซินความเข้มข้น 0.5%(w/w) ย่อย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปรับ pH เป็น 7.4 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และย่อยต่อด้วยแพนครีเอตินความเข้มข้น 1%(w/w) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 10 นาที นำเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทปริมาตร 220 มิลลิลิตร ผสมมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 5 10 20 และ 30%(w/v) จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย (SD-06, Lab plant UK, Unit 1b Hunmanby Industrial Estate Hunmanby, North Yorkshire, England) ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส หลังจากได้เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก วิเคราะห์ความชื้น ค่าน้ำอิสระ ปริมาณแอลฟาอะมิโน คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และคำนวณปริมาณผลผลิต

การวิเคราะห์ความชื้นและค่าน้ำอิสระ (a_w)

วิเคราะห์ความชื้นเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วนต่าง ๆ ตามวิธี AOAC (2000) และวัดค่าน้ำอิสระ (Water activity, a_w) โดยใช้เครื่องวอเตอร์แอคติวิตี้ (AQUA LAB 4TE, dew point water activity meter, USA)

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์

ชั่งเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วนต่าง ๆ ปริมาณ 0.1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนโดยวิธี TNBS

วิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้วิธี Trinitrobenzene Sulfonic acid (TNBS) (Adler-Nissen, 1979) ปิเปตตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.2125 โมลาร์ pH 8.2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย TNBS เข้มข้น 0.005% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 30 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร ปริมาณแอลฟาอะมิโนของตัวอย่างแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานลิวซีนต่อกรัมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง (mg Leucine eq./g of WPH) และคำนวณปริมาณ

ผลผลิตแอลฟาอะมิโนโดยใช้สูตร น้ำหนักเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงทั้งหมดที่ได้จากการทำแห้ง (g) x α-Amino content (mg Leucine eq./g of WPH)

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เป็นการวัดสมบัติต้านอนุมูลอิสระทางอ้อม เป็นการวัดเพปไทด์มีคุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอน/โปรตอนกับอนุมูลอิสระ ABTS (Promchote, 2017) วิเคราะห์คุณสมบัติในการจับอนุมูล ABTS ตามวิธีของ Wiriyaphan *et al.* (2012) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายอนุมูลอิสระ ABTS ปริมาตร 1980 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด 5 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทร์ลอกซ์ต่อกรัมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง (mg Trolox eq./g of WPH) และคำนวณปริมาณผลผลิตในรูปคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS โดยใช้สูตร น้ำหนักเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงทั้งหมดที่ได้จากการทำแห้ง (g) x ABTS radical scavenging activity (mg Trolox eq./g of WPH)

คุณสมบัติในการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริก

คุณสมบัติในการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริกเป็นการวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของเพปไทด์/กรดอะมิโนกับเหล็กเฟอร์ริก (Promchote, 2017) วิเคราะห์คุณสมบัติในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนเป็นเฟอรัสไอออน ตามวิธีของ Wiriyaphan *et.al.* (2012) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับ FRAP reagent (โดยผสม 300 มิลลิโมลาร์ acetate buffer (pH 3.6) กับ 20 มิลลิโมลาร์ Ferric chloride solution และ 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine) solution ในอัตราส่วน 10:1:1) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทร์ลอกซ์ต่อกรัมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง (mg Trolox eq./g of WPH) และคำนวณปริมาณผลผลิตในรูปคุณสมบัติในการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริกจากสูตร น้ำหนักเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงทั้งหมดที่ได้จากการทำแห้ง (g) x Ferric reducing antioxidant power (mg Trolox eq./g of WPH)

คุณสมบัติในการจับกับโลหะเฟอรัสไอออน

คุณสมบัติในการจับกับโลหะเฟอรัสไอออนเป็นการวัดความสามารถของเพปไทด์/กรดอะมิโนในการจับกับโลหะ เนื่องจากโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันและทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Promchote, 2017) ดังนั้นหากเพปไทด์หรือกรดอะมิโนมีคุณสมบัติในการจับโลหะก็สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้เช่นกัน วิเคราะห์คุณสมบัติในการจับกับโลหะเฟอรัสไอออน ตามวิธีของ Wiriyaphan *et al.* (2015) โดยปิเปตตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 2400 ไมโครลิตร เติมสารละลาย $FeCl_2$ เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ Ferrozine เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร คุณสมบัติในการจับโลหะของตัวอย่างแสดงในหน่วยปริมาณสารมาตรฐาน Ethylenediaminetetraacetic acid ต่อกรัมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท (mg EDTA eq./g of WPH) และคำนวณปริมาณผลผลิตในรูปคุณสมบัติในการจับโลหะจากสูตร น้ำหนักเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงทั้งหมดที่ได้จากการทำแห้ง (g) x Metal chelating activity (mg EDTA eq./g of WPH)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท

เตรียมส่วนผสมนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้ตามตารางที่ 1 โดยชั่งน้ำนมดิบ 1500 กรัม เติมน้ำสะอาด 1263 กรัม อุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติมส่วนผสมแห้งอื่น ๆ และเติมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง 60 กรัม (ความเข้มข้น 2.0%w/v) สูตรควบคุมเติมมอลโทเดกซ์ทริน 60 กรัม (ความเข้มข้น 2.0%w/v) แทนเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง

ตารางที่ 1 ส่วนผสมในผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์สูตรควบคุมและสูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท (WPH)

ส่วนผสม	ปริมาณ (%w/w)		ปริมาณ (กรัม)	
	สูตรควบคุม	**สูตรเสริม** WPH	**สูตรควบคุม**	**สูตรเสริม** WPH
นมโค	50	50	1500	1500
นมผงขาดมันเนย	1.2	1.2	36	36
เวย์ผง	1.2	1.2	36	36
เวย์ไฮโดรไลเสทผง	0	2	0	60
มอลโทเดกซ์ทริน	2	0	60	0
น้ำตาล	3	3	90	90
ผงโกโก้	0.5	0.5	15	15
น้ำสะอาด	42.1	42.1	1263	1263
รวม	**100**	**100**	**3000**	**3000**

ทำการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส บรรจุใส่ขวดพลาสติกปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์ไปวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโน คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ คุณภาพด้านจุลินทรีย์ และทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ รวมทั้งคำนวณต้นทุนการผลิต

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการสนใจซื้อผลิตภัณฑ์

นำตัวอย่างนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยทดสอบด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวม และความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 34 คน ซึ่งใช้ผู้ทดสอบจากหลายสถานที่ ได้แก่ ที่ตึกคณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ โรงอาหารกลางมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน และร้านค้า มีช่วงอายุตั้งแต่ต่ำกว่า 17 ปี จนถึง 26 ปีขึ้นไป ประกอบอาชีพ พ่อค้า แม่ค้า พนักงาน และนักศึกษา

วิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยา

นำนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Fecal Coliform และ *E. coli* ตามวิธีของ BAM (U.S.FDA) (Feng *et al.*, 2002; Maturin, & Peeler, 2001)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ผลการทดลองแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ t-test independent sample สำหรับตัวแปรอิสระที่มี 2 กลุ่ม และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Duncan's multiple range test (DMRT) สำหรับตัวแปรอิสระที่มี 3 กลุ่มขึ้นไป ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม PASW Statistics 18 Release 18.0.0 software

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของมอลโทเดกซ์ทริน

ความชื้นและน้ำอิสระ (a_w)

ค่าความชื้น และ a_w ของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทรินอัตราส่วน 5-30%(w/v) มีค่าอยู่ในช่วง 3.60-5.79%(w.b.) และ 0.27-0.46 ตามลำดับ การใช้อัตราส่วนมอลโทเดกซ์ทรินผสมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทในอัตราส่วน 20 และ 30% มีค่าความชื้น และ a_w มากกว่าการใช้อัตราส่วนมอลโทเดกซ์ทริน 5-10% (w/v) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความชื้นและปริมาณน้ำอิสระของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 5-30%

Maltodextrin (%w/v)	Moisture content (%w.b.)	Water activity (a_w)
5	4.83±0.09^{b}	0.30±0.01^{c}
10	3.60±0.05^{c}	0.27±0.00^{d}
20	5.65±0.70^{a}	0.37±0.01^{b}
30	5.79±0.11^{a}	0.46±0.01^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

แอลฟาอะมิโน คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณผลผลิต

เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วนต่าง ๆ มีปริมาณแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีวัดคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS การรีดิวส์เหล็กเฟอริก และการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน มีแนวโน้มลดลงตามสัดส่วนของมอลโทเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทริน 5-30%

Maltodextrin (%w/v)	α-Amino content (mg Leucine eq./g of WPH)	ABTS radical scavenging activity (mg Trolox eq./g of WPH)	Ferric reducing antioxidant power (mg Trolox eq./g of WPH)	Metal chelating activity (mg EDTA eq./g of WPH)
5	17.16 ± 0.08^{a}	4.62 ± 1.31^{a}	0.64 ± 0.03^{a}	1.35 ± 0.04^{a}
10	16.96 ± 0.13^{a}	4.50 ± 0.28^{a}	0.47 ± 0.02^{b}	1.29 ± 0.03^{ab}
20	14.57 ± 0.52^{b}	3.45 ± 0.16^{ab}	0.36 ± 0.02^{c}	1.21 ± 0.07^{b}
30	11.22 ± 0.08^{c}	2.25 ± 0.08^{b}	0.27 ± 0.00^{d}	1.09 ± 0.04^{c}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตที่คำนวณในรูปของปริมาณแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด พบว่า เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง ปริมาตร 220 มิลลิลิตร ผสมมอลโทเดกซ์ทรินอัตราส่วน 20%(w/v) เมื่อผ่านการทำแห้งแล้วจะได้เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง 36.11 กรัม และมีปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($p \leq 0.05$) ยกเว้นคุณสมบัติในการจับโลหะที่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผสมมอลโทเดกซ์ทริน อัตราส่วน 30%(w/v) ($p > 0.05$, ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ปริมาณผลผลิตน้ำหนักแห้ง แอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทริน 5-30%(w/v)

Maltodextrin (%w/v)	Total weight (g)	Yield of α-amino content (mg Leucine eq.)	Yield of ABTS radical scavenging activity (mg Trolox eq.)	Yield of ferric reducing antioxidant power (mg Trolox eq.)	Yield of metal chelating activity (mg EDTA eq.)
5	8.77	150.52 ± 0.70^{d}	40.48 ± 11.49^{d}	5.58 ± 0.23^{c}	11.83 ± 0.39^{c}
10	13.11	222.34 ± 1.75^{c}	58.99 ± 3.67^{c}	6.20 ± 0.29^{c}	16.86 ± 0.41^{b}
20	36.11	526.03 ± 18.68^{a}	124.49 ± 5.82^{a}	12.96 ± 0.70^{a}	43.54 ± 2.68^{a}
30	41.98	470.98 ± 3.55^{b}	94.48 ± 3.52^{b}	11.34 ± 1.07^{b}	45.72 ± 1.55^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$); ปริมาตรเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทเริ่มต้น 220 มิลลิลิตร

ซึ่งเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผสมมอลโทเดกซ์ทรินอัตราส่วน 20%(w/v) มีปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโน คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS การรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริก และการจับกับโลหะเฟอร์รัสไอออน เท่ากับ 526.03 ± 18.68 มิลลิกรัมสมมูลของลิวซีน 124.49 ± 5.82 และ 12.96 ± 0.70 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ และ 43.54 ± 2.68 มิลลิกรัมสมมูลของ EDTA ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ดังนั้นจึงเลือกเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 20%(w/v) ไปเติมใน

ผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท

ปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการนำนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรควบคุม (สูตรที่ไม่เติมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง) และสูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงไปวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนโดยวิธี TNBS และวิเคราะห์คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีวัดการต้านอนุมูลอิสระ ABTS การรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริก และการจับกับโลหะเฟอร์รัสไอออน พบว่า นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลซ์เสทผง มีปริมาณแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่านมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5, $p \leq 0.05$) ยกเว้น การรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริก ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมีปริมาณแอลฟาอะมิโน คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS การรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริก และการจับกับโลหะเท่ากับ 103.73±0.41 มิลลิกรัมสมมูลของลิวซีน 70.93±0.59 และ 19.30±0.15 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ และ 28.04±0.11 มิลลิกรัมสมมูลของ EDTA ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรควบคุมและสูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท 2%(w/w)

สูตร	α-Amino content (mg Leucine eq./100 ml)	ABTS radical scavenging activity (mg Trolox eq./100 ml)	FRAP (mg Trolox eq./100 ml)	Metal chelating activity (mg EDTA eq./100 ml)
สูตรควบคุม	72.81±5.02	50.80±9.64	17.68±0.86	19.55±0.13
สูตรเสริมเวย์ไฮโดรไลเสท	103.73±0.41*	70.93±0.59*	19.30±0.15^{ns}	28.04±0.11*

หมายเหตุ : * หมายถึง ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ภายในแนวตั้งเดียวกัน; ns หมายถึง ค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

คุณภาพทางประสาทสัมผัส ความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ และต้นทุนการผลิต

จากกการนำตัวอย่างนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี 9-point hedonic scale โดยทดสอบด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวม พบว่า คะแนนความชอบด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวม อยู่ในช่วง 8.05±0.70 - 8.26±0.62 ซึ่งคะแนนอยู่ในระดับชอบมาก (ตารางที่ 6) และเมื่อนำตัวอย่างนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมาทดสอบการสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้ทดสอบชิมมีความสนใจที่จะซื้อผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์

รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทแน่นอนอยู่ที่ 58.82% บางทีอาจจะซื้อ อยู่ที่ 35.30% และไม่ซื้อแน่นอน อยู่ที่ 5.88% (ตารางที่ 7) ต้นทุนรวมทั้งหมดของผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท สูตร 3000 กรัม มีค่าประมาณ 130.05 บาท คิดเป็นต้นทุนต่อขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เท่ากับ 3.83 บาท (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 6 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท

คุณลักษณะ	ค่าเฉลี่ย	ระดับความชอบ
สี	8.05±0.70	ชอบมาก
กลิ่น	8.10±0.87	ชอบมาก
รสชาติ	8.23±0.74	ชอบมาก
เนื้อสัมผัส	8.11±0.77	ชอบมาก
ความชอบโดยรวม	8.26±0.62	ชอบมาก

ตารางที่ 7 ผลการประเมินการคาดคะเนความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท

ความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์	**จำนวนผู้ทดสอบ (คน)**	**ร้อยละ**
ซื้อแน่นอน	20	58.82
บางทีอาจจะซื้อ	12	35.30
บางทีอาจไม่ซื้อ	0	0.00
ไม่ซื้อแนนอน	2	5.88

ตารางที่ 8 ต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท รสโกโก้ สูตร 3000 มิลลิลิตร

รายการ	**ต้นทุน (บาท)**
วัตถุดิบ	60.21
บรรจุภัณฑ์	57.8
ต้นทุนค่าแรง ค่าเชื้อเพลิง ค่าขนส่ง และการผลิต*	12.04
ต้นทุนรวมทั้งหมด	130.05
ต้นทุนต่อขวด	3.83

หมายเหตุ : *คิดเป็น 20% ของต้นทุนวัตถุดิบ

คุณภาพด้านจุลชีววิทยา

จากการนำนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ โดยตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Coliform , Fecal Coliform และ *E.coli* พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนในนมพาสเจอร์ไรส์ มีค่าน้อยกว่า 50,000 CFU/ml และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่ม Fecal Coliform และ *E.coli* (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 คุณภาพด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์นมพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท

เชื้อจุลินทรีย์ที่ทดสอบ	คุณภาพผลิตภัณฑ์ด้านจุลชีววิทยา	
	ผลการทดสอบ	ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 351) พ.ศ. 2556 เรื่อง นมปรุงแต่ง
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU ต่อตัวอย่าง 1 ml)	< 50,000	ไม่เกิน 50,000
ปริมาณ Coliform, Fecal Coliform และ *E. coli* (MPN ต่อตัวอย่าง 0.1 ml)	ไม่พบการเจริญ	ไม่พบการเจริญ

วิจารณ์ผลการวิจัย

ความชื้นและน้ำอิสระ (a_w) เป็นปัจจัยที่สำคัญที่กำหนดคุณภาพของอาหารและอายุการเก็บรักษาอาหาร และยังสามารถใช้ในการทำนายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหารด้วย (Nielsen, 2010) จากตารางที่ 2 ค่าความชื้นและ a_w ของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเติมมอลโทเดกซ์ทรินมากกว่า 10%(w/v) เนื่องจากเมื่อใช้ความเข้มข้นของมอลโทเดกซ์ทรินสูงขึ้น ความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นมากทำให้ยากต่อการดูดสารละลาย และทำให้สารละลายอยู่ในรูปละอองได้ยาก จึงทำให้ระยะเวลาการทำแห้งนานขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้ค่าความชื้นและค่า a_w เพิ่มขึ้น เนื่องจากเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงอาจจะดูดความชื้นในอากาศกลับเข้าไปใหม่ แต่อย่างไรก็ตาม เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอาหารที่มีความชื้นต่ำ ซึ่งมีค่า a_w ไม่เกิน 0.65 (Bari *et al.,* 2009)

ปริมาณแอลฟาอะมิโนที่วัดได้บ่งชี้ถึงปริมาณเพปไทด์และ/หรือกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยเวย์โปรตีนด้วยเอนไซม์เพปซินและตามด้วยเอนไซม์แพนครีเอติน ซึ่งปริมาณเพปไทด์มีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือ ถ้าปริมาณเพปไทด์เพิ่มขึ้นคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นด้วย จากตารางที่ 3 เมื่อใช้ความเข้มข้นของมอลโทเดกซ์ทรินสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระต่อตัวอย่าง 1 กรัม ลดลง เนื่องจากการเติมมอลโทเดกซ์ทรินเป็นการเจือจางปริมาณเพปไทด์ จึงส่งผลให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระต่อกรัมตัวอย่างลดลง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตที่คำนวณในรูปของปริมาณแอลฟาอะมิโน และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด พบว่า เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผสมมอลโทเดกซ์ทริน 20% มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 4) อาจเนื่องมาจากการใช้มอลโทเดกซ์ทรินความเข้มข้นต่ำ 5 และ 10% (w/v) ปริมาณเพปไทด์ต่อกรัมตัวอย่างมากกว่าการใช้มอลโทเดกซ์ทริน

ความเข้มข้นสูง (ตารางที่ 3) ในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินเพื่อป้องกันการจับตัวกันเป็นก้อน และเป็นสารเพิ่มเนื้อ (bulking agent) ของผลิตภัณฑ์เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท หากในการทำแห้งแบบพ่นฝอยไม่ได้เติมมอลโทเดกซ์ทรินหรือเติมในปริมาณน้อย จะทำให้เวย์โปรตีนผงมีลักษณะเหนียวจึงทำให้เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงติดอยู่ด้านข้างของห้องทำแห้ง (chamber) ในปริมาณมากส่งผลให้เกิดการสูญเสียผลผลิตเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงหรือเพปไทด์มากด้วย ส่วนการเติมมอลโทรเดกซ์ทริน ความเข้มข้นมากเกินไป 30%(w/v) เป็นการเจือจางเพปไทด์มากเกินไป จึงทำให้ได้ปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโนหรือเพปไทด์ต่ำ

เอนไซม์เพปซินเป็นเอนไซม์ในกระเพาะอาหารจะย่อยเวย์โปรตีนให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงได้ เอนไซม์เพปซินมีความเฉพาะเจาะจงกับพันธะเพปไทด์ที่เกิดจากกรดอะมิโนประเภทอะโรมาติก ได้แก่ กรดอะมิโนฟีนิลอะลานีน (Phe) ไทโรซีน (Try) และทริปโตแฟน (Trp) (Simpson, 2000) ซึ่งกรดอะมิโนดังกล่าวมีคุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอนและ/หรือโปรตอนกับอนุมูลอิสระได้ (Herna´ndez-Ledesma *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าลำดับของกรดอะมิโนที่อยู่ภายในสายเพปไทด์มีผลต่อคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน หากกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีนหรือฮิสทิดีนอยู่ในตำแหน่งปลายสายด้าน N-terminus เพปไทด์จะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงเนื่องจากสามารถให้อิเล็กตรอนได้ง่าย (Mendis *et al.*, 2005a; Mendis *et al.*, 2005b) หรือหากกรดอะมิโนทริปโตแฟนหรือไทโรซีนอยู่ที่ปลายสายของเพปไทด์ด้าน N-terminus หรือ C-terminus เพปไทด์ก็จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกัน (Sadat *et al.*, 2011) ดังนั้นภายในสายเพปไทด์ที่ได้จากการย่อยเวย์โปรตีนด้วยเอนไซม์เพปซินจะมีกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีน ไทโรซีน และทริปโตแฟนเป็นส่วนประกอบ จึงทำให้มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 3 และ 4) นอกจากนั้นเอนไซม์เพปซินมีความจำเพาะกับกรดอะมิโนที่มีความเป็นกรด ได้แก่ กรดกลูตามิก และแอสพาติก (Glu และ Asp) ซึ่งกรดอะมิโน Glu และ Asp มีประจุลบของหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group, COO^-) อยู่ที่หมู่โซ่ข้าง (side chain) จึงมีคุณสมบัติในกการจับโลหะ Fe^{2+} (Saiga et al., 2003; Wiriyaphan *et al.*, 2013) ส่วนเอนไซม์แพนครีเอตินประกอบด้วยเอนไซม์อะไมเลส (Amylase) ไลเปส (Lipase) และทริปซิน (Trypsin) ซึ่งเอนไซม์ทริปซินจะมีความเฉพาะเจาะจงในการไฮโดรไลซ์พันธะเพปไทด์ที่เกิดจากกรดอะมิโนที่มีสมบัติเป็นด่าง เช่น อาร์จินีน และไลซีน (Arg และ Lys) (Barrett *et al.*, 2012) จะย่อยชิ้นส่วนเวย์โปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เพปซินได้เป็นเพปไทด์สายสั้นลง ดังนั้นภายในสายเพปไทด์ที่ได้จากการย่อยเวย์โปรตีนด้วยเอนไซม์ทริปซินจะมีกรดอะมิโนที่มีความเป็นด่าง Arg และ Lys ซึ่งกรดอะมิโน Arg และ Lys จะมีหมู่ไนโตรเจนอยู่ที่หมู่โซ่ข้าง (side chain) จึงมีความเป็นลบของอิเล็กตรอนดังนั้นจึงมีคุณสมบัติในการจับโลหะ Fe^{2+} (Saiga *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2010)

จากผลของปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ จึงเลือกเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงผสมมอลโทเดกซ์ทรินอัตราส่วน 20%(w/v) ไปเติมในผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้ จากตารางที่ 5 นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง 2%(w/w) มีปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสูตรควบคุม ($p \leq 0.05$) ยกเว้นคุณสมบัติในการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริกที่มีค่าไม่แตกต่างกันกับสูตรควบคุม ($p > 0.05$) การที่นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสูตรควบคุมเนื่องจากเมื่อกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระอยู่ภายในโครงสร้างของโปรตีนจะไม่สามารถสัมผัสและให้อิเล็กตรอนและ/หรือโปรตอนกับอนุมูลอิสระได้ เมื่อเวย์โปรตีนถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพปซิน และตามด้วยแพนครีเอตินจะปลดปล่อยกรดอะมิโนและเพปไทด์ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระซึ่งอยู่ภายในสายเวย์โปรตีนออกมา ซึ่งเพปไทด์สายสั้นจะมีคุณสมบัติการละลายได้ดี และสามารถ

ให้อิเล็กตรอนและ/หรือโปรตอนกับอนุมูลอิสระได้ง่าย การที่คุณสมบัติในการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริกที่มีค่าไม่แตกต่างกันกับสูตรควบคุม (ตารางที่ 5) อาจเนื่องมาจากการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริกทดสอบในสภาวะที่เป็นกรดซึ่งเพปไทด์ส่วนใหญ่มีประจุบวก จึงทำให้ความสามารถในการให้อิเล็กตอนกับเหล็กเฟอร์ริกยากมากกว่าในสภาวะที่เป็นกลางที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS (pH 7.4) ซึ่งเพปไทด์ส่วนใหญ่มีประจุเป็นลบ จึงทำให้คุณสมบัติการรีดิวส์เหล็กเฟอร์ริกไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 5) Khongla *et al.* (2017) และ Minjanthuek *et al.* (2016) รายงานว่า นมพาสเจอร์ไรส์และนมสเตอริไลส์พร่องมันเนยรสธรรมชาติเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทความเข้มข้น 0.63-2.38% ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase มีปริมาณแอลฟาอะมิโนอยู่ในช่วง 237 - 461 และ 137 - 342 mg Leucine eq./100 ml ตามลำดับ และมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 134-198 และ 80-156 mg Trolox eq./100 ml ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่างานวิจัยนี้ (ตารางที่ 5) เนื่องจากงานวิจัยดังกล่าวใช้เวย์โปรตีนเข้มข้นซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูงเป็นสารตั้งต้นและไม่ได้ผสมมอลโทเดกซ์ทรินจึงทำให้เวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ได้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนสูงกว่า ส่งผลให้ค่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่า

เมื่อนำนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง 2%(w/w) ไปทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี 9-point hedonic scale พบว่า ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบคุณลักษะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมในระดับชอบมาก (ตารางที่ 6) Mann *et al.* (2015) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสช็อกโกแลตและสตรอเบอรี่เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทความเข้มข้น 2% โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 9 คน พบว่า นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสช็อกโกแลตเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Flavourzyme, Alcalase และ Corolase มีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.0±0.32, 7.6±0.40 และ 7.6±0.40 ตามลำดับ ซึ่งมีคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลาง ในขณะที่นมปรุงแต่งรสสตรอเบอรี่มีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 6.6±0.33, 7.1±0.49 และ 6.2±0.25 ตามลำดับ ซึ่งมีคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย -ปานกลาง Khongla *et al.* (2017) รายงานว่านมพาสเจอร์ไรส์พร่องมันเนยรสธรรมชาติเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทเข้มข้น 0.63-2.38% ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase มีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 6.90±1.02 - 7.80±0.62 ในขณะที่ Minjanthuek *et al.* (2016) รายงานว่า การเติมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงความเข้มข้น 2.38% ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase ในผลิตภัณฑ์นมสเตอริไลส์มีผลทำให้ความชอบด้านกลิ่นรส รสชาติ ความขม ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่ได้เติมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสท มีคะแนนความชอบด้านกลิ่นรส รสชาติ ความขม ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวมเท่ากับ 4.85±1.98, 4.30±2.11, 4.35±2.21, 5.05±2.48, 5.05±2.48 ตามลำดับ ซึ่งคะแนนความชอบอยู่ในระดับเฉย ๆ อาจเนื่องมาจากเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase จะได้เพปไทด์ที่ขนาดสายสั้น จึงทำให้เกิดรสขม เนื่องจากเอนไซม์ Alcalase เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะเจาะจงช่วงกว้าง และเป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะเพปไทด์ภายในสายโปรตีน มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนที่เป็นวง ได้แก่ Tyr, Phe และ Trp (Doucet *et al.,* 2003) ซึ่งกรดอะมิโนที่เป็นวงดังกล่าวมีรสชาติขม (Hockney *et al.,* 1983) งานวิจัยนี้บ่งชี้ได้ว่านมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงผสมมอลโทเดกซ์ทริน 20%(w/v) ในอัตราส่วน 2%(w/w) ที่พัฒนาขึ้น เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิม และมีคะแนนความชอบโดยรวมสูงกว่านมพาสเจอร์ไรส์และสเตอริไลส์เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่รายงานโดย Minjanthuek *et al.* (2016) และ Khongla *et al.* (2017) ถึงแม้ว่าจะมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่า

จากการสำรวจความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผง พบว่าผู้ทดสอบชิมสนใจซื้อแน่นอนอยู่ที่ 58.82% บางทีอาจจะซื้อ อยู่ที่ 35.30% (ตารางที่ 7) ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูง และนมปรุงแต่งที่พัฒนาขึ้นมีต้นทุนการผลิตไม่แพง (ตารางที่ 8) งานวิจัยนี้บ่งชี้ได้ว่าผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่พัฒนาขึ้นอาจจะสามารถจำหน่ายได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยครั้งต่อไปควรมีการขยายขนาดกำลังการผลิตและทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวนมากขึ้น

จากการนำนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้สูตรเสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ โดยตรวจหา Coliform , Fecal Coliform และ *E.coli* พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนในนมพาสเจอร์ไรส์ มีค่าน้อยกว่า 50,000 CFU/ml และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่ม Fecal Coliform และ *E.coli* (ตารางที่ 9) ซึ่งค่าอยู่ในเกณฑ์ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 351) พ.ศ. 2556 เรื่อง นมปรุงแต่ง (Notification of the Ministry of Public Health, 2013) งานวิจัยนี้บ่งชี้ได้ว่าผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์เสริมเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงที่ผลิตขึ้นมีคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน

สรุปผลการวิจัย

อัตราส่วนมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมสำหรับผลิตเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เพปซินตามด้วยแพนครีเอตินที่มีปริมาณผลผลิตแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุดคือ 20%(w/v) การนำเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงมาเสริมในผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้ทำให้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น และผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งที่ได้มีคุณภาพด้านจุลชีววิทยา (ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Fecal Coliform และ *E.coli*) เป็นไปตามเกณฑ์ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 351) พ.ศ. 2556 เรื่อง นมปรุงแต่ง ผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้มีคะแนนคอมชอบเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิม และมีต้นทุนการผลิตไม่แพง งานวิจัยนี้บ่งชี้ได้ว่าเวย์โปรตีนไฮโดรไลเสทผงผสมมอลโทเดกซ์ทรินอัตราส่วน 20%(w/v) มีศักยภาพในการเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระผลิตภัณฑ์นมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรส์รสโกโก้ และอาจจะนำไปใช้เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพชนิดอื่น ๆ ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนักศึกษาหลักสูตรเทคโนโลยีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์นม (ต่อเนื่อง) คณะวิทยาศาสตร์ และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน (นายพิเชษฐ์ ศิริศักดิ์วัฒนา นายวัชรพงษ์ ท้องรองกลาง และนายดิษฐ์ ปกรณ์ สนสุภาพ) ที่ช่วยทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณมหาวิทยาลัย เทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ที่สนับสนุนสถานที่ และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolyzates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *27*, 1256-1262.

AOAC (2000). *Official methods of analysis* (17th ed.). Gaithersburg, MD, USA: Association of Official Chemists.

Bari, M.L., Nei, D., Sotome, I., Nishina, I., Isobe, S., & Kawamoto, S. (2009). Effectiveness of sanitizers, dry heat, hot water, and gas catalytic infrared heat treatments to inactivate Salmonella on almonds. *Foodborne Pathogens and Disease, 6,* 953–958

Barrett, A. J., Woessner J. F., & Rawlings, N. D. (2012). *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 2nd Edn., London: Elsevier Academic Press.

Doucet, D., Otter, D. E., Gauthier, S. F., & Foegeding, E. A. (2003). Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by Alcalase: Peptide identification and determination of enzyme specificity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*, 6300-6308.

Feng, P., Weagant, S.D., Grant, M.A., Burkhardt, W., Shellfish M., & Water, B. (2002). BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the *Coliform Bacteria*. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Retrieved April 6, 2020, from http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm.

Goodman, M., Bostick, R. M., Kucuk, O., & Jones, D. P. (2011). Clinical Trials of Antioxidants as Cancer Prevention Agents: Past, Present, and Future. *Free Radical Biology and Medicine, 51*, 1068–1084.

Hernández-Ledesma, B., Davalos, A., Bartolome, B., and Amigo, L. (2005). Preparation of antioxidant ensymatichydrolysates from α-lactalbumin and β-lactoglobulin.Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53,* 588-593.

Hockney, L.J., & Cousin. M.A. (1983). Dection of heat resistant proteases produced by psychrotrophs in refrigerated milk. *Journal of Dairy Science, 68*, 810-816.

Khongla, C., Musika, M., Tamaruay, K., Kupradit, C., Ranok, A., Mangkalanan, S., Minjanthuek, W., Thaphinna, C., & Saentumthong, N. (2017). Development of low fat pasteurized milk supplemented with whey protein hydrolysate. *Science and Technology Research Journal Nakhon Ratchasima Rajabhat University, 2*, 1-8. (in Thai)

Mann, B., Kumari, A., Kumar, R., Sharma, R., Prajapati, K., Mahboob, S., & Athira, S. (2015). Antioxidant activity of whey protein hydrolysates in milk beverage system. *Journal of Food Science and Technology, 52,* 3235–3241.

Maturin, L., & Peeler, J. T. (2001). BAM: Aerobic Plate Count. Retrieved April 6, 2020, https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm.

Mendis, E., Rajapakse, N., Byun, H. G., & Kim, S. K. (2005a). Investigation of Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. *Life Sciences. 77,* 2166–2178.

Mendis, E., Rajapakse, N., & Kim, S. K. (2005b). Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 53, 581–587.

Minjanthuek, W., Thaphinna, C. Saentumthong, N., Khongla, C., Musika, M., & Tamaruay, K. (2016). Development of low fat sterilized milk supplemented with whey protein hydrolysate. *Science and Technology Research Journal Nakhon Ratchasima Rajabhat University, 1*, 37-44. (in Thai)

Nielsen, S. Determination of moisture content. (2010). Retrieved April 10, 2020, from https://www.researchgate.net/publication/227028589_Determination_of_Moisture_Content.

Notification of the Ministry of Public Health (No.351). (2013). Flavoured milk. Retrieved April 6, 2020, from http://www.rapat.or.th/images/column_1344938304/%BB%C3%D0%A1%D2%C8%A1%C3%D0%B7%C3%C7%A7%CA%D2%B8%D2%C3%B3%CA%D8%A2%20%28%A9%BA%D1%BA%B7%D5%E8351%29%20%BE_%C8_%202556%E0%C3%D7%E8%CD%A7%B9%C1%BB%C3%D8%A7%E1%B5%E8%A7.pdf (in Thai)

Promchote, P.T. (2017). Chemical compositions and antioxidant properties of Pla-ra Thai indigenous fermented fish product. *Journal of Science and Technology Ubon Ratchathani University, 19,* 159–172 (in Thai)

Pornchaloempong, P., & Rattanapanon, N. Maltodextrin. (2020). Retrieved April 6, 2020, from http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1914/maltodextrin-.html (in Thai)

Qian, Z. J. Jung, W. K. Byun H. G. and Kim, S. K. (2008). Protective effect of an antioxidative peptide purified from gastrointestinal digests of oyster, *Crassostrea gigas* against free radical induced DNA damage. *Bioresource Technology, 99,* 3365-3371.

Sadat, L., Cakir-Kiefer, C., N'Negue, M. A., Gaillard, J. L., Girardet, J. M., & Miclo, L. (2011). Isolation and identification of antioxidative peptides from bovine α-lactalbumin. *International Dairy Journal, 21*, 214–221.

Saiga, A., Tanabe, S., & Nishimura, T. (2003). Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51,* 3661–3667.

Simpson, B. K. (2000). Digestive proteinases from marine animals. In N. M., Haard & B. K. Simpson. (Eds.), *Seafood enzymes: Utilization and influence on postharvest seafood quality*, (pp. 531-540). New York: Marcel Dekker

Sirisamut, T. (2015). Whey Protein: Nutritional and Medical Benefits. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, *10*, 75-80. (in Thai)

Sugamura, K., and Keaney, J. F. Jr. (2011). Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Disease. *Free Radical Biology and Medicine, 51*, 978–992.

Thai Kasetsart. Types of drinking milk. (2014). Retrieved April 6, 2020, from A3%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A0%E0%B8%97%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%99%E0%B8%A1%E0%B8%9E%E0%B8%A3%E0%B9%89%E0%B8%AD%E0%B8%A1%E0%B8%94%E0%B8%B7%E0%B9%88%E0%B8%A1/ (in Thai)

Wiriyaphan, C., Chitsomboon, B., Roytrakul, S., & Yongsawadigul, J. (2013). Isolation and identification of antioxidative peptides from hydrolysate of threadfin bream surimi processing byproduct. *Journal of Functional Foods, 5*, 1 6 5 4 –1 6 6 4.

Wiriyaphan, C., Chitsomboon, B., & Yongsawadigul, J. (2012). Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. *Food Chemistry, 132*, 104–111.

Wiriyaphan, C., Xiao, H., Decker, E. A. & Yongsawatdigul, J. (2015). Chemical and cellular antioxidative properties of threadfin bream (*Nemipterus* spp.) surimi byproduct hydrolysates fractionated by ultrafiltration. *Food Chemistry*, *167*, 7-15.

Zhang, J. H., Zhang, H.,Wang, L., Guo, X. N., Wang, X. G., & Yao, H. Y. (2010). Isolation and identification of antioxidative peptides from rice endosperm protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and MALDI-TOF/TOF MS/MS. *Food Chemistry, 119*, 226–234.