องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของปลาร้า

Chemical Compositions and Antioxidant Properties of Pla-ra, Thai Indigenous Fermented Fish Product

ปัญจภรณ์ ทัดพิชญางกูร พรหมโชติ

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

*Email: pan.p@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี การย่อยสลายของโปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของปลาร้า 2 ชนิด จาก 3 แหล่งผลิต (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบว่า ปลาร้าทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ปลาร้าต่วง (type A) และปลาร้าแกง (type B) มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 17.17-22.59 3.5-12.68 และ 59.29-69.11 ของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ค่าพีเอชของปลาร้า type A มีค่าระหว่าง 6.64-7.14 และปลาร้า type B มีค่าระหว่าง 5.28-5.43 โดยค่าพีเอชดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่าง ค่า DPPH radical scavenging activity ของปลาร้า type A จากแหล่งผลิต I มีค่าสูงกว่าตัวอย่างอื่น (P<0.05) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการย่อยสลายโปรตีน ได้แก่ ปริมาณโอลิโกเพปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และปริมาณแอลฟาอะมิโน ค่า ABTS radical scavenging activity และ reducing power ของปลาร้า type B มีค่าสูงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่น (P< 0.05) อย่างไรก็ตามตัวอย่างปลาร้า type A ทุกตัวอย่างมีค่า metal chelating activity สูงมากกว่าร้อยละ 96 ขณะที่ปลาร้า type B มีค่าดังกล่าวอยู่ระหว่างร้อยละ 16.90-23.38

คำสำคัญ: ปลาร้า สารต้านออกซิเดชัน ปลาหมักพื้นบ้าน การย่อยสลายของโปรตีน องค์ประกอบทางเคมี

Abstract

The objective of this study was to investigate the chemical compositions, protein degradation and antioxidant properties of two types of Pla-ra from three manufactures (I, II, III) of Ubon Ratchathani. The results showed that protein fat and ash contents of the two types of Pla-ra (type A and B) were 17.17-22.59% 3.5-12.68% and 59.29-69.11% dry basis, respectively. The pH values of type A samples were 6.64-7.14 while those values of type B samples were 5.28-5.43. These results corresponded to their total acidity. DPPH radical scavenging activity of type A sample from manufacture I was higher than other samples (P<0.05). This result was highly related to the degree of protein degradation which was represented by the trichloroacetic acid-soluble oligopeptide content, total volatile base nitrogen and α-amino acid. Higher values of ABTS radical scavenging activity and reducing power were found in type B samples. Metal chelating activity of type A samples from various manufactures was higher than 96% while that of type B samples was between 16.90-23.38%.

Keywords: Pla-ra; Antioxidants; Indigenous fermented fish; Protein degradation; Chemical composition

1. บทนำ

ปลาร้าเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจค่อนข้างสูง การสำรวจมูลค่าการจำหน่ายปลาร้าในจังหวัดอุบลราชธานี ปี พ.ศ. 2553 พบว่า มีค่าสูงกว่า 107 ล้านบาทต่อปี [1] ปลาร้าที่ผลิตในจังหวัดแบ่งเป็น 2 ชนิดหลักคือ ปลาร้าต่วงและปลาร้าแกง ปลาร้าต่วงผลิตจากปลาขนาดเล็ก เช่น ปลาซิวแก้ว หมักกับเกลือร้อยละ 25-35 นานประมาณ 1-2 สัปดาห์ ก่อนการเติมรำข้าวหรือข้าวคั่ว แล้วหมักต่ออีกประมาณ 2-3 เดือน ลักษณะปลาร้ายังคงลักษณะเป็นตัว แต่เนื้อนิ่ม ยุ่ย มีสีคล้ำ มีรสเค็มจัดและกลิ่นรุนแรง ส่วนปลาร้าแกงผลิตจากปลาขนาดใหญ่ทั้งตัวหรือปลาหั่นเป็นชิ้น เช่น ปลานิล ปลาตะเพียน ปลาหมอ เป็นต้น หมักกับเกลือร้อยละ 30-50 นาน 1 วัน- 2 สัปดาห์ ก่อนใส่ข้าวคั่ว รำข้าว หรือรำข้าวคั่ว แล้วหมักต่อประมาณ 1 ปี ปลาร้าแกงที่หมักได้ยังคงสภาพตัวปลาคงเดิม เนื้อปลานิ่มแต่ไม่เละ มีน้ำหมักเกิดขึ้นเล็กน้อย สีของปลาร้ามีตั้งแต่สีน้ำตาลแดงหรือน้ำตาลเข้ม ขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ มีรสเค็ม กลิ่นรุนแรงน้อยกว่าปลาร้าต่วง ปลาร้าทั้งสองชนิดมีวัตถุประสงค์การใช้แตกต่างกัน ปลาร้าต่วงนิยมใช้ปรุงส้มตำ ส่วนปลาร้าแกงใช้สำหรับการปรุงอาหารประเภทแกง หรือปลาร้าปรุงสุกทั้งตัว [1]

กระบวนการหมักปลาร้าเกิดขึ้นเนื่องจากย่อยโปรตีนปลาโดยธรรมชาติด้วยเอนไซม์จากตัวปลาและ/หรือเอนไซม์จากแบคทีเรีย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและระดับการย่อยสลายของโปรตีน รายงานวิจัยหลายฉบับแสดงข้อมูลสมบัติต้านออกซิเดชันของโปรตีนสายสั้นหรือเพปไทด์ที่เกิดจากการย่อยโปรตีนของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำหมัก เพปไทด์สายสั้นที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนระหว่างกระบวนการหมักซอสหอยแมลงภู่มีสมบัติต้านออกซิเดชันที่ทดสอบด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity [2] ความสามารถต้านออกซิเดชันของกะปิที่หมักนาน 1 90 180 และ 360 วัน เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น [3] ค่า ferric reducing antioxidant power (FRAP) ของกะปิมีค่าสูงกว่า กุ้งสัม และกุ้งฝอย [4] และนอกจากนี้ยังพบว่าเค็มบักนัดซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักกับเกลือและสับปะรด บรรจุและหมักในขวดปากแคบมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก 3 เดือน [5] แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลด้านองค์ประกอบทางเคมี การย่อยสลายโปรตีนภายหลังการหมัก และสมบัติต้านออกซิเดชันของปลาร้ายังมีจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาองค์ประกอบทางเคมี การย่อยสลายโปรตีนและสมบัติต้านออกซิเดชันของปลาร้า 2 ชนิด ได้แก่ ปลาร้าแกงและปลาร้าต่วง จากแหล่งผลิต 3 แหล่งหลักในจังหวัดอุบลราชธานี

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 ตัวอย่างปลาร้า สุ่มตัวอย่างปลาร้า 2 ชนิด ได้แก่ ปลาร้าแกงผลิตจากปลาเบญจพรรณทั้งตัว หมักเกลือร้อยละ 35-50 นานประมาณ 12 เดือน และปลาร้าต่วงผลิตจากปลาขนาดเล็กหมักเกลือร้อยละ 20-25 นานประมาณ 3 เดือน ปลาร้าทั้ง 2 ชนิดเป็นปลาร้าที่หมักได้ที่และพร้อมออกจำหน่ายจากโรงงานผลิตและค้าส่งปลาร้า 3 แหล่งหลักในอำเภอโขงเจียมและอำเภอสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี เก็บตัวอย่างปลาร้าในภาชนะปิดสนิทและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระหว่างการรอวิเคราะห์เพื่อชะลอกิจกรรมของเอนไซม์และจุลินทรีย์

2.2 การเตรียมตัวอย่าง โดยการปั่นหยาบด้วยเครื่องปั่นผสม (Thomas Model: HGBTWT, USA) ความเร็วเบอร์ 10 เวลา 1 นาที และปั่นละเอียดด้วยโฮโมจิไนเซอร์ (IKA-T25 Ultra Turrax®, Germany) ที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บในถุงพลาสติกและปิดผนึกแบบสุญญากาศ และแช่แข็งที่ – 20 องศาเซลเซียส

2.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาร้า

2.3.1 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า [6]

2.3.2 ค่าพีเอช วัดด้วยเครื่อง pH meter [6]

2.3.3 ปริมาณกรดทั้งหมด วัดด้วยวิธีการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน sodium hydroxide เข้มข้น 0.1 N [6]

2.3.4 ปริมาณเกลือ วัดด้วยวิธีการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน silver nitrate เข้มข้น 0.1 M [6]

2.3.5 วิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโน (α-amino acid) ตัวอย่างสารละลายโปรตีน 125 ไมโครลิตร เติม 0.2125 M phosphate buffer (pH 8) จำนวน 2 มิลลิลิตร และ 3.41 mM 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid จำนวน 1.0 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 30 นาที ในที่มืด เติม 0.1 M sodium sulfite จำนวน 2.0 มิลลิลิตร จากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน L-leucine [7]

2.3.6 ปริมาณโอลิโกเพปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid soluble oligopeptide) ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม เติมกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 9 มิลลิลิตร โฮโมจิไนซ์ที่ความเร็วรอบ 11000 rpm 1 นาที บ่มในน้ำแข็ง 30 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 xg 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วัดปริมาณโปรตีนโดยใช้สารละลายมาตรฐาน Tyrosine [8]

2.3.7 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile basic nitrogen, TVB-N) วิธี Conway micro-diffusion assay [9]

2.4. ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันของปลาร้า

2.4.1 สกัดโปรตีนที่ละลายได้ ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมจากข้อ 2.2 ที่ความเร็วรอบ 3,000 x g 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใส และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อนำไปวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในส่วนใสด้วยวิธี Lowry method [8] โดยใช้สารละลายมาตรฐาน bovine serum albumin

2.4.2 วิเคราะห์ 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity ตามวิธีดัดแปลง [10] ผสมตัวอย่างโปรตีน เข้มข้น 3 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิลิตร จำนวน 50 ไมโครลิตร กับ 0.1 mM DPPH จำนวน 1.95 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox เข้มข้น 1.25 mM รายงานค่าในรูปของ mM Trolox/mg protein

2.4.3 วัดค่า 2-2'-azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ตามวิธีดัดแปลง [11] เตรียมสารละลาย ABTS (7 mM ABTS และ 2.45 mM potassium persulfate) จากนั้นเก็บในที่มืด 16 ชั่วโมงก่อนใช้ เจือจางสารละลาย ABTS ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (0.2 M sodium phosphate-buffered saline pH 7.4) ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.70±0.02 ที่ 734 nm จากนั้นผสมตัวอย่างโปรตีนเข้มข้น 3 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS เจือจาง จำนวน 1.98 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาที เก็บในที่มืด 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm เปรียบเทียบกับสารละลาย Trolox มาตรฐานเข้มข้น 1 mM

2.4.4 Reducing Power ตามวิธีดัดแปลง [12] ตัวอย่างโปรตีนเข้มข้น 3 มิลลิกรัม โปรตีน/มิลลิลิตร จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6) จำนวน 2.5 มิลลิลิตร และ potassium ferricyanide เข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 2.5 มิลลิลิตร บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติม trichoroacetic acid เข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 2.5 มิลลิลิตร และปั่นเหวี่ยงที่ 3000 x g 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใส 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตรและ ferric chloride เข้มข้นร้อยละ 0.1 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรเปรียบเทียบกับสารละลาย Trolox มาตรฐานเข้มข้น 5 mM

2.4.5 Metal-Chelating activity ตามวิธีดัดแปลง [13] ตัวอย่างโปรตีนเข้มข้น 1 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมน้ำ 3.7 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 2 mM ferrous chloride 0.1 มิลลิลิตร และ 5 mM ferrozine 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

2.5. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DRMT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3. ผลการวิจัย

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของปลาร้า

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลือ ค่าพีเอช และปริมาณกรดทั้งหมดของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกง จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง พบว่า ตัวอย่างปลาร้าต่วงมีค่าความชื้นสูงกว่าปลาร้าแกงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$, ตารางที่ 1) และตัวอย่างปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากแหล่ง I มีความชื้นต่ำ เมื่อเทียบกับแหล่งอื่น ค่าความชื้นของตัวอย่างขึ้นอยู่กับความชื้นเริ่มต้นของปลา อัตราส่วนปลาต่อเกลือ และระยะเวลาการหมัก ปริมาณโปรตีนฐานแห้งของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 17.17-22.59 และมีค่าปริมาณไขมันระหว่างร้อยละ 3.50-12.68 จะเห็นว่าปริมาณโปรตีนและปริมาณไขมันในปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงค่อนข้างแปรปรวน ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากชนิดของปลาและอัตราส่วนเนื้อปลา ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อปริมาณโปรตีนและไขมัน ปริมาณเถ้าแสดงถึงองค์ประกอบของสารอนินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่จากการเผาไหม้ หรือปริมาณแร่ธาตุในอาหาร เช่น แคลเซียม โซเดียม โปแตสเซียม และ คลอไรด์ [14] ซึ่งความแตกต่างของชนิดปลา อัตราส่วนเนื้อปลาและปริมาณเกลือที่ใช้ในการผลิตปลาร้า อาจเป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลให้ปริมาณแร่ธาตุในปลาร้ามีค่าแตกต่างกัน องค์ประกอบทางเคมีของปลาร้าทั่วไป พบว่า ปลาร้ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 7-21 ไขมันร้อยละ 2-7 เกลือร้อยละ 11-16 แคลเซียมร้อยละ 1.5-2.5 และฟอสฟอรัสร้อยละ 0.6-1 [15] ผลการทดลองนี้พบว่า ปลาร้าทั้ง 2 ชนิด จัดเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักที่มีปริมาณโปรตีนและแร่ธาตุสูงและยังมีปริมาณไขมันต่ำโดยเฉพาะในตัวอย่างปลาร้าแกง

ปริมาณเกลือบ่งบอกถึงปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในปลาร้า จากผลการทดลองพบว่า ปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากทั้งสามแหล่งผลิตมีความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปริมาณเกลือในปลาร้าแต่ละชนิด ปลาร้าต่วงมีปริมาณเกลือร้อยละ 13.07-13.57 และปลาร้าแกงมีปริมาณเกลือร้อยละ 18.15-20.17 เหตุผลความแตกต่างของปริมาณเกลือขึ้นอยู่กับอัตราส่วนเกลือที่ใช้ในการผลิตปลาร้าแต่ละชนิด อย่างไรก็ตามปริมาณเกลือของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงดังกล่าวมีค่าตามมาตรฐาน มผช. 37/2546 ซึ่งกำหนดว่าปลาร้าต้องมีปริมาณเกลือร้อยละ 12 ถึงร้อยละ 20 [16] ปริมาณเกลือหรือโซเดียมคลอไรด์ 6 กรัม จะมีโซเดียมประมาณ 2400 มิลลิกรัม ซึ่งเป็นปริมาณสูงสุดที่ร่างกายควรได้รับและไม่ก่อให้เกิดอันตราย [17] จากการสำรวจปริมาณโซเดียมคลอไรด์ใน ปลาร้า กะปิ น้ำปลา และไตปลา มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 11.3 17.6 19.7 และ 17.2 ตามลำดับ ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์อาหารมีมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับกรรมวิธีและปริมาณเกลือที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์นั้นๆ [17] แม้ปริมาณเกลือในปลาร้าแกงและปลาต่วงจะอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน มผช. 37/2546 [16] แต่ในแง่ของการบริโภคปลาร้า ผู้บริโภคควรต้องคำนึงถึงความเค็มและปริมาณโซเดียมที่ร่างกายจะได้รับ โดยเฉพาะผู้ที่ต้องจำกัดโซเดียม

ผลของปริมาณกรดทั้งหมดและค่าพีเอชของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงทั้ง 3 แหล่งมีความสัมพันธ์กัน ปลาร้าแกงซึ่งมีค่าพีเอชต่ำจะมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างปลาร้าต่วง กระบวนการหมักเกิดจากการผลิตกรดแลกติกโดยจุลินทรีย์ในปลาร้า เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นและพีเอชมีค่าลดลง [18] ดังนั้นจากผลการทดลองของค่าพีเอชน่าจะบ่งบอกถึงการย่อยสลายโปรตีนที่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับกระบวนการและระยะเวลาการหมัก

3.2 การย่อยสลายโปรตีน (protein degradation) ในปลาร้า

3.2.1 ปริมาณโอลิโกเพปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก

ปริมาณโอลิโกเพปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก แสดงถึงการย่อยโปรตีนในระหว่างกระบวนการหมักปลาร้า จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณ TCA-soluble oligopeptide ของปลาร้ามีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวิธีการผลิตปลาร้าและแหล่งผลิต ปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากแหล่งผลิต I มีปริมาณ TCA-soluble oligopeptide สูงกว่าปลาร้าชนิดเดียวกันจากแหล่งอื่นๆ ($P<0.05$, รูปที่ 1) เมื่อพิจารณาชนิดของปลาร้าพบว่า ปลาร้าต่วงมีแนวโน้มของการย่อยสลายโปรตีนมากกว่าปลาร้าแกง ทั้งนี้อาจเนื่องจากปลาร้าต่วงผลิตจากปลาซึ่งมีขนาดเล็กกว่าและปริมาณเกลือต่ำกว่าปลาร้าแกง จึงส่งผลให้เกิดการหมักและการย่อยสลายของโปรตีนปลาได้เร็วกว่าปลาร้าแกงซึ่งผลิตจากปลาเบญจพรรณที่มีขนาดใหญ่กว่าและใช้ปริมาณเกลือสูงกว่า จากรายงานวิจัยการหมักไส้ทูน่าด้วยเกลือร้อยละ 10 17.5 และ 25 พบว่า การหมักด้วยเกลือความเข้มข้นต่ำร้อยละ 10 เกิดการย่อยสลายโปรตีนและกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มแลกติกสูงกว่าตัวอย่างที่หมักด้วยเกลือร้อยละ 17.5 และ 25 ตามลำดับ [19] โอลิโกเพปไทด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่นรสของปลาหมัก [20], [21] ดังนั้นปริมาณ TCA-soluble oligopeptide ของปลาร้าต่วงอาจเป็นดัชนีหนึ่งที่ใช้บ่งบอกความรุนแรงของกลิ่นปลาร้าต่วงเมื่อเทียบกับปลาร้าแกง

3.2.2 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด

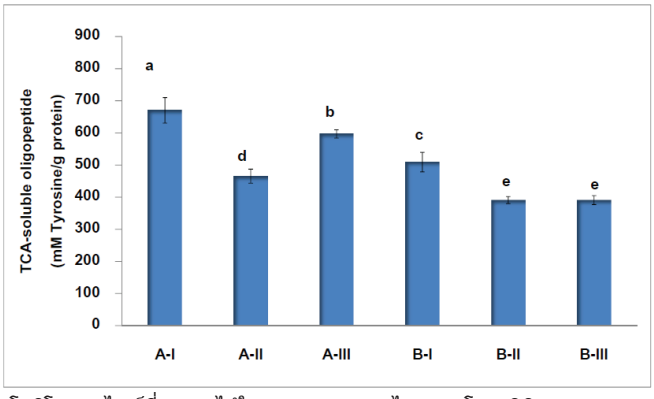
ปริมาณ TVB-N ของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงมีค่าแตกต่างกันตามชนิดปลาร้าและแหล่งผลิต (รูปที่ 2) TVB-N เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของโปรตีนและองค์ประกอบไนโตรเจนอื่นเนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรียและเอนไซม์ในตัวปลา ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ประกอบด้วย แอมโมเนีย ไตรเมทิลเอมีน (trimethylamine)ไดเมทิลเอมีน (dimethylamin) เมทิลเอมีน (methylamine) และสารประกอบไนโตรเจนอื่นที่ระเหยได้ [22], [23] เมื่อพิจารณาปลาร้าจากแหล่งผลิตเดียวกันแต่ต่างชนิดกันพบว่า TVB-N ของปลาร้าต่วงมีค่าสูงกว่าปลาร้าแกงในทุกแหล่งผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผล TCA-soluble oligopeptide ดังรูปที่ 1 ค่า TVB-N เพิ่มขึ้นเมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนเนื่องจากเอนไซม์และจุลินทรีย์ในตัวปลา และค่า TVB-N ยังมีความสัมพันธ์กับระยะเวลา สภาวะในการเก็บรักษา และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ [23] ผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ [24] ซึ่งพบว่าค่า TVB-N ของน้ำปลาที่ผลิตจากปลากะตักเพิ่มขึ้นเมื่อเกิดการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาจากจุลินทรีย์และเอนไซม์ในตัวปลา จากผลการทดลองนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่าปลาร้าต่วงจากทุกแหล่งผลิตเกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนสูงกว่าปลาร้าแกง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของปลาร้า

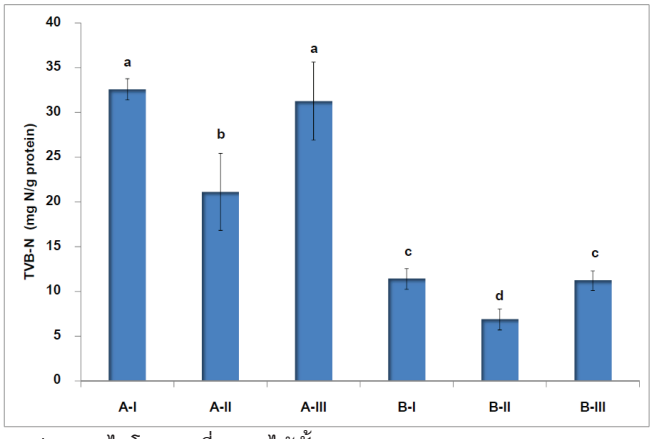
องค์ประกอบทางเคมี	ปลาร้าต่วง			ปลาร้าแกง		
	I	II	III	I	II	III
ความชื้น (% wb)	73.51±0.46^{c}	76.05±0.12^{b}	78.35±0.10^{a}	63.88±0.25^{e}	69.90±0.19^{d}	69.55±0.10^{d}
โปรตีน (%db)	22.59±0.41^{a}	22.41±0.36^{ab}	17.17±0.87^{d}	21.24±0.55^{b}	19.97±0.74^{c}	19.07±1.05^{c}
ไขมัน (%db)	12.49±0.21^{a}	12.68±1.01^{a}	5.94±1.00^{c}	7.89±0.85^{b}	3.50±0.64^{d}	7.34±0.23^{b}
เถ้า (%db)	59.29±2.85^{c}	62.65±1.45^{c}	68.74±0.95^{a}	65.89±1.19^{b}	69.11±1.03^{a}	68.54±0.33^{a}
เกลือ (% NaCl)	13.27±1.25^{c}	13.57±0.10^{c}	13.09±0.22^{c}	20.17±0.39^{a}	18.55±0.12^{b}	18.15±0.36^{b}
พีเอช (pH)	6.64±0.02^{c}	6.74±0.009^{b}	7.14±0.02^{a}	5.43±0.01^{d}	5.41±0.01^{d}	5.28±0.00^{e}
ปริมาณกรดทั้งหมด (% as lactic acid)	3.13±0.52^{b}	2.24±0.51^{c}	2.24±0.51^{c}	6.49±0.44^{a}	6.94±0.44^{a}	6.49±0.44^{a}

หมายเหตุ % wb คือ wet basis แสดงร้อยละน้ำหนักเปียก และ % db คือ dry basis แสดงร้อยละน้ำหนักแห้ง

^{abcd} อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 1 ปริมาณโอลิโกเพปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid (TCA)-soluble oligopeptide) ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B) จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี

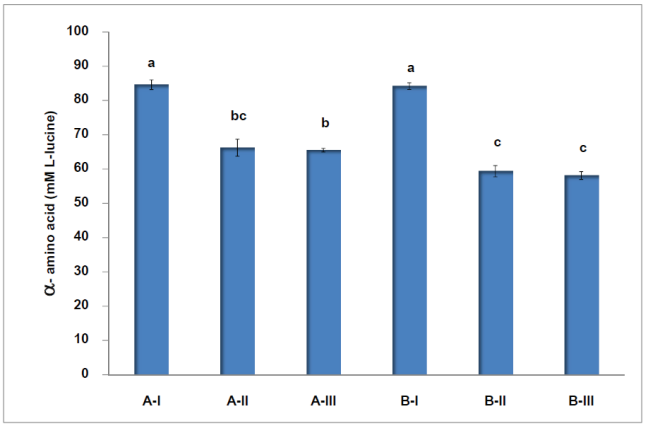


รูปที่ 2 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B) จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี

3.2.3 ปริมาณแอลฟาอะมิโน

ปริมาณแอลฟาอะมิโนของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากแหล่งผลิต I มีค่าสูงกว่าตัวอย่างปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากแหล่งผลิตอื่นอย่างสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$, รูปที่ 3) ปริมาณแอลฟาอะมิโน บ่งบอกถึงการย่อยสลายโปรตีนโดยกิจกรรมของเอนไซม์ในปลาและจากจุลินทรีย์ ผลผลิตที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนระหว่างการหมักคือ กรดอะมิโน และโพลิเพปไทด์ สารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ปลาหมัก นอกจากนี้ยังเกิดสารอื่นๆ ที่เป็นผลพลอยได้ คือ แอมโมเนีย และปริมาณไนโตรเจนที่มีโมเลกุลต่ำ [25] สาเหตุที่ส่งผลให้ตัวอย่างปลาร้าต่วง มีปริมาณแอลฟาอะมิโนสูงกว่าตัวอย่างอื่น อาจเนื่องจากปลาร้าต่วงเกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนสูงกว่าตัวอย่างปลาร้าแกง ดังผลปริมาณกรดทั้งหมด (ตารางที่ 1) ค่า TCA-soluble oligopeptide (รูปที่ 1) และ ค่า TVB-N (รูปที่ 2) เทคนิคการผลิตของแต่ละแหล่งผลิต ชนิดและขนาดปลาเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) จากรายงานของ [26] พบว่าตัวอย่างน้ำปลาจากเศษหมึกที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายตัวเอง มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าน้ำปลาที่ไม่ผ่านการกระบวนการย่อยสลายตัวเองและน้ำปลาที่ผ่านการเติมเอนไซม์

จากผลการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนในปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากแหล่งผลิต 3 แหล่ง สามารถกล่าวได้ว่าปลาร้าเกิดการย่อยสลายของโปรตีนด้วยกิจกรรมของเอนไซม์และจุลินทรีย์ ได้ผลผลิตคือ โอลิโกเพปไทด์ สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด และแอลฟาอะมิโน ปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายโปรตีนของปลาร้า ได้แก่ แหล่งผลิตและชนิดของปลาร้า ซึ่งในความหมายของแหล่งผลิตในที่นี้หมายรวมถึง ชนิดและขนาดปลา ปริมาณเกลือ อัตราส่วนเนื้อปลา และเทคนิคการผลิตของผู้ประกอบการ



รูปที่ 3 ปริมาณแอลฟาอะมิโน (α-amino acid) ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B)จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี

3.3. สมบัติต้านออกซิเดชันของปลาร้า

3.3.1 DPPH radical scavenging activity

DPPH radical scavenging activity เป็นวิธีการตรวจสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยอาศัย DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีสีม่วงและมีความเสถียรในตัวทำละลายเมทานอล สามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ซึ่งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ จะ

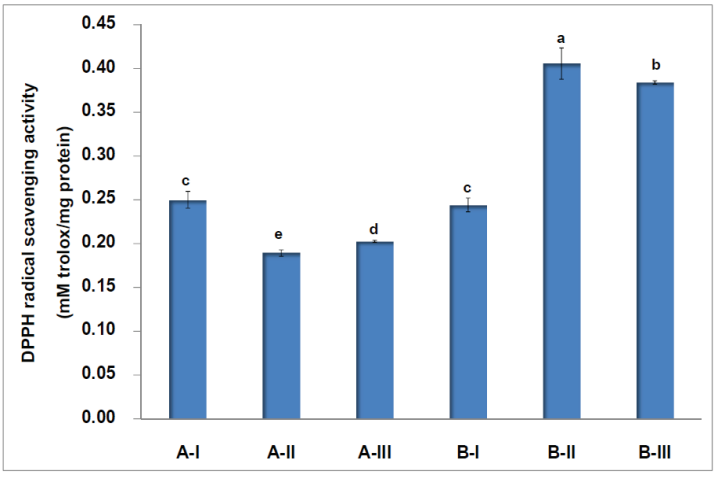
ถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านออกซิเดชัน กลายเป็น DPPH-H [27] ปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (รูปที่ 4) เมื่อพิจารณาเฉพาะชนิดของปลาร้า ปลาร้าต่วงจากแหล่งผลิต I มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ สูงกว่าตัวอย่างเดียวกันจากแหล่งผลิตอื่น ($P<0.05$) เนื่องจากเกิดการย่อยสลายโปรตีนสูงกว่า ดังแสดงจากผลปริมาณ TCA-soluble oligopeptide TVB-N และ แอลฟาอะมิโน (รูปที่ 1-3) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH ของเพปไทด์สกัดจากกะปิที่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเกิดการย่อยสลายโปรตีนเพิ่มขึ้น [28] แต่จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ปลาร้าแกงมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าปลาร้าต่วง โดยเฉพาะปลาร้าจากแหล่งผลิต II และ III ($P<0.05$) ซึ่งผลดังกล่าวตรงข้ามกับผลการย่อยสลายของโปรตีน (รูปที่ 1-3) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสมบัติ DPPH radical scavenging activity ขึ้นอยู่กับกรดอะมิโนที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^{+}) กับอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ซึ่งจัดเป็นอนุมูลอิสระชนิดไม่มีขั้ว (hydrophobic free radical) ดังนั้นกรดอะมิโนที่แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระส่วนมากจะเป็นพวกที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ไกลซีน อะลานีน วาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน และโพรลีน งานวิจัยของ [29] รายงานว่าเพปไทด์และกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำสูง (hydrophobic amino acid) ที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ สูง และกรดอะมิโนอิสระไม่ชอบน้ำที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์โปรติเอส เช่น ไทโรซีน เมทไธโอนิน ฮีสทิดีน ไลซีน และทริปโตแฟน มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ [30] นอกจากนี้ การศึกษาโปรตีนส่วนที่ละลายน้ำจากกะปิ จะลู และกุ้งสัม พบว่าโปรตีนที่ละลายน้ำได้มีความสามารถในการต้านอนุมูลของ $DPPH^{\bullet}$ โดยโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากจะลูและกุ้งสัมมีค่า DPPH radical scavenging activity ที่ 3.34-5.30 μmol TE/g protein และ 2.72-3.02 μmol TE/g protein ตามลำดับ ส่วนกะปิจะมีค่า DPPH radical scavenging activity อยู่ในช่วง 2.14-7.05 μmol TE/g protein [31] ซึ่งจะเห็นได้ว่ากุ้งสัมจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลของ $DPPH^{\bullet}$ โดยเฉลี่ยน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับจะลูและกะปิ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าตัวอย่างปลาร้าที่มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้สูงจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของเพปไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก นอกจากนี้ผลการทดลองยังอาจมีนัยว่าปลาร้าที่มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้สูงน่าจะประกอบด้วยเพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนที่มีโซ่ข้าง (R-side chain) ไม่ชอบน้ำสูง

3.3.2 ABTS radical scavenging activity

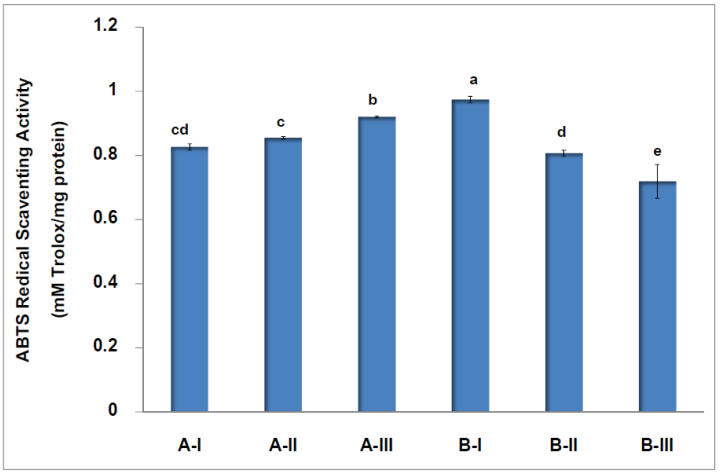
ABTS radical scavenging activity เป็นการวัดสมบัติต้านอนุมูลอิสระทางอ้อม โดยการออกซิไดซ์สาร ABTS ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ $ABTS^{+\bullet}$ ที่มีสีฟ้าเขียวและสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660, 734 และ 820 nm แต่ปกตินิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยการปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของ $ABTS^{+\bullet}$ ให้มีค่าเท่ากับ 0.700 ±0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ ค่าดูดกลืนแสงของ $ABTS^{+\bullet}$ จะลดลง อนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์ จึงสามารถทดสอบได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำและละลายในไขมัน [32] จากผลการทดลอง ABTS radical-scavenging activity ในตัวอย่างปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจากทั้ง 3 แหล่งผลิต (รูปที่ 5) ให้ผลในทางตรงกันข้ามกับค่า DPPH radical scavenging activity (รูปที่ 4) นอกจากนี้ยังพบว่าสมบัติ ABTS radical scavenging activity ของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงมีค่า (0.82-0.92 และ 0.80-0.97 mM Trolox/mg protein ตามลำดับ) สูงกว่า DPPH radical scavenging activity ของปลาร้าดังกล่าว (0.18-

0.25 และ 0.24-0.40 mM Trolox/mg protein ตามลำดับ)

ความแตกต่างระหว่าง DPPH และ ABTS radical scavenging activity น่าจะขึ้นอยู่กับชนิดของอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ความสามารถในการละลายและการกระจายตัวในสารละลายตัวกลางที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา วิธีการวัดค่า DPPH radical scavenging activity มีข้อจำกัดเมื่อใช้สำหรับการวัดสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่ม hydrophilic antioxidant เนื่องจากสาร DPPH ละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ ในขณะที่สาร ABTS เป็นอนุมูลที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์ จึงสามารถตรวจวัดได้ทั้งสารในกลุ่ม hydrophobic และ hydrophilic antioxidant [33] มีงานวิจัยที่ให้ผลสอดคล้องกับทฤษฎีดังกล่าวข้างต้น ตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลามีค่า ABTS radical scavenging activity สูงกว่าค่า DPPH radical scavenging activity [34] เช่นเดียวกับการทดลองของ [33] ซึ่งรายงานว่า ABTS radical scavenging activity ของโปรตีนข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส (zein hydrolysate) มีค่าสูงกว่า DPPH radical scavenging activity จากผลการทดลองนี้อาจสามารถสรุปได้ว่าการทดสอบด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity มีความเหมาะสมในการวัดสมบัติต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างปลาร้า เนื่องจากเพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระในตัวอย่างปลาร้าที่สกัดได้น่าจะประกอบด้วยกรดอะมิโนในกลุ่มที่ชอบน้ำ (hydrophilic amino acid) และกรดอะมิโนในกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acid) ที่สามารถละลายได้ในสารละลายที่ส่วนใหญ่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ หรือเรียกว่าโปรตีนที่ละลายน้ำ (water-soluble protein) และนอกจากนี้ผลการทดลองยังมีนัยว่าตัวอย่างปลาร้าต่างชนิดและต่างแหล่งผลิตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของโปรตีนโดยเฉพาะการย่อยสลายโปรตีน ซึ่งอาจส่งผลต่อปริมาณและชนิดของเพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนในกลุ่มชอบน้ำและไม่ชอบน้ำของปลาร้าระหว่างกระบวนการหมัก



รูปที่ 4 DPPH radical scavenging activity ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B)จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี



รูปที่ 5 ABTS radical scavenging activity ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B) จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี

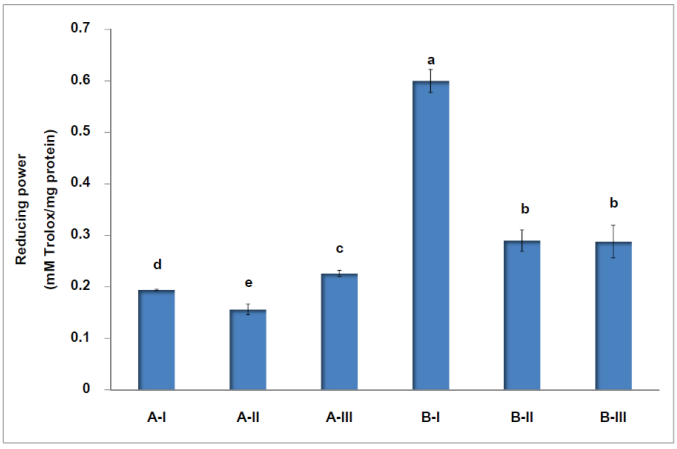
3.3.3 Reducing power

Reducing power คือความสามารถในการรีดิวซ์หรือการใช้อิเล็กตรอนของสารต้านออกซิเดชันที่ต้องการทดสอบ โดยเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันตามหลักการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเหล็กซึ่งเป็นสารออกซิแดนซ์ (oxidant) กับสารต้านออกซิเดชัน เมื่อสารต้านออกซิเดชันถ่ายเทอิเล็กตรอนให้แก่ Fe^{3+} ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น Fe^{2+} ผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ของปลาร้าพบว่า ปลาร้าแกงจากแหล่ง I มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงสุด ($P<0.05$, รูปที่ 6) สมบัติการรีดิวซ์ขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้อิเลคตรอนของเพปไทด์และกรดอะมิโนในตัวอย่าง สมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH radical-scavenging activity และ reducing power ของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาซาร์ดีนขึ้นอยู่กับระดับการย่อยของโปรตีน ซึ่งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และ reducing power เพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น เนื่องจากกิจกรรมการย่อยสลายของเอนไซม์โปรติเอส (protease) และเอนไซม์อัลคาเลส (alcalase) ได้กรดอะมิโนลิวซีน ฮีสติดีน และไลซีนที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้มาก [35]

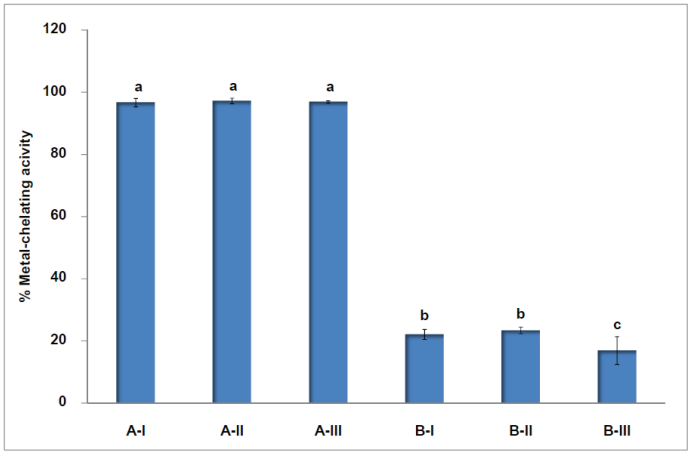
3.3.4 Metal-chelating activity

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะของปลาร้าต่วงและปลาร้าแกง แสดงดังรูปที่ 7 ผลการทดสอบพบว่า ปลาร้าต่วงทั้ง 3 ตัวอย่างมีความสามารถในการแย่งจับโลหะสูงกว่าร้อยละ 96 ขณะที่ปลาร้าแกงมีความสามารถดังกล่าวระหว่างร้อยละ 16.90-23.38 ความสามารถในการจับโลหะของโปรตีนขึ้นอยู่กับโครงสร้างและความยาวของสายเพปไทด์ เพปไทด์ และกรดอะมิโนแสดงสมบัติในการเป็นสารจับโลหะ (chelating agent) โดยการจับโลหะที่มีประจุบวก เช่น เหล็ก สังกะสี ทองแดง และแมงกานีส ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยสารจับโลหะจะล้อมไอออนบวกของธาตุโลหะที่ไม่เปิดโอกาสให้ประจุลบจากที่อื่นเข้าทำปฏิกิริยาได้ [36] จากผลการย่อยสลายโปรตีนซึ่งแสดงด้วยค่า TCA-soluble oligopeptide และ TVB-N ของตัวอย่างปลาร้าต่วงมีค่าสูงกว่าปลาร้าแกงในทุกตัวอย่างจากแหล่งผลิตเดียวกัน ผลดังกล่าวจึงสามารถกล่าวได้ว่าโปรตีนที่เกิดการย่อยสลายในปลาร้าต่วงมีความสามารถในการล้อมรอบประจุบวกของเหล็กเฟอรัสได้ดีกว่า นอกจากนี้ความสามารถในการจับโลหะของเพปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระยัง

ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดและด่างซึ่งมีบทบาทสำคัญในการจับโลหะ Fe^{2+} และ Cu^{2+} โดยเฉพาะสมบัติประจุลบและประจุบวกของของหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group, COO^-) และหมู่อะมิโน (amino group, NH_3) ตามลำดับ [37] โปรตีนจะมีประจุมวลรวมเป็นบวกหรือลบเมื่อค่าพีเอชต่ำกว่าหรือมากกว่าค่า isoelectric point (pI) ตามลำดับ ซึ่งโดยทั่วไปโปรตีนมีค่า pI ประมาณ pH 5-5.5 ตัวอย่างปลาร้าต่วงมีค่าพีเอชในช่วง 6.64-7.14 ขณะที่ปลาร้าแกงมีค่าพีเอชในช่วง 5.28-5.43 (ตารางที่ 1) เมื่อโปรตีนในปลาร้าต่วงมีประจุมวลรวมค่อนไปทางลบจึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลให้โปรตีนดังกล่าวมีความสามารถในการจับโลหะที่มีประจุบวกได้ดีกว่า ผลการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าความสามารถในการจับโลหะของปลาร้าขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลายโปรตีนระหว่างการหมัก และสมบัติประจุลบและประจุบวกของโปรตีน



รูปที่ 6 Reducing power ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B)จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี



รูปที่ 7 Metal-chelating activity ของตัวอย่างปลาร้าต่วง (A) และตัวอย่างปลาร้าแกง (B) จากแหล่งผลิต 3 แหล่ง (I, II, III) ในจังหวัดอุบลราชธานี

4. สรุปและเสนอแนะ

ปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงจาก 3 แหล่งผลิตหลัก ในจังหวัดอุบลราชธานี จัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่มีปริมาณโปรตีนและแร่ธาตุในรูปของเถ้าสูง มีปริมาณเกลือตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปลาร้า และปลาร้าต่วงและปลาร้าแกงยังมีสมบัติต้านออกซิเดชันทั้งด้านความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ สมบัติการรีดิวซ์ และการจับโลหะ ซึ่งแสดงด้วยค่า DPPH และ ABTS radical scavenging activity ค่า reducing power และ ค่า metal chelating activity ตามลำดับ การย่อยสลายโปรตีนระหว่างการหมักปลาร้าทำให้เกิดสารประกอบโปรตีนสายสั้น ได้แก่ โอลิโกเพปไทด์ และกรดอะมิโน ซึ่งสารประกอบเหล่านี้ส่งเสริมให้ปลาร้ามีสมบัติต้านออกซิเดชันดังกล่าว ความแตกต่างของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของปลาร้าขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลายโปรตีน นอกจากนี้ยังพบว่า ชนิดและแหล่งผลิตปลาร้าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิต่อองค์ประกอบทางเคมี การย่อยสลายโปรตีน และสมบัติต้านออกซิเดชันของปลาร้า

5. เอกสารอ้างอิง

[1] ปัญจภรณ์ ทัดพิชญางกูร และคณะ. 2554. **การสำรวจเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตอาหารหมักพื้นบ้านในจังหวัดอุบลราชธานี**. รายงานผลการดำเนินงานโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. อุบลราชธานี.

[2] Rajapakse, N. and et al. 2005. Purification of a Radical Scavenging Peptide from Fermented Mussle Sauce and Its Antioxidant Properties. **Food Research International**. 38: 175-182.

[3] Peralta, M. and et al. 2008. Improving Antioxidant Activity and Nutritinal Components of Philippine Salt-Fermented Shrimp Paste Through Prolonged Fermentation. **Food Chemistry**. 111: 72-77.

[4] Faithong, N. and et al. 2010. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Thai Traditional Fermented Shrimp and Krill Products. **Food Chemistry**. 119: 133-140.

[5] Tadpitchayangkoon P. and et al. 2010. Improvement in Antioxidant Properties of Kem-Buk-Nut for Health Food Market. **Proceedings of Food Innovation Asia Conference 2010**. , June 17-18, 2010, BITEC, Bangkok, Thailand. Pp 62-71.

[6] AOAC. 2000. **Official method of analysis**. Gaithersberg, MD:Association of Official Analytical Chemists.

[7] Benjakul, S., and Morrissey, M. 1997. Protein Hydrolysates from Pacific Whiting Solid Wastes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 45: 3423-3430.

[8] Lowry, O.H. and et al. 1951. Protein Measurement with Folin Phonol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**. 193: 256-275.

[9] Siang, N.C.and Kim, L.L. 1992. “Determination of Trimethylamine Oxide, Trimethylamine and Total Volatile Basic Nitrogen by Conway's Micro-Diffusion Method”. In: **Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fisheries Products**, edited by Miwa, K and Low, S: Southeast Asia Fisheries Development Center. B3.1-B 3.6

[10] Anusha G.P. and et al. 2008. Autolysis-Assisted Production of Fish Protein Hydrolysates with Antioxidant Properties from Pacific Hake (*Merluccius productus*). **Food Chemistry**. 107:768-776.

[11] Wiriyaphan, C. and et al. 2012. Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates Derived from Threadfin Bream Surimi Byproducts. **Food Chemistry**. 132: 104-111.

[12] Ahmadi, F. and et al. 2007. Antioxidant Activity of Kelussia Odoratissima Mozaff in Model and Food Systems. **Food Chemistry**. 105:57-64.

[13] Decker, E.A. and Welch, B. 1990. Role of Ferritin as a Lipid Oxidation Catalyst in Muscle Food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 38: 674–677.

[14] Nielsen, S. 1998. **Introduction to the Chemical Analysis of Foods**. Aspen publishers, Gaithersburg.

[15] ปวริศา สิทธิสาร. ม.ป.ป. **การทำปลาร้า.** สำนักงานวัฒนธรรมจังหวัดพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา. 16 หน้า.

[16] สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ปลาร้า.** มผช. 37/2546. 5 หน้า.

[17] นันทยา จงใจเทศ และคณะ. 2554. **ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีเกลือเป็นส่วนประกอบ**. สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 10 หน้า.

[18] วัทธิกร นาถประนิล. 2551. **การใช้แบคทีเรียแลคติคที่แยกและจำแนกจากส้มฟักเพื่อเป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมัก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

[19] Besas, J.R. and Dizon, E.I. 2014. Biochemical Changes of Salt-Fermented Tuna Viscera (Doyok) and Its Effect on Histamine Content during Fermentation. **International Conference on Food Scecurity and Nutrition**. 67: 97-102.

[20] Majumdar, M.K. and Basu. S. 2010. Characterization of The Traditional Fermented Fish Product Lona Ilish of Northeast India. **Indian Journal Trade Knowledge**. 9 (3): 453-458.

[21] Riebroy, S. and et al. 2004. Some Characteristics of Commercial Som-Fug Produced in Thailand. **Food Chemistry**. 88: 527-535.

[22] สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. **เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ**. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 311 หน้า.

[23] เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน. 2549. **การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลานิลซึ่งเก็บรักษาภายใต้การปรับเปลี่ยนบรรยากาศ**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. 104 หน้า.

[24] Jiang, J. and et al. 2007. Chemical and Sensory Changes Associated Yu-Lu Fermentation Process a Traditional Chinese Fish Sauce. **Food Chemistry**. 104:1629-1634.

[25] สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. **ตำราจุลชีววิยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

[26] Xu, W. and et al. 2008. Biochemical Changes Associated with Fast Fermentation of Squid Processing By-

Products for Low Salt Fish Sauce. **Food Chemistry**. 107:1597-1604.

[27] นิตยา เขียวอ่อน. 2550. **การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในลูกหว้า**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท: มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ. 108 หน้า.

[28] Faithong, N. and Benjakul, S. 2014. Changes in Antioxidant Activities and Physicochemical Properties of Kapi, a Fermented Shrimp Paste, during Fermentation. **Journal of Food Science and Technology**. 51 (10): 2463-2471.

[29] Wang, X.S and et al. 2009. Characterization and Antioxidant Properties of Hemp Protein Hydrolysates Obtained with Neutrase. **Food Chemistry**. 47: 428-434.

[30] Kitts, D.D. and Weiler, K. 2003. Bioactive Proteins and Peptides from Food Source. Applications of Bioprocesses Used in Isolation and Recovery. **Current Pharmaceutical Design**. 9(16):1309-1323.

[31] Benjakul, S. and et al. 2010. Chemical Composition and Antioxidative Activity of Thai Traditional Fermented Shrimp and Krill Products. **Food Chemistry**. 119: 133-140.

[32] โอภา วัชระคุปต์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. พี. เอส. พริ้นท์, นนทบุรี.

[33] Tang, X. and et al. 2010. Peptide Tractionation and Free Radical Scavenging Activity of Zein Hydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 58:587-593.

[34] Sutheera, K. and et al. 2011. The Effects of Pretreatments on Antioxidant Activities of Protein Hydrolysate from The Muscle of Brownstripe Red Snapper (*Lutjanus vitta*). **LWT-Food Science and Technology**. 44:1139-1148.

[35] Bougatef, A. and et al. 2008. Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activities of Sardinelle (*Sardinella aurita*) by-Products Protein Hydrolysates Obtained by Treatment with Microbial and Visceral Fish Serine Proteases. **Food Chemistry**. 111: 350–356.

[36] ยงยุทธ เฉลิมชาติ. 2551. **สารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย**. แหล่งที่มา: http://archive.lib.cmu.ac.th, 20 ตุลาคม 2554.

[37] Saiga, A. and et al. 2003. Antioxidant Activity of Peptides Obtained from Porcine Myofibrillar Proteins by Protease Treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51:3661-3667.