



# Development of Calcium Enriched Bread with Asian Seabass Bone Powder

Wilawan Siangchin<sup>1</sup>, Terdsiri Pangthai<sup>1</sup>, Tonggarn Chaiya<sup>1</sup>, Duangjai Malai<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Mahidol University, 420/1 Ratchawithi Rd, Ratchathewi District, Bangkok, 10400, TAHILAND

Correspondence: Duangjai Malai, Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Mahidol University, 420/1 Ratchawithi Rd, Ratchathewi District, Bangkok, 10400, TAHILAND. Email: duangjai.mal@mahidol.ac.th

Received: December 27 2022; Revised: March 17 2023; Accepted: May 3 2023

## Extended Abstract

Thailand is one of the countries with high aquaculture production, especially Asian seabass, and is the top exporter of processed fish. Aquaculture production tends to increase every year continuously for the past 10 years and it generates a lot of fish waste which gives value-added benefits both economically and environmentally. Fishbone is a source of calcium and which is bio-calcium and contains up to 30-35 percent and is used as an alternative raw material in the production of calcium supplements and to create value-added products. However, the calcium in the fishbone is in the form of calcium phosphate, which is similar to the composition of human bones and teeth. It will make bones and teeth stronger. Osteoporosis is the second-highest public health problem in the world after heart disease and stroke. The main cause is a lack of calcium. Data have shown that calcium intake among Thai people is below the recommended amount and had a risk of osteoporosis as high as 90%, especially those aged 60 years and over. One approach to reducing this problem is to consume foods that are high in calcium. Bread is a bakery product that Thai people consume as a staple food. But bread is low in calcium, so the researchers were interested in adding more calcium to bread.

The objective of the study was to determine the optimal ratio for the partial substitution of wheat flour with Asian seabass fishbone powder in bread for the enrichment of calcium. Fishbone powder was produced according to the fish bio-calcium method and measured in physical and chemical properties. One of three bread formulas was selected based on their chemical, physical and sensory properties for bread making in this study. The ranking test was done by 30 students and staff of the Faculty of Public Health, Mahidol University, aged 21-26 years who like to eat

bread. The substitution of fishbone powder was divided into 4 levels: 0, 1, 3, and 5%. The physical and chemical properties of the bread were measured. Fishbone powder contained moisture, fat, protein, ash, and calcium content of 4.10%, 0.13%, 0.4%, 88.59%, and 196.94 mg/g, respectively. The color value of fishbone powder was a high L\* (lightness) value of 95.34 that higher than the L\* of wheat. The a\* value of -0.32 indicated a slight greenish hue. The b\* value of 6.31 indicated a yellowish hue. Most of the 3 bread formulas had similar physical properties. But the sensory property of bread formula 2 was the most liked by the taste panel. Therefore, bread formula 2 was used in the next experiment. The increase of fishbone powder proportion increased the moisture, ash, and calcium content, density, and L\* value while the protein, carbohydrate content, and specific volume decreased significantly ( $P < 0.05$ ) and also affected negatively the texture of the bread. There was no effect on a\*, b\*, weight loss, and the amount of free water. Bread with fishbone powder 0%, 1%, 3%, and 5% had calcium content of  $11.29 \pm 0.53$ ,  $65.57 \pm 1.69$ ,  $180.86 \pm 1.68$ , and  $267.15 \pm 10.89$  mg/ 50 g, respectively. The 1% fishbone powder substitution could not be claimed nutritionally. But substitutions at 3%, and 5% can be nutritionally claimed as "High Calcium" or "Rich in Calcium".

This study was approved by the Ethical Review Committee for Human Research Faculty of Public Health, Mahidol University (COA No. MUPH 2022-014).

**Keywords:** Fishbone powder, Asian seabass, Bread, Calcium

# การพัฒนาขนมปังเสริมแคลเซียมด้วยผงก้างปลากะพงขาว

วิลาวัณย์ เชียงฉิน<sup>1</sup> เทอดศิริ แพงไทย<sup>1</sup> ต๋องกานต์ ไชยยะ<sup>1</sup> และ ดวงใจ มาลัย<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

## บทคัดย่อ

ก้างปลากะพงขาวเป็นวัสดุเหลือทิ้งของอุตสาหกรรมอาหารทะเลที่อุดมไปด้วยแคลเซียม เหมาะสำหรับการนำกลับมาใช้เติมลงในอาหารหลักของประชากรไทย ที่มีแนวโน้มเป็นโรคกระดูกพรุนแนวโน้มเนื่องจากการขาดแคลเซียมเพิ่มขึ้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือเพื่อศึกษาสัดส่วนการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลากะพงขาวที่เหมาะสมในขนมปังเพื่อเสริมแคลเซียม โดยแปรปริมาณผงก้างปลาที่ใช้ทดแทนแป้งสาลีเป็น 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 โดยผงปลากะพงที่ผลิตได้มีปริมาณแคลเซียม  $196.94 \pm 2.00$  มิลลิกรัมต่อกรัม ผลการทดแทนพบว่าเมื่อเพิ่มสัดส่วนของผงก้างปลาส่งผลให้ขนมปังมีปริมาณความชื้น ถั่ว แคลเซียม ความหนาแน่น และค่า  $L^*$  เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และปริมาตรจำเพาะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) อีกทั้งยังส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมปังในทางลบ แต่ไม่มีผลต่อค่า  $a^*$ ,  $b^*$  น้ำหนักที่สูญเสีย และปริมาณน้ำอิสระ ขนมปังที่มีการทดแทนด้วยผงก้างปลา ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 จะมีปริมาณแคลเซียม  $11.29 \pm 0.53$ ,  $65.57 \pm 1.69$ ,  $180.86 \pm 1.68$ , และ  $267.15 \pm 10.89$  มิลลิกรัม/ 50 กรัม ตามลำดับ การทดแทนผงก้างปลา ร้อยละ 1 ไม่สามารถกล่าวอ้างทางโภชนาการการได้ แต่การทดแทนที่ร้อยละ 3 และ 5 สามารถกล่าวอ้างทางโภชนาการได้ว่ามี “แคลเซียมสูง” หรือ “อุดมไปด้วยแคลเซียม”

**คำสำคัญ:** ผงก้างปลา, ปลากะพงขาว, ขนมปัง, แคลเซียม

## บทนำ

อุตสาหกรรมอาหารทะเลนับเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยในปี 2561 มีมูลค่าการส่งออกอาหารทะเลสด แช่เย็น แช่แข็ง กระป๋อง และแปรรูป (ไม่รวมกุ้งสด แช่เย็น แช่แข็ง และแปรรูป) 4,545 ล้านดอลลาร์สหรัฐ<sup>1</sup> ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกอาหารทะเลรายใหญ่ของโลก<sup>2</sup> ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*) เป็นปลาทะเลที่พบได้มากในน้ำกร่อย มีชื่อสามัญว่า เอเชียียน ซีแบสส์ (Asian seabass) มีขนาดความยาวประมาณ 20-40 เซนติเมตร ซึ่งเป็นปลาที่ประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยง และมีทิศทางการผลิตเพิ่มขึ้นมาโดยตลอดนับตั้งแต่ปี 2552 โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างปี 2560 (ปริมาณ 20,454 ตัน) กับปี 2562 ที่มีปริมาณการผลิตเพิ่มขึ้นกว่าเท่าตัว<sup>3</sup> ปลากระพงขาวเป็นหนึ่งในสัตว์น้ำที่นิยมนำมาแปรรูป เช่น ปลากระพงแช่เย็นและแช่แข็ง จากข้อมูลของกรมประมงในปี 2562 มีการส่งออกปลากระพงขาวในปริมาณ 2,048 ตัน<sup>4</sup> โดยส่งออกในรูปแบบการแช่เย็น ซึ่งการแปรรูปปลากระพงในรูปแบบข้างต้นนั้นทำให้เกิดเศษเหลือจากปลาเป็นจำนวนมาก โดยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากเศษเหลือของปลา ได้แก่ การสกัดโปรตีนเข้มข้นจากเศษเหลือของปลา การผลิตโปรตีนสกัดชนิดผงและการสกัดเจลาตินและแคลเซียมจากเศษเหลือของโรงงานซูริมี การผลิตเจลาตินจากกระดูกปลากระพงแดง<sup>5</sup> เศษเหลือจากปลา เช่น หัว ก้าง และหาง อุดมไปด้วยแคลเซียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งก้างปลาเป็นแหล่งของแคลเซียมที่สำคัญอย่างหนึ่ง เนื่องจากผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียมทั่วไปมักอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมคาร์บอเนต แต่แคลเซียมในก้างปลาเป็นแหล่งของแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งมีความคล้ายคลึงกับส่วนประกอบของกระดูกและฟันของมนุษย์<sup>6</sup> โดยแคลเซียมฟอสเฟตเป็นเกลือที่มีความสามารถในการละลายน้ำที่ pH 7 ได้ดีกว่าแคลเซียมคาร์บอเนต<sup>7</sup> ซึ่งเป็นเกลือที่นิยมนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

สถานการณ์ของโรคกระดูกพรุนมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น องค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานว่าสถิติผู้ป่วยโรคกระดูกพรุนทั่วโลกเป็นปัญหาทางสาธารณสุขอันดับที่ 2 ของโลก รองจากโรคหัวใจและโรคหลอดเลือด<sup>8</sup> คนไทยมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคกระดูกพรุนสูงถึง 90% โดย 1 ใน 3 ของผู้หญิงอายุเกิน 60 ปี และ 1 ใน 5 ของผู้ชายอายุเกิน 60 ปี มีปัญหากระดูกพรุน สาเหตุหลักของโรคกระดูกพรุนเกิดจากการขาดแคลเซียม<sup>9</sup> สำหรับการขาดแคลเซียมในคนไทยนั้นเกิดจากการรับประทานแคลเซียมในปริมาณที่น้อยมาก เนื่องจากอาหารที่บริโภคในชีวิตประจำวันมีปริมาณแคลเซียมไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย โดยทั่วไปคนไทยได้รับปริมาณแคลเซียมเฉลี่ยเพียง 400 มิลลิกรัมต่อวัน<sup>10</sup> ซึ่งปริมาณแคลเซียมที่ควรได้รับต่อวัน (Thai DRI) สำหรับผู้ใหญ่อายุ 19-50 ปี คือ 800 มิลลิกรัม และอายุมากกว่า 50 ปี คือ 1,000 มิลลิกรัม<sup>11</sup> ดังนั้นการได้รับปริมาณแคลเซียมที่เพียงพอจึงเป็นแนวทางปฏิบัติเพื่อป้องกันและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน

ผงไบโอแคลเซียม (Biocalcium) จากกระดูกปลาได้รับการพัฒนาคิดค้นโดยผ่านกระบวนการศึกษาวิจัยในการนำกระดูกปลาซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ ซึ่งมีปริมาณแคลเซียมสูงถึงร้อยละ 30-35 เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มเกิดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมแคลเซียมชนิดอินทรีย์เพื่อเป็นทางเลือกสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเสริมแคลเซียม สามารถนำไปประยุกต์ใช้เสริมในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ หรือใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพได้โดยตรง<sup>12</sup> ซึ่งมีการศึกษาการนำผงไบโอแคลเซียมจากกระดูกปลามาเสริมแคลเซียมในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นจำนวนมาก เช่น การเสริมผง ไบโอแคลเซียมจากกระดูก

ปลาตูนาในผลิตภัณฑ์แครกเกอร์โฮลวีท<sup>13</sup> กราโนล่าบาร์เสริมแคลเซียมจากกระดูกปลารายผง<sup>14</sup> ผลิตภัณฑ์ข้าวตังเสริมแคลเซียมจากกระดูกปลาสด<sup>15</sup> ผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบเสริมด้วยผงไบโอแคลเซียมจากเศษก้างปลาตูนา<sup>16</sup> ขนมปัง (Bread) คืออาหารชนิดหนึ่งที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและได้รับความนิยมในประเทศไทย โดยใช้บริโภคเป็นอาหารหลัก คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำผงก้างปลากระดูกพวงมาทดแทนแป้งสาลีบางส่วนในขนมปังเพื่อเสริมธาตุแคลเซียม เนื่องจากขนมปังมีธาตุแคลเซียมในปริมาณน้อย อีกทั้งการบริโภคแคลเซียมจะช่วยลดปัญหาสุขภาพเรื่องกระดูกพรุน และเพิ่มมูลค่าของก้างปลากระดูกพวง วัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือเพื่อศึกษาสัดส่วนการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลากระดูกพวงที่เหมาะสมในขนมปังเพื่อเสริมแคลเซียม และประเมินคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของขนมปังที่มีการทดแทนแป้งสาลีบางส่วนด้วยผงก้างปลากระดูกพวง

## วิธีการวิจัย

### 1. วัตถุประสงค์

ก้างปลากระดูกพวงซื้อมาในรูปของส่วนที่เหลือจากการแร่เอาเนื้อออกแล้ว โดยมีขนาดตัวปลาก่อนแลในช่วง 0.6-1.0 กก. จากฟาร์มแพงกะพง อ.เมือง จ.สมุทรสาคร และสารเคมีที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดเป็น AR reagent

### 2. การผลิตผงก้างปลากระดูกพวง

การผลิตผงก้างปลาใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Benjakul et al.<sup>17</sup> และ Wijayanti et al.<sup>18</sup> โดยหั่นก้างปลาให้มีขนาด 4-5 ซม. ล้างน้ำเพื่อกำจัดเลือด ต้มในน้ำเดือด อัตราส่วนก้างต่อน้ำ 1 : 4 (w/v) (หมายถึงอัตราส่วนก้าง 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 4 ลิตร) นาน 30 นาที กำจัดเศษเนื้อปลาและสิ่งอื่นๆ ออก แล้วให้ความร้อนในหม้อนิ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15.9 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 90 นาที จากนั้นต้มในสารละลาย 2M NaOH (CARLO ERBA Reagents S.A.S, Val de Reuil Cedex, France) ในอัตราส่วน 1 : 10 (w/v) ที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เท NaOH ออก แล้วล้างด้วยน้ำไหลผ่าน 5 นาที ปรับให้เป็นกลางโดยใช้ 1.25 mM HCl (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ในอัตราส่วน 1 : 20 (w/v) นาน 30 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำไหลผ่านจนกว่าจะเป็นกลาง (ใช้การทดสอบด้วยกระดาษลิตมัสให้ได้ pH = 7) แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Mettler, UN 55, Schwabach, Federal Republic of Germany) ที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง พลิกกลับก้างปลาทุกๆ 30 นาที แล้วนำไปบดหยาบให้มีขนาด 3-4 มม. นำไปแช่ในสารละลาย Hexane (Avantor Performance Materials, LLC., Center Valley, PA, USA) ในอัตราส่วน 1 : 10 (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 60 นาที และกวนอย่างต่อเนื่อง นำก้างออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแห้งและปราศจากกลิ่นของ Hexane นำไปฟอกสีโดยใช้ 2.5% (v/v) Hydrogen peroxide (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ในอัตราส่วน 1 : 10 (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 60 นาที ล้างด้วยน้ำไหลผ่าน 5 นาที อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วนำมาบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบดยา (JRP-500, Zhejiang, China) และร่อนผ่านตะแกรง (ENDECOTTS, Octagon Digital 2000, London, England) ขนาด 100 mesh แล้วเก็บใส่ถุงซีลล๊อค

### 3. การศึกษาสมบัติของผงก้างปลา

#### 3.1 การศึกษาสมบัติทางเคมีของผงก้างปลา

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไนโตรเจน โปรตีน เถ้า และแคลเซียม ตามวิธีการของ AOAC, 2000<sup>19</sup> โดยความชื้นใช้ Oven drying method ไนโตรเจนใช้ Soxtec extraction method โปรตีนใช้ Kjeldahl Method (Conversion factor = 6.25) เถ้าใช้ Dry ashing และแคลเซียมใช้ Atomic absorption spectroscopy

#### 3.2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงก้างปลา

วัดค่าสีของผงก้างปลาจะวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer (ColorFlex EZ, Virginia, USA) ด้วยระบบ CIE L\*, a\*, b\* โดย L\* หมายถึงความสว่าง, a\* ค่า + หมายถึงความเป็นสีแดง และค่า - หมายถึงความเป็นสีเขียว, b\* ค่า + หมายถึงความเป็นสีเหลือง และค่า - หมายถึงความเป็นสีน้ำเงิน ตั้งค่ามาตรฐานการวัด (Standardized) ด้วยแผ่นสีมาตรฐาน ทั้งสีดำและสีขาว (X=81.54, Y=86.69, Z=93.33) ใช้แหล่งกำเนิดแสง Day light 65 และมุมที่ใช้ในการวัดคือ 10<sup>0</sup> ขนาดช่องผ่านแสง 31.8 มม. วัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และหมุน 90 องศา อ่านค่า 3 ครั้ง

### 4. การศึกษาขนมปังสูตรต้นแบบ

ขนมปังสูตรต้นแบบที่จะนำคัดเลือกเพื่อใช้แทนที่แป้งสาลีด้วยผงก้างปลามี 3 สูตร โดยมีส่วนประกอบของแต่ละสูตรดัง Table 1 ผสมแป้งสาลี นมผง และเกลือ ร่อนด้วยตะแกรงร่อนแป้ง เติมน้ำตาลในระหว่างที่ผสม น้ำตาลและน้ำเข้าด้วยกัน แล้วผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นวดเป็นก้อนจนแป้งเนียน (5-8 นาที) พักแป้งโดไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง นำแป้งโดใส่พิมพ์ พักไว้ 30 นาที นำไปอบที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 15-30 นาที นำออกจากพิมพ์ ปล่อยให้เย็น บรรจุในถุงซิปล็อค แล้วนำไปวัดค่าต่างๆ ภายใน 24 ชั่วโมง

**Table 1** Ingredient of basic formula (g)

Ingredient	Formula 1 *	Formula 2 **	Formula 3***
Wheat	400.00	400.00	400.00
Yeast	14.00	4.00	4.00
White sugar	20.00	32.00	20.00
Salt	4.00	3.00	4.00
Butter	16.00	24.00	-
Milk powder	-	20.00	-
Water	240.00	215.00	200.00

\* Source: Alsuhaibani<sup>20</sup>

\*\* Source: modified from Jiamyangyuen et al.<sup>21</sup>

\*\*\* Source: modified from Junejo et al.<sup>22</sup>

#### 4.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมบั้งสูตรต้นแบบ

- วัดค่าสี เช่นเดียวกับ 3.2

- วิเคราะห์เนื้อสัมผัสโดยใช้วิธีทดสอบแบบ Texture profile analysis ด้วยเครื่อง Texturometer (AMETEX, AMETEX, Bognor Regis, UK) ใช้หัววัด Cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 มม. ตัดตัวอย่างนมบั้งให้เป็นแผ่นหนา 1 ซม. วัดที่เนื้อนมบั้ง บริเวณตรงกลางชิ้น กด 2 ครั้ง ร้อยละ 50 ของความสูงเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์ ความเร็วในการกด (Test speed) 50 มม./นาที ตัวแปรที่ใช้ในการรายงานผล คือ ความแข็ง (Hardness) ความสามารถในการเกาะตัว (Cohesiveness) แรงที่ใช้ในการเคี้ยว (Chewiness) และความสามารถในการคืนตัว (Springiness)<sup>20</sup>

- วัดน้ำหนักที่สูญเสีย ซึ่งน้ำหนักโดก่อนอบและน้ำหนักของนมบั้งหลังอบที่ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจากนั้นนำมาคำนวณโดยใช้สมการ<sup>21</sup>

$$\text{น้ำหนักที่สูญเสีย (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของโด} - \text{น้ำหนักของนมบั้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักของโด}}$$

- วัดปริมาตรของนมบั้ง โดยวิธีการแทนที่ด้วยเมล็ดงา

หั่นนมบั้งให้ได้ขนาด 1x1x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในภาชนะที่ทราบปริมาตร และเติมเมล็ดงาให้เต็มภาชนะ จากนั้นทำการวัดปริมาตรเมล็ดงาที่เติมลงไปทั้งหมดด้วยกระบอกตวงและคำนวณหาปริมาตรของนมบั้งด้วยสมการ<sup>21</sup>

$$\text{ปริมาตรของนมบั้ง (ซม.}^3\text{)} = \text{ปริมาตรของภาชนะ} - \text{ปริมาตรของเมล็ดงา}$$

- วัดปริมาตรจำเพาะ นำค่าปริมาตรที่ได้มาใช้ในการหาค่าปริมาตรจำเพาะของนมบั้งโดยคำนวณดังสมการ<sup>21</sup>

$$\text{ปริมาตรจำเพาะ (ซม.}^3\text{/ก.)} = \frac{\text{ปริมาตรของนมบั้ง}}{\text{น้ำหนักของนมบั้ง}}$$

- วัดค่าความหนาแน่น นำค่าปริมาตรที่ได้มาใช้ในการหาค่าความหนาแน่น โดยคำนวณ ดังสมการ<sup>21</sup>

$$\text{ความหนาแน่น (ก./ซม.}^3\text{)} = \frac{\text{น้ำหนักของนมบั้ง}}{\text{ปริมาตรของนมบั้ง}}$$

#### 4.2 การศึกษาสมบัติทางประสาทสัมผัสของนมบั้งสูตรต้นแบบ

ใช้การทดสอบแบบจัดลำดับ (ranking test) เพื่อหาความชอบต่อตัวอย่างนมบั้ง 3 สูตร หั่นนมบั้งให้มีขนาด 4x5x1 ซม.<sup>3</sup> (กว้างxยาวxสูง) บรรจุในถุงพลาสติกชนิด Polypropylene ฤงละ 1 ชั้นที่ติดรหัส

ตัวอย่าง เสนอตัวอย่างแบบ balance order พร้อมน้ำดื่มสำหรับกลั้วปากก่อนทดสอบชิมแต่ละตัวอย่าง ให้ผู้ทดสอบจัดอันดับความชอบ โดยชอบมากที่สุดเป็นลำดับที่ 1 กลุ่มผู้ทดสอบเป็นนักศึกษาและบุคลากร คณะสาธารณสุขศาสตร์ ม.มหิดล อายุ 20-50 ปี และเป็นผู้ที่เคยรับประทานนมผง จำนวน 30 คน

### 5. การศึกษาสัดส่วนการทดแทนผงก้างปลา

นำสูตรนมผงต้นแบบที่ได้จากข้อ 4 มาใช้ โดยแปรปริมาณผงก้างปลากะพงขาวเป็น ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 ของการทดแทนแป้งสาลีในสูตรนมผง

#### 5.1 การศึกษาสมบัติทางเคมีของนมผงที่ทดแทนด้วยผงก้างปลา

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไนโตรเจน โปรตีน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และแคลเซียม เช่นเดียวกับ 3.1.1 ยกเว้น โปรตีนใช้ Conversion factor = 5.7 (สำหรับนมผงและแป้งสาลี) และคาร์โบไฮเดรตใช้วิธีคำนวณเพื่อหาส่วนที่เหลือโดยผลต่าง (by difference) ( $100 - \% \text{moisture} - \% \text{protein} - \% \text{fat} - \% \text{ash} - \% \text{crude fiber}$ )

#### 5.2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมผงที่ทดแทนด้วยผงก้างปลา

วัดสมบัติทางกายภาพเช่นเดียวกับ 4.1 และวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity) ด้วยเครื่อง Water activity meter (Novasina, ms1, Talstr., Switzerland)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ One-way ANOVA ทั้งสมบัติทางกายภาพเคมี และประสาทสัมผัส ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 18.0 การวัดค่าต่างๆ ทางกายภาพและเคมีทำทั้งหมด 4 ซ้ำ และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Test ที่ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

## ผลการวิจัย

### 1. สมบัติของผงก้างปลากะพงขาว

การศึกษาสมบัติทางเคมีของผงก้างปลากะพงขาว พบว่าผงก้างปลากะพงขาวมีปริมาณความชื้นร้อยละ 4.10 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของอาหารแห้ง มีปริมาณไขมันร้อยละ 0.13 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 0.4 ปริมาณเถ้าร้อยละ 88.59 และแคลเซียม 196.94 มก./ก.

ค่าสีของผงก้างปลา พบว่ามีค่า  $L^*$  (ความสว่าง) 95.34 มีค่าสูง แปลว่ามีความสว่างที่มาก ซึ่งเมื่อเทียบกับแป้งสาลีพบว่ามีความสว่างมากกว่าเล็กน้อย และมีค่า  $a^*$  เท่ากับ -0.32 ซึ่งมีสีค่อนข้างเขียว ขณะที่แป้งสาลีมีค่า 0.60 ซึ่งมีสีค่อนข้างแดง ส่วนค่า  $b^*$  มีค่า 6.31 ซึ่งมีสีเหลืองอ่อน แต่เมื่อเทียบกับแป้งสาลี พบว่ามีค่าต่ำกว่า (Table 2 และ Figure 1)

**Table 2** Color value of fishbone powder and wheat flour (Mean±SD)

Color value	Fishbone powder	Wheat flour
$L^*$	95.34±0.53	92.36±0.28
$a^*$	-0.32±0.02	0.60±0.03
$b^*$	6.31±0.41	8.62±0.00





Figure 1 (a)-(b) Fishbone powder and wheat flour, respectively

## 2. สมบัติของขนมปังสูตรต้นแบบ

ผลการคัดเลือกสูตรขนมปังต้นแบบเพื่อนำไปศึกษาสัดส่วนการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลา โดยผู้ทดสอบ 30 คน เป็นเพศชาย 1 คนและเพศหญิง 29 คน อายุระหว่าง 21-26 ปี อายุเฉลี่ย  $22.55 \pm 6.63$  ปี พบว่าขนมปังที่มีลำดับความชอบเป็นลำดับที่ 1 คือ ขนมปังสูตร 2 และเมื่อพิจารณาร่วมกับลักษณะเนื้อสัมผัส ค่าสี ปริมาตรจำเพาะ ความแข็งและความหนาแน่นของขนมปังทั้ง 3 สูตรแล้วพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) จึงเลือกที่จะนำขนมปังสูตร 2 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

Table 3 Physical properties and sensory evaluation of basic bread formula

Physical properties	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Specific volume ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	$3.3276 \pm 0.2397^a$	$2.9607 \pm 0.1192^a$	$3.1580 \pm 0.1397^a$
Density ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	$0.3192 \pm 0.0035^a$	$0.3125 \pm 0.0226^a$	$0.3170 \pm 0.0141^a$
Weight loss (%)	$7.88 \pm 0.5^a$	$5.98 \pm 0.13^b$	$8.17 \pm 0.82^a$
L*	$78.26 \pm 0.28^b$	$79.14 \pm 0.24^{ab}$	$80.08 \pm 0.29^a$
a*	$0.82 \pm 0.08^b$	$1.12 \pm 0.05^a$	$0.81 \pm 0.05^b$
b*	$17.40 \pm 0.1^a$	$17.55 \pm 0.52^a$	$15.36 \pm 0.35^b$
Hardness (N)	$12.53 \pm 2.78^a$	$15.59 \pm 4.35^a$	$13.37 \pm 1.55^a$
Cohesiveness	$0.59 \pm 0.06^{ab}$	$0.56 \pm 0.05^b$	$0.65 \pm 0.05^a$
Springiness	$0.92 \pm 0.03^b$	$0.92 \pm 0.02^b$	$0.97 \pm 0.02^a$
Chewiness (N)	$6.69 \pm 1.62^a$	$7.93 \pm 1.6^a$	$8.35 \pm 0.66^a$
Rank sum	73 <sup>a</sup>	37 <sup>b</sup>	70 <sup>b</sup>

The values in the table are shown as the mean  $\pm$  standard deviation. Mean values with different superscripts with the same row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 3. สมบัติของขนมปังที่ทดแทนผงก้างปลา

ขนมปังที่ทดแทนแป้งสาลีบางส่วนด้วยผงก้างปลา (Table 4) พบว่าปริมาณความชื้นในขนมปังมีค่าเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาที่เพิ่มขึ้น ปริมาณไขมันของขนมปังที่มีการทดแทนด้วยผงก้างปลาในทุกระดับมีปริมาณไขมันที่ลดลง ยกเว้นการทดแทนที่ 5% ที่มีปริมาณไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม การทดแทนด้วยผงก้างปลาในสัดส่วนที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผงก้างปลามีปริมาณเถ้าที่สูงถึงร้อยละ 88.59 ปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในขนมปังมีปริมาณลดลงตามลำดับของการทดแทนผงก้างปลาที่เพิ่มขึ้น โดยขนมปังสูตรควบคุมมีปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด และสูตรที่ทดแทนด้วยผงก้างปลาร้อยละ 5 มีปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อยที่สุด การทดแทนผงก้างปลาในสัดส่วนที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยขนมปังที่มีการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลา ในสัดส่วนร้อยละ 1, 3 และ 5 มีปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 65.57 มิลลิกรัมต่อ 50 กรัม, 180.86 มิลลิกรัมต่อ 50 กรัม และ 267.15 มิลลิกรัมต่อ 50 กรัม ตามลำดับ

**Table 4** Chemical properties of bread substituted with fishbone powder

Chemical properties	Fishbone powder			
	0%	1%	3%	5%
Moisture (%)	27.22±0.57 <sup>c</sup>	29.34±0.35 <sup>b</sup>	31.88±1.12 <sup>a</sup>	32.31±0.82 <sup>a</sup>
Fat (db%)	4.4±0.07 <sup>a</sup>	4.16±0.05 <sup>c</sup>	4.31±0.03 <sup>b</sup>	4.39±0.04 <sup>a</sup>
Protein (%)	13.15±0.09 <sup>a</sup>	12.93±0.05 <sup>b</sup>	12.6±0.08 <sup>c</sup>	12.36±0.02 <sup>d</sup>
Ash (%)	1.24±0.26 <sup>d</sup>	2.05±0.12 <sup>c</sup>	3.40±0.02 <sup>b</sup>	4.85±0.03 <sup>a</sup>
Total carbohydrate (%)	53.98±0.57 <sup>a</sup>	51.52±0.33 <sup>b</sup>	47.80±1.16 <sup>c</sup>	46.09±0.86 <sup>d</sup>
Calcium (mg/50g)	11.29±0.53 <sup>d</sup>	65.57±1.69 <sup>c</sup>	180.86±1.68 <sup>b</sup>	267.15±10.9 <sup>a</sup>

The values in the table are shown as the mean ± standard deviation. Mean values with different superscripts with the same row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

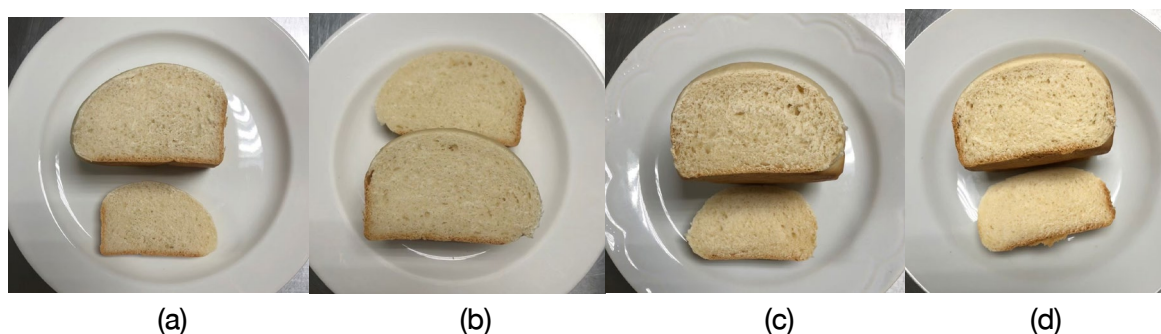
การทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาทำให้ปริมาณจำเพาะของขนมปังลดลง และความหนาแน่นของขนมปังเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อทดแทนผงก้างปลาเพิ่มขึ้น (Table 5 และ Figure 2) ขนมปังสูตรควบคุมมีค่า L\* (ความสว่าง) น้อยที่สุด ในขณะที่ขนมปังที่ทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาร้อยละ 5 มีค่า L\* (ความสว่าง) มากที่สุด เนื่องจากผงก้างปลามีค่าความสว่างที่มากกว่าแป้งสาลี ดังนั้นเมื่อนำมาทดแทนในขนมปังด้วยสัดส่วนที่มากขึ้น จึงทำให้ค่าความสว่างมีค่าเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ในส่วนของค่า a\* (ความเป็นสีแดง) และค่า b\* (ความเป็นสีเหลือง) พบว่าสัดส่วนของการทดแทนผงก้างปลาไม่มีผลต่อค่าสีดังกล่าว เนื่องจากผงก้างปลามีสีขาวจึงส่งผลให้ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองไม่มีการเปลี่ยนแปลง การเพิ่มผงก้างปลาไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักที่สูญเสียและปริมาณน้ำอิสระของขนมปัง การเพิ่มผงก้างปลาทำให้เนื้อขนมปังมีค่าความแข็ง

(Hardness) และค่าแรงที่ใช้ในการเคี้ยว (Chewiness) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม แต่มีค่าความสามารถในการเกาะตัว (Cohesiveness) ลดลง และมีค่าความสามารถในการคืนตัว (Springiness) ไม่แตกต่างกันกับตัวอย่างนมปังควบคุม

**Table 5** Physical properties of bread with various proportions of fishbone powder

Physical properties	0%	1%	3%	5%
Specific volume (cm <sup>3</sup> /g)	3.4001±0.1136 <sup>a</sup>	3.2689±0.0329 <sup>ab</sup>	3.1166±0.0735 <sup>b</sup>	2.5674±0.0875 <sup>c</sup>
Density (g/cm <sup>3</sup> )	0.2943±0.0098 <sup>c</sup>	0.3059±0.0031 <sup>bc</sup>	0.3209 ± 0.0076 <sup>b</sup>	0.3897±0.0133 <sup>a</sup>
Weight loss (%)	7.05±0.57 <sup>a</sup>	7.4162±0.3905 <sup>a</sup>	6.8140 ± 0.3456 <sup>a</sup>	7.0191±0.7199 <sup>a</sup>
Water activity (a <sub>w</sub> )	0.87±0.01 <sup>a</sup>	0.86±0.00 <sup>b</sup>	0.87± 0.00 <sup>a</sup>	0.87+0.00 <sup>a</sup>
L*	76.85±0.68 <sup>b</sup>	77.38±0.92 <sup>ab</sup>	78.53±0.83 <sup>a</sup>	78.41±1.6 <sup>a</sup>
a*	1.41±0.22 <sup>a</sup>	1.30±0.25 <sup>a</sup>	1.11±0.29 <sup>a</sup>	1.10±0.31 <sup>a</sup>
b*	18.28±0.35 <sup>a</sup>	18.96±0.61 <sup>a</sup>	18.36±0.92 <sup>a</sup>	18.81±0.7 <sup>a</sup>
Hardness (N)	20.06±1.17 <sup>c</sup>	18.97±1.14 <sup>c</sup>	24.57±2.06 <sup>b</sup>	30.21±1.68 <sup>a</sup>
Cohesiveness	0.51±0.02 <sup>a</sup>	0.50±0.04 <sup>ab</sup>	0.49±0.02 <sup>ab</sup>	0.47± 0.01 <sup>b</sup>
Springiness	0.90±0.01 <sup>a</sup>	0.88±0.02 <sup>b</sup>	0.91± 0.01 <sup>a</sup>	0.91± 0.01 <sup>a</sup>
Chewiness (N)	9.31±0.56 <sup>c</sup>	8.43±0.73 <sup>c</sup>	10.98±0.99 <sup>b</sup>	12.98±0.81 <sup>a</sup>

The values in the table are shown as the mean ± standard deviation. Mean values with different superscripts with the same row are significantly different ( $p < 0.05$ ).



**Figure 2** (a)-(d) Appearance of bread with fishbone powder 0, 1, 3, and 5%, respectively

## อภิปรายผลการวิจัย

ผงก้างปลาทะเลมีปริมาณแคลเซียม 196.94 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัม ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าผงก้างปลาที่ที่มีปริมาณแคลเซียม 381.6 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัม<sup>23</sup> ผงก้างปลา 250.1 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัม<sup>24</sup> ผงก้างปลาแชลมอน 223 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัม<sup>25</sup> มีปริมาณไขมันและโปรตีนต่ำ เนื่องจากในกระบวนการผลิตมีการกำจัดไขมันด้วยเฮกเซน แต่มีปริมาณเก่าที่สูง เป็นผลจากการใช้วิธี Autoclave และใช้อัลตราไนด์ร่วมกับการใช้ความร้อน การใช้ Autoclave ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง เนื่องจากอุณหภูมิและความดันสูงจะทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพ และจะถูกชะออกจากก้างปลา<sup>18</sup> ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษางของ Jintananaruemit และคณะ<sup>6</sup> ที่สกัดผงโบโอแคลเซียมจากก้างปลาโดยวิธีอัลตราไนด์ร่วมความร้อนที่มี

การกำจัดไขมันและการฟอกสี เป็นกระบวนการเสริมพบว่ามีปริมาณเก่าสูง และปริมาณโปรตีนลดลง ค่าสีของผงก้างปลา มีค่า L\* สอดคล้องกับผลการศึกษางของ Wijayanti และคณะ<sup>19</sup> ที่พบว่าผงก้างปลาที่ได้จากวิธีการ Autoclave และมีการฟอกสีด้วย Hydrogen peroxide เพียงอย่างเดียวทำให้มีความสว่างที่มากกว่าวิธีอื่น และมีค่า b\* (ความเป็นสีเหลือง) ต่ำเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนและไขมันที่ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับ การศึกษางของ Benjakul และคณะ<sup>26</sup> ที่รายงานว่ามีสีเหลืองที่เกิดขึ้นในผงโบโอแคลเซียมจากก้างปลาอาจเกิดจากปฏิกิริยา Maillard ระหว่างสารประกอบคาร์บอนิลที่เกิดขึ้นจากระบบการออกซิเดชันของไขมันกับกลุ่มอะมิโนของกรดอะมิโนอิสระ เปปไทด์หรือโปรตีนในระหว่างกระบวนการอบแห้ง ปริมาณความชื้นในขนมปังมีค่าเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาที่เพิ่มขึ้น และมีปริมาตรจำเพาะลดลงและความหนาแน่นสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อปริมาณของแป้งสาลีในส่วนผสมลดลง ส่งผลต่อการเกิดกลูเตน ความแข็งแรง และความยืดหยุ่นของโดที่ลดลง ทำให้โดมีความสามารถในการกักเก็บแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ไว้ในโครงสร้างของขนมปังได้น้อยลงตามลำดับ<sup>27-29</sup> จึงทำให้มีปริมาตรจำเพาะลดลงและความหนาแน่นสูงขึ้น ส่งผลให้น้ำในส่วนผสมของขนมปังระเหยออกจากโครงสร้างของขนมปังได้น้อยลง<sup>30</sup> ปริมาณความชื้นจึงเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนผงก้างปลาที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับศึกษางของ Peeraraphatchara and Panyathitipong<sup>31</sup> ที่ทดลองผลิตขนมปังโดยใช้เนื้อตาลสุกทดแทนแป้งสาลีที่ระดับต่างๆ พบว่าขนมปังที่มีระดับการทดแทนแป้งสาลีด้วยเนื้อตาลสุกมีผลทำให้ขนมปังมีความชื้นสูงขึ้น และความหนาแน่นของขนมปังมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับปริมาตรจำเพาะ คือเมื่อปริมาตรจำเพาะของขนมปังลดลง ความหนาแน่นของขนมปังจะมีค่ามากขึ้น คุณภาพของขนมปังที่ดีจะต้องมีปริมาตรจำเพาะที่ไม่มากหรือน้อยจนเกินไป การมีปริมาตรจำเพาะมากเกินไป จะมีโครงสร้างรูพรุนขนาดใหญ่ ทำให้ไม่น่ารับประทาน ส่วนการมีปริมาตรจำเพาะน้อยเกินไป ขนมปังจะมีความแน่นและมีความหนัก ทำให้ไม่น่ารับประทานเช่นกัน<sup>32</sup> จากการศึกษาของ Ampanthong<sup>33</sup> พบว่าขนมปังที่มีปริมาตรจำเพาะอยู่ในช่วง 3.83-3.97 cm<sup>3</sup>/g ได้คะแนนความชอบโดยรวม 7.17-7.93 (จากคะแนนเต็ม 9) จากผู้ทดสอบ 60 คน แต่การเพิ่มปริมาณก้างปลาไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ weight loss และ water activity ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นในขนมปังอยู่ในรูปของ bound form จึงทำให้ค่า water activity ซึ่งวัดในปริมาณน้ำในรูป free form ไม่เพิ่มขึ้นตามปริมาณความชื้นของขนมปังที่เพิ่มขึ้น และปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นซึ่งอยู่ในรูป bound form นี้ เมื่อนำไปอบจึงไม่ส่งผลต่อการสูญเสียน้ำออกจากขนมปังที่ผงก้างปลาเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่า weight loss ไม่เปลี่ยนแปลง

ปริมาณไขมันลดลงเมื่อเพิ่มผงก้างปลา เนื่องจากผงก้างปลามีปริมาณไขมันที่น้อยมาก (ร้อยละ 0.13) ยกเว้นขนมปังที่มีผงก้างปลาร้อยละ 5 มีปริมาณไขมันไม่แตกต่างจากขนมปังที่ไม่มีผงก้างปลา ขณะที่ขนมปังที่มีผงก้างปลาร้อยละ 1 และ 3 มีปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าขนมปังสูตรควบคุม (ไม่มีผงก้างปลา) ทั้งนี้อาจเกิดจากความผิดพลาดในการชั่งตัวอย่าง หรือมีจำนวนซ้ำของการวิเคราะห์ที่ไม่มากพอ เนื่องจากปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้มีค่าน้อยและมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำ

ปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเพิ่มผงก้างปลา ซึ่งไบโอแคลเซียมจากก้างปลาที่มีเถ้าสูงจะมีสารอนินทรีย์ประมาณร้อยละ 70-90<sup>17,18, 34</sup> สอดคล้องกับการศึกษาของ Wijayanti และคณะ<sup>35</sup> ที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเจลซูริมที่มีการเติมไบโอแคลเซียมจากก้างปลาผงขาวร้อยละ 8 มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม

ปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในขนมปังมีปริมาณลดลงตามลำดับของการทดแทนผงก้างปลาที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากแป้งสาลีมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 12 กรัม และปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 74.60<sup>36</sup> ซึ่งมีมากกว่าผงก้างปลาในการศึกษานี้ที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 0.4 ดังนั้นเมื่อมีทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาในสัดส่วนที่มากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณแป้งสาลีลดลง จึงเป็นผลให้มีปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลงไปด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Pthai<sup>37</sup> ที่ศึกษาผลของการทดแทนแป้งสาลีบางส่วนด้วยผงก้างปลาเซลมอนต่ออะหมี พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาเซลมอน มีผลทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลง

การทดแทนแป้งสาลีด้วยผงก้างปลาในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นเป็นการลดปริมาณกลูเตนลง ส่งผลให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง โครงสร้างของขนมปังแน่นขึ้น โพรงอากาศเล็กลง การคืบตัวและความยืดหยุ่นลดลง เนื่องจากขนมปังมีความแข็งเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Hardness และ Chewiness เพิ่มขึ้นด้วย สอดคล้องกับปริมาตรจำเพาะที่ลดลงและความหนาแน่นของขนมปังที่เพิ่มขึ้น และการลดลงของกลูเตนยังส่งผลให้ค่า Cohesiveness ลดลงด้วย เนื่องจากความแข็งแรงของกลูเตนลดลงส่งผลให้มีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลชนิดเดียวกันลดต่ำลง เมื่อขนมปังมีความแข็งเพิ่มขึ้น ค่า Springiness ลดลงจึงต้องใช้แรงในการเคี้ยวเพิ่มขึ้น<sup>38-40</sup>

การทดแทนผงก้างปลาทำให้ขนมปังมีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้น จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182 พ.ศ. 2541 เรื่องฉลากโภชนาการ กำหนดปริมาณอาหารหนึ่งหน่วยบริโภคของขนมปัง เท่ากับ 50 กรัม<sup>41</sup> พบว่าขนมปังที่มีการทดแทนผงก้างปลาร้อยละ 1 ไม่สามารถใช้ค่ากล่าวอ้างค่าใดได้ แต่ขนมปังที่มีการทดแทนผงก้างปลาร้อยละ 3 และ 5 สามารถใช้ข้อยกอ้างว่า “สูง”, “อุดม” ได้ และจากคำแนะนำปริมาณขนมปังที่ควรบริโภค จากรายการอาหารแลกเปลี่ยน ขนมปังปอนด์ (ชนิดหนัก) 1 ส่วน เท่ากับ 25 กรัมหรือ 1 แผ่น หากผู้บริโภครับประทานขนมปังเป็นอาหารมื้อหลัก 1 มื้อ กลุ่มที่ควรได้รับปริมาณแคลเซียม 800 มิลลิกรัมต่อวัน ควรบริโภคขนมปังที่มีการทดแทนร้อยละ 1 จำนวน 8 แผ่นต่อมื้อ ขนมปังที่มีการทดแทนร้อยละ 3 จำนวน 3 แผ่นต่อมื้อ และขนมปังที่มีการทดแทนร้อยละ 5 จำนวน 2 แผ่นต่อมื้อ กลุ่มที่ควรได้รับปริมาณแคลเซียม 1,000 มิลลิกรัมต่อวัน ควรบริโภคขนมปังที่มีการทดแทนร้อยละ 1 จำนวน 10 แผ่นต่อมื้อ ขนมปังที่มีการทดแทนร้อยละ 3 จำนวน 4 แผ่นต่อมื้อ และขนมปังที่มีการทดแทนร้อยละ 5 จำนวน  $1\frac{1}{2}$  แผ่นต่อมื้อ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ที่มีประโยชน์ต่อผู้ผลิตอาหารสำหรับกลุ่มผู้บริโภคที่ต้องการดูแลสุขภาพ โดยเฉพาะกระดูกที่เป็นปัญหาสำหรับผู้สูงอายุ การนำก้างปลามาเสริมในนมผงจะสามารถช่วยลดความเสี่ยงของปัญหาที่เกิดจากโรคกระดูกพรุนลงได้ ข้อจำกัดของงานวิจัย คือไม่ทราบว่านมผงที่พัฒนานี้ได้รับการยอมรับในระดับใด

## สรุป

ผงก้างปลากระดูกอ่อนมีปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 196.94 มก.ต่อกรัม ผลของการเพิ่มสัดส่วนการทดแทนแป้งสาสึบางส่วนด้วยผงก้างปลาต่อสมบัติทางเคมีของนมผง คือ ปริมาณความชื้น เถ้า และแคลเซียมมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดมีค่าลดลง และส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของนมผง คือ เมื่อเพิ่มสัดส่วนการทดแทนผงก้างปลากระดูกอ่อนส่งผลให้ความหนาแน่น ค่า  $L^*$  (ความสว่าง) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาตรจำเพาะมีค่าลดลง อีกทั้งยังส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสในทางลบ แต่ไม่มีผลต่อค่า  $a^*$  (ความเป็นสีแดง) ค่า  $b^*$  (ความเป็นสีเหลือง) น้ำหนักที่สูญเสีย และปริมาณน้ำอิสระ

การทดแทนแป้งสาสึบางส่วนด้วยผงก้างปลากระดูกอ่อนในสัดส่วนร้อยละ 3 และ 5 ส่งผลให้นมผงมีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นมากเพียงพอที่จะสามารถใช้คำกล่าวอ้างทางโภชนาการได้ว่า “แคลเซียมสูง”, “อุดมไปด้วยแคลเซียม” โดยยังมีสมบัติทางเคมีและกายภาพไม่แตกต่างจากนมผงสูตรควบคุมมากนัก จึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่งในการนำไปพัฒนาต่อไปเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งมาใช้ในการเสริมแคลเซียมลงในอาหาร แต่ควรศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการตรวจวัดเฮกเซนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ตกค้างในผงก้างปลาเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของนมผงดังกล่าวเพื่อให้มั่นใจว่าได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

## Ethical Approval Statement

This research was approved by the Ethical Review Committee for Human Research Faculty of Public Health, Mahidol University (COA No. MUPH 2022-014). Permission to conduct research was on 4 February 2022.

## Author Contributions

WS, TP, and TC designed the study and conducted the research under the supervision of DM. WS (first author): main researcher, review article, discussion, and conclusion writer; TP (second author): main researcher, introduction, and methodology writer; TC (third author): main researcher, statistical analysts, and reference writer; DM produced the manuscript. All authors read and approved the manuscript before submission for publication.

## Acknowledgements

The authors thank the Faculty of Public Health, Mahidol University, as well as all personnel and panelists in the Faculty of Public Health, Mahidol University, who helped and supported this research to be completed well.

## Source of Funding

The authors receive funding partially from the Faculty of Public Health, Mahidol University for the Senior Project in Food Science for Health subject.

## Conflicts of Interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

## References

1. Department of International Trade Promotion, Ministry of Commerce. Fresh, chilled, frozen, canned, and processed seafood (excluding fresh, chilled, frozen and processed shrimp). Available from: [https://www.ditp.go.th/contents\\_attach/539575/539575.pdf](https://www.ditp.go.th/contents_attach/539575/539575.pdf), accessed July 29, 2021. (In Thai)
2. Office of Small and Medium Enterprises Promotion. Food Enterprise Network Study Report Processed seafood, Samut Prakan, Chonburi, Rayong, Chanthaburi. 2551. Available from: [https://www.sme.go.th/upload/mod\\_download/14-seafood.pdf](https://www.sme.go.th/upload/mod_download/14-seafood.pdf), accessed July 29, 2021. (In Thai)
3. Department of Trade Negotiations, Ministry of Commerce. Asian seabass and products. Available from: <https://api.dtn.go.th/files/v3/5f4f3ebfef414020773e4b32/download>, accessed July 29, 2021. (In Thai)
4. Kijjapatanaphun N. Production and trade situation of seabass and its products in 2019. Available from: [https://www.fisheries.go.th/strategy/UserFiles/files/tuna%2012%20%202561\(1\).pdf](https://www.fisheries.go.th/strategy/UserFiles/files/tuna%2012%20%202561(1).pdf), accessed July 29, 2021. (In Thai)
5. Suwansakornkul P, Jongrittiporn S. Value-added products from processing waste of Pla Mong (*Pangasius bocourti*). 2011 Available from: [https://www4.fisheries.go.th/local/file\\_document/20200417220834\\_1\\_file.pdf](https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20200417220834_1_file.pdf), accessed July 29, 2021. (In Thai)

6. Jintananaruemit P, Techakriengkrai T, Pasukamonset P. Physicochemical Characteristics of bio-calcium powder from tuna bones by extraction methods. King Mongkut's Agr J 2021; 39(1): 22-9. (In Thai)
7. Boontaweeyuwat N. Minerals. In: Malai D, et al, eds. Nutritional biochemistry. 2<sup>nd</sup>.ed. Bangkok: CDMK Printing; 2553: 227-303. (In Thai)
8. Wongsalah V, Wongsalah M. Promoting Bone Strength: Guidelines to prevent and reduce risks for osteoporosis. Regional Health Promotion Center 9 Journal 2520; 14(35): 410-24. (In Thai)
9. Department of Mental Health, Ministry of Public Health. Silent threat!! 90% of Thai people are at risk of osteoporosis. Available from: <https://www.dmh.go.th/news-dmh/view.asp?id=28429>, accessed December 2, 2021. (In Thai)
10. Leerapun T. Importance of calcium. Available from: <https://sriphat.med.cmu.ac.th/th/knowledge-153>, accessed August 2, 2021. (In Thai)
11. The committee and the working group improved the daily nutrient requirements for Thai people. Calcium. In: Changbumrung S, et al, eds. Dietary Reference Intake for Thais 2020. Bangkok: A.V. Progressive Ltd; 2020. p. 261-75. (In Thai)
12. Thailand Innovation Portal. Fishbone bio-calcium. [online] Available from: <https://www.tech2biz.net/index.php/content/1249>, accessed December 14, 2021. (In Thai)
13. Benjakul S, Karnjanapratum S. Characteristics and nutritional value of whole wheat cracker fortified with tuna bone bio-calcium powder. Food Chem 2018, DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.03.124.
14. Thongaubol P, Chidpan N, Siwnguan K, SingSom S. Product development of granola bar supplement with fish *Chinata ornata* bone powder. Proceedings of The 4<sup>th</sup> Research Institute, Kamphaeng Phet Rajabhat University Conference; December 22, 2017. Available from: <https://research.kpru.ac.th/sac/fileconference/17682018-05-01.pdf>, accessed December 14, 2021. (In Thai)
15. Iamkampang P, Inget SV. Product development of Khao-Tang supplemented with calcium from grey feather back fish bone. SDU Res J 2015; 8(1): 57-71. (In Thai)
16. Jintananaruemit P, Techakriengkrai T, Jamphon A, Duangnum S, Maneerattanasuporn T, Pasukamonset P. Product development of crispy brownies fortified with bio calcium from tuna bone powder. KKU Sci J 2020; 48(4): 492-501. (In Thai)



17. Benjakul S, Mad-Ali S, Senphan T, Sookchoo P. Characteristics of biocalcium from pre-cooked skipjack tuna bone as affected by different treatments. *Waste Biomass Valor* 2017, DOI: 10.1007/s12649-017-9927-8.
18. Wijayanti I, Benjakul S, Sookchoo P. Preheat-treatment and bleaching agents affect characteristics of bio-calcium from Asian sea bass (*Lates calcarifer*) backbone. *Waste Biomass Valor* 2021; 12: 3371–82. DOI: 10.1007/s12649-020-01224-w.
19. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17<sup>th</sup>.ed. Horwitz W, editor. Arlington, USA: Association of Official Analytical Chemists. 2000.
20. Alsuhaibani AMA. Rheological and nutritional properties and sensory evaluation of bread fortified with natural sources of calcium. *J Food Qual* 2018, DOI: 10.1155/2018/8308361.
21. Jiamyangyuen S, Srijesdaruk V, Harper WJ. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. *Songklanakarin J Sci Technol* 2005; 27(1): 55–64.
22. Junejo SA, Rashid A, Yang L, Xu Y, Kraithong S, Zhou Y, et al. Effects of spinach powder on the physicochemical and antioxidant properties of durum wheat bread. *LWT* 2021, DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112058.
23. Nemati M, Huda N, Ariffin F. Development of calcium supplement from fish bone wastes of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and characterization of nutritional quality. *IFRJ* 2017; 24(6): 2419–26.
24. Techochatchawal K, Therdthai N, Khotavivattana S. Development of calcium supplement from the bone of Nile Tilapia (*Tilapia nilotica*). *J Food Ag-Ind* 2009; 2(4): 539–46.
25. Luu PH, Nguyen MH. Recovery and utilization of calcium from fish bones by-products as a rich calcium source. *Vietnam J Sci Technol* 2009; 47: 91–103.
26. Benjakul S, Mad-Ali S, Senphan T, Sookchoo P. Biocalcium powder from precooked skipjack tuna bone production and its characteristics. *J Food Biochem* 2017; DOI: 10.1111/jfbc.12412. DOI: 10.1111/jfbc.12412
27. Mandala I, Polaki A, Yanniotis S. Influence of frozen storage on bread enriched with different ingredients. *Food Eng* 2009; 92: 137–45.
28. Mohamed A, Xu J, Singh M. Yeast leavened banana-bread: formulation, processing, colour, and texture analysis. *Food Chem* 2010; 118: 620–6. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.05.044
29. Morris C, Morris A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: a review. *Food Chem* 2012; 133: 237–48. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.01.027

30. Prasada Rao UJS, Hemalathas MS. Enzymes. In Zhou W, Editor. Bakery products: science and technology. Hoboken, USA; Blackwell Publishing Ltd, 2006. p. 456-87.
31. Peeraraphatchara C, Panyathitipong W. Utilization of Palmyra Palm (*Borassus abellifer* L.) of Phetchaburi community in bread making. RMUTP Research Journal 2016; 10(1): 168-77. (In Thai)
32. Chammak C, Naivikul O. Basic baking science and technology. Bangkok: Kasetsart University Press, 2003.
33. Ampanthong R. Sweet bread supplemented with ripe palm fruit pulps. RMUTP Research Journal 2015; 9(2): 99-113. (In Thai)
34. Idowu AT, Benjakul S, Sinthusamran S, Sae-leaw T, Suzuki N, Kitani Y, et al. Effect of alkaline treatment on characteristics of bio-calcium and hydroxyapatite powders derived from salmon bone. Appl Sci 2020; 10(12) DOI: 10.3390/app10124141
35. Wijayanti I, Singh A, Benjakul S, Sookchoo P. Textural, sensory, and chemical characteristic of threadfin bream (*Nemipterus* sp.) surimi gel fortified with bio-calcium from bone of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). Foods 2021; 10(1): 1-8. DOI: 10.3390/foods10050976
36. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Food Data Central Search Results. Flour, wheat, all-purpose, unenriched, unbleached[online]; 2020. Available at <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/790018/nutrients>, accessed 12 February 2022.
37. Uthai N. Effect of partially substituting wheat flour with fish bones powder on the properties and quality of noodles. Afr J Food Agric Nutr Dev 2021; 21(1): 17313-29.
38. Raungrusmee S, Jadwong K, Wongtong O. Development of sandwich bread formulation substituted wheat flour with riceberry rice bran. Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology). 2018; 13 (1): 123-38. (In Thai)
39. Singthong J. Development of healthy bread product from sunchoke (*Helianthus tuberosus* L.) flour. Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University 2519; 21(1): 71-83. (In Thai)
40. Sapantupong S. Development of bread with riceberry rice bran. RMUTP Research Journal 2019; 13(2): 186-95. (In Thai)
41. Food Division, Ministry of Public Health. Notification of the Ministry of Public Health (No. 182) B.E. 2541 (1998) Re: Nutrition Labelling. Available from: [https://food.fda.moph.go.th/law/data/announ\\_moph/P182.PDF](https://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P182.PDF), accessed December 14, 2021. (In Thai)