บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

ประเทศไทยสามารถส่งออกผลิตภัณฑ์แปรรูปในกลุ่มของสัตว์น้ำไปจำหน่ายยังต่างประเทศติดอันดับหนึ่งในสิบของตลาดการค้าโลก และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น จากการขยายตัวของอุตสาหกรรมการแปรรูปสัตว์น้ำดังกล่าวนี้ ทำให้มีเศษเหลือใช้จากกระบวนการแปรรูปเกิดขึ้นมาก ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้มีมูลค่าต่ำ หากมีการจัดการที่ไม่ดีพอจะเกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมได้ เพราะเศษเหลือเหล่านี้เกิดการเน่าเสียได้ง่ายเนื่องจากมีส่วนประกอบของโปรตีนและไขมันเป็นส่วนใหญ่ หากเป็นโรงงานแปรรูปขนาดใหญ่จะขายต่อให้แก่โรงงานผลิตอาหารสัตว์ในราคาถูก แต่หากเป็นผู้ประกอบการแปรรูปขนาดเล็กจะทิ้งเศษเหลือเหล่านี้รวมกับขยะอื่น ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้ ในกระบวนการแปรรูปปลาจะก่อให้เกิดเศษเหลือประมาณร้อยละ 30 ถึง 35 (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2551) ที่พบมากคือ เครื่องใน หนัง เกล็ด โครงและก้าง เศษเหลือเหล่านี้ประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง (Shahidi, Han and Synowiecki, 1995 อ้างอิงใน วันชัย เกียรติพิมล, 2545, หน้า 1) ดังนั้นจึงมีการนำเศษเหลือดังกล่าวมาใช้ให้เกิดประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่า พบว่าการนำเศษเหลือจากปลากลับมาใช้ได้รับความสนใจมานานกว่า 10 ปีแล้ว โดยนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซท (protein hydrolysate) เปปโตน (peptone) หรือสารสกัดจากปลา (fish extract) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์โปรติเอส (protease enzyme) (Kim, et al., 1997 อ้างอิงใน วันชัย เกียรติพิมล, 2545, หน้า 1) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีส่วนแบ่งทางการตลาดในการนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมต่างๆ สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ชนิดอื่นๆ (ยุวพิน ด่านดุสิตาพันธ์, 2546, หน้า 23-26) เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกนำมาผลิตใช้ในเชิงการค้าส่วนใหญ่นั้นผลิตจากแบคทีเรียสกุลบาซิลลัส (*Bacillus* sp.) ที่มีปริมาณการใช้ที่ค่อนข้างสูงกว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในทางอุตสาหกรรม เกษตรกรรม เภสัชกรรมและทางการแพทย์เป็นต้น

การศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนไฮโดรไลเซทได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซทมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้อย่างหลากหลาย เช่น เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์น้ำ (สุทธิพงศ์ พฤกษ์ประเสริฐ, 2537 อ้างอิงใน สีวิกา กิจสวัสดิ์, 2548, หน้า 2) กระตุ้นการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Zhao, et al., 1996) เป็นสารที่มีสมบัติในการออกฤทธิ์คล้ายมอร์ฟีนในทางการแพทย์ (Zhao, et al., 1997) และเป็นสารที่มีสมบัติในการออกฤทธิ์เพื่อลดความดันโลหิต

(Hyun and Shin, 2000) เป็นต้น ซึ่งในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทอาจใช้กรดหรือด่างหรือเอนไซม์ในการย่อยสลาย แต่การใช้กรดหรือด่างในกระบวนการย่อยสลายนั้นทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ลดลง จึงมีการแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดยการนำเอนไซม์ที่สกัดได้จากแหล่งต่างๆ มาใช้แทน เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงเพราะเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อสับสเตรท (substrate) ความเป็นกรด-ด่าง ความคงตัวต่อความร้อน ตัวกระตุ้นและตัวยับยั้ง จึงสามารถเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์และสภาวะในการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม อีกทั้งสภาวะในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นไม่รุนแรง ทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีคุณภาพดีและมีสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ เมื่อเปรียบเทียบโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารเคมีและเอนไซม์โปรติเอสแล้วจะพบว่าการย่อยด้วยสารเคมีจะไม่สามารถระบุถึงการแตกตัวของพันธะและขนาดของเปปไทด์ได้ ในขณะที่การย่อยสลายโดยการใช้เอนไซม์นั้นสามารถตัดสินขอบเขตการย่อยสลายและขนาดของเปปไทด์ (peptide) ที่เกิดขึ้นได้ (Adler-Nissen, 1986) แต่ข้อจำกัดของการใช้เอนไซม์คือมีต้นทุนในการผลิตที่สูง ทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์มีราคาแพง (วุฒิพจน์ ศุภวิริยากร, 2548) จึงมีการนำเอนไซม์โปรติโอไลติก (proteolytic enzyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอสที่ได้จากพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์มาใช้ในกระบวนการย่อยสลาย พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติโอไลติกเป็นการย่อยสลายโปรตีนที่บริเวณพันธะเปปไทด์ทำให้ได้เปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ (free amino acids) ออกมา ปกติแล้วโปรตีนปลาสามารถเกิดการย่อยสลายได้เองด้วยเอนไซม์ โปรติเอสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในกล้ามเนื้อและเครื่องในปลา (autolysis) เช่น เอนไซม์เปปซิน (pepsin) ทริปซิน (trypsin) ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) และคาเทปซิน (cathepsin) เป็นต้น แต่วิธีการย่อยสลายนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างซับซ้อน เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในปลามีมากมายหลายชนิด แต่ละชนิดมีกิจกรรมการทำงานที่แตกต่างกัน ทำให้ไม่สามารถควบคุมการย่อยสลายและต้องใช้เวลาในการย่อยสลายที่ยาวนาน ผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซทที่ได้จึงมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ไม่ดีนัก นิยมใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เช่น น้ำปลา เป็นต้น

ดังนั้นเพื่อเป็นการลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม เพิ่มประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่าเศษเหลือจากปลาน้ำจืด และลดการนำเข้าวัสดุอาหารเลี้ยงเชื้อจากต่างประเทศ เพราะปัจจุบันประเทศไทยต้องนำเข้าวัสดุอาหารเลี้ยงเชื้อจากต่างประเทศเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเป็นจำนวนมาก โดยเปปโตนมีราคาสูงถึง 4,740 บาทต่อกิโลกรัม (ราคา ณ วันที่ 15 กันยายน 2553 จาก บริษัทเวชกิจเคมีภัณฑ์ จำกัด) อีกทั้งในการทดลองสกัดเปปโตนส่วนใหญ่จะให้ความสำคัญกับแหล่งวัตถุดิบจากสัตว์บก ยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาในปลาน้ำจืด ซึ่งมีปริมาณการผลิตเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้มีปริมาณเศษเหลือจากกระบวนการสูงขึ้นตามไปด้วย จึงเป็นมูลเหตุให้สนใจ

ศึกษาการผลิตเปปโตนจากเศษเหลือจากปลาโดยใช้แบคทีเรียโปรติโอไลติก งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากแบคทีเรียโปรติโอไลติก เพื่อเหนี่ยวนำให้เชื้อสร้างเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีนในสารตั้งต้น ทำการศึกษาทั้งสภาวะการผลิต การนำไปใช้ประโยชน์ และทดสอบประสิทธิภาพของผลผลิตที่ได้โดยเปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า โดยผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะสามารถนำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวนี้ไปใช้เป็นพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม เพื่อเป็นการลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม และเพิ่มประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่ากับเศษเหลือที่ได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาน้ำจืดต่อไป

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจากเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปปลา
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปปโตนด้วยแบคทีเรียโปรติโอไลติก
3. ศึกษาปริมาณและองค์ประกอบของผลิตผลที่ได้จากการผลิตเปปโตนเทียบกับเปปโตนทางการค้า
4. ทดสอบประสิทธิภาพผลผลิตที่ได้ในการใช้เป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ของเปปโตนที่ผลิตได้เทียบกับเปปโตนทางการค้า

ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และระยะเวลาในการย่อยโปรตีนเพื่อผลิตเปปโตนจากเศษเหลือจากปลาโดยใช้แบคทีเรียโปรติโอไลติก โดยทำการคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดนำมาผลิตเปปโตน ศึกษาคุณภาพเปปโตนที่สกัดได้เปรียบเทียบกับเปปโตนที่มีจำหน่ายในท้องตลาด และศึกษาความสามารถในการเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยมีระยะเวลาในการวิจัย 12 เดือน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสม (ความเป็นกรด-ด่าง และระยะเวลาการย่อย) ในการผลิตเปปโตนจากเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปปลาโดยใช้แบคทีเรียโปรติโอไลติก
2. สามารถนำเปปโตนที่สกัดได้จากเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปปลาไปใช้ประโยชน์ในการเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3. เป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบและทรัพยากรที่มีในธรรมชาติ สนับสนุนและสร้างองค์ความรู้สำหรับการนำผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุด

4. สามารถใช้ข้อมูลสภาวะการสกัดที่ได้จากงานวิจัยนี้เป็นพื้นฐานในการต่อยอดงานวิจัยเพื่อการลดต้นทุนการผลิตเปปโตนต่อไป