



Proceeding



การประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 3
The 3rd Science Research Conference

วันที่ 14-15 มีนาคม 2554 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

Oral Presentation

กลุ่มที่ 2 สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เทคโนโลยีชีวภาพ และวิทยาศาสตร์ศึกษา (ต่อ)

๑ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ	108
๑ ผลของไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนใบ <i>Aeschynanthus fulgens</i> Wall. ex R. Br. ในสภาพปลอดเชื้อ	113
๑ ผลของไซโตไคนิน และออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อใบอ่อนกุหลาบหินในสภาพปลอดเชื้อ	117
๑ ผลของจำนวนชิ้นส่วนและปริมาณอาหารต่อการเจริญและพัฒนาของใบหยาดน้ำค้างในอาหารเหลว	122
๑ การแสดงออกของยีน Divalent metal transporter-1 (DMT-1) ในรกของมารดาที่อาศัยอยู่ ในพื้นที่การปนเปื้อนแคดเมียม	126
๑ การแสดงออกของยีน ZnT1 ในรกหญิงตั้งครรภ์ที่อาศัยในพื้นที่ปนเปื้อนแคดเมียม	130
๑ การจัดจำแนกบัวสาย (Genus <i>Nymphaea</i> L.) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ <i>trnT-L</i>	134
๑ Lethal Concentration and the Impact of the Auxin-like Herbicide, 2, 4-D on Acetylcholinesterase activity in common silver barb (<i>Puntius gonionotus</i> , Bleeker) fish.	138
๑ ผลของอาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนิน และโปรเจสเตอโรนต่อการพัฒนารังไข่ในแม่พันธุ์กุ้งขาว <i>Litopenaeus vannamei</i>	143
๑ การขอย้อมเนื้อเยื่อด้วยเอนไซม์ STARGEN™	147
๑ สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจากราข้าวพันธุศาสตร์ 1	152
๑ การประยุกต์ใช้แปรงเมสตีเลียนในผลิตภัณฑ์นมของเนส	157
๑ โปรตีนไฮโดรไลเซสจากเศษเหลือปลา: สภาวะการย่อยเครื่องในปลาตะเพียน (<i>Tilapia nilotica</i>) โดยเอนไซม์ปาเปน	162
๑ ผลของแลคโตบาซิลลัส แพลนทาร์ม บิ 7 ต่อระดับทีเอ็นเอฟ-แอลฟา อินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ในซีรัม และผลพยาธิวิทยา ในเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของหนูแรทที่ติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลรี	167
๑ การสร้างและหาผลการวัดแนวของผู้เข้าค่ายนักวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตร	173

กลุ่มที่ 3 สาขาเคมี เคมีสิ่งแวดล้อม และวิทยาศาสตร์ศึกษา

๑ ผลของอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงเฟสและสมบัติการเรืองแสงของยูโรเปียมที่เจือ ในฟลักเซอร์โคเนียมออกไซด์	179
๑ ผลของตัวเชื่อมต่อทางเคมีต่อลักษณะพื้นฐานและพฤติกรรมของการเปลี่ยนสีของพอลิไดอะเซตทิลิน แอสเซมบลีที่เตรียมจากไดอะมิไดอะเซตทิลินโมโนเมอร์	185
๑ ผลของการอบอ่อนต่อสมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ ของสตาร์ชถั่วมะพร้าว <i>Cajanus cajan</i> (L.)	190
๑ การพัฒนาผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 6 โดยการเรียนรู้แบบสืบเสาะด้วยชุดกิจกรรมทดสอบสารและสมบัติของสาร	196

โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือปลา: สภาวะการย่อยเครื่องในปลาทับทิม (*Tilapia nilotica*) โดยเอนไซม์ปาเปน
พีริยา ไรเกช¹ ปวีณา น้อยทัพ^{1*} อโรส รักชาติ¹ และ เจริญทอง สิงห์จามรงค์¹

Protein hydrolysate from fish waste: Conditions for red tilapia (*Tilapia nilotica*) viscera hydrolysis with papain
Peeriya raikate¹ Paweena Noitup^{1*} Orose Rugchati¹ and Riantong Singanusong¹

¹คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

*Corresponding author E-mail: paweenan@nu.ac.th

บทคัดย่อ

การนำเศษเหลือจากเครื่องในปลาทับทิมมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต เป็นการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์ องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทับทิมประกอบไปด้วยโปรตีนร้อยละ 9.14 ไขมันร้อยละ 5.98 ความชื้นร้อยละ 76.73 เถ้าร้อยละ 1.61 และค่า pH เท่ากับ 6.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเครื่องในปลาทับทิมโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปน ปริมาตรร้อยละ 0.75 ต่อวัตถุดิบ (w/w) pH 6.3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการย่อย 90 นาที เป็นสภาวะที่ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด ร้อยละ 70.35 และผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตเหลวร้อยละ 40 นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 23.13

คำสำคัญ : โปรตีนไฮโดรไลเซต, ปาเปน, ปลาทับทิม, เศษเหลือปลา

Abstract

Utilization of fish waste such as viscera from Thai red tilapia to produce protein hydrolysates is one way of value added of the fish waste. The chemical composition of Thai red tilapia viscera contained 9.14% protein, 5.98% lipid, 76.73% moisture, 1.61% ash and pH 6.3. The appropriate conditions for protein hydrolysate extraction by using papain hydrolysis of Thai red tilapia viscera were studied. It was found that the use of 0.75% papain (w/w) with pH 6.3 at 25 °C for 90 minutes provided the highest degree of hydrolysis of 70.35% and yield of 40%. Moreover, the produced protein hydrolysates contained 23.13% protein.

Keywords: protein hydrolysate, papain, red tilapia, fish waste

1. คำนำ

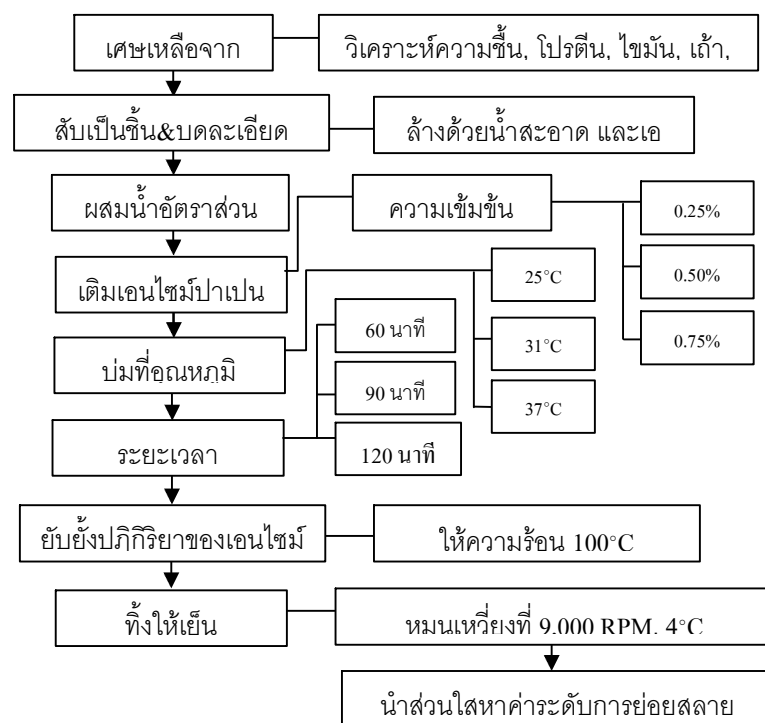
ปัจจุบันมีการขายตัวของอุตสาหกรรมการแปรรูปสัตว์น้ำเพิ่มสูงขึ้น จากสถิติการประมงแห่งประเทศไทยปี พ.ศ. 2553 ของกรมประมง ระบุว่ามูลค่าผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในประเทศไทยปี 2551 มีปริมาณปลาทับทิมร้อยละ 34.41 ซึ่งนับว่าเป็นอัตราส่วนที่สูง และจากมูลค่าการส่งออกปลาทับทิมแช่แข็งของไทยปี พ.ศ. 2546 – 2550 พบว่าไม่มีอัตราการขยายตัวต่อปีคิดเป็นร้อยละ 56.50 ทำให้มีเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปมากขึ้นด้วย ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้มีมูลค่าต่ำและหากมีการจัดการที่ไม่ดีพอจะเกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม เพราะเกิดการเน่าเสียได้ง่ายเนื่องจากมีส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็นโปรตีน ส่วนมากโรงงานแปรรูปขนาดใหญ่จะจำหน่ายให้แก่โรงงานผลิตอาหารสัตว์ในราคาถูก หากเป็นผู้แปรรูปขนาดเล็กก็จะทิ้งเศษเหลือเหล่านี้รวมกับขยะอื่นๆ และเนื่องจากเศษเหลือเหล่านี้ประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง (Shahidi *et al.*, 1995) จึงมีการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่าโดยนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์

ต่างๆ โดยเฉพาะโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต โดยอาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส (protease) ปัจจุบันนิยมใช้เอนไซม์ปาเปนซึ่งเป็นเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส เนื่องจากมีราคาถูก ให้โปรตีนที่มีเปปไทด์ขนาดเล็กและกรดอะมิโนอิสระในปริมาณสูง เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนมีความจำเพาะต่อ pH ของวัตถุดิบ และสามารถเลือกใช้สภาวะการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีคุณภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ หรืออาหารมนุษย์ได้ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเศษเหลือจากปลาทับทิมมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

2. วัตถุดิบและวิธีการ

2.1 วัตถุดิบเศษเหลือจากปลาทับทิม

เก็บส่วนเครื่องในทั้งหมดของปลาทับทิม จากตลาดร่วมใจ (พิษณุโลก) โดยระยะเวลาตั้งแต่ปลาตายจนนำมาเตรียมเป็นวัตถุดิบไม่เกิน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำ และล้างด้วย 95% เอทานอล เพื่อล้างไขมันบางส่วนออก จากนั้นสับเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วบดด้วยเครื่องบดเนื้อคลุกเคล้าให้ผสมกันดี ขั้นตอนดังรูปที่ 1 บรรจุใส่ถุงแล้วเก็บที่ -18 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาไว้ก่อนนำมาทดลอง โดยก่อนทดลองทำการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง



รูปที่ 1 ขั้นตอนการดำเนินงาน

2.2 เอนไซม์ปาเปน (papain : EC 3.4.22.2)

เอนไซม์ปาเปนของบริษัท Sigma มีค่าประสิทธิภาพการเกิดปฏิกิริยา (activity) เท่ากับ 3.36 U/mg ซึ่งปาเปนเป็นเอนไซม์โปรติเอสชนิดเอนโดเปปติเดส (endopeptidase) จัดอยู่ในกลุ่มซิสเทอีน โปรติเอส (Cysteine/ thiol protease)

2.3 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา

วิเคราะห์องค์ประกอบทั้งความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และค่า pH ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000)

2.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยเอนไซม์ปาเปน

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด 3 ชนิดตัวแปร ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย 25 31 และ 37 องศาเซลเซียส เวลา 60 90 และ 120 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 0.50 และ 0.75 ต่อวัตถุดิบ (w/w) โดยใช้แผนการทดลองแบบ 3 x 3 x 3 Factorial in CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เลือกสภาวะที่เหมาะสมด้วย response surface model เทียบจากระดับการย่อยสลาย (%DH) โดยการตกตะกอนกรดอะมิโนอิสระด้วย TCA (Hoyle and Merritt, 1994) แล้วคำนวณด้วยสมการที่ 1

$$\%DH = \frac{\text{TCA soluble nitrogen} * 100}{\text{total nitrogen}} \quad (1)$$

3. ผลและวิจารณ์

3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา

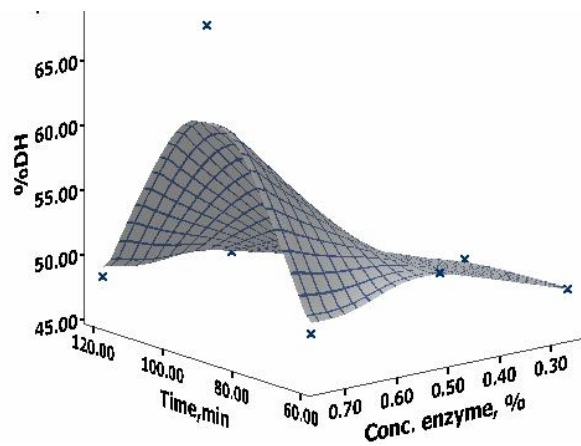
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางประการของเครื่องในปลาหับทิม พบว่า ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 9.14 ไขมันร้อยละ 5.98 ความชื้นร้อยละ 76.73 เถ้าร้อยละ 1.61 และค่า pH เท่ากับ 6.3 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเครื่องในปลาหับทิมมีโปรตีนอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตได้เป็นอย่างดี และยังพบว่าไขมันและเถ้ามีน้อยกว่าหัวและก้างปลาที่ถูกกักอยู่ที่มีไขมันร้อยละ 11.41 เถ้าร้อยละ 6.51 (พงษ์เทพ วิไลพันธ์, 2540)

3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยเอนไซม์ปาเปน

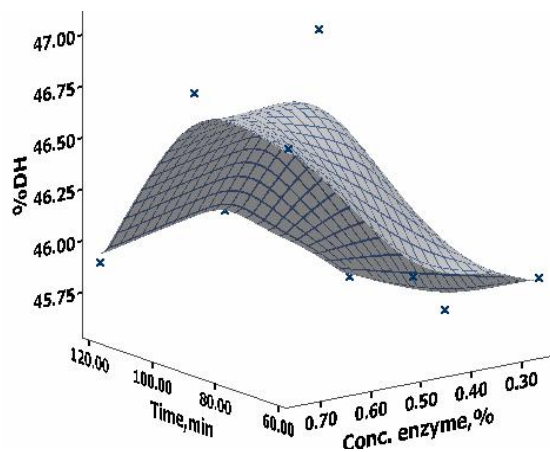
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือของการแปรรูปปลาหับทิมด้วยเอนไซม์ปาเปน โดยแปรเปลี่ยนปัจจัยต่างๆ พบว่ามีระดับการย่อยสลายในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ปาเปนที่สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตของแต่ละสภาวะ

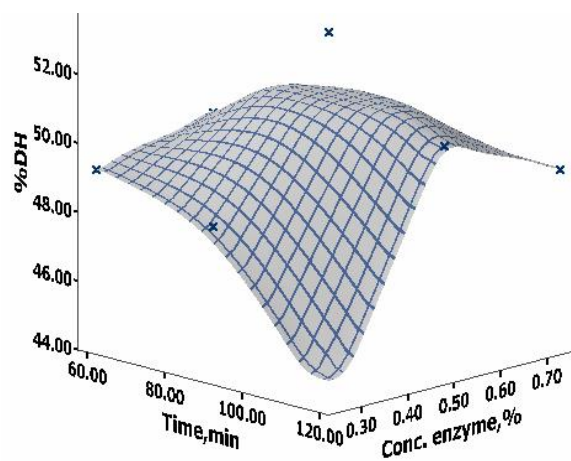
เวลาในการย่อย (นาที)	ปริมาณเอนไซม์ (ร้อยละต่อวัตถุดิบ)	ระดับการย่อยสลาย (%DH)		
		25 องศาเซลเซียส	31 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส
0	0.00	21.66 ± 0.56	21.98 ± 1.29	22.21 ± 0.61
60	0.25	63.32 ± 0.23	63.32 ± 0.61	39.87 ± 0.04
60	0.50	68.01 ± 1.65	65.66 ± 1.21	44.56 ± 0.01
60	0.75	65.66 ± 0.54	58.63 ± 1.45	42.21 ± 0.11
90	0.25	68.01 ± 0.25	60.97 ± 0.07	44.56 ± 1.08
90	0.50	65.66 ± 0.52	65.66 ± 1.13	42.21 ± 2.21
90	0.75	70.35 ± 0.07	58.63 ± 2.01	44.56 ± 1.65
120	0.25	68.01 ± 0.01	63.32 ± 0.87	39.87 ± 2.13
120	0.50	60.97 ± 0.87	60.97 ± 1.07	44.56 ± 0.30
120	0.75	63.32 ± 1.08	60.97 ± 2.34	44.56 ± 0.12



รูปที่ 2 กราฟ RSM ของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ข่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3 กราฟ RSM ของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ข่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4 กราฟ RSM ของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ข่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เมื่อเปรียบเทียบระดับการย่อยสลายจากกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน โดย RSM ดังรูป 2-4 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละกระบวนการย่อย พบว่า การใช้เอนไซม์ร้อยละ 0.75 ต่อวัตถุดิบ อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการย่อย 90 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือของปลาทับทิมได้ระดับการย่อยสลาย 70.35% ซึ่งมากกว่ารายงานของ Bhaskar et al. (2008) ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเครื่องในปลากระโทงแทง (Catla catla) ด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า ใช้ปริมาณเอนไซม์ 1.5% (v/w) อุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการย่อย 135 นาที ที่ pH เท่ากับ 8.5 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดได้ระดับการย่อยสลาย 50% และรายงานของมัลลิกา ธนสุนทร (2552) ทดลองผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่มี activity เท่ากับ 17,123 unit/g พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดหอม และเห็ดนางรม คือ ใช้เอนไซม์ร้อยละ 15 นาน 18 ชั่วโมง อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ค่า %DH สูงสุด เท่ากับ 79.0, 78.6, 72.9 และ 77.7 ตามลำดับ ซึ่งมีค่า %DH มากกว่าการใช้กรด

4. สรุป

ส่วนเครื่องในของปลาทับทิมประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 9.14 ไขมันร้อยละ 5.98 ความชื้นร้อยละ 76.73 เถ้าร้อยละ 1.61 และค่า pH เท่ากับ 6.3 ซึ่งมีโปรตีนในปริมาณมากพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตได้ โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนคือใช้เอนไซม์ปาเปนปริมาณร้อยละ 0.75 ต่อวัตถุดิบ ค่า pH ของวัตถุดิบคือ 6.3 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการย่อย 90 นาที ได้ระดับการย่อยสลายร้อยละ 70.35 โดยจะได้โปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดร้อยละ 40 ของน้ำหนักวัตถุดิบที่ใช้ นอกจากนี้ผลผลิตที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 23.13 ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ได้จากปริมาณโปรตีนที่มีอยู่

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ ประจำปี 2553

6. เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. (2553). สถิติการประมงแห่งประเทศไทย เอกสารฉบับที่ 13/2553. กรุงเทพฯ: ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- พงษ์เทพ วิไลพันธ์. (2540). จุลชีววิทยาประมง ห้องปฏิบัติการและวิธีการตรวจวิเคราะห์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มัลลิกา ธนสุนทร. (2552). การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดโดยใช้เอนไซม์ปาเปนเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ.
- A.O.A.C. (2000). Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists. (14th ed.) Washington D.C.: Association Official Analytical Chemist.
- Hoyle, N.T. and Merritt, J.H. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59(1), 76-79.
- Shahidi, F., Han, X. Q., and Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53, 285-293.
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., and Lalitha, R.G. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99, 335-343.