

สมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ ของโปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหม

Physicochemical and Functional Properties of Silkworm Pupae Protein Extract

พัฒนวิชัย จูภาวัง และ วรางคณา สมพงษ์*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

Pattanawich Joopawang and Warangkana Sompongse*

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre

Received: September 4, 2021; Accepted: October 20, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากผงดักแด้หนอนไหมที่ผ่านสกัดไขมันออกแล้ว และศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดได้ ในขั้นตอนการสกัดโปรตีน พบว่า ค่า pH ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากดักแด้หนอนไหมเท่ากับ 4.5 ซึ่งโปรตีนที่สกัดได้มีสีออกเหลืองส้ม (L^* เท่ากับ 58.04 ± 0.47 , a^* เท่ากับ 9.71 ± 1.31 และ b^* เท่ากับ 38.58 ± 1.28) และมีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 50.37 ± 0.72 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหม พบว่ามีความสามารถในการละลายที่ดีในสภาวะที่มีค่า pH มากกว่า 7 มีความสามารถในการทำให้เกิดโฟมต่ำ แต่มีความคงตัวของโฟมที่เกิดขึ้นสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับเวย์โปรตีนเข้มข้นและไข่ขาวผงที่จำหน่ายทางการค้า เมื่อปรับค่า pH มากกว่าหรือเท่ากับ 9 โปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมจะมีความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างน้ำและน้ำมันได้

คำสำคัญ: ดักแด้หนอนไหม; การสกัดโปรตีน; โปรตีนจากแมลง; สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีน; สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

Abstract

The objectives of this study were to investigate the optimum condition to extract protein from defatted silkworm pupae powder and to investigate physicochemical and functional properties of that protein. The optimum pH value for extraction of silkworm pupae protein was 4.5. The protein extract had a yellow-orange color (Hunter L^* 58.04 ± 0.47 , a^* 9.71 ± 1.31 and b^* 38.58 ± 1.28) and $50.37 \pm 0.72\%$ of protein content. For functional properties of silkworm pupae protein, the result showed high protein solubility

when pH value was more than 7. Foaming capability of silkworm pupae protein was the lowest but foam stability was the highest ($p < 0.05$), when compare with commercial whey protein concentrate and egg white powder. In addition, silkworm pupae protein showed the emulsion capacity when pH value was greater or equal to 9.

Keyword: Silkworm pupae; Protein extraction; Insect protein; Physicochemical properties of protein; Protein functionality

1. บทนำ

ในปัจจุบันสภาพสังคมในหลายประเทศ มีการขยายตัวของขนาดประชากรอย่างมาก ซึ่งมีการคาดการณ์ว่า ในปี 2050 ประชากรบนโลกอาจเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 65 ส่งผลให้ความต้องการอาหารเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยเฉพาะสารอาหารประเภทโปรตีน โดยแหล่งโปรตีนหลักของมนุษย์ คือ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ ซึ่งหากประชากรบนโลกเพิ่มขึ้น อาจทำให้ความต้องการในการบริโภคเพิ่มขึ้นถึง 200 ล้านตันต่อปี (Kim, Setyabrata, Lee, Jones, & Kim, 2016) อย่างไรก็ตาม การทำปศุสัตว์ยังเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม โดยเป็นสาเหตุหนึ่งในการทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก เนื่องจากการปลดปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และแก๊สมีเทน ดังนั้นหากสถานการณ์เป็นไปตามที่คาดการณ์ไว้ ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้อาจไม่เพียงพอต่อความต้องการของมนุษย์ รวมถึงทำให้สิ่งแวดล้อมของโลกถูกทำลายลงอีกด้วย อย่างไรก็ตาม International Livestock Research Institution ได้ให้ข้อมูลไว้ว่า ปัญหาดังกล่าวต้องแก้ไขด้วยการใช้เทคโนโลยีนวัตกรรมและการหาแหล่งโปรตีนชนิดใหม่ (Armstrong, 2009)

แหล่งโปรตีนชนิดใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจ ได้แก่ แมลงที่สามารถรับประทานได้ โดยแมลงถือเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีคุณภาพสูง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่างร้อยละ 35 ถึง 61 ขึ้นอยู่

กับชนิดของแมลง (Rumpold, & Schluter, 2013) นอกจากนั้นยังมีปริมาณไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุสูง รวมถึงใช้พื้นที่และทรัพยากรในการผลิตน้อย และผลิตแก๊สเรือนกระจกในปริมาณที่ต่ำอีกด้วย แต่ปัญหาหลักสำหรับการบริโภคแมลงของมนุษย์ คือ ลักษณะปรากฏที่ไม่น่ารับประทาน ซึ่งปัญหาดังกล่าว แก้ไขได้โดยการแปรรูป แมลงให้อยู่ในรูปแบบที่ผู้บริโภคจดจำไม่ได้ เช่น การทำให้อยู่ในรูปของผงแมลง หรือสกัดเป็นโปรตีนจากแมลง และใช้เป็นส่วนผสมเชิงหน้าที่ในอาหาร เช่น การเพิ่มความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดเจลและฟอง (Osasona & Olaofe, 2010 and Yi *et al.*, 2013) เป็นต้น

ดักแด้นอนไหม (*Bombyx mori* Linn.) เป็นแมลงชนิดหนึ่งที่มีความสนใจในการเป็นแหล่งโปรตีนชนิดใหม่ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Wu, Tan, Xu, & Gui, 2011) โดยดักแด้นอนไหมเป็นผลพลอยได้หลักที่ได้จากอุตสาหกรรมการผลิตผ้าไหม ซึ่งประเทศไทยถือเป็นประเทศที่มีการทำอุตสาหกรรมผ้าไหมเป็นจำนวนมาก โดยปกติแล้วดักแด้นอนไหมที่ได้หลังจากการสาวไหม มักจะนำไปปั่นผสมเพื่อทำเป็นอาหารสัตว์ หรือนำไปรับประทานในรูปแบบดักแด้ไหมคั่ว ซึ่งเป็นที่นิยมกันในแถบภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในปัจจุบันมีการพัฒนาเป็นอาหารสำเร็จรูปบรรจุกระป๋อง เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง และไม่มีปัญหาเรื่องสารพิษตกค้าง

สามารถนำมาบริโภคได้ทุกสายพันธุ์ทั้งพันธุ์ไทยพื้นเมือง ไทยลูกผสม และลูกผสมต่างประเทศ นอกจากนี้ ในน้ำมันดักแด้ไหมยังมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึงร้อยละ 67.30 โดยประกอบด้วย กรดโอเลอิก (oleic acid) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนบางชนิด ช่วยใหกล้ามเนื้อเรียบหดตัว ควบคุมการหลั่งน้ำย่อยของตับอ่อน และควบคุมความดันโลหิต และกรดไลโนเลนิก (linolenic acid) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างการเจริญเติบโต โดยดักแด้หนอนไหมอาจมีปริมาณโปรตีนทั้งหมด ร้อยละ 45 ถึง 55 ปริมาณไขมันทั้งหมด ร้อยละ 20 ถึง 30 (โดยน้ำหนักแห้ง) และแร่ธาตุต่างๆ ในปริมาณมาก ซึ่งการสกัดโปรตีนจากดักแด้หนอนไหมมีหลายวิธี เช่น การนำผงดักแด้หนอนไหมไปละลายน้ำ เพื่อให้ได้โปรตีนที่ละลายน้ำได้ออกมา รวมถึงการใช้หลักการตกตะกอนของโปรตีน มีการรายงานเกี่ยวกับการสกัดโปรตีนจากดักแด้หนอนไหม และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่ละลายน้ำได้ที่สกัดจากดักแด้หนอนไหม พบว่าโปรตีนที่สกัดได้มีความสามารถในการละลายที่ดีในช่วง pH เท่ากับ 5–11 แต่โปรตีนดักแด้หนอนไหมที่สกัดได้ แสดงสมบัติทางอิมัลชันและความสามารถในการทำให้เกิดโฟมที่ไม่ดี แต่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง เมื่อวิเคราะห์โดยใช้วิธี DPPH, ABTS และ FRAP (Chatsuwan, Puechkamut, & Pinsirodom, 2018) นอกจากนี้ Felix *et al.* (2020) ยังทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้น พบว่า โปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้น มีความสามารถในการละลายต่ำที่สุดในช่วง pH 4-5 และละลายได้ดีในช่วง pH ที่เป็นเบส ซึ่งส่งผลต่อการมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่าในสภาวะ pH ที่เป็นกรดอีกด้วย แต่ที่ pH 2 โปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้น แสดงสมบัติการเกิด

โฟมและความคงตัวของ โฟมที่ดีกว่า pH 8 แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากดักแด้หนอนไหมยังมีไม่มากนัก เนื่องจากยังเป็นโปรตีนทางเลือกชนิดใหม่ นอกจากนั้นผลจากการวิเคราะห์ยังขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ในการเตรียมและการสกัด (Chatsuwan, Puechkamut, & Pinsirodom, 2018 and Joopawang & Sompongse, 2020)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการสกัดโปรตีนจากดักแด้หนอนไหม โดยใช้หลักการตกตะกอนของโปรตีนที่จุด pI (Isoelectric point) และศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ องค์ประกอบของกรดอะมิโน รวมถึงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมที่ได้ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำโปรตีนจากดักแด้หนอนไหมไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

2. วิธีการ

2.1 วัตถุดิบ และการเตรียมตัวอย่าง

ดักแด้หนอนไหม (*Bombyx mori* Linn.) แขนงเลี้ยง จากฟาร์มเพาะเลี้ยง ที่เลี้ยงโดยให้ ใบหม่อนที่ปลูกแบบอินทรีย์โดยไม่ใช้ยาฆ่าแมลงหรือสารเคมีเป็นอาหาร จังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จนมีปริมาณความชื้นสุดท้ายไม่เกินร้อยละ 7 จากนั้นบดให้เป็นผงละเอียดโดยใช้เครื่องบดผสมความเร็วสูง (Philips รุ่น HR 2118/02, The Netherlands) บรรจุตัวอย่างแบบสุญญากาศในถุงอลูมิเนียมฟรอย์ทึบแสงแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะนำมาทำการทดลอง นำตัวอย่างผงแห้งที่ได้ไปสกัดไขมันออกด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ตามวิธีการของ Joopawang & Sompongse (2020)

2.2 การศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากดักแด้นอนใหม่

2.2.1 การสกัดโปรตีนจากดักแด้นอนใหม่

ผสมดักแด้นอนใหม่ที่ผ่านการสกัดไขมัน 30 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ 450 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างไป บั่นเหวี่ยง (Sigma รุ่น 6-16KS, Germany) ด้วยความเร็ว 3300 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใสและส่วนที่เป็นชั้นเจล แล้วทำการสกัดส่วนของแข็งด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ซ้ำอีกครั้ง รวมส่วนใสและส่วนที่เป็นเจลของการสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ทั้งสองครั้งเข้าด้วยกัน แบ่งใส่หลอดปั่นเหวี่ยงหลอดละ 10 มิลลิลิตร และปรับ pH ให้เป็น 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 2400 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้ววิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในส่วนใสที่แยกได้ เพื่อคัดเลือกค่า pH ที่ตกตะกอนโปรตีนได้ดีที่สุด และทำการสกัดโปรตีนจากดักแด้นอนใหม่โดยใช้ค่า pH ดังกล่าว จากนั้นแยกส่วนใสออกแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2400 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แฉะเยือกแข็งตะกอนโปรตีนที่ล้างแล้วข้ามคืน แล้วนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งให้ปริมาณความชื้นสุดท้ายน้อยกว่าร้อยละ 5 บรรจุในถุงพอลิเอทิลีนแล้วเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในส่วนใส

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในส่วนใสหลังจากตกตะกอนโปรตีนดักแด้นอนใหม่ด้วยค่า pH

ต่างๆ โดยใช้วิธีการของ Bradford (1976) ที่มีการดัดแปรบางส่วน โดยเตรียม Bradford reagent (For 0.1 – 1.4 mg/ml protein, BioRad, USA.) 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมส่วนใสที่ได้หลังจากการตกตะกอน 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้ววางไว้ในที่มืด 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร (Biochrom รุ่น Libra S6, UK.) เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานที่ใช้ Bovine Serum Albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน

2.3 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่

2.3.1 การวิเคราะห์ค่าสี (L^* a^* b^*)

วัดค่าสีโดยใช้เครื่อง Colorimeter (Hunterlab รุ่น ColorFlex CX2687, USA.) โดยบรรจุผงโปรตีนที่สกัดได้ลงในถ้วยใส่ตัวอย่าง ให้มีความสูงจากกันถ้วยประมาณ 2.5 มิลลิเมตร แล้วเกลี่ยให้ทั่ว อ่านค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเป็นสีแดง (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*)

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในผงโปรตีนสกัดโดยใช้วิธีการ Kjeldahl (AOAC, 1995) โดยใช้ Nitrogen conversion factor เท่ากับ 6.25

2.3.3 การวิเคราะห์การกระจายของขนาดอนุภาค

วิเคราะห์การกระจายตัวของขนาดอนุภาคโดยใช้เครื่อง Lazer Scattering Particle Size Distribution Analyzer (Horiba รุ่น LA950, Japan) วิเคราะห์ในหน่วยไมโครเมตร และแสดงผลออกมาในรูปของกราฟการกระจายตัวของขนาดอนุภาค

2.3.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโน

วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนตามวิธีการของ Sompongse, Morioka, & Itoh (2003) โดยชั่งน้ำหนักผงโปรตีน 0.008 กรัม ไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Amino acid analyzer (Hitachi รุ่น L-8500, Japan)

2.3.5 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (Solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีน ตามวิธีการของ Zhao, Vazquez-Gutierrez, Johansson, Landberg, & Langton (2016) ที่มีการดัดแปรบางส่วน โดยกระจายตัวอย่างโปรตีนสกัดในน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร แล้วปรับ pH เป็น 3, 4, 5, 7 และ 9 (โดยการเติม HCl 1 โมลาร์ หรือ NaOH 2.5 โมลาร์) จากนั้นคนสารแขวนลอยเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2600 g เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีของ Bradford (1976) ตามวิธีการในข้อ 2.2.2 และคำนวณดัชนีความสามารถในการละลายของโปรตีน (Protein Solubility Index: PSI) จากสูตร

$$\text{ความสามารถในการละลายของโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ละลาย}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด}} \times 100$$

2.3.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity)

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน ตามวิธีการของ Zhao, Vazquez-Gutierrez, Johansson, Landberg, & Langton (2016) โดยกระจายตัวอย่างโปรตีน 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และคนให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว

2600 g เป็นเวลา 15 นาที ชั่งน้ำหนักตะกอน และใช้น้ำหนักที่ต่างกันในการคำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำ รายงานผลในหน่วยของน้ำหนักเป็นกรัมของน้ำที่ถูกดูดซับต่อน้ำหนักเป็นกรัมของตัวอย่าง

2.3.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil holding capacity)

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน ตามวิธีการของ Zhao, Vazquez-Gutierrez, Johansson, Landberg, & Langton (2016) ที่มีการดัดแปรบางส่วน โดยผสมตัวอย่างโปรตีน 0.5 กรัม ในน้ำมันพืช 10 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 3 นาที ในเครื่องเขย่าสาร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2600 g เป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักตะกอน และใช้ความแตกต่างของน้ำหนักในการคำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำมัน รายงานผลในหน่วยของน้ำหนักเป็นกรัมของน้ำมันที่ถูกดูดซับต่อน้ำหนักเป็นกรัมของตัวอย่าง

2.3.8 การวิเคราะห์สมบัติด้านฟอง (Foaming properties)

วิเคราะห์ความสามารถในการทำให้เกิดฟอง (Foaming capacity) และความคงตัวของฟอง (Foaming stability) ตามวิธีการของ Zielinska, Karas, & Baraniak (2018) ที่มีการดัดแปรบางส่วน โดยผสมตัวอย่างโปรตีน 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (high speed homogenizer; Nissei รุ่น AM – 8, Japan) เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเคลื่อนย้ายฟองของตัวอย่างที่ได้ไปยังกระบอกตวง และอ่านปริมาตรของฟองที่เวลาเริ่มต้น และหลังจากผ่านไป 30 นาทีภายหลังการเกิดฟอง คำนวณความสามารถในการทำให้เกิดฟองและความคงตัวของฟองที่เกิดขึ้นจากสูตร

ความสามารถในการทำให้เกิดฟอง (ร้อยละ)

$$= [(V_0 - V)/V] \times 100$$

ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)

$$= (V_{30}/V_0) \times 100$$

เมื่อ V คือ ปริมาตรก่อนเกิดฟอง (มิลลิลิตร)

V_0 คือ ปริมาตรหลังเกิดฟอง (มิลลิลิตร)

V_{30} คือ ปริมาตรหลังตั้งทิ้งไว้ 30 นาที (มิลลิลิตร)

2.3.9 การวิเคราะห์สมบัติทางอิมัลชัน

(Emulsifying properties)

วิเคราะห์กิจกรรมทางอิมัลชัน (Emulsion activity) ของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม ตามวิธีการของ Zielinska, Karas, & Baraniak (2018) ที่มีการดัดแปรบางส่วน โดยเตรียมสารละลายโปรตีนโดยการกระจายตัวอย่างโปรตีนในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตร แล้วปรับ pH เป็น 3, 5, 7, 9 และ 11 (โดยการเติม HCl 1 โมลาร์ หรือ NaOH 2.5 โมลาร์) จากนั้นนำสารละลายโปรตีน 50 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำมันพืช 50 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 1 นาที

จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 g เป็นเวลา 5 นาที และอ่านปริมาตรของสารในแต่ละชั้นคำนวณความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันจากสูตร

$$\text{กิจกรรมทางอิมัลชัน (EA) (\%)} = (V_e/V) \times 100$$

เมื่อ V คือ ปริมาตรในหลอดทดลองทั้งหมด

V_e คือ ปริมาตรของส่วนที่เกิดอิมัลชัน

2.4 การวางแผนการทดลอง และการ

วิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Designs) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

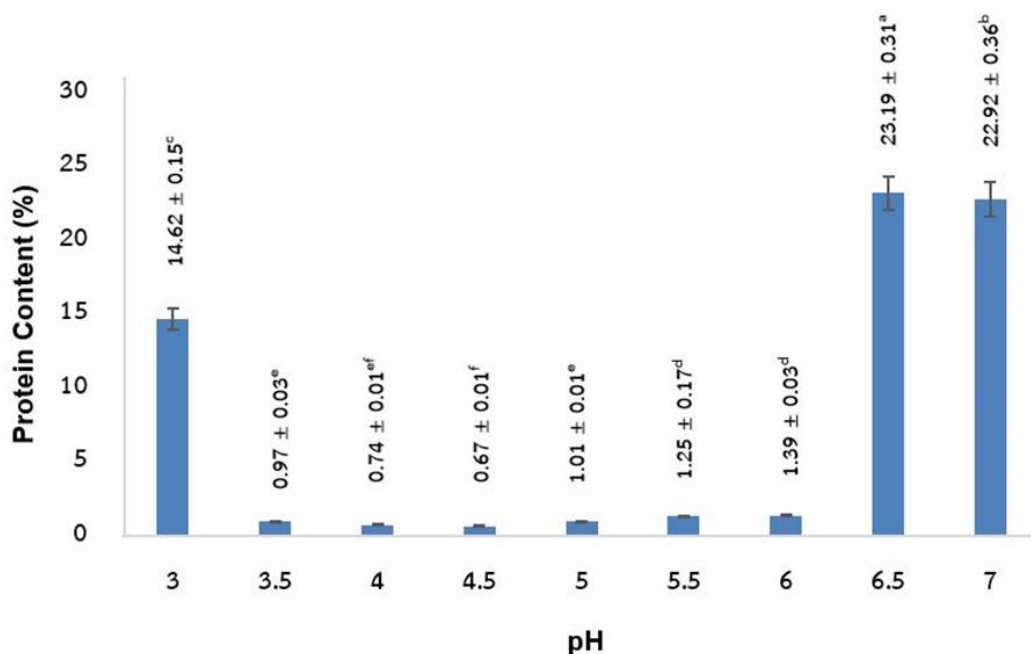


Figure 1 Protein content in supernatant from silkworm protein precipitation at varies pH

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากดักแด้นอนไหม

เมื่อนำดักแด้นอนไหมที่ผ่านการสกัดไขมันมาศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากดักแด้นอนไหม พบว่า เมื่อปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 4, 4.5 และ 5 โปรตีนจะเกิดการตกตะกอนออกมามาก โดยสังเกตเห็นสารละลายมีความขุ่นมากกว่าการปรับ pH ที่ค่าอื่นอย่างเห็นได้ชัด เมื่อนำส่วนใสที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนในส่วนใสที่ได้จากการตกตะกอนที่ pH 4.5 มีค่าน้อยที่สุด (Figure 1) แสดงว่าเป็นค่า pH ที่ทำให้เกิดตะกอนของโปรตีนมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่า pH ดังกล่าว

ในการตกตะกอนโปรตีนจากดักแด้นอนไหมในขั้นตอนต่อไป

3.2 สมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม

3.2.1 ค่าสีและปริมาณโปรตีน

โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมที่ได้ มีค่า L^* เท่ากับ 58.04 ± 0.47 ค่า a^* เท่ากับ 9.71 ± 1.31 และมีค่า b^* เท่ากับ 38.58 ± 1.28 ทำให้โปรตีนสกัดที่ได้มีสีออกเ็นทางโทนสีเหลืองส้ม และจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในผงโปรตีนที่สกัดได้จากดักแด้นอนไหม พบว่ามีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 50.37 ± 0.72 (Table 2) ซึ่งมากกว่าโปรตีนที่สกัดจากดักแด้นอนไหมที่ละลายน้ำได้ จากงานวิจัยของ Chatsuwana, Puechkamut, & Pinsirodom (2018) ที่มีปริมาณโปรตีนเพียงร้อยละ 6.04 เท่านั้น

Table 2 L^* , a^* , b^* and protein content of silkworm pupae protein

Sample	Hunter			Protein Content (%)
	L^*	a^*	b^*	
Silkworm pupae protein	58.04 ± 0.47	9.71 ± 1.31	38.58 ± 1.28	50.37 ± 0.72

Mean $\pm$ SD (n = 3)

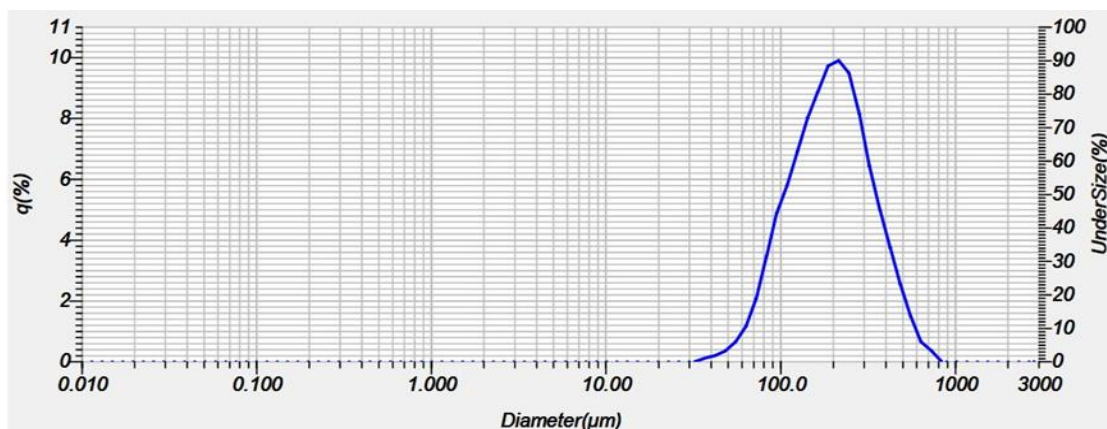


Figure 2 Size distribution of silkworm pupae protein

3.2.2 การกระจายตัวของขนาดอนุภาค

จาก Figure 2 แสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม ซึ่งจะเห็นได้ว่าอนุภาคของผงโปรตีนมีขนาดอยู่ในช่วง 30 ถึง 980 ไมโครเมตร และอนุภาคที่มีปริมาณมากที่สุด จะอยู่ในช่วง 200 ไมโครเมตร ทำให้เห็นว่าผงโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมมีขนาดอนุภาคที่หลากหลาย และไม่สม่ำเสมอ ซึ่งอาจส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมได้ เช่น เมื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ความไม่สม่ำเสมอของขนาดอนุภาคจะส่งผลต่อคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของอาหารได้

3.2.3 องค์ประกอบของกรดอะมิโน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม พบว่าโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม มีปริมาณกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้ว หรือกรดอะมิโนที่เป็นไฮโดรโฟบิกทั้งหมดเท่ากับ 438 หน่วยต่อ 1000 หน่วย ซึ่งทำให้โปรตีนดักแด้นอนไหมมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำค่อนข้างสูง ส่วนปริมาณกรดอะมิโนที่มีขั้ว หรือกรดอะมิโนที่เป็นไฮโดรฟิลิก เท่ากับ 425 หน่วยต่อ 1000 หน่วย โดยกรดอะมิโนที่มีปริมาณมากที่สุด ได้แก่ แอสพาราจีน และกลูตามีน (Table 3) ซึ่งกรดอะมิโนดังกล่าวอยู่ในกลุ่มที่ช่วยเพิ่มรสชาติและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหาร จึงสามารถนำไปเป็นสารปรุงแต่งในผลิตภัณฑ์อาหารได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับองค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมที่ละลายน้ำได้ Chatsuwan, Puechkamut, & Pinsirodom (2018) ที่พบกรดกลูตามิกในปริมาณสูงที่สุดเช่นกัน

3.2.4 ความสามารถในการละลาย

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม เทียบกับ

โปรตีนทางการค้า ได้แก่ เวย์โปรตีนเข้มข้น และไข่ขาวผง พบว่าโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม มีความสามารถในการละลายที่ต่ำที่สุด ในช่วง pH 4 – 5 (Figure 3) ซึ่งช่วงดังกล่าวเป็นช่วง pH เดียวกับค่าที่ได้ในการหา pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนดักแด้นอนไหม

Table 3 Amino acid composition of silkworm pupae protein

Amino acid	Residues/1000 Residues
Asp	136
Thr	51
Ser	62
Glu	122
Gly	70
Ala	70
Val	54
Cys	2
Met	27
Ile	39
Leu	80
Tyr	52
Phe	49
Lys	71
His	16
Arg	46
Pro	49
Total	1000
Non-Polar Amino Acids	438
Polar Amino Acids	425
Others Amino Acids	137

Mean from calculation per 1000 units (n = 3)

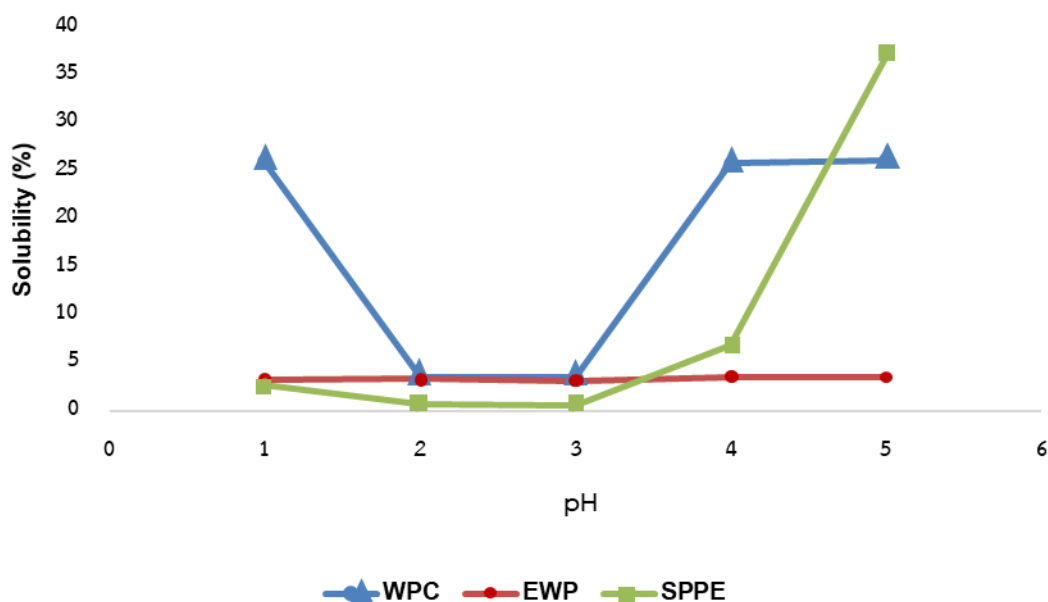


Figure 3 Solubility of silkworm pupae protein (SPPE), Whey protein concentrate (WPC) and egg white powder (EWP) at varies pH

ดังนั้น จุด pI ของโปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหม จึงอยู่ในช่วงดังกล่าว ซึ่งใกล้เคียงกับผลที่ได้จากงานวิจัยของ Chatsuwana, Puechkamut, & Pinsirodom (2018) ที่พบว่าความสามารถในการละลายที่ต่ำที่สุดของโปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมที่ละลายน้ำได้ อยู่ในช่วง pH 3 – 4 นอกจากนี้ Felix *et al.* (2020) รายงานค่าความสามารถในการละลายและค่าศักย์ซีต้าของโปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้น ซึ่งพบว่าโปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้นมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุดในช่วง pH 5 - 6 แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าศักย์ซีต้าที่บ่งบอกถึงประจุสุทธิบนโมเลกุลของสาร พบว่าที่ pH 4 โปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้นมีประจุสุทธิเท่ากับ 0 ดังนั้น หากพิจารณาจากประจุสุทธิบนโมเลกุลของโปรตีน จุด pI ของโปรตีนดักแด้หนอนไหมเข้มข้นจะอยู่ที่ pH 4 ซึ่งใกล้เคียงกับผลที่ได้ในงานวิจัยนี้ การที่ค่าที่ได้ไม่เท่ากัน อาจเกิดจากการใช้วิธีการและสารเคมี

ในการสกัดที่แตกต่างกัน รวมถึงวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Wang *et al.* (2011) ยังมีการรายงานประเภทของโปรตีนที่พบได้ในดักแด้หนอนไหม (*Bombyx mori* L.) ซึ่งประกอบไปด้วย albumin ร้อยละ 27.24, glutelin ร้อยละ 23.72, prolamin 11.82 และ globulin 4.21 ซึ่งการมีองค์ประกอบของโปรตีนประเภท glutelin และ prolamin ในปริมาณมาก อาจส่งผลให้โปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมมีความสามารถในการละลายที่ pH ที่เป็นกรด - กลาง ต่ำ แต่ในสภาวะที่เป็นเบส โปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมจะมีความสามารถในการละลายที่สูงขึ้น เนื่องจากโปรตีน glutelin และ prolamin ละลายได้ดีในสภาวะที่เป็นเบส ซึ่งจากผลที่ได้ในงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าเมื่อปรับค่า pH ของระบบให้มากกว่า 5 (Figure 3) โปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหม มีความสามารถในการละลาย

ที่เพิ่มสูงขึ้น และเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อปรับค่า pH ให้เท่ากับ 9 ดังนั้น ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย จึงสอดคล้องกับข้อมูลองค์ประกอบของประเภทของโปรตีนในดักแด้นอนไหม ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนที่สามารถละลายได้ดีในสภาวะที่เป็นเบสอยู่มาก (glutelin และ prolamin) ซึ่งหากจะนำโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมไปใช้เป็น ส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารอาจมีการปรับปรุงโดย

การย่อยด้วยเอนไซม์ทำเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต เพื่อให้มีความสามารถในการละลายได้ดีในช่วง pH ที่ต่ำกว่านี้ จึงจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้สะดวกมากขึ้น เช่น เวียโปรตีนเข้มข้นที่มีความสามารถในการละลายที่ดีในช่วง pH 3-4 และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความหลากหลายมากขึ้น

Table 4 Water holding capacity and oil holding capacity of silkworm pupae protein, whey protein concentrate and egg white powder.

Samples	Water Holding Capacity (ml/g.protein)	Oil Holding Capacity ^{ns} (ml/g.protein)
Whey protein concentrate	0.14 ^b ± 0.01	2.26 ± 0.42
Egg white powder	ND	2.30 ± 0.78
Silkworm pupae protein	1.72 ^a ± 0.141	2.03 ± 0.32

Mean ± SD (n = 3); ns = non-significant difference (p > 0.05), ND = Cannot determine.

Table 5 Foaming properties of silkworm pupae protein, whey protein concentrate and egg white powder

Samples	Foaming Capability (%)	Foam Stability (%)
Whey protein concentrate	55.00 ^b ± 5.77	89.70 ^c ± 3.39
Egg white powder	74.17 ^a ± 3.63	76.25 ^b ± 0.52
Silkworm pupae protein	6.67 ^c ± 2.83	96.37 ^a ± 1.77

Mean ± SD (n = 3); ^{a, b, c} Different superscripts in the same column indicate significant differences (p < 0.05)

3.2.5 ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมัน

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมัน ของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม เทียบกับเวียโปรตีนและไข่ขาวผง พบว่าโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม มีความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 1.72 ± 0.141 มิลลิลิตรต่อกรัมของโปรตีน ซึ่งมากกว่าเวียโปรตีนเข้มข้น (0.14 ± 0.01) ส่วน

ความสามารถในการอุ้มน้ำมันของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม เท่ากับ 2.03 ± 0.32 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับโปรตีนทางการค้าทั้งสองชนิด (p > 0.05) (Table 4) โดยโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม มีความสามารถในการอุ้มน้ำมันที่สูงกว่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ซึ่งอาจเกิดจากการมี

ปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นไฮโดรโฟบิกมากกว่า (438 หน่วยต่อ 1000 หน่วย)

ในส่วน ของไข่ขาวผง ไม่สามารถหาค่าความสามารถในการอ้วนน้ำได้ เนื่องจากในระหว่างการผสมผงไข่ขาวกับน้ำ ไข่ขาวจะเกิดเป็นโฟม เมื่อนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงและแยกส่วนใส่ออก ส่วนที่เป็นโฟมจะถูกแยกออกไปด้วย ดังนั้นน้ำหนักของตะกอนภายหลังกการแยกส่วนใส่ออกจึงมีค่าน้อยกว่าน้ำหนักของผง ไข่ขาวเริ่มต้น จึงไม่สามารถคำนวณค่าความสามารถในการอ้วนน้ำได้

3.2.6 สมบัติด้านฟอง

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการทำให้เกิดโฟมและความคงตัวของโฟมที่เกิดขึ้นของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหม เทียบกับเวย์โปรตีนและไข่ขาวผง พบว่า โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมมีความสามารถในการทำให้เกิดโฟมเท่ากับร้อยละ 6.67 ± 2.83 (Table 5) ซึ่งมีค่าต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับเวย์โปรตีน

เข้มข้น (55.00 ± 5.77) และไข่ขาวผง (74.17 ± 3.63) เช่นเดียวกับในการศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโฟมของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมที่ละลายน้ำได้ ที่มีร้อยละความสามารถในการทำให้เกิดโฟมเพียง 9.29 ± 1.01 (Chatsuwan, Puechkamut, & Pinsirodom, 2018) ซึ่งอาจเกิดจากการที่โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนไหมมีขนาดอนุภาคที่ไม่สม่ำเสมอ (Figure 3) ส่งผลให้การเคลื่อนที่ไปล้อมรอบฟองอากาศทำได้ไม่ดี อีกทั้งขนาดอนุภาคที่ไม่สม่ำเสมอ ยังทำให้เกิดการยุบตัวของโครงสร้างฟิล์มโปรตีนได้ง่าย (Chatsuwan, Puechkamut, & Pinsirodom, 2018) นอกจากนั้นค่าที่ได้ยังใกล้เคียงกับในการศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโฟมของผงโปรตีนจากแมลงชนิดอื่นซึ่ง Omotoso (2006) วัดค่าร้อยละความสามารถในการทำให้เกิดโฟมของโปรตีนจากหนอนผีเสื้อกลางคืนจักรพรรดิ (*Cirina forda*) ได้เพียง ร้อยละ 7.1 ± 0.20 เท่านั้น

Table 6 Emulsion activity of silkworm pupae protein, whey protein concentrate and egg white protein at varies pH value

Samples	Emulsion Activity (%)				
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9	pH 11
Whey protein	$50.56^{b,A} \pm 1.73$	$56.11^{a,A} \pm 2.41$	$49.86^{b,A} \pm 2.84$	$51.53^{b,A} \pm 1.68$	$48.61^{b,B} \pm 3.47$
Egg white	$55.97^{ab,A} \pm 4.68$	$57.22^{a,A} \pm 2.68$	$55.56^{ab,A} \pm 2.41$	$52.78^{b,A} \pm 0.48$	$55.83^{b,A} \pm 1.44$
Silkworm pupae protein	Cannot form emulsion	Cannot form emulsion	Cannot form emulsion	$53.61^{a,A} \pm 1.73$	$54.44^{a,A} \pm 3.76$

Mean $\pm$ SD (n = 3)

A, B, C Different superscripts in the same column indicate significant differences (p $\leq$ 0.05).

a, b, c Different superscripts in the same row indicate significant differences (p $\leq$ 0.05).

ในส่วนของความคงตัวของโฟมที่เกิดขึ้น จาก Table 5 พบว่าโฟมที่เกิดขึ้นจากการใช้โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่ มีความคงตัวเท่ากับร้อยละ 96.37 ± 1.77 ซึ่งสูงกว่าโฟมที่เกิดจากการใช้เวย์โปรตีนเข้มข้น (89.70 ± 3.39) และไข่ขาวผง (76.25 ± 0.52) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การที่โฟมที่เกิดขึ้นจากการใช้โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่มีความคงตัวสูง อาจเกิดจากการมีกรดอะมิโนที่มีซัลฟิโดและไม่มีซัลฟิโดในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน (Table 3) จึงสามารถช่วยเพิ่มอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโปรตีน ที่จะช่วยเพิ่มการยึดเกาะกันตามธรรมชาติของฟิล์มโปรตีนที่ล้อมรอบฟองอากาศอยู่ จึงช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นและความคงตัวของผิวฟิล์มได้ (Johnson & Zabik, 1981)

3.2.7 สมบัติทางอิมัลชัน

จากการวิเคราะห์กิจกรรมทางอิมัลชันของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่ พบว่า ที่ค่า pH 3, 5 และ 7 โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่ ไม่สามารถทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างน้ำและน้ำมันได้ (Table 6) เนื่องจากค่า pH ดังกล่าว เป็นค่าที่ใกล้เคียงกับค่า pI ของโปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่ (pI เท่ากับ 4.5) เช่นเดียวกันกับผลที่ได้จากงานวิจัยของ Biasutti, Vieira & Capobianco (2007) ที่พบว่าโปรตีนเคซีนที่ปรับค่า pH ให้ใกล้เคียงกับค่า pI มีความสามารถในการละลายที่ต่ำและมีความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันที่ต่ำด้วย เนื่องจากค่า pH ที่ใกล้เคียงกับค่า pI ของโปรตีนทำให้โปรตีนมีความสามารถในการละลายและการกระจายตัวที่ต่ำ จึงไม่สามารถแพร่ไปยังพื้นผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมันได้อย่างเพียงพอ ทำให้ความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันต่ำตามไปด้วย แต่เมื่อเพิ่ม pH ของสารละลายโปรตีนให้เท่ากับ 9 และ 11 โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่สามารถทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างน้ำและน้ำมันได้ (ค่ากิจกรรมทางอิมัลชัน เท่ากับ 53.61 ± 1.73 และ

54.44 ± 3.76 ตามลำดับ) ซึ่งอาจเกิดจากการที่ในช่วง pH ดังกล่าว โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่มีความสามารถในการละลายสูง (Figure 3) ซึ่งเมื่อโมเลกุลของโปรตีนเกิดการละลายได้ดี จะมีขนาดอนุภาคที่เล็กลงและมีความสามารถในการกระจายตัวที่ดีตามไปด้วย เช่นเดียวกันกับในงานวิจัยของ Zhao, Vazquez- Gutierrez, Johansson, Landberg, & Langton (2016) ที่วิเคราะห์ผลของ pH ต่อสมบัติทางวิทยากระแสของโปรตีนสกัดจากหนอนนก (*Tenebrio molitor*) ซึ่งพบว่า ที่ pH ที่เป็นเบส โปรตีนสกัดจากหนอนนกเกิดการคลายตัวและมีขนาดอนุภาคเล็กลง รวมถึงมีค่า Storage modulus (G') ของการกระจายตัวสูงกว่าที่ pH ที่เป็นกลาง 2-3 เท่า นอกจากนั้นการที่ระบบโปรตีนที่มีค่า pH อยู่ในช่วงที่เป็นเบส โมเลกุลของโปรตีนดักแด้นอนใหม่เข้มข้น ยังมีขนาดเล็กกว่าในสภาวะที่เป็นกรด ส่งผลให้โมเลกุลของโปรตีนมีความสามารถในการแพร่กระจายและถูกดูดซับไปยังบริเวณพื้นผิวรอยต่อ ได้รวดเร็วกว่าที่ pH ในช่วงที่เป็นกรด - กลาง (Felix *et al.*, 2020) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวถือเป็นสิ่งสำคัญที่จะส่งผลต่อความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันของระบบโปรตีน (Kinsella, 1982)

เมื่อพิจารณาค่ากิจกรรมทางอิมัลชันของโปรตีนทั้งสามชนิด พบว่า ที่ pH 9 โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่ มีค่ากิจกรรมทางอิมัลชันไม่แตกต่างจากเวย์โปรตีนเข้มข้นและไข่ขาวผงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อปรับ pH ให้เท่ากับ 11 โปรตีนสกัดจากดักแด้นอนใหม่ มีค่ากิจกรรมทางอิมัลชันสูงกว่าเวย์โปรตีนเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (Table 6) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับไข่ขาวผง

4. สรุป

ค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนจากดักแด้หนอนไหม คือ pH 4.5 เมื่อนำไปศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่เปรียบเทียบกับโปรตีนทางการค้าสองชนิด ได้แก่ เวย์โปรตีนเข้มข้นและไข่ขาวผงพบว่าโปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมมีความสามารถในการทำให้เกิดโฟมต่ำกว่าเวย์โปรตีนเข้มข้นและไข่ขาวผง แต่มีความคงตัวของโฟมที่เกิดขึ้นสูงกว่าโปรตีนทางการค้าทั้งสองชนิดและเมื่อปรับ pH ของระบบโปรตีนดักแด้หนอนไหมให้อยู่ในสภาวะที่เป็นเบส โปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมจะมีความสามารถในการละลายและสมบัติในการทำให้เกิดอิมัลชันที่ดี แต่เมื่อสารละลายโปรตีนอยู่ในสภาวะที่เป็นกรด (pH 3 - 5) เวย์โปรตีนและไข่ขาวผง สามารถแสดงความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันได้ ในขณะที่โปรตีนสกัดจากดักแด้หนอนไหมมีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง pH 4 แต่ยังไม่แสดงความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชันได้ ซึ่งอาจเกิดจากการที่โปรตีนดักแด้หนอนไหมในสารละลาย ณ ค่า pH ดังกล่าว ยังมีการคลายตัวที่ไม่มากพอที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดอิมัลชันได้ การนำโปรตีนดักแด้หนอนไหมไปผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต จะช่วยพัฒนาสมบัติเชิงหน้าที่โดยเฉพาะความสามารถในการละลายให้ดีขึ้น เพื่อจะได้นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างสะดวกและใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ที่มีหลากหลายมากขึ้น

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และทุนบัณฑิตเรียนดีประจำปี 2561 ตามสัญญาเลขที่ 19/2561

6. References

- AOAC. (1995). Official Methods of Association of Official Analytical Chemist. 16th edition, Washington DC: Association of Analytical Chemist.
- Armstrong, W. D. (2009). Global demand for animal protein and its implications for the feed industry. Swine Nutrition Conference, 10th September, 2009. Indiana, USA.
- Biasutti, R. A. E., Vieira, R. C. & Capobianco, M. (2007). Study of some functional properties of casein: Effect of pH and tryptic hydrolysis. *International Journal of Food Properties*, 10(1), 173 – 183.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Chatsuwan, N., Puechkamut, Y. & Pinsirodom, P. (2018). Characterization, Functionality and Antioxidant activity of water- soluble protein extracted from *Bombyx mori* Linn. *Current Applied Science and Technology*, 18, 83–96.
- Felix, M., Bascon, C., Cermenio, M., FitzGerald, J. R., Fuente, de la J. & Carrera-Sanchez, C., (2020). Interfacial/foaming properties and antioxidant activity of silkworm (*Bombyx mori*) pupae protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, 103, 1–10.
- Johnson, T. M. & Zabik, M. E. (1981). Ultrastructural examination of egg albumen

- protein foams, *Journal of Food Science*, 46, 1237-1240.
- Joopawang, P. & Sompongse, W. (2020). Effect of Pressure and Temperature on Fat Removal of Silkworm Pupae (*Bombyx mori* L.) by Supercritical Carbon Dioxide Extraction. Proceeding of The 22nd Food Innovation Asia Conference 2020 (FIAC 2020), 18-19th June 2020, pp.83 – 89. BITEC, Thailand.
- Kim, H. W., Setyabrata, D. Lee, Y. J., Jones, O. G. & Kim, B. H. Y. (2016) Pre-treated mealworm larvae and silkworm pupae as a novel protein ingredient in emulsion sausage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38, 116–123.
- Kinsella, J. E. (1982). Protein structure and functional properties: Emulsion and flavor binding effect, In *Food Protein Deterioration*, Washington, DC: American Chemical Society, pp.301–306.
- Omotoso, O. T. (2006). Nutritional quality, functional properties and antinutrient compositions of the larva of *Cirina forda* (Westwood) (*Lepidoptera: Saturniidae*). *Journal of Zhejiang University Science*, B7, 51–55.
- Osasona, A. I. & Olaofe, O. (2010). Nutritional and functional properties of *Cirina forda* larva from Ado- Ekiti, Nigeria. *African Journal of Food Science*, 4, 775–777.
- Rumpold, B. A. & Schluter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insect. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(5), 802–823.
- Sompongse, W., Morioka, K. & Itoh, Y. (2003) Comparison of Amino Acid Composition among Various Surimis and Washed Meats. *Research Reports of Kochi University, Agriculture*, 52, 33–38.
- Wang, W., Wang, N., Zhou, Y., Zhang, Y., Xu, L., Xu, J., Feng, F. & He, G. (2011). Isolation of a novel peptide from silkworm pupae protein components and interaction characteristics to angiotensin I-converting enzyme. *European Food Research and Technology*, 232, 29–38.
- Wu, Q. Y., Jia, J. Q., Tan, G. X., Xu, J. L. & Gui, Z. Z. (2011). Physicochemical properties of silkworm larvae protein isolate and gastrointestinal hydrolysate bioactivities. *African Journal of Biotechnology*, 10, 6145–6153.
- Yi, L., Lakemond, C. M. M., Sagis, L. M. C., Eisner-Schadler, V., Van Huis, A. & Van Boekel, M. A. J. S. (2013). Extraction and characterization of protein fractions from five insect species, *Food Chemistry*, 14, 3341–3348.
- Zhao, X., Vazquez-Gutierrez, J. L., Johansson, P. D., Landberg, R. & Langton, M. (2016). Yellow mealworm protein for food purposes - extraction and functional properties, *PIOS One*, 11(2), e0147791.
- Zielinska, E., Karas, M. & Baraniak, B. (2018). Comparison of functional properties of edible insects and protein preparation thereof. *LWT – Food Science and Technology*, 91, 168–174.

