สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนากระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกกุ้งโดยการใช้เอนไซม์และกรดแลกติก

Development of Chitin Production by Enzyme and Lactic Acid

ธงชัย พุฒทองศิริ

RCH
ธ 1170
2555

หมู่.....
เลขทะเบียน 138243
วันเดือนปี - 5 ต.ค. 2558

.b 12709864
.i

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก เงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การพัฒนากระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกกุ้งโดยการใช้เอนไซม์และกรดแลกติก
แหล่งเงิน เงินรายได้
ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 30,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี 6 เดือน ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555
หัวหน้าโครงการ นาย ธงชัย พุฒทองศิริ
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนเพื่อผลิตไคตินด้วยวิธีการทางชีวภาพ โดยใช้เทคนิค Response surface methodology วางแผนการทดลองแบบ central composite design ซึ่งการกำจัดแร่ธาตุด้วยสารละลายกรดแลกติกเข้มข้น 1% ปัจจัยศึกษา คือ อัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อสารละลายกรดแลกติก และเวลา พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คืออัตราส่วน 1: 10 ใช้เวลาในการหมัก 3 วัน มีการกำจัดแร่ธาตุเท่ากับ 81.39% ส่วนการกำจัดแร่ธาตุด้วยโยเกิร์ต ปัจจัยศึกษา คือ ความเข้มข้นของโยเกิร์ต,อัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อโยเกิร์ต และระยะเวลา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ โยเกิร์ต 10% อัตราส่วน 1: 20 ใช้เวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง มีการกำจัดแร่ธาตุเท่ากับ 91.88% และการกำจัดโปรตีนด้วยเอนไซม์โบรมีเลน ปัจจัยในการศึกษา คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน และเวลา พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.66% ใช้เวลา 30 นาที มีการกำจัดโปรตีนเท่ากับ 49.00% ส่วนการกำจัดโปรตีนด้วยน้ำคั้นเปลือกสับปะรดที่มีความเข้มข้น 10% มีปัจจัยศึกษา คือ เวลา และอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อน้ำสับปะรด พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้เวลาในการหมัก 12 วัน ที่อัตราส่วน 1:10 มีการกำจัดโปรตีนเท่ากับ 96.58 %

คำสำคัญ: ไคติน การกำจัดแร่ธาตุ การกำจัดโปรตีน กรดแลกติก เอนไซม์โบมิเลน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Development of chitin production by enzyme and lactic acid

Researcher: Tongchai Puttongsiri

Faculty: of Agro-Industry **Department:** Food science

ABSTRACT

Optimum conditions for demineralization and deproteination from shrimp shells by lactic acid and bromelain was studied. Response surface methodology and central composite design (CCD) were applied in order to determine the optimal condition. The response effect of ratio of shrimp to 1% of lactic acid (1:10-1:30) and soaking time (3-7 days) on demineralization were investigated. The optimize conditions for demineralization was found to be ratio 1:30 and soaking time for 3 days, which value of demineralization of 81.40%. The effect of concentration of bromilain (0-2%) and soaking time (30-90 min) on deproteination were investigated. The optimize conditions for deproteination was found to be 0.66% bromilain and soaking time for 30 min, which value of deproteination of 49.00%. The optimize conditions for deproteination by pineapple peel extract 10% was to be ratio 1:10 and soaking time for 12 days, which value of demineralization of 96.58 %.

Keyword: chitin, demineralization, deproteinization, lactic acid, bromelain

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับการอนุเคราะห์และสนับสนุนจากหลายฝ่ายตลอดมา ทางผู้วิจัยขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ของคณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้คำปรึกษาด้านวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ให้บริการอุปกรณ์และเครื่องมือตลอดการทำวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

ธงชัย พุฒทองศิริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ไคติน	3
2.2 การผลิตไคติน	4
2.3 การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกในอุตสาหกรรมอาหาร	4
2.4 กรดแลคติก	6
2.5 เอนไซม์โบรมีเลน	7
2.6 วิธีการพื้นผิวตอบสนอง	8
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	15
3.1 วัตถุดิบ	15
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	15
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์	16
3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการวิจัย	18
4.1 ศึกษาสภาวะการจำกัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้กรดแลคติก	18
4.2 ศึกษาสภาวะการกำจัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้โยเกิร์ต	22
4.3 ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์ โบรมีเลน	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4 ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เปลือกสับปะรด..... 32

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 36

5.1 สรุปผลการทดลอง..... 36

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 36

บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย..... 37

บรรณานุกรม..... 38

ภาคผนวก..... 40

ก วิธีการวิเคราะห์..... 40

ข สูตรที่ใช้คำนวณ..... 44

ค. สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย..... 45

ง. รายละเอียดผลผลิตงานวิจัยที่ผลิตได้..... 46

ประวัติผู้วิจัย..... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ความสัมพันธ์ของค่า Desirability กับระดับความพึงพอใจและคุณภาพของผลิตภัณฑ์	12
4.1	การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก	18
4.2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก	20
4.3	สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก	21
4.4	การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต	22
4.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต	24
4.6	สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต	27
4.7	การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน	28
4.8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน	29
4.9	สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่โปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน	31
4.10	การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เปลือกสับปะรด	32
4.11	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรด	33
4.12	สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่โปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรด	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส และไคติน.....	3
2.2	แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่าง ๆ.....	5
2.3	โครงสร้างกรดแลคติก.....	6
4.1	ผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้น 1%.....	21
4.2	ผลของเปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตและเวลา เมื่อใช้อัตราส่วน 1:20.....	25
4.3	ผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้โยเกิร์ต 15%.....	26
4.4	ผลของเปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตและอัตราส่วน เมื่อเวลา 120 ชั่วโมง.....	26
4.5	ผลของเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน เมื่อใช้อัตราส่วน1:6.....	30
4.6	ผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด 10%.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ประเทศไทยมีการเลี้ยงกุ้งและส่งออกกุ้งในรูปแบบต่าง ๆ เช่น กุ้งสดแช่แข็ง กุ้งชุบแป้งทอด กุ้งกระป๋อง เป็นต้น ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งมักมีหัว และเปลือกกุ้งเป็นส่วนที่เหลือทิ้งเสมอ ซึ่งส่วนที่เหลือทิ้งจะคิดเป็นประมาณ 50% ของกุ้งทั้งตัว จะเห็นว่าของเสียจากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งมีของเสียเป็นจำนวนมาก ที่ผ่านมามีงานวิจัยที่ต้องการนำของเสียที่เกิดขึ้นมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น การสกัดโปรตีนจากหัวกุ้ง และการนำเปลือกกุ้งมาสกัดเป็นไคติน และไคโตซาน เป็นต้น โดยเฉพาะไคโตซานซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์หลากหลาย มีการนำมาใช้ในด้านการเกษตรเพื่อควบคุมศัตรูพืช ยับยั้งและสร้างความต้านทานโรคให้กับพืช การยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคพืช เช่น เชื้อไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิด ใช้เป็นฮอร์โมนพืช ยังสามารถใช้ในด้านอาหาร เช่น นำมาทำฟิล์มถนอมอาหารที่สามารถรับประทานได้ โดยการทำให้เป็นแผ่นฟิล์มที่ป้องกันการซึมผ่านของน้ำและก๊าซต่างๆ และความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ประกอบกับเป็นสารที่มาจากธรรมชาติ ไม่ก่อภูมิแพ้และปลอดภัยต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมตลอดจนสามารถเติมสารที่มีประโยชน์ เช่น วิตามินและเกลือแร่ต่าง ๆ ลงในแผ่นฟิล์มได้ ใช้เสริมใยอาหารธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้ง ใช้เพิ่มความเหนียวแน่นให้กับผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ ใช้เพิ่มกลิ่นรสให้ดีขึ้นกับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ไคโตซานจึงได้รับความสนใจอย่างมากในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการบรรจุหีบห่อหรือเคลือบผลิตภัณฑ์อาหารที่เกิดการเน่าเสียได้ง่าย เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารและเครื่องดื่มต่างๆ เช่น ผัก ผลไม้ เนยแข็ง และขนมปัง

ขั้นตอนการผลิตไคตินที่สำคัญประกอบด้วย กระบวนการกำจัดโปรตีน และเกลือแร่ โดยกระบวนการกำจัดโปรตีนจะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ และการกำจัดเกลือแร่และแร่ธาตุต่าง ๆ ใช้กรดไฮโดรคลอริก จะเห็นได้ว่ากระบวนการผลิตไคโตซานที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเป็นกระบวนการที่ค่อนข้างรุนแรง และอาจเกิดผลเสียกับสิ่งแวดล้อมได้ถ้าไม่มีการจัดการที่ดีพอ

ดังนั้นการศึกษาเพื่อหาวิธีการกำจัดโปรตีน และเกลือแร่ ออกจากเปลือกกุ้งด้วยวิธีการอื่นโดยไม่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดไฮโดรคลอริก เพื่อผลิตไคตินที่สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ เป็นสิ่งที่น่าสนใจ นอกจากนั้นยังเป็นผลดีกับสิ่งแวดล้อมด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตไคตินโดยไม่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดไฮโดรคลอริก
2. ศึกษาการใช้เอนไซม์และกรดแลกติกในการผลิตไคติน

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

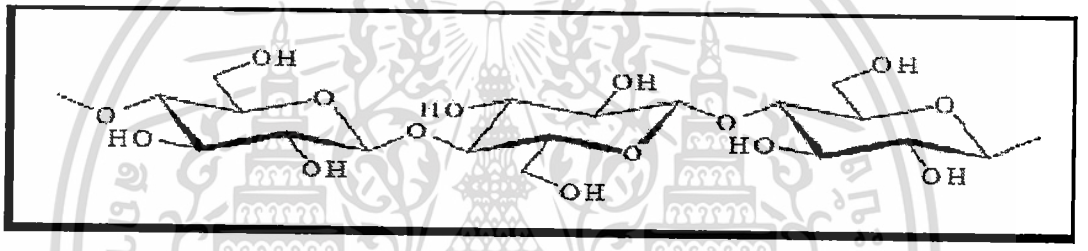
เป็นการศึกษาเพื่อใช้กรดแลกติกในการกำจัดเกลือแร่ และใช้เปลือกสับปะรดในการกำจัดโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งเพื่อให้ได้ไคติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

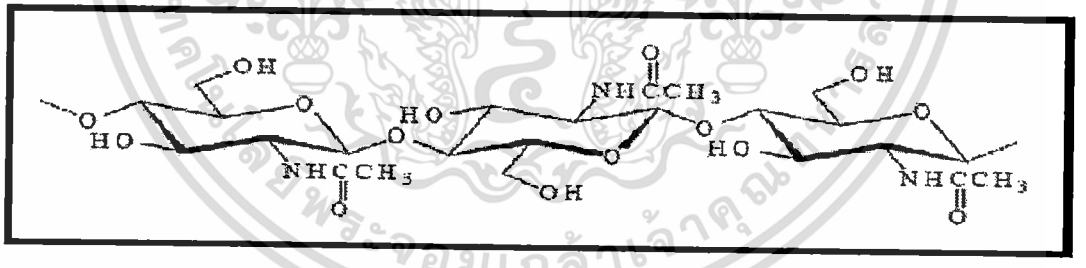
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไคติน

ไคติน มีชื่อทางเคมีว่า Poly [β-(1→4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose] เป็นสารชีวภาพที่มีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลส แต่จะต่างกันที่ตำแหน่ง C-2 โดยเซลลูโลสจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ส่วนไคตินจะประกอบด้วยหมู่อะซิทามิโด (acetamido group) ไคตินไม่สามารถละลายในตัวทำละลายมีขั้วและไม่มีขั้ว โดยทั่วไปมักพบไคตินในผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เห็ด รา รวมทั้งเปลือกของแมลงและสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังประเภทมีข้อและปล้อง อาทิ กุ้ง ปู และแกนปลาหมึก



(ก)โครงสร้างของเซลลูโลส



(ข) โครงสร้างของไคติน

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส และไคติน
ที่มา : ดัดแปลงจากศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การผลิตไคติน

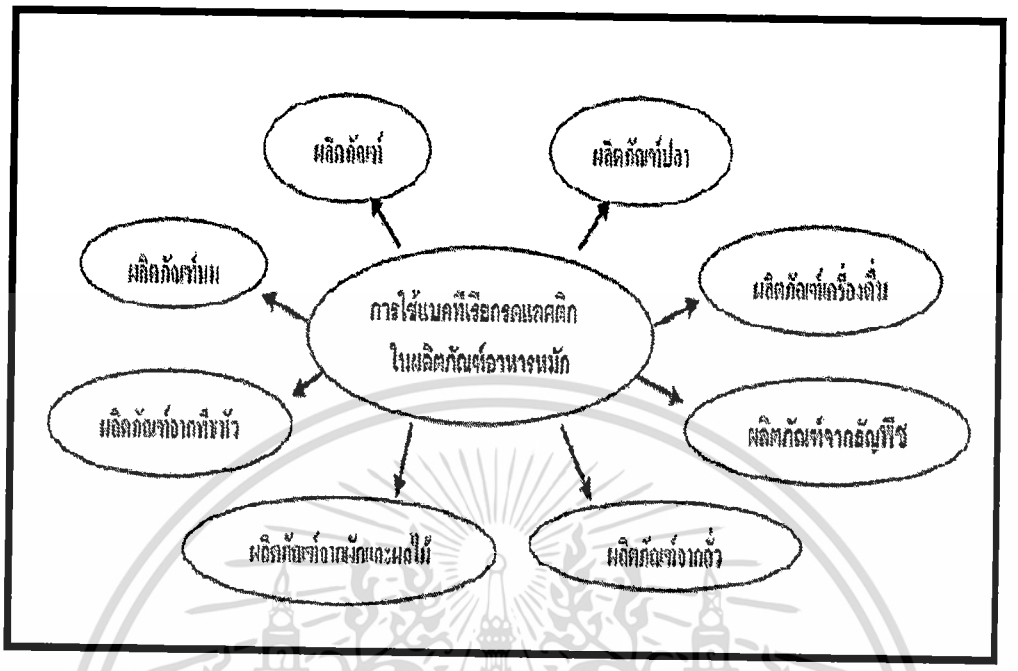
ในปัจจุบันสารไคตินที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตมาจากเปลือกที่เหลือทิ้งของสัตว์จำพวกกุ้ง และปู เป็นหลัก โดยทั่วไปสัตว์จำพวกนี้มีสารไคตินเป็นองค์ประกอบอยู่ตั้งแต่ 2-12% ของมวลร่างกายทั้งหมด ปริมาณดังกล่าวขึ้นอยู่กับสภาวะของการลอกเปลือกในขบวนการผลิต ภาวะทางโภชนาการและระยะการเจริญพันธุ์ของสัตว์น้ำ

กระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกของสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (Crustacean shell waste) มีขั้นตอนพื้นฐานอยู่ 3 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 การแยกโปรตีน (deproteinization) ขั้นตอนที่ 2 การแยกแร่ธาตุ (demineralization) และขั้นตอนที่ 3 การแยกเม็ดสี (decoloration) ซึ่งขั้นตอนที่ 1 และ 2 สามารถสลับลำดับก่อนหลังได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตไคตินที่ต้องการนำโปรตีนที่สกัดได้กลับมาใช้ประโยชน์ จำเป็นจะต้องเริ่มจากขั้นตอนการแยกโปรตีนออกจากเปลือกของสัตว์เหล่านี้ก่อนขั้นตอนการแยกแร่ธาตุ เนื่องจากโปรตีนที่ได้จะมีปริมาณและคุณภาพที่ดีกว่า ขั้นตอนการแยกโปรตีน (Deproteination) โดยทั่วไป เปลือก-หัวกุ้ง กระดองปูและแกนปลาหมึกมักจะถูกนำมาบดก่อนนำมาแยกเอาโปรตีนออก ซึ่งขั้นตอน การแยกโปรตีนนี้มักใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1-10% และอุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 65-100°C นอกจากนี้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (reaction time) ขึ้นอยู่กับวิธีและสภาวะที่ใช้ในการสกัดโปรตีน อย่างไรก็ตาม หากปล่อยให้กากเหล่านี้ทำปฏิกิริยานานเกินไปในสภาวะรุนแรงจะทำให้สายโซ่ของไคตินถูกตัด (depolymerization) และยังเกิดปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิลด้วย นอกจากนี้อัตราส่วนของกากเหล่านี้ต่อสารละลายด่าง ตั้งแต่ 1 ต่อ 10 ขึ้นไป สามารถเกิดปฏิกิริยาได้อย่างทั่วถึง (uniformity) แต่ต้องอาศัยการกวนอย่างสม่ำเสมอ (No และ Meyers, 1997)

2.3 การใช้แบคทีเรียกรดแลกติกในอุตสาหกรรมอาหาร

สมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ของแบคทีเรียแลคติก (LAB) ผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดที่ได้จากการหมักกรดแลคติก เช่น นมเปรี้ยว ผัก – ผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์เนื้อและอาหารทะเลหมัก สามารถเก็บไว้ได้นานและปลอดภัยเมื่อนำไปบริโภค ทั้งนี้เป็นเพราะ LAB มีสมบัติยับยั้ง จุลินทรีย์ ดังนี้ ทำให้ pH ของอาหารลดลง เกิดกรดอินทรีย์ เกิดแบคทีริโอซินส์ เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เกิดเอทานอล (ศศิวิมล และ อดิศร, 2548) โดยตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้แบคทีเรียกรดแลกติกแสดงไว้ในภาพที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่าง ๆ
ที่มา : ปิ่นมณี (2546)

2.3.1 ประเภทของการหมักด้วย lactic acid bacteria

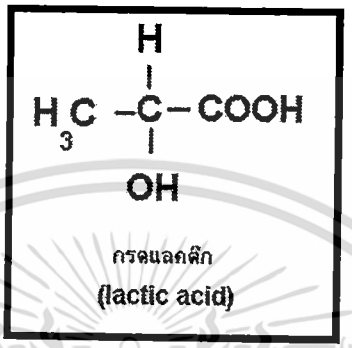
2.3.1.1 Homofermentation เป็นการหมัก ด้วยแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลแล้วให้กรดแลคติกเพียงอย่าง เดียว สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 85-95% เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ส่วนน้ำตาลที่เหลืออาจใช้เพื่อให้พลังงานและสารระเหยอื่น ๆ ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้เช่น *Streptococcus Pediococcus*

2.3.1.2 Heterofermentation เป็นการหมักที่ใช้น้ำตาลประมาณ 50% ให้เป็นกรดแลคติก น้ำตาลที่เหลืออีกประมาณ 20 - 25 % ให้เป็นกรดอะซิติก และเอทิลแอลกอฮอล์ที่เหลืออีก 20-25% ใช้ใการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตัวอย่าง เช่น *Leuconoctoc*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 กรดแลคติก (lactic acid)

กรดแลคติก (lactic acid) เป็น กรดอินทรีย์ (organic acid) ชนิดหนึ่ง มีสูตรโมเลกุลคือ $C_3H_6O_3$ อาจเรียกว่า 2-Hydroxy propionic acid หรือ 1-Hydroxyethane-1-carboxylic acid ดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างกรดแลคติก
ที่มา : Belitz *et al*., 2009

2.4.1 การใช้ประโยชน์กรดแลคติก

2.4.1.1 แยม ฟิลลิ่ง (filling) มาร์มาเลด (marmalade) โดยทำหน้าที่เป็น Gelatinizing salt แทน Low methoxy pectin และ แอลจิเนต (alginate)

2.4.1.2 เป็นสารเพิ่มความคงตัว (Firming agent) ในผลิตภัณฑ์ผัก ผลไม้กระป๋อง หรือบรรจุขวดเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสเมื่อผ่านกระบวนการผลิต

2.4.1.3 ในผลิตภัณฑ์เนื้อ (Meat product) โดยใช้ร่วมกับโซเดียมแอลจิเนต ช่วยเพิ่มคุณสมบัติการเป็น binding และช่วยลดเปอร์เซ็นต์ cooking loss ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยไม่กระทบต่อ ความชุ่มน้ำ กลิ่นรส ของผลิตภัณฑ์เนื้อ

2.4.1.4 สามารถใช้ใน Liver sausage เพื่อป้องกันเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดีกว่าแคลเซียมฟอสเฟต (Calcium phosphate) แคลเซียมซิเตรท (Calcium citrate) แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride)

2.4.1.5 สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ โดยใช้ทดแทนอัลบูมินในไข่ได้มากถึง 20% ในการเป็น foaming agent

2.4.1.6 ใช้ใน soft drink และ diet beverage เช่น ใช้ในน้ำส้มเพื่อเป็นแหล่งของแคลเซียม สามารถใช้ร่วมกับแหล่งแคลเซียมอื่นๆ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนตและแคลเซียมฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.7 สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ได้แก่ กุ้ง ไก่ และปลา

2.4.1.8 ใช้ในเนยแข็ง เพื่อเป็นแหล่งของแคลเซียม โดยไม่ทำให้กลิ่น สี และรสชาติของเนยแข็งเปลี่ยนแปลง

2.4.1.9 สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์ Natural uncured cheese โดยใช้หมักร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* ทำให้กลิ่นรสชาติและเนื้อสัมผัสดีขึ้น เก็บรักษาได้นานมากกว่า 14 วัน และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้

2.5 เอนไซม์โบรมีเลน

โบรมีเลนหรือโบรมีลีน เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่ง มีคุณสมบัติสามารถย่อยโปรตีนให้มีโมเลกุลเล็กลง สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของสับปะรด (*Ananas bracteatus* และ *Ananas comosus*) มีสีขาวปนน้ำตาลอ่อน หรือสีออกเหลืองเล็กน้อย เป็นเอนไซม์จากพืชที่ยอมให้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหรือใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารได้ ในประเทศอังกฤษและแคนาดากำหนดให้โบรมีเลนเป็นสารประเภท GRAS (Generally Recognized As Save) ส่วนในประเทศสหรัฐอเมริกา โบรมีเลนได้รับอนุญาตให้ใช้ผสมในอาหารได้โดย the U.S. CFR 1981. (Enzyme specially permitted for use in food by the U.S. Code of Federal Regulation 1981)

2.5.1 ประโยชน์ของโบรมีเลน (ยุทธพงศ์, 2555)

มีการนำโบรมีเลนไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ หลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมผลิตเนื้อสัตว์ ผลิตอาหารสัตว์ ผลิตเบียร์ ไวน์ และน้ำผลไม้ รวมทั้งอุตสาหกรรมการฟอกหนัง อุตสาหกรรมเส้นใย การทำกระดาษ การทำยาสีฟันและสารซักฟอก นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยา ได้แก่ ยาช่วยย่อย และยาลดการอักเสบบางชนิด ปัจจุบันมีการนำโบรมีเลนไปใช้เป็นอาหารเสริมกันมาก เพราะเชื่อว่าทำให้มนุษย์มีสุขภาพแข็งแรงและสร้างภูมิคุ้มกันโรค ทำให้ความต้องการโบรมีเลนมีเพิ่มมากยิ่งขึ้น

โบรมีเลน (Bromelain) สามารถพบได้ทุกส่วนของสับปะรดไม่ว่าจะเป็นผล ใบ หรือลำต้น แต่ส่วนที่สามารถพบสารบรอมีเลนได้มากที่สุดคือแกนลำต้น และเหง้า โบรมีเลน สามารถย่อยโปรตีนได้ดี มีคุณสมบัติคล้ายตัวยาแอสไพริน ซึ่งสามารถลดการจับตัวของเกล็ดเลือดได้ และยังมีการนำสารเหล่านี้ไปใช้ในทางการแพทย์อื่น ๆ ด้วยเช่น นำไปควบคุมการเจริญเติบโตของเนื้องอกและชิ้นส่วนเนื้อร้ายหรือที่เรียกว่ามะเร็ง มีการนำโบรมีเลนไปใช้ในการช่วยสมานแผล เช่นแผลจากการผ่าตัด ลดการอักเสบ และช่วยให้รอยแผลเป็นดูดีขึ้นด้วย โบรมีเลน ที่สามารถสลายลิ่มเลือดหรือลดการจับตัวของเกล็ดเลือดได้นั้น ยังสามารถลดการเกิดโรคที่เกิดจากการอุดตันในเส้นเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น โรคหัวใจ และ หลอดเลือดอุดตัน กรดจากสับปะรดที่เราใช้รับประทาน ก็ยังมีคุณสมบัติในการช่วยย่อยอาหารที่อยู่ในกระเพาะได้ทั้งสภาวะที่เป็นกรดและด่างได้อีกด้วย และเนื่องจากโบรมีเลนเป็นสารที่เกิดขึ้นจาดธรรมชาติจึงแทบไม่พบผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค

เอนไซม์โบรมีเลน (bromelain) เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้จากเนื้อและแกนผลสับปะรดมีฤทธิ์ต้านการรวมตัวกันของเกล็ดเลือด ชักนำให้เกิดการหลั่งไซโทไคน์ที่ชักนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวกำจัดเซลล์มะเร็งได้ และโบรมีเลน ยังมีฤทธิ์ช่วยระบบการย่อยอาหารและสมานแผลในกระเพาะอาหารเพราะมีคุณสมบัติสามารถย่อยโปรตีนให้มีโมเลกุลเล็กลง จึงมีการใส่น้ำสับปะรดในการหมักเนื้อ เพื่อทำให้เนื้อนุ่ม หรือถ้ามีอาการแน่นท้องหลังจากกินอาหารประเภทนี้สัตว์มาก ๆ ให้ดื่มน้ำสับปะรดหลังอาหารก็ช่วยลดอาการแน่นท้องได้ประโยชน์ของโบรมีเลน

น้ำคั้นจากสับปะรดเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้ในการปรับปรุงสภาพการย่อยได้ของโปรตีน ทั้งนี้เพราะในน้ำสับปะรดมีเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนคือเอนไซม์โบรมีเลน (bromelain) ซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนและนิยมใช้กันมากในทางอุตสาหกรรมอาหารเพื่อช่วยย่อยสลายโปรตีนให้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ และกรดอะมิโนบางส่วน จากคุณสมบัตินี้จึงน่านำมาใช้ในการปรับปรุงการย่อยได้ของโปรตีน

2.6 วิธีการพื้นผิวตอบสนอง (อนุวัตร, 2552)

วิธีการพื้นผิวตอบสนอง (Response surface method, RSM) เป็นการแสดงหรือตัวแทนทางเรขาคณิตที่ได้รับเมื่อผลตอบสนองของตัวแปร (Response) ถูกสร้างเป็นฟังก์ชั่นของตัวแปรเหล่านั้น เทคนิคทางสถิตินี้ใช้แผนภาพคอนทัวร์ (contour plot)ในการตรวจสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆที่สนใจ ผลที่ได้ คือ สามารถที่จะหาสูตร หรือสภาวะที่เหมาะสม (optimization) จากความสัมพันธ์เหล่านั้นได้เมื่อพิจารณาปัจจัยที่สนใจเหล่านั้นพร้อมๆกัน โดยความรู้พื้นฐานที่ต้องใช้ คือ การวางแผนการทดลอง การวิเคราะห์สมการถดถอย และความรู้ในการใช้โปรแกรมที่สร้างแผนภาพคอนทัวร์ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของวิธีการ RSM สามารถแสดงได้ดังสมการ $Y = f(X_1, X_2, \ldots, X_k) + E$ โดยที่ Y คือ ค่าตอบสนอง (response) ซึ่งเป็นตัวแปรตามและ $X_1, X_2, \ldots,$ X คือตัวแปรที่สนใจ ซึ่งเป็นตัวแปรต้น, E = error term ของความสัมพันธ์หรือฟังก์ชั่นของตัวแปรเหล่านี้มักใช้สมการลำดับที่หนึ่ง (first order model) หรือสมการลำดับที่สอง (second order model) หรือสมการโพลีโนเมียล (polynomial model) เป็นตัวอธิบายโดยวิธีทางสถิติที่ใช้คือ วิธีกำลังสองที่น้อยที่สุด (the least square method) เพื่อประมาณค่าของพารามิเตอร์ต่างๆ โดยฟังก์ชั่นที่ใช้เรียกว่า fitted response function : $y = b_0 + b_1 X_1 + \ldots + b_n X_n$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพคอนทัวร์ เป็นอนุกรม (series) ของเส้นหรือกราฟซึ่งมีค่าที่แน่นอนและคงที่สอดคล้องกับระดับของปัจจัยที่เปลี่ยนไป แผนภาพคอนทัวร์มีหลายแบบสอดคล้องกับสมการถดถอยที่ตรวจสอบได้ เช่น mound-shaped, stationary ridge, rising ridge, saddle โดยแผนภาพคอนทัวร์ที่สร้างเป็นแผนภาพ 3 มิติ เรียกว่า sueface plot

2.6.1 ส่วนขั้นตอนการทำ RSM ที่กระทำได้ดังนี้

2.6.1.1 เลือกแผนการทดลองที่เหมาะสมที่สามารถให้ข้อมูลเพียงพอในการสร้างคอนทัวร์พลอต

2.6.1.2 สร้างแบบจำลองหรือสมการเชิงเส้นที่ดีที่สุด

2.6.1.3 สร้างแผนภาพคอนทัวร์หรือ surface plot จากสมการที่หามาได้

2.6.1.4 ตรวจสอบหาค่าจุดหรือพื้นที่ที่เหมาะสม (optimization)

2.6.1.5 พิสูจน์แบบจำลอง (validation) โดยการทำการทดลองใหม่จากจุดที่เหมาะสมภายใต้ขอบเขตของตัวแปรแต่ละตัว แล้วเปรียบเทียบกับค่าการทดลอง และค่าที่ได้ทำนายจากสมการ

2.6.1.6 ถ้าแบบจำลองไม่เหมาะสม ให้สร้างแบบจำลองใหม่ (ทำซ้ำข้อ 2 ถึง 5)

2.6.2 การเลือกการจำลอง (model selection)

การเลือกการจำลองที่ได้จาก RSM มีหลายเทคนิคในการสร้างและคัดเลือกแบบจำลอง (model) ที่ดีที่สุด ขึ้นอยู่กับการวางแผนตั้งแต่เริ่มต้น ในกรณีที่มีแผนการทดลองการวิเคราะห์ความแปรปรวนจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการทดสอบความเหมาะสมของแบบจำลอง อย่างไรก็ตาม บางการทดลองที่ไม่มีการวางแผนล่วงหน้าว่าจะใช้แบบจำลองใด อาจดำเนินการดังนี้ ซึ่งน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมมากที่สุด

2.6.2.1 วิธีการแบบจำลองแบบแบบสมบูรณ์ (full model technique) วิธีการนี้จะระบุแบบจำลองที่ต้องการใช้ เช่น แบบจำลองอันดับหนึ่ง (first order model) หรืออันดับสอง (second order model) หลังจากนั้นจึงใช้การวิเคราะห์สมการถดถอยเพื่อประมาณค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรทุกตัวในแบบจำลอง

2.6.2.2 วิธีการแบบจำลองลดรูป (reduced model technique) วิธีการนี้แสดงแบบจำลองแบบลดรูป โดยเลือกตัวแปรที่มีนัยสำคัญในแบบจำลองมาใช้สร้างแผนภาพคอนทัวร์หรือ surface plot เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สมการถดถอยทั้งหมด เช่น stepwise technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 การวางแผนการทดลองสำหรับ RSM (อนุวัตร, 2549)

นิยมใช้การทดลองแบบแฟคทอเรียล การทดลองแฟคทอเรียลบางส่วน (fractional factorial) การทดลองแบบหมุน (Rotatable design), Central composite design (CCD), Box-Behnken design และการทดลองแบบผสม (Mixture design) ทั้งนี้การใช้การทดลองแบบใดขึ้นอยู่กับข้อจำกัดต่างๆ ชนิดของแบบจำลองที่จะเลือกใช้ และชนิดของตัวแปรต่างๆ ว่าเป็นตัวแปรในขั้นตอนของการพัฒนาสูตรหรือกรรมวิธี

2.6.3.1 การทดลองสำหรับใช้แบบจำลองอันดับ 1 (first order model)

-การทดลองแฟคทอเรียล 2^k ใน CRD or RBD

-การทดลองแฟคทอเรียลบางส่วน 2^k ซึ่งปัจจัยหลักไม่ aliase ซึ่งกันและกัน

-การใช้แฟคทอเรียล 2 ระดับ (2-level factorial) ต้องระวังในการใช้แบบจำลองอันดับหนึ่ง (first order model) เพราะจะไม่สนใจพจน์ที่เป็นผลคูณระหว่างปัจจัยหลัก (cross product หรือ interaction term) ควรจะแน่ใจว่าปัจจัยที่นำมาศึกษาไม่มีปฏิกิริยาสัมพันธ์กัน

2.6.3.2 แบบการทดลองสำหรับใช้แบบจำลองอันดับ 2 (second order model)

-การทดลองแฟคทอเรียล 2^k ใน CRD or RBD ซึ่งจะรวมผลคูณระหว่างปัจจัยหลัก (cross product)

-การทดลองแฟคทอเรียล 3^k ใน CRD or RBD

-การทดลองแฟคทอเรียลบางส่วนใน CRD or RBD

- Rotatable design
- Central composite design
- Box-Behnken design
- Mixture design

การจัดการทดลองแบบแฟคทอเรียล และการทดลองแฟคทอเรียลบางส่วนในได้กล่าวไปแล้ว ในที่นี้จะขอกล่าวเฉพาะ Rotatable design, Central composite design

Rotatable design

เป็นการออกแบบการทดลองที่ทุกๆ ระดับห่างจากจุดกลางของรูปทรงเรขาคณิตที่ใช้เป็นพื้นฐานในการสร้างสิ่งทดลองเป็นระยะเท่ากัน ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการสร้างสิ่งทดลองจะมีพื้นฐานมาจากรูปทรงเรขาคณิตที่สมมาตรกัน เช่น จากทรงกลม, วงกลม, สี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือลูกบาศก์ โดยที่ค่าพิกัดของที่มุมต่างของรูปทรงเรขาคณิตจะถูกนำมาใช้เป็นค่า code value (+1:สูง, 0:กลาง, -1:ต่ำ) การทดลองแฟคทอเรียล 2^k ทุกอัน เป็น rotatable แต่การทดลองแฟคทอเรียล 3^k บางชนิดเท่านั้นที่เป็น rotatable design

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ 2-level coding

1.หาค่าเฉลี่ยของระดับ (avg)

2.หาค่าช่วงกลางของระดับ (Mid): Mid = (upper level – lower level)/2

3. Code ระดับของปัจจัย

Code level = (ture level – avg)/Mid

Central composite design (CCD)

เป็นการทดลองที่เพิ่มสิ่งทดลองระหว่างระดับของปัจจัยให้มากขึ้นเพื่อต้องการใช้แบบจำลองอันดับสูงจากเดิมที่ใช้ได้เพียงแค่อันดับหนึ่งเป็นอันดับสองหรือสาม วิธีการสร้างสิ่งทดลองอย่างง่าย ให้เริ่มจากการสร้างสิ่งทดลองจากแฟคทอเรียล 2^k แล้วเพิ่มจุดบนแกน coordinate โดยมีค่า code level $\pm \alpha$ หลังจากนั้นเพิ่มจำนวน m ที่จุดกลาง (0, 0, 0,...0) หลังจากนั้นสุ่มแต่ละสิ่งทดลองไปยังแต่ละหน่วยทดลอง จำนวนสิ่งทดลองทั้งหมด (n) จะมีค่า = $2^k + 2k + m$ ซึ่ง $n < 3^k$ เสมอ และถ้า $\alpha = F^{1/4}$(F = จำนวนของสิ่งทดลองจากแฟคทอเรียลที่ใช้ เช่น แฟคทอเรียล 2^2 , ค่า F = 4) CCD นี้จะเป็น rotatable design ด้วย

การทดลอง CCD นี้นิยมทำซ้ำที่ระดับกลางของปัจจัยเพื่อใช้ประมาณความคลาดเคลื่อนของการทดลองซึ่งการเพิ่มจำนวนซ้ำจะมีผลกระทบต่อค่า α ซึ่งอาจจะต้องเปลี่ยนไปตามจำนวนซ้ำเพื่อให้สิ่งทดลองเป็นอิสระต่อกัน (orthogonal) อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติมักจะกำหนดค่า α ก่อนแล้วจึงทำการทดลองซ้ำที่จุดกลาง

ในบางกรณีที่ $\alpha = 1$ ซึ่งแต่ละจุดของการทดลองที่เพิ่มขึ้นจะอยู่บนแต่ละด้านของลูกบาศก์ 2^3 แฟคทอเรียล, Design แบบนี้จะเรียกว่า Face-centered central composite design ซึ่งจะเห็นว่าจำนวนระดับในแต่ละปัจจัยจะน้อยลงไป ซึ่งจะช่วยลดจำนวนตัวอย่างลงเป็นอย่างมากทำให้ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายในการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 ค่า Desirability

ตารางที่ 2.1 แสดงความสัมพันธ์ของค่า Desirability กับระดับความพึงพอใจและคุณภาพของผลิตภัณฑ์

ค่า Desirability	ระดับความพึงพอใจ	คุณภาพของผลิตภัณฑ์
1.00	ดีที่สุด	มีความพึงพอใจหรือคุณภาพมากที่สุด
1.00-0.80	ดีมาก	ยอมรับได้และดีที่สุด เป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพแต่ดีเกินกว่าที่สามารถนำมาใช้ในทางการค้าได้
0.80-0.63	ดี	ยอมรับได้และดี เป็นตัวบ่งบอกการพัฒนาคุณภาพทางการค้าที่ดีที่สุดที่สามารถใช้ได้ โดยต้องมีค่ามากกว่า 0.63
0.63-0.37	น่าพอใจ	ยอมรับได้แต่ไม่ดี เป็นคุณภาพที่ยอมรับได้แต่คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้ต้องมีการปรับปรุง
0.37-0.20	แย่	ไม่ยอมรับ เนื่องจากวัตถุดิบไม่มีคุณภาพจะนำไปสู่ความผิดพลาด
0.20-0.00	แย่มาก	ไม่ยอมรับโดยสิ้นเชิง

ที่มา : Lazic (2004)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันสารไคตินที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตมาจากเปลือกที่เหลือทิ้งของสัตว์จำพวกกุ้งและปู เป็นหลัก โดยทั่วไปสัตว์จำพวกนี้มีสารไคตินเป็นองค์ประกอบอยู่ตั้งแต่ 2-12% ของมวลร่างกายทั้งหมด ปริมาณดังกล่าวขึ้นอยู่กับสภาวะของการลอกเปลือกในขบวนการผลิต ภาวะทางโภชนาการและระยะการเจริญพันธุ์ของสัตว์น้ำ องค์ประกอบหลักในเปลือกแข็งของสัตว์น้ำจำพวกกุ้งและปูประกอบด้วยโปรตีน (30-40%) เกลือแร่ (30-50%) ไคติน (13-42%) เกลือแร่ที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกเกลือฟอตและคาร์บอเนตของแคลเซียมและแมกนีเซียม นอกจากนี้ยังมีไขมันและสารแคโรทีนอยด์ ในปริมาณเล็กน้อย ปริมาณไคตินจากเปลือกแข็งของปู (13-26%ของน้ำหนักแห้ง) ต่ำกว่าของกุ้ง (14-42%ของน้ำหนักแห้ง) และของตัวเคย (34-49%ของน้ำหนักแห้ง) (Synowiecki และ Al-Khateeb., 2003)

กระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกของสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (Crustacean shell waste) มีขั้นตอนพื้นฐานอยู่ 3 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 การแยกโปรตีน (deproteinization) ขั้นตอนที่ 2 การแยกแร่ธาตุ (demineralization) และขั้นตอนที่ 3 การแยกเม็ดสี (decoloration) ซึ่งขั้นตอนที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 2 สามารถสลับลำดับก่อนหลังได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตไคตินที่ต้องการนำโปรตีนที่สกัดได้กลับมาใช้ประโยชน์ จำเป็นจะต้องเริ่มจากขั้นตอนการแยกโปรตีนออกจากเปลือกของสัตว์เหล่านี้ก่อนขั้นตอนการแยกแร่ธาตุ เนื่องจากโปรตีนที่ได้จะมีปริมาณและคุณภาพที่ดีกว่า ขั้นตอนการแยกโปรตีน (Deproteination)โดยทั่วไป เปลือก-หัวกุ้ง กระดองปูและแกนปลาหมึกมักจะถูกนำมาบดก่อนนำมาแยกเอาโปรตีนออก ซึ่งขั้นตอน การแยกโปรตีนนี้มักใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1-10% และอุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 65-100°C นอกจากนี้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (reaction time) ขึ้นอยู่กับวิธีและสภาวะที่ใช้ในการสกัดโปรตีน อย่างไรก็ตาม หากปล่อยให้กากเหล่านี้ทำปฏิกิริยานานเกินไปในสภาวะรุนแรงจะทำให้สายโซ่ของไคตินถูกตัด (depolymerization) และยังเกิดปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิลด้วย นอกจากนี้อัตราส่วนของกากเหล่านี้ต่อสารละลายด่าง ตั้งแต่ 1 ต่อ 10 ขึ้นไป สามารถเกิดปฏิกิริยาได้อย่างทั่วถึง (uniformity) แต่ต้องอาศัยการกวนอย่างสม่ำเสมอ (No และ Meyers, 1997)

ปัจจุบันมีการศึกษาการกำจัดเกลือแร่และโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งด้วยกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *lactobacillus spp.* พบว่าสามารถกำจัดเกลือแร่ และโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งได้ 69 และ 89% ตามลำดับ ซึ่งกระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่สามารถใช้ในการสกัดไคตินจากเปลือกกุ้งได้โดยสามารถลดอันตรายจากสารเคมีได้ (Prameela และคณะ 2010) Jung และคณะ 2005 รายงานว่าการใช้การหมักให้ได้กรดแลคติกมีผลในการกำจัดโปรตีนออกจากเปลือกปูได้บางส่วนโดยเกิดจากเอนไซม์โปรติเอสที่เชื้อสร้างขึ้น และการกำจัดเกลือแร่ออกจากเปลือกปูได้นั้นเกิดจากกรดแลคติกทำปฏิกิริยากับแคลเซียมคาร์บอเนตแล้วได้แคลเซียมแลกเตรท ซึ่งสามารถแยกออกได้ด้วยวิธีการล้าง

นอกจากนั้น วราพันธุ์ และคณะ (2547) รายงานว่าปริมาณเอนไซม์โบรมีเลน ในเนื้อสับปะรดมีปริมาณเอนไซม์อยู่มากที่สุด รองลงมาคือ สับปะรดทั้งผล เปลือก และแกน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอรวินทร์ (2527) ได้รายงานว่าเอนไซม์โบรมีเลนในผลสับปะรดพบมากในส่วนเนื้อ เปลือก แกน และจุกตามลำดับ เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์และส่วนต่าง ๆ พบว่าในส่วนเนื้อของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาณเอนไซม์โบรมีเลนสูงที่สุด และปริมาณเอนไซม์ที่พบว่ามีน้อยที่สุดคือแกนของสับปะรดทั้งพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์ (บัญชา, 2555) สารไคตินและสารไคโตซาน เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ ซึ่งผลิตจากเปลือกกุ้ง และเปลือกปู แผ่นเมมเบรนจากไคโตซาน ใช้ในการปิดแผล มีคุณสมบัติช่วยลดแผลเป็นบนผิวหนัง

การใช้สารไคตินและไคโตซานจะนำไปสู่การเกษตรแบบอินทรีย์ (Organic Farm) ซึ่งสามารถลดปัญหาสารเคมีตกค้าง ปัญหามลพิษ ปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ใช้ และผู้บริโภคผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางการเกษตร และยังสามารถทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งส่วนใหญ่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศปีละจำนวนมากๆ

ในทางการแพทย์และเภสัชกรรม ได้มีการศึกษาแล้วว่าเมื่อรับประทานเข้าไปแล้วนั้น นอกจากที่จะไม่ดูดซึมเข้าไปในร่างกายและช่วยในการเคลื่อนตัวของอาหารในลำไส้ดังเช่นอาหารจำพวกไฟเบอร์ โดยทั่วไปแล้ว ยังจะมีความสามารถในการจับคลอเลสเตอรอลและไขมันในอาหารที่รับประทานเข้าไป ก่อนที่จะเกิดการดูดซึมสารเหล่านั้น

ในปัจจุบันได้มีการนำไคโตซานบริสุทธิ์มาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในการประกอบการ ลดความอ้วน นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ทำผิวหนังเทียมรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ใช้ปลดปล่อยยารักษาเหงือกและฟัน

นอกจากนี้ สารไคตินและไคโตซานยังสามารถประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์และอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างหลากหลาย เช่น ใช้หุ้มเมล็ดพันธ์พืชเพื่อยืดอายุการเก็บและป้องกันราและจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมการเกษตร ใช้เป็นสารต่อต้านราและจุลินทรีย์ ใช้เป็นสารกันบูด เคลือบอาหาร ผักและผลไม้ ในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้เติมแต่งและเป็นสารพื้นฐานของแป้งทาหน้า แชมพู ครีม และสบู่ โลชันเคลือบป้องกันผิวและผม

เนื่องจากไคตินและไคโตซานสามารถอุ้มน้ำและเป็นตาข่ายคลุมผิวหนัง ใช้ผสมเส้นใย เช่น สิ่งทอและกระดาษ เพื่อป้องกันและต้านทานเชื้อโรค และยังทำให้เยื่อเหนียวและแข็งแรงเพิ่มขึ้น เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 เปลือกกุ้ง ได้รับความอนุเคราะห์จาก Charoen Pokphand Foods มหาชัย

3.2.2 เปลือกสับปะรด ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านขายผลไม้บริเวณรอบมหาวิทยาลัย

3.2.3 โยเกิร์ต ตราดัชชี่ รสธรรมชาติ	บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด	
3.2.4 เอนไซม์โบรมีเลน ยี่ห้อ	Sigma	Taiwan

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	Memmert	Germany
3.2.2 เตาเผาไฟฟ้า (furnace muffle)	Nabertherm	Germany
3.2.3 เครื่องย่อยโปรตีน Gerhardt	Gerhardt	Germany
3.2.4 เครื่องวัดกรด-ด่าง (pH meter)	Suntex รุ่น SP-701	Taiwan
3.2.5 hot plate	Tesco	China
3.2.6 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo	Switzerland

3.2.7 ถ้วยกระเบื้อง (crucible)

3.2.8 โถดูดความชื้น (desiccator)

3.2.9 aluminium foil

3.2.10 ขวดปรับปริมาตร

3.2.11 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL

3.2.12 บิวเรต

3.2.13 ปิเปต

3.2.14 กระบอกตวง

3.2.15 ที่คีบ (tong)

3.2.16 ช้อนตักสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.3.1 กรดแลคติก 98%	Loba Chemie Pvt	India
3.3.2 กรดไฮโดรคลอริก	QReC	Malaysia
3.3.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์	Poole BH15	England
3.3.4 กรดซัลฟูริกเข้มข้น	QReC	NewZealand
3.3.5 กรดบอริก 2%	Ajax Finechem Pty	NewZealand
3.3.6 คอปเปอร์ซัลเฟต	Carlo	Ltaty
3.3.8 โพแทสเซียมซัลเฟต	Carlo	Ltaty

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.4.1 ศึกษาสภาวะการจำกัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้กรดแลคติก

เตรียมสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 1% แล้วนำเปลือกกุ้งมาแช่ในสารละลายกรดแลคติกในอัตราส่วน (1:10-1:30) (X_1) โดยใช้เวลาในการหมัก (72-168 ชั่วโมง) (X_2) จากนั้นนำตัวอย่างเปลือกกุ้งที่ได้มาวิเคราะห์

- ปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

วางแผนการทดลอง Response surface แบบ Central Composite Design (CCD) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งโดยใช้กรดแลคติก

3.4.2 ศึกษาสภาวะการจำกัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้โยเกิร์ต

เตรียมความเข้มข้นของโยเกิร์ต(X_1) (10-20%) หมักทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (เพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และกรดแลคติก) แล้วนำเปลือกกุ้งมาหมักในโยเกิร์ตในอัตราส่วน (X_2) (1:10-1:30) โดยใช้เวลาในการหมัก(X_3) (72-168 ชั่วโมง) จากนั้นนำตัวอย่างเปลือกที่ได้มาวิเคราะห์

- ปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

วางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ Central Composite Design (CCD) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งโดยการใช้โยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.4.3 ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

นำเปลือกกุ้งมาทำการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลนที่มีความเข้มข้น (X_1) (0-2%) หมักเป็นระยะเวลา(X_2) (30-90 นาที) โดยใช้อัตราส่วน (1:6) ปรับpH เท่ากับ 9 นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์

- ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1995)

วางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ Central Composite Design (CCD) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

3.4.4 ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เปลือกสับปะรด

นำเปลือกกุ้งมาทำการกำจัดโปรตีนโดยการใช้น้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้น 10% หมักเป็นระยะเวลา(X_1) (0-30วัน) โดยใช้อัตราส่วน(X_2) (1:10-1:30) นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์

- ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1995)

วางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ Central Composite Design (CCD) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้เปลือกสับปะรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

138243

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ศึกษาสภาวะการจำกัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้กรดแลคติก

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้การวางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ central composite design โดยมี 13 การทดลองและมี 2 ปัจจัย คือ เวลา (X_1) และอัตราส่วน (X_2) เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้น 1% ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก

Run	Coded		Uncoded		Response
	x1	x2	Time (days)	Ratio (w/v)	DM (%)
1	1	1	7	30	76.61
2	-1	0	3	20	67.28
3	1	-1	7	10	77.44
4	-1	-1	3	10	65.21
5	-1	1	3	30	81.78
6	0	0	5	20	70.45
7	0	0	5	20	66.97
8	0	-1	5	10	69.11
9	0	1	5	30	76.64
10	0	0	5	20	71.03
11	1	0	7	20	68.06
12	0	0	5	20	70.35
13	0	0	5	20	70.39

DM = Demineralization

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อใช้สภาวะในการกำจัดแร่ธาตุที่ต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งหลังการสกัดแยก โดยจะมีค่าเฉลี่ยการกำจัดแร่ธาตุอยู่ในช่วง 65.21-81.78% จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก ดังตารางที่ 4.2 พบว่าข้อมูลที่ได้สามารถนำมาสร้างเป็นสมการได้และมีความน่าเชื่อถือโดยทราบจากค่า *P*-value ของ Model ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และค่า *P*-value ของ Lack of Fit ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า R^2 และ Adj R^2 เท่ากับ 0.9061 และ 0.8391 ตามลำดับ โดยมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง ดังนั้นเราจึงสามารถใช้วิธี RSM วิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติกได้ และจากการวิเคราะห์ พบว่าอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อกรดแลคติกมีผลต่อการกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนเวลาไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดแร่ธาตุ อิทธิพลร่วมของระยะเวลาและอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อกรดแลคติกมีผลต่อการกำจัดแร่ธาตุ และพบว่าถ้าเพิ่มอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อกรดแลคติก ทำให้การกำจัดแร่ธาตุจากเปลือกกุ้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อนำข้อมูลมาสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าการกำจัดแร่ธาตุแสดงดังสมการที่ 4.1 สามารถนำมาสร้างแผนภาพคอนทัวร์พลอตดังภาพที่ 4.1 ซึ่งแสดงผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้น 1% และสามารถนำสมการมาทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุได้ผลดังตารางที่ 4.3 คือ ใช้เวลาการหมักนาน 3 วัน ที่อัตราส่วน 1: 10 ทำให้ได้ค่าการกำจัดแร่ธาตุเท่ากับ 81.40%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก

Source	Df	%DM
Model	5	53.02**
X_1-time	1	10.24
X_2-ratio	1	90.25**
$X_1 X_2$	1	75.69**
X_1^2	1	0.0025
X_2^2	1	75.69**
Residual	7	3.92
Lack of Fit	3	5.62
Pure Error	4	2.65
Cor Total	12	-
R-Squared	0.9061	-
Adj R-Squared	0.8391	-

* significant at $p \leq 0.05$

** significant at $p \leq 0.01$

*** significant at $p \leq 0.001$

สมการของสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก

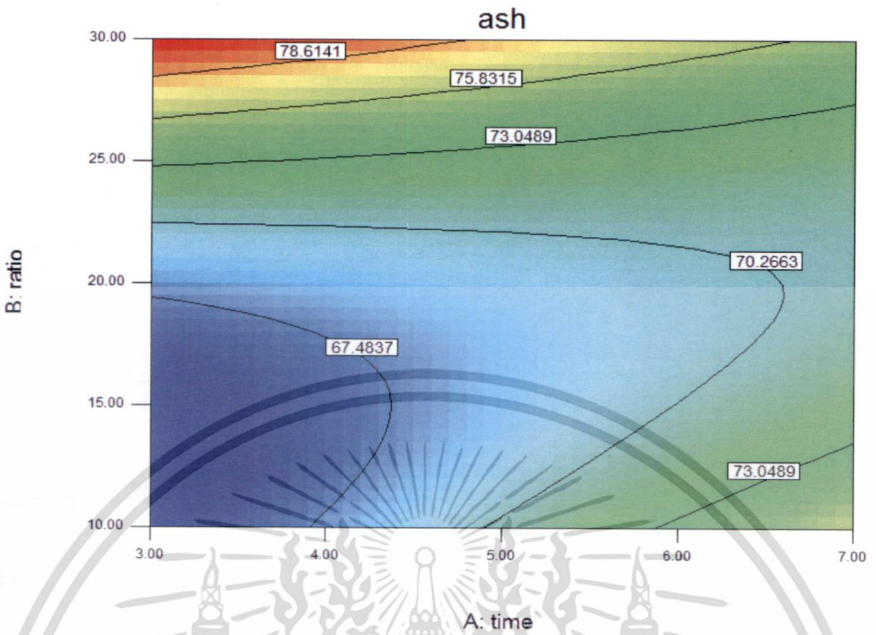
$$\%DM = 57.5642 + 4.9283X_1 - 0.6187X_2 - 0.2175\ X_1X_2 + 0.0075X_1^2 + 0.0524X_2^2 \quad (4.1)$$

เมื่อ X_1 คือ เวลา

X_2 คือ อัตราส่วน

จากภาพที่ 4.1 พบว่าอัตราส่วนมีอิทธิพลต่อการกำจัดแร่ธาตุ โดยเมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 1% ทำให้แนวโน้มการกำจัดแร่ธาตุเพิ่มขึ้นซึ่งตรงกับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากตารางที่ 4.2 เนื่องจากตัวทำละลายลดลง สารละลายมีความข้นหนืดมากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแร่ธาตุลดลง ส่วนการเพิ่มระยะเวลาไม่ได้ทำให้แนวโน้มของการกำจัดแร่ธาตุเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงใช้เวลาในการกำจัดแร่ธาตุน้อยที่สุดคือ 3 วัน และใช้อัตราส่วนมากที่สุดคือ 1:30 เพื่อให้ได้ค่าการกำจัดแร่ธาตุสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้น 1%

ตารางที่ 4.3 สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก

Name	Goal	Lower Limit (%)	Upper Limit (%)	Lower Weight	Upper Weight	Predicted Responses (%)	Desirability
DM(%)	Maximize	65.21	81.78	1	1	81.40	0.992

สภาวะที่เหมาะสม : เวลา = 3 วัน , อัตราส่วน = 1:30 เมื่อใช้กรดแลกติกเข้มข้น 1 %

จากตารางที่ 4.3 พบว่าค่า Desirability เท่ากับ 0.992 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับความพึงพอใจระดับดีมาก หมายความว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ได้นั้นสามารถสกัดแร่ธาตุออกได้ดี สามารถนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาสภาวะการกำจัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้โยเกิร์ต

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้การวางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ central composite design โดยมี 20 การทดลองและมี 3 ปัจจัย คือ เปอร์เซ็นต์โยเกิร์ต (X_1) เวลา (X_2) และอัตราส่วน (X_3) ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต

Run	Coded			Uncoded			Response
	x1	x2	x3	Yogurt (%)	Time (hrs.)	Ratio (w/v)	DM (%)
1	0	0	0	15	120	20	91.99
2	0	0	0	15	120	20	92.09
3	1	0	0	20	120	20	96.98
4	1	1	1	20	168	30	99.66
5	0	0	1	15	120	30	99.13
6	0	0	0	15	120	20	96.43
7	0	0	0	15	120	20	98.77
8	-1	-1	1	10	72	30	98.92
9	1	1	-1	20	168	10	98.29
10	1	-1	1	20	72	30	99.54
11	0	-1	0	15	72	20	95.31
12	-1	0	0	10	120	20	92.35
13	-1	1	1	10	168	30	99.21
14	-1	1	-1	10	168	10	94.1
15	0	0	0	15	120	20	92.47
16	0	1	0	15	168	20	98.91
17	0	0	0	15	120	20	90.23
18	-1	-1	-1	10	72	10	81.1
19	1	-1	-1	20	72	10	78.92
20	0	0	-1	15	120	10	84.33

DM = Demineralization

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.4 พบว่าเมื่อใช้สภาวะในการกำจัดแร่ธาตุที่ต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งหลังการสกัดแยก โดยจะมีค่าเฉลี่ยการกำจัดอยู่ในช่วง 78.92-99.66% จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต ดังตารางที่ 4.5 พบว่าข้อมูลที่ได้สามารถนำมาสร้างสมการที่มีความน่าเชื่อถือโดยทราบจากค่า *P*-value ของ Model ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และค่า *P*-value ของ Lack of Fit ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า R^2 และ Adj R^2 เท่ากับ 0.8917 และ 0.7943 ตามลำดับ จึงสามารถใช้วิธี RSM หาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุได้ และจากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตไม่มีผลต่อการกำจัดแร่ธาตุ อัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อโยเกิร์ตมีอิทธิพลมากกว่าเวลาในการกำจัดแร่ธาตุ หมายความว่าการใช้ปริมาณเปลือกกุ้งต่อโยเกิร์ตมากขึ้นจะทำให้กำจัดแร่ธาตุได้มากขึ้น เป็นเพราะการเพิ่มอัตราส่วนของโยเกิร์ตจะทำให้เพิ่มปริมาณกรดแลคติกซึ่งผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (LAB) โดยกรดแลคติกจะทำปฏิกิริยากับแคลเซียมคาร์บอเนตแล้วได้แคลเซียมแลกเตรท ซึ่งสามารถแยกออกได้ด้วยวิธีการล้าง(Jung และคณะ, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จาก RSM ของค่าการกำจัดแร่ธาตุแสดงได้ดังสมการที่ 4.2 สามารถนำมาสร้างแผนภาพคอนทัวร์พอตดังภาพที่ 4.2 4.3 และ 4.4 และเมื่อนำมาใช้ทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ตได้ผลดังตารางที่ 4.6 คือ ใช้โยเกิร์ต 10% เวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง ที่อัตราส่วน 1: 20 ทำให้ได้ค่าการกำจัดแร่ธาตุเท่ากับ 91.88%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต

Source	Df	DM (%)
Model	9	72.96***
X_1-yogurt	1	5.94
X_2-time	1	132.35**
X_3-ratio	1	356.65***
X_1X_2	1	4.80
X_1X_3	1	0.11
X_2X_3	1	127.68**
X_1^2	1	0.031
X_2^2	1	17.91
X_3^2	1	21.99
Residual	10	7.97
Lack of Fit	5	5.49
Pure Error	5	10.44
Cor Total	19	-
R-Squared	0.8917	-
Adj R-Squared	0.7943	-

* significant at $p \leq 0.05$

** significant at $p \leq 0.01$

*** significant at $p \leq 0.001$

สมการของสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต

$$\%DM = 61.3993 - 0.3145 X_1 - 0.0720X_2 + 2.7625X_3 + 0.0032 X_1X_2 - 0.0024 X_1X_3 - 0.0083 X_2X_3 + 0.0043X_1^2 + 0.0011 X_2^2 - 0.0283X_3^2 \quad (4.2)$$

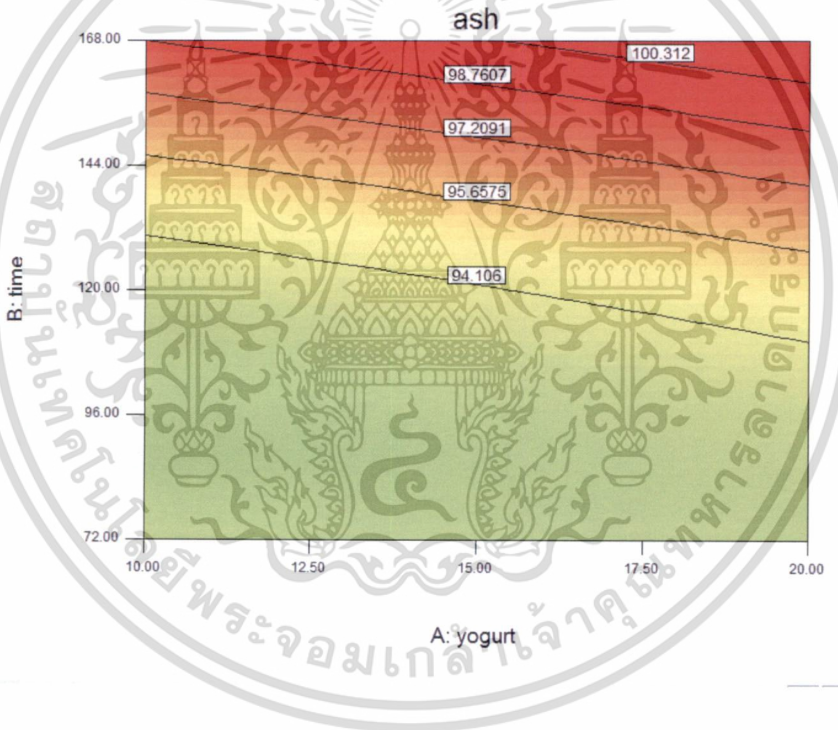
เมื่อ X_1 คือ เปอร์เซ็นต์โยเกิร์ต

X_2 คือ เวลา

X_3 คือ อัตราส่วน

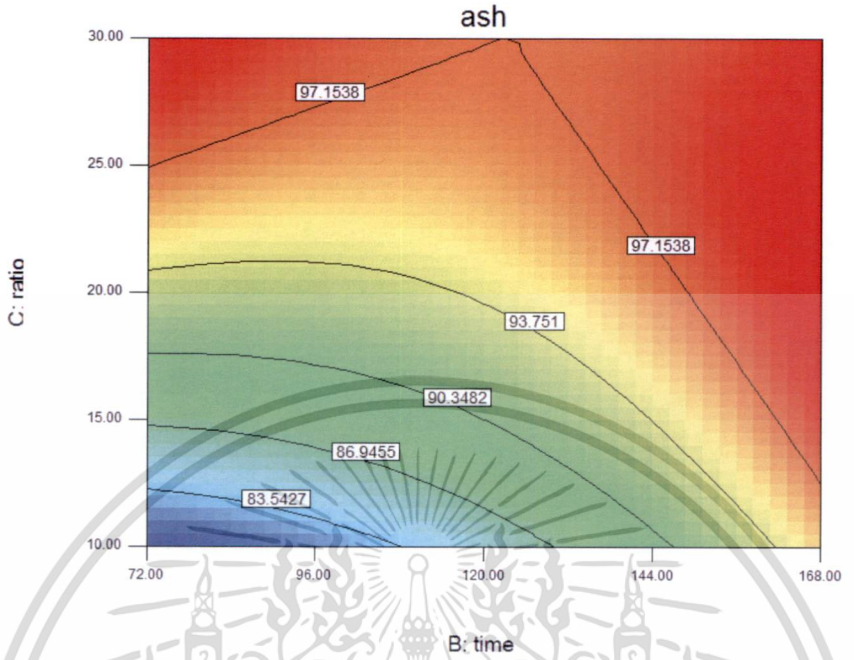
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.2 4.3 และ 4.4 พบว่าอัตราส่วนมีอิทธิพลมากที่สุด เนื่องจากการเพิ่มปริมาณตัวทำละลาย ทำให้เกลือที่มีอยู่ตามธรรมชาติในเปลือกกุ้งจะละลายออกมาทำให้ค่าความเป็นกรดด่างมีความเหมาะสมต่อการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (LAB) ส่งผลให้เพิ่มความสามารถในการกำจัดแร่ธาตุ (นิรนาม, 2555) และพบว่าเมื่อเพิ่มเวลา ทำให้แนวโน้มของค่าการกำจัดแร่ธาตุเพิ่มขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ยังคงผลิตกรดแลคติกขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งต่างจากการใช้สารละลายกรดแลคติกที่เวลาจะไม่มีผลต่อการกำจัดแร่ธาตุ เนื่องจากไม่มีการผลิตกรดแลคติกขึ้นในระหว่างการหมัก ส่วนเปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดแร่ธาตุ เนื่องจากปริมาณกรดแลคติกเริ่มต้นมีค่าใกล้เคียงกันที่เปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้เปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตต่ำที่สุดคือ 10%

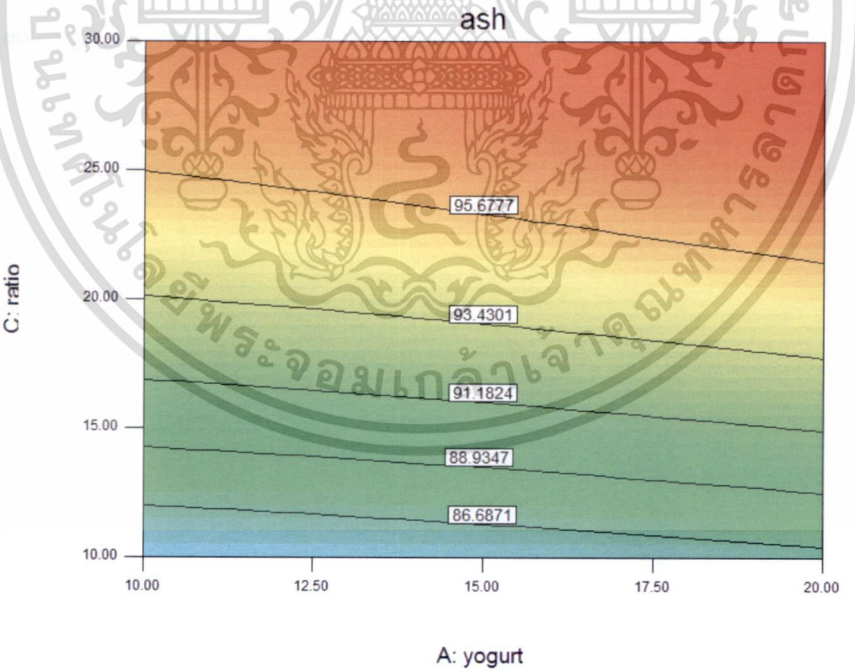


ภาพที่ 4.2 ผลของเปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตและเวลา เมื่อใช้อัตราส่วน 1:20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้โยเกิร์ต 15 %



ภาพที่ 4.4 ผลของเปอร์เซ็นต์โยเกิร์ตและอัตราส่วน เมื่อเวลา 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ต

Name	Goal	Lower Limit (%)	Upper Limit (%)	Lower Weight	Upper Weight	Predicted Responses (%)	Desirability
DM(%)	Maximize	78.92	99.66	1	1	91.88	0.767

สภาวะที่เหมาะสม : โยเกิร์ต = 10% , เวลา = 72 ชั่วโมง , อัตราส่วน= 1:20

จากตารางที่ 4.6 พบว่าค่า Desirability เท่ากับ 0.767 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับความพึงพอใจที่ดี หมายความว่าสภาวะเหมาะสมที่ได้นั้นมีคุณภาพดี สามารถนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้โยเกิร์ตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3. ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้การวางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ central composite design โดยมี 13 การทดลอง และมี 2 ปัจจัย คือ เวลา (X_1) และอัตราส่วน (X_2) เมื่อใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อน้ำ 1:6 ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

Run	Coded		Uncoded		Response
	X1	x2	Time (min)	Concentration (%)	DP(%)
1	0	-1	60	0	51.09
2	0	0	60	1	52.93
3	0	0	60	1	28.94
4	-1	-1	30	0	24.60
5	-1	1	30	2	54.66
6	1	0	90	1	47.00
7	-1	0	30	1	57.59
8	0	0	60	1	56.34
9	1	-1	90	0	33.55
10	0	1	60	2	56.20
11	0	0	60	1	50.59
12	0	0	60	1	50.45
13	1	1	90	2	53.57

DP = Deproteinization

จากตารางที่ 4.7 พบว่าเมื่อใช้สภาวะในการกำจัดโปรตีนที่ต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งหลังการสกัดแยก โดยจะมีค่าเฉลี่ยการกำจัดอยู่ในช่วง 24.60-57.59% จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน ดังตารางที่ 4.8 พบว่า Model ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99% และ Lack of Fit ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า R^2และ Adj R^2 เท่ากับ 0.9480 และ 0.9877 ตามลำดับ จึงใช้วิธี RSM หาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีน โดยจากผลการวิเคราะห์ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนมีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีนที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99% โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนทำให้แนวโน้มของการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่วนเวลาไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน ทำให้การกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99% เมื่อนำข้อมูลมาสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าการกำจัดโปรตีนแสดงดังสมการที่ 4.3 สามารถนำมาสร้างแผนภาพคอนทัวร์พลอตดังภาพที่ 4.5 ซึ่งแสดงผลของเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน เมื่อใช้อัตราส่วน 1:6 และสามารถนำสมการมาทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนได้ผลดังตารางที่ 4.9 คือ ใช้เวลาหมักนาน 30 วัน ความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน 0.66% เมื่ออัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อน้ำ 1:6 ทำให้ได้ค่าการกำจัดโปรตีนเท่ากับ 49.00%

ตารางที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน

Source	Df	%DP
Model	5	278.34***
X_1-time	1	9.73
X_2-concentation	1	868.32***
X_1X_2	1	30.86
X_1^2	1	20.57
X_2^2	1	466.84***
Residual	7	10.91
Lack of Fit	3	8.73
Pure Error	4	12.54
Cor Total	12	-
R-Squared	0.9480	-
Adj R-Squared	0.9108	-

* significant at $p \leq 0.05$

** significant at $p \leq 0.01$

*** significant at $p \leq 0.001$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

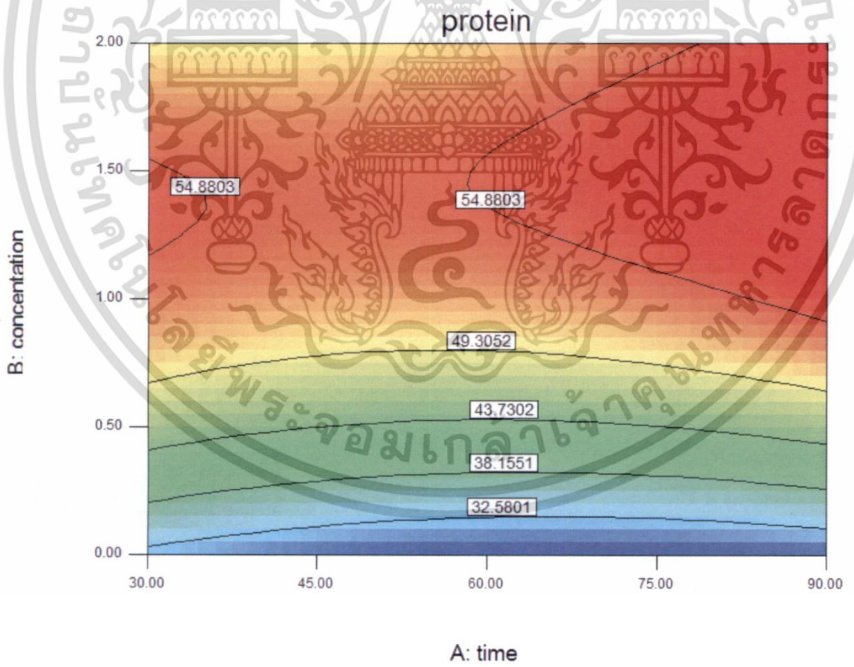
สมการของสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน

$$\%DP = 41.1349 - 0.4140X_1 + 32.4770\ X_2 + 0.0926X_1X_2 + 0.0030\ X_1^2 - 13.0010X_2^2 \quad (4.3)$$

เมื่อ X_1 คือ เวลา

X_2 คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน

จากภาพที่ 4.5 พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนมีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีนโดย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนทำให้แนวโน้มของการกำจัดโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเวลาที่ใช้พบว่าไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน จากภาพพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาทำให้แนวโน้มการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้นจนถึงจุด ๆ หนึ่งและมีแนวโน้มลดลง ดังนั้นการเพิ่มระยะเวลาไม่ได้ทำให้การกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลนเพิ่มสูงขึ้นที่ปริมาณเอนไซม์โบรมีเลนคงที่ (พรรณภา, 2545) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์จากตาราง 4.8 ดังนั้นจึงใช้เวลาในการกำจัดน้อยที่สุดคือ 30 นาที



ภาพที่ 4.5 ผลของเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน เมื่อใช้อัตราส่วน1:6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่โปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน

Name	Goal	Lower Limit (%)	Upper Limit (%)	Lower Weight	Upper Weight	Predicted Responses (%)	Desirability
DP(%)	Maximize	24.6	57.59	1	1	49.00	0.792

สภาวะที่เหมาะสม : เวลา = 30 นาที , ความเข้มข้น = 0.66% เมื่อใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อน้ำ 1:6

จากตารางที่ 4.9 พบว่า ค่า Desirability เท่ากับ 0.792 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับความพึงพอใจที่ดี หมายความว่าสภาวะเหมาะสมที่ได้นั้นมีคุณภาพที่ดี สามารถนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เปลือกสับปะรด

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้การวางแผนการทดลอง Response surface แบบ central composite design โดยมี 13 การทดลอง และมี 2 ปัจจัย คือ เวลา (X_1) และอัตราส่วน (X_2) เมื่อใช้น้ำสับปะรดเข้มข้น 10% ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่4.10 การออกแบบการทดลองและผลการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เปลือกสับปะรด

Run	Coded		Uncoded		Response
	x1	x2	Time (days)	Ratio (w/v)	DP (%)
1	1	0	30	20	98.01
2	0	0	15	20	98.11
3	1	-1	30	10	98.11
4	0	-1	15	10	97.20
5	0	0	15	20	97.85
6	0	0	15	20	97.41
7	-1	0	0	20	91.85
8	0	0	15	20	97.35
9	1	1	30	30	98.37
10	0	0	15	20	97.31
11	-1	1	0	30	91.75
12	0	1	15	30	97.60
13	-1	-1	0	10	91.48

DP = Deproteinization

จากตารางที่ 4.10 พบว่าเมื่อใช้สภาวะในการกำจัดโปรตีนที่ต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งหลังการสกัดแยก โดยจะมีค่าเฉลี่ยการกำจัดโปรตีนอยู่ในช่วง 91.48-98.37% จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรด ดังตารางที่ 4.11 พบว่า ข้อมูลที่ได้ทำให้ Model มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99% และ Lack of Fit ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า R^2 และ Adj R^2 เท่ากับ 0.9928 และ 0.9877 ตามลำดับ ดังนั้น จึงสามารถใช้วิธี RSM หาสภาวะที่เหมาะสมใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกำจัดโปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรดได้ ผลจากการวิเคราะห์พบว่าเวลามีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีนที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99% คือการเพิ่มระยะเวลาจะทำให้แนวโน้มการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่วนอัตราส่วนไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน และพบว่าถ้าเพิ่มเวลาทำให้การกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.99% เมื่อนำข้อมูลมาสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าการกำจัดโปรตีนแสดงดังสมการที่ 4.4 สามารถนำมาสร้างแผนภาพคอนทัวร์พลอตดังภาพที่ 4.6 ซึ่งแสดงผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด 10% และสามารถนำสมการมาทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนได้ผลดังตารางที่ 4.12 คือ ใช้เวลาในการหมักนาน 12 วัน ที่อัตราส่วน 1: 10 ทำให้ได้ค่าการกำจัดโปรตีนเท่ากับ 96.58%

ตารางที่4.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรด

Source	Df	%DP
Model	5	17.02***
X_1-time	1	62.79***
X_2-ratio	1	0.14
X_1	1	0.000025
X_1^2	1	18.35***
X_2^2	1	0.032
Residual	7	0.087
Lack of Fit	3	0.035
Pure Error	4	0.126
Cor Total	12	-
R-Squared	0.9928	-
Adj R-Squared	0.9877	-

* significant at $p \leq 0.05$

** significant at $p \leq 0.01$

*** significant at $p \leq 0.001$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

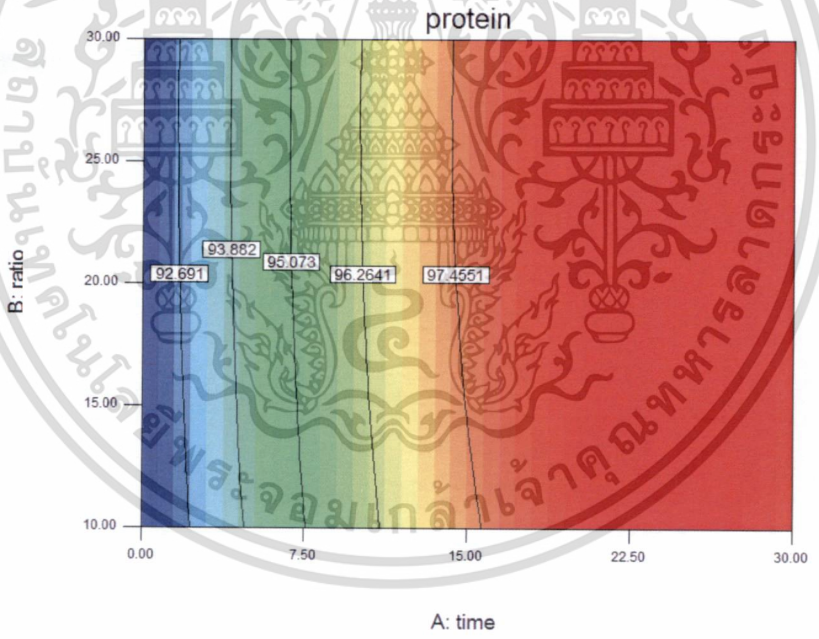
สมการของสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน

$$DP(\%) = 91.0191 + 0.5597X_1 + 0.0589X_2 - 0.00002X_1X_2 - 0.0115X_1^2 - 0.0011X_2^2 \quad (4.4)$$

เมื่อ X_1 คือ เวลา

X_2 คือ อัตราส่วน

จากภาพที่ 4.6 พบว่าเวลามีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีนซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์จากตารางที่ 4.11 และสมการที่ 4.4 โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการหมัก ทำให้แนวโน้มการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่วนอัตราส่วนไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน โดยเมื่ออัตราส่วนเพิ่มขึ้น ไม่ได้ทำให้แนวโน้มของการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วนต่ำสุดคือ 1:10



ภาพที่ 4.6 ผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด 10%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 สภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดโปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรด

Name	Goal	Lower Limit (%)	Upper Limit (%)	Lower Weight	Upper Weight	Predicted Responses (%)	Desirability
DP(%)	maximize	91.48	98.37	1	1	96.58	0.762

สภาวะที่เหมาะสม : เวลา = 12.05 วัน และอัตราส่วน = 10% เมื่อใช้น้ำสับปะรดเข้มข้น 10%

จากตารางที่ 4.12 พบว่า ค่า Desirability เท่ากับ 0.762 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับความพึงพอใจที่ดี หมายความว่าสภาวะเหมาะสมที่ได้นั้นมีคุณภาพที่ดี สามารถนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการกำจัดโปรตีนโดยใช้เปลือกสับปะรดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุโดยการใช้กรดแลคติก คือ กรดแลคติก 1% อัตราส่วน 1: 10 ใช้เวลาในการหมัก 3 วัน มีการกำจัดแร่ธาตุเท่ากับ 81.39%

5.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนโดยการใช้โยเกิร์ต คือ โยเกิร์ต 10% อัตราส่วน 1: 20 ใช้เวลาในการหมัก 72 ชั.วโมง มีการกำจัดแร่ธาตุเท่ากับ 91.88%

5.1.3 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน คือ ความเข้มข้น 0.66% ใช้เวลา 30 นาที มีการกำจัดโปรตีนเท่ากับ 49.00%

5.1.4 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เปลือกสับปะรด คือ อัตราส่วน 1:10 ใช้เวลาในการหมัก 12 วันมีการกำจัดโปรตีนเท่ากับ 96.58 %

5.2 ข้อเสนอแนะ

โปรตีนที่กำจัดออกจากเปลือกกุ้งควรมีการมาใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

1. สามารถผลิตบทความตีพิมพ์ในงานประชุมวิชาการระดับชาติได้ 1 บทความ (ภาคผนวก ซ)

ธงชัย พุฒทองศิริ ศริมน ทองคำ สุกัญญา ทองอรุณ และ สุดาวรรณ ทองขัน. 2555. สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้กรดแลคติก และเอนไซม์โบรมีเลน. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

การผลิตไคตินและไคโตซาน, ศูนย์ชีวภาพไคติน-ไคโตซาน. เข้าถึงได้จาก http://www.material.chula.ac.th/CCB/document/productions.pdf (26 เมษยน 2555).

ไคติน. 2555. เข้าถึงได้จาก www.clinictech.most.com (7 พฤษภาคม 2555)

บัญชา ธนบุญสมบัติ. 2555. การนำผลงานไปใช้ประโยชน์, ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. เข้าถึงได้จาก http://www.thailabonline.com/chitin-chitosan.htm (7 มกราคม 2555).

โบรมีเลน. เข้าถึงได้จาก http://myenzyme.blogspot.com/ (7 มกราคม 2555).

ประโยชน์ของเอนไซม์โบรมีเลน เข้าถึงได้จาก http://www.tint.or.th/application/apply-bromelain.html (7 มกราคม 2555).

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546. การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างแหนมของประเทศไทยเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พรรณนภา ตันติศิรินทร์. 2545. การปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนจากรำ สกัดโดยใช้สารละลายด่างและเอนไซม์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วราพันธุ์ จินตณวิชญ์ และคณะ. 2547. การศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมีเลน องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำคั้นสับปะรดและการนำ ไปใช้ประโยชน์ย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลือง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 26-32

ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์และการตรวจหาแบคทีเรียแลกติกในอาหาร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 88 – 101

อนุวัตร แจ้งชัด. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรม. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อนุวัตร แจ้งชัด. 2549. สถิติสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์และการประยุกต์. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรวินทร์ วงศ์มีเกียรติ. 2527. การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนเหลือทิ้งของสับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Axelsson, Lot. 1993. Lactiv acid Bacteria : Classification and physiology. In Lactic Acid Bacteria. Salminen, S. and Von Wright, A., eds. Marcel Dekker. New York. p. 1-64.

Belitz, H.D., Grosch, W. Schieberte. 2009. Food chemistry, Springer – verlag Berlin Heidelberg 38

Casla, D., T. Requena and R. Gomez. 1996. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from goat,s milk and artisanel cheeses : characteristics of a bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* IFPL105. J. Appl. Bacteriol. 81 : 35-41.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chadha, K. L., K.R. Melanta, S. B. Lodh, and Y. Selvarag. 1972. Biochemical changes associated with growth and development of pineapple variety Kew. I. changes in physico-chemical constituents Indian. J. Hort. 29:54 –57.

Dellaglio, F., L. M. T. Dicks and S. Torriani. 1995. The genus Leuconatoc pp. 235-278. In B. J. B. Woodand W. H. Holzapfel, (eds.). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Chapman and Hall, Glasgow.

Devriese, L. A. And B. Pot. 1995. The genus Enterococcus. In Wood B.J.B. and Holzapfel W. H. (eds.). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Chapman and Hall, Glasgow. pp. 327-367

Garbutt, J. 1997. Essentials of Food Microbiology. Arnold, London, England.

Gortner, W.A., G.G. Dull, and B.H. Krauss. 1967. Fruit development, maturation, ripening and senescence : A biochemical basis for horticultural terminology. Hort Sci. 2:141 – 144.

Hardie, J. M. And R. A. Whiley. 1995. The genus Streptococcus. In Wood B.J.B. and Holzapfel W.H. (eds.). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Chapman and Hall, Glasgow. pp. 75-124

Lazic, Z.R. 2004. Design of experiments in chemical engineering-A practical guide, WILEYVCH, Velag GmbH and Co. KgaA, Wein heim.

Moore, D. J. and J.C. Caygill. 1979. Proteolytic activity of Malaysian pineapples. Trop. Sci.21 (2):97–103.SAS. 1988. SAS USER's Guide:Statistics. SAS Institute Inc., North Carolina. 584 p.

Olfa, G.B., Noomen, H., Kemel, J., Islem, Y., Hana, M., Ridha, H. and Moncef, N. 2011. Shrimp waste fermentation with Pseudomonas aeruginosa A2: Optimization of chitin extraction conditions through Plackett–Burman and response surface methodology approaches. International Journal of Biological Macromolecules. 48, 596 – 602.

Stiles, M. E. And W. H. Holzapfel.1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. Food Microbiol. 36 : 1-29.

Teuber, M. 1995. The genus Lactococcuss, pp. 134-173. In B.J. B. Wood and W. H. Holzapfel (eds.). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Chapman and Hall, Glasgow.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนวิธีเจลดาลห์ (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่นโปรตีน (semi-micro distillation apparatus)
3. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
5. ปิเปต (pipette)
6. บิวเรต (burette)
7. ลูกแก้ว
8. กระดาษกรอง (filter paper)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยาใช้คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 1 ส่วนต่อโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 32 ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ละลายกรดบอริก 20 กรัมด้วยน้ำกลั่นปรับ ปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
5. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
6. อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution ชั่งเมทิลีนบลู 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 200 มิลลิลิตร และชั่ง เมทิลเรด 0.05 กรัมละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร โดยนำมา ผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน : เอทานอล 1 ส่วน:น้ำกลัน. 2 ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำหลอดย่อยโปรตีนไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อย ในตู้ควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

3. นำไปเข้าเครื่องกลั่นโปรตีน โดยเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. รองรับสิ่งที่กลั่น ได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

5. เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

6. กลั่นให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดบอริก

7. กลั่นจนได้สารละลายในขวดจับแก๊สประมาณ 250 มิลลิลิตร

8. กลั่น. ประมาณ 10 นาทีล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่น ลงในขวดรองรับ

9. ไทเทรตสารละลายที่กลั่น ได้ ซึ่งมีสีฟ้าใส กับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

10.ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

สูตรการคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีน

$$\text{ปริมาณโปรตีน}(\%) = \frac{(a-b) \times N \times 14 \times \text{factor}}{W}$$

เมื่อ

a คือ ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

b คือ ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็น blank เป็นมิลลิลิตร

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเป็นนอร์มัล

W คือ น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม

Factor = 6.25

(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.วิธีวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น (desiccator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลง แล้วนำออกจากเตาเผา ใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่ง อุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่าอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณเถ้าให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปเผาในตู้ดวันจนควันหมด แล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่ 600 องศาเซลเซียส แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา}) - (\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}) \text{ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)}} \times 100$$

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้}}{1.8}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า (electric oven)
2. โถดูดความชื้น (desiccator)
3. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (moisture can)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งได้จนกระทั่ง อุณหภูมิของภาชนะลดลง เท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่ง น้ำหนักอีกครั้ง

2. ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง สองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับ
อุณหภูมิห้องแล้วชั่ง น้ำหนักตัวอย่าง

4. อบซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง ทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

การกำจัดโปรตีน

$$DP\ (\%) = \frac{(PO \times O)\ (PR \times R)}{PO \times O} \times 100$$

โดย PO คือ มีปริมาณโปรตีน (กรัม / กรัม) ก่อนการหมัก

PR คือ มีปริมาณโปรตีน (กรัม / กรัม) หลังการหมัก

การกำจัดแร่ธาตุ

$$DM\ (\%) = \frac{(AO \times O)\ (AR \times R)}{AO \times O} \times 100$$

โดย AO คือ น้ำหนักเถ้า (กรัม / กรัม) ก่อนการหมัก

AR คือ น้ำหนักเถ้า (กรัม / กรัม) หลังการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย

1. รายละเอียดงบประมาณที่เสนอขอ

รายละเอียดงบประมาณที่เสนอขอ

1. ค่าใช้สอย ค่าเดินทาง 5,000 บาท
2. ค่าวัสดุ วัตถุดิบ สารเคมี เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ 25,000 บาท

รวม 30,000 บาท

19. แผนการใช้จ่ายเงิน

รายการ	วงเงินที่ใช้แต่ละเดือน											
	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.
ค่าใช้สอย			2,000	2,000				1,000				
ค่าวัสดุ			13,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000			2,000	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
รายละเอียดผลผลิตงานวิจัยที่ผลิตได้

การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1, 7 กันยายน 2555
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ PT-35

สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้ง โดยการใช้กรดแลคติกและเอนไซม์โบรมีเลน

Optimization conditions of demineralization and deproteination from shrimp shell by lactic acid and bromelain

ธงชัย พุฒิทองสิริ[1] ศริมน ทองคำ[1] สุกัญญา ทองอรุณ[1] และสุดาวรรณ ทองขัน[1]
Tongchai Puttongsiri[1] Sarimon Tongkam[1] Sukanya Thong-arune[1] Sudawan Thongkhan[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ และโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้กรดแลคติก และเอนไซม์โบรมิเลน โดยใช้เทคนิคพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface methodology) วางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) ในการหาสภาวะที่เหมาะสม โดยศึกษาผลของอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อสารละลายกรดแลคติก(1:10-1:30) และระยะเวลาในการแช่ (3-7 วัน) ต่อการกำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้ง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ คือ อัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อสารละลายกรดแลคติกเป็น 1 ต่อ 30 และใช้เวลาในการแช่เปลือกกุ้งที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 วัน มีการกำจัดแร่ธาตุได้ร้อยละ 81.40 และการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน (0-2%) และระยะเวลาในการแช่ (30-90 นาที) ต่อการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้ง พบว่าการใช้ของเอนไซม์โบรมิเลนความเข้มข้นร้อยละ 0.66 ใช้ระยะเวลาการแช่ 30 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมสามารถกำจัดโปรตีนได้ร้อยละ 49.00

คำสำคัญ: การกำจัดแร่ธาตุ การกำจัดโปรตีน กรดแลคติก เอนไซม์โบมิเลน

Abstract

Optimum conditions for demineralization and deproteination from shrimp shells by lactic acid and bromelain were studied. Response surface methodology and central composite design (CCD) were applied in order to determine the optimal condition. The response effect of ratio of shrimp to 1% of lactic acid (1:10-1:30) and soaking time (3-7 days) on demineralization was investigated. The optimized condition for demineralization were found to be a ratio of 1:30 and soaking time for 3 days, which rendered the value of demineralization of 81.40%. The effect of concentration of bromilain (0-2%) and soaking time (30-90 min) on deproteination was investigated. Bromilain concentration at 0.66% and soaking time for 30 min, were found to be the optimal conditions to obtain a deproteination of 49.00%.

Keyword: demineralization, deproteinization, lactic acid, bromelain

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[1] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

บทนำ

ประเทศไทยมีการเลี้ยงกุ้งและส่งออกกุ้งในรูปแบบต่าง ๆ เช่น กุ้งสดแช่แข็ง กุ้งชุบแป้งทอด และ กุ้งกระป๋อง เป็นต้น ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งมักมีหัว และเปลือกกุ้งเป็นส่วนที่เหลือทิ้งเสมอ ซึ่งส่วนที่เหลือทิ้งจะคิดเป็นประมาณร้อยละ 50 ของกุ้งทั้งตัว จะเห็นว่าเกิดของเสียจากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งเป็นจำนวนมาก ที่ผ่านมามีงานวิจัยที่มีการนำของเสียที่เกิดขึ้นมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย เช่น การสกัดโปรตีนจากหัวกุ้ง และการนำเปลือกกุ้งมาสกัดเป็นไคตินและไคโตซาน เป็นต้น โดยเฉพาะไคโตซานซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์ มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา และใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีการนำไคตินและไคตตซานมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่นอาหาร เครื่องสำอางค์ ยา สิ่งทอ และมีการนำมาใช้ทางการแพทย์ เป็นต้น (Al Sagheer *et al.*, 2009) ขั้นตอนการผลิตไคตินที่สำคัญประกอบด้วยกระบวนการกำจัดโปรตีน และเกลือแร่ โดยกระบวนการกำจัดโปรตีนจะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมล และการกำจัดเกลือแร่และแร่ธาตุต่าง ๆ ใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.25 ถึง 1.00 โมล จะเห็นได้ว่ากระบวนการผลิตไคตินที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเป็นกระบวนการที่ค่อนข้างรุนแรง และอาจเกิดผลเสียกับสิ่งแวดล้อมได้ถ้าไม่มีการจัดการที่ดีพอ ปัจจุบันมีการศึกษาการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งด้วยกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *lactobacillus spp.* ซึ่งสามารถกำจัดเกลือแร่ และโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งได้ร้อยละ 69 และ 89 ตามลำดับ (Prameela *et al.*, 2010) Jung *et al.*, 2005 รายงานว่าการใช้การหมักให้ได้กรดแลคติกมีผลในการกำจัดโปรตีนออกจากเปลือกปูได้บางส่วนโดยเกิดจากเอนไซม์โปรติเอสที่เชื้อสร้างขึ้น และการกำจัดเกลือแร่ออกจากเปลือกปูได้นั้นเกิดจากกรดแลกติกทำปฏิกิริยากับแคลเซียมคาร์บอเนตแล้วได้แคลเซียมแลกเตรท ซึ่งสามารถแยกออกได้ด้วยวิธีการล้าง อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาการใช้กรดแลคติก และเอนไซม์โบรมิเลนในการกำจัดแร่ธาตุ และโปรตีนในเปลือกกุ้งมาก่อน

พื้นผิวตอบสนองเป็นเทคนิคที่สามารถใช้ในการหาสภาวะการผลิต สูตร หรือส่วนผสมที่เหมาะสมได้ (Gan *et al.*, 2007) และในการพิจารณาหาสภาวะที่เหมาะสมจากค่าตอบสนองที่ได้สามารถใช้ค่า desirability function ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0-1 ได้ (Derringer and Suich, 1980) ในงานวิจัยนี้จึงสนใจการนำกรดแลคติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกับกรดแลคติกที่ผลิตได้ในกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์โบรมิเลนมาใช้ในการกำจัดแร่ธาตุ และโปรตีน ออกจากเปลือกกุ้งโดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนองในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ และโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งเพื่อให้ได้ไคตินที่สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ โดยการใช้กระบวนการแยกที่ไม่ใช้สารเคมีที่รุนแรงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ นอกจากนั้นยังเป็นผลดีกับสิ่งแวดล้อมด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบและสารเคมี

เปลือกกุ้งสด (*Litopenaeus Vannamei*) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ซีพีผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) มหาชัย นำเปลือกกุ้งมาล้างให้สะอาดหลังจากนั้นอบแห้งเป็นเวลา 1 คืน อุณหภูมิ 70องศาเซลเซียส แล้ว นำไปบดละเอียด

เอนไซม์โบมิเลน ของบริษัท Sigma USA. (activity 5.00-15.00 U/mgP)

กรดแลคติก ของบริษัท Scharlau Spain

2. ศึกษาสภาวะการจำกัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้กรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 1% แล้วนำเปลือกกุ้งที่อบแห้งและบดแล้วมาแช่ในสารละลายกรดแลคติกในอัตราส่วน (1:10-1:30) (X_1) โดยใช้เวลาในการหมัก (3-7 วัน) (X_2) จากนั้นนำตัวอย่างเปลือกกุ้งที่ได้มาวิเคราะห์ 3 :ซ้ำ

- ปริมาณเถ้า (AOAC, 1998)

วางแผนการทดลอง Response surface methodology (RSM) แบบ Central Composite Design (CCD) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดเกลือแร่ในเปลือกกุ้งโดยใช้กรดแลคติก

3. ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

นำเปลือกกุ้งที่กำจัดแร่ธาตุแล้วมาทำการกำจัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลนที่มีความเข้มข้น (0-2%) (X_1) ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (30-90 นาที) (X_2) โดยใช้อัตราส่วน (1:6) ปรับพีเอช เท่ากับ 9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1N นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ 3 :ซ้ำ

- ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1998)

วางแผนการทดลอง Response surface methodology (RSM) แบบ Central Composite Design (CCD)เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาสภาวะการจำกัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้กรดแลคติก

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุจากเปลือกกุ้งโดยใช้การวางแผนการทดลอง Response surface methodology แบบ central composite design โดยมี 13 การทดลองและมี 2 ปัจจัย คือ เวลา (X_1) และอัตราส่วน (X_2) เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 1 ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Central composite design and response value.

Run	Coded		Uncoded		Response
	X_1	X_2	Time (days)	Ratio (w/v)	DM (%)
1	1	1	7	30	76.61
2	-1	0	3	20	67.28
3	1	-1	7	10	77.44
4	-1	-1	3	10	65.21
5	-1	1	3	30	81.78
6	0	0	5	20	70.45
7	0	0	5	20	66.97
8	0	-1	5	10	69.11
9	0	1	5	30	76.64
10	0	0	5	20	71.03
11	1	0	7	20	68.06
12	0	0	5	20	70.35
13	0	0	5	20	70.39

DM = Demineralization

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาก Table 1 พบว่าเมื่อใช้สภาวะในการกำจัดแร่ธาตุที่แตกต่างกันจะมีผลต่อระดับการกำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้ง โดยจะมีค่าเฉลี่ยปริมาณการกำจัดแร่ธาตุอยู่ในช่วงร้อยละ 65.21-81.78 จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก ดัง Table 2 พบว่ามี model ที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากค่า *P*-value ของ lack of fit มีค่าเท่ากับ 0.2401 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และค่า R^2 และ Adj R^2 เท่ากับ 0.9061 และ 0.8391 ตามลำดับ โดยมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง ดังนั้นเราจึงสามารถใช้วิธี RSM วิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติกได้ และพบว่าอัตราส่วนที่ใช้มีผลต่อการกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนเวลาไม่มีผลต่อการกำจัดแร่ธาตุ และสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จาก RSM ของค่าการกำจัดแร่ธาตุแสดงดังสมการที่ 1 สามารถนำมาสร้างแผนภาพคอนทัวร์พลอต (Fig 1) ซึ่งแสดงผลของเวลาและอัตราส่วน เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 1 และสามารถนำสมการมาทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุได้ดัง Table 3 คือ เวลา 3 วัน ที่อัตราส่วน 1: 10 และได้ค่าการกำจัดแร่ธาตุร้อยละ 81.40 และมีค่า Desirability เท่ากับ 0.992 และการกำจัดแร่ธาตุที่ได้จากการทดลองจริงโดยใช้สภาวะนี้มีการกำจัดแร่ธาตุได้ร้อยละ 81.78 และค่าการกำจัดแร่ธาตุที่ได้สูงกว่าการทดลองของ Prameela *et al.* (2010)

Table 2 Analysis of variance of independent variable on the response variable for demineralization

Source	Df	MS
Model	5	53.02**
X_1-time	1	10.24
X_2-ratio	1	90.25**
$X_1 X_2$	1	75.69**
X_1^2	1	0.0025
X_2^2	1	75.69**
Residual	7	3.92
Lack of Fit	3	5.62
Pure Error	4	2.65
Cor Total	12	
R-Squared	-	0.9061
Adj R-Squared	-	0.8391

* significant at $p \leq 0.05$ ** significant at $p \leq 0.01$ *** significant at $p \leq 0.001$

สมการทำนายสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดแร่ธาตุโดยใช้กรดแลคติก

$$\%DM = 57.5642 + 4.9283X_1 - 0.6187X_2 - 0.2175\,X_1X_2 + 0.0075X_1^2 + 0.0524X_2^2 \quad (1)$$

เมื่อ X_1 คือ เวลา X_2 คือ อัตราส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3 Optimization of deminelization

Response variable	Goal	Lower	Upper	Predicted Responses	Desirability
DM(%)	maximize	65.21	81.78	81.40	0.992

สภาวะที่เหมาะสม : ระยะเวลาหมัก = 3 วัน และอัตราส่วน = 1:30 เมื่อใช้กรดแลคติกเข้มข้น 1 %

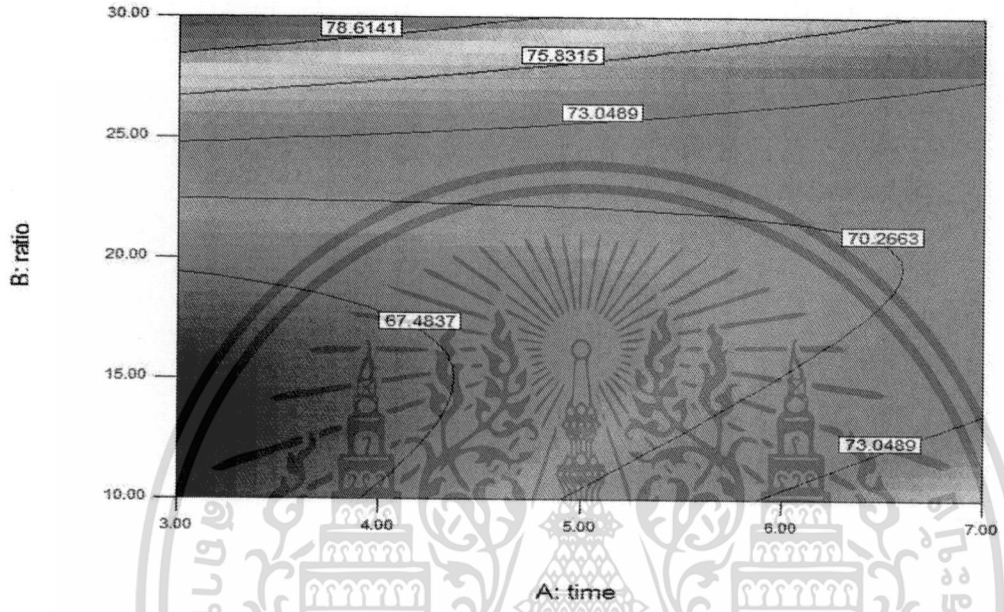


Fig 1 Contour plots for the effect of lactic acid ratio (X_1) and time (X_2) on demineralization.

2. ศึกษาสภาวะการจำกัดโปรตีนในเปลือกกุ้งที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์โบรมีเลน

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งโดยใช้การวางแผนการทดลอง RSM โดยมี 13 การทดลอง และมี 2 ปัจจัย คือ เวลา (X_1) และความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลน (X_2) เมื่อใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อน้ำหมัก 1:6 ดัง Table 4

จาก Table 4พบว่าเมื่อใช้สภาวะในการกำจัดแร่ธาตุที่ต่างกันจะมีผลต่อปริมาณการกำจัดแร่ธาตุในเปลือกกุ้งหลังการสกัดแยก โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณการกำจัดอยู่ในช่วงร้อยละ 24.60-57.59 จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน พบว่ามีโมเดลที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากค่า *P*-value ของ lack of fit มีค่าเท่ากับ 0.6012 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ ค่า R^2และ Adj R^2 เท่ากับ 0.9480 และ 0.9877 ตามลำดับ (Table 5) ดังนั้นเราจึงสามารถใช้วิธี RSM วิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนได้ โดยจากผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนมีอิทธิพลต่อการกำจัดแร่ธาตุ คือ เมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนทำให้แนวโน้มของการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่วนเวลาไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน เมื่อนำสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จาก RSM ของค่าการกำจัดโปรตีนดังสมการที่ 2 สามารถนำมาสร้างแผนภาพคอนทัวร์พลอตดัง Fig 2 พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนมีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลนทำให้แนวโน้มของการกำจัดโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเวลาที่ใช้พบว่าไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พรรณภา (2545) ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการแช่ไม่ได้ทำให้การกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปริมาณเอนไซม์โบรมีเลนคงที่ และเมื่อทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีน พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 นาที ความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลนร้อยละ 0.66 และอัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อน้ำหมัก 1:6 ทำให้เกิดการกำจัดโปรตีนประมาณร้อยละ 49.00 โดยมีค่า Desirability เท่ากับ 0.792 (Table 6) จากผลการทดลองสอดคล้องกับ Mizani and Aminlari (2007). เมื่อใช้เอนไซม์อัลคาเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.5 กำจัดโปรตีนในหัวกุ้งสามารถกำจัดโปรตีนได้ร้อยละ 45.7

Table 4 Central composite design and response value.

Run	Coded		Uncoded		Response
	X_1	X_2	Time (min)	Concentration (%)	DP(%)
1	0	-1	60	0	51.09
2	0	0	60	1	52.93
3	0	0	60	1	28.94
4	-1	-1	30	0	24.60
5	-1	1	30	2	54.66
6	1	0	90	1	47.00
7	-1	0	30	1	57.59
8	0	0	60	1	56.34
9	1	-1	90	0	33.55
10	0	1	60	2	56.20
11	0	0	60	1	50.59
12	0	0	60	1	50.45
13	1	1	90	2	53.57

DP = Deproteinization

Table 5 Analysis of variance of independent variable on the response variable for deproteination

Source	Df	DP
Model	5	278.34***
X_1-time	1	9.73
X_2-concentation	1	868.32***
X_1X_2	1	30.86
X_1^2	1	20.57
X_2^2	1	466.84***
Residual	7	10.91
Lack of Fit	3	8.73
Pure Error	4	12.54
Cor Total	12	-
R-Squared	-	0.9480
Adj R-Squared	-	0.9108

* significant at $p \leq 0.05$ ** significant at $p \leq 0.01$ *** significant at $p \leq 0.001$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการของสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โบรมีเลน

$$\%DP = 41.1349 - 0.4140X_1 + 32.4770 X_2 + 0.0926X_1X_2 + 0.0030 X_1^2 - 13.0010X_2^2 \quad (2)$$

เมื่อ X_1 คือ เวลา

X_2 คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมีเลน

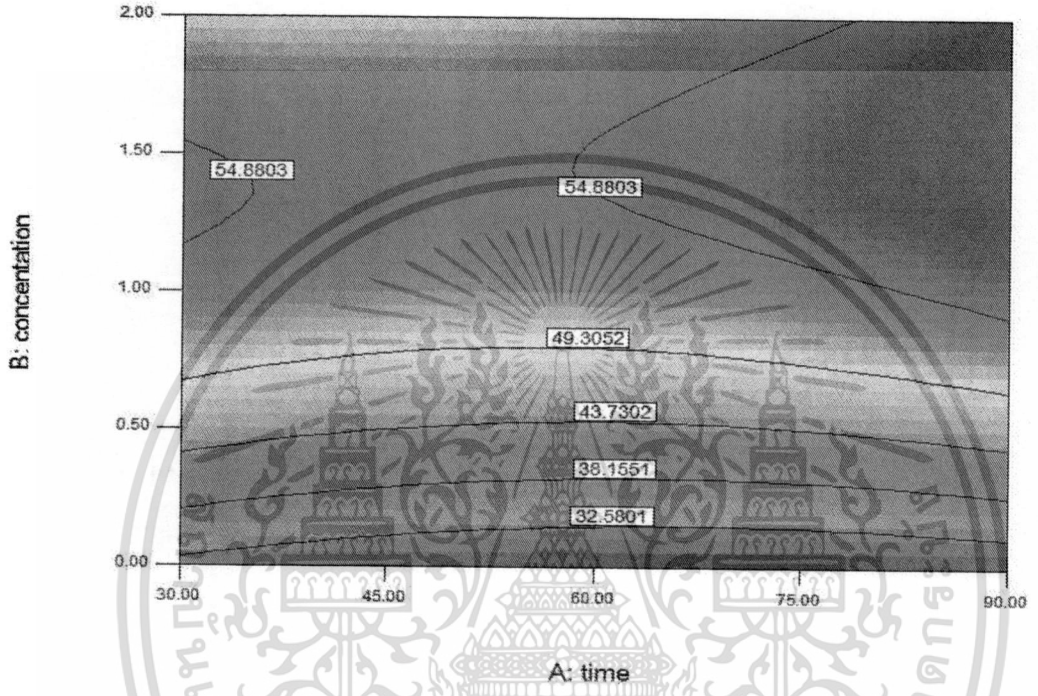


Fig 2 Contour plots for the effect of concentration of bromelain (X_1) and time (X_2) on deproteination.

Table 6 Optimization of deproteination

Response variable	Goal	Lower	Upper	Predicted Responses	Desirability
DP(%)	maximize	24.6	57.59	49.00	0.792

สภาวะที่เหมาะสม : เวลา= 30 นาที ความเข้มข้น = 0.66 % เมื่อใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อน้ำหมัก 1:6

สรุปผลการทดลอง

สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ คืออัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อสารละลายกรดแลคติกเป็น 1 ต่อ 30 และใช้เวลาในการแช่เปลือกกุ้งที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 วัน โดยมีการกำจัดแร่ธาตุออกจากเปลือกกุ้งได้ร้อยละ 81.40 ส่วนการกำจัดโปรตีนในเปลือกกุ้งด้วยเอนไซม์โบรมีเลน พบว่าสภาวะในการกำจัดโปรตีนที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์โบมิเลนร้อยละ 0.66 ใช้เวลา 30 นาที ซึ่งสามารถกำจัดโปรตีนออกจากเปลือกกุ้งได้ร้อยละ 49.00 เปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนแล้วจะได้ไคตินที่สามารถนำไปผลิตเป็นไคโตซานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุนวิจัยเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

เอกสารอ้างอิง

พรรณนภา ตันติศิรินทร์. 2545. การปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนจากรำ สกัดโดยใช้สารละลายด่างและเอนไซม์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

AOAC. 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. AOAC International. Maryland, USA.

Al Sagheer, F.A., Al-Sughayer, M.A., Muslim, S. and Elsabee, M.Z. 2009. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. Carbohydrate Polymers. 77: 410–419

Derringer, G. and Suich, R. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. J. Quality Tech. 12: 214-219.

Gan, H.E. Karim, R., Muhammad, S.K.S., Bakar, J.A., Hashim, D.M. and Rahman. R. Abd. 2007. Optimization of the basic formulation of a traditional baked cassava cake using response surface methodology. LWT. 40: 611-618.

Jung, W. J., Kuk, J. H., Kim, K. Y. and Park, R. D. 2005. Demineralization of red crab shell waste by lactic acid fermentation, Appl. Microbiol. Biotechnol., 67: 851–854

Mizani, A.M. and Aminlari, B.M. 2007. A New Process for Deproteinzation of Chitin from Shrimp Head Waste Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6) Copenhagen, 16-20 September 2007

Prameela, K., Mohan, Ch. M., Smitha, P.V. and Hemalatha, K.P.J.2010. Bioremediation of shimp biowaste by using natural probiotic for chitin and carotenoid production alternative method to hazardous chemical method. Int. J. Appl. Bio. Pharm. Technol. 3: 903-910

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายธงชัย พุฒทองศิริ

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D. (Food Science)	Food Science	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang	2010
วท.ม.	วิทยาศาสตร์การอาหาร	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2546
วท.บ.	อุตสาหกรรมเกษตร	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2542

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ

- การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ผัก ผลไม้
- การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมอาหาร
- ไคติน ไคโตซาน

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. การปรับปรุงกระบวนการผลิต และการเก็บรักษาปลาสลิดแดดเดียวด้วยสารไคโตซาน
2. การพัฒนากระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกกุ้งโดยการใช้เอนไซม์และกรดแลกติก
3. การยืดอายุการเก็บปลาสลิดแดดเดียวด้วยไคโตซาน

ผลงานวิจัย

Noijaiboon, D and **Puttongsiri, T**. 2012. "Iodine Supplement in Dried Salted Sepat Siam (*Trichogaster pectoralis*)," *The 14th FOOD INNOVATION ASIA CONFERENCE 2012*. BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. 14 th-15 th June 2012

Puttongsiri, T, Choosakul, N and Sakulwilaingam, D. 2012 Moisture Content and Physical Properties of Instant Mashed Potato. Oral presentation *In* Proceedings of 2012 International Conference on Nutrition and Food Sciences (ICNFS 2012) Singapore, 23th-24th July, 2012.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Puttongsiri, T., Kerdpiboon, S., Vichitraka, A. 2012. "Shelf life extension of semi dried Sepat-Siam (*Trichogaster pectoralis*) using of Chitosan," *International Conference on Food and Applied Bioscience: The 3rd Agro-Industry Conference, Chiang Mai University*, Chiang Mai, Thailand. 6th-7th February, 2012.

Puttongsiri, T and Haruenkit R.. 2010. Formulation of Chitosan-Oleic Acid Coating for Kiew Wan Tangerine by Response Surface Methodology. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 44 : 462 – 470

Puttongsiri, T and Haruenkit, R. 2010. Changes in Ascorbic Acid, Total Polyphenolic Acids and Antioxidant Activity in Juice Extracted from Coated Kiew Wan Tangerine During Storage at 4, 12 and 20°C Kasetsart J. (Nat. Sci.) 44(2) : 280 – 289

ธงชัย พุฒทองศิริ กาญจนา ช้างสุวรรณ์ คันธารัตน์ สาทอง และ ณัฐธิดา สระภู. 2554. การยืดอายุการเก็บเต้าหู้นมสดโดยใช้ไคโตซาน. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร. 5 (2). 139-152

ธงชัย พุฒทองศิริ ณัฏฐิกา ชูสกุล และ ดวงรัตน์ สกุลวิไลงาม. 2555. มันฝรั่งบดสำเร็จรูป. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อนครั้งที่ 6. วันที่ 26-27 กรกฎาคม 2555. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร.

ธงชัย พุฒทองศิริ ศริมน ทองคำ สุกัญญา ทองอรุณ และ สุดาวรรณ ทองขัน. 2555. สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีนในเปลือกกุ้งโดยการใช้กรดแลคติก และเอนไซม์โบรมีเลน. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

ธงชัย พุฒทองศิริ ธรรมนูญ ขาวหิรัญ และ โสภิดา พุ่มแจ้ง. 2555. สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนและแร่ธาตุจากเปลือกกุ้งด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริก. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

ดุษฎี น้อยใจบุญ **ธงชัย พุฒทองศิริ** และ นันทยา จงใจเทศ. 2555. การศึกษาสภาวะและอายุการเก็บรักษาปลาสลิดแดดเดียวเสริมไอโอดีน. นำเสนอผลงาน งานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. วันที่ 7 กันยายน 2555. โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้