# ผลของระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงและโปรตีนจิ้งหรีด

# Functional properties of protein hydrolysates from cricket powder and its protein paste as influenced by hydrolysis times.

ณัฐชา วรรณสี
วชิรญาณ์ อิ่มทะเล
ศศิประภา ตั้งวิริยะ

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

## ผลของระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงและโปรตีนจิ้งหรีด

## Functional properties of protein hydrolysates from cricket powder and its protein paste as influenced by hydrolysis times.


จัดทำโดย

| | | | |
|---|---|---|---|
| ณัฐชา | วรรณสี | รหัสนักศึกษา | 58080096 |
| วชิรญาณ์ | อิ่มทะเล | รหัสนักศึกษา | 58080131 |
| ศศิประภา | ตั้งวิริยะ | รหัสนักศึกษา | 58080137 |


ได้รับความเห็นชอบจาก

.....สุพีรยา อาษา..... .....31/พ.ค./2562.....

( ดร.สุพีรยา อาษา )

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| หัวข้อปัญหาพิเศษ | ผลของระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงและโปรตีนจิ้งหรีด | | | |
| ชื่อนักศึกษา | ณัฐชา | วรรณสี | รหัสนักศึกษา | 58080096 |
| | วชิรญาณ์ | อิ่มทะเล | รหัสนักศึกษา | 58080131 |
| | ศศิประภา | ตั้งวิริยะ | รหัสนักศึกษา | 58080137 |
| หลักสูตร | วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม | | | |
| พ.ศ. | 2562 | | | |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ดร.สุพีรยา อาษา | | | |

## บทคัดย่อ

ในปัจจุบันประชากรโลกกำลังมีการเติบโตในอัตราที่คาดการณ์ว่าการเกษตรแบบเดิมจะไม่สามารถจัดหาอาหารที่มีคุณภาพได้ การวิจัยเรื่องการรับประทานแมลง (Entomophagy) ในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่าแมลงเป็นทางออกที่ดีของการแก้ปัญหานี้ ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของผงจิ้งหรีด (Powder) และโปรตีนจิ้งหรีด (Paste) โปรตีนไฮโดรไลเสตจากจิ้งหรีด โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) 1.0% (w/v) ในการย่อยตั้งแต่ 0 ถึง 240 นาที ทำการวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน และความชื้น ระดับการย่อย (Degree of hydrolysis ,DH) พื้นที่ผิวส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Surface hydrophobicity) รวมถึงสมบัติเชิงหน้าที่ คือสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier properties) และสมบัติการเกิดโฟม (Foaming properties) ผลการวิเคราะห์พบว่าโปรตีนของ powder เท่ากับร้อยละ 61.06 และ paste เท่ากับร้อยละ 66.60 (น้ำหนักแห้ง) ความชื้นของ powder เท่ากับร้อยละ 2.04 และ paste เท่ากับร้อยละ 70.41 และไขมันของ powder เท่ากับร้อยละ 28.76 และ paste เท่ากับร้อยละ 32.12 (น้ำหนักเปียก) นอกจากนี้พบว่า DH ของไฮโดรไลเสตจาก powder และ paste มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาในการย่อยไม่สามารถปรับปรุงการเกิดอิมัลชันและการเกิดโฟมได้ทั้งในตัวอย่างที่เป็น powder และ paste ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน พบว่าระยะเวลาในการย่อยไม่มีผลต่อพื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำของ powder และใน paste ระยะเวลาในการย่อยที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าพื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase โดยระยะเวลาการย่อยที่เพิ่มขึ้นไม่สามารถปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ได้

คำสำคัญ: โปรตีนไฮโดรไลเสต สมบัติเชิงหน้าที่ จิ้งหรีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| Special problem title | Functional properties of hydrolysate from cricket powder and its protein paste as influenced by hydrolysis times. |
| Student name | Nattacha Wannasee Student ID 58080096 |
| | Wachiraya Imthalay Student ID 58080131 |
| | Sasiprapa Tangviriya Student ID 58080137 |
| Program | Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology |
| Year | 2019 |
| Advisor | Dr.Supeeraya Arsa |


## ABSTRACT

Currently, the world population is growing at a rate which predicts that conventional agriculture will be eventually unable to provide the required amount of quality food. Current research into entomophagy or the eating of insects indicates that insects were a potential economical and nutritional solution to this concern. Therefore, functional properties of protein hydrolysates from crickets (Powder) and crickets protein preparation (Paste) using enzyme alcalase 1.0%(w/v) and using different hydrolysis times were determined. Analyzed the protein hydrolysate of powder and paste Chemical composition (Protein, Moiture, and Fat), degree of hydrolysis (DH) and surface hydrophobicity. Moreover, emulsifier properties and foaming properties of the hydrolysate were determined. Crude protein of powder was 61.06% (dry base) and paste 66.60% (dry base) Moisture of powder was 2.04% and paste 70.41% and Fat of powder was 28.76% and paste 32.12% . Moreover, the results of powder and paste hydrolysates revealed that DH values were increased as increasing hydrolysis times. Moreover, enzymatic hydrolysis of powder and paste could not improve emulsifier properties and foaming properties. Furthermore, investigate surface hydrophobicity of powder hydrolysate was found hydrolysis time could not were increased but in paste were decreased as increasing hydrolysis time. The results of powder and paste hydrolysate showed that hydrolysis time could not improve emulsifier properties and foaming properties.


Keyword: Protein hydrolysates, Functional properties, Crickets

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ดร.สุพีรยา อาษา ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์นี้ ซึ่งได้เสียสละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ เรื่องอย่างเต็มที่จนกระทั่งงานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประมวล ศรีกาหลง ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์และกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติม ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจและคำปรึกษา ขอบคุณเพื่อน ๆ ในคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้ความช่วยเหลือเสมอทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ของคณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน สำหรับการอำนวยความสะดวกและความช่วยเหลือต่าง ๆ ในการวิจัย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ รวมถึงญาติพี่น้องทุกท่าน สำหรับความรัก ความห่วงใย การให้กำลังใจและความสนับสนุนด้วยดีตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

ณัฐชา วรรณสี
วชิรญาณ์ อิ่มทะเล
ศศิประภา ตั้งวิริยะ
15 พฤษภาคม 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | I |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | II |
| กิตติกรรมประกาศ | III |
| สารบัญ | IV |
| สารบัญตาราง | VI |
| สารบัญภาพ | VII |
| บทที่ 1 บทนำ | |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา | 2 |
| 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 2 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | |
| 2.1 จิ้งหรีด | 3 |
| 2.2 โปรตีนแมลง | 6 |
| 2.3 โปรตีนไฮโดรไลเสต | 7 |
| 2.4 ระดับการย่อยสลายโปรตีน (Degree of hydrolysis, DH) | 9 |
| 2.5 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสต | 11 |
| บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง | |
| 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี | 14 |
| 3.2 อุปกรณ์ | 14 |
| 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง | 15 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ | |
| 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด | 19 |
| 4.2 ผลของระดับการย่อยของโปรตีนจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด | 19 |
| 4.3 ผลของสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด | 20 |
| 4.4 ผลของค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด | 24 |
| บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ | 25 |
| บรรณานุกรม | 26 |
| ภาคผนวก | |
| ภาคผนวก ก | 30 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| ภาคผนวก ข | 35 |
| ประวัติผู้เขียน | 38 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | คุณค่าอาหารของแมลงชนิดต่างๆ ต่อแมลง 100 กรัม | 6 |
| 2.2 | หลักการวิเคราะห์ระดับการย่อยโปรตีน | 10 |
| 4.1 | ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด | 19 |
| 4.2 | ระดับการย่อยของโปรตีนจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด | 20 |
| 4.3 | ดัชนีในการเกิดอิมัลชัน (EAI) ของโปรตีนไฮโดรไลเสต | 21 |
| 4.4 | ดัชนีความคงตัวของอิมมัลชัน (ESI) ของโปรตีนไฮโดรไลเสต | 22 |
| 4.5 | ความสามารถในการเกิดโฟม (FE) ของโปรตีนไฮโดรไลเสต | 23 |
| 4.6 | ความคงตัวของโฟม (FS) ของโปรตีนไฮโดรไลเสต | 23 |
| 4.7 | ผล surface hydrophobicity ของโปรตีนไฮโดรไลเสต | 24 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | จิ้งโกร่ง | 4 |
| 2.2 | จิ้งหรีดทองดำ | 4 |
| 2.3 | จิ้งหรีดทองแดง | 5 |
| 2.4 | จิ้งหรีดทองลาย | 5 |
| 2.5 | วิธีการย่อยของเอนโดเปปติเดสและเอกซ์โซเปปติเดส | 9 |
| ข.1 | ภาพตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย | 35 |
| ข.2 | ภาพแสดงขั้นตอนการไฮโดรไลเสต | 35 |
| ข.3 | ภาพแสดงตัวอย่างหลังการไฮโดรไลซ์ | 36 |
| ข.4 | ภาพแสดงการสกัดโปรตีน | 37 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) รายงานว่าประชากรโลกในปัจจุบันมีจำนวนทั้งสิ้น 7 พันล้านคน และมีแนวโน้มเติบโตขึ้นเป็น 9 พันล้านคนภายในปี 2563 ซึ่งคาดการณ์ว่าการเกษตรแบบเดิมจะไม่สามารถจัดหาอาหารที่มีคุณภาพได้ และเนื่องจากความต้องการในด้านโภชนาการเพิ่มมากขึ้น การสำรวจแหล่งโปรตีนอื่น ๆ เช่น แมลง สาหร่าย และเนื้อเยื่อในหลอดทดลองมีแนวโน้มว่าอาจจะเป็นแหล่งอาหารทางเลือกใหม่ นอกจากนี้การวิจัยเรื่อง entomophagy หรือการรับประทานแมลง แสดงให้เห็นว่าแมลงเป็นอาหารทางเลือกที่ดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีความยั่งยืนเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ จึงสามารถเป็นแหล่งอาหารในอนาคตได้ (Hall และคณะ, 2017)

ปัจจุบันพบว่าอัตราการเติบโตของการบริโภคแมลงมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ผู้บริโภคให้การยอมรับมากขึ้น และมีการนำแมลงมาทำแปรรูปและใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร เช่น แท่งโปรตีนที่ทำจากแป้งจิ้งหรีด พาสต้าที่ทำจากจิ้งหรีด คุกกี้ดักแด้ไหม และทาโก้ที่ทำจากตั๊กแตน เป็นต้น นอกจากนี้พบว่าจิ้งหรีดเป็นแมลงเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพและมีโอกาสในการส่งออกสูงโดยเฉพาะตลาดสหภาพยุโรปหรืออียู (EU) มีผู้ประกอบการหลายรายสนใจนำเข้าผลิตภัณฑ์จิ้งหรีดจากประเทศไทยค่อนข้างมาก ทั้งในรูปจิ้งหรีดแช่แข็ง ต้มบรรจุกระป๋อง และจิ้งหรีดอบและบดเป็นผงโปรตีนเพื่อใช้เป็นส่วนผสมอาหาร นอกจากนี้จิ้งหรีดมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีปริมาณโปรตีนสูง ซึ่งจิ้งหรีด 0.3 กิโลกรัม มีปริมาณโปรตีนเทียบเท่ากับเนื้อสัตว์ 1 กิโลกรัม โปรตีนที่ได้จากจิ้งหรีดเป็นโปรตีนเวย์ ไม่มีไขมันตกค้าง เป็นโปรตีนที่ย่อยง่าย ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้สร้างกล้ามเนื้อได้อย่างรวดเร็ว และจิ้งหรีดยังเป็นแมลงที่องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ ยกให้เป็นแหล่งโปรตีนที่มีความยั่งยืน (เพ็ญพิชญา, 2561)

อย่างไรก็ตามถึงแม้แมลงมีปริมาณโปรตีนสูง แต่สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนแมลงยังมีประสิทธิภาพต่ำ ซึ่งสมบัติเชิงหน้าที่เป็นสมบัติของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการนำไปใช้งานในอาหาร โดยความสามารถในการนำโปรตีนไปใช้ในผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ได้แก่ ความสามารถในการละลาย การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟมและการยึดจับกับน้ำและน้ำมัน โดยสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสามารถปรับปรุงได้โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีเปปไทด์ขนาดเล็กลง เป็นการเพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างโปรตีนกับอากาศ น้ำและไขมัน และทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตมีความเป็นประจุและมีปลายสายเป็นกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น (Guowan และคณะ, 2013) เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยโปรตีนได้แก่ เอนไซม์ alcalase เนื่องจากเอนไซม์ alcalase เป็นเอ็นโดเปปติเดส (Endopeptidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายโมเลกุลของโปรตีนได้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับสเตรตที่เป็นเปปไทด์โมเลกุลใหญ่หลายชนิด ทำให้สามารถย่อยโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว (ปราณี, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการย่อยต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงและโปรตีนจิ้งหรีด

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการย่อยผงจิ้งหรีด (Powder) และโปรตีนจิ้งหรีด (Paste) ด้วยเอนไซม์ Alcalase ต่อสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์และความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนไฮโดรไลเสต

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ผลการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากแมลง

2) ผลการวิจัยสามารถส่งเสริมการยอมรับของผู้บริโภคในการใช้แมลงเป็นแหล่งโปรตีนทดแทน

3) สามารถนำผลการวิจัยไปใช้พัฒนาผงแมลงหรือโปรตีนแมลงเพื่อให้เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ และอุตสาหกรรมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 จิ้งหรีด (Cricket)

อาณาจักร: Animalia
ไฟลัม: Arthropoda
ชั้น: Insecta
อันดับ: Orthoptera
อันดับย่อย: Ensifera
วงศ์ใหญ่: Grylloidea
วงศ์: Gryllidae

เป็นแมลงเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่นิยมเลี้ยง และนำมาบริโภคทั่วทุกภาคของประเทศเนื่องจากมีรสชาติอร่อย กรอบ มัน และมีคุณค่าทางอาหารสูง ในอดีตมีการจับจิ้งหรีดธรรมชาติมาบริโภคภายในครัวเรือนหรือส่งจำหน่ายตามชุมชนเท่านั้น แต่เนื่องด้วยเป็นแมลงที่เมื่อนำมาทอดแล้วมีรสกรอบ มัน ทำให้มีคนชื่นชอบมาก จนปัจจุบันมีการเพาะจิ้งหรีดจำหน่ายเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการ และความนิยมที่เพิ่มมากขึ้นในแต่ละวัน

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

จิ้งหรีด เป็นแมลงที่มีลำตัวขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ขาคู่หลังส่วนต้นมีขนาดใหญ่ และแข็งแรง ใช้สำหรับกระโดด ขาคู่หน้ามีขนาดเล็กกว่าขาคู่หลังมาก ใช้สำหรับเดิน และเขี่ยอาหาร มีหนวดยาว 2 เส้น ขนาดเท่าเส้นผมคนเรา ความยาวหนวดประมาณ 3-5 ซม. และมากกว่าลำตัว หนวดมีหน้าที่รับความรู้สึก และรับกลิ่นอาหาร มีปากเป็นแบบกัดกิน ปีกขวาทับปีกซ้าย ปีกคู่หน้าปกคลุมด้วยฟิล์มบางๆ

2.1.2 พันธุ์จิ้งหรีดที่พบในไทย

ชนิดจิ้งหรีด จิ้งหรีดที่พบในประเทศไทย ซึ่งเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย มี 4 ชนิด ดังนี้

1. จิ้งโกร่ง (*Brachtrupes Portentosus Lichtenstein*) จิ้งหรีดชนิดนี้ บางพื้นที่เรียก จิโปม จิ้งกุ่ง จินาย เป็นต้น เป็นจิ้งหรีดขนาดใหญ่ ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ลำตัวทุกส่วนมีสีน้ำตาล ยกเว้นขาคู่หลังส่วนบนมีสีเหลือง และส่วนท้องมีสีครีม โตเต็มวัยลำตัวกว้างประมาณ 1 ซม. ยาวประมาณ 3.5-4.0 ซม. มีหนวดยาว ขุดรูตามดินร่วนปนทราย ภายในรูที่ความลึก 5-10 ซม. มีรูแยก 1 รู เพื่อหลบภัย บริเวณรอยแยกของรูเป็นโพรงใหญ่สำหรับเก็บอาหาร รูหลักยาวประมาณ 30-50 ซม. ลึกประมาณ 20-30 ซม. กลางวันจะปิดปากรู และอาศัยอยู่ภายใน กลางคืนออกหากิน และส่งเสียงร้องดัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาพที่ 2.1** จิ้งโกร่ง

ที่มา: https://pasusat.com

2. จิ้งหรีดทองดำ (*Gryllus Bimaculatus Degeeer*) เป็นจิ้งหรีดขนาดกลาง บางพื้นที่เรียก จิโหลน ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ลำตัวและปีกมีสีดำหรือน้ำตาลปนดำทั้งตัว โตเต็มวัยลำตัวกว้างประมาณ 0.6-0.7 ซม. ยาวประมาณ 2.8-3.0 ซม. มีหนวดยาว ตัวผู้ส่วนหัว และอกมีสีดำ ปีกคู่หน้าย่น ปีกมีสีน้ำตาลออกเหลืองเล็กน้อย โดยเฉพาะโคนปีกที่มีสีเหลืองแกม ส่วนตัวเมียส่วนหัว และอกมีสีดำ ปีกคู่หน้าเรียบ ปีกมีสีดำสนิท โคนปีกมีแต้มสีเหลือง 2 จุด ปลายปีกคู่หลังทั้งตัวผู้ตัวเมียยื่นยาวมากกว่าลำตัว ปลายท้องมีหางยาว 1 คู่ ชอบอาศัยตามกองไม้ กองใบไม้ ร่องดิน ออกหากินในเวลากลางคืน และไม่ขุดรูอาศัย

**ภาพที่ 2.2** จิ้งหรีดทองดำ

ที่มา: https://pasusat.com

3. จิ้งหรีดทองแดง (*Teleogryllus Testaceus Walker*) บางพื้นที่เรียก จิ้งหรีดนิล หรือ จินาย หรือ จิ้งหรีดพม่า เป็นจิ้งหรีดขนาดกลาง ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง โตเต็มวัยลำตัวกว้างประมาณ 0.5-0.6 ซม. ยาวประมาณ 2.5-2.80 ซม. ลำตัวทุกส่วนมีสีน้ำตาลเข้ม บริเวณหัวเหนือขอบตามี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แถบสีน้ำตาลเข้มรูปตัว V ตัวผู้มีสีลำตัวทุกส่วนเข้มกว่าตัวเมีย ด้านล่างท้องมีสีครีม เคลื่อนที่ได้ว่องไว ชอบอาศัยตามกองไม้ กองใบไม้ ร่องดิน ออกหากินในเวลากลางคืน และไม่ขุดรูอาศัย

**ภาพที่ 2.3** จิ้งหรีดทองแดง
ที่มา: https://pasusat.com

4. จิ้งหรีดทองลาย (*Modicogryllus Confirmata Walker*) จิ้งหรีดทองลายหรือนิยมเรียกว่า แมงสะดิ้ง ตัวผู้และตัวเมียมีอายุเต็มวัย 38-60 วัน เป็นจิ้งหรีดขนาดกลาง ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ลำตัวทุกส่วนมีสีเหลืองแกมน้ำตาล มีลักษณะสีเป็นลาย ลำตัวกว้างประมาณ 0.4-0.55 ซม. ยาวประมาณ 2.0-2.5 ซม. ตัวเมียลำตัวมีสีน้ำตาลปนเหลือง ปีกคู่หน้าเรียบมีสีน้ำตาลเป็นลายเส้นชัดเจน ปีกคลุมปลายท้องไม่มิด มีอวัยวะวางไข่คล้ายเข็มสีน้ำตาล ยาวประมาณ 1.2 เมตร ยาวกว่าแพนหางเล็กน้อย ตัวผู้มีสีลำตัวเข้มกว่าตัวเมีย และมีลายแต้มที่หัว ปีกคู่หน้าย่น ปลายท้องมีแพนหาง จิ้งหรีดชนิดนี้ ชอบอาศัยตามกองไม้ กองใบไม้ ร่องดิน ออกหากินในเวลากลางคืน และไม่ขุดรูอาศัย

**ภาพที่ 2.4** จิ้งหรีดทองลาย
ที่มา: https://pasusat.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 วิธีการเลี้ยง

เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ที่แข็งแรงขนาดโต ให้ผสมพันธุ์และวางไข่ในโหลแก้วทรงสูง ใส่ดินที่ก้นโหลสูงประมาณ 1 นิ้ว ใส่หญ้าแห้งเป็นที่หลบซ่อนตัว อาหารที่ให้เป็นหญ้าสดและอาหารไก่ ไฮโปรไวท์ 523 ซึ่งเป็นอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปชนิดเม็ด แต่ละโหลใส่ตัวผู้หนึ่งตัว และตัวเมียสองตัว เมื่อไข่ฟักเป็นตัวจะเอาลงบ่อเลี้ยงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. เทปูนบาง ๆ ที่ก้นบ่อตรงขอบบ่อด้านในบุด้วยพลาสติกบาง ๆ กันไม่ให้แมลงหนี ปลายพลาสติกลงมาประมาณกลางบ่อ รองก้นบ่อด้วยดินบางๆ ประมาณ 1 นิ้ว ใส่หญ้าแห้งวางท่อพีวีซีตัดเป็นท่อสั้น ๆ มัดรวมกัน หรือ ลำไม้ไผ่หรือกระเบื้อง เพื่อให้เป็นที่หลบซ่อนตัวของจิ้งหรีด ปิดฝาบ่อด้วยมุ้งตาข่ายสีฟ้า การให้อาหาร ใช้หญ้าสดและอาหารไก่ หญ้าสด เช่น หญ้าขน ผักปราบ หรือวัชพืชอื่น ๆ พรมน้ำทุก ๆ 3 วัน หรือแล้วแต่สภาพอากาศ อาหารไก่เป็นไฮโปรไวท์ 523 ใส่ในถ้วยพลาสติกวางไว้ในบ่อตอนจิ้งหรีดตัวเล็ก ๆ เปลี่ยนอาหารทุก 7 วัน หลังจากอายุ 1 - 2 เดือน เปลี่ยนอาหารทุก 3 วัน เมื่อจิ้งหรีดโตอายุครบ 1 - 2 เดือน ก็จะเป็นตัวเต็มวัย พร้อมที่จะเก็บไปจำหน่าย หรืออาจใช้ตัวอ่อนที่โตเต็มที่ ก็สามารถที่จะนำไปเป็นอาหารได้ (ทัศนีย์, 2542)

## 2.2 โปรตีนแมลง

แมลงพื้นบ้านที่คนไทยส่วนใหญ่รู้จักและนำมารับประทานบ่อย ๆ ได้แก่ แมลงกินนูน แมลงกุดจี่ แมลงดานา ตัวอ่อนผึ้ง มดแดง ตัวอ่อนของต่อ จิ้งโกร่ง จิ้งหรีด ตั๊กแตนปาทังก้า หนอนเจาะลำต้นอ้อย หนอนม้วนใบกล้วย หนอนกินเยื่อไผ่ แมลงกระชอน แมลงเหนี่ยง แมลงมัน (ตัวเต็มวัย) แมลงค่อมทอง ด้วงติ่ง ดักแด้ไหม และตัวอ่อนด้วงสาคู วิธีนำมาปรุงเป็นอาหารใช้วิธีทอดเป็นส่วนใหญ่ แมลงให้พลังงาน 78 – 182 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม มีแร่ธาตุสูงคือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม และโปแตสเซียม ซึ่งหนอนนกมีแคลเซียมสูง และยังมีวิตามินบี 2 และไนอาซีนสูง โดยคุณค่าอาหารของแมลงชนิดต่าง ๆ แสดงดังนี้

**ตารางที่ 2.1** คุณค่าอาหารของแมลงชนิดต่าง ๆ ต่อแมลง 100 กรัม

| คุณค่าอาหาร | | | |
|---|---|---|---|
| ชื่อแมลง | โปรตีน (กรัม) | ไขมัน (กรัม) | พลังงาน (กิโลแคลอรี่) |
| แมลงกระชอน | 15.4 | 6.3 | 125.1 |
| แมลงกินนูน | 13.4 | 1.4 | 77.8 |
| แมลงกุดจี่ | 17.2 | 4.3 | 108.3 |
| จิโปม | 12.8 | 5.7 | 112.9 |
| จิ้งหรีด | 12.9 | 5.5 | 121.5 |
| แมลงดานา | 19.8 | 8.3 | 162.3 |
| ตั๊กแตนใหญ่ | 14.3 | 3.3 | 95.7 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| คุณค่าอาหาร | | | |
|---|---|---|---|
| ชื่อแมลง | โปรตีน (กรัม) | ไขมัน (กรัม) | พลังงาน (กิโลแคลอรี่) |
| แม่เป้ง | 12.7 | 12.5 | 182.9 |
| ไข่มดแดง | 7.0 | 3.2 | 82.8 |
| ดักแด้ไหม | 9.6 | 5.6 | 98.0 |

ที่มา: สุนทร ตรีนันทวัน (2553).

## 2.3 โปรตีนไฮโดรไลเสต

โปรตีนไฮโดรไลเสต คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยการตัดสายพอลิเปปไทด์เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้น ๆ โดยใช้สารเคมีหรือเอนไซม์เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการและปรับปรุงสมบัติบางประการของโปรตีน เช่น สมบัติการละลาย การเป็นอิมัลซิไฟเออร์ การเกิดโฟม และการจับตัวกับน้ำหรือน้ำมัน เป็นต้น ( Kristinsson และ Rasco, 2000)

2.3.1 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

วิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยทั่วไปมี 2 วิธี ได้แก่

2.3.1.1 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้สารเคมี เป็นการตัดพันธะเปปไทด์ของโปรตีนออกโดยใช้สารละลายกรดหรือเบส ซึ่งเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำแต่ควบคุมระดับการย่อยสลายโปรตีนได้ยาก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่เหมาะสมและมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

1. กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วยสารละลายกรดเป็นวิธีที่ใช้ต้นทุนต่ำ สามารถย่อยสลายโปรตีนได้รวดเร็วและให้กลิ่นรสที่ดี แต่จะทำให้ ทริปโตเฟน (Tryptophan) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนจำเป็นถูกทำลายไป สารละลายที่นิยมในการย่อยสลายโปรตีน ได้แก่ กรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริก โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดทั้งสองชนิดนี้มีเกลือซึ่งเป็นผลจากกระบวนการทำให้เป็นกลาง (Neutralization) โดยในการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดซัลฟิวริกนั้นจะเกิดเกลือแคลเซียมซัลเฟต และการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริกนั้นจะเกิดเกลือโซเดียมคลอไรด์หรือโพแทสเซียมคลอไรด์ ในอุตสาหกรรมจึงนิยมใช้กรดไฮโดรคลอริกในการย่อยสลายโปรตีน เนื่องจากเกลือที่เกิดขึ้นในกระบวนการนั้นเป็นเกลือที่ใช้ในอาหารทั่วไปจึงไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อผลิตภัณฑ์มากนัก

2. กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วยสารละลายด่าง สารละลายด่างที่นิยมใช้ในการย่อยโปรตีน ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่ถ้าหากย่อยสลายในภาวะที่รุนแรงจะทำให้เกิดปฏิกิริยา Racemization ของกรดอะมิโน โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดอะมิโนจาก L-form ไปเป็น D-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้และทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี นอกจากนี้ยังจะทำให้เกิดปฏิกิริยา β – elimination ของ Serine และ Cysteine ทำให้เกิดสารประกอบ Dehydroalanine ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ เกิดเป็นสารประกอบต่าง ๆ หลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น Lysinoalanine, Ornithinoalanine และ Lanthionine เป็นต้น ทำให้สูญเสียสารอาหารที่สำคัญ และสารประกอบที่เกิดขึ้นบางชนิดยังก่อให้เกิดสารพิษในอาหารอีกด้วย (Kristinsson และ Rasco, 2000)

2.3.1.2 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้เอนไซม์ เป็นการทำให้พันธะเปปไทด์แตกออกโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสได้เป็นกรดอะมิโนอิสระ และเปปไทด์ที่สั้นลง การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์มีอัตราการย่อยสลายโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กรดหรือด่าง เนื่องจาก เอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้นสูง ทำให้ไม่ต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณมาก และสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรง แต่การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสอาจทำให้เกิดสารประกอบที่มีรสขม เนื่องจากการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนของหมู่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic group) ในโมเลกุลของโปรตีน เช่น Valine, Tyrosine, Trytophan, Phenylalanine และ Isoleucine แต่สามารถควบคุมกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ได้ด้วยการควบคุมระดับการย่อยสลายโปรตีน (Degree of hydrolysis) (Kristinsson และ Rasco, 2000)

2.3.2 เอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายโปรตีน

เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรง มีความจำเพาะสูง สามารถควบคุมระดับการย่อยได้และไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการ เอนไซม์ที่ใช้ในการดัดแปรโปรตีนมีหลายประเภท ขึ้นกับการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด (ปราณี, 2547) โปรติเอส เป็นเอนไซม์ประเภทไฮโดรเลส (Hydrolase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีน โดยจะตัดพันธะเปปไทด์ของพอลิเพปไทด์ได้เป็นเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ นอกจากนี้ เอนไซม์โปรติเอส สามารถแบ่งเป็นประเภทต่าง ๆ ได้หลายแบบ เช่น แบ่งตามลักษณะการตัดสายยาวของพอลิเปปไทด์ ได้เป็น 2 แบบ คือ เอกซ์โซเปปติเดส (Exopeptidases) และเอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) ดังแสดงในภาพที่ 2.5

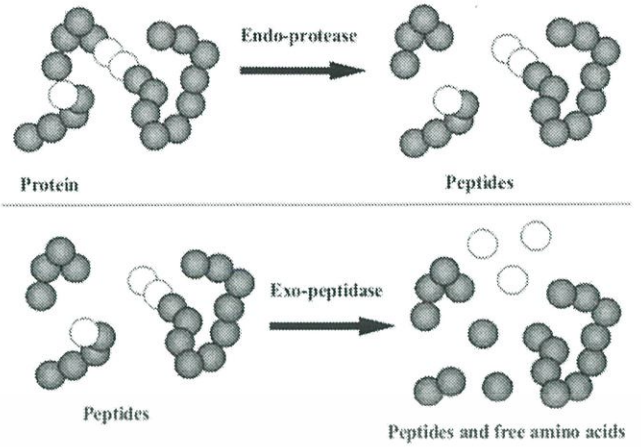
1. เอกซ์โซเปปติเดส (Exopeptidases) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์ด้านปลายโซ่ของโมเลกุล เอกซ์โซเปปติเดสสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1.1 Aminopeptidases เป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะเปปไทด์จากปลายด้าน N-terminal ($-NH_3$) ของสายเปปไทด์และได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดอะมิโนอิสระไดเปปไทด์หรือไตรเปปไทด์ โดยทั่วไป Aminopeptidases เป็นเอนไซม์จำพวก Intracellular enzymes พบได้อย่างกว้างขวางทั้งแบคทีเรียและรา

1.2 Carboxypeptidases เป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะเปปไทด์จากปลายด้าน C-terminal (-COOH) ของสายเปปไทด์และได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือไดเปปไทด์ carboxypeptidases แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ขึ้นอยู่กับหมู่อะมิโนที่อยู่ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ (Activesite) ได้แก่ Serine carboxypeptidases, Metallo carboxypeptidases และ Cysteine carboxypeptidase (ปิยนุช, 2556)

2. เอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่อยู่ด้านในของสายโพลีเปปไทด์หรือโปรตีนได้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ เอนโดเปปติเดสมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับสเตรทที่เป็นเปปไทด์โมเลกุลใหญ่หลายชนิด ทำให้สามารถย่อยโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว (ปราณี, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 2.5** วิธีการย่อยของเอนโดเปปติเดสและเอกซ์โซเปปติเดส
ที่มา: ThiQuynhHoa และคณะ (2014).

นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมยังนิยมใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยสลายโปรตีน โดยเอนไซม์เหล่านี้ส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนแตกต่างกัน ตัวอย่างเอนไซม์ทางการค้า เช่น

1. Alcalase เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Bacillus licheniformi* ทำหน้าที่เป็นเอนโดเปปติเดส มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 55-60 องศาเซลเซียส และมี pH ที่เหมาะสมในช่วง 8-8.5

2. Flavourzyme เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Aspergillus oryzae* ทำหน้าที่เป็นทั้งเอนโดเปปติเดส และเอกซ์โซเปปติเดส ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้ไม่มีรสขม มีอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 50 องศาเซลเซียส และมี pH ที่เหมาะสมในช่วง 5-7

3. Neutrase เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Bacillus amyloliquefaciens* ทำหน้าที่เป็นเอนโดเปปติเดส มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 45-55 องศาเซลเซียส และมี pH ที่เหมาะสมในช่วง 5.5-7 (Anonymous, 2000 อ้างโดย ลีนา, 2556)

## 2.4. ระดับการย่อยสลายโปรตีน (Degree of hydrolysis, DH)

ระดับการย่อยสลายโปรตีนเป็นที่ใช้อธิบายปริมาณการทำลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน การติดตามค่า DH สามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับ ความสะดวก ความเหมาะสม ระดับความละเอียดและความเที่ยงตรงที่ต้องการ เช่น อาศัยหลักการเกิดขึ้นของหมู่อะมิโนอิสระ อาศัยหลักการของความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้น และอาศัยการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านอื่น ๆ ของโปรตีน เมื่อสายพอลิเพปไทด์ถูกตัดให้สั้นลงวิธีการในการวิเคราะห์ค่าระดับการย่อยนั้นจะแตกต่างกัน ขึ้นกับหลักการที่ใช้ในการติดตาม สรุปได้ดัง ตารางที่ 2.2 อย่างไรก็ตามวิธีการที่เป็นที่นิยมใช้ใน งานวิจัยส่วนใหญ่ ได้แก่ pH-stat, formal titration, trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) และ *o*-phthaldialdehyde (OPA) (เกียรติศักดิ์ และบูรฉัตร, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.2** หลักการวิเคราะห์ระดับการย่อยโปรตีน

| วิธีการวิเคราะห์ | หลักการในการวิเคราะห์ |
|---|---|
| **อาศัยหลักการเกิดขึ้นของหมู่อะมิโนอิสระ** | |
| O-phthaldialdehyde (OPA) | O-phtaldialdehyde ทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน เกิดสารประกอบที่มีสีที่ตรวจสอบได้ที่ความยาวคลื่น 340 nm (Nielsen, Pedersen และ Dambmann, 2001) |
| Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) | 2, 4, 6-Trinitrobenzenesulfonic acid ทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน เกิดสารประกอบที่มีสีที่ตรวจสอบได้ที่ความยาวคลื่น 340 nm (Adler-Nissen, 1979) |
| Ninhydrin Ninhydrin | ทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน เกิดเป็นสารประกอบที่มีสีที่ตรวจสอบได้ที่ความยาวคลื่น570 nm (Adler-Nissen, 1986) |
| Formol titration | ไทเทรตหมู่อะมิโนด้วยฟอร์มาดีไฮด์ (Adler-Nissen, 1986) |
| **อาศัยหลักการของความเป็นกรดที่เกิดขึ้น** | |
| pH-stat | ติดตามการเปลี่ยนแปลงระดับ pH โดยรักษาระดับ pH ให้คงที่ตลอดระยะเวลาการย่อยด้วยการเติมด่าง โดยปริมาณด่างที่ใช้จะสัมพันธ์กับค่า DH (Adler-Nissen, 1986) |
| **อาศัยหลักการอื่น ๆ** | |
| Osmometry | วิเคราะห์จุดเยือกแข็งที่ลดลง ซึ่งจะสัมพันธ์กับค่า DH (Adler-Nissen, 1986) |
| °Brix | ค่า refractive index จะสัมพันธ์กับปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการแยกสลายโปรตีน (Adler-Nissen, 1986) |
| Soluble nitrogen | วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ ซึ่งเพิ่มขึ้นในระหว่างการแยกสลายโปรตีน (Margot, Flaschel และ Renken, 1994) |
| Trichloroacetic acid (TCA) index | วิเคราะห์ปริมาณเพปไทด์ที่สามารถละลายได้ใน trichloroacetic acid (Adler-Nissen, 1986) |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| วิธีการวิเคราะห์ | หลักการในการวิเคราะห์ |
|---|---|
| **อาศัยหลักการอื่น ๆ** | |
| การวัดการกระจายขนาดของสายเพปไทด์ | วิเคราะห์ขนาดโมเลกุล โดยอาศัยหลักของ permeation chromatography ซึ่งอาจใช้ HPLC หรือ column chromatography (Adler-Nissen, 1986) |
| การวัดความหนืด | ติดตามการเปลี่ยนแปลงความหนืดในระหว่างการแยกสลายโปรตีน (Adler-Nissen, 1986) |

ที่มา: เกียรติศักดิ์ และบูรฉัตร, 2557

## 2.5 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสต

สมบัติเชิงหน้าที่ คือ สมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพที่มีผลต่อพฤติกรรมของโปรตีน ในอุตสาหกรรมอาหารมีการนำโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายมาเป็นส่วนประกอบอย่างแพร่หลายเพื่อปรับปรุงคุณภาพ และเนื้อสัมผัสของอาหาร หรือเพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับอาหาร (Kristinsson และ Rasco, 2000) เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตมีผลโดยตรงต่อคุณลักษณะของอาหาร ดังนั้นการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตไปประยุกต์ใช้ในอาหารต่าง ๆ จะต้องคำนึงถึงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วย

2.5.1 สมบัติการละลาย (Solubility)

การละลายเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญที่สุดของโปรตีนไฮโดรไลเสต เพราะสมบัติในการละลายนั้นมีอิทธิพลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ในด้านอื่น ๆ เช่น อิมัลซิไฟเออร์ การเกิดโฟมและการเกิดเจล เป็นต้น (ลีนา, 2556) การละลายของโปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถรายงานในรูปของ nitrogen solution index (NSI) นอกจากนี้ปริมาณไขมันที่มีอยู่ในโปรตีนไฮโดรไลเสตก็มีผลต่อการละลายเช่นกัน โดยถ้ามีไขมันอยู่มากจะทำให้ความสามารถในการละลายลดลง (Kristinsson and Rasco, 2000)

2.5.2 สมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier properties)

การเกิดอิมัลชันเป็นสมบัติอันดับต้น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในกระบวนการผลิตอาหาร อิมัลชัน คือ ระบบของเหลวตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปที่ไม่ละลายซึ่งกันและกัน โดยมีของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัวในลักษณะหยดกลมเล็ก ๆ ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ระบบอิมัลชันแบ่งตามลักษณะการกระจายตัว เป็น 2 ประเภท คือ ระบบที่หยดน้ำมันกระจายอยู่ในน้ำ เรียกว่า อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil-in-water, O/W) และระบบที่หยดน้ำกระจายในน้ำมัน เรียกว่า อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (Water-in-oil, W/O) (Dickinson และ Stainsby, 1982 อ้างโดย ลีนา, 2556) ในระบบอาหารโปรตีนทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์หรือสารก่ออิมัลชัน โดยมีการจัดเรียงส่วนที่เป็น Hydrophobic ของโมเลกุลโปรตีนบริเวณผิวสัมผัสระหว่างน้ำกับน้ำมัน (McClement, 1999 อ้างโดย ธันยพร, 2550) ความสามารถในการเกิดอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจะขึ้นอยู่กับระดับการย่อยโปรตีน ความเป็นกรดเบส เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยโปรตีน และ Surface hydrophobicity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นต้น โดยความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนจะมีค่าต่ำ ณ จุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point) (Kristinsson และ Rasco, 2000)

2.5.3 สมบัติการเกิดโฟม (Foaming properties)

ความสามารถของโปรตีนที่ทำให้เกิดพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับของเหลวและรักษาความคงตัวให้กับฟิล์มไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากแรงกระทำจากภายนอก ผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการสมบัติการเกิดโฟม ได้แก่ ไอศกรีม เค้ก และเมอร์แรงจ์ เป็นต้น สมบัติการเกิดโฟมจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโปรตีน Surface hydrophobicity ประจุ และค่า pI (Isoelectric point) ของโปรตีน เช่น Globular protein จะเพิ่มความเสถียรของฟอง (Foaming stability) ในขณะที่ Fibrous protein จะช่วยให้เกิด Interfacial ของโปรตีนระหว่างอากาศกับของเหลวอย่างรวดเร็วทำให้มีความสามารถในการเกิดฟอง (Foaming activity) สูง (Damodaran และ Paraf, 1997)

2.5.4 สมบัติการยึดจับกับน้ำหรือน้ำมัน (Water or Oil binding capacity ; WBC or OBC)

สมบัติในการยึดจับกับน้ำหรือน้ำมัน มีความสำคัญต่อการเกิดการพัฒนาสูตรอาหาร และการเกิดกลิ่นรสที่ผิดปกติของอาหาร เนื่องจากการมีไขมันเป็นองค์ประกอบในอาหารเพียงเล็กน้อย ไขมันอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอันไม่พึงประสงค์ เช่น การเกิดกลิ่นหืนจากการออกซิไดซ์หรือปฏิกิริยาของเอนไซม์ (ลีนา, 2556)

Zieliǹska และคณะ (2018) ได้ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากแมลงกินได้ โดยศึกษา สมบัติการละลาย การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม และความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมัน โดยใช้ผงแมลง 3 ชนิด ดังนี้ *Gryllodes sigillatus* (จิ้งหรีด) , *Schistocerca gregaria* (ตั๊กแตน) และ *Tenebrio molitor* (หนอนนก) โดยทำการเปรียบเทียบสมบัติต่าง ๆ ของผงแมลงที่ผ่านการสกัดโปรตีนและผงแมลงที่ไม่ผ่านการสกัดโปรตีน พบว่าผงแมลงที่ผ่านการสกัดโปรตีนและผงแมลงที่ไม่ผ่านการสกัดโปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีค่าการละลายสูงสุดที่ pH 11 นอกจากนี้พบว่าผงจิ้งหรีดและผงตั๊กแตนที่ผ่านการสกัดโปรตีนและที่ไม่ผ่านการสกัดโปรตีนมีค่าการเกิดอิมัลชันและการเกิดโฟมสูงสุด นอกจากนี้พบว่าผงหนอนนกและผงตั๊กแตนที่ผ่านการสกัดโปรตีนมีค่าความสามารถในการจับกับน้ำและน้ำมันสูงสุด ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าผงแมลงที่ผ่านการสกัดโปรตีนมีสมบัติเชิงหน้าที่ดีกว่าผงแมลงที่ไม่ผ่านการสกัดโปรตีน อาจเนื่องมาจากผงแมลงที่ไม่ผ่านการสกัดโปรตีนยังมีองค์ประกอบอื่นๆ ผสมอยู่ด้วย ซึ่งจากงานวิจัยของ Guowan และคณะ (2013) พบว่า สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสามารถปรับปรุงได้โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีเปปไทด์ขนาดเล็กลง โดย ธันยพร (2550) ได้ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinine*) ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase และเอนไซม์ flavourzyme พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนหอยเป๋าฮื้อด้วยเอนไซม์ alcalase คือที่ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรท 0.05 และ 0.10 %(w/w) เป็นเวลา 3 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ และการย่อยด้วยเอนไซม์ flavourzyme ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรท 0.50 และ 1.00 %(w/w) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าการวิเคราะห์สมบัติการละลายในช่วง pH 2-10 โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase และ flavourzyme มีความสามารถในการละลายใกล้เคียงกัน และพบว่าค่า pH ไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเสต จากการวิเคราะห์สมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนไฮโดรไลเสตในช่วง pH 4.5-7.5 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase มีความสามารถในการเกิดโฟมดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ flavourzyme และโฟมที่เกิดขึ้นมีความเสถียรมากกว่า นอกจากนี้พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ flavourzyme มีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์สูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase และอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีความเสถียรมากกว่า ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ alcalase เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนจากหอยเป๋าฮื้อมากกว่าเอนไซม์ flavourzyme ในขณะเดียวกัน Hall และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากจิ้งหรีด (*Gryllodes sigillatus*) ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรท 0.5 , 1.5 และ 3.0 %(w/w) ระยะเวลาในการย่อย 30 , 60 และ 90 นาที พบว่าระดับการย่อยของโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase ทำให้ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น โดยมีค่าการละลายสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.5 %(w/w) และการทดสอบอิทธิพลของ pH ในช่วง 3-10 พบว่ามีค่าการละลายต่ำสุดที่ pH 3 และมีค่าการละลายสูงสุดที่ pH 10 นอกจากนี้การย่อยด้วยเอนไซม์ alcalase ทำให้สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ดีขึ้น แต่ไม่สามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดโฟมได้ และจากงานวิจัยของ Purschke และคณะ (2017) ที่ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงตั๊กแตนสำเร็จรูป (Migratory locust protein flour; MLPF) ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ neutrase และ flavourzyme ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรท 0.5 %(w/w) ระยะเวลาในการย่อย 30 , 60 และ 120 นาที พบว่าระดับการย่อยของโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ neutrase และ flavourzyme ทำให้ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการย่อยและ pH เพิ่มขึ้น โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ neutrase ให้ค่าการละลายมากกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ flavourzyme อย่างไรก็ตามพบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ neutrase และ flavourzyme ไม่สามารถปรับปรุงการเกิดอิมัลชันและการเกิดโฟมได้ นอกจากนี้การย่อยด้วยเอนไซม์ neutrase และ flavourzyme ทำให้ค่าความคงตัวของโฟมและสมบัติการยึดจับกับน้ำมันเพิ่มขึ้น แต่ไม่สามารถปรับปรุงสมบัติการยึดจับกับน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

## 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

จิ้งหรีดดำทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และ เอนไซม์ Alcalase

3.1.2 สารเคมี

น้ำกลั่น (Distilled water)

น้ำมันพืช

1-anilino-8- naphthalene-sulfonate ; ANS

Alcohol

Boric acid

Copper sulfate ; $CuSO_4$

Hydrochloric acid ; HCl

L-leucine

Methyl green

Methyl red

Phosphate buffer

sodium dodecyl sulfate ; SDS

Sodium hydroxide ; NaOH

Sodium phosphate buffer

Sulfuric acid ; $H_2SO_4$

Trinitrobenzenesulfonic acid ; TNBS

## 3.2 อุปกรณ์

3.2.1 เครื่องกวนสาร (Hotplate Stirrer)

3.2.2 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.2.3 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

3.2.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrometer)

3.2.5 เครื่องวัดการเรืองแสงของสาร (Spectrofluorometer)

3.2.6 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer)

3.2.8 เครื่องให้ความร้อน (Hotplate)

3.2.9 ชุดกลั่นโปรตีน

3.2.10 ชุดอุปกรณ์ย่อยโปรตีน

3.2.11 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.2.12 ตู้อบไฟฟ้า

3.2.13 ถ้วยอลูมิเนียม

3.2.14 โถดูดความชื้น (Dessicator)

3.2.15 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3.2.16 ไมโครปิเปต

3.2.17 อุปกรณ์เตรียมตัวอย่าง ได้แก่ เครื่องแก้ว , หลอดเซนติฟิวก์

3.2.18 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.2.19 อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath)

3.2.20 Boiling chip

## 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.3.1.1 ผงจิ้งหรีด (Insect powder)

1) นำจิ้งหรีดดำแช่แข็งมาบดด้วยเครื่องปั่น

2) ร่อนด้วยกระชอนเพื่อให้ได้ผงแมลงที่มีขนาดละเอียดเท่ากัน

3.3.1.2 โปรตีนจิ้งหรีด (Insect paste) (ดัดแปลงจาก ลีนา, 2556)

1) นำผงจิ้งหรีด 100 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ด้วย 1 N NaOH ให้เท่ากับ 11 กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนสารที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8000 rpm อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที

2) เก็บส่วนใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง และปรับ pH ด้วย 1 N HCl ให้เท่ากับ 4.5 กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนสารที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเก็บตะกอนที่ได้ในบรรจุภัณฑ์ทึบแสง และเก็บในตู้แช่แข็งอุณภูมิ -18 องศาเซลเซียส

3.3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

3.3.1.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามภาคผนวก ก.

3.3.1.2 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามภาคผนวก ก.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ ICC. (1984) ตามภาคผนวก ก.

3.3.3 การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด (ดัดแปลงจาก ลีนา, 2556)

1) นำตัวอย่างผสมกับน้ำกลั่นให้มีปริมาณโปรตีน 0.5% (w/v) ตามภาคผนวก ก. ปริมาตร 45 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ปรับ pH ด้วย 0.1 N NaOH ให้เท่ากับ 8

2) ปรับอุณหภูมิให้ได้ 50 องศาเซลเซียส ก่อนเติมเอนไซม์ alcalase

3) เติมเอนไซม์ alcalase ที่ความเข้มข้น 1.0%(w/v) บ่มสารละลายในอ่างควบคุมอุณหภูมิพร้อมเขย่าสารละลายด้วยความเร็วรอบ 130 rpm เก็บตัวอย่าง ณ เวลา 0 , 15 , 30 , 60 , 120 , 180 และ 240 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยความร้อน 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็นลง จากนั้นทำการแยกส่วนใสโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 15000g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.3.4 การตรวจสอบระดับการย่อย (Degree of hydrolysis: DH) ของโปรตีนจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด (ดัดแปลงจาก Adler-Nissen, 1979)

1) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม Sodium phosphate buffer (0.2125 M ; pH 8.2) 2 มิลลิลิตร และเติม TNBS 0.1%(w/v) 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2) นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยปิดฝาอ่างควบคุมอุณหภูมิเพื่อไม่ให้มีแสงเข้า

3) เมื่อครบเวลาเติม HCl 0.1 N ลงไปเพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา แล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณ

$$DH(\%) = 100\left(\frac{AN_2 - AN_1}{Npb}\right)$$

เมื่อ $AN_1$ คือ ค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐานจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลซ์

$AN_2$ คือ ค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐานจากตัวอย่างทีผ่านการไฮโดรไลซ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

Npb คือ ไนโตรเจนคอนเทนของพันธะเปปไทด์ในตัวอย่าง

3.3.5 วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

3.3.5.1 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (ดัดแปลงจาก Pearce and Kinsella, 1978)

1) นำตัวอย่างที่ผ่านการไฮโดรไลซ์และมีความเข้มข้นของโปรตีน 0.5%(w/v) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำมันพืช ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์

2) นำไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วรอบ 20000 rpm เป็นเวลา 1 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) จากนั้นปิเปตตัวอย่างหลังการอิมัลชั่นบริเวณกึ่งกลาง ที่เวลาที่ 0 และ 10 นาที ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ไปเจือจางใน Sodium dodecyl sulphate (SDS) 0.1% ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 50-100 ผสมให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 10 วินาที

4) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer แล้วนำมาคำนวณหาค่า EAI และ ESI ดังนี้

$$EAI\left(\frac{m^2}{g}\right) = (2 \times 2.303 \times A \times DF)/l\emptyset C$$

เมื่อ A คือ ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้จากความยาวคลื่นที่ 500 นาโนเมตร

DF คือ ค่าความเจือจางที่ใช้

l คือ ความหนาของคิวเวตที่ใช้ (m)

Ø คือ ปริมาตรน้ำมันที่ใช้ (ml)

C คือ ความเข้มข้นของโปรตีน ($g/m^3$)

$$ESI(min) = A_0 \times \Delta t/\Delta A$$

เมื่อ $\Delta A$ คือ $A_0 - A_{10}$ และ $\Delta t$ คือ 10 นาที

3.3.5.2 สมบัติการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม (ดัดแปลงจาก Shahidi, Han และ Synowicki, 1995)

1) นำตัวอย่างที่ผ่านการไฮโดรไลซ์และมีความเข้มข้นของโปรตีน 0.5%(w/v) ปริมาตร 35 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ และนำไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วรอบ 13400 rpm เป็นเวลา 1 นาที

2) เทตัวอย่างที่ผ่านการโฮโมจีไนซ์แล้วลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ทันที จดบันทึกปริมาตรที่เวลาที่ 0 และเวลาที่ 60 นาที แล้วนำไปคำนวณ ดังนี้

$$FE(\%) = (V_T/V_0) \times 100$$
$$FS(\%) = (V_t/V_0) \times 100$$

เมื่อ $V_T$ คือ ปริมาตรทั้งหมดหลังจากโฮโมจีไนซ์

$V_0$ คือ ปริมาตรเริ่มต้น

$V_t$ คือ ปริมาตรหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6. วิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงแมลงและโปรตีนแมลง (ดัดแปลงจาก Wu และคณะ, 1998)

1) เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นที่ 0.010, 0.015, 0.020, 0.025, 0.030%(w/v) ด้วยสารละลาย phosphate buffer 0.01 M ; pH 7

1) เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นที่ 0.010, 0.015, 0.020, 0.025, 0.030%(w/v) ด้วยสารละลาย phosphate buffer 0.01 M ; pH 7

2) ปิเปตตัวอย่างมาทดสอบปริมาตร 4 มิลลิลิตร และเติม 8 mM 1-anilino-8- naphthalene-sulfonate (ANS) (ละลายใน 0.1 phosphate buffer pH 7.0) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

3) นำไปวัดค่าความเข้มของการเรืองแสง (fluorescence intensity, FI) โดยเครื่อง spectrofluorometer กำหนดความยาวคลื่น excitation เท่ากับ 390 นาโนเมตร และความยาวคลื่น emission เท่ากับ 470 นาโนเมตร

4) นำค่า FI ของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟสมการเส้นตรง ค่าความชันแสดงถึงค่า surface hydrophobicity index ($S_0$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิจารณ์

## 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าจิ้งหรีดที่ผ่านการสกัดโปรตีนออกมาหรือโปรตีนจิ้งหรีดมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าผงจิ้งหรีด มีค่าเท่ากับร้อยละ 66.60 (น้ำหนักแห้ง) ความชื้นของผงจิ้งหรีดเท่ากับร้อยละ 2.04 และโปรตีนจิ้งหรีดเท่ากับร้อยละ 70.41 จะเห็นว่าความชื้นของโปรตีนจิ้งหรีดมีค่าสูงกว่าผงจิ้งหรีดเนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมในข้อ 3.3.1.2 ได้เก็บตัวอย่างในรูปแบบ paste โดยไม่ผ่านการทำแห้ง และไขมันของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีดมีค่าเท่ากับร้อยละ 28.76 และ 32.12 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงในตัวอย่างทั้งสองชนิด ดังนั้นการสกัดโปรตีนจึงไม่สามารถกำจัดไขมันออกไปด้วยได้

**ตารางที่ 4.1** แสดงองค์ประกอบทางเคมีของผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

| องค์ประกอบทางเคมี (%) | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
|---|---|---|
| โปรตีน (น้ำหนักแห้ง) | 61.03 ± 0.72 | 66.60 ± 0.85 |
| ความชื้น | 2.04 ± 0.27 | 70.41 ± 0.68 |
| ไขมัน | 28.76 ± 0.38 | 32.12 ± 1.02 |

## 4.2 ผลของระดับการย่อยของโปรตีนจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

ผลของระดับการย่อยของโปรตีนแสดงถึงการที่เปปไทด์ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เข้มข้น 1.0% (w/v) ต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดในโปรตีนไฮโดรไลเสต (พัสตราภรณ์ ทองอิ่มพงษ์ และคณะ, 2559) โดยระยะเวลาในการย่อยมีผลทำให้ระดับการย่อยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าการย่อยที่เวลา 240 นาที ทำให้ทั้งผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีดมีระดับการย่อยสูงสุดคือร้อยละ 103.40 และ 164.56 ตามลำดับ และพบว่าตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีดมีระดับการย่อยที่สูงกว่าตัวอย่างผงจิ้งหรีด อาจเนื่องมาจากจิ้งหรีดมีไคติน (Chitin) เป็นเปลือกหุ้มตัวจิ้งหรีด ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถย่อยพันธะเปปไทด์ตัวอย่างผงจิ้งหรีดได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ เมื่อมีการสกัดโปรตีนหรือในตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีดจึงทำให้ไคตินถูกแยกออก เอนไซม์จึงสามารถเข้าไปย่อยพันธะเปปไทด์ได้ดีขึ้น ดังแสดงในตางรางที่ 4.2 ระดับการย่อยที่สูงขึ้นแสดงถึงขนาดของพันธะเปปไทด์ที่มีสายสั้นลงด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** แสดงระดับการย่อยของโปรตีนจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีดที่ระยะเวลาในการย่อยที่แตกต่างกัน ด้วยเอนไซม์ Alcalase ความเข้มข้น 1.0%(w/w)

| ระยะเวลาในการย่อย (นาที) | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
|---|---|---|
| 0 | 20.58 ± 0.82 Db | 56.09 ± 3.71 Fa |
| 15 | 37.11 ± 2.89 Cb | 89.76 ± 2.04 Ea |
| 30 | 59.38 ± 1.01 Bb | 101.33 ± 5.09 Da |
| 60 | 64.42 ± 1.41 Bb | 107.69 ± 3.02 Da |
| 120 | 67.29 ± 2.39 Bb | 120.18 ± 0.38 Ca |
| 180 | 61.27 ± 13.29 Ba | 134.11 ± 4.56 Ba |
| 240 | 103.40 ± 10.21 Aa | 164.56 ± 1.10 Aa |

หมายเหตุ * ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

† ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการย่อยต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

‡ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

## 4.3 ผลของสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

### 4.3.1 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์

จากการทดลองได้มีการศึกษาค่า emulsifying activity index (EAI) และค่า emulsion stability index (ESI) ซึ่งค่า EAI แสดงถึงค่าความสามารถของโปรตีนที่สามารถเกิดการฟอร์มตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ในของเหลวสองชนิดกันคือระหว่างน้ำและน้ำมันโดยของเหลวชนิดหนึ่งแตกตัวเป็นหยดน้ำเล็ก ๆ แทรกตัวอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง จากตารางที่ 4.3 พบว่าที่ระยะเวลาการย่อยมากขึ้นหรือที่ระดับการย่อยสูงขึ้น (จากตารางที่ 4.2) ไม่สามารถทำให้ค่า EAI เพิ่มขึ้น พบค่า EAI สูงสุดที่เวลา 0 ถึง 30 และ 120 นาที ในผงจิ้งหรีดและที่เวลา 0 ถึง 15 นาที ในโปรตีนจิ้งหรีด และเมื่อสังเกตที่ตัวอย่างสองชนิดคือผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีดพบว่าในโปรตีนจิ้งหรีดมีค่า EAI ที่สูงกว่าผงจิ้งหรีด และค่า ESI แสดงถึงค่าความคงตัวของอิมัลชันหรือความเสถียรของอิมัลชัน จากตารางที่ 4.4 พบว่าที่ระยะเวลาการย่อยเพิ่มมากขึ้นทั้งผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีดไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อย่อยจนถึงเวลาที่ 180 นาที พบว่าผงจิ้งหรีดมีค่า ESI สูงสุด และที่เวลา 240 นาที พบว่าโปรตีนจิ้งหรีดมีค่า ESI สูงสุด อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างระหว่างการเกิดอิมัลชันและการคงรูปอิมัลชันสัมพันธ์กับ amphiphilicity ของพื้นผิวโปรตีน ปริมาณโปรตีน และองค์ประกอบอื่น ๆ ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (Zieliǹska, และคณะ 2015) ทำให้ค่า EAI และ ESI ไม่สัมพันธ์กัน หรืออาจเป็นเพราะความยืดหยุ่นและความอ่อนแอของพื้นที่ผิว Li-Chan และ Nakai (1990) กล่าวว่าอิมัลชันขึ้นอยู่กับความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยืดหยุ่นและความอ่อนแอของพื้นที่ผิวของกลุ่มที่เป็นตัวที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาโดยเฉพาะบริเวณที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำ ถ้าตั้งสมมติฐานว่าตัวควบคุมคือตัวอย่างที่ไม่ไฮโดรไลซ์คือโปรตีนก้อนกลมหรือโปรตีนที่ขดทับกันมีกลุ่มที่เป็นขั้วที่ไม่ชอบน้ำถูกฝังอยู่ภายในโมเลกุล และเมื่อมีเอนไซม์เข้ามาย่อยทำให้โปรตีนแสดงพื้นที่ผิวไม่ชอบน้ำออกมามากขึ้นจากในเปปไทด์ ผลเหล่านี้ทำให้แรงตึงผิวระหว่างน้ำและน้ำมันลดลง สิ่งนี้จึงเป็นตัวกำหนดการเกิดอิมัลชัน และจากผลของ surface hydrophobicity พบว่าในผงจิ้งหรีดมีค่าสูงสุดที่เวลาย่อย 0, 30, 60, 120 และ 180 นาที และในโปรตีนจิ้งหรีดมีค่าสูงสุดที่เวลาย่อย 0 นาที ซึ่งตัวอย่างทั้งสองชนิดมีค่า surface hydrophobicity สูงสุดอยู่ในช่วงที่สัมพันธ์กับการเกิดอิมัลชันสูงสุด และสาเหตุที่ทำให้ตัวอย่างทั้งสองชนิดแตกต่างกันคือ ตัวอย่างที่เป็นโปรตีนจิ้งหรีดให้ผลดีกว่านั้น อาจเป็นเพราะความหนืดของระบบ Dickinson (1994) กล่าวว่าโพลีแซคคาไรด์บางชนิดสามารถช่วยให้อิมัลชันคงตัวโดยจะไปเพิ่มความหนืดของระบบ หรืออาจเนื่องมาจากระดับการย่อยที่เวลาเดียวกันตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีดมีค่าสูงกว่าตัวอย่างผงจิ้งหรีดทำให้ได้พันธะเปปไทด์ขนาดพอดีต่อการแผ่กระจายขั้วที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ออกมาเพื่อรวมตัวกับของเหลวอีกชนิด

**ตารางที่ 4.3** ดัชนีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (EAI) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

| ระยะเวลาในการย่อย (นาที) | ดัชนีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (EAI) | |
|---|---|---|
| | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
| 0 | 7083.00 ± 69.48 ABb | 11616.33 ± 560.19 Aa |
| 15 | 6479.11 ± 182.39 ABa | 10794.93 ± 688.30 Aa |
| 30 | 7347.08 ± 425.57 Aa | 9105.55 ± 11.58 Ba |
| 60 | 6327.62 ± 303.98 Ba | 8561.02 ± 1294.09 BCa |
| 120 | 6790.27 ± 744.03 ABa | 7163.87 ± 377.80 CDa |
| 180 | 4457.58 ± 183.84 Cb | 6869.09 ± 178.05 Da |
| 240 | 4232.40 ± 137.51 Cb | 6921.28 ± 86.85 Da |

หมายเหตุ * ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

† ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการย่อยต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

‡ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.4** ดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (ESI) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

| ระยะเวลาในการย่อย (นาที) | ดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (ESI) | |
|---|---|---|
| | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
| 0 | 41.90 ± 15.84 Ca | 23.67 ± 3.56 Ca |
| 15 | 35.02 ± 9.21 Ca | 16.81 ± 2.07 Ca |
| 30 | 40.81 ± 4.59 Ca | 35.62 ± 3.60 BCa |
| 60 | 41.08 ± 31.45 Ca | 46.58 ± 2.14 BCa |
| 120 | 51.61 ± 25.64 Ca | 61.28 ± 9.06 BCa |
| 180 | 274.14 ± 13.76 Aa | 83.48 ± 8.58 Ba |
| 240 | 142.29 ± 43.48 Ba | 172.60 ± 55.63 Aa |

หมายเหตุ * ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

† ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการย่อยต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

‡ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

### 4.3.2 สมบัติการเกิดโฟม

ผลการศึกษาสมบัติการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของโปรตีนไฮโดรไลเสต จากตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่าตัวอย่างที่เป็นผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีดระยะเวลาในการย่อยหรือระดับของการย่อยไม่มีผลต่อการเกิดโฟมและการคงตัวของโฟม จากทฤษฎีกล่าวว่าการเกิดโฟม คือการที่ฟองอากาศมีฟิล์มบาง ๆ ล้อมรอบอากาศไว้ เกิดจากการตีหรือปั่นอย่างรุนแรง ทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพและคลายตัวออก ทำให้ขั้วที่ไม่ชอบน้ำคลายออกมา เกิดเป็นฟิล์มและจับกับน้ำที่อยู่รอบ ๆ ได้ โดยโปรตีนที่จะเกิดโฟมได้ดีและคงตัว ต้องมีความยืดหยุ่นสูง ต้องมีพื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำสูง ๆ ความเข้มข้นของโปรตีนมีส่วนที่จะทำให้ผลของโฟมสูงและมี pH ที่อยู่ใกล้กับค่า pI หรือเรียกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก ของตัวอย่างโปรตีน และเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตของงานวิจัยนี้มีความเข้มข้นโปรตีนเท่ากับ 0.5%(w/v) และ pH หลังผ่านการไฮโดรไลซ์แล้วมีค่าอยู่ระหว่าง 6-7.5 ซึ่งค่าไอโซอิเล็กทริก (pI) ของจิ้งหรีดแอฟริกาตัวผู้คือ pH 3.5 และ ตัวเมียคือ pH 4.4 (Adeyeye และ Awokunmi, 2010) จึงอาจเป็นผลทำให้ผลการเกิดโฟมแสดงค่าที่ไม่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5** แสดงผลความสามารถในการเกิดโฟม (FE) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

| ระยะเวลาในการย่อย (นาที) | ความสามารถในการเกิดโฟม (FE) | |
|---|---|---|
| | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
| 0 | 102.86 ± 0.00 ABa | 107.14 ± 2.02 Aa |
| 15 | 102.86 ± 2.02 ABa | 100.57 ± 0.00 BCa |
| 30 | 101.43 ± 2.02 ABa | 102.86 ± 0.00 BCa |
| 60 | 101.43 ± 2.02 ABa | 103.57 ± 1.01 Ba |
| 120 | 105.00 ± 1.01 Aa | 101.43 ± 2.02 BCa |
| 180 | 101.43 ± 0.00 ABa | 100.00 ± 0.00 Ca |
| 240 | 100.71 ± 1.01 Ba | 102.14 ± 1.01 BCa |

หมายเหตุ * ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

† ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการย่อยต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

‡ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

**ตารางที่ 4.6** แสดงผลความคงตัวของโฟม (FS) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

| ระยะเวลาในการย่อย (นาที) | ความคงตัวของโฟม (FS) | |
|---|---|---|
| | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
| 0 | 100.71 ± 1.01 Ba | 100.00 ± 0.00 Aa |
| 15 | 100.00 ± 0.00 Ba | 100.00 ± 0.00 Aa |
| 30 | 100.71 ± 1.01 Ba | 100.00 ± 0.00 Aa |
| 60 | 100.71 ± 1.01 Ba | 100.00 ± 0.00 Ba |
| 120 | 102.86 ± 0.00 Aa | 100.00 ± 0.00 Ba |
| 180 | 100.00 ± 0.00 Ba | 100.00 ± 0.00 Ba |
| 240 | 100.00 ± 0.00 Ba | 100.00 ± 0.00 Ba |

หมายเหตุ * ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

† ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการย่อยต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

‡ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

## 4.4 ผลของค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

ค่า surface hydrophobicity คือค่าที่แสดงถึงพื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุลของโปรตีนไฮโดรไลเสตซึ่งเป็นค่าที่ใช้บอกถึงความสามารถของสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนนั้นได้ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าในตัวอย่างผงจิ้งหรีดมีค่า surface hydrophobicity สูงสุดที่เวลาย่อย 0, 30, 60, 120 และ 180 นาที และในตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีดพบค่าสูงสุดที่เวลา 0 นาที เนื่องจากโดยสภาพธรรมชาติโปรตีนจะมีขั้วที่เป็น hydrophobic อยู่ภายใน เมื่อเอนไซม์เข้าไปย่อยจะทำให้โปรตีนคลายตัวทำให้ขั้ว hydrophobic แสดงออกมาภายนอกมากขึ้นจนถึงระดับการย่อยหนึ่ง หลังจากนั้นหากระดับการย่อยสูงเกินไปจะทำให้เกิดเปปไทด์สายสั้นเกินไปทำให้เปปไทด์เหล่านั้นมีขั้ว hydrophobicity น้อยลงด้วยจึงทำให้มีค่า surface hydrophobicity น้อยลงที่ระดับการย่อยสูงๆ (พัสตราภรณ์ ทองอิ่มพงษ์ และคณะ, 2559) ตามตารางที่ 4.2

**ตารางที่ 4.7** แสดงผล surface hydrophobicity ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

| ระยะเวลาในการย่อย (นาที) | Surface hydrophobicity | |
|---|---|---|
| | ผงจิ้งหรีด | โปรตีนจิ้งหรีด |
| 0 | 5.87 ± 0.81 ABa | 18.83 ± 2.69 Aa |
| 15 | 4.9 ± 0.41 Ba | 12.16 ± 2.11 Ba |
| 30 | 6.03 ± 0.78 ABa | 11.27 ± 2.47 Ba |
| 60 | 7.61 ± 0.23 Aa | 11.70 ± 3.65 Ba |
| 120 | 5.51 ± 1.47 ABa | 12.67 ± 1.24 Ba |
| 180 | 5.53 ± 0.64 ABa | 12.04 ± 0.80 Ba |
| 240 | 4.71 ± 1.15 Ba | 12.90 ± 0.14 Ba |

หมายเหตุ * ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

† ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการย่อยต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

‡ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผล

ในผงจิ้งหรีด (Powder) และโปรตีนจิ้งหรีด (Paste) พบว่ามีโปรตีนเท่ากับร้อยละ 61.06 และ 66.60 (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ผลของความชื้นเท่ากับ 2.04 และ 70.41 ตามลำดับ และตัวอย่างทั้งสองมีไขมันใกล้เคียงกันคือร้อยละ 28.76 และ 32.12 ตามลำดับ จากผลการวิจัยการไฮโดรไลเสตผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด ด้วยเอนไซม์ alcalase 1.0% (w/v) โดยกำหนดระยะเวลาในการย่อยเป็น 0 15 30 60 120 180 และ 240 นาที จากผลของระดับการย่อย (DH) พบว่าที่ระเวลาย่อยเพิ่มขึ้นทำให้ระดับการย่อย (DH) เพิ่มมากขึ้น โดยตัวอย่างที่เป็นโปรตีนจิ้งหรีดมีระดับการย่อยที่สูงกว่าตัวอย่างผงจิ้งหรีด นอกจากนี้ได้มีการวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด โดยวิเคราะห์สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier properties) สังเกตจากการเกิดอิมัลชัน (Emulsion activity index: EAI) และความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion stability index: ESI) พบว่าระยะเวลาในการย่อยที่เพิ่มขึ้นไม่สามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดอิมัลชันและการคงตัวของอิมัลชันได้ของตัวอย่างทั้งสองชนิด และนอกจากนี้ได้วิเคราะห์สมบัติการเกิดโฟม (Foaming properties) สังเกตจากความสามารถในการเกิดโฟม (Foam expansion: FE) และความคงตัวของโฟม (Foam stability: FS) พบว่าระยะเวลาในการย่อยไม่มีผลต่อการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของตัวอย่างทั้งสองชนิด นอกจากนั้นได้วิเคราะห์พื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเสตผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด พบว่าระยะเวลาในการย่อยไม่สามารถปรับปรุงให้พื้นที่ผิวที่ไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้นได้

ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้ทำให้ทราบว่าจิ้งหรีดมีโปรตีนสูง และยังมีไขมันสูงด้วยในการใช้รับประทานหรือประกอบอาหารควรระวังในเรื่องของไขมัน ในส่วนของโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้เอนไซม์ alcalase ที่ความเข้มข้น 1.0%(w/v) ทำให้ไม่สามารถปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของจิ้งหรีดได้ แต่ทำให้พบว่าโปรตีนจิ้งหรีดหรือจิ้งหรีดที่ถูกสกัดโปรตีนออกมานั้น สามารถนำมาไฮโดรไลเสตให้ได้พันธะเปปไทด์สายสั้นได้มากกว่าผงจิ้งหรีดหรือจิ้งหรีดบดที่ไม่ผ่านการสกัด

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1. หากจะนำไปเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเสริมโปรตีนควรมีการสกัดไขมันออก เนื่องจากจิ้งหรีดมีปริมาณไขมันสูง

5.2.2. หากจะปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตควรเลือกระยะเวลาในการย่อย ความเข้มข้นเอนไซม์ ความเข้มข้นตัวอย่าง และพีเอช ให้เหมาะสมเพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีประสิทธิภาพสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณนุกรม

เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ และ บูรฉัตร ศรีทองแท้. 2557. การดัดแปรสมบัติของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสและการประยุกต์ใช้. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 42(2). 274-288.

ทัศนีย์ แจ่มจรรยา. 2542. การเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดทองดำ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.dnp.go.th/FOREMIC/WEB%20SITE2/wolff_insect.php. 13 พฤษภาคม 2562

ธันยพร จันท์แสนโรจน์. 2550. การผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinine*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.

ปิยนุช ไพโรจน์กัลยา. 2556. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากพืชโดยการย่อยด้วยเอนไซม์. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พัสตราภรณ์ ทองอิ่มพงษ์, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น, สุรพงษ์ พินิจกลาง และ เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์. 2559. สมบัติต้านอนุมูลอิสระและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากกากทานตะวันที่ไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์โบรมิเลนและ Flavourzyme. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 39. 565.

เพ็ญพิชญา เตียว. 2561. จิ้งหรีดตัวเดียว เท่าโปรตีนเวย์ 1.5 เม็ด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.thairath.co.th/content/1348526. 5 พฤศจิกายน 2561.

พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา. 2562. สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน/functional properties of protein. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1276/สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน-functional-properties-of-protein. 23 พฤษภาคม 2562.

ลีนา หง้าฝา. 2556. องค์ประกอบทางเคมี สมบัติเชิงหน้าที่ และการออกฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากถั่วหรั่ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุนทร ตรีนันทวัน. 2553. แมลงกินได้. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.scimath.org/article-biology/item/565-insect. 17 ตุลาคม 2561.

A.O.A.C. 2000. Official methods of analysis. 16$^{th}$ed. Washington DC.: The Association of official analytical chemists.

Adeyeye, E. and Awokunmi, E. 2010. Chemical composition of female and male gaint African crickets *Brachytrypes membranaceus* L..International Journal of Pharma and Bio Sciences. 1: 125-136.

Damodaran, S. and Paraf, A. 1997. Food Protein and Their Application. New York: Marcel Dekker, Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dickinson, E. 1994. Protein-stabilized emulsions. Journal of food engineering. 22: 59-74.

Guowan, S., Jiaoyan, R., Bao, Y., Chun, C. and Mouming, Z. 2011. Comparison of hydrolysis characteristics on defatted peanut meal proteins between a protease extract from *Aspergillus oryzae* and commercial proteases. Journal of Food Chemistry. 126: 1306– 1311.

Hall, F.G., Jones, O.G., O'Haire, M., and Liceaga, A.M. 2017. Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllodes sigillatus*) protein enzymatically hydrolyzed with alcalase. Food Chemistry. 224: 414-422.

ICC. 1984. Cereals and cereal products—Determination of total fat content, ICC Recomendation No. 136. ICC Standard methods.

Kristinsson, G.H. and Rasco, A.B. 2000. Kinetics of the hydrolysis of Atlantic salmon (Salmo salar) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. Process Biochemistry. 36: 131–139.

Li-Chan, E. and Nakai, S. 1990. Importance of hydrophobicity of proteins in food emulsions. Ch. 15 In Microemulsions and Emulsions in Foods. El-Nokaly, M. and Cornell, D. (Eds.), p. 193-212. ACS Symposium Series 448. Washington, D.C., U.S.A.

Pasusat.com. 2562. จิ้งหรีดและการเลี้ยงจิ้งหรีด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.pasusat.com. 13 พฤษภาคม 2562.

Pearce, K.N. and Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of protein: Evaluation of a turbidimetric technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26: 716-723.

Purschke, B., Meinlschmidt, P., Horn, C., Rieder, O., and Jäger, H. 2017. Improvement of techno-functional properties of edible insect protein from migratory locust by enzymatic hydrolysis. European Food Research and Technology. 244: 999-1013.

Shahidi, F., Han, X.-Q. and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry. 53: 285-293.

Spellman, D., McEvoy E., O'Cuinn G. and FitzGerald R.J. 2003. Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: Comparison of the TNBS, OPA and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis. International Dairy Journal . 13: 447-453.

ThiQuynhHoa, N., Minh, N.P. and Dao, D.T. 2014. Performance enhancing soy milk extraction by flavourzyme. International Journal of Scientific & Technology Research. (Online). Available from: http://www.ijstr.org/. 17 October 2018.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wu, W.U., Hettiarachchy, N.S. and Qi, M. 1998. Hydrophobicity, Solubility, and Emulsifying Properties of Soy Protein Peptides Prepared by Papain Modification and Ultrafiltration. Journal of the American Oil Chemists' Society. 75. pp. 845850.

Zieliśka, E., Baraniak, B., Rybczynska, K., KaraŚ, M. and Jakubczk A. 2015. Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. Food Research International. 77: 460-466.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

## ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีเจลดาห์ล (AOAC, 2000)

1) ชั่งตัวอย่าง 0.5-5 กรัม (ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนของตัวอย่าง) ใส่ลงใน Kjeldahl flask เติมตัวเร่ง (1:8 ของ $CuSO_4/K_2SO_4$) 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริก 25 มิลลิลิตร ใส่ boiling chip 2-3 ลูก

2) นำหลอดย่อยโปรตีนประกอบเข้ากับเครื่องย่อย ทำการย่อยจนได้สารละลายใสหรือสีฟ้าใส จากนั้นรอให้สารละลายเย็นลงและไม่มีไอกรด ก่อนนำไปต่อเข้ากับชุดกลั่น

3) นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดกลั่นโปรตีน เติมกรดบอริกเข้มข้น 2% ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ (Methyl green , Methyl red) อย่างละ 1 หยด จะได้สารละลายสีชมพูม่วง วางขวดรูปชมพู่ลงในชุดกลั่น

4) เติมน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% ลงในหลอดย่อย สารละลายในหลอด ย่อยจะเปลี่ยนเป็นสีดำ รอจนกลั่นหมด

5) นำสารละลายที่กลั่นได้มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N จนสารละลาย เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพูม่วง บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ แล้วคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในอาหาร} = \frac{(A - B) \times N \times 14 \times 100}{W \times 1000}$$

เมื่อ A= ปริมาณสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B= ปริมาณสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

N= ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (นอร์มัล)

W= น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหาร} = \text{เปอร์เซ็นไนโตรเจนในอาหาร} \times \text{เจลดาห์ลแฟกเตอร์}$$

**ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง**

$$\frac{(25.90 - 2.76) \times 0.1 \times 14 \times 100}{1.0183 \times 1000} = 3.1814$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง} = 3.1814 \times 6.25 = 19.88$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธี Air Oven Method (AOAC, 2000)

1) นำถ้วยอลูมิเนียมไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ใส่ลงในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงชั่งน้ำหนัก (w)

2) ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 3-5 กรัม ใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียม ($w_1$)

3) นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วย

4) นำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก อบซ้ำอีกครั้ง เป็นเวลา 30 นาที จนน้ำหนักคงที่ หรือผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 0.003-0.005 กรัม ($w_2$)

5) คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{ความชื้น}(\%) = \frac{\text{น้ำหนักอาหารเริ่มต้น } (w - w_1) - \text{น้ำหนักอาหารแห้ง } (w - w_2)}{\text{น้ำหนักอาหารเริ่มต้น } (w - w_1)} \times 100$$

**ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นในตัวอย่าง**

$$\frac{0.5084 - 0.1466}{0.5084} \times 100 = 71.16$$

## ก.3 การวิเคราะห์ไขมัน โดยวิธี Soxhlet (AOAC, 2000)

1) อบบีกเกอร์ไขมันพร้อมกับ boiling chip ที่อุณหภูมิ 130 °C บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ($w_1$)

2) ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดพร้อมทั้งอบแห้งแล้ว 5-10 กรัม (ปริมาณของตัวอย่างขึ้นอยู่กับปริมาณไขมันในตัวอย่าง ถ้าปริมาณไขมันน้อยให้ใช้ตัวอย่างมาก) บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (w) ห่อด้วยกระดาษกรองใส่ในทิมเบิล (Extraction thimble)

3) ตวงตัวทำละลายปิโตเลียมอีเทอร์จำนวน 140-180 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ไขมัน ต่อทิมเบิลใส่ตัวอย่างและบีกเกอร์ไขมันเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน ทำการสกัดไขมันตามโปรแกรมของเครื่อง

4) เมื่อครบเวลานำบีกเกอร์ไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C 30 นาที เพื่อระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออก

5) นำบีกเกอร์ไขมันใส่ในโถดูดความชื้น เพื่อรอให้เย็น ก่อนนำบีกเกอร์ไขมันไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ($w_2$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{w_1 - w_2}{w} \times 100$$

เมื่อ w= น้ำหนักตัวอย่าง

$W_1$= น้ำหนักของบีกเกอร์ไขมันก่อนสกัด

$W_2$= น้ำหนักของบีกเกอร์ไขมันหลังสกัด

**ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่าง**

$$\frac{140.1886 - 139.2044}{3.0091} \times 100 = 32.7075$$

## ก.4 วิธีการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตของผงจิ้งหรีด (Powder) และโปรตีนจิ้งหรีด (Paste)

โดย กำหนดให้ตัวอย่างทั้งสองชนิดมีโปรตีนเท่ากันคือ 0.5%(w/v) ในปริมาตรที่ใช้ย่อยทั้งหมด 45 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ตัวอย่างผงจิ้งหรีด

1) เนื่องจากผงจิ้งหรีดมีโปรตีน 61.06%(dry base) ต้องชั่งผงจิ้งหรีด 0.3688 กรัม

2) ผสมในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 45 มิลลิลิตร

3) ในตัวอย่างเข้มข้น 0.5%(w/v) มีโปรตีนละลายอยู่ 0.225 กรัม ใช้เอนไซม์ในการย่อย 0.3688 ไมโครลิตร

ตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีด

1) เนื่องจากโปรตีนจิ้งหรีดมีโปรตีน 66.60%(dry base) ต้องชั่งโปรตีนจิ้งหรีด 1.1416 กรัม

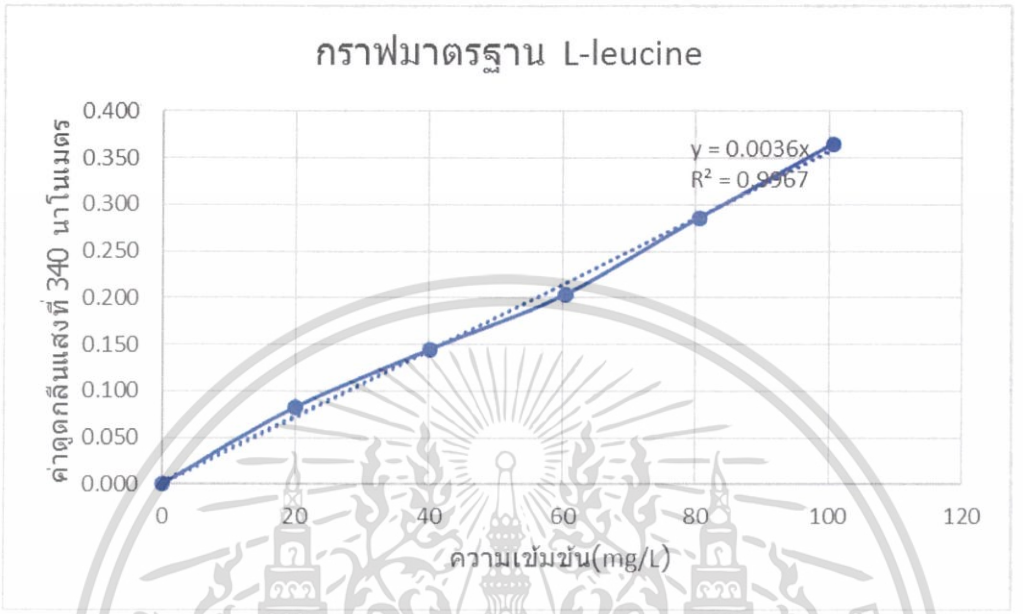
2) ผสมในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 45 มิลลิลิตร

3) ในตัวอย่างเข้มข้น 0.5%(w/v) มีโปรตีนละลายอยู่ 0.225 กรัม ใช้เอนไซม์ในการย่อย 0.3688 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ก.5 การตรวจสอบระดับการย่อย (Degree of hydrolysis: DH) ของโปรตีนจากผงจิ้งหรีดและโปรตีนจิ้งหรีด

กราฟมาตรฐาน L-leucine




**ตัวอย่างการคำนวณระดับการย่อย**

จากสูตร $\mathrm{DH}(\%) = 100\left(\frac{\mathrm{AN}_2 - \mathrm{AN}_1}{\mathrm{Npb}}\right)$

$$\text{DH ที่ระยะเวลาย่อยที่ 0 นาที} = \frac{356.67 - 193.61}{312.5} \times 100 = 52.18$$

**ตัวอย่างการคำนวณการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน**

จากสูตร $\mathrm{EAI}\left(\frac{m^2}{g}\right) = (2 \times 2.303 \times A \times DF)/l\emptyset C$

$$\mathrm{ESI}(min) = A_0 \times \Delta t/\Delta A$$

$$\mathrm{EAI} = \frac{(2 \times 2.303 \times 0.565 \times 150)}{0.01 \times 10 \times 0.375} = 10409.56$$

$$\mathrm{ESI} = \frac{0.565 \times 10}{0.565 - 0.214} = 16.10$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตัวอย่างการคำนวณการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม**

จากสูตร $\mathrm{FE}(\%) = (V_T/V_0) \times 100$

$$\mathrm{FS}(\%) = (V_t/V_0) \times 100$$

$$\mathrm{FE} = \frac{37}{35} \times 100 = 105.7$$

$$\mathrm{FS} = \frac{35}{35} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข.
# รูปภาพจากการวิจัย

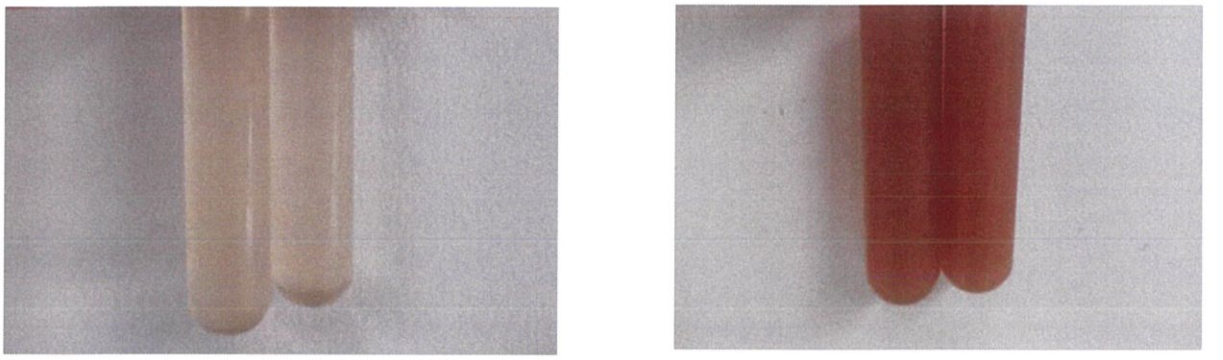
a b

**ภาพที่ ข.1** ภาพตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย โดยภาพ a คือตัวอย่างผงจิ้งหรีด (Powder) ภาพ b คือตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีด (Paste)

a b

**ภาพที่ ข.2** ภาพขั้นตอนการไฮโดรไลเสตตัวอย่าง โดยภาพ a คือ ภาพแสดงขั้นตอนการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ alcalase และภาพ b คือ ภาพแสดงขั้นตอนการหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

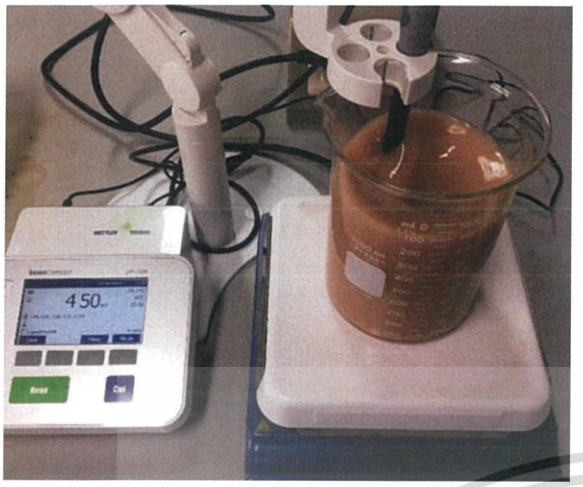


a b

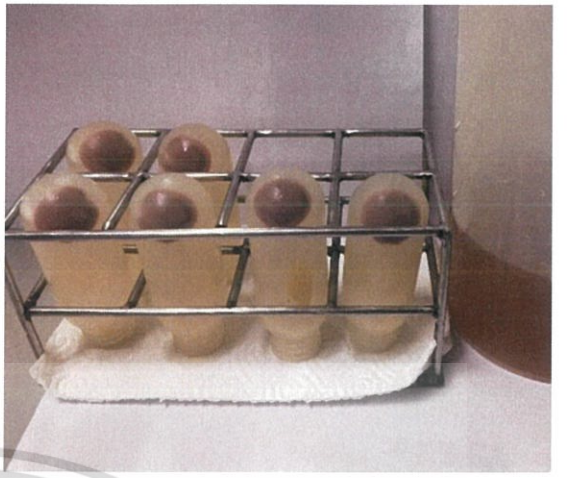
**ภาพที่ ข.3** ภาพตัวอย่างที่ได้หลังการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ alcalase โดยภาพ a คือตัวอย่างผงจิ้งหรีด (Powder) และภาพ b คือตัวอย่างโปรตีนจิ้งหรีด (Paste)

a b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



c



d

**ภาพที่ ข.4** ภาพแสดงขั้นตอนการสกัดโปรตีน โดยภาพ a คือผงจิ้งหรีดละลายน้ำกลั่นกวนและปรับ pH เท่ากับ 11 ภาพ b คือเมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงแยกกากแมลงออกเก็บส่วนใส ภาพ c คือส่วนใสที่ได้ตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 และภาพ d คือโปรตีนจิ้งหรีดที่ได้หลักจากปั่นเหวี่ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาว ณัฐชา วรรณสี
วัน เดือน ปี เกิด 28 มิถุนายน 2539
ประวัติการศึกษา - ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น ถึง ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ สมุทรสาคร
- ระดับปริญญาตรี
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-นามสกุล นางสาว วชิรญาณ์ อิ่มทะเล
วัน เดือน ปี เกิด 24 ตุลาคม 2539
ประวัติการศึกษา - ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น ถึง ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนหนองจอกพิทยานุสสรณ์ มัธยม
- ระดับปริญญาตรี
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-นามสกุล นางสาว ศศิประภา ตั้งวิริยะ
วัน เดือน ปี เกิด 8 กุมภาพันธ์ 2540
ประวัติการศึกษา - ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น
โรงเรียนเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ กาญจนบุรี
- ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนราชวินิต มัธยม
- ระดับปริญญาตรี
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้