

ผลของการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีน  
จากตักแตนปาทั้งก้า (*Patanga succinta* L.) ที่มีต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่

และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่สกัดได้

Impact of ultrasound - assisted process on functional and  
antioxidative properties of protein extracted from *Patanga*

*succincta* L.



ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ผลของการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจาก  
ตั๊กแตนป่าทั้งก้าน (*Patanga succincta* L.) ที่มีต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่สกัดได้

Impact of ultrasound - assisted process on functional and  
antioxidative properties of protein extracted from *Patanga  
succincta* L.

จัดทำโดย

จิรารวรรณ หามนตรี รหัสนักศึกษา 59080009  
ธัญนันท์ พลายมีนพแก้ว รหัสนักศึกษา 59080026

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....20...../.....พ.ค...../...2563....

(ผศ.ดร.สุพัตรา กาญจนประทุม)  
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	ผลของการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจาก ตั๊กแตนปาทังก้า ( <i>Patanga succincta</i> L.) ที่มีต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์ ด้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่สกัดได้
ชื่อนักศึกษา	จิราวรรณ หามนตรี รหัสนักศึกษา 59080009 ธัญนันท์ พลายมีนพเก้า รหัสนักศึกษา 59080026
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุพัตรา กาญจนประทุม

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนปาทังก้า (*Patanga succincta* L.) โดยทำการศึกษาสภาวะของอัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น (Amplitudes) 40, 50 และ 60% และที่ระยะเวลา (Treatment times) 10, 20 และ 30 นาที ที่มีผลต่อผลผลิตคิดเป็นของแข็ง (Solid yield) ผลผลิตโปรตีน (Protein recovery) คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physicochemical) สมบัติเชิงหน้าที่ (Functional properties) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) ของโปรตีนที่ได้ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม (ไม่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด) พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดสามารถเพิ่มผลผลิตคิดเป็นของแข็ง (32.48-38.62%) และผลผลิตโปรตีนได้ (12.03-15.57%) เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (22.27% และ 11.10% ตามลำดับ) ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของระยะเวลาของการใช้อัลตราซาวด์ ไม่มีผลต่อผลผลิตคิดเป็นของแข็งที่ได้ ( $p > 0.05$ ) แต่สามารถเพิ่มผลผลิตโปรตีนได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ความกว้างคลื่นที่ 60% นอกจากนี้การใช้อัลตราซาวด์ช่วยที่สภาวะต่าง ๆ มีผลต่อค่าพินผิวไฮโดรโฟบิกและปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระของโปรตีนตั๊กแตนปาทังก้าที่สกัดได้แตกต่างกันไป ซึ่งเป็นผลมาจากโมเลกุลของโปรตีนเกิดการคลายตัว (Unfolding) และการตัดสายของโมเลกุลโปรตีนที่ระดับต่างๆ ตามลำดับ ขึ้นอยู่สภาวะความรุนแรงของอัลตราซาวด์ที่ใช้ เมื่อใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด ความสามารถในการละลายของโปรตีนตั๊กแตนปาทังก้าที่ได้จากทุกๆสภาวะที่ทำการทดลองสูงกว่าตัวอย่างควบคุมโดยเฉพาะที่ pH 4 เป็นต้นไป อย่างไรก็ตาม พบการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะรุนแรงต่ำ (ความกว้างคลื่น 40% ระยะเวลา 10 นาที) และสูง (ความกว้างคลื่น 60% ระยะเวลา 30 นาที) ที่สุด ( $p < 0.05$ ) การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการเกิดโพลีเมอร์และความคงตัวของโพลีเมอร์ของโปรตีนตั๊กแตนปาทังก้า ยกเว้นที่สภาวะรุนแรงที่สุดที่ใช้ในการทดลอง (ความกว้างคลื่น 60% ระยะเวลา 30 นาที) ที่มีผลต่อการลดลงของความสามารถในการเกิดโพลีเมอร์และความคงตัวของโพลีเมอร์ นอกจากนี้การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในทุกๆ ความกว้างคลื่นที่ใช้ในการทดลองสามารถเพิ่มความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนที่ได้ ภายใต้ระยะเวลาที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม การใช้ความกว้างคลื่นที่สูงกว่า 40% ด้วยระยะเวลาที่ไม่เพียงพอมีผลกระทบต่อค่าความคงตัวของอิมัลชัน เมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS) และ DPPH (DPPH) และความสามารถในการให้อิเล็กตรอน โดยวิธีการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (FRAP) พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น 60% มีศักยภาพในการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนตั๊กแตนปาทังก้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระยะเวลา 20 นาที โปรตีนที่สกัดได้แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง ABTS และ DPPH สูง และมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เทียบเคียงได้กับตัวอย่างควบคุม ( $p > 0.05$ ) ดังนั้นการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจาก ตั๊กแตนปาทังก้าสามารถเพิ่มผลผลิตในการสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้สภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้มีผลต่อ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนที่สกัดได้ การศึกษา สภาวะอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนปาทังก้าจึงมีความจำเป็น เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูง และมีคุณภาพ เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

คำสำคัญ: ตั๊กแตนปาทังก้า อัลตราซาวด์ การสกัดโปรตีน สมบัติเชิงหน้าที่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Impact of ultrasound - assisted process on functional and antioxidative properties of protein extracted from <i>Patanga succincta</i> L.	
Student name Student	Jirawan Hamontri	ID 59080009
	Thanyanan Plaimeenoppakao	ID 59080026
Program	Bachelor of Science in Food Science and Technology	
Year	2020	
Advisor	Assistant Professor Dr.Supatra Karnjanapratum	

### ABSTRACT

The present study aimed to study the impact of ultrasound - assisted process on yield, characteristics, functional and antioxidant properties of protein extracted from *Patanga succinta* L. Different conditions of ultrasound were conducted using various amplitude (40, 50 and 60%) and duration times (10, 20 and 30 minutes). Ultrasound-assisted process effectively increased the solid yield (32.48-38.62%) and protein recovery (12.03-15.57%), compared with the control sample (without ultrasound-assisted process) (22.27% and 11.10%, respectively). Nevertheless, increase of ultrasonication treatment time had no effect on solid yield ( $p > 0.05$ ) but protein recovery, especially those from 60% amplitude. In addition, different conditions of ultrasound affected on changing of surface hydrophobic and the free alpha-amino content of extracted proteins differently, which was due to the unfolding and denaturation of protein molecules at different levels depending on the severity of the ultrasound used. The ultrasound-assisted process improved solubility of extracted protein for all conditions tested, compared with those of control, especially at pH higher than 4. However, solubility of protein was declined when the less (40% amplitude duration in 10 minutes) and the most severe (60% amplitude duration in 30 minutes) conditions used ( $p < 0.05$ ). Ultrasound-assisted process increased foam capacity and stability of extracted protein, excepted those from the highest amplitude (60%) with the longest time (30 min), that caused decrease of foam capacity and stability. In addition, ultrasound-assisted process under appropriate condition could increase emulsion activity and emulsion stability of extracted protein. Nevertheless, use of amplitude at higher than 40% with insufficient time could decrease emulsion stability in comparison with those of control ( $p > 0.05$ ). From results of antioxidative activities, the extracted protein prepared with ultrasound-assisted process showed high ABTS and DPPH radicals scavenging activities with good ability as electron donor. It was noted that ultrasound-assisted process at 60% amplitude, especially for 20 min, had the potential to enhance antioxidant activity of extracted protein from *P. succinta*. Therefore, ultrasound could be an alternative technique to increase the efficiency of protein extraction from *P. succinta*. Ultrasound condition used governed physicochemical characteristics, functional and antioxidation properties of extracted proteins. The condition of ultrasound

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

used should be then optimized to obtain the high protein yield with good properties, which were suitable for food application.

Keywords: *Patanga succinta* L., Ultrasound, Protein extraction, Functional properties, Antioxidative activity.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาปัญหาพิเศษในหัวข้อ “ผลของการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งก้า (*Patanga succinta* L.) ที่มีต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่สกัดได้” ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ ดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากอาจารย์ที่ปรึกษา คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา กาญจนประทุม ในการแนะนำ ให้ข้อเสนอแนะ ติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการวิจัยตั้งแต่ขั้นตอนการวางแผนและการปฏิบัติงานจริง คอยติดตามดูการทำงาน และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอน ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. สุพิรยา อาษา ที่ท่านได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบงานวิจัยและคอยให้คำแนะนำ และให้การสนับสนุนอย่างดีในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิทธิพงศ์ นลินานนท์ ที่ท่านให้การสนับสนุนในส่วนของอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย รวมถึงพี่ๆ นักศึกษาปริญญาโทที่สละเวลาช่วยเหลือให้ข้อมูลและคำแนะนำต่างๆ ที่ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้การสนับสนุน คอยให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ รวมทั้งคอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมาจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอมอบประโยชน์อันเกิดจากงานวิจัยฉบับนี้แก่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากงานวิจัยฉบับนี้มีความผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

จิรวรรณ หามนตรี  
ธันยนันท์ พลายนินท์  
2 พฤษภาคม 2563

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญภาพ	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ตั๊กแตนป่าทั้งก้า	4
2.2 อัลตราซาวด์	5
2.3 คุณลักษณะของโปรตีน	8
2.4 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน	9
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 วัตถุประสงค์และสารเคมี	12
3.2 อุปกรณ์	13
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	14
3.4 วิเคราะห์ทางสถิติ	18
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	19
4.1 ผลผลิตคิดเป็นของแข็งและผลผลิตโปรตีน	19
4.2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ	21
4.3 สมบัติเชิงหน้าที่	23
4.4ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	28
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	32
5.1 สรุปผล	32
5.2 ข้อเสนอแนะ	32
บรรณานุกรม	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

ภาคผนวก	หน้า
ภาคผนวก ก	35
ภาคผนวก ข	36
ประวัติผู้เขียน	39
	41



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	เงื่อนไขการสกัดโปรตีนที่ละลายในน้ำจากผงตักแทนปาทั้งก้า	15
4.1	ผลผลิตคิดเป็นของแข็งและผลผลิตโปรตีนของโปรตีนที่ละลายในน้ำจากตักแทนปาทั้งก้า ( <i>Patanga succuncta</i> ) ที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในสถานะต่างๆ	20
4.2	พื้นผิวไฮโดรโฟบิกและปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระของโปรตีนที่ละลายในน้ำจากตักแทนปาทั้งก้า ( <i>Patanga succuncta</i> ) ที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในสถานะต่างๆ	22
4.3	ความสามารถในการเกิดโฟม ความคงตัวของโฟมและความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนที่ละลายในน้ำจากตักแทนปาทั้งก้า ( <i>Patanga succuncta</i> ) ที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในสถานะต่างๆ	26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	<i>Patanga succuncta</i>	4
2.2	Anatomy of <i>Patanga succuncta</i>	5
2.3	การเกิดแรงขยายและแรงอัดจากควิเทชั่นของฟองอากาศ	7
4.1	ความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ละลายในน้ำจากตักแตนปาทั้งก้า ( <i>Patanga succuncta</i> ) ที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในสภาวะต่างๆ	24
4.2	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนที่ละลายในน้ำจากตักแตนปาทั้งก้า ( <i>Patanga succuncta</i> ) ที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในสภาวะต่ำ	30



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาพิเศษ

ในปัจจุบันประชากรโลกจะมีจำนวนถึง 9,700 ล้านคน และอาหารที่จะเลี้ยงประชากรโลกจะต้องมีมากถึง 2 เท่าของปัจจุบัน แต่พื้นดินเพาะปลูกมีไม่เพียงพอ และ 1 ใน 3 ของพื้นดินเพาะปลูกใช้ไปในการเลี้ยงปศุสัตว์ ซึ่งอาหารโปรตีนที่จะมาทดแทนปศุสัตว์ คือ แมลง เพราะเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง มีสารอาหารครบถ้วน ใช้พื้นที่ในการเลี้ยงน้อยกว่า และยังปล่อยมลพิษออกสู่ชั้นบรรยากาศโลกน้อยกว่า ดังนั้นแมลงจึงเป็นแหล่งโปรตีนใหม่ โดยผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแมลงที่ได้รับความนิยม เช่น การนำไปทำเป็นแป้ง และนำไปผลิตเป็นอาหารประเภทต่างๆ นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่พบว่า แมลงสายพันธุ์ *Patanga succincta* L. หรือ ตั๊กแตนปาทั้งก้า มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 27.6 กรัมต่อน้ำหนักสด 100 กรัม (กรมอนามัย, 2553) ซึ่งปริมาณโปรตีนอยู่ในระดับสูงเมื่อเทียบกับแมลงชนิดอื่นๆ Indriani และคณะ (2020) ได้ทำการศึกษาการผลิตผงแมลงตั๊กแตนปาทั้งก้าที่ผ่านการกำจัดไขมันแล้ว พบว่าผงแมลงตั๊กแตนปาทั้งก้าที่ได้ให้ปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 78.7 และมีคุณลักษณะทางเคมีกายภาพ ที่เหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารเชิงการค้า เช่น แป้งเสริมโปรตีนจากตั๊กแตนปาทั้งก้า อย่างไรก็ตามการบริโภคแมลงผง ยังมีข้อจำกัดเรื่ององค์ประกอบของไคติน (Chitin) ที่ก่อให้เกิดอาการแพ้ในผู้บริโภคกลุ่ม Anaphylaxis (ชามาศ วงศ์ษา, 2562) และยังเป็นข้อจำกัดในการเสริมอาหาร โดยเฉพาะอาหารจำพวกแป้ง เพราะมีผลต่อสมบัติการเกิดเจลของแป้งที่ได้ (Indriani และคณะ, 2020) นอกจากนี้คุณสมบัติการละลายของโปรตีนแมลงก็เป็นปัจจัยสำคัญต่อการประยุกต์ใช้โปรตีนแมลงเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารและใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารด้วยเช่นกัน (Mintah และคณะ, 2019) ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์แมลงในรูปแบบโปรตีนสกัด จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจเพื่อพัฒนาและกระตุ้นการบริโภคแมลงเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกต่อไป

การสกัดโปรตีนจากแมลงนิยมใช้วิธีคล้ายกับการสกัดโปรตีนจากพืช คือนิยมใช้ด่างในการสกัดและตกตะกอนโปรตีนโดยใช้จุดไอโซอิเล็กทริก (pI value) โดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อตัวทำละลาย ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัด เป็นต้น โปรตีนสกัดที่ได้มา จะมีสมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดแมลง วิธีการสกัด สภาวะที่ใช้ในการสกัดนั้นๆ ก่อนหน้านี้ มีการรายงานถึงการศึกษาการสกัดโปรตีนจากแมลงหลายชนิด เช่นแมลงกินได้จากประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งพบว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วงร้อยละ 17-23 (Yi และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานจากการศึกษาปริมาณผลผลิตและโปรตีนที่สกัดได้จากตัวหนอนของแมลงปีกแข็ง (*Tenebrio molitor*) โดยการใช้ด่างในการสกัดที่ pH 10 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีผลผลิตร้อยละ 60 และมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 87 (Azagoh et al., 2016) young Deug และคณะ (2017) ได้ศึกษาการสกัดโปรตีนจากแมลงที่ผ่านการกำจัดไขมันแล้ว ได้แก่ ผงจากตัวอ่อนหนอนนก (*Tenebrio molitor*) จิ้งหรีด (*Gryllus bimaculatus*) และดักแด้หนอนไหม (*Bombyx mori*) โดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมด้วยในการสกัด (2.5 กิโลวัตต์ ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ แอมพลิจูด 75% และจังหวะการเปิดปิดทุก 3 วินาที) ที่เวลาต่างๆ (0-20 นาที) ผลปรากฏว่าโปรตีนที่สกัดได้จากแมลงทุกชนิด ด้วยคลื่นอัลตราซาวด์มีผลผลิตมากกว่าตอนที่ไม่มีใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัด ทั้งผลผลิตโปรตีนของดักแด้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนอนใหม่มีค่ามากที่สุด ที่เวลาการสกัดเดียวกัน เมื่อใช้เวลาการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์มากขึ้น จะได้ผลผลิตโปรตีนจากการสกัดมากขึ้นด้วย

ทิพย์วาลี และคณะ (2019) ได้กล่าวถึงการปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งช่วยเพิ่มความหลากหลายในการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ โดยการดัดแปลงโครงสร้างซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อน, การใช้เอนไซม์, การหมัก นอกจากนี้ยังมีการใช้วิธีเชิงกล เช่น การใช้ความดันสูง (High-pressure processing : HPP) การใช้เทคนิค micronization และการใช้อัลตราซาวด์ (Anema และคณะ, 2005; Zhen และคณะ, 2011; Jia และคณะ, 2011; Wu และคณะ, 2014; Reet และคณะ, 2015; Zhou และคณะ, 2015) การดัดแปลงโปรตีนนั้นไม่เพียงแต่สามารถเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Zhen และคณะ, 2011) เช่น ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟอง และคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ แต่ยังพัฒนาความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกด้วย (Jia และคณะ, 2011; Wu และคณะ, 2014; Reet และคณะ, 2015; Zhou และคณะ, 2015) Zhou และคณะ (2017) พบว่าอัลตราซาวด์ช่วยปรับสภาพโปรตีนจากตัวอ่อนแมลงวันลาย (*Hermetia illucens*) โดยการใช้อัลตราซาวด์ช่วยที่ความถี่  $40 \pm 2$  kHz จังหวะการสั่นแบบสลับ เปิด 15 วินาที พัก 5 วินาที ให้โปรตีนที่มีความสามารถในการละลายน้ำที่ดี, มีความสามารถการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมที่ดี, มีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี และมีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดอีกด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างจากชุดควบคุม (การสกัดแบบดั้งเดิม) จะเห็นได้ว่าข้อมูลและองค์ความรู้เกี่ยวกับการใช้อัลตราซาวด์ในกระบวนการสกัดโปรตีน โดยเฉพาะการสกัดโปรตีนจากแมลงกินได้ ที่มีผลต่อ ผลิตภัณฑ์เชิงหน้าที่ และสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนสกัดสามารถเพิ่มโอกาสของการนำเอาแมลงกินได้มาใช้เป็นแหล่งอาหารทางเลือก ที่นอกจากจะเป็นแหล่งสารอาหารแล้วยังสามารถพัฒนาคุณลักษณะต่างๆ ให้เหมาะแก่การใช้งานในรูปสารเติมแต่งอาหารหรืออาหารเพื่อสุขภาพได้อีกด้วย

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยให้กระบวนการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนป่าทั้งก้า (*Patanga succinta* L.) ที่มีต่อผลผลิต คุณลักษณะ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่สกัดได้ เพื่อให้ได้โปรตีนจากตั๊กแตนป่าทั้งก้าที่สามารถนำมาใช้เป็นหนึ่งในโปรตีนทางเลือกสร้างความมั่นคงทางอาหารให้กับมนุษย์ในอนาคต และยังเป็นการเพิ่มช่องทางของการใช้ประโยชน์จากแมลงให้มากขึ้น รวมไปถึงช่วยลดปัญหาการระบาดของตั๊กแตนป่าทั้งก้า ที่อาจก่อความเสียหายแก่พืชผลทางการเกษตร โดยการนำศัตรูพืชมาเปลี่ยนเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาการใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนป่าทั้งก้า (*Patanga succinta* L.) ที่มีผลต่อผลผลิต คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนแมลงที่สกัดได้

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ได้ทราบถึงผลของการใช้อัลตราซาวด์ช่วยให้กระบวนการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนป่าทั้งก้า (*Patanga succinta* L.) ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ และฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนแมลงที่สกัดได้

1.3.2 ทราบสถานะที่เหมาะสมของการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนป่าทั้งก้า (*Patanga succinta* L.) ที่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอน เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.3 สามารถวางแผนการทำงานอย่างเป็นระบบ และใช้เครื่องมือต่างๆ สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพ และผลผลิตของโปรตีนที่สกัดได้อย่างถูกต้อง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ตั๊กแตนป่าทั้งกำ



รูปที่ 2.1 *Patanga succincta* L.

ที่มา : [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a9/Locusta\\_migratoria\\_migratorioides\\_male.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a9/Locusta_migratoria_migratorioides_male.jpg)

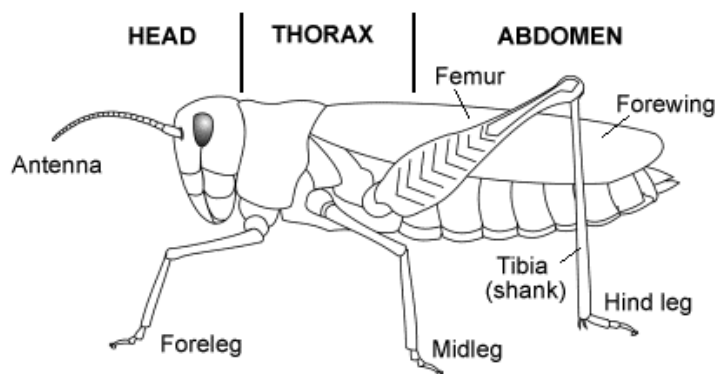
ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ Bombay locust

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Patanga succinta* (Linn.)

วงศ์ Acrididae

อันดับ Orthoptera

ตัวอ่อน จะมีสีเขียวเหลือง แต่เมื่อเป็นตัวแก่จะมีสีน้ำตาลอ่อน สีน้ำตาลเข้ม ระยะตัวอ่อน ประมาณ 56 วัน ตัวเต็มวัย มีขนาดใหญ่ รูปร่างเรียวยาว บินเร็ว และว่องไว ในขณะที่บินจะเห็นปีกคู่ในเป็นสีชมพู ขนาดลำตัวยาว 6-8 ซม. ตัวผู้เล็กกว่าตัวเมีย โดยตัวผู้มีความยาววัดจากหัวถึงปลายปีก 6-6.5 เซนติเมตร ตัวเมียยาว 7.6-7.8 เซนติเมตร ทั้งตัวผู้ และตัวเมีย ลำตัวมีสีน้ำตาลอ่อนสลับกับสีน้ำตาลแก่ แก้มทั้ง 2 ข้างมีแถบสีดำพาดจากขอบตารวมด้านล่างถึงปาก ปีกยาวเลยปลายส่วนท้องไปประมาณ 1/5 เท่าของตัว ปีกคู่แรกแข็งมีแถบสีเหลืองและสีน้ำตาล ยาวไปต่อกับแถบสีเดียวกันกับแถบที่อยู่บนสันอกและหน้าผากพอดี ปีกคู่ที่ 2 เป็นเยื่อบางใส โคนปีกมีสีม่วงแดงหรือสีชมพู



รูปที่ 2.2 Anatomy of *Patanga succincta* L.

ที่มา : [https://www.tes.com/lessons/ieSBiPCjrh3\\_og/all-about-locusts-and-whales](https://www.tes.com/lessons/ieSBiPCjrh3_og/all-about-locusts-and-whales)

วงจรชีวิตในรอบ 1 ปี มีการขยายพันธุ์เพียง 1 ครั้ง ฤดูผสมพันธุ์อยู่ในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน มีอัตราส่วนตัวผู้ : ตัวเมีย 1:1 ตัวเมียวางไข่ในดิน ระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม (เป็นระยะฝนแรกของปี) โดยวางไข่เป็นฝักกลิ้งไปในดินที่มีลักษณะร่วนซุย ลึก 2-7 เซนติเมตร และมีความชื้นพอเหมาะ ลักษณะฝักไข่มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกยาว 2.3-5 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 มม. ห่อหุ้มด้วยฟองน้ำสีขาว ตัวเมียวางไข่ได้ 1-3 ฝัก ซึ่งไข่ 1 ฝัก มีจำนวน 96-152 ฟอง เพราะฉะนั้นไข่ 1-3 ฝักมีจำนวนรวม 288-451 ฟอง ไข่อยู่ 35-51 วัน (เมษายน-พฤษภาคม) ไข่ฟักเป็นตัวอ่อนช่วงเดือนพฤษภาคม-กรกฎาคม ตัวอ่อนมีการลอกคราบ 7-8 ครั้ง ช่วงอายุตัวอ่อน 56-81 วัน ตั๊กแตนเมื่อวางไข่แล้วก็จะตายในที่สุด

จากการศึกษา ตั๊กแตนป่าทั้งกำมีปริมาณกรดอะมิโนต่างกัน (กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2548) เช่น ไลซีน (lysine) และวาเลอีน (valine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนจำเป็นที่ร่างกายสร้างขึ้นเองไม่ได้ ระหว่าง 18.81 – 77.24 มิลลิกรัม/กรัมโปรตีน และระหว่าง 24.42 – 62.18 มิลลิกรัม/กรัมโปรตีน

อาร์จินีน (arginine) และไกลซีน (glycine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนไม่จำเป็นที่ร่างกายสร้างได้ ระหว่าง 32.31 – 58.78 มิลลิกรัม/กรัมโปรตีน และระหว่าง 29.66 – 52.75 มิลลิกรัม/กรัมโปรตีน

## 2.2 อัลตราซาวด์

คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic waves) หมายถึงพลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่การสั่นของคลื่นประมาณ 20, 000 ครั้งต่อวินาทีหรือสูงกว่า (Hoover, 2000) หรือหมายถึงคลื่นความดัน (Pressure waves) ที่มีความถี่ (frequency) สูงกว่าคลื่นเสียงปกติ (สูงกว่า 20, 000 กิโลเฮิร์ตซ์, kHz) ส่วนคำว่าอัลตราโซนิกส์ (Ultrasonics) หรือโซนิเคชันส์ (Sonications) หมายถึงการศึกษาเกี่ยวกับคลื่นเสียงหรืออัลตราซาวด์ในช่วงความถี่ดังกล่าวซึ่งมนุษย์ไม่สามารถได้ยินโดยทั่วไปแล้วคลื่นเสียง (Sound) ที่มนุษย์ได้ยินนั้นเกิดจากการสั่นสะเทือนของตัวกลางที่ยืดหยุ่น (Elastic medium) ที่มีความถี่อยู่ในช่วง 20 – 20, 000 kHz คลื่นเสียงผ่านเข้าสู่ตัวกลางที่ยืดหยุ่นในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว (Longitudinal waves) แต่คลื่นเสียงที่ผ่านเข้าไปภายในวัตถุที่เป็นของแข็งอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาวหรือคลื่นตามขวาง (transverse waves) ในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากอัลตราซาวด์ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบันพบว่ามี การนำอัลตราซาวด์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหรือในกระบวนการแปรรูปอาหารโดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ การใช้อัลตราซาวด์กำลังต่ำและความถี่สูง (Low power and high frequencies) ซึ่งใช้ในด้านการวิเคราะห์ (Diagnostic ultrasound) เป็นส่วนใหญ่และการใช้อัลตราซาวด์กำลังสูงและความถี่ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่ำ (High power and low frequencies) หรือที่เรียกว่าพาวเวอร์อัลตราซาวด์ (Power ultrasound) ที่มีก นำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร (Mason, 1998)

Sala และคณะ (1995) รายงานว่ามีการรวบรวมผลการศึกษาในเรื่องผลของคลื่นอัลตราซาวด์ต่อ เอนไซม์และองค์ประกอบของอาหารอื่นๆ นั้นมีมานานแล้วโดยประมาณ 70 ปีที่ผ่านมา ซึ่งต่อมาในภายหลัง พบว่าคลื่นอัลตราซาวด์สามารถทำให้โมเลกุลขนาดใหญ่เกิดปฏิกิริยาดีโพลีเมอไรเซชัน (Depolymerization) ขึ้นได้ ตัวอย่างเช่นพบว่าทำให้ความหนืดของสารละลายสตาร์ช (Starch) กัมอะราบิก (Gum arabic) เจลาติน (Gelatin) และโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ชนิดอื่นๆ มีค่าลดลง หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ โพลีเมอร์ของสตาร์ชและเด็คซ์แทรน (Dextrans) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดใหญ่ โมเลกุลใหญ่ขึ้น รวมทั้งทำให้ DNA แตกสลายแต่ยังคงโครงสร้างขององค์ ประกอบย่อยไว้ได้ เป็นต้น และในภายหลังยังคงมีการพบว่า คลื่นอัลตราซาวด์นั้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีลักษณะแตกต่างกันออกไป ซึ่งขึ้นอยู่กับธรรมชาติของ แก๊สที่ละลายหรือมีอยู่ในสารละลายที่นำมาสัมผัสกับคลื่น เช่นถ้าแทนที่แก๊สออกซิเจนด้วยไฮโดรเจน จะทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่หลายชนิดเพิ่มขึ้นได้

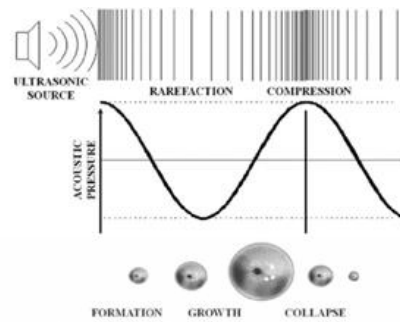
ในส่วนของผลของคลื่นอัลตราซาวด์ต่อโปรตีนพบว่ามีความซับซ้อนในการเกิดปฏิกิริยาเมื่อสัมผัสกับ คลื่นอัลตราซาวด์ เช่นโพลีเมอร์ของโปรตีนทรงกลม (Polymeric globular proteins) จะเกิดการแตกตัวทำให้มีขนาดเล็กลงเป็นหน่วยย่อย และถ้าในสารละลายตัวกลางนั้นมีแก๊สออกซิเจน อาจมีผลทำให้โครงสร้าง จตุรภูมิ (Quaternary structure) โดยอาจทำให้สูญเสียสภาพธรรมชาติได้ ในส่วนของไลโปโปรตีน (Lipoprotein) คลื่นอัลตราซาวด์อาจทำให้ไขมันบางส่วนแยกออกจากโครงสร้าง (Delipidation) และในฮีโมโปรตีน (Haemoproteins) อาจทำให้เกิดการแยกตัวของฮีม (Haeme) ออกจากโกลบิน (Globin) และในกรณีที่สารละลายโปรตีนได้รับคลื่นอัลตราซาวด์เป็นเวลานานมากขึ้น อาจมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) โดยสายโซ่โพลีเปปไทด์อาจแตกออกทำให้เกิดชิ้นส่วนของโมเลกุลย่อยที่มีขนาดเล็กลง เป็นต้น เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพ ในการยับยั้งเอนไซม์ และจุลินทรีย์นั้นพบว่าการนำเทคนิคหรือกระบวนการ อื่นๆ มาใช้ร่วมกับการให้คลื่นอัลตราซาวด์ซึ่งมีรายงานการศึกษาที่แตกต่างกันออกไป

### 2.2.1 คาวีเทชัน (cavitation)

คลื่นเหนือเสียงเป็นคลื่นตามยาว (longitudinal wave) นั่นคือ การเคลื่อนที่จะอาศัยตัวกลางในการ ถ่ายเทพลังงาน โดยอนุภาคตัวกลางจะสั่นไปมาหรือย้ายตำแหน่งในแนวเดียวกับทิศทางการเคลื่อนที่ของ พลังงาน การเคลื่อนที่ของคลื่นไปในตัวกลางของเหลว จะทำให้เกิดการสั่นสะเทือนเกิดเป็นส่วนอัด (compression) และส่วนขยาย (expansion) สลับไปมาแพร่กระจายในตัวกลาง การอัดตัวของคลื่นเสียงมี ผลทำให้โมเลกุลถูกบีบอัดเข้าหากัน ส่วนการขยายตัวของคลื่นเสียงจะทำให้โมเลกุลแยกตัวออกจากกัน ทำให้เกิดเป็นฟองอากาศในตัวกลางของเหลว โดยฟองอากาศดังกล่าวจะขยายตัวขึ้นและหดตัวในที่สุด การหดตัวของฟองอากาศที่ผิวของตัวอย่างของแข็งจะทำให้เกิดช่องว่างซึ่งทำให้เกิดการไหลอย่างรวดเร็วของ ตัวกลางของเหลว การไหลดังกล่าวจะกระทบผิวของ ตัวอย่างของแข็งอย่างรุนแรง ปรากฏการณ์ดังกล่าว เรียกว่า คาวีเทชัน (cavitation)

พลังงานของคลื่นเหนือเสียงที่เกิดขึ้นมีผลกระทบทั้งทางเคมี ชีวภาพ และกายภาพโดยผ่าน ปรากฏการณ์ที่เรียกว่า คาวีเทชัน (cavitation) ซึ่งคาวีเทชัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งเกิดขึ้นในตัวกลางของเหลว บริเวณผิวของของแข็ง หรือบริเวณผิวของภาชนะที่บรรจุของเหลว นั้น เมื่อเกิดแรงอัดและแรงขยาย เนื่องจากความดันของคลื่นเหนือเสียง ทำให้ฟองอากาศมีขนาดโตขึ้นและ หดตัวลงสลับกันเป็นจังหวะเนื่องจากแก๊สภายในของเหลวแพร่ผ่านเข้าและออกจากฟองอากาศสลับกันไปทำ

ให้เกิดลักษณะคล้ายการกว่นของเหลวอย่างรุนแรง ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดด้วยระบบของเหลว-ของแข็งได้



รูปที่ 2.3 การเกิดแรงขยายและแรงอัดจากควิเทชั่นของฟองอากาศ  
ที่มา: Oualid (2014)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดควิเทชั่น ได้แก่ แก๊สและอนุภาคของแข็งอยู่ในตัวกลางของเหลว การที่มีแก๊สหรืออนุภาคของแข็งอยู่ในตัวกลางของเหลวจะทำให้ค่าแรงดึงของของเหลวลดลง ทำให้ความรุนแรงเนื่องจากการยุบตัวของควิเทชั่นที่เกิดขึ้นมีค่าลดลง เนื่องจากแก๊สจะทำหน้าที่รับแรงกระแทกของการเปลี่ยนแปลงแรงดันอย่างรวดเร็ว และเนื่องจากแก๊สไม่สามารถแพร่ออกจากควิเทชั่นได้ในเวลาที่ยุบตัวอันสั้น การยุบตัวจึงไม่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ รวมทั้งยังทำให้อุณหภูมิและความดันสูงสุดที่เกิดขึ้นจากการยุบตัวของควิเทชั่นมีค่าลดลง นอกจากนี้ความดันภายในของเหลวก็มีผลเช่นเดียวกัน เนื่องจากการเพิ่มความดันภายในของเหลวส่งผลทำให้ฟองอากาศบางส่วนยุบตัวลงจนละลายเข้าไปในของเหลว จำนวนฟองอากาศจึงมีน้อยลง นอกจากนี้ยังทำให้ฟองอากาศที่ติดอยู่ที่ผิวของแข็งมีขนาดเล็กลง และมีลักษณะโค้งเว้าเข้าข้างใน ทำให้ต้องใช้ความดันของคลื่นสูงมากขึ้นเพื่อที่จะเอาชนะแรงดึงผิวของของเหลวและให้ฟองอากาศเหล่านี้หลุดออกมาเป็นควิเทชั่นต่อไปได้ อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความดันภายในของเหลวจะทำให้ความรุนแรงเนื่องจากการยุบตัวของควิเทชั่นมีมากขึ้น อีกทั้งความหนืดของของเหลว การที่ของเหลวมีความหนืดสูงจะทำให้เกิดควิเทชั่นได้ยากกว่าของเหลวที่มีค่าความหนืดต่ำกว่า เนื่องจากในกระบวนการเกิดควิเทชั่น ค่าความดันของเสียงในช่วงขยายจะต้องเอาชนะแรงดึงดูระหว่างโมเลกุลของของเหลว ค่าแรงดึงดูนี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อของเหลวมีความหนืดมากขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มความถี่ของคลื่นเสียง ซึ่งหมายถึงการลดช่วงเวลาของความดันขยายจะทำให้การเกิดควิเทชั่นยากขึ้น ดังนั้นค่าแอมพลิจูดของคลื่นเสียงที่ต้องใช้เพื่อให้เกิดฟองที่มีความถี่สูง จะต้องมีความถี่สูงขึ้น นอกจากนี้ความรุนแรงของการยุบตัวของควิเทชั่นที่เกิดขึ้นที่มีความถี่สูง เวลาของแต่ละรอบคลื่นจะมีค่าสั้นลง ดังนั้นอาจไม่เพียงพอให้ควิเทชั่นยุบตัวได้อย่างสมบูรณ์ โดยทั่วไปการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ความหนืดของของเหลวมีค่าลดลง และค่าความดันไอจะเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดควิเทชั่นได้ง่ายขึ้น และสุดท้ายการเพิ่มความเข้มของคลื่นเหนือเสียง จะทำให้ความดันและอุณหภูมิสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มของคลื่นเหนือเสียงก็มีขีดจำกัดเนื่องจากขนาดของฟองที่ใหญ่ขึ้นอยู่กับแอมพลิจูดของคลื่นเสียงด้วย ถ้าขนาดของแอมพลิจูดสูงมากเกินไปอาจทำให้ขนาดของควิเทชั่นมีขนาดใหญ่มาก ทำให้ต้องการเวลาในการยุบตัวสูงขึ้น จึงอาจทำให้ควิเทชั่นไม่สามารถยุบตัวได้อย่างสมบูรณ์ในช่วงเวลาความดันขยายของคลื่น 1 รอบ ดังนั้นจึงทำให้ความรุนแรงจากการยุบตัวของควิเทชั่นน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 คุณลักษณะของโปรตีน

โมเลกุลโปรตีนเกิดจากกรดอะมิโนมาเรียงต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์ โดยที่หมู่อะมิโนของกรดอะมิโนชนิดหนึ่งจะเชื่อมต่อกับหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนอีกชนิดหนึ่ง และมีน้ำ 1 โมเลกุลหลุด ออกไป เนื่องจากโปรตีนทุกชนิดเป็นพอลิเมอร์ของกรดอะมิโน น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนแต่ละชนิดจะผันแปรตามจำนวนและชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล การที่โปรตีนแต่ละชนิด แตกต่างกันเนื่องจากมีชนิด จำนวน และการเรียงตัวของกรดอะมิโนในสายพอลิเพปไทด์แตกต่างกัน โปรตีนที่อยู่ในโมเลกุลประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดโพลาร์เป็นจำนวนมากจะละลายน้ำได้ดี ในทาง ตรงกันข้ามโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดอะโพลาร์จะละลายน้ำได้น้อยหรือไม่ละลายน้ำ และ เนื่องจากโปรตีนมีขนาดของโมเลกุลใหญ่กว่าน้ำตาลและไขมันมาก ดังนั้นเมื่อโปรตีนละลายน้ำจึงได้ เป็นสารละลายคอลลอยด์ และไม่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ได้ (นิธิยา รัตนานนท์, 2553)

เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนที่มีขนาดของโมเลกุลผันแปรจากขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่มาก (complex macromolecules) ทำให้โปรตีนแต่ละชนิดมีลักษณะโครงสร้างโมเลกุล แตกต่างกันและมีได้หลายแบบ ได้แก่ โครงสร้างปฐมภูมิ (Primary structure), โครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure), โครงสร้างตติยภูมิ (Tertiary structure) และโครงสร้างจตุรภูมิ (Quaternary structure)

สมบัติด้านหน้าที่ของโปรตีนเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของโปรตีน กล่าวคือเกี่ยวข้องกับขนาด โมเลกุล ปริมาณและการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนในสายพอลิเพปไทด์ การกระจายตัวของประจุบน โมเลกุลของโปรตีน นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างโปรตีนกับโปรตีน การเกิดปฏิกิริยาร่วมกันของโปรตีนกับองค์ประกอบอาหารอื่นๆ เช่น ไขมัน น้ำ คาร์โบไฮเดรต สมบัติความ ไม่ชอบน้ำของโปรตีน (hydrophobicity of proteins) สมบัติด้านหน้าที่สำคัญของโปรตีนในอาหาร แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ

1. สมบัติที่เกี่ยวข้องกับส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ของโปรตีน เช่น ความสามารถในการละลายได้ของโปรตีน (solubility) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ความสามารถในการเกิดฟอง (foam formation) ความสามารถในการพองตัว (swelling) และความสามารถในการเกิดเจล (gelation)

2. สมบัติที่เกี่ยวข้องกับส่วนที่ชอบไขมัน (hydrophobic) ของโปรตีน เช่น ความสามารถในการดูดซับไขมัน (fat binding capacity)

3. สมบัติที่เกี่ยวข้องกับส่วนที่ชอบน้ำและไขมัน (hydrophilic-hydrophobic) ของโปรตีน เช่น ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsifying properties) และความสามารถในการเกิดฟอง (foaming properties) (Zayas, 1997; ยุพร พิษกมฺพร, 2557)

Zielińska และคณะ (2018) รายงานคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของแมลงสามชนิด *Gryllobates sigillatus*, *Schistocerca gregaria* และ *Tenebrio molitor* สกัดโดยใช้ 0.2 เปอร์เซ็นต์ NaOH ในอัตราส่วน 1:10 (w / v) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำการประเมินความสามารถในการละลาย การเกิดฟองและอิมัลชันของโปรตีนที่ได้ ผลของความสามารถในการเกิดฟองของโปรตีนแมลงและผงแมลง ค่าความสามารถในการเกิดฟองที่สูงที่สุดคือ จิ้งหรีด (*G. sigillatus*) โปรตีนแมลงและผงแมลงเท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ และ 41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลลัพธ์เหล่านี้ไม่สอดคล้องกับปริมาณกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำสูงสุดในโปรตีนของสปีชีส์ที่ศึกษา แต่อาจขึ้นอยู่กับตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำบนพื้นผิวโปรตีนในกรณีของจิ้งหรีด (*G. sigillatus*) ความแตกต่างในการเกิดฟองของโปรตีนอาจเกิดจากลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าโปรตีนทรงกลมมีส่วนในการลดความสามารถในการเชื่อมต่อน้ำกับอากาศซึ่งจำกัดความสามารถในการห่อหุ้มฟองอากาศ (Mundi และ Aluko, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

### 2.3.1 การละลาย

สมบัติของการละลายเป็นสมบัติพื้นฐานที่สำคัญที่สุดเนื่องจากมีผลต่อสมบัติอื่นๆ เช่น การเกิดโฟม และการเกิดอิมัลชัน เป็นต้น โดยปกติแล้วความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อโปรตีนมีขนาดเล็กลง หรือมีการคลายตัว (Unfolding) เกิดขึ้น ณ สภาวะใดๆ ที่มีค่าพีเอชต่ำหรือสูงกว่าจุด Isoelectric point (pI) โปรตีนจะแสดงประจุลบหรือบวกตามลำดับ ทำให้สามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายได้ ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของโปรตีนในสภาวะนี้ได้แก่ Electrostatic repulsion และ Ionic hydration โดยโปรตีนจะมีการละลายต่ำสุดที่ ณ จุด pI เนื่องจาก โปรตีนมีจำนวนประจุบวกและประจุลบภายในโมเลกุลเท่ากัน ทำให้ประจุสุทธิมีค่าเท่ากับศูนย์ จึงทำให้โปรตีนตกตะกอน (Yeom และคณะ, 2010) การเพิ่มระดับการย่อยของโปรตีนไฮโดรไลสจากถั่วลิสง (Jamdar และคณะ, 2010) รำข้าวโอ๊ต (Guan และคณะ, 2007) หรือแม้แต่ปลาข้างเหลือง (Klompong และคณะ, 2007) มีผลทำให้ความสามารถในการละลายของ โปรตีนสูงขึ้น เนื่องจากเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กลงจะมี Ionisable amino acid และ หมู่คาร์บอกซิลิก (Carboxylic group) ที่เพิ่มขึ้น ทำให้สมบัติความชอบน้ำของโปรตีนสูงขึ้น

### 2.3.2. การอุ้มน้ำ / น้ำมัน

ความสามารถในการอุ้มน้ำหรืออุ้มน้ำมันไว้ในโมเลกุลของโปรตีนนั้นเกี่ยวข้องกับการกักเก็บน้ำหรือน้ำมันด้านกายภาพ และสมบัติความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และความชอบน้ำ (Hydrophilic) ของโปรตีน (He และคณะ, 2013) ค่าการอุ้มน้ำของโปรตีนสามารถอธิบายเพิ่มเติมโดยใช้สมบัติการละลายและ Surface hydrophobicity เมื่อโปรตีน เกิดการคลายตัว และปลดปล่อยหมู่ ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) มากขึ้น จะมีผลทำให้ค่าการอุ้มน้ำมัน สูงขึ้นด้วยเหมาะกับการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารประเภทไส้กรอก แต่หากโปรตีนมีหมู่ที่ ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) น้อย หรือมี หมู่ที่ความชอบน้ำ (Hydrophilic) มาก จะทำให้โปรตีนมีค่าการอุ้มน้ำมันที่ลดลง หรืออุ้มน้ำได้มากขึ้น ซึ่งเหมาะกับการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เพื่อลดการสูญเสียน้ำหนักจากความชื้นที่หายไป อย่างไรก็ตามการย่อยโปรตีน ในระดับที่สูงเกินไปจะทำให้โปรตีนสูญเสียโครงสร้างที่สามารถเก็บกักน้ำ หรือน้ำมันไว้ในและทำให้สมบัติของการละลายเปปไทด์ขนาดเล็กสูงขึ้นแทน (Phongthai และคณะ, 2016)

### 2.3.3. การเกิดโฟม

โปรตีนที่จะเกิดโฟมได้ดีและมีความคงตัว จะต้องมีความยืดหยุ่นสูง และสามารถเกิดแผ่นฟิล์ม บาง ๆ และแข็งแรงที่สามารถกักอากาศได้ โปรตีนที่มีความยืดหยุ่นที่สามารถวัดโฟมได้ดีต้องมี Surface hydrophobicity สูง ซึ่งในระหว่างการตีหรือการทำให้เกิดโฟม แรงกลจากการตีหรือปั่นอย่างรุนแรง ทำให้พันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติ (Protein denaturation) เกิดการคลายตัว (Unfolding) ของโครงสร้างโปรตีน เกิดเป็นฟิล์มและจับกับน้ำซึ่งอยู่รอบ ๆ ได้ หนึ่งด้านที่เป็น ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ที่ อยู่ด้านในโครงสร้างออกมาด้านนอก ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดโครงสร้างของโฟม โดยเกิดเป็นแผ่นฟิล์ม บาง ๆ นี้จะสามารถกักอากาศไว้ได้

การย่อยโปรตีนเป็นบางส่วนด้วยระดับการย่อยที่ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถใช้ปรับปรุงสมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนที่ได้จากรำข้าวและปลาข้างเหลือง (phongthai และคณะ, 2016) ได้อย่างเหมาะสม ในขณะเดียวกัน การย่อยโปรตีนจากถั่วลิสงและถั่วลูกไก่ (Chick pea) ด้วยระดับการย่อย 40 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลที่ทำให้โปรตีนจากการเกิดโฟมได้น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ (Jamdar และคณะ 2010) นอกจากนี้ความคงตัวของโฟมจากโปรตีน rapeseed มีแนวโน้มลดลงเมื่อ ระดับการย่อยเพิ่มจากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 15 (Chabanon และคณะ, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.4. การเกิดอิมัลชัน

โปรตีนช่วยให้เกิดอิมัลชัน (Emulsion) คงตัวด้วยการลดแรงตึงผิว (Surface tension) ของของเหลว ซึ่ง ช่วยป้องกันอิมัลชันไม่ให้แยกเป็นชั้น ในโมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด มีทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) โดยจะหันส่วนที่ชอบน้ำเข้าหาน้ำ และส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหาไขมันนอกจากนี้ โปรตีนที่มีโมเลกุลใหญ่และละลายน้ำได้น้อยมักมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันได้น้อย อย่างไรก็ตามโปรตีนที่มีขนาดเล็กเล็กเกินไปจะมีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำมันและน้ำได้น้อย เนื่องจากไม่สามารถคลายตัวและจัดเรียงตัวใหม่ที่พื้นผิวสัมผัสน้ำมันกับน้ำได้ เช่นเดียวกับเปปไทด์ขนาดใหญ่กว่า (Klompong และคณะ, 2007)

## 2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ

### 2.5.1 การกำจัดสารอนุมูลอิสระ (Radical scavenging activities)

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ จะทำการกำจัดอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจน ( reactive oxygen species หรือ ROS) หรือการป้องกันความเสียหายที่เกิดจากออกซิเดชัน โดยการขัดขวางปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิดกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) (Rajakpese et al., 2005) จากการศึกษาของ Zhou และคณะ (2017) ในเรื่องผลของเทคนิคการตัดแปลงต่าง ๆ ที่มีต่อโครงสร้างโมเลกุลและฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนดักแด่ (*Bombyx mori*) กิจกรรมต่อต้านอนุมูลอิสระของดักแด่หลังจากอัลตราซาวด์ อัตราการกำจัด DPPH เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้นในลักษณะที่ขึ้นกับปริมาณ โปรตีนที่สกัดด้วยอัลตราโซนิค โดยใช้ความถี่แบบสลับมีความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม ซึ่งอาจเกิดจากการคลายตัวของโมเลกุลโปรตีน (Mintah และคณะ, 2019)

### 2.5.2 ความสามารถในการจับกับโลหะ (Ferrous chelating activity)

โลหะทรานซิชัน เช่น Fe, Cu และ Co เป็นที่รู้จักกันในการทำปฏิกิริยากับเปอร์ออกไซด์ โดยทำหน้าที่เป็นให้อิเล็กตรอนหนึ่งตัวเพื่อสร้างอนุมูลอิสระ (alkoxyl radical/RO<sup>•</sup>) ดังนั้นการกำจัดไอออนโลหะทรานซิชันจะชะลอกระบวนการออกซิเดชัน (Gordon, 2001) เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนอื่น ๆ เฟอร์รัส (ferrous ion) มีบทบาทสำคัญในการสร้างออกซิไดส์แรงสูง ( ROS ) ในเซลล์ซึ่งนำไปสู่กระบวนการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น (Huang et al., 2002) การสารประกอบที่มีสีม่วงของเฟอร์โรซีน (ferrozine) และเฟอร์รัสไอออน(Fe<sup>2+</sup>) ถูกขัดขวางด้วยสารคีเลต (chelating agent) (Decker and Welch, 1990) อย่างที่รู้จักกันดีเปปไทด์ที่ใช้งานอยู่จำนวนมากเป็นตัวทำลายโลหะและเป็นหนึ่งในกลไกต้านอนุมูลอิสระ ขนาดและลำดับของกรดอะมิโนมีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ (Peng et al., 2009) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จาก Thermal dried cricket flour (TDCF) และ Lyophilised cricket flour (LCF) ที่ทำการทดสอบด้วย FRAP assay แป้งจิ้งหรีดบ้านที่ได้จาก LCF มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า TDCF (P<0.05) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในทั้ง LCF และ TDCF อาจเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีนที่สูง ตามข้อมูลที่ได้รับจาก Elias และคณะ (2008) คุณสมบัติที่น่าสนใจของโปรตีนในอาหารคือ ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นกลไกการออกฤทธิ์อาจเกิดจาก ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน ความสามารถในการจับกับไอออนโลหะ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Moon และคณะ, 2009) โดย Liu และคณะ (2009) ได้กล่าวไว้ว่า นี่อาจเป็นผลมาจากกรดอะมิโนที่มากจึงมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจึงช่วยปรับปรุงฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้านอนุมูลอิสระของแป้ง ในกลุ่มเปปไทด์ขนาดเล็กมีกรดอะมิโน เช่น ไลซีนและเมไทโอนีนซึ่งมีความต้านทานต่อการเกิดออกซิเดชันสูง

### 2.5.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative power)

โดยทั่วไปจะใช้ The ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในการวัดความสามารถของสารในการรีดิวซ์สารประกอบ TPTZ (2,4,6-tripyridyl- striazine) – Fe (III) ไปยัง TPTZ – Fe (II) (Benzie และ Strain, 1996; Binsan et al., 2008) โดยทั่วไปจะใช้เพื่อวัดความสามารถของสารในเปลี่ยนสารประกอบ TPTZ– Fe (III) เป็น TPTZ – Fe (II) (Benzie and Strain, 1996; Binsan et al., 2008) เนื่องจากรีดิวซ์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบการรีดิวซ์วิธีการที่ใช้เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบต่าง ๆ ที่เชื่อถือได้ (Binsan et al., 2008)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 วัสดุดิบและสารเคมี

##### 3.1.1 วัสดุดิบ

ตุ๊กแตนแช่แข็ง (*Patanga succincta L.*) ได้จากผู้จัดการจำหน่ายเชิงพาณิชย์ (Mr. BUC FOOD, พระนครศรีอยุธยา, ประเทศไทย)

##### 3.1.2 สารเคมี

Boric acid ( $BH_3O_3$ )

Hydrogen chloride (HCl)

Copper (II) sulfate ( $CuSO_4$ )

Potassium sulphate ( $K_2SO_4$ )

Sodium hydroxide (NaOH)

Methyl red ( $C_{15}H_{15}N_3O_2$ )

Methyl blue ( $C_{37}H_{27}N_3Na_2O_9S_3$ )

Sulfuric acid ( $H_2SO_4$ )

Trinitrobenzene sulfonate or TNBS  
( $C_6H_3N_3O_9S$ )

Sodium sulfite ( $Na_2SO_3$ )

Disodium phosphate ( $Na_2HPO_4$ )

Potassium dihydrogen phosphate ( $KH_2PO_4$ )

L - leucine ( $C_6H_{13}NO_2$ )

Phenylperic acid or ANS ( $C_{16}H_{13}NO_3S$ )

Sodium carbonate ( $Na_2CO_3$ )

Sodium potassium tartrate ( $NaKC_4H_4O_6$ )

Bovine serum albumin (BSA)

Folin-Ciocalteu reagent

Sodium dodecyl sulfate or SDS ( $NaC_{12}H_{25}SO_4$ )

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl or DPPH  
( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O)  
 Trolox (C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>)  
 Methanol (CH<sub>4</sub>O)  
 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) or ABTS (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>)  
 Potassium persulphate (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>)  
 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine or TPTZ (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>)  
 Iron (III) chloride (FeCl<sub>3</sub>)  
 Acetic acid (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)  
 Sodium acetate (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>)

### 3.2 อุปกรณ์

บีกเกอร์	Duran, Germany
ขวดรูปชมพู่	Duran, Germany
เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo, Switzerland
เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	Mapada, China
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)	Memmert, Germany
เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	Eppendorf, Germany
Magnetic stirrer	IKA, Germany
ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)	Memmert, Germany
Overhead stirrer	Velp JLT6, Italy
เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)	Lynge, Denmark
เครื่องอัลตราซาวด์	Sonics, Model VC750, USA
หลอดเซนติฟิวส์พลาสติก (Centrifuge tube)	Fisher Scientific, England
กระบอกตวง (Cylinder)	Duran, Germany
ขวดปริมาตร (Volumetric flask)	Duran, Germany
ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl method)	Gerhardt, Germany
Fluorescence spectrometer	Hitachi, Japan
เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer)	IKA, Germany
ถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น	
ปิเปต (Pipette)	
ไมโครปิเปต (Micropipette)	
ผ้าขาวบาง (Filter Cloth)	

เอกสารนี้เป็นเอกสารของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

ช้อนตักสาร (Spatula)

โถดูดความชื้น (desiccator)

หลอดย้อยโปรตีน

Buret (burette) + Stand

หลอดทดลอง

### 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การเตรียมผงตักแทนปาทั้งก้า

ตักแทนปาทั้งก้าสดแช่แข็ง (*Patanga succincta L.*) ได้มาจากผู้จัดจำหน่ายเชิงพาณิชย์ (Mr. BUC FOOD, พระนครศรีอยุธยา, ประเทศไทย) เมื่อตัวอย่างขนส่งมาถึงคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตัวอย่างถูกละลายและล้างด้วยน้ำประปา โดยการเปิดน้ำไหลผ่านตัวอย่างที่อยู่ในตะแกรงพลาสติก จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้วบรรจุในถุงพลาสติก (Polyethylene) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ก่อนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งโดยใช้ Freeze-dryer (DK-3450 Lynge, Labogene ApS, Denmark) ตัวอย่างที่แห้งแล้วบดเป็นผงโดยใช้เครื่องบด (MF-800, Tefal®, French) และร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 10 จากนั้นนำผงแมลงที่ได้ไปทำการกำจัดไขมันออกตามวิธีการของ Bußler และคณะ (2016) ด้วยการปรับเปลี่ยนเล็กน้อย โดยผสมตัวอย่างแมลงผงกับเฮกเซนที่อัตราส่วน 1: 5 (w/v) และกวนต่อเนื่องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการเปลี่ยนตัวทำละลายทุก ๆ ชั่วโมง รวม 3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการกรองแยกตัวทำละลายและผงแมลงออกจากกัน นำผงแมลงที่ได้ทำให้แห้งบนภาตอลูมิเนียม ภายใต้ตู้ดูดควัน และบรรจุผงแมลงที่ผ่านการเอาไขมันออกแล้วในถุงลามิเนตอลูมิเนียมพอยด์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

#### 3.3.2 การสกัดโปรตีนจากตักแทนปาทั้งก้าผง

##### 3.3.2.1 การสกัดโปรตีนจากตักแทนปาทั้งก้าผง โดยวิธีดั้งเดิม

ทำการสกัดโปรตีนจากตักแทนปาทั้งก้าผงที่เอาไขมันออกอ้างอิงจากวิธีการของ Chatsuwan และคณะ (2018) โดยมีการดัดแปลงเล็กน้อย นำผงแมลงละลายในน้ำกลั่น ในอัตราส่วนของผงแมลงต่อน้ำกลั่นที่ 1:20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) กวนอย่างต่อเนื่องที่ 100 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายโปรตีนแมลงไปทำการหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 °C เมื่อครบเวลาเก็บส่วนใส (Supernatant) โดยการกรองผ่านผ้าขาวบาง เก็บส่วนสารละลายที่ได้เพื่อนำมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (CoolSafe 55-4 Pro Freeze dryer, ScanLaf A/S, Lynge, Denmark) และเก็บรักษา ในถุงพลาสติก Polypropylene ที่ -18 °C

##### 3.3.2.2 การสกัดโปรตีนจากตักแทนปาทั้งก้าผงโดยใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัด

ทำการสกัดโปรตีนจากตักแทนปาทั้งก้าผงที่เอาไขมันออกอ้างอิงจากวิธีการของ Chatsuwan และคณะ (2018) และวิธีของ Mintah และคณะ (2019) นำผงแมลงละลายในน้ำกลั่น ในอัตราส่วนของผงแมลงต่อน้ำกลั่นที่ 1:20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นใช้อัลตราซาวด์ที่พลังงาน 750 W ความถี่ 20 kHz จังหวะการเปิดสั้น 5 วินาที ปิด 5 วินาที ความกว้างของคลื่นอยู่ที่ 40, 50 และ 60 ที่ระยะเวลา 10, 20 และ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (Table 1) หลังจากนั้นใช้อัลตราซาวด์สกัดจนครบเวลา จากนั้นนำสารละลายโปรตีนแมลงกวนอย่างต่อเนื่องที่ 100 rpm จนเวลาในการสกัดครบ 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายโปรตีนแมลงไปทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 °C เมื่อครบเวลาเก็บส่วนใส (Supernatant) โดยการกรองผ่านผ้าขาวบาง และล้างผิวหน้าตะกอน (Pellet) ด้วยน้ำกลั่นเบาๆ เพื่อเก็บส่วนที่เป็นโปรตีนให้มากที่สุด จากนั้นนำมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration หรือ lyophilization) และเก็บรักษาที่ -18 °C

**Table 3.1** Ultrasonication conditions for extraction of water soluble protein extracted from *Bombay locust powder*.

Ultrasonication mode	Amplitude (%)	Treatment times (min)
5 sec on time and 5 sec off-time	40	10
		20
		30
	50	10
		20
		30
	60	10
		20
		30

### 3.3.3 ผลผลิตคิดเป็นของแข็ง (Solid Yield)

ผลผลิตคิดเป็นของแข็งของโปรตีนสกัดคำนวณจากน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง) ของวัตถุดิบจากสมการ

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของสารสกัด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งเริ่มต้นเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

### 3.3.4 ผลผลิตโปรตีน (Protein recover)

ผลผลิตโปรตีนคำนวณจากปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เทียบกับปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้นโดยใช้วิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000) ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

$$\text{ผลผลิตโปรตีน} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

### 3.3.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

นำตัวอย่างโปรตีนแมลงที่สกัดได้จากวิธีการดั้งเดิมและวิธีที่ใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดทั้งหมด มาใช้วิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

#### 3.3.5.1 พื้นผิวไฮโดรโฟบิก (Surface hydrophobicity)

ค่า surface hydrophobicity อ้างอิงจากวิธีการวิเคราะห์ของ Malik และคณะ (2017) โดยใช้ตัวติดตามฟลูออเรสเซนต์ คือ 1-anilino-8-naphthalene-sulfonate (ANS) เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 0.0625 ถึง 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย 0.01 M phosphate buffer (pH 7.0) จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างในลงในหลอดทดลองปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วเติม 8 mM ANS ใน 0.01 M phosphate เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

buffer pH 7.0 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในสารละลายตัวอย่าง เขย่าผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดความเข้มของการเรืองแสง (Relative fluorescence intensity, RFI) ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer (Hitachi) โดยกำหนด excitation wavelength เท่ากับ 390 นาโนเมตร และ emission wavelength เท่ากับ 480 นาโนเมตร โดยที่ scanning speed of 5 nm/s นำค่า RFI ของตัวอย่างลบออกจากค่า RFI ของ blank ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างและค่า RFI เพื่อให้ได้สมการเส้นตรง โดยค่าความชันของกราฟที่ได้แสดงถึง surface hydrophobicity index

### 3.3.5.2 การหาปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระ

การหาปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระ อ้างอิงจากวิธีการวิเคราะห์ของ Karnjanapratum และคณะ (2015) นำสารละลายตัวอย่าง 125 ไมโครลิตร (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ใส่หลอดทดลองและเติม 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) solution (0.01%, w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ 50 ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีหลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย sodium sulfite (เย็น) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร เตรียม blank โดยใช้ น้ำกลั่น จากนั้นคำนวณปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระจากสมการของกราฟมาตรฐานโดยใช้ L - leucine ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 20 mM

### 3.3.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงหน้าที่

นำตัวอย่างโปรตีนแมลงที่สกัดได้จากวิธีการดั้งเดิมและวิธีที่ใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดทั้งหมด มาใช้วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

#### 3.3.6.1 ความสามารถในการละลาย

ความสามารถในการละลายของโปรตีนอ้างอิงตามวิธีของ Nalinanon และคณะ (2018) ตัวอย่างสารละลายโปรตีน 10 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตรและปรับค่าความเป็นกรดเป็น 2, 4, 6, 8, และ 10 โดยใช้ 1 M HCl หรือ 1 M NaOH หลังจากนั้นปริมาตรของสารละลายเป็น 4 มิลลิลิตร และหมุนเหวี่ยงที่ 6,000 g เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสมาทำการทดสอบหาปริมาณโปรตีนโดย Lowry – Folin Method และใช้ BSA เป็นโปรตีนมาตรฐาน ทำการคำนวณหาปริมาณของ Relative solubility (%) โดยใช้ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่างที่ละลายได้ในสารละลาย 0.5 M NaOH คิดเป็น 100%

$$\text{Relative solubility}(\%) = \left( \frac{\text{protein content in supernatant}}{\text{total protein content in sample}} \right) \times 100$$

#### 3.3.6.2 ความสามารถในการเกิดโฟม และค่าความคงตัวของโฟม

ความสามารถในการเกิดโฟม (Foaming capacity: FC) และค่าความคงตัวของโฟม (Foaming stability: FS) อ้างอิงตามวิธีของ Nalinanon และคณะ (2018) สารละลายโปรตีนตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร จำนวน 35 มิลลิลิตร บรรจุในกระบอกตวงพลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตร ปั่นผสมด้วยเครื่องผสมโฮโมจีไนส์ (Homogenizer, T18 digital, IKA, Germany) ที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ทำการจดปริมาตรของโฟม (มิลลิลิตร) ที่ 0 และ 60 นาที หลังจากปั่นผสม นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณ ความสามารถในการเกิดฟอง และค่าความคงตัวของโฟม โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$\text{ความสามารถในการเกิดโฟม (FC) (\%)} = \frac{V_t}{V_0} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ความคงตัวของโฟม (FS) (\%)} = \frac{V_{60}}{V_0} \times 100$$

โดยที่  $V_t$  = ปริมาตรรวมหลังจากการตี

$V_0$  = ปริมาตรของโฟมที่ 0 นาที

$V_{60}$  = ปริมาณของโฟมที่ 60 นาที

### 3.3.6.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน

ความสามารถการเกิดอิมัลชัน (Emulsion activity index: EAI) และดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion stability index: ESI) อ้างอิงตามวิธีการของ Nalinanon และคณะ (2018) โดยใช้น้ำมันถั่วเหลือง 2 มิลลิลิตรและสารละลายโปรตีน 6 มิลลิลิตร (10 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) ปั่นผสมด้วยเครื่องผสมโฮโมจีไนส์ที่ความเร็ว 16,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที นำตัวอย่างของอิมัลชันที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร ที่ระยะเวลา 0 นาที ( $A_0$ ) และ 10 นาที ( $A_{10}$ ) หลังจากปั่นผสม โดยใช้สารละลายโซเดียมไดซัลเฟต 0.1% (w/v) ในการทำการเจือจางเพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสม นำค่าที่อ่านได้ไปใช้ในการคำนวณกิจกรรมอิมัลชันและความเสถียรของอิมัลชัน โดยใช้สมการต่อไปนี้ :

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร

DF = การเจือจาง (100)

l = ความยาวของคิวเวทท์

$\emptyset$  = ปริมาณน้ำมันที่ใส่ลงในการทำอิมัลชัน

C = ความเข้มข้นของโปรตีน ( $\text{g/m}^3$ )

$$\text{ความคงตัวของอิมัลชัน (ESI) (min)} = \frac{(A_0 \times t)}{\Delta A}$$

โดยที่  $\Delta A$  =  $A_0 - A_{10}$

t = 10 นาที

### 3.3.7 Antioxidant

นำตัวอย่างโปรตีนแมลงที่สกัดได้จากวิธีการดั้งเดิมและวิธีที่ใช้อัลตราซาวด์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดทั้งหมด มาใช้วิเคราะห์สมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพ

#### 3.3.7.1 กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH Radical Scavenging Activity)

กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH อ้างอิงตามวิธีการของ Nalinanon และคณะ (2018) ตัวอย่างสารละลายโปรตีน 800 ไมโครลิตร เติม 800 ไมโครลิตร ของ 0.1 mM DPPH ใน 95% เอทานอล จากนั้นบ่มสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม ใช้ Trolox ที่ความเข้มข้น 10 - 60  $\mu\text{M}$  ในการสร้างกราฟมาตรฐาน กิจกรรมการดักจับ DPPH\* ของตัวอย่างโปรตีนจะแสดงในรูป  $\mu\text{mole}$  เทียบเท่า Trolox (TE)/g solid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.7.2 กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS Radical Scavenging Activity)

กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS อ้างอิงตามวิธีการของ Nalinanon และคณะ (2018) สารละลายอนุมูลอิสระ ABTS เตรียมได้จาก 7 mM ABTS ผสมกับ 2.450 mM โพแตสเซียมซัลเฟตในอัตราส่วน 1 : 1 (v / v) ( $K_2O_8S_2$ ) เพื่อสร้างประจุบวก (ABTS) และบ่มไว้ในที่มืด 12 – 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ (ABTS radical) มาเจือจางด้วย 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 1 : 50 (v / v) แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนที่ 734 นาโนเมตร ( $0.70 \pm 0.02$ ) จากนั้นนำสารละลายโปรตีนตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เติม 1.9 มิลลิลิตร ของสารละลาย ABTS•+ ผสมให้เข้ากัน และบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลนด์ และทำกราฟมาตรฐานโดย Trolox ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 600  $\mu$ M กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างโปรตีนจะแสดงในรูป  $\mu$ mole เทียบเท่า Trolox (TE)/g solid

### 3.3.7.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric – Reducing Antioxidant Power, FRAP)

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) อ้างอิงตามวิธีการของ Nalinanon และคณะ (2018) โดยรีเอเจนต์ถูกเตรียมโดยการผสม 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) ใน 40 mM HCl, 20 mM  $FeCl_3$ , และ 300 mM acetate buffer pH 3.6 (1 : 1 : 10 v/v/v) จากนั้นตัวอย่าง 150 ไมโครลิตร ผสมกับ FRAP Reagent 2.85 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลนด์และทำกราฟมาตรฐานโดย Trolox ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 600  $\mu$ M การต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างถูกแสดงเป็น  $\mu$ mole เทียบเท่า Trolox (TE)/g solid

### 3.3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Steel และ Torrie, 1980) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งกา ต่อผลผลิตคิดเป็นของแข็ง (Solid yield) และผลผลิตโปรตีน (Protein recovery)

การทดลองใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งกาที่ความกว้างคลื่น (40,50 และ 60% Amplitude) และระยะเวลา (10, 20 และ 30 นาที) ต่างๆ ที่มีผลต่อผลผลิตคิดเป็นของแข็ง (Solid Yield) และผลผลิตโปรตีน (Protein recovery) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ปริมาณผลผลิตคิดเป็นของแข็งของโปรตีนสกัดจากตักแตนปาทั้งกาจากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในทุกๆสภาวะที่ทำการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้น (32.48-38.62%) เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตคิดเป็นของแข็งที่ได้จากกระบวนการสกัดดั้งเดิม (ไม่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด, 22.27%) ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการเปรียบเทียบที่ระยะเวลาในการใช้อัลตราซาวด์เท่ากัน พบว่าการเพิ่มขึ้นของความกว้างคลื่นช่วยเพิ่มผลผลิตคิดเป็นของแข็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ ( $p < 0.05$ ) แต่การเพิ่มขึ้นของระยะเวลาที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดไม่มีผลต่อผลผลิตคิดเป็นของแข็งแต่อย่างใดในทุกๆความกว้างคลื่นที่ทำการทดลอง ( $p > 0.05$ ) จากผลการทดลองนี้ พบว่าอัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการทดลอง (60%) ให้ค่าผลผลิตสูงสุด ( $p < 0.05$ ) ในทุกช่วงเวลาทำการทดลอง การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งเป็นผลมาจากคาวีเทชัน (Cavitation) ที่เกิดจากส่วนอัดและส่วนขยายของฟองขนาดเล็ก เกิดเป็นแรงเฉือนที่ทำให้ผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อถูกทำลายและน้ำที่ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายสามารถเข้าไปภายในโครงสร้างได้ง่าย ประกอบกับการไหลที่ปั่นป่วนของของเหลวตัวกลางที่เกิดจากหดและขยายของฟองอากาศอย่างรวดเร็ว มีส่วนช่วยให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปในวัสดุที่นำมาสกัดได้ดียิ่งขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพการถ่ายเทมวลสาร (Mass transfer) เพิ่มสูงขึ้น (Gogate และคณะ, 2009; Sea-leaw และคณะ, 2018 ) Karnjanapratum และคณะ (2020) พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดเจลาตินจากหนังกบสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้ โดยความกว้างคลื่นที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์ที่นานขึ้นทำให้สกัดเจลาตินออกมาได้อย่างต่อเนื่อง และได้ผลผลิตที่เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม Byoung Deug และคณะ (2017) พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตักแตนปานิฮอนใหม่ ที่ 5 นาที ให้ผลผลิตโปรตีนสกัดสูงสุด และการเพิ่มระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์ที่นานกว่า 5 นาที ไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตโปรตีนสกัดแต่อย่างใด (Byoung Deug และคณะ, 2017)

จากผลของการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดต่อผลผลิตโปรตีน (Protein recovery) (ตาราง 4.1) ที่คำนวณจากปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เทียบกับปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้น พบว่า ปริมาณผลผลิตโปรตีนสกัดจากตักแตนปาทั้งกาจากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดในทุกๆสภาวะที่ทำการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้น (12.03-15.57%) เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตโปรตีนที่ได้จากกระบวนการสกัดดั้งเดิม (ไม่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด, 11.10%) ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการเปรียบเทียบที่ความกว้างคลื่นเดียวกัน ผลผลิตโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาที่ใช้อัลตราซาวด์เพิ่มขึ้นที่ความกว้างคลื่น 50 และ 60% โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความกว้างคลื่น 60% Tang และคณะ (2015) ทดลองการสกัดโปรตีนที่ละลายในน้ำของรอกหมูโดยวิธีดั้งเดิมและวิธีอัลตราซาวด์ พบว่าการสกัดโปรตีนที่ละลายในน้ำของรอกหมูโดยวิธีอัลตราซาวด์ให้ผลผลิตการสกัดมากกว่าวิธีธรรมดา ซึ่งอาจเป็นเพราะอัลตราซาวด์ทวีความรุนแรงทั้งการถ่ายโอนมวลในระบบของเหลว / ของแข็ง ในขณะที่วิธีธรรมดา เป็นเพียงการถ่ายโอนมวลภายนอกเท่านั้น (Esclapez และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะ, 2011) นอกจากนี้อัลตราซาวด์ความเข้มสูงเพิ่มความสามารถในการละลายโปรตีนโดยการทำลายมวลรวมขนาดเล็กในสารละลายสกัดเพื่อเพิ่มการปฏิสัมพันธ์ระหว่างน้ำและโปรตีน (Arzeni และคณะ, 2012a) แต่ที่ความกว้างคลื่นที่ 40% จะให้ผลการทดลองที่ผกผันกัน โดยผลผลิตโปรตีนมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาที่ใช้อัลตราซาวด์เพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) Karnjanapratum และคณะ (2020) พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดเจลาตินจากหนังกบเมื่อเพิ่มระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์ที่นานขึ้นจะส่งผลต่อผลผลิตโปรตีน โดยโมเลกุลของโปรตีนจะเกิดการคลายตัว (Unfolding) และเผยส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกมามากขึ้นส่งผลให้โมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนเกิดการรวมตัวกันอย่างหนาแน่นซึ่งมีผลต่อความเสถียรต่อการเกิดควิเทชันและทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนลดลง

ดังนั้นสภาวะของอัลตราซาวด์ที่ใช้เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนตึกแตนปาทั้งห้าที่แตกต่างกันมีผลต่อความแตกต่างของผลผลิตที่ได้ โดยการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตึกแตนปาทั้งห้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนตึกแตนปาทั้งห้าได้ โดยส่งผลให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นปริมาณของแข็งและปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

**Table 4.1** Solid yield and protein recovery of water soluble protein from *Patanga succinta* L. extracted by ultrasound-assisted process under different conditions.

Sample		Solid yield (%)	Protein recovery (%)
Control		22.27±0.30 <sup>f</sup>	11.10±1.06 <sup>d</sup>
Amplitude 40%	10 min	33.35±0.24 <sup>d,z</sup>	14.62±0.06 <sup>ab,x</sup>
	20 min	32.86±0.74 <sup>de,y</sup>	13.48±0.35 <sup>bc,x</sup>
	30 min	32.48±0.15 <sup>e,z</sup>	13.30±0.16 <sup>bc,y</sup>
Amplitude 50%	10 min	34.39±0.70 <sup>c,y</sup>	14.23±0.63 <sup>ab,x</sup>
	20 min	35.36±0.23 <sup>b,x</sup>	14.48±0.19 <sup>ab,x</sup>
	30 min	34.69±0.22 <sup>bc,y</sup>	14.73±1.24 <sup>ab,xy</sup>
Amplitude 60%	10 min	38.46±0.23 <sup>a,x</sup>	12.03±0.94 <sup>cd,y</sup>
	20 min	38.62±0.38 <sup>a,x</sup>	14.87±1.22 <sup>ab,x</sup>
	30 min	38.23±0.38 <sup>a,x</sup>	15.57±0.92 <sup>a,x</sup>

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3).

<sup>ab,c...</sup> indicated significant differences of data in the same column ( $P < 0.05$ ).

<sup>xy,z</sup> indicated significant differences of data comparing in the same ultrasonication time ( $P < 0.05$ ).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนสกัดจากตักแตนป่าทั้งกา

### 4.2.1 พื้นผิวไฮโดรโฟบิก (Surface hydrophobicity)

ผลของใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่สภาวะต่างๆ ต่อปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิกของโปรตีนตักแตนป่าทั้งกาแสดงไว้ในตารางที่ 4.2 พบว่าโปรตีนตักแตนป่าทั้งกาที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม มีค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกอยู่ที่ 50.11 ในขณะที่การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิกของโปรตีนที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในทุกๆ สภาวะที่ทำการทดลอง (61.52-74.16) เมื่อทำการเปรียบเทียบที่ความกว้างคลื่นเดียวกัน ค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาที่ใช้อัลตราซาวด์เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความกว้างคลื่น 40% แต่ที่ความกว้างคลื่นที่สูงกว่า 40% (50-60%) จะให้ผลการทดลองที่เหมือนกัน โดยค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาที่ใช้อัลตราซาวด์เพิ่มขึ้น ( $p < 0.05$ ) พื้นผิวไฮโดรโฟบิกถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Quan และคณะ, 2019) นอกจากนี้พื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำมีผลต่อโครงสร้างและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Kato และ Nakai, 1980) Sing และคณะ (2018) พบว่าอัลตราซาวด์มีผลต่อค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกของโปรตีนจากไข่หมึก โดยควิเทซันของอัลตราซาวด์มีผลต่อการคลายตัว (Unfolding) ของโมเลกุลโปรตีน ซึ่งทำให้เศษส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกมามากขึ้น (Sing และคณะ, 2018) ในขณะที่ Zou และคณะ (2019) และ Supatra และคณะ (2020) ทดลองใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนซึ่งส่งผลต่อพื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้อัลตราซาวด์ด้วยเวลานานขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจาก โมเลกุลของโปรตีนเกิดการคลายตัว (Unfolding) หลังการใช้อัลตราซาวด์มากจนเกิดไปจนเกิดการจับกันเองของพื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำระหว่างสายของโปรตีนส่งผลให้พื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนน้อยลง ดังนั้นการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความกว้างคลื่นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน มีผลต่อค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกของโปรตีนป่าทั้งกาที่ได้ ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับสมบัติเชิงหน้าที่และการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนนั้นๆ ด้วย

### 4.2.2 ปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระ

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระของโปรตีนตักแตนป่าทั้งกาสกัดโดยใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่สภาวะต่างๆ (ตารางที่ 4.2) พบว่าโปรตีนตักแตนป่าทั้งกาที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมมีปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระอยู่ที่ 587.00 mol/g solid และเมื่อใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด โปรตีนตักแตนป่าทั้งกาที่ได้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ความกว้างคลื่น 50% และ 60% แสดงการเพิ่มขึ้นของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระเมื่อใช้อัลตราซาวด์ที่เวลานานขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ 30 นาที ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตาม ปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้าง 40% ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์นานขึ้น เมื่อทำการเปรียบเทียบที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์เดียวกัน ความกว้างคลื่นที่สูงขึ้นจะทำให้โปรตีนที่ได้มีค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระที่สูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ 30 นาที ( $p < 0.05$ ) ยกเว้นการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลา 10 นาที ที่แสดงการลดลงของปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระเมื่อใช้ความกว้างคลื่นที่ 50% ( $p < 0.05$ ) ปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระบ่งบอกถึงดีกรีการถูกตัดของสายเปปไทด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัด การเพิ่มขึ้นของปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระของโปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ แสดงถึงปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระที่เพิ่มขึ้น โดยรายงานก่อนหน้า ที่ทำการศึกษากการสกัดเจลาตินจากหนังกบ โดยใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด พบว่าโปรตีนที่ได้เกิดการเสียสภาพและถูกตัดเป็นเปปไทด์สายสั้น เมื่อใช้สภาวะของอัลตราซาวด์ที่รุนแรง ในขณะที่ Tu และคณะ (2015) และ Ahmad และคณะ (2018) รายงานเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การลดลงของปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระของโปรตีนสกัดจากปลาชิ่ง (*Hypophthalmichthys nobilis*) ซึ่งอาจเกิดจากการเสียสภาพของเจลาติน เมื่อใช้อัลตราซาวด์เป็นเวลานาน ปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระจึงลดลง เหตุผลนี้อาจส่งผลต่อโปรตีน โดยโมเลกุลของโปรตีนที่เกิดเสียสภาพหรือการคลายตัว (Unfolding) หลังการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดเกิดการรวมตัวกัน ส่งผลให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระลดลง (Singh และคณะ, 2018 และ Lomakina และคณะ, 2006)

จากการทดลองนี้ สภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดมีผลต่อสมบัติเชิงโมเลกุล โดยเฉพาะขนาดของโมเลกุลเปปไทด์ที่ได้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการแสดงสมบัติเชิงหน้าที่และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนที่ได้

**Table 4.2** Surface hydrophobicity and alpha-amino group content of water soluble protein from *Patanga succinta* L. extracted by ultrasound-assisted process under different conditions.

Sample	Surface hydrophobicity	Free $\alpha$ -amino group content (mol/g solid)
Control	50.11±1.00 <sup>g</sup>	587.00±0.16 <sup>d</sup>
Amplitude 40%	10 min	65.51±0.19 <sup>e,z</sup>
	20 min	67.48±0.27 <sup>d,y</sup>
	30 min	69.41±0.46 <sup>b,x</sup>
Amplitude 50%	10 min	74.16±0.62 <sup>a,x</sup>
	20 min	68.81±0.18 <sup>b,c,x</sup>
	30 min	62.32±0.44 <sup>f,y</sup>
Amplitude 60%	10 min	68.16±0.41 <sup>cd,y</sup>
	20 min	64.68±0.22 <sup>e,z</sup>
	30 min	61.52±0.99 <sup>f,y</sup>

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3).

<sup>a,b,c...</sup> indicated significant differences of data in the same column ( $P < 0.05$ ).

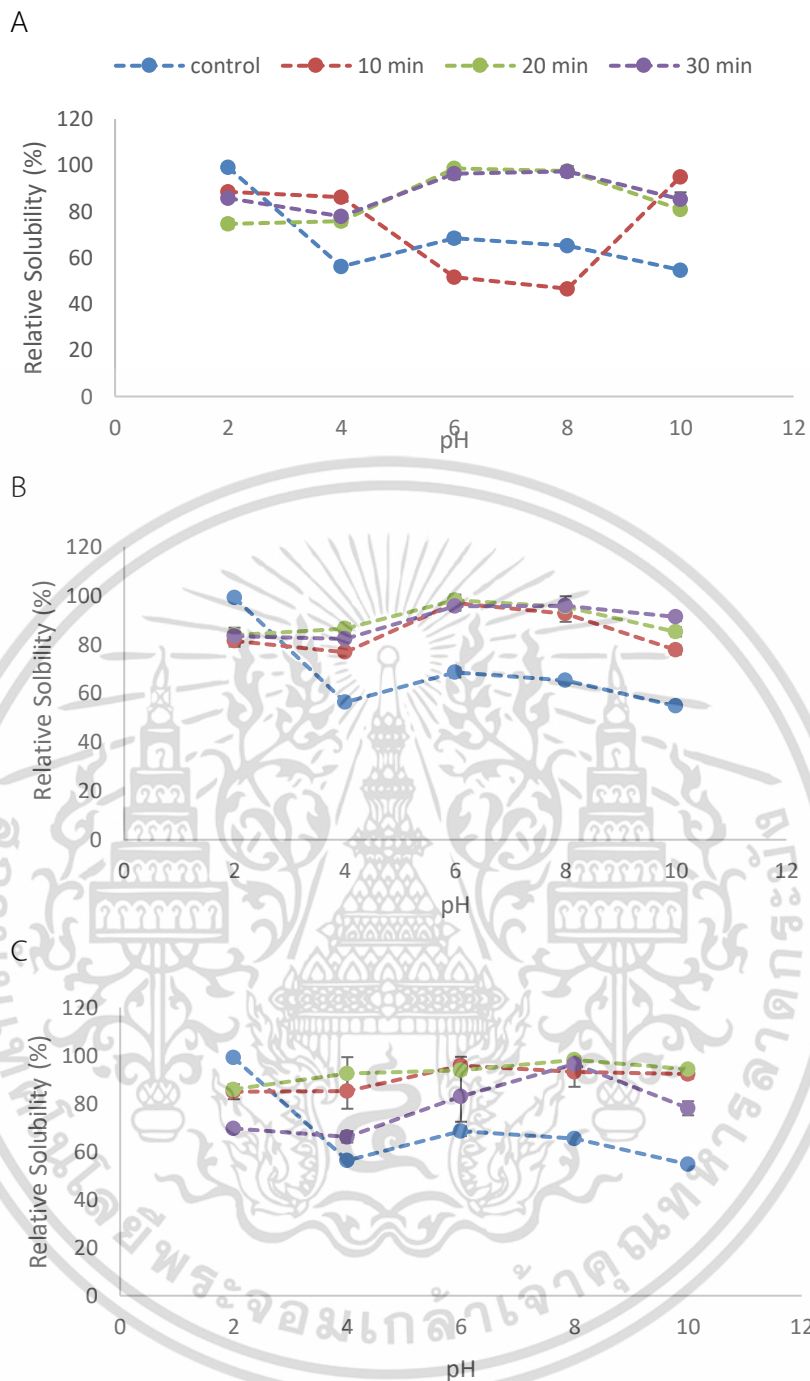
<sup>x,y,z</sup> indicated significant differences of data comparing in the same ultrasonication time ( $P < 0.05$ ).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.3 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากตักแตนปาทั้งกา

##### 4.3.1 ความสามารถในการละลายของโปรตีนสกัดจากตักแตนปาทั้งกา

ผลของใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่สภาวะต่างๆ ต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนตักแตนปาทั้งกา (รูป 4.1) พบว่าโปรตีนตักแตนปาทั้งกาที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่สภาวะต่างๆ มีความสามารถในการละลายที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่างๆ แตกต่างกันไป โปรตีนตักแตนปาทั้งกาจากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมมีความสามารถในการละลายสูงสุดที่ pH 2 (99%) และมีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ pH 4 (56%) ซึ่งแสดงถึงค่า Isoelectric point (pI) ของตักแตนปาทั้งกาที่ได้ โดยค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนตักแตนปาทั้งกาที่อยู่ในช่วง 57-68% ที่ pH สูงขึ้น (6-10) เมื่อใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดความสามารถในการละลายของโปรตีนตักแตนปาทั้งกาในทุกๆสภาวะที่ทำการทดลอง มีความสามารถในการละลายที่ pH ต่างๆ สูงกว่า 70% และแสดงความสามารถในการละลายที่ดีกว่าตัวอย่างโปรตีนจากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) ที่สภาวะเป็นกรดสูง (pH 2) อย่างไรก็ตาม โปรตีนปาทั้งกาที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด แสดงความสามารถในการละลายที่ดีกว่าตัวอย่างจากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ที่ค่า pH สูงกว่า 2 เป็นต้นไป ในทุกๆสภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้ในการทดลอง ( $p < 0.05$ ) โดยค่าความสามารถในการละลายจะสูงถึง 90% ที่ pH 6-8 อย่างไรก็ตามการใช้อัลตราซาวด์ช่วยที่สภาวะความรุนแรงน้อยที่สุด (ความกว้างคลื่น 40% ระยะเวลา 10 นาที) และที่สภาวะความรุนแรงที่สุด (ความกว้างคลื่น 60% 30 นาที) มีผลต่อการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ได้ การใช้อัลตราซาวด์ช่วยที่สภาวะความรุนแรงน้อยที่สุด ส่งผลให้โปรตีนปาทั้งกาที่ได้มีความสามารถในการละลายที่ pH ในช่วง 6-8 มีค่าต่ำกว่า 60% ซึ่งต่ำกว่าค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมที่ pH เดียวกันอีกด้วย ในขณะที่การใช้อัลตราซาวด์ช่วยที่สภาวะความรุนแรงมากที่สุด ส่งผลกระทบต่อการลดลงของค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ pH อยู่ในช่วง 2-6 เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ ที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความกว้างคลื่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตาม โปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะความรุนแรงนี้ก็มีสามารถในการละลายที่ดีกว่าตัวอย่างที่ได้จากการใช้กระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม โดยเฉพาะที่ pH 4 เป็นต้นไป ( $p < 0.05$ ) สมบัติของการละลายเป็นสมบัติพื้นฐานที่สำคัญที่สุดของโปรตีนเนื่องจากมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ เช่น การเกิดโฟมและการเกิดอิมัลชัน เป็นต้น โดยปกติแล้วความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อโปรตีนมีขนาดเล็กลง หรือมีการคลายตัว (Unfolding) ของสายเปปไทด์เกิดขึ้น ณ สภาวะใดๆที่มีค่าพีเอชต่ำกว่าหรือสูงกว่าจุด pI ของโปรตีนนั้นๆ โดยโปรตีนจะแสดงประจุสุทธิเป็นลบหรือบวกตามลำดับ ทำให้สายเปปไทด์นั้นสามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายได้ ณ จุด pI โปรตีนจะมีความสามารถในการละลายต่ำสุดเนื่องจากโปรตีนมีจำนวนประจุบวกและประจุลบภายในโมเลกุลเท่ากันหรือประจุสุทธิมีค่าเท่ากับศูนย์ จึงทำให้โปรตีนจับกันเองและตกตะกอนในเวลาต่อมา (Yeom และคณะ, 2010) ความสามารถในการละลายที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนตักแตนปาทั้งกาจากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดอาจเป็นผลมาจากเปปไทด์สายสั้นที่ถูกตัดระหว่างการใช้อัลตราซาวด์และมีความสามารถในการละลายที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าปริมาณแอลฟาอะมิโนอิสระของ



**Fig. 4.1.** Relative solubility of water soluble protein from *Patanga succinta* L. extracted by ultrasound-assisted process using 40% (A), 50% (B) and 60% (C) amplitudes at different ultrasonication times. Bars represent the standard deviation (n=3).

โปรตีนที่สกัดได้เมื่อเพิ่มความรุนแรงของสภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้ (ตารางที่ 4.2) Zou และคณะ (2017) รายงานการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการละลายของคอลลาเจนที่สกัดจากตะพาน้ำ (*Pelodiscus sinensis*) เมื่อใช้อัลตราซาวด์ร่วมในกระบวนการสกัดที่สภาวะรุนแรงขึ้น ในขณะที่ Singh และคณะ (2018) ได้รายงานการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีนจากไขหมึกซึ่งเกิดจากการใช้อัลตราซาวด์ร่วมในกระบวนการสกัด ที่ความกว้างคลื่นสูงและในระยะเวลาที่นาน ซึ่งส่งผลต่อการคลายตัว (Unfolding) ของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลโปรตีน และแยกกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำออกมา โดยกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำนี้มีความไวต่อการทำปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและโปรตีนด้วยกันเองซึ่งนำไปสู่การรวมตัวหรือการตกตะกอน ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ความสามารถในการละลายลดลง ดังนั้นสภาวะของอัลตราซาวด์ที่ใช้เป็นกระบวนการช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนตั้งแต่น้ำพักก้าที่แตกต่างกันมีผลต่อความแตกต่างของความสามารถในการละลายของโปรตีนที่สกัดได้ โดยการใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะเหมาะสมสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีนตั้งแต่น้ำพักก้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ

#### 4.3.2 ความสามารถในการเกิดโฟม (Foaming capacity) และความคงตัวของโฟม (Foam stability)

จากการทดลองใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตั้งแต่น้ำพักก้า โดยทำการศึกษาผลของการใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น 40, 50 และ 60% ที่ระยะเวลา 10, 20 และ 30 นาที ต่อความสามารถในการเกิดโฟม (Foaming capacity) และความคงตัวของโฟม (Foam stability) (ตารางที่ 4.3) พบว่าโปรตีนตั้งแต่น้ำพักก้าที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม มีค่าความสามารถในการเกิดโฟมและค่าความคงตัวของโฟมอยู่ที่ 114 และ 100.56% ตามลำดับ การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนตั้งแต่น้ำพักก้ามีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ Foaming capacity อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนจากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) โดยความแตกต่างของสภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้ในการทดลองไม่ส่งผลต่อ Foaming capacity ของโปรตีนที่ได้ ยกเว้นการใช้ช่วงความกว้างคลื่นสูงสุด ร่วมกับการใช้ระยะเวลาในการอัลตราซาวด์นานสุด ที่มีผลต่อการลดลงของ Foaming capacity การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดนี้ให้ผลคล้ายคลึงกัน Foam stability ของโปรตีนที่ได้ โดยโปรตีนตั้งแต่น้ำพักก้ามี Foam stability ที่สูงกว่าโปรตีนจากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) ยกเว้นการใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะรุนแรงต่ำที่สุดที่ทำการทดลอง (ช่วงความกว้างคลื่น 40% เป็นเวลา 10 นาที) ที่ให้โปรตีนที่มี Foam stability ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบกับโปรตีนจากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p > 0.05$ ) การใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาสั้นขึ้น ส่งผลต่อการพัฒนา Foam stability ของโปรตีนที่ได้ โดยเฉพาะที่ช่วงความกว้างคลื่น 40 และ 50% แต่อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์ที่นานเกินไป สามารถส่งผลกระทบต่อผลการลดลงของ Foam stability ได้เช่นกัน ดังเห็นได้จากสภาวะอัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น 60% เป็นเวลา 30 นาที Singh และคณะ (2019) ได้ศึกษาการปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ปลาหมึกผง โดยการใช้อัลตราซาวด์ช่วยพัฒนาคุณสมบัติการเกิดโฟมของไข่ปลาหมึกเพื่อใช้เป็นสารก่อโฟมในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ อัลตราซาวด์ก่อให้เกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสหรือการเสียสภาพของโมเลกุลโปรตีนด้วยแรงไฮโดรไดนามิก (Hydrodynamic forced) ที่เกิดขึ้นภายใต้ความดันสูงจากผลของปรากฏการณ์ Cavitation (Antti และคณะ, 2008; Jambrak และคณะ, 2008) ได้เป็นโปรตีนสายสั้นที่มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสสูงขึ้น และส่งเสริมความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนที่ได้ (Jambrak และคณะ, 2008) ในขณะเดียวกันอัลตราซาวด์สามารถเพิ่มอัตราการคลายตัว (Unfolding) และพื้นผิวไฮโดรโฟบิก ซึ่งส่งผลให้โปรตีนที่ได้สามารถเคลื่อนย้ายไปที่ผิว Interface ระหว่าง น้ำและอากาศได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และทำหน้าที่ในการสร้างชั้นฟิล์มที่ล้อมรอบฟองอากาศไว้ได้ดียิ่งขึ้น (Singh และคณะ, 2019) ส่งผลให้ค่า Foaming capacity ของโปรตีนดีขึ้นนั่นเอง อย่างไรก็ตามการสูญเสียสมบัติการละลายอันเกิดจากการจับตัวกัน (Aggregation) ของสายโปรตีนที่คลายตัว (Unfold) จากการกระตุ้นโดยอัลตราซาวด์ส่งผลให้ค่า Foaming capacity ลดลงได้เช่นกัน (Singh และคณะ, 2018) นอกจากนี้ การเกิดการจับตัวกันของโปรตีนที่มากเกิดไปจากการใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะรุนแรงเกินไป ยังส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของระบายน้ำ (Drainage) จากชั้นฟิล์มลามেলা (Lamella) ที่ห่อหุ้มฟองอากาศไว้ได้ ทำให้โปรตีนที่ได้มีค่า Foam stability ที่ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยเช่นกัน (Narsimhan และ Ruckenstein, 1986) ดังนั้นการใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนตักแตนปาทั้งกา ควรทำในระดับที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตการสกัดที่ดี พร้อมกับพัฒนาความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมไปในตัว

**Table 4.3** Foaming capacity, Foam stability, Emulsion activity index and Emulsion stability index of water soluble protein from *Patanga succinta* L. extracted by ultrasound-assisted process under different conditions.

Sample		Foaming capacity (FC, %)	Foam stability (FS, %)	Emulsion activity index (EAI, m <sup>2</sup> /g)	Emulsion stability index (ESI, min)
Control		114.00±3.85 <sup>b</sup>	100.56±0.00 <sup>d</sup>	8.46±0.44 <sup>bc</sup>	18.35±2.83 <sup>b</sup>
Amplitude 40%	10 min	140.00±8.82 <sup>a,x</sup>	103.33±0.00 <sup>d,z</sup>	9.39±0.60 <sup>ab,x</sup>	16.44±1.25 <sup>bc,x</sup>
	20 min	145.56±5.09 <sup>a,x</sup>	116.67±0.00 <sup>a,x</sup>	9.62±0.42 <sup>a,x</sup>	20.62±2.61 <sup>a,x</sup>
	30 min	150.00±0.00 <sup>a,x</sup>	116.67±0.00 <sup>a,x</sup>	8.89±1.24 <sup>abc,x</sup>	16.35±1.51 <sup>bc,x</sup>
Amplitude 50%	10 min	150.00±0.00 <sup>a,x</sup>	116.67±0.00 <sup>a,x</sup>	8.37±0.83 <sup>c,x</sup>	15.42±0.30 <sup>c,x</sup>
	20 min	148.89±1.92 <sup>a,x</sup>	116.67±0.00 <sup>a,x</sup>	8.23±0.32 <sup>c,y</sup>	16.16±0.68 <sup>bc,y</sup>
	30 min	145.56±5.09 <sup>a,xy</sup>	116.67±0.00 <sup>a,x</sup>	9.72±0.23 <sup>a,x</sup>	16.23±1.02 <sup>bc,x</sup>
Amplitude 60%	10 min	140.00±0.00 <sup>a,x</sup>	106.67±0.00 <sup>c,y</sup>	9.00±0.35 <sup>abc,x</sup>	15.36±0.68 <sup>c,x</sup>
	20 min	140.00±17.32 <sup>a,x</sup>	113.33±5.77 <sup>a,x</sup>	9.48±0.25 <sup>a,x</sup>	15.37±0.53 <sup>c,y</sup>
	30 min	142.22±3.85 <sup>a,y</sup>	110.00±0.00 <sup>b,y</sup>	9.17±0.48 <sup>abc,x</sup>	16.31±0.95 <sup>bc,x</sup>

Data are expressed as mean ± standard deviation (n=3).

<sup>a,b,c...</sup> indicated significant differences of data in the same column ( $P < 0.05$ ).

<sup>x,y,z</sup> indicated significant differences of data comparing in the same ultrasonication time ( $P < 0.05$ ).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.3.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion activity index) และ ความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion stability index)

จากการทดลองใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งกา โดยทำการศึกษาผลของการใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น 40, 50 และ 60% ที่ระยะเวลา 10, 20 และ 30 นาที ต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion activity index, EAI) และความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion stability index, ESI) (ตารางที่ 4.3) พบว่าโปรตีนที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมมี EAI และ ESI อยู่ที่ 8.46 และ 18.35% ตามลำดับ จากผลที่ได้ สันเกตได้ว่าการใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่นต่างๆ มีผลต่อ EAI และ ESI ของโปรตีนที่ได้ โดยขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ในการทำอัลตราซาวด์ด้วย โปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ในทุกความความกว้างคลื่นที่ทำการทดลอง สามารถเพิ่ม EAI ของโปรตีนได้เมื่อใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดเป็นระยะเวลา 20 นาที ทำการเปรียบเทียบกับโปรตีนที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ยกเว้นที่ความกว้างคลื่น 50% ที่ต้องใช้อัลตราซาวด์ถึง 30 นาที จึงจะได้โปรตีนที่มี EAI สูงกว่าโปรตีนที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าที่ความ กว้างคลื่น 50% สามารถเพิ่ม EAI ของโปรตีนได้เมื่อระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะที่ 30 นาที (9.72%) ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการเปรียบเทียบ EAI ของโปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาเดียวกัน พบกว่าความกว้างคลื่นที่เพิ่มสูงขึ้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง EAI ของโปรตีนที่ได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลา 20 นาที ที่ความกว้างคลื่นที่เพิ่มขึ้น พบการลดลงของ EAI ที่ความกว้างคลื่น 50% เปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากความกว้างคลื่นอื่นๆ ที่ทำการทดลอง ( $p < 0.05$ )

ESI ของโปรตีนตักแตนปาทั้งกาที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด มีผลไปในทิศทางเดียวกันกับ EAI (ตารางที่ 4.3) จากผลการทดลองพบว่า การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด จะสามารถเพิ่ม ESI ของโปรตีนปาทั้งกาได้ เมื่อใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะเหมาะสม นั่นคือที่ความกว้างคลื่น 40% เป็นเวลา 20 นาที ที่ให้ค่า ESI สูงกว่าค่าที่ได้จากโปรตีนที่สกัดโดยกระบวนการแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้โปรตีนตักแตนปาทั้งกาที่ได้จากการใช้สภาวะอัลตราซาวด์อื่นๆที่ทำการทดสอบ มีค่า ESI ที่เทียบเท่าหรือต่ำกว่าโปรตีนที่สกัดโดยกระบวนการแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) โดยทั้งสิ้น เมื่อทำการเปรียบเทียบการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความกว้างคลื่นเดียวกัน ค่า ESI ของโปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลานานขึ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะที่ความกว้างคลื่น 50 และ 60% ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่การใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่นเพิ่มขึ้น มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ ESI เปรียบเทียบที่ระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์เดียวกัน ( $p > 0.05$ ) ยกเว้นการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลา 20 นาที ที่พบการลดลงของ ESI เมื่อความกว้างคลื่นเพิ่มสูงกว่า 40% ( $p < 0.05$ ) โปรตีนมีคุณลักษณะแอมฟิพาติก (Amphipatic) ที่มีองค์ประกอบของส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วอยู่ในโมเลกุลเดียวกันและด้วยความสามารถในการคลายตัวและจัดเรียงตัวที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมัน ทำให้โปรตีนสามารถแสดงคุณสมบัติของการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ (De Castro, Bagagli, Sato, 2015) การศึกษาความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนสามารถทำได้โดยการตรวจวัดการกระจายตัวของหยดน้ำมัน (Oil droplets) และความสามารถในการดูดซับ (Absorption ability) ของโปรตีนที่พื้นผิวอินเทอร์เฟซ (Interface) ระหว่างน้ำและน้ำมัน ซึ่งการตรวจวัดโดยใช้ค่าความขุ่น (Turbidity) เป็นวิธีพื้นฐานในการตรวจติดตามประสิทธิภาพการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนที่น่าเชื่อถือ (Pearce และ Kinsella, 1978) การเพิ่มขึ้นของค่า EAI และ ESI ของโปรตีนตักแตนปาทั้งกาที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดสัมพันธ์กับค่าพื้นผิวไฮโดรโฟบิกที่เพิ่มขึ้นจากการคลายตัวของโปรตีน ซึ่งเป็นการปรับสมดุลความชอบน้ำ/ชอบไขมันของของสายเปปไทด์ให้สามารถสร้างพื้นผิวสัมผัสตรงบริเวณ Interface ที่คงตัว ในขณะที่การใช้อัลตราซาวด์อาจก่อให้เกิดการตัดสายโปรตีนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

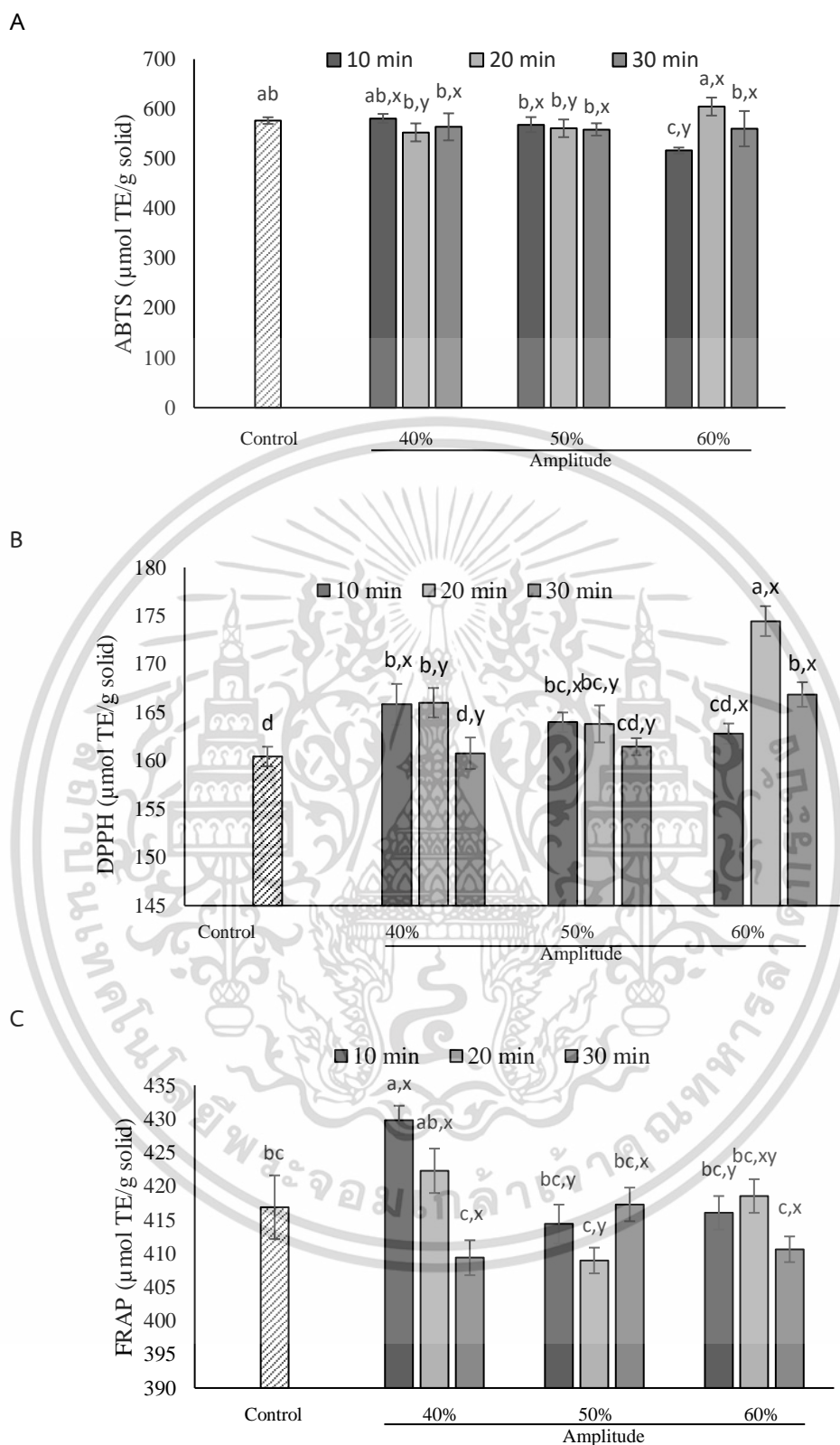
โมเลกุลขนาดใหญ่เกิดจากแรงเฉือน (Shearing force) ช็อคกเวฟ (Shock wave) หรืออนุมูลอิสระ (Free radicals) (Jambrak และคณะ, 2014) ได้เป็นเปปไทด์ขนาดโมเลกุลที่เล็กลง ที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่และจัดเรียงตัวที่พื้นผิว Interface ที่ดียิ่งขึ้น (Liu และคณะ, 2019; Jain & Anal, 2016; Phongthai และคณะ, 2016) แต่อย่างไรก็ตามการเกิดเปปไทด์สายสั้นในปริมาณที่มากเกิดไปอาจส่งผลต่อการลดลงของ ESI เนื่องจากขนาดโมเลกุลที่เล็กนี้มีผลต่อการลดลงของประสิทธิภาพในการลดแรงตึงผิวที่ Interface (Interfacial tension) และความสามารถในการรักษาสภาพอิมัลชันให้คงตัว เพราะเปปไทด์สายสั้นจะสูญเสียความสามารถในการคลายตัว (Unfold) และการจัดเรียงตัวใหม่ (Re-orient) ณ ตำแหน่ง Interface (Hall, Jones, O'Haire, Keceaga, 2017; O'Sullivan และคณะ, 2014) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะแอมฟิพาธิคของโปรตีนสายสั้น และการจับกันเอง (Aggregation) ของสายโปรตีนที่คลายตัวมากเกินไปจนสูญเสียความสามารถในการละลายและการจัดเรียงตัวที่พื้นผิว Interface เนื่องจากการใช้อัลตราซาวด์ในสภาวะที่รุนแรงเกินไป ก็มีผลต่อการลดลงของค่า EAI และ ESI เช่นกัน (Hall, Jones, O'Haire, Keceaga, 2017; Zou และคณะ, 2016) มีรายงานก่อนหน้านี้ได้ทำการทดลองใช้อัลตราซาวด์ในกระบวนการสกัดโปรตีนจากแมลงกินได้ เช่น หนอนนก (*T. molitor*) ดักแด้หนอนไหม (*B. mori*) ตั๊กแตน (*S. gregaria*) และผึ้ง (*Apis mellifera*) (Benjamin และคณะ, 2019; Kim และคณะ, 2016; Mishyna และคณะ, 2019) โดยสภาวะของอัลตราซาวด์ที่ใช้มีส่วนสำคัญในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนแมลงที่ได้ ดังนั้นสภาวะของอัลตราซาวด์ที่ใช้เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดโปรตีนจากตั๊กแตนป่าทั้งที่มีผลต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนที่สกัดได้ โดยสภาวะอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมจะช่วยพัฒนาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารเติมแต่งอาหาร โดยเฉพาะอาหารกลุ่มอิมัลชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

#### 4.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนสกัดจากตั๊กแตนป่าทั้งกา

การทดลองวิเคราะห์ที่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง โดยการตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS) และ DPPH (DPPH) และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของโปรตีน โดยวิธีการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (FRAP) ของโปรตีนตั๊กแตนป่าทั้งก้าสกัดโดยใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่สภาวะต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 โปรตีนตั๊กแตนป่าทั้งก้าที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (รูปที่ 4.2 (A)) อยู่ที่ 576.59  $\mu\text{mol TE/g solid}$  นอกจากนี้โปรตีนป่าทั้งก้าที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดมีค่า ABTS ที่ไม่แตกต่างกับโปรตีนที่สกัดได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมในทุกๆสภาวะที่ใช้ในการทดลอง ( $p > 0.05$ ) ยกเว้นโปรตีนที่สกัดโดยใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น 60% เป็นเวลา 10 นาที ที่แสดงฤทธิ์ ABTS ต่ำกว่าโปรตีนที่สกัดได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) ระยะของการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์ ABTS โดยเฉพาะที่ความกว้างคลื่น 40 และ 50% ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่การใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่นเพิ่มขึ้น มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ ABTS โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระยะเวลาการใช้อัลตราซาวด์ที่ 20 นาที ( $p < 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตาม พบการลดลงของฤทธิ์ ABTS เมื่อใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่นสูงกว่า 50% ( $p < 0.05$ ) เป็นระยะเวลา 10 นาที ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ABTS ใช้เพื่อวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนและทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น (Leong และ Shui, 2002) การทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีความเหมาะสมในการวัดสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์ จึงสามารถตรวจวัดได้ทั้งสารในกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และ กลุ่มที่ชอบน้ำ (hydrophilic) (ปัญจภรณ์ และคณะ, 2560) ทั้งนี้การใช้อัลตราซาวด์เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยในกระบวนการสกัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง รูปทรง ขนาด และสมบัติทางพื้นผิวของโปรตีน (Wen, และคณะ, 2018; Zou และคณะ, 2019, Farvin และคณะ, 2016) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ควบคุมการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนนั้นๆ ฉะนั้นการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดจึงมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่ได้แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสภาวะและความรุนแรงของสภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้

รูปที่ 4.2 (B) แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้ำที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการที่สภาวะต่างๆ โดยโปรตีนที่ได้สกัดได้จากการใช้วิธีสกัดแบบดั้งเดิม อยู่ที่  $160.44 \mu\text{mol TE/g solid}$  การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดภายใต้สภาวะที่ทำการทดลองนี้ ไม่ส่งผลเสียต่อฤทธิ์ DPPH ของโปรตีนที่สกัดได้แต่อย่างใด เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ DPPH ของโปรตีนที่สกัดได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยกับโปรตีนที่ได้จากการใช้วิธีสกัดแบบดั้งเดิม นอกจากนี้การใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างสูงขึ้น ส่งเสริมให้ฤทธิ์ DPPH ของโปรตีนที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยการใช้อัลตราซาวด์ที่ความยาวคลื่นสูงกว่า 40% ในระยะเวลาอันยาวนานที่สุดที่ทำการทดลอง (30 นาที) จะให้โปรตีนที่มีฤทธิ์ DPPH สูงที่สุดเปรียบเทียบกับภายในความกว้างคลื่นอัลตราซาวด์เดียวกัน ( $p < 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์ DPPH จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ระยะเวลา 10 นาที ไม่ว่าจะด้วยความกว้างคลื่นใดใด ( $p > 0.05$ ) เมื่อทำการเปรียบเทียบการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความกว้างคลื่นเดียวกัน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลามากขึ้น มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ DPPH โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความกว้างคลื่น 40 และ 60% อย่างไรก็ตามพบการลดลงของฤทธิ์ DPPH จากการใช้อัลตราซาวด์ทั้ง 2 ความกว้างคลื่นที่กล่าวมาข้างต้น ที่ระยะเวลานานกว่า 20 นาที ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่เดียวกันการใช้อัลตราซาวด์ที่ความกว้างคลื่น 50% ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์ DPPH ไม่ว่าจะใช้อัลตราซาวด์ช่วยที่ระยะเวลาใดใด ( $p > 0.05$ ) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้ำจากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดจะขึ้นอยู่กับกรดอะมิโนองค์ประกอบที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม ( $\text{H}^+$ ) กับอนุมูลอิสระ  $\text{DPPH}^\bullet$  ซึ่งจัดเป็นอนุมูลอิสระชนิดไม่มีขั้ว (hydrophobic free radical) การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ขึ้นอยู่กับพื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน ซึ่งการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดส่งผลให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการคลายตัว (Unfolding) และเผยส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกมากขึ้น (Arzeni และคณะ, 2012a; Arzeni และคณะ, 2012b) Zou และคณะ (2016) พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากสมองหมีสามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH อันเป็นผลมาจากการตัดสายของโปรตีนในระหว่างการใช้อัลตราซาวด์ ได้เป็นเปปไทด์ขนาดเล็กที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ที่สามารถทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนและเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้มีความเสถียรมากขึ้น แต่เมื่อใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความกว้างคลื่นสูงและระยะเวลาอันยาวนานขึ้นทำให้ฤทธิ์ DPPH ลดลงอาจมีสาเหตุจากการจับกันเอง (Aggregation) ของโมเลกุลของโปรตีนที่คลายตัว (Unfolding) มากเกิน ทำให้พื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนน้อยลงและลดความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระลดลง ทั้งนี้ จากผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความยาวคลื่น 60% มีศักยภาพในการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระยะเวลา 20 นาที ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง ABTS และ DPPH สูง



**Fig. 4.2** Antioxidant activity of water soluble protein from *Patanga succinta* L. extracted by ultrasound-assisted process under different conditions. ABTS radical scavenging activity (A), DPPH radical scavenging activity (B) and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (C). Bars represent the standard deviation (n=3). <sup>a,b,c...</sup> indicated significant differences in values between all data ( $P < 0.05$ ). <sup>x,y,z</sup> indicated significant differences of data comparing in the same ultrasonication time ( $P < 0.05$ ).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์กับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งก้าที่สภาวะต่างๆ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (FRAP) (รูปที่ 4.2 (C)) คล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้าที่ได้ โปรตีนตักแตนปาทั้งก้าที่ได้จากกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP อยู่ที่ 416.86  $\mu\text{mol TE/g solid}$  การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดไม่ส่งผลเสียต่อความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนที่ได้จากการใช้กระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ FRAP ในโปรตีนตักแตนปาทั้งก้าที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความถี่คลื่น 40% เป็นเวลาไม่เกิน 20 นาที (422.28-429.78  $\mu\text{mol TE/g solid}$ ) เปรียบเทียบกับฤทธิ์ที่ได้จากการใช้กระบวนการสกัดแบบดั้งเดิม ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการเปรียบเทียบการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดที่ความถี่คลื่นเดียวกัน ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของโปรตีนที่ได้จากการใช้อัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาสั้นขึ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะที่ความถี่คลื่น 50 และ 60% ( $p < 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตาม พบการลดลงของ FRAP เมื่อใช้อัลตราซาวด์ที่ความถี่คลื่น 40% ตามการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาที่ใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัด ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่การใช้อัลตราซาวด์ที่ความถี่คลื่นเพิ่มขึ้นมีผลต่อการลดลงของ FRAP โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ที่การใช้อัลตราซาวด์ช่วยเป็นระยะเวลา 10 นาที ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ FRAP จากการเพิ่มความถี่คลื่นของอัลตราซาวด์ ที่ระยะเวลาในการใช้อัลตราซาวด์นานกว่า 20 นาที ( $p > 0.05$ ) ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันตามหลักการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเหล็กซึ่งเป็นสารออกซิแดนซ์ (oxidant) กับสารต้านออกซิเดชันเมื่อสารต้านออกซิเดชันถ่ายเทอิเล็กตรอนให้แก่  $\text{Fe}^{3+}$  ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น  $\text{Fe}^{2+}$  (ปัญญาภรณ์ และคณะ, 2560) การเพิ่มขึ้นและการลดลงของความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของเปปไทด์และกรดอะมิโนองค์ประกอบในตัวอย่าง การใช้อัลตราซาวด์ช่วยในกระบวนการสกัดส่งผลให้โมเลกุลโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกล (Mechanical) และทางกายภาพ (Physical) เนื่องจากคavitiation) ซึ่งก่อให้เกิดแรงเฉือน และการเพิ่มการถ่ายโอนมวล (Mass transfer) ที่รุนแรง (Kadam และคณะ, 2015) โปรตีนจึงเกิดการเสียสภาพเกิดการตัดสายเปปไทด์ เกิดการคลายตัวและเปิดเผยหมู่ฟังก์ชันที่แอคทีฟภายในสายโปรตีน เกิดการเปลี่ยนรูปร่างรูปทรงของโปรตีนที่ได้ (Sangave and Pandit, 2006, Weis, Gulseren, Kjartansson, 2011) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่งผลต่อความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนที่ได้ Sangave และคณะ (2006) และ Weis และคณะ (2018) พบว่าอัลตราซาวด์สามารถเพิ่มความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่าสภาวะอัลตราซาวด์ที่ใช้เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดมีผลต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้า โดยการใช้อัลตราซาวด์ที่สภาวะเหมาะสมสามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS, DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของโปรตีนตักแตนปาทั้งก้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผล

อัสตราชาวต์สามารถใช้เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งกา (*Patanga succincta* L.) ในการเพิ่มผลผลิตในการสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสภาวะอัสตราชาวต์ที่ใช้มีผลต่อคุณลักษณะ สมบัติเชิงหน้าที่ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนที่สกัดได้ ที่ความกว้างคลื่นและระยะเวลาในการใช้อัสตราชาวต์ต่างๆ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าพินผิวไฮโดรโฟบิกและปริมาณแอลฟาอะมิโนที่แตกต่างกัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม อัสตราชาวต์สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม เพิ่มความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน และเพิ่มฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของโปรตีนที่สกัดได้ ดังนั้นอัสตราชาวต์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดโปรตีนจากตักแตนปาทั้งกา เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงพร้อมกับพัฒนาคุณสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนที่ได้ด้วย ทั้งนี้เพื่อให้ได้การสกัดที่มีประสิทธิภาพจริง การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้อัสตราชาวต์กับวัตถุดิบแต่ละชนิดจึงมีความจำเป็นอย่างมาก

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ขั้นตอนการสกัดโดยใช้อัสตราชาวต์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดควรควบคุมอุณหภูมิให้เท่ากันทุกสภาวะเพื่อให้ได้ผลการทดลองที่สมบูรณ์
2. ในขั้นตอนการหมუნเหียงหลังจากการใช้อัสตราชาวต์เป็นกระบวนการช่วยในการสกัดโปรตีนควรทำการหมუნเหียงทันที

## บรรณานุกรม

- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิตยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1276/สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน-functional-properties-of-protein>. 17 กันยายน 2562.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิตยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. ultrasonic / อัลตราโซนิคส์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0535/ultrasonic-อัลตราโซนิคส์>. 17 กันยายน 2562.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิตยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3200/dpph-assay-การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน>. 20 กันยายน 2562.
- สิทธิกร จำริญลาภกุล. 2528. อุลตราโซนิค. วิทยาศาสตร์การอาหาร 16(2) : 1-6
- Antti, G., Pentti, P. and Hanna, K. 2008. Ultrasonic degradation of aqueous carboxymethylcellulose: effect of viscosity, molecular mass, and concentration. *Ultrasonics- Sonochemistry*. 15: 644–648.
- Burana,K. and Jamjanya,T. 2011. Mating and Oviposition Behaviors of Black Soldier Fly, *Hermetia illucens (L.)*. The Graduate Research Conference. 591-97.
- De Castro, R.J.S., Bagagli, M.P., Sato, H.H. 2015. Improving the functional properties of milk proteins: Focus on the specificities of proteolytic enzymes. *Current Opinion in Food science*. 64–69.
- Hall, F.G., Jones,O.G., O’Haire, M.E. and Liceaga, A.M. 2017. Functional properties of tropical banded cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein hydrolysates. *Food Chemistry*. 224:414–422. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.138>.
- Jain, S., and Anal, A. 2016. Optimization of extraction of functional protein hydrolysates from chicken egg shell membrane (ESM) by ultrasonic assisted extraction (UAE) and enzymatic hydrolysis. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*. 69: 295-302.
- Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z., and Herceg, I. L. 2008. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*. 86 (2), 281-287.
- Jambrak, A.R., Mason, T.J., Lelas, V., Paniwnyk, L. and Herceg, Z. 2014. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins, *Journal of Food Engineering*. 121: 15–23.
- Mintah, B.K., He, R., Dabbour, M., Xiang .J., Agyekum, A.A. and Ma, H. 2019. Techno-functional attribute and antioxidative capacity of edible insect protein preparations and hydrolysates thereof : Effect of multiple mode sonochemical action. *Ultrasonics- Sonochemistry* 58.104676.
- Narsimhan, G., and Ruckenstein, E. 1986. Hydrodynamics, enrichment, and collapse in foams. *Langmuir*. 2: 230-238.

- Pearce, K.N. and Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of turbidimetric technique. *Food Chemistry*. 26: 716–723.
- Phongthai, S., Lim, S. T., and Rawdkuen, S. 2016. Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. *Journal of Cereal Science*. 70: 146-154.
- Sangave, P.C. and Pandit, A.B. 2006. Ultrasound and enzyme assisted biodegradation of distillery wastewater. *Journal of Environmental Management*. 80: 36–46.
- Singh, A., Benjakul, S. and Karnjanapratum, S. 2019. Use of ultrasonicated squid ovary powder as a replacer of egg white powder in cake. *Journal of Food Science and Technology*. 56(4):2083–2092.
- Tang, W., Zhang, M. and Fang, Z. 2015. Optimization of ultrasound-assisted-extraction of porcine placenta water-soluble proteins and evaluation of the antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*. 52(7): 4042-4053
- Wen, C., Zhang, J., Zhou, J., Duan, Y., Zhang, H. and Ma, H. 2018. Effects of slit divergent ultrasound and enzymatic treatment on the structure and antioxidant activity of arrowhead protein. *Ultrasonics – Sonochemistry*. 49: 294–302.
- Zou, Y., Yang, H., Li, P. P., Zhang, M. H., Zhang, X. X., Xu, W. M., and Wang, D. Y. 2019 Effect of different time of ultrasound treatment on physicochemical, thermal, and antioxidant properties of chicken plasma protein. *Poultry Science*. 98:1925–1933.
- Zielińska, E., Karaś, M. and Baraniak, B. 2018. Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. *LWT-Food Science and Technology*. 168-174.
- Zou, Y., Wang, L., Cai, P., Li, P., Zhang, M., Sun, Z., Sun, C., Xu, W., & Wang, D. 2017. Effect of ultrasound assisted extraction on the physicochemical and functional properties of collagen from soft-shelled turtle calipash. *International Journal of Biological Macromolecules*. 105: 1602-1610.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Proximate Analysis)

#### ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยอบในตู้ไฟฟ้า (AOAC, 1999)

##### 1. อุปกรณ์

- 1.1 ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
- 1.2 ถ้วยอะลูมิเนียม
- 1.3 โถดูดความชื้น
- 1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า

##### 2. วิธีการ

- 2.1 อบอุ่นสำหรับหาความชื้น (ถ้วยอะลูมิเนียม) ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- 2.2 นำถ้วยอะลูมิเนียมออกจากตู้อบลมร้อนใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง
- 2.3 ชั่งน้ำหนัก และจดบันทึก
- 2.4 กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
- 2.5 ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว
- 2.6 นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น
- 2.7 นำถ้วยอะลูมิเนียมเข้าตู้อบ และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
- 2.8 จดบันทึก

##### 3. การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ก.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนรวม โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2011)

### 1. อุปกรณ์

- 1.1 ขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน
- 1.2 เครื่องย่อย
- 1.3 เครื่องกลั่น
- 1.4 ขาตั้งและบิวเรตสำหรับไทเทรตสารละลาย
- 1.5 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.6 กระจกตวงขนาด 25 และ 100 มิลลิลิตร
- 1.7 น้ำกลั่น
- 1.8 ปีกเกอร์
- 1.9 boiling chip
- 1.10 เครื่องชั่งไฟฟ้า

### 2. สารเคมี

- 2.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- 2.2 Mix Catalyst (สารผสมระหว่าง copper sulfate: potassium sulfate อัตราส่วน 1:10)
- 2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 40% เตรียมได้จากซิงก์โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับให้ได้ 100 มิลลิลิตร
- 2.4 สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.1 N
- 2.5 กรดบอริก เข้มข้น 2% เตรียมได้จากการละลายกรดบอริก 2 ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
- 2.6 สารละลายอินดิเคเตอร์
  - เตรียม 0.1% methylene blue ใน alcohol 95%
  - เตรียม 0.2% methyl red ใน alcohol 95%

### 3. วิธีการ

#### 3.1 การย่อย

- 3.1.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5-5 กรัม (4 ตำแหน่ง) ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน เดิมตัวเร่ง 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริก 25 มิลลิลิตร ใส่ boiling chip 2-3 ลูก
- 3.1.2 นำหลอดย่อยโปรตีน วางลงในแลค ก่อนนำไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อย
- 3.1.3 ตั้งอุณหภูมิที่ใช้อยู่ 380-400 องศาเซลเซียส การย่อยอาจลดอุณหภูมิ (preheat) มาที่ 250 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก่อนปรับไปที่ อุณหภูมิที่ใช้อยู่
- 3.1.4 ทำการย่อย จนได้สารละลายใสหรือสีฟ้าใส ซึ่งเวลาในการย่อยขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์
- 3.1.5 ปิดสวิทช์ พร้อมยกแลคที่มีหลอดย่อยตัวอย่างพักขึ้นและรอให้สารละลายใส

เอกสารนี้เป็นเอกสาร **เป็นลิขสิทธิ์** ของกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 การกลั่น

3.2.1 นำหลอดย่อยตัวอย่างต่อเข้ากับชุดกลั่นโปรตีน

3.2.2 เติกรดบอริกเข้มข้น 2% ปริมาณ 60 มิลลิลิตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ทั้งสองอย่างละ 1 หยด วางขวดรูปชมพู่ลงในชุดกลั่น

3.2.3 เปิดเครื่องเพื่อเติมน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดย่อยสารละลายในหลอดย่อยจะเปลี่ยนเป็นสีดำ

3.2.4 กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 25 มิลลิลิตร

### 3.3 การไตเตรท

3.3.1 นำขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายที่กลั่นเสร็จแล้ว มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพูม่วง

## 4. การคำนวณ

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

A = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (normal)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

เปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหาร} = \text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} \times 6.25$$

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

#### ข.1 การวิเคราะห์สมบัติการละลาย ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ด้วยวิธี Lowry

##### 1. อุปกรณ์

- 1.1 หลอดแก้ว
- 1.2 แ่งแก้วคน
- 1.3 เครื่องชั่ง
- 1.4 ขวดปรับปริมาตร
- 1.5 ปีกเกอร์
- 1.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ
- 1.7 หลอดหยด
- 1.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 1.9 Vortex
- 1.10 Centrifuge
- 1.11 Centrifuge tube
- 1.12 pH meter

##### 2. สารเคมี

- 2.1 สารละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ในต่าง ละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2 กรัม ใน 0.1N NaOH 100 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)
- 2.2 สารละลาย copper sulphate-sodium potassium tartrate เตรียมโดยละลาย  $\text{CuSO}_4$  0.5 กรัม ใน 1%  $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  100 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) (อาจจะแทนด้วย disodium tartrate , sodium tartrate หรือ sodium citrate)
- 2.3 Alkaline solution (buffered alkaline cupric sulfate working solution) ผสมสารละลายในข้อ 1 ปริมาณ 50 ส่วน โดยปริมาตร กับสารละลายในข้อ 2 ปริมาณ 1 ส่วน โดยปริมาตร (ผสมก่อนใช้)
- 2.4 Folin-Ciocalteu reagent เจือจางสารละลายจากขวดสำเร็จด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร (จาก 2N เป็น 1N) สารละลายนี้เป็นสารละลายของ sodium tungstate และ sodium molybdate ใน phosphoric acid และ hydrochloric acid
- 2.5 สารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) 0.0125 g ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

### 3. วิธีการ

#### 3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

3.2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ปริมาตร 0,0.2,0.4,0.6,0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง (ใช้น้ำกลั่นเป็น Blank)

3.2.2 เติมน้ำกลั่นโดยให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 1 มิลลิลิตร

3.2.3 เติมสารละลาย alkaline solution หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

3.2.4 เติม Folin-ciocalteu reagent หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ในขณะที่เติมให้เขย่าหลอดด้วย ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

3.2.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

#### 3.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง

3.2.1 เจือจางตัวอย่างให้มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่า 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2.2 ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

3.2.3 เติมสารละลาย alkaline solution หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

3.2.4 เติม Folin-ciocalteu reagent หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ในขณะที่เติมให้เขย่าหลอดด้วย ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

3.2.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล จีราวรรณ หามนตรี  
 วัน เดือน ปีเกิด 6 มกราคม 2541  
 ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2563 วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
 สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-นามสกุล ฉันทนันท์ พลายมีนพเก้า  
 วัน เดือน ปีเกิด 9 กุมภาพันธ์ 2541  
 ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2563 วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
 สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้