ผลความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณลักษณะของโปรตีนดักแด้ไหม

Effect of Sodium Chloride Concentration on The Characteristics of Silkworm Pupae Protein

ศศิธร บุญฉิมพลี วิริยา อ่อนสะอาด และ เอกสิทธิ์ อ่อนสอาด*
Sasithorn Boonchimplee, Wiriya Onsaard and Ekasit Onsaard*

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University
*E-mail: ekasit.o@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

ดักแด้ไหม (Silk worm pupae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Bombyzx mori Linnaeus* เป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมสาวเส้นไหม ดักแด้ไหมถือว่าเป็นอาหารที่เป็นแหล่งของพลังงาน เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้ยังมีฟอสฟอรัส เหล็ก ทองแดง สังกะสี แมกนีเซียม และยังมีวิตามินจำเป็น 6 ชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาผลความเข้มข้นของเกลือที่มีผลต่อคุณลักษณะโปรตีนดักแด้ไหมที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว ในขั้นตอนการสกัดโปรตีนที่ใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25, 30, 35 และ 40 (w/v) พบว่า ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด ร้อยละ 58.97 และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 69.77 การศึกษาคุณลักษณะโปรตีนดักแด้ไหมพบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมันที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) มีค่าสูงที่สุด (3.78 g of water/g of sample และ 3.99 g of oil/g of sample) แต่เมื่อนำไปทดสอบค่าการละลายของโปรตีนที่พีเอช 7 กลับมีค่าต่ำที่สุด (ร้อยละ 5.82) ค่าการละลายที่สูงที่สุดอยู่ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 35 (w/v) (ร้อยละ 6.29) ดัชนีการเกิดอิมัลชัน (EAI) ของโปรตีนดักแด้ไหมพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 30 ถึง 31 m^2/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) และดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (ESI) พบว่า ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) มีค่าสูงที่สุด (60.79 min) ดังนั้นการสกัดโปรตีนดักแด้ไหมด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) นอกจากให้ผลผลิตในการสกัดที่สูงยังมีบางสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดีอาจใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารได้

คำสำคัญ: โปรตีนดักแด้ไหม การสกัดโปรตีน สมบัติเชิงหน้าที่

Abstract

Silkworm pupae (*Bombyzx mori Linnaeus*) is a waste material from the silk industry. The silkworm caterpillar is considered a food source of energy such as protein, fat and carbohydrates. It also contains phosphorus, iron, copper, zinc, magnesium and contains 6 essential vitamins. The present study used salt concentrations of 20, 25, 30, 35 and 40 percent, The effects of Sodium chloride on the functional properties (water holding capacity (WHC), fat absorption capacity (FAC), and emulsifying properties) and composition of silkworm pupae protein were compared. The results showed that the at 30% Sodium chloride showed the highest yield (58.97%) and highest protein content (68.77%), 30% Sodium chloride gave the highest WHC and highest OHC (3.78 g of water/g of sample and 3.99 g of oil/g of sample), The EAI of silkworm protein to be in the range of 30 to 31 m^2/g, which was not significantly different ($p \geq 0.05$). while the highest

ESI of the samples was produced by 30% Sodium chloride (60.79 min) Therefore, the results the silkworm pupae protein extracted by 30% Sodium chloride had high yield excellent some functional properties as a functional food ingredient.

Keywords: Silkworm Pupae Protein, Protein Extraction, Functional Properties

บทนำ

ดักแด้ไหม (Silk worm pupae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Bombyzx mori Linnaeus* เป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมสาวเส้นไหม ดักแด้ไหมถือว่าเป็นอาหารที่เป็นแหล่งของพลังงาน โดยดักแด้ 100 กรัมให้พลังงานสูงถึง 230 กิโลแคลอรี่ โปรตีนร้อยละ 21.5 ไขมันร้อยละ 13 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 6.7 (Wu et al., 2021) นอกจากนี้ยังมีฟอสฟอรัส เหล็ก ทองแดง สังกะสี แมกนีเซียม และยังมีวิตามินจำเป็น 6 ชนิด ได้แก่วิตตามิน A D E และ K (Köhler et al., 2019; Longvah., 2011) ปริมาณโปรตีนของดักแด้สูงกว่าโปรตีนจากสัตว์ โดยดักแด้ไหมสดมีโปรตีนจากสูงถึงร้อยละ 40-50 และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้งหมดร้อยละ 43.1-51.5 ประกอบไปด้วย กรดกลูตามิค กรดแอสพาราติค ลิวซีน ไลซีน ไทโรซีน โปรลีน และอะนาลีน (Ramos-Elorduy et al., 1997) โปรตีนจากดักแด้ไหมถือว่าเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีเนื่องจากมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่สูง ซึ่งเป็นที่ต้องการของร่างกาย ได้รับการรับรองจาก FAO และ WHO (Köhler et al., 2019) ดักแด้ไหมที่ได้จากอุตสาหกรรมผ้าไหมส่วนใหญ่ จะใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อทอดขายเป็นดักแด้ทอด หรือนำไปเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการสกัดเป็นน้ำมัน น้ำมันดักแด้ที่สกัดได้จะนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ยา (Zhou et al., 2022) ส่วนวัสดุเศษเหลือภายหลังจากการบีบสกัดน้ำมันดักแด้ไหม (Silkworm pupae meal) มักจะทิ้งหรือนำไปเป็นอาหารสัตว์ มีรายงานว่ากากดักแด้ไหมมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 75.6 (Köhler et al., 2019) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำกากดักแด้ไหมมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนแหล่งใหม่ มีงานวิจัยศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนดักแด้ไหมด้วยกันหลายวิธี เช่น การใช้สารละลายด่างและตกตะกอนด้วยกรดให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 32-38 การใช้สารละลายเกลือความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 37 (Jiang et al., 2021) และการใช้อัลตราโซนิกที่ให้ผลผลิตสูงถึงร้อยละ 60 (kim et al., 2018) หรือการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ด้วยในการสกัด (Ultrasound Assisted Extraction; UAE) (Teng and Choi., 2014) แมลงกินได้ส่วนใหญ่ที่นำมาศึกษาการสกัดโปรตีน เช่น หนอนนก หนอนยักษ์ ด้วงปีกแข็ง จิ้งหรีดขาว แมลงสาปดูเบีย (Yi et al., 2013) ด้วงกวางญี่ปุ่น และด้วงเกาหลี (Kim et al., 2020) โดยทั่วไปขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากแมลงนิยมทำการสกัดโปรตีนหลังจากที่ผ่านการบีบสกัดน้ำมันออก สารละลายที่นิยมใช้ในการสกัดโปรตีน ได้แก่ สารละลายด่างและสารละลายเกลือทำการตกตะกอนโปรตีนให้แยกออกจากสารละลายด้วยการปรับพีเอชที่จุด isoelectric point; pI) และนำไปทำแห้ง (Tsumura et al., 2005 และ Cao et al., 2009)

อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลในด้านการสกัดโปรตีนดักแด้ไหมยังมีข้อมูลไม่มากนักและข้อมูลคุณลักษณะของโปรตีนดักแด้ไหมยังมีน้อย ดังนั่นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลความเข้มข้นของเกลือต่อคุณลักษณะของโปรตีนดักแด้ไหมเพื่อให้สามารถนำกากดักแด้ไหมที่เป็นวัสดุเศษเหลือจากการบีบน้ำมันดักแด้ไปใช้ประโยชน์ตามสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ต้องการในผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของให้กับกากดักแด้ไหมอีกด้วย

วิธีการวิจัย

1. การสกัดโปรตีนดักแด้

กากดักแด้ไหมที่ใช้ในการทดลองคือ ไหมพันธุ์จุลไหม 1,6 ที่ผ่านการบีบสกัดน้ำมันด้วยเครื่อง Screw press จากบริษัทจุลไหมไทย จำกัดจังหวัดเพชรบูรณ์ นำกากดักแด้ไหมที่ผ่านการบีบสกัดน้ำมัน นำไปบดด้วยเครื่องปั่นจนละเอียด

บรรจุถุงอลูมิเนียมฟอยล์และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหมและดักแด้ไหมปราศจากไขมัน ได้แก่ ความชื้น ไขมัน เถ้า และโปรตีนตามวิธีของ AOAC (1995) ทำการสกัดโปรตีนดักแด้ไหมโดยนำกากดักแด้ปราศจากน้ำมันที่เตรียมได้มาละลายในน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1: 10 (w/v) จากนั้นปรับพีเอชเป็น 9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ นำไปกวนนาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปเหวี่ยงแยกที่ 7,000 x g ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำการแยกสารละลายส่วนใสออกจากตะกอน นำสารละลายส่วนใสไปตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25, 30, 35, 40 และ 40 (w/v) เพื่อตกตะกอนโปรตีน ทำการเหวี่ยงแยกโปรตีนที่ 7,000 x g ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปทำการไดอะไลซิส ก่อนนำไปทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) นำตัวอย่างไปคำนวณผลผลิต (Yield) และร้อยละของโปรตีนที่เก็บเกี่ยวได้ (Protein recovery) ของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดได้ เก็บตัวอย่างไว้ในถุงอลูมิเนียมฟอยล์และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

$$\text{คำนวณร้อยละผลผลิต (\% Yield)} = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนที่สกัดได้ (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (g)}}$$

$$\text{ร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมัน (\% Oil recovery)} = \frac{\text{ร้อยละผลผลิต}}{\text{ร้อยละปริมาณโปรตีนในดักแด้}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์คุณลักษณะของโปรตีนดักแด้ไหม

2.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่

- การวัดค่าสีของโปรตีนดักแด้ไหมด้วยเครื่อง Hunter Lab Color Flex45/0 และรายงานในรูปค่า L* ค่าความสว่าง (Lightness) ค่า a* ค่าสีแดง-สีเขียว (Redness/Greenness) ค่า b* ค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

2.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่

- การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตตามวิธี (AOAC, 2000)

- คุณสมบัติการอุ้มน้ำ (water absorption capacity) ตามวิธีของ Sosulski (1962)

- คุณสมบัติการอุ้มน้ำมัน (oil absorption capacity) ตามวิธีของ Lin et al. (1974)

- สมบัติการเกิดอิมัลชันโดยการวัดดัชนีการเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity index; EAI) และ ดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability index; ESI) ตามวิธีของ Pearce and Kinsella., (1978)

- สมบัติการละลาย (protein solubility) ตามวิธีของ Tsumura et al. (2005)

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomize Design; CRD) การทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนข้องมูล Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

ผลการวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ากากดักแด้ไหมมีปริมาณความชื้นร้อยละ 3.89 โปรตีนร้อยละ 65.26 น้ำมันร้อยละ 3.79 เถ้าร้อยละ 4.41 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 22.64 (ตารางที่ 1) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกากดักแด้ไหม

Proximate (%)	Silkworm pupae meal
Moisture	3.89±0.13
Protein (6.25)	**65.26±0.74**
Fat	3.79±0.09
Ash	4.41±0.07
Carbohydrate	22.64±0.70

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

จากการศึกษาปริมาณผลผลิต (Yield) และการเก็บเกี่ยว (Recovery) ของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดได้ด้วยความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าปริมาณของโปรตีนดักแด้ไหมที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) สูงสุด (ร้อยละ 58.97) รองลงมาคือ ความเข้มข้นร้อยละ 35 (w/v) (ร้อยละ 56.86) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (w/v) (ร้อยละ 56.75) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) (ร้อยละ 54.50) และ ความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v) (ร้อยละ 43.62) ตามลำดับ โดยปริมาณผลผลิตของโปรตีนดักแด้ไหมที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำหรับการเก็บเกี่ยว (Recovery) โปรตีนดักแด้ที่สกัดได้ด้วยความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณร้อยละการเก็บเกี่ยวโปรตีนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การสกัดโดยใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) มีร้อยละการเก็บเกี่ยวสูงที่สุด (ร้อยละ 3.13) รองลงมาคือ ความเข้มข้นร้อยละ 35 (w/v) (ร้อยละ 3.02) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (w/v) (ร้อยละ 3.01) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) (ร้อยละ 2.89) และความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v) (ร้อยละ 2.31) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่าองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนดักแด้ไหมที่ทำการวิเคราะห์ (ตารางที่ 4) จะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มจากร้อยละ 20 เป็นร้อยละ 30 ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นตาม อาจเนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นเป็นการช่วยให้โปรตีนสามสารถละลายและตกตะกอนออกมาได้มากขึ้นตามความแรงของไอออนิก (Jiang et al., 2021) แต่เมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มเป็นร้อยละ 35 ถึง 40 ปริมาณร้อยละผลผลิตกลับลดลง ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ Duong-Ly et al. (2014) ที่ทำการสกัดโปรตีนจากหนอนนกด้วยสารละลายเกลือเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้อาจขึ้นกับพารามิเตอร์กระบวนการต่าง ๆ รวมถึง pH อุณหภูมิและอัตราส่วนของเหลว-ของแข็ง (Lam et al., 2018)

ตารางที่ 2 ปริมาณผลผลิต (Yield) และการเก็บเกี่ยว (Recovery) ของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20 25 30 35 และ 40 (w/v)

NaCl concentration (%)	Yield (%)	Recovery (%)
20%	54.50 ± 0.46^{c}	2.89 ± 0.06^{c}
25%	56.75 ± 0.11^{b}	3.01 ± 0.04^{b}

NaCl concentration (%)	Yield (%)	Recovery (%)
30%	58.97 ± 0.52[a]	3.13 ± 0.01[a]
35%	56.86 ± 0.97[b]	3.02 ± 0.10[b]
40%	43.62 ± 0.71[d]	2.31 ± 0.06[d]

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

[a,b,c,d] อักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

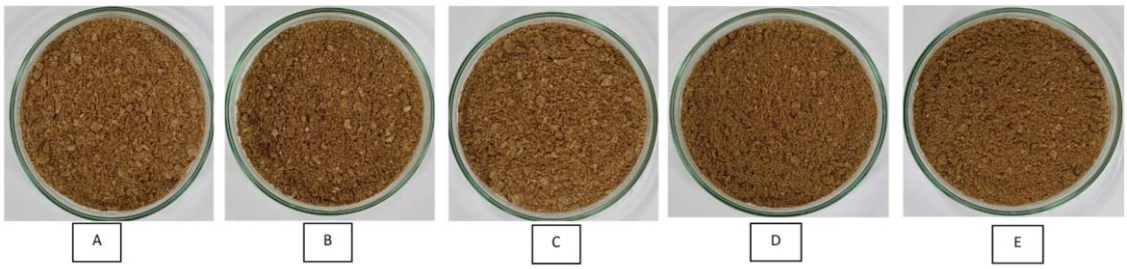
จากการวิเคราะห์ค่าสีของโปรตีนดักแด้ไหม (ตารางที่ 3) โดย L* แสดงถึงค่าความสว่าง a* แสดงความเป็นสีแดงและสีเขียว และ b* แสดงความเป็นสีเหลือและน้ำเงิน พบว่าค่า L* ของโปรตีนดักแด้ไหมอยู่ในช่วง 50-59 โดยค่าความสว่างที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v) มีค่าความสว่างมากที่สุด (59.58) รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 35, 30, 25, และ 20 (w/v) (57.32, 57.07, 54.86 และ 50.50) ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่า a* ของโปรตีนดักแด้ไหมพบว่าอยู่ในช่วง 23-25 โดยที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) มีค่าความเป็นสีแดงและเขียวสูงที่สุด (25.38) รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 40, 35, 25 และ 30 (w/v) (24.71, 24.11, 23.55 และ 23.54) ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สำหรับค่าความเป็นสีเหลือและน้ำเงิน (b*) ของโปรตีนดักแด้ไหมอยู่ในช่วง 29-35 ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) ให้ค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินมากที่สุด (35.78) รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 40, 35, 20 และ 25 (w/v) (35.18, 33.51, 31.02 และ 29.42) ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่งผลให้สีของโปรตีนดักแด้ไหมที่ได้ออกไปทางโทนสีน้ำตาลเข้มอมเหลือง

ตารางที่ 3 ค่าสีของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25, 30, 35 และ 40 (w/v)

NaCl concentration (%)	L*	a*	b*
20%	50.50 ± 0.27[e]	25.38 ± 0.69[a]	31.02 ± 0.72[d]
25%	54.86 ± 0.18[d]	23.55 ± 0.35[d]	29.42 ± 0.17[e]
30%	57.07 ± 0.10[c]	23.54 ± 0.13[d]	35.78 ± 0.13[a]
35%	57.32 ± 0.16[b]	24.11 ± 0.30[c]	33.51 ± 0.42[c]
40%	59.58 ± 0.25[a]	24.71 ± 0.49[b]	35.18 ± 0.05[b]

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

[a,b,c,d] อักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 1 ตัวอย่างโปรตีนดักแด้ไหมที่ผ่านการสกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นแตกต่างกัน
(A) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20 (B) ร้อยละ 25 (C) ร้อยละ 30 (D) ร้อยละ 35 และ (E) ร้อยละ 40 (w/v)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดักแด้ไหมพบว่า ปริมาณโปรตีนมีค่าสูงที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยจากตารางที่ 4 ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด โดยมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 69.77 รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้นข้นเกลือร้อยละ 25, 35, 40 และ 20 โดยมีค่าร้อยละ 58.57, 55.68, 54.53 และ 49.28 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าโปรตีนที่สกัดจากดักแด้หนอนไหมที่ละลายน้ำได้จากงานวิจัยของ Chatsuwan et al., (2018) ที่ใช้การสกัดโปรตีนด้วยสารละลายกรดร่วมกับสารละลายด่าง มีปริมาณโปรตีนเพียงร้อยละ 6.04 เนื่องจากการใช้กรดด่างต้องตกตะกอนโปรตีนที่จุด pI แต่เมื่อใช้สารละลายเกลือและทำการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือให้สูงขึ้น เป็นการเพิ่มความแรงไอออนของสารละลายให้สูงตามไปด้วย ทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนเพิ่มมากขึ้น โดยการเติมเกลือที่ละลายน้ำได้และไอออนของเกลือจะแย่งโมเลกุลของน้ำออกจากโปรตีน ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนมากกว่า อันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำทำให้โปรตีนจับตัวกันและตกตะกอนลงมา (Jiang et al., 2021). เมื่อโปรตีนตกตะกอนลงมามากขึ้นส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่ได้มีมากขึ้นตาม

ตารางที่ 4 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25, 30, 35 และ 40 (w/v)

Proximate (%)	NaCl concentration (%)				
	20%	25%	30%	35%	40%
Moisture	2.16 ± 0.12^{d}	3.42 ± 0.67^{C}	4.46 ± 0.58^{A}	4.38 ± 0.25^{B}	4.42 ± 0.24^{A}
Protein (6.25)	49.28 ± 0.76^{D}	58.57 ± 0.27^{B}	69.77 ± 0.31^{A}	55.68 ± 0.54^{C}	54.53 ± 0.63^{C}
Fat	9.53 ± 0.31^{C}	5.68 ± 0.34^{E}	10.19 ± 0.60^{A}	9.21 ± 0.78^{D}	9.75 ± 0.40^{B}
Ash	1.55 ± 0.21^{D}	1.94 ± 0.45^{B}	1.99 ± 0.19^{A}	1.55 ± 0.12^{D}	1.72 ± 0.24^{C}
Carbohydrate	37.47 ± 0.60^{A}	27.38 ± 0.41^{C}	13.58 ± 0.33^{D}	29.17 ± 0.61^{B}	29.16 ± 0.10^{B}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

^{A,B,C,D} อักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลลัมเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมันของโปรตีนดักแด้ไหมพบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ30 (w/v) (3.78 g/g) มีค่าสูงที่สุด รองลงมา ความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 25 (w/v) (3.06g/g) ความเข้มข้นร้อยละ 35 (w/v) (2.99g/g) และความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v) (2.90 g/g) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่ามีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.5$) เช่นเดียวกันกับความสามารถในการอุ้มน้ำมันที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.5$) โดยที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v) (4.06 g/g) มีค่าสูงสุด รองลงมาที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) (4.03 g/g) ความเข้มข้นร้อยละ 25 และ 35 (w/v) (4.01 g/g) และความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) (3.99 g/g) ตามลำดับ (ตารางที่ 5) จะเห็นได้ว่าโปรตีนดักแด้ไหมมีความสามารถในการอุ้มน้ำมันที่สูงกว่าความสามารถในการอุ้มน้ำ อาจเนื่องมาจากในโปรตีนดักแด้ไหมมีปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นไฮโดรโฟบิกมากกว่าไฮโดรฟิลิก ส่งผลให้โปรตีนดักแด้ไหมมีความสามารถในการอุ้มน้ำมันดีกว่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (Niveditha et al., 2020) ความสามารถในการอุ้มน้ำมันเป็นคุณสมบัติที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับส่วนประกอบของอาหารที่มักใช้ในการทำแป้ง เค้ก ไส้กรอก ซอสสลัด และมายองเนส (Haryati et al., 2020)

ตารางที่ 5 สมบัติการอุ้มน้ำ น้ำมันและสมบัติการละลายของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25, 30, 35 และ 40 (w/v)

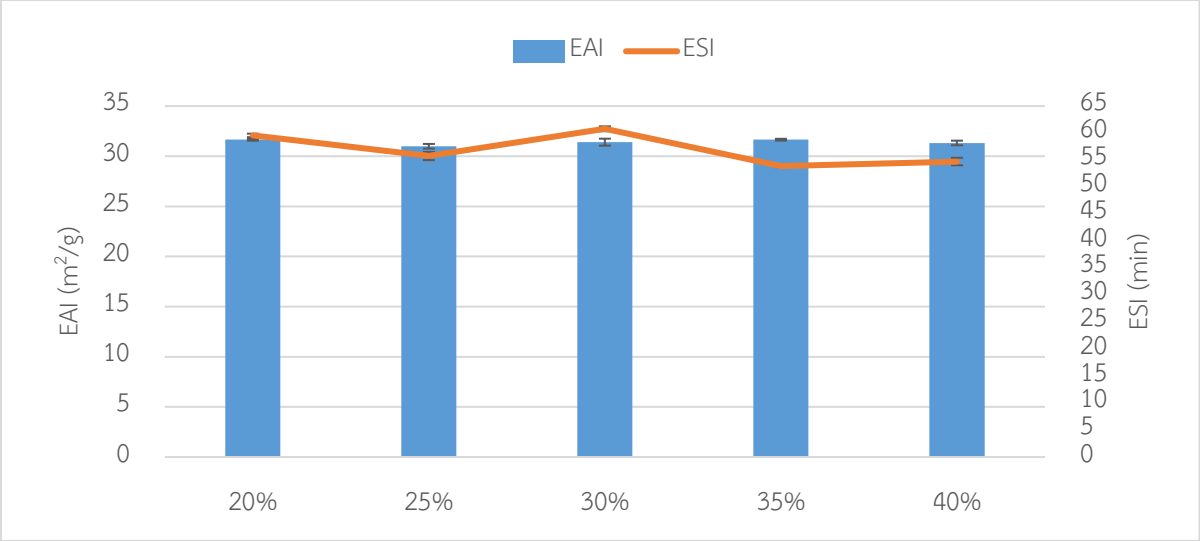
Silkworm pupae protein	Protein solubility (%)	Water absorption (g/g)	Oil absorption (g/g)
20%	6.20 ± 0.10^{b}	3.06 ± 0.15^{b}	4.03 ± 0.28^{b}
25%	6.23 ± 0.11^{b}	3.06 ± 0.10^{b}	4.01 ± 0.05^{c}
30%	5.82 ± 0.17^{d}	3.78 ± 0.26^{a}	3.99 ± 0.04^{d}
35%	6.29 ± 0.22^{a}	2.99 ± 0.19^{c}	4.01 ± 0.45^{c}
40%	6.11 ± 0.35^{c}	2.90 ± 0.42^{d}	4.06 ± 0.46^{a}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

^{a,b,c,d} อักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลลัมเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการวิเคราะห์ดัชนีการเกิดอิมัลชัน (EAI) ของโปรตีนดักแด้ไหมพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 30 ถึง 31 m^2/g (ภาพที่ 2) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าสูงกว่าโปรตีนที่สกัดได้จากจิ้กหรีดทองแดงลาย 7-29 m^2/g (Hall et al., 2017) และตั๊กแตน 23.23 m^2/g (Chatsuwan et al., 2018) ที่สกัดด้วยการใช้สารละลายกรดด่าง เนื่องจาก วิธีการสกัดที่มีการเติมสารละลายเกลือส่งผลให้มีค่า EAI ที่สูงขึ้นเพราะการเกิดอิมัลชันขึ้นอยู่กับว่าโปรตีนสามารถดูดซับที่ส่วนต่อประสานของหยดน้ำมันในอิมัลชัน (Chen et al., 2018) โดยอาจอธิบายได้จากการมีอยู่ของโปรตีนขนาดเล็กที่สามารถละลายน้ำได้จำนวนมากที่สามารถดูซับบนส่วนต่อประสานระหว่างน้ำมันกับน้ำได้ (Zhang et al., 2018)

ส่วนค่าดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (ESI) พบว่า ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) มีค่าสูงที่สุด (ร้อยละ 60.79) รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) (ร้อยละ 59.56) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (w/v) (ร้อยละ 55.75) ความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v) (ร้อยละ 54.72) และความเข้มข้นร้อยละ 35 (w/v) (ร้อยละ 53.88) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากความคงตัวของอิมัลชันเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของโปรตีนที่ดูดซับควาแตกต่างระหว่างกิจกรรมของอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันสัมพันธ์กับความไม่มชอบน้ำที่พื้นผิวของโปรตีน (ที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้) และความเสถียรของโครงสร้าง (Zieliństka et al., 2018) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang et al. (2017) ที่บ่งชี้ว่าการใช้เกลือในการสกัดจะลดความคงตัวของอิมัลชัน โดยโปรตีนที่แยกได้โดยการตกตะกอนของไอโซอิเล็กทริกมีค่ามากกว่าการตกตะกอนของแอมโมเนียมซัลเฟต โดยผลิตภัณฑ์ที่จะนำโปรตีนที่สกัดได้ทีมีค่า EAI แบะ ESI สูงได้แก่ วิปครีม น้ำสลัด เพื่อให้ตัวผลิตภัณฑ์มีความคงตัว ไม่แยกชั้น



ภาพที่ 2 สมบัติการเกิดอิมัลชันโดยการวัดดัชนีการเกิดอิมัลชัน (EAI) และ ดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน(ESI) ของโปรตีนดักแด้ไหมที่สกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20, 25, 30, 35 และ 40 (w/v)

สรุปผลการวิจัย

การสกัดโปรตีนดักแด้ไหมด้วยความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 30 ให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณการเก็บเกี่ยวสูงที่สุด ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด อย่างไรก็ตาม สมบัติการอุ้มน้ำ สมบัติในการดูดซับน้ำมัน และค่าการละลายของโปรตีนยังอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ ส่วนค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (EAI) และดัชนีความคงตัวของอิมัลชัน (ESI) ของโปรตีนดักแด้ที่สกัดด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 (w/v) มีค่าสูงที่สุด ดังนั้นแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์ในการเป็นส่วนผสมอาหารนั้นจำเป็นต้องมีการดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่และคุณลักษณะของโปรตีนดักแด้ไหมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิจัยอาหารพื้นบ้าน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนสถานที่และเครื่องมือในการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Association of Official Analytical Chemistry (AOAC.). (2000). *Official methods of Analysis* (15th ed). USA: Washington, DC.

Cao, X., Wen, H., Li, C. and Gu, Z. (2009). Differences in functional properties and biochemical characteristics of congenetic rice protein, *Journal of Cereal science. 50*(2), 184-189

Chatsuwan, N., Nalinanon, S., Puechkamut, Y., Lamsal, B. P. and Pinsirodom, P. (2018). Characteristics, Functional Properties, and Antioxidant Activities of Water-Soluble Proteins Extracted from Grasshoppers, Patanga succincta and Chondracris roseapbrunner. *Journal of Chemistry, 2018*, 1-11.

Chen, F., Du, X., Zu, Y., Yang, L. and Wang, F. (2016). Microwave-assisted method for distillation and dual extraction in obtaining essential oil, proanthocyanidins and polysaccharides by one-pot process from Cinnamomi Cortex. *Separation and Purification Technology, 164*, 1-11.

Duong-Ly, K. C. and Gabelli, S. B. (2014). Salting out of proteins using ammonium sulfate precipitation. *Methods in Enzymology, 541*, 85-94. DOI: 10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0.

Hall, F., Johnson, P. E. and Liceaga, A. (2018). Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (Gryllodes sigillatus) protein. *Food Chemistry, 262*, 39-47.

Haryati, S., Budijanto, S. and Prangdimurti, E. (2020). Characterization of functional properties catfish protein isolates (*Clarias sp.*). *Earth and Environmental Science, 44*(1), 12031

Jiang, Y., Zhu, Y., Zheng, Y., Liu, Z., Zhong, Y., Deng, Y. and Zhao, Y. (2021). Effects of salting-in/out-assisted extractions on structural, physicochemical and functional properties of Tenebrio molitor larvae protein isolates. *Food Chemistry, 338*, 128158.

Kim, H. K., Kim, Y. H., Kim, Y. E., Jung, S. K., Lee, N. H. and Song, K.-M. (2018). Effects of salts on ultrasonic extraction of protein from porcine myocardium. *Food and Bioproducts Processing, 108*, 12-17.

Köhler, R., Kariuki, L., Lambert, C. and Biesalski, H. K. (2019). Protein, amino acid and mineral composition of some edible insects from Thailand. *Journal of Asia-Pacific Entomology, 22*(1), 372-378

Lam, A. C. Y., Can Karaca, A., Tyler, R. T. and Nickerson, M. T. (2018). Pea protein isolates: structure, extraction and functionality. *Food Reviews International, 34*(2), 126-147.

Lin, M. J. Y., Humbert, E. S. and Sosulski, F. W. (1974). Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science, 39*(2), 368-370. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1974.tb02896.x.

Longvah, T., Mangthya, K. and Ramulu, P. (2011). Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (Samia ricinii) prepupae and pupae. *Food Chemistry, 128*(2), 400-403.

Pearce, K. N. and Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying Properties of Protein: Evaluation of a Turbidimetric Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26*(3), 716-723. https://doi.org/10.1021/jf60217a041.

Ramos-Elorduy, J., Moreno, J. M. P., Prado, E. E., Perez, M. A., Otero, J. L., & de Guevara, O. L. (1997). Nutritional Value of Edible Insects from the State of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis, 10*(2), 142-157. https://doi.org/10.1006/jfca.1997.0530.

Sosulski, F. W. (1962). The centrifuge method for determining flour absorption inhard redspringwheats. *Journal of Cereal Chemistry, 39*, 344-350.

Teng, H. and Choi, Y. H. (2014). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive alkaloid compounds from rhizoma coptidis (Coptis chinensis Franch.) using response surface methodology. *Food Chemistry, 142*, 299-305.

Tsumura, K., Saito, T., Tsuge, K., Ashida, H., Kugimiya, W. and Inouye, K. (2005). Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. *Journal of Food Science and Technology, 38*(3): 255-261. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.007.

Wu, X., He, K., Velickovic, T. C. and Liu, Z. (2021). Nutritional, functional, and allergenic properties of silkworm pupae. *Food Science & Nutrition, 9*(8), 4655-4665.

Zhou, Y., Zhou, S., Duan, H., Wang, J. and Yan, W. (2022). Silkworm Pupae: a functional food with health benefits for humans. *Foods, 11*(11), 1594.