NU Science Journal 2011; 8(1): 101 - 108

โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือปลา: สภาวะการย่อยเครื่องในปลาทับทิม *(Oreochromis niloticus)* โดยเอนไซม์ปาเปน

พีริยา ไรเกษ โอรส รักชาติ เหรียญทอง สิงห์จานุสงค์ และ ปวีนา น้อยทัพ

Protein hydrolysate from fish waste: Conditions for red tilapia *(Oreochromis niloticus)* viscera hydrolysis with papain

Peeriya raikate Orose Rugchat Riantong Singanusong and Paweena Noitup

คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

*Corresponding author E-mail: paweenan@nu.ac.th

บทคัดย่อ

การนำเศษเหลือจำพวกเครื่องในจากปลาทับทิมมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซท เป็นการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์ องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทับทิมประกอบไปด้วยโปรตีนร้อยละ 14.92 ไขมันร้อยละ 5.98 ความชื้นร้อยละ 76.73 เถ้าร้อยละ 1.61 และค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเครื่องในปลาทับทิมโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปน ปริมาณร้อยละ 0.75 ต่อวัตถุดิบ (w/w) ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการย่อย 90 นาที เป็นสภาวะที่ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุด คือ ร้อยละ 83.83 ซึ่งให้ผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทเหลวร้อยละ 40 นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 23.13

คำสำคัญ: โปรตีนไฮโดรไลเซท ปาเปน ปลาทับทิม เศษเหลือปลา

Abstract

Utilization of fish waste such as viscera from red tilapia to produce protein hydrolysate is one way of value added of the fish waste. The chemical composition of red tilapia viscera contained 14.92% protein, 5.98% lipid, 76.73% moisture, 1.61% ash and pH 6.3. The appropriate conditions for protein hydrolysate extraction by using papain hydrolysis of red tilapia viscera were studied. It was found that the use of 0.75% papain (w/w) with pH 6.3 at 25°C for 90 minutes provided the highest degree of hydrolysis of 83.83% and yield of 40%. Moreover, the produced protein hydrolysate contained 23.13% protein.

Keywords: protein hydrolysate, papain, red tilapia, fish waste

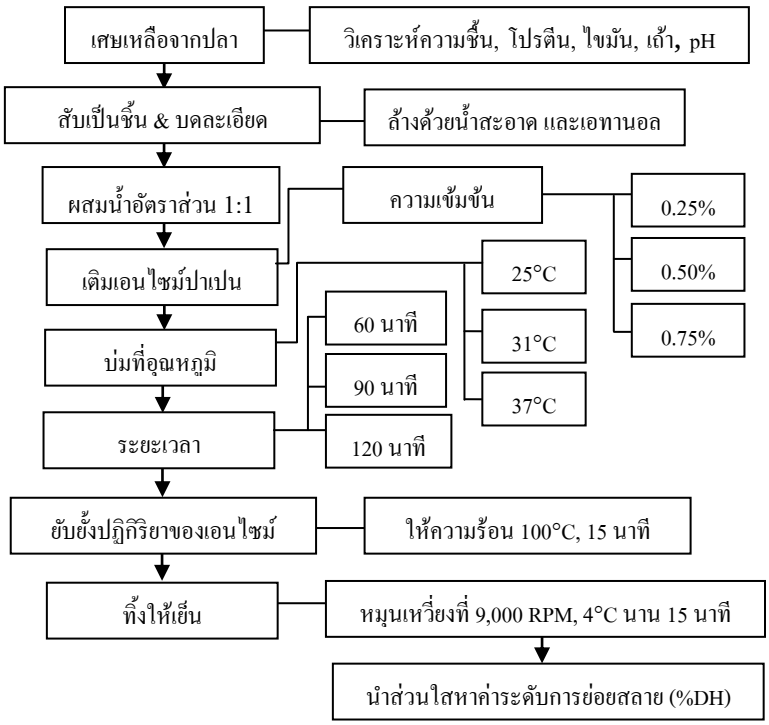
บทนำ

ปัจจุบันการขยายตัวของอุตสาหกรรมการแปรรูปสัตว์น้ำเพิ่มสูงขึ้น จากสถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2553 ของกรมประมง ระบุว่ามูลค่าผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดของประเทศไทย ปี 2551 เป็นปลาทับทิมร้อยละ 34.41 นับว่าเป็นอัตราที่สูง และจากมูลค่าการส่งออกปลาทับทิมแช่แข็งของไทย พ.ศ. 2546 – 2550 พบว่า มีอัตราการขยายตัวต่อปีคิดเป็นร้อยละ 56.50 ส่งผลให้มีเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้มีมูลค่าต่ำและหากมีการจัดการที่ไม่ดีพอจะเกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม เพราะเกิดการเน่าเสียได้ง่ายเนื่องจากส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็นโปรตีน ส่วนมากโรงงานแปรรูปขนาดใหญ่จะจำหน่ายให้โรงงานผลิตอาหารสัตว์ในราคาถูก หากเป็นผู้แปรรูปขนาดเล็กก็จะทิ้งเศษเหลือเหล่านี้รวมกับขยะอื่นๆ และเนื่องจากเศษเหลือเหล่านี้ประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง (Shahidi *et al*., 1995) จึงมีการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่าโดยนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยเฉพาะโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลา โดยอาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส (protease) ปัจจุบันนิยมใช้เอนไซม์ปาเปนซึ่งเป็นเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส เนื่องจากมีราคาถูก ย่อยแล้วให้โปรตีนที่มีเปปไทด์ขนาดเล็กและกรดอะมิโนอิสระในปริมาณสูง เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนมีความจำเพาะต่อค่าความเป็นกรดด่างของวัตถุดิบ และสามารถเลือกใช้สภาวะการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีคุณภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดได้สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ หรืออาหารมนุษย์ได้ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเศษเหลือจำพวกเครื่องในจากปลาทับทิมมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัตถุดิบเศษเหลือจากปลาทับทิม

เก็บส่วนเครื่องในทั้งหมดของปลาทับทิม จากตลาดร่วมใจ (พิษณุโลก) โดยระยะเวลาตั้งแต่ปลาตายจนนำมาเตรียมเป็นวัตถุดิบไม่เกิน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำ และล้างด้วย 95% เอทานอล เพื่อล้างไขมันบางส่วนออก จากนั้นสับเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วบดด้วยเครื่องบดเนื้อคลุกเคล้าให้ผสมกันดี ขั้นตอนดังรูป 1 บรรจุใส่ถุงแล้วเก็บที่ –18 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาไว้ก่อนนำมาทดลอง โดยก่อนทดลองทำการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 – 10 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง



รูป 1 ขั้นตอนการดำเนินงาน

เอนไซม์ปาเปน (papain: EC 3.4.22.2)

เอนไซม์ปาเปนของบริษัท Sigma มีความสามารถในการย่อยสลายเท่ากับ 3.36 U/mg ซึ่งเป็นเอนไซม์โปรตีเอสชนิดเอนโดเปปติเดส (endopeptidase)

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และค่าความเป็นกรดด่าง ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000)

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ปาเปน

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด 3 ชนิดตัวแปร ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย 25, 31 และ 37 องศาเซลเซียส เวลา 60 ,90 และ 120 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ต่อวัตถุดิบ (w/w) โดยใช้แผนการทดลองแบบ 3 x 3 x 3 Factorial in CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เลือกสภาวะที่เหมาะสมด้วย response surface model เทียบจากระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis: DH) โดยการตกตะกอนกรดอะมิโนอิสระด้วย TCA (Hoyle and Merritt, 1994) แล้วคำนวณด้วยสมการ 1

$$\%DH = \frac{\text{TCA soluble nitrogen} * 100}{\text{Total nitrogen}} \qquad (1)$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางประการของเครื่องในปลาทับทิม พบว่าประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 14.92 ไขมันร้อยละ 5.98 ความชื้นร้อยละ 76.73 เถ้าร้อยละ 1.61 และค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.3 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเครื่องในปลาทับทิมมีโปรตีนอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทได้เป็นอย่างดี และยังมีไขมันและเถ้าน้อยกว่าหัวและก้างปลาดุกบิ๊กอุยที่มีไขมันร้อยละ 11.41 เถ้าร้อยละ 6.51 (พงษ์เทพ วิไลพันธ์, 2540)

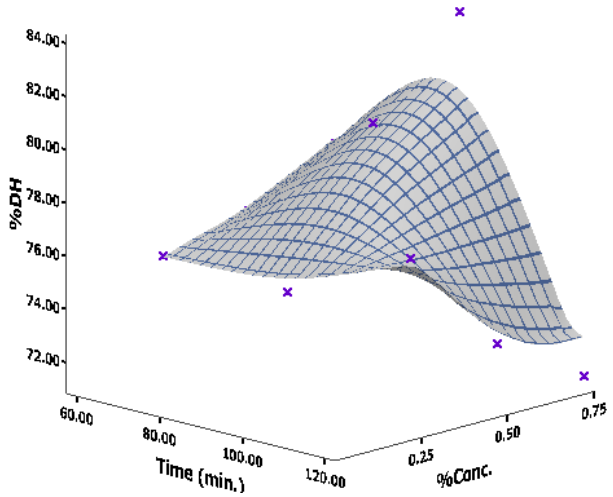
ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ปาเปน

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือของการแปรรูปปลาทับทิมด้วยเอนไซม์ปาเปน โดยแปรเปลี่ยนปัจจัยต่างๆ พบว่ามีระดับการย่อยสลายในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซท ดังตาราง 1

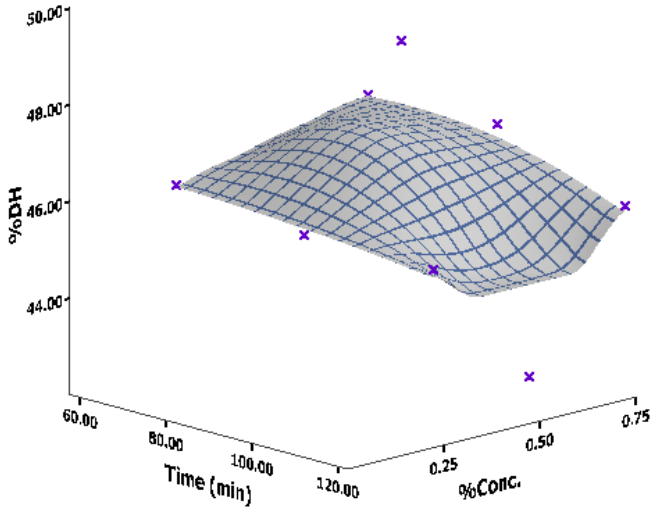
ตาราง 1 ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ปาเปนที่สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทของแต่ละสภาวะ

เวลาในการย่อย (นาที)	ปริมาณเอนไซม์ (ร้อยละต่อวัตถุดิบ)	ระดับการย่อยสลาย (%DH)		
		25 องศาเซลเซียส	31 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส
0	0.00	21.66 ±2.1	21.98 ±1.2	22.21 ±0.9
60	0.25	75.22 ±1.8	47.17 ±2.0	37.96 ±3.2
60	0.50	76.06 ±1.5	49.43 ±1.0	37.27 ±1.9
60	0.75	77.71 ±4.1	50.01 ±2.5	35.52 ±1.6
90	0.25	75.03 ±3.6	51.03 ±1.0	32.60 ±2.1
90	0.50	80.51 ±3.6	51.88 ±0.9	31.34 ±1.1
90	0.75	**83.83 ±1.2**	45.48 ±1.4	37.16 ±0.3
120	0.25	77.48 ±1.5	48.20 ±0.8	35.62 ±1.0
120	0.50	73.41 ±2.8	48.45 ±0.5	39.45 ±0.6
120	0.75	71.32 ±2.2	50.02 ±3.1	40.90 ±0.5

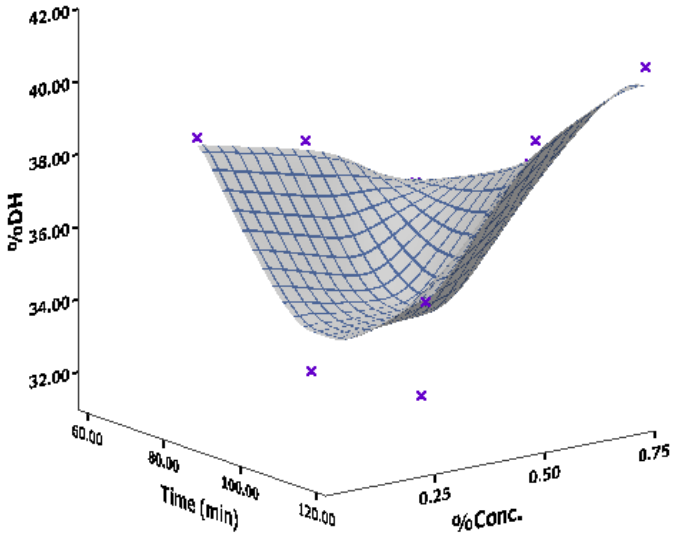
จากการเปรียบเทียบระดับการย่อยสลายจากกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนโดย RSM ดังรูป 2 – 4 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละกระบวนการย่อยนั้น พบว่า การใช้เอนไซม์ร้อยละ 0.75 ต่อวัตถุดิบ ย่อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการย่อย 90 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือของปลาทับทิม ผลิตได้โปรตีนไฮโดรไลเซทเหลวร้อยละ 40 ของน้ำหนักวัตถุดิบ ผลผลิตที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 23.13 โดยมีระดับการย่อยสลายร้อยละ 83.83 ซึ่งมากกว่ารายงานของ Bhaskar และคณะ (2008) ที่ทดลองหาสภาวะในการย่อย เครื่องในปลากระโห้อินเดีย *(Catla catla)* ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 1.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาการย่อย 135 นาที ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8.5 ได้ระดับการย่อยสลายร้อยละ 50 และรายงานของมัลลิกา ธนสุคนธ์ (2552) ที่ทดลองผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่มีความสามารถในการย่อยสลาย 17,123 unit/g ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ด 5 ชนิด คือใช้เอนไซม์ร้อยละ 15 นาน 18 ชั่วโมง อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ให้ค่า %DH สูงสุด เท่ากับ 79.0, 78.6, 72.9 และ 77.7 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าการใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นอกจากนี้ผลที่ได้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Suryanarayana Roa และ Dwarakanath (1978) ทดลองย่อยหัวและเครื่องในปลาด้วยเอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.19 ต่อวัตถุดิบ ค่าความเป็นกรดด่าง 7 เวลาการย่อย 4 ชั่วโมง จะได้โปรตีนไฮโดรไลเซท ที่มีคุณภาพดีที่สุด และรายงานของ Sen และคณะ (1962) ทดลองย่อยเนื้อปลาด้วยเอนไซม์ปาเปนเข้มข้นร้อยละ 0.25 พบว่าปริมาณไนโตรเจนในสารละลายเพิ่มมากขึ้นในช่วง 2 ชั่วโมงแรก



รูป 2 กราฟ RSM ของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



รูป 3 กราฟ RSM ของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส



รูป 4 กราฟ RSM ของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

สรุปผลการทดลอง

ส่วนเครื่องในของปลาทับทิมประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 14.92 ไขมันร้อยละ 5.98 ความชื้นร้อยละ 76.73 เถ้า ร้อยละ 1.61 และค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.3 ซึ่งมีโปรตีนในปริมาณมากพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทได้ โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนคือ ใช้เอนไซม์ปาเปนปริมาณร้อยละ 0.75 ต่อวัตถุดิบ ค่าความเป็นกรดด่างของวัตถุดิบคือ 6.3 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการย่อย 90 นาที ได้ระดับการย่อยสลายร้อยละ 83.83 ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2553

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. (2553). *สถิติการประมงแห่งประเทศไทย เอกสารฉบับที่ 13/2553*. กรุงเทพฯ: ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พงษ์เทพ วิไลพันธ์. (2540). *จุลชีววิทยาประมง ห้องปฏิบัติการและวิธีการตรวจวิเคราะห์*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มัลลิกา ธนสุคนธ์. (2552). *การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดโดยใช้เอนไซม์ปาเปนเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส*. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ.

A.O.A.C. (2000). *Official Methods of Analysis* (14th ed.). Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C. and Lalitha, R.G. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla *(Catla catla)* for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology, 99,* 335-343.

Hoyle, N.T. and Merritt, J.H. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring *(Clupea harengus). Journal of Food Science, 59*(1)*,* 76-79.

Sen, D.P., Sripath, N.V., Lahiry,N.L., Sreenivasan, A. and Subrahmanyan, V. (1962). Fish hydrolysates. I. Rate of hydrolysis of fish flesh with papain. *Food Technology, 16*(5) 138-141.

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

Suryanarayana Rao, S.V. and Dwarakanath, C.T. (1978, March). *Studies on the utilization of fishery wastes for the production of microbiological media.* Paper presented at the 18th Symposium on Fish Utilization Technology and Marketing in the IPFC region, Philippines, 364 – 369.