บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันมีการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตจากพืช (Hydrolysate vegetable protein; HVP) มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว สารเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ สารอาหารเพื่อเสริมโปรตีน รวมถึงการใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การเป็นสารต้านออกซิเดชัน สารต้านจุลชีพ เป็นต้น เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนสามารถปรับปรุงทั้งคุณสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางชีวภาพของโปรตีนได้ในเวลาเดียวกัน (Kristinsson and Rasco, 2000; Panyam and Kilara, 1996) จากงานวิจัยพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากพืชหลายชนิดสามารถใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น โปรตีนไฮโดรไลเสตจากถั่วเหลืองและคาโนซิน (Carnosine) สามารถเป็นสารต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรได้ เป็นต้น (Decker and Crum, 1993; McCarthy *et al*., 2001; Wu and Brewe, 1994 อ้างโดย สุภาวดี , 2550) นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากพืชมีคุณสมบัติในการปรับปรุงและเสริมกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีคล้ายกับสารประกอบที่เกิดขึ้นในระหว่างหุงต้ม จึงนิยมใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีกลิ่นรสของเนื้อสัตว์ เช่น ขนมอบกรอบ (มันฝรั่งอบกรอบ) อาหารแปรรูป และบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป เป็นต้น (ณัฐวุฒิ ส่งแสง, 2550) ส่วนใหญ่โปรตีนไฮโดรไลเสตจากพืชผลิตมาจากโปรตีนถั่วเหลืองเป็นหลัก เนื่องจากวัตถุดิบหาง่าย รวมทั้งมีการศึกษาวิจัยในแง่การนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย ทำให้ตลาดมีความต้องการโปรตีนไฮโดรไลเสตจากถั่วเหลืองในปริมาณสูงแต่ปริมาณการผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้ถั่วเหลืองบางส่วนถูกนำเข้าจากต่างประเทศและมักพบปัญหาว่าถั่วเหลืองนำเข้ามีการตัดแต่งพันธุกรรม ถึงแม้ว่าอันตรายของพืชที่ผ่านการตัดแต่งพันธุกรรมนั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพหรือไม่ แต่ก็ทำให้ผู้บริโภคบางกลุ่มหลีกเลี่ยงที่จะไม่รับประทานถั่วเหลืองหรือผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง การวิจัยเพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากพืชแหล่งอื่นโดยเฉพาะจากพืชท้องถิ่นจึงมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารของไทยในแง่ของการนำไปใช้ประโยชน์ทดแทน

กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตระดับอุตสาหกรรมมักใช้กรดเพื่อการย่อยสลายโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนเกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากการสลายตัวของกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิด นอกจากนี้การใช้กรดความเข้มข้นสูงร่วมกับความร้อนในการย่อยสลาย

โปรตีนทำให้เกิด สาร 3 – monochloro-propanediols (3-MCPD) ซึ่งเป็นสารพิษในกลุ่มของ chlorohydrins ที่เป็นสารก่อมะเร็งในร่างกายได้ (ณัฐวุฒิ ส่งแสง, 2550) อีกทั้งกระบวนการย่อยสลายโปรตีนด้วยด่างซึ่งเป็นสภาวะรุนแรง ทำให้เกิดปฏิกิริยาเบต้า-อิลิมิเนชัน (ß-Elimination) ของกรดอะมิโนชนิดเซรีนและซิสทีน ส่งผลให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะลานีน (Dehydroalanine) ซึ่งสารชนิดนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่นได เช่น ซิสเตอีน (Cysteine) และ ไลซีน (Lysine) ทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด เช่น แลนทิโอนีน (Lanthionine) ไลซิโนอะลานีน (Lysinoalanine) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นรสไม่ดี และเกิดความเป็นพิษขึ้นในอาหาร การย่อยสลายด้วยด่างจึงไม่เป็นที่นิยม (Hill, 1965) ในขณะที่การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนไว้ได้และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่า การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ทำโดยใช้เอนไซม์โปรติเอส (Protease) ตัดพันธะเปปไทด์ในโมเลกุลโปรตีนให้เป็นเปปไทด์ที่สั้น และได้กรดอะมิโนอิสระ การย่อยสลายโปรตีนด้วยวิธีนี้มีข้อดี คือ เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นสูงจึงไม่จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณมาก และสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรง การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตในระดับอุตสาหกรรมจึงนิยมใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยสลายโปรตีน โดยเอนไซม์ทางการค้าเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนที่แตกต่างกัน

งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาการสกัดแยกโปรตีนจากถั่วหรั่งซึ่งเป็นพืชล้มลุกตระกูลถั่วที่ปลูกมากในพื้นที่ภาคใต้ เพื่อผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต โดยเลือกใช้เอนไซม์ทางการค้า 2 ชนิด คือ เอนไซม์อัลคาเลส และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในระดับอุตสหกรรม ทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากโปรตีนถั่วหรั่งที่สกัดแยกได้ (โปรตีนถั่วหรั่งเข้มข้น) และมุ่งเน้นการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ สมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และทดลองใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม เพื่อเป็นแนวทางในการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตจากถั่วหรั่งไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากโปรตีนถั่วหรั่งด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่มีระดับการย่อยสลายของโปรตีนแตกต่างกัน
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารต้านโภชนาการของโปรตีนถั่วหรั่งและโปรตีนถั่วหรั่งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
3. เพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่และการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนถั่วหรั่งและโปรตีนถั่วหรั่งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

Prince of Songkla University Pattani Campus

4. เพื่อศึกษาการใช้โปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสตเป็นสารเสริมฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาเขียว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารต้านโภชนาการของโปรตีนถั่วหรั่งและโปรตีนถั่วหรั่งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

2. ทราบสมบัติเชิงหน้าที่และการออกฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนถั่วหรั่งและโปรตีนถั่วหรั่งที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

3. เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มด้วยการเสริมโปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสต

ขอบเขตการศึกษา

1. สกัดแยกโปรตีนจากถั่วหรั่งด้วยวิธีการทำละลายในสภาวะด่างและตกตะกอนโปรตีน ณ จุดไอโซอิเล็กตริก (pI) นำไปผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อยสลายของโปรตีนเท่ากับร้อยละ 10, 20 และ 30 และย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟลาโวไซม์ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 5, 10 และ 15

2. วิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า) และปริมาณสารต้านโภชนาการ (สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนิน) ของโปรตีนถั่วหรั่งเข้มข้นและโปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้

3. ตรวจสอบสมบัติเชิงหน้าที่ ในด้านสมบัติการละลาย การจับเรียงตัวภายใต้สภาวะการให้ความร้อน สมบัติการเกิดฟอง (ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง) และสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (ดัชนีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและดัชนีความคงตัวของอิมัล) ของโปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วหรั่งเข้มข้นที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

4. ตรวจสอบการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยวิเคราะห์กิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS Radical scavenging activity) และ DPPH (DPPH Radical scavenging activity) และกิจกรรมการจับโลหะไอออน (Metal ion chelating activity) ของโปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสตเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วหรั่งเข้มข้นที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

5. คัดเลือกโปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสหรือเอนไซม์ฟลาโวไซม์ ชนิดเอนไซม์ละหนึ่งระดับการย่อยสลาย เพื่อทดลองใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาเขียวโดยทดสอบความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ

Prince of Songkla University Pattani Campus

ABTS อนุมูลอิสระ DPPH และโลหะไอออน และทดสอบด้านประสาทสัมผัสเพื่อประเมินการยอมรับของผู้บริโภคเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาเขียวที่ไม่เติมโปรตีนถั่วหรั่งไฮโดรไลเสต

Prince of Songkla University
Pattani Campus