บทความปริทัศน์

ผลิตภัณฑ์จากการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและการประยุกต์ใช้

วาริท หมัดหมาน[1] และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ [2]

การส่งออกอาหารทะเลแปรรูปของไทย ได้แก่ อาหารทะเลกระป๋อง อาหารทะเลแช่แข็ง อาหารทะเลตากแห้ง และอาหารทะเลแปรรูปอื่นๆ มีมูลค่าการส่งออกคิดเป็นสัดส่วนสูงสุดประมาณ 69.0% ของมูลค่าส่งออกอาหารโดยรวม หรือมีมูลค่า 128,329.2 ล้านบาท ในช่วงระยะเวลา 5 ปี (2536-2540) มูลค่าส่งออกอาหารทะเลแปรรูปขยายตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 11.7% ต่อปี โดยกุ้งกระป๋องมีการขยายตัวสูงสุด 32.3% ต่อปี เนื่องจากเป็นสินค้าที่มีมูลค่าเพิ่มมีความได้เปรียบคู่แข่งขันโดยเฉพาะคุณภาพเป็นที่ยอมรับในตลาดโลก (ธนาคารกรุงศรีอยุธยา จำกัด (มหาชน), 2541) การแปรรูปกุ้งกุลาดำส่วนใหญ่ 98% นิยมนำมาผลิตเป็นกุ้งกุลาดำสดแช่แข็ง ได้แก่ กุ้งเอาหัวออก (headless) หรือกุ้งปอกเปลือกแช่แข็ง ซึ่งในกระบวนการผลิตทำให้เกิดวัสดุเศษเหลือประมาณ 37% โดยมีหัวกุ้งเป็นองค์ประกอบหลัก (Bhuwapathapun, 1996) จากแนวโน้มการส่งออกกุ้งแช่แข็งที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณวัสดุเศษเหลือเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกปลาทูน่ากระป๋องเป็นอันดับหนึ่งของโลก ในระหว่างกระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋องมีผลิตผลพลอยได้เกิดขึ้น 45% จำแนกเป็นส่วนต่างๆ คือ หัวปลา หางปลา ก้างปลา และหนังปลา ปริมาณ 28-30% , ไส้ปลา 5-7%, เลือดปลา 10-12% นอกจากนี้ยังมีวัสดุเศษเหลือ ได้แก่ น้ำนึ่งปลาจากกระบวนการทำให้ปลาสุก ปริมาณ 20% ของปลา (สุมาลัย และคณะ, 2538)

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล ส่วนใหญ่ทางโรงงานจะขายให้กับโรงงานปลาป่น ดังนั้นการนำวัสดุเศษเหลือเหล่านี้มาแปรสภาพเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจึงเป็นอีก

---

[1]นักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ [2]Ph.D. (Biotechnology) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail : ppoonsuk@ratree.psu.ac.th

รับต้นฉบับ 2 ตุลาคม 2544 รับลงพิมพ์ 8 มกราคม 2545

แนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิต การแปรสภาพอาจทำได้โดยวิธีทางเคมีหรือวิธีทางชีวภาพ ข้อดีของวิธีทางชีวภาพคือเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากกว่า และช่วยรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรงและมีความจำเพาะมากกว่าวิธีทางเคมี

ผลิตภัณฑ์จากการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือ ด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

โปรตีนไฮโดรไลเสท (Protein hydrolysate)

โปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นผลิตผลที่ได้จากการย่อยโปรตีน โดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ การเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสามารถกระทำได้โดยการใช้กรด ด่าง หรือเอนไซม์ (Adler-Nissen, 1986) โดยมีการควบคุมสภาวะ เช่น ระยะเวลา อุณหภูมิ พีเอช เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามความต้องการ (Windser and Barlow, 1981)

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยทั่วไปมี 2 วิธีได้แก่ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส และการย่อยสลายด้วยสารเคมี เช่น กรดหรือด่าง

1. ข้อดีของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยวิธีทางชีวภาพ

การใช้เอนไซม์มีข้อดีหลายประการคือ มีความจำเพาะสูง และเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและพีเอชปานกลาง ซึ่งกิจกรรมที่เหมาะสมของเอนไซม์สามารถกำหนดระดับการย่อยสลายและขนาดของเปปไทด์ที่เกิดขึ้น (Adler-Nissen, 1986) ในขณะที่การย่อยด้วยกรดและด่างไม่สามารถกำหนดอัตราการย่อยสลายพันธะได้อย่างมีประสิทธิภาพ การย่อยสลายด้วยด่างทำลายกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิด เช่น ทริปโตแฟน นอกจากนี้ ซิสเตอีน ซีรีน และทรีโอนีนอาจถูกทำลายได้เช่นกัน รวมทั้งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของกรดอะมิโนจาก *L*-form เป็น *D*-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดลง (Hall and Ahmad, 1992) ดังนั้นจึงควรใช้เอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีนมากกว่าการใช้สารเคมี

2. เอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท

ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทใช้เอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอสซึ่งมี 2 กลุ่ม คือ

2.1 เอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ภายในโซ่โมเลกุลของโปรตีนได้เป็นสายโซ่เปปไทด์สั้นๆ เอนไซม์กลุ่มเอนโดเปปติเดสจากพืชหรือจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับสเตรทที่เป็นเปปไทด์ โมเลกุลใหญ่หลายชนิด และสับสเตรทที่เป็นโปรตีนทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว (Ward, 1983)

2.2 เอกโสเปปติเดส (Exopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ด้านปลายโซ่ของโมเลกุล ถ้าเป็นการสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มอะมิโน เรียกว่า อะมิโนเปปติเดส ขณะที่การสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มคาร์บอกซิล เรียกว่า คาร์บอกซิเปปติเดส (Adler-Nissen, 1986)

ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล แสดงดัง Table 1 ซึ่งได้แก่ เอนไซม์จากพืช เช่น ปาเปน เอนไซม์ทางการค้า เช่น Alcalase 2.4 L, Neutrase 0.5 L, Rapidase 9319 เป็นต้น และเอนไซม์จากสัตว์น้ำ เช่น ซีรีนโปรติเอสที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของปลาแซลมอน (salmon pyloric caeca) เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของปลาทูน่า

3. กระบวนการผลิต

กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท (Figure 1) ประกอบด้วยขั้นตอนพื้นฐานที่คล้ายคลึงกัน คือ เริ่มจากการนำวัตถุดิบมาบดให้ละเอียด เติมน้ำ และย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ หลังจากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และทำการแยกส่วนของเหลวซึ่งมีส่วนประกอบของโปรตีนที่ต้องการนำไปทำแห้งจะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสท (Gildberg, 1993)

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสท โดยใช้เอนไซม์จำเป็นต้องควบคุมระดับการย่อยของเอนไซม์ให้เหมาะสม

Table 1. Some protease enzyme for protein hydrolysate production from seafood processing wastes

Raw material	Enzyme	Reference
Cod frame	crude proteinase[1]	Jeon *et al*. (1999)
Atlantic salmon muscle	visceral serine protease[2]	Kristinsson and Rasco (2000)
	Alcalase 2.4 L	Kristinsson and Rasco (2000)
	Flavourzyme 1000 L	Kristinsson and Rasco (2000)
	Corolase PN-L	Kristinsson and Rasco (2000)
	Corolase 7089	Kristinsson and Rasco (2000)
Lobster head	Papain	Vieira *et al*. (1995)
	Pepsin	Vieira *et al*. (1995)
	Fungal protease	Vieira *et al*. (1995)
Black tiger shrimp head	Neutrase 0.5 L	Bhuwapathapun (1996)
	Rapidase 9319	Bhuwapathapun (1996)
Pacific whiting solid waste	Alcalase 2.4 L	Benjakul and Morrissey (1997)
	Neutrase 0.5 L	Benjakul and Morrissey (1997)
Eviscerated mullet	Bacterial protease	Rebeca *et al*. (1991)

[1]extracted from tuna pyloric caeca [2]extracted from Atlantic salmon pyloric caeca

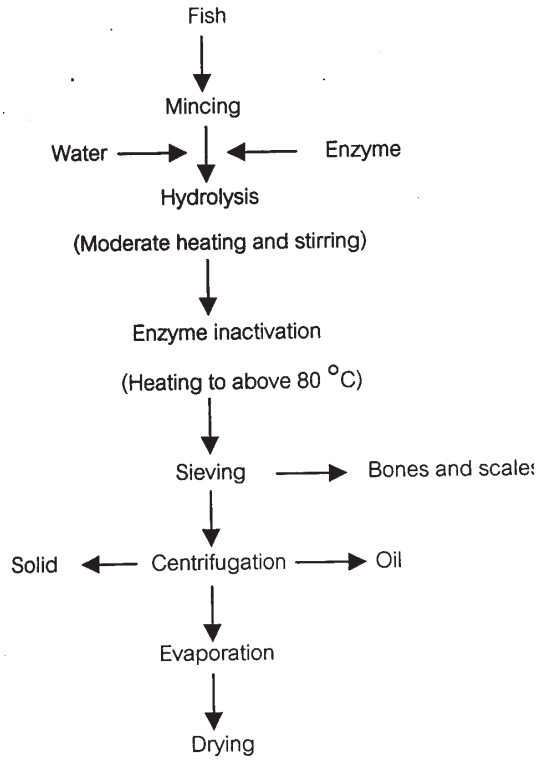

Figure 1. Outline of common procedure for fish protein hydrolysate product
Source : Gildberg (1993)

เนื่องจากถ้าระดับการย่อยของเอนไซม์มากเกินไปเป็นผลทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีรสขมซึ่งเป็นกลุ่มของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ ดังเช่น ลิวซีน ไอโซลิวซีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน ไทโรซีน และทริปโตแฟน ระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการควบคุมการย่อยและการเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในแต่ละผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (Synowiecki *et al*., 1996)

4. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

มีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเครื่องในปลากระบอก (*Mulgil cephalus*) โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจาก *Bacillus subtilis* ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีองค์ประกอบของโปรตีน 83-86% และมีคุณสมบัติการละลายในน้ำสูง (70-80%) (Rebeca *et al*., 1991) Kristinsson และ Rasco (2000) ศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลาแซลมอน โดยใช้ซีรีนโปรติเอสที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของปลาแซลมอน เปรียบเทียบกับโปรติเอสชอบด่าง (alkaline protease) ทางการค้า 4 ชนิด (Alcalase 2.4L, Flavourzyme 1000L, Corolase PN-L และ Corolase 7089) โดยใช้อุณหภูมิในการย่อยสลายที่ 40 °C

พีเอช 7.5 เป็นเวลา 180 นาที พบว่า Corolase 7089 มีระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) สูงสุดเท่ากับ 14.4% รองลงมา คือ ซีรีนโปรติเอสที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหาร, Flavourzyme 1000L , Corolase PN-L และ Alcalase 2.4L โดยมีระดับการย่อยสลายเท่ากับ 14.1%, 7.5%, 6.7% และ 5.6% ตามลำดับ

จากการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวกุ้งโดยใช้เอนไซม์ อัลคาเลส นิวเทรส และ ปาเปน พบว่า เอนไซม์อัลคาเลสให้ปริมาณไนโตรเจนที่เก็บเกี่ยวได้ (nitrogen recovery) สูงที่สุดทุกระดับการย่อยคือ 35, 50 และ 65% โดยให้ปริมาณไนโตรเจนที่เก็บเกี่ยวได้ เท่ากับ 54.47, 65.22 และ 79.61% ตามลำดับ รองลงมาคือเอนไซม์นิวเทรส มีค่าเท่ากับ 44.72, 48.68 และ 52.20% และเอนไซม์ปาเปน มีค่าเท่ากับ 36.70, 46.88 และ 49.75% ตามลำดับ (Kongkeaw, 1999) องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยหัวกุ้งอยู่ในระดับที่สูงเมื่อเปรียบกับกรดอะมิโนที่ได้จากวัสดุเศษเหลือจากปลาค็อด (Table 2) นอกจากชนิดของวัตถุดิบแล้ว องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเสทยังขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายด้วย (Table 3)

Table 2. Amino acid composition of shrimp head hydrolysate and cod viscera hydrolysate

Amino acid	Content (g/100 g)		
	Shrimp head[1]	Cod offal[2]	Cod fillet[2]
Aspartic acid	8.81	5.50	6.32
Threonine	3.92	2.43	2.65
Serine	4.42	3.07	2.77
Glutamic acid	11.93	7.77	9.24
Proline	3.59	3.23	2.73
Glycine	5.48	5.69	2.83
Alanine	4.76	3.91	3.56
Cysteine	0.85	0.56	0.44
Valine	4.73	2.22	2.33
Methionine	1.75	1.81	1.80
Isoleucine	3.71	1.79	2.00
Leucine	5.59	3.92	4.56
Tyrosine	3.55	1.74	2.09
Phenylalanine	4.77	2.03	2.18
Lysine	4.24	4.54	6.38
Histidine	2.50	0.63	1.57
Arginine	4.47	3.98	3.85

Source : [1]Kongkeaw (1999) ; [2]Mackie (1982)

เมื่อนำหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ (*Katsuwonas pelamis*) มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน เป็นเวลา 0.5, 1 และ 4 ชั่วโมง ได้ผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยน้ำหนักจากหัวและเครื่องในมีค่าเท่ากับ 8.40, 9.90, 11.10% และ 15.60, 16.36, 17.97% ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่าการใช้เอนไซม์อีก 2 ชนิด โดยการย่อยสลายหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบด้วยเอนไซม์นิวเทรสได้ผลผลิตเท่ากับ 6.88, 7.33, 8.38% และ 14.51, 15.30, 17.22% ตามลำดับ และการย่อยสลายด้วยปาเปนได้ผลผลิตระหว่าง 6.25, 7.01, 8.35% และ 12.43, 13.85, 15.74% ตามลำดับ (อัจฉริยา, 2542)

5. การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสท

5.1 อาหารมนุษย์

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นอาหารมนุษย์สามารถแบ่งรูปแบบการใช้ประโยชน์ได้ 3 รูปแบบ มีจุดประสงค์เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ต่างๆ เช่น การละลาย การเกิดฟอง การเป็นอิมัลชั่น และเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ รวมทั้งเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส (Adler-Nissen, 1986)

5.1.1 ส่วนประกอบเพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่

ขนาดโมเลกุลของโปรตีนที่ถูกย่อยเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ Jeon และคณะ (1999) ศึกษาวิธีการปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือปลาค็อดที่เตรียมโดยใช้ crude proteinase ที่สกัดจากส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของปลาทูน่า แยกสายเปปไทด์ขนาดต่างๆ ในไฮโดรไลเสทโดยใช้เมมเบรนชนิดอัลตราที่มีการตัดน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight cut-off) ที่ 30, 10, 5 และ 3 kDa สามารถแยกไฮโดรไลเสทที่มีขนาดต่างๆ กัน คือ ไฮโดรไลเสทขนาด 30-K (ส่วนที่ผ่านการกรอง จาก 30 kDa), 10-K (ส่วนที่ผ่านการกรอง จาก 10 kDa), 5-K (ส่วนที่ผ่านการกรอง จาก 5 kDa), และ 3-K (ส่วนที่ผ่านการกรอง จาก 3 kDa) เมื่อศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่

Table 3. Proximate composition of various protein hydrolysate

Source	Composition				Enzyme	Reference
	Protein	Fat	Ash	Moisure		
Raw herring	85.3	4.7	9.6	4.8	Papain	Hoyle and Merritt (1994)
Herring presscake	82.3	3.7	13.3	3.9	Alcalase	Hoyle and Merritt (1994)
	83.4	3.6	9.9	3.2	Papain	Hoyle and Merritt (1994)
White fish	89.00	2.80	6.95	-	Papain	Mackie (1982)
Offal	90.46	2.70	7.13	-	Alcalase	Mackie (1982)
Blue whiting	75.55	11.76	7.08	-	Papain	Mackie (1982)
Cod fillet	84.4	2.00	6.20	-	Papain	Mackie (1982)
Cod fillet waste	81.80	4.20	6.90	-	Papain	Mackie (1982)
Eviscerated mullet	82.3	7.7	3.3	3.3	HT- proteolytic 200	Rebeca *et al*. (1991)
	86.9	3.3	3.5	2.7	Protease N	Rebeca *et al*. (1991)
	83.7	6.8	3.4	4.4	Pescalase 560	Rebeca *et al*. (1991)

คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (การเกิดอิมัลชัน และ คุณสมบัติการเกิดฟอง) และ กิจกรรมทางชีวภาพ [กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน (antioxidative) และ กิจกรรมยับยั้ง angiotensin I converting enzyme (ACE)] พบว่า ไฮโดรไลเสทขนาด 10-K และ 30-K มีคุณสมบัติการเป็นอิมัลชั่นที่ดี ส่วนไฮโดรไลเสทขนาด 5-K แสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในระดับที่สูง ในขณะที่ไฮโดรไลเสทขนาด 3-K แสดงกิจกรรมการยับยั้ง ACE ที่ดี โดย ACE จะตัดพันธะเปปไทด์ของ angiotensin I (decapeptide) ซึ่งอยู่ในรูป inactive จำนวน 2 โมเลกุล เปลี่ยนไปเป็น angiotensin II (octapeptide) ซึ่ง active ทำให้เกิดการบีบตัวของหลอดเลือด (vasoconstrictor) ส่งผลให้ความดันโลหิตสูงขึ้น

5.1.2 ส่วนประกอบ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

จากการศึกษาใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม พบว่าร่างกาย ดูดซึมโปรตีนและนำไปใช้ประโยชน์ได้เร็วกว่าโปรตีนทั่วไป (Christopher, 1994) และปัจจุบันมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวกับตับ (pancreatitis), โรคที่เกี่ยวข้องการดูดซึมอาหาร (short bowel syndrome และ Crohn's disease) เนื่องจากร่างกายสามารถดูดซึมโปรตีนไฮโดรไลเสทได้ง่ายและไม่ทำให้เกิดภูมิแพ้ (Schmidl *et al*., 1994)

5.1.3 สารปรุงแต่งกลิ่นรส

โปรตีนไฮโดรไลเสทจากวัสดุเศษเหลือที่ได้จากการแปรรูปสัตว์น้ำ จำพวกปลา และกุ้ง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสปริมาณสูง ดังนั้นจึงมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เช่น ในผลิตภัณฑ์จากซูริมิ ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช และการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์ เช่น ปลาและกุ้ง (Pan, 1990 อ้างโดย Kongkeaw, 1999)

5.2 อาหารสัตว์

มีรายงานการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาค็อด ทดแทนเคซีนในอาหารสัตว์ แต่ไม่ควรเกิน 60% เพราะอาจทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารสัตว์มีค่าลดลง (Mackie, 1982) ในการผลิตอาหารสัตว์ทางการค้ามีการประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาเป็นแหล่งของโปรตีนและสารให้กลิ่นในอาหารปลาและอาหารสัตว์เลี้ยง และสามารถใช้โปรตีนไฮโดรไลเสท ทดแทนนมสำหรับเลี้ยงลูกวัวและลูกหมู (Pigott, 1982)

5.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

โปรตีนไฮโดรไลเสทจากปลาสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และปัจจุบันในประเทศนอร์เวย์และญี่ปุ่นมีการผลิตเปบโตนจากปลาในทางการค้า (Gildberg, 1993)

ปลาหมัก (Fish silage) และหัวกุ้งหมัก (Shrimp head - silage)

ปลาหมักและหัวกุ้งหมักเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวัสดุเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล ซึ่งสามารถผลิตได้โดย 2 วิธี คือ โดยการเติมกรดลงโดยตรง (กรดอนินทรีย์หรือกรดอินทรีย์) หรือหมักกับแบคทีเรียแลคติก (Dapkevicius *et al*., 1998) จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ สามารถเจริญได้ดีในวัสดุเศษเหลือจากปลาและสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ทำให้กระบวนการย่อยสลายของเอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Zuberi *et al*., 1991)

1. ข้อดีของการผลิตปลาหมักโดยวิธีทางชีวภาพ

ข้อดีของการใช้แบคทีเรียแลคติก คือมีราคาถูกกว่าการใช้กรด เป็นการหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับกรดเข้มข้นและให้ผลผลิตที่ไม่แตกต่างจากการใช้กรด ตัวอย่าง เช่น กรณีของปลาหมักที่ผลิตจากวัสดุเศษเหลือปลาแซลมอนโดยใช้กรดซัลฟูริกเปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติก พบว่ามีเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของความชื้น ไนโตรเจน ไขมัน และเถ้า ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งปลาหมักที่ผลิตโดยใช้กรดมีค่าเท่ากับ 79.1, 9.7, 23.4 และ 8.3 และการหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกมีค่าเท่ากับ 76.1, 9.4, 19.7 และ 7.6 ตามลำดับ (Dong *et al*., 1993) ปลาหมักที่ได้จากการหมักกับแบคทีเรียแลคติกให้กลิ่นเป็นที่ยอมรับมากกว่าการหมักโดยใช้กรด (Zuberi *et al*., 1991) โดยแบคทีเรียแลคติก ช่วยลดปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด แต่การใช้กรดทำให้มีปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ในปริมาณที่สูง เนื่องจากมีการย่อยซิสตีนส่งผลให้เกิดการสร้างแอมโมเนีย และ/หรือ เอมีนที่ระเหยได้ ส่งผลให้มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนซิสตีนลดลง นอกจากนี้การหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกมีผลดีต่อไขมันในปลาหมักโดยช่วยเพิ่มความคงตัวและปรับปรุงโครงสร้างของน้ำมันในขณะที่การหมักโดยใช้กรดไม่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ เป็นผลให้ปลาหมักมีกลิ่นหืนและไม่ปลอดภัยสำหรับการผลิตเป็นอาหารสัตว์ (Dapkevicius *et al*., 1998) การใช้ปลาหมักที่หมักด้วยแบคทีเรียแลคติกเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ พบว่าปลาหมักมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ช่วยให้สัตว์มีความต้านทานต่อโรคมากยิ่งขึ้น (Hammoumi *et al*., 1998) ข้อดีอีกประการหนึ่ง คือ ในพื้นที่ชนบท ซึ่งไม่สามารถหากรดอินทรีย์หรือกรดอนินทรีย์ได้ การใช้แบคทีเรียแลคติกโดยใช้น้ำกะหล่ำปลีดองเป็นแหล่งของเชื้อจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของการทำปลาหมัก (Zuberi *et al*., 1991)

2. จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิต

2.1 แบคทีเรียแลคติก เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถผลิตกรดแลคติกและมีบทบาทสำคัญในการผลิตปลาหมัก สายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ *Lactobacillus plantarum* (Zuberi *et al*., 1991; Fagbenro and Jauncey, 1993; Fagbenro and Bello-Olusoji, 1997)

2.2 *Saccharomyces* sp.

การใช้ *Saccharomyces* sp. หมักร่วมกับแบคทีเรียแลคติก ช่วยปรับปรุงกลิ่นของปลาหมักและช่วยเพิ่มน้ำตาลรีดิวซ์ (Faid *et al*., 1994)

3. กระบวนการผลิตปลาหมัก

กระบวนการผลิตปลาหมักโดยทั่วไปมีวิธีคล้ายคลึงกัน (Figure 2) เริ่มจากการนำปลาหรือวัสดุเศษเหลือ เช่น เครื่องในปลามาบดผสมกับแหล่งคาร์บอนอาจเป็นกากน้ำตาล แป้งมันสำปะหลังหรือน้ำตาล จากนั้นเติมหัวเชื้อลงไป ทำการหมักตามระยะเวลาที่เหมาะสม ระหว่างการหมักพีเอชของผลิตภัณฑ์ลดลง โดยทั่วไปมีพีเอชประมาณ 3-4 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการย่อยโปรตีนโดย

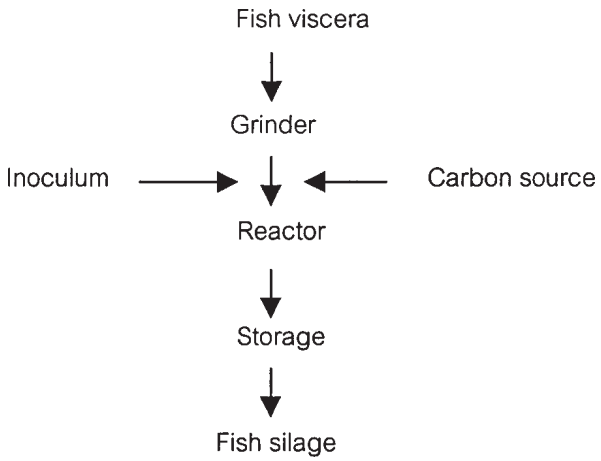

Figure 2. Common procedure for fish silage production
Source: Bimbo (1990)

เอนไซม์ที่มีอยู่ในวัสดุเศษเหลือจากปลาและกุ้ง เอนไซม์ตัดสายโมเลกุลของโปรตีนให้เป็นหน่วยเล็กลง (Bimbo, 1990) คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์และองค์ประกอบของไนโตรเจนของวัสดุเศษเหลือจากปลาซาร์ดีนหลังจากทำการหมักโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* พบว่า มีคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ ดังนี้ พีเอช 4.14, สารที่ไม่ระเหย 38.36%, เถ้า 7.94%, ไขมัน 6.12%, น้ำตาล รีดิวซ์ 10.79%, โปรตีน 11.34% และเยื่อใย 0.08% (Hammoumi *et al.,* 1998) และมีองค์ประกอบของไนโตรเจน คือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 1.78%, ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน 31.68%, ไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด 2.32% และไตรเมทิลเอมีน 0.21% (Hammoumi *et al*., 1998)

4. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตปลาหมัก

4.1 ผลของแหล่งคาร์บอน

ระดับกากน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดและช่วยเพิ่มมวลที่ได้จากการหมัก (fermenting mass) วัสดุเศษเหลือของปลาน้ำจืด คือ 10 % ของปริมาณวัสดุเศษเหลือ (Ahmed and Mahendrakar, 1995) ส่วนปริมาณน้ำตาลเด็กซ์โทรสที่เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นแหล่งคาร์บอนคือ 5% โดยให้ปลาหมักที่มีพีเอชต่ำสุด มีความคงตัว และผลิตกรดแลคติกในปริมาณสูง (Lassen, 1995) อย่างไรก็ตามในผลิตภัณฑ์หัวกุ้งแม่น้ำ (*Macrobrachium vollenhovenii*) หมัก ซึ่งทำการหมักโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* ที่ 30 ^{o}C หลังจากการบ่มเป็นเวลา 30 วัน พบว่า แหล่งคาร์บอน (กากน้ำตาลและแป้งมันสำปะหลัง) ไม่มีผลต่อองค์ประกอบของปลาหมัก องค์ประกอบโดยทั่วไปมีค่าใกล้เคียงกัน (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (50.6 และ 50.6) โปรตีน (41.8 และ 42.7) ไขมัน (15.0 และ 13.6) และเถ้า (12.1 และ 13.7) พีเอชของปลาหมักลดลงต่ำกว่า 4.5 หลังจากการบ่มเป็นเวลา 7 วัน (Fagbenro and Bello-Olusoji, 1997)

เมื่อเปรียบเทียบค่า พีเอช, trimethylamine nitrogen และ volatile basic nitrogen ของปลาหมักโดยใช้วัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมปลากระป๋อง โดยใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรต และแหล่งเชื้อที่แตกต่างกัน หลังการหมักเป็นเวลา 21 วัน พบว่าผลที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ *Lactobacillus plantarum* และเชื้อในน้ำกะหล่ำปลีดองมีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรต คือ กลูโคส ซูโครส และกากน้ำตาล ก็ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามการใช้กากน้ำตาล ในอัตรา 10% ถึงแม้ว่ามีราคาถูกแต่ก็มีองค์ประกอบไม่แน่นอนซึ่งมีผลต่อผลิตภัณฑ์ปลาหมัก ดังนั้นการใช้กากน้ำตาลในอัตรา 5% ร่วมกับแหล่งคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ อีก 5% จึงเป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งการใช้ซูโครสร่วมกับกากน้ำตาล (อัตราส่วน 1:1) ในอัตรา 10% มีราคาถูกที่สุด นอกจากนี้ พบว่าปลาหมักที่หมักด้วยจุลินทรีย์กับปลาหมักที่ใช้กรดฟอร์มิกมีคุณสมบัติทางเคมีที่ไม่แตกต่างกัน แต่การหมักโดยใช้จุลินทรีย์ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นเป็นที่ยอมรับของคนส่วนใหญ่มากกว่า (Zuberi *et al*.,1991)

4.2 ผลของอุณหภูมิ

จากการหมักปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยใช้กากน้ำตาล 15% หมักโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* 5% ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 35 ^{o}C พีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่อุณหภูมิ 5 ^{o}C พีเอชลดลงอย่างช้าๆ การย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของโปรตีนขึ้นกับอุณหภูมิ เช่นเดียวกับองค์ประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูง (Fagbenro and Jauncey, 1993)

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และจุลินทรีย์ในเครื่องในปลา (fish viscera) ที่ทำการหมักโดยใช้กากน้ำตาล 10% กรดโพรพิออนิก 0.5% (ปริมาตร/น้ำหนัก) และอิทอคซีควิน (ethoxyquin) 0.02% ที่อุณหภูมิ 26±2 และ 37 ^{o}C พบว่า การหมักที่ 37 ^{o}C พีเอชลดลงอย่างรวดเร็วซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของกรดแลคติก และปลาหมักปราศจากเชื้อก่อโรค (coliform , *E. coli* , Enterococci, Staphylococci, ยีสต์และรา) หลังจากการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 และ 26±2 ^{o}C ตามลำดับ (Ahmed and Mahendrakar, 1996)

4.3 ขนาดของเชื้อเริ่มต้น

เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเชื้อเริ่มต้น คือ 10^7, 10^8 และ 10^9 CFU/g พบว่าปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการหมักวัสดุเศษเหลือจากปลา คือ 10^8 CFU/g ซึ่งให้ค่าพีเอชต่ำสุดและมีความคงตัว รวมทั้งผลิตกรดแลคติกในปริมาณสูง (Lassen, 1995) และในการหมักวัสดุเศษเหลือจากปลาแฮริ่ง (herring ; *Clupea harengus*) เมื่อใช้ขนาดของเชื้อเริ่มต้น 10^8 CFU/g ใช้น้ำตาล

เดกซ์โทรส 5% เป็นแหล่งคาร์บอน หมักที่อุณหภูมิ 25 °C พบว่า พีเอชลดลงจาก 6.8 เป็น 4.2 ภายใน 1 สัปดาห์ และมีค่าคงที่ที่พีเอช 4.3 ในขณะเดียวกันให้กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 2.0-3.2% (Lassen, 1995)

5. การประยุกต์ใช้ปลาหมัก

5.1 อาหารสัตว์

ปลาหมักจากเนื้อเยื่อสมองและตาของปลามีองค์ประกอบของไขมันอยู่ในช่วง 5.5 - 46.5% (น้ำหนักแห้ง) โดยปลาหมักจากตาปลาทูน่า (*Thunnus thunnus*) มีองค์ประกอบของไขมันมากที่สุด รองลงมาคือปลาหมักจากหัวปลาขาว (*Merlangus merlangus*) สมองและตาปลาค็อด (*Gadus morhua*) ตาปลาฉลามสีน้ำเงิน (*Prionance glauca*) และตาปลาขาว โดยมีค่าเท่ากับ 46.5, 39.0, 18.2, 5.7 และ 5.5 ตามลำดับ (Tocher *et al*., 1997) ถึงแม้ว่าปลาหมักที่เตรียมได้มีไขมันในระดับที่สูง แต่ไขมันทั้งหมดก็มีองค์ประกอบของ docosahexaenoic acid (DHA) และอัตราส่วนของ DHA : EPA (ecosapentaenoic acid ; 20 : 5n-3) ในระดับสูงเช่นกัน (3.5-5.4) ส่วนตาปลาทูน่ามีองค์ประกอบของไตรกลีเซอร์ไรด์ในระดับที่สูง (90.6% ของไขมันทั้งหมด) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณของ DHA ปลาหมักจากตาปลาทูน่า ตาปลาฉลาม และสมองกับตาของปลาค็อด สามารถใช้เป็นอาหารเสริมให้กับโรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis*) และอาร์ทีเมีย (*Artemia nauplii*) เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารแก่ปลาทะเลวัยอ่อน (Tocher *et al*., 1997) นอกจากนี้การใช้โปรตีนเหลวจากหัวกุ้งหมักโดยนำมาทำแห้งแล้วนำไปผสมกับขนนกป่น วัสดุเศษเหลือจากเป็ดไก่ป่น หรือถั่วเหลืองป่นในอัตราส่วน 85 :15 พบว่า สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมสำหรับปลาดุกได้ (Fagbenro and Bello-Olusoji, 1997) และมีรายงานว่าโปรตีนเหลวจากหัวกุ้งหมักและปลาหมัก ใช้เป็นอาหารสำหรับ สุกร เป็ด ไก่ และมิงค์ (mink) (Dong *et al*., 1993)

5.2 ปุ๋ยปลาหมัก

ปุ๋ยปลาหมักจากวัสดุเศษเหลือโรงงานปลากระป๋องที่ผลิตโดยใช้กรดฟอร์มิก 3.5% กากน้ำตาล 20% เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 21 วัน พบว่า คุณภาพของปุ๋ยปลาขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบและกระบวนการหมัก เมื่อนำปุ๋ยปลาที่ได้มาปรับให้มีค่าพีเอชเป็นกลาง ก่อนนำไปใช้เป็นปุ๋ยทางใบ โดยนำไปผสมกับน้ำในสัดส่วนปุ๋ยปลา : น้ำเท่ากับ 1 : 50 หรือ 1 : 100 ขึ้นกับชนิดพืช ข้อดีของปุ๋ยปลา นอกเหนือจากปริมาณธาตุอาหารที่พืชจะได้รับแล้ว ไขมันปลาที่ติดมากับชิ้นส่วนปลายังทำหน้าที่เป็นสารจับใบช่วยทำให้การใช้ปุ๋ยทางใบมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น (สุริยา, 2542)

ไคตินและอนุพันธ์ของไคติน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ของ *N*-acetyl-D-glucosamine ที่เชื่อมต่อกับ 2-acetoamino-D-glucose ด้วยพันธะ β-1, 4 glucosidic ไคตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่คล้ายกับเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบอินทรีย์ในโครงสร้างภายนอก (exoskeleton) ของสัตว์ทะเลจำพวกกุ้งและปู โดยปริมาณของไคตินในแต่ละส่วนของกุ้งและปู มีค่าอยู่ในช่วง 11-32 % (Table 4) นอกจากนี้ยังพบไคตินในผนังเซลล์เห็ด รา ยีสต์ และแมลง ไคตินไม่ละลายในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนไคโตแซนเป็นอนุพันธ์ที่เตรียมได้จากไคตินโดยการดึงหมู่ acetyl ของไคตินออก ดังนั้น ไคโตแซนจึงเป็นโคพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วย β-(1→4)-2-acetamido-D-glucose และ β-(1→4)-2-amido-D-glucose โครงสร้างแสดงดัง Figure 3 (Shahidi, 1994) ไคโตแซนสามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด (Ilyina *et al*., 2000 ; Jeon and Kim, 2000) การย่อยไคโตแซนเป็นอนุพันธ์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก หรือไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide) เป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของไคโตแซนและอนุพันธ์ของไคโตแซนขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุล โมเลกุลขนาดเล็กมีความสามารถในการ

Table 4. Chitin content from shrimp and crab

Source	Chitin content (%)
Shrimp heads	11
Shrimp shells	27
Shrimp hull	24
Commercial shrimp waste	12-18
Snow crab - claws	24
Snow crab - legs	32

Source : Subasinghe (1999)

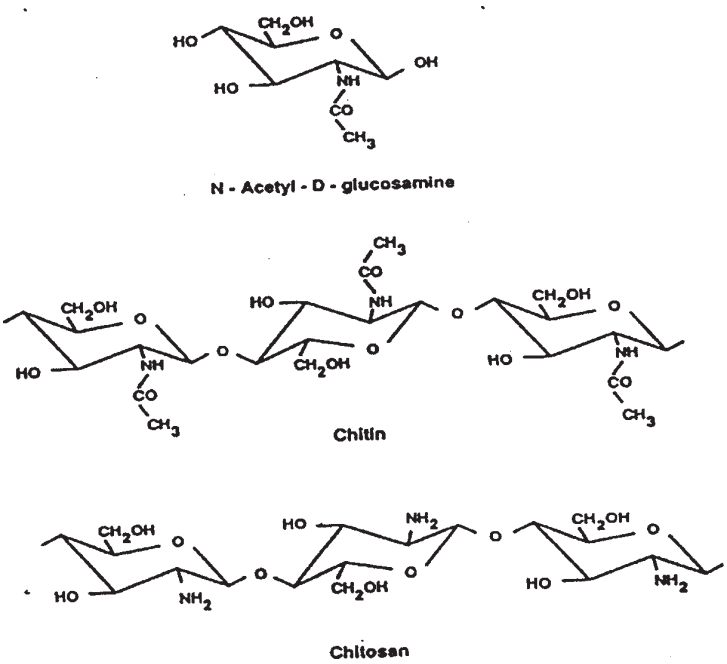

Figure 3. Chemical structures of chitin, chitosan and *N*-acetyl-*D*-glucosamine
Source : Shahidi (1994)

ละลายในน้ำและบัฟเฟอร์ได้สูงกว่า (Hirano and Nagao, 1989)

1. ข้อดีของการผลิตไคตินและอนุพันธ์ของไคตินโดยวิธีทางชีวภาพ

การผลิตไคตินโดยใช้สารเคมีต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากในกระบวนการผลิตต้องใช้กรดและด่างในการย่อยเพื่อกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตและโปรตีน ตามลำดับ สาเหตุที่ทำให้กระบวนการผลิตมีค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในการกำจัดน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการย่อย ส่วนของเหลวที่เกิดจากการหมักเปลือกกุ้งโดยใช้แบคทีเรียแลคติกมีปริมาณโปรตีนสูง (44.83%) มีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ รวมทั้งช่วยลดการทำลายสาร astaxanthin (รงควัตถุซึ่งสามารถใช้เป็นสารเร่งสีในอาหารปลาแซลมอน) ซึ่งจัดเป็นผลิตผลพลอยได้ (by-product) ที่สำคัญ เนื่องจากสภาวะที่ใช้ไม่รุนแรงเหมือนกับการใช้กรดและด่าง (Zakaria *et al*., 1998)

การเพิ่มความสามารถในการละลายของไคตินสามารถทำได้โดยเปลี่ยนไปเป็นไคโตแซนโดยอาศัยปฏิกิริยา deacetylation ซึ่งสามารถทำได้โดยการย่อยด้วยด่างหรือเอนไซม์ ได้เป็นไคโตแซนที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก การเปลี่ยนไคตินไปเป็นไคโตแซนโดยใช้ด่างต้องใช้สภาวะในการย่อยที่รุนแรงจำเป็นต้องใช้ NaOH หรือ KOH ที่มีความเข้มข้นสูงและต้องใช้อุณหภูมิสูง ให้ผลิตผลต่ำ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงวงแหวนของกลูโคส ควบคุมการย่อยได้ยาก ส่งผลให้เกิดการกระจายของขนาดโมเลกุลในช่วงที่กว้าง การย่อยโดยใช้เอนไซม์เป็นที่ยอมรับมากกว่าเนื่องจากทำการย่อยภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถควบคุมระดับการย่อยและมีการกระจายของขนาดผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่า การใช้เอนไซม์มีผลกระทบต่อโครงสร้างทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้อยกว่าการย่อยด้วยสารเคมี และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Ilyina *et al*., 2000)

2. เอนไซม์และจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตไคตินและอนุพันธ์ของไคติน

2.1 เอนไซม์กลุ่มไคติโนไลติก (chitinolytic enzyme) (Ilyina *et al*., 2000)

2.1.1 เอนไซม์ไคติเนส (chitinase)

2.1.2 เอนไซม์ไคโตซาเนส (chitosanase)

2.1.3 *N*-acetylglucosaminase

2.1.4 chitin deacetylase (Tsigos *et al*., 2000)

2.2 จุลินทรีย์

2.1.1 *Streptomyces kurssanovii* เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทมากที่สุดในการย่อยวัสดุเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปกุ้งและปู เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สร้างเส้นใย อาศัยอยู่ในดิน สามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น chitinase, chitosanase และ *N*-acetylglucosaminase (Ilyina *et al*., 2000)

2.2.2 แบคทีเรียแลคติก การหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นวิธีการหนึ่งที่เก็บเกี่ยวไคตินและผลิตภัณฑ์อื่นๆ จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานแปรรูปกุ้งและปู จัดเป็นวิธีการที่ง่ายเนื่องจากไม่จำเป็นต้องมีการออกแบบและการคัดเลือกถังหมัก (Zakaria *et al*., 1998)

3. การผลิตไคตินและอนุพันธ์ไคติน โดยวิธีทางชีวภาพ

Zakaria และคณะ (1998) ผลิตไคตินโดยหมักวัสดุเศษเหลือจากกุ้งมังกร (*Nephrops norvegicus* ; Scampi) ที่มีการเติมกลูโคสโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus paracasei* สายพันธุ์ A3 ในถังหมักแบบหมุนประกอบด้วยตะแกรงตาข่ายวางในแนวนอน ภายนอกหุ้มด้วยแก้ว (Figure 4) เติมเปลือกกุ้งบดลงภายในช่องตะแกรงและกวนโดยควบคุมการหมุนของตะแกรง หมักแบบ batch ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5 วัน พบว่า หลังจาก 48 ชั่วโมง พีเอชของน้ำหมักมีค่าเท่ากับ 5.0 และมีเปอร์เซ็นต์กรด

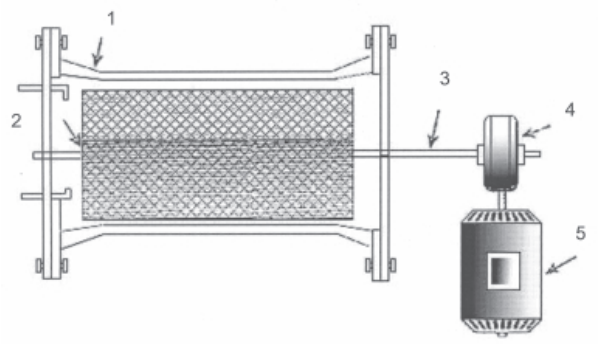

Figure 4. Rotating horizontal basket fermenter (1) outer glass casing (2) basket (3) shaft (4) gearbox (5) electric motor
Source : Zakaria *et al.* (1998)

เท่ากับ 1.2 (w/v) ภายใต้สภาวะนี้การละลายของแคลเซียมจากเปลือกกุ้งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่าในส่วนของของแข็งประกอบด้วยไคติน 17.5% (น้ำหนักแห้ง) ในส่วนของของเหลวซึ่งจัดเป็นผลิตผลพลอยได้มีปริมาณโปรตีนสูง (44.38%) สามารถนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ได้

การใช้ chitin deacetylase (CDA; EC 3.5.1.41) สำหรับการผลิตไคโตแซนและโอลิโกเมอร์ เป็นการเพิ่มศักยภาพของการใช้เอนไซม์ซึ่ง CDA เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ *N*-acetamido ในไคตินเพื่อเปลี่ยนเป็นไคโตแซน ดังสมการ

$$\text{chitin} + H_2O \xrightarrow{\text{chitin deacetylase}} \text{chitosan} + CH_3COOH$$

chitin deacetylase (CDA) สามารถพบได้ในเห็ด และรา หลายชนิด คุณสมบัติที่สำคัญของเอนไซม์แสดงดัง Table 5 ซึ่งพบว่าเอนไซม์ CDA มีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์คือ 50 °C และมีความจำเพาะสูงกับโพลิเมอร์ของ *N*-acetyl-*D*-glucosamine ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ β-(1,4) ที่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งเอนไซม์ CDA จาก *Colletotrichum lindemuthianum* และ *Aspergillus nidulans* มีคุณสมบัติที่น่าสนใจสำหรับการประยุกต์ใช้ทางเทคโนโลยีชีวภาพ เนื่องจากมีความคงตัวที่อุณหภูมิสูงและไม่ถูกยับยั้งโดยอะซิเตทซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา deacetylation (Tsigos *et al*., 2000)

การผลิตไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharides) แบบต่อเนื่องจากไคโตแซน โดยใช้ระบบถังหมักคู่ ประกอบด้วยถังปฏิกรณ์เมมเบรนที่กรองแบบอัลตราและถังปฏิกรณ์คอลัมน์ ที่บรรจุเอนไซม์ตรึงรูป (Figure 5) ทำการผลิตโดยใช้ 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรก เป็นการเตรียมไคโตแซนที่ถูกย่อยบางส่วนจากสารละลายไคโตแซนที่หนืดในถังปฏิกรณ์คอลัมน์ที่มีเอนไซม์ตรึงรูป ขั้นตอนที่ 2 เป็นการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตแซนที่ถูกย่อยบางส่วนในถังปฏิกรณ์เมมเบรนที่กรองแบบอัลตรา อัตราการไหลที่เหมาะสมของไคโตแซนที่ถูกย่อยบางส่วน คือ 5 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเป็นอัตราการไหลที่ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยของเอนไซม์ดีที่สุดและมีการติดค้างของสับสเตรทกับ

Table 5. Characteristics of chitin deacetylases from different sources

	Source				
	Mucor rouxii	***Absidia coerulea***	***Aspergillus nidulans***	***Colletotrichum lindemuthianum* (ATCC 56676)**	***Colletotrichum lindemuthianum* (DSM 63144)**
Localization	Periplasm	Periplasm	Culture media	Culture media	Culture media
Molecular weight (kDa)	75	75	27	24	150
Isoelectric point	3	NA	2.75	NA	3-5
Optimum pH value	4.5	5.0	7.0	11.5	8.5
Optimum temp. (°C)	50	50	50	50	50
Acetate inhibition	Yes	Yes	No	No	No
Min. DP	3	3	2	2	2

DP, minimum degree of polymerization of chitin oligomer required for catalyst; NA, not available
Source : Tsigos *et al.* (2000)

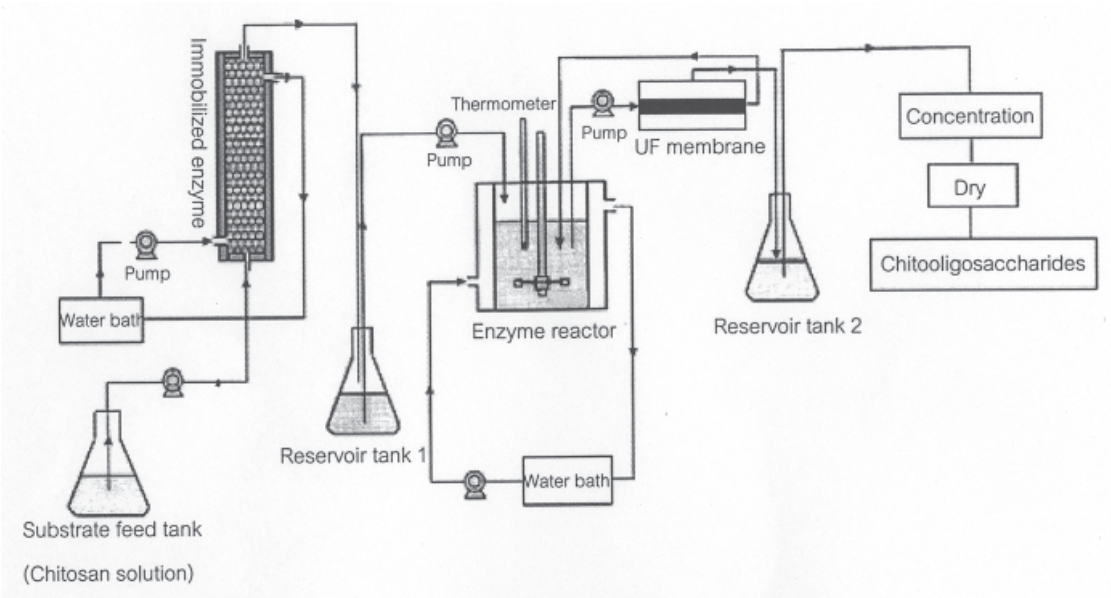

Figure 5. Schematic diagram of the dual reactor system used for continuous production of chitooligosaccharides
Source :Jeon and Kim (2000)

เมมเบรน (membrane fouling) น้อย ภายใต้สภาวะระบบถังหมักคู่ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความดันตลอดเมมเบรน (transmembrane pressure) (Jeon and Kim, 2000)

Ilyina และคณะ (2000) ผลิตไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สามารถละลายน้ำได้สูง โดยการตรึงกลุ่มของเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces kurssanovii* โดยใช้ไคตินเป็นตัวพยุงซึ่งเป็นการตรึงแบบดูดซับทางกายภาพ (macroporous cross-linked chitin ; MPC-chitin) ตัวพยุงมีความจำเพาะกับเอนไซม์ chitinase 42 kDa และ chitinase 26 kDa สภาวะที่เหมาะสมในการตรึง คือ ช่วงพีเอช 5.1-7.8 และที่อุณหภูมิ 5-22 °C โดยไม่มี

นัยสำคัญในการเปลี่ยนแปลงการจับกันของโปรตีนโดย MPC-chitin ในขณะที่พีเอชและอุณหภูมิที่ต่ำช่วยเพิ่มกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และช่วยป้องกันการถูกยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อิสระ ปฏิกิริยาการย่อยประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกย่อยที่พีเอช 4.6 ได้ไคโตแซนขนาด 22-24 kDa มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำ (5 มก./มล.) เมื่อผ่านการย่อยในขั้นตอนที่ 2 (พีเอช 6.2) ไคโตแซนมีขนาด 2-9 kDa และมีคุณสมบัติในการละลายน้ำที่ดี (100-600 มก./มล.) ความหนืดของสารละลายไคโตแซนลดลงอย่างรวดเร็วในขั้นตอนแรก (3 ชั่วโมงแรก) เมื่อเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 ความหนืดค่อยๆ ลดลง (0.5-2 ชั่วโมงหลัง) หลังจากการทำซ้ำ 80 ครั้ง พบว่า มีการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ในขั้นตอนแรก 48% และขั้นตอนที่ 2 เพียง 10% หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการสามารถนำ MPC-chitin กลับมาใช้ใหม่ได้ วิธีนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดับโรงงานต่อไป

4. การประยุกต์ใช้ไคตินและอนุพันธ์

เนื่องจากไคตินและอนุพันธ์มีศักยภาพในการใช้ประโยชน์สูง จึงมีการใช้พอลิเมอร์ชนิดนี้ใน 200 กว่าสายงานในสาขาต่างๆ สามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้ดังนี้

4.1 ด้านการเกษตร

Brzeski (1987) ใช้ไคโตแซนเคลือบเมล็ดข้าวสาลีเพื่อป้องกันเชื้อรา ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจากเดิม 20% การพ่นสารละลายไคโตแซนให้กับผลไม้ก่อนการเก็บเกี่ยวจำนวน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 6 กรัม/ลิตร จะช่วยป้องกันผลไม้จากเชื้อรา และช่วยรักษาคุณภาพของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว (Reddy *et al*., 2000)

Austin และคณะ (1981) ใช้ไคตินเป็นส่วนผสมสำหรับเลี้ยงไก่ในอัตรา 2% ผสมกับหางนม 20% ในอาหารสำหรับเลี้ยงไก่ พบว่าหลังจาก 46 วัน ไก่ที่กินอาหารผสมไคตินและหางนมมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุด และมีรายงานว่าไคตินสามารถกระตุ้นการย่อยแลคโตสในลำไส้สัตว์ ซึ่งจะช่วยเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้สัตว์ (Subasinghe, 1999)

4.2 ด้านการแพทย์และเภสัชวิทยา

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ไคตินและอนุพันธ์ของไคตินในผลิตภัณฑ์ที่มีพื้นฐานมาจากสารที่เป็นยาทางชีวภาพ (biomedical) มีดังนี้ (Subasinghe, 1999)

ไคติน - ใช้ในการรักษาแผล เป็นตัวผสมกับยาทำให้เกิดการปลดปล่อยของยาเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ในเนื้อเยื่อสัตว์ และเป็นตัวนำพาสารที่ใช้เป็นยาไปยังอวัยวะที่จำเพาะในสัตว์

ไคโตแซน - ใช้ในการลดน้ำหนัก และพบว่าไคโตแซนจะจับไขมันในกระเพาะ ช่วยป้องกันไม่ให้ร่างกายดูดซับไขมันเข้าสู่ระบบการย่อย ทำให้ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ได้ ช่วยกดระดับคลอเรสเตอรอลในซีรัม ใช้ในการรักษาแผล เป็นสารต่อต้านเชื้อรา เป็นสารกดประสาท

O-Carboxymethylchitin และ *O*-hydroxypropylchitosan ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางค์ และเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างไลโพโซม (liposomes)

N-Acetylchitohexasaccharide- เป็นสารต่อต้านเนื้องอก

4.3 ด้านอุตสาหกรรมอาหาร

4.3.1 ไคตินและไคโตแซนมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่สำคัญหลายประการ อันเกิดจากคุณสมบัติพื้นฐานดังต่อไปนี้ (Knorr, 1984)

- คุณสมบัติการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟส

ไคตินมีคุณสมบัติการจับกับไขมันสูงกว่าไคโตแซน และพบว่าไคตินในรูปผลึกขนาดเล็กมีคุณสมบัติการเป็นสารที่ก่อให้เกิดอิมัลชัน (emulsifier) ดีกว่าเซลลูโลสในรูปผลึกขนาดเล็ก (Knorr, 1982)

- คุณสมบัติการทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล

คุณสมบัติที่สำคัญของไคโตแซนคือการเกิดแผ่นฟิล์มหรือเยื่อใย สามารถนำมาขึ้นรูปบนแผ่นพลาสติกชนิดพอลิเอทธิลีนหรือแผ่นแก้วซึ่งสามารถใช้ห่อหุ้มอาหารได้ (Averbach, 1978)

- คุณสมบัติการให้กลิ่นรสกับผลิตภัณฑ์อาหาร

ที่อุณหภูมิสูง (305-900 °C) ไคตินจะเปลี่ยนเป็นสารไพราซีน (pyrazines) อุณหภูมิที่สูงขึ้นช่วยเพิ่มปริมาณและชนิดของไพราซีน มีผลให้กลิ่นหอมหวานเพิ่มขึ้น (Knorr, 1984)

- คุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว

Knorr (1982) ผลิตขนมปังโดยใช้แป้งที่มีส่วนผสมของโปรตีนจากมันฝรั่งปริมาณ 8% พร้อมกับเติมไคตินในรูปผลึกขนาดเล็ก พบว่า เมื่อไคตินมากขึ้น ปริมาตรจำเพาะ (specific loaf volume) มากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติการเป็นสารลดแรงตึงผิวของไคติน

4.3.2 ป้องกันการเน่าเสียของอาหารและลดปริมาณสารที่ไม่ต้องการในอาหาร

จากการศึกษาของ Roller และ Covill (2000) พบว่า การใช้ไคโตแซน 3 กรัม/ลิตร ร่วมกับกรดอะซิติก (0.16%) ช่วยยับยั้งการเจริญของ *Salmonella enteritidis, Zygosaccharomyces bailii* ในมายองเนสและไคโตแซนที่ผ่านการย่อยโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน มีคุณสมบัติในการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ (Rhoades and Roller, 2000) ไคโตแซนที่ความเข้มข้น 0.0075 - 0.01% มีกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียหลายชนิดในกุ้ง ยกเว้นแบคทีเรียในกลุ่ม Pseudomonads ที่ต้องใช้ความเข้มข้น 0.1% (Simpson *et al*., 1997) กลไกการยับยั้งแบคทีเรียของไคโตแซนเกี่ยวข้องกับการเชื่อมไขว้ระหว่างประจุบวกของไคโตแซนกับประจุลบของผนังเซลล์แบคทีเรียซึ่งจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ (Tsai and Su, 1999) นอกจากนี้ยังมีการใช้ไคโตแซนเพื่อลดสารที่ไม่ต้องการบางชนิดในอาหาร เช่น แทนนิน (Knorr, 1984)

4.4 ด้านสิ่งแวดล้อม

ไคโตแซนสามารถใช้ในการบำบัดน้ำเสียโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาทางไฟฟ้าระหว่างไคโตแซน ซึ่งมีประจุบวกของกลุ่ม NH^+_3 กับประจุลบของ COO^- หรือ SO^-_3 ของโปรตีน หรือสารอื่นๆ เช่น อัลจิเนท คาราจีแนน และเพคติน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบโพลิเมอร์เชิงซ้อน จากคุณสมบัตินี้ทำให้ไคโตแซนสามารถตกตะกอนโปรตีนที่แขวนลอยในน้ำเสีย และน้ำทิ้งจากโรงงานได้ (Torres *et al*., 2000) นอกจากนี้ไคโตแซนยังสามารถใช้ในการกำจัดพวกโลหะ เช่น ปรอท แคดเมี่ยม สังกะสี นิกเกิล โครเมียม ทองแดง โดยกลไกการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Skaugrud, 1989)

4.5 ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

4.5.1 ใช้ตรึงเซลล์และเอนไซม์

Xianzhen (1996) ใช้ไคโตแซนในการเพิ่มความคงตัวของแคลเซียมอัลจิเนทโดยการหยดอัลจิเนทไปยังไคโตแซนเพื่อให้เกิด polyelectrolyte complexes สำหรับใช้ในการตรึงเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อใช้ในการผลิตเอทธานอล พบว่า ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด เท่ากับ 74.1 กรัมของเอทธานอล/ชั่วโมง/กรัมของเม็ดเจลที่พีเอช 4.8-6.0 อุณหภูมิ 30 ^oC

Spagna และคณะ (2001) ใช้ไคโตแซนร่วมกับ diethylaminoethyl (DE-chitosan) ในการตรึงเอนไซม์ alpha -L-rhamnopyranosidase (Rha, EC 3.2.1.40) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยปรับปรุง กลิ่นรสของไวน์ น้ำผลไม้ และเครื่องดื่มอื่นๆ เพื่อประยุกต์ใช้ในการผลิตไวน์ในระดับอุตสาหกรรม เอนไซม์ Rha ถูกดูดซับกับ DE-chitosan ซึ่งจะช่วยรักษาค่าจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ (Km, Vmax) และความคงตัวของเอนไซม์

4.5.2 ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ไคตินสามารถใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากจุลินทรีย์ จากการศึกษาของ Ravah-Moiseev และ Carroad (1981) พบว่า เซลล์ยีสต์ *Pichia kudriavzevii* สามารถโตได้ดีเมื่อใช้ไคตินเป็นสารตั้งต้นในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

4.6 ด้านอุตสาหกรรมสิ่งทอและกระดาษ

ปัจจุบันการใช้ไคติน/ไคโตแซนผสมในเส้นใยเพื่อพัฒนาเสื้อผ้าและสิ่งทอที่สามารถป้องกันและต้านทานเชื้อโรคได้ ถือว่าเป็นเทคโนโลยีใหม่ในอนาคตอันใกล้นี้ นอกจากนี้ไคติน/ไคโตแซน ยังมีคุณสมบัติที่โดดเด่นในการเสริมสร้างความเหนียวและแข็งแรงให้กับเส้นใยและ เยื่อกระดาษ ซึ่งสามารถนำมาใช้เพื่อเพิ่มคุณภาพให้แก่กระดาษและพัฒนาผลิตภัณฑ์ชนิดพิเศษเพื่อใช้ในด้านการพิมพ์ด้วยเทคโนโลยีใหม่ๆ ที่ทันสมัย (สุวลี, 2544)

สรุป

อุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลของไทยมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มมากขึ้นทุกปี ส่งผลให้วัสดุเศษเหลือจากการ

แปรรูปเพิ่มขึ้นตามลำดับ วัสดุเศษเหลือจากปลาและกุ้งสามารถนำมาแปรสภาพเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มได้โดยการผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสท ปลาหมักหรือหัวกุ้งหมักและการผลิตไคตินและไคโตแซน การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยใช้เอนไซม์โปรติเอส จำเป็นต้องเลือกใช้เอนไซม์ที่เหมาะสมกับวัตถุดิบและจำเป็นต้องควบคุมปัจจัยในกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการนำไปประยุกต์ใช้ เช่น การผลิตเป็นเปปโตน ซึ่งมีการผลิตในทางการค้าในประเทศญี่ปุ่นและนอร์เวย์ การใช้ไฮโดรไลเสททดแทนเคซีนในอาหารสัตว์ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารสัตว์ การผลิตปลาหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกจะช่วยในการกำจัดกลิ่นคาวปลาและสามารถใช้เป็นโปรไบโอติกซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคในสัตว์ปีกได้ ในการผลิตอาหารสัตว์สามารถใช้ปลาหมักทดแทนปลาป่นซึ่งมีราคาสูงได้ประมาณ 50% และการผลิตปุ๋ยปลาซึ่งเกษตรกรสามารถผลิตไว้ใช้เองได้ เหมาะสำหรับใช้เป็นปุ๋ยทางใบ ปัจจุบันในประเทศไทยมีการผลิตปุ๋ยปลาและไคโตแซนในทางการค้า การผลิตไคโตแซนโดยใช้ chitinolytic enzyme สามารถผลิตไคโตแซนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการละลาย เหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์และการเกษตร ปัจจุบันได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจากไคติน/ไคโตแซนออกมาสู่ตลาดมากมาย ประเทศที่ผลิตไคตินและไคโตแซนเป็นหลักคือสหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น รองลงมาคืออินเดีย อิตาลี และโปแลนด์ ซึ่งมีการผลิตในหลายๆ เกรด เกรดต่ำสำหรับใช้ในการเกษตรมีราคาอยู่ประมาณ 5 US $/กก. (ประมาณ 225 บาท/กก.) ถ้าเป็นเกรดบริสุทธิ์สำหรับอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์และอาหารสุขภาพ ราคาประมาณ 200 US $/กก. (ประมาณ 9,000 บาท/กก.) การใช้กระบวนการทางชีวภาพมีข้อดีกว่าการใช้ปฏิกิริยาทางเคมีหลายประการ เช่น ไม่ต้องการสภาวะที่รุนแรง มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น สามารถควบคุมปฏิกิริยาได้ง่ายกว่าและมีความปลอดภัยมากกว่า รวมทั้งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าปฏิกิริยาทางเคมี ดังนั้นการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือด้วยกระบวนการทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจากวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล

เอกสารอ้างอิง

ธนาคารกรุงศรีอยุธยา จำกัด (มหาชน). 2541. อุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร แสงสว่างท่ามกลางภาวะวิกฤต. ปราสาทสังข์ ฉบับเศรษฐกิจวิเคราะห์. 16 : 9-18.

สุมาลัย ศรีกำไลทอง เรวดี นาคดี จีระวัฒน์ เอี่ยมวัฒน์ และสมนึก อาษา. 2538. การพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของเหลือใช้ในอุตสาหกรรมปลากระป๋อง : การผลิต PUFA จากวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมปลากระป๋อง. รายงานฉบับที่ 1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 จากน้ำมันปลาของอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง. กรุงเทพ ฯ : สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สุริยา สาสนรักกิจ. 2542. การผลิตปุ๋ยปลาและผลิตภัณฑ์อื่นจากวัสดุเหลือใช้ในอุตสาหกรรมปลากระป๋อง. สัมมนาเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การนำวัสดุเศษเหลือใช้ในอุตสาหกรรมเกษตรมาทำให้เกิดประโยชน์ทางเศรษฐกิจ. 11 มีนาคม 2542. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 11-18.

สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2544. การวิจัยและประยุกต์ใช้ไคติน/ไคโตแซนในประเทศไทย. พลาสติก. 17 : 29-31.

อัจฉริยา เชื้อช่วยชู. 2542. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ (*Katsuwonas pelamis*) โดยวิธีการใช้เอนไซม์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร.

Ahmed, J. and Mahendrakar, N.S. 1995. Effect of different levels of molasses and salt on acid production and volume of fermenting mass during ensiling of tropical freshwater fish viscera. J. Food. Sci. Technol. Mysore. 32 : 115-118.

Ahmed, J. and Mahendrakar, N.S. 1996. Chemical and microbial changes in fish viscera during fermentation ensiling at different temperatures. Bioresour. Technol. 59 : 45-46.

Adler-Nissen. 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Protein. Elisevier Applied Science. London.

Austin, P.R. Brine C.J., Castle, J.E. and Zikakis, J.P. 1981. Chitin : New facts of research. Science. 12 : 749-753.

Averbach, B.L. 1978. Flim-forming capacity of chitosan. **In** Proceedings of the First International

Conference on Chitin/Chitosan. R.A.A. Muzzarelli, and E.R. Pariser (Ed.), p. 199-209. MIT Sea Grant Program : Cambridge.

Benjakul, S and Morrissey, M.T. 1997. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. J. Agric. Food Chem. 45 : 3423-3430.

Bhuwapathapun, S. 1996. Protease enzymes in chitin and chitosan production from shrimp waste products. **In** Asia Pacific Chitin Symposium. W.F. Stevens, M.H. Rao and S. Chandrkrachang (Ed.), p. 41-49. Bangkok, Thailand.

Bimbo, A.P. 1990. Production of fish oil. **In** Fish Oil in Nutrition, M.E. Stansby (Ed.), p. 141-180. Van Nostrand Reinhold. New York.

Brzeski, M.M. 1987. Chitin and chitosan - putting waste to food use. Infofish International. 5 : 31-36.

Christopher, T.1994. Control of food allergies using protein hydrolysates. Food Technol. 48 : 72-76.

Dapkevicius, M.L., Batista, I., Robert Nout, M.J., Rombouts, F.M. and Houben, J.H. 1998. Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou* Risso) by acid and biological methods. Food Chem. 63 : 97-102.

Dong, F.M., Fairgrieve, W.T., Skonberg, D.I. and Rasco, B.A. 1993. Preparation and nutrient analyses of lactic acid bacteria ensiled salmon viscera. Aquaculture. 109 : 351-366.

Fagbenro, O. and Jauncey, K. 1993. Growth and protein utilization by juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) fed dry diets containing co-dried lactic acid fermented fish silage and protein feedstuffs. Bioresour. Technol. 51 : 29-35.

Fagbenro, O.A., and Bello-Olusoji, O.A. 1997. Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage. Food Chem. 60 : 489-493.

Faid, M., Karani, H., Elmarrakchi, A. and Achkari-Begdouri, A. 1994. A biotechnological processing for the valorization of fish waste. Bioresour. Technol. 49 : 237-241

Gildberg, A.1993. Enzymic processing of marine raw material. Process Biochem. 28 : 1-15.

Hall, G.M. and Ahmad, N.H. 1992. Functional properties of fish protein hydrolysate. **In** Fish Processing Technology, G.M. Hall (Ed.), p. 249-270. Blackle Academic. London .

Hammoumi, A., Faid, M., El yachioui and Amarouch, H. 1998. Process Biochem. 33 : 423-427.

Hirano, S. and Nagao, N. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agric. Biol. Chem. 53 : 3065-3066.

Hoyle, N.T. and Merritt, J.H. 1994. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea narengus*). J. Food Sci. 59 : 309-314.

Ilyina, A.V., Tikhonov, V.E., Albulov, A.I. and Varlamov, V.P. 2000. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. Process Biochem. 35 : 563-568.

Jeon, Y.J., Byun, H.G. and Kim, S.K. 1999. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes. Process Biochem. 35 : 471-478.

Jeon, Y.J. and Kim, S.K. 2000. Continuous production of chitooligosaccharides using a dual reactor system. Process Biochem. 35 : 623-632.

Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. J. Food Sci. 47 : 593-595.

Knorr, D. 1984. Nutritional quality, food processing and biotechnology aspects of chitin and chitosan : a review. Process Biochem. 21 : 90-92.

Kongkeaw, T. 1999. Protein Hydrolysate and Crude Oil from Black Tiger Prawn Head. Master of Science Thesis in Fishery Product Technology. Prince of Songkla University.

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

Lassen, T.M. 1995. Biological quality of fermented fish offal and chicken by-products. Agric. Sci. Finl. 4 : 27-33.

Mackie, I.M. 1982. Fish protein hydrolysates. Process Biochem. 17 : 26-31.

Pigott, G.M. 1982. Modification of fishery by-products. **In** Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward (Ed.), p. 447-452. AVI Publ., CT. London.

Rebeca, B.D., Pena-Vera, M.T. and Diaz-Castaneda,

M. 1991. Production of fish protein hydrolysates with bacterial protease ; yield and nutritional value. J. Food Sci. 56 : 309-314.

Reddy, M.V.B., Belkacemi, K., Corcuff, R., Castaigne, F. and Arul, J. 2000. Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. Postharvest Biol. Technol. 20 : 39-51.

Revah-Moiseev, S. and Carroad, P.A. 1981. Conversion of the enzymatic hydrolysate of shellfish waste chitin to single cell protein . Biotechnol. Bioeng. 23 : 1067-1078.

Rhoades, J. and Roller, S. 2000. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. Appl. Environ. Microbiol. 66 : 80-86.

Roller, S. and Covill, N. 2000. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. J. Food Prot. 53 : 202-209.

Schmidl, M.K., Taylor, S.L. and Nordlee, J.A. 1994. Use of hydrolysate- based products in special medical diets. Food Technol. 48 : 77-85.

Shahidi, F. 1994. Seafood processing by-products. **In** Seafood : Chemistry, Processing Technology and Quality, F. Shahidi and J.R. Botta (Ed.), p. 320-330. Blackie Academic & Professional. London.

Simpson, B.K., Gagne, N., Ashie, I.N.A. and Noroozi, E. 1997. Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus borealis*). Food Biotechnol. 11 : 25-44.

Skaugrud, O. 1989. Chitosan makes the grade. Manufacturing Chemist. 60 : 31-35.

Spagna, G., Barbagallo, R.N., Casarini, D. and Pifferi, P.G. 2001. A novel chitosan derivative to immobilize alpha -L-rhamnopyranosidase from *Aspergillus niger* for application in beverage technologies. Enzyme Microb. Technol. 28 : 427-438.

Subasinghe, S. 1999. Chitin from shellfish waste health benefits over shadowing industrial uses. Infofish International. 99 : 58-64.

Synowiecki, J., Jagielka, R. and Shahidi F. 1996. Preparation of hydrolysates from bovine red blood cells and their debittering following plasteine reaction. Food Chem. 57 : 435-439.

Tocher, D.R., Mourente, G. and Sargent, J.R. 1997. The use of silages prepared from fish neural tissues as enrichers for rotifers (*Brachionus plicatilis*) and Artemia in the nutrition of larval marine fish. Aquaculture. 148 : 213-231.

Torres, J.A., Dewitt-Mireles, C. and Savant, V. 2000. Two food applications of biopolymers: edible coatings controlling microbial surface spoilage and chitosan use to recover proteins from aqueous processing wastes. **In** Biopolymers :Utilizing Nature's Advanced Materials. S.H. Imam, R.V. Greene and B.R. Zaidi (Ed.), American-Chemical-Society. 723 : 248-282.

Tsai, G. J. and Su, W. H. 1999. Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli* J. Food Prot. 62 : 239-243.

Tsigos, L., Martinou, A., Kafetzopoulos, D. and Bouriotis, V. 2000. Chitin deacetylases : new, versatile tools in biotechnology. Tibtech. 18 : 305-311.

Vieira, G.H.F., Martin, A.M., Saker-Sampaiao, S., Omar, S. and Goncalves, R.C.F. 1995. Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazillian lobster (*Panulirus* spp.) processing wastes. J. Sci. Food Agric. 69 : 61-65.

Ward, O.P. 1983. Proteinase. **In** Microbial Enzymes and Biotechnology. p. 251-317. Applied Science Publishers. London.

Windser, M.L. and Barlow, S. 1981. Hydrolysis fish product. **In** Introduction to Fishery By-product , M.L. Windsor and S. Barlow (Ed.), p. 100-110. Finishing News Books. Farnham.

Xianzhen, L. 1996. The use of chitosan to increase the stability of calcium alginate beads with entrapped yeast cells. Biotechnol. Appl. Biochem. 23 : 269-271.

Zakaria, Z., Hall, G. M. and Shama, G.1998. Lactic acid fermentation of scampi waste in a rotating horizontal bioreactor for chitin recovery. Process Biochem. 33 : 1-6.

Zuberi, R., Fatima, R., Shamshad, S.I. And Qadri, R.B. 1991. Preparation of fish silage by microbial fermentation. Food Technol. 45 : 155-164.