

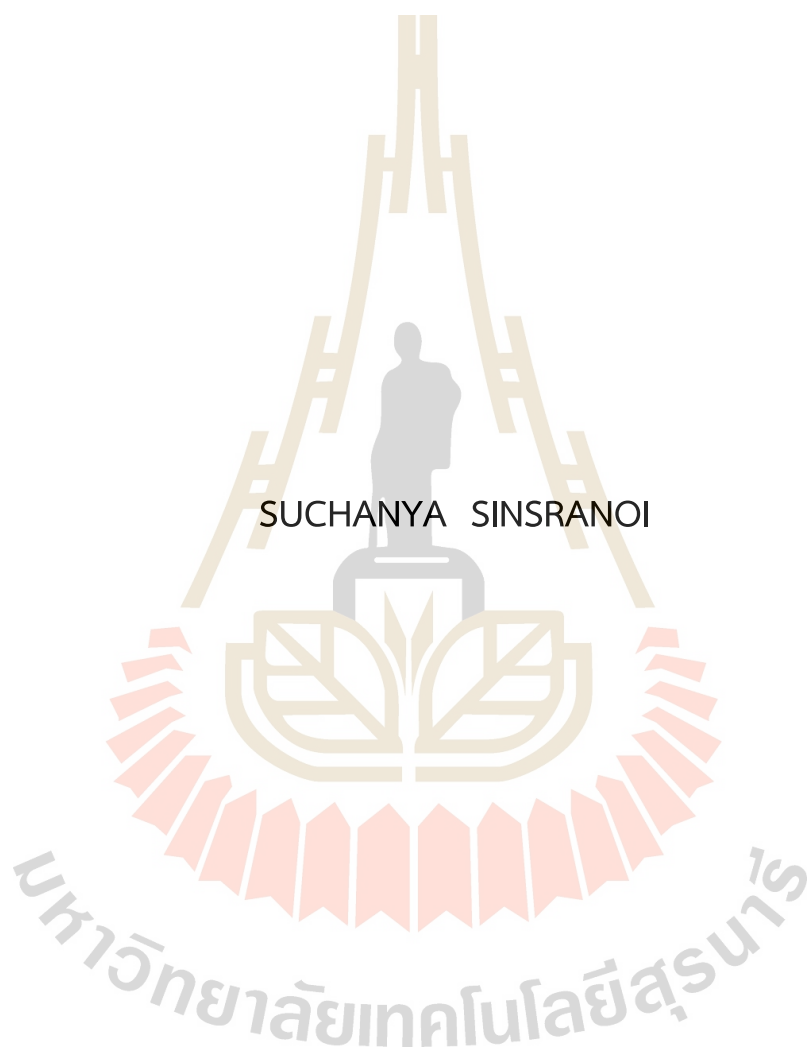
คุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพของหนอนนก
(*Tenebrio molitor*) ระหว่างการย่อยในระบบทางเดินอาหารจำลอง

นางสาวสุชญญา สิ้นสระน้อย



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2567

NUTRITIONAL VALUE AND BIOACTIVE PROPERTIES OF
MEALWORMS (*TENEbrio MOLITOR*) DURING SIMULATED
GASTROINTESTINAL DIGESTION



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Animal Production Technology
Suranaree University of Technology
Academic Year 2024

คุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพของหนอนนก
(*Tenebrio molitor*) ระหว่างการย่อยในระบบทางเดินอาหารจำลอง

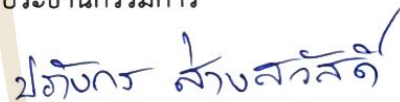
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นักศึกษานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



(รศ. ดร. อมรรัตน์ โมหี)

ประธานกรรมการ



(ผศ. ดร. ปังกร ส่างสวัสดิ์)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)



(ผศ. ดร. จริยา รอดดี)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม)



(รศ. ดร. จักรสุมา พงศ์เศรษฐกุล)

กรรมการ



(ผศ. ดร. ศรัญญา สุวรรณอังกูร)

กรรมการ



(รศ. ดร. ยุพาพร รักสกุลพิวัฒน์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและประกันคุณภาพ



(ศ. ดร. นิ่ง เตียอำรุง)

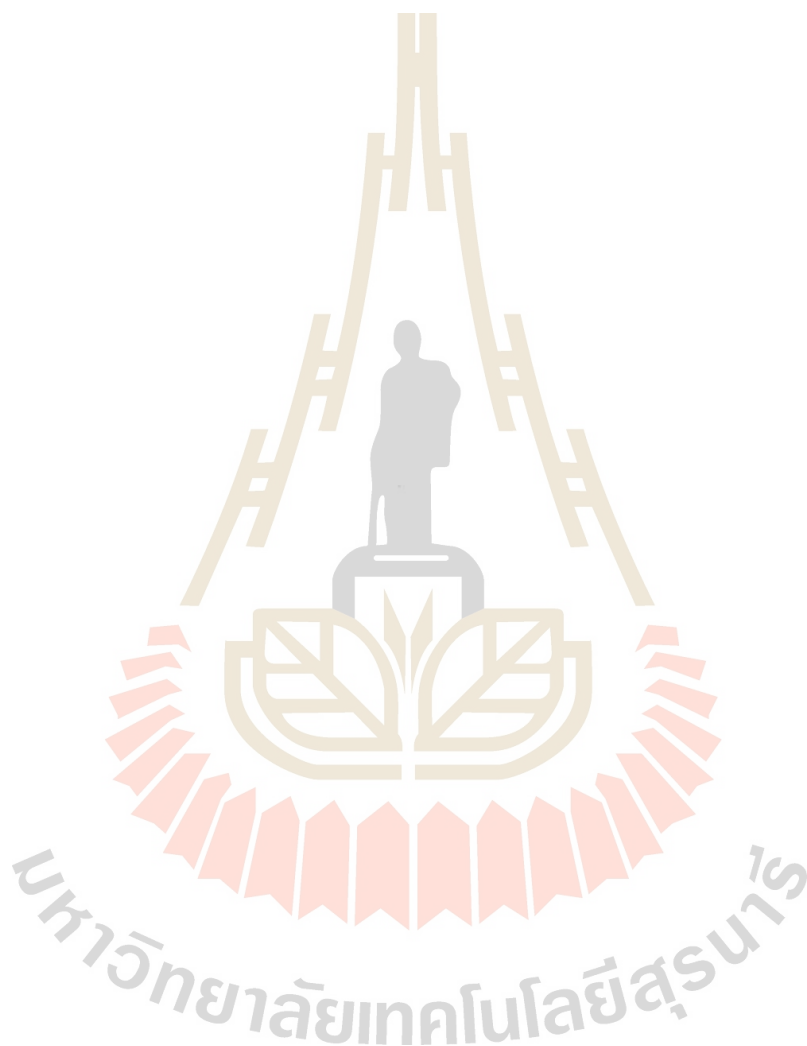
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

สุชัยญา สิ้นสระน้อย : คุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพของหนอนนก (*Tenebrio molitor*) ระหว่างการย่อยในระบบทางเดินอาหารจำลอง (NUTRITIONAL VALUE AND BIOACTIVE PROPERTIES OF MEALWORMS (*TENEBRIO MOLITOR*) DURING SIMULATED GASTROINTESTINAL DIGESTION) อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปกรณ์ สว่างสวัสดิ์, 85 หน้า.

คำสำคัญ: โปรตีนหนอนนก (*Tenebrio molitor*)/โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน/การเปลี่ยนแปลงด้วยความร้อน/การย่อยในระบบทางเดินอาหาร/คุณสมบัติทางชีวภาพ

แมลงกินได้ (Edible insects) เป็นอีกแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีศักยภาพ ทำให้ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์และนักโภชนาการทั่วโลก โดยเฉพาะในกลุ่มประเทศที่เผชิญปัญหาการขาดแคลนอาหารหรือแม้กระทั่งในประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งเริ่มให้ความสำคัญกับความยั่งยืนของห่วงโซ่อาหาร โดยเฉพาะหนอนนก (*Tenebrio molitor*) ซึ่งเป็นแมลงที่ได้รับการรับรองอย่างเป็นทางการจากสหภาพยุโรป (European union: EU) ว่าสามารถรับประทานได้อย่างปลอดภัย งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาลักษณะโครงสร้างและสมบัติเชิงฟังก์ชันของโปรตีนจากหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโตและภายใต้สภาวะการให้ความร้อน โดยพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนที่พบว่าสูงที่สุดในระยะดักแด้ (54.38%) ขณะที่ปริมาณไขมันแสดงความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับกระบวนการสังเคราะห์ไขมันในช่วงเมทาโมริฟิซิส จากการวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนโดยใช้เทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) พบว่า มีความแตกต่างของโครงสร้างจำเพาะในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยโครงสร้างแบบ β -sheet ยังคงเป็นโครงสร้างหลัก (51-55%) ตลอดช่วงของการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis) และในช่วงเปลี่ยนผ่านจากระยะดักแด้ไปเป็นตัวเต็มวัยพบการจัดเรียงระดับโมเลกุลใหม่อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ยังยืนยันรูปแบบของโปรตีนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ (150-200 kDa) พบได้เด่นชัดในระยะดักแด้และตัวหนอน ขณะที่ระยะตัวเต็มวัยพบการแสดงออกของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดเล็ก (10-20 kDa) อย่างจำเพาะ ในส่วนของการให้ความร้อนกับโปรตีนจากระยะดักแด้ในช่วงอุณหภูมิ 50-170°C ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับโมเลกุลอย่างชัดเจน โดยการให้ความร้อนในระดับปานกลาง (90°C) ส่งผลให้การย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้นสูงสุด (49.36% หลังผ่านการย่อย 4 ชั่วโมง)) และมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ Dipeptidyl Peptidase-IV (DPP-IV) (3.58%) การให้ความร้อนในระดับสูง (170°C) ทำให้โครงสร้างโปรตีนเปลี่ยนจาก α -helix ไปเป็น β -turn ซึ่งช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), Metal Ion Chelating Activity Assay (Metal) และ 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และการยับยั้ง Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) (81.85%) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) ที่ใช้ข้อมูลจาก FT-IR พบว่า การให้ความร้อนส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน

โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 170°C ซึ่งแสดงผลอย่างเด่นชัด งานวิจัยนี้จึงตอบโจทย์ช่องว่างองค์ความรู้ใน
ด้านความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนแมลงกับคุณสมบัติทางชีวภาพที่
เกิดขึ้น และให้ข้อมูลเชิงลึกในระดับโมเลกุลที่สามารถใช้ประโยชน์ในการพัฒนาโปรตีนจากแมลงให้มี
คุณสมบัติในเชิงฟังก์ชันที่เพิ่มขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ



สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา สัชฌัญญา สันสรณ์กุล
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ปวิศกร สว่างสวัสดิ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สม

SUCHANYA SINSRANOI : NUTRITIONAL VALUE AND BIOACTIVE PROPERTIES OF MEALWORMS (*TENEBRIO MOLITOR*) DURING SIMULATED GASTROINTESTINAL DIGESTION. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. PAPUNGKORN SANGSAWAD, Ph.D.
85 PP.

Keyword: Mealworm (*Tenebrio molitor*) protein/Protein secondary structure/Thermal modification/Gastrointestinal digestion/Bioactive properties

Edible insects are an alternative source of protein with significant potential, attracting increasing attention from scientists and nutritionists around the world. This interest is particularly strong in countries facing food scarcity, as well as in developed nations that are beginning to emphasize the sustainability of the food supply chain. Among these insects, the yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) stands out as it has been officially approved by the European Union (EU) as a safe and edible insect for human consumption. This study examined the structural characteristics and functional properties of mealworm proteins across developmental stages and thermal processing conditions. It was found that the chemical composition of mealworms changes significantly at each developmental stage, with the highest protein content observed in the pupal stage (54.38%). In contrast, the fat content shows an inverse relationship with chitin synthesis during the metamorphosis process. Protein secondary structure analysis using FTIR spectroscopy revealed stage-specific conformational differences, with β -sheet structures remaining dominant (51-55%) throughout metamorphosis, while transitioning from pupal to adult stages triggered significant molecular reorganization. SDS-PAGE analysis confirmed distinct protein profiles across developmental stages, with high molecular weight proteins (150-200 kDa) prominent in pupal and larval stages, while the adult stage exhibited distinctive low molecular weight proteins (10-20 kDa). Thermal processing (50-170°C) of pupal-stage proteins significantly altered their molecular conformation, with moderate heat treatment (90°C) optimizing protein digestibility (49.36% hydrolysis after 4-h digestion) and DPP-IV inhibition (3.58%). High-temperature exposure (170°C) induced protein structural reorganization from α -helical to β -turn conformations, enhancing bioactive functionality including antioxidant properties (FRAP, Metal chelating, ABTS radical scavenging) and ACE inhibition (81.85%). FTIR-based principal component analysis confirmed temperature-dependent protein conformational modifications, particularly pronounced at 170°C. This study addresses the research gap regarding the relationship between insect protein structural changes and resulting bioactivities, providing

molecular-level insights for optimizing insect-based protein ingredients with enhanced functional properties.



School of Animal Technology and Innovation
Academic Year 2024

Student's Signature Suchanya Simsranoi
Advisor's Signature Papungkom Sangsarnad
Co-advisor's Signature Jariya Roddee

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จด้วยดี โดยได้รับคำแนะนำ ช่วยเหลือ และตรวจแก้ไขของผู้มีพระคุณหลายท่าน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปัทมกร ส่างสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้โอกาสทางการศึกษา ให้คำปรึกษาแนะนำ ช่วยเหลือเอาใจใส่เป็นอย่างดีทั้งทางด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำในการเขียน การตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ และสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จริยา รอดดี กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำ ตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือต่าง ๆ ในการวิจัยครั้งนี้

นอกจากนี้ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ โมฬี ผู้เป็นประธานกรรมการสอบในครั้งนี้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรีัญญา สุวรรณอังกร จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และรองศาสตราจารย์ ดร. จักรสุมา พงศ์เศรษฐ์กุล ผู้เป็นกรรมการสอบในครั้งนี้ ซึ่งได้ให้คำแนะนำ และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความอนุเคราะห์ หนอนนกและสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณพี่ ๆ บุคลากรประจำอาคารอาคารเครื่องมือ 3 10 และ 14 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดูอบรมและส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดีมาตลอด และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สุชญญา สิ้นสระน้อย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฏ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการทำวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	3
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2 ทัศนวิสัยวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 แมลงกินได้ทางเลือกใหม่ของโปรตีนเพื่อความมั่นคงทางอาหารโลก	5
2.2 ชีววิทยาและวงจรชีวิตของหนอนนก (<i>T. molitor</i>).....	8
2.3 องค์ประกอบทางเคมีและโภชนาการของหนอนนก.....	11
2.3.1 โปรตีนและกรดอะมิโนในหนอนนก.....	11
2.3.2 ไขมันและกรดไขมันในหนอนนก	13
2.3.3 ปริมาณและองค์ประกอบของแร่ธาตุในหนอนนก.....	15
2.3.4 ไคตินในหนอนนก	15
2.4 การนำเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนจากหนอนนก	16
2.5 ผลของความร้อนต่อโครงสร้างโปรตีน.....	18
2.6 การย่อยโปรตีนภายใต้ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์	20
2.7 คุณสมบัติทางชีวภาพของเปปไทด์จากหนอนนก.....	23
2.7.1 การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Properties).....	23
2.7.2 การยับยั้งกิจกรรมของ ACE (Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activity).....	24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.7.3	ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ DPP-IV (Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor)	26
3	วิธีดำเนินการวิจัย	29
3.1	สัตว์ทดลองและการจัดการสัตว์ทดลอง	29
3.1.1	คำชี้แจงจริยธรรม	29
3.1.2	การเตรียมสัตว์ทดลอง	29
3.2	การทดลองที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ คือ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เพื่อตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการและโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนก	30
3.2.1	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ	30
3.2.1.1	ปริมาณโปรตีน	30
3.2.1.2	ปริมาณความชื้นและของแข็งทั้งหมด	30
3.2.1.3	ปริมาณไขมัน	31
3.2.1.4	ปริมาณเยื่อใยหยาบ	31
3.2.1.5	ปริมาณเถ้า	32
3.2.2	การวิเคราะห์ไคติน	32
3.2.3	การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ	33
3.2.4	การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน	33
3.2.5	การวิเคราะห์กรดอะมิโน	34
3.2.6	การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วย Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)	35
3.2.7	การวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิ โดยวิธี Fourier transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy	35
3.3	การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของความร้อนที่ระดับต่าง ๆ ต่อโครงสร้างทุติยภูมิ ความสามารถในการย่อยของโปรตีนหนอนนก ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพของเปปไทด์ที่ได้รับ	35
3.3.1	การเตรียมตัวอย่างหนอนนกผ่านการปรุงสุกด้วยการอบ	35
3.3.2	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	36
3.3.3	การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนด้วย SDS-PAGE	36
3.3.4	การวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิ โดยวิธี Fourier transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy	36

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.5	การจำลองการย่อยในทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (<i>In vitro</i> digestion).....	36
3.3.6	การวิเคราะห์ระดับการย่อย (Degree of hydrolysis; DH)	37
3.3.7	การวิเคราะห์การกระจายตัวของขนาดโมเลกุล.....	37
3.3.8	การวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพ	37
3.3.8.1	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	38
3.3.8.1.1	ความสามารถในการกำจัดอนุมูล (ABTS).....	38
3.3.8.1.2	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP)	38
3.3.8.1.3	ความสามารถในการจับโลหะ (Metal chelating) ..	38
3.3.8.2	การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE inhibitor).....	38
3.3.8.3	การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (DPP-4 Inhibitor).....	39
3.4	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	39
4	ผลการวิจัยและอภิปรายผล	40
4.1	การทดลองที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ คือ ตัวหนอน ตักแต่ และตัวเต็มวัย.....	40
4.1.1	องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของหนอนนก ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต.....	40
4.1.1.1	องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกในแต่ละระยะ การเจริญเติบโต.....	40
4.1.1.2	คุณค่าทางโภชนาการของหนอนนกในแต่ละระยะ การเจริญเติบโต.....	40
4.1.1.2.1	องค์ประกอบแร่ธาตุของหนอนนกในแต่ละ ระยะการเจริญเติบโต.....	41
4.1.1.2.2	องค์ประกอบกรดไขมันของหนอนนกในแต่ละ ระยะการเจริญเติบโต.....	42
4.1.1.2.3	องค์ประกอบกรดอะมิโนของหนอนนกในแต่ละ ระยะการเจริญเติบโต.....	44
4.1.1.3	รูปแบบของโปรตีนหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต.....	46
4.1.1.4	โครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต...	47

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2	การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของความร้อนที่ระดับต่าง ๆ ต่อ โครงสร้างทุติยภูมิ ความสามารถในการย่อยของโปรตีนหนอนนก ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพของเปปไทด์ที่ได้รับ	50
4.2.1	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในระยะดักแด้ที่เกิด จากการให้ความร้อน.....	50
4.2.1.1	องค์ประกอบทางเคมีหลังการให้ความร้อนในหนอนนก ระยะดักแด้.....	50
4.2.1.2	ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในหนอนนก ระยะดักแด้.....	52
4.2.1.3	การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิหลังการให้ความร้อน ในหนอนนกระยะดักแด้.....	53
4.2.1.4	ผลของความร้อนต่อการย่อยได้ของโปรตีนในระยะดักแด้ ภายใต้การย่อยแบบจำลองในระบบทางเดินอาหาร	56
4.2.1.5	ผลของความร้อนต่อการกระจายน้ำหนักรวมของเปปไทด์ หลังการย่อยในระบบทางเดินอาหาร	58
4.2.1.6	คุณสมบัติทางชีวภาพของเปปไทด์จากหนอนนกระยะดักแด้ ที่ผ่านการให้ความร้อนและการย่อย	60
4.2.1.6.1	คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant properties)	60
4.2.1.6.2	การยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV (DPP-IV inhibition)	60
4.2.1.6.3	การยับยั้งเอนไซม์ ACE (ACE inhibition).....	61
5	สรุปและข้อเสนอแนะ.....	63
	รายการอ้างอิง	65
	ภาคผนวก.....	81
	ภาคผนวก ก อุปกรณ์และสารเคมี	82
	ประวัติผู้เขียน.....	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีระหว่างเนื้อสัตว์กับแมลงกินได้ (น้ำหนักเปียก,%)..... 7
2.2	ฤดูกาลที่ประสบปัญหาในการเลี้ยงหนอนนกในแต่ละภูมิภาค (ร้อยละ, %) 10
2.3	ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงหนอนนก 10
2.4	องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (วัตถุแห้ง,%) 12
2.5	องค์ประกอบของกรดอะมิโนในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (กรัม/100 กรัม) 13
2.6	องค์ประกอบของกรดไขมันในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (กรัม น้ำหนักแห้ง)..... 14
2.7	องค์ประกอบของแร่ธาตุในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง)..... 15
2.8	หมู่ฟังก์ชันที่สัมพันธ์กับสเปกตรัมการสั่นของโมเลกุล 17
2.9	การย่อยได้ในหลอดทดลองของหนอนนกที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยเทคนิคต่าง ๆ 23
2.10	เปปไทด์จากหนอนนกที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ..... 27
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (Dry basis,%)..... 41
4.2	ปริมาณแร่ธาตุของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต 42
4.3	องค์ประกอบของกรดไขมันของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต 44
4.4	องค์ประกอบกรดอะมิโนของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต..... 45
4.5	องค์ประกอบทางเคมีหลังการให้ความร้อนในหนอนนกระยะดักแด้ (กรัม/100 กรัม)..... 51

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	จำนวนแมลงกินได้ในแต่ละทวีป แสดงตามอันดับของแมลง (Insect orders) และจำนวนของแต่ละสปีชีส์ 6
2.2	วงจรชีวิตของหนอนนกเล็ก (<i>T. molitor</i>) 9
2.3	ระดับอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน 19
2.4	กลไกการแปรรูปด้วยความร้อนที่ส่งผลต่อการย่อยได้ของโปรตีนในกล้ามเนื้อ 20
2.5	การย่อยโปรตีนภายใต้ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ 21
2.6	กลไกการเกิดความดันโลหิตสูง 25
2.7	กลไกการออกฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV 26
3.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหนอนนกในแต่ละระยะ 29
3.2	ตัวอย่างหนอนนกผ่านการปรุงสุกด้วยการอบที่อุณหภูมิต่าง ๆ 36
4.1	การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE 47
4.2	สเปกตรัม FT-IR ของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต 49
4.3	ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้ โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE 53
4.4	สเปกตรัม FTIR ของหนอนนกที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ 55
4.5	ผลของการให้ความร้อนต่อความสามารถในการย่อยโปรตีนของหนอนนกระยะดักแด้ 57
4.6	การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้ ที่ผ่านการให้ความร้อน 59
4.7	ผลของการให้ความร้อนต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของหนอนนก และฤทธิ์ทางชีวภาพ หลังผ่านการย่อยแบบจำลองในทางเดินอาหาร (<i>In vitro</i> GI digestion) ของหนอนนก ระยะดักแด้ 62

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AAS	=	Atomic Absorption Spectrophotometer
ABTS	=	2, 2' –azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
ACE inhibitors	=	Angiotensin-converting enzyme inhibitors
ACN	=	Acetonitrile
Ala	=	Alanine
ANOVA	=	Analysis of variance
AOAC	=	Association of Official Analytical Chemists
BCAA	=	Branched-Chain Amino Acids
CaCl ₂	=	Calcium Chloride
CH ₃	=	Methyl
CuSO ₄	=	Copper (II) sulfate
Cys	=	Cysteine
DH	=	Degree of hydrolysis
DI water	=	Deionized water
DM	=	Dry matter
DOPA	=	L-3,4-dihydroxyphenylalanine
DPP-IV inhibitors	=	Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors
DPPH	=	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAA	=	Essential Amino Acid
EDTA	=	Ethylenediaminetetraacetic acid
EFSA	=	European Food Safety Authority
FA	=	Fatty acid
FAME	=	Fatty acid methyl ester
FAO	=	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FeCl ₂	=	Ferrous Chloride
FeCl ₃	=	Ferric chloride
FPLC	=	Fast Protein Liquid Chromatography
FRAP	=	Ferric Reducing Ability Power
FT-IR	=	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GC	=	Gas Chromatography
GIP	=	Glucose-dependence Insulinotropic Polypeptide
GLP-1	=	Glucagon-like peptide-1

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

Gly	=	Glycine
HCl	=	Hydrochloric acid
His	=	Histidine
H ₂ SO ₄	=	Sulfuric acid
H ₂ O ₂	=	Hydrogen peroxide
IC ₅₀	=	50% Inhibitory Concentration
K ₂ SO ₄	=	Potassium Sulfate
LC-MS/MS	=	Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry
Leu	=	Leucine
MPS	=	Muscle Protein Synthesis
NaCl	=	Sodium chloride
NaOH	=	Sodium hydroxide
Na ₂ SO ₄	=	Sodium sulfate
NEAA	=	Non-Essential Amino Acid
PepT1	=	Peptide Transporter 1
PCA	=	Principal component analysis
Pro	=	Proline
PUFA	=	Polyunsaturated fatty acid
RAS	=	Renin Angiotensin System
RPM	=	Revolutions per minute
SDS Page	=	Sodium Dodecyl Sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
SEC	=	Size Exclusion Chromatography
SFA	=	Saturated Fatty Acid
SGF	=	simulated gastric fluid
SIF	=	simulated intestinal fluid
SPSS	=	Statistical Package for the Social Sciences
TEAC	=	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TFA	=	Total Fatty Acid
TFA	=	Trifluoroacetic acid
TNBS	=	2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid solution
TPTZ	=	2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine
UFA	=	Unsaturated Fatty Acid

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ในยุคปัจจุบันที่ประชากรโลกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ความต้องการอาหารที่เพียงพอและมีคุณค่าทางโภชนาการได้กลายเป็นหนึ่งในประเด็นสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความมั่นคงทางอาหาร โดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization: FAO) ได้คาดการณ์ว่าภายในปี ค.ศ. 2050 ความต้องการโปรตีนทั่วโลกจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 70% เมื่อเทียบกับปัจจุบันอันเกิดจากอัตราการเพิ่มของประชากรโลกที่มีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องควบคู่ไปกับการลดลงของทรัพยากรธรรมชาติ (FAO, 2021) โดยเกิดจากผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและการใช้ทรัพยากรเกินศักยภาพของโลก ได้ก่อให้เกิดกระแสการพัฒนาแหล่งอาหารที่มีความยั่งยืน โดยเฉพาะแหล่งโปรตีนทางเลือกที่สามารถผลิตได้ในต้นทุนต่ำ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (van Huis *et al.*, 2013)

แมลงกินได้ (Edible insects) เป็นอีกแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีศักยภาพ ทำให้ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์และนักโภชนาการทั่วโลก โดยเฉพาะในกลุ่มประเทศที่เผชิญปัญหาการขาดแคลนอาหารหรือแม้กระทั่งในประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งเริ่มให้ความสำคัญกับความยั่งยืนของห่วงโซ่อาหาร โดยเฉพาะหนอนนก (*T. molitor*) ซึ่งเป็นแมลงที่ได้รับการรับรองอย่างเป็นทางการจากสหภาพยุโรป (European union: EU) ว่าสามารถรับประทานได้อย่างปลอดภัย โดยได้รับการประเมินทางด้านความปลอดภัยจากหน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารแห่งสหภาพยุโรป (European Food Safety Agency: EFSA) และถือเป็นหนึ่งในแมลงกินได้ที่ได้รับการวิจัยอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเพาะเลี้ยงง่าย มีการใช้พื้นที่และทรัพยากรน้อยกว่าสัตว์เศรษฐกิจแบบดั้งเดิม จึงไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาว อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะปริมาณโปรตีน 50-60% และปริมาณไขมัน 20-30% ของน้ำหนักแห้ง (Yi *et al.*, 2013) นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโน กรดไขมัน และแร่ธาตุที่ครบถ้วน ซึ่งล้วนแต่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายมนุษย์ (Zielińska *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตามถึงแม้หนอนนกจะมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงแต่ความสามารถของร่างกายมนุษย์ในการย่อยและดูดซึมสารอาหารเหล่านั้นยังคงเป็นประเด็นสำคัญ

การย่อยอาหารเป็นขั้นตอนสำคัญที่กำหนดว่าสารอาหารที่บริโภคจะสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้มากน้อยเพียงใด โดยเฉพาะโปรตีนเมื่อถูกย่อยโดยเอนไซม์จากกระเพาะและลำไส้จะถูกเปลี่ยนเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน ซึ่งสามารถดูดซึมและนำไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายได้ การประเมินความสามารถในการย่อยนี้นิยมใช้วิธีการจำลองระบบย่อยอาหาร (*In vitro* gastrointestinal digestion) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมและได้มาตรฐานที่พัฒนาโดย INFOGEST consortium (Minekus *et al.*, 2014) เพื่อใช้ประเมินความสามารถของอาหารในการย่อยและดูดซึม โดยไม่ต้องทำการทดลองในสัตว์หรือมนุษย์ นอกจากมีการวัดระดับความสามารถในการย่อย (Degree of

hydrolysis: DH) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อย นอกจากนี้เปปไทด์ที่ได้จากการย่อยยังแสดงคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ควบคุมความดันโลหิต และลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น

หนึ่งในกระบวนการที่มีผลต่อความสามารถในการย่อยโปรตีน คือ การให้ความร้อน (Thermal treatment) ซึ่งเป็นขั้นตอนพื้นฐานที่ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบอาหาร เนื่องจากหนอนนกเป็นแมลงดิบจึงต้องมีการทำให้สุกโดยการให้ความร้อนก่อนการรับประทานเพื่อเป็นการฆ่าเชื้อโรค ดังนั้นการให้ความร้อนในระดับที่เหมาะสมจะสามารถช่วยให้โปรตีนหนอนนกเกิดการคลายตัว (Denaturation) ทำให้เอนไซม์ต่าง ๆ ในระบบทางเดินอาหารสามารถเข้าถึงพันธะเปปไทด์ได้ง่าย ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความสามารถในการย่อย และได้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Baek *et al.*, 2022) จากการศึกษาของ Purschke *et al.* (2018) พบว่า การให้ความร้อนก่อนการย่อยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการไฮโดรไลซ์ (Hydrolysis) และเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติฟังก์ชันของโปรตีน เช่น ความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการจับน้ำ และการเกิดโฟม เป็นต้น อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเกินไปอาจก่อให้เกิดผลเสีย เช่น การตกตะกอนของโปรตีน (Aggregation) หรือการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งอาจลดความสามารถในการย่อยและฤทธิ์ทางชีวภาพของเปปไทด์ได้ (Zielińska *et al.*, 2018) ทำให้การศึกษาลักษณะของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการให้ความร้อนก่อนการย่อยจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้ได้เปปไทด์ที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพ (Bioactive peptides) อย่างไรก็ตาม การให้ความร้อนต่อโปรตีนสามารถส่งผลกระทบต่อโครงสร้างระดับทุติยภูมิ (Secondary structure) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดจากพันธะไฮโดรเจนภายในสายพอลิเปปไทด์ เช่น α -helix, β -sheet, β -turn และ Random coil ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน เช่น ความสามารถในการย่อย การเกิดเจล ความสามารถในการดูดซึม และการสร้างเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Baek *et al.*, 2022) โดยเทคนิคที่ใช้ในการประเมินโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน คือ Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ซึ่งสามารถวิเคราะห์การสั่นของพันธะใน Amide I ($1700-1600\text{ cm}^{-1}$) สัมพันธ์โดยตรงกับ α -helix และ β -sheet การเปลี่ยนแปลงของความเข้มและตำแหน่งของพีคสามารถสะท้อนการจัดเรียงตัวใหม่ของโปรตีนเมื่อได้รับความร้อน (García-Gutiérrez *et al.*, 2021) ในกรณีของหนอนนก จากการศึกษาของ Mellado-Carretero *et al.* (2019) รายงานว่า โปรตีนจากระยะดักแด้มีองค์ประกอบของ β -sheet สูงกว่าระยะอื่น ซึ่งสัมพันธ์กับความเสถียรทางความร้อนและการสร้างโครงสร้างแบบผลึก (Ordered structure) อย่างไรก็ตาม การให้ความร้อนในระดับที่สูงเกินไปอาจทำให้เกิดการรวมตัวของโปรตีน (Aggregation) หรือการเปลี่ยนแปลงแบบไม่สามารถย้อนกลับได้ (Irreversible denaturation) ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Zielińska *et al.*, 2018)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ 3 ข้อ คือ 1) เพื่อศึกษาความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนจากหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย) 2) เพื่อศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน (50°C , 90°C , 130°C และ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนหนอนนก และประเมินผลต่อระดับการย่อยในระบบย่อยอาหารจำลอง และ

3) ศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของเปปไทด์จากหนอนนกหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนและการย่อยในระบบย่อยอาหารจำลองที่แสดงฤทธิ์ส่งเสริมสุขภาพ เพื่อประเมินศักยภาพของหนอนนกในฐานะโปรตีนทางเลือกที่เหมาะสมต่อสุขภาพมนุษย์ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการพัฒนาไปเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนจากหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย)

1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน (50°C, 90°C, 130°C และ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนหนอนนก และประเมินผลต่อระดับการย่อยในระบบย่อยอาหารจำลอง

1.2.3 ศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของเปปไทด์จากหนอนนกหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนและการย่อยในระบบย่อยอาหารจำลองที่แสดงฤทธิ์ส่งเสริมสุขภาพ

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 หนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ได้แก่ ระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย มีองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.3.2 การให้ความร้อนที่อุณหภูมิแตกต่างกัน (50°C, 90°C, 130°C และ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนจากหนอนนก และมีผลต่อความสามารถในการย่อยโปรตีนในระบบทางเดินอาหารจำลองอย่างมีนัยสำคัญ

1.3.3 เปปไทด์ที่ได้จากการย่อยโปรตีนหนอนนกหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนจะแสดงคุณสมบัติทางชีวภาพแตกต่างกัน โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ ACE และ DPP-IV ซึ่งคาดว่าจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ก่อนการย่อย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาในหนอนนก (*Tenebrio molitor* Linnaeus 1758; Coleoptera; Tenebrionidae) ได้รับมาจากห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประเทศไทย) ถูกเลี้ยงด้วยอาหารไก่พื้นเมืองอายุแรกเกิดถึงส่งตลาด ตราเพียวไรต์ฟีดส์ เบอร์ 7410 โปรตีน 14% ใส่อาหารหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ลงในถาดพลาสติก (32 x 40 x 10 เซนติเมตร) ภายใต้การผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ มีสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ 70% มีการควบคุมช่วงแสง 10:14 ชั่วโมง และให้แครอทสับดาร์ลอะครั้ง มีการตรวจสอบคัดหนอนนกที่ตายอยู่ภายในถาดออกสัปดาห์ละ 3 ครั้ง จากนั้นจะมีการเก็บเกี่ยวหนอนนกระยะตัวหนอนอายุประมาณ 80-85 วัน ระยะดักแด้ เมื่อสังเกตเห็นเป็นดักแด้หรืออายุ 1 วัน และตัวเต็มวัย อายุประมาณ 10-15 วัน โดยหนอนนกแต่ละระยะจะถูกอดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณอาหารที่เหลือ

ในระบบทางเดินอาหาร และถูกฆ่าโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C โดยมุ่งประเด็นการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ (แร่ธาตุ กรดไขมัน และกรดอะมิโน) ตลอดจนโครงสร้างโปรตีน (SDS-PAGE และ FT-IR) ของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ คือ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

การทดลองที่ 2 ทำการเลือกทรีตเมนต์ที่มีโปรตีนที่แท้จริงสูงที่สุดในการทดลองที่ 1 มาผ่านกระบวนการปรุงสุกด้วยการอบที่อุณหภูมิแตกต่างกัน (50°C , 90°C , 130°C และ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) เพื่อศึกษาผลของระดับความร้อนต่อโครงสร้างโปรตีน (SDS-PAGE และ FT-IR) ความสามารถในการย่อยได้ภายใต้ระบบจำลองการย่อยอาหารในหลอดทดลอง และคุณสมบัติทางชีวภาพ (ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ ACE และ DPP-IV)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโน ซึ่งสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อประเมินศักยภาพของหนอนนกในฐานะโปรตีนทางเลือก

1.5.2 ทราบผลของการให้ความร้อนในระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันต่อการย่อยโปรตีนและการปลดปล่อยเปปไทด์ชีวภาพ ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการออกแบบกระบวนการผลิตอาหารฟังก์ชันจากแมลงอย่างมีประสิทธิภาพ

1.5.3 ได้ผงหนอนนกที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ ACE และ DPP-IV ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ (Functional food)

1.5.4 สนับสนุนการใช้แมลงกินได้ในบริบทของโภชนาการเพื่อสุขภาพและเศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular bioeconomy) ลดการพึ่งพาแหล่งโปรตีนจากสัตว์ใหญ่ และเป็นทางเลือกที่ยั่งยืนต่อสิ่งแวดล้อม

1.5.5 สามารถใช้ข้อมูลจากการวิจัยนี้เป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นอาหารฟังก์ชันหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากแมลงในระดับอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในกลุ่มเป้าหมายที่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคไม่ติดต่อ เช่น ความดันโลหิตสูงและเบาหวานชนิดที่ 2

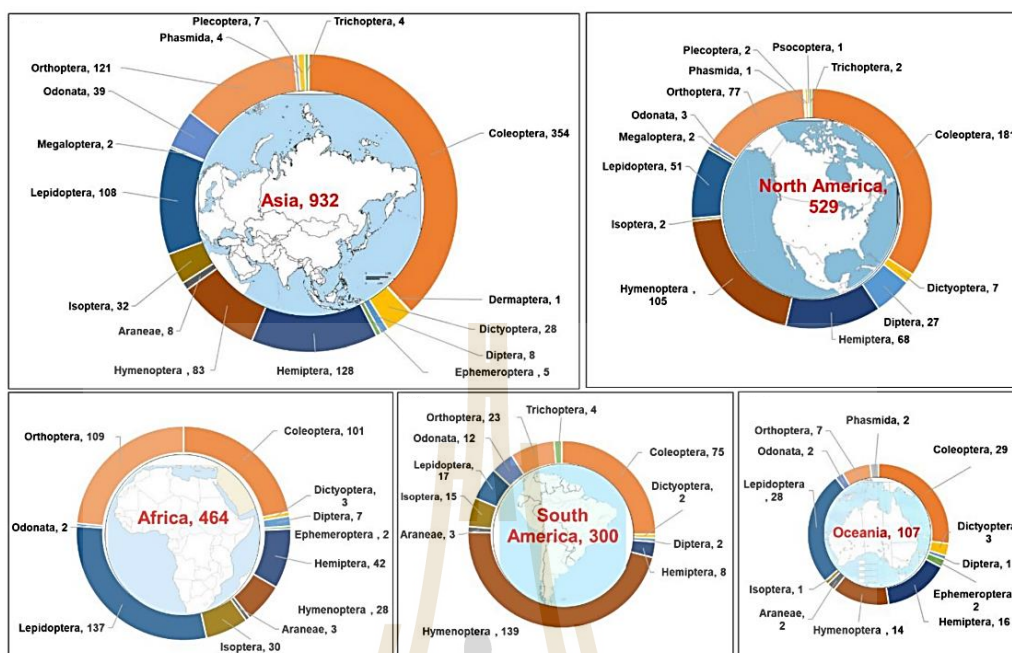
บทที่ 2

ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แมลงกินได้ทางเลือกใหม่ของโปรตีนเพื่อความมั่นคงทางอาหารโลก

ในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา ความมั่นคงทางอาหารกลายเป็นหนึ่งในเป้าหมายสำคัญระดับโลก โดยเฉพาะเมื่อประชากรโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นถึง 9.7 พันล้านคนในปี ค.ศ. 2050 (FAO, 2021) การผลิตอาหารแบบดั้งเดิมโดยเฉพาะโปรตีนจากสัตว์ เช่น วัว สุกร และไก่ ถูกตั้งคำถามถึงความยั่งยืน เนื่องจากใช้ทรัพยากรสูง ปล่อยกก๊าซเรือนกระจก และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาว (van Huis *et al.*, 2013) ดังนั้นการแสวงหาแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีความยั่งยืนและมีคุณค่าทางโภชนาการจึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก ทั้งนี้ หนึ่งในทางเลือกที่โดดเด่นและได้รับการยอมรับคือ แมลงกินได้ (Edible insects) ซึ่งไม่เพียงตอบโจทย์ด้านสิ่งแวดล้อมแต่ยังมีศักยภาพในการทดแทนโปรตีนจากสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย

ในปัจจุบันมีแมลงกินได้มากกว่า 2,205 สายพันธุ์ ที่กระจายอยู่ใน 128 ประเทศทั่วโลก (ภาพที่ 2.1) โดยในระดับทวีปเอเชียมีจำนวนแมลงกินได้มากที่สุด (932 สายพันธุ์) รองลงมาคือทวีปอเมริกาเหนือ (ส่วนใหญ่ในเม็กซิโก) และทวีปแอฟริกา สำหรับประเทศที่มีการบริโภคแมลงมากที่สุด ได้แก่ ประเทศเม็กซิโก (450 สายพันธุ์) ประเทศไทย (272 สายพันธุ์) ประเทศอินเดีย (262 สายพันธุ์) ประเทศคองโก (255 สายพันธุ์) ประเทศจีน (235 สายพันธุ์) ประเทศบราซิล (140 สายพันธุ์) ประเทศญี่ปุ่น (123 สายพันธุ์) และประเทศแคเมอรูน (100 สายพันธุ์) ซึ่งพฤติกรรมการบริโภคแมลงในแต่ละประเทศและภูมิภาคมีทั้งความคล้ายคลึงและความแตกต่าง โดยในบางพื้นที่การบริโภคแมลงมีรากฐานมาจากวัฒนธรรมพื้นถิ่น ขณะที่ในบางประเทศโดยเฉพาะในยุโรปเริ่มมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการบริโภคแมลงอย่างจริงจังภายใต้แนวคิดการผลิตอาหารที่ยั่งยืน นอกจากนี้ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคแมลงไม่ได้มีเพียงวัฒนธรรมเท่านั้น แต่ยังรวมถึงลักษณะการใช้ที่ดิน ความหนาแน่นของการกระจายตัวของแมลงที่กินได้ในธรรมชาติ ขนาดประชากรของประเทศ และระดับรายได้ของประชาชน (Omuse *et al.*, 2024) โดยแมลงที่มีการบริโภคมากที่สุดทั่วโลก คือ แมลงในกลุ่มด้วงและแมลงปีกแข็ง (Coleoptera) 31% รองลงมา ได้แก่ แมลงในกลุ่มผีเสื้อ (Lepidoptera) 18% แมลงในกลุ่มผึ้ง (Hymenoptera) 14% แมลงในกลุ่มจิ้งหรีดและด้กัแตน (Orthoptera) 13% และแมลงในกลุ่มมวน (Hemiptera) 10% และอันดับอื่น ๆ อีกหลายอันดับในสัดส่วนที่หลากหลาย (Jongema *et al.*, 2012) สิ่งเหล่านี้สะท้อนให้เห็นว่าแมลงกินได้ไม่ได้เป็นเพียงอาหารพื้นถิ่นของภูมิภาคใดภูมิภาคหนึ่ง แต่กำลังกลายเป็นส่วนสำคัญของระบบอาหารโลกในอนาคต ซึ่งจำเป็นต้องมีการส่งเสริมอย่างรอบด้านทั้งในเชิงวิจัย เทคโนโลยีการผลิต การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการสร้างความตระหนักรู้ต่อสาธารณชน เพื่อให้แมลงกินได้สามารถมีบทบาทต่อความมั่นคงทางอาหารและความยั่งยืนของระบบอาหารโลกได้อย่างแท้จริง



ภาพที่ 2.1 จำนวนแมลงกินได้ในแต่ละทวีป แสดงตามอันดับของแมลง (Insect orders) และจำนวนของแต่ละสปีชีส์
ที่มา : Omuse et al. (2024)

แนวโน้มของอุตสาหกรรมแมลงกินได้ในระดับโลกยังคงเติบโตอย่างต่อเนื่อง โดยคาดว่าตลาดจะมีมูลค่ากว่า 9 พันล้านดอลลาร์สหรัฐในปี ค.ศ. 2030 (Meticulous Research, 2021) โดยเฉพาะในยุโรปที่เริ่มมีการอนุญาตให้ใช้แมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยแมลงที่ได้รับการอนุมัติอย่างเป็นทางการจากสหภาพยุโรป คือ หนอนนก (*T. molitor*) จิ้งหรีด (*Acheta domestica*) ตั๊กแตน (*Locusta migratoria*) และหนอนดั่งดำ (*Alphitobius diaperinus*) ซึ่งได้รับการประเมินทางด้านความปลอดภัยจากหน่วยงานด้านความปลอดภัยทางอาหารแห่งยุโรป เนื่องจากแมลงมีปริมาณโปรตีนไขมัน และแร่ธาตุที่ครบถ้วน โดยมีปริมาณโปรตีน 40-75% ปริมาณไขมัน 7-77% และปริมาณแร่ธาตุ 3-8% ของน้ำหนักแห้ง (Verkerk et al., 2007) โดยจากงานวิจัยของ Ekpo et al. (2021) ที่ศึกษาการบริโภคแมลงทั้ง 4 ชนิด ในประเทศไนจีเรีย ได้แก่ ตัวต้นปาล์มน้ำมัน (African palm weevil) ตัวมะพร้าว (Coconut palm rhinoceros beetle) หนอนผีเสื้อ (Caterpillar) และปลวก (Termite) พบว่า มีกรดอะมิโนจำเป็นชนิดไลซีน (Lysine) และเมไทโอนีน (Methionine) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง จากการศึกษาของ Zielińska et al. (2015) พบว่า หนอนนกมีปริมาณโปรตีน 52% และปริมาณไขมัน 24% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhao et al. (2016) พบว่า หนอนนกมีปริมาณโปรตีน 51% และปริมาณไขมัน 32% ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้จากการศึกษาของ Azzollini et al. (2018) พบว่า หนอนนกมีไขมัน 27.4% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งได้มีการนำมาใช้เสริมคุณค่าทางโภชนาการทางด้านไขมันในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยการเติมผงหนอนนกบด 20% ลงใน

แป้งสาลีเพื่อผลิตซีเรียลชนิดอัดแท่ง พบว่า ไขมันในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นจาก 0.9% เป็น 5.4% โดยแมลงมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในสูง ซึ่งเป็นปัจจัยที่ต้องพิจารณาถึงกระบวนการในการแปรรูปและการเก็บรักษา (Zhao *et al.*, 2016)

จากการศึกษาของ Orkusz (2021) ที่ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีระหว่างเนื้อสัตว์กับแมลงกินได้ พบว่า ในด้านปริมาณโปรตีน แมลงทั้งในระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าเนื้อสัตว์ทั่วไป โดยเฉพาะหนอนนกในระยะตัวเต็มวัยมีปริมาณโปรตีน 24.13% ขณะที่ระยะตัวหนอนของหนอนไหม (*Bombyx mori*) หนอนนก (*T. molitor*) และหนอนโมเพน (*Gonimbrasia belina*) มีปริมาณโปรตีน 23.1%, 25.0% และ 35.2% ตามลำดับ ในทางกลับกันเนื้อสัตว์ที่มีโปรตีนสูง ได้แก่ กล้ามเนื้ออกของสัตว์ปีก เนื้อสันในวัว และเนื้อม้า โดยมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 19.2-21.5% ซึ่งต่ำกว่าปริมาณโปรตีนในแมลงกินได้ ในด้านปริมาณไขมันของแมลงกินได้เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ พบว่า ไขมันในเนื้อสัตว์มีค่าตั้งแต่ 0.7-18.30% ในขณะที่แมลงมีปริมาณไขมันระหว่าง 4.4-24.9% และปริมาณไขมันในซากเป็ด (18.30%) ซากห่าน (13.04%) และซากแกะ (15.12%) เป็นเนื้อสัตว์ที่มีไขมันสูงที่สุด (ตารางที่ 2.1)

ดังนั้น แมลงกินได้จึงมีบทบาทสำคัญที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในอนาคตของระบบอาหารโลก และมีความจำเป็นต้องมีความพยายามเชิงรุกมากยิ่งขึ้นในการส่งเสริมแมลงกินได้ให้กลายเป็นทางเลือกหลัก เพื่อสนับสนุนการผลิตอาหารอย่างยั่งยืนในระยะยาว

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีระหว่างเนื้อสัตว์กับแมลงกินได้ (น้ำหนักเปียก,%)

Basic nutrients species	Protein	Fat	Fiber
<i>Acheta domesticus</i> A	20.5	5.06	4.6
<i>Acheta domesticus</i> Nymph	15.4-17.5	4.4-7.9	2.3
<i>Tenebrio molitor</i> A	24.13	6.14	7.4
<i>Tenebrio molitor</i> L	25.0	12.91	3.52
<i>Zophobas morio</i> L	18.6	14.4	3.78
<i>Gonimbrasia belina</i> L	35.2	15.2	-
<i>Bombyx mori</i> L	17.9-23.1	4.26-5.0	1.0-22.22
<i>Pyrilidae</i> L	16.1	24.9	2.1-3.4
<i>Gryllus bimaculatus</i> A	15.75	5.5-5.75	3.4
Mutton leg	15.12	15.12	-
Veal leg	15.72	2.45	-
Horse meat	21.5	2.5	-
Pork shoulder	16.89	7.05	-
Beef sirloin	20.1	3.5	-

A = adult insect; L = larval form

ที่มา : Orkusz *et al.* (2021)

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีระหว่างเนื้อสัตว์กับแมลงกินได้ (น้ำหนักเปียก,%)
(ต่อ)

Basic nutrients species	Protein	Fat	Fiber
Rabbit carcass	16.59	6.32	-
Goose carcass	5.78	13.04	-
Duck carcass	8.64	18.30	-
Turkey breast	19.2	0.7	-
Turkey drumstick	16.6	3.7	-
Chicken breast	21.5	1.3	-
Chicken drumstick	17.8	6	-

A = adult insect; L = larval form

ที่มา : Orkusz *et al.* (2021)

2.2 ชีววิทยาและวงจรชีวิตของหนอนนก (*T. molitor*)

หนอนนกอยู่ในวงศ์ Tenebrionidae อันดับ Coleoptera นิยมเพาะเลี้ยงเป็นอาหารสัตว์ โดยมีความสำคัญในการใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์เลี้ยงชนิดต่าง ๆ ซึ่งการนำแมลงชนิดนี้มาเลี้ยงต้องคำนึงถึงปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ศัตรู และอาหารเป็นสำคัญ โดยการเลี้ยงหนอนนกในประเทศไทยนั้น เนื่องจากมีการปลูกข้าวสาลีน้อยมาก มีการนำข้าวสาลีจากต่างประเทศเข้ามาค่อนข้างยาก จึงมีการใช้รำข้าวเจ้า อาหารไก่กระต่ายเล็กพิเศษหรือหัวอาหารไก่รุ่นใดก็ได้ นอกจากนั้นยังใช้อาหารเสริมเพิ่มให้ด้วย เช่น แดงกวา มะละกอ แครอท หรือผักอื่น ๆ ที่ทำได้ในท้องถิ่นแต่ต้องปราศจากยาฆ่าแมลง หนอนนกที่นิยมเลี้ยงมี 3 ชนิด ได้แก่ หนอนนกเล็ก (*T. molitor*) หนอนนกยักษ์ (*Zophobas morio*) และหนอนนกด้วงดำ (*Alphitobius diaperinus*) แต่สายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมในการเลี้ยงมากที่สุดคือ หนอนนก (*T. molitor*) เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนและไขมันในระดับที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นอาหารทั้งในสัตว์และมนุษย์ อีกทั้งเป็นแมลงที่ได้รับการอนุมัติอย่างเป็นทางการจากสหภาพยุโรปให้เป็นแมลงที่สามารถรับประทานได้อย่างปลอดภัย

ชีววิทยาและวงจรชีวิตของหนอนนกเล็ก ประกอบด้วยระยะไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ในระยะไข่ ตัวเต็มวัยจะวางไข่สีขาวขุ่น กลมรี ผิวเรียบ ติดอยู่ตามพื้น มีเศษอาหารปกคลุม โดยระยะไข่มีอายุ 7 วัน จากนั้นจึงเปลี่ยนเป็นระยะตัวหนอน ลำตัวยาวเรียวทรงกระบอกสีน้ำตาล ตัวหนอนลอกคราบ 13 ครั้ง เมื่อลอกคราบใหม่ ๆ จะมีสีขาวแล้วค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล เมื่อโตเต็มที่มีความกว้างลำตัว 0.28-3.2 มิลลิเมตร ยาว 29-35 มิลลิเมตร น้ำหนัก 0.2-0.24 กรัม มีอายุประมาณ 55-75 วัน ในส่วนของระยะดักแด้ หลังจากหนอนลอกคราบครั้งสุดท้ายจะกลายเป็นดักแด้สีขาว ซึ่งจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ดักแด้มีอายุ 5-7 วัน และระยะตัวเต็มวัย เมื่อออกจากดักแด้จะมีปีกสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีดำ ลักษณะปีกแข็ง ลำตัวสีน้ำตาลอมดำ ตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 60-80 วัน จากนั้นจะเริ่มผสมพันธุ์เมื่ออายุ 6-7 วัน หลังจากนั้น 3-4 วัน ก็จะเริ่มวางไข่ ตัวเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 1-2 ฟอง/วัน หรือ 80-85 ฟอง/ตลอดวงจรชีวิต (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 วงจรชีวิตของหนอนนกเล็ก (*T. molitor*)
ที่มา : ดัดแปลงจาก Rumbos et al. (2021)

จากการศึกษาของ ณัฐฐา และธนศักดิ์ (2548) พบว่า หนอนนก (*T. molitor*) เป็นแมลงที่ไม่สามารถเจริญเติบโต ผสมพันธุ์ หรือวางไข่ได้อย่างเป็นธรรมชาติในประเทศไทย เนื่องจากปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้อต่อการดำรงชีวิตของพวกมันในธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามหนอนนกสามารถนำมาเพาะเลี้ยงในระบบปิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีการจัดการที่ค่อนข้างง่าย และสามารถควบคุมวงจรชีวิตได้ดี นอกจากนี้ หนอนนกกังยังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นในด้านการนำมาเลี้ยงเพื่อการขยายพันธุ์และผลิตในเชิงการค้า โดยเฉพาะเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ (ทัศนีย์ และจิราภรณ์, 2544) ประเทศไทยมีประวัติการนำเข้าหนอนนกเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงตั้งแต่ พ.ศ. 2519 โดยมีข้อมูลจากแผนกบำรุงสัตว์ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว (ชูวิทย์, 2533) พบว่า องค์การสวนสัตว์เป็นผู้ริเริ่มการนำเข้างูและเริ่มใช้หนอนนกเลี้ยงสัตว์ในสวนสัตว์เป็นหลัก ตลอดระยะเวลากว่า 37 ปีที่ผ่านมา หน่วยงานภาครัฐและเกษตรกรได้พัฒนาวิธีการเลี้ยงที่เหมาะสม พร้อมทั้งมีการเผยแพร่องค์ความรู้ด้านเทคนิคการเพาะเลี้ยงในวงกว้าง แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่าข้อมูลด้านตลาดและปริมาณการผลิตหนอนนกกังยังมีจำกัด โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของราคาจำหน่ายและปริมาณผลผลิตที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล

จากการศึกษาของ ณัฐฤกฤตา และคณะ (2553) ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ซึ่งพบว่า ช่วงฤดูกาลที่ประสบปัญหาด้านการเพาะเลี้ยงหนอนนก คือ ฤดูร้อน โดยประสบปัญหาในการเลี้ยงหนอนนกสูงที่สุด (67.6%) สอดคล้องกับโพสท์ทูเดย์ (2554) ที่รายงานว่า ในช่วงฤดูร้อนมีผลผลิตน้อยและมีการเจริญเติบโตที่ไม่ค่อยดี ซึ่งเมื่อพิจารณาฤดูกาลและสภาพอากาศที่ส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงหนอนนกโดยจำแนกเป็นแต่ละภูมิภาค พบว่า ส่วนใหญ่ทุกภูมิภาคประสบปัญหาด้านการเพาะเลี้ยงในฤดูร้อนเช่นเดียวกัน ทั้งนี้ จากการศึกษานี้ของณัฐฤกฤตา และคณะ (2553) ได้ทำการสัมภาษณ์ผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงหนอนนก พบว่า สาเหตุที่ทำให้หนอนนกและพ่อแม่พันธุ์เป็นโรคและตาย เป็นผลมาจากสภาพอากาศที่มีผลต่อหนอนนก โดยในฤดูฝนที่มีความชื้นสูงพบเชื้อราและทำให้หนอนติดเชื้อ และในช่วงอากาศร้อนซึ่งเป็นสภาพอากาศที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการเพาะเลี้ยง เพราะหนอนตายจำนวนมากเจริญเติบโตช้า และใช้น้อยลง อาจเนื่องจากหนอนนกไม่ชอบสภาพอากาศที่ร้อนมากเกินไป ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-27°C และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 70-80%

(Robinson, 1998) แต่ในประเทศไทยช่วงอากาศร้อนจะมีอุณหภูมิเฉลี่ยระหว่าง 35.0-39.9°C และความชื้นสัมพัทธ์ลดลงเหลือ 64-69% ในช่วงฤดูร้อน ดังนั้นในการที่จะส่งเสริมหรือเพิ่มศักยภาพการผลิตเพื่อเพาะเลี้ยงหนอนนก มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงสถานที่ตั้งฟาร์ม เพราะแต่ละพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมและสภาพอากาศแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค จากการศึกษาของ แจ่มจันทร์ (2525) แนะนำว่าจำเป็นต้องเลี้ยงหนอนนกในสถานที่ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ รวมทั้งต้องมีอากาศถ่ายเทสะดวกและมีความชื้นที่เหมาะสม แต่หากเพาะเลี้ยงโดยไม่ใช้เครื่องปรับอากาศ ญัฎฐา และ ธนศักดิ์ (2548) แนะนำว่า ควรเลี้ยงในห้องขนาดเล็กและมีภาชนะบรรจุน้ำไว้ในห้องเพื่อเพิ่มระดับความชื้นให้สูงขึ้น โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C และความชื้นสัมพัทธ์ 75% จะทำให้ได้ผลผลิตสูง

ตารางที่ 2.2 ฤดูกาลที่ประสบปัญหาในการเลี้ยงหนอนนกในแต่ละภูมิภาค (ร้อยละ, %)

Season	Central	Northern	Northeast	Southern	Total
Winter (December to February)	0.0	22.2	16.7	9.1	10.8
Rain (July to October)	18.2	11.1	16.7	9.1	13.5
Summer (March to June)	81.8	55.6	66.7	63.6	67.6

ที่มา : ญัฎฐกฤตา และคณะ (2556)

จากการศึกษาของ Fraenkel *et al.* (1950) พบว่า หนอนนกเจริญเติบโตได้ดีที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70% แต่จะช้าลงเมื่อความชื้นลดลงเหลือ 30% และแทบไม่พัฒนาเลยที่ความชื้นสัมพัทธ์ 13% จะเห็นได้ว่าปัจจัยหลายประการส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของหนอนนก สอดคล้องกับการศึกษาของ Punzo *et al.* (1980) พบว่า ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 12% จะเร่งการสูญเสียน้ำจากไข่ ทำให้ไข่แห้งและสูญเสียความสามารถในการฟักตัวได้ นอกจากนี้ Berggreen *et al.* (2018) ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของช่วงแสงต่อการเจริญเติบโตของหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ตารางที่ 2.3) ซึ่งพบว่าในระยะไข่และดักแด้สามารถอยู่ในที่มืดได้ดี ขณะที่ตัวหนอนต้องการแสงสว่าง (14 ชั่วโมง/แสง ต่อ 10 ชั่วโมง/มืด) ส่วนตัวเต็มวัยสามารถอยู่ได้ทั้งในสภาพแสงแบบ 12:12 ชั่วโมง หรือในความมืด ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีโรงเรือนหรือระบบเพาะเลี้ยงหนอนนกควรออกแบบให้สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้อย่างแม่นยำเพื่อให้เหมาะสมกับแต่ละระยะการพัฒนา อันจะช่วยเพิ่มผลผลิตลดการสูญเสีย และยกระดับคุณภาพของหนอนนกได้ในระบบอุตสาหกรรม

ตารางที่ 2.3 ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงหนอนนก

Factor	Eggs	Larvae	Pupae	Adults
Temperature (°C)	25-27	25-28	25-28	25
Relative humidity (%)	60-75	60-70	70-75	70-75
Light	Darkness	14:10	Darkness	12:12 or darkness

ที่มา : Andrew Selaledi *et al.* (2020)

2.3 องค์ประกอบทางเคมีและโภชนาการของหนอนนก

2.3.1 โปรตีนและกรดอะมิโนในหนอนนก

โปรตีนถือเป็นสารอาหารหลักที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์และสัตว์ โดยทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบพื้นฐานของเซลล์ กล้ามเนื้อ เอนไซม์ ฮอร์โมน และสารชีวโมเลกุลสำคัญอื่น ๆ โดยมีกรดอะมิโนเป็นหน่วยย่อยของโปรตีน ซึ่งมีบทบาทในการสังเคราะห์โปรตีน ซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และเป็นแหล่งพลังงานในบางภาวะ ความต้องการโปรตีนขึ้นอยู่กับอายุ เพศ ภาวะทางสรีรวิทยา และกิจกรรมของแต่ละบุคคล โดยองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO, 2021) ได้เน้นย้ำถึงความสำคัญของกรดอะมิโนจำเป็น (Essential amino acids, EAAs) ได้แก่ ฮิสทีดีน (Histidine) ไอโซลิวซีน (Isoleucine) วาลีน (Valine) ทรีปโตฟาน (Tryptophan) ทรีโอนีน (Threonine) ไลซีน (Lysine) เมไทโอนีน (Methionine) ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) และลิวซีน (Leucine) ซึ่งร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง อย่างไรก็ตาม แหล่งโปรตีนจากสัตว์และพืชที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารสัตว์ในปัจจุบัน เช่น ปลาป่น และถั่วเหลือง ต้องเผชิญกับปัญหาด้านความยั่งยืน ต้นทุนที่ผันผวน และการแข่งขันด้านทรัพยากร ส่งผลให้นักวิจัยและอุตสาหกรรมหันมาให้ความสนใจต่อแหล่งโปรตีนทางเลือก โดยเฉพาะแมลงที่กินได้ (Edible insects) ซึ่งมีข้อดีในด้านการใช้ทรัพยากรต่าง ๆ น้อย เจริญเติบโตเร็ว และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (van Huis *et al.*, 2013) หนอนนก (*T. molitor*) ถือเป็นหนึ่งในแมลงกินได้ที่ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง (45-60% ของน้ำหนักแห้ง) และมีกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด เช่น วาลีน ลิวซีน และไลซีน ในระดับสูง (Rumpold and Schlüter, 2013)

จากการศึกษาของ Muñoz-Seijas *et al.* (2024) พบว่า ระยะดักแด้ของหนอนนกมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัย 15% และ 5% ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Morales-Ramos *et al.* (2016) ซึ่งพบว่า ระยะดักแด้มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าตัวหนอน 13.4% ในขณะที่ Adámková *et al.* (2017) รายงานว่าปริมาณโปรตีนของตัวหนอนและดักแด้ใกล้เคียงกัน (51%-52% ของน้ำหนักแห้ง) ในทางกลับกัน การศึกษาของ Yu *et al.* (2021) พบว่า ช่วงสัปดาห์ที่ 13 ของการเลี้ยงตัวหนอนมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ 48.6% ก่อนจะเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งมีค่าลดลงเป็น 45.2% ของน้ำหนักแห้ง อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนใหญ่มักศึกษาเฉพาะระยะตัวหนอน

จากการศึกษาของ Muñoz-Seijas *et al.* (2024) ดังแสดงในตาราง 2.5 พบว่า ระยะตัวเต็มวัยมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น ต่ำกว่าในระยะอื่น ๆ ในขณะที่มีปริมาณกรดอะมิโนไม่จำเป็น (Non-essential amino acids: NEAA) ใกล้เคียงกันในทุกระยะ และจากการศึกษาของ Ravzanaadii *et al.* (2012) พบว่า ในระยะตัวเต็มวัยพบกรดอะมิโนที่โดดเด่น คือ ไกลซีน (5.44%) กลูตามิกแอซิด (5.24%) และลิวซีน (5.17%) และในระยะตัวหนอนพบกรดอะมิโนที่โดดเด่น คือ กลูตามิกแอซิด (5.68%) แอสปาร์ติกแอซิด (3.59%) และไอโซลิวซีน (3.56%) และจากการศึกษาของ Jajic *et al.* (2020) ที่รายงานว่าหนอนนกระยะตัวหนอนมีปริมาณลิวซีน 2.96% ไลซีน 2.67% และเมไทโอนีน 1.76% อีกทั้งจากการศึกษาของ Yu *et al.* (2021) รายงานว่า พบกรดอะมิโนจำเป็น โดยเฉพาะวาลีน (4.07%) ไลซีน (3.69%) และลิวซีน (3.66%) สอดคล้องกับการศึกษาของ Belghit *et al.* (2019) พบว่า มีกรดอะมิโนจำเป็น ได้แก่ วาลีน (7.2-7.6%) ลิวซีน (9.2-10.0%) และไลซีน (6.7-8.1%) ในขณะที่ Ghosh *et al.* (2017) พบว่า มีกรดอะมิโนจำเป็นที่เด่นชัด คือ กลูตามิกแอซิด (5.78%) ไทโรซีน (3.45%) และอะลานีน (3.96%) ความแตกต่างขององค์ประกอบกรดอะมิโนขึ้นอยู่กับ

กับระยะการเจริญเติบโตและสูตรอาหาร โดยจากการศึกษาของ Yu *et al.* (2021) พบว่า วาลีน ไลซีน และลิวซีน มีบทบาทในการพัฒนาเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ โดยพบสูงสุดในตัวหนอน อายุ 3-12 สัปดาห์ และลดลงจนถึงระยะดักแด้

หนึ่งในกลุ่มกรดอะมิโนจำเป็นที่มีบทบาทสำคัญต่อการสร้างและรักษามวลกล้ามเนื้อ ได้แก่ กรดอะมิโนสายกิ่ง (Branched-chain amino acids: BCAA) ซึ่งประกอบด้วยลิวซีน (Leucine) ไอโซลิวซีน (Isoleucine) และ วาลีน (Valine) กรดอะมิโนทั้งสามชนิดนี้มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นสายกิ่ง (Branched side chains) และสามารถถูกเมแทบอลิซึมได้โดยตรงในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ ทำให้ BCAA เป็นสารอาหารสำคัญสำหรับการฟื้นฟูกล้ามเนื้อ อีกทั้งยังส่งเสริมสมรรถภาพทางกาย (Shimomura *et al.*, 2004) จากงานวิจัยของ Yu *et al.* (2021) พบว่า หนอนนกมีกรดอะมิโน BCAA ในปริมาณที่เหมาะสม โดยเฉพาะลิวซีน (Leucine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญที่สุดในการกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนในกล้ามเนื้อ (Muscle protein synthesis; MPS) (Norton and Layman, 2006) ทั้งนี้ หนอนนกยังมีวาลีนและไอโซลิวซีน ในระดับที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งโปรตีนจากพืช เช่น ถั่วเหลือง (Belghit *et al.*, 2019) ทำให้โปรตีนจากหนอนนกมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมโปรตีนสำหรับมนุษย์และสัตว์ ด้วยคุณลักษณะเด่นของ BCAA ที่ช่วยเพิ่มอัตราการสังเคราะห์โปรตีนกล้ามเนื้อ ป้องกันการสูญเสียมวลกล้ามเนื้อ และเพิ่มพลังงานสำรองระหว่างการออกกำลังกาย หนอนนกจึงถือเป็นแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับผู้บริโภคทุกกลุ่ม ไม่ว่าจะเป็นนักกีฬา ผู้สูงอายุ หรือกลุ่มที่ต้องการฟื้นฟูสุขภาพกล้ามเนื้อ (Van Vliet *et al.*, 2015) ดังนั้น การศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโน BCAA ในหนอนนกจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ทั้งในมิติของโภชนาการ การใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร และการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่ตอบโจทย์สุขภาพและความยั่งยืนในอนาคต

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (วัตถุแห้ง,%)

Stages	Protein	Lipids	Chitin	Referances
Larvae	52.63	29.47	6.32	Kim <i>et al.</i> (2016)
	48.82	30.69	16.24	Gonzalez <i>et al.</i> (2019)
	55.83	32.3	7.15	Jajic <i>et al.</i> (2019)
	42.9	41.9	11.5	Da Cruz <i>et al.</i> (2022)
	57.9	10.9	11.2	Pasini <i>et al.</i> (2022)
Pupae	60.18	23.01	-	Morales-Ramos <i>et al.</i> (2016)
	51	32	12	Adamkova <i>et al.</i> (2017)
	45	36	9.5	Yu <i>et al.</i> (2021)
	57.78	31.21	-	Oliveira <i>et al.</i> (2024)
Adults	45.7	42.9	7.2	Laroche <i>et al.</i> (2019)
	54.86	12.50	26.63	Flores <i>et al.</i> (2020)
	55.3	28.3	-	Hidalgo <i>et al.</i> (2022)

(-) หมายถึง ไม่ได้ตรวจประเมิน

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (กรัม/100 กรัม)

Stages	Larvae	Pupae	Adults
Essential AA			
Histidine	1.43	1.51	1.31
Isoleucine	1.23	1.52	1.39
Leucine	4.30	4.98	5.52
Lysine	2.82	2.65	1.45
Methionine	2.04	1.82	1.37
Phenylalanine	1.48	2.08	1.08
Threonine	1.63	1.29	0.53
Tryptophan	NA	NA	NA
Valine	1.30	1.50	1.53
Total EAA	16.24	17.34	14.18
Non-essential AA			
Alanine	4.32	4.68	6.42
Arginine	2.07	2.09	1.19
Asparagine	NA	NA	NA
Aspartic acid	4.47	4.61	3.17
Cysteine	0.19	0.13	0.11
Glutamic acid	4.82	5.83	4.64
Glutamine	NA	NA	NA
Glycine	4.78	5.69	9.22
Proline	5.05	4.81	5.75
Serine	3.31	3.79	2.22
Tyrosine	2.38	3.18	0.99
Total NEAA	31.39	34.81	33.72

NA = ตรวจไม่พบ (Not Available)

ที่มา : Muñoz-Seijas *et al.* (2024)

2.3.2 ไขมันและกรดไขมันในหนอนนก

หนอนนกมีคุณสมบัติเด่นด้านโภชนาการ โดยเฉพาะในด้านไขมันและกรดไขมัน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการให้พลังงานและสนับสนุนการทำงานของระบบชีววิทยาในร่างกาย โดยไขมันเป็นหนึ่งในสารอาหารหลักที่มีบทบาทสำคัญในการสะสมพลังงาน การดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน (A, D, E และ K) และเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) อีกทั้งยังมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids: UFA) เช่น กรดไลโนเลอิก (Linoleic acid) และกรด

โอเลอิก (Oleic acid) ซึ่งได้รับความสนใจเนื่องจากมีบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพหัวใจและลดความเสี่ยงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง

จากการศึกษาของ Muñoz-Seijas *et al.* (2024) พบว่า ในระยะตัวอ่อนและดักแด้ของหนอนนกมีปริมาณไขมันสูงกว่าระยะตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นลักษณะปกติของแมลงชนิดแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (Holometabolous insects) เช่น หนอนนก โดยปริมาณไขมันที่สูงในช่วงระยะตัวอ่อนและดักแด้สะท้อนถึงความต้องการพลังงานที่พร้อมใช้เพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งจะลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (Oonincx and Finke, 2021) อีกทั้งยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Ghosh *et al.* (2017) และ Costa *et al.* (2020) พบว่า มีปริมาณไขมัน 34.5% ของน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ Dreassi *et al.* (2017) พบว่า ตัวหนอนที่เลี้ยงด้วยยีสต์จากเบียร์มีปริมาณไขมัน 34.4% และตัวหนอนที่เลี้ยงด้วยข้าวโอ๊ตผสมรำสาลีในอัตราส่วน 1:1 (w/w) มีปริมาณไขมันสูงถึง 48.3% การมีโปรตีนและไขมันในปริมาณสูงร่วมกับปริมาณไคตินต่ำ ทำให้หนอนนกมีความเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับใช้ในอาหารสัตว์และอาหารมนุษย์

ในแง่ของกรดไขมัน จากการศึกษานี้ของ Muñoz-Seijas *et al.* (2024) พบว่า ตัวหนอนมีกรดไขมันโอเลอิกสูงสุด รองลงมาคือ ดักแด้และตัวเต็มวัย ในขณะที่กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids: SFA) พบมากในตัวเต็มวัย (ตารางที่ 2.6) จากการศึกษานี้ของ Ravzanaadii *et al.* (2012) พบว่า ตัวหนอนมีกรดไขมันโอเลอิก (9.89 กรัม) สเตียริก (0.81 กรัม) และปาล์มิติก (5.37 กรัม) สูงกว่าตัวเต็มวัยที่มีเพียง 2.46 กรัม 0.47 กรัม และ 1.42 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวหนอนมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acids: PUFA) สูง คิดเป็น 38.1-40.8% ของกรดไขมันทั้งหมด (Total fatty acids: TFA) โดยส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันโอเลอิกและโอเลอิก (Kröncke *et al.*, 2023) อีกทั้ง Costa *et al.* (2020) ยังรายงานว่า ตัวหนอนมีกรดไขมันโอเลอิกอยู่ที่ 0.33 กรัม และกรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากที่สุดคือ ปาล์มิติก (0.15 กรัม) โดยภาพรวมกรดไขมันโอเลอิกเป็นกรดไขมันที่พบมากที่สุดในทุกระยะการเจริญเติบโตของหนอนนก ในขณะที่กรดโอเลอิกและปาล์มิติกมีแนวโน้มลดลงเมื่อเปลี่ยนจากระยะตัวหนอนไปสู่ดักแด้และตัวเต็มวัย

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของกรดไขมันในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (กรัม น้ำหนักแห้ง)

Stages	Larvae	Pupae	Adults
Palmitic acid (C16:0)	1.06 ± 0.01	1.26 ± 0.01	0.76 ± 0.01
Stearic acid (C18:0)	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.22 ± 0.03
Oleic acid (C18:1n9)	6.43 ± 0.11	6.82 ± 0.07	3.09 ± 0.04
Linoleic acid (C18:2n6)	22.8 ± 0.11	19.4 ± 0.09	8.94 ± 0.02
SFA	1.32 ± 0.01	1.53 ± 0.03	0.98 ± 0.03
MUFA	6.43 ± 0.11	6.82 ± 0.07	3.09 ± 0.04
PUFA	22.8 ± 0.11	19.4 ± 0.09	8.94 ± 0.02

ที่มา : Muñoz-Seijas *et al.* (2024)

2.3.3 ปริมาณและองค์ประกอบของแร่ธาตุในหนอนนก

แม้ว่าแมลงจะมักถูกศึกษาในแง่ของโปรตีนและไขมันเป็นหลัก แต่แร่ธาตุ (Minerals) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของอาหารก็พบในแมลงเหล่านี้ในปริมาณที่น่าสนใจ และมีความสำคัญต่อกระบวนการเผาผลาญและการทำงานของร่างกาย โดยเฉพาะโพแทสเซียม (Potassium: K) แมกนีเซียม (Magnesium: Mg) สังกะสี (Zinc: Zn) เหล็ก (Iron: Fe) ฟอสฟอรัส (Phosphorus: P) และแมงกานีส (Manganese: Mn) ซึ่งมีบทบาทในการสร้างโครงสร้างของร่างกาย การทำงานของระบบประสาท ระบบกล้ามเนื้อ และภูมิคุ้มกัน (Weyh *et al.*, 2022)

แร่ธาตุมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเผาผลาญต่าง ๆ โดยเกี่ยวข้องกับการสร้างโมเลกุล เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงส่งผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาทต่างภายในร่างกาย (Weyh *et al.*, 2022) จากการศึกษาของ Muñoz-Seijas *et al.* (2024) (ตารางที่ 2.7) พบว่า ปริมาณแร่ธาตุในระยะตัวเต็มวัยของหนอนนกมีค่าสูงที่สุด ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพที่ดีในการบริโภคเพื่อประโยชน์ทางโภชนาการ อีกทั้งปริมาณแร่ธาตุในหนอนนกไม่ได้มีความแตกต่างจากแหล่งโปรตีนแบบดั้งเดิม (Gere *et al.*, 2019) โดยหนอนนกมีแร่ธาตุจำพวกโพแทสเซียม เหล็ก และแมกนีเซียมในปริมาณสูง (Gkinali *et al.*, 2022)

ตารางที่ 2.7 องค์ประกอบของแร่ธาตุในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต (กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง)

Stages	Larvae	Pupae	Adults
Potassium	9.92 ± 0.01	13.22 ± 0.45	10.33 ± 0.02
Magnesium	2.49 ± 0.06	2.93 ± 0.06	2.38 ± 0.03
Sodium	0.78 ± 0.11	1.52 ± 0.08	1.30 ± 0.03
Iron	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.10 ± 0.00
Zinc	0.11 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.15 ± 0.00
Manganese	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
Copper	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00

ที่มา : Muñoz-Seijas *et al.* (2024)

2.3.4 ไคตินในหนอนนก

ไคตินในหนอนนกมักอยู่ในรูปของไคตินผสมกับโปรตีนและแร่ธาตุในโครงร่างแข็ง (Cuticle) โดยสามารถสกัดออกมาได้ด้วยวิธีทางเคมี เช่น การกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายต่าง และการกำจัดแร่ธาตุด้วยกรดอ่อน จากการศึกษาของ Finke (2007) รายงานว่าปริมาณไคตินในตัวหนอนนกอยู่ที่ประมาณ 5.8-8.7% ของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตและสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง จากมุมมองด้านโภชนาการ ในการศึกษาของ Longvah *et al.* (2011) และ Zielińska *et al.* (2015) พบว่า ไคตินในแมลงมีบทบาทเป็นไฟเบอร์ที่ไม่สามารถย่อยได้ (Insoluble fiber) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพลำไส้และการควบคุมระดับไขมันในเลือด อย่างไรก็ตามไคตินอาจลดการดูดซึมสารอาหารบางชนิด เช่น ธาตุเหล็กและแคลเซียม เนื่องจากสามารถจับกับแร่ธาตุได้ ในแง่ของการใช้งานทางชีวภาพ

ไคตินสามารถแปรรูปเป็นไคโตซาน (Chitosan) ผ่านกระบวนการดีอะเซทิลเลชัน (Deacetylation) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ ดูดซับโลหะหนัก และส่งเสริมการสมานแผล จากการศึกษาของ Muzzarelli *et al.* (2012) รายงานว่า ไคโตซานจากหนอนนกมีคุณสมบัติไม่ต่างจากที่ได้จากกุ้งหรือปู แต่มีข้อดีในด้านความยั่งยืนและไม่มีสารก่อภูมิแพ้จากทะเล ในอุตสาหกรรมเกษตร ไคตินและไคโตซานจากหนอนนกสามารถนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช และเป็นสารต้านเชื้อรา ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าองค์ประกอบทางโภชนาการของหนอนนกมีความแปรผันตามช่วงอายุ โดยตัวหนอนและดักแด้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สมดุลในด้านโปรตีนและไขมัน ส่วนตัวเต็มวัยมีสัดส่วนโปรตีนสูงเหมาะต่อการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมโปรตีน ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างผลการศึกษาอาจมีสาเหตุมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์ วัสดุอาหารที่ใช้เลี้ยง และวิธีการคำนวณปริมาณโปรตีน (Conversion factor) การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกในแต่ละระยะได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการเลือกใช้ให้เหมาะสมกับเป้าหมายการพัฒนาผลิตภัณฑ์ เช่น การเลือกใช้ระยะดักแด้เพื่อผลิตโปรตีนเข้มข้น หรือระยะตัวอ่อนเพื่อผลิตไขมันคุณภาพสูงเพื่อใช้ในอาหารสัตว์หรือผลิตภัณฑ์พลังงาน นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมียังรวมถึงชนิดอาหาร อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว ตัวอย่างเช่น การใช้รำข้าวร่วมกับแป้งข้าวโพดสามารถเพิ่มปริมาณไขมันในระยะตัวอ่อนได้ถึง 20% ขณะที่การเลี้ยงด้วยกากถั่วเหลืองสามารถเพิ่มโปรตีนในระยะดักแด้ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Mancini *et al.*, 2021) การควบคุมปัจจัยแวดล้อมจึงมีบทบาทสำคัญต่อการกำหนดคุณภาพของวัตถุดิบโปรตีนจากหนอนนก แนวโน้มการวิจัยในอนาคตมุ่งเน้นไปที่การใช้หนอนนกในรูปแบบส่วนผสมที่มีฤทธิ์เชิงหน้าที่ (Functional ingredients) เช่น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีฤทธิ์ชีวภาพ วัตถุดิบสำหรับพัฒนาเป็นอาหารเสริมหรือแม้แต่ใช้เป็นโปรตีนทางเลือกในสูตรสำหรับผู้สูงอายุหรือผู้มีปัญหาเรื่องการย่อยอาหาร โดยเน้นช่วงระยะการเจริญเติบโตที่ให้สารออกฤทธิ์สูงสุด

2.4 การนำเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนจากหนอนนก

เทคนิค FT-IR เป็นหนึ่งในเครื่องมือที่ได้รับความนิยมในงานวิจัยด้านชีวเคมีและโภชนาการ โดยเฉพาะการศึกษาคุณสมบัติของโปรตีน เนื่องจากสามารถวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนได้ในระดับทุติยภูมิ (Secondary structure) โดยหลักการพื้นฐานของ FT-IR คือ การตรวจวัดการสั่นของพันธะเคมีในโมเลกุล โดยอาศัยปรากฏการณ์การดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Infrared absorption) ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อพลังงานของรังสีอินฟราเรดตรงกับพลังงานการสั่นของพันธะเคมีในโมเลกุลนั้น ๆ พลังงานที่ถูกดูดกลืนนี้จะทำให้พันธะเคมีภายในโมเลกุลเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพ เช่น เกิดการยืดตัว (Stretching) หรือการงอ (Bending) ซึ่งส่งผลให้เกิดสเปกตรัมลักษณะเฉพาะ (Fingerprint region) ของสารนั้น ๆ ที่สามารถบ่งชี้ชนิดของหมู่ฟังก์ชันหรือโครงสร้างโมเลกุลได้ (Griffiths and Haseth, 2007) โดยการตรวจวัดในช่วงคลื่น $4000-400\text{ cm}^{-1}$ สามารถครอบคลุมการสั่นของพันธะเคมีที่พบได้ทั่วไป เช่น พันธะ C-H, O-H, N-H, C=O, C-N และ C-O โดยการสั่นของพันธะแต่ละชนิดจะมีค่าการดูดกลืนที่จำเพาะแตกต่างกันออกไป การแปลผลจากสเปกตรัม FT-IR จึงสามารถใช้ในการจำแนกหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุล เช่น หมู่แอลกอฮอล์ (O-H), หมู่แอมมีน (N-H), หมู่คาร์บอนิล

(C=O) และหมู่แอมไมด์ (CONH) เป็นต้น ซึ่งหมู่เหล่านี้พบได้ทั่วไปในโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโพลีแซ็กคาไรด์ในพืชและสัตว์ (ตารางที่ 2.8)

หนึ่งในข้อดีสำคัญของเทคนิค FT-IR คือ การที่สามารถใช้กับตัวอย่างในสถานะต่าง ๆ ได้ ไม่ว่าจะเป็นของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ และไม่จำเป็นต้องเตรียมตัวอย่างซับซ้อน อีกทั้งเทคนิคนี้ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน (Secondary structure) ผ่านแถบ Amide I ($1700-1600\text{ cm}^{-1}$) และ Amide II ($1500-1200\text{ cm}^{-1}$) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับลักษณะของโครงสร้าง α -helix, β -sheet และ Random coil โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Amide I ที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างมากที่สุด เพราะเกิดจากการสั่นของพันธะ C=O stretching ซึ่งสะท้อนถึงลักษณะการเรียงตัวของสายเปปไทด์

ตารางที่ 2.8 หมู่ฟังก์ชันที่สัมพันธ์กับสเปกตรัมการสั่นของโมเลกุล

Wavenumber Range (cm^{-1})	Functional Groups
3200	N-H stretching of amide A in proteins
2957	C-H asymmetric stretching of $-\text{CH}_3$ in fatty acids
2919	C-H asymmetric stretching of $>\text{CH}_2$ in fatty acids
2870	C-H symmetric stretching of $-\text{CH}_3$ in fatty acids
2850	C-H symmetric stretching of $>\text{CH}_2$ in fatty acids
1740	C=O stretching of lipid esters
1695-1675	Amide I band component of proteins
1655	Amide I of α -helical structure of proteins
1637	Amide I of β -plated sheet structure of proteins
1550-1520	Amide II band of proteins
1468	C-H deformation of $>\text{CH}_2$ in lipids
1400	C=O symmetric stretching of COO^- group in amino acids, fatty acids
1305-1200	Amide III band components of proteins
1245	P=O asymmetric stretching in DNA, RNA and phospholipids
1080	P=O symmetric stretching in DNA, RNA and phospholipids
900-600	Fingerprint region

ที่มา : ศิรินิตย์ และคณะ 2561

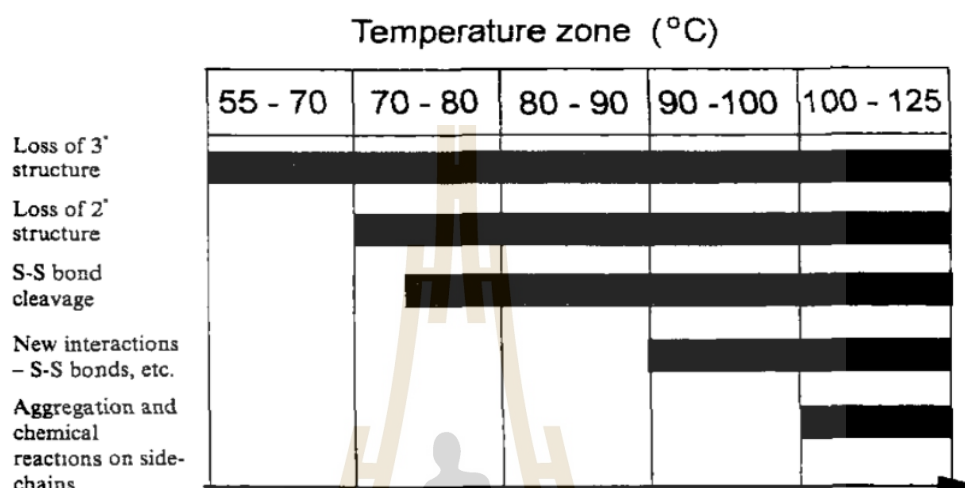
จากการศึกษาของ Muñoz-Seijas *et al.* (2024) พบว่า ตัวอ่อน ดักแด่ และตัวเต็มวัยของ หนอนนก (*T. molitor*) แสดงค่าสเปกตรัมในบริเวณที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบของไขมัน ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง (Non-structural carbohydrates) โดยเฉพาะค่า การดูดกลืนที่พบในช่วงคลื่น $2900-2800\text{ cm}^{-1}$ น่าจะเกิดจากการยืดตัวของพันธะ C-H ในหมู่เมทิล ซึ่งมาจากส่วนของไขมันและโปรตีน ขณะที่พบในช่วง $1700-1600\text{ cm}^{-1}$ ถูกเรียกว่าเกิดจากการยืดตัว ของพันธะ C=O จากหมู่เอสเทอร์ในไขมัน ส่วนบริเวณ $1500-1200\text{ cm}^{-1}$ อาจเกี่ยวข้องกับโปรตีน เช่น การยืดตัวของพันธะ C-N การสั่นของพันธะ C=O จากกลุ่ม N-acetyl และการงอของพันธะ N-H จากหมู่ Amide II และบริเวณแถบเล็กที่พบในช่วง $1000-900\text{ cm}^{-1}$ อาจเกิดจากการยืดตัวของ พันธะ C-O ซึ่งน่าจะสัมพันธ์กับการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง (Mellado-Carretero *et al.*, 2020)

แม้ว่าการวิเคราะห์ด้วย FT-IR จะไม่สามารถระบุปริมาณของสารอาหารหรือองค์ประกอบ ต่าง ๆ ที่พบในแมลงที่กินได้อย่างแม่นยำ แต่เทคนิคนี้ยังคงเป็นวิธีที่เข้าถึงได้ง่าย รวดเร็ว และ ประหยัดต้นทุนในการระบุสเปกตรัมอินฟราเรดเฉพาะของแต่ละสารชีวโมเลกุล เนื่องจากรูปแบบการ ดูดกลืนที่ตรวจพบมีความสัมพันธ์โดยตรงกับโครงสร้างนั้น ๆ จากการเปรียบเทียบระหว่างเลขคลื่นกับ ความเข้มของการดูดกลืน (Shin *et al.*, 2019) ด้วยเหตุนี้ FT-IR จึงสามารถใช้เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ เบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบองค์ประกอบที่มีอยู่ในชีวมวลของแมลง และสามารถต่อ ยอดไปสู่การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิคที่ต้องใช้แรงงานหรือทรัพยากรเพิ่มเติมในลำดับถัดไปได้ อย่างเหมาะสม

2.5 ผลของความร้อนต่อโครงสร้างโปรตีน

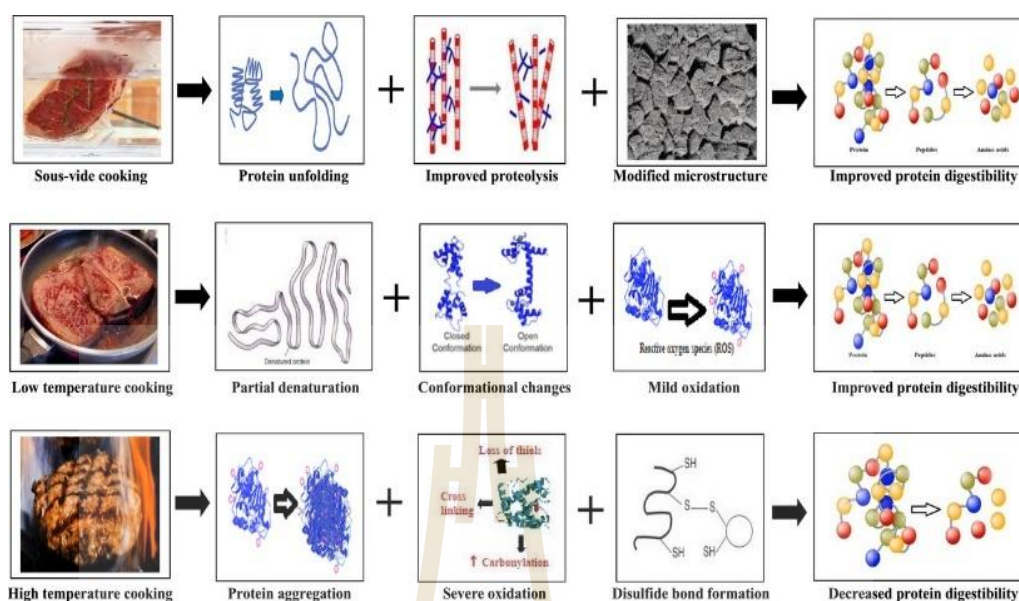
การให้ความร้อนเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเตรียมอาหารเพื่อการบริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สำหรับอาหารประเภทแมลง ระดับการเปลี่ยนแปลงของอาหารเหล่านี้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ (Torreggiani *et al.*, 2008) ความร้อนระดับต่ำ (60 ถึง 100°C) ทำให้เกิด การเสื่อมสภาพของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์และคอลลาเจน ส่งผลให้สามารถเข้าถึงโปรตีนเอสในแบบ ทางเดินอาหารได้ดีขึ้น (Bax *et al.*, 2012) นอกจากนี้การแปรรูปด้วยความร้อนสูงเกิน 100°C จะทำ ให้เกิดการย่อยสลายของพันธะเปปไทด์การรวมตัวของโปรตีนผ่านปฏิกิริยาที่ไม่ชอบน้ำและการเชื่อม ข้ามโควาเลนต์ การก่อตัวของโปรตีนคาร์บอนิลและการปรับเปลี่ยนกรดอะมิโนอะโรมาติก ยังสามารถเกิดขึ้นได้ (Soladoye *et al.*, 2015) ในการสูญเสียโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิเกือบ ทั้งหมดที่อุณหภูมิสูงกว่า 70°C (Davis *et al.*, 1998) (ภาพที่ 2.3) ทำให้เกิดการพับไม่เป็นระเบียบ (Random coil) การปรุงเนื้อสัตว์เป็นระยะเวลานานถึง 24 ชั่วโมง ที่สภาวะการให้ความร้อนระดับต่ำ เพิ่มความนุ่มอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการละลายของคอลลาเจนให้เป็นเจลาตินและการเสื่อมสภาพ ของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ (Bouton *et al.*, 1981) การให้ความร้อนระดับต่ำเป็นกระบวนการ พื้นฐานของวิธีการปรุงเนื้อสัตว์แบบต่าง ๆ รวมถึงการตุ๋น และการซุก (Baldwin *et al.*, 2012) ขอบเขตของการเสียสภาพโปรตีนจากการให้ความร้อนเป็นเวลานานจะแตกต่างจากเนื้อสัตว์ที่ปรุงด้วย ระยะเวลาที่สั้นกว่า ซึ่งพันธะไดซัลไฟด์ก่อตัวขึ้นด้วยอุณหภูมิความร้อนที่สูงกว่า 90°C หรือ ความร้อนสูงกว่า 100°C ที่ใช้ในกระบวนการบรรจุกระป๋องทำให้เกิดการสลายตัวของพันธะเปปไทด์

การรวมตัวของโปรตีนผ่านแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ และการเชื่อมโยงข้ามโควาเลนต์ การก่อตัวของโปรตีนคาร์บอนิล และการดัดแปลงกรดอะมิโนอะโรมาติกยังสามารถเกิดขึ้นได้ (Soladoye *et al.*, 2015)



ภาพที่ 2.3 ระดับอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน
ที่มา : Davis *et al.*, (1998)

ซึ่งสอดคล้องกับ Bhat *et al.* (2021) การปรุงอาหารด้วยอุณหภูมิต่ำจะปรับปรุงการย่อยโปรตีนโดยการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และการเกิดออกซิเดชันที่ไม่รุนแรง ซึ่งนำไปสู่การคลี่บางส่วนของโพลีเปปไทด์และสามารถเปิดไซต์ที่ทำงานอยู่กับเอนไซม์ย่อยอาหาร การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้สามารถเพิ่มการเข้าถึงของโปรตีนย่อยอาหารไปยังคลิเวจไซต์ ในทางกลับกันการปรุงอาหารด้วยอุณหภูมิสูงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น การเกิดออกซิเดชันอย่างรุนแรง การเกิดพันธะไดซัลไฟด์ และการรวมตัวของโปรตีน ซึ่งสามารถฝังส่วนที่ใช้งานอยู่ลึกเข้าไปในโครงสร้าง ซึ่งส่งผลให้การเข้าถึงเอนไซม์ย่อยอาหารลดลง มีรายงานว่าซูวีต (Sous-vide) ช่วยเพิ่มการย่อยของโปรตีนในกล้ามเนื้อ โดยกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน โครงสร้างจุลภาค และผ่านการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ภายในร่างกาย (ภาพที่ 2.4)

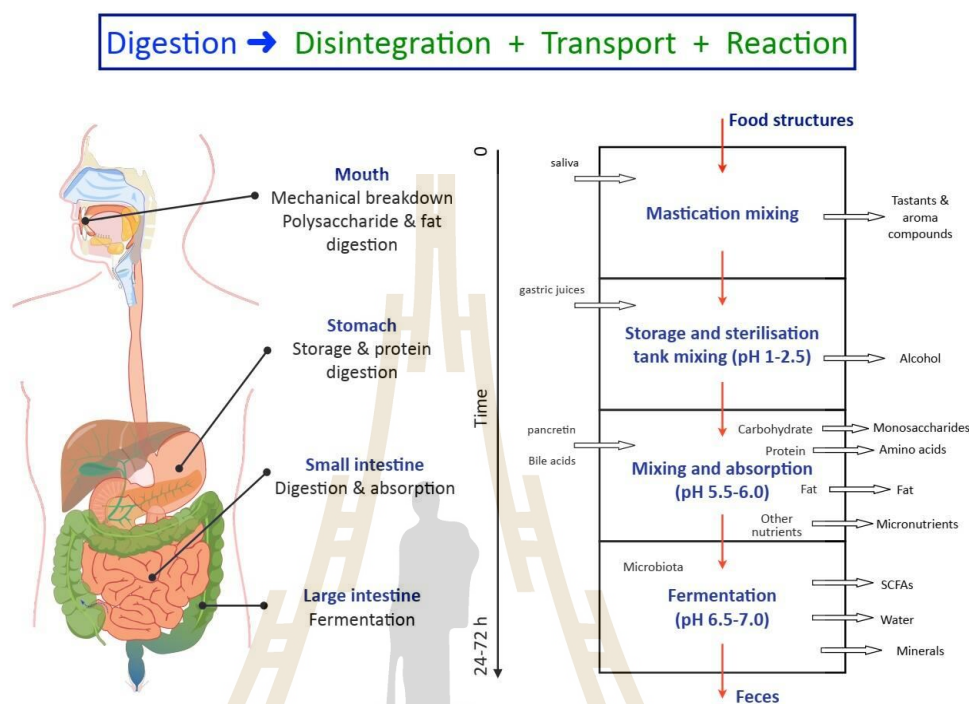


ภาพที่ 2.4 กลไกการแปรรูปด้วยความร้อนที่ส่งผลต่อการย่อยได้ของโปรตีนในกล้ามเนื้อ
ที่มา : Bhat *et al.* (2021)

2.6 การย่อยโปรตีนภายใต้ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์

การย่อยโปรตีนในกระเพาะอาหาร เอนไซม์เพปซินโนเจน (Pepsinogen) จะถูกเปลี่ยนเป็น เอนไซม์เพปซิน (Pepsin) ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ที่ pH ระหว่าง 3-5 และจะเกิดเร็วขึ้นเมื่อ pH < 3 เอนไซม์นี้ทำงานได้ดีสูงที่สุดที่ pH 1.8-3.5 และจะหยุดการทำงานเมื่ออยู่ในสภาวะ pH > 7 ลักษณะที่สำคัญของเพปซินคือ ย่อยคอลลาเจน ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในกล้ามเนื้อ เพปซินย่อยโปรตีนที่กระเพาะอาหารประมาณ 10%-15% ของโปรตีนทั้งหมดที่เข้าไปในกระเพาะอาหาร เพปซินย่อยโปรตีนได้โปรทีโอส (Proteose) เพปโตน (Peptone) และโพลิเพปไทด์ (Polypeptide) การย่อยโปรตีนโดยใช้เอนไซม์จากตับอ่อน การย่อยจะเกิดขึ้นที่ลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลาง โดยทริปซินและไคโมทริปซิน ซึ่งเป็นเอนโดเพปติเดสจะทำการย่อยโปรตีน ไดโอลิโกเพปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 2-6 ตัว ส่วนเอนไซม์คาร์บอกซีเพปติเดสจะย่อยพันธะเปปไทด์ทางด้านปลายคาร์บอกซิลของโปรตีน ได้กรดอะมิโน เอนไซม์อัลาสทินเป็นเอนโดเพปติเดสจะย่อยเส้นใยอัลาสทินที่อยู่ในเนื้อสัตว์ ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์จากตับอ่อนจะได้โอลิโกเพปไทด์ประมาณ 70% และกรดอะมิโนประมาณ 30% การย่อยเปปไทด์โดยใช้เอนไซม์เพปติเดสที่อยู่บนวิลไล การย่อยเกิดขึ้นที่ลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางที่เซลล์เอนเทอโรไซต์มีไมโครวิลไลจำนวนมากยื่นออกไปจากผิวหน้าของเซลล์ ที่เยื่อเซลล์ของแต่ละไมโครวิลไลจะมีเอนไซม์เพปติเดสยื่นส่วนที่จะทำการย่อยเปปไทด์ออกไป เอนไซม์เพปติเดสมี 2 ชนิด คือ อะมิโนโพลิเพปติเดส (Amino polypeptidase) และไดเพปติเดส (Dipeptidase) ซึ่งทำการย่อยโพลิเพปไทด์ขนาดใหญ่ได้เป็นไตรเพปไทด์ ไดเพปไทด์ และกรดอะมิโน ซึ่งจะถูกดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ (Norton *et al.* 2014) การย่อยภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ เอนไซม์เพปติเดส

ภายในไซโทพลาสซึมจะย่อยไคเพปไทด์และไตรเพปไทด์ได้กรดอะมิโน แล้วถูกดูดซึมเข้าสู่หลอดเลือด ดังนั้น 90% ของโปรตีนทั้งหมดจะถูกดูดซึมเข้าสู่หลอดเลือดในรูปของกรดอะมิโน (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 การย่อยโปรตีนภายใต้ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์
ที่มา : Norton *et al.* (2014)

การย่อยโปรตีนใช้แบบจำลองระบบการย่อยในหลอดทดลอง (INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion) เป็นการประยุกต์และเลียนแบบระบบทางเดินอาหารของมนุษย์จึงถูกนำมาใช้ โดยจะให้ความสำคัญต่อระบบทางเดินอาหารที่เกี่ยวข้องกับการย่อยและการดูดซึมสารอาหาร อวัยวะที่ถูกเลียนแบบในแบบจำลองนี้คือ ปาก กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก โดยจะเลียนแบบทั้งที่เป็นส่วนของเหลวต่าง ๆ ที่อยู่ในแต่ละอวัยวะ เช่น น้ำลาย น้ำย่อย ค่าความเป็นกรด-ด่าง และระยะเวลาที่อาหารอยู่ในแต่ละอวัยวะ ซึ่งแบบจำลองนี้ได้ถูกนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารต่าง ๆ เช่น โปรตีน แร่ธาตุ สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น เพื่อที่จะพิจารณาถึงความเสถียรของสารเมื่อผ่านระบบการย่อยอาหาร (Digestion stability) การขนส่งสารไปยังลำไส้ (Transport) และกระบวนการเผาผลาญที่เกิดขึ้นของสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ (Bioactive) อย่างไรก็ตาม *In vitro* simulated digestion models จัดเป็นสภาวะที่คงที่ ซึ่งในสภาวะที่เกิดขึ้นจริงในกระบวนการย่อยอาหารในมนุษย์นั้นเป็นระบบที่มีการเคลื่อนที่จึงไม่สามารถที่จะแสดงให้เห็นถึงผลของปัจจัยอื่น ๆ ดังเช่นในการศึกษาด้วย *In vivo* ได้ เช่น การบีบรัดของลำไส้ เป็นต้น

จากการศึกษาของ Mancini *et al.* (2021) ได้ทำการประเมินผลของเทคนิคการปรุงอาหาร 7 วิธี ต่อคุณค่าทางโภชนาการของหนอนนก โดยเน้นการวิเคราะห์ความสามารถในการย่อยโปรตีน โปรไฟล์กรดไขมัน (FA) และสถานะการเกิดออกซิเดชัน ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรุงสุก (UC) ถูกใช้เป็นกลุ่มควบคุม และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ผ่านการให้ความร้อน คือ อบที่ 70°C เป็นเวลา 30 นาที (OC70-30) อบที่ 150°C เป็นเวลา 10 นาที (OC150-10) ทอดน้ำมันท่วมในน้ำมันทานตะวัน (DF) ทอดในกระทะ (PF) ไมโครเวฟ (MW) การต้มในถุงสุญญากาศ (BO) และการนึ่ง (ST) โดยพบว่าความสามารถในการย่อยโปรตีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญในตัวอย่างที่ผ่านการปรุงสุกทั้งหมด เมื่อเทียบกับหนอนนกที่ไม่ผ่านกระบวนการปรุง (UC) หลังจากการย่อยจำลองในสภาวะของกระเพาะอาหาร การปรุงอาหารอาจนำไปสู่การก่อตัวของสารอินทรีย์เชิงซ้อนที่ย่อยได้ยากโดยเอนไซม์เปปซิน โดยเฉพาะเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการให้ความร้อน เช่น การสร้างพันธะเอไมด์ หรือ พันธะไดซัลไฟด์ (Kaur *et al.*, 2014) ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ โดยในบรรดาเทคนิคการปรุงอาหารทั้งหมด พบว่า การทอดแบบน้ำมันท่วม (DF) ให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนต่ำที่สุดภายใต้การย่อยจำลองในกระเพาะอาหาร รองลงมาคือกลุ่มที่อบที่อุณหภูมิ 150°C นาน 10 นาที (OC150-10) การทอดในกระทะ (PF) และการต้ม (BO) โดยมีความแตกต่างเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่อบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 30 นาที (OC70-30) ไมโครเวฟ (MW) และการนึ่ง (ST) ในทางกลับกัน หลังจากการย่อยจำลองในลำไส้เล็ก (Duodenal digestion) ค่าการย่อยโปรตีนของตัวอย่างที่ผ่านการปรุงทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในกลุ่ม OC70-30, PF, DF และ ST ส่วนในกลุ่ม UC ซึ่งไม่ได้ผ่านความร้อน มีค่าการย่อยโปรตีนไม่เปลี่ยนแปลง แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของแมทริกซ์ในหนอนนกดิบไม่ถูกย่อยเพิ่มเติมหลังจากผ่านขั้นตอนของกระเพาะอาหาร แนวโน้มนี้สะท้อนให้เห็นว่าการปรุงอาหารสามารถเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนในช่วงการย่อยที่ลำไส้เล็กได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะในกลุ่มที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิต่ำ (OC70-30) ซึ่งให้ค่าการย่อยสูงสุด รองลงมาคือกลุ่ม UC และ ST ผลการศึกษานี้สอดคล้องบางส่วนกับงานของ Caparros Megido *et al.* (2018) แม้ว่าจะมีความแตกต่างกันในด้านเทคนิคและวิธีการปรุงอาหารที่ใช้โดยเฉพาะการทอด ซึ่งมีแนวโน้มลดความสามารถในการย่อยโปรตีน อันเป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างกระบวนการปรุง ความเสียหายที่เกิดจากออกซิเดชันของไขมันอาจทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีน ส่งผลให้โครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนเปลี่ยนไป และลดความสามารถในการถูกย่อยโดยเอนไซม์ ความสามารถในการย่อยโปรตีนไม่ได้มีความสำคัญเฉพาะในแง่ของคุณค่าทางโภชนาการเท่านั้น แต่ยังเกี่ยวข้องกับความเสี่ยงที่อาจเป็นอันตราย โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Colorectal cancer) เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่ย่อยไม่สมบูรณ์ซึ่งเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ อาจก่อให้เกิดผลกระทบในทางลบต่อเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้ใหญ่ ดังนั้นควรเลือกวิธีการปรุงอย่างระมัดระวังเพื่อคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ให้สูงที่สุด (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.9 การย่อยได้ในหลอดทดลองของหนอนนกที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยเทคนิคต่าง ๆ

Cooking method	Digestibility (%)	References
Control (Raw)	85.0 ^b	Caparros <i>et al.</i> , (2018)
Vacuum-cooked 74°C for 60 min	90.5 ^a	
Pan fried for 1 min	87.2 ^b	
Boiled at 100°C for 1 min	90.1 ^a	
Oven cooked at 70°C for 15 min	91.5 ^a	
Oven cooked at 70°C for 30 min	90.4 ^a	
Control (Raw)	60.0 ^b	Mancini <i>et al.</i> , (2021)
Oven cooked at 70°C for 30 min	75.0 ^a	
Deep fried 1 min	40.0 ^c	

2.7 คุณสมบัติทางชีวภาพของเปปไทด์จากหนอนนก

2.7.1 การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Properties)

อนุมูลอิสระ (Free radicals) เป็นโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ในวงโคจร ส่งผลให้มีความไม่เสถียรและมีแนวโน้มที่จะเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลชีวภาพอื่น ๆ เช่น โปรตีน ไขมัน และดีเอ็นเอ เป็นต้น ซึ่งนำไปสู่ภาวะที่เรียกว่า Oxidative stress ภาวะนี้สัมพันธ์กับการเกิดโรคเรื้อรังมากมาย เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ เบาหวาน และมะเร็ง (Pham-Huy *et al.*, 2008) การจัดการกับอนุมูลอิสระเป็นเป้าหมายสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งรวมถึงเปปไทด์จากแหล่งโปรตีนธรรมชาติ

ในแมลงเมื่อผ่านการไฮโดรไลซิสบางส่วนแล้ว ได้รับการยอมรับว่าเป็นแหล่งของเปปไทด์ต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ โดยเฉพาะไฮโดรเลทที่ได้จากการย่อยแบบ *In vitro* ของแมลงหลากหลายชนิด เช่น แมลงสาบ ตั๊กแตน จิ้งหรีด และหนอนนก ได้แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระอย่างชัดเจน ซึ่งมีการประเมินโดยใช้วิธีต่าง ๆ เช่น การกำจัดอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging) ความสามารถในการจับโลหะ (Chelating capacity) และการทดสอบพลังรีดักชัน (Reducing power assay) (Messina *et al.*, 2019) การเพิ่มระดับการไฮโดรไลซิสและการลดน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์เหล่านี้สามารถเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ การเสริมฤทธิ์ดังกล่าวเกิดจากข้อเท็จจริงที่ว่าเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะเปิดเผยหมู่กรดอะมิโนมากขึ้น ซึ่งช่วยให้สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hall *et al.*, 2018) อย่างไรก็ตามคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปปไทด์เหล่านี้อาจขึ้นอยู่กับชนิดของแมลง (Species-specific) และอาจไม่ได้ขึ้นอยู่กับระดับของการไฮโดรไลซิสเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ องค์ประกอบและลำดับของกรดอะมิโนในเปปไทด์ยังเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Rossi *et al.*, 2023) ซึ่งเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจากหนอนนกนั้นมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยผ่านกลไกการให้โปรตอน การจับโลหะหนัก และการบริจาคอิเล็กตรอน (Zielińska *et al.*, 2017; Messina *et al.*,

2019) การศึกษาโดย Kim *et al.* (2018) พบว่า การสกัดโปรตีนจากหนอนนกด้วยเอทานอล 72% ที่อุณหภูมิ 88.1°C เป็นเวลา 43.7 นาที ให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูง นอกจากนี้ยังพบว่า เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น NYVADGLG, AAAPVAVAK, YDDGSYKPH และ AGDDAPR มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูง (Zielińska *et al.*, 2017) (ตารางที่ 2.10)

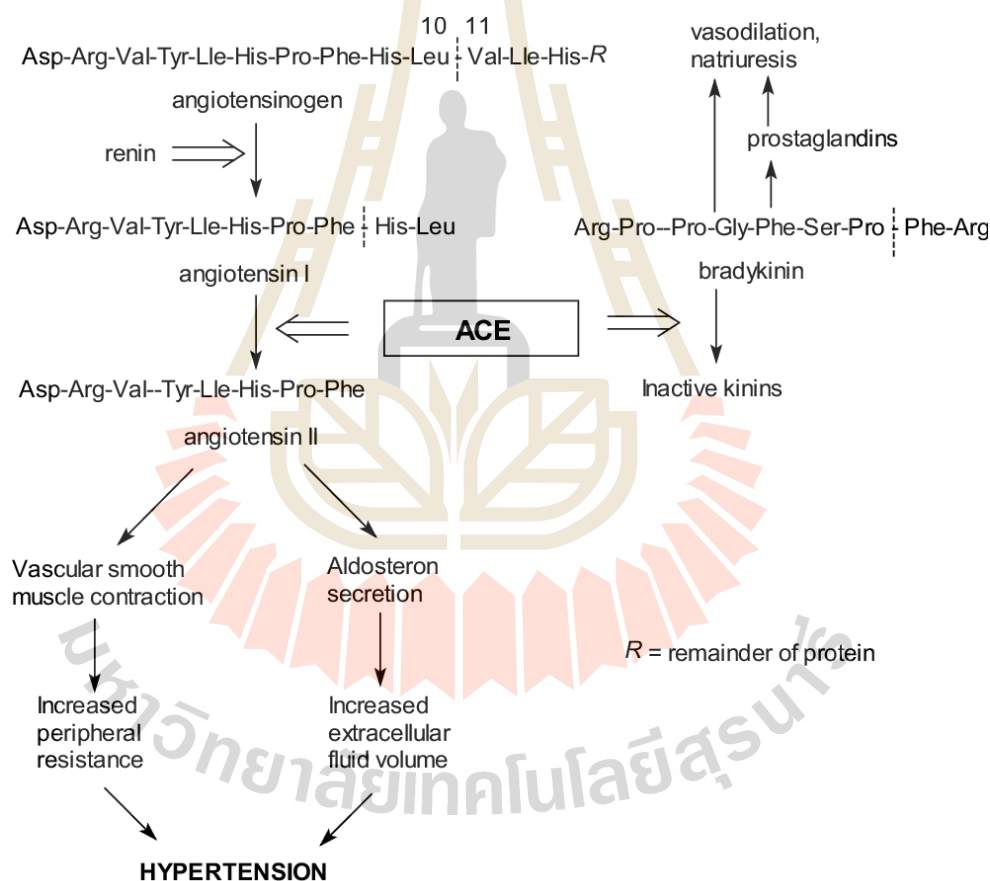
การศึกษาของ Baek *et al.* (2019) ผลของวิธีการแปรรูปที่แตกต่างกันต่อองค์ประกอบทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของหนอนนก โดยหลังจากผ่านกระบวนการแปรรูป 9 วิธี ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่แข็ง (Freeze drying) การอบลมร้อน (Hot air drying) การย่างด้วยเตาอบ (Oven broiling) การคั่ว (Roasting) การทอดด้วยกระทะ (Pan frying) การทอดแบบน้ำมันท่วม (Deep frying) การต้ม (Boiling) การนึ่ง (Steaming) และการใช้ไมโครเวฟ (Microwaving) พบว่า หนอนนกที่ผ่านกระบวนการ Microwaving, Freeze drying, Deep frying, Steaming, Boiling และ Oven broiling มีความสามารถในการดักจับอนุมูล DPPH อยู่ในช่วง 20.9-29.0% ที่ความเข้มข้น 2,000 µg/mL ซึ่งใกล้เคียงกับฤทธิ์ของ Tocopherol ที่ความเข้มข้น 40-60 µM และ Freeze drying เป็นเพียงวิธีเดียวที่มีค่า ABTS สูงกว่า Tocopherol ที่ 10 µM นอกจากนี้ผลของการปรุงด้วยวิธีต่าง ๆ ก็มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเปปไทด์จากหนอนนก โดยการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (Freeze-drying) หรือการอบด้วยอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 30 นาที ส่งผลให้สารต้านอนุมูลอิสระยังคงอยู่สูง เมื่อเทียบกับการทอดหรืออบที่อุณหภูมิสูงซึ่งมักทำให้เปปไทด์เสื่อมคุณภาพและเกิดผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันของไขมันที่รบกวนการทำงานของเปปไทด์ (Mancini *et al.*, 2021)

ดังนั้น เปปไทด์จากหนอนนกแสดงศักยภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปพัฒนาเป็นองค์ประกอบสำคัญในอาหารฟังก์ชัน อาหารเสริม หรือผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มุ่งเน้นการป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะ Oxidative stress

2.7.2 การยับยั้งกิจกรรมของ ACE (Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activity)

Renin Angiotensin System (RAS) เป็นระบบหลักที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงในร่างกาย (Eriksson *et al.*, 2002) RAS จะถูกกระตุ้นหลังจากที่ความดันโลหิตลดต่ำลง โดยเรนินซึ่งเป็นไกลโคโปรตีน ถูกสังเคราะห์จาก Juxtaglomerular cells ที่ไตและปลดปล่อยเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตของร่างกายในที่สุด เรนินมีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ทำหน้าที่ในการตัดพันธะเปปไทด์ของโมเลกุล Angiotensinogen เปลี่ยนเป็น Angiotensin I ซึ่งอยู่ในสภาพที่ยังไม่ทำงาน จากนั้น Angiotensin converting enzyme (ACE) จะทำหน้าที่ตัดกรดอะมิโนสองตัวคือ His-Leu จากปลายด้านคาร์บอกซิลของ Angiotensin I ได้ผลิตภัณฑ์ Angiotensin II ซึ่งมีผลทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น (ภาพที่ 2.6) นอกจากนี้ยังมีผลต่อ Bradykinin ซึ่งเป็นเปปไทด์ที่ร่างกายหลั่งออกเมื่อเกิดบาดแผลหรือการกระทบกระเทือน โดย Bradykinin มีผลให้ความดันเลือดต่ำลง แต่ ACE จะย่อยเปปไทด์ที่ปลายสายคาร์บอกซิลของ Bradykinin เป็น Kinin ซึ่งไม่มีผลต่อการลดความดันเลือด ดังนั้น เอนไซม์ ACE จึงมีผลต่อการเพิ่มของ Angiotensin II ซึ่งมีผลเพิ่มความดันโลหิต และลดปริมาณ Bradykinin ซึ่งเป็นเปปไทด์ที่มีผลลดความดันโลหิต

เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ACE มักได้จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ เช่น อัลคาเลส (Alcalase) ทริปซิน (Trypsin) เพปซิน (Pepsin) และ แพนครีเอติน (Pancreatin) ซึ่งพบว่า มีผลต่อการยับยั้ง ACE โดยเปปไทด์จะทำหน้าที่เลียนแบบโครงสร้างของ Angiotensin I ซึ่งเป็น Substrate ธรรมชาติของ ACE และเข้าไปจับกับบริเวณ Active site ของเอนไซม์แทนที่ Angiotensin I โดยเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนที่มีขนาดใหญ่และมีหมู่ไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) เช่น โพรลีน (Proline) ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) ลิวซีน (Leucine) หรือ วาลีน (Valine) โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง C-terminal ของเปปไทด์แสดงผลการยับยั้งได้ดี (Li-Chan, 2015) การจับที่แข็งแรงนี้จะยับยั้งไม่ให้ ACE ทำหน้าที่ได้ โดยเปปไทด์จากหอนกสามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง Angiotensin-converting enzyme (ACE) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในระบบเรนิน-แองจิโอเทนซินที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมความดันโลหิต

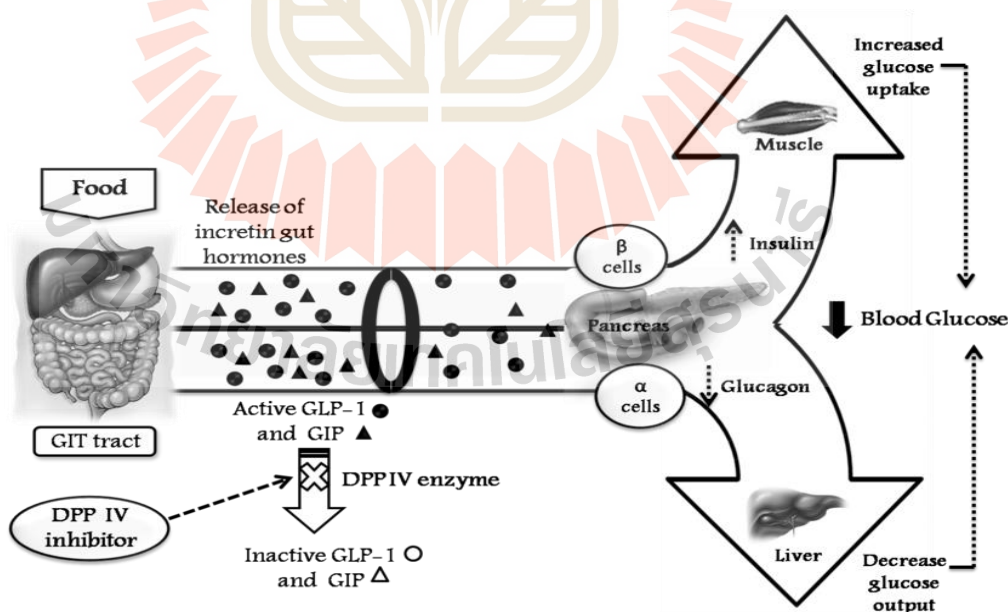


ภาพที่ 2.6 กลไกการเกิดความดันโลหิตสูง
ที่มา : Barbosa *et al.* (2006)

2.7.3 ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ DPP-IV (Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor)

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) คือ สภาวะที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูง เกิดเนื่องจากความผิดปกติของร่างกายในการไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลิน หรือปริมาณฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอต่อร่างกาย จากการศึกษาทางระบาดวิทยาทั่วโลกในปี ค.ศ. 2000 มีประชากรทุกช่วงอายุเป็นโรคเบาหวานประมาณ 2.8% และมีการประมาณการว่าในปี ค.ศ. 2030 จะมีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นเป็น 4.4% (Acharjee *et al.*, 2013) ปัจจุบันพบว่า ประชากรส่วนใหญ่มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดเบาหวานชนิดที่ไม่พึ่งอินซูลิน (Non-insulin dependent diabetes) หรือโรคเบาหวานชนิดที่ 2 กันมากขึ้น ซึ่งเกิดจากการใช้ชีวิตและพฤติกรรมการบริโภคที่เปลี่ยนแปลงไป (Perfetti *et al.* 1998) โดยแนวทางการรักษาโรคเบาหวานนั้น มุ่งเน้นการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด

กระบวนการยับยั้งไดเปปทิเดส IV (Dipeptidyl Peptidase IV, DPP-IV) เป็นเอนไซม์เซรีนโปรตีเอสที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมระดับกลูโคสในเลือด โดยทำหน้าที่ตัดกรดอะมิโน 2 ตำแหน่งแรก (X-Pro หรือ X-Ala) จากปลาย N-terminal ของ ฮอร์โมนอินครีติน (Incretin hormones) ได้แก่ Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) และ Glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) ซึ่งมีหน้าที่กระตุ้นการหลั่งอินซูลิน เมื่อ GLP-1 และ GIP ถูกทำลายโดย DPP-IV ความสามารถในการควบคุมระดับกลูโคสจะลดลง การยับยั้ง DPP-IV จึงเป็นกลไกสำคัญในการควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 นอกจากนี้กระบวนการยับยั้งเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโอลิโกและไดแซ็กคาไรด์ก็เป็นอีกวิธีที่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลหลังรับประทานอาหาร (Postprandial glucose) โดยยับยั้งเอนไซม์ที่อยู่บริเวณผนังลำไส้เล็ก ส่งผลให้การดูดซึมกลูโคสในลำไส้บริเวณทางเดินอาหารช้าลง (Franco *et al.*, 2002) (ภาพที่ 2.7)



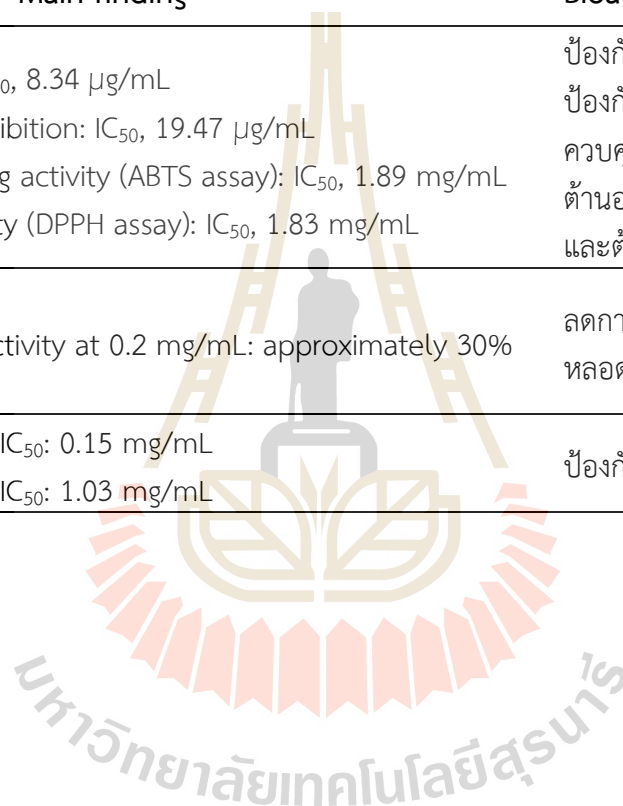
ภาพที่ 2.7 กลไกการออกฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV
ที่มา : Patil *et al.* (2015)

ตารางที่ 2.10 เปปไทด์จากหนอนนกที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Peptide	Main finding	Bioactive property	References
NYVADGLG	- ACE inhibition: IC₅₀, 12.09 µg/mL - α-Glucosidase inhibition: IC₅₀, 20.37 µg/mL - Radical scavenging activity (ABTS assay): IC₅₀, 3.71 mg/mL - Antioxidant activity (DPPH assay): IC₅₀, 0.99 mg/mL - Fe²⁺ chelating activity: IC₅₀, 0.198 mg/mL		
AAAPVAVAK	- ACE inhibition: IC₅₀, 8.31 µg/mL - α-Glucosidase inhibition: IC₅₀, 10.92 µg/mL - Radical scavenging activity (ABTS assay): IC₅₀, 0.94 mg/mL - Antioxidant activity (DPPH assay): IC₅₀, 1.02 mg/mL - Fe²⁺ chelating activity: IC₅₀, 0.108 mg/mL	ป้องกันความดันโลหิตสูง ป้องกันโรคเบาหวาน ควบคุมน้ำหนัก ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ	Zielinska <i>et al.</i> , 2018
YDDGSYKPH	- ACE inhibition: IC₅₀, 5.81 µg/mL - Radical scavenging activity (ABTS assay): IC₅₀, 1.02 mg/mL - Antioxidant activity (DPPH assay): IC₅₀, 1.91 mg/mL - Fe²⁺ chelating activity: IC₅₀, 0.107 mg/mL		

ตารางที่ 2.10 เปปไทด์จากหนอนนกที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ต่อ)

Peptide	Main finding	Bioactive property	References
AGDDAPR	- ACE inhibition: IC₅₀, 8.34 µg/mL - α-glucosidase inhibition: IC₅₀, 19.47 µg/mL - Radical scavenging activity (ABTS assay): IC₅₀, 1.89 mg/mL - Antioxidant activity (DPPH assay): IC₅₀, 1.83 mg/mL	ป้องกันความดันโลหิตสูง ป้องกันโรคเบาหวาน ควบคุมน้ำหนัก ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ	Zielinska <i>et al.</i> , 2018
RP-HPLC fraction of pepsin and trypsin hydrolysate	- Antithrombotic activity at 0.2 mg/mL: approximately 30%	ลดการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด	Chen <i>et al.</i> (2019)
LPDQWDWR	- DPP-IV inhibition: IC₅₀: 0.15 mg/mL	ป้องกันโรคเบาหวาน	Tan <i>et al.</i> (2022)
APPDGGFWEGD	- DPP-IV inhibition: IC₅₀: 1.03 mg/mL		



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลองและการจัดการสัตว์ทดลอง

3.1.1 คำชี้แจงจริยธรรม

การทดลองได้รับการอนุมัติโดยคณะกรรมการจริยธรรมด้านการใช้ซากสัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย ใบอนุญาตใช้สัตว์ทดลองเลขที่ SUTACUC-005/2023

3.1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

หนอนนก (*Tenebrio molitor* Linnaeus 1758; Coleoptera; Tenebrionidae) ได้รับมาจากห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประเทศไทย) ถูกเลี้ยงด้วยอาหารไก่พื้นเมืองอายุแรกเกิดถึงส่งตลาด ตราเฟี้ยวไพรด์ฟิตส์ เบอร์ 7410 โปรตีน 14% ใส่อาหารหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ลงในถาดพลาสติก (32 x 40 x 10 เซนติเมตร) ภายใต้การผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ มีสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ 70% มีการควบคุมช่วงแสง 10:14 ชั่วโมง และให้แครอทสับดาห์ละครึ่ง มีการตรวจสอบคัดหนอนนกที่ตายอยู่ภายในถาดออกสัปดาห์ละ 3 ครั้ง จากนั้นจะมีการเก็บเกี่ยวหนอนนกระยะตัวหนอนอายุประมาณ 80-85 วัน ระยะดักแด้ เมื่อสังเกตเห็นเป็นดักแด้หรืออายุ 1 วัน และตัวเต็มวัย อายุประมาณ 10-15 วัน (ภาพที่ 3.1) โดยหนอนนกแต่ละระยะจะถูกให้อาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณอาหารที่เหลือในระบบทางเดินอาหาร และถูกฆ่าโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C



ภาพที่ 3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหนอนนกในแต่ละระยะ : (ก) ตัวหนอนที่มีลำตัวเป็นส่วน ๆ สีน้ำตาล (ข) ดักแด้ที่มีสีเหลืองขาว และ (ค) แมลงตัวเต็มวัยที่มีเกราะแข็งสีน้ำตาลดำ

3.2 การทดลองที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ คือ ตัวหนอน ดักแด่ และตัวเต็มวัย เพื่อตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการและโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนก

3.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ

3.2.1.1 ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนตามวิธี Kjeldahl (AOAC, 2016) โดยชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ลงในหลอดย่อย เติมสารเร่งปฏิกิริยา (CuSO_4 และ K_2SO_4 ในอัตราส่วน 1:10) จำนวน 1 กรัม และ 93-98% H_2SO_4 จำนวน 15 มิลลิลิตร นำไปต้มบนเครื่องย่อย โดยนำ Kjeldahl flask ไปต่อเข้ากับเครื่องย่อยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 380°C ย่อยทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือทำการย่อยจนได้สารละลายใส หลังจากนั้นนำ Flask ไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปต่อเข้ากับเครื่องสำหรับกลั่น (รุ่น Gerhardt Vapodest 400) โดยจะมีการเติมน้ำกลั่น จำนวน 50 มิลลิลิตร และเติม 32% NaOH จำนวน 80 มิลลิลิตรเติม 4% Boric acid จำนวน 25 มิลลิลิตร (เพื่อดักจับแอมโมเนีย) ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วหยด Indicator (Bromocresol green จำนวน 0.1 กรัม และ Methyl red จำนวน 0.2 กรัม ละลายใน Ethanol จำนวน 100 มิลลิลิตร) จำนวน 3 หยด แล้วนำไปต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่น ทำการกลั่นจนสารละลายในขวดรูปชมพู่มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร Boric acid จะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ไปไตเตรตกับ 0.1N HCl จนกระทั่งสีเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน จดบันทึกปริมาณกรดที่ใช้ในการไตเตรต ทำแบลнк (Blank) ด้วยวิธีเดียวกันแต่ไม่มีตัวอย่าง

คำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{ไนโตรเจน (\%)} = ((A-B) \times 0.014 \times N \times 100) / C \quad (1)$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \text{ไนโตรเจน (\%)} \times \text{Empirical factor}^* \quad (2)$$

โดยที่ A คือ ปริมาตรของ Std. HCl ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง (sample)

B คือ ปริมาตรของ Std. HCl ที่ใช้ในการไตเตรตแบลнк (blank)

C คือ น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

N คือ ความเข้มข้นของ Std. HCl ที่ทราบค่ามาตรฐานแน่นอน ประมาณ 0.1-0.2N

* Empirical factor ค่าโดยทั่วไป 6.25

3.2.1.2 ปริมาณความชื้นและของแข็งทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธี AOAC (2016) โดยนำถ้วยอะลูมิเนียมอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในตู้ดูดความชื้นประมาณ 15 นาที นำออกมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า จากนั้นชั่งตัวอย่างใส่ประมาณ 2 กรัม แล้วจดบันทึกไว้ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา

3-4 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นแล้วนำไปชั่งพร้อมจตน้ำหนัก

คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ความชื้น (\%)} = ((A-B) \times 100)/C \quad (3)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม + ตัวอย่างก่อนอบแห้ง

B คือ น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม + ตัวอย่างหลังอบแห้ง

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.1.3 ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวมตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 6 กรัม ลงในปิกรอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Chloroform:Methanol (อัตราส่วน 2:1) จำนวน 36 มิลลิลิตร ปั่นผสมตัวอย่างให้เข้ากับตัวทำละลายด้วยเครื่อง Homogenizer (Homogenizer IKA T 18 digital ULTRA-TURRAX®) ประมาณ 2 นาที ตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองและเทส่วนที่เป็นของเหลวลงในกรวยแยกแล้วเติม Chloroform จำนวน 10 มิลลิลิตร น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water หรือ DI water) จำนวน 10 มิลลิลิตร และ 0.58% NaCl จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดกับตัวอย่างโดยการเขย่ากรวยแยก เพื่อให้ไขมันเกิดการแตกตัวแล้วตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการแยกชั้นของไขมันประมาณ 2 ชั่วโมง หรือข้ามคืน จากนั้นแยกชั้นของคลอโรฟอร์มใสในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Na₂SO₄ จำนวน 1-2 ช้อน เขย่าเพื่อให้สารละลายใสขึ้น กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ลงในขวดรูปชมพู่ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105°C และชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้วนำตัวอย่างไปทำแห้งบนกระดาษทรายเพื่อระเหยตัวทำละลาย และอบต่อที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน

คำนวณปริมาณไขมันรวมจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = ((B-A) \times 100)/C \quad (4)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักของ flask อบแห้ง

B คือ น้ำหนักของ flask + ตัวอย่างหลังการอบ

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.1.4 ปริมาณเยื่อใยหยาบ

การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบตามวิธีของ AOAC (2016) โดยชั่งตัวอย่าง 2-3 กรัม ใส่ลงในปิกรอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร เติม 1.25% H₂SO₄ จำนวน 200 มิลลิลิตร หยด Octanol จำนวน 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง นำไปต้มให้เดือดบนแผ่นให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมากรองด้วยผ้าลินินบนกรวยกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นร้อนจนหมดกรด

ถ่ายตะกอนคั่นลงในปิកเกอร์ เติม 1.25% NaOH จำนวน 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที แล้วรับนำมากรองด้วยผ้าลินินบนกรวยกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นร้อนจนหมดกรด แล้วล้างตะกอนต่อด้วย Acetone จำนวน 50 มิลลิลิตร ถ่ายตะกอนลงในถ้วยกระเบื้องไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก นำถ้วยกระเบื้องไปเผาที่เตาเผา (ผลิตภัณฑ์ CARBOLITE รุ่น AAF 11/7 ASHING FURNACE) อุณหภูมิประมาณ 550°C เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

คำนวณปริมาณเยื่อใยหยาบจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = ((A-B) \times 100)/C \quad (5)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง + ตัวอย่างก่อนเผา

B คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง + ตัวอย่างหลังเผา

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.1.5 ปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์เถ้าตามวิธีของ AOAC (2016) โดยนำถ้วยกระเบื้องไปเผาที่เตาเผา (ผลิตภัณฑ์ CARBOLITE รุ่น AAF 11/7 ASHING FURNACE) อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นและชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ลงในถ้วยกระเบื้อง นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผาและทิ้งไว้ให้เย็น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

คำนวณปริมาณเถ้าในตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = ((A-B) \times 100)/C \quad (6)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง + ตัวอย่างหลังเผา

B คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.2 การวิเคราะห์หาโคติน

การวิเคราะห์หาโคติน โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Fadlaoui *et al.* (2019) โดยชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม แล้วเติม 5% HCl จำนวน 200 มิลลิลิตร หยด Octanol จำนวน 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง นำไปต้มให้เดือดบนแผ่นให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดแร่ธาตุต่าง (Demineralisation) นำมากรองด้วยผ้าลินินบนกรวยกรอง แล้วล้างให้สะอาดจนหมดกรด จากนั้นนำมาต้มใน 2% NaOH จำนวน 200 มิลลิลิตร ที่ 70°C-90°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อกำจัดโปรตีน (Deproteinisation) จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าลินินบนกรวยกรอง แล้วล้างจนกระทั่งหมดต่าง แล้วหยด 95% Ethanol จำนวน 2-3 หยด เพื่อกำจัดสี (Decoloration) และทำให้แห้งในเตาอบที่

อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งพร้อมজনน้ำหนัก

คำนวณปริมาณไคตินจากสูตร

$$\text{ไคติน (\%)} = ((A-B) \times 100)/C \quad (7)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม + ตัวอย่างก่อนอบแห้ง

B คือ น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม + ตัวอย่างหลังอบแห้ง

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุในตัวอย่าง โดยดัดแปลงจากวิธีของ Paranthaman *et al.* (2014) ชั่งตัวอย่างประมาณ 500 มิลลิกรัม แล้วเติมสารผสมระหว่าง 65% Nitric acid กับ 30% H₂O₂ ในอัตราส่วน 3:1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปย่อยที่อุณหภูมิ 110-130°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากตัวอย่างย่อยสมบูรณ์แล้ว กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 หรือ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดดูดกลืนแสงของอะตอม (Atomic Absorption Spectrophotometer; AAS, PerkinElmer PinAAcle 900F) ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ

คำนวณปริมาณแร่ธาตุจากสูตร

$$\text{ปริมาณธาตุ (mg/100g)} = (C \times V \times DF \times 100)/W \quad (8)$$

โดยที่ C = ความเข้มข้นของธาตุในสารละลาย (mg/L หรือ ppm)

V = ปริมาตรสุดท้ายของสารละลาย (mL หรือ L) ที่เจือจางจากตัวอย่าง

DF = ตัวคูณการเจือจาง (Dilution Factor)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (g) ที่ใช้วิเคราะห์

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Pongsetkul *et al.* (2017) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ การสกัดไขมัน การเตรียม Fatty Acid Methyl Ester (FAME) และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) โดยขั้นตอนที่ 1 การสกัดไขมันจากตัวอย่างด้วยวิธี Folch *et al.* (1957) ขั้นตอนที่ 2 การเตรียม FAME (Morrison and Smith, 1964) ตูตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม (Round bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.5M NaOH ใน Methanol จำนวน 4 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาที จากนั้น Reflux จนได้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้เวลาประมาณ 5 นาที ทิ้งให้เย็น แล้วเติม 20% Boron-trifluoride ใน Methanol จำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่า 30 วินาที แล้ว Reflux ต่ออีก 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เทสารละลายที่ได้ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 100 มิลลิลิตร เติม NaCl จำนวน

5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Iso-octane (2, 2, 4-trimethylpentane) จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex 30 วินาที ตั้งไว้ให้แยกชั้น จากนั้นเก็บสารละลายชั้นบน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Microcentrifuge tube ที่มี Na₂SO₄ ปริมาณ 1 มิลลิกรัม แล้วปิด Microcentrifuge tube ให้สนิท เก็บในตู้เย็นเพื่อรอการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ดูดสารละลาย FAME ที่เตรียมไว้ 2 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง GC (GC-2010 Shimadzu, Japan) ควบคุมด้วยโปรแกรม GC-solution แล้วคำนวณปริมาณกรดไขมัน

คำนวณปริมาณกรดไขมันจากสูตร

$$\text{mg of fatty acid} / 100 \text{ g of sample} = ((\text{AFA}_{\text{sample}} / \text{AFA}_{\text{STD}}) \times \text{CFA}_{\text{STD}} \times V_{\text{iso-octane}} \times V_{\text{Chloroform}} \times 100) / \text{Sample weight} \quad (9)$$

โดยที่	AFA in sample	คือ	พื้นที่พีคของกรดไขมันในตัวอย่าง
	AFA in STD	คือ	พื้นที่พีคของกรดไขมันในสารมาตรฐาน
	CFA in STD (mg/ml)	คือ	ความเข้มข้นของกรดไขมันในสารมาตรฐาน
	V _{iso-octane} (ml)	คือ	ปริมาตรตัวทำละลายไอโซออกเทนที่ใช้
	V _{Chloroform} (ml)	คือ	ปริมาตรคลอโรฟอร์มที่ใช้ในการสกัด
	Sample weight (g)	คือ	น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.5 การวิเคราะห์กรดอะมิโน

การวิเคราะห์กรดอะมิโน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hamzeh *et al.* (2020) การเตรียมตัวอย่างโดยชั่ง 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 6M HCl จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer (Vortex genie 2, Scientific Industries, United States) จากนั้นนำไปใส่ใน Heating Bath (B-300 Base, Buchi, Switzerland) เพื่อทำการย่อยที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ทำการปรับปริมาตรตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิเปตส่วนสารละลายมาทำการเจือจางด้วย 0.1M Ammonium Formate และกรองผ่าน Syringe Filter ที่ความละเอียด 0.2 ไมโครเมตร ใส่ในขวดสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS (LCMS-8060, Shimadzu, Japan) การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์กรดอะมิโน Tryptophan ทำการทดลองตามวิธีข้างต้น โดยเปลี่ยนสารละลายที่ใช้ในการย่อย จาก 6M HCl เป็น 4.2M NaOH แทน แล้วนำตัวอย่างที่ย่อยแล้วมาทำการตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนด้วยเครื่อง LC-MS/MS (LCMS-8060, Shimadzu, Japan) โดยใช้ Column ชนิด Intrada Amino Acid (Pure Spherical Silica) ขนาด 50 x 3 มิลลิเมตร หรือ 3 ไมโครเมตร สารละลายตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร ถูกฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS ใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่ 2 ชนิด คือ Solvent A (Acetonitrile with 0.1% Formic Acid) และ Solvent B (0.1M Ammonium Formate) ตั้งโปรแกรมการวิเคราะห์แบบ Gradient 0-3 นาที (14% B), 3-10 นาที (100% B), 10-15 นาที (14% B) ที่อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตร/นาที จากนั้นทำการคำนวณหาปริมาณของกรดอะมิโนและไดเปปไทด์ที่ได้จากกราฟสารมาตรฐาน

คำนวณปริมาณกรดอะมิโนจากสูตร

$$\text{ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g)} = (C \times V \times DF \times 100)/W \quad (10)$$

โดยที่ C = ความเข้มข้นของธาตุในสารละลาย (mg/L หรือ ppm)
 V = ปริมาตรสุดท้ายของสารละลาย (mL หรือ L) ที่เจือจางจากตัวอย่าง
 DF = ตัวคูณการเจือจาง (Dilution Factor)
 W = น้ำหนักตัวอย่าง (g) ที่ใช้วิเคราะห์

3.2.6 การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วย Sodium Dodecyl Sulfate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Luasiri *et al.* (2024) โดยใช้ 12% Gel acrylamide ในการวิเคราะห์ขนาดโปรตีน โดยเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Spectra Multicolor Low Range Protein Ladder, Thermo Fisher Scientific) ให้ความต่างศักย์ 100 โวลต์กับเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำเจลออกมาย้อมสีในสารละลาย Coomassie brilliant blue R250 และล้างเจลด้วยสารละลาย 10% Acetic acid ใน 50% Methanol จนเห็นแถบโปรตีนล้างด้วยน้ำกลั่น เปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลกับโปรตีนมาตรฐาน

3.2.7 การวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิ โดยวิธี Fourier transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy

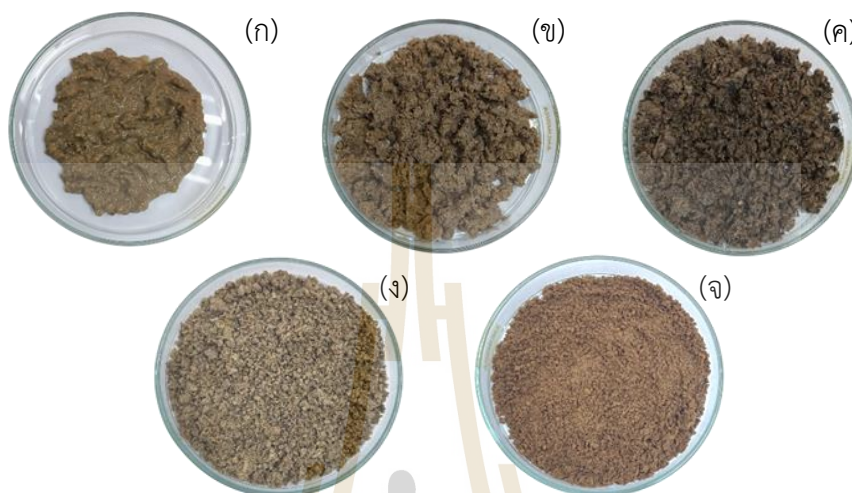
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR เริ่มต้นด้วยการเตรียมตัวอย่างที่บดเป็นผงประมาณ 2-5 มิลลิกรัม ไปวางในช่องวิเคราะห์ของเครื่อง FT-IR และตั้งค่าให้สแกนอินฟราเรดช่วงความยาวคลื่นกลาง ($4000-400 \text{ cm}^{-1}$) โดยมีความละเอียด 4 cm^{-1} และทำการสแกนแต่ละตัวอย่างจำนวน 64 ครั้ง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่แม่นยำ เมื่อได้สเปกตรัมแล้ว ทำการวิเคราะห์เพื่อระบุฟังก์ชันนอลกรุป (Functional groups) และเปรียบเทียบผลกับสเปกตรัมของตัวอย่าง โดยทำการแปลงกราฟ FT-IR spectrum ในช่วงของ Amide I, II และ III แสดงข้อมูลความสัมพันธ์แบบ Principal Components Analysis (PCA) หรือการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก ถูกดำเนินการบนข้อมูลสเปกตรัมในช่วง $400-1800 \text{ cm}^{-1}$ ของการวิเคราะห์ FT-IR โดยใช้ซอฟต์แวร์วิเคราะห์ Unscramble X การแปลงข้อมูลทางคณิตศาสตร์ขั้นสูงนี้ช่วยให้สามารถเปิดเผยความแตกต่างในโครงสร้างและความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่างโปรตีนได้อย่างละเอียด ซึ่งอาจไม่สามารถมองเห็นได้จากข้อมูลดิบได้โดยตรง

3.3 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของความร้อนที่ระดับต่าง ๆ ต่อโครงสร้างทุติยภูมิความสามารถในการย่อยของโปรตีนหนอนนก ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพของเปปไทด์ที่ได้รับ

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างหนอนนกผ่านการปรุงสุกด้วยการอบ

หนอนนกกระยะตากแห้งน้ำหนักรวม 1,500 กรัม ที่แช่แข็งที่ -20°C ถูกนำมาวางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วบดให้ละเอียด จากนั้นแบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 300 กรัม ได้แก่

กลุ่มควบคุม (ไม่ให้ความร้อน) และกลุ่มที่ผ่านการอบที่ 50°C, 90°C, 130°C และ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ภาพที่ 3.2)



ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างหนอนนกกผ่านการปรุงสุกด้วยการอบที่อุณหภูมิต่าง ๆ : (ก) หนอนนกกดิบ (ไม่ผ่านความร้อน) (ข) หนอนนกกอบ 50°C (ค) หนอนนกกอบ 90°C (ง) หนอนนกกอบ 130°C และ (จ) หนอนนกกอบ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับข้อ 3.2-3.3

3.3.3 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนด้วย SDS-PAGE เช่นเดียวกับข้อ 3.2.6

3.3.4 การวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิ โดยวิธี Fourier transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy เช่นเดียวกับข้อ 3.2.7

3.3.5 การจำลองการย่อยในทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (*In vitro* digestion)

กระบวนการจำลองการย่อยในหลอดทดลองดัดแปลงตามวิธีของ Minekus *et al.* (2014) โดยเริ่มต้นจากการจำลองขั้นตอนการบดเคี้ยวในช่องปาก โดยใช้ตัวอย่างที่บดแล้ว 2.5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากไอออน (DI water) 2.5 มิลลิลิตร รวมปริมาตรเริ่มต้น 5.0 กรัม จากนั้นเติมสารละลายจำลองน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (Simulated Gastric Fluid; SGF) ที่เตรียมในความเข้มข้น 1.25 เท่า จำนวน 3.2 มิลลิลิตร และแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ในความเข้มข้นสุดท้าย 0.075 มิลลิโมลาร์ จากนั้นปรับค่า pH ของส่วนผสมให้เป็น 3.0 ± 0.1 โดยใช้สารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M และปรับปริมาตรรวมของระบบให้เท่ากับ 9.2 มิลลิลิตร หลังจากตั้งบ่มส่วนผสมที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 15 นาที จึงเติมเอนไซม์เพปซิน (Pepsin) ที่เตรียมสดใหม่ใน SGF ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 2,000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการย่อยที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที (rpm) ต่อมาเติมสารละลายจำลองของเหลวในลำไส้เล็ก (Simulated Intestinal Fluid; SIF) ความเข้มข้น 1.25 เท่า ปริมาตร 5.5 มิลลิลิตร พร้อมด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 10 M ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร

ลงในส่วนผสมจากระยะการย่อยในกระเพาะอาหาร (10 มิลลิลิตร) เพื่อปรับค่า pH ให้อยู่ที่ 7.0 ± 0.1 จากนั้นเติม CaCl_2 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 0.3 มิลลิโมลาร์ และปรับปริมาตรรวมของระบบให้เท่ากับ 17.5 มิลลิลิตร หลังจากตั้งบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 15 นาที จึงเติมเอนไซม์ Pancreatin ซึ่งเตรียมสดใหม่ใน SIF ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แล้วดำเนินการย่อยต่อเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C เพื่อยุติกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารจำลอง ตัวอย่างถูกให้ความร้อนที่ 90°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปั่นแยกด้วยความเร็ว $10,000 \times g$ ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วเก็บ ส่วนใส (Supernatant) เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มแอลฟา-อะมิโน (Alpha-amino group) โดยใช้วิธี 2,4,6-Trinitrobenzene-1-sulfonic acid (TNBS) และใช้ ลูซีน (Leucine) เป็นสารมาตรฐาน ตามวิธีของ Adler-Nissen (1979) เพื่อประเมินการปลดปล่อยเปปไทด์และศึกษากิจกรรมทางชีวภาพของเปปไทด์ต่อไป

3.3.6 การวิเคราะห์ระดับการย่อย (Degree of hydrolysis; DH)

การวิเคราะห์ระดับการย่อย โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Sangsawad *et al.* (2016) ซึ่งตัวอย่าง 50 มิลลิกรัม ลงในหลอด Test tube screw cap จำนวน 3 หลอด (จัดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) นำหลอด Test tube screw cap ที่ทำการชั่งตัวอย่างแล้ว เติม 6M HCl จำนวน 5 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝาหลอด Test tube screw cap ให้สนิทและวางลงบนช่องของ Heat Box ที่มีขนาดพอดีกับหลอด ปรับระดับความร้อนไปที่ระดับ 10 ทิ้งไว้ข้ามคืน (Overnight) ภายใน Hood (เปิด Hood ไว้ตลอดเวลา) หรือ 12-13 ชั่วโมง ให้ปิด Heat box (ปล่อยให้ตัวอย่างเย็นภายในช่องของ Heat box) หลังจากย่อยด้วย Heat box ตัวอย่างที่ได้จะมีความเป็นกรดสูง (ข้อควรระวัง : ใส่ถุงมือกันกรด ปฏิบัติการภายใน Hood ใส่แมสป้องกันการระเหยของกรด) นำตัวอย่างเทลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 ใบ ปรับ pH ด้วยสารต่าง 10M NaOH ให้ระดับ pH 7.0 (ตรวจระดับ pH ด้วยกระดาษลิตมัส) จากนั้นปรับปริมาตรของตัวอย่างเป็น 10 มิลลิลิตร หรือ 25 มิลลิลิตร แบ่งตัวอย่างใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้น Centrifuge speed $10000 \times g$ นาน 10 นาที นำส่วนใสไปตรวจหาปริมาณเปปไทด์ด้วย วิธีการ TNBS ต่อไป

คำนวณค่าระดับการย่อยจากสูตร

$$\text{DH (\%)} = [(h_s - h_o) / h_{\text{tot}}] \times 100 \quad (11)$$

โดย h_s คือ ปริมาณ Alpha-amino ที่เวลาต่าง ๆ
 h_o คือ ปริมาณ Alpha-amino ในตัวอย่างที่ไม่ถูกย่อยที่เวลา 0 ชั่วโมง
 h_{tot} คือ ปริมาณ Alpha-amino ทั้งหมดที่มีในโปรตีนดั้งเดิม

3.3.7 การวิเคราะห์การกระจายตัวของขนาดโมเลกุล

การวิเคราะห์การกระจายตัวของขนาดของโมเลกุลด้วยเทคนิค Size Exclusion Chromatography (SEC) ดัดแปลงจาก Sangsawad *et al.* (2017) โดยใช้เครื่องแยกสารชีวโมเลกุล (Fast Protein Liquid Chromatography; FPLC, AKTA PURE, GE Healthcare, Uppsala, Sweden) โดยฉีดตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้นเปปไทด์ 1 mg Leu./ml ผ่านคอลัมน์ Superdex peptide 10/300 GL (10×300 mm, GE Health care, Piscataway, NJ,

USA) และใช้ 0.1% Trifluoroacetic acid (TFA) ใน 30% Acetonitrile (ACN) เป็นตัวทำละลายในการชะตัวอย่าง อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตร/นาที่ ใช้โปรตีนหรือเปปไทด์ที่ทราบขนาดมวลโมเลกุลที่แน่ชัดเป็นสารมาตรฐาน พล็อตกราฟของสารมาตรฐานระหว่างปริมาตรที่ตัวอย่างถูกชะออกมา (Elution volume) กับ Log ของมวลโมเลกุล เพื่อใช้สำหรับการคำนวณหามวลโมเลกุลของตัวอย่าง

3.3.8 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพ

3.3.8.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3.3.8.1.1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูล (ABTS)

ปิเปตสาร ABTS working solution (ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.734) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับตัวอย่างปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใน Microplate จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ตามวิธีของ Re *et al.* (1999) โดยใช้เครื่อง Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland) นำค่าที่อ่านได้เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox หรือวิตามินซี (Ascorbic acid)

3.3.8.1.2 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP)

การทดลองดัดแปลงจาก Benzie *et al.* (1996) เตรียมสารละลาย FRAP reagent ประกอบด้วยอะซีเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) 25 มิลลิลิตร TPTZ 2.5 มิลลิลิตร และ FeCl_3 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใน Microplate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในที่มืดนาน 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland) นำค่าที่อ่านได้เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox หรือวิตามินซี (Ascorbic acid)

3.3.8.1.3 ความสามารถในการจับโลหะ (Metal chelating)

วิธีการทดลองดัดแปลงมาจาก Xing *et al.* (2016) โดยปิเปตตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร FeCl_2 10 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water) 100 ไมโครลิตร ลงใน Microplate แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 5 นาที จากนั้นเติม Ferrozine 10 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยใช้ EDTA เป็นสารมาตรฐาน

3.3.8.2 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE inhibitor)

การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ ACE โดยดัดแปลงจาก Sangsawad *et al.* (2017) ปิเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงใน Microplate จากนั้นเติมเอนไซม์ ACE (ความเข้มข้น 0.1 U/ml) 10 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารตั้งต้น N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Phe-Gly-Gly (FAPGG) ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 70 ไมโครลิตร จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร ที่อุณหภูมิ 37°C ทุก ๆ 2 นาที เป็นเวลา 30 นาที ด้วยเครื่อง Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland) แล้วนำค่าที่วัดได้มาสร้างกราฟหาความชัน (Slope)

คำนวณการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE จากสูตร

$$\text{ACE inhibition (\%)} = [(\text{Slope}_{\text{positive control}} - \text{Slope}_{\text{test sample}}) / \text{Slope}_{\text{positive control}}] \times 100 \quad (12)$$

โดยที่ $\text{Slope}_{\text{positive control}}$ คือ ความชันของน้ำปราศจากไอออนแทนที่เปปไทด์
 $\text{Slope}_{\text{test sample}}$ คือ ความชันของตัวอย่างเปปไทด์

3.3.8.3 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (DPP-4 Inhibitor)

การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV โดยดัดแปลงจาก Sangsawad *et al.* (2022) ปีเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงใน Microplate เติมเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.05 U/mL ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารตั้งต้น (Gly-Pro p-nitroanilide hydrochloride) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลลาร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร อุณหภูมิ 37°C ทุก ๆ 2 นาที เป็นเวลา 30 นาที ด้วยเครื่อง Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland) แล้วนำค่าที่วัดได้มาสร้างกราฟหาความชัน (Slope)

คำนวณการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DPP-IV จากสูตร

$$\text{DPP-IV inhibition (\%)} = [(\text{Slope}_{\text{positive control}} - \text{Slope}_{\text{test sample}}) / \text{Slope}_{\text{positive control}}] \times 100 \quad (13)$$

โดยที่ $\text{Slope}_{\text{positive control}}$ คือ ความชันของน้ำปราศจากไอออนแทนที่เปปไทด์
 $\text{Slope}_{\text{test sample}}$ คือ ความชันของตัวอย่างเปปไทด์

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้ข้อมูลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โคติน ค่าทางโภชนาการ ระดับการย่อยได้ การกระจายตัวของมวลโมเลกุล และคุณสมบัติทางชีวภาพ โดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA: Analysis of Variance) ด้วยโปรแกรม SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, USA) เพื่อตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์ต่าง ๆ โดยใช้การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's post hoc test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การทดลองทั้งหมดดำเนินการในรูปแบบ 3 ซ้ำ (Triplicates) สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis: PCA) ใช้โปรแกรม The Unscrambler X (Camo Analytics, Norway) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรและกลุ่มตัวอย่าง

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ และโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกทั้ง 3 ระยะ คือ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

4.1.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

หนอนนกเป็นแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างสมบูรณ์ ซึ่งประกอบด้วย 3 ระยะสำคัญ ได้แก่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย โดยในแต่ละระยะมีองค์ประกอบทางเคมี โภชนาการ และรูปแบบโครงสร้างของโปรตีนที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เพื่อให้สามารถนำหนอนนกมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องศึกษาความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีในแต่ละช่วงวัย จากผลของการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะในด้านปริมาณโปรตีน ไขมัน และไคติน ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยในระยะดักแด้ พบว่า มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (54.38%) รองลงมาคือ ระยะตัวหนอน (49.71%) และระยะตัวเต็มวัย (47.25%) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Yu *et al.* (2021) และ He *et al.* (2025) ที่รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่และการกระจายตัวของโปรตีนระหว่างการเจริญเติบโตของหนอนนก อีกทั้งยังมีแนวโน้มที่ชัดเจนในการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไขมันและไคตินในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยพบว่า ปริมาณไขมันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากระยะตัวหนอน (24.01%) ไปสู่ระยะตัวเต็มวัย (10.41%) ในขณะที่ปริมาณไคตินมีแนวโน้มในทิศทางตรงกันข้าม กล่าวคือ เพิ่มขึ้นจาก 8.11% ในระยะดักแด้ ไปเป็น 23.26% ในระยะตัวเต็มวัย แนวโน้มของการลดลงของปริมาณไขมันในระยะตัวเต็มวัยยังสอดคล้องกับรายงานของ Yu *et al.* (2021) ที่พบว่า ปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงต้นของการพัฒนาและถึงจุดสูงสุดในระยะดักแด้ ก่อนจะลดลงในระยะตัวเต็มวัย โดยรูปแบบการสะสมและการใช้ไขมันดังกล่าวถือเป็นลักษณะเฉพาะของแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ ซึ่งระยะดักแด้ทำหน้าที่เป็นช่วงสำคัญในการเก็บสะสมพลังงาน ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไขมันกับการสังเคราะห์ไคตินมีลักษณะผกผันกันในช่วงการพัฒนา และสามารถอธิบายได้ว่าเป็นปรากฏการณ์ทางชีวภาพที่ปกติ

เมื่อแมลงมีการเจริญเติบโต ไขมันที่สะสมไว้จะถูกใช้ในกระบวนการสร้างไคตินและเปลือกแข็งซึ่งต้องใช้พลังงานสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเปลี่ยนผ่านจากตัวหนอนไปเป็นตัวเต็มวัย โดยพบว่า ปริมาณไขมันที่สูงในระยะตัวหนอนมีแนวโน้มลดลง ขณะที่ปริมาณไคตินมีเพิ่มขึ้นในระยะตัวเต็มวัย กระบวนการพัฒนาการของแมลงแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนระหว่างการสังเคราะห์ไคตินและการเผาผลาญไขมัน (Stull and Weir, 2023) ในระหว่างการเจริญเติบโต แมลงจะสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณมาก ซึ่งมีบทบาททั้งในด้านการเป็นแหล่ง

พลังงานสำรองและส่วนประกอบของโครงสร้าง ในขณะที่เดียวกันการสังเคราะห์ไคตินก็เพิ่มขึ้นเพื่อรองรับการสร้างโครงสร้างภายนอก (Exoskeleton) ของแมลง อีกทั้งเอนไซม์ไคตินเนส (Chitinase) ยังช่วยย่อยและรีไซเคิลโครงสร้างไคตินเดิมทำให้สามารถปรับโครงสร้างได้อย่างต่อเนื่องในระหว่างการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนรูปร่าง (Merzendorfer and Zimoch, 2003; Stull and Weir, 2023) อีกทั้งมีปริมาณเยื่อใยที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากระยะตัวหนอน (9.56%) ไปสู่ระยะตัวเต็มวัย (16.04%) ซึ่งช่วยสนับสนุนการพัฒนาเชิงโครงสร้างดังกล่าว

ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต ทำให้เห็นถึงลักษณะของการใช้และการจัดสรรสารอาหารของแมลง ซึ่งมีนัยสำคัญอย่างยิ่งต่อการกำหนดช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยว ซึ่งจะขึ้นอยู่กับลักษณะโภชนาการที่ต้องการนำไปใช้ประโยชน์

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (Dry basis,%)

Chemical composition	Larvae	Pupae	Adults
Protein	49.71 $\pm$ 0.56 ^b	54.38 $\pm$ 0.83 ^a	47.25 $\pm$ 0.84 ^c
Fat	24.01 $\pm$ 0.04 ^a	21.85 $\pm$ 0.16 ^b	10.41 $\pm$ 1.08 ^c
Ash	3.48 $\pm$ 0.08 ^b	5.68 $\pm$ 0.02 ^a	3.04 $\pm$ 0.16 ^c
Fiber	9.56 $\pm$ 1.25 ^b	9.97 $\pm$ 0.62 ^b	16.04 $\pm$ 1.05 ^a
Chitin	13.24 $\pm$ 2.75 ^b	8.11 $\pm$ 1.39 ^c	23.26 $\pm$ 0.47 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.1.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

4.1.1.2.1 องค์ประกอบแร่ธาตุของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

ผลของการศึกษาองค์ประกอบแร่ธาตุของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่า ในช่วงตั้งแต่ระยะตัวหนอนไปจนถึงระยะตัวเต็มวัยมีปริมาณแร่ธาตุบางชนิดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ได้แก่ ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เพิ่มขึ้นจาก 32.55% ไปเป็น 36.47% และกำมะถัน (Sulfur) เพิ่มขึ้นจาก 19.76% ไปเป็น 26.72% ในทางตรงกันข้ามมีปริมาณแร่ธาตุสำคัญหลายชนิดที่มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน ได้แก่ แมกนีเซียม (Magnesium) ลดลงจาก 5.31% ไปเป็น 3.04% แคลเซียม (Calcium) จาก 5.26% ไปเป็น 2.80% และสังกะสี (Zinc) จาก 1.46% ไปเป็น 0.48%

ในขณะที่ปริมาณธาตุเหล็กมีค่าคงที่ในระยะตัวหนอนและดักแด้ (0.97% และ 0.95% ตามลำดับ) ก่อนจะลดลงเหลือ 0.73% ในระยะตัวเต็มวัย ซึ่งข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ว่า ธาตุเหล็กอาจมีบทบาทสำคัญในการรักษากระบวนการเมแทบอลิซึมพื้นฐานของแมลง ในระหว่างการพัฒนา การที่ปริมาณโพแทสเซียมมีระดับสูงในระยะตัวหนอน (34.69%) เมื่อเทียบกับ

ระยะตัวเต็มวัย (29.77%) แสดงถึงบทบาทสำคัญของแร่ธาตุชนิดนี้ในช่วงเริ่มต้นของการพัฒนา ทั้งแคลเซียมและฟอสฟอรัสมีความเชื่อมโยงกับระยะการเจริญเติบโตและกระบวนการสังเคราะห์ไคติน (Chitin) โดยเฉพาะความสัมพันธ์ระหว่างระดับของไคตินกับองค์ประกอบของแร่ธาตุซึ่งสะท้อนถึงวิวัฒนาการเชิงโครงสร้างที่ซับซ้อนในหนอนนก (Barker, Fitzpatrick, and Dierenfeld, 1998) เนื่องจากไคตินเป็นองค์ประกอบหลักของโครงสร้างภายนอกของแมลง (Exoskeleton) จึงสามารถสร้างสารเชิงซ้อนกับแคลเซียมและฟอสฟอรัส ซึ่งมีบทบาทในการเสริมความแข็งแรงของโครงสร้างภายนอกและเพิ่มความแข็งแรงของคิวติเคิล (Cuticle) ความสัมพันธ์ระหว่างระดับไคตินกับแคลเซียมที่สังเกตได้ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต บ่งชี้ถึงการใช้แคลเซียมในการสร้างสารประกอบไคตินร่วมกับแร่ธาตุ (Chitin-mineral complexes) อีกทั้งฟอสฟอรัสยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเชื่อมโยงระหว่างเส้นใยไคติน (Chitin fibrils) กับเมทริกซ์ของโปรตีนภายในโครงสร้างภายนอก ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟอสฟอรัสในแต่ละระยะโดยสะท้อนถึงอัตราการผลิตไคตินที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ (Rong *et al.*, 2019)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแร่ธาตุของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

Mineral content (%)	Larvae	Pupae	Adults
Magnesium	5.31 ± 0.01 ^a	4.72 ± 0.01 ^b	3.04 ± 0.03 ^c
Phosphorus	32.55 ± 0.21 ^c	35.34 ± 0.05 ^b	36.47 ± 0.12 ^a
Sulfur	19.76 ± 0.15 ^c	21.14 ± 0.17 ^b	26.72 ± 0.03 ^a
Potassium	34.69 ± 0.01 ^a	32.32 ± 0.13 ^b	29.77 ± 0.03 ^c
Calcium	5.26 ± 0.04 ^a	4.82 ± 0.01 ^b	2.80 ± 0.09 ^c
Iron	0.97 ± 0.02 ^a	0.95 ± 0.04 ^a	0.73 ± 0.07 ^b
Zinc	1.46 ± 0.03 ^a	0.72 ± 0.02 ^b	0.48 ± 0.02 ^c

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.1.1.2.2 องค์ประกอบกรดไขมันของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

หนอนนกเป็นแมลงที่มีศักยภาพสูงในฐานะแหล่งไขมันทางเลือก โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น กรดไลโนเลอิก (C18:2n-6) และกรดโอเลอิก (C18:1n-9) อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบกรดไขมันของหนอนนกอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามระยะการเจริญเติบโต เนื่องจากกระบวนการทางเมตาบอลิซึมและการสะสมไขมันมีความแตกต่างกันในแต่ละช่วงวัย ดังนั้นการศึกษารายละเอียดขององค์ประกอบกรดไขมันในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อประเมินความเหมาะสมในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหาร หรืออาหารฟังก์ชัน จากผลของการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต พบว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบหลักในทุกระยะการเจริญ

เดิบบัต (ตารางที่ 4.3) โดยเฉพาะกรดโอเลอิก (C18:1n9c) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่พบมากที่สุด โดยมีปริมาณ 49.54% ในระยะตัวหนอน 46.28% ในระยะดักแด้ และ 48.82% ในระยะตัวเต็มวัย ตามลำดับ รองลงมาคือ กรดไลโนเลอิก (C18:2n6c) ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 19.84% ในระยะตัวหนอน ไปเป็น 24.86% ในระยะตัวเต็มวัย ในส่วนของกรดปาล์มิติก (C16:0) มีระดับค่อนข้างคงที่ ตลอดช่วงระยะการเจริญเติบโต โดยมีปริมาณระหว่าง 17.12% ถึง 18.97% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Noyens *et al.* (2023) พบว่า ปริมาณของกรดโอเลอิก ไลโนเลอิก และปาล์มิติกมีความเด่นชัดในแมลงกินได้หลายชนิด

สำหรับกรดไขมันสายยาว (Long-chain fatty acids) พบว่า มีความเฉพาะเจาะจงในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต เช่น กรดแอลฟา-ไลโนเลนิก (C18:3n3) และ กรดอะราคิโดนิก (C20:4n6) ตรวจพบเฉพาะในระยะตัวหนอน (0.65% และ 0.085% ตามลำดับ) ส่วนระยะตัวเต็มวัยมีจำนวนชนิดของกรดไขมันที่ตรวจพบลดลง แต่ยังคงมีปริมาณกรดไขมันจำเป็นในระดับสูง โดยเฉพาะกรดไลโนเลอิก (C18:2n6c) ความแตกต่างขององค์ประกอบกรดไขมันในแต่ละช่วงการเจริญเติบโตนี้สะท้อนให้เห็นถึงกระบวนการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นตลอดช่วงของการเปลี่ยนรูปร่าง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tzompa-Sosa *et al.* (2014) ที่ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในแมลง พบว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกลุ่มโอเมกา-6 (Omega-6 fatty acids) และโอเมกา-9 (Omega-9 fatty acids) มีปริมาณสูงอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพด้านโภชนาการสำหรับการบริโภคของมนุษย์ รวมถึงการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและผลิตภัณฑ์สุขภาพในเชิงพาณิชย์

กรดไขมันเหล่านี้มีบทบาทสำคัญทางด้านชีวภาพและสุขภาพมนุษย์ โดยเฉพาะกรดโอเลอิก (C18:1n9c) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) ที่มีคุณสมบัติช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล LDL ในเลือด และลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด (Kruger *et al.*, 2017) ส่วนกรดไลโนเลอิก (C18:2n6c) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในกลุ่มโอเมกา-6 (PUFA) มีบทบาทสำคัญในการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์และควบคุมการอักเสบในร่างกาย (Simopoulos, 2002) ด้วยองค์ประกอบกรดไขมันที่มีความหลากหลายและอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว หนอนนกจึงถือเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพสูงในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันในแต่ละช่วงวัยยังเปิดโอกาสให้สามารถเลือกช่วงการเก็บเกี่ยวหนอนนกให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ของผลิตภัณฑ์ เช่น เลือกใช้ระยะดักแด้หรือระยะตัวเต็มวัยเพื่อให้ได้สมดุลกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ดังนั้น การศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันตลอดช่วงการเจริญเติบโตนี้ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการวางแผนพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการสารอาหารเชิงฟังก์ชันในปริมาณสูง โดยเฉพาะในบริบทของการบริโภคโปรตีนทางเลือกและการส่งเสริมสุขภาพในยุคปัจจุบัน

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบของกรดไขมันของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

Fatty acid content (%)	Larvae	Pupae	Adults
Lauric acid (C12:0)	0.50 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.15 ^a	0.16 ± 0.03 ^b
Myristic acid (C14:0)	4.47 ± 0.03 ^a	4.10 ± 0.13 ^b	2.97 ± 0.10 ^c
Palmitic acid (C16:0)	18.97 ± 0.11 ^a	17.71 ± 0.02 ^b	17.12 ± 0.03 ^c
Palmitoleic acid (C16:1)	2.09 ± 0.11 ^a	1.64 ± 0.07 ^b	-
Stearic acid (C18:0)	3.39 ± 0.47 ^b	5.41 ± 0.17 ^a	5.51 ± 0.01 ^a
Oleic acid (C18:1n9c)	49.54 ± 0.06 ^a	46.28 ± 0.11 ^c	48.82 ± 0.25 ^b
Linoleic acid (C18:2n6c)	19.84 ± 0.06 ^c	23.44 ± 1.07 ^b	24.86 ± 0.05 ^a
Arachidic acid (C20:0)	0.13 ± 0.02 ^b	0.16 ± 0.01 ^b	0.33 ± 0.03 ^a
Eicosenoic acid (C20:1)	0.04 ± 0.01 ^b	0.29 ± 0.05 ^a	0.25 ± 0.01 ^a
Gamma-linolenic acid (C18:3n6)	0.11 ± 0.02 ^b	0.48 ± 0.02 ^a	-
Alpha-linolenic acid (C18:3n3)	0.65 ± 0.05 ^a	-	-
Eicosadienoic acid (C20:2)	0.05 ± 0.02 ^a	-	-
Behenic acid (C22:0)	0.04 ± 0.01 ^a	-	-
Dihomo-gamma-linolenic acid (C20:3n6)	0.06 ± 0.03 ^a	-	-
Erucic acid (C22:1n9)	0.05 ± 0.01 ^a	-	-
Arachidonic acid (C20:4n6)	0.09 ± 0.01 ^a	-	-
SFA	27.50 ± 0.65 ^a	27.87 ± 0.48 ^a	26.09 ± 0.20 ^a
MUFA	51.72 ± 0.19 ^a	48.21 ± 0.23 ^b	49.07 ± 0.26 ^b
PUFA	20.80 ± 0.19 ^b	23.92 ± 1.09 ^a	24.86 ± 0.05 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$); - คือ ตรวจไม่พบ

4.1.1.2.3 องค์ประกอบกรดอะมิโนของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

องค์ประกอบของกรดอะมิโนในตัวหนอนอาจเปลี่ยนแปลงไปตามระยะการเจริญเติบโต อันเนื่องมาจากระบวนการเปลี่ยนรูปร่าง (Metamorphosis) ที่มีการย่อยสลายและสังเคราะห์โปรตีนใหม่ในแต่ละช่วงวัย ดังนั้น การศึกษาความแปรผันของกรดอะมิโนในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการประเมินคุณค่าทางโภชนาการอย่างแม่นยำ และวางแผนการเลือกช่วงการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ได้สารอาหารตามวัตถุประสงค์เฉพาะ ผลของการศึกษาองค์ประกอบกรดอะมิโนของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งในกลุ่มกรดอะมิโนจำเป็นและไม่จำเป็น ดังแสดงในตารางที่ 4.4 โดยในกลุ่มกรดอะมิโนจำเป็น ลิวซีน (Leucine) เป็นกรดอะมิโนที่พบมากที่สุด โดยมีปริมาณสูงอย่างชัดเจน

ทั้งในระยะตัวหนอน (9.46%) และระยะตัวเต็มวัย (9.56%) แต่มีแนวโน้มลดลงในระยะดักแด้ (7.77%) ส่วนไลซีน (Lysine) มีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่ในทุกระยะ (6.69-7.24%) รองลงมาคือ วาลีน (Valine) (5.70-6.85%) และไอโซลิวซีน (Isoleucine) (5.71-5.95%) ขณะที่ทริปโตเฟน (Tryptophan) พบว่า ลดลงอย่างชัดเจนจากระยะตัวหนอน (0.63%) ไปยังระยะตัวเต็มวัย (0.03%) บ่งชี้ถึงการกระจายและการจัดสรรกรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis) เมื่อพิจารณาภาพรวมของกรดอะมิโนจำเป็น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

ในด้านของกรดอะมิโนไม่จำเป็น พบว่า กรดกลูตามิก (Glutamic acid) มีความเข้มข้นสูงที่สุดในทุกระยะ และมีปริมาณสูงสุดในระยะดักแด้ (20.24%) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะตัวหนอน (18.33%) และตัวเต็มวัย (15.51%) นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของไกลซีน (Glycine) อย่างชัดเจนจากระยะตัวหนอน (5.32%) ไปยังตัวเต็มวัย (7.76%) เช่นเดียวกับอะลานีน (Alanine) ซึ่งเพิ่มขึ้นจาก 5.98% ในระยะตัวหนอน ไปเป็น 9.90% ในระยะตัวเต็มวัย และเมื่อพิจารณาภาพรวมของกรดอะมิโนจำเป็น พบว่า ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

กรดอะมิโนที่เด่นที่สุดในหนอนนก คือ กรดกลูตามิก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนไม่จำเป็นที่พบในปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับชนิดอื่น ๆ คิดเป็นประมาณ 10-15% ของกรดอะมิโนทั้งหมด โดยเฉพาะในระยะดักแด้ ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อร่างกาย เช่น เป็นแหล่งพลังงานหลักของเซลล์ในลำไส้ ทำหน้าที่เป็นสารส่งสัญญาณประสาท และยังมีบทบาทในการสร้างรสอูมามิ หรือรสชาติกลมกล่อมในอาหารโปรตีนอีกด้วย ซึ่งถือว่าเป็นจุดเด่นที่สามารถนำไปต่อยอดในด้านอาหารฟังก์ชันได้

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบกรดอะมิโนของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

Amino acid content (%)	Larvae	Pupae	Adults
Essential amino acid			
Leucine	9.46 ± 0.32 ^a	7.77 ± 0.32 ^b	9.56 ± 0.26 ^a
Lysine	6.88 ± 0.08 ^b	7.24 ± 0.07 ^a	6.69 ± 0.22 ^b
Valine	6.39 ± 0.06 ^b	5.70 ± 0.05 ^c	6.85 ± 0.26 ^a
Isoleucine	5.82 ± 0.18 ^a	5.71 ± 0.12 ^a	5.95 ± 0.15 ^a
Threonine	5.81 ± 0.07 ^a	4.66 ± 0.16 ^c	5.29 ± 0.27 ^b
Tyrosine	5.51 ± 0.09 ^a	4.97 ± 0.08 ^b	4.64 ± 0.12 ^c
Histidine	2.58 ± 0.10 ^a	2.73 ± 0.04 ^a	2.58 ± 0.10 ^a
Phenylalanine	0.77 ± 0.02 ^a	0.50 ± 0.02 ^b	0.52 ± 0.03 ^b
Tryptophan	0.63 ± 0.74 ^a	0.18 ± 0.03 ^b	0.03 ± 0.00 ^c
Total	43.84 ± 2.95 ^a	39.46 ± 2.72 ^a	42.09 ± 3.12 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

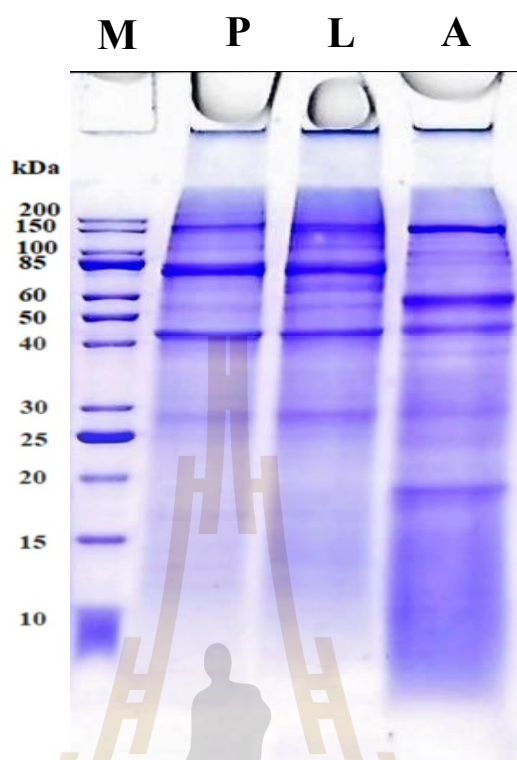
ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบกรดอะมิโนของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ต่อ)

Amino acid content (%)	Larvae	Pupae	Adults
Non-essential amino acid			
Glutamic acid	18.33 ± 0.78 ^b	20.24 ± 0.71 ^a	15.51 ± 0.37 ^c
Aspartic acid	9.70 ± 0.10 ^a	8.62 ± 0.30 ^b	8.09 ± 0.02 ^c
Alanine	5.98 ± 0.27 ^c	7.21 ± 0.15 ^b	9.90 ± 0.15 ^a
Arginine	5.84 ± 0.12 ^{ab}	5.54 ± 0.19 ^b	5.99 ± 0.10 ^a
Glycine	5.32 ± 0.07 ^c	6.11 ± 0.27 ^b	7.76 ± 0.14 ^a
Serine	5.10 ± 0.18 ^a	4.76 ± 0.11 ^a	5.10 ± 0.13 ^a
Others	4.74 ± 0.22 ^b	7.09 ± 0.01 ^a	3.85 ± 0.12 ^c
Cysteine	1.14 ± 0.03 ^b	0.98 ± 0.03 ^c	1.71 ± 0.03 ^a
Total	56.16 ± 5.12 ^a	60.54 ± 5.60 ^a	57.91 ± 4.22 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.1.1.3 รูปแบบของโปรตีนหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE แสดงให้เห็นถึงรูปแบบของโปรตีนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของหนอนนก โดยสะท้อนถึงลักษณะเฉพาะของการแสดงออกของโครงสร้างโปรตีนในแต่ละระยะ จากการวิเคราะห์โดยใช้แถบมาร์กเกอร์ (M) ที่ครอบคลุมช่วงน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 10-200 กิโลดาลตัน (kDa) พร้อมกับตัวอย่างจากระยะดักแด้ (1) ตัวหนอน (2) และตัวเต็มวัย (3) ตามที่แสดงไว้ในภาพที่ 4.1 จากผลการศึกษาพบว่า โปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ (150-200 kDa) ปรากฏอย่างชัดเจนในทุกระยะ โดยมีแถบเข้มมากในระยะดักแด้และตัวอ่อน ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็น Myosin heavy chain เกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อ และการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ สำหรับโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลขนาดปานกลาง (40-85 kDa) พบรูปแบบการกระจายที่คล้ายกันในทุกระยะ แม้ว่าความเข้มของแถบจะมีความแตกต่างกันอยู่บ้าง ซึ่งอาจสัมพันธ์กับ Actin (45 kDa) ซึ่งทำงานร่วมกับ myosin ในการควบคุมการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ อย่างไรก็ตาม ความเข้มของแถบในตัวเต็มวัยที่ลดลง อาจแสดงถึงการลดกิจกรรมทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต แต่สิ่งที่น่าสังเกตคือ ในระยะตัวเต็มวัยมีการสะสมของโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลขนาดเล็ก (10-20 kDa) อย่างเด่นชัด ซึ่งไม่ปรากฏในระดับเดียวกันในระยะอื่น ๆ ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็น Hemolymph protein (12 kDa) สะท้อนถึงการปรับตัวของระบบชีวภาพหลังจากแมลงเจริญเต็มวัย โดยโปรตีนเหล่านี้มักมีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน ระบบสืบพันธุ์ หรือเป็นพาหะของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในระบบไหลเวียนของแมลง รูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนที่เฉพาะเจาะจงในแต่ละระยะนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Azagoh *et al.* (2016) ที่พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการเปลี่ยนรูปร่าง (Metamorphosis) ซึ่งสะท้อนถึงกระบวนการจัดเรียงโครงสร้างระดับโมเลกุลใหม่ที่มีความซับซ้อนระหว่างการพัฒนาในแมลง



ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE (M) มาร์กเกอร์ที่เป็นตัวบ่งชี้น้ำหนักโมเลกุล 10-200 kDa (P) ระยะดักแด้ (L) ระยะตัวหนอน และ (A) ระยะตัวเต็มวัย โปรตีนถูกแยกบนเจลโพลีอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 12% และย้อมสีด้วย Coomassie Brilliant Blue R250

4.1.1.4 โครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างทุติยภูมิของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโตเช่น ระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย สะท้อนให้เห็นถึงการสังเคราะห์โปรตีนใหม่ การจัดเรียงตัวของโมเลกุล และระดับความเสถียรของโปรตีน ซึ่งมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เช่น การสร้างกล้ามเนื้อ การพัฒนาเนื้อเยื่อ หรือการเปลี่ยนหน้าที่ของโปรตีนระหว่าง metamorphosis จากภาพที่ 4.2 (ก) แสดงสเปกตรัม FT-IR ของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (โดย L, P และ A แทนระยะตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ตามลำดับ) โดยสเปกตรัมที่ได้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในบริเวณที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างโปรตีน โดยเฉพาะบริเวณ Amide I ($\sim 1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$) ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน เช่น α -helix, β -sheet, β -turn และ Random coil โดยความแตกต่างของลักษณะสเปกตรัมในแต่ละระยะสามารถสะท้อนถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนในช่วงพัฒนาการของแมลง

จากภาพที่ 4.2 (ข) กราฟ Loadings ของ PC-1 (เส้นสีดำ) และ PC-2 (เส้นสีแดง) ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมในช่วงค่าความยาวคลื่น $500\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ พบว่า

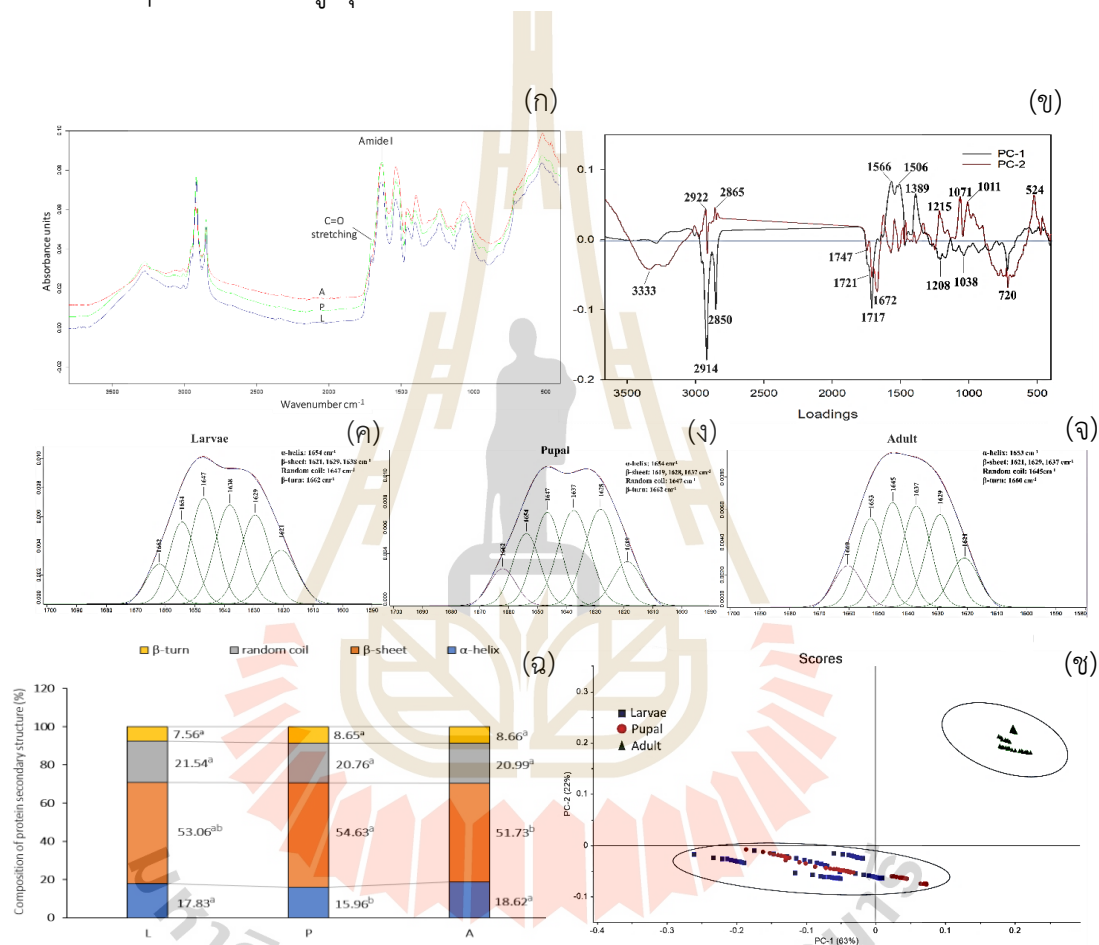
สเปกตรัม FT-IR ของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต เผยให้เห็นถึงคุณสมบัติเฉพาะของโครงสร้างโปรตีน โดยคลื่นสัญญาณเด่นในช่วงแถบ Amide I ที่ความถี่ประมาณ 1650 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นของพันธะคาร์บอนิล ($\text{C}=\text{O}$ stretching) ของพันธะเปปไทด์ แสดงถึงการจัดเรียงโครงสร้างโปรตีนที่ซับซ้อนในทุกช่วงการเจริญเติบโต ตำแหน่งและความเข้มของพีกที่พบในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย มีลักษณะค่อนข้างคงที่ สะท้อนถึงโครงสร้างพื้นฐานของโปรตีนที่ยังคงมีความเสถียรตลอดช่วงการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง แม้จะมีการเปลี่ยนแปลงในสัดส่วนขององค์ประกอบเล็กน้อยก็ตาม สเปกตรัม FT-IR ยังพบแถบดูดกลืนเด่นในช่วง $3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งน่าจะสัมพันธ์กับการสั่นของกลุ่ม CH_2 และ CH_3 และพบรูปแบบเฉพาะในช่วง Fingerprint region ($1500\text{-}500\text{ cm}^{-1}$) ด้วย ซึ่งบ่งชี้ว่าแม้โครงสร้างหลักของโปรตีนจะยังคงเสถียรแต่มีการปรับเปลี่ยนโครงสร้างที่เฉพาะเจาะจงในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต รวมถึงอาจมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างโปรตีนกับไขมันด้วย

จากภาพที่ 4.2 (ค-จ) การวิเคราะห์สเปกตรัม FT-IR ในช่วงบริเวณ Amide I (ประมาณ $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$) ที่แสดงผลในแต่ละระยะการเจริญเติบโต มีการแยกแถบย่อย (Deconvolution) เพื่อระบุพิกย่อยของโครงสร้างทุติยภูมิ โดยแสดงเส้นสีเขียวเป็นพิกย่อย เส้นสีน้ำเงินเป็นสเปกตรัมเป็นต้นฉบับ และเส้นสีแดงเป็นเส้นรวม (Fitted curve) ซึ่งแสดงความสอดคล้องกันบ่งชี้ถึงคุณภาพของการวิเคราะห์โดยพิกในช่วง $1620\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ มักสัมพันธ์กับโครงสร้าง β -sheet ขณะที่พิกในช่วง $1650\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$ มักเป็น α -helix แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างโปรตีนมีความซับซ้อนและมีหลายองค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิซ้อนทับกัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลเชิงปริมาณที่วิเคราะห์ในภาพที่ 4.2 (ฉ) แสดงองค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน (Secondary structures) ในแต่ละระยะ ได้แก่ β -turn, Random coil, β -sheet และ α -helix ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่า โครงสร้าง β -sheet เป็นโครงสร้างหลักของโปรตีนในทุกระยะการเจริญเติบโต โดยมีสัดส่วนประมาณ 51-55% ของโครงสร้างทั้งหมด รองลงมาคือ Random coil (20-22%) α -helix (16-19%) และ β -turn (7.5-8.7%) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ (จากอักษรกำกับในแผนภูมิ) พบว่า β -turn และ Random coil คงที่ในแต่ละระยะ ยกเว้น α -helix ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในระยะดักแด้ (15.96%) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย (17.83% และ 18.62% ตามลำดับ) ซึ่งการลดลงของ α -helix ในระยะดักแด้อาจสัมพันธ์กับกระบวนการเมตาโมร์โฟซิส ซึ่งมีการสลายและสังเคราะห์โปรตีนใหม่จำนวนมาก อีกทั้งโครงสร้าง β -sheet ซึ่งเป็นโครงสร้างที่พบมากที่สุดในทุกระยะ โดยเฉพาะในระยะดักแด้ (54.63%) ซึ่งมีความมากกว่าระยะตัวหนอน (53.06%) และตัวเต็มวัย (51.73%) ตามลำดับ การที่ β -sheet มีสัดส่วนสูง บ่งชี้ถึงการจัดเรียงของสายโพลีเปปไทด์อย่างมีระเบียบ ซึ่งอาจสัมพันธ์กับโครงสร้างที่เสถียรในโปรตีนของแมลงในแต่ละระยะการเจริญเติบโต อีกทั้งค่าที่ลดลงในระยะตัวเต็มวัยอาจสะท้อนถึงการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีนเพื่อรองรับการเคลื่อนไหวที่มากขึ้นในแมลงโตเต็มวัย

ในภาพที่ 4.2 (ข) จากการวิเคราะห์ด้วย Principal Component Analysis (PCA) ของสเปกตรัม FTIR แสดงให้เห็นการกระจายกลุ่มอย่างชัดเจนในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดย PC-1 และ PC-2 อธิบายความแปรปรวนรวมได้ถึง 85% (63% และ 22% ตามลำดับ) ระยะตัวเต็มวัยแสดงกลุ่มที่แยกออกจากระยะตัวหนอนและดักแด้ อย่างเด่นชัดในทั้ง

PC-1 และ PC-2 บ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนในช่วงการเปลี่ยนผ่านไปสู่ตัวเต็มวัย ขณะที่ระยะตัวหนอนและดักแด้มีการทับซ้อนของกลุ่มบางส่วนในแกน PC-1 ทางด้านลบ แสดงถึงลักษณะโครงสร้างที่ใกล้เคียงกัน

ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิในหนอนนกแต่ละระยะการเจริญเติบโต ช่วยชี้ให้เห็นสามารถออกแบบกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสมทั้งด้านอุณหภูมิและการเลือกใช้เอนไซม์ เพื่อให้เกิดการเปิดโครงสร้างโปรตีนอย่างมีประสิทธิภาพ นำไปสู่การปลดปล่อยเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุด



ภาพที่ 4.2 สเปกตรัม FT-IR ของหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ก), กราฟ Loadings ของ PC-1 (เส้นสีดำ) และ PC-2 (เส้นสีแดง) ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมในช่วงค่าความยาวคลื่น 500-3500 cm⁻¹ (ข), การวิเคราะห์สเปกตรัม FT-IR ในช่วงบริเวณ Amide I (ประมาณ 1700-1600 cm⁻¹) ที่แสดงผลในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ค-จ), กราฟแท่งแสดงสัดส่วนองค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนหนอนนกในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ได้แก่ β-turn, Random coil, β-sheet และ α-helix (ฉ), กราฟการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก PCA (ช), ตัวอักษรแตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของความร้อนที่ระดับต่าง ๆ ต่อโครงสร้างทุติยภูมิ ความสามารถในการย่อยของโปรตีนหนอนนก ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพของ เปปไทด์ที่ได้รับ

4.2.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในระยะดักแด้ที่เกิดจากการให้ความร้อน

4.2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีหลังการให้ความร้อนในหนอนในระยะดักแด้

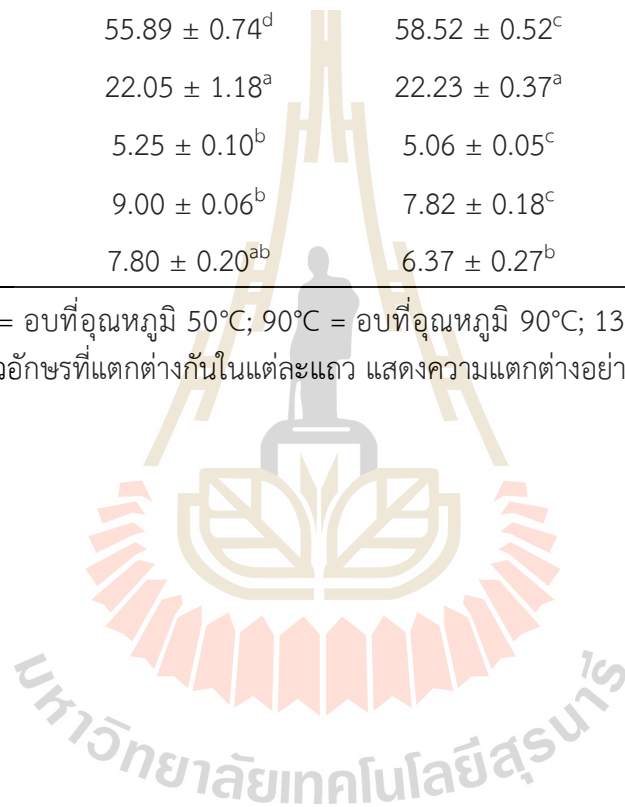
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหนอนในระยะดักแด้หลังการให้ความร้อนดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในหลายตัวแปร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านปริมาณโปรตีน พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามอุณหภูมิ โดยมีค่าสูงสุดที่ 63.26% เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 170°C ซึ่งอาจเป็นเกิดจากผลของการทำให้เข้มข้น (Concentration effect) ที่เกิดขึ้นจากการสูญเสียความชื้นร่วมกับการเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีน (Denaturation) ถึงแม้ว่างานวิจัยในประเด็นนี้ยังมีไม่มากนัก แต่จากผลการศึกษาที่มีความสอดคล้องกับรายงานของ Azzollini *et al.* (2018) ที่ศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อโปรตีนจากแมลง ในส่วนขององค์ประกอบทางโครงสร้าง เช่น ไฟเบอร์ (Crude fiber) และไคติน (Chitin) แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดโดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณของทั้งสององค์ประกอบมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กล่าวคือ ปริมาณไคตินลดลงจาก 8.11% ในตัวอย่างสดเหลือ 4.61% ที่ 170°C ขณะที่ไฟเบอร์ลดลงจาก 9.97% เหลือเพียง 2.65% ซึ่งรูปแบบการย่อยสลายนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kowalski *et al.* (2023) ที่แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนสามารถย่อยโพลีแซ็กคาไรด์ที่ซับซ้อนในเนื้อเยื่อของแมลงได้ ในขณะเดียวกันปริมาณไขมัน (Crude fat) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 21.85% เป็น 24.89% ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่โครงสร้างของเนื้อเยื่อถูกทำลายทำให้ไขมันสามารถถูกสกัดออกมาได้ดีขึ้น ส่วนปริมาณเถ้า (Ash) ลดลงเล็กน้อยจาก 5.68% เหลือ 4.59%

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า การให้ความร้อนไม่เพียงแต่มีผลต่อการลดปริมาณความชื้นเท่านั้น แต่ยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของสารอินทรีย์ เช่น โปรตีนและโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งอาจส่งผลดีต่อการเพิ่มความสามารถในการเข้าถึงคุณค่าทางโภชนาการของหนอนในระยะดักแด้อีกด้วย

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีหลังการให้ความร้อนในหนอนนกระยะดักแด้ (กรัม/100 กรัม)

Chemical composition	Raw	50°C	90°C	130°C	170°C
Protein	54.38 ± 0.56 ^e	55.89 ± 0.74 ^d	58.52 ± 0.52 ^c	61.47 ± 0.18 ^b	63.26 ± 0.08 ^a
Fat	21.85 ± 0.04 ^a	22.05 ± 1.18 ^a	22.23 ± 0.37 ^a	22.32 ± 0.38 ^a	24.89 ± 0.01 ^a
Ash	5.68 ± 0.08 ^a	5.25 ± 0.10 ^b	5.06 ± 0.05 ^c	4.85 ± 0.02 ^d	4.59 ± 0.02 ^e
Fiber	9.97 ± 1.25 ^a	9.00 ± 0.06 ^b	7.82 ± 0.18 ^c	5.22 ± 0.20 ^d	2.65 ± 0.51 ^e
Chitin	8.11 ± 2.75 ^a	7.80 ± 0.20 ^{ab}	6.37 ± 0.27 ^b	6.14 ± 0.48 ^b	4.61 ± 0.14 ^c

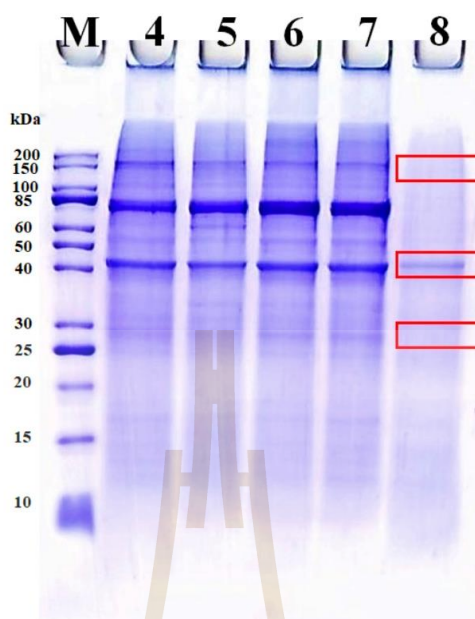
หมายเหตุ : Raw = ไม่ผ่านการให้ความร้อน; 50°C = อบที่อุณหภูมิ 50°C; 90°C = อบที่อุณหภูมิ 90°C; 130°C = อบที่อุณหภูมิ 130°C และ 170°C = อบที่อุณหภูมิ 170°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง; ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



4.2.1.2 ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้

เมื่อมีการให้ความร้อนจากการปรงสุกหนอนนกระยะดักแด้ โปรตีนบางชนิดจะเกิดการคลายตัวของโครงสร้างจนอาจถูกย่อยง่ายขึ้น หรือในบางกรณีก็อาจเกิดการจับตัวกันจนไม่สามารถแยกเป็นแถบชัดเจนในเจลได้ จากผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้ที่ผ่านการให้ความร้อน โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนของรูปแบบโปรตีน (Protein profiles) ภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.3) ในตัวอย่างดิบ (ไม่ผ่านความร้อน) พบว่า แสดงแถบโปรตีนที่หลากหลายและซับซ้อน โดยมีแถบเด่นในช่วงน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ (100-200 kDa) และแถบในตำแหน่งช่วงน้ำหนักโมเลกุลขนาดปานกลาง (40-85 kDa) อย่างไรก็ตาม เมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจาก 50°C ไปจนถึง 170°C ความเข้มของแถบโปรตีนและจำนวนแถบลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในช่วงน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ ซึ่งมีความชัดเจนมากที่สุดที่ 170°C โดยมีการหายไปของแถบโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่แทบจะหายไปจากเจล ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นหลักฐานที่ชัดเจนของกระบวนการเปลี่ยนสภาพโปรตีนจากความร้อน (Thermal denaturation) อีกทั้งอาจรวมถึงการเกิดการรวมตัวกันของโปรตีน (Protein aggregation) ที่เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยโปรตีนจำนวนมากเริ่มสูญเสียโครงสร้างดั้งเดิม (Native structure) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60°C และที่อุณหภูมิ 170°C (Schmid *et al.*, 2022)

นอกจากนี้ ความร้อนยังสามารถส่งผลต่อโครงสร้างตติยภูมิ (Tertiary structure) และทุติยภูมิ (Secondary structure) ของโปรตีน ซึ่งอาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีนจากแมลง (Barbhuiya *et al.*, 2021) และอาจเกิดการทำลายโครงสร้างของโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงส่งผลต่อคุณสมบัติทางชีวภาพและเชิงฟังก์ชันของโปรตีน (Smetana *et al.*, 2019)



ภาพที่ 4.3 ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้ โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE (M) ตัวบ่งชี้น้ำหนักโมเลกุล (10-200 kDa) (4) ไม่ผ่านการให้ความร้อน (5) อบแห้งที่ 50°C (6) อบแห้งที่ 90°C (7) อบแห้งที่ 130°C และ (8) อบแห้งที่ 170°C โดยโปรตีนถูกแยกบนเจลโพลีอะครีลาไมด์ความเข้มข้น 12% และย้อมสีด้วย Coomassie Brilliant Blue R250

4.2.1.3 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิหลังการให้ความร้อนในหนอนนกระยะดักแด้

ผลของการวิเคราะห์สเปกตรัม FT-IR (ภาพที่ 4.4 (ก)) ของโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้ที่ได้รับการให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 50-170°C (PR คือ ตัวอย่างสดที่ไม่ผ่านความร้อน และ P50-P170 คือ ตัวอย่างที่ผ่านความร้อนที่ 50°C, 90°C, 130°C และ 170°C พบว่าสเปกตรัม FT-IR แสดงพีกลักษณะเฉพาะที่ $2922-2953\text{ cm}^{-1}$ (การยืดตัวของพันธะ C-H) และในบริเวณ Amide I ($1600-1700\text{ cm}^{-1}$) โดยมีพีกเด่นที่ 1743 cm^{-1} (การยืดตัวของพันธะ C=O)

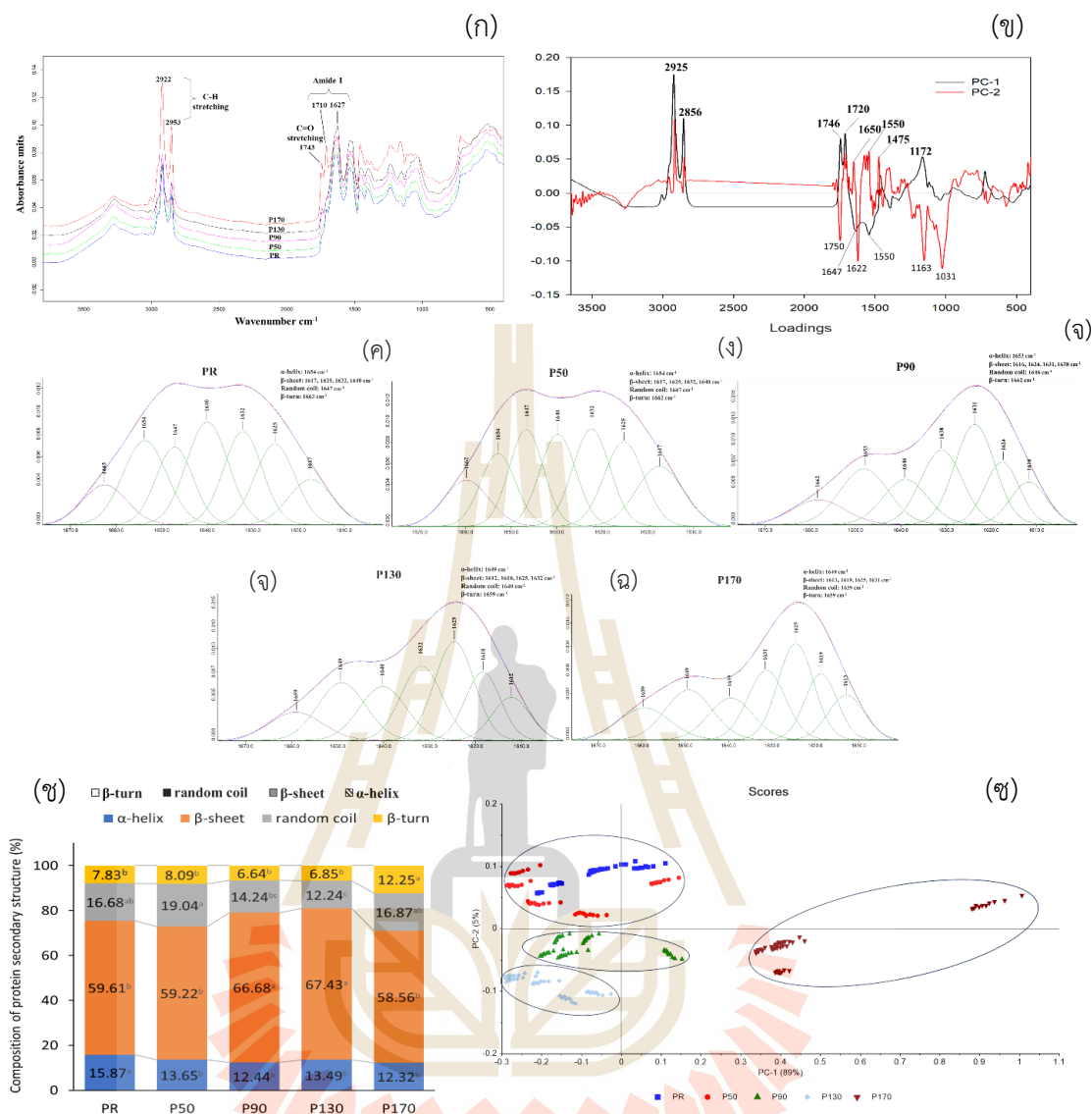
ในส่วนของการแสดง Loading ของ PC-1 (เส้นสีดำ) และ PC-2 (เส้นสีแดง) ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมในช่วงค่าความยาวคลื่น $500-3500\text{ cm}^{-1}$ ดังแสดงในภาพที่ 4.4 (ข) พบว่า ในช่วงคลื่น $2925-2856\text{ cm}^{-1}$ (C-H stretching) ซึ่งสัมพันธ์กับหมู่เมทิลีนและเมทิลในกรดไขมัน ในช่วงคลื่น $1746-1720\text{ cm}^{-1}$ เป็นช่วงที่สำคัญมากสำหรับการตรวจจับการเกิดผลิตภัณฑ์จากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation products) โดยเฉพาะสารกลุ่มอัลดีไฮด์ (aldehydes) และคีโตน (ketones) ซึ่งมีหมู่คาร์บอนิล (C=O) เป็นหมู่ฟังก์ชันหลัก และในช่วงคลื่น 1650 cm^{-1} (Amide I) ซึ่งเป็นช่วงคลื่นสำคัญของโปรตีน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งช่วงคลื่นบ่งชี้ถึงการคลายตัวของโครงสร้างโปรตีน (Unfolding) หรือมีการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างทุติยภูมิเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ในช่วงคลื่น $1172-1031\text{ cm}^{-1}$ ที่แสดงการสั่นของ

พันธะ C=O และพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งเกี่ยวข้องกับคาร์โบไฮเดรตและโครงสร้างไคติน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมที่ชัดเจน สู่ถึงการเสื่อมสลายของพอลิแซ็กคาไรด์จากความร้อน

จากภาพที่ 4.4 (ค-ฉ) การวิเคราะห์สเปกตรัม FT-IR ในช่วงบริเวณ Amide I (ประมาณ $1700-1600\text{ cm}^{-1}$) ที่แสดงผลในแต่ละอุณหภูมิ มีการแยกแถบย่อย เพื่อระบุช่วงคลื่นย่อยของโครงสร้างทุติยภูมิ โดยแสดงเส้นสีเขียวเป็นฟีกย่อย เส้นสีน้ำเงินเป็นสเปกตรัมเป็นต้นฉบับ และเส้นสีแดงเป็นเส้นรวม (Fitted curve) ซึ่งแสดงความสอดคล้องกัน บ่งชี้ถึงคุณภาพของการวิเคราะห์โดยฟีกในช่วง $1620-1640\text{ cm}^{-1}$ มักสัมพันธ์กับโครงสร้าง β -sheet ขณะที่ฟีกในช่วง $1650-1660\text{ cm}^{-1}$ มักเป็น α -helix แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างโปรตีนมีความซับซ้อนและมีหลายองค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิซ้อนทับกัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลเชิงปริมาณที่วิเคราะห์ในภาพที่ 4.4 (ข) แสดงองค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน (Secondary structures) ในแต่ละอุณหภูมิ ได้แก่ β -turn, Random coil, β -sheet และ α -helix ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่า การให้ความร้อนในระดับปานกลาง ($90^{\circ}\text{C}-130^{\circ}\text{C}$) ทำให้ปริมาณ β -sheet เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีค่าสูงสุดถึง 67.43% ที่อุณหภูมิ 130°C ซึ่งบ่งชี้ว่าโครงสร้างโปรตีนมีความเสถียรเพิ่มขึ้นผ่านการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโพลีเปปไทด์ ในทางตรงกันข้าม โครงสร้างแบบ α -helix มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยลดจาก 15.87% ในตัวอย่างดิบเหลือเพียง 12.32% ที่อุณหภูมิ 170°C ซึ่งสะท้อนถึงการคลายตัวหรือการเปลี่ยนโครงสร้าง (Denaturation) ของโปรตีนบางส่วน การเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดที่สุดพบที่อุณหภูมิ 170°C ซึ่งมีปริมาณ β -turn เพิ่มขึ้น (16.87%) ซึ่งสูงที่สุดเมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่น ๆ การเพิ่มขึ้นของโครงสร้าง β -turn ในระดับสูงนี้ บ่งชี้ว่าโครงร่างหลักของโปรตีน (Protein backbone) ได้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่เพื่อตอบสนองต่อความเครียดจากความร้อน (Thermal stress) ซึ่งอาจเกิดจากการรวมตัวของโปรตีน (Aggregation) หรือการสร้างโครงสร้างแบบวง (Loop regions) ที่เกิดจากการคลายตัวของสายโปรตีนเดิม

การวิเคราะห์ PCA ของสเปกตรัม FTIR (ภาพที่ 4.4 (ฉ)) แสดงรูปแบบการจัดกลุ่มที่ชัดเจนตามระดับอุณหภูมิ โดย PC-1 และ PC-2 อธิบายความแปรปรวนรวมได้ถึง 94% (PC-1: 89%, PC-2: 5%) ในแผนภาพคะแนน (Score plot) กลุ่มตัวอย่าง PR และ P50 อยู่ร่วมกันในด้านลบของ PC-1 แสดงถึงโครงสร้างโปรตีนที่คล้ายคลึงกันในอุณหภูมิต่ำ ขณะที่กลุ่ม P90 และ P130 เริ่มแยกออกเป็นกลุ่มชัดเจน และ P170 แสดงการเปลี่ยนแปลงรุนแรงที่สุดโดยอยู่ฝั่งตรงข้ามของ PC-1 ซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ดังนั้นการให้ความร้อนโดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูง เช่น 170°C ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนอย่างชัดเจนทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ไม่เพียงแต่ทำให้เกิดการคลายตัวและจัดเรียงตัวใหม่ของสายโปรตีน (Protein unfolding and rearrangement) แต่ยังสะท้อนถึงศักยภาพของกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนในการควบคุมคุณสมบัติของโปรตีน เพื่อเพิ่มการย่อยได้และโอกาสในการปลดปล่อยเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการออกแบบกระบวนการผลิตโปรตีนจากแมลงให้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ต้องการ



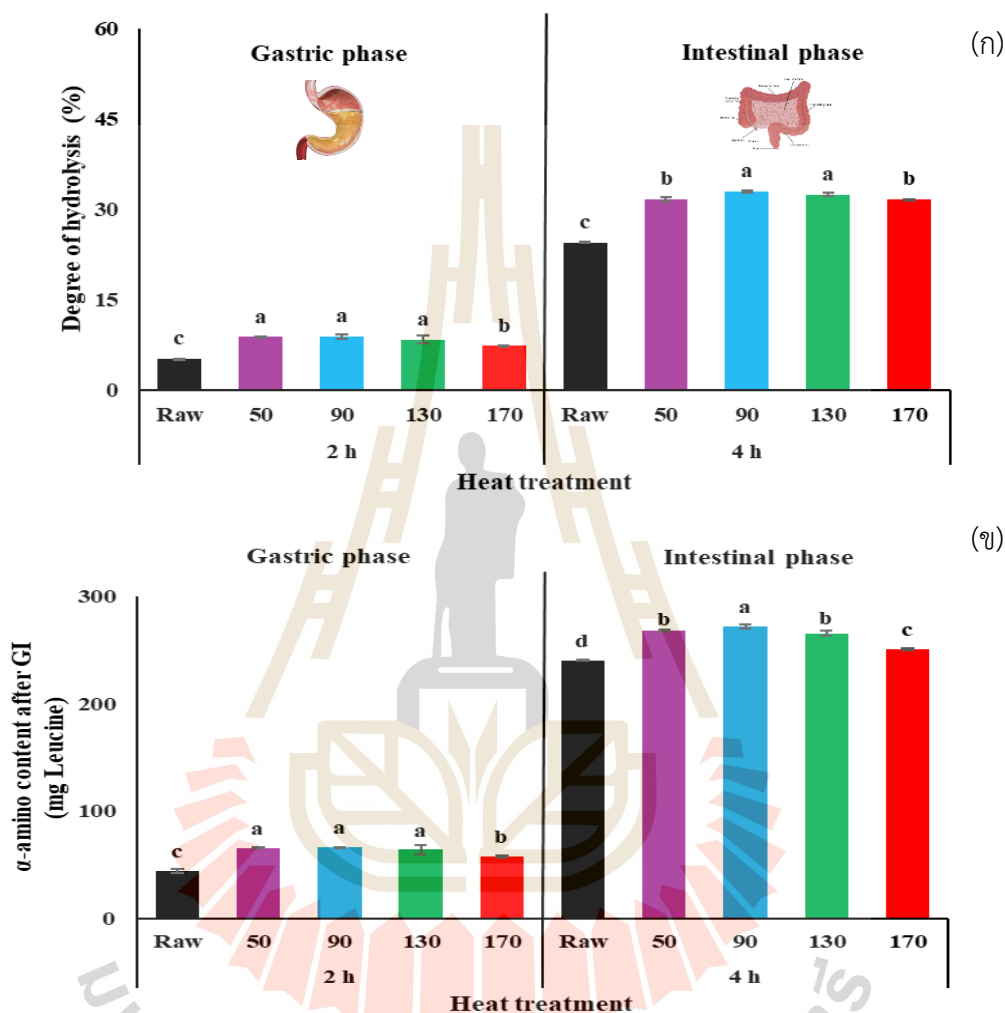
ภาพที่ 4.4 สเปกตรัม FTIR ของหนอนนกที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ (ก), กราฟแสดง Loading ของ PC-1 (เส้นสีดำ) และ PC-2 (เส้นสีแดง) ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมในช่วงค่าความยาวคลื่น $500\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ (ข), การวิเคราะห์สเปกตรัม FTIR ในช่วงบริเวณ Amide I (ประมาณ $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$) ที่แสดงผลในแต่ละอุณหภูมิ (ค-ฉ), องค์ประกอบของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน ได้แก่ β -turn, Random coil, β -sheet และ Alpha-helix (ช), กราฟการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก PCA (ซ), ตัวอักษรแตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.1.4 ผลของความร้อนต่อการย่อยได้ของโปรตีนในระยะดักแต่ภายใต้การย่อยแบบจำลองในระบบทางเดินอาหาร

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างนี้ส่งผลให้โปรตีนเกิดการคลายตัวบางส่วนหรือมีการจัดเรียงโครงสร้างใหม่ ซึ่งช่วยให้เอนไซม์ย่อยอาหาร เช่น กรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์จากตับอ่อนสามารถเข้าถึงโครงสร้างโปรตีนได้ง่ายขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการทดลองต่อเนื่อง โดยใช้ระบบจำลองการย่อยในทางเดินอาหาร เพื่อประเมินความสามารถในการย่อยโปรตีนภายใต้สภาวะความร้อนที่แตกต่างกัน จากการศึกษาผลของความร้อนต่อระดับของการย่อย (Degree of hydrolysis) และปริมาณของกลุ่มอะมิโนอิสระ (Alpha-amino content) ในหนอนนกระยะดักแต่แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อได้รับการให้ความร้อนในระดับต่าง ๆ และในช่วงเวลาการย่อยที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.5 (ก)) จากผลการทดลองมีการให้ความร้อนในช่วง 50 ถึง 170°C ส่งผลให้ ความสามารถในการย่อยเพิ่มขึ้นทั้งในระยะกระเพาะอาหาร (gastric phase) และระยะลำไส้ (intestinal phase) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อน พบว่า ในระยะกระเพาะอาหาร (2 ชั่วโมง) การให้ความร้อนในระดับปานกลางที่ 50-130°C ช่วยเพิ่มการย่อยของโปรตีนได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะที่ 90°C และ 130°C แสดงผลที่เด่นชัดที่สุด แม้ว่าตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่ 170°C จะมีค่าการย่อยลดลงเล็กน้อย แต่ค่าดังกล่าวยังคงอยู่ในระดับสูงและใกล้เคียงกับกลุ่มที่ผ่านความร้อนอื่น ๆ สำหรับในระยะลำไส้ (4 ชั่วโมง) พบว่า ค่าการย่อยสูงที่สุดที่ 90°C และ 130°C ตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่ 50°C และ 170°C มีค่าการย่อยลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสูงกว่าตัวอย่างสดที่ไม่ได้รับความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น การให้ความร้อนในระดับปานกลางที่ 90-130°C จึงเหมาะสมที่สุดในการส่งเสริมการคลายตัวของโครงสร้างโปรตีนและการเข้าถึงของเอนไซม์ แม้ว่าการให้ความร้อนที่ 170°C จะลดความสามารถในการย่อยลงเล็กน้อย แต่ก็ยังช่วยเพิ่มการย่อยของโปรตีนได้มากเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อนเลย ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานของ Liceaga *et al.* (2022) ที่ได้รายงานว่าการให้ความร้อนในระดับปานกลางสามารถช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนจากแมลง โดยการทำให้โครงสร้างโปรตีนบางส่วนเสียสภาพ (Partial denaturation) และทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยได้มากขึ้น

สำหรับปริมาณกลุ่มอะมิโนอิสระ (Alpha-amino content) (ภาพที่ 4.5 (ข)) พบว่า มีการแสดงรูปแบบที่แตกต่าง โดยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 90°C ทั้งในช่วงเวลา 2 ชั่วโมง (66.58 มิลลิกรัม ลิวซีน) และ 4 ชั่วโมง (272.00 มิลลิกรัม ลิวซีน) ก่อนจะลดลงอย่างชัดเจนเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ลักษณะนี้สอดคล้องกับรายงานของ Selaedi *et al.* (2021) ซึ่งศึกษาผลของการแปรรูปด้วยความร้อนต่อโปรตีนในหนอนนก โดยพบว่า การลดลงของปริมาณกลุ่มอะมิโนในอุณหภูมิที่สูง (170°C) อาจเกิดจากกระบวนการรวมตัวกันของโปรตีน (Aggregation) และปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) นอกจากนี้ การย่อยได้ของตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อน (Raw samples) อยู่ในระดับต่ำกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนอย่างชัดเจน (5.17% ที่ 2 ชั่วโมง และ 24.49% ที่ 4 ชั่วโมง) ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของปัจจัยต้านโภชนาการที่ไวต่อความร้อน (Heat-labile antinutritional factors) หรือเอนไซม์ยับยั้งโปรตีเอส (Protease inhibitors)

จากผลการศึกษาเหล่านี้สามารถสรุปได้ว่า การควบคุมการให้ความร้อนที่ประมาณ 90°C อาจเป็นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและการปลดปล่อยกรดอะมิโน

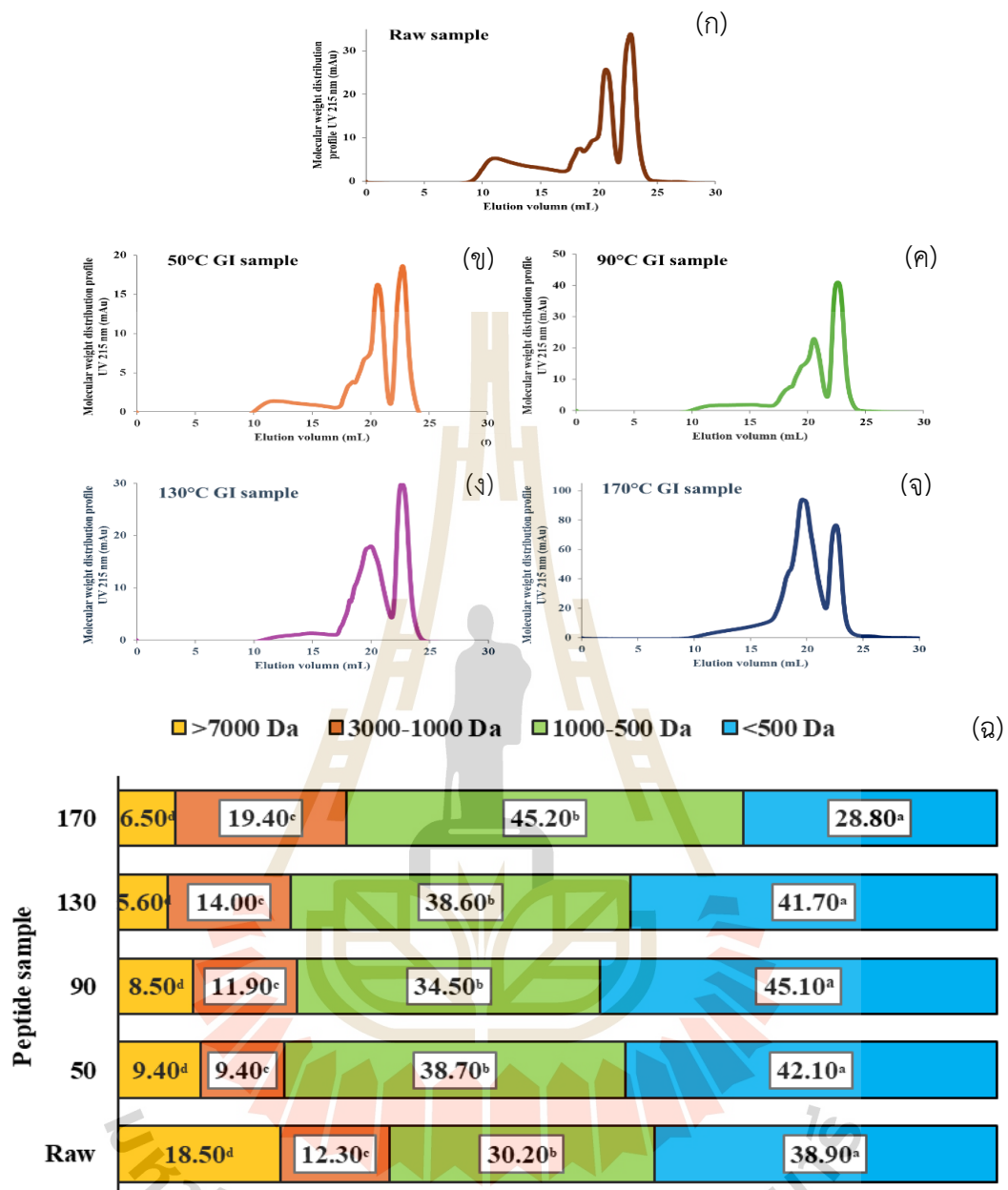


ภาพที่ 4.5 ผลของการให้ความร้อนต่อความสามารถในการย่อยโปรตีนของหนอนนกระยะดักแด้ (ก) ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (Alpha-amino content) หลังการย่อยแบบจำลองในระบบทางเดินอาหารที่ระยะเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง และ (ข) ระดับการไฮโดรไลซิสของโปรตีน (Degree of hydrolysis) ตัวอย่างโปรตีนที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ ตัวอย่างสด (ไม่ผ่านความร้อน) 50°C, 90°C, 130°C และ 170°C ตัวอักษรแตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.1.5 ผลของความร้อนต่อการกระจายน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์หลังการย่อยในระบบทางเดินอาหาร

หลังจากการย่อยจำลองในระบบทางเดินอาหารแล้ว โปรตีนถูกย่อยสลายออกเป็นเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลหลากหลาย ซึ่งแต่ละกลุ่มมีความสำคัญทางชีวภาพที่ต่างกัน ขนาดโมเลกุลของเปปไทด์เหล่านี้ถือเป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการดูดซึมในลำไส้เล็ก และศักยภาพในการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพภายในร่างกาย จากผลการวิเคราะห์การกระจายน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยแบบจำลองทางเดินอาหาร (GI digestion) แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างที่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.6 (ก)-(ง)) โดยในกลุ่มควบคุม (ไม่ผ่านความร้อน) พบว่า มีสัดส่วนของเปปไทด์ขนาดใหญ่กว่า 7,000 ดาลตันมากที่สุด (18.50%) ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการย่อยโปรตีนน้อยหรือจำกัดในทางกลับกัน การผ่านความร้อนช่วยลดปริมาณของเปปไทด์ขนาดโมเลกุลสูง และกระตุ้นการปลดปล่อยเปปไทด์ขนาดเล็กมากขึ้น ผลการศึกษานี้ยืนยันว่าการให้ความร้อนส่งผลอย่างมากต่อรูปแบบการกระจายขนาดโมเลกุลของเปปไทด์ โดยที่อุณหภูมิ 90°C พบว่า สัดส่วนของเปปไทด์ขนาดเล็ก (<500 ดาลตัน) เพิ่มขึ้นถึง 45.10% ซึ่งเปปไทด์ขนาดเล็ก เช่น กรดอะมิโน ไดเปปไทด์ และไตรเปปไทด์ เป็นต้น ทำให้สามารถดูดซึมผ่านลำไส้เล็กได้ง่าย ส่วนที่อุณหภูมิ 170°C พบว่า มีการเพิ่มขึ้นของเปปไทด์ขนาดกลาง (45.20% ในช่วง 1000-500 Da) ซึ่งเปปไทด์กลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มโอลิโกเปปไทด์ (Oligopeptides) แม้จะมีขนาดใหญ่กว่าเปปไทด์ขนาดเล็ก แต่ก็ยังมีศักยภาพในการดูดซึมผ่านเยื่อบุผนังลำไส้ (Intestinal epithelium) โดยอาศัยตัวลำเลียงเปปไทด์จำเพาะ เช่น Peptide Transporter 1 (PepT1)

ดังนั้น การให้ความร้อนก่อนการย่อยมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อโปรไฟล์ของน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์ที่ถูกปลดปล่อย โดยอุณหภูมิที่เหมาะสม เช่น 90°C สามารถเพิ่มปริมาณเปปไทด์ขนาดเล็กได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งอาจนำไปสู่การเพิ่มศักยภาพในการดูดซึมและการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ



ภาพที่ 4.6 การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนในหนอนนกระยะดักแด้ที่ผ่านการให้ความร้อน (ก) ตัวอย่างสด (ไม่ผ่านความร้อน) (ข) ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแบบจำลองทางเดินอาหารหลังให้ความร้อนที่ 50°C (ค) ตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่ 90°C (ง) ตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่ 130°C (จ) ตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่ 170°C และ (ฉ) กราฟแสดงการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลในรูปของเปอร์เซ็นต์ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด โดยลดขนาดต่าง ๆ แทนช่วงของน้ำหนักโมเลกุล ได้แก่ <500 ถึง <7000 ดาลตัน ตัวอักษรกำกับต่างกัน (a-d) ภายในช่วงน้ำหนักโมเลกุลเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม ($p < 0.05$)

4.2.1.6 คุณสมบัติทางชีวภาพของเปปไทด์จากหนอนนกระยะดักแด้ที่ผ่านการให้ความร้อนและการย่อย

4.2.1.6.1 คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant properties)

ผลการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนจากหนอนนกระยะดักแด้ที่ผ่านการให้ความร้อนและการย่อย แสดงให้เห็นถึงรูปแบบที่แปรผันตามอุณหภูมิอย่างชัดเจนในทุกการทดสอบ ได้แก่ ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) ความสามารถในการจับโลหะ (Metal chelating) และการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ภาพที่ 4.8 (ก)-(ค)) โดยค่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) แสดงลักษณะกราฟโค้งรูปตัวยู (U-shaped) โดยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 170°C (0.20 มิลลิกรัม เทียบเท่า Trolox) และต่ำอย่างสุด (0.15 มิลลิกรัม เทียบเท่า Trolox) ขณะที่อุณหภูมิระดับกลางมีค่าต่ำกว่า

ในขณะเดียวกันความสามารถในการจับโลหะ (Metal chelating) ของเปปไทด์เพิ่มขึ้นสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ 170°C (1.34 มิลลิกรัม เทียบเท่า EDTA) ซึ่งมากกว่าอุณหภูมิอื่น ๆ เป็นสองเท่า แนวโน้มนี้บ่งชี้ว่าที่อุณหภูมิสูงอาจเกิดสารประกอบที่มีความสามารถในการจับโลหะสูง ซึ่งอาจเกิดจากผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Feng *et al.*, 2022)

สำหรับการต้านอนุมูลอิสระชนิด ABTS มีค่าที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และสูงที่สุดที่ 170°C (2.46 มิลลิกรัม เทียบเท่าลิควิน) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงในงานวิจัยนี้ส่งผลให้โปรตีนมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน และการเกิดเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลลัพธ์เหล่านี้สอดคล้องกับรายงานของ Lee *et al.* (2024) ซึ่งพบว่าการแปรรูปด้วยความร้อนสามารถเพิ่มศักยภาพด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนจากแมลง ผ่านกลไกต่าง ๆ เช่น การเกิดสารจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด และการเปิดเผยหมู่กรดอะมิโนที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ

ดังนั้น การเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอของทั้งสามพารามิเตอร์ที่ 170°C จึงสามารถอธิบายเชิงปริมาณได้ว่าการให้ความร้อนในระดับสูงมีศักยภาพในการผลิตส่วนผสมเชิงฟังก์ชันที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสนับสนุนข้อเสนอของ Keil *et al.* (2022) ที่ระบุว่าหนอนนกมีสารต้านอนุมูลอิสระทั้งที่ละลายน้ำและละลายในไขมัน โดยวิธีการทำแห้งมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดสารทั้งสองประเภท

4.2.1.6.2 การยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV (DPP-IV inhibition)

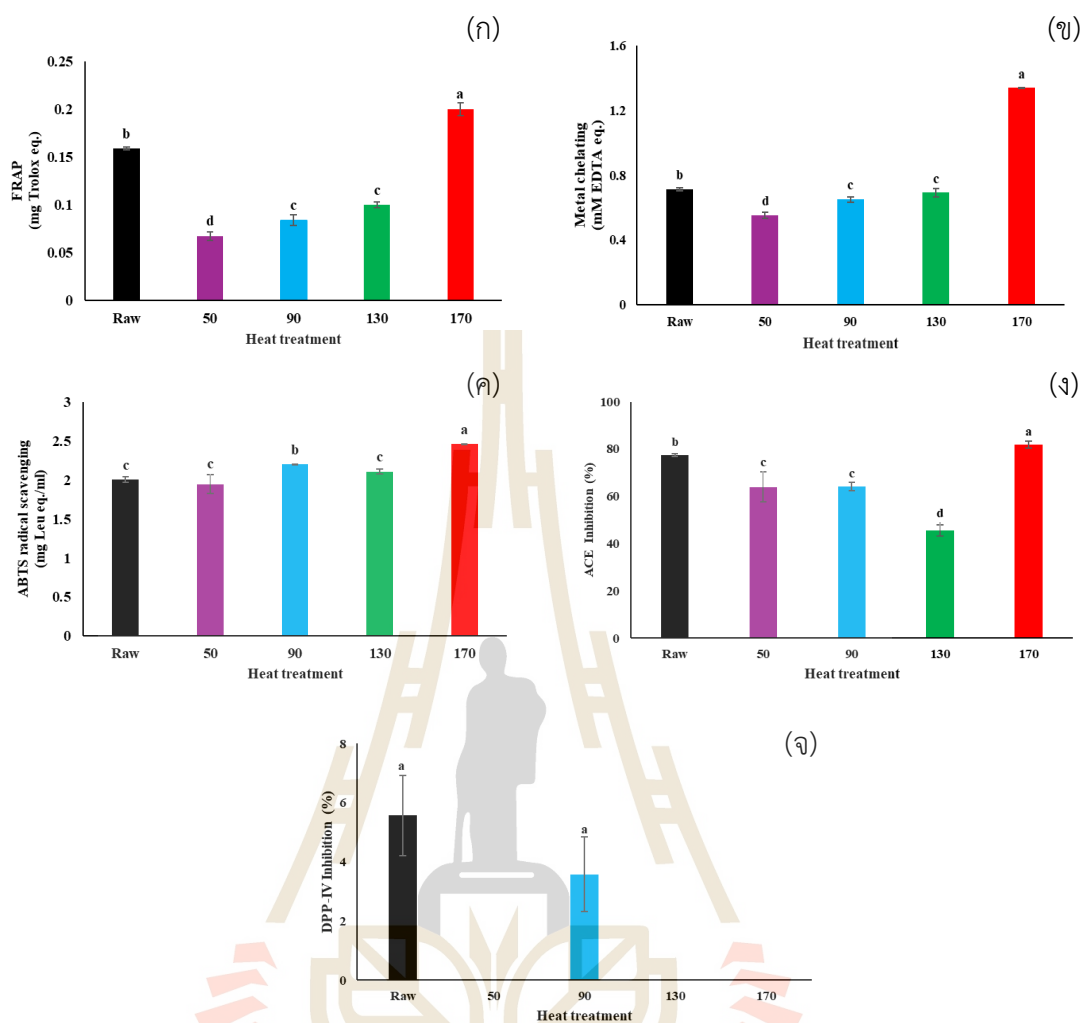
ผลการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV พบเฉพาะในตัวอย่างสด ($5.57 \pm 1.36\%$) และตัวอย่างที่ผ่านความร้อนที่ 90°C ($3.58 \pm 1.27\%$) โดยไม่มีการตรวจพบในตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิอื่น (ภาพที่ 4.8 (ง)) การแสดงฤทธิ์จำเพาะนี้บ่งชี้ว่าเปปไทด์บางชนิดที่มีฤทธิ์อาจไวต่อความร้อน (Thermolabile) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fleury *et al.* (2022) ที่ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้ง DPP-IV ของเปปไทด์จากโปรตีนไฮโดรไลเสตในหนอนนก ซึ่งมีความสามารถในการจัดการเบาหวาน โดยงานของ Luo *et al.* (2022) และ Rivero-Pino *et al.* (2021) รายงานว่าเปปไทด์จากหนอนนกมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 192.47-261.17 μM ซึ่งดีกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากผีเสื้อมอดไหมอีรีที่มีค่า IC_{50} 1.5-2.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Sarkar and Duary,

2023) ศักยภาพในการยับยั้ง DPP-IV ของเปปไทด์จากหนอนนกน้าจะเกิดจากการปลดปล่อยลำดับเปปไทด์เฉพาะที่มีฤทธิ์ โดยเฉพาะลำดับที่มีกรดอะมิโนโพรลีนในตำแหน่งรองสุดท้าย ซึ่งเป็นที่รู้จักกันว่ามีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV อย่างมีประสิทธิภาพ (Mu *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024)

4.2.1.6.3 การยับยั้งเอนไซม์ ACE (ACE inhibition)

ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ ACE ของโปรตีนจากหนอนนกน้าจะแสดงลักษณะแปรผันแบบไม่เป็นเส้นตรง (Non-linear) โดยพบค่าสูงสุดที่ 170°C (81.85%) และในตัวอย่างสด (77.38%) ขณะที่อุณหภูมิระดับกลางให้ผลต่ำกว่า (ภาพที่ 4.8 (จ)) รูปแบบดังกล่าวอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและเปปไทด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการให้ความร้อน ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Liu *et al.* (2017) ที่ศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของเปปไทด์จากโปรตีนของดักแด้ไหม ฤทธิ์การยับยั้ง ACE ของโปรตีนจากหนอนนกมีแนวโน้มที่ดีเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนจากแมลงอื่น ๆ โดยรายงานของ Mendoza-Salazar *et al.* (2021) พบว่า หนอนนกที่ผ่านการไฮโดรไลซ์มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.23-0.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าค่าที่รายงานจากโปรตีนไฮโดรไลเสตของดักแด้ไหม (IC_{50} 9.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) (Jia *et al.*, 2015) ความสามารถในการยับยั้ง ACE ที่เหนือกว่าของเปปไทด์จากหนอนนกสามารถอธิบายได้จากองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่เฉพาะเจาะจง และลำดับของเปปไทด์ที่ได้หลังการไฮโดรไลซิส โดยเฉพาะเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำอยู่ที่ปลายสาย (C-terminal) (Kawai *et al.*, 2020)

ในภาพรวม การศึกษานี้เผยให้เห็นความสัมพันธ์ที่น่าสนใจระหว่างระดับความร้อน การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน และฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกิดขึ้น โดยพบว่าโครงสร้างโปรตีนเปลี่ยนจาก α -helix (ในตัวอย่างสด) ไปสู่ β -sheet (ในตัวอย่างผ่านความร้อนระดับกลาง 90°C) และกลายเป็น β -turn (ในตัวอย่างที่อุณหภูมิสูงสุด 170°C) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4 (ซ)) การเปลี่ยนแปลงนี้มีผลโดยตรงต่อการย่อยได้ของโปรตีนและสมบัติเชิงชีวภาพ โดยความร้อนระดับกลาง (90°C) ช่วยเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนอิสระและระดับการไฮโดรไลซิส ส่วนความร้อนสูง (170°C) ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้ง ACE ดีที่สุด ขณะที่ฤทธิ์ยับยั้ง DPP-IV กลับลดลงในอุณหภูมิที่สูงขึ้น ซึ่งชี้ว่าเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ดังกล่าวอาจไวต่อความร้อน ดังนั้น ผลการศึกษานี้เน้นให้เห็นถึงศักยภาพของการเลือกใช้กระบวนการให้ความร้อนอย่างมีกลยุทธ์ เพื่อปรับสมบัติของโปรตีนจากหนอนนกให้เหมาะสมกับการพัฒนาเป็นส่วนประกอบในอาหารฟังก์ชัน เพื่อส่งเสริมสุขภาพ โดยเฉพาะในด้านการควบคุมเมแทบอลิซึมผ่านกลไกเฉพาะ



ภาพที่ 4.7 ผลของการให้ความร้อนต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของหนอนนก และฤทธิ์ทางชีวภาพ หลังผ่านการย่อยแบบจำลองในทางเดินอาหาร (*In vitro* GI digestion) ของหนอนนก ระยะดักแด้ (ก) ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) แสดงผลเป็นมิลลิกรัม เทียบเท่า Trolox (ข) ความสามารถในการจับโลหะ (Metal chelating) แสดงผลเป็น มิลลิโมลเทียบเท่า EDTA (ค) ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS แสดงผลเป็น มิลลิกรัมเทียบเท่าลิวซีน (ง) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ DPP-IV และ (จ) ฤทธิ์การยับยั้ง เอนไซม์ ACE ข้อมูลทั้งหมดได้จากตัวอย่างหนอนนกระยะดักแด้ที่ผ่านการให้ความร้อน ในระดับต่าง ๆ และวิเคราะห์หลังการย่อยด้วยระบบจำลองทางเดินอาหาร ตัวอักษร ต่างกัน (a-d) ในแต่ละแผนภาพหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง กลุ่มการให้ความร้อน ($p < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ได้ให้ข้อมูลที่สำคัญเกี่ยวกับโครงสร้างโปรตีนในหนอนนก (*T. molitor*) ตลอดช่วงการเจริญเติบโต และผลกระทบของกระบวนการให้ความร้อนต่อสมบัติเชิงฟังก์ชันของโปรตีนดังกล่าว โดยพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของหนอนนกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในแต่ละระยะ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนที่พบว่าสูงที่สุดในระยะดักแด้ (54.38%) ขณะที่ปริมาณไขมันแสดงความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับกระบวนการสังเคราะห์โคตินในช่วงเมตามอร์โฟซิส การวิเคราะห์โครงสร้างโปรตีนด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า โครงสร้างทุติยภูมิแบบ β -sheet ยังคงเป็นโครงสร้างหลัก (51-55%) ในทุกระยะของการเจริญเติบโต แสดงถึงความเสถียรของโครงสร้างโปรตีน แม้ในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพอย่างมาก ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) จากข้อมูลสเปกตรัมยังแสดงให้เห็นการแยกกลุ่มที่ชัดเจนระหว่างแต่ละระยะ โดยเฉพาะโปรตีนในระยะตัวเต็มวัยที่มีลักษณะเฉพาะซึ่งแตกต่างจากตัวอ่อนและดักแด้อย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาโปรตีนจากหนอนนกระยะดักแด้ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 50-170°C ช่วยเปิดเผยข้อมูลเชิงลึกใหม่เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน โดยพบว่า การให้ความร้อนในระดับปานกลางที่ 90°C เป็นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีน โดยให้ค่าการไฮโดรไลซิสสูงสุด (49.36%) และปริมาณกรดอะมิโนอิสระสูงสุดภายหลังการย่อยแบบจำลองทางเดินอาหาร การวิเคราะห์การกระจายน้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์พบว่า อุณหภูมิส่งผลต่อรูปแบบการเกิดเปปไทด์ โดยอุณหภูมิระดับปานกลางทำให้ได้สัดส่วนของเปปไทด์ขนาดเล็ก (<500 ดาลตัน) เพิ่มขึ้น (45.10%) ซึ่งน่าจะมีส่วนช่วยให้การย่อยดีขึ้น ในขณะที่อุณหภูมิสูง (170°C) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนอย่างชัดเจน โดยเฉพาะการลดลงของโครงสร้าง α -helix (12.32%) และการเพิ่มขึ้นของ β -turn (12.25%) ตามที่ปรากฏในพีกของสเปกตรัม FT-IR ในบริเวณ Amide I การจัดเรียงโครงสร้างใหม่นี้สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยของสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (FRAP, Metal chelating และ ABTS) รวมถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ ACE (81.85%) แสดงให้เห็นถึงความเชื่อมโยงที่ชัดเจนระหว่างการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ยังมีข้อจำกัดบางประการ โดยเฉพาะการลดลงของโครงสร้าง α -helix และการเพิ่มขึ้นของ β -turn ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในการศึกษา หรือการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีนที่เกิดจากความร้อน เชื่อมโยงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเหล่านี้กับสมบัติเชิงฟังก์ชันเฉพาะที่เกิดขึ้น ผลการศึกษานี้ให้แนวทางที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการกำหนดเงื่อนไขการแปรรูปโปรตีนจากแมลงอย่างเหมาะสม โดยเฉพาะในการรักษาสมดุลระหว่างคุณค่าทางโภชนาการและสมบัติเชิงฟังก์ชัน ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ที่แสดงให้เห็น สามารถนำไปใช้ในการ

ออกแบบกระบวนการแปรรูปเฉพาะทาง เพื่อเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนหนอนนก ซึ่งเหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นส่วนผสมในอาหารฟังก์ชันและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ

ในอนาคตจึงควรมีการศึกษาที่เน้นยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและสมบัติเหล่านี้ในระบบอาหารจริง (Food matrix) ศึกษาปฏิกิริยาเสริมฤทธิ์ร่วมกับโมเลกุลอื่น ๆ และดำเนินการวิเคราะห์โปรตีนโอมิกส์เชิงลึก เพื่อระบุลำดับเบสที่มียูทรีโดยตรงอย่างแม่นยำ รวมถึงการศึกษาในระดับ *In vivo* เพื่อประเมินความสอดคล้องทางสรีรวิทยาและกำหนดขนาดการใช้ที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมสุขภาพอย่างแท้จริง





รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. (2004). ตอนที่ 4 บทที่ 4 การอนุรักษ์พลังงานในระบบอื่น ๆ. **ตำราฝึกอบรมผู้รับผิดชอบด้านพลังงานอาวุโส (ผอส.) ด้านความร้อน**. (4): 33-51.
- แจ่มจันทร์ พิริยะพงศ์. (2525). รายงานคุณค่าทางอาหารของหนอนเลี้ยงนก. กรุงเทพฯ: ฝ่ายเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าของอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมป่าไม้. 11 น. อิตารัตน์ พันโท. (2563). แมลงกินได้: คุณค่าทางโภชนาการ และการแปรรูปเพื่อนำไปใช้ประโยชน์. **วารสารอาหาร**. 50(1): 5-12.
- ชูวิทย์ สุขประการ. (2533). มีลเวอร์หนอนเลี้ยงนก. **วารสารกสิกร**. 63(3): 270-272.
- ณัฏฐา วิเศษภู่วิทยาการ และธนศักดิ์ พันไธสงค์. (2548). หนอนนกทางเลือกสำหรับอาหารสัตว์น้ำ. **วารสารศูนย์บริการวิชาการ**. 13(2): 9-16.
- ณัฐกฤตา ลักษวธ, ดำรง ลีนาอนุรักษ์, ประภากร ธาราฉาย และทองเลี่ยน บัวจุม. (2553). การตลาดและศักยภาพการผลิตหนอนนก (*Tenebrio molitor* L.) เป็นเชิงการค้าในประเทศไทย. **วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร**. 30(3): 50-58.
- โพสท์ทูเดย์. (2554). อากาศเย็น หนอนนกถล่มตลาด ราคาตก. สืบค้นจาก <http://www.posttoday.com>
- ทัศนีย์ แจ่มจรรยา และจิราภรณ์ เสวนา. (2544). การเลี้ยงหนอนนก (*Tenebrio molitor* L.) ในเชิงอุตสาหกรรม. **แก่นเกษตร**. 29(4): 194-200.
- ศิรินิตย์ ธารธาดา และปฐมาพร อำนาจอนันต์. (2561). เทคโนโลยี Fourier transform infrared spectroscopy: ทฤษฎีและการประยุกต์ใช้. **วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์และเทคโนโลยี**. 2(1): 29-33.
- (AOAC)., A.O.O.A.C. (2016). Official Methods of Analysis of AOAC International.
- Acharjee, S., Ghosh, B., Al-Dhubiab, B.E., and Nair, A.B. (2013). Understanding type 1 diabetes: Etiology and models. **Canadian Journal of Diabetes**. 37(4): 269-276.
- Adamkova, A., Mlcek, J., Kourimska, L., Borkovcova, M., Busina, T., Adamek, M., and Krajsa, J. (2017). Nutritional potential of selected insect species reared on the island of Sumatra. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 14(5): 1-10.
- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 27(6): 1256-1262.
- Andrew, S.L., Mohammed, H.Z., Manyelo, T.G., and Mabelebele, M. (2020). The Current status of the alternative use to antibiotics in poultry production: An African perspective. **Antibiotics**. 9(9): 594.

- Azagoh, C., Ducept, F., Garcia, R., Rakotozafy, L., Cuvelier, M.E., Keller, S., and Mezdoor, S. (2016). Extraction and physicochemical characterization of *Tenebrio molitor* proteins. **Food Research International**. 88: 24-31.
- Azzollini, D., Derossi, A., Fogliano, V., Lakemond, C., and Severini, C. (2018). Effects of formulation and process conditions on microstructure, texture and digestibility of extruded insect-riched snacks. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. 45: 344-353.
- Baek, M., Kim, M.A., Kwon, Y.S., Hwang, J.S., Goo, T.W., Jun, M., and Yun, E.Y. (2019). Effects of processing methods on nutritional composition and antioxidant activity of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae. **Entomological Research**. 49(6): 285-294.
- Baek, S., Noh, M.Y., Mun, S., Lee, S.J., Arakane, Y., and Kim, J.S. (2022). Ultrastructural analysis of beetle larva cuticles during infection with the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. **Pest Management Science**. 78(8): 3356-3364.
- Baldwin, D.E. (2012). Sous vide cooking: A review. **International Journal of Gastronomy and Food Science**. 1: 15-30.
- Barbhuiya, R.I., Singha, P., and Singh, S.K. (2021). A comprehensive review on impact of non-thermal processing on the structural changes of food components. **Food Research International**. 149: 110647.
- Barbosa-Filho, J.M., Vasconcelos, T.H.C., Alencar, A.A., Batista, L.M., Oliveira, R.A.G., Guedes, D.N., Falcão, H.S., Moura, M.D., Diniz, M.F.F.M., and Modesto-Filho, J. (2005). Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 15: 392-413.
- Barker, D., Fitzpatrick, M.P., and Dierenfeld, E.S. (1998). Nutrient composition of selected whole invertebrates. **Zoo Biology: Published in Affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**. 17(2): 123-134.
- Bax, M.L., Aubry, L., Ferreira, C., Daudin, J.D., Gatellier, P., Rémond, D., and Santé-Lhoutellier, V. (2012). Cooking temperature is a key determinant of in vitro meat protein digestion rate: Investigation of underlying mechanisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 60(10): 2569-76.
- Belghit, I., Lock, E.J., Fumi`ere, O., Lecrenier, M.C., Renard, P., Dieu, M., and Rasinger, J.D. (2019). Species-specific discrimination of insect meals for aquafeeds by direct comparison of tandem mass spectra. **Animals**. 9(5): 222.
- Benzie, I., and Strain, J. (1996). The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**. 239: 70-76.

- Berggren, A., Jansson, A., and Low, M. (2018). Using current systems to inform rearing facility design in the insect-as-food industry. **Journal of Insects as Food and Feed**. 4(3): 167-170.
- Bhat, Z.F., James, D.M., Alaa El-Din, A.B., Sunil, K., and Hina, F.B. (2021). Thermal processing implications on the digestibility of meat, fish and seafood proteins. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 20(5): 4511-48.
- Bogusz, R., Pobiega, K., Kowalczewski, P.Ł., Onopiuk, A., Szulc, K., Wiktor, A., Rybak, K., and Nowacka, M. (2024). Nutritional value and microbiological aspects of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.) larvae pretreated with a pulsed electric field. **Applied Sciences**. 14(3): 968.
- Boukid, F. (2021). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as a prospective plant-based ingredient: a review. **International Journal of Food Science & Technology**. 55: 5435-5444.
- Bouton, P.E., Harris, P.V., and Ratcliff, D. (1981). Effect of cooking temperature and time on the shear properties of meat. **Journal of Food Science**. 46(4): 1082-1087.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Balance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A.R., Martins, C., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C.N., Souchon, I., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., and Recio, I. (2019). INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**. 14(4): 991-1014.
- Caparros Megido, R., Poelaert, C., Ernens, M., Liotta, M., Blecker, C., Danthine, S., Tyteca, E., Haubruge, É., Alabi, T., Bindelle, J., and Francis, F. (2018). Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). **Food Research International**. 106: 503-508.
- Chen, Y., Jiang, S., Chen, Q., Liu, Q., and Kong, B. (2019). Antioxidant activities and emulsifying properties of porcine plasma protein hydrolysates modified by oxidized tannic acid and oxidized chlorogenic acid. **Process Biochemistry**. 79: 105-113.
- Choi, S.Y., Hur, S.J., An, C.S., Jeon, Y.H., Jeoung, Y.J., Bak, J.P., and Lim, B.O. (2010). Anti-inflammatory effects of *Inonotus obliquus* in colitis induced by dextran sodium sulfate. **Journal of Biomedicine & Biotechnology**. 2010: 943516.

- Costa, S., Pedro, S., Lourenço, H., Batista, I., Teixeira, B., Bandarra, N.M., Murta, D., Nunes, R., and Pires, C. (2020). Evaluation of *Tenebrio molitor* larvae as an alternative food source. **Nutrition & Food Science**. 21: 57-64.
- da Cruz, R.M.S., da Silva, C., da Silva, E.A., Hegel, P., Barão, C.E., and Cardozo-Filho, L. (2022). Composition and oxidative stability of oils extracted from *Zophobas morio* and *Tenebrio molitor* using pressurized n-propane. **The Journal of Supercritical Fluids**. 181: 105504.
- Davis, P.J., and Williams, S.C. (1998). Protein modification by thermal processing. **Allergy**. 53(46): 102-105.
- Dreassi, E., Cito, A., Zanfini, A., Materozzi, L., Botta, M., and Francardi, V. (2017). Dietary fatty acids influence the growth and fatty acid composition of the yellow mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Lipids**. 52(3): 285-294.
- EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies), Turck, D., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K.I., Kearney, J., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H.J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Cubadda, F., Frenzel, T., Heinonen, M., Marchelli, R., Neuhauser-Berthold, M., Poulsen, M., Prieto Maradona, M., Schlatter, J.R., van Loveren, H., Ververis, E., and Knutsen, H.K., (2021). Scientific opinion on the safety of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to regulation (EU) 2015/2283. **EFSA Journal**. 19(1): 6343.
- Eilenberg, J., Gasque, S.N., and Ros, V.I.D. (2017). Natural enemies in insect production systems. In A. Van Huis & J.K. Tomberlin (Eds.), **Insects as Food and Feed from Production to Consumption**. 201-223.
- Ekpo, P.B., Umoyen, A.J., Akpan, N.G., Ekpo, I.P., Abu, G., and Sunday, C.J. (2021). Evaluation of pollution load: Heavy metal contents and physiochemical properties of the Great Kwa River, Calabar, Cross River State, Nigeria. **International Journal of Environment and Climate Change**. 11(2): 19-31.
- Eriksson, U., Danilczyk, U., and Penninger, J.M. (2002). Just the beginning: Novel functions for angiotensin-converting enzymes. **Current Biology**. 12: 745-752.
- Fadlaoui, S., El Asri, O., Mohammed, L., Sihame, A., Omari, A., and Melhaoui, M. (2019). Isolation and characterization of chitin from shells of the freshwater crab *Potamon algeriense*. **Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives**. (24): 23-35.
- FAO. (2021). The state of food and agriculture 2021. **Making Agrifood Systems more Resilient to Shocks and Stresses**. 182.

- Fellows, P.J. (2009) Food processing technology. Principles and Practice. **CRC Press**. Woodhead Publishing Limited, Boca Raton.
- Feng, J., Berton-Carabin, C.C., Fogliano, V., and Schroën, K. (2022). Maillard reaction products as functional components in oil-in-water emulsions: A review highlighting interfacial and antioxidant properties. **Trends in Food Science and Technology**. 121: 129-141.
- Finke, M.D. (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. **Zoo Biology**. 26(2): 105-15.
- Fleury, L., Deracinois, B., Dugardin, C., Nongonierma, A.B., FitzGerald, R.J., Flahaut, C., and Ravallec, R. (2022). *In vivo* and *In vitro* comparison of the DPP-IV inhibitory potential of food proteins from different origins after gastrointestinal digestion. **International Journal of Molecular Sciences**. 23(15): 8365.
- Flores, D.R., Casados, L.E., Velasco, S.F., Ramírez, A.C., and Velázquez, G. (2020). Comparative study of composition, antioxidant and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. 14(1): 55.
- Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**. 226: 497-509.
- Fraenkel, G. (1950). The nutrition of the mealworm, *Tenebrio molitor* L. (Tenebrionidae: Coleoptera). **Physiological Zoology**. 23: 92-108.
- Franco, L.M., Bennett, S., and Kanfer, R. (2002). Health sector reform and public sector health worker motivation: A conceptual framework. **Social Science and Medicine**. 54(8): 1255-66.
- García-Gutiérrez, N., Mellado-Carretero, J., Bengoa, C., Salvador, A., Sanz, T., Wang, J., Ferrando, M., Güell, C., and Lamo-Castellví, S.D. (2021). ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis successfully discriminates raw doughs and baked 3D-printed snacks enriched with edible insect powder. **Foods**. 10(8): 1806.
- Gere, A., Harizi, A., Bellissimo, N., Roberts, D., and Moskowitz, H. (2020). Creating a mind genomics wiki for non-meat analogs. **Sustainability**. 12(13): 5352.
- Ghosh, S., Lee, S.M., Jung, C., and Meyer-Rochow, V.B. (2017). Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. **Journal of Asia-Pacific Entomology**. 20: 686-694.
- Gkinali, A.A., Matsakidou, A., Vasileiou, E., and Paraskevopoulou, A. (2022). Potentiality of *Tenebrio molitor* larva-based ingredients for the food industry: A review. **Trends in Food Science and Technology**. 119: 495-507.

- González, C.M., Garzón, R., and Rosell, C.M. (2019). Insects as ingredients for bakery goods. A comparison study of *H. Illucens*, *A. Domestica* and *T. Molitor* flours. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. 205-210.
- Griffiths, P.R., and de Haseth, J.A. (2007). Fourier transform infrared spectrometry. (2nd ed.). London: John Wiley and Sons.
- 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.
- Halloran, A., Flore, R., Vantomme, P., and Roos, N. (2018). Edible insects in sustainable food systems. **Springer International Publishing**. 83-91.
- Hamzeh, S., Safari-Faramani, R., and Khatony, A. (2020). Effects of aromatherapy with lavender and peppermint essential oils on the sleep quality of cancer patients: A randomized controlled trial. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2020: 7480204.
- He, Y., You, Q., Tang, S., Mao, R., Yuan, Y., Tian, X., and Xu, X. (2025). Integration of generalized additive models and hyperspectral imaging for quality prediction in Chaoshan beef meatballs: A comprehensive raw materials-processing-quality-sensory model. **Food Research International**. 204: 115961.
- Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Pula, H.J., Tomás-Almenar, C., Sánchez-Muros, M.J., Melenchón, F., Fabrikov, D., and Cardenete, G. (2022). Oxidative metabolism of gut and innate immune status in skin and blood of tench (*Tinca tinca*) fed with different insect meals (*Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor*). **Aquaculture**. 558: 0044-8486.
- Hong, S.P., Phuah, E.T., Wong, W.L., Lee, Y.Y., Tang, T.K., and Yassoralipour, A. (2024). Antioxidant and antimicrobial properties of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) protein concentrates and hydrolysates derived from varied dietary regimens. **ASEAN Journal on Science and Technology for Development**. 40(2): 15.
- Jajić, I., Popović, A., Urošević, M.I., Krstović, S., Petrović, M., Guljaš, D., and Samardžić, M. (2020). Fatty and amino acid profile of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.). **Biotechnol. Animal Husbandry, Dairy and Veterinary Science**. 36: 167-180.
- Jajić, I., Popović, A., Urošević, M., Krstović, S., Petrović, M., and Guljaš, D. (2019). Chemical composition of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) reared in Serbia. **Contemporary Agriculture**. 68: 23-27.

- Jia, J., Wu, Q., Yan, H., and Gui, Z. (2015). Purification and molecular docking study of a novel angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from alcalase hydrolysate of ultrasonic-pretreated silkworm pupa (*Bombyx mori*) protein. **Process Biochemistry**. 50(5): 876-883.
- Jongema, Y. (2012). <http://www.wageningenur.nl/en/Expertise-Services/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm> (version updated 2014).
- Kapoor, A., Mondal, S., Chaudhary, A., Sharma, S., Mehra, P., and Prasad, A. (2024). A topological review on protein-protein interactions: the development and promises in the era of omics. **Journal of Proteins and Proteomics**. 15(3): 523-544.
- Kaur, S., Jawandha, S.K., and Singh, H. (2014). Response of baramasi lemon to various post-harvest treatments. **International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology**. 7(4): 895-902.
- Kawai, F., Kawabata, T., and Oda, M. (2020). Current state and perspectives related to the polyethylene terephthalate hydrolases available for biorecycling. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**. 8(24): 8894-8908.
- Keil, C., Grebenteuch, S., Kröncke, N., Kulow, F., Pfeif, S., Kanzler, C., and Haase, H. (2022). Systematic studies on the antioxidant capacity and volatile compound profile of yellow mealworm larvae (*T. molitor* L.) under different drying regimes. **Insects**. 13(2): 166.
- Kim, H., Kim, H., Ahn, Y., Hong, K.B., Kim, I.W., Choi, R.Y., Suh, H.J., and Han, S.H. (2023). The preparation and physiochemical characterization of *Tenebrio molitor* chitin using alcalase. **Molecules**. 28(7): 3254
- Kim, J.J., Kim, K.S., and Yu, B.J. (2018). Optimization of antioxidant and skin-whitening compounds extraction condition from *Tenebrio molitor* larvae (Mealworm). **Molecules**. 23(9): 2340.
- Kim, S.Y., Kim, H.G., Lee, K.Y., Yoon, H.J., and Kim, N.J. (2016). Effects of Brewer's spent grain (BSG) on larval growth of mealworms, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **International Journal of Industrial Entomology**. 32:41-48.
- Kowalski, S., Gumul, D., Oracz, J., Rosicka-Kaczmarek, J., Mikulec, A., Mickowska, B., and Zborowski, M. (2023). Chemical composition, antioxidant properties and sensory aspects of sponge cakes supplemented with edible insect flours. **Antioxidants**. 12(11): 1912.

- Kröncke, N., and Benning, R. (2023). Influence of dietary protein content on the nutritional composition of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.). **Insects**. 14(3): 261.
- Lacroix, I.M., and Li-Chan, E.C. (2013). Inhibition of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV and α -glucosidase activities by pepsin-treated whey proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 61(31): 7500-7506.
- Larouche, J., Deschamps, M.H., Saucier, L., Lebeuf, Y., Doyen, A., and Vandenberg, G.W. (2019). Effects of killing methods on lipid oxidation, colour and microbial load of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. **Animals**. 9: 182.
- Lawal, O.M., Talsma, E.F., Bakker, E., Fogliano, V., and Linnemann, A.R. (2021). Novel application of biofortified crops: Consumer acceptance of pasta from yellow cassava and leafy vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 101(14): 6027-6035.
- Lee, J.H., Kim, Y.J., Kim, T.K., Song, K.M., and Choi, Y.S. (2024). Effect of ethanol treatment on the structural, techno-functional, and antioxidant properties of edible insect protein obtained from *Tenebrio molitor* larvae. **Food Chemistry**. 437: 137852.
- Liceaga, A.M., Aguilar-Toalá, J.E., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A.F., and Hernández-Mendoza, A. (2022). Insects as an alternative protein source. **Annual Review of Food Science and Technology**. 13(1): 19-34.
- Longvah, T., Mangthya, K., and Ramulu, P. (2011). Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. **Food Chem**. 128: 400-403.
- Luasiri, P., Sangsawad, P., Pongsetkul, J., Paengkoum, P., Nakharuthai, C., Suwanangul, S., Katemala, S., Sujinda, N., Pinyo, J., Chainam, J., Khongla, C., and Sorapukdee, S. (2024). Exploration of nutritional and bioactive peptide properties in goat meat from various primal cuts during *in vitro* gastrointestinal digestion and absorption. **Animal Bioscience**. 37: 1096-1109.
- Luo, F., Fu, Y., Ma, L., Dai, H., Wang, H., Chen, H., and Zhang, Y. (2022). Exploration of dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory peptides from silkworm pupal (*Bombyx mori*) proteins based on *in silico* and *in vitro* assessments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 70(12): 3862-3871.
- Mancini, S., Simona, M., Simone, P., Filippo, F., Alessandro, D.B., Tiziano, T., and Gisella, P. (2021). Effect of cooking techniques on the *in vitro* protein digestibility, fatty acid profile, and oxidative status of mealworms (*Tenebrio Molitor*). **Frontiers in Veterinary Science**. 8: 675572.

- Mellado-Carretero, J., García-Gutiérrez, N., Ferrando, M., Güell, C., García-Gonzalo, D., and de Lamo-Castellví, S. (2020). Rapid discrimination and classification of edible insect powders using ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis. **Journal Insects Food Feed**. 6(2): 141-148.
- Mellado-Carretero, J., García-Gutiérrez, N., Ferrando, M., Güell, C., García-Gonzalo, D., and de Lamo-Castellví, S. (2019). Rapid discrimination and classification of edible insect powders using ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis. **Journal Insects Food Feed**. 6: 141-148.
- Mendoza-Salazar, A., Santiago-López, L., Torres-Llanaez, M.J., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A.M., and González-Córdova, A.F. (2021). *In vitro* antioxidant and antihypertensive activity of edible insects flours (mealworm and grasshopper) fermented with *Lactococcus lactis* strains. **Fermentation**. 7(3): 153.
- Messina, C.M., Gaglio, R., Morghese, M., Tolone, M., Arena, R., Moschetti, G., Santulli, A., Francesca, N., and Settanni, L. (2019). Microbiological profile and bioactive properties of insect powders used in food and feed formulations. **Foods**. 8: 400.
- Merzendorfer, H., and Zimoch, L. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. **Journal of Experimental Biology**. 206(24): 4393-4412.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., and Dupont, D. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. **Food and Function**. 5(6): 1113-1124.
- Morales-Ramos, J.A., Rojas, M.G., Shelby, K.S., and Coudron, T.A. (2016). Nutritional value of pupae versus larvae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as food for rearing *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Economic Entomology**. 109: 564-571.
- Mujumdar, A.S., and Law, C.L. (2010). Drying technology: Trends and applications in postharvest processing. **Food Bioprocess Technology**. 3: 843-852.
- Munoz-Seijas, N., Fernandes, H., Outeirino, D., Moran-Aguilar, M.G., Domínguez, J.M., and Salgado, J.M. (2024). Potential use of frass from edible insect *Tenebrio molitor* for proteases production by solid-state fermentation. **Food Bioproducts Process**. 144: 146-155.
- Mu, X., Wang, R., Cheng, C., Ma, Y., Zhang, Y., and Lu, W. (2024). Preparation, structural properties, and *in vitro* and *in vivo* activities of peptides against dipeptidyl

- peptidase IV (DPP-IV) and α -glucosidase: A general review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 64(27): 9844-9858.
- Muzzarelli, R.A., Boudrant, J., Meyer, D., and Paoletti, M.G. (2012). Current views on fungal chitin/chitosan, humanchitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. **Carbohydrate Polymers**. 87: 995-1012.
- Norton, J.E., Wallis, G.A., Spyropoulos, F., Lillford, P.J., and Norton, I.T. (2014). Designing Food Structures for Nutrition and Health Benefits. **Annual Review of Food Science and Technology**. 5(1): 177-195.
- Norton, L.E., and Layman, D.K. (2006). Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. **Journal of Nutrition**. 136: 533-537.
- Oliveira, L.A., Pereira, S.M.S., Dias, K.A., da Silva Paes, S., Grancieri, M., Jimenez, L.G.S., de Carvalho, C.W.P., de Oliveira, E.E., Martino, H.S.D., and Della Lucia, C.M. (2024). Nutritional content, amino acid profile, and protein properties of edible insects (*Tenebrio molitor* and *Gryllus assimilis*) powders at different stages of development. **Journal of Food Composition and Analysis**. 125: 105804.
- Omuse, E.R., Tonnang, H.E.Z., Yusuf, A.A., Machekano, H., Egonyu, J.P., Kimathi, E., Mohamed, S.F., Kassie, M., Subramanian, S., Onditi, J., Mwangi, S., Ekesi, S., and Niassy, S. (2024). The global atlas of edible insects: analysis of diversity and commonality contributing to food systems and sustainability. **Scientific Reports**. 14: 5045.
- Oonincx, D.G.A.B., and Finke, M.D., (2021). Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. **Journal of Insects as Food and Feed**. 7(5): 639-659.
- Orkus, A. (2021). Edible insects versus meat-nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. **Nutrients**. 13(4): 1207.
- Paranthaman, R., Alagusundaram, K., and Indhumathi, J. (2009). Production of protease from rice mill wastes by *aspergillus niger* in solid state fermentation. **World Journal of Agricultural Sciences**. 5: 308-312.
- Pasini, G., Cullere, M., Vegro, M., Simonato, B., and Dalle Zotte, A. (2022). Potentiality of protein fractions from the house cricket (*Acheta domesticus*) and yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) for pasta formulation. **LWT-Food Science and Technology**. 164: 113638.
- Patil, P., Mandal, S., Tomar, S.K., and Anand, S. (2015). Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes. **European Journal of Nutrition**. 54(6): 863-880.

- Perfetti, R., Barnett, P.S., Mathur, R., and Egan, J.M. (1998). Novel therapeutic strategies for the treatment of type 2 diabetes. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**. 14: 207-225.
- Pham-Huy, L.A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. International journal of biomedical science. **International Journal of Biological Sciences**. 4(2): 89-96.
- Pongsetkul, J., Benjakul, S., Vongkamjan, K., Sumpavapol, P., and Osako, K. (2017). Microbiological and chemical changes of shrimp acetes vulgaris during kapi production. **Journal of Food Science and Technology**. 54: 3473-3482.4
- Purschke, B., Brüggem, H., Scheibelberger, R., and Jäger, H. (2018). Effect of pre-treatment and drying method on physico-chemical properties and dry fractionation behaviour of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.). **European Food Research and Technology**. 244: 269-280.
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. **Food Engineering**. 49: 311-319.
- Ravzanaadii, N., Kim, S.H., Choi, W.H.; Hong, S.J., and Kim, N.J. (2012). Nutritional value of mealworm, *Tenebrio Molitor* as food source. **International Journal of Industrial Entomology**. 25: 93-9820.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**. 26(9-10): 1231-7.
- Rivero-Pino, F., Guadix, A., and Guadix, E.M. (2021). Identification of novel dipeptidyl peptidase IV and α -glucosidase inhibitory peptides from *Tenebrio molitor*. **Food and Function**. 12(2): 873-880.
- Rong, J., Lin, Y., Sui, Z., Wang, S., Wei, X., Xiao, J., and Huang, D. (2019). Amorphous calcium phosphate in the pupal cuticle of *Bactrocera dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae): A new discovery for reconsidering the mineralization of the insect cuticle. **Journal of Insect Physiology**. 119: 103964.
- Rossi, G., Psarianos, M., Schlüter, O. K., and Ojha, S. (2023). Protein from insects—A new biosphere of opportunity. **Future Proteins**. 173-194.
- Rumbos, C.I., and Athanassiou, C.G. (2021). The superworm, *Zophobas morio* (Coleoptera:Tenebrionidae): A sleeping giant in nutrient sources. **Journal of Insect Science**. 21(2): 13.
- Rumpold, B.A., and Oliver, K.S., (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition and Food Research**. 57(5): 802-23.

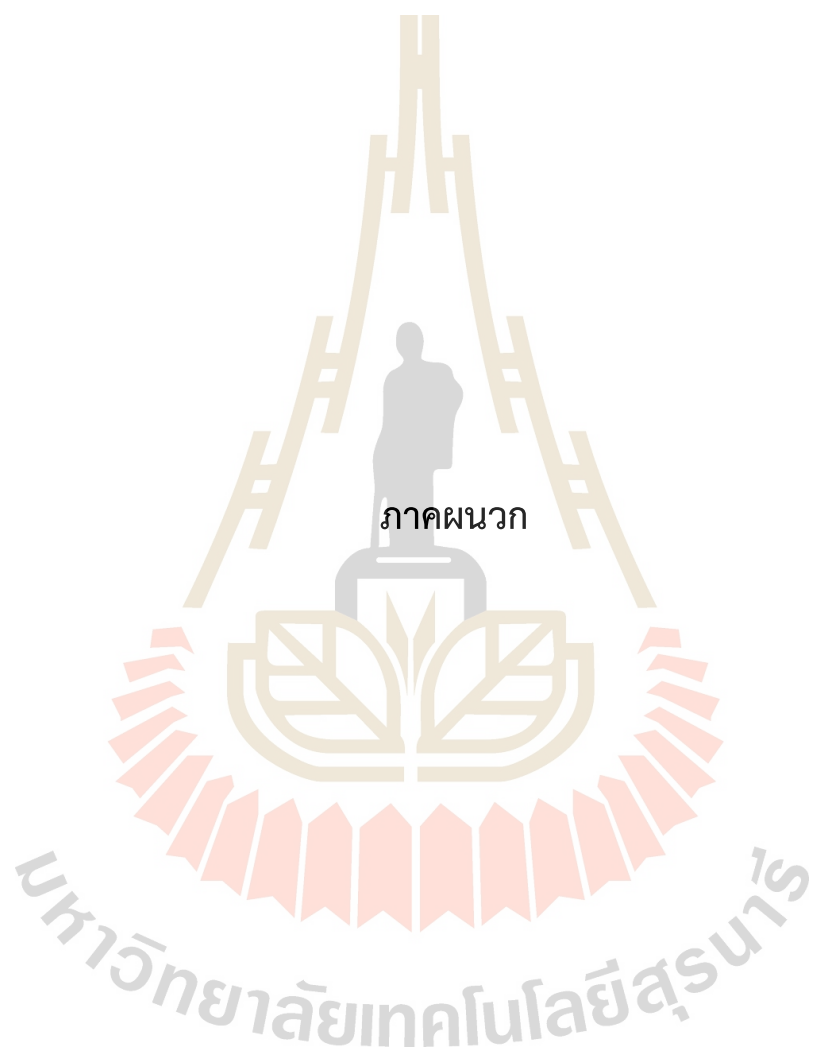
- Sammarco, B.C., Hinkle, N.C., and Crossley, M.S., (2023). Biology and management of lesser 1939 mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler houses. **Journal of 1940 Integrated Pest Management**. 14(1): 2.
- Sangsawad, P., Katemala, S., Pao, D., Suwanangul, S., Jeencham, R., and Sutheerawattananonda, M. (2022). Integrated evaluation of dual-functional DPP-IV and ACE inhibitory effects of peptides derived from sericin hydrolysis and their stabilities during *in vitro*-simulated gastrointestinal and plasmin digestions. **Foods**. 11(23): 3931.
- Sangsawad, P., Kiatsonchai, R., Chitsomboon, B., and Yongsawatdigul, J. (2016). Chemical and cellular antioxidant activities of chicken breast muscle subjected to various thermal treatments followed by simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Food Science**. 81: 2431-2438.
- Sangsawad, P., Roytrakul, S., and Yongsawatdigul, J. (2017). Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from the simulated *in vitro* gastrointestinal digestion of cooked chicken breast. **Journal of Functional Foods**. 29: 77-83.
- Sarkar, P., and Duary, R. (2023). Value addition of *Samia ricini* (Eri) pupal derived proteins: production and characterisation of antioxidant, ACE and DPP-IV inhibitory hydrolysates. **Journal of Insects as Food and Feed**. 9(7): 935-945.
- Schmid, E.M., Farahnaky, A., Adhikari, B., and Torley, P.J. (2022). High moisture extrusion cooking of meat analogs: A review of mechanisms of protein texturization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 21(6): 4573-4609.
- Selaledi, L., and Mabelebele, M. (2021). The influence of drying methods on the chemical composition and body color of yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). **Insects**. 12(4): 333.
- Shimomura, Y., Murakami, T., Nakai, N., Nagasaki, M., and Harris, R.A. (2004). Exercise promotes BCAA catabolism: Effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. **Journal of Nutrition**. 134: 1583-1587.
- Siemianowska, E., Kosewska, A., Aljewicz, M., Skibniewska, K., Polak-Juszczak, L., Jarocki, A., and Jedras, M. (2013). Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. **Agricultural Sciences**. 4: 287-291.
- Simopoulos, A.P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 56(8): 365-79.
- Smetana, S., Pernutz, C., Toepfl, S., Heinz, V., and Van Campenhout, L. (2019). High-moisture extrusion with insect and soy protein concentrates: Cutting properties

- of meat analogues under insect content and barrel temperature variations. **Journal of Insects as Food and Feed**. 5(1): 29-34.
- Soladoye, O.P., Juárez, M.L., Aalhus, J.L., Shand, P., and Estévez, M. (2015). Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 14(2): 106-22.
- Stull, V.J., and Weir, T.L. (2023). Chitin and omega-3 fatty acids in edible insects have underexplored benefits for the gut microbiome and human health. **Nature Food**. 4(4): 283-287.
- Tan, J., Yang, J., Zhou, X., Hamdy, A.M., Zhang, X., Suo, H., Zhang, Y., Li, N., and Song, J. (2022). *Tenebrio molitor* proteins-derived DPP-4 inhibitory peptides: Preparation, identification, and molecular binding mechanism. **Foods**. 11(22): 3626.
- Torreggiani, A., Di Foggia, M., Manco, I., De Maio, A., Markarian, S.A., and Bonora, S. (2008). Effect of sulfoxides on the thermal denaturation of hen lysozyme: A calorimetric and raman study. **Journal of Molecular Structure**. 891(1): 115-22.
- Tzompa-Sosa, D.A., Van Aken, G., Van Hooijdonk, A., and Van Valenberg, H. (2014). Influence of C16: 0 and long-chain saturated fatty acids on normal variation of bovine milk fat triacylglycerol structure. **Journal of Dairy Science**. 97(7): 4542-4551.
- Tzompa-Sosa, D.A., Yi, L., van Valenberg, H.J.F., and Lakemond, C.M.M. (2019). Four insect oils as food ingredient: Physical and chemical characterisation of insect oils obtained by an aqueous oil extraction. **Journal of Insects as Food and Feed**. 5(4): 279-292.
- van der Fels-Klerx, H.J., Camenzuli, L., Belluco, S., Meijer, N., and Ricci, A. (2018). Food safety issues related to uses of insects for feeds and foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 17(5): 1172-1183.
- van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. **Annual Review of Entomology**. 58: 563-583.
- van Huis, A. (2022). Edible insects: Challenges and prospects. **Entomological Research**. 52(4): 161-177.
- van Vliet, S., Burd, N.A., and van Loon, L.J. (2015). The skeletal muscle anabolic response to plant- versus animal-based protein consumption. **Journal of Nutritional Science**. 145(9): 1981-1991.
- Verkerk, M.C., Tramper, J., van Trijp, J.C., and Martens, D.E. (2007). Insect cells for human food. **Biotechnology Advances**. 25(2): 198-202.

- Ververis, E., Boué, G., Poulsen, M., Pires, S.M., Niforou, A., Thomsen, S.T., Tesson, V., Federighi, M., and Naska, A. (2022). A systematic review of the nutrient composition, microbiological and toxicological profile of *Acheta domesticus* (house cricket). **Journal of Food Composition and Analysis**. 114: 104859.
- Wan, W., Feng, J., Wang, H., Du, X., Wang, B., Yu, G., and Xia, X. (2023). Influence of repeated freeze-thaw treatments on the oxidation and degradation of muscle proteins from mirror carp (*Cyprinus carpio* L.), based on myofibrillar protein structural changes. **International Journal of Biological Macromolecules**. 226: 454-462.
- Weyh, C., Krüger, K., Peeling, P., and Castell, L. (2022). The role of minerals in the optimal functioning of the immune system. **Nutrients**. 14(3): 644.
- Xing, L.J., Hu, Y.Y., Hu, H.Y., Ge, Q.F., Zhou, G.H., and Zhang, W.G. (2016). Purification and identification of antioxidative peptides from dry-cured Xuanwei ham. **Food Chemistry**. 194: 951-958.
- Yi, L., Lakemond, C.M., Sagis, L.M., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., and van Boekel, M.A. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. **Food Chemistry**. 141(4): 3341-3348.
- Yu, X., He, Q., and Wang, D. (2021). Dynamic analysis of major components in the different developmental stages of *Tenebrio molitor*. **Frontiers in Nutrition**. 8: 689746.
- Zhang, J., Li, M., Han, Z., and Shao, J.-H. (2025). A review of insect peptides: From extraction and preparation to bioactivities. **Current Opinion in Food Science**. 63: 101301.
- Zhang, M., Tang, J., Mujumdar, A.S., and Wang, S. (2006). Trends in micro-wave-related drying of fruits and vegetables. **Trends in Food Science and Technology**. 17: 524-534.
- Zhang, M., Zhu, L., Wu, G., Liu, T., Qi, X., and Zhang, H. (2024). Food-derived dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides: Production, identification, structure-activity relationship, and their potential role in glycemic regulation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 64(8): 2053-2075.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J.L., Johansson, D.P., Landberg, R., and Langton, M. (2016). Yellow mealworm protein for food purposes extraction and functional properties. **PLoS ONE**. 11(2): 1-17.
- Zhu, J., Avakyan, N., Kakkis, A., Hoffnagle, A.M., Han, K., Li, Y., and Yu, C.J. (2021). Protein assembly by design. **Chemical Reviews**. 121(22): 13701-13796.

- Zielińska, E., Baraniak, B., and Karaś, M. (2018). Identification of antioxidant and anti-inflammatory peptides obtained by simulated gastrointestinal digestion of three edible insects species (*Grylloides sigillatus*, *Tenebrio molitor*, *Schistocerca gregaria*). **International Journal of Food Science and Technology**. 53: 2542-2551.
- Zielińska, E., Baraniak, B., Karaś, M., Rybczyńska, K., and Jakubczyk, A. (2015). Selected species of edible insects as a source of nutrient composition and in vitro cytotoxicity evaluation. **Food Research International**. 77: 460-466.
- Zielińska, E., Karaś, M., and Jakubczyk, A. (2017). Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. **International Journal of Food Science and Technology**. 52(2): 306-312.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อุปกรณ์และสารเคมี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1.1 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูล ABTS

- 1) หลอด Microtube ขนาด 1.5 ml
- 2) Thermo Scientific Sorvall Legend XFR Refrigerated Centrifuge
- 3) Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)
- 4) 96-Well plate
- 5) Micropipette

1.2 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP)

- 1) หลอด Microtube ขนาด 1.5 ml
- 2) Thermo Scientific Sorvall Legend XFR Refrigerated Centrifuge
- 3) Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)
- 4) 96-Well plate
- 5) Micropipette

1.3 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบความสามารถในการจับโลหะ (Metal-chelating)

- 1) หลอด Microtube ขนาด 1.5 ml
- 2) Thermo Scientific Sorvall Legend XFR Refrigerated Centrifuge
- 3) Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)
- 4) 96-Well plate
- 5) Micropipette

1.4 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ACE

- 1) หลอด Microtube ขนาด 1.5 ml
- 2) Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)
- 3) 96-Well plate
- 4) Micropipette

1.5 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ DPP-IV

- 1) หลอด Microtube ขนาด 1.5 ml
- 2) Microplate reader (Varioskan LUX, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)
- 3) 96-Well plate
- 4) Micropipette

2. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษา

2.1 สารเคมีสำหรับการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูล (ABTS)

- 1) สารมาตรฐาน Trolox
- 2) 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)
- 3) $K_2S_2O_8$

2.2 สารเคมีสำหรับการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP)

- 1) Acetate buffer เข้มข้น 300 มิลลิโมลลาร์
- 2) TPTZ เข้มข้น 10 มิลลิโมลลาร์
- 3) กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 40 มิลลิโมลลาร์
- 4) $FeCl_3$ เข้มข้น 20 มิลลิโมลลาร์
- 5) สารมาตรฐาน Trolox

2.3 สารเคมีสำหรับการทดสอบความสามารถในการจับโลหะ (Metal-chelating)

- 1) $FeCl_2$ เข้มข้น 2 มิลลิโมลลาร์
- 2) ferrozine เข้มข้น 5 มิลลิโมลลาร์
- 3) EDTA

2.4 สารเคมีสำหรับการทดสอบความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ACE

- 1) เอนไซม์ ACE (ความเข้มข้น 0.1U/ml)
- 2) N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Phe-Gly-Gly (FAPGG) ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลลาร์

2.5 สารเคมีสำหรับการทดสอบความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ DPP-IV

- 1) เอนไซม์ DPP-IV ความเข้มข้น 0.05 U/mL
- 2) สารตั้งต้น (Gly-Pro p-nitroanilide hydrochloride)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุชญญา สิ้นสระน้อย เกิดเมื่อวันที่ 23 มิถุนายน 2543 ที่จังหวัดนครราชสีมา เริ่มศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนมารีย์วิทยา จังหวัดนครราชสีมา ศึกษาในระดับมัธยมศึกษาปีที่ 1-6 ที่โรงเรียนมารีย์วิทยา จังหวัดนครราชสีมา และในปีการศึกษา 2564 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา และในปีการศึกษา 2565 ได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ภายใต้การดูแลของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมกร ส่งสวัสดิ์ อีกทั้งได้มีโอกาสได้ตีพิมพ์บทความวิจัยในวารสาร Journal of Home Economics Technology and Innovation ในหัวข้อ Chemical Composition and Protein Structure of Mealworms (*Tenebrio molitor*) at Different Growth Stages for Development as an Alternative Food Source in the Future

