สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา ส่วนของเครื่องในปลาทับทิม พบว่า เศษเหลือปลาทับทิมประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า ดังแสดงในตาราง 3 โดยมีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.3 และจากการสำรวจปริมาณเศษเหลือต่อวัน พบว่าปริมาณเศษเหลือของปลาทับทิมจากร้านจำหน่ายปลาทับทิมสด ของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ที่ตลาดร่วมใจ ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก มีถึงวันละ 8-10 กิโลกรัม

ตาราง 3 องค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือปลาทับทิม (เครื่องใน)

องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	ก่อนกำจัดไขมัน	หลังกำจัดไขมัน
โปรตีน	14.90 ± 0.95	15.68±0.69
ไขมัน	5.98 ± 0.42	1.95±1.44
ความชื้น	76.30 ± 0.57	76.73±0.39
เถ้า	1.64 ± 0.07	1.61±0.39

การสกัดไขมันด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 นั้น สามารถลดปริมาณไขมันลงได้จากร้อยละ 5.98 เหลือเพียงร้อยละ 1.95 ตามลำดับ ปริมาณไขมันในวัตถุดิบควรมีปริมาณน้อยที่สุด เนื่องจากไขมันในเครื่องในปลาทับทิมสามารถขัดขวางการย่อยสลายของโปรตีน โดยไขมันอาจเกิดพันธะเชื่อมกับโมเลกุลของโปรตีน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไขมันและโปรตีน (lipo-protein complex) ทำให้มีโครงสร้างที่ใหญ่และซับซ้อนสามารถเกิดการขัดขวางกระบวนการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ได้นั่นเอง (Mutilangi, Panyam, and Kilara, 1996, pp. 270–274) นอกจากนี้ไขมันยังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดกลิ่นหืนได้

โปรตีนในเครื่องในปลาทับทิมหลังสกัดไขมัน มีปริมาณร้อยละ 15.68 โดยน้ำหนักเปียก ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 67.38 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าวัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณโปรตีนในปลาดุกบิ๊กอุย (*Clarias macrocephalus*) ทั้งตัวยกเว้นส่วนหัว ร้อยละ 58.22 โดยน้ำหนักแห้ง (พิชญา ชินอุปราวัฒน์, 2539, หน้า 29) และในเครื่องในปลากระโห้เทศ (*Catla catla*) ร้อยละ 35.87 โดยน้ำหนักแห้ง (Bhaskar and Mahendrakar, 2008, pp.338) จะเห็นได้ว่า ปริมาณโปรตีนขึ้นอยู่กับชิ้นส่วน และสายพันธุ์ของปลา จากการที่เครื่องในปลาทับทิมมีโปรตีนปริมาณสูง จึงมีความเหมาะสมในการนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท ควรมีโปรตีนไม่ต่ำกว่าร้อยละ 30 โดยน้ำหนักแห้ง (Wu, et al., 2002, pp. 1220-1227) โดยโปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญของวัตถุดิบที่ใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท ซึ่งมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ วัตถุดิบที่นำมาใช้นั้นควรมีปริมาณโปรตีนสูงพอเหมาะ เนื่องจากโปรตีนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับการย่อยสลาย

การศึกษาชนิดเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซท

จากการศึกษาชนิดและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยทำการศึกษาจากเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์ปาเปน ที่ทำการแปรสภาวะที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ คือร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 เวลาที่ใช้ในการย่อย คือ 60, 90 และ 120 นาที และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย คือ 25, 31 และ 37 องศาเซลเซียส

1. สภาวะในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์เปปซิน

จากการศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์เปปซิน ที่อุณหภูมิ 25, 31 และ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2 ทำการย่อยที่ระยะเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์เปปซินที่แตกต่างกัน (ตาราง 4) พบว่า

ตาราง 4 ระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์เปปซินแต่ละสภาวะ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณเอนไซม์ (ร้อยละต่อวัตถุดิบ)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)
25	0	0.00	21.69
25	60	0.25	41.67 [c]
25	60	0.50	51.72 [a]
25	60	0.75	52.94 [a]
25	90	0.25	51.77 [a]
25	90	0.50	51.85 [a]
25	90	0.75	51.85 [a]
25	120	0.25	45.61 [c]
25	120	0.50	48.15 [bc]
25	120	0.75	41.38 [c]
31	60	0.25	45.90 [c]
31	60	0.50	46.03 [c]
31	60	0.75	46.77 [bc]
31	90	0.25	45.59 [ab]
31	90	0.50	49.12 [ab]
31	90	0.75	46.88 [ab]
31	120	0.25	45.59 [c]
31	120	0.50	42.86 [c]
31	120	0.75	45.90 [c]
37	60	0.25	49.21 [ab]
37	60	0.50	50.00 [a]
37	60	0.75	50.23 [a]
37	90	0.25	48.44 [bc]
37	90	0.50	**53.23** [a]
37	90	0.75	52.03 [a]
37	120	0.25	45.66 [c]
37	120	0.50	50.79 [a]
37	120	0.75	50.21 [a]

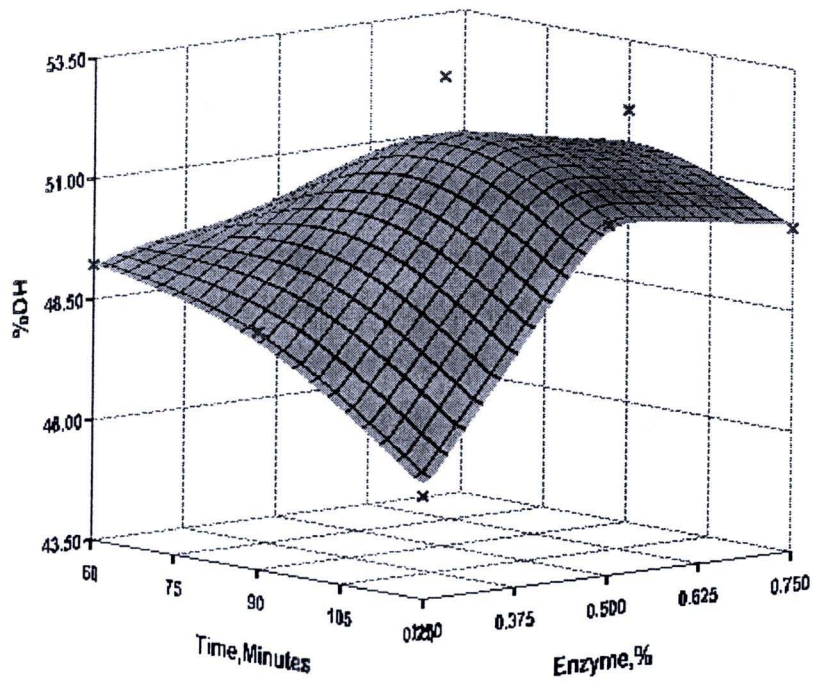
หมายเหตุ: a-c ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มีต่อระดับการย่อยสลาย พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ โดยจะเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที และที่ 37 องศาเซลเซียส เวลา 60, 90 และ 120 นาที ความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นในช่วงแรก เนื่องจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาแปรผันโดยตรงกับปริมาณร้อยละของเอนไซม์ และโปรตีนตั้งต้นในเครื่องในปลาทับทิม จนถึงจุดหนึ่ง (ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25) ค่าระดับการย่อยสลายจะคงที่หรือมีแนวโน้มลดลง (ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.50-0.75) ดังนั้นถ้ามีปริมาณเอนไซม์มากทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อปริมาณเอนไซม์สูงมากขึ้นจนถึงระดับหนึ่งที่ค่าระดับการย่อยสลายคงที่ และมีแนวโน้มลดลง เพราะปริมาณเอนไซม์มีมากเกินพอสำหรับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบ (Cohen, Coghlan and Dihel, 1986, pp. 219-227) อีกทั้งเมื่อปริมาณเอนไซม์มากเกินไปอาจเกิดการย่อยสลายเอนไซม์ด้วยกันเองได้อีกด้วย เช่นเดียวกันกับผลของระยะเวลาในการย่อยที่มีต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์เปปซิน พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ค่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลา ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เอนไซม์และโปรตีนมีโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาได้มากยิ่งขึ้น เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งอัตราการเกิดปฏิกิริยามีแนวโน้มลดลงเนื่องจากโปรตีนตั้งต้นในวัตถุดิบหมดไป (ณัฐวุฒิ ส่งแสง, 2550, หน้า 65-66) และอาจเป็นผลจากกรดอะมิโนบางตัวที่มีอยู่ถูกทำลายไป ซึ่งการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินมีขั้นตอนการปรับค่าความเป็นกรดด่างโดยในสภาวะที่เป็นกรดนี้เองทำให้กรดอะมิโนชนิดทริปโตเฟน และซิสตีนถูกทำลายได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่กรดอะมิโนบางชนิดถูกทำลายบางส่วนทำให้มีปริมาณลดลงร้อยละ 5-10 เช่น ไทโรซีน ซีรีน และทรีโอนีน (Fountoulakis and Lahm, 1998) จึงเป็นผลทำให้ค่าระดับการย่อยสลายลดลงด้วย

ส่วนผลของอุณหภูมิที่มีต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์เปปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยการย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 60-90 นาที, ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 90 นาที และที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 60-90 นาที มีค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาค่าระดับการย่อยสลายของทุกอุณหภูมิ เมื่อเวลา 120 นาที จะมีค่าระดับการย่อยสลายแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากโปรตีนตั้งต้นในวัตถุดิบหมดไป และผลของค่าความเป็นกรดด่างที่ทำลายกรดอะมิโนบางชนิดดังที่กล่าวข้างต้น แต่เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีความเหมาะสมต่ออุณหภูมิแตกต่างกัน อุณหภูมิที่เอนไซม์เปปซินทำงานได้ดีที่สุด (optimum

temperature) อยู่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงสามสรถสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.50 ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย 90 นาที ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงสุดเท่ากับร้อยละ 53.23

นอกจากนี้ยังพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยและความเข้มข้นของเอนไซม์เปปซิน ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 37 องศาเซลเซียส ต่อร้อยละของระดับการย่อยสลาย โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อให้ได้กราฟแสดงการตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว (ภาพ 8) ต่างก็ให้ค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายสูงสุดเช่นเดียวกับที่สภาวะของการย่อยที่ดีที่สุดคือ ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.50 ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย 90 นาที



ภาพ 8 การตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวของอิทธิพลระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์เปปซินและระยะเวลาในการย่อยต่อระดับการย่อยสลาย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2. **สภาวะในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ปาเปน**

การย่อยโดยเอนไซม์ปาเปน (ตาราง 5) ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน คือ 25, 31 และ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.3 ทำการย่อยที่ระยะเวลา และความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน พบว่า

ตาราง 5 ระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ปาเปนแต่ละสภาวะ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณเอนไซม์ (ร้อยละต่อวัตถุดิบ)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)
25	0	0.00	21.66
25	60	0.25	75.22[b]
25	60	0.50	76.06[b]
25	60	0.75	77.71[a]
25	90	0.25	75.03[b]
25	90	0.50	80.51[a]
25	90	0.75	83.83[a]
25	120	0.25	77.48[a]
25	120	0.50	73.41[b]
25	120	0.75	71.32[b]
31	60	0.25	47.17[b]
31	60	0.50	49.43[b]
31	60	0.75	50.01[b]
31	90	0.25	51.03[b]
31	90	0.50	51.88[b]
31	90	0.75	45.48[c]
31	120	0.25	48.20[c]
31	120	0.50	48.45[c]
31	120	0.75	50.02[b]
37	60	0.25	37.96[c]
37	60	0.50	37.27[c]
37	60	0.75	35.52[c]
37	90	0.25	32.60[c]
37	90	0.50	31.34[c]
37	90	0.75	37.16[c]
37	120	0.25	35.62[c]
37	120	0.50	39.45[c]
37	120	0.75	40.90[c]

หมายเหตุ: a-c ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

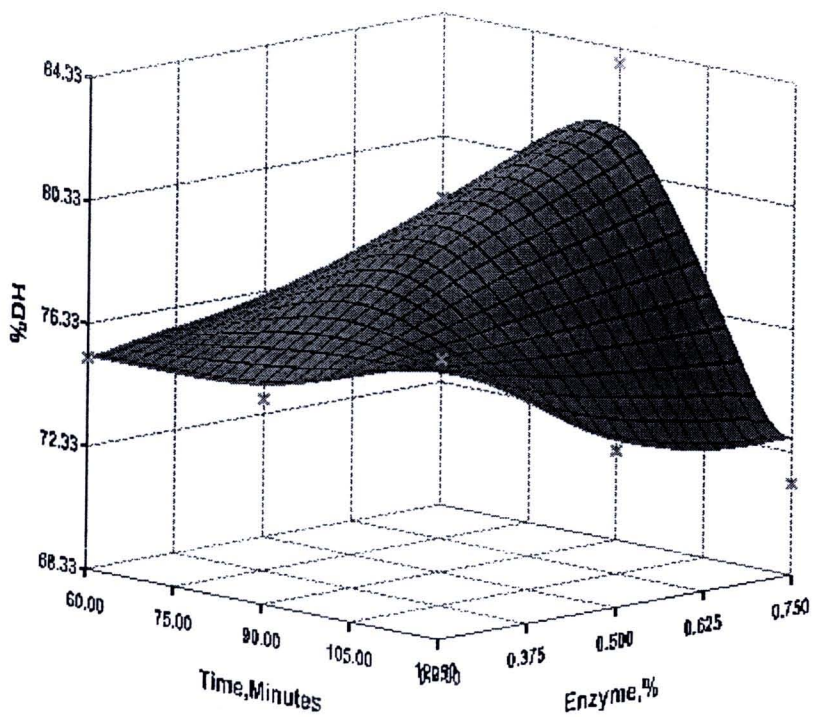
ผลของอุณหภูมิที่มีต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ปาเปน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการย่อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะมีผลทำให้ได้ค่าระดับการย่อยสลายเฉลี่ยสูงที่สุด เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีความเหมาะสมต่ออุณหภูมิแตกต่างกัน อุณหภูมิที่เอนไซม์ปาเปนทำงานได้ดีที่สุดอยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และค่าระดับการย่อยสลายลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิในการย่อยที่ 37 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิสูงเกินไปปฏิกิริยาจะลดลง ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนจะเกิดการเสียสภาพ (denature) จึงเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรตไม่ได้ จึงไม่สามารถย่อยโปรตีนในเครื่องในปลาทับทิมได้ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายลดลง

ผลของความเข้มข้นเอนไซม์ที่มีต่อระดับการย่อยสลายโปรตีน พบว่า การย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของเอนไซม์มีผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ที่ทุกระดับความเข้มข้น เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไปทำให้เอนไซม์เสียสภาพจนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายได้ดังที่กล่าวมาแล้ว ส่วนการย่อยที่อุณหภูมิ 25 และ 31 องศาเซลเซียส ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มีต่อค่าระดับการย่อยสลาย พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ โดยเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทำให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นในช่วงแรก เนื่องจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาแปรผันโดยตรงกับปริมาณร้อยละของเอนไซม์ และโปรตีนตั้งต้นในเครื่องในปลาทับทิม จนถึงจุดหนึ่งค่าระดับการย่อยสลายจะคงที่ หรือมีแนวโน้มลดลง เพราะปริมาณเอนไซม์มีมากเกินพอสำหรับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบ หรืออาจเกิดจากตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (inhibitor) โดยตัวหยุดการทำงานของเอนไซม์ปาเปน ได้แก่ สารประกอบจำพวกที่มีหมู่ซัลฟิดิวซ์ (sulfhydryl) บางชนิด และสารประกอบเปปไทด์ อัลดีไฮด์ บางชนิด ซึ่งเป็นผลผลิตจากปฏิกิริยาไปจับกับเอนไซม์ปาเปนด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กลายเป็นสารประกอบที่เสถียรทำให้เอนไซม์เสียสภาพ ไม่สามารถทำงานได้อีก ซึ่งเป็นการยับยั้งแบบถาวร (Morihara, 1967)

ส่วนผลของระยะเวลาในการย่อย มีผลไปในทิศทางเดียวกันกับผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ คือ มีผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในการย่อยที่ใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในการย่อยที่อุณหภูมิ 25 และ 31 องศาเซลเซียส คือ เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้น ค่าระดับการย่อยสลายจะเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เอนไซม์และโปรตีนมีโอกาสเกิดปฏิกิริยาได้มากยิ่งขึ้น จนเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งอัตราการเกิดปฏิกิริยามีแนวโน้มลดลงเนื่องจากโปรตีนตั้งต้นในวัตถุดิบหมดไป

จากผลที่ได้ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปน คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.75 ระยะเวลาในการย่อย 90 นาที อุณหภูมิในการย่อย 25 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.3 ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 83.83 ซึ่งมีค่าสูงกว่าการศึกษาของ Chalamaiah, et al. (2010) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ของปลานวลจันทร์ (*Cirrhinus mrigala*) ด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่า ได้ค่าระดับการย่อยสลายร้อยละ 17.1 ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.5 w/w ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.0-6.5 ระยะเวลา 90 นาที อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส

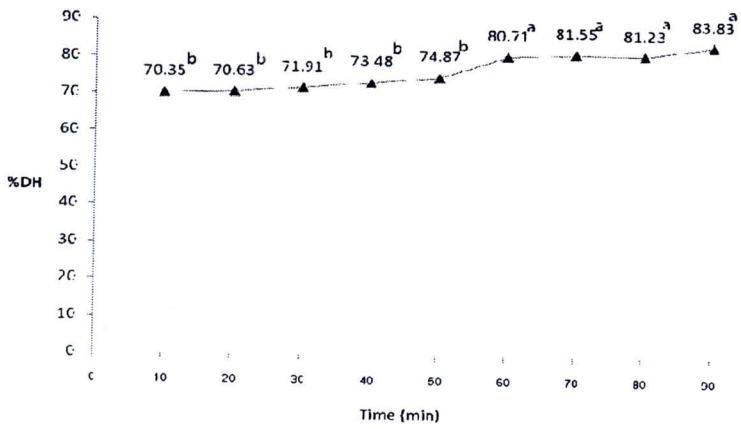
นอกจากนี้ยังพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนที่อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25 องศาเซลเซียส ต่อร้อยละของระดับการย่อยสลาย (ภาพ 9) ต่างก็ให้ค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายสูงสุดเช่นเดียวกับที่สภาวะของการย่อยที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.75 ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย 90 นาที



ภาพ 9 การตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวของอิทธิพลระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนและระยะเวลาในการย่อยต่อระดับการย่อยสลาย ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากผลของการย่อยเครื่องในปลาทับทิม โดยใช้เอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์เปปซิน และปาเปน เมื่อนำระดับการย่อยสลายที่ได้จากการย่อยตามสภาวะที่เหมาะสมมาพิจารณาเปรียบเทียบกันทางสถิติ เพื่อเลือกชนิดเอนไซม์ และเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพียงสภาวะเดียว พบว่า ค่าระดับการย่อยสลายที่ได้แต่ละสภาวะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการย่อยโดยเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.75 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ 60 นาทีและ 90 นาที จะมีค่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จึงทำการขยายเวลาในการย่อยเป็น 10-90 นาที (ภาพ 10) พบว่า เมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายผ่านไปในช่วงแรก (ช่วง 10-60 นาที) ระดับการย่อยสลายมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อโปรตีนถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จะทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป (ช่วง 60-90 นาที) ค่าระดับการย่อยสลายมีค่าสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการแข่งขันกันระหว่างโปรตีนที่เป็นสารตั้งต้นและเปปไทด์ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ในการจับกับเอนไซม์ ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลายที่มีต่อค่าระดับการย่อยสลาย ในการทดลองนี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของรุ่งอรุณ ตระการชัยวงศ์ (2545) และ Sathivel et al. (2003) ที่มีค่าระดับการย่อยสลายสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาแรกของการย่อยสลาย และเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งค่าระดับการย่อยสลายจะเริ่มมีค่าคงที่ ดังนั้นในการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซทจึงทำการย่อยสลายเป็นระยะเวลานาน 60 นาที ซึ่งได้ค่าระดับการย่อยสลายเท่ากับร้อยละ 80.71



ภาพ 10 ผลของเวลาในการย่อยโปรตีนต่อระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซท จากการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน

เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเครื่องในปลาทับทิมโดยใช้เอนไซม์ปาเปนมาทดลองต่อ โดยเพิ่มปริมาณเครื่องในที่ใช้เป็น 250 กรัม แล้วนำสารละลายไปทำให้เข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยนำไปผ่านเครื่องกลั่นระเหยน้ำ เพื่อระเหยน้ำออกจนมีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณ 15 องศาบริกซ์ แล้วจึงนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จากการคำนวณปริมาณผลผลิตผงที่ได้เปรียบเทียบกับปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการทำแห้ง มีลักษณะเป็นผงหยาบๆ สีน้ำตาลเหลือง โดยในการย่อยใช้เครื่องในปลาทับทิม 500 กรัม สามารถนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทผงได้ 22.70 กรัม หรือคิดเป็นปริมาณผลผลิตที่ได้คิดเป็นร้อยละ 4.54

การศึกษาองค์ประกอบของผลิตผลที่ได้จากการย่อย

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเซท (เปปโตน) ที่ผลิตได้จากการย่อยสลายเศษเหลือปลาทับทิมด้วยเอนไซม์ปาเปนเมื่อนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งเพื่อนำไปใช้ทดแทนเปปโตน (ตาราง 6) พบว่า เปปโตนจากเศษเหลือปลาทับทิม มีองค์ประกอบทางเคมีคือ โปรตีน ไขมัน และเถ้า คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง 94.34, 1.88 และ 3.78 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับ เปปโตนทางการค้าที่มีองค์ประกอบคือ โปรตีน ไขมัน และเถ้า คิดเป็นร้อยละ 95.02, 1.14 และ 4.84 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนของเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิม มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าเปปโตนทางการค้า แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และปริมาณโปรตีนในเปปโตนที่ผลิตได้ยังมีมากกว่าค่าที่พบในการศึกษาของ Stein, Svein, and Vincent (2005) ที่ย่อยเศษเหลือของปลาคอด (*Gadus morhua* L.) ด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่า เปปโตนที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 76.88 อีกทั้งปริมาณเถ้ายังมีค่ามากถึงร้อยละ 6.0 ซึ่งมีค่ามากกว่าทั้งเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิมและเปปโตนทางการค้า ส่วนการศึกษาของ Chalamaiah, et al. (2010) ที่ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ของปลานวลจันทร์ (*Cirrhinus mrigala*) ด้วยเอนไซม์ปาเปน รายงานว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 70.0 ซึ่งน้อยกว่าเปปโตนจากเศษเหลือปลาทับทิม

ผลของปริมาณไขมัน และเถ้า ของเปปโตนที่ผลิตได้ เมื่อเปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยปริมาณไขมันของเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิมมีค่ามากกว่าเปปโตนทางการค้า เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตแตกต่างกัน แต่ปริมาณเถ้าของเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิมมีค่าน้อยกว่าเปปโตนทางการค้าเนื่องจากในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือปลาทับทิมไม่มีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง ซึ่งในการผลิตเปปโตนทางการค้าต้องมีการปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เหมาะสมกับเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิต (BD Bionutrients, 2006) จึงทำให้ปริมาณเถ้ามากกว่า

ตาราง 6 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนทางการค้ากับเปปโตนที่ผลิตได้

องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	เปปโตนทางการค้า (ตรีสินธุ์, 2546)	เปปโตนที่ผลิตจากเศษเหลือของปลาทับทิม
โปรตีน	95.02[a]	94.34[a] ±0.61
ไขมัน	1.14[b]	1.88[a] ±0.19
เถ้า	4.84[a]	3.78[b] ±0.31

หมายเหตุ: a-b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

เมื่อนำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิม (A) มาเปรียบเทียบกับเปปโตนที่ได้จากแหล่งวัตถุดิบต่างๆ จากงานวิจัยอื่น ที่ใช้กระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์เช่นเดียวกันกับงานวิจัยนี้ (ตาราง 7) คือ B: เปปโตนจากหัวกุ้ง C: เปปโตนจากปลาดุกบิ๊กอุยทั้งตัว และ D: เปปโตนจากเครื่องในปลากระโห้ พบว่า ปริมาณโปรตีนของเปปโตน ที่ผลิตได้มีค่าต่ำกว่า เปปโตน C ที่ได้จากปลาดุกบิ๊กอุยทั้งตัว และเปปโตน D ที่ได้จากเครื่องในปลากระโห้ เนื่องจากวัตถุดิบมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นแตกต่างกันนั้นเอง โดยปลาดุกบิ๊กอุยทั้งตัวมีปริมาณโปรตีนอยู่ร้อยละ 17.38 และเครื่องในปลากระโห้มีปริมาณโปรตีนอยู่ถึงร้อยละ 53.25 ส่วนในเครื่องในปลาทับทิมมีปริมาณโปรตีนอยู่เพียงร้อยละ 15.68 จึงทำให้ปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซทน้อยกว่า โดยปริมาณโปรตีนของปลาแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเปปโตนที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าเปปโตน B ที่ได้จากห้วกุ้ง ซึ่งในวัตถุดิบที่เป็นหัวกุ้งมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าในปลานั่นเอง

ปริมาณไขมันของเปปโตนที่ผลิตได้มีค่ามากกว่าเปปโตน B และเปปโตน C แต่น้อยกว่าเปปโตน D เนื่องมาจากแหล่งของวัตถุดิบ และกระบวนการกำจัดไขมันก่อนการย่อยสลายโปรตีนนั่นเอง โดยจะเห็นว่าใน เปปโตน D ที่มีแหล่งวัตถุดิบลักษณะเหมือนกันแต่ใช้กระบวนการกำจัดไขมันที่ต่างกัน คือเปปโตนที่ผลิตได้กำจัดไขมันด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ส่วนเปปโตน D กำจัดไขมันด้วยการหมุนเหวี่ยงจึงทำให้มีปริมาณไขมันที่แตกต่างกัน ซึ่งในขั้นตอนการกำจัดไขมันไม่ว่าจะเป็นวิธีใดก็สามารถช่วยลดปริมาณไขมันในวัตถุดิบลงได้ และเมื่อปริมาณไขมันลดลงจะช่วยให้ขั้นตอนการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นได้ดี เนื่องจากไม่มีไขมันมาขัดขวางการทำงานของเอนไซม์

ปริมาณเถ้าของเปปโตนที่ผลิตได้มีค่าต่ำกว่า เปปโตน B และ เปปโตน C รวมทั้งเปปโตนทางการค้าด้วย แต่มีค่าสูงกว่าเปปโตน D เนื่องจากในขั้นตอนการผลิตเปปโตน D มีขั้นตอนการหมุนเหวี่ยงถึง 3 ครั้ง ขณะที่กระบวนการในงานวิจัยนี้ทำการหมุนเหวี่ยงเพียงครั้งเดียวเท่านั้น ซึ่งจากผลการวิจัยของ ฤทัยรัตน์ หวานฉ่ำ (2547, หน้า 43) พบว่า การนำโปรตีนปลาไฮโดรไลเซทเหลวที่ได้มาผ่านการหมุนเหวี่ยงจะช่วยลดปริมาณของแร่ธาตุต่างๆ ที่มีอยู่โดยแร่ธาตุต่างๆ เหล่านี้จะตกตะกอน เมื่อแยกส่วนใสออกมาพบเถ้ามีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ส่วนความชื้นของเปปโตนที่ผลิตได้มีค่าสูงกว่าเปปโตนทั้ง 3 ชนิด โดยเปปโตนที่ผลิตได้และเปปโตน C ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีค่าความชื้นสูงกว่าค่ามาตรฐานของเปปโตนที่ระบุโดย condalab ซึ่งกำหนดให้ต่ำกว่าร้อยละ 6 ทั้งนี้คาดว่าน่าจะมีผลมาจากกระบวนการทำแห้งแต่ละประเภทที่มีประสิทธิภาพแตกต่างกัน คือเปปโตนที่ผลิตได้ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry) ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความชื้นสูง เนื่องจากไม่สามารถลดความชื้นได้เหมือนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dry) ซึ่งเปปโตนทางการค้าผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 4 (กำเนิด สุภัณฑวงษ์, 2534)

ตาราง 7 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนที่ผลิตได้กับงานวิจัยอื่น

องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	A	B	C	D
โปรตีน	85.41	34.37	86.50	88.31
ไขมัน	1.70	0.21	0.03	1.94
เถ้า	3.42	41.34	6.64	0.45
ความชื้น	9.47	4.43	7.54	3.85

หมายเหตุ: A: เปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือของปลาทับทิม
(กำจัดไขมันในวัตถุดิบ, ผ่านการหมุนเหวี่ยง และทำแห้งแบบเยือกแข็ง)
B: เปปโตนจากหัวกุ้ง (วรพงษ์ อัศวเกศมณี, 2538)
(ไม่กำจัดไขมันในวัตถุดิบ, ไม่ผ่านการหมุนเหวี่ยง และทำแห้งแบบพ่นฝอย)
C: เปปโตนจากปลาดุกบิ๊กอุยทั้งตัว (พิชญา ชินอุปราวัฒน์, 2539)
(ไม่กำจัดไขมันในวัตถุดิบ, ผ่านการกรอง และทำแห้งแบบเยือกแข็ง)
D: เปปโตนจากเครื่องในปลากระโห้ (Bhaskar and Mahendrakar, 2008)
(กำจัดไขมันในวัตถุดิบ, ผ่านการกรองและหมุนเหวี่ยง และทำแห้งแบบพ่นฝอย)

กรดอะมิโนมีความสำคัญสำหรับจุลินทรีย์ โดยใช้สังเคราะห์โปรตีนเพื่อใช้ในการเจริญและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) โดยกรดอะมิโนที่จำเป็น 18 ชนิด ที่จุลินทรีย์ต้องการคือ glutamic acid, glycine, alanine, iso-leucine, proline, arginine, aspartic acid, cystine, histidine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, serine, threonine, tryptophan, tyrosine และ valine โดยกรดอะมิโนเหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการ amino transport system เพื่อสังเคราะห์โปรตีนและเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยทำงานร่วมกันเป็นกลุ่ม ดังนี้ glycine-alanine, threonine-serine, leucine-isoleucine-valine, phenylalanine-tyrosine-tryptophan, methionine, proline, lysine-arginine, cystine, aspartic acid, glutamic acid และ histidine (Payne, 1980, pp. 211-256)

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการใช้กรดอะมิโนแตกต่างกัน โดยเชื้อ *Escherichia coli* สามารถใช้กรดอะมิโนในการเจริญได้หลายชนิด ทั้ง alanine, aspartic acid, cystine, glycine, glutamic acid, methionine, serine และ threonine เชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* มีความจำเพาะต่อ glutamic acid, histidine, iso-leucine, lysine และ phenylalanine (Ruth, James and Nicola, 1995, pp. 275-279) ส่วนเชื้อ *Bacillus subtilis* มีความจำเพาะต่อ methionine, lysine และ phenylalanine (Jeffrey & Kenneth, 1972, p. 345)

ผลการส่งตัวอย่างวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนทั้งหมดในเปปโตนที่ผลิตได้ โดยบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง จำกัด โดยใช้ GC-MS เปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า ซึ่งคำนวณในรูปของปริมาณกรดอะมิโนต่อปริมาณโปรตีน 100 กรัม พบว่า เปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือของปลาทับทิมมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนครบทั้ง 18 ชนิด โดยมี lysine, leucine และ phenylalanine มากที่สุดร้อยละ 14.37, 5.70 และ 5.42 ตามลำดับ ส่วนเปปโตนทางการค้ามีองค์ประกอบของกรดอะมิโนจำเป็นครบทั้ง 18 ชนิดเช่นกัน โดยมี glycine, proline และ glutamic acid มากที่สุด คือร้อยละ 19.20, 12.17 และ 9.82 ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 8 สาเหตุที่องค์ประกอบของกรดอะมิโนจำเป็นแตกต่างกัน เนื่องจากแหล่งวัตถุดิบและกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน โดยเปปโตนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการย่อยโปรตีนโดยเอนไซม์ หรือกรดด่าง เมื่อวัตถุดิบที่ใช้ต่างกันจึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนทางการค้าและเปปโตนที่ผลิตได้มีความแตกต่างกัน (ตรีสินธุ์ โพธารส, 2546, หน้า 53) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดระหว่างเปปโตนที่ผลิตได้กับเปปโตนทางการค้า พบว่า เปปโตนที่ผลิตได้มีกรดอะมิโนจำนวน 9 ชนิด ที่มีปริมาณสูงกว่าเปปโตนทางการค้า ดังนี้ leucine, histidine, iso-leucine, lysine, methionine, phenylalanine,

tryptophan, tyrosine และ valine ซึ่งน่าจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

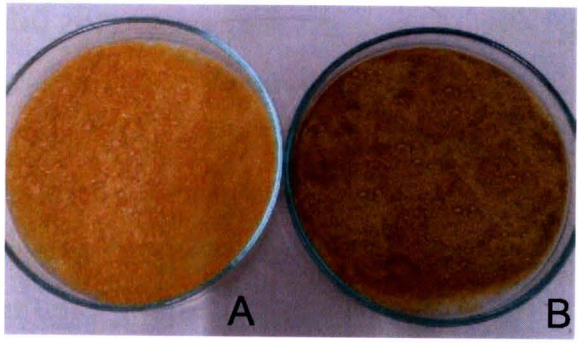
ตาราง 8 ปริมาณกรดอะมิโนของเปปโตนทางการค้ากับเปปโตนที่ได้จากเศษเหลือปลา

ชนิดกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน(กรัม/โปรตีน 100 กรัม)	
	เปปโตนทางการค้า (วรพงษ์ อัศวเกศมณี, 2538)	เปปโตนที่ผลิตจากเศษเหลือของปลาทับทิม
Alanine	5.42	2.35
Arginine	6.78	0.05
Aspartic acid	6.11	3.01
Cystine	0.22	0.05
Glutamic acid	9.82	5.42
Glycine	19.20	2.74
Histidine	0.72	4.73
Iso-leucine	1.60	3.55
Leucine	3.30	6.70
Lysine	3.93	14.37
Methionine	0.80	1.65
Phenylalanine	2.17	6.35
Proline	12.17	2.48
Serine	3.27	0.87
Threonine	2.00	0.94
Tryptophan	0.39	1.38
Tyrosine	0.67	5.70
Valine	2.42	2.84

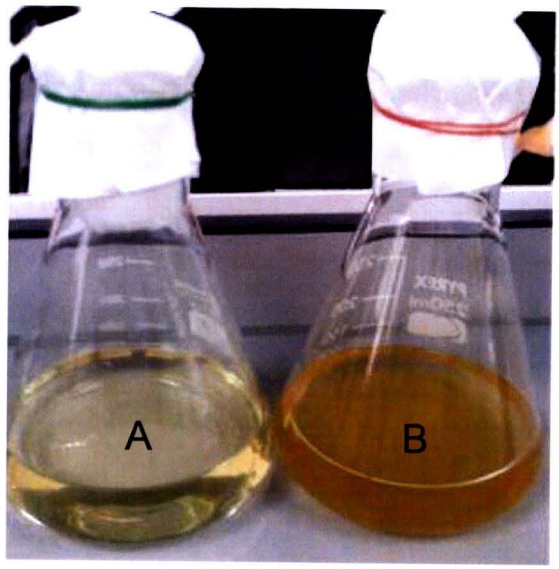
จากการศึกษาค่าสี L*, a* และ b* ของเปปโตนที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า (ตาราง 9) โดยค่า L* เป็นค่าความสว่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 0 (มืดดำ) ถึง 100 (สว่างขาว) ค่า a* เป็นค่าสี ระหว่างสีแดง (+) และสีเขียว (-) ส่วนค่า b* เป็นค่าสี ระหว่างสีเหลือง (+) และสีน้ำเงิน (-) พบว่า ค่าสีของเปปโตนทางการค้า มีค่า L*, a* และ b* เป็น 77.62, 2.15 และ 22.74 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าสีของเปปโตนที่ผลิตได้ มีค่า L*, a* และ b* เป็น 63.42, 0.37 และ 24.37 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่า L* (ค่าความสว่าง) ของเปปโตนทางการค้ามีค่ามากกว่าเปปโตนที่ผลิตได้ เปปโตนทางการค้าจึงมีความสว่างมากกว่าเปปโตนที่ผลิตได้ ค่า a* (ค่าสีแดง-เขียว) ของเปปโตนที่ผลิตได้มีค่าน้อยกว่าเปปโตนทางการค้า ส่วนค่า b* (ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน) ของเปปโตนที่ผลิตได้มีค่ามากกว่าเปปโตนทางการค้า ดังนั้นเปปโตนผงแห้งที่ผลิตได้ (ภาพ 11) จึงมีสีเหลืองน้ำตาลเข้มออกไปทางสีเขียว ส่วนเปปโตนทางการค้ามีสีเหลืองออกส้มสว่างกว่าเปปโตนที่ผลิตได้ และเมื่อนำไปละลายน้ำและนำไปผ่าน autoclave (ภาพ 12) ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารละลายของเปปโตนที่ผลิตได้จะมีสีเหลืองเข้มมากกว่าเปปโตนทางการค้าที่มีสีเหลืองใส

ตาราง 9 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลการวัดคุณภาพสีของเปปโตนทางการค้ากับเปปโตนที่ผลิตได้

ค่าสี	เปปโตนทางการค้า	เปปโตนที่ผลิตจากเศษเหลือของปลาทับทิม
L*	77.62 ±0.27	63.42 ±0.07
a*	2.15 ±0.26	0.37 ±0.18
b*	22.74 ±0.13	24.37 ±0.09



ภาพ 11 เปปโตนผงทางการค้า (A) และเปปโตนผงที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิม (B)



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพ 12 สารละลายเปปโตนทางการค้า (A) และสารละลายเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิม (B)

การทดสอบประสิทธิภาพผลผลิตที่ได้ในการใช้เป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือของปลาทับทิมในสภาวะที่ดีที่สุด ในการใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* TISTR008, *Staphylococcus aureus* TISTR118 และ *Escherichia coli* ATCC25922 วัดน้ำหนักแห้งของแบคทีเรีย 3 ชนิด ที่เลี้ยงใน peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 1 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำหนักแห้งของ *E. coli*, *S. aureus* และ *B. subtilis* ที่เลี้ยงใน peptone water ที่ผลิตได้ มีน้ำหนักดังนี้ 2.32, 6.50 และ 7.81 กรัม ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักแห้งของเชื้อ 3 ชนิดที่เลี้ยงใน peptone water ทางการค้า มีน้ำหนักดังนี้ 2.17, 4.93 และ 1.96 กรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าน้ำหนักแห้งของ *E. coli* มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนน้ำหนักแห้งของ *S. aureus* และ *B. subtilis* มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ดังตาราง 10

ผลที่ได้ยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Aspmo, et al. (2005, pp. 3717-3719) ซึ่งทำการย่อยเศษเหลือของปลาคอด (*Gadus morhua* L.) ด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้ ให้ความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ และอัตราการเจริญของเชื้อทั้ง *E. coli, B. subtilis, Lactobacillus sakai, Saccharomyces cerevisiae* และ *Aspergillus niger* ที่มีค่าสูงกว่า

เปปโตนทางการค้า ผลการศึกษาของ Vecht-Lifshitz, Almas and Zomer (1990) ซึ่งทำการผลิตเปปโตนจากเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปปลาโดยวิธีการย่อยตัวเอง พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้ทำให้เชื้อเจริญได้ดีกว่า Bacto peptone ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด ผลการศึกษาของ Clausen, Gildberg, and Raa (1985) ซึ่งผลิตเปปโตนจากเครื่องในปลาคอดโดยวิธีการย่อยตัวเอง โดยทดสอบเลี้ยงเชื้อ *Vibrio anguillarum* ในเปปโตนที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับ Bacto peptone พบว่าเชื้อ *V. anguillarum* สามารถเจริญในเปปโตน ที่ผลิตได้ดีกว่า Bacto peptone นอกจากนี้ ผลการศึกษาของ Mahadeva, et al. (1978) ที่ศึกษาการผลิตเปปโตนจากปลาทรายแดง (*Nemipterus japonicus*) โดยใช้ปลาทั้งตัวบดละเอียดไม่สกัดน้ำมันและเนื้อปลาบดที่สกัดน้ำมัน ย่อยโดยใช้เอนไซม์ปาเปน ทดสอบความสามารถในการใช้เป็นสารอาหารสำหรับการเจริญและการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ พบว่า เปปโตนที่สกัดได้จากเนื้อปลาทรายแดงบดละเอียดสกัดน้ำมันให้ผลการเจริญของจุลินทรีย์ดีที่สุด

ตาราง 10 น้ำหนักแห้งของแบคทีเรียที่เลี้ยงใน peptone water **ความเข้มข้นร้อยละ** 1

เชื้อจุลินทรีย์ (กรัม/อาหาร 100 มิลลิลิตร)	**เปปโตนทางการค้า**	**เปปโตนที่ผลิตจากเศษเหลือของปลาทับทิม**
E. coli ATCC25922	2.17^{a} ±0.27	2.32^{a} ±0.07
S. aureus TISTR118	4.93^{b} ±0.26	6.50^{a} ±0.18
B. subtilis TISTR008	1.96^{b} ±0.13	7.81^{a} ±0.09

หมายเหตุ: a-b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

จากผลการทดลอง ถึงแม้ว่าเปปโตนที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าเปปโตนทางการค้า แต่มีกรดอะมิโนจำนวน 9 ชนิด ที่มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าเปปโตนทางการค้า ทำให้ความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ดีกว่า โดยเชื้อ *B. subtilis* เจริญได้ดีที่สุด เนื่องจากเปปโตนที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทับทิมมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนครบทั้ง 18 ชนิด โดยมี lysine, leucine และ phenylalanine มากที่สุด

B. subtilis มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโน methionine, lysine และ phenylalanine ซึ่งในเปปโตนที่ผลิตได้มีปริมาณกรดอะมิโนทั้ง 3 ชนิดนี้มากกว่าเปปโตนทางการค้า *B. subtilis* จึงสามารถเจริญได้ดีกว่า ทำให้น้ำหนักแห้งของแบคทีเรียมีค่ามากกว่าเปปโตนทางการค้า

เช่นเดียวกับเชื้อ *S. aureus* ที่มีความต้องการกรดอะมิโน glutamic acid, histidine, iso-leucine, lysine และ phenylalanine แต่น้ำหนักแห้งของเซลล์แบคทีเรียในเปปโตนที่ผลิตที่ได้ จะแตกต่างกับน้ำหนักแห้งของเซลล์แบคทีเรียในเปปโตนทางการค้าไม่มากเท่ากับ *B. subtilis* เนื่องจากในเปปโตนทางการค้ายังมีกรดอะมิโน glutamic acid มากกว่าเปปโตนที่ผลิตที่ได้ เชื้อ *S. aureus* ในเปปโตนทางการค้า จึงสามารถใช้กรดอะมิโนนี้ทำให้น้ำหนักแห้งของเซลล์แบคทีเรียมีค่าใกล้เคียงกัน ในส่วนของเชื้อ *E. coli* มีความต้องการในการใช้กรดอะมิโนที่หลากหลาย คือ ทั้ง alanine, aspartic acid, cystine, glutamic acid, glycine, methionine, serine และ threonine จึงทำให้น้ำหนักแห้งของเซลล์แบคทีเรียในเปปโตนที่ผลิตที่ได้ และในเปปโตนทางการค้ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โดยนำมาทดแทนเปปโตนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ peptone water ของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากเศษเหลือส่วนเครื่องในของปลาทับทิม พบว่าสามารถนำไปใช้ทดแทนเปปโตนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ peptone water ได้เป็นอย่างดี โดยสามารถเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *B. subtilis* ทำให้น้ำหนักแห้งของเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดนี้มีค่ามากกว่าน้ำหนักแห้งของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ peptone water ที่ใช้เปปโตนทางการค้า ส่วน *E. coli* นั้นเปปโตนที่ผลิตได้กับเปปโตนทางการค้าสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญได้ไม่แตกต่างกัน เนื่องจาก *E. coli* มีชนิดของกรดอะมิโนที่จำเป็นหลากหลายชนิดทำให้เชื้อ *E. coli* สามารถใช้กรดอะมิโนได้หลายชนิดซึ่งส่งผลให้น้ำหนักแห้งของเชื้อ *E. coli* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ peptone water ทั้ง 2 ชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน