

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



250005

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเนตจากเศษเหลือของปลาที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ศศิมา ไชยเดช

วิทยานิพนธ์เสนอพิมพ์ที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัย

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

เมษายน 2555

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

600254668

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



250005

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือของปลาเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์



พริยา ไรเกษ

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

เมษายน 2555

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ เรื่อง “การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษ
เหลือของปลาเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์” ของ พิริยา ไรเกษ เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
ของมหาวิทยาลัยนเรศวร



.....ประธาน

(ดร.วรสิทธิ์ ไทจำปา)



.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา น้อยทัพ)



.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญทอง สิงห์จามุสงค์)



.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไอรส รักชาติ)



.....กรรมการ

(ดร.กิตติ เมืองตุ้ม)

อนุมัติ



.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คณิงนิจ ภูพัฒน์วิบูลย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

11 เมษายน 2555

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา น้อยทัพ ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เหรียญทอง สิงห์จามรงค์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โอรส รักชาติ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมถึง ดร.วรสิทธิ์ ไทจำปา และ ดร.กิตติ เมืองคุ้ม กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนตรวจแก้ไข ข้อบกพร่องด้วยความเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนทำให้วิทยานิพนธ์ ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า

เหนือสิ่งอื่นใดขอขอบพระคุณ ทนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัย นเรศวร ปี 2553 ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชา อุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร นอกจากนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ของผู้วิจัยที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน อย่างดีที่สุดเสมอมา

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มี พระคุณทุกๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย

พริยา ไกรเกษ

ชื่อเรื่อง	การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือของปลาเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
ผู้วิจัย	พิริยา ไรเกษ
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา น้อยทัพ
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญทอง สิงห์จามุวงศ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอรส รักชาติ
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2554
คำสำคัญ	โปรตีนไฮโดรไลเซท เปปซิน ปาเปน ปลาหีบต้ม เศษเหลือปลา

บทคัดย่อ

250005

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการนำเศษเหลือจำพวกเครื่องในจากปลาหีบต้มมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทเพื่อใช้ทดแทนเปปโตินในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์ องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาหีบต้มประกอบไปด้วยปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า คิดเป็นร้อยละ 76.73, 15.68, 1.95 และ 1.61 ตามลำดับ และค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.3 ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเครื่องในปลาหีบต้มโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือเอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์ปาเปน พบว่า การใช้เอนไซม์ปาเปนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.75 ระยะเวลา 60 นาที ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายดีที่สุดคือ ร้อยละ 80.71 เมื่อผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทมีองค์ประกอบคือ โปรตีน ไขมัน และเถ้าคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง 94.34, 1.88 และ 3.78 ตามลำดับ ส่วนผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ พบว่า มีกรดอะมิโนครบทั้ง 18 ชนิดเช่นเดียวกับเปปโตินทางการค้า โดย lysine, leucine และ phenylalanine มีปริมาณมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 14.37, 5.70 และ 5.42 ตามลำดับ โปรตีนไฮโดรไลเซทมีค่า L^* , a^* และ b^* ดังนี้ 63.42, 0.37 และ 24.37 ตามลำดับ ซึ่งทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้มีสีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถใช้โปรตีนไฮโดรไลเซททดแทนเปปโตินทางการค้าได้เนื่องจากผลการทดสอบประสิทธิภาพการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* TISTR118 และ *Bacillus subtilis* TISTR008 เปรียบเทียบกับเปปโตินทางการค้า พบว่าน้ำหนักแห้งของ *S. aureus* และ *B. subtilis*

250005

ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตได้ มีน้ำหนักมากกว่าน้ำหนักแห้งของแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เปปโตนทางการค้า ($P \leq 0.05$) ส่วนน้ำหนักแห้งของ *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตได้ และที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เปปโตนทางการค้ามีค่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$)

Title PRODUCTION OF FISH WASTE HYDROLYSATES AS
MICROBIAL GROWTH MEDIA

Author Peeriya Raikate

Advisor Assistant Professor Paweena Noitup, Ph.D.

Co- Advisor Assistant Professor Riantong Singanusong, Ph.D.
Assistant Professor Orose Rugchati, Ph.D.

Academic Paper Thesis M.S. in Food Science and Technology,
Naresuan University, 2011

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

ABSTRACT

250005

The objective of this research was to study the utilization of fish waste such as viscera from red tilapia to produce protein hydrolysate for substitution of peptone in the culture medium. This was value added to fish waste for utilization. The chemical composition of red tilapia viscera consisted of 76.73% moisture, 15.68% protein, 1.95% lipid, 1.61% ash and pH 6.3. The appropriate conditions for protein hydrolysate extraction of red tilapia viscera by using 2 types of enzyme (pepsin and papain) hydrolysis were studied. It was found that the use of papain at 0.75% concentration for 60 minutes with the initial pH of 6.3 at 25°C was the condition that provided the highest degree of hydrolysis (80.71%). After freeze-dry, the chemical composition of protein hydrolysate consisted of 94.34% protein, 1.88% lipid and 3.78% ash (dry basis). The analysis of type and quantity of amino acid in the protein hydrolysate revealed that there were 18 amino acids, with lysine, leucin and phenylalanine being the most predominant with the amount of 14.37%, 5.70% and 5.42%, respectively. The protein hydrolysate had the L*, a* and b* values of 63.42, 0.37 and 24.37, respectively. Those color values contributed to yellow-dark brown color of protein hydrolysate. Furthermore, it was also found that the protein hydrolysate could be used for substitution of commercial peptone because of the results from the effectiveness test supporting the growth of 3 bacterial types: *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* TISTR118 and *Bacillus*

250005

subtilis TISTR008 compared to the commercial peptone. The dry weight of *S. aureus* and *B. subtilis* grown in the medium that made from protein hydrolysate was greater than that grown in the medium that made from commercial peptone ($P \leq 0.05$). However, the dry weight of *E. coli* grown in the protein hydrolysate medium was not significantly different from that grown in the commercial peptone medium ($P > 0.05$).

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ปลาทับทิม.....	5
การใช้ประโยชน์จากเศษเหลือจากปลา.....	7
เปปโติน.....	9
การย่อยสลายโปรตีน.....	11
ระดับของการย่อยสลายโปรตีน.....	12
เอนไซม์โปรติเอส.....	13
ขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยวิธีทางเอนไซม์.....	19
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
วัตถุประสงค์.....	25
เอนไซม์.....	25
เชื้อจุลินทรีย์.....	26
สารเคมี.....	26
อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	27
ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย.....	28

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลและอภิปรายผลการวิจัย.....	32
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือจากปลา.....	32
การศึกษาชนิดเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต.....	33
การศึกษาองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ได้จากการย่อย.....	41
การทดสอบประสิทธิภาพผลผลิตที่ได้ในการใช้เป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์.....	47
5 บทสรุป.....	50
สรุปผลการวิจัย.....	50
ข้อเสนอแนะ.....	51
บรรณานุกรม.....	52
ภาคผนวก.....	58
ประวัติผู้วิจัย.....	67

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตินของบริษัทดีฟโก	10
2 ตัวอย่างเอนไซม์โปรติเอสที่นำมาใช้ในการย่อยโปรตีนในอาหาร.....	17
3 องค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือปลาทับทิม (เครื่องใน).....	32
4 ระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์เปปซินแต่ละสภาวะ.....	34
5 ระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ปาเปนแต่ละสภาวะ.....	37
6 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตินทางการค้ากับเปปโตินที่ผลิตได้.....	42
7 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตินที่ผลิตได้กับงานวิจัยอื่น.....	43
8 ปริมาณกรดอะมิโนของเปปโตินทางการค้ากับเปปโตินที่ได้จากเศษเหลือปลา.....	45
9 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลการวัดคุณภาพสีของเปปโตินทางการค้ากับเปปโติน ที่ผลิตได้.....	46
10 น้ำหนักแห้งของแบคทีเรียที่เลี้ยงใน peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 1	48
11 ความสามารถของเอนไซม์เปปซินในการย่อยสลายเคซีน เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของ เอนไซม์.....	63
12 ความสามารถของเอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายเคซีน เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของ เอนไซม์.....	63
13 การวิเคราะห์ทางสถิติของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจาก เศษเหลือส่วนเครื่องในปลาทับทิม ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน.....	64
14 การวิเคราะห์ทางสถิติของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจาก เศษเหลือส่วนเครื่องในปลาทับทิมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน.....	64
15 การวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจาก เศษเหลือส่วนเครื่องในปลาทับทิมเทียบกับเปปโตินทางการค้า.....	65
16 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือส่วน เครื่องในปลาทับทิมเทียบกับเปปโตินทางการค้า.....	65
17 การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เทียบกับเปปโตินทางการค้า.....	66

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ปริมาณสัตว์น้ำจืดจากการเพาะเลี้ยง จำแนกตามชนิดสัตว์น้ำ ปี 2551.....	1
2 ปริมาณการเพาะเลี้ยงปลาทบติม ปี 2546 – 2551.....	2
3 ปลาทบติม หรือ ปลานิลแดง.....	5
4 กลไกการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์.....	12
5 ปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนด้วยโปรติเอส.....	13
6 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยวิธีทางเอนไซม์.....	19
7 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	31
8 การตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวของอิทธิพลระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ เปปซินและระยะเวลาในการย่อยต่อระดับการย่อยสลาย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	36
9 การตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวของอิทธิพลระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ปาเปนและระยะเวลาในการย่อยต่อระดับการย่อยสลาย ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	39
10 ผลของเวลาในการย่อยโปรตีนต่อระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซท จากการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน.....	40
11 เปปโตนิผงทางการค้า (A) และเปปโตนิผงที่ผลิตได้จากเศษเหลือปลาทบติม (B)	46
12 สารละลายเปปโตนิทางการค้า (A) และสารละลายเปปโตนิที่ผลิตได้จากเศษ เหลือปลาทบติม (B).....	47
13 กราฟมาตรฐานของไทโรซีน.....	63