

## สารบัญ

	หน้า
<b>บทนำ</b> .....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	3
ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> .....	5
ปลาทับทิม.....	5
คุณค่าทางโภชนาการของปลาทับทิม.....	5
แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุในการเน่าเสียของปลา.....	7
ลักษณะการเน่าเสียของปลา.....	8
การใช้ประโยชน์จากเศษเหลือจากปลา.....	8
การย่อยสลายโปรตีน.....	11
เอนไซม์โปรติโอไลติก.....	14
ประเภทของเอนไซม์โปรติโอไลติก.....	16
ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติโอไลติก.....	19
การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์โปรติโอไลติกในอุตสาหกรรม.....	20
การคัดเลือกแบคทีเรียโปรติโอไลติก.....	21
Bacillaceae.....	27
คุณสมบัติทั่วไปของ <i>Bacillus</i> sp.....	28
อนุกรมวิธานของเชื้อ <i>Bacillus</i> ที่ใช้ในงานวิจัย.....	28
เอนไซม์นิวทรัลโปรติเอส.....	29
เอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส.....	30
เอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสที่สร้างจากเชื้อจุลินทรีย์.....	31
การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทปลา.....	35
เปปโตน.....	36

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
มาตรฐานโปรตีนเปปไทด์.....	38
กรดอะมิโน.....	39
<b>วิธีดำเนินการวิจัย.....</b>	<b>41</b>
วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย.....	41
การเตรียมตัวอย่างและการเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียโปรตีนโกลติก.....	41
สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	42
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิจัย.....	42
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	43
ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย.....	44
<b>ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....</b>	<b>51</b>
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลา.....	51
การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์โปรตีนเอสของแบคทีเรีย.....	52
การศึกษาการยับยั้งการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม..	55
การศึกษาสภาวะการผลิตเอนไซม์โปรตีนเอสของแบคทีเรียต่อร้อยละของการยับยั้งการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมเปรียบเทียบกับ การยับยั้งการย่อยสลายตัวเอง (autolysis).....	55
การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิม.....	57
ระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิม.....	59
การทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม.....	62
การศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สภาวะการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม.....	64
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ภายนอก และจุลินทรีย์ของเปปไทด์ที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม.....	66

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การทดสอบประสิทธิภาพของเปปโตินที่ผลิตได้ในการเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์.....	73
<b>บทสรุป</b> .....	76
สรุปผลการวิจัย.....	76
ข้อเสนอแนะ.....	79
<b>บรรณานุกรม</b> .....	80
<b>ภาคผนวก</b> .....	95
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์.....	95
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	105
ภาคผนวก ค การเผยแพร่ผลงานวิชาการ.....	109

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของปลา.....	8
2 ตัวอย่างเอนไซม์โปรติโพลิดิกจากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ที่ใช้ในอาหาร .....	15
3 แหล่งของเอนไซม์โปรติโพลิดิกที่ใช้มากในการผลิตระดับอุตสาหกรรม .....	24
4 เอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสที่ใช้ในการค้า.....	33
5 สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส .....	34
6 องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทับทิม.....	52
7 เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของ <i>B. cereus</i> TISTR 687 และ <i>B. subtilis</i> TISTR 008 บนอาหาร skim milk agar ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	54
8 ระดับการย่อยสลายตัวเองของเครื่องในปลาทับทิม ที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	56
9 ระดับการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิมที่เติม <i>B. subtilis</i> TISTR 008 ที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	56
10 ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างต่อปริมาณโปรตีนในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของตัวอย่าง (autolysis) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	58
11 ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างต่อปริมาณโปรตีนในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสจาก <i>B. subtilis</i> TISTR 008 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	58
12 ระยะเวลาในการย่อยตัวอย่างควบคุมที่มีผลต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	60
13 ระยะเวลาในการย่อยตัวอย่างที่เพาะ <i>B. subtilis</i> TISTR 008 ที่มีผลต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	60
14 กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ทำการเพาะ <i>B. subtilis</i> TISTR 008 ลงไปที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	63

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
15 การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตินทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) เปปโตินจากเครื่องในปลาทูน่า โปรตีนไฮโดรไลเซทผงแห้ง จากเศษเหลือจากโรงงานซูริมิ และเปปโตินที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม.....	67
16 ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตินทางการค้า และเปปโตินที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม.....	69
17 การเปรียบเทียบค่าสีของเปปโตินทางการค้า และเปปโตินที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมในรูปของผงแห้ง.....	71
18 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของเปปโตินที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมตามมาตรฐานโปรติเอสเปปโติน.....	73
19 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม / 100 มิลลิลิตร) ของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่เจริญอยู่ในสารละลายเปปโติน.....	74
20 จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง.....	75

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 การสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติโอไลติก.....	14
2 เครื่องในปลาหับทิมสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท (เปปโติน).....	51
3 การสร้างวงใสจากการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ <i>B. cereus</i> TISTR 687 และ <i>B. subtilis</i> TISTR 008 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยง.....	54
4 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยเครื่องในปลาหับทิม ของตัวอย่างที่มีการเติม <i>B. subtilis</i> TISTR 008 ลงไป และตัวอย่างควบคุม.....	61
5 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยเครื่องในปลาหับทิมของ ตัวอย่างที่มีการเติม <i>B. subtilis</i> TISTR 008 และตัวอย่างควบคุม.....	61
6 การเจริญของแบคทีเรียในตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิมที่เพาะ <i>B. subtilis</i> TISTR 008 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	65
7 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และการ เจริญของแบคทีเรียที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส..	66
8 การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเปปโตินทางการค้า และเปปโตินที่ผลิตจากเครื่องในปลาหับทิมที่ <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> ใช้ในการเจริญ.....	70
9 สีของเปปโตินทางการค้า และเปปโตินที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิม ในรูปของผงแห้ง.....	71
10 สีของสารละลายเปปโตินที่เตรียมได้จากเปปโตินทางการค้า และเปปโตินที่ ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิม.....	72
11 สีของอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่เตรียมได้จากเปปโตินทางการค้า และเปปโตินที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิม.....	72