

## บทสรุป

### สรุปผลการวิจัย

#### 1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลา

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ พบว่าเครื่องในปลาตับทิมมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก ร้อยละ 76.30 รองลงมาคือโปรตีนร้อยละ 14.90 นอกจากนี้มีไขมันและเถ้าร้อยละ 2.28 และ 1.64 โดยน้ำหนัก โดยพบว่าปริมาณโปรตีนในตัวอย่างอยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสม ในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตได้เป็นอย่างดี

#### 2. การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของแบคทีเรีย

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. subtilis* TISTR 008 และ *B. cereus* TISTR 687 โดยใช้นมพร่องมันเนย (skim milk) เป็นแหล่งโปรตีนในการทดสอบ พบว่า *B. subtilis* TISTR 008 สร้างวงใสวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยได้สูงกว่า *B. cereus* TISTR 687 แสดงว่า *B. subtilis* TISTR 008 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยสลายโปรตีนได้ดีกว่าการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. cereus* TISTR 687

#### 3. การศึกษาระดับการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของตัวอย่างเครื่องในปลาตับทิม

จากการศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีนของตัวอย่างเครื่องในปลาตับทิมที่เวลา 0 ชั่วโมง โดยทำการวัดระดับการย่อยสลายทันทีหลังจากนำเครื่องในออกจากปลาตับทิม พบว่าร้อยละของระดับการย่อยสลายอยู่ที่ 21.14 เนื่องจากเกิดการย่อยสลายตัวเองจากเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในตัวปลา

#### 4. การศึกษาสภาวะการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของแบคทีเรียต่อร้อยละระดับการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาตับทิมเปรียบเทียบกับการย่อยสลายตัวเอง (autolysis)

จากการศึกษาร้อยละของระดับการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาตับทิมที่ทำการเพาะเชื้อ *B. subtilis* TISTR 008 เปรียบเทียบกับการย่อยสลายตัวเองที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5, 7.5, 8.5, 9.5 และ 10.5 บ่มที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าทั้งตัวอย่างเครื่องในปลาตับทิมที่ทำการเพาะเชื้อ *B. subtilis* TISTR 008 และตัวอย่างควบคุมให้ระดับการย่อยสลายสูงที่สุดที่สภาวะเดียวกันคือ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

5. การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเครื่องในปลาหับทิม

เมื่อทำการศึกษาการย่อยเครื่องในปลาหับทิมภายใต้สภาวะต่างๆ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5, 7.5, 8.5, 9.5 และ 10.5 บ่มที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อปริมาณโปรตีนที่ได้ พบว่าการย่อยสลายที่สภาวะของค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 ได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด และจากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเครื่องในปลาหับทิมต่อร้อยละของระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีนที่ได้ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยทำการวัดร้อยละของระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีนที่ได้ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่าตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิมที่เติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปให้ค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีนที่ได้สูงกว่าตัวอย่างควบคุม

6. การทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิม

จากการทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิมที่มีการเติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไป ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจะเพิ่มขึ้นในช่วง 18 ชั่วโมงแรก

7. การศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ที่สภาวะการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิม

เมื่อศึกษาการเจริญของ *B. subtilis* TISTR 008 และจุลินทรีย์อื่นๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิมควบคู่ไปกับการศึกษาปริมาณโปรตีนในสารละลายและระดับการย่อยสลายที่เกิดขึ้นที่สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเชื้อและระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กัน เป็นผลให้มีปริมาณโปรตีนในสารละลายเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยพบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และการเจริญของแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่เวลา 0 ถึง 6 ชั่วโมงแรก ดังนั้นที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงจึงเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นสภาวะในการย่อยสลายที่ดีที่สุด

8. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของเปปโตनที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาหับทิม

a. องค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาหับทิม

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนที่ผลิตได้จากการย่อยสลายเครื่องในปลาหับทิมที่มีการเติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไป ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่างเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิมให้ปริมาณโปรตีนและไขมันน้อยกว่า และพบปริมาณของความชื้นและไขมันที่สูงกว่าเปปโตนทางการค้า

b. กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาหับทิม

จากผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) และเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิม พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้มีจำนวนของกรดอะมิโนครบทั้ง 18 ชนิดเหมือนกับเปปโตนทางการค้า แต่แตกต่างกันที่ปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดเท่านั้น

c. คุณภาพสีของเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาหับทิม

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพสีของเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาหับทิมเปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) พบว่าค่าความสว่าง ( $L^*$ ) และค่าสีเหลือง ( $b^*$ ) ของเปปโตนที่ผลิตได้มีค่าน้อยกว่าเปปโตนทางการค้า แต่เปปโตนที่ผลิตได้ให้ค่าสีเขียวที่มากกว่าเปปโตนทางการค้า โดยเปปโตนที่ผลิตได้มีสีน้ำตาลเข้มอมเขียว ทึบแสง

d. ปริมาณจุลินทรีย์ตามมาตรฐานโปรติเอสเปปโตน

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาหับทิมตามมาตรฐานโปรติเอสเปปโตน พบว่าจุลินทรีย์ที่พบในเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาหับทิมมีค่าไม่เกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ และไม่พบ *Coliforms* และ *Salmonella*

9. การทดสอบประสิทธิภาพของเปปโตนที่ผลิตได้ในการเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์

การทดสอบประสิทธิภาพของเปปโตนที่ผลิตได้ในการเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้สามารถใช้เป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี โดยดูได้จากน้ำหนักแห้งของเชื้อ 3 ชนิด ซึ่งก็คือ *B. subtilis* TISTR 008 *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* TISTR 118 ที่ได้หลังจากการเลี้ยงเชื้อในสารละลายเปปโตน (peptone water) ซึ่งสอดคล้องกับ

ผลการศึกษากับการนับจำนวนโคโลนี โดยพบว่าเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง มีจำนวนโคโลนีที่มากกว่าอาหารที่มีเปปโตนทางการค้าเป็นองค์ประกอบ

### ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติย่อยสลายโปรตีนจากสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อศึกษาความแตกต่างของสภาวะรวมถึงอัตราการเจริญของเชื้อต่อการผลิตเอนไซม์ที่ได้
2. ศึกษาการปรับสภาวะการผลิตเอนไซม์เพื่อให้สอดคล้องกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการใช้กรดอะมิโนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการต่างๆ ที่จะมีผลต่อปริมาณกรดอะมิโนในผลผลิต
3. ทดสอบการนำเปปโตนที่ผลิตได้ไปทดแทนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ
4. นำสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายที่ได้ใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการนำโปรตีนไฮโดรไลเซทไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ต่อไป