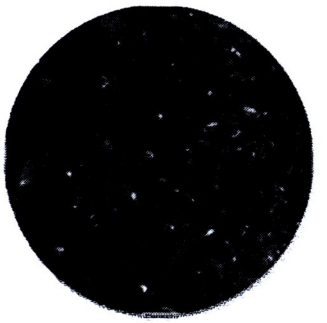
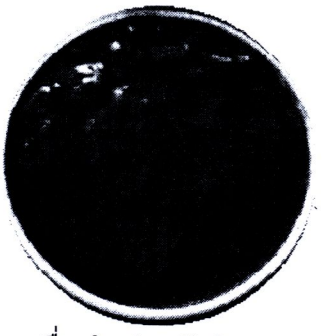
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลา

จากการเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ โดยการบดละเอียด เพื่อเพิ่มพื้นที่การสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรท ทำให้ได้วัตถุดิบที่มีลักษณะเหนียวข้น สีน้ำตาล (ภาพ 2) จากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ เปรียบเทียบระหว่างเครื่องในปลาช่อนและเครื่องในปลาทับทิม พบว่าทั้งเครื่องในปลาช่อนและเครื่องในปลาทับทิมมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก รองลงมาคือโปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามลำดับ (ตาราง 6) ซึ่งเห็นได้ว่าเครื่องในปลาทับทิมมีปริมาณของโปรตีนและไขมันค่อนข้างสูง (ก่อนสกัดไขมันด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาณไขมันในตัวอย่างวัตถุดิบอยู่ที่ 5.59) มีรายงานว่าองค์ประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ วัตถุดิบที่นำมาใช้นั้นควรมีปริมาณโปรตีนอยู่ในปริมาณที่พอเหมาะ เนื่องจากโปรตีนเป็นสับสเตรทที่สำคัญสำหรับการย่อยสลาย (Adler-Nissen, 1986) ดังนั้นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำมาใช้ในการศึกษานี้จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกำจัดไขมันออกจากวัตถุดิบ เนื่องจากไขมันที่มีปริมาณสูงเกินไปอาจเกิดพันธะหรือจับกับโมเลกุลของโปรตีนเกิดเป็นลิโพโปรตีน (lipoprotein) ทำให้มีโครงสร้างที่ใหญ่และซับซ้อนขัดขวางการย่อยสลายโปรตีนจากเอนไซม์ (Adler-Nissen, 1986 อ้างอิงใน สาวิกา กิจสวัสดิ์, 2548, หน้า 35)



เครื่องในปลาทับทิม



เครื่องในปลาทับทิมบด

ภาพ 2 เครื่องในปลาทับทิมสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท (เปปโตน)

ตาราง 6 องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทับทิม

องค์ประกอบทางเคมี ร้อยละ	ชนิดของปลา		
	ปลาช่อน	ปลาทับทิม	
		ก่อนชะไขมัน	หลังชะไขมัน
ความชื้น	75.90 ± 0.22	77.26 ± 0.80	76.30 ± 0.57
โปรตีน	10.36 ± 0.60	11.41 ± 0.26	14.90 ± 0.95
ไขมัน	5.97 ± 0.07	5.59 ± 0.01	2.28 ± 0.03
เถ้า	1.97 ± 0.07	1.66 ± 0.01	1.64 ± 0.07

จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเครื่องในปลาทับทิมมีโปรตีนอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าเครื่องในปลาช่อน ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะแก่การนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องในปลาคอดและเครื่องในปลาทรายแดง พบว่าเครื่องในปลาทับทิมมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับเครื่องในปลาทั้ง 2 ชนิด โดยเครื่องในปลาคอดมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 16.3 และเครื่องในปลาทรายแดงมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 15.8 (Sikorski, Pan and Shakidi, 1994) ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทได้เป็นอย่างดี

การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของแบคทีเรีย

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. subtilis* TISTR 008 และ *B. cereus* TISTR 687 โดยใช้นมพร่องมันเนย (skim milk) เป็นแหล่งโปรตีนในการทดสอบ เนื่องจาก Kazanas (1968) รายงานว่าแบคทีเรียโปรติไลติกสามารถเจริญบนอาหารที่มีนมพร่องมันเนยเป็นส่วนผสมได้ดี และแสดงกิจกรรมการย่อยโปรตีนได้ชัดเจนกว่าอาหารที่มีน้ำปลาดิบเป็นส่วนผสม โดยพบว่าการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีประสิทธิภาพทั้งในการคัดแยกแบคทีเรียโปรติโอไลติกในขั้นต้นและการทดสอบความสามารถของเชื้อแบบปลูกถ่ายได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับ Chopra and Mathur (1984) ที่ศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อในการคัดเลือกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงในผลิตภัณฑ์นมต่างๆ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสม คือ สูตรอาหารที่มีการเติมนมพร่องมันเนยร้อยละ 10 โดยแบคทีเรีย

โปรติโอไลติกที่สามารถเจริญได้จะสร้างวงใสที่กว้างและสังเกตได้ชัดเจน เนื่องจากสภาวะความเป็นกรด-ด่างของเครื่องในปลาทับทิมอยู่ที่ 6.8 ดังนั้นในการทดสอบจึงทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ในสภาวะที่เป็นด่างอ่อนไปจนถึงเป็นกลาง จากการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. subtilis* TISTR 008 และ *B. cereus* TISTR 687 บนอาหารจำเพาะสูตร skim milk agar ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5, 7.5, 8.5, 9.5 และ 10.5 บ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า *B. subtilis* TISTR 008 สร้างวงใสวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยได้ 10.0 ถึง 11.3 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 10.5 ถึง 14.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ส่วน *B. cereus* TISTR 687 สร้างวงใสวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยได้ 8.8 ถึง 10.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 9.0 ถึง 11.0 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (ตาราง 7) แสดงว่า *B. subtilis* TISTR 008 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยสลายโปรตีนได้ดีกว่าการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. cereus* TISTR 687 ซึ่งดูได้จากวงใสรอบโคโลนีที่มีขนาดกว้างกว่า (ภาพ 3) โดย *B. subtilis* TISTR 008 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสในอาหารสูตรจำเพาะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสในสภาวะที่เป็นด่างอ่อนได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับงานวิจัย การคัดเลือก *Bacillus* sp. ที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และไลเปสจากดิน พบว่า *Bacillus* sp. สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และไลเปสได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (จักรพันธ์ สุวรรณพิมพ์ และสุพรรนี แก่นสาร อะโออิ, 2552)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากแบคทีเรียโปรติโอไลติกทั้ง 2 ชนิดขั้นต้น พบว่า *B. subtilis* TISTR 008 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ดีกว่า *B. cereus* TISTR 687 ดังนั้นจึงเลือก *B. subtilis* TISTR 008 ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตาราง 7 เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของ *B. cereus* TISTR 687 และ *B. subtilis* TISTR 008 บนอาหาร skim milk agar ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

Temp. (°C)	pH	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.) *B. cereus* TISTR 687	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.) *B. subtilis* TISTR 008
37	6.5	8.80 ± 0.12	10.33 ± 0.58
37	7.5	10.00 ± 0.00	11.33 ± 0.58
37	8.5	9.30 ± 0.17	10.33 ± 0.58
37	9.5	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00
37	10.5	9.00 ± 0.00	11.00 ± 0.00
45	6.5	9.00 ± 0.00	11.00 ± 0.00
45	7.5	11.00 ± 0.00	14.00 ± 0.00
45	8.5	10.00 ± 0.00	11.33 ± 0.58
45	9.5	9.60 ± 0.23	11.00 ± 0.00
45	10.5	9.00 ± 0.00	10.50 ± 0.58

B. cereus TISTR 687 *B. subtilis* TISTR 008

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพ 3 การสร้างวงใสจากการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. cereus* TISTR 687 และ *B. subtilis* TISTR 008 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยง

การศึกษาระดับการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม

จากการศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีนของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่เวลา 0 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างของวัตถุดิบอยู่ที่ 6.8 (ทำการวัดระดับการย่อยสลายทันทีหลังจากนำเครื่องในออกจากปลาทับทิม) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ให้ค่าระดับการย่อยสลายตัวเองในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์จากภายนอกอยู่ที่ร้อยละ 21.14 ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการย่อยสลายตัวเองจากเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในตัวปลา โดยหลังจากปลาตายเอนไซม์ทั้งหลายยังคงมีกิจกรรมอยู่และย่อยองค์ประกอบของเนื้อและเครื่องในปลาให้มีโมเลกุลที่เล็กลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนซึ่งจะถูกย่อยสลายเป็นเปปไทด์ กรดอะมิโน แอมโมเนีย เอมีน และอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์จากเครื่องในและทางเดินอาหารของปลามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนได้ เนื่องจากเอนไซม์ที่พบในเครื่องในปลาและทางเดินอาหาร (gut enzyme หรือ autolytic enzyme) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มเอนโดเปปติเดส ได้แก่ ทริปซิน ไคโมทริปซิน และเปปซิน (Meinke, Rahman and Matti, 1972) ข้อดีของเอนไซม์จากเครื่องในปลาคือสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิห้องไปจนถึงอุณหภูมิที่ไม่สูงมากนั่นเอง (Kristinsson and Rasco, 2000)

การศึกษาสภาวะการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของแบคทีเรียต่อร้อยละของระดับการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมเปรียบเทียบกับการย่อยสลายตัวเอง (autolysis)

เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมจากการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. subtilis* TISTR 008 บนอาหารเลี้ยงเชื้อมาใช้เป็นแนวทางเพื่อกำหนดสภาวะการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของ *B. subtilis* TISTR 008 เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมเทียบกับการย่อยสลายตัวเอง นำมาวัดค่าร้อยละของระดับการย่อยสลาย ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บอกจำนวนพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ และใช้ควบคุมขอบเขตของการย่อยสลายเพื่อให้ได้โพลีเปปไทด์ที่มีขนาดเหมาะสม ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความยาวของสายเปปไทด์ พบว่าเมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นความยาวของสายเปปไทด์จะลดลง (Adler-Nissen, 1986) โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียลงในตัวอย่าง รวมถึงเตรียมตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการเพาะเชื้อเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม กำหนดสภาวะที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนเหมือนกันทั้งหมด โดยอยู่ที่ระดับความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 6.5, 7.5, 8.5, 9.5 และ 10.5 บ่มที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าทั้งตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ทำการเพาะเชื้อ *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปเพื่อเหนี่ยวนำให้เชื้อสร้างเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีนในสับสเตรท รวมทั้งตัวอย่างควบคุมให้ผลของระดับการย่อยสลายสูงที่สุดที่สภาวะเดียวกันคือ ที่ค่า

ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยให้ค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายเท่ากับ 50.08 (ตาราง 8) และ 68.25 (ตาราง 9) ตามลำดับ

ตาราง 8 ระดับการย่อยสลายตัวเองของเครื่องในปลาทับทิม ที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

อุณหภูมิย่อย (องศาเซลเซียส)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง				
	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5
31	$37.15^{aC} \pm 0.05$	$37.19^{aD} \pm 0.21$	$36.82^{aC} \pm 0.00$	$36.25^{aD} \pm 0.05$	$32.89^{bC} \pm 1.18$
37	$41.69^{dB} \pm 0.03$	$46.10^{aB} \pm 0.06$	$43.99^{bA} \pm 0.06$	$43.32^{cB} \pm 0.45$	$38.42^{eB} \pm 0.13$
45	$45.71^{bA} \pm 0.32$	$50.08^{aA} \pm 0.07$	$44.76^{bcA} \pm 1.03$	$44.93^{bcA} \pm 0.72$	$42.80^{cA} \pm 1.49$
53	$41.61^{bB} \pm 0.03$	$43.91^{aC} \pm 0.09$	$41.26^{bB} \pm 0.11$	$41.12^{bC} \pm 0.25$	$41.96^{bA} \pm 1.66$

a-e ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง 9 ระดับการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิมที่เติม *B. subtilis* TISTR 008 ที่อุณหภูมิ 31, 37, 45 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

อุณหภูมิย่อย (องศาเซลเซียส)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง				
	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5
31	$43.57^{bD} \pm 0.03$	$43.96^{aD} \pm 0.09$	$41.81^{cD} \pm 0.09$	$41.04^{dC} \pm 0.03$	$39.27^{eD} \pm 0.05$
37	$61.47^{bB} \pm 0.08$	$63.75^{aB} \pm 0.35$	$58.36^{cB} \pm 1.09$	$57.42^{cB} \pm 0.40$	$50.50^{dB} \pm 0.10$
45	$64.56^{cA} \pm 0.54$	$68.25^{aA} \pm 0.54$	$64.03^{cA} \pm 0.31$	$66.58^{bA} \pm 0.88$	$58.97^{dA} \pm 0.24$
53	$45.69^{bC} \pm 0.03$	$47.65^{aC} \pm 0.16$	$43.60^{cC} \pm 0.06$	$41.73^{dC} \pm 0.03$	$41.69^{dC} \pm 0.26$

a-e ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

พบว่าตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ทำการเพาะ *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปให้ค่าของระดับการย่อยสลายสูงกว่าตัวอย่างที่ปล่อยให้เกิดการย่อยสลายตัวเองที่ระดับเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Choorit และ Prasertsan (1992) ที่ศึกษาลักษณะของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ซึ่งคัดแยกจากผลิตภัณฑ์ปลาหมักทางภาคใต้ของประเทศไทย (บูดู) หลังจากหมักนาน 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากการวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส พบว่ามีสภาวะที่เหมาะสมคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.0 ถึง 8.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 55 องศาเซสเซียส และจะสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นที่ 65 องศาเซลเซียส จากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่าเป็น *B. subtilis* 3 สายพันธุ์ และอีก 1 สายพันธุ์เป็น *B. licheniformis*

การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิม

จากตาราง 10 และ 11 แสดงให้เห็นว่าสภาวะการย่อยที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด รองลงมาคือที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5 และ 8.5 ตามลำดับ เนื่องจาก *B. subtilis* TISTR 008 เป็นแบคทีเรียโปรติโอไลติกที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ทั้งนิวทรัล โปรติเอสและอัลคาไลน์โปรติเอส จึงเจริญได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงด่างอ่อน ดังนั้นที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 จึงเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อมากที่สุด ส่งผลให้เชื้อสามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม และทำให้ได้ปริมาณโปรตีนในสารละลายสูงสุด

จากผลการทดลองเพื่อศึกษาสภาวะการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิมเบื้องต้น พบว่าทุกปัจจัยที่ทำการศึกษา ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส รวมถึงการศึกษาสภาวะในการย่อยสลายที่ระดับความเป็นกรด–ด่าง และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย มีผลต่อกระบวนการย่อยสลายอย่างยิ่ง ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิมคือที่ค่าความเป็นกรด–ด่าง 7.5 อุณหภูมิในการย่อยสลาย 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยถือว่าปัจจัยดังกล่าวนี้เป็นผลให้ตัวอย่างที่นำมาศึกษาเกิดระดับของการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณของโปรตีนในสารละลายที่มากขึ้นด้วยเช่นกัน

ตาราง 10 ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างต่อปริมาณโปรตีนในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของตัวอย่าง (autolysis) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

อุณหภูมิย่อย (องศาเซลเซียส)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง				
	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5
31	$1.39^{aC} \pm 0.00$	$1.39^{aD} \pm 0.01$	$1.38^{aC} \pm 0.00$	$1.36^{aD} \pm 0.00$	$1.23^{bC} \pm 0.04$
37	$1.56^{dB} \pm 0.00$	$1.73^{aB} \pm 0.00$	$1.65^{bA} \pm 0.00$	$1.63^{cB} \pm 0.02$	$1.44^{eB} \pm 0.00$
45	$1.71^{bA} \pm 0.01$	$1.88^{aA} \pm 0.00$	$1.68^{bcA} \pm 0.04$	$1.69^{bcA} \pm 0.03$	$1.61^{cA} \pm 0.06$
53	$1.56^{bB} \pm 0.01$	$1.65^{aC} \pm 0.00$	$1.55^{bB} \pm 0.00$	$1.54^{bC} \pm 0.01$	$1.57^{bA} \pm 0.06$

a-e ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง 11 ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างต่อปริมาณโปรตีนในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสจาก *B. subtilis* TISTR 008 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

อุณหภูมิย่อย (องศาเซลเซียส)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง				
	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5
31	$1.63^{bC} \pm 0.00$	$1.65^{aD} \pm 0.00$	$1.57^{cC} \pm 0.00$	$1.54^{dD} \pm 0.00$	$1.47^{eC} \pm 0.00$
37	$2.31^{bB} \pm 0.00$	$2.39^{aB} \pm 0.01$	$2.19^{cA} \pm 0.04$	$2.15^{cB} \pm 0.01$	$1.89^{dB} \pm 0.00$
45	$2.42^{cA} \pm 0.02$	$2.56^{aA} \pm 0.02$	$2.40^{cA} \pm 0.01$	$2.50^{bA} \pm 0.03$	$2.21^{dA} \pm 0.01$
53	$1.71^{bB} \pm 0.00$	$1.79^{aC} \pm 0.01$	$1.63^{cB} \pm 0.00$	$1.56^{dC} \pm 0.00$	$1.56^{dA} \pm 0.00$

a-e ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเครื่องในปลาทับทิม ทั้งการปล่อยให้เกิดการย่อยสลายด้วยตัวเอง และการย่อยสลายโดยเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจาก *B. subtilis* TISTR 008 เพื่อเปรียบเทียบระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ที่เกิดขึ้น โดยมีปัจจัยที่ศึกษา คือ ค่าความเป็นกรด–ด่าง และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย พบว่าค่าความเป็นกรด–ด่างของสับสเตรทและอุณหภูมิในการย่อยสลายมีผลต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีนในสารละลายของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ปล่อยให้เกิดการย่อยสลายด้วยตัวเอง และตัวอย่างที่ทำการเพาะ *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปเพื่อเหนี่ยวนำให้เชื้อมีการผลิตเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยสลายโปรตีน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าการย่อยสลายที่ระดับความเป็นกรด–ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีผลทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นในสารละลายสูงสุดคือ 1.88 และ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นการเพาะ *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปเพื่อเหนี่ยวนำให้เชื้อมีการผลิตเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยสลายโปรตีนในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม พบว่าเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย และมีผลต่อปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิม

หลังจากได้สภาวะของค่าความเป็นกรด–ด่างและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายที่เหมาะสมแล้ว จึงนำสภาวะดังกล่าวนี้มาทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายที่สภาวะความเป็นกรด–ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิในการย่อยสลาย 45 องศาเซลเซียส โดยทำการศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีน และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ ในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ปล่อยให้เกิดการย่อยสลายด้วยตัวเอง โดยทำการวัดระดับของการย่อยสลายทุก 6 ชั่วโมง พบว่าค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายโปรตีนของตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไป ให้ระดับการย่อยสลายโปรตีนอยู่ที่ 59.08 (ตาราง 12) ซึ่งมีค่าน้อยกว่าตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่เติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไป โดยตัวอย่างที่มีการเติมเชื้อลงไปให้ค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายโปรตีนสูงที่สุดคือ ร้อยละ 69.62 (ตาราง 13) ทั้งนี้พบว่าร้อยละของระดับการย่อยสลายโปรตีนมีการเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วที่ 0 ถึง 6 ชั่วโมงแรก (ภาพ 4) ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้เพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย (ภาพ 5) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อโปรตีนถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จะทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อระยะเวลา

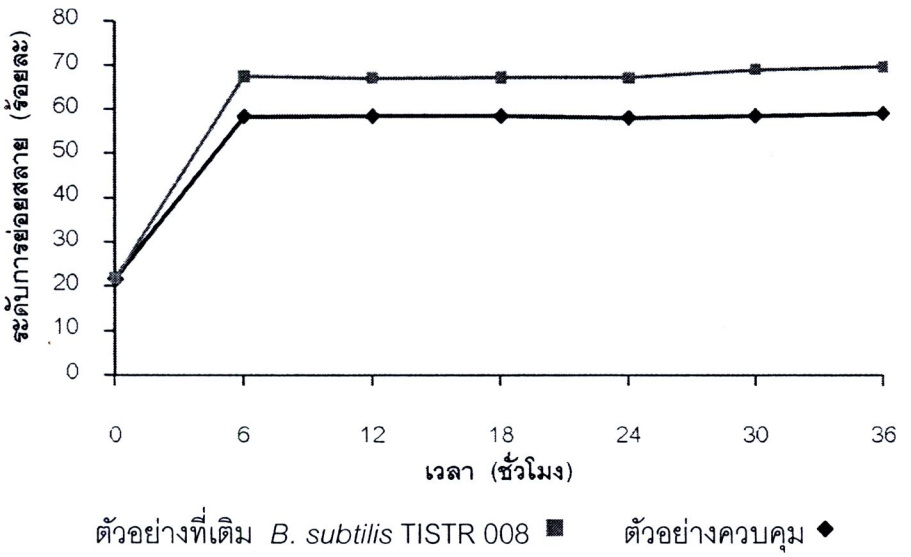
ผ่านไป 12, 18 และ 24 ชั่วโมง ระดับการย่อยสลายค่อยๆ ลดลงและกลับมาเพิ่มมากขึ้นอีกครั้งเมื่อเวลาในการย่อยสลายผ่านไป 30 ชั่วโมง ร้อยละของระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นนี้ อาจ

ตาราง 12 ระยะเวลาในการย่อยตัวอย่างควบคุมที่มีผลต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีน ที่ค่าความเป็นกรด - ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

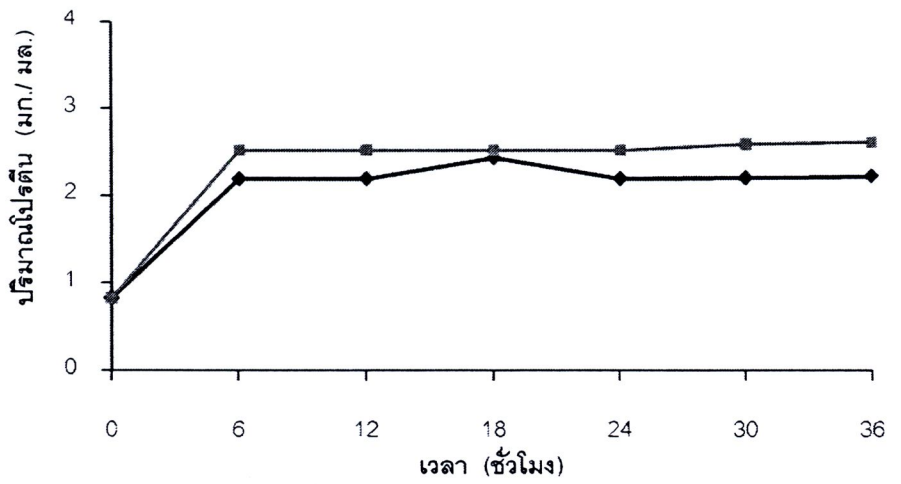
ระยะเวลาในการย่อยสลาย (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)
0	21.66 ± 0.00	0.83 ± 0.00
6	58.43 ± 0.04	2.19 ± 0.00
12	58.51 ± 0.00	2.19 ± 0.00
18	58.54 ± 0.05	2.43 ± 0.00
24	58.13 ± 0.04	2.19 ± 0.00
30	58.57 ± 0.00	2.20 ± 0.00
36	59.08 ± 0.00	2.22 ± 0.00

ตาราง 13 ระยะเวลาในการย่อยตัวอย่างที่เพาะ *B. subtilis* TISTR 008 ที่มีผลต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาในการย่อยสลาย (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)
0	21.85 ± 0.32	0.83 ± 0.00
6	67.58 ± 0.04	2.52 ± 0.00
12	67.11 ± 0.19	2.52 ± 0.01
18	67.27 ± 0.00	2.52 ± 0.00
24	67.20 ± 0.07	2.52 ± 0.00
30	69.06 ± 0.04	2.59 ± 0.00
36	69.62 ± 0.04	2.61 ± 0.00



ภาพ 4 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยเครื่องในปลาทับทิม ของตัวอย่างที่มีการเติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไป และตัวอย่างควบคุม



ภาพ 5 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยเครื่องในปลาทับทิมของ ตัวอย่างที่มีการเติม *B. subtilis* TISTR 008 และตัวอย่างควบคุม

เนื่องมาจากในระหว่างกระบวนการย่อยสลายมีการเขย่าให้อากาศตลอดเวลา ทำให้โปรตีนที่ละลายน้ำได้สามารถละลายออกมาในสารละลาย และเกิดการแข่งขันกันระหว่างโปรตีนที่เป็นสับสเตรทและเปปไทด์ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ในการเข้าจับกับเอนไซม์ ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนที่มีต่อค่าระดับการย่อยสลายในการทดลองนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ รุ่งอรุณ ตระการชัยวงศ์ (2545) และ Sathivel, et al. (2003) ที่พบว่าค่าระดับการย่อยสลายสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาแรกของการย่อยสลาย แต่เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งค่าระดับการย่อยสลายจะเริ่มมีค่าคงที่

พบว่าเมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายผ่านไป ตัวอย่างที่ทำการเพาะ *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปจะมีค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายที่สูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ทำการเพาะเชื้อ เนื่องจากแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีนในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม ทำให้มีทั้งโปรตีนที่ละลายน้ำได้ กรดอะมิโนและสารประกอบเปปไทด์ที่ละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น เป็นผลให้ร้อยละของระดับการย่อยสลายมากกว่าชุดควบคุม แต่เมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นต่อไปอีกระยะหนึ่ง พบว่ามีค่าร้อยละของระดับการย่อยสลายที่ลดลง เนื่องมาจากเกิดการสูญเสียโปรตีนที่ละลายน้ำไปในรูปของแอมโมเนีย อันเกิดจากกระบวนการ deamination จากกิจกรรมของแบคทีเรียดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วรรณดี แสงดี (2529) ที่ศึกษาการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมเพื่อใช้เป็นอาหารสุกรหย่านมก่อนกำหนด ซึ่งพบว่าในระยะแรกของการหมัก มีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาในการหมักผ่านไป ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้กลับลดลง

ถึงแม้ว่าเครื่องในปลาทับทิมจะเกิดการย่อยสลายจากกิจกรรมของเอนไซม์ต่างๆ ที่มีอยู่แล้วในตัวปลา เช่น เอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และไคโมทริปซิน ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีน (Sikorski, Pan and Shakidi, 1994) เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างตัวอย่างควบคุมกับตัวอย่างที่เติมเชื้อ *B. subtilis* TISTR 008 พบว่าตัวอย่างที่เติมเชื้อมีระดับการย่อยสลายและปริมาณโปรตีนในสารละลายสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (ภาพ 4 และ 5)

การทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม

จากการทดลองพบว่าระยะเวลาที่ทำให้เอนไซม์โปรติเอสแสดงกิจกรรมสูงสุด ที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือเวลา 18 ชั่วโมง โดยกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นในช่วง 18 ชั่วโมงแรก ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสอยู่ที่ 433.41,

759.56 และ 856.26 หน่วยต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 6, 12 และ 18 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตาราง 14) การที่เอนไซม์มีกิจกรรมแตกต่างกันในแต่ละช่วงนั้น สามารถอธิบายได้ว่าระยะเวลาที่มากขึ้นในสภาวะของค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิดังกล่าวจะช่วยเพิ่มอัตราการชนกันระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรท ทำให้เกิดผลผลิตที่สูงขึ้นตามไปด้วย (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) และจากการศึกษาของ วรรณวิมล ทรัพย์ดี (2540) พบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *B. subtilis* TISTR 25 มีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 ถึง 60 องศาเซลเซียส ดังนั้นระยะเวลาและอุณหภูมิในการย่อยสลายจึงมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ นอกจากปัจจัยดังกล่าวแล้วยังมีปัจจัยอื่นที่ช่วยให้เชื้อผลิตเอนไซม์ได้ดี เช่น ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสม เป็นต้น ดังการศึกษาของ O'Reilly and Day (1993) พบว่าการใช้ความเร็วรอบที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้การเจริญของเชื้อและการสร้างเอนไซม์ต่ำลง และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอส เนื่องจากเชื้อแต่ละเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้ดีในเวลาที่แตกต่างกัน เช่น มีรายงานว่า *Bacillus* สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดหลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (เกษม พงษ์มณี, 2536) ดังนั้นการนำเอนไซม์มาใช้เพื่อประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมจำเป็นที่จะต้องทราบอุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ผลิตเอนไซม์ในปริมาณสูงสุดเพื่อประโยชน์ในการนำเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ต่อไป

ตาราง 14 กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ทำการเพาะ *B. subtilis* TISTR 008 ลงไปที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

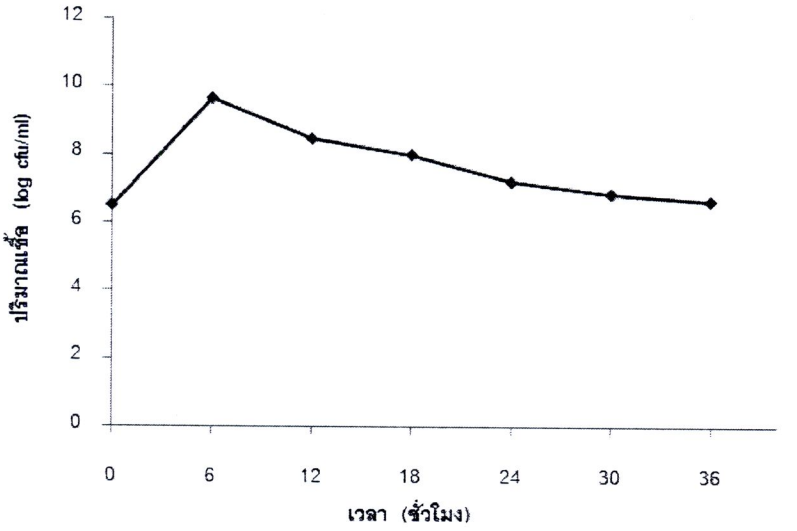
เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส (หน่วย/มิลลิลิตร)
0	130.99 ± 0.10
6	433.41 ± 1.82
12	759.56 ± 0.50
18	856.26 ± 0.55
24	723.52 ± 0.01
30	590.77 ± 0.78
36	494.07 ± 0.01

การศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สภาวะการย่อยสลายของตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม

เมื่อศึกษาการเจริญของ *B. subtilis* TISTR 008 และจุลินทรีย์อื่นๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมควบคู่ไปกับการศึกษาปริมาณโปรตีนในสารละลายและระดับการย่อยสลายที่เกิดขึ้นที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเชื้อและระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กัน เป็นผลให้มีปริมาณโปรตีนในสารละลายเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยเมื่อเริ่มทำการย่อยสลายเชื้อจะอยู่ในช่วง lag phase ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เซลล์จะขยายขนาดใหญ่ขึ้นและสังเคราะห์โปรโตพลาสใหม่ เซลล์เริ่มสังเคราะห์เอนไซม์หรือโคเอนไซม์เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม แล้วปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมานี้เริ่มย่อยโปรตีนที่อยู่ในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม เมื่อเซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้แล้ว จะเข้าสู่ระยะ log phase เป็นระยะที่เซลล์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ เซลล์จะใช้สารอาหาร อาทิ คาร์บอน ไนโตรเจน และออกซิเจน ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ เมื่อคาร์บอนที่อยู่ในตัวอย่างสารละลายมีปริมาณลดลงเซลล์จะเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase ในชั่วโมงที่ 12 ถึง 18 ซึ่งช่วงนี้อัตราการเจริญเท่ากับอัตราการตายของเซลล์ ทำให้เซลล์มีจำนวนคงที่ หลังจากนี้สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเริ่มหมดไป ปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่น้อย มีการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์มากขึ้น แต่เซลล์สามารถอยู่ได้เนื่องจากใช้สารอาหารที่สะสมอยู่ภายในเซลล์ (Mandelstam, McQuillen and Dawes, 1982) ในช่วงนี้เซลล์หยุดสร้างเอนไซม์แต่ยังมีเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาหลงเหลืออยู่ เมื่อถึงชั่วโมงที่ 18 สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญและออกซิเจนหมดไป อีกทั้งมีการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพของเซลล์ทำให้เซลล์เริ่มลดจำนวนลง จากการที่เอนไซม์ย่อยโปรตีนในสารละลายเป็นเวลาพอสมควร จึงทำให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 ถึง 12 ก่อนลดปริมาณลง (ภาพ 6) เนื่องจากเกิดการสูญเสียโปรตีนที่ละลายน้ำในรูปแอมโมเนีย (วรรณดี แสงดี, 2529)

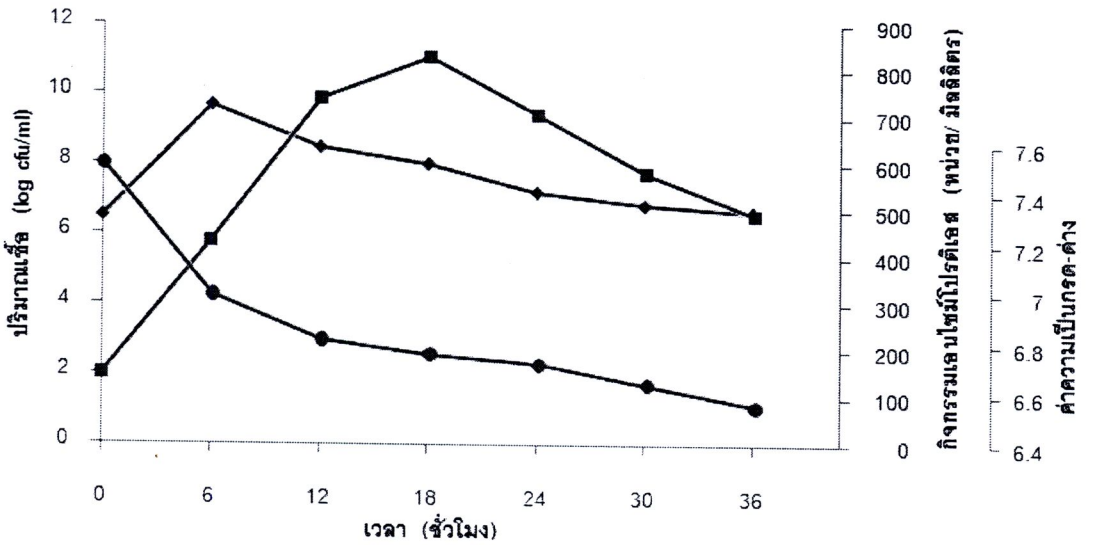
กรองจิตต์ ช้างแก้ว (2541) กล่าวว่าถ้าสามารถยืดระยะของ log phase ให้นานขึ้นจะทำให้สามารถสะสมเอนไซม์ที่สร้างจากจุลินทรีย์ได้มากขึ้น มีผลทำให้ระดับการย่อยสลายปริมาณโปรตีนได้สูงขึ้น สอดคล้องกับสาโรจน์ ศิริศันสนียกุล และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ (2538) กล่าวว่าถ้าสามารถควบคุมให้ระยะ log phase นานขึ้น โดยการเพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณออกซิเจน

หรือสารช่วยในการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น กลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ทำให้มีการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ส่งผลให้มีระยะ log phase นานขึ้น และสามารถสร้างเอนไซม์ได้มากขึ้น



ภาพ 6 การเจริญของแบคทีเรียในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่เพาะ *B. subtilis* TISTR 008 **ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง** 7.5 **อุณหภูมิ** 45 **องศาเซลเซียส**

เมื่อพิจารณาปัจจัยในการย่อยสลายโปรตีนในตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมทั้งการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และการเจริญของแบคทีเรีย ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วที่ 0 ถึง 6 ชั่วโมงแรก (ภาพ 7) ทั้งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและการเจริญของแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงจึงเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นสภาวะในการย่อยสลายที่ดีที่สุด



- การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง
- กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)
- การเจริญของแบคทีเรีย (log cfu/ml)

ภาพ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และการเจริญของแบคทีเรียที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม

องค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิม

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยน้ำหนักแห้งของเปปโตนที่ผลิตได้จากการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิมที่มีการเติม *B. subtilis* TISTR 008 ลงไป ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และนำไปผ่านกระบวนการทำแห้ง พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าอยู่ที่ ร้อยละ 93.96, 1.97 และ 4.06 ตามลำดับ โดยที่เปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) พบปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าอยู่ที่ร้อยละ 95.01, 0.15 และ 4.84 ตามลำดับ (ตาราง 15) จากการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมและเปปโตนทางการค้า พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมให้ปริมาณโปรตีนและเถ้าที่น้อยกว่า นอกจากนี้ยังมีปริมาณของไขมันที่มากกว่าเปปโตนทางการค้า

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เมื่อทำการคำนวณปริมาณผลผลิตเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมที่ใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น (น้ำหนักเปียก) ต่อปริมาณเปปโตนผงแห้งที่ได้ พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้มีค่าปริมาณผลผลิต (yield) อยู่ที่ร้อยละ 7.75 จากการทดลองนี้พบว่าปริมาณผลผลิตแห้งของเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการสูญเสียในระหว่างกระบวนการทำแห้ง ซึ่งมีส่วนของเปปโตนผงแห้งที่ติดค้างอยู่ที่เครื่องมือ แต่พบว่าผลผลิตที่ได้นี้มีปริมาณใกล้เคียงกับการทดลองของ วรพงษ์ อัศวเกศมณี (2538) และวิชชุลดา ช่วยฉิม (2544) ที่ผลิตเปปโตนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดยผลผลิตรวมของเปปโตนที่ผลิตได้ คือ ร้อยละ 6.71 และ ร้อยละ 5.0 ของปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ ตามลำดับ

ตาราง 15 การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) เปปโตนจากเครื่องในปลาทูน่า โปรตีนไฮโดรไลเซทผงแห้งจากเศษเหลือจากโรงงานซูริมิ และเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม

องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	เปปโตนทางการค้า*	เปปโตนจากเครื่องในปลาทูน่า**	โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือซูริมิ***	เปปโตนจากเครื่องในปลาทับทิม
โปรตีน	95.01^{a}	89.84^{c}	85.60^{d}	$93.96^{b} \pm 1.06$
ไขมัน	0.15^{d}	0.65^{c}	9.47^{a}	$1.97^{b} \pm 0.05$
เถ้า	4.84^{c}	9.51^{a}	4.92^{b}	$4.06^{d} \pm 0.05$

a-d ค่าเฉลี่ยตามแนวนอนที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ที่มา: * วรพงษ์ อัศวเกศมณี (2538)

** ตรีสินธุ์ โพธารส (2546)

*** สุปราณี แย้มพราย (2539)

Hoyle and Merritt (1994) ได้ทำการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจากเนื้อปลาเฮอร์ริง พบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่สกัดไขมันก่อนการทำแห้งมีปริมาณผลผลิต (ร้อยละ 3.6) ต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการสกัดไขมัน (ร้อยละ 5.5) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดย

ปริมาณผลผลิตที่ต่ำนี้ Hoyle and Merritt (1994) อธิบายไว้ว่าอาจเกิดเนื่องจากในการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตผงในครั้งนี้นำเฉพาะส่วนของเหลวด้านบนมาทำแห้งและอาจมีการสูญเสียผลผลิตในขั้นตอนของการผลิต เช่น ขั้นตอนของการสกัดไขมัน เป็นต้น

กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม

จากผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) และเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้มีกรดอะมิโนครบทั้ง 18 ชนิดเหมือนกับเปปโตนทางการค้า แต่แตกต่างกันที่ปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิด (ภาพ 8) ซึ่งเมื่อนำมาคำนวณเพื่อเปรียบเทียบในรูปของปริมาณกรดอะมิโนต่อโปรตีน 100 กรัม พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมประกอบด้วย ไลซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน ไทโรซีน และกรดกลูตามิก มากที่สุด คือ 15.00, 6.88, 6.28, 5.57 และ 5.34 กรัมต่อโปรตีน 100 กรัม ตามลำดับ (ตาราง 16) ส่วนเปปโตนทางการค้าประกอบด้วย ไกลซีน โปรลีน กรดกลูตามิก อาร์จินีน และ กรดแอสปาร์ติก มากที่สุด คือ 20.28, 12.85, 10.37, 7.16 และ 6.45 กรัมต่อโปรตีน 100 กรัม ตามลำดับ (วรพงษ์ อัศวเกศมณี, 2538) ปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่พบในปริมาณที่แตกต่างกันนั้น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการใช้วัตถุดิบในการผลิตเปปโตนที่ต่างกัน องค์ประกอบของกรดอะมิโนจึงมีความแตกต่างกัน และในกระบวนการวิเคราะห์อาจเกิดการสูญเสียกรดอะมิโนโดยเฉพาะกรดอะมิโนที่มีความไวสูง เช่น เมตไทโอนีน และทริปโตเฟน เป็นต้น (Shahidi, Han and Synowiecki, 1995)

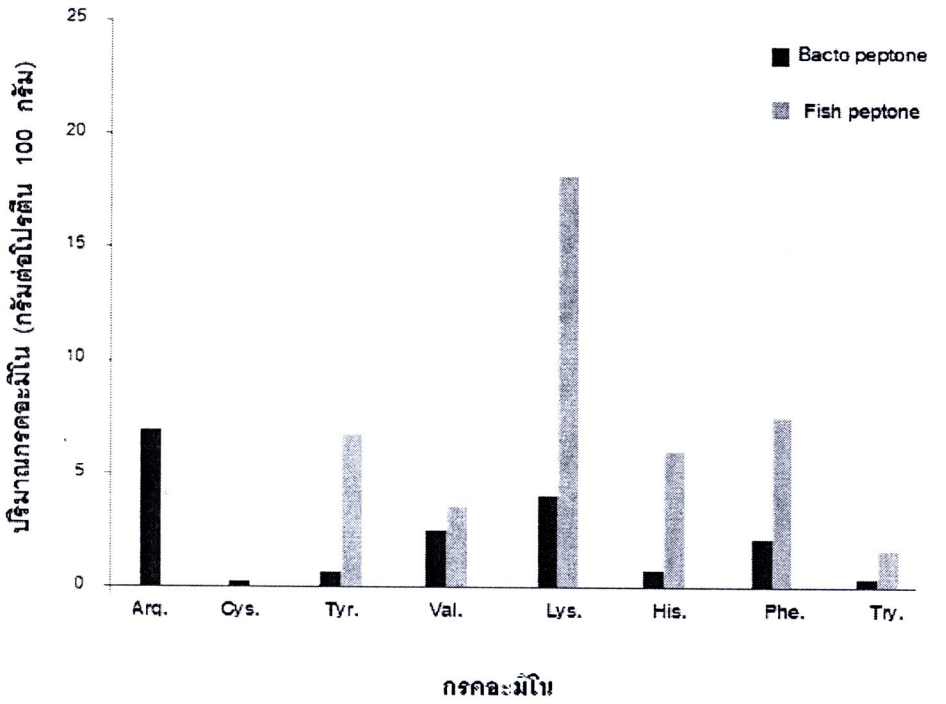
กรดอะมิโนมีความสำคัญสำหรับจุลินทรีย์ เซลล์ของจุลินทรีย์จะนำกรดอะมิโนไปสังเคราะห์โปรตีนเพื่อใช้ในการเจริญและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) โดยกรดอะมิโนที่จำเป็น 18 ชนิด ที่จุลินทรีย์ต้องการ มีดังนี้ ไกลซีน อะลานีน ทรีโอนีน ซีรีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน ไทโรซีน ทริปโตเฟน เมตไทโอนีน โปรลีน ไลซีน อาร์จินีน ซีสตีน กรดแอสปาร์ติก กรดกลูตามิก และฮีสทิดีน โดยกรดอะมิโนเหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการ amino transport system เพื่อสังเคราะห์โปรตีนและเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยกรดอะมิโนเหล่านี้จะทำงานร่วมกันเป็นกลุ่มๆ ดังนี้ ไกลซีน-อะลานีน ทรีโอนีน-ซีรีน ลิวซีน-ไอโซลิวซีน-วาลีน ฟีนิลอะลานีน-ไทโรซีน-ทริปโตเฟน เมตไทโอนีน โปรลีน ไลซีน- อาร์จินีน ซีสตีน กรดแอสปาร์ติก กรดกลูตามิก และฮีสทิดีน (Payne, 1980) Sarles, et al. (1951) รายงานว่า การใช้วัตถุดิบที่แตกต่างกันในการผลิตเปปโตนที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ

ย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์ เป็นสาเหตุให้มีปริมาณของกรดอะมิโนในแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนที่ผลิตขึ้นมีความแตกต่างกันไปด้วย

ตาราง 16 ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเปปโตนทางการค้า และเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม

ชนิดกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (ร้อยละ)	
	เปปโตนทางการค้า bacto-peptone*	เปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม
Alanine	5.42	2.79
Arginine	6.78	0.01
Aspartic acid	6.11	3.84
Cysteine	0.22	0.01
Glutamic acid	9.82	6.31
Glycine	19.20	3.31
Histidine	0.72	5.89
Isoleucine	1.60	4.09
Leucine	3.30	8.12
Lysine	3.93	17.71
Methionine	0.80	1.81
Phenylalanine	2.17	7.42
Proline	12.17	3.05
Serine	3.27	1.03
Threonine	2.00	1.23
Tryptophan	0.39	1.62
Tyrosine	0.67	6.58
Valine	2.42	3.47

ที่มา: *วรพงษ์ อัศวเกศมณี, 2538



ภาพ 8 การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเปปโตนทางการค้าและเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิมที่ *B. subtilis*, *E. coli* และ *S. aureus* ใช้ในการเจริญ

คุณภาพสีของเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม

จากการวิเคราะห์คุณภาพสีของเปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิมเปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone ของบริษัท Difco) โดยที่ค่า L* (ค่าความสว่างจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว) ค่า a* (ค่า a- แสดงความเป็นสีเขียว ค่า a+ แสดงความเป็นสีแดง) และค่า b* (ค่า b- แสดงความเป็นสีน้ำเงิน ค่า b+ แสดงความเป็นสีเหลือง) พบว่าค่าของความสว่าง (L*) และค่าสีแดง-เขียว (a*) ของเปปโตนที่ผลิตได้มีความแตกต่างกับเปปโตนทางการค้า ($p \leq 0.05$) (ตาราง 17 และ ภาพ 9 ถึง 11) โดยเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมให้ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองที่น้อยกว่า แต่ให้ค่าสีเขียวที่มากกว่า ซึ่งเปปโตนที่ผลิตได้มีสีน้ำตาลเข้มอมเขียว และทึบแสง Hoyle and Merritt (1994) สรุปว่า การเกิดสีน้ำตาลของโปรตีนไฮโดรไลเซทปลาเกิดจากการใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการหยุดปฏิกิริยาหลังการย่อยสลายและกระบวนการระเหยน้ำ รวมถึงอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ พบว่าเมื่อเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเซทปลาโดยการบรรจุถุงโพลีเอทิลีนที่มีคุณสมบัติยอมให้ก๊าซและไอน้ำผ่านเข้าออกได้

เป็นเวลา 3 เดือน มีผลทำให้ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองลดลง และค่าของสีเขียวเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงของสีนี้ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของไขมันและระดับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเฉพาะกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูง เช่น กรดไขมันที่ได้จากน้ำมันปลาจะเกิดออกซิเดชันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นพบว่ากรดไขมันเป็นสับสเตรทของปฏิกิริยา maillard ซึ่งทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้น (Tsuchiya, 1992) และเมื่อนำมาเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในรูปของสารละลายเปปโตน พบว่าสารละลายที่เตรียมได้จาก เปปโตนที่ผลิตได้มีสีเข้มกว่าเปปโตนทางการค้า และมีความสามารถในการละลายน้ำได้เป็นอย่างดี

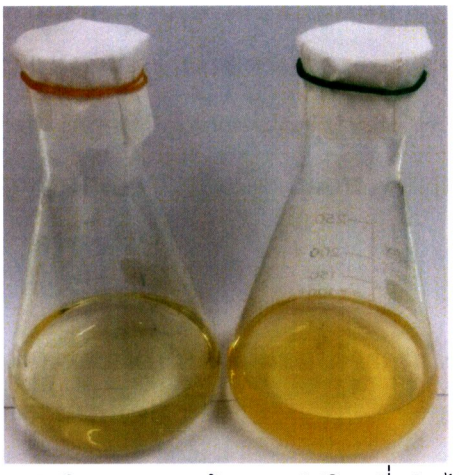
ตาราง 17 การเปรียบเทียบค่าสีของเปปโตนทางการค้า และเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมในรูปของผงแห้ง

ค่าสี	เปปโตนทางการค้า bacto-peptone ของบริษัท Difco	เปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม
L*	$77.67^{a} \pm 0.27$	$60.03^{b} \pm 0.16$
a*	$2.32^{a} \pm 0.37$	$-0.58^{b} \pm 0.22$
b*	$22.74^{a} \pm 0.13$	$22.12^{b} \pm 0.41$

a-b ค่าเฉลี่ยตามแนวนอนที่มีอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

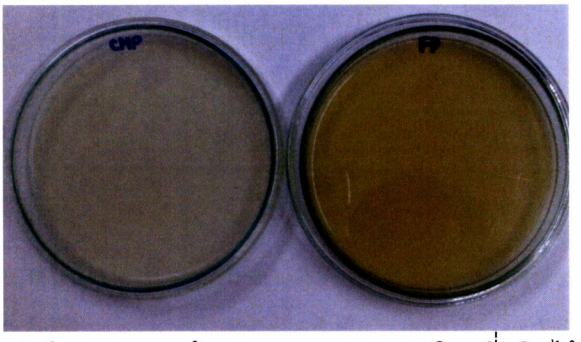
เปปโตนทางการค้า เปปโตนที่ผลิตได้

ภาพ 9 สีของเปปโตนทางการค้า และเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมในรูปของผงแห้ง



เปปโตนทางการค้า เปปโตนที่ผลิตได้

ภาพ 10 สีของสารละลายเปปโตนที่เตรียมได้จากเปปโตนทางการค้า และเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม



เปปโตนทางการค้า เปปโตนที่ผลิตได้

ภาพ 11 สีของอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่เตรียมได้จากเปปโตนทางการค้า และเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิม

Roe (2001) พบว่าการทำให้เปปโตนที่ผลิตได้มีคุณภาพของค่าสีและความขุ่นที่ดีขึ้น สามารถทำได้โดยนำสารละลายส่วนใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 50 นาที ไปทำการกรองด้วย ultrafiltration เนื่องจากการกรองด้วยวิธีนี้แผ่นกรองที่ใช้มีรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 1 ถึง 20 นาโนเมตร สารแขวนลอยที่มีขนาดใหญ่กว่ารูของแผ่นกรองนี้ไม่สามารถผ่านไปได้ จึงสามารถแยกสารแขวนลอยออกจากสารละลายได้ ทำให้ได้สารละลายที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น

ปริมาณจุลินทรีย์ตามมาตรฐานโปรติเอสเปปโตน

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ตามมาตรฐานของปปโตนที่ผลิตจากเอนไซม์โปรติเอส (protease peptone) (Agar Peptone and Other, p. 306) พบว่าจุลินทรีย์ที่พบในเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมมีค่าไม่เกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ และไม่พบ *Coliforms* และ *Salmonella* (ตาราง 18)

ตาราง 18 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมตามมาตรฐานโปรติเอสเปปโตน

เชื้อทดสอบ	ปริมาณจุลินทรีย์ (cfu/ml)	
	โปรติเอสเปปโตน	เปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม
Standard plate count	Less than 5.00×10^3	7.01×10^2
Yeasts and molds	Less than 1.00×10^2	2.19×10
Coliforms	Negative	Negative
Salmonella	Negative	Negative

การทดสอบประสิทธิภาพของเปปโตนที่ผลิตได้ในการเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์

การทดสอบประสิทธิภาพของเปปโตนที่ผลิตได้ในการเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ พบว่าเปปโตนที่ผลิตได้สามารถใช้เป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี โดยดูได้จากน้ำหนักแห้งของเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ที่ได้หลังจากการเลี้ยงเชื้อในสารละลายเปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด สามารถเจริญในเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมได้ดีกว่าเปปโตนทางการค้า (ตาราง 19) Vecht-Lifshitz, Almas and Zomer (1990) ทำการผลิตเปปโตนและทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าเปปโตนที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของเศษเหลือจากโรงงาน แปรรูปปลา (fish peptone) ทำให้เชื้อเจริญได้ดีและมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่าเปปโตนทางการค้า (bacto-peptone) นอกจากนี้ยังมีรายงานการผลิต

เปปโตนจากหัวกุ้งกุลาดำ เพื่อทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดย วรพงษ์ อัศวเกศมณี (2538) พบว่า เปปโตนที่ผลิตขึ้นมีผลทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีกว่าเปปโตนทางการค้าโดยเฉพาะ *B. subtilis*

ตาราง 19 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม / 100 มิลลิลิตร) ของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่เจริญอยู่ในสารละลายเปปโตน

แบคทีเรีย	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม / 100 มิลลิลิตร)	
	bacto-peptone ของบริษัท Difco	เปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม
Bacillus subtilis TISTR 008	1.10^{b}	2.34^{a}
Escherichia coli ATCC 25922	0.02^{b}	0.10^{a}
Staphylococcus aureus TISTR 118	0.04^{b}	0.09^{a}

a-b ค่าเฉลี่ยตามแนวนอนที่มีอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลอง แม้ว่าเปปโตนที่ผลิตได้จากตัวอย่างเครื่องในปลาทับทิมมีปริมาณของผลผลิตหลังจากกระบวนการทำแห้งค่อนข้างต่ำ แต่มีกรดอะมิโนบางชนิดที่มีปริมาณสูงกว่าเปปโตนทางการค้าของบริษัท Difco ทำให้ความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่า โดยเชื้อ *B. subtilis* TISTR 008 เจริญได้ดีที่สุด *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* TISTR 118 เจริญรองลงมาตามลำดับ และจากผลการศึกษาน้ำหนักแห้ง พบว่าน้ำหนักแห้งของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่เลี้ยงในสารละลายเปปโตนที่ผลิตได้สูงกว่าแบคทีเรียที่เลี้ยงในสารละลายเปปโตนของบริษัท Difco ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษากับการนับจำนวนโคโลนี โดยพบว่าเชื้อ *B. subtilis*, *E. coli* และ *S. aureus* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีส่วนประกอบของเปปโตนที่ผลิตได้มีจำนวนโคโลนีที่ใกล้เคียงอาหารที่มีเปปโตนทางการค้าเป็นองค์ประกอบ (ตาราง 20) ซึ่งสอดคล้องกับ Asru and Chetterjee (1967) ที่รายงานว่า *S. aureus* จะนำกรดอะมิโน ไลซีน ฮีสทิดีน ฟีนิลอะลานีน และวาลีน ไปใช้เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการนำไปสังเคราะห์โปรตีนเพื่อใช้ในการเจริญของเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่ากรดอะมิโนที่มีความสำคัญต่อการเจริญของ *E.coli* ได้แก่ ไลซีน อาร์จีนีน และทริปโตเฟน เป็นต้น ส่วนกรดอะมิโนที่มี

ความสำคัญต่อการเจริญของ *B. subtilis* ได้แก่ ซีสตีน ฮีสทิดีน ฟีนินอะลานีน และวาลีน เป็นต้น (Holt, Sneath and Krieq, 1994) ซึ่งจากการทดลองพบว่ามีปริมาณของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ เหล่านี้ในเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมมากกว่าปริมาณของกรดอะมิโนที่พบในเปปโตนทางการค้า (ภาพ 8) จึงส่งผลให้เชื้อที่นำมาทดสอบเจริญในเปปโตนที่ผลิตได้ดีกว่าเปปโตนทางการค้านั่นเอง

ตาราง 20 จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง

แบคทีเรีย	จำนวนโคโลนี (log cfu/ml)	
	bacto-peptone ของบริษัท Difco	เปปโตนที่ผลิตจากเครื่องในปลาทับทิม
Bacillus subtilis TISTR 008	10.47^{ns}	10.48^{ns}
Escherichia coli ATCC 25922	9.87^{ns}	9.88^{ns}
Staphylococcus aureus TISTR 118	9.78^{ns}	9.79^{ns}

ns ค่าเฉลี่ยตามแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากการหาสภาวะในการย่อยสลายเครื่องในปลาทับทิมที่ทำการเติม *B. subtilis* TISTR 008 เพื่อนำไปผลิตเป็นเปปโตนสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดอยู่ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยพบว่าเปปโตนที่ผลิตได้มีกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบเท่ากับเปปโตนทางการค้า นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตนที่ผลิตได้จากเครื่องในปลาทับทิมเป็นส่วนประกอบได้ดีกว่าเปปโตนทางการค้า