

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือปลาทับทิม (เครื่องใน) พบว่ามีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า คิดเป็นร้อยละของน้ำหนักเปียก ดังนี้ 76.73, 15.68, 1.95, และ 1.61 ตามลำดับ และค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.3

2. ผลการศึกษาชนิดของเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์ปาเปน พบว่า การใช้เอนไซม์ปาเปนที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.75 ระยะเวลา 60 นาที ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายที่ดีที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 80.71

3. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ จากการย่อยสลายเศษเหลือปลาทับทิมในสภาวะที่ดีที่สุด พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือปลาทับทิม มีองค์ประกอบคือ โปรตีน ไขมัน และเถ้าคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง 94.34, 1.88 และ 3.78 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้าที่มีองค์ประกอบคือ โปรตีน ไขมัน และเถ้า คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง 95.02, 1.14 และ 4.84 ตามลำดับ

ส่วนผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ พบว่ามีกรดอะมิโนจำเป็นครบทั้ง 18 ชนิด เหมือนกับเปปโตนทางการค้า โดยมี lysine, leucine และ phenylalanine มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 14.37, 5.70 และ 5.42 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเซท ที่ผลิตได้จากการย่อยสลายเศษเหลือปลาทับทิมในสภาวะที่ดีที่สุด พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือปลาทับทิม มีค่า L* ค่า a* และค่า b* คือ 63.42, 0.37 และ 24.37 ทำให้สีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือของปลาทับทิมมีสีเหลือง-น้ำตาลเข้มกว่าเปปโตนทางการค้าที่มีสีเหลืองอ่อน

4. ผลการนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือปลาทับทิมที่ผลิตได้ไปใช้ทดแทนเปปโตนทางการค้า โดยทดสอบประสิทธิภาพในการใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli* ATCC25922, *S. aureus* TISTR118 และ *B. subtilis* TISTR008 เปรียบเทียบกับเปปโตนทางการค้า พบว่าน้ำหนักแห้งของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตได้มีน้ำหนักมากกว่า ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อของเปปโตนทางการค้า ส่วนน้ำหนักแห้งของแบคทีเรีย *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตได้ และที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อของเปปโตนทางการค้ามีค่าไม่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาวิธีการผลิตที่เพิ่มปริมาณโปรตีนในเปปโติน เนื่องจากเปปโตินที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าเปปโตินทางการค้า ซึ่งแม้ว่าเปปโตินที่ผลิตได้สามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ได้ดีก็ตาม แต่ปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่าอาจเป็นปัจจัยจำกัดของการใช้งานจริง
2. เปปโตินที่ผลิตได้ดูความขึ้นอย่างรวดเร็วและจับตัวเป็นก้อน จึงควรศึกษากระบวนการทำแห้งและวิธีการเก็บรักษาเพื่อให้เปปโตินที่ผลิตได้คงคุณภาพได้นานที่สุด
3. เปปโตินที่ผลิตได้จากการศึกษานี้ มีศักยภาพที่จะนำไปผลิตในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากวัตถุดิบหลักที่ใช้ คือ เครื่องในปลาหีบที่มีปริมาณมาก โดยการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต้องมีการดัดแปลงเครื่องมือ และกระบวนการผลิตให้เหมาะสม มีต้นทุนต่ำ และได้เปปโตินที่มีคุณภาพสูงเทียบเท่าเปปโตินที่จำหน่ายทางการค้า

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กรมประมง. (2553). **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย เอกสารฉบับที่ 12/2553**. กรุงเทพฯ:

ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กัลยากร วงศ์กาฬสินธุ์. (2540). **การโคลนยีนโปรติเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR25 สู่**

***Escherichia coli* ด้วยระบบหลอมกับจีเอสทียีน**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., จุฬาลงกรณ์

มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

กำเนิด สุภักธพงษ์. (2534). **จุลชีวอุตสาหกรรม**. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ณัฐวุฒิ ส่งแสง. (2550). **การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสทะเลจากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเขียว**

โดยเอนไซม์โปรติเอส. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี,

กรุงเทพฯ.

ตรีสินธุ์ โพธารส. (2546). **การสกัดเพปโตินจากเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบโดยใช้แบคทีเรีย**

กรดแลคติก. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ประทีปพันธุ์ปลา. (ม.ป.ป.). **พันธุ์ปลาน้ำจืดของไทย**. สืบค้นเมื่อ 9 กุมภาพันธ์ 2555, จาก

http://www.bestfish4u.com/oreochromis_niloticus_tubtim.php.

ประสิทธิ์ศิลป์ ชัยยะวัฒน์โยธิน. (1 สิงหาคม 2552). ปลาทับติม. **เจาะตลาด**, 21(460), 97.

ปราณี อานเป็ร้อง. (2534). **เอนไซม์ทางอาหาร**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะ

วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิชญา ชินอุปราวัฒน์. (2539). **การผลิตเปปโตินจากปลาตุ๋กบิกอูยและจากเศษเหลือจากการ**

แปรรูปปลาตุ๋กบิกอูย. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพรัตน์ โสภณดร. (2532). **การผลิตเปปโตินจากหัวกุ้ง**. **วารสารอาหารและอุตสาหกรรมเกษตร**,

3(1), 22-35.

มัลลิกา ธนสุนทร. (2552). **การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดโดยใช้เอนไซม์ปาเปนเพื่อเป็น**

สารปรุงแต่งกลิ่นรส. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี,

กรุงเทพฯ.

รุ่งอรุณ ตระการชัยวงศ์. (2545). **การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตไขมันต่ำ จากของเหลือ**

อุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฤทัยรัตน์ หวานจำ. (2547). **การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตผงแห้งจากเศษเหลือของโรงงานผลิต**

ซูริมิ: การผลิตในระดับนำร่อง. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- วรพงษ์ อัสวเกศมณี. (2538). **การผลิตเปปโตินจากหัวกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วิมล เหมะจันทร์. (2540). **ชีววิทยาปลา**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2552). **ศักยภาพการผลิตและการตลาดปลานิล**. เอกสารวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร เลขที่ 119. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุปราณี แยมพราย. (2539). **การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากของเหลือจากโรงงานผลิตซูริมิเพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุพิมพ์ ศิริสายัณห์. (2541). **การเจริญเติบโตของปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) ในบ่อบำบัดน้ำเสียชุมชนเทศบาลเมืองเพชรบุรี**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุภาพร มหันตกิจ. (2549). **การใช้วัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, กรุงเทพฯ.
- อัจฉราภรณ์ อ่อนทรวง. (2552). **กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสของจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติกที่คัดเลือกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านประเภทเนื้อและปลา**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.
- A.O.A.C. (2000). **Official methods of the association of official analytical chemists** (14th ed.). Washington D.C.: Association Official Analytical Chemist.
- Adler-Nissen, J. (1986). **Enzymic hydrolysis of food protein**. (pp. 110-169). New York: Vanderblit.
- Adler-Nissen, J. (1993). **Protease. Enzyme in food processing**. (pp. 159-203). San Diego: Academic Press.
- Anson, M.L. (1938). Estimation of pepsin, papain and cathepsin with hemoglobin. **Journal of General Physiology**, 22, 7-89.
- Aspmo, S.I., Horn, S.J., and Vincent, G.H. (2005). Hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera as components of microbial growth media. **Process Biochemistry**, 40, 3714-3722.
- BD Bionutrients. (2006). **BD Bionutrients™ Technical Manual Advanced Bioprocessing** (Vol.3). USA: Waters Corporation.

- Bhaskar, N., and Mahendrakar, N.S. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. **Bioresource Technology**, 99(10), 4105-4111.
- Boller, T. (1986). Roles of proteolytic enzymes in interaction of plant and other organisms. In Dalling MJ (Eds.), **Plant Proteolytic Enzymes**. (Vol.1, pp. 67-96). Boca Raton: CRC Press.
- Brody, J. (1965). **Fishery By-Product Technology**. Connecticut: The AVI Publ.
- Chalamaiah, M., Narsing Rao, G., Rao D.G., and Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. **Food Chemistry**, 120, 652–657.
- Clausen, E., Gildberg, A., and Raa, J. (1985). Preparation and testing of an autolysate of fish viscera as growth substrate for bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, 50(6), 1556-1557.
- Cohen, L.W., Coghlan, V.M., and Dihel, L.C. (1986). Cloning and sequencing of papain-encoding cDNA, 48, 219-227.
- Condalab. (n.d.). **Agars, Peptones & Others**. Retrieved February 9, 2012, from www.condalab.com
- Cronk, J.D. (August 4, 2010). **Biochemistry dictionary**. Retrieved February 9, 2012, from <http://guweb2.gonzaga.edu/faculty/cronk/biochem/Pindex.cfm?definition=protease>
- Fountoulakis, M., and Lahm, H.W. (1998). Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. **Journal of Chromatography A**, 826, 109-134.
- Gildberg, A. (1993). Enzymic processing of marine raw materials. **Process Biochemistry**, 28, 1-15.
- Hill, R.L. (1965). Hydrolysis of Protein. **Advances in Protein Chemistry**. New York: John Wiley and Son.
- Hoyle, N.T., and Merritt, J.H. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). **Journal of Food Science**, 59(1), 76-79.
- Jeffrey, L.D., and Kenneth, F.B. (1972). Differential amino acid requirements for sporulation in *Bacillus subtilis*. **Journal of Bacteriology**, 112(1), 345-355.

- Kristinsson, H.G., and Rasco, B.A. (2000). Kinetics of the hydrolysis of atlantic salmon (*Salmosalar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. **Process Biochemistry**, 36, 131-139.
- Light, A., and Smith, E.L. (1963). **Methods of protein hydrolysis. In The Protein (Composition, Structure and Function)**. London: Academic Press.
- Mackie, I.M. and Ritchie, A.H. (1981). Differentiation of Atlantic cod *Gadus morhua morhua* and pacific cod *Gadus morhua macrocephalus* by electrophoresis and by isoelectric focusing of water-soluble proteins of muscle tissue. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, 68(2), 173–175.
- Mahadeva Iyer, K., Gopakumar, K., Shenoy, A.V., James, M.A., and Nair, M.R. (1978). Peptone from threadfin bream (*Nemipterus japonicus* Block): Preparation and suitability as microbiology growth media. In **Proceeding of the 18th symposium on fish utilization technology and marketing in the IPFC region**, (8-17 March, pp. 523-526). Philippines: Indo-Pacific Fishery Commission.
- Morihara, K. (1967). Chemical nature of the active site of papine. I. inhibition by carbonyl reagents with active methylene groups. **Journal of Biochemistry**, 62, 250.
- Mutilangi, W.A.M., Panyam, D., and Kilara, A. (1996). Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. **Journal of Food Science**, 61, 270–274.
- Olcott, H.S., and Fraenkel, H.C. (1947). Acid hydrolysis of food protein. **Journal Biological Chemistry**, 171, 583-586.
- Payne, J. W. (1980). Transport and utilization of peptides by bacteria. Microorganisms and Nitrogen Sources: Transport and Utilization of Amino Acids, Peptides. **Proteins, and Related Substrates**, (Vol.21, pp. 1- 256). New York: John Wiley & Sons.
- Ruth, A.L., James, A.L., and Nicola, C.J. (1995). The amino acid requirements of *Staphylococcus aureus* isolated from cases of bovine mastitis. **Institute For Animal Health**, 268(1), 1-7.
- Sathivel, S., Bechtel, P.J., Babbitt, J., Smiley, S., Crapo, C., Reppond, K.D. (2003). Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct

- hydrolysates. *Journal of Food Science*, 68, 2196-2200.
- Stein, I.A., Svein, J.H., and Vincent, G.H.E. (2005). Enzymatic hydrolysis of atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, 40, 1957–1966.
- Suryanarayana, R.S.V., Saraswathi, C.R. and Dwarakanath, C.T. (1998). Studies on the utilization of fishery wastes for the production of microbiological media. In **Proceeding of the 18th symposium on fish utilization technology and marketing in the IPFC region**, (Vol.62, pp. 597-635). Philippines: Indo-Pacific Fishery Commission.
- Vecht-Lifshitz, E., Almas, K.A., and Zomer, K.A. (1990). Microbial growth on peptone from fish industrial wastes. **Left. In Appl. Microbiol**, 10, 183-186.
- Watson, J. (1979). **Nursing: The philosophy and science of caring**. Boston: Little Brown.
- Wu, Y.F., Baek, H.H., Gerard, P.D., and Cadwallader, K.R. (2000). Development of a meat-like process flavoring from soybean-based enzyme-hydrolyzed vegetable protein (E-HVP). *Journal of Food Science*, 65(7), 1220-1227.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาล์ (AOAC, 2000)

1.1 สารเคมี

1.1.1 สารเร่งปฏิกิริยาใช้ชีลีเนียม

1.1.2 โซเดียมซัลเฟต

1.1.3 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้นร้อยละ 32

1.1.4 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

1.1.5 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

1.1.6 อินดิเคเตอร์

1.2 วิธีการวิเคราะห์

1.2.1 ชั่งตัวอย่างให้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน

1.2.2 เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร นำไปใส่ขวดย่อยในตู้ดูดควันจนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใส ปล่อยให้ทิ้งไว้ให้เย็น

1.2.3 นำไปกลั่น โดยใช้โซเดียมซัลเฟต เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

1.2.4 รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

1.2.5 เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

1.2.6 กลั่นให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดบอริก

1.2.7 ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

1.2.8 ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-7

1.3 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \frac{0.0014 \times A \times (B-C) \times 100 \times 6.25}{0.1 \times D}$$

เมื่อ A คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

C คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับ Blank (มิลลิลิตร)

D คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

2.1 สารเคมี

2.1.1 ปีโตรเลียมอีเทอร์

2.2 วิธีการวิเคราะห์

2.2.1 ชั่งน้ำหนักของพลาสติกสกัดไขมัน แล้วจดน้ำหนักที่แน่นอนไว้

2.2.2 ชั่งตัวอย่างอาหาร 5 กรัม (จดน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ทิมเบล (thimble)

2.2.3 เติมปีโตรเลียมอีเทอร์ลงในพลาสติกสำหรับสกัดไขมัน 150 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำทิมเบลใส่ลงไป

2.2.4 วางพลาสติกลงในเครื่องสกัดไขมัน ทำการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง

2.2.5 แยกเอาพลาสติกออกจากเครื่องสกัดแล้วใช้คีมคีบทิมเบลที่ใส่ตัวอย่างอาหารออกจากพลาสติก

2.2.6 นำพลาสติกไประเหยเอาปีโตรเลียมอีเทอร์ออก โดยอบที่ 100 องศาเซลเซียส จนกว่าตัวทำละลายจะระเหยหมด จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งน้ำหนัก

2.3 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{A}{B} \times 100$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักไขมัน

B คือ น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

3.1 วิธีการวิเคราะห์

3.1.1 นำถ้วยเปล่าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก

3.1.2 ชั่งตัวอย่างใส่ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักแล้วประมาณ 2 กรัม นำไปทำการเผาบนเตาไฟฟ้า จนหมดควัน

3.1.3 นำตัวอย่างที่เผาไล่ควัน แล้วไปเผาต่อในเตาเผา (Muffle furnace) อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วปิดสวิทช์เตาเผา เปิดฝาเตาออกกรอจนอุณหภูมิภายในเตาลดเหลือประมาณ 100 องศาเซลเซียส

3.1.4 นำถ้วยออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

3.2 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = (A-B) \times 100$$

A

เมื่อ A คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนการเผา

B คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

4. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

4.1 วิธีการวิเคราะห์

4.1.1 ชั่งน้ำหนักอาหารตัวอย่างประมาณ 5 กรัม

4.1.2 นำไปอบในตู้อบที่ช่วงอุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

4.1.3 นำออกจากตู้อบปล่อยให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก เมื่อทำการอบซ้ำน้ำหนักที่ได้ในแต่ละครั้งไม่ควรต่างกันเกิน 0.05 กรัม แล้วนำไปคำนวณตามสมการ

4.2 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{A \times 100}{B}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ-น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

B คือ น้ำหนักตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (Anson, 1938)

5.1 สารเคมี

5.1.1 สารละลายเคซีน 2% โดยละลายเคซีน 2.0 กรัม ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ต้มด้วยไฟอ่อนจนเคซีนละลาย จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์

5.1.2 สารละลาย trichloroacetic acid (TCA) 0.4 M โดยละลาย TCA 6.535 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

5.1.3 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.4 M โดยละลาย Na_2CO_3 42.396 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

5.1.4 สารละลายโพลินฟีนอล นำสารละลายโพลินฟีนอลมาเจือจางด้วยอัตราส่วน 1:3 (เตรียมเมื่อต้องการใช้)

5.1.5 สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนไทโรซีน โดยละลายไทโรซีน 0.1 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความเข้มข้นของไทโรซีน 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5.2 วิธีการวิเคราะห์

5.2.1 นำตัวอย่างส่วนใด 1 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายเคซีน 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

5.2.2 หยุดปฏิกิริยาและตกตะกอนโปรตีนด้วยการเติมกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid : TCA) ความเข้มข้น 0.4 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มต่อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1

5.2.3 นำส่วนใสที่ได้ 1 มิลลิลิตร เติมด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้น 0.4 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

5.2.4 เติมสารละลายฟอลินฟีนอลที่ละลายน้ำในอัตราส่วน 1:3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 660 นาโนเมตร

5.2.5 ทำหลอดควบคุม (control) โดยเติม TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ก่อนเติมสารละลายเคซีน ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3-4

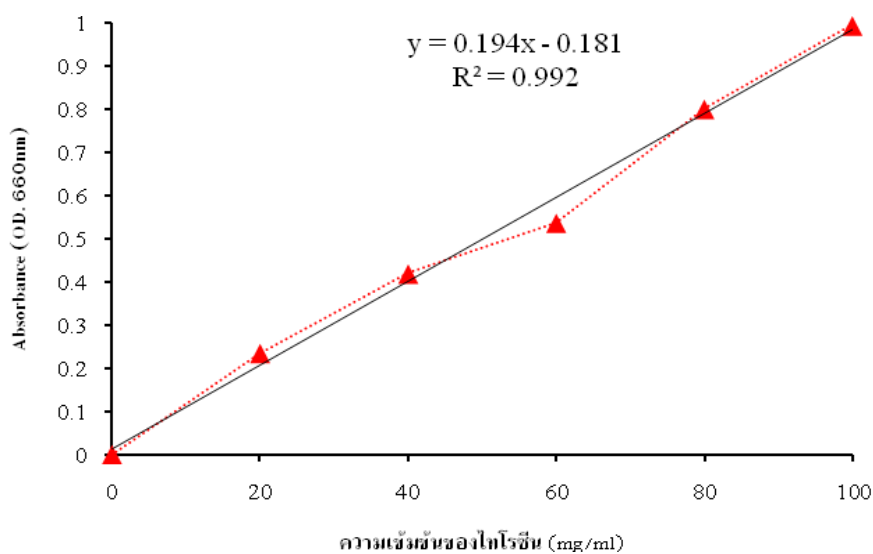
5.2.6 ทำแบลนด์ (blank) โดยใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายเอนไซม์ ทำการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 4

5.2.7 ทำกราฟมาตรฐานไทโรซีนความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เขียนกราฟระหว่างค่า OD660 และความเข้มข้นของไทโรซีน เพื่อนำไปคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์

5.3 การคำนวณ

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (enzyme activity)} = \frac{\text{ค่า OD} \times \text{ปริมาตรทั้งหมด} \times \text{ความเจือจาง}}{\text{สไลซ์ของกราฟมาตรฐาน} \times \text{เวลา}}$$

1 หน่วยเอนไซม์ (enzyme unit) หมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสลายเคซีนได้ไทโรซีน 1 ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง



ภาพ 13 กราฟมาตรฐานของไทโรซีน

ตาราง 11 ความสามารถของเอนไซม์เปปซินในการย่อยสลายเคซีน เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

blank (pH2.0)	OD. 660nm	-B	/slope	Ug/ml
1.383	1.554	0.171	1.062	4.250
	1.602	0.219	1.310	5.239
	1.591	0.208	1.253	5.013
				4.834

ตาราง 12 ความสามารถของเอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายเคซีน เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

blank (pH6.2)	OD. 660nm	-B	/slope	Ug/ml
1.366	1.777	0.411	2.300	9.198
	1.86	0.494	2.727	10.910
	1.807	0.441	2.454	9.817
				9.934

ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตาราง 13 การวิเคราะห์ทางสถิติของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจาก
เศษเหลือส่วนเครื่องในปลาทับทิม ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน

		SS	df	MS	F	Sig.
%ENZYME	Between Groups	.969	9	.042	.809	.681
	Within Groups	.156	17	.052		
	Total	1.125	26			
TEMP	Between Groups	70.329	9	35.165	3.710	.039
	Within Groups	227.453	17	9.477		
	Total	297.782	26			
TIME	Between Groups	7648.170	9	3824.085	420.682	.000
	Within Groups	218.165	17	9.090		
	Total	7866.335	26			

หมายเหตุ: แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตาราง 14 การวิเคราะห์ทางสถิติของระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซทจาก
เศษเหลือส่วนเครื่องในปลาทับทิมที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน

		SS	df	MS	F	Sig.
%ENZYME	Between Groups	.539	9	.060	1.735	.157
	Within Groups	.586	17	.034		
	Total	1.125	26			
TEMP	Between Groups	561.000	9	62.333	12.180	.000
	Within Groups	87.000	17	5.118		
	Total	648.000	26			
TIME	Between Groups	5205.000	9	578.333	.894	.550
	Within Groups	10995.000	17	646.765		
	Total	16200.000	26			

หมายเหตุ: แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตาราง 15 การวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตผงจาก
เศษเหลือส่วนเครื่องในปลาหับทิมเทียบกับเปปโตนทางการค้า

Test Value = 0						
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
%protein	278.471	1	.002	94.68000	90.3599	99.0001
%lipid	10.333	1	.061	.15500	-.0356	.3456
%ash	5.886	1	.107	4.12000	-4.7743	13.0143

หมายเหตุ: แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตาราง 16 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเซตผงจากเศษเหลือส่วน
เครื่องในปลาหับทิมเทียบกับเปปโตนทางการค้า

Test Value = 0						
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
L	9.932	1	.064	70.52000	-19.6941	160.7341
a	1.416	1	.392	1.26000	-10.0485	12.5685
b	28.902	1	.022	23.55500	13.1994	33.9106

หมายเหตุ: แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตาราง 17 การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้เทียบกับเปปโตนทางการค้า

Test Value = 0						
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
<i>E.coli</i>	29.933	1	.021	22.45000	12.9203	31.9797
<i>S.aureus</i>	7.280	1	.087	57.15000	-42.5937	156.8937
<i>B.subtilis</i>	1.670	1	.343	48.85000	-322.8065	420.5065

หมายเหตุ: แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – ชื่อสกุล พริยา ไวกษ
วัน เดือน ปี เกิด 31 สิงหาคม 2529
ที่อยู่ปัจจุบัน 48/1 หมู่ 1 ตำบลหัวถนน อำเภอคลองขลุง จังหวัดกำแพงเพชร
62120

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2547 วท.บ. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

ผลงานตีพิมพ์

- พริยา ไวกษ, ปวีณา น้อยทัพ, ไอรศ รักชาติ และ เจริญทอง สิงห์จานุสงค์. (2554).
โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือปลา: สภาวะการย่อยเครื่องในปลาทับทิม
(*Tilapia nilotica*) โดยเอนไซม์ปาเปน. ใน Proceeding การประชุมวิชาการ
วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 3: การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 3
(14-15 มีนาคม 2554, หน้า 162-166). พิษณุโลก: คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- พริยา ไวกษ, ไอรศ รักชาติ, เจริญทอง สิงห์จานุสงค์ และ ปวีณา น้อยทัพ. (2554).
สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเครื่องในปลาทับทิมด้วยเปปซินและปาเปนเพื่อ
ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ “นเรศวร
**วิจัย” ครั้งที่ 7: “นเรศวรวิจัย” ครั้งที่ 7 “ก้าวสู่ทศวรรษที่ 3 : มุ่งมั่น
งานวิจัย พัฒนาชาติไทยให้ยั่งยืน”** (29 - 30 กรกฎาคม 2554, หน้า 618-
625). พิษณุโลก: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- พริยา ไวกษ, ไอรศ รักชาติ, เจริญทอง สิงห์จานุสงค์ และ ปวีณา น้อยทัพ. (2554).
โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือปลา: สภาวะการย่อยเครื่องในปลาทับทิม
(*Oreochromis niloticus*) โดยเอนไซม์ปาเปน. **วารสารวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร**, 8(1), 101-108.