



บทที่ 1

บทนำ

น้ำปลาเป็นสารปรุงรสที่ใช้กันแพร่หลายในประเทศแถบเอเชียอาคเนย์ นอกจากเพิ่มรสเค็มให้แก่อาหารแล้ว ยังมีสารอาหารอื่น ๆ อีกมาก เช่น กรดอะมิโน วิตามินและเกลือแร่ การทำน้ำปลาตามวิธีดั้งเดิมที่ได้ปฏิบัติกันมานั้น ได้แก่ การนำปลาซึ่งมักเป็นปลาทะเลเช่น ปลาไส้ตัน (*Stolephorus* sp.) ปลากะตัก (*Clupeoides* sp.) ปลาชิวแก้ว (*Corica* sp.) ปลาหลังเขียว (*Sardinella* sp.) ปลาอกแล (*Dussumieria* sp.) ปลาทรายแดง (*Nemipterus* sp.) หรือปลาน้ำจืด เช่น ปลาสร้อย (*Cirrhinia* sp.) มาผสมกับเกลือในอัตราส่วน ปลา:เกลือ 2:1 หรือ 3:1 โดยน้ำหนัก จะมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อปลาโดยมีเอนไซม์ในตัวปลาและแบคทีเรียจากตัวปลา ย่อยให้เนื้อปลากลายเป็นของเหลวสีน้ำตาลและมีกลิ่นซึ่งประกอบด้วยกลิ่นของกรดไขมัน เอมีน แอมโมเนีย คีโตนและกรดคีโต เกลือที่ใช้ในการหมักน้ำปลาจะไปทำลายแบคทีเรียไม่ชอบเค็มบางชนิดที่ จะไปทำให้กลิ่นและรสของน้ำปลาเสียไป และขณะเดียวกันก็จะทำให้เอนไซม์ในทางเดินอาหารของปลา ซึ่งเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีนของเนื้อปลาทำงานช้าลง 30 เปอร์เซ็นต์ (ประเสริฐ สาขสิทธิ์, 2511) จึงทำให้เวลาการเกิดน้ำปลาโดยสมบูรณ์ยาวนานถึง 12-18 เดือน (อานวย โชติญาวัฒน์ และคนอื่นๆ, 2526)

สภาวะภายในบ่อหมักน้ำปลาจะมีสภาพที่มีออกซิเจนต่ำ (micro - aerobic condition) เนื่องจากการทับถมของปลา เกลือและของเหลวที่ออกจากตัวปลา ในปี 2529 กฤษดา พบว่าในช่วง 5 วันแรกชนิดของแบคทีเรียที่พบจะเป็นแบคทีเรียชนิดทนเค็ม (haloduric bacteria) หมายถึงแบคทีเรียที่ไม่ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์สำหรับการเจริญ แต่อาจเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่า และชนิดชอบเค็มปานกลาง (moderately halophilic bacteria) ซึ่งเจริญในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3-15 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. และแบคทีเรียกลุ่ม *Coryneform* ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก ที่ใช้ออกซิเจน (aerobic) เคลื่อนที่ไม่ได้และมีลักษณะเป็นแท่ง ในระหว่างการเจริญตามปกติจะมีรูปร่างหลายแบบ เช่น มีรูปร่างเป็นตัววี (V-shaped), มีรูปร่างกระบอก (club-shaped) และมีรูปร่างไม่แน่นอน (irregular-shaped) ตัวอย่างเช่น *Arthrobacter* sp. แบคทีเรียเหล่านี้จะลดจำนวนลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่ 11 วัน หลังจากการหมักปลา (Thongthai, 1978; สารวัจน

ประเสริฐศิริวัฒน์, 2531) ในขณะเดียวกันภายใน 5-15 วันแรก จะพบแบคทีเรียชนิดชอบเค็มสูง (extremely halophilic bacteria) ซึ่งหมายถึง แบคทีเรียที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (Gibbons, 1957) ได้แก่ Halobacterium spp. และ Halococcus sp. ซึ่งจะเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ ในระหว่าง 20-50 วันหลังการหมัก จากนั้นจะเริ่มลดจำนวนจนกระทั่ง 165 วันหลังการหมักจึงไม่พบอีก (สารวัจน ประเสริฐศิริวัฒน์, 2531) แบคทีเรียกลุ่มหลังนี้ คาดว่ามีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักน้ำปลา (กฤษดา สมิตะศิริ, 2529) จากข้อมูลเหล่านี้จะเห็นว่าเป็นไปได้ที่จะผลิตเซลล์ของแบคทีเรียชอบเค็มสูงที่สร้างโปรตีนแล้วไปใส่ลงในถังหมัก เพื่อย่นระยะเวลาการหมัก

การย่นระยะเวลาในการทำน้ำปลาให้สั้นลงโดยการเติมแบคทีเรียชอบเค็มสูงที่สร้างโปรตีน เพื่อช่วยการย่อยสลายเนื้อปลาในการหมักปลา มีข้อดีกว่าใช้วิธีการอื่น ๆ ดังนี้

1. การย่อยสลายเนื้อปลาด้วยกรด วิธีนี้จะลดคุณค่าทางอาหารโดยกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ทริพโตเฟน (Tryptophan) จะถูกทำลายไป (Varavijja, Markol and Subhanka, 1957)
2. การย่อยสลายเนื้อปลาด้วยด่าง วิธีนี้ทริพโตเฟนไม่ถูกทำลาย แต่การย่อยสลายจะไม่สมบูรณ์ถึงขั้นได้กรดอะมิโนออกมาทั้งหมด และกลิ่นไม่ดีเท่ากับการย่อยด้วยกรด (Hall, 1946)
3. การย่อยสลายเนื้อปลาด้วยเอนไซม์ (enzymes) เป็นที่นิยมศึกษามาก (Ooshiro, Ok, Une, Hayashi, and Itakura 1981; Reiji, Sato, Tsuchiya and Ikeda, 1983) แต่ยังมีปัญหาด้านการเตรียมเอนไซม์ และต้นทุนการผลิต

งานวิจัยนี้จะเริ่มจากการคัดเลือกแบคทีเรียชอบเค็มสูงจากถังหมักน้ำปลา เพื่อหาเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีนได้ และศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้เพื่อผลิตเอนไซม์โปรตีนที่มีแอกติวิตีสูง เพื่อเป็นแนวทางการผลิตแบคทีเรียประเภทนี้ในจำนวนมากสำหรับใส่ลงในถังหมักน้ำปลา เพื่อย่นระยะเวลาการหมักน้ำปลาและน้ำปลาที่ได้ยังคงมีคุณภาพคงเดิม

### วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียชอบเค็มที่ผลิตเอนไซม์โปรตีนจากถังหมักน้ำปลา โดยทดสอบความสามารถในการย่อยเจลาติน (gelatin) หรือเคซีน (casein) ที่ผสมอยู่ในอาหารวัน

2. หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว เพื่อให้แบคทีเรียที่แยกได้ในข้อ 1 เจริญและเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตเอนไซม์โปรติเอส
3. ศึกษาอนุกรมวิธานของแบคทีเรียที่ชอบเค็มสูงสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้