

การแยกโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยแอลคาไลน์โปรติเอสเพื่อใช้เป็นอาหารปลา



นายกฤษฎา วสันต์ธนารัตน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ

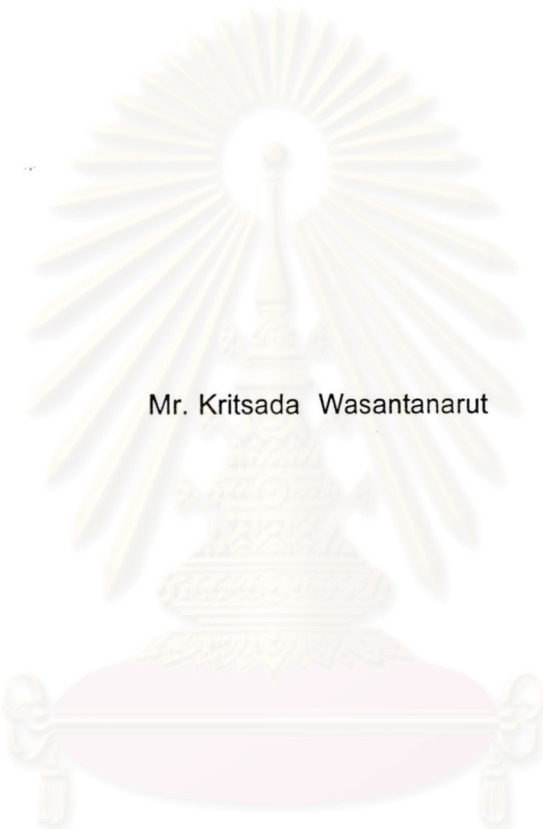
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2901-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PROTEIN REMOVAL FROM CHROME - CONTAINING LEATHER WASTE BY
ALKALINE PROTEASE FOR FISH NUTRITION



Mr. Kritsada Wasantanarut

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the degree of Master of Science in Biotechnology

Program of Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2901-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การแยกโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยแอลคาไลน์
โปรติเอสเพื่อใช้เป็นอาหารปลา

โดย

นายกฤษฎา วสันต์ธนารัตน์

สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางชีวภาพ


อาจารย์ที่ปรึกษา

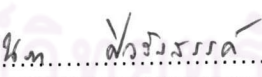
รองศาสตราจารย์ นภา ศิวรังสรรค์

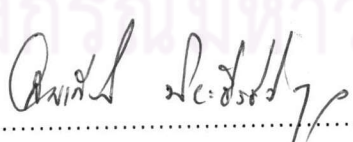
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

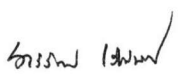

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย โพธิ์พิจริต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ นภา ศิวรังสรรค์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิตีวรกุล)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

กฤษฎา วสันต์ธนารัตน์ : การแยกโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมด้วยแอลคาไลน์โปรตีเอส
เพื่อใช้เป็นอาหารปลา. (PROTEIN REMOVAL FROM CHROME - CONTAINING
LEATHER WASTE BY ALKALINE PROTEASE FOR FISH NUTRITION)

อ.ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์นภา ศิวรังสรรค์ , 144 หน้า, ISBN 974-17-2901-4

Bacillus subtilis TISTR 25 สามารถผลิตแอลคาไลน์โปรตีเอสได้ในปริมาณสูงเมื่อเลี้ยงในขวดเขย่า
โดยใช้สูตรอาหารที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.1 % (w/v) , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 % (w/v) , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001 %
(w/v) กลูโคส 0.5 % (w/v) และ ที่มี yeast extract 0.3% ไนโตรเจน ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ
เป็น 7.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 rpm เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเท่ากับ 14.64
ยูนิตต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมโดยใช้แอลคาไลน์โปรตีเอสที่ผลิตโดยเชื้อ
Bacillus subtilis TISTR 25 คือ ต้มเศษหนังที่อุณหภูมิ 71 °C โดยเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 6.5 % (w/v) เพื่อ
ปรับให้มี pH 10.5 เวลาที่เหมาะสมในการย่อย คือ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 45 °C และปริมาณแอกติวิตีของแอลคา
ไลนโปรตีเอสที่ใช้ คือ 10 ยูนิต ต่อน้ำหนักหนัง 2.5 กรัม น้ำที่เหมาะสมในการทดลองในการต้มหนัง คือ น้ำ
ประปา ปริมาณ 15 เท่าของน้ำหนักหนัง วิธีการที่เหมาะสมในการทำให้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตแห้งคือ
การอบแห้ง ไม่พบเชื้อที่ทำให้เกิดโรค ปากและเท้าเปื่อย, แอนแทรกซ์ และไม่พบ *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*
และ *E. coli* ในเศษหนังฟอกโครมและโปรตีนผงแห้ง

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสตไปแทนที่ปลาป่นในอาหารปลาดุกผสมในระดับ 0%, 25%, 50% และ
70% (w/w) พบว่าหลังจากนำอาหาร 4 สูตรนี้ไปเลี้ยงปลาดุกผสมขนาดเริ่มต้น 40 กรัม ได้ผลการทดลอง คือ
น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน) อัตราการรอด และอัตราแลกเนื้อ มีค่า
ทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยระดับโปรตีนที่เหมาะสมในการแทนที่ปลาป่นอยู่ในช่วง
25-50 % (w/w)

ภาควิชา.....หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....กฤษฎา.....วสันต์ธนารัตน์.....
สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางชีวภาพ.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....น.พ. อ.น.ร.ส.ร.ค......
ปีการศึกษา..... 2545.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4272209023 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORD : CHROME SHAVING/ PROTEASE/ PROTEIN

KRITSADA WASANTANARUT: PROTEIN REMOVAL FROM CHROME -
CONTAINING LEATHER WASTE BY ALKALINE PROTEASE FOR FISH
NUTRITION. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NAPA SIWARUNGSON,
144 pp. ISBN 974-17-2901-4

Bacillus subtilis TISTR 25 can produce high amount of alkaline protease in shaking flask. Culture media contained KH_2PO_4 0.1 % (w/v) , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 % (w/v) , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001 % (w/v), glucose 0.5 % (w/v) and yeast extract with nitrogen content 0.3% (w/v) initial pH at 7.0, temperature at 37 °C and agitation speed of 250 rpm. The highest amount of alkaline protease produced was 14.64 Unit/mg protein at 36 hours.

The optimal condition for protein hydrolyzate removal from chrome shavings by alkaline protease from *Bacillus subtilis* TISTR 25 were pretreated at a temperature 71 °C and pH 10.5 adjusted by adding 6.5% (w/v) calcium hydroxide, then performing enzyme hydrolysis with 10 unit enzyme per 2.5 g shaving weight in tap water 15 fold of shaving weight. The protein hydrolyzate was oven-dried. There were no microorganisms causing Foot and Mouth disease or Anthrax, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. and *E. coli* detected in chrome shavings and protein hydrolyzate.

The hydrolyzate protein was used in replacement of fishmeal in fish feed for hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) at the inclusion levels of 0, 25, 50 and 75% (w/w) respectively. Four diets treatments on hybrid catfish (40 g) were experimented. The results showed weight gain, specific growth rate, survival rate and feed conversion rate were not significant difference at $p > 0.05$. The optimum protein level for replacing fishmeal was in the range of 25-50% (w/w).

Programme.....Biotechnology.....Student's signature.....*Kritsada Wasantanarut*...
Field of study.....Biotechnology.....Advisor's signature.....*Napa Siwarungson*...
Academic year.....2002.....Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์นภา ศิวรังสรรค์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา คอยให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ทั้งด้านงานวิจัย และด้านอื่นๆ ตลอดระยะเวลาในการทำงานวิจัย ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีระธิตีวรกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมี ที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากรทุกท่านในภาควิชาชีวเคมีที่ให้ความช่วยเหลือและความสะดวกในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณบริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์ จำกัด ดร.ชวลิต อรชุนวงศ์ พี่สมนึก วิสุทธิพงศ์ถาวร และพี่ๆ ที่บริษัทที่กรุณาให้ใช้สถานที่ในการวิจัย และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน จนทำให้การวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณบริษัทโกวาอินดัสเตรียลอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด และห้างหุ้นส่วนโกวาอินดัสเตรียล จำกัด ที่ให้ reactor สำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตในระดับ 130 ลิตรและเอื้อเฟื้อสถานที่ที่ใช้ทำการทดลอง

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับทุนอุดหนุนการวิจัย

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำหรับความอนุเคราะห์ด้านทุนอุดหนุนการวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในภาควิชาชีวเคมี และหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะพี่น้อง พี่เปี้ยก พี่ตุ้ม อังคาร น้องโบว์ น้องก๊อฟ ฯลฯ ที่ช่วยให้กำลังใจ กำลังกาย รวมทั้งความสนุกสนานตลอดมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ ซึ่งล่วงลับไปแล้ว คุณแม่ที่คอยเลี้ยงดูด้วยความเอาใจใส่ คอยเป็นกำลังใจ เป็นตัวอย่างในการทำความดี ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ ความเข้าใจ ทั้งกำลังกาย กำลังทรัพย์และความรัก ขอขอบคุณพี่ชาย และน้องสาว ที่คอยให้กำลังใจ และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำย่อ.....	ฒ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. ครุภัณฑ์และเคมีภัณฑ์	
2.1 ครุภัณฑ์.....	38
2.2 เคมีภัณฑ์.....	40
2.3 วัสดุดิบที่ใช้ในการทดลอง.....	41
2.4 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง.....	41
2.5 ปลาที่ใช้ในการทดลอง.....	41
3. วิธีการทดลอง	
3.1 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง.....	42
3.2 การเตรียมเชื้อตั้งต้น (Starter inoculum).....	42
3.3 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตแอลกอฮอล์.....	43

ในระดับขวดเขย่า

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3.4 การวิเคราะห์.....	43
3.5 การเตรียมแอลคาไลน์โปรตีนเอสในรูปแบบโดยวิธีการระเหิดแห้ง (Lyophilization).....	44
3.6 การเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่ง.....	45
3.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนออกจากเศษหนึ่งโดย การย่อยสลายด้วยเอนไซม์.....	49
3.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสต ได้แก่ pH และปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยใช้วิธี (ASTM D 4906-95)	50
3.9 ทำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตให้เป็นผงแห้ง.....	51
3.10 ตรวจสอบเชื้อที่ทำให้เกิดโรคปากและเท้าเปื่อย, แอนแทรกซ์และเชื้อ <i>Salmonella sp.</i> , <i>Shigella sp.</i> และ <i>E. coli</i> ในเศษหนึ่งฟอกโครมและ โปรตีนผงแห้ง.....	53
3.11 วิเคราะห์สัดส่วนกรดอะมิโนแต่ละชนิด (Amino acid composition).....	53
3.12 นำโปรตีนผงแห้งที่ได้ขึ้นรูปเป็นอาหารเม็ดตามสูตรที่เหมาะสมจำนวน 4 สูตร.....	53
4. ผลการทดลอง	
4.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตแอลคาไลน์โปรตีนเอส ในระดับขวดเขย่า.....	61
4.2 การเตรียมแอลคาไลน์โปรตีนเอสให้บริสุทธิ์บางส่วน.....	65

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
1.1 การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีของเศษหนึ่ง.....	66
1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเศษหนึ่งด้วยแอลคาไลโปรติเอส.....	68
1.3 ผลการตรวจหาเชื้อ ปากและเท้าเปื่อย, แอนแทรกซ์, <i>Salmonella sp.</i> , <i>Shigella sp.</i> และ <i>E. coli</i> ในเศษหนึ่งพอกโครมและโปรตีนผงแห้ง.....	87
1.4 กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของผงโปรตีน.....	87
1.5 การผลิตอาหารปลา และการทดลองเลี้ยงปลาดุกลูกผสม.....	89
5. วิจัยรณัผลการทดลอง.....	100
สรุปลการทดลอง.....	106
รายการอ้างอิง.....	108
ภาคผนวก.....	121
ภาคผนวก ก.....	121
ภาคผนวก ข.....	124
ภาคผนวก ค.....	126
ภาคผนวก ง.....	128
ภาคผนวก จ.....	131
ภาคผนวก ฉ.....	133
ภาคผนวก ช.....	137
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	144

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณกากของเสียจากขั้นตอนต่าง ๆ ในกระบวนการฟอกหนัง (กิโลกรัมต่อ 1,000 กิโลกรัม หนังดิบหมักเกลือ)	9
2. กรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acid) สำหรับสัตว์.....	12
3. ข้อแตกต่างระหว่างปลาดุกอุยและปลาดุกเทศ.....	19
4. ส่วนประกอบ (% ของนน.แห้ง) ของอาหารที่ใช้ในการทดลอง.....	54
5. ชนิดและปริมาณของวิตามินและแร่ธาตุที่ใช้ในการทดลอง.....	55
6. กรดอะมิโนที่จำเป็นชนิดต่าง ๆ คิดเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้งในอาหารแต่ละสูตร.....	56
7. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ) ของน้ำหนักแห้งอาหารทดลอง แต่ละสูตร.....	57
8. องค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังจากขั้นตอนการชุดบาง.....	67
9. ปริมาณ chrome cake และ pH ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสต เมื่อแปรผันปริมาณการใช้แอลคาไลน์โปรติเอส.....	69
10. ปริมาณ chrome cake เมื่อแปรผันแอกติวิตีของเอนไซม์ในช่วง 0-60 unit.....	70
11. น้ำหนัก (กรัม) และความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จาก การระเหยแห้ง (spray dry) และการอบแห้ง.....	74
12. ปริมาณ chrome cake เมื่อแปรผันปริมาณน้ำในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ในน้ำกลั่นและน้ำประปา (10, 15 และ 20 เท่า (w/v))	78

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่

หน้า

13. ปริมาณผลผลิต chrome cake, pH และปริมาณผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตเมื่อ ทดลองย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในหม้อต้มขนาด 20 (หนึ่งจำนวน 1 กิโลกรัม ต่อน้ำประปา 15 ลิตร) และ 130 ลิตร (หนึ่ง 8 กิโลกรัมต่อน้ำประปา 120 ลิตร).....	80
14. องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตเมื่อต้มใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร, หม้อต้มขนาด 20 และ 130 ลิตร.....	82
15. องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตเมื่อต้มใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร, หม้อต้มขนาด 20 และ 130 ลิตรแล้วทำแห้ง โดยวิธีการอบแห้ง.....	84
16. กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเสต.....	88
17. น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม) ตลอดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีน ผงแห้งแตกต่างกัน.....	91
18. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน) ของปลาที่ได้รับอาหารที่มี ระดับโปรตีนผงแห้งแตกต่างกัน.....	93
19. ผลของอิทธิพลอาหารต่ออัตราการรอด (SR) อัตราแลกเนื้อ (FCR) ของ ปลาทดลองที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนผงแห้งแตกต่างกัน.....	95
20. ต้นทุนของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต.....	98

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

1. เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในอาหารที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.1 % (w/v), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 % (w/v), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001 % (w/v) และกลูโคส 0.5 % (w/v) ทำการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจน โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่ได้จากน้ำเต้าหู้และ yeast extract และทำการแปรผันเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังนี้คือ 0.1%, 0.3% และ 0.5% ไนโตรเจน ปรับค่าความเป็นกรด-ต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 rpm.....62
2. เปรียบเทียบแอกติวิตีจำเพาะของแอลคาไลน์โปรติเอสที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในอาหารที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.1 % (w/v), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 % (w/v), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001 % (w/v) และกลูโคส 0.5 % (w/v) ทำการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจน โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่ได้จากน้ำเต้าหู้และ yeast extract และทำการแปรผันเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังนี้คือ 0.1%, 0.3% และ 0.5% ไนโตรเจน ปรับค่าความเป็นกรด-ต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 rpm.....63

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

3. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในอาหารที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.1 % (w/v), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 % (w/v), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001 % (w/v) และกลูโคส 0.5 % (w/v) ทำการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจน โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่ได้จากน้ำเต้าหู้ และ yeast extract และทำการแปรผันเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังนี้คือ 0.1%, 0.3% และ 0.5% ไนโตรเจน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็น 7.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 rpm.....64
4. แอลคาไลน์โปรตีนเอสที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25.....65
5. เศษหนังฟอกโครมจากขั้นตอนการชุบบาง.....66
6. สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการทดลองใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร.....72
7. ตะกอน chrome cake ที่กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์หนึ่ง.....72
8. ขนาดอนุภาค chrome cake ที่ได้จากกลุ่มที่ใช้เอนไซม์.....73
9. ขนาดอนุภาค chrome cake ที่ได้จากกลุ่มที่ไม่ใช้เอนไซม์.....73
10. แสดงลักษณะโปรตีนผงแห้งที่ได้จากการอบแห้งเทียบกับการระเหยแห้ง.....75
11. โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ทำให้แห้งโดยวิธีระเหยแห้ง (spray dry)ตรวจสอบด้วย เครื่องสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโคป.....76
12. โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ทำให้แห้งโดยวิธีอบแห้งตรวจสอบด้วย เครื่องสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโคป.....76
13. สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการทดลองในหม้อต้มขนาด 20 ลิตร.....85

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14. สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตในชุดทดลองที่ใช้แอลคาไลน์โปรตีนเอส (กรองแล้ว).....	85
15. หม้อต้ม ขนาด 20 ลิตร.....	86
16. หม้อต้ม ขนาด 130 ลิตร	86
17a. แสดงน้ำหนักเพิ่ม (กรัม) ของปลา ตลอดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีระดับ โปรตีนผงแห้งแตกต่างกัน.....	91
17b. แสดงน้ำหนักเพิ่ม (กรัม) ของปลา ตลอดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีระดับ โปรตีนผงแห้งแตกต่างกัน.....	92
18a. แสดงอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน) ของปลาที่ได้รับอาหาร.....	93
ที่มีระดับโปรตีนผงแห้งแตกต่างกัน	
18b. แสดงอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน) ของปลาที่ได้รับอาหาร ที่มีระดับโปรตีนผงแห้งแตกต่างกัน.....	94
19. แสดงลักษณะของอาหารปลาที่ใช้ในการทดลอง.....	96
20. สถานที่ที่ใช้ในการทดลอง.....	96
21. ปลาอุกถูกผสมในบ่อที่ใช้ทดลอง.....	97

คำย่อ

°C	องศาเซลเซียส
g	กรัม
μmol	ไมโครโมล
μl	ไมโครลิตร
μg/ml	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
mg/ml	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
N	นอร์มอล
M	โมลาร์
ml	มิลลิลิตร
nm	นาโนเมตร
w/v	น้ำหนักต่อปริมาตร
v/v	ปริมาตรต่อปริมาตร
rpm	รอบต่อนาที
U/mg	ยูนิตต่อมิลลิกรัม
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
%	เปอร์เซ็นต์
MFB	น้ำหนักปราศจากความชื้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย