เอกสารอ้างอิง

1. Cramptom, E.W., and L.E. Harris, Applied Animal Nutrition, pp. 217-218, W.H. Freeman and Company, San Francisco, 2nd ed., 1968.

2. Chervan, M., and W.D. Desslie, "Protein Hydrolysis," U.S. Pat 4,443,540, April 17, 1984.

3. มะลิ บุญยรัตผลิน, อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ, หน้า 1-55, สำนักพิมพ์ช่องนนทรี, พิมพ์ครั้งที่ 1, 2531.

4. รัตนา จิระรัตนานนท์, การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพ การใช้ประโยชน์จากของเหลือใช้จากโรงงานฆ่าสัตว์ (เลือดวัว/ควาย) รวมทั้งความต้องการในงานวิจัยและพัฒนาในประเทศไทย, หน้า 1-18, ศูนย์พันธุวิศวกรรมศาสตร์, 2528.

5. Danishefasky, I., Biochemistry for Medical Sciences, pp. 465-480, Little, Brown and Company, Boston, 1st ed., 1980.

6. กำจร มนุญปิจุ, ชีววิทยา เล่ม 1, หน้า 262-272, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , กรุงเทพมหานคร, 2523.

7. Tybor, P.T., C.W. Dill, and W.A. Landmann, "Functional Properties of Proteins Isolated from Bovine Blood by a Continuous Pilot Process," J. Food Sci., 40, 155-159, 1975.

8. Aker, M.J.,"Utilization of Blood ," Food Manufacture , 12, 31-32, 1973.

9. Christensen, V.H., " Method for Preparing a Food Material from Blood," U.S. Pat 4,262,022, April 14, 1981.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. Sato, Y,, S. Hayakawa , and M. Hayakawa , " Preparation of Blood Globin through Carboxymethyl Cellulose Chromatography ," J. Fd. Technol. , 16, 81-91 , 1981.

11. Marshall, K.R., Physico-Chemical Seperation S.2-Ultrafiltration and Reverse Osmosis, Treating Food Wastes For Profit, pp. 1-20, The Australian Academy of Technological Sciences, 1980.

12. Hill,R.L., "Hydrolysis of Proteins," Advances in Protein Chemistry, pp. 37-99, John Wiley and Son, New York, 1965.

13. Olcott, H.S., and Fraenkel H.C., " Acid Hydrolysis of Food Protein," J. Biol. Chem. , 171 , 583- 586 , 1947.

14. Vickery, H.H., " Protein Hydrolysation ," J. Biol. Chem. , 53,495, 1922 .

15. Nissen, A.J., " Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins," Process Biochemistry , 12(6) , 18-23 , 1977 .

16. Murray, T.K., and B.E. Baker, " Studies on Protein Hydrolysis. I.- Preliminary Observations on the Taste of Enzymic Protein - Hydrolysates," J. Sci. Food Agric. , 3 , 470-475 , 1952 .

17. Quaglia, G.B., and A. Massacci, "Proteolysates from Slaughterhouse Blood," J. Sci. Food Agric., 33, 634-638, 1982.

18. Chvapil,M.,and B.J.Ulreich,"Composition of Predigested Protein : Nutritionally and Economically Advantageous Method of By - Products Utilization," J. of. Nutrition , 110 (7), 1319-1326 , 1980 .

19. Albanese,A.A.,and A.R.Higgons,"Biological Value of an Enzymatic Digest of Bovine Plasma," J. Biol. Chem., 240, 281-291, 1951.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

20. Divakaran, S., " An *in vitro* Quality Evaluation of Slaughterhouse Byproduct Preserved by Pickling with Sulfuric Acid," Biological Wastes, 19, 281-286, 1987.

21. Divakaran,S.,"Comparative Cost Analysis of Processing Slaugterhouse Blood by Aciduration and Sun Drying," Biological Wastes , 23, 245-249, 1988.

22. Petchey, A.M., and J.B. Owen," A Comparison of Undried and Dried Fish-Protein Hydrolysate as a Protein Source for Calf Milk Replacers ," Animal Production , 28, 191-198, 1979.

23. Brooks,J., and P.W. Ratcliff, " Dried Bovine Plasma I.-Storage of Spray - dried Plasma and the Freeze-concentration of Liquid Plasma ," J. Sci. Food Agric., 10, 486-494, 1959.

24. Brooks,J., and P.W. Ratcliff, " Dried Bovine Plasma II.- The Storage of Freeze - Dried Plasma ," J. Sci. Food Argic. , 10 , 625-631 ,1959.

25. Deshimaru,O., and K.Shigeno,"Introduction to the Artificial Diet for Prawn *Penaeus japonicus*," Aquaculture , 10 , 115-133 , 1975.

26. พยุง ภัทรกุลชัย,"การศึกษาจากเอกสารเกี่ยวกับอาหารกุ้ง," รายงานปัญหาพิเศษ (AQUA 498) สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , หน้า 1-75 , 2530.

27. Danishefsky , I., Biochemistry for Medical Sciences , pp. 212-220 , Little Brown and Co., Boston , 1st ed. , 1980.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

28. Dominy, W.G., and H. Ako, " The Utilization of Blood Meal as a Protein Ingredient in The Diet of the Marine Shrimp *Penaeus vannamei*, Aquaculture, 70, 289-299, 1988.

29. Peeigserver, A.J., and H.F. Gaertner, " Covalent Attachment of Essential Amino Acids to Proteins by Chemical Methods : Nutritional and Functional Significance," American Chemical Society, 5, 149-165, 1982.

30. Scopes, R.K., " Protein Purification Principles and Practices," Solutions for Measuring Protein Concentration, pp. 305- Springer-Verlag, New York 2nd ed., 1987.

31. Hastings, W.H., " A Commercial Process for Water Stable Feeds," Feedstuffs, 43(47), 38, 1971.

32. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, pp. 152 , Association of Official Analytical Chemist, Washington D.C., 13th ed., 1980.

33. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม , " มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมวิธีวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา " มอก. 335 เล่ม 1-2523 , กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพมหานคร , 2523 .

34. บุญชัย กิจสัมฤทธิโรจน์ , หลักการใช้อาหารปลา-กุ้ง , เทคนิคและขั้นตอนในการผสมอาหารใช้เองในฟาร์ม , หน้า 110-115 , ศูนย์การผลิตตำราเพื่อชนบท , นนทบุรี , 2532 .

35. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม , " มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหารแห้งสำหรับอาหารสัตว์ " มอก. 275 - 2521 , กระทรวงอุตสาหกรรม , กรุงเทพมหานคร, 2521.

36. Fenema, O.R., " Amino acid , Peptides , and Proteins ," Food Chemistry , pp. 245-370, Marcel Dekker Inc., New York, 1985.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

37. Kearns, J.P., G.R. Huber, W.G. Dominy, D.W. Freeman, " Properties of Extrusion Cooked Shrimp Feed Containing Various Commercial Binders , " World Aquaculture Society 19 th Annual Conference and Exposition , pp.1-7, Waikiki Hawaii, 1988 .

38. Whitaker, J.R. " Enzyme Concentration and Its Effect on Rate of Enzyme - Catalyzed Reactions, " Principles of Enzymology for the Food Sciences , pp.211 - 232, Marcel Dekker Inc., New York , 1972 .

39. Keey, R.B., Drying Principles and Practices , pp. 306-321, Pergamon Press , Oxford , 1972.

40. Hanlon, J.F., Handbook of Package Engineering, pp.3.54-3.57, McGraw-Hill Book Co., New York , 1971.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีไบยูเรท (Biuret Reaction)

ตามวิธีของ Scopes (30)

ก.1.1 การเตรียมสารละลายไบยูเรท

ละลาย copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) 1.5 กรัม และ sodium potassium tartrate ($NaKC_4H_4O_6$) 6.0 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมสารละลาย sodium hydroxide เข้มข้น 10% 300 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ก.1.2 การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ชั่ง bovine serum albumin (BSA) 100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ได้สารละลาย 1.0% BSA

ก.1.3 การทำกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลาย 1.0% BSA ปริมาตรต่าง ๆ กันตามตารางที่ ก.1 เติมน้ำจนได้ปริมาตรของสารละลายโปรตีนเป็น 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด ได้กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ดังรูปที่ ก.1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

ชั่งสารตัวอย่าง 10 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร จากค่าการดูดกลืนแสงนำไปอ่านปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน (รูปที่ ก.1) แล้วคำนวณค่า DH จากสูตร

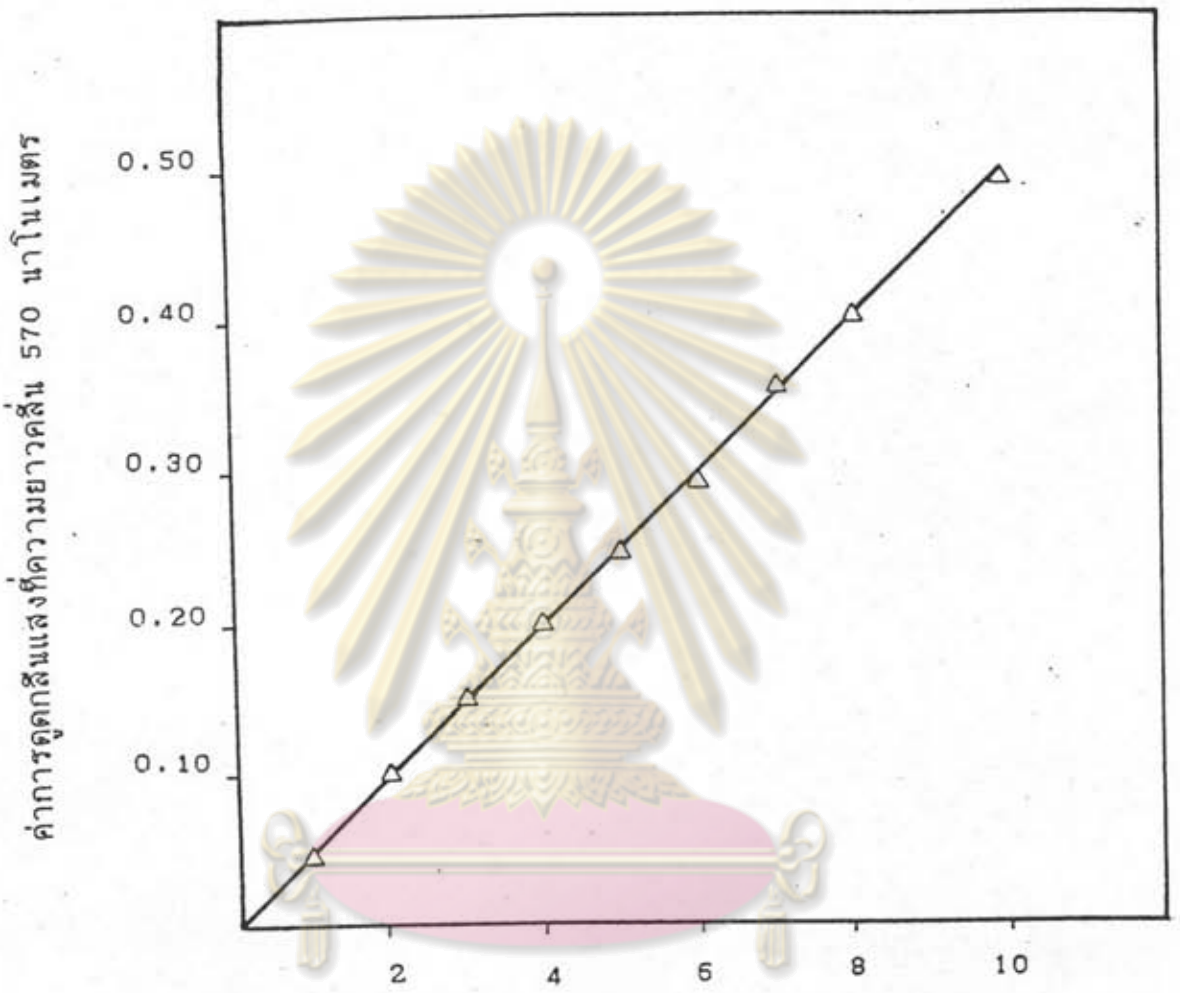
$$DH\ (\%) = \frac{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดสด} - \text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดที่ผ่านการย่อยสลาย}}{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดสด}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ก.1 การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีไบยูเรท

หลอดที่	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม)	1.0% BSA (มิลลิลิตร)	น้ำ (มิลลิลิตร)	สารละลายไบยูเรท (มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 570 nm
Blank	0.00	0.00	1.00	4.00	0.000
1	0.50	0.50	0.95	4.00	0.027
2	1.00	0.10	0.90	4.00	0.045
3	1.50	0.15	0.85	4.00	0.076
4	2.00	0.20	0.80	4.00	0.102
5	2.50	0.25	0.75	4.00	0.127
6	3.00	0.30	0.70	4.00	0.153
7	4.00	0.40	0.60	4.00	0.201
8	5.00	0.50	0.50	4.00	0.246
9	6.00	0.60	0.40	4.00	0.290
10	7.00	0.70	0.30	4.00	0.359
11	8.00	0.80	0.20	4.00	0.404
12	10.00	1.00	0.00	4.00	0.490

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีไบยูเรท

ก.2 การหาค่าความคงตัวของอาหารในน้ำ

ตามวิธีของ Hasting (31)

คัดเม็ดอาหารที่มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งให้ได้น้ำหนัก 5 กรัม (น้ำหนักเปียก) ใส่กล่องอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด วางในภาชนะพลาสติกซึ่งบรรจุน้ำ 2500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำขึ้นมาทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง นำออกมาใส่ใน desiccator ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณค่าความคงตัวของอาหารในน้ำตามสูตร

$$\text{ความคงตัวของอาหารในน้ำ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่เหลือบนตะแกรง}}{\text{น้ำหนักอาหารแห้งเริ่มต้น}} \times 100$$

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Coomassie Blue Binding

ตามวิธีของ Scopes (30)

ก.3.1 การเตรียมสารละลาย coomassie

ชั่ง coomassie brillant blue G 250 หนัก 100 มิลลิกรัม ละลายใน 95% ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร คนจนละลายหมด เติม 85% phosphoric acid 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.3.2 การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ชั่ง bovine serum albumin (BSA) หนัก 0.2500 กรัม ละลายในน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ได้สารละลาย 1.0% BSA ปิเปต 1.0% BSA 400 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นจนเป็น 10 มิลลิลิตร ได้สารละลาย 0.04% BSA

ก.3.3 การทำกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายโปรตีนมาตรฐาน 0.04% BSA ปริมาตรต่าง ๆ ตามตาราง ที่ ก.3 เติมน้ำจนได้ปริมาตรของสารละลายโปรตีนเป็น 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย coomassie 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด ได้กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ดังรูปที่ ก.3

ก.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

ชั่งสารตัวอย่าง 10 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายดังกล่าวมา 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย coomassie 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากค่าการดูดกลืนแสงนำไปอ่านปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน (รูปที่ ก.3) แล้วคำนวณค่า DH จากสูตร

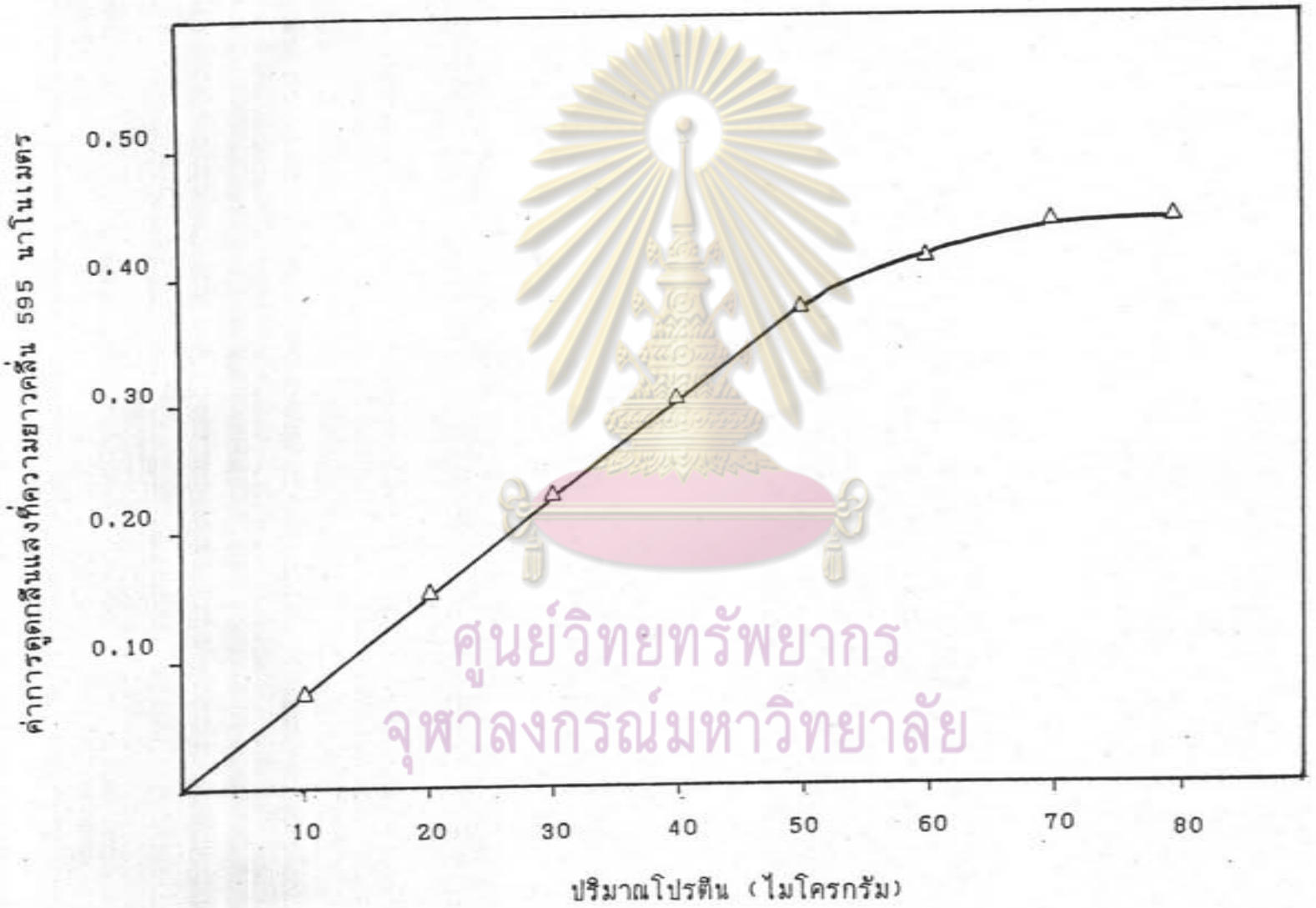
$$DH\ (\%) = \frac{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดสด} - \text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดที่ผ่านการย่อยสลาย}}{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดสด}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ก.3 การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี coomassie blue binding

หลอดที่	ปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัม)	0.04% BSA (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	สารละลาย coomassie (มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 595 nm
Blank	0	-	200	10.0	0.000
1	10	25	175	10.0	0.075
2	20	50	150	10.0	0.150
3	30	75	125	10.0	0.230
4	40	100	100	10.0	0.300
5	50	125	75	10.0	0.370
6	60	150	50	10.0	0.410
7	70	175	25	10.0	0.440
8	80	200	-	10.0	0.440

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี coomassie blue binding

ภาคผนวก ข

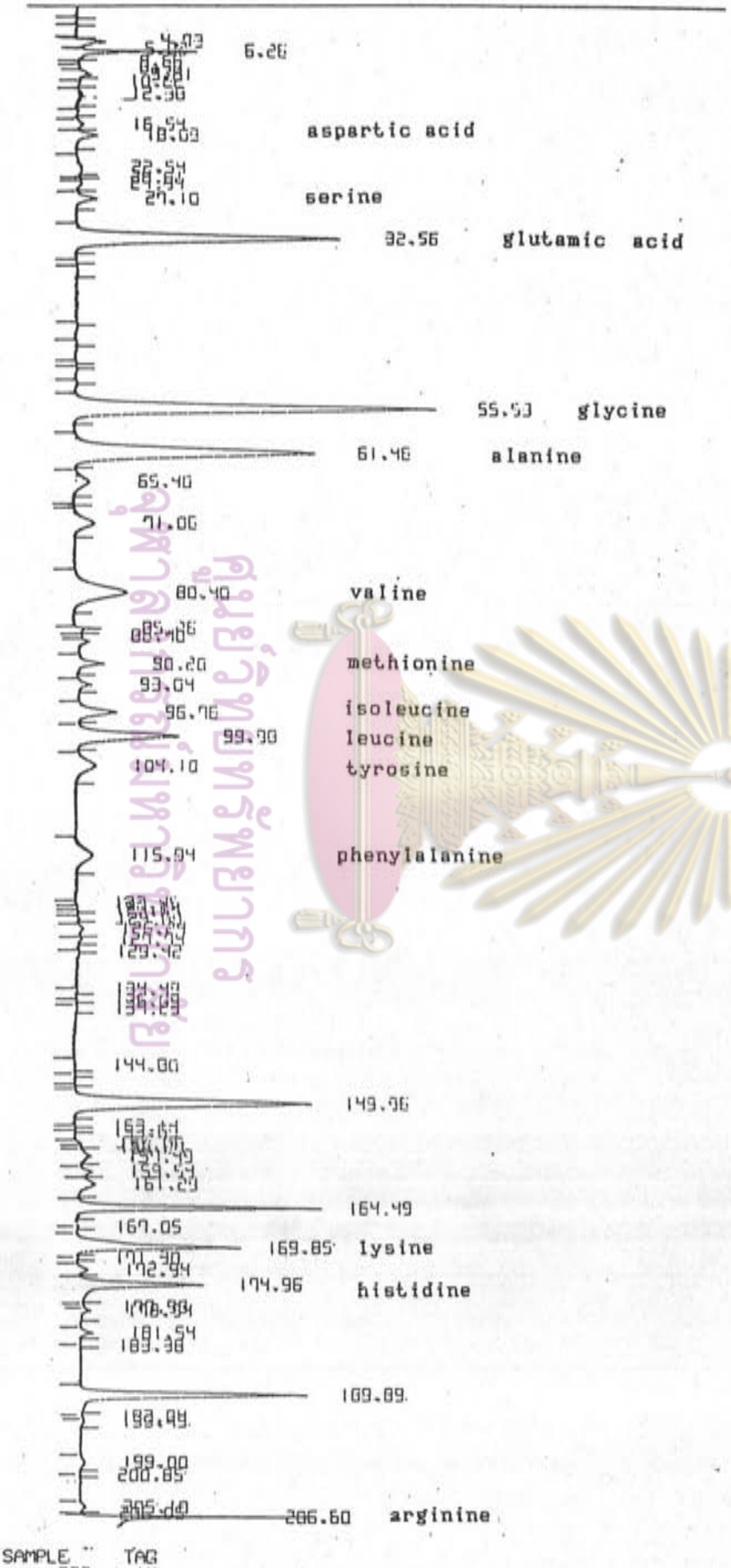
ข้อมูลเพิ่มเติม

ข.1 chromatogram แสดงปริมาณกรดอะมิโนของเลือดสด

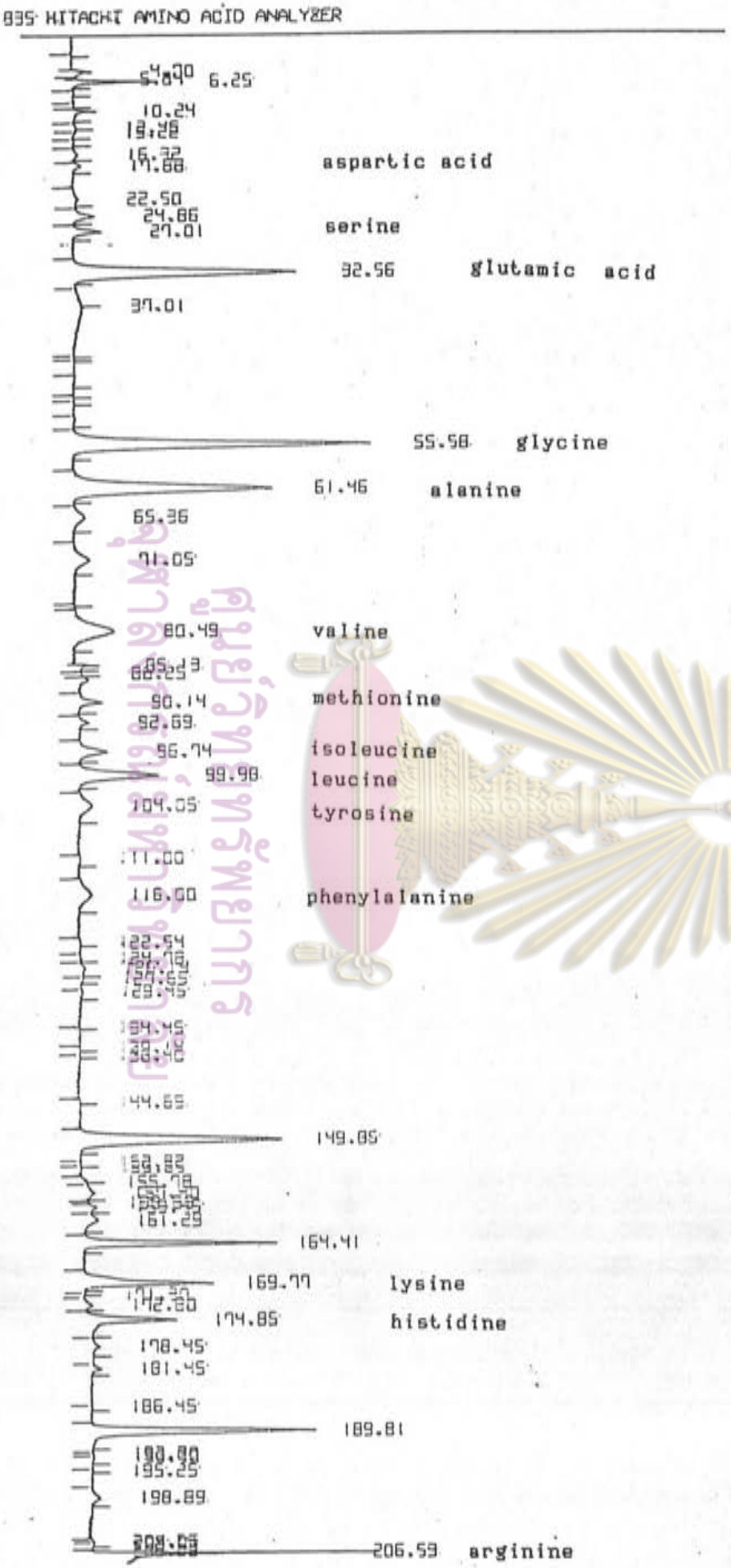
ข.2 chromatogram แสดงปริมาณกรดอะมิโนของเลือดที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกรด

ข.3 chromatogram แสดงปริมาณกรดอะมิโนของเลือดที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

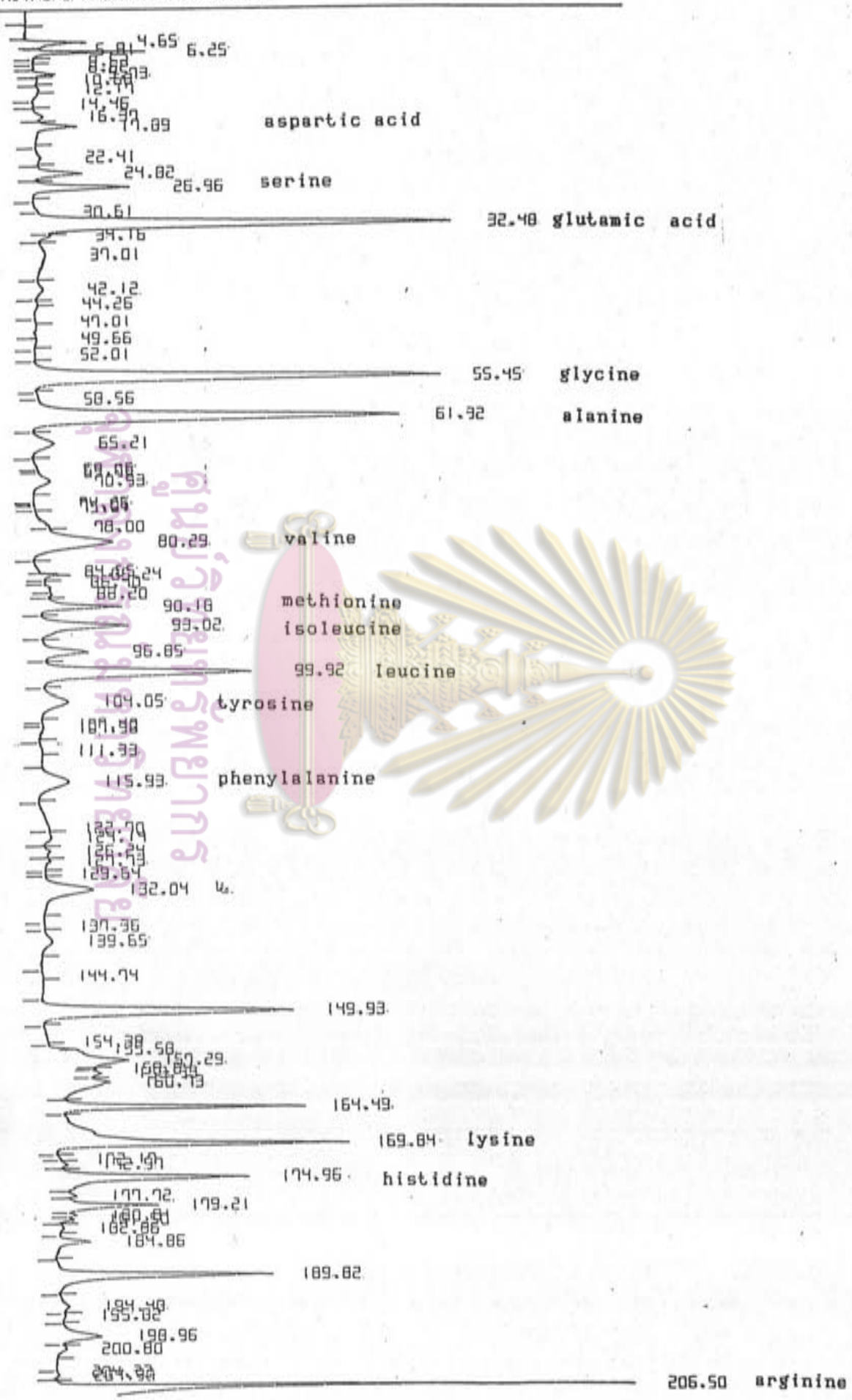


รูปที่ 3.1 chromatogram แสดงปริมาณกรดอะมิโนในน้ำเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 4.2 chromatogram แสดงปริมาณกรดอะมิโนในน้ำเลี้ยงเชื้อ

835 HITACHI AMINO ACID ANALYZER



รูปที่ 4.3 chromatogram แสดงปริมาณกรดอะมิโนในน้ำเลี้ยงเชื้อ

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเพ็ญศิริ ธำรงลักษณ์ เกิดวันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2509 ที่จังหวัดกรุงเทพ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย-ศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขต ประสานมิตร ในปีการศึกษา 2530 ได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาและวิจัย จากสำนักงานคณะกรรมการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (STDB)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย