

แบบสรุปผู้บริหาร  
(Executive Summary)

---

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

(Research and Development of Siamese Crocodile Blood as Food Supplement for Health)

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย (ปีที่ 2)

1) รศ.ดร.จินตาวรรณ สิริันทิเนติ

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3262

2) รศ.ดร.วิน เขยชมศรี

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264

3) รศ.ดร.อรุณพร อัฐรัตน์

ศูนย์การแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์ 02-9269749

4) ผศ.พิมลวรรณ อัครภิญญา (ทัพยาธิจารณ์)

ศูนย์การแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์ 02-9269749

5) ดร.สิรินดา กุสุมภ์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 02-564-4440 ต่อ 2550

6) ดร. สุดาวรรณ เขยชมศรี

ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

โทรศัพท์ 034- 351399, ต่อ 3650

7) นางสาวดวงจันทร์ เสงส์สวัสดิ์

ฝ่ายคั้นคว่ำและวิจัย สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 906

8) นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์

ฝ่ายคั้นคว่ำและวิจัย สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 905

9) นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง

ฝ่ายคั้นคว่ำและวิจัย สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35

**10) ดร.ศรีโสภา เรืองหนู**

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
โทร 02-9269749

**11) นางสาวอรณีย์ ประจวบจินดา**

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
โทร 02-9269749

**12) นางสาวสุรพร แซ่ลิ้ม**

หน่วยวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
โทรศัพท์ 02-9269830

**13) นางวนัสยา สุธังคะวาทีน**

หน่วยวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
โทรศัพท์ 02-9269830

**1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย**

ได้รับงบประมาณประจำปี 2554 งบประมาณที่ได้รับ 3,941,000 บาท  
ระยะเวลาทำการวิจัย ตั้งแต่ มกราคม 2555 ถึง มกราคม 2556

**2. สรุปโครงการวิจัย**

จระเข้พันธุ์ไทยเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย แต่เดิมทิ้งเลือดจระเข้ไปโดยเปล่าประโยชน์ ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ผลงานวิจัยเลือดจระเข้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเลือดจระเข้แคปซูล เกิดการเพิ่มมูลค่า เพื่อสนับสนุนการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของวัตถุดิบธรรมชาติจากจระเข้เพาะเลี้ยงภายใต้ทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง เพื่อการบำบัดรักษาโรค ป้องกันโรค และส่งเสริมสุขภาพของประชาชน ตลอดจนลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์ยาและอาหารเสริมสุขภาพจากต่างประเทศ รวมถึงการประยุกต์ใช้ประโยชน์ของการแพทย์แผนไทยที่เกี่ยวข้องกับสัตว์สมุนไพร และการพัฒนาตำรับยาในอนาคต จึงเกิดโครงการวิจัยแบบบูรณาการของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยตามแผนงานวิจัยนี้ การวิจัยนี้เป็นปีที่ 2 ของระยะเวลา 3 ปีของแผนงานวิจัย ผลการศึกษาของ 6 โครงการวิจัยย่อย แสดงคุณสมบัติของเลือดจระเข้ในแง่มุมต่างๆ ได้แก่ (โครงการวิจัยที่ 1) องค์ประกอบทางเคมีของส่วนประกอบของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ทำให้ได้ข้อมูลของโปรตีนหรือเปปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ในส่วนของซีรัม ซึ่งเป็นข้อมูลเอกลักษณ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยในด้านโปรตีนโอมของซีรัมจระเข้พันธุ์ไทย ซึ่งจะมีประโยชน์ต่องานวิจัยต่อเนื่อง การศึกษาขั้นสูงและการประยุกต์ใช้เลือดจระเข้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพต่อไป (โครงการวิจัยที่ 2) การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต พบว่าจระเข้พันธุ์ไทย ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย  $22.71 \pm 0.81$  กิโลกรัม มีปริมาณเลือดเฉลี่ย  $598.33 \pm 23.17$  มิลลิลิตร การเจาะเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร (ประมาณ 25% ของเลือดทั้งหมดในร่างกาย) ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ และจระเข้สามารถเสริมสร้างเม็ดเลือดได้ดีและเร็ว มีการขจัดคั่งคองทรมัยซินทางปัญญาและได้รับอนุสิทธิบัตรกรรมวิธีฯ แล้ว พร้อมขยายผลและประชาสัมพันธ์เพื่อการใช้ประโยชน์ต่อไป ตามแผนดำเนินการที่จะทำต่อไปในปีที่ 3 ของโครงการวิจัย (โครงการวิจัยที่ 7) การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV จากเลือดจระเข้ โดยศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด คือ เต้านม (MCF-7) ปอด (COR-L23) ตับ (HepG2) และปากมดลูก (Hela) พบว่าส่วนของเลือดครบ (Whole blood) ซีรัม และพลาสมา ที่ละลายด้วยตัวทำละลายต่างๆ เช่น PBS, DMSO, 95%Ethanol, 10%HCl และ 10%NaHCO<sub>3</sub> ไม่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสี่ชนิด ซึ่งตัวอย่างเลือด

จะเข้าสู่เซลล์ด้วย 10% HCl มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าตัวอย่างที่เลือดจะเข้าสู่เซลล์ด้วยตัวทำละลายตัวอื่น ไม่พบฤทธิ์ต้าน HIV-1 protease และฤทธิ์ต้าน HIV-1 integrase และตัวอย่างเลือดจะเข้าไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ แต่เมื่อทดสอบการยับยั้งฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ พบว่าเลือดจะเข้าสู่ส่วนของพลาสมาที่ละลายด้วย DMSO มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 12.91  $\mu\text{g/ml}$  และส่วน Whole blood ซีรัม และพลาสมา ที่ละลายด้วย 10% HCl มีค่า  $IC_{50}$  อยู่ใน 30 - 50  $\mu\text{g/ml}$  ดังนั้นจากการทดสอบฤทธิ์ต่างๆ พบว่าตัวอย่างเลือดจะเข้ามีฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ดีที่สุด และมีฤทธิ์ต่อการทดสอบเพิ่มมากขึ้นเมื่อตัวอย่างเลือดจะเข้าถูกละลายด้วยตัวทำละลายที่เป็นกรด ดังนั้นในการสกัดเลือดจะเข้าควรอยู่ในภาวะกรด (โครงการวิจัยที่ 8) ผลของเลือดจะเข้าต่อการงอกของเซลล์ประสาท และปกป้องการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระ ศึกษาผลของซีรัมจากเลือดจะเข้าต่อการงอกใยประสาทในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง (PC12) และหาปริมาณโปรตีนที่เซลล์สร้างขึ้นในกระบวนการเปลี่ยนรูปร่างเซลล์และการงอกใยประสาท (MEK1) โดยใช้ซีรัมจากจะเข้า 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) ที่ถูกทำแห้งภายใต้ความเย็นจัดเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าซีรัมที่ความเข้มข้น 25.26 mg/ml มีผลให้เซลล์ PC 12 ตายร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) และเมื่อเจือจางซีรัมที่ความเข้มข้น 4 mg/ml มีผลให้เซลล์แบ่งตัวได้เพิ่มขึ้น และมีผลให้เซลล์งอกใยประสาทได้ร้อยละ  $9.04 \pm 3.42$  ในจำนวนนับ 100 เซลล์ ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ให้อัจฉริยะเติบโตของเซลล์ประสาท (NGF) 2 ng/ml (นัยสำคัญ  $p < 0.5$ ) กลุ่มเซลล์ที่มีการงอกใยประสาทนี้และกลุ่มที่ให้ NGF 50 ng/ml มีการสร้างโปรตีน MEK-1 เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ  $204 \pm 28.91$  และ  $253.26 \pm 34.2$  ต่างจากกลุ่มควบคุม (นัยสำคัญ  $p < 0.5$ ) (โครงการวิจัยที่ 9) การพัฒนาไส้กรอกไขมันต่ำเสริมใยอาหารที่มีสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพจากเลือดจะเข้าไทย พบว่าสูตรที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุดคือสูตรที่มีปริมาณกระชายสูงกว่า และมีไขมันผงและผิวมะกรูดที่ต่ำกว่าสูตรอื่นๆ เมื่อนำสูตรนี้มาแปรอัตราส่วนมันหมูแข็งและอินนูลินเป็น 5 ระดับคือ สูตรไขมันเต็ม (control) สูตรไขมันต่ำ 25% (25F) สูตรไขมันต่ำเสริมอินนูลิน 3% (3I) สูตรไขมันต่ำเสริมอินนูลิน 6% (6I) และสูตรไขมันต่ำเสริมอินนูลิน 9% (9I) คัดเลือกอัตราส่วนของอินนูลินที่เหมาะสมจากการวัดการเสียน้ำหนักหลังปรุงสุก ค่าความคงตัวของอิมัลชัน ค่าสี ค่าลักษณะเนื้อสัมผัส ด้านความแข็ง ความยืดหยุ่น และความสามารถในการยึดเกาะของตัวอย่าง และการประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ ความชุ่มน้ำ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่าไส้กรอกไขมันต่ำที่เสริมอินนูลิน 6% ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุด เมื่อแทนไขมันด้วยเลือดจะเข้าไฮโดรไลเซท พบว่าสูตรที่ลดไขมันลงเหลือ 15% ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุด ซึ่งองค์ประกอบของสูตรนี้มีน้ำ ไขมัน โปรตีน เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และเถ้า 65, 3.5, 16.5, 0.72 และ 7.5 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และเมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสูตรที่ได้รับคัดเลือก โดยการบรรจุในพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคตลอดการเก็บ และสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานกว่า 7 วัน (โครงการวิจัยที่ 10) โครงการบริหาร เป็นโครงการประสานโครงการย่อยต่างๆ ของแผนงานวิจัยฯ ในการเก็บและเตรียมตัวอย่างเลือดจะเข้าสำหรับงานวิจัยในโครงการย่อย การประชุมหัวหน้าโครงการวิจัยย่อยรวมกัน หรือใช้วิธีติดต่อสื่อสารผ่านเครือข่ายอินเทอร์เน็ต โทรศัพท์ และไปรษณีย์ เพื่อการสื่อสาร แลกเปลี่ยนข้อมูล ทำให้เกิดผลสัมฤทธิ์ที่ดีของงานวิจัยในแผนงานฯ ผลจากงานวิจัยต่างๆ ของโครงการย่อยในแผนงานวิจัยนี้จะเป็นแนวทางสู่การใช้ประโยชน์เป็นการผลิตผลิตภัณฑ์จากเลือดจะเข้าพันธุ์ไทยที่สะอาดมีคุณภาพ เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ภาคเอกชน และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันกับต่างประเทศ ตลอดจนเพื่อสนับสนุนภาคอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้อง เพิ่มมูลค่าให้กับจะเข้า ส่งเสริมรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยง และเป็นการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืนของทรัพยากรจะเข้าของไทย

### 3. บทคัดย่อ

การเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์จากเลือดจระเข้มีเพิ่มมากขึ้น แต่ยังคงขาดความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้ การวิจัยองค์ประกอบทางเคมีของส่วนประกอบของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยนี้เป็นปีที่ 2 ของการวิจัยได้วิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิคทางชีวเคมีและทางโปรตีโอมิกส์เพื่อหาชนิดของโปรตีนหรือเปปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญในซีรัมจระเข้ ใช้เทคนิค 2-Dimensional electrophoresis ร่วมกับ Mass spectrometry ทำให้ได้ผลของโปรตีนหรือเปปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญในซีรัมจระเข้ ผลการศึกษาเหล่านี้เป็นข้อมูลเอกลักษณ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยในด้านโปรตีโอมของซีรัมจระเข้พันธุ์ไทย ซึ่งจะมีประโยชน์ต่องานวิจัยต่อเนื่องและการประยุกต์ใช้เลือดจระเข้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิต จากจระเข้พันธุ์ไทยที่ได้จากการเพาะเลี้ยง (งานวิจัยปีที่ 2) ศึกษาปริมาณเลือดในตัวจระเข้พันธุ์ไทย ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย  $22.71 \pm 0.81$  กิโลกรัม จำนวน 30 ตัว พบว่าจระเข้มีปริมาณเลือดเฉลี่ย  $598.33 \pm 23.17$  มิลลิลิตร ศึกษาการเจาะเก็บเลือดจากจระเข้หน้าหนักเฉลี่ย 27 กิโลกรัม ความยาวเฉลี่ย 191 เซนติเมตร อายุประมาณ 4-5 ปี จำนวน 20 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว *กลุ่มควบคุม* เจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร ทุกสัปดาห์ จำนวน 12 สัปดาห์, *กลุ่มทดลองที่ 1* ดูดเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 1 และ 12 และเจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 2-11, *กลุ่มทดลองที่ 2* ดูดเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 1 และ 12 และเจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 4 และ 8, *กลุ่มทดลองที่ 3* ดูดเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 1 และ 12 พบว่าจระเข้กลุ่มทดลองที่ 1-3 หลังจากการเจาะเก็บเลือด 150 มิลลิลิตร 1 สัปดาห์ ค่าทางโลหิตวิทยาไม่มีความแตกต่างจากจระเข้กลุ่มควบคุมที่เจาะ 10 มิลลิลิตร ในทุกช่วงเวลาของการทดลอง ( $p > 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าจระเข้สามารถเสริมสร้างเม็ดเลือดได้ดีและเร็ว ผลการตรวจค่าชีวเคมี แสดงให้เห็นว่าการเจาะเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร หรือประมาณ 25% ของเลือดทั้งหมดในร่างกาย ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพจระเข้

การศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากเลือดจระเข้ไทย ฤทธิ์ต้านเชื้อเอชไอวีของผลิตภัณฑ์จากเลือดจระเข้ โดยศึกษาในเซลล์มะเร็ง 4 ชนิดคือ เต้านม (MCF-7) ปอด (COR-L23) ตับ (HepG2) และปากมดลูก (Hela) ด้วยวิธี SRB พบว่าเลือดจระเข้ในส่วน Whole blood ซีรัม และพลาสมา ที่ละลายด้วยตัวทำละลายต่างๆ เช่น PBS, DMSO, 95% Ethanol, 10% HCl และ 10%  $\text{NaHCO}_3$  ไม่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสี่ชนิด ซึ่งตัวอย่างเลือดจระเข้ที่ละลายด้วย 10% HCl มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าตัวอย่างที่เลือดจระเข้ละลายด้วยตัวทำละลายตัวอื่น ไม่พบฤทธิ์ต้าน HIV-1 protease และฤทธิ์ต้าน HIV-1 integrase และตัวอย่างเลือดจระเข้ไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ไม่พบฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยการศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง Nitric Oxide วิธี Griess reagent แต่เมื่อทดสอบการยับยั้งฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ พบว่าเลือดจระเข้ส่วนของพลาสมาที่ละลายด้วย DMSO มีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ 12.91  $\mu\text{g/ml}$  และส่วน Whole blood ซีรัม และพลาสมา ที่ละลายด้วย 10% HCl มีค่า  $\text{IC}_{50}$  อยู่ใน 30 – 50  $\mu\text{g/ml}$  จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ตัวอย่างเลือดจระเข้มีฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ที่ดีที่สุด และมีฤทธิ์ต่อการทดสอบเพิ่มมากขึ้น เมื่อตัวอย่างเลือดจระเข้ถูกละลายด้วยตัวทำละลายคือ 10% HCl ดังนั้นในการสกัดเลือดจระเข้ควรอยู่ในภาวะกรด

การศึกษาผลของซีรัมจากเลือดจระเข้ต่อการงอกใยประสาทในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง (PC12) และหาปริมาณโปรตีนที่เซลล์สร้างขึ้นในกระบวนการเปลี่ยนรูปร่างเซลล์และการงอกใยประสาท (MEK1) โดย

ใช้ซีรัมจากจระเข้ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) ที่ถูกทำแห้งภายใต้ความเย็นจัดเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าซีรัมที่มีความเข้มข้น 25.26 mg/ml มีผลให้เซลล์ PC 12 ตายร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) และเมื่อเจือจางซีรัมที่มีความเข้มข้น 4 mg/ml มีผลให้เซลล์แบ่งตัวได้เพิ่มขึ้น และมีผลให้เซลล์งอกใยประสาทได้ร้อยละ  $9.04 \pm 3.42$  ในจำนวนนับ 100 เซลล์ ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ให้ปัจจัยการเติบโตของเซลล์ประสาท (NGF) 2 ng/ml แต่น้อยกว่ากลุ่มที่ให้ NGF 50 ng/ml ซึ่งมีค่าร้อยละการงอกใยประสาทเป็น  $3.05 \pm 1.32$  และ  $14.81 \pm 3.79$  ตามลำดับ (นัยสำคัญ  $p < 0.5$ ) กลุ่มเซลล์ที่มีการงอกใยประสาทนี้และกลุ่มที่ให้ NGF 50 ng/ml มีการสร้างโปรตีน MEK-1 เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ  $204 \pm 28.91$  และ  $253.26 \pm 34.2$  ต่างจากกลุ่มควบคุม (นัยสำคัญ  $p < 0.5$ )

การผลิตไส้กรอกเครื่องเทศไขมันต่ำที่มีการเสริมใยอาหารจากสมุนไพรและอินนูลิน และเสริมสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงจากเลือดจระเข้ไฮโดรไลเซท พบว่าสูตรที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุดคือ สูตรที่มีปริมาณกระชายสูงกว่า และมีขมิ้นผงและผิวมะกรูดที่ต่ำกว่าสูตรอื่นๆ เมื่อนำสูตรนี้มาแปรอัตราส่วนมันหมูแข็งและอินนูลินเป็น 5 ระดับคือ สูตรไขมันเต็ม (control) สูตรไขมันต่ำ 25% (25F) สูตรไขมันต่ำเสริมอินนูลิน 3% (3I) สูตรไขมันต่ำเสริมอินนูลิน 6% (6I) และสูตรไขมันต่ำเสริมอินนูลิน 9% (9I) คัดเลือกอัตราส่วนของอินนูลินที่เหมาะสมจากการวัดการเสียน้ำหนักหลังปรุงสุก (cooking loss) ค่าความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) ค่าสี ค่าลักษณะเนื้อสัมผัส ด้านความแข็ง (hardness) ความยืดหยุ่น (springiness) และความสามารถในการยึดเกาะของตัวอย่าง (cohesiveness) และการประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ ความชุ่มน้ำ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่าไส้กรอกไขมันต่ำที่เสริมอินนูลิน 6% ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุด จากนั้นศึกษาการแทนไขมันด้วยเลือดจระเข้ไฮโดรไลเซท พบว่าสูตรที่ลดไขมันลงเหลือ 15% ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุด ซึ่งสูตรนี้มีน้ำไขมัน โปรตีน เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และเถ้า 65, 3.5, 16.5, 0.72 และ 7.5 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสูตรที่ได้รับคัดเลือก โดยการบรรจุผลิตภัณฑ์ในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคตลอดการเก็บ และสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานกว่า 7 วัน

## Abstract

Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) has been added value, developed and increase in its use. However, the knowledge about chemical compositions of Siamese crocodile blood and its compositions has been limited. The present study was the second year of research. The crocodile serum proteome has not been established. The samples were identified by biochemical techniques and proteomic identification using 2-Dimensional electrophoresis (2DE) combined with Mass spectrometry for marker proteins or peptides. These findings suggest the data of Siamese crocodile blood about the serum proteome.

The donation of crocodile blood was studied (the second research year) by development of blood collection process on animal life maintains in captive Siamese crocodile. The total blood volume in Siamese crocodiles (average weight 22.71 kg) was determined in 20 crocodiles (mean weight 27 kg, length 191 cm, in age 4-5 years old) and found that there was blood volume averaged 598.33 millilitres per crocodile. The large

volumn of crocodile blood collection was studied in 20 crocodiles which average weight was 27 Kilograms, 191 centimeters in length and 4-5 years of age. The crocodiles were devided in 4 groups with 5 crocodiles for each group. In *control group*, blood was collected every week in amount of 10 milliters for 12 weeks. *Experimental goup 1*: the crocodiles were withdrawn 150 ml of blood on the 1<sup>st</sup> week and 12th week with 10 ml of blood collection every week that starting from the 2<sup>nd</sup> till the 11<sup>th</sup> week. *Experimental group 2*: withdrawn 150 ml of the crocodile blood at week- 1, - 12 and collected blood 10 ml at week- 4 , - 8. *Experimental group 3*: 150 ml of the blood was collected at the 1<sup>st</sup> and the 12nd weeks. The result showed that in *experimental group 1-3* after blood collection 150 ml for 1 week, hematological values were not significant difference from *control group* that collect 10 mL ( $p > 0.05$ ) in all weeks of the experiment. These results revealed that the crocodiles have a good and fast ability in blood cell production. The data of biochemical values showed that the 150 ml of blood collection or about 25 percent of total blood volume has no effects on crocodile health.

Study the cytotoxic activity against cancer cell lines i. e. breast cancer cell (MCF-7), lung cancer cell (COR-L23), liver cancer cell (HepG2) and cervical cancer cell (Hela) by SRB assay was performed. HIV protease and HIV 1 Integrase were also tested. Crocodile blood in the whole blood, serum and plasma (PE) forms dissolved with PBS, DMSO, 95%Ethanol, 10%HCl and 10%NaHCO<sub>3</sub> had no cytotoxic activity against four cancer cell lines. While crocodile blood dissolved in 10%HCl exhibited more cytotoxic than the others. The crocodile blood extracts had no antioxidant activity by DPPH assay and also not have the anti-inflammatory activity by nitric oxide inhibition assay. However, the plasma of crocodile blood in DMSO with IC<sub>50</sub> 12.91 µg/ml and the whole blood, serum and PE of in 10%HCl (IC<sub>50</sub> 30-50 µg/ml) presented the activity against anti-allergy. These results of overall activities showed that the extract of crocodile blood has good exhibition in anti-allergy activity. Furthermore, the crocodile blood that dissolved with 10%HCl presented more values of activities. Thus the extraction of crocodile blood should be in acid condition.

To study of the effect of crocodile serum on neurite outgrowth and the amount of MEK-1 in nerve cell (PC12) culture, sera obtained from 10 crocodiles (5 males and 5 females), were freez dried and diluted in various concentrations. The 25.26 mg/ml. of crocodile serum showed half number of PC12 cells death (IC<sub>50</sub>). Moreover, the diluted serum at the concentration of 4 mg/ml potentiated proliferation and neurite outgrowth with the percentage of  $9.04 \pm 3.42$  more than the negative control group with nerve growth factor (NGF) 2 ng/ml ( $3.05 \pm 1.32\%$ ) but lesser than the positive control group with ngf 50 ng/ml ( $14.81 \pm 3.79\%$ ) ( $p < 0.05$ ). The amount of MEK-1 were also increase in the treatment

of 4 mg/ml group as  $204 \pm 28.91\%$  and the positive control group as  $253.26 \pm 34.2\%$  of negative control group ( $p < 0.05$ ).

The production process of low fat sausage fortified with dietary fiber from herb and inulin and with angiotensin converting enzyme inhibitor derived from hydrolysate of crocodile blood. Types and quantities of spices were investigated. The formula with higher amount of finger root and lower amount of turmeric powder and kaffir lime peel was found to have the highest acceptance. Fat and inulin quantities used in the selected formula were investigated. The 25% fat reduction (25F), 25% fat reduction with 3% inulin (3I), 25% fat reduction with 6% inulin (6I), 25% fat reduction with 9% inulin (9I) and full fat (control) sausage formula were evaluated for cooking loss, emulsion stability, color, texture, hardness, springiness, cohesiveness and sensory tests. The sausage of 6I was shown the highest consumer preference ( $p \leq 0.05$ ). The substitution of fat with crocodile blood was studied. The results indicated that the sausage with 15% fat reduction received the highest score from consumers. Proximate analysis revealed that this formula had moisture, fat, protein fiber, carbohydrate and ash values of 65, 3.5, 16.5, 0.72 and 7.5% by weight, respectively. The sausage was packed in LDPE bag, sealed under vacuum and kept at  $4^{\circ}\text{C}$ . The results indicated that the sausage was accepted from consumers throughout storage time and can be kept for at least 7 days.

---