ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ

การวิเคราะห์ค่าความชื้น ตามวิธี 925.09B ของ AOAC (2000)

ชั่งตัวอย่างหนัก 3-5 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ลงใน moisture can ที่ผ่านการอบแห้ง และทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานประมาณ 3-6 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักของตัวอย่างคงที่ โดยการนำตัวอย่างออกจากตู้อบ ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง แล้วนำไปอบจนได้น้ำหนักคงที่ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณความชื้น แล้วหาค่าเฉลี่ย

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{(น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ – น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (crude protein) ตามวิธี 960.52 ของ AOAC (2000)

เครื่องมือที่ใช้

1) Kjeldahl flask
2) Digestion unit
3) Distillation unit
4) ชุดไตเตรต

สารเคมีที่ใช้

1) กรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4) ที่ปราศจากไนโตรเจน
2) คะตะลิสต์ผสม (ประกอบด้วย $CuSO_4.5H_2O$ และ K_2SO_4)
3) สารละลายกรดบอริกเข้มข้น ร้อยละ 2 (H_3BO_3)
4) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 40 (NaOH 40 g/100 ml H_2O)
5) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.01 M
6) Mixed indicators (0.2% Methyl red + Methylene blue/EtOH)
7) Zn-metal

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การย่อยตัวอย่าง (Digestion)

1) ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดอย่างละเอียด หนัก 0.1-0.5 กรัม (±0.001) ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง ใส่ลงใน Kjeldahl flask

2) เติมคะตะลิสต์ผสม 2 กรัม (หรือชั่ง K_2SO_4 3.5 กรัม ผสมกับ $CuSO_4.5H_2O$ 0.4 กรัม) เติมกรดกำมะถันเข้มข้นลงไป 15 มิลลิลิตร

3) วาง Kjeldahl flask ในตำแหน่งที่เอียงทำมุมประมาณ 40 องศา กับ fume stack ลงบนเตาของชุดย่อยโปรตีน ทำการย่อยนาน 30 นาที จนได้สารละลายใสหรือมีสีน้ำเงินจาง ทำการย่อยต่ออีกประมาณ 1-2 ชั่วโมง (เวลาที่ใช้ในการย่อยทั้งหมดจะต้องไม่เกิน 3 ชั่วโมง และไม่ควรใช้ไฟแรงเกินไปเพราะมีผลให้ไนโตรเจนบางส่วนสูญหายไปได้) ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องก่อนที่จะนำไปกลั่นต่อไป

การกลั่น (Distillation)

ทำการกลั่นของเหลวที่ผ่านการย่อยได้ด้วยวิธี Steam Distillation (Semi-micro Kjeldahl Distillation Apparatus ดัดแปลงจาก Markham semi-micro Kjeldahl) มีวิธีการ คือ

1) ค่อยๆ ถ่ายเอาของเหลวที่ย่อยได้ทั้งหมดลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นประมาณ 30 – 40 มิลลิลิตรบรรจุอยู่ โดยเทลงไปช้า ๆ ทีละ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งให้เย็น ล้าง Kjeldahl flask 2-3 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น และเทกลับลงไปใน volumetric flask ตั้งทิ้งให้เย็น (อาจนำลงไปแช่น้ำเย็นได้) ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น (blank ก็ให้ทำเช่นเดียวกัน เพียงแต่ไม่มีตัวอย่างเท่านั้น)

2) ปิเปตสารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร. ใส่ในส่วนกรวยของหลอดกลั่น ใช้น้ำกลั่นเล็กน้อยล้างกรวย จากนั้นเทน้ำที่ใช้ล้างลงไปรวมกับของเหลวที่ใช้กลั่นด้วย ค่อยๆ เติม NaOH เข้มข้น 40% ลงไปประมาณ 12 มิลลิลิตร รีบปิดจุกแก้วให้สนิททันที

3) กลั่นไนโตรเจน(ในรูปของก๊าซแอมโมเนีย) โดยใช้การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ซึ่งเป็นการต้มน้ำให้เดือดกลายเป็นไอ แล้วไอน้ำจะทำการกลั่นของเหลวที่ย่อยได้ที่ผสมอยู่กับ NaOH 40% ก๊าซแอมโมเนียที่ระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำจะควบแน่น และถูกจับด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 2 % ที่อยู่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร จำนวน 10 มิลลิลิตร และมีอินดิเคเตอร์ผสมลงไป 4 หยด (ส่วนปลายของ condenser จะต้องจุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริคตลอดช่วงเวลาการกลั่น) ใช้เวลาในการกลั่นประมาณ 10–15 นาที หรือให้ได้สารละลายไม่น้อยกว่า 20–30 มิลลิลิตร ล้างปลาย condenser ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำเอาของเหลวที่กลั่นได้ไป ไตเตรทกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.01 M จนได้จุดยุติเป็นสีน้ำเงินจาง ๆ บันทึกปริมาตรของสารละลายกรดที่ใช้เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{(V_a - V_b) \times C \times 1.4007}{W}$$

โดยที่ V_a คือ ปริมาณของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_b คือ ปริมาณของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรต Blank (มิลลิลิตร)

C คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มัล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละของน้ำหนัก) = ปริมาณไนโตรเจน× conversion factor

โดย conversion factor ของกากงาในการทดลองนี้เท่ากับ 6.25
โดย conversion factor ของแป้งข้าวเจ้าในการทดลองนี้เท่ากับ 5.95
โดย conversion factor ของคุกกี้ในการทดลองนี้เท่ากับ 6.25

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (crude fat)

ใช้วิธีการสกัดไขมันด้วยเครื่องสกัดไขมัน Soxtec Extractor (Model 2050, Sweden) โดยการเตรียมตัวอย่างจะต้องชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน บรรจุลงใน soxhelt flask ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน จากนั้นนำตัวอย่างไปผ่านการสกัดจากเครื่องสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที เมื่อสกัดเสร็จก็นำ soxhelt flask ที่มีปิโตรเลียมอีเทอร์เหลืออยู่และไขมันที่สกัดได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30-60

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นาที จากนั้นนำ soxhelt flask ออกจากตู้อบ ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณไขมัน แล้วหาค่าเฉลี่ย

ปริมาณไขมัน (%) = (น้ำหนัก soxhelt flaskหลังสกัด– น้ำหนัก soxhelt flaskก่อนสกัด) × 100
น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

การวัดค่าความแข็ง ; Hardness

ทำการวัดความแข็งของชิ้นคุกกี้ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture analyzer รุ่น TA.XT Plus (Stable Micro Systems, UK) โดยใช้วิธีทดสอบจากแรงกดตามโปรแกรม Return to start ด้วยหัววัดทรงกระบอก (Cylinder probe) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ขนาดโหลดเซลล์ (Load cell) 25 กิโลกรัม การทำงานของเครื่อง ใช้ความเร็วก่อนและความเร็วหลังทดสอบที่ 2.05 และ10 mm/s ระยะทางที่หัววัดเคลื่อนที่ผ่านผลิตภัณฑ์ 10 มม. แรงกระทบเริ่มต้น 5 กรัม โดยจะทำการวัด 10 ครั้งต่อตัวอย่าง โดยค่า hardness คือ จุดที่วัดแรงกดเป็นบวกสูงที่สุด

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) จานเพาะเชื้อ และปิเปตขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร (ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง)
2) เครื่องปั่นไฟฟ้า
3) เครื่องเขย่า

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

1) สายละลายบัฟเฟอร์เปปโตน เข้มข้นร้อยละ 0.1
2) Plate count agar, PCA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1. ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อโดยการลนไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ ตักตัวอย่างจากหลายๆ ส่วน ชั่งน้ำหนักได้ 25 กรัม กับสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 225 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 : 10 (10^{-1})

1.2. เขย่าอาหารให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1 : 10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100 (10^{-2})

1.3. ทำให้อาหารมีความเจือจาง 1 : 1000 (10^{-3}) และความเจือจางต่อๆ ไปด้วยวิธีเดียวกันจนถึงความเจือจาง 1 : 1000000 (10^{-6})

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรดูดสารละลายของตัวอย่างที่ความเจือจางต่างๆ ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 2 จาน

2.2. เทอาหาร PCA ที่กำลังหลอมเหลว (อุณหภูมิไม่ควรสูงกว่า 48 องศาเซลเซียส) ลงในงานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่ลงไปจานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 15 นาที นับตั้งแต่ความเจือจางเริ่มต้น

2.3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้ให้เย็น แล้วคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

2.4. ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายเปปโตน 1 มิลลิลิตรแทนสารละลายของตัวอย่างอาหาร

3. การบ่มเชื้อ บ่มจานอาหารที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48±2 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล หลังบ่มเชื้อตามกำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อ ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี รายงานผลการตรวจนับว่า มีจำนวน aerobic bacteria ในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตรวจนับยีสต์และเชื้อรา

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) จานเพาะเชื้อ และปิเปตขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร (ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง)
2) เครื่องปั่นไฟฟ้า
3) เครื่องเขย่า

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

1) สายละลายบัฟเฟอร์เปปโตน เข้มข้นร้อยละ 0.1
2) Potato dextrose agar, PDA

วิธีวิเคราะห์

1) การเตรียมตัวอย่าง

ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อโดยการลนไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ ตักตัวอย่างจากหลายๆ ส่วน ชั่งน้ำหนักได้ 25 กรัม กับสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 225 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 : 10 (10^{-1})

เขย่าอาหารให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1 : 10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100 (10^{-2})

ทำให้อาหารมีความเจือจางจนถึง 1 : 1000 (10^{-3}) และความเจือจางต่อๆ ไปด้วยวิธีเดียวกันจนถึงความเจือจาง 1 : 1000000 (10^{-6})

2) การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1) ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางต่างๆ ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 3 จาน

2.2) เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างโดยใส่ลงไปจานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร รีบเทให้เสร็จภายใน 1 ถึง 2 นาทีหลังจากใส่เชื้อลงไปแล้ว

2.3) ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4) ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 1 มิลลิลิตรแทนสารละลายของตัวอย่างอาหาร

การบ่มเชื้อ

บ่มจานอาหารที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 22 ถึง 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังบ่มเชื้อตามเวลากำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 10-150 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้ง 3 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g ml)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการสกัดโปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการสกัดโปรตีน

เมื่อทำการเตรียมตัวอย่างกากงาดำแล้วนำมาทำการทดสอบหาค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่โปรตีนจากกากงาดำจะสามารถละลายได้ดีที่สุด และค่าความเป็นกรด-ด่างที่โปรตีนจะละลายได้น้อยที่สุดเพื่อจะใช้ในการตกตะกอนโปรตีนในการสกัดโปรตีนจากกากงาดำ ผลดังตารางผนวก 1 และ 2 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่โปรตีนจะละลายได้ดีที่สุดคือค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 10 มีร้อยละการละลายเท่ากับ 85.50 ± 0.41 ส่วนค่าที่โปรตีนจะละลายได้น้อยที่สุดคือค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 มีร้อยละการละลายเท่ากับ 6.71 ± 0.41 โดยเมื่อเทียบผลกับงานวิจัยของ Khalid *et al.* (2003) ที่ทำการศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างและความเข้มข้นของเกลือต่อการละลายและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของเมล็ดงา โดยพบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 โปรตีนจะละลายได้ดีที่สุด มีร้อยละการละลายเท่ากับ 90 และที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 10 โปรตีนมีร้อยละการละลายเท่ากับ 72 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 โปรตีนในเมล็ดงาจะละลายได้น้อยที่สุด มีร้อยละการละลายเท่ากับ 12 จะเห็นว่าที่การละลายได้ดีที่สุดจะมีความแตกต่างกัน อาจเนื่องจากลักษณะของวัตถุดิบ และการเตรียมที่แตกต่างกัน อาจส่งผลทำให้ค่าการละลายของโปรตีนแตกต่างกันแต่ก็เป็นความแตกต่างที่เป็นค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีการละลายที่ดีทั้งคู่ ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีการละลายได้น้อยมีผลที่เหมือนกัน ดังนั้นจึงนำค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 5 และ 10 ไปใช้ในการสกัดโปรตีนจากกากงา

ตารางผนวก 1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่แสดงการละลายได้ดีที่สุดของโปรตีนที่สกัดได้จากกากงาดำ

pH	ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมา (%)*
3.0	72.92±0.21
10.0	85.50±0.41

*ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวก 2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่แสดงการละลายได้น้อยที่สุดของโปรตีนที่สกัดได้จากกากงาดำ

pH	ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมา (%)*
4.0	13.97±0.41a
4.5	11.15±0.62b
5.0	6.71±0.41c
5.5	12.48±0.21b

*ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากกากงา

1.) วัดสมบัติการละลายประยุกต์จากวิธีของ Khalid และคณะ (2003)

นำตัวอย่างโปรตีน 2.0 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และนำมาปรับพีเอชเป็น 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 ด้วยโดยปรับด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มัล ทำการกวนตัวอย่างด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำสารละลายมาหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกกากด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6000 ต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายส่วนใสด้านบน (supernatant) มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 จากนั้นนำสารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์หาโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl และรายงานความสามารถในการละลายของโปรตีนเป็นค่าร้อยละการละลายของโปรตีนโดย

$$\text{การละลายของโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในสารละลายส่วนใส}}{\text{ปริมาณโปรตีนในโปรตีนที่ทดสอบ}} \times 100$$

2.) วัดสมบัติความสามารถในการอุ้มน้ำจากวิธีของ Khalid และคณะ (2003) และ Yu และคณะ (2007)

นำตัวอย่างโปรตีน 1.0 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรในหลอดเซนติฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร ทำการผสมตัวอย่างด้วยเครื่อง vortex ที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำสารละลายมาหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกกากด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทสารละลายส่วนใสด้านบน (supernatant)ออก เหลือตัวอย่างตะกอนเปียกไว้ จากนั้นนำตะกอนเปียกมาชั่งน้ำหนัก และรายงานความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน

$$\text{ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ml/g)} = (W2 - W1) / W0$$

W0 = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

W1 = น้ำหนัก tube + น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

W2 = น้ำหนัก tube + น้ำหนักตะกอนเปียก(กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.) วัดคุณสมบัติความสามารถในการเกิดอิมัลชันประยุกต์จากวิธีของ Klompong และคณะ (2007)

เตรียมตัวอย่างโปรตีน 1 % (W/V) และนำมาปรับพีเอช เป็น 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 ด้วยโดยปรับด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มัล จากนั้นปิเปตตัวอย่าง 30 มิลลิลิตร และเติมน้ำมันไป 10 มิลลิลิตร และนำไปโฮโมจิไนซ์ด้วยความเร็ว 8000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปิเปตอิมัลชันมา 50 ไมโครลิตรใส่ใน 0.1 % SDS solution in phosphate buffer ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และรายงานค่า Emulsifying Activity Index เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ที่เวลา t = 0 และหลังจากเกิดอิมัลชัน 10 นาที ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงของอิมัลชันเช่นเดียวกับข้างต้น t = 10 และคำนวณ % Emulsifying Stability Index

$$\text{Emulsifying Activity Index } (m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times OD}{0.25 \times \text{protein weight (g)}}$$

$$\%\ \text{Emulsifying Stability Index} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงที่เวลา t = 10 นาที}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงที่เวลา t = 0 นาที}} \times 100$$

4.) วัดคุณสมบัติความสามารถในการเกิดโฟมประยุกต์จากวิธีของ Ogunwolu และคณะ (2009) และ Khalid และคณะ (2003)

นำตัวอย่างโปรตีน 2.0 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และนำมาปรับพีเอช เป็น 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 ด้วยโดยปรับด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มัล จากนั้นนำมาใส่ในเครื่องปั่นผสมไฟฟ้าและปั่นผสมที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเทใส่กระบอกตวงขนาด 100 มล. อย่างช้า ๆ วัดปริมาตรของโฟมและรายงานค่าเป็นค่า Foaming Capacity

$$\text{Foaming Capacity} = \frac{\text{ปริมาตรของโฟม (มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรทั้งหมด (มิลลิลิตร)}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

แบบสอบถามและการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดสอบผลิตภัณฑ์คุกกี้แป้งข้าวจ้าวผสมโปรตีนสกัดจากกากงา

แบบทดสอบนี้จัดทำเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการทดสอบผลิตภัณฑ์คุกกี้แป้งข้าวจ้าวผสมโปรตีนสกัดจากกากงาซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของนางสาววราทิพย์ วงษ์เอี่ยม นักศึกษาปริญญาโทสาขาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะได้รับความร่วมมือจากท่านเป็นอย่างดีในการทดสอบ และขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างตามรหัสที่นำเสนอ แล้วให้คะแนน **"ความชอบ"** ในแต่ละคุณลักษณะโดยเขียนเป็นตัวเลข 1-9 ตามความรู้สึกของท่าน ***กรุณาดื่มน้ำก่อนทดสอบแต่ละตัวอย่างทุกครั้ง***

ระดับของคะแนนความชอบ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ 6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	**คะแนนความชอบของรหัสตัวอย่าง**
ความชอบโดยรวม	
สี	
กลิ่นรส *(พิจารณาจากกลิ่นและรสที่ได้รับในระหว่างการกิน)*	
ความกรอบ *(พิจารณาจากเนื้อสัมผัสที่ได้รับในระหว่างการเคี้ยว)*	
ความร่วน *(พิจารณาจากเนื้อสัมผัสที่ได้รับในระหว่างการเคี้ยว)*	

คุณลักษณะ	**คะแนนความชอบของรหัสตัวอย่าง**
ความชอบโดยรวม	
สี	
กลิ่นรส *(พิจารณาจากกลิ่นและรสที่ได้รับในระหว่างการกิน)*	
ความกรอบ *(พิจารณาจากเนื้อสัมผัสที่ได้รับในระหว่างการเคี้ยว)*	
ความร่วน *(พิจารณาจากเนื้อสัมผัสที่ได้รับในระหว่างการเคี้ยว)*	

ขอขอบคุณทุกท่านที่สละเวลาในการทำแบบทดสอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ง1 การผลิตคุกกี้

ภาพ ง2 คุกกี้แป้งข้าวเจ้าที่ใช้ในการทดสอบการยอมรับผู้บริโภค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ง3 บูธสำหรับผู้ทดสอบการยอมรับผู้บริโภค

ภาพ ง4 การเสิร์ฟตัวอย่างแก่ผู้ทดสอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ง5 ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวม สี กลิ่นรส ความกรอบ และความร่วน

ภาพ ง6 ของตอบแทนสำหรับผู้ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาววราทิพย์ วงษ์เอี่ยม

วัน เดือน ปี เกิด 22 พฤศจิกายน 2525

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนวิสุทธรังษี จ.กาญจนบุรี ปีการศึกษา 2543

สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต ปีการศึกษา 2548

ประวัติผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

วราทิพย์ วงษ์เอี่ยม และสุจินดา. 2552. ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดจากกากงาดำ. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาครั้งที่ 3. วันที่ 19 สิงหาคม 2552, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved