รายการอ้างอิง

การค้ามันสำปะหลังไทย, สมาคม. 2538. รายงานประจำปี. กรุงเทพมหานคร: Basic Gear.

การค้าอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังไทย, สมาคม. 2534. อุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังไทย. ใน 15th Anniversary The Thai Tapioca Flour Industrial Trade Associations, หน้า 16-17. กรุงเทพมหานคร: สมาคมแป้งมันสำปะหลังไทย.

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2538. มันสำปะหลัง: ผลการพยากรณ์เนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ปีเพาะปลูก 2538/2539 รายจังหวัด. ข่าวเศรษฐกิจเกษตร. 41(468): 64.

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2539. มันสำปะหลัง: ผลการพยากรณ์เนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ปีเพาะปลูก 2539/2540 รายจังหวัด. ข่าวเศรษฐกิจเกษตร. 42(470): 14.

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2540. มันสำปะหลัง. ข่าวการผลิต การตลาด และผลผลิตเกษตร. 18(40): 3-4.

ชาญ ถิรพร และ วัฒนะ วัฒนานนท์. 2534. การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังในประเทศไทย. ใน 15th Anniversary The Thai Tapioca Flour Industrial Trade Associations, หน้า 32. กรุงเทพมหานคร: สมาคมแป้งมันสำปะหลังไทย.

ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, ม.ร.ว. 2530. กรดอะมิโนและโปรตีน. ใน มนตรี จุฬาวัฒนทล (บรรณาธิการ), ชีวเคมี, หน้า 107-145. กรุงเทพมหานคร: ศ.ล.

ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์. 2536. การผลิตใบมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. กรุงเทพมหานคร: ฟอร์แมทพริ้นติ้ง.

มาตราฐานอุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2513. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำซอสปรุงรส. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

ส่งเสริมการเกษตร, กรม. กองส่งเสริมพืชไร่นา, กลุ่มพืชไร่. 2538. พันธุ์มันสำปะหลังและลักษณะประจำพันธุ์. กรุงเทพมหานคร: กลุ่มพืชไร่ กองส่งเสริมพืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร.

Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 16 ed. USA: Association of Official Analytical Chemists.

Addy, T.O., Whitney, L.F., and Chen, C.S. 1983. Mechanical parameters in leaf cell rupture for protein production. In L. Telek and H.D.Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 490-524. Westport: AVI Publishing Company.

Adegbola, A.A., and Oke, O.L. 1973. Preliminary observations on the value of leaf protein/fish meal mixtures as protein supplement for White Leghorn. Nutr. Rep. Int. 8: 313-318.

Arkcoll, D.B. 1973. The preservation and storage of leaf protein preparations. J. Sci. Food Agric. 22: 437-445.

Arkcoll, D.B., and Davys, M.N.G. 1973. Machanical fractionation as an aid to crop drying. Proc. First Intl. Green Crop Drying Cong. 354-365.

Awoyinka, A.F., Abegunde, V.O., and Adewusi, S.R.A. 1995. Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as a green vegetable in Nigeria. Plant foods for human nutrition 47: 21-28.

Betschart, A., and Kinsella, J.E. 1973. Extractibility and solubility of leaf protein. J. Agric. Food Chem. 21: 60-65.

Bohinski, R.C. 1976. Protein. Modern concepts in Biochemistry. 2nd ed. Massachusetts: Allyn and Bacon.

Bray, W.J., and Humphries, C. 1979. Preparation of a white leaf protein Concentrate using a polyanionic flocculant. J. Sci. Food Agric. 30: 171-176.

Brett, C., and Waldron, K. 1990. Physiology and biochemistry of plant cell walls. 1st ed. London: Unwin Hyman.

Briskey, E.J. 1970. Functional evaluation of proteins in food systems. In Knorr, D. 1983. Recovery of functional proteins from food processing waste. Food Technol. February: 71-76.

Broderrick, G.A. 1975. Factors affecting ruminant responses to protected amino acids and proteins. In Friedman, M. Protein nutritional quality of foods and feeds. Part 2. New York: Marcel Dekker, Inc. 211-222.

Brown, H.E., Stein, E.R., and Saldama, G. 1975. Evaluation of *Brassica carinata* as a source of plant protein. J. Agric. Food Chem. 23: 545-547.

Brown, W.H. 1935. The plant kingdom. New York: Ginn and Company.

Butler, J.R., and Pirie, N.W. 1981. An improved small scale unit for extracting leaf juice. Expl. Agric. 17: 39-47.

Byers, M. 1961. Extraction of protein from the leaves of some plants growing in ghana. J. Sci. Food Agric. 12: 20-30.

Byers, M. 1971. The amino acid composition and digestibility of some protein fractions from three species of leaves of various ages. J. Sci. Food Agric. 22: 242-247.

Byers, M. 1983. Extracted leaf proteins: Their amino acid composition and nutritional quality. In L. Telek and H.D.Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 135-175. Westport: AVI Publishing Company.

Byers, M., and Sturrock, J.W. 1965. The yields of leaf protein extracted by large scale processing of various crops. J. Sci. Food Agric. 16: 341-355.

Carlsson, R. 1983. Leaf Protein Concentrates from plant sources in temperate climates. In L. Telek and H.D. Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 52-69. Westport: AVI Publishing Company.

Carlsson, R. 1989. New crops for food and industry. London: Chapman and Hall. อ้างถึงใน บุญชิตา โฆษิตทรัพย์. โปรตีนเข้มข้นจากผักตบชวา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2535.

Castellanos, R., Altamirano, S.B., and Moretti, R.H. 1994. Nutritional characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Leaf Protein Concentrates obtained by ultrafiltration and acidic thermocoagulation. Plant foods for human nutrition 45: 357-363.

Chavan, J.K., Kadam, S.S., Ghonsikar, C.P., and Salunkhe, D.K. 1979. Removal of tannins and improvement of in vitro protein digestibility of sorghum seeds by soaking in alkali. J. Food Sci. 44: 1319-1321.

Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1977. Annual report. Calif., Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, pp. 68. อ้างถึงใน ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์. การผลิตใบมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2536.

Committee on Food Chemicals Codex. 1996. Food chemicals codex. 4th ed. Washington: National Academy Press.

Conn, E.E. 1973. Cyanogenetic glycosides. In Toxicants occurring naturally in foods, pp. 299-308. Washington: National Academic of Sciences.

Connell, J., and Houseman, R.A. 1977. The utilisation by ruminants of the pressed green crops from fractionation machinery. In Wilkins, R.J. Green crop fractionation. Br. Grassl. Soc. Occas. Symp. 9.

Dainty, J., Hope, A.B., and Denby, C. 1960. Ionic relations of cells of *Chara australis*. Austral. J. Biol. Sci. 13: 267.

Davys, M.N.G., and Pirie, N.W. 1969. A laboratory-scale pulper for leafy plant materials. Biotech. Bioeng. 11: 517-528. cited in L. Telek., and Graham, H.D. Leaf Protein Concentrates. Westport: AVI Publishing Company, 1983.

Davys, M.N.G., Pirie, N.W., and Street, G. 1969. A laboratory-scale press for extracting juice from leaf pulp. Biotech. Bioeng. 11: 529-538. cited in L. Telek., and H.D. Graham. Leaf Protein Concentrates. Westport: AVI Publishing Company, 1983.

De Jong, D.W. 1982. Coagulation method for preparing Leaf Protein Concentrates (LPC) from plant foliage. U.S. Patent No. 4,333,871.

Delaney, R.A.M. 1977. Protein concentrates from slaughter animal blood. J. Food Technol. 12: 355-368.

Dostalova, J., and Pokorny, J. 1995. Plant phenols. In J. Devidek (ed.), Natural toxic compounds of foods: Formation and change during processing and storage, pp. 75-95. Boca Raton: CRC Press.

Edwards, M. 1995. Change in cell structure. In S.T. Beckett (ed.), Physico-chemical aspects of food processing, pp. 212-222. Glasgow: Blackie Academic & Professional.

Fafunso, M.A., and Bassir, O. 1976. The dissappearance of cyanide from cassava leaves during leaf protein extraction. J. Biol. Appl. Chem. 19(2): 30.35.

Fafunso, M.A., and Oke, O.L. 1976. Leaf protein from different cassava varieties. Nutr. Rep. Int. 14(6): 629-632.

FAO/WHO. 1965. Protein requirements. FAO Nutr. Meet. Rep. Ser. 37. cited in L. Telek and H.D. Graham. Leaf Protein Concentrates. Westport: AVI Publishing Company, 1983.

Fennema, O. 1977. Water and protein hydration. In J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.), Food protein, pp. 50-90. Westport: The AVI Publishing Company, INC.

Fry, S.C. 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. Ann. Rev. Pant Physiol. 37: 165-186.

Hanczakowski, P. 1983. Leaf protein research in Poland. In L. Telek and H.D. Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 795-803. Westport: AVI Publishing Company.

Hegsted, D.M. 1983. Protein quality and its determination. In J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.), Food proteins, pp. 347-361. Westport: AVI Publishing Company.

Holden, M. 1983. Pigments in Leaf Protein Concentrates. In L. Telek and H.D. Graham(eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 228-234. Westport: AVI Publishing Company.

Hopkins, T.R. 1991. Physical and chemical cell disruption for the recovery of intracellular proteins. In R. Seetharam and S.K. Sharina (eds.), Purification and analysis of recombinant proteins, pp. 62-65. New York: Marcel Dekkar.

Hopwood, D. 1969. A comparison of the crosslinking abilities of glutaraldehyde formaldehyde and ∝- hydroxyadipaldehyde with bovine serum albumin and casein. Histochemie 17: 151-161.

Hoshiai, K. 1982. Development of cassava as a biomass resource. Food Industry (Shokuhin kogyo) 25(14): 73-86.

Huang, K.H., Tao, M.C., Boulet, M., Rui, R.R., Julien, J.P., and Brisson, G.J. 1971. A process for the preparation of Leaf Protein Concentrates based on the precipitation of leaf juices with polar solvents. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 4: 85-90.

Keijbets, M.J.H. and Pilnik, W. 1974. β-elimination of pectin in the present of anions and cations. Carb. Res. 33: 359.

Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of protein in foods: A survey. In Knorr, D. 1983. Recovery of functional proteins from food processing waste. Food Technol. February: 71-76.

Kinsella, J.E. 1979. Leaf proteins for foods. J. Am. Oil Chemists' Soc. 56: 471.

Knorr, D. 1983. Recovery of functional proteins from food processing waste. Food Technol. February: 71-76.

Kohler, G.O., Wildman, S.G., Jorgensen, N.A., Enochain, R.V., and Bray, W.J. 1978. Leaf protein in relation to forage crop production and utilization. In M. Milner, N.S. Scrimshaw and D.I.C. Wang (eds.), Protein resources and technology: Status and research needs, pp. 543-546. Westport: AVI Publishing Company.

Kokta, B. 1989. Process for preparing pulp for paper making. U.S. Patent No. 4,789,651.

Korn, A.H., Fearheller, S.H., and Filachione, E.M. 1972. Glutaraldehyde: Nature of the reagent. J. Mol. Biol. 65: 525-529.

Kumar, R., and Singh, M. 1984. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. J. Agric. Food Chem. 32: 447-453.

Lehninger, A.L. 1975. Biochemistry. 2nd ed. New York: Worth Publishers.

Lu, P.S. and Kinsella, J.E. 1972. Extractibility and properties of protein from Alfalfa meal. J. Food Sci. 37: 94-99.

Mangan, J.L., Jordan, D.J., Weat, J., and Webb, P.J. 1980. Protection of leaf protein of lucerne (*Medicago sativa L.*) against degradation in the rumen by treatment with formaldehyde and glutaraldehyde. J. Agric. Sci. 95(3): 603-617.

Meyer, L.H. 1960. Food chemistry. New York: Reinhold Publishing Corporation.

Morrison, R.T., and Boyd, R.N. 1992. Organic chemistry. 6th ed. New Jersey: Prentice Hall.

Nagy, S., and Nordby, H.E. 1983. Lipid in Leaf Protein Concentrates. In L. Telek and H.D. Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 268-294. Westport: AVI Publishing company.

Nagy, S., Nordby, H.E., and Telek, L. 1978. Lipid Distributions in green Leaf Protein Concentrates from four tropical leaves. J. Agric. Food Chem. 26(3): 701-706.

Norton, G. 1978. Plant proteins. London: Butterworths. 171-189.

Oke, O.L. 1971. Some aspects of leaf protein work in Nigeria. The Ind. J. Nutr. Dietet. 8: 121-129.

Ostrowski-Meissner, T.H. 1980. Quantities and quality of protein extracted from pasture harvage using heat precipitation or ultrafiltration procedures. J. Sci. Food Agric. 31: 177-187.

Padmaja, G. 1989. Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava. J. Agric. Food Chem. 37: 712-716.

Pandey, V.N., and Srivastava, A.K. 1993. A simple, low energy requiring method of coagulating leaf proteins for food use. Plant foods for human nutrition 43: 241-245.

Pirie, N.W. 1983. Introduction or the knowledge needed for sucessful leaf protein production. In L. Telek and H.D. Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 1-6. Westport: AVI Publishing Company.

Pirie, N.W. 1986. Production, preservation and use of leaf protein. Asean Food Journal 2(2): 47-50.

Pisulewska, E. 1991. The changes of the yield, composition and nutritive value of leaf protein extracted from vetch and cereal mixtures during three years cultivation. J. Sci. Food Agric. 55: 197-205.

Pour-El, A. 1979. Functionality and protein structure. In Knorr, D. 1983. Recovery of functional proteins from processing waste. Food Technol. February: 71-76.

Ramos, M., and Ledon, L.J. 1969. Composition of Manihot plants as related to growth, development and certain others factors. Master's Thesis, Department of Mag. Sc., University of Malami. อ้างถึงใน ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์. การผลิตใบมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2536.

Ravindran, G., and Ravindran, V. 1988. Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. Food Chem. 27: 299-309.

Ravindran, V. 1993. Cassava leaves as animal feed: Potential and limitations. J. Sci. Food Agric. 61: 141-150.

Ream, H.M., Jorgensen, N.A., Koegel, R.G., and Bruhn, H.D. 1983. On-farm harvesting: Plant juice protein production system in a humid temperate climate. In L. Telek and H.D. Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 467-489. Westport: AVI Publishing Company.

Roger, D.W. 1959. Cassava leaf protein. Economic Bot. 13(3): 261-263.

Rosin, J. 1967. Reagent chemicals and standards. London: D. Van Nostrand.

Rys, J.M., and Hanzakowski, P. 1990. Improvement of the nutritive value of cereal by leaf protein supplementation. J. Sci. Food Agri. 50: 90-104.

Salisbury, F.B., and Ross, C.W. 1992. Plant physiology. Belmont: Wadsworth Publishing.

Schoen, H.M. 1977. Functional properties of proteins and their measurement. In J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.), Food proteins, pp. 387-400. Westport: AVI Publishing Company.

Sheen, S.J. 1991. Comparison of chemical and functional properties of soluble leaf protein from four plant species. J. Agric. Food Chem. 39: 681-685.

Shepperson, G., Connell, J., Houseman, R.A. and Health, S.B. 1977. The performance of the machinery at present available for the expression of juice from forage crops. Br. Grassl. Soc. Occas. Symp. 9. cited in L. Telek and H.D. Graham. Leaf Protein Concentrates. Westport: AVI Publishing Company, 1983.

Siebert, K.J., Troukhanova, N.V., and Lynn, P.Y. 1996. Nature of polyphenol-protein interaction. J. Agric. Food Chem. 44: 80-85.

Singh, N. 1960. Differences in the nature of N precipitated by various methods from wheat leaves extracts. Biochim. Biophys. Acta. 45: 422-428.

Telek, L. and Martin, F.W. 1983. Tropical plants for Leaf Protein Concentrates. In L. Telek and H.D. Graham (eds.), Leaf Protein Concentrates, pp. 81-116. Westport: AVI Publishing Company.

Tjahjadi, C., Lin, S., and Breene, W.M. 1988. Isolation and Characteristic of Adzuki Bean (*Vigna angularis cv Takara*) proteins. J. Food Sci. 53(5): 1438-1443.

Tupynamba, M.L.V.C., and Vieira, E.C. 1979. Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. Nutr. Rep. Int.19(2): 249-259.

Van Buren, J.P. 1983. Two effects of sodium chloride causing softening of the texture of canned Snap Beans. J. of Food Sci. 48: 1362-1363.

Vinconneau, H.F. 1979. Processing of leaf proteins into food ingredients. J. Am. Oil Chemists' Soc. 52: 469-470.

Voldrich, M. 1995. Cyanogens. In J. Davidek (ed.), Natural toxic compounds of foods: Formation and change during processing and storage, pp. 53-63. Boca Raton: CRC Press.

Wallace, G.M. 1973. Nutrient loss during food processing. Food Technol. N.Z. 8: 11-12.

Wang, J.C., and Kinsella, J.E. 1976A. Functional properties of novel proteins: Alfalfa leaf protein. J. Food Sci. 41: 286-292.

Wang, J.C., and Kinsella, J.E. 1976B. Functional properties of alfalfa leaf protein: Foaming. J. Food Sci. 41: 498-501.

Weier, T.E., Stocking, C.R., Barbour, M.G., and Rost, T.L. 1982. Botany: An introduction to plant biology. USA: John Wiley & Sons.

Wenck, D.A., Baren, M., and Dewan, S.P.D. 1980. Nutrition the challenge of being well nourished. Virgenia: Reston Publishing Company.

Whitaker, J.R. 1983. Denaturation and renaturation of proteins. In J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.), Food proteins, pp. 14-49. Westport: AVI Publishing Company.

Wildman, S.G., and Bonner, J. 1947. Proteins of green leaves I. Isolation, enzymatic properties and auxin content of spinach cytoplasmic proteins. Arch. Biochem. 14: 381-413. cited in M. Milner, N.S. Scrimshaw and D.I.C. Wang. Protein resources and technology: Status and research needs. Westport: AVI Publishing Company, 1978.

Woodham, A.A. 1978. The nutritive value of mixed protein. In M. Friedman (ed.), Nutrition of food and feeds proteins, pp. 365-378. New York: Plenum Press.

Yoshida, M., and Hoshii, H. 1980. Nutritive and economical evaluation of Leaf Protein Concentrates produced in New Zealand. Proc. South Pac. Poultry Sci. Conv. Auckland: World's Poultry Science Association. cited in L. Telek and H.D. Graham. Leaf Protein Concentrates. Westport: AVI Publishing Company, 1983.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ก.1 <u>การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น</u>

ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. 1990-950.46 และใช้ moisture analyser

<u>อุปกรณ์</u>

เตาอบวิเคราะห์ความชื้น WTB Binder รุ่น E53

เครื่องวิเคราะห์ความชื้น Sartorius รุ่น MA30

<u>วิธีทดลอง</u> (A.O.A.C. 1990-950.46)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2 กรัมใส่ในภาชนะอลูมิเนียมที่แห้งสนิท

2. นำตัวอย่างเข้าอบหาความชื้นในอุปกรณ์ดังกล่าว ซึ่งควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 100-105°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง สำหรับอบแห้งผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้น และที่ 75°C 24 ชั่วโมง สำหรับอบแห้งใบมันสำปะหลัง (เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี) ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (desiccator)

3. ชั่งน้ำหนัก และอบตัวอย่างจนกว่าน้ำหนักคงที่

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักชิ้นคงที่ภายหลังการอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

<u>วิธีทดลอง</u> (moisture analyser)

1. ตั้งอุณหภูมิของเครื่องที่ 105°C สำหรับอบแห้งใบมันสำปะหลัง (เพื่อเก็บข้อมูลความชื้นก่อนนำไปผลิต)

2. นำตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม ใส่ในถาดภายในเครื่อง ปิดฝา

3. เครื่องจะหยุดทำงานเมื่อน้ำหนักคงที่ และแสดงปริมาณความชื้นที่ได้

4. นำตัวอย่างออกจากเครื่อง

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. 1995-978.04

อุปกรณ์

Kjeldatherm and Vapodest 1, Gerhardt KT 85

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1N
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50%
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4%
5. Kjeltabs catalyst (โปตัสเซียมซัลเฟต 3.5 กรัม/คอปเปอร์ซัลเฟต 0.4 กรัม)
6. methyl red-methylene blue indicator

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง ประมาณ 0.2 กรัม ใส่ในขวดย่อย
2. เติม Kjeltabs 2 เม็ด
3. เติมสารละลายซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร
4. ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Kjeldatherm ซึ่งควบคุมอุณหภูมิในการย่อยเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 250°C เป็นเวลา 15-20 นาที ช่วงที่ 2 อุณหภูมิ 380°C 30-45 นาที หรือจนตัวอย่างเป็นสารละลายใส และช่วงที่ 3 อุณหภูมิ 380°C เป็นเวลา 20-30 นาที สารละลายเป็นสีเหลืองอ่อน
5. กลั่นตัวอย่างที่ย่อยด้วยเครื่อง Vapodest I โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50% เป็นตัวทำปฏิกิริยา และเก็บสารที่กลั่นได้ในสารละลายกรดบอริก 4% ซึ่งเติม methyl red-methylene blue indicator 2-3 หยด
6. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.1N

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%โดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{A \times B \times 6.25 \times 1.4}{W}$$

A = normality ของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรท

B = ปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ตามวิธีของ A.O.A.C. 1995-930.09

อุปกรณ์

Soxhlet Apparatus

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัม แล้วห่อกระดาษกรอง Whatman No.1 โดยห่อ 2 ชั้น
2. ใส่ห่อตัวอย่างใน thimble ซึ่งบรรจุในขวดสกัดที่แห้งสนิท และทราบน้ำหนักที่แน่นอน
3. เติมปิโตเลียมอีเธอร์ ซึ่งใช้เป็นตัวสกัด 100 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัด
4. สกัดไขมันด้วยอัตราการกลั่น 5-6 หยดต่อวินาที เป็นเวลาประมาณ 5 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิของ silicone oil ซึ่งเป็นตัวถ่ายเทความร้อนให้อุปกรณ์ที่ใช้สกัดที่ 150°C
5. ระเหยปิโตเลียมอีเธอร์ออกจากไขมันที่สกัดได้ แล้วอบขวดสกัดที่ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่
6. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนัก

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%โดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(A-B) \times 100}{W}$$

A = น้ำหนักขวดหลังสกัดและอบ (กรัม)

B = น้ำหนักขวดที่แห้งสนิท (กรัม)

W= น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ

ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. 1995-962.09

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟูริก 0.2M
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.3M
3. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1%
4. เอธิลแอลกอฮอล์ 95%

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้ว 2-3 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2M ที่กำลังเดือด 200 มิลลิลิตร นำไปต้มภายใน 1 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เดือดประมาณ 30 นาที ควรปิดภาชนะด้วยกระจกนาฬิกา พยายามรักษาระดับกรดให้คงที่ขณะย่อย ถ้าปริมาตรลดลงให้เติมน้ำร้อนลงไป

2. กรองส่วนผสมผ่านกรวยกรองชนิดพิเศษ (Hartley form of Buchner funnel) ซึ่งรองด้วยกระดาษกรองชนิดไม่มีเถ้าเบอร์ 54 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน โดยใช้ suction ล้างด้วยน้ำร้อนจนแน่ใจว่าไม่มีกรดอยู่ในกาก

3. เทกากที่ล้างแล้วลงภาชนะเดิมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.3M ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ย่อยต่อไปอีก 30 นาที

4. กรองผ่าน suction ล้างด้วยน้ำร้อนจนแน่ใจว่าไม่มีด่างอยู่ในกาก

5. ล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1% แล้วล้างน้ำร้อนอีกครั้ง

6. ล้างด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% 100 มิลลิลิตร

7. นำตัวอย่างพร้อมกระดาษกรอง ใส่ในครูซิเบิล (crucible) อบที่ 105°C 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนัก

8. นำไปเผาตามวิธีการหาเถ้า และหาน้ำหนักเถ้า

$$\text{ปริมาณเส้นใยหยาบ(\%)} = \frac{(A-B-C)}{W} \times 100$$

A = น้ำหนักหลังจากย่อยด้วยด่าง (กรัม)

B = น้ำหนักเถ้า (กรัม)

C = น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ตามวิธีของ A.O.A.C. 1995-930.05

อุปกรณ์

เตาเผา (Heatech รุ่น 4850-1)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัม ใส่ในครูซิเบิลที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. นำตัวอย่างไปเผาบน hot plate จนหมดควัน
3. เผาต่อในเตาเผา ที่ 600°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
4. ทำให้เย็นในเดซิเคเดอร์แล้วชั่งน้ำหนัก

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{ปริมาณเถ้า (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิก (HCN)

ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. 1995-915.03B

อุปกรณ์ ชุดกลั่น (ภาคผนวก ค)

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์
2. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 6N
3. สารละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์ 5%
4. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.02N

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 10-20 กรัม ผสมน้ำ 200 มิลลิลิตร (ถ้าเป็นตัวอย่างสด นำไปบดใน blender พร้อมกัน)

2. วางพักไว้ 2-4 ชั่วโมง จึงนำไปกลั่นโดยเก็บสารที่กลั่นได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่เตรียมโดยละลายสาร 0.5 กรัมในน้ำ 20 มิลลิลิตร กลั่นจนได้ปริมาตร 150-160 มิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร ปิเปตมา 100 มิลลิลิตร

4. เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 6N 8 มิลลิลิตร และสารละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์ 5% 2 มิลลิลิตร

5. ไตเตรทกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.02N จุดยุติเป็นสีขาวขุ่นแกมเหลือง

ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกคำนวณได้จาก

ซิลเวอร์ไนเตรต 0.02N 1 มิลลิลิตร = HCN 1.08 มิลลิกรัม

ก.7 <u>การวิเคราะห์ปริมาณเกลือ</u>

ดัดแปลงจากวิธีของ มอก. 8-2513

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.1N
2. สารละลายกรดไนตริก 6N
3. ferric alum indicator ที่ละลายจนอิ่มตัว
4. สารละลายโปตัสเซียมไธโอไซยาเนต 0.1N

<u>วิธีทดลอง</u>

1. บดตัวอย่างกับน้ำกลั่น อัตราส่วนตัวอย่างต่อน้ำ 1:19 กรองสารละลายที่ได้ แล้วปิเปตมา 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.1N 30 มิลลิลิตร สารละลายกรดไนตริก 6N ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และ ferric alum indicator 5 มิลลิลิตร

3. ไตเตรทกับสารละลายโปตัสเซียมไธโอไซยาเนต 0.1N

ปริมาณเกลือ (กรัม/1000 กรัม) = $117 \times (30N_1 - yN_2)$

N_1 = normality ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต

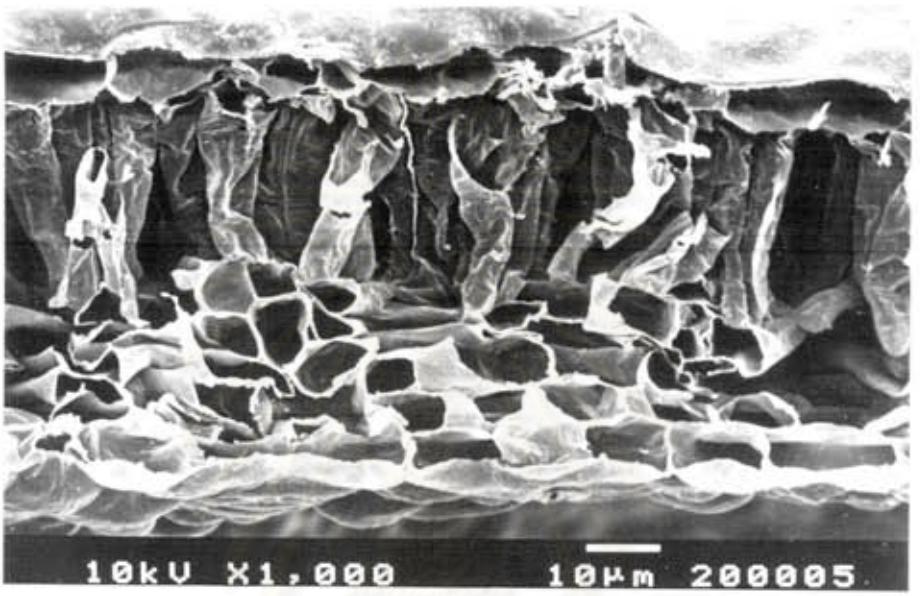
N_2 = normality ของสารละลายโปตัสเซียมไธโอไซยาเนต

y = ปริมาตรของสารละลายโปตัสเซียมไธโอไซยาเนตที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

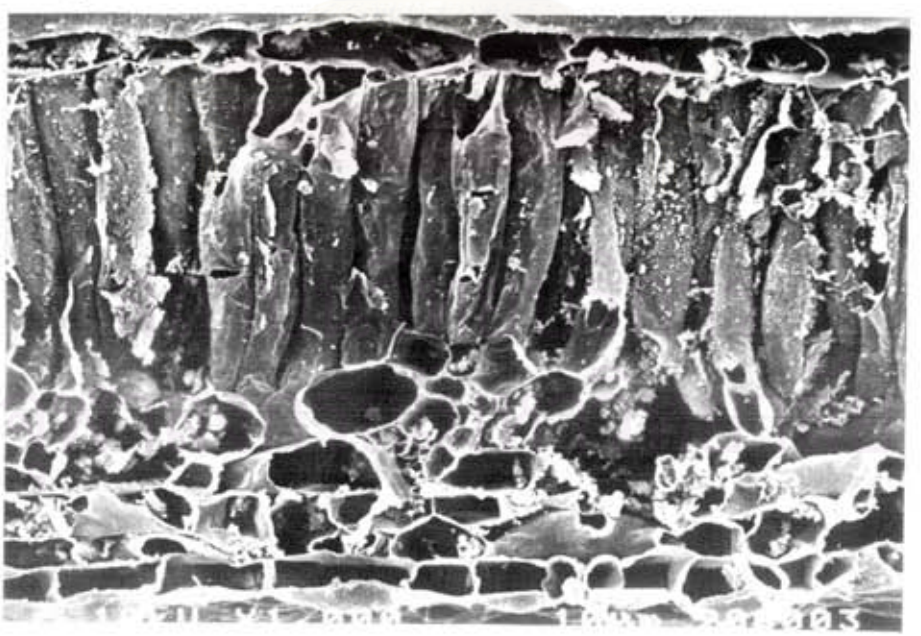
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

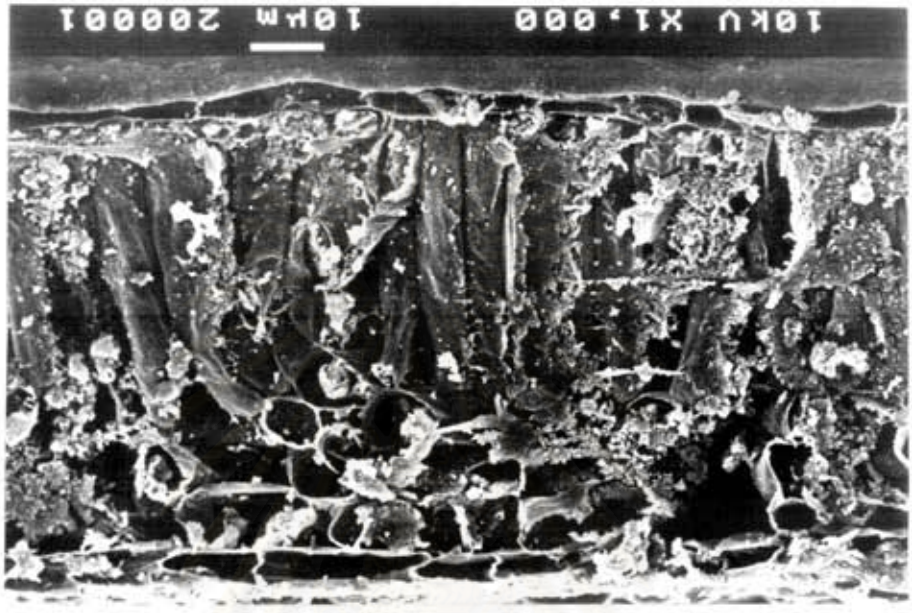
ภาพ scanning electron microscope ของใบมันสำปะหลัง



รูป ข.1 ภาพตัดขวางของใบมันสำปะหลังที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ



รูป ข.2 ภาพตัดขวางของใบมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ
ด้วยความร้อนที่ 40°C 40นาที ในน้ำกลั่น



รูป ข.3 ภาพตัดขวางของใบมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ
โดยแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% 30°C 20 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ภาพอุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกที่ดัดแปลงมาใช้

รูป ค.1 ชุดเครื่องมือที่ใช้ในการกลั่นเพื่อวิเคราะห์กรดไฮโดรไซยานิก

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางการใช้งานและปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีน

ง.1 การละลาย (solubility)

ตามวิธีของ Wang และ Kinsella (1976A)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Kjeldatherm and Vapodest 1, Gerhardt KT 85
2. เครื่องวัด pH (HORIBA, F-21)
3. เครื่องเขย่า (New Brunswick Scientific, Model G-33)

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1N
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50% และ 0.1N
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4%
5. Kjeltabs catalyst
6. methyl red-methylene blue indicator
7. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1N

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร
2. ปรับ pH 2-12 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1N
3. นำสารละลายไปเขย่าที่ความเร็ว 400 รอบ/นาที 24°C นาน 30 นาที
4. centrifuge ที่ 6000 รอบ/นาที นาน 10 นาที
5. วัดปริมาณโปรตีนในส่วนน้ำใส โดยใช้ micro-Kjeldahl

$$\text{การละลาย (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในน้ำใส (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

ง.2 ความหนาแน่น (bulk density)

ตามวิธีของ Wang และ Kinsella (1976A)

วิธีทดลอง

1. ใส่ตัวอย่างในกระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร ให้มีความสูงขึ้นมา 5 เซนติเมตร
2. จับกระบอกตวงเคาะเบาๆกับโต๊ะ 10 ครั้ง
3. บันทึกปริมาตร

$$\text{ความหนาแน่น (กรัม/มิลลิลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}} \times 100$$

ง.3 การดูดซับน้ำ (water absorption)

ตามวิธีของ Wang และ Kinsella (1976A)

อุปกรณ์

1. เครื่องเขย่า (New Brunswick Scientific, Model G-33)
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettich Zentrifugen, D-78532)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร
2. คนผสมเป็นเวลา 1 นาที
3. นำไปเขย่าที่ 400 รอบ/นาที 24°C นาน 30 นาที
4. centrifuge ที่ 3700 รอบ/นาที นาน 25 นาที

$$\text{การดูดซึมน้ำ (มิลลิลิตรของน้ำ/กรัมของตัวอย่าง)} = \frac{(A - B)}{C} \times 100$$

A = ปริมาตรน้ำที่เติมเริ่มต้น (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรน้ำที่เหลือหลังจาก centrifuge (มิลลิลิตร)

C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ง.4 การดูดซับน้ำมัน (fat absorption)

ตามวิธีของ Wang และ Kinsella (1976A)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่องเขย่า (New Brunswick Scientific, Model G-33)
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettich Zentrifugen, D-78532)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่าง 500 มิลลิกรัม ในน้ำมันข้าวโพด 3 มิลลิลิตร
2. คนผสมเป็นเวลา 1 นาที
3. ตั้งพักไว้ที่ 24°C นาน 30 นาที
4. centrifuge ที่ 3700 รอบ/นาที นาน 25 นาที

$$\text{การดูดซึมน้ำมัน (มิลลิลิตรของน้ำมัน/กรัมของตัวอย่าง)} = \frac{(A - B)}{C} \times 100$$

A = ปริมาตรน้ำมันที่เติมเริ่มต้น (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรน้ำมันที่เหลือหลังจาก centrifuge (มิลลิลิตร)

C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.5 การเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity)

ดัดแปลงจากวิธีของ Wang และ Kinsella (1976A)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Hand homoginizer (Ystral, GmbH 7801 Dottingen)
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettich Zentrifugen, D-78532)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 3.5 กรัม ใส่น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
2. คนให้กระจายตัวโดยใช้ Hand homoginizer ความเร็วต่ำสุด
3. เติมน้ำมันข้าวโพด 50 มิลลิลิตร คนด้วยความเร็วสูงสุด นาน 1 นาที
4. แบ่งใส่หลอด นำไป centrifuge ที่ 3200 รอบ/นาที นาน 5 นาที
5. วัดความสูงของของเหลวทั้งหมดในหลอดและของชั้น emulsion

$$\text{Emulsifying activity (\%)} = \frac{\text{ความสูงของชั้น emulsion}}{\text{ความสูงของของเหลวทั้งหมดในหลอด}} \times 100$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.6 เสถียรภาพของอิมัลชัน (emulsion stability)

ดัดแปลงจากวิธีของ Wang และ Kinsella (1976A)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Hand homoginizer (Ystral, GmbH 7801 Dottingen)
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettich Zentrifugen, D-78532)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 3.5 กรัม ใส่น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
2. คนให้กระจายตัวโดยใช้ Hand homoginizer ความเร็วต่ำสุด
3. เติมน้ำมันข้าวโพด 50 มิลลิลิตร คนด้วยความเร็วสูงสุด นาน 1 นาที
4. แบ่งใส่หลอด นำไปให้ความร้อนที่ 80°C นาน 30 นาที ทำให้เย็นจนถึง 15°C
5. centrifuge ที่ 3200 รอบ/นาที นาน 5 นาที
5. วัดความสูงของของเหลวทั้งหมดในหลอดและของชั้น emulsion

$$\text{Emulsion stability (\%)} = \frac{\text{ความสูงของชั้น emulsion}}{\text{ความสูงของของเหลวทั้งหมดในหลอด}} \times 100$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.7 การขยายตัวของโฟม (foam expansion) และเสถียรภาพของโฟม (foam stability) ดัดแปลงจากวิธีของ Tjahjadi, Lin และ Breene (1988)

<u>อุปกรณ์</u>

เครื่องตีไข่ (AIRLUX, Model No. HA-3127)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียมตัวอย่างเข้มข้น 6% ในน้ำกลั่น
2. ตีให้เกิดฟองด้วยเครื่องตีไข่ นาน 8 นาที
3. บันทึกปริมาตรฟองที่ได้ที่เวลา 0 1 5 10 15 และ 30 นาที

$$\text{Foam expansion (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรฟองที่เวลา 0 นาที}}{\text{ปริมาตรของเหลวก่อนตีฟอง}} \times 100$$

$$\text{Foam stability (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรฟองที่เวลาต่างๆ}}{\text{ปริมาตรฟองที่เวลา 0 นาที}} \times 100$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.8 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน

จากการวิเคราะห์ของศูนย์เครื่องมือ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

<u>อุปกรณ์</u>

Amino Acid Analyser (Beckman, System 6300 High Performance Analyzer)

<u>วิธีทดลอง</u> โดย HCl Hydrolysis สำหรับกรดอะมิโนทุกตัวยกเว้นซีสทีนและเมทไธโอนีน

1. ชั่งตัวอย่างให้มีปริมาณโปรตีน 5 มิลลิกรัม เติมลงใน หลอดทดลองแบบฝาเกลียว
2. เติม internal standard (25 ไมโครโมล/มิลลิลิตร AAD (amino adipic acid)) 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดตัวอย่าง
3. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6N ลงไป 5 มิลลิลิตร เติมก๊าซไนโตรเจนแล้วปิดฝา
4. ย่อย (hydrolyse) ตัวอย่างที่ 110°C เป็นเวลา 22 ชั่วโมง
5. กรองตัวอย่างผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน
6. ดูดสารละลายตัวอย่างมา 10 ไมโครลิตร ทำแห้งโดยระบบสุญญากาศ
7. ละลายในบัฟเฟอร์ 250 ไมโครลิตร
8. ฉีดเข้าเครื่องวิเคราะห์ (run sample 50 ไมโครลิตร/load sample 75 ไมโครลิตร/ Dilution Factor = 1: 2550)

<u>วิธีคำนวณเป็นหน่วย กรัมกรดอะมิโน/100 กรัมตัวอย่าง (%AA)</u>

$$\%AA = MW \times n \times 25.5 / (\%R \times Wt) \quad \text{หรือ}$$
$$MW \times n \times 25 / (\%R \times V)$$

MW = มวลโมเลกุลของกรดอะมิโน
n = นาโนโมล/run
%R = Recovery
Wt = น้ำหนักตัวอย่างเป็นมิลลิกรัม
V = ปริมาตรตัวอย่างเป็นไมโครลิตร

<u>วิธีการทดลอง</u> โดย Performic Oxidation สำหรับกรดอะมิโนซีสทีนและเมทไธโอนีน

1. ชั่งตัวอย่างให้มีปริมาณโปรตีน 2.5 มิลลิกรัม
2. เติม internal standard ลงไป 50 ไมโครลิตร
3. ใส่กรดเปอร์ฟอร์มิก (performic acid) (19: 1 HCOOH: H_2O_2) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดตัวอย่าง
4. ตั้งทิ้งไว้ที่ 25°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปทำแห้ง
5. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6N ลงไป 2.5 มิลลิลิตร แล้วทำ HCl Hydrolysis
6. กรองตัวอย่างผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน
7. ดูดสารละลายตัวอย่างมา 10 ไมโครลิตร ทำแห้งโดยระบบสุญญากาศ
8. ละลายในบัฟเฟอร์ 250 ไมโครลิตร
9. ฉีดเข้าเครื่องวิเคราะห์ (run sample 50 ไมโครลิตร/load sample 75 ไมโครลิตร/ Dilution Factor = 1: 1250)

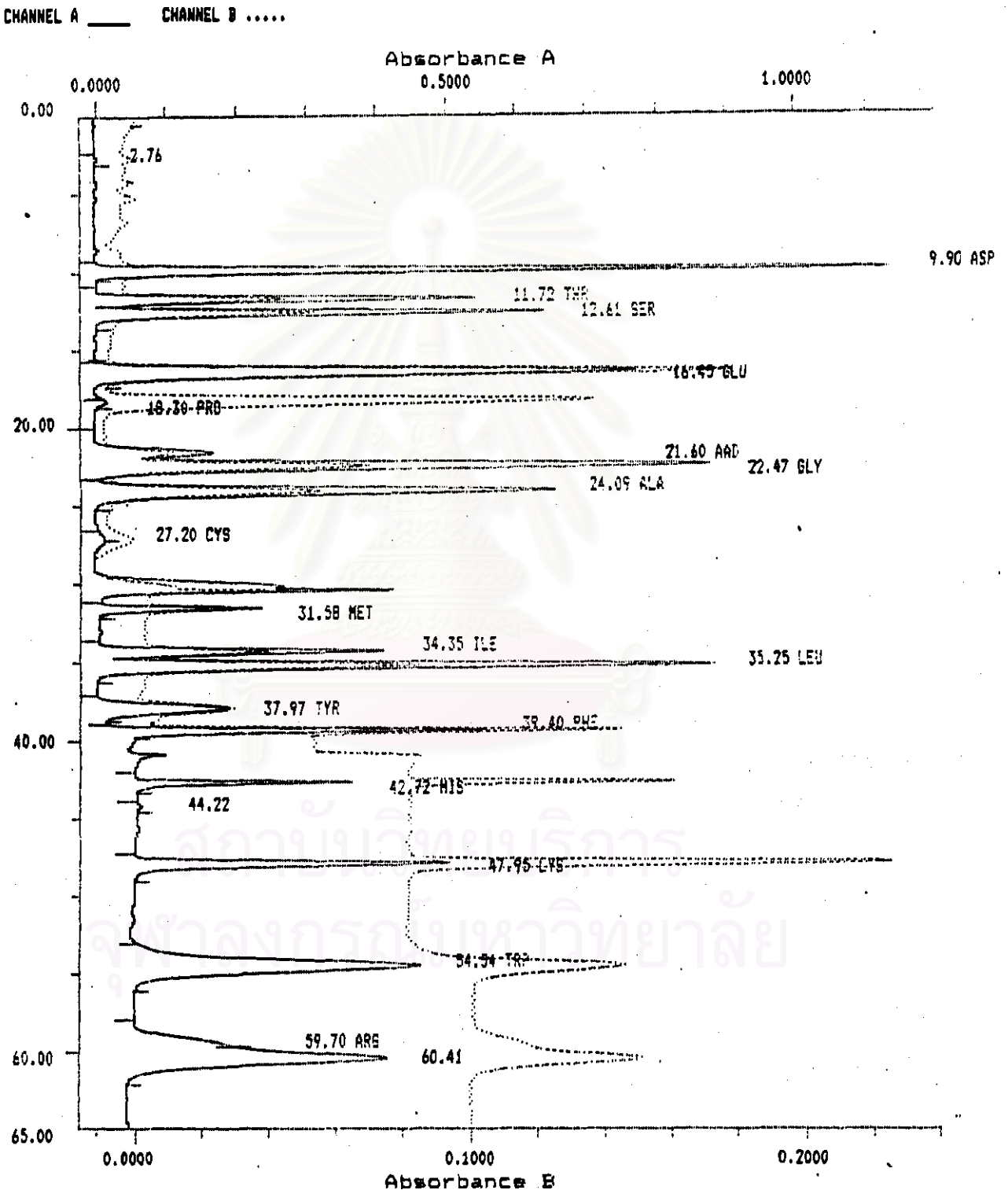
<u>วิธีคำนวณเป็นหน่วย กรัมกรดอะมิโน/100 กรัมตัวอย่าง (%AA)</u>

$$\%AA = MW \times n \times 12.5 / (\%R \times Wt) \quad \text{หรือ}$$

$$MW \times n \times 12.5 / (\%R \times V)$$

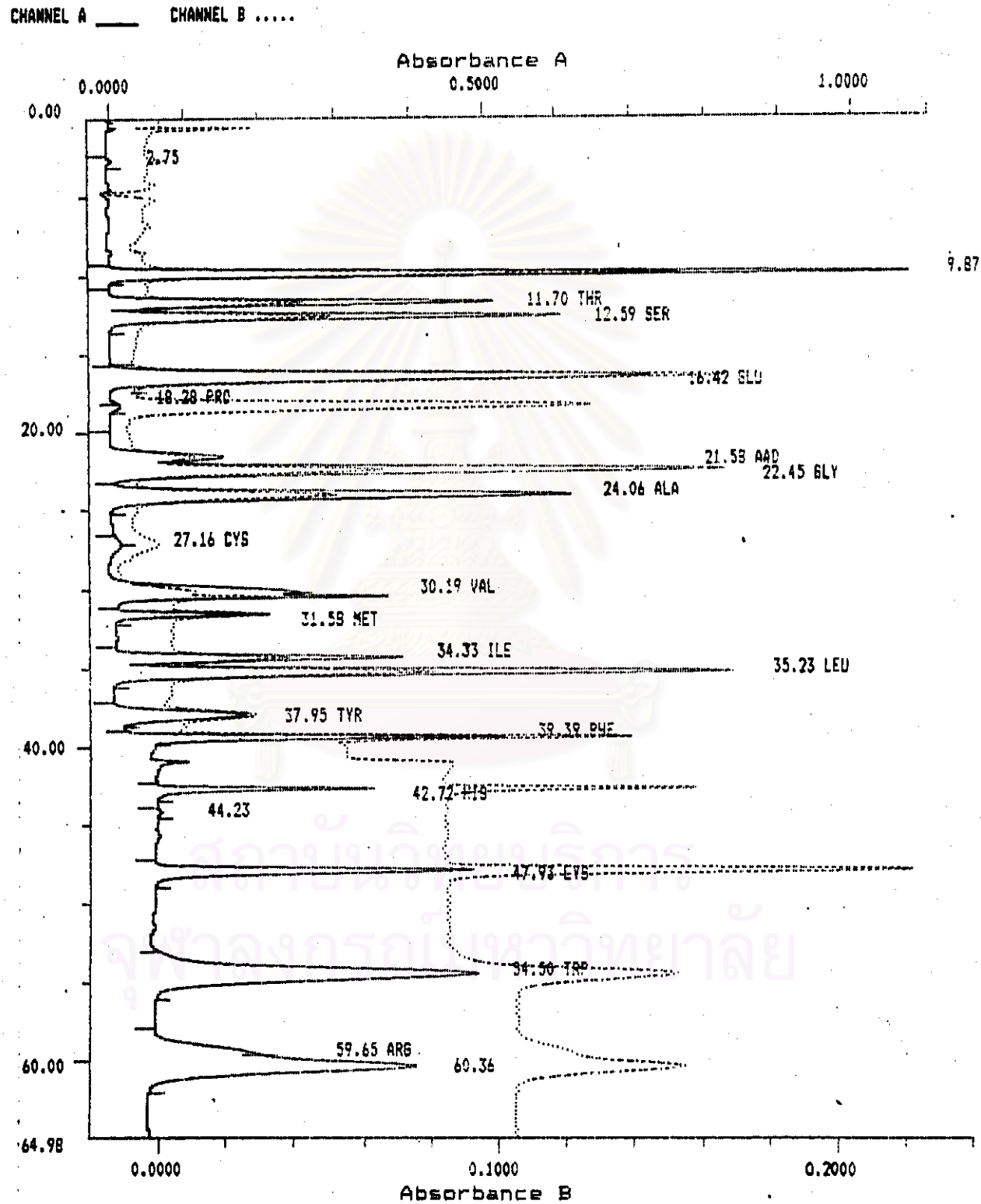
MW = มวลโมเลกุลของกรดอะมิโน
n = นาโนโมล/run
%R = Recovery
Wt = น้ำหนักตัวอย่างเป็นมิลลิกรัม
V = ปริมาตรตัวอย่างเป็นไมโครลิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



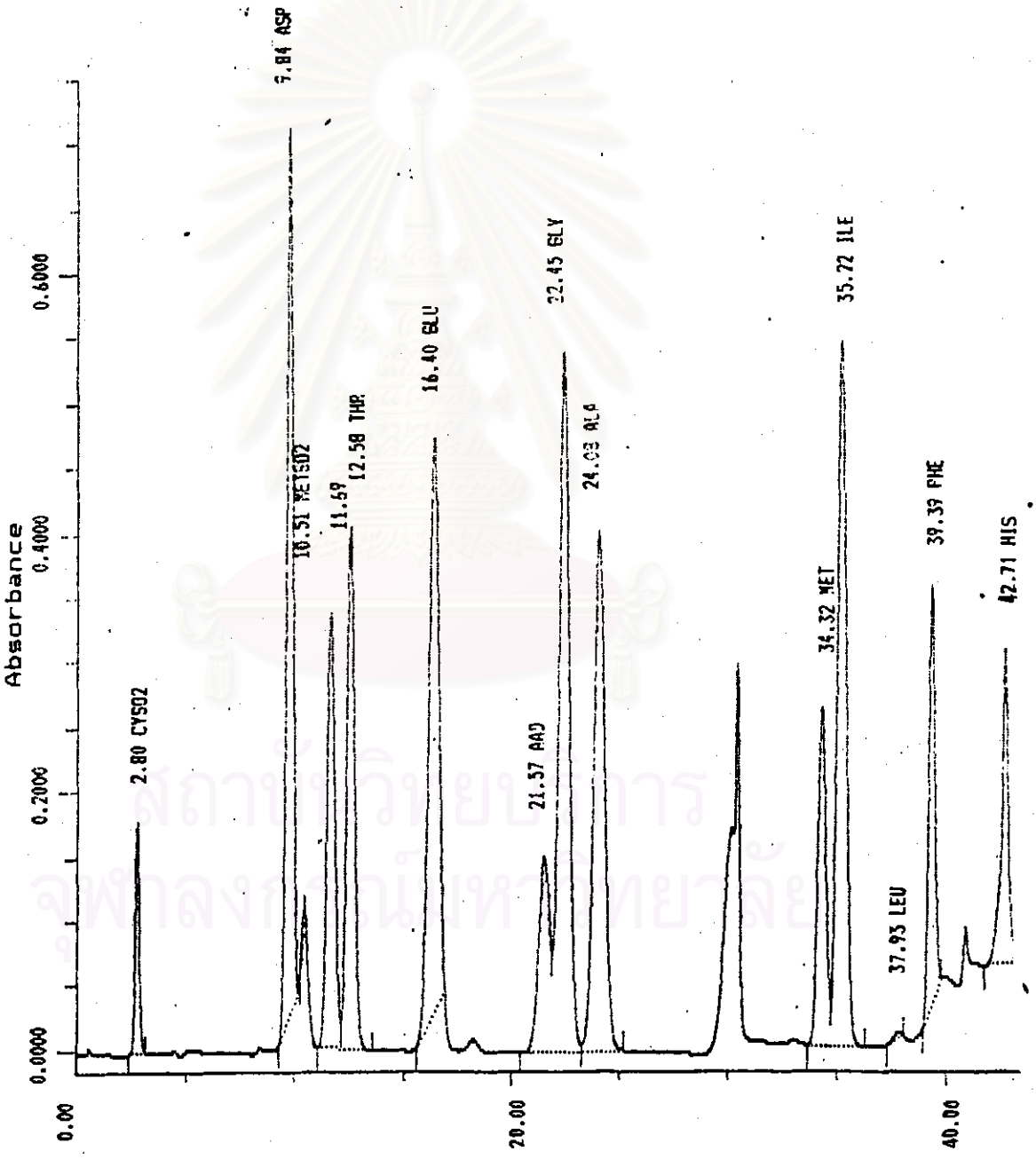
..... โปรลีน ——— กรดอะมิโนทุกตัวยกเว้นโปรลีน

รูปที่ ง.1 Chromatogram สำหรับกรดอะมิโนทุกตัวยกเว้นซิสทีนและเมทไธโอนีนซ้ำที่ 1

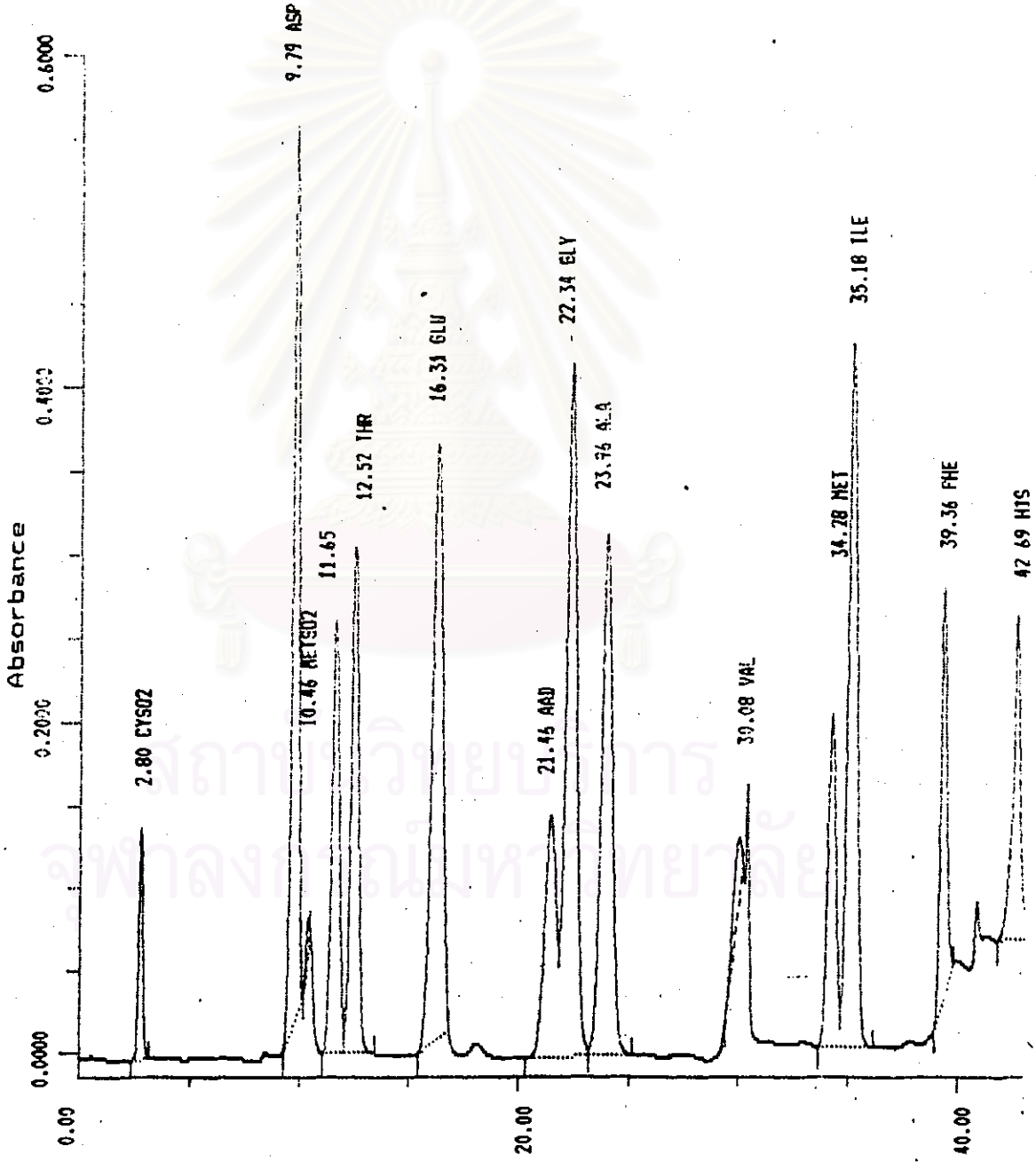


..... โปรลีน ——— กรดอะมิโนทุกตัวยกเว้นโปรลีน

รูปที่ ง.2 Chromatogram สำหรับกรดอะมิโนทุกตัวยกเว้นซีสทีนและเมทไธโอนีนซ้ำที่ 2



รูปที่ ง.3 Chromatogram สำหรับกรดอะมิโนซีสทีนและเมทไธโอนีนซ้ำที่ 1



รูปที่ ง.4 Chromatogram สำหรับกรดอะมิโนซิสทีนและเมทไธโอนีนซ้ำที่ 2

ภาคผนวก จ

ตารางข้อมูลและการวิเคราะห์ทางสถิติจากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ตารางที่ จ.1 ค่าความแปรปรวนของอุณหภูมิของน้ำกลั่นและเวลาในการแช่วัตถุดิบ เพื่อปรับสภาพใบด้วยความร้อน

SOV	d.f.	MS	F test stat	Sig. of F	Critical Value
อุณหภูมิน้ำกลั่น (A)	3	379.154	257.774	0.002	3.24
เวลาในการแช่ (B)	3	27.107	18.429	0.000	3.24
AB	9	48.119	32.715	0.000	2.54
error	16	1.471			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.2 %protein recovery ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิของน้ำที่ให้ความร้อนกับเวลาในการให้ความร้อนแก่ใบมันสำปะหลัง

อุณหภูมิน้ำกลั่น (°C)	เวลาในการแช่ (นาที)	ค่าเฉลี่ย %protein recoveryในการสกัด ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
30	0	$52.54^{cd} \pm 0.50$
	20	$50.08^{d} \pm 0.90$
	40	$50.06^{d} \pm 0.98$
	60	$49.71^{d} \pm 0.35$
40	0	$52.54^{cd} \pm 0.50$
	20	$54.11^{bc} \pm 0.91$
	40	$58.09^{a} \pm 0.50$
	60	$56.53^{ab} \pm 0.96$
50	0	$52.54^{cd} \pm 0.50$
	20	$55.67^{ab} \pm 1.29$
	40	$54.40^{bc} \pm 0.84$
	60	$51.59^{c} \pm 2.38$
60	0	$52.54^{cd} \pm 0.50$
	20	$38.13^{e} \pm 2.61$
	40	$35.94^{ef} \pm 1.95$
	60	$33.18^{f} \pm 0.01$

ตารางที่ จ.3 ค่าความแปรปรวนของสารละลายแต่ละชนิดที่ใช้แช่วัตถุดิบที่ 30°C 60 นาที

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
ชนิดของสารเคมี	3	21.672	18.304	0.0001	3.49
error	12	1.184			

ตารางที่ จ.4 ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ในช่วง 0-10% ที่ใช้แช่วัตถุดิบที่ 30°C 60 นาที

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
ความเข้มข้น	8	15.922	19.815	0.0001	3.23
error	9	0.804			

ตารางที่ จ.5 %protein recovery ในการสกัด เมื่อแปรความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในช่วง 0-10% สำหรับแช่วัตถุดิบ

ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ที่แช่ใบ (%)	ค่าเฉลี่ย %protein recovery ในการสกัด ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	$52.00^{de} \pm 1.06$
1	$53.00^{d} \pm 0.91$
2	$57.47^{ab} \pm 0.84$
3	$57.13^{ab} \pm 0.65$
4	$58.47^{a} \pm 1.05$
5	$57.63^{ab} \pm 0.15$
6	$56.23^{bc} \pm 1.07$
8	$55.26^{c} \pm 1.02$
10	$50.50^{e} \pm 0.92$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.6 ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ อุณหภูมิและเวลาในการแช่วัตถุดิบ เพื่อปรับสภาพใบด้วยสารเคมี

SOV	d.f.	MS	F test stat	Sig. of F	Critical Value
ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ (A)	2	9.228	7.521	0.002	3.26
อุณหภูมิในการแช่(B)	2	46.261	37.704	0.000	3.26
เวลาในการแช่ (C)	3	110.465	90.033	0.000	2.87
AB	4	3.669	2.990	0.031	2.63
AC	6	2.348	1.914	0.105	2.36
BC	6	7.604	6.197	0.000	2.36
ABC	12	2.211	1.802	0.086	2.03
error	36	1.227			

ตารางที่ จ.7 %protein recovery ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์และอุณหภูมิในการแช่วัตถุดิบภายในเวลา 0-60 นาที

ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ (%)	อุณหภูมิสารละลาย (°C)	ค่าเฉลี่ย %protein recovery ในการสกัด ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
2	30	$57.72^{a} \pm 3.20$
	40	$57.42^{ab} \pm 2.68$
	50	$56.29^{abc} \pm 2.19$
3	30	$57.29^{ab} \pm 2.52$
	40	$56.30^{abc} \pm 2.79$
	50	$54.58^{bc} \pm 2.83$
4	30	$58.08^{a} \pm 2.93$
	40	$56.21^{abc} \pm 2.86$
	50	$53.96^{c} \pm 2.17$

ตารางที่ จ.8 %protein recovery ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิของสารละลายโซเดียมคลอไรด์และเวลาในการแช่วัตถุดิบ เมื่อพิจารณาความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ในช่วง 2-4%

อุณหภูมิของสารละลาย (°C)	เวลาในการแช่ (นาที)	ค่าเฉลี่ย %protein recovery ในการสกัด ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
30	0	$53.62^{de} \pm 1.11$
	20	$60.17^{a} \pm 1.26$
	40	$59.05^{ab} \pm 1.79$
	60	$57.94^{b} \pm 1.56$
40	0	$53.62^{de} \pm 1.11$
	20	$59.74^{a} \pm 1.42$
	40	$58.00^{b} \pm 1.74$
	60	$55.23^{cd} \pm 1.96$
50	0	$53.62^{de} \pm 1.11$
	20	$57.91^{b} \pm 1.69$
	40	$55.50^{c} \pm 1.91$
	60	$52.75^{e} \pm 2.25$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.9 ร้อยละการละลายของโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดแต่ละตัวอย่างที่มีการปรับสภาพใบต่างกัน เมื่อปรับ pH ในช่วง 2-10

pH	ค่าเฉลี่ยร้อยละการละลายของโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัด* ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ใบไม่ปรับสภาพ	ปรับสภาพที่ 40°C 40 นาที	แช่โซเดียมคลอไรด์ 2% 30°C 20 นาที
2	66.00 ± 2.26	57.50 ± 0.22	65.92 ± 2.50
3	60.76 ± 0.41	56.57 ± 2.37	62.05 ± 1.02
3.25	51.78 ± 1.93	46.37 ± 0.28	58.75 ± 3.09
3.5	51.58 ± 1.65	46.33 ± 0.16	59.10 ± 2.44
3.75	51.81 ± 1.87	46.33 ± 0.15	58.42 ± 2.63
4	52.00 ± 2.60	46.30 ± 0.24	58.43 ± 1.77
4.25	51.99 ± 1.71	46.04 ± 1.56	58.39 ± 3.11
4.5	52.01 ± 1.81	50.28 ± 1.59	59.76 ± 0.33
5	60.56 ± 1.64	53.76 ± 2.30	63.88 ± 3.03
6	74.09 ± 1.37	66.92 ± 2.27	74.41 ± 2.37
7	74.86 ± 1.78	70.37 ± 1.22	77.29 ± 2.30
8	77.69 ± 1.80	76.06 ± 0.34	78.39 ± 3.71
9	79.99 ± 1.29	78.56 ± 1.28	78.94 ± 4.22
10	77.36 ± 1.93	78.23 ± 3.53	77.27 ± 1.25

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

ตารางที่ จ.10 ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นกลูดารัลดีไฮด์ ที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนร่วมกับการปรับ pH จากน้ำโปรตีนของใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
ความเข้มข้น	6	55.836	71.450	0.0000	2.85
error	14	0.782			

ตารางที่ จ.11 ร้อยละปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดของกระบวนการผลิตที่ใช้ใบไม่ผ่านการปรับสภาพ เมื่อแปรปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ในการตกตะกอน

ความเข้มข้นกลูตารัลดีไฮด์ (%โดยปริมาตร)	ค่าเฉลี่ย %protein recovery ในการตกตะกอน ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	$55.18^{c} \pm 0.79$
0.1	$61.66^{b} \pm 0.88$
0.3	$62.90^{b} \pm 1.04$
0.5	$66.97^{a} \pm 0.98$
1.0	$66.41^{a} \pm 0.77$
1.5	$66.33^{a} \pm 0.88$
2.0	$66.78^{a} \pm 0.80$

ตารางที่ จ.12 ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นกลูตารัลดีไฮด์ ที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนร่วมกับการปรับ pH จากน้ำโปรตีนของใบที่ผ่านการปรับสภาพโดยแช่น้ำกลั่นที่ 40°C 40 นาที

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
ความเข้มข้น	6	43.272	50.788	0.0000	2.85
error	14	0.852			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.13 ร้อยละปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดของกระบวนการผลิตที่ใช้ใบปรับสภาพที่ 40°C 40 นาที เมื่อแปรปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ในการตกตะกอน

ความเข้มข้นกลูตาราลดีไฮด์ (%โดยปริมาตร)	ค่าเฉลี่ย %protein recovery ในการตกตะกอน ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	$61.25^{c} \pm 0.96$
0.1	$62.86^{c} \pm 0.97$
0.3	$64.97^{b} \pm 0.81$
0.5	$70.06^{a} \pm 0.86$
1.0	$69.88^{a} \pm 1.01$
1.5	$69.80^{a} \pm 0.78$
2.0	$69.58^{a} \pm 1.03$

ตารางที่ จ.14 ค่าความแปรปรวนของความเข้มข้นกลูตาราลดีไฮด์ ที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนร่วมกับการปรับ pH จากน้ำโปรตีนของใบที่ผ่านการปรับสภาพโดยแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% ที่ 30°C 20 นาที

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
ความเข้มข้น	6	16.938	24.951	0.0000	2.85
error	14	0.679			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.15 ร้อยละปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดของกระบวนการผลิตที่ใช้ใบปรับสภาพโดยแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% ที่ 30°C 20 นาที เมื่อแปรปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ในการตกตะกอน

ความเข้มข้นกลูตารัลดีไฮด์ (%โดยปริมาตร)	ค่าเฉลี่ย %protein recovery ในการตกตะกอน ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	$49.97^{c} \pm 0.88$
0.1	$50.49^{c} \pm 1.09$
0.3	$52.30^{b} \pm 0.58$
0.5	$52.50^{b} \pm 0.76$
1.0	$56.27^{a} \pm 0.39$
1.5	$54.87^{a} \pm 0.88$
2.0	$54.87^{a} \pm 0.96$

ตารางที่ จ.16 ค่าความแปรปรวนของ %protein recovery ในช่วงการสกัดของแต่ละกระบวนการ

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
กระบวนการ	2	215.102	871.075	0.0000	4.26
error	9	0.247			

ตารางที่ จ.17 ค่าความแปรปรวนของ %protein recovery ในช่วงการตกตะกอนของแต่ละกระบวนการ

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
กระบวนการ	2	200.093	871.969	0.0000	4.26
error	9	0.230			

ตารางที่ จ.18 ค่าความแปรปรวนของ %overall protein recovery ของแต่ละกระบวนการ

SOV	d.f.	MS	F-Ratio	F-Prob.	Critical value
กระบวนการ	2	120.352	1333.658	0.0000	4.26
error	9	0.090			

ตารางที่ จ.19 ร้อยละปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำที่เหลือหลังจากการแช่ใบที่ 40°C 40 นาที และในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% 30°C 20 นาที เทียบกับปริมาณโปรตีนในใบเริ่มต้น

ตัวอย่างน้ำที่เหลือหลังการแช่ใบ	ค่าเฉลี่ยร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำเทียบกับใบเริ่มต้น* ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
น้ำกลั่นที่ 40°C 40 นาที	2.39 ± 0.00
สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% 30°C 20 นาที	2.41 ± 0.01

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

ตารางที่ จ.20 ร้อยละการละลายของโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังที่ pH 2-12

pH	ค่าเฉลี่ยร้อยละการละลายของโปรตีนเข้มข้น* ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
2	24.67 ± 0.96
3	17.34 ± 0.28
3.25	17.42 ± 0.33
3.5	17.31 ± 0.02
3.75	17.35 ± 0.78
4	17.35 ± 0.17
4.5	17.54 ± 0.99
5	20.43 ± 0.10
5.25	21.78 ± 0.53
6	22.14 ± 0.54
7	28.01 ± 0.05
8	37.07 ± 1.10
9	39.14 ± 2.22
10	52.87 ± 0.09
11	67.31 ± 3.03
12	81.79 ± 2.93

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

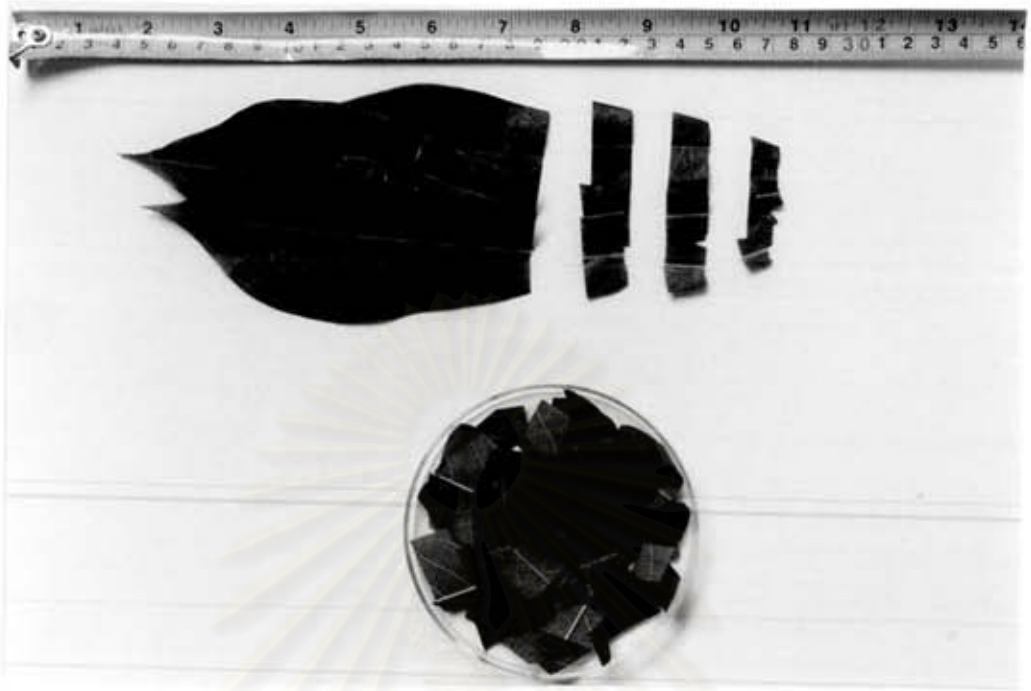
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ

ภาพแสดงลักษณะวัตถุดิบแต่ละขั้นตอนและผลิตภัณฑ์ที่ได้

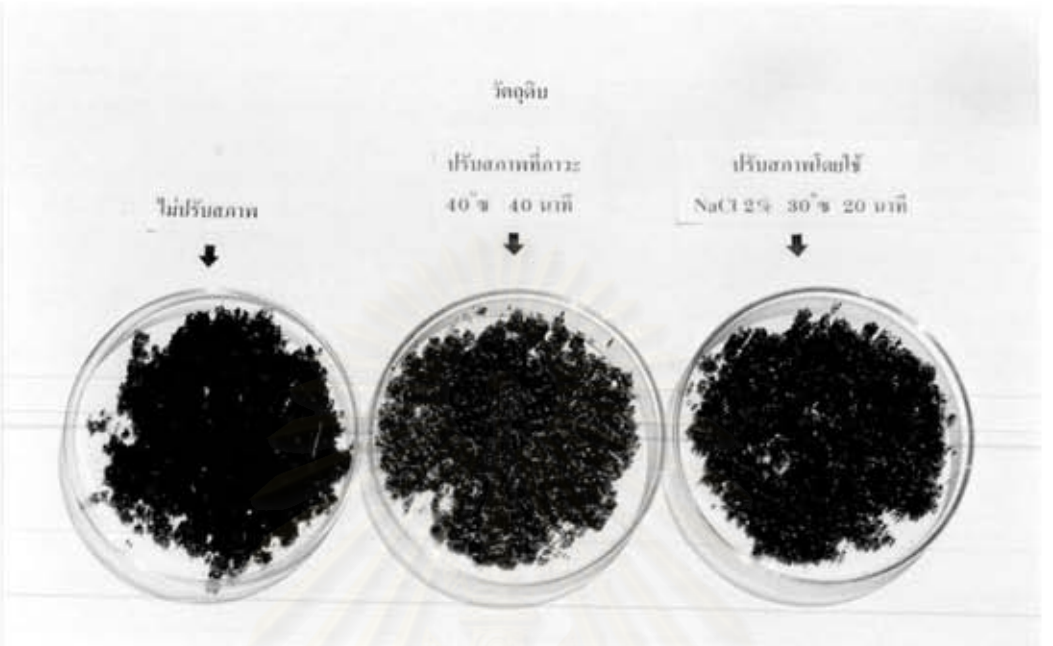
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ ฉ.1 ลักษณะใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้านาที

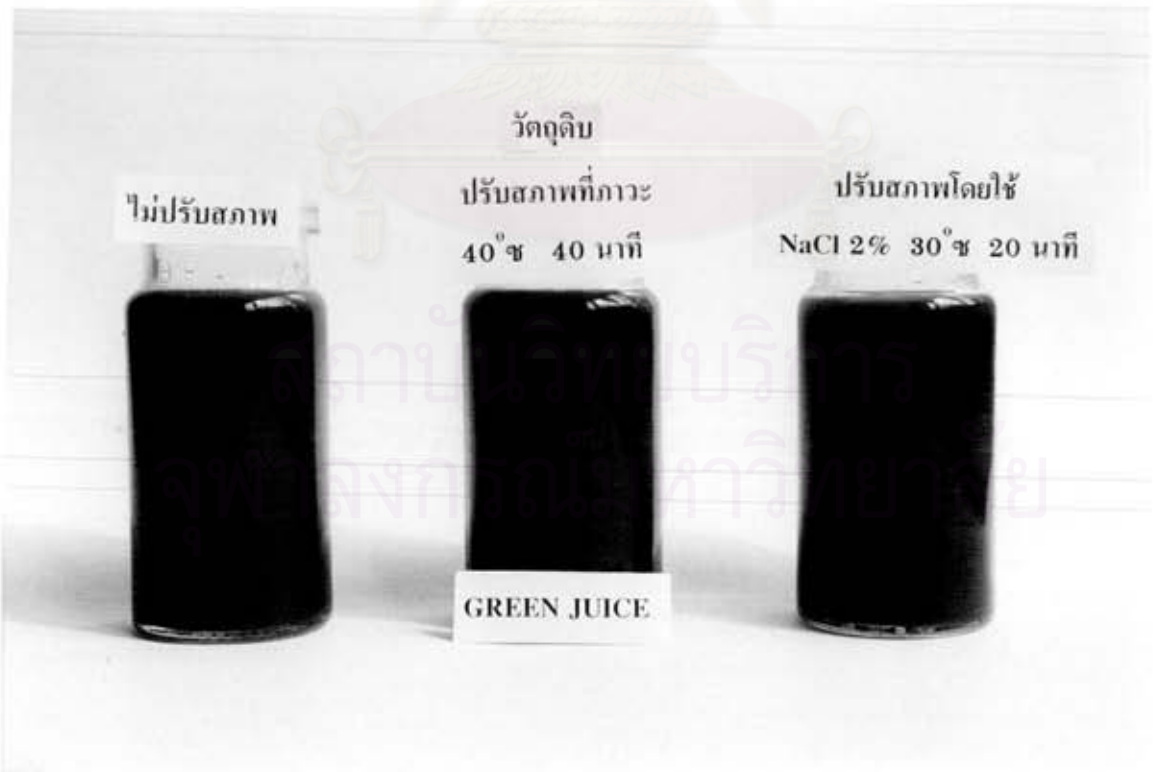


รูปที่ ฉ.2 ใบมันสำปะหลังที่ตัดตามขวางขนาด 1-1.5 เซนติเมตร

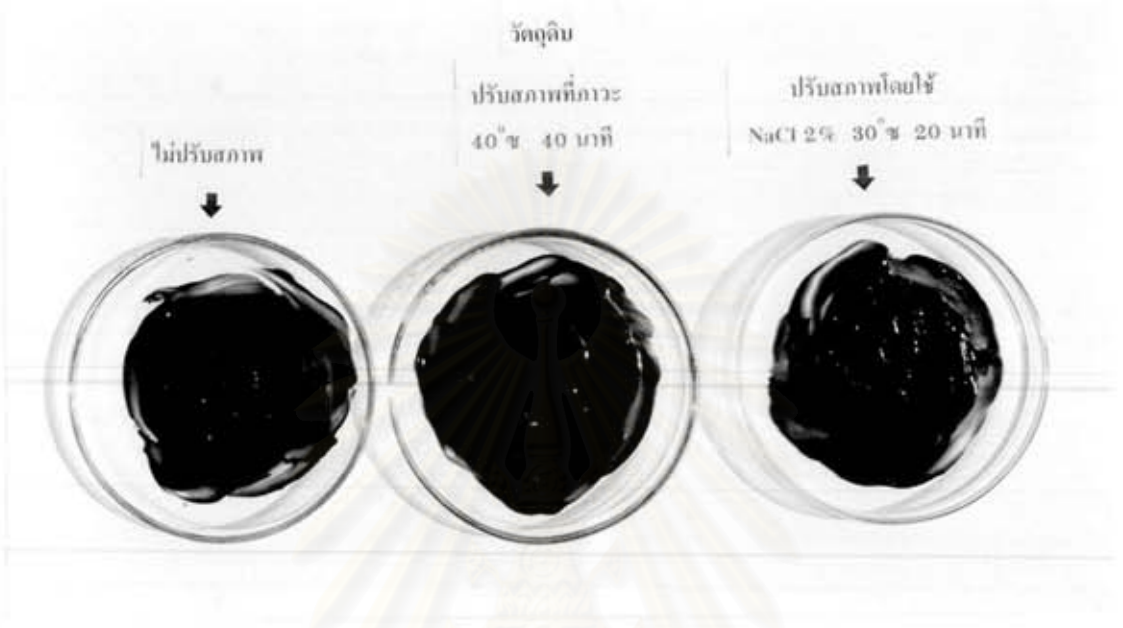
รูปที่ ฉ.3 ลักษณะของผสมหลังจากปั่นใบกับบัฟเฟอร์ครั้งแรก



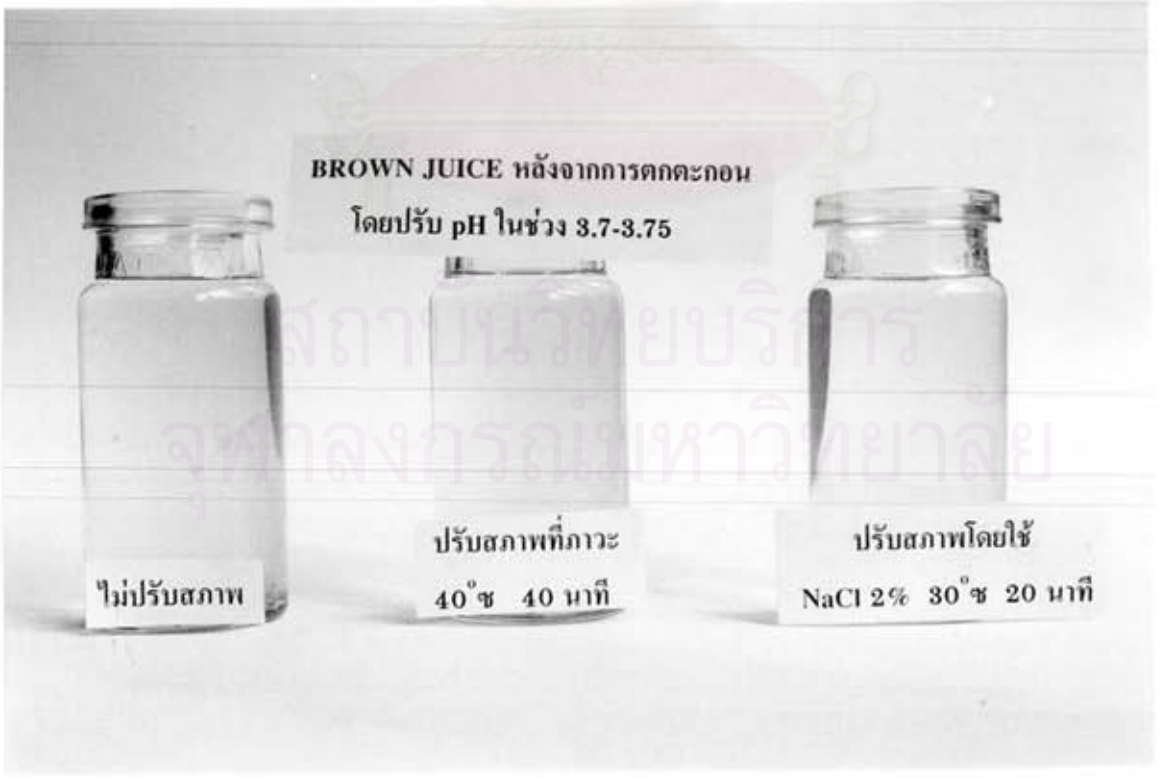
รูปที่ ฉ.4 กากใบหลังจากคั้นน้ำโปรตีนออกแล้ว



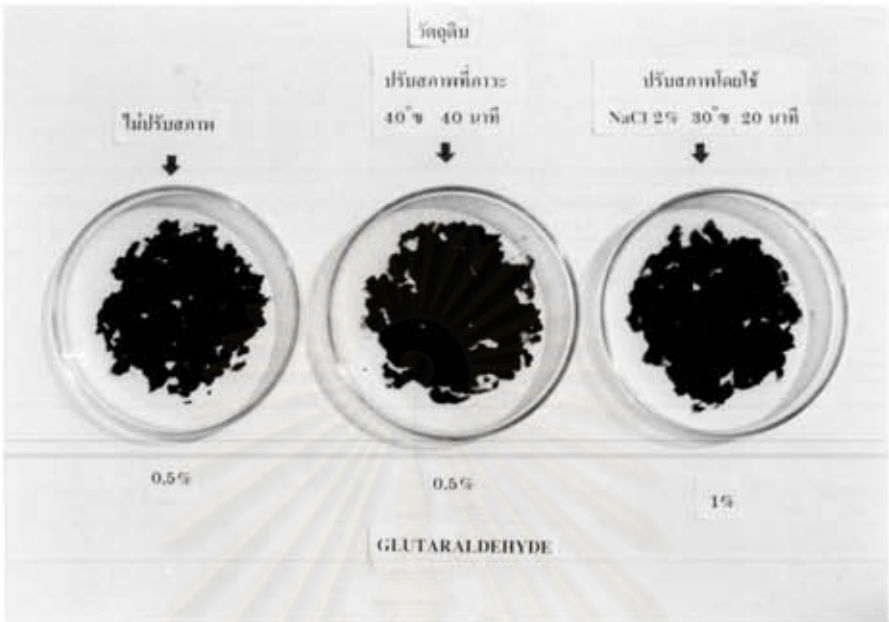
รูปที่ ฉ.5 น้ำโปรตีนสกัดจากใบแต่ละภาวะ



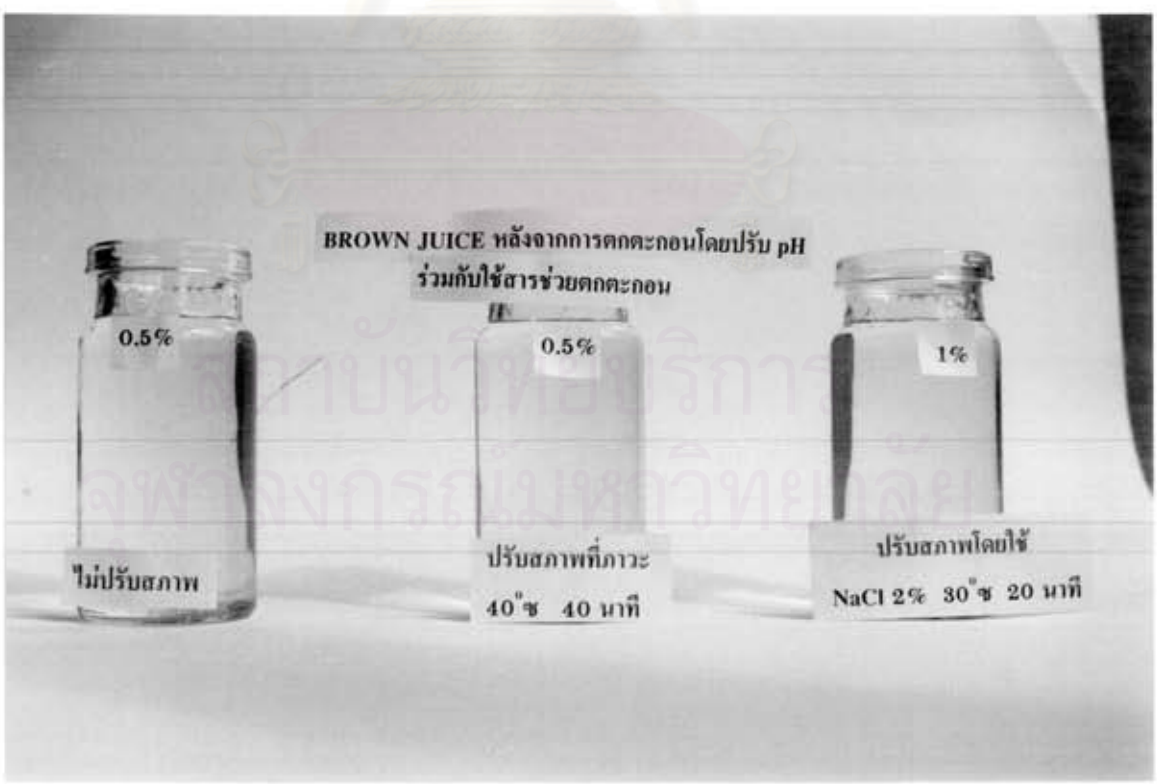
รูปที่ ฉ.6 โปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการตกตะกอนโดยปรับ pH ที่ 3.7-3.75



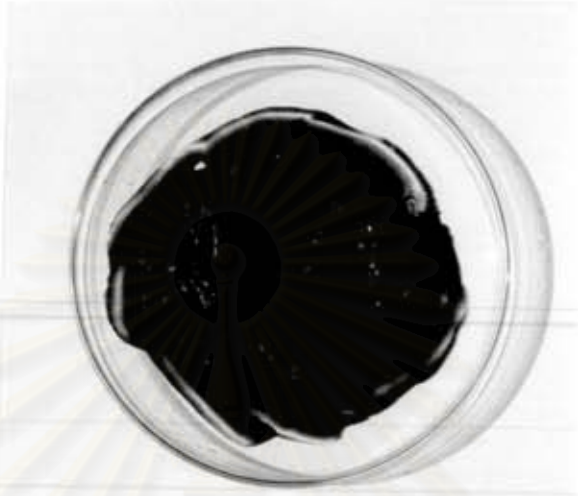
รูปที่ ฉ.7 น้ำใสหลังจากการตกตะกอนโดยปรับ pH ที่ 3.7-3.75



รูปที่ ฉ.8 โปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการตกตะกอนโดยเติมกลูตารัลดีไฮด์ และปรับ pH ที่ 3.7-3.75



รูปที่ ฉ.9 น้ำใสหลังจากการตกตะกอนโดยเติมกลูตารัลดีไฮด์ และปรับ pH ที่ 3.7-3.75



รูปที่ ฉ.10 โปรตีนเข้มข้นจากวัตถุดิบที่ไม่ปรับสภาพที่การตกตะกอนที่ 80°C

รูปที่ ฉ.11 น้ำใสหลังจากการตกตะกอนที่ 80°C

รูปที่ ฉ.12 ผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งระบบแช่เยือกแข็ง บด และผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ช

ตัวอย่างการคำนวน %overall protein recovery

จากข้อมูลในตารางที่ 4.6 ใช้ใบมันสำปะหลังสดมีความชื้น 72.27% โดยน้ำหนักเปียก และมีปริมาณโปรตีน 31.76% โดยน้ำหนักแห้ง เป็นวัตถุดิบจำนวน 1000 กรัม คิดเป็นน้ำหนักแห้งของใบได้ 1000 X [(100-72.27)/100] = 277.3 กรัม ดังนั้นคิดเป็นปริมาณโปรตีน (crude protein) ในใบ 277.3 X (31.76/100) = 88.07 กรัม ต่อ 1000 กรัมของวัตถุดิบ (ใบสด)

ผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้น มีปริมาณโปรตีน 61.47% โดยน้ำหนักแห้ง จากกระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นให้ผลิตภัณฑ์มา 64.1 กรัม จากใบสด 1000 กรัม ดังนั้นคิดเป็นโปรตีน 64.1 X (61.47/100)= 39.40 กรัม ต่อ 1000 กรัมของวัตถุดิบ (ใบสด)

เมื่อคิดเป็น %overall protein recovery จะได้ (39.40/88.07) X 100 = 44.74%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้วิจัย

นางสาว ภรณี ศรีเสาวลักษณ์ เกิดวันที่ 13 พฤษภาคม พ.ศ. 2514 ที่อำเภอบางกอกใหญ่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2535 จากนั้นเข้าทำงานในตำแหน่ง Q.C. coordinator ที่บริษัทไทยอกริฟู้ดส์ จำกัด (มหาชน) อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ เป็นเวลา 2 ปี และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2538

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย