รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กิตินงษ์ ห่วงรักษ์. 2529. **ตัวแปรในกระบวนการผลิตและการทดแทนแป้งถั่วเขียวด้วยแป้งถั่วชนิดอื่นในการผลิตวุ้นเส้น.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กุลวดี ภูมิสวัสดิ์. 2534. **การตั้งตำรับและประเมินคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทางการแพทย์ชนิดผงสูตรโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัย, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527. **ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.** กรุงเทพมหานคร: บริษัทสยามออฟเซ็ทจำกัด.

ไกรสิทธิ์ ตันติศิรินทร์, เพ็ญศรี กาญจนัษฐิติ, สาคร ธนมิตต์, และอารี วัลยะเสวี. 2523. โรคขาดอาหารโปรตีนและแคลอรี. ใน วันดี วราวิทย์ (บรรณาธิการ), **โรคโภชนาการ.** เล่ม 1. หน้า 10-29. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์บำรุงนุกูลกิจ.

จตุพร เหมสุวรรณ์. 2531. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากกะปิ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และยีสต์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทนง ภัครัชพันธุ์. 2524. **อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม.** กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต. 2525. พิษวิทยาอาหาร. ใน วันดี วราวิทย์ (บรรณาธิการ), **โรคโภชนาการ.** เล่ม 2. หน้า 260-262. กรุงเทพมหานคร: ห้างหุ้นส่วนจำกัดสินประสิทธิ์การพิมพ์.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. **เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2513. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำซอสปรุงรส.** (มอก. 8-2513). กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

——. 2525. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมวุ้นเส้น.** (มอก. 444-2525). กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

——. 2533. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำนมถั่วเหลือง.** (มอก. 1018-2533). กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม.

พิชัย สราญรมย์. 2527. **ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับถั่วเหลืองสำหรับการศึกษาระดับปริญญา.** กรุงเทพมหานคร: สภาวิจัยแห่งชาติ.

วิคกี้ คอนโซลิเดท, บริษัทจำกัด. 2538. Supro® 500E. (เอกสารไม่ตีพิมพ์).

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2534. **ชีอิ๊ว.** กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

วุฒิชัย นาครักษา. 2526. **การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของพันธุ์ถั่วเขียวที่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมชาย จอมดวง. 2528. **การผลิตและทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วเหลือง.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมชาย ประภาวัต. 2534ก. **เทคโนโลยีการทำflourและstarchจากถั่วเขียวและถั่วมะแฮะ.** กรุงเทพมหานคร: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (อัดสำเนา).

_____. 2534ข. **เทคโนโลยีในการทำแป้งถั่วเหลืองจากถั่วเหลือง.** กรุงเทพมหานคร: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (อัดสำเนา).

สรรเสริญ ทรัพยโตษก. 2531. **โภชนาการเชิงชีวเคมี.** กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สาธารณสุข, กระทรวง. 2522. **พระราชบัญญัติอาหาร ฉบับที่ 26 เรื่องกำหนดนมโคเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต.** กรุงเทพมหานคร: นีติเวชช์.

สุรีรัตน์ บุญชูเดชะ. 19 เมษายน 2539. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (ฝ่ายวิจัยสินค้าเกษตรกรรม). **ถั่วเหลือง.** สัมภาษณ์.

อรสา สุริยาพันธ์. 2531. **การใช้โปรตีนถั่วเขียวเหลือใช้จากอุตสาหกรรมวุ้นเส้นในการผลิตน้ำซอสปรุงรส.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล. 2535. **การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่าเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Adler-Nissen, J.L. 1978. Hydrolysis of soy protein. U.S.Pat.4,100,024.

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists).1990. **Official methods of analysis.** 15th ed. Virginia: A.O.A.C.

Arai, S., and Fujimaki, M. 1991. Enzymatic modification of proteins with special reference to improving their functional properties. In P.F. Fox (ed.), **Food enzymology.** Vol.2, pp. 83-104. New York: Applied Sci. Publishers.

Buhyoff, G.J., Kirk, R.C., Rausher, H.M., Hull, R.B., and McKenna, E.E. 1983. **Statistical processing system version PC 4.o** (Computer system). Michigan: Databaic.

Cater, C.M., Cravens, W.W., Horan, F.E., Lewis, C.J., Mattil, K.F., and William, L.D. 1978. Oilseed proteins. In M. Milnes, N.I. Scrimshaw, and D.I.C. Wang (eds.), **Proteins resources and technology: Status and research needs,** pp. 278-301. Westport: AVI Publishing.

Conrad, E. 1983. Process for the preparation of a hydrolyzed product from whole grain and such a product. **U.S. Pat. 4,377,602.**

Cowan, D. 1983. Proteins. In T. Godfrey, and J. Reichelt (eds.), **Industrial enzymology,** pp.352-374. United Kingdom: MacMillan Publishers.

Dave, R.I., Joshi, N.S., Patel, J.R., and Thakar, P.N. 1991. Protein hydrolysates-a review. **Indian Journal Diary Sciences** 44 (9): 557-564.

Ericksen, S. 1989. Enzyme use in the food industry with potential applications to vegetable protein utilizations in human foods. In T.H. Applewhite (ed.), **Proceedings of the world congress on vegetable protein utilization in human foods and animal feedstuffs**, pp.503-509. Illinois: American Oil Chemists Society.

————. 1992. Method for production of a vegetable protein hydrolyzate. **International application published under The Patent Cooperation Treaty (PCT) WO 92/11771.**

Fujimaki, M., Yamashita, M., Okazawa, Y.,and Ara, S. 1970. Applying proteolytic enzymes on soybean. J. FOOd Sci. 35: 215-218.

Haschemeyer, R.H., and Haschemeyer, A.E.V. 1973. **Proteins: A guide to study by physical and chemical methods.** New york: John Wiley & Sons.

Hill, R.L. 1965. **Advances in protein chemistry.** New York: John Wiley & Sons.

Karmas, E., and Harris, R.S. 1988. **Nutritional evaluation of food processing.** 3rd ed. New York: AVI Publishing.

Kilara, A. 1985. Enzyme-modified protein food ingredients. **Process Biochemistry** 20 (5): 149-157.

Matoba, M., and Hata, T. 1972. Relationship between bitterness of peptides and their chemical structure. **Agr. Biol. Chem.** 36 (8): 1423-1431.

Nissen, O. 1982. **MSTAT version 4.00/EM** revised 7/1/86 by R. Freed, Director, Dept. of Crop and Soil Sciences, Michigan State University (Computer program). Michigan: Michigan State University.

Noe, F.F., and Faith, W.T. 1973. Enzyme protein solubilization. U.S. Pat. 3,761,353.

Novo Industri A/S. 1990. **Novo enzyme (Neutrase®)**. Denmark: Bioindustrial groups, Novo Nordisk A/S. (Unpublished Manuscript).

Olsen, H.S., and Adler-Nissen, J. 1979. Industrial production and applications of a soluble enzymatic hydrolyzate of soya protein. **Process Biochemistry** (7): 6-11.

Petersen, B.R. 1981. The impact of the enzymatic hydrolysis process on recovery and use of proteins. In G.G. Birch, N. Blakebrough, and K.J. Parker (eds.), **Enzymes and food processing**, pp.149-175. London: Applied Science Publishers.

Pour-el, A., and Swenson, T.C. 1973. Water soluble protein materials. U.S. Pat. 3,713,843.

Roach, D., and Gehrke, R.W. 1970. The hydrolysis of protein. **J.Chromatog.** 52(5): 393-404.

Rosenfield, D., and Berntson, B.L. 1972. Economics and technology of cereal fortification. In G.E. Inglett (ed.), **Symposium: Seed proteins**, pp.5-17. Westport: AVI Publishing.

Scopes, R.K. 1987. **Protein purification principles and practice.** New York: Springer-Verlag.

Shallenberger, R.S. 1993. **Taste chemistry.** London: Blackie Academic & Professional.

Shehata, A.A.Y., and Thannoun, M.M. 1981. Extractability of nitrogenous constituents from Iraqi mung bean as affected by pH, salt type, and other factors. J. Agric. Food Chem. 29: 53-57.

Smith, A.K., and Circle, S.J. 1978. **Soybeans: Chemistry and technology** . Vol.1. Westport: AVI Publishing.

Stauffer, C.E. 1989. **Enzyme assays for food scientists.** New York: Applied Sci. Publishers.

Sugimoto, H., Van Buren, J.P., and Robinson, W.B. 1971. An enzymatic process for a protein-containing beverage based on soybean protein and lemon juice. J. Food Sci. 36: pp.729-731.

Sugisawa, K., Yamamoto, M., Yasuda, A., Nomura, Y., and Amano, T. 1987. Method for treating aqueous solution of soybean protein with enzymes. **U.S. Pat. 4,687,739.**

Wolf, W.J. 1977. Legumes: Seed composition and structure, processing into protein products and protein properties. In J.R.Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.), **Food proteins**, pp.291-314. Westport: AVI Publishing.

————. 1978. Purification and properties of the proteins. In A.K. Smith, and S.J. Circle (eds.), **Soybean: Chemistry and technology.** Vol.1, pp.94-143. Westport: AVI Publishing.

Yokotsuka, T., Aoyama, Y., Kikuchi, T., Ishii, S., and Matsuura M. 1975. Preparation of an acidic beverage. **U.S.Pat. 3,897,570.**

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 1990

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมชิ้งแห้งสนิท นำตัวอย่างเข้าอบหาความชื้นในตู้อบลมร้อน ซึ่งควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ 100°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก อบตัวอย่างจนกระทั่งมีน้ำหนักคงที่

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

เมื่อ W_1 คือน้ำหนักตัวอย่างก่อนการอบ เป็นกรัม

W_2 คือน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ เป็นกรัม

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 1990

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัมใส่ลงในขวดสำหรับย่อยโปรตีน เติม Catalyst 7 กรัม (catalystเป็นส่วนผสมของ K_2SO_4 และ $CuSO_4$ ในอัตราส่วน 10:1) เติมสารละลายกรด sulphuric เข้มข้น 30 มิลลิลิตร ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Kjeldatherm ซึ่งควบคุมอุณหภูมิในการย่อยที่มี 2 ช่วงคือ

ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 350°C เป็นเวลา 60 นาที

ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ 400°C ย่อยจนได้สารละลายใส

แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

กลั่นตัวอย่างที่ย่อยแล้วด้วยเครื่อง Vapodest 1 เติมสารละลาย Sodium hydroxide เข้มข้น 50 % ลงไป เป็นตัวทำปฏิกิริยา และเก็บสารที่กลั่นได้ในสารละลายกรด boric 4% ซึ่งเติม Indicator 5-6 หยด (indicator เป็นส่วนผสมของ Methyl Red และ Methyl Blue) ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรด sulphuric เข้มข้น 0.1 N.

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

A = normality ของกรด sulphuric ที่ใช้ไตเตรต

B = ปริมาณ sulphuric ที่ใช้ไตเตรต (มิลลิลิตร)

C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 1990

ชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัมแล้วห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 โดยห่อ 2 ชั้น ใส่ห่อตัวอย่างใน thimble ซึ่งบรรจุในขวดสกัดที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอน เติม petroleum ether ซึ่งใช้เป็นตัวสกัด 80 มิลลิลิตรลงในขวดสกัด สกัดไขมันเป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิ ระเหย petroleum ether ออกจากส่วนไขมันที่สกัดได้ แล้วอบขวดสกัดที่ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักขวดสกัด

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม) x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก.4 ปริมาณเถ้า

ตามวิธีของ AOAC 1990

ชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัม ใส่ใน crucible ที่แห้งสนิทและรู้น้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างเข้าเผาใน muffle furnace ที่ 550°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก

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

ก.5 ปริมาณเส้นใย

ตามวิธีของ AOAC 1990

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการวัดปริมาณความชื้นและสกัดไขมันออกแล้ว 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร บันทึกน้ำหนักตัวอย่างและคำนวณเป็นตัวอย่างที่มีความชื้นและไขมัน

2. เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร

3. ให้ความร้อนจนกระทั่งสารละลายเดือดเป็นเวลา 30 นาที รักษาปริมาตรของสารละลายให้คงที่ด้วยการเติมน้ำร้อน

4. กรองสารละลายผ่านผ้าโพลีเอสเตอร์โดยวิธี suction ล้างบีกเกอร์ ผ้ากรองและตัวอย่างด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้ง จนหมดฤทธิ์กรด

5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตรโดยการเติมน้ำร้อน

6. ต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที รักษาปรมาตรให้คงที่โดยการเติมน้ำร้อน

7. กรองสารละลายผ่านผ้าโพลีเอสเตอร์ และล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนหลายๆครั้ง

8. ล้างกากที่เหลือด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 1 และล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง

9. ล้างกากด้วยอัลกอฮอล์ร้อยละ 95 ปริมาณเล็กน้อย

10. นำกากที่เหลือใส่ใน evaporation dish เพื่อระเหยแอลกอฮอล์ออก

11. อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์

12. ใส่กากตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนลงใน crucible ที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้ว เผาในเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวอย่างเป็นเถ้า

13. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักของ crucible

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักของกากตัวอย่างก่อนเผา} - \text{น้ำหนักของเถ้า}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่มีความชื้นและไขมัน}}$$

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะมิโนแอซิดไนโตรเจน

ตาม มอก.8-2513

อะมิโนแอซิดไนโตรเจนคือ ผลต่างคิดเป็นกรัมระหว่างฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen) กับแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen) ในตัวอย่าง 1 ลิตร

1. ฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจน

เตรียมฟอร์มัลดิไฮด์(formaldehyde) ให้มี pH 9 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (0.1 N.NaOH) ลงในตัวอย่างที่ผสมน้ำ (1:19) 10 มิลลิลิตร จนได้ pH 7 ผสมฟอร์มัลดิไฮด์ที่เตรียมไว้ลงไป 10 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัลจนได้ pH 9 การวัดค่าpHให้ใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

วิธีคำนวณ ให้คำนวณน้ำหนักเป็นกรัมของฟอร์มัลดิไฮด์ไนโตรเจนจากสูตรต่อไปนี้

$$x = y\ N \times 28$$

เมื่อ x คือจำนวนกรัมของฟอร์มัลไฮด์ไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร

y คือจำนวนมิลลิลิตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัลที่ใช้ในการไตเตรต

N คือนอร์มัลลิตีที่แท้จริงของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรต

2. แอมโมเนียคัลไนโตรเจน

เติมมักเนเซียมออกไซด์ (magnesium oxide) 3 กรัม และน้ำประมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง ผสมน้ำ (1:19) 50 มิลลิลิตร แล้วกลั่นแอมโมเนียลงในกรดบอริก 4% 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีเมทธิลเรด-เมทธิลีนบลูอยู่แล้ว 2 หรือ 3 หยด จนกระทั่งปริมาตรของน้ำยาในขวดกลั่นเหลืออยู่ประมาณ 1/4 ของปริมาตรเดิม ไตเตรตแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

วิธีคำนวณ ให้คำนวณน้ำหนักเป็นกรัมของแอมโมเนียคัลไนโตรเจน จากสูตรต่อไปนี้

$$x = y\ N \times 5.6$$

เมื่อ x คือจำนวนกรัมของแอมโมเนียคัลไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร

y คือจำนวนมิลลิลิตรของกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไตเตรต

N คือนอร์มัลลิตีที่แท้จริงของกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไตเตรต

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์ค่า DH

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Coomassie Blue Binding

ตามวิธีของ Scopes (1987)

1. เตรียมสารละลาย Coomassie

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

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

3. การทำกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายโปรตีนมาตรฐาน 0.04 % BSA ปริมาตรต่างๆตามตารางที่ค.1 เติมน้ำจนได้ปริมาตรของสารละลายโปรตีนเป็น 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Coomassie 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด ได้กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ดังรูปที่ ค.1

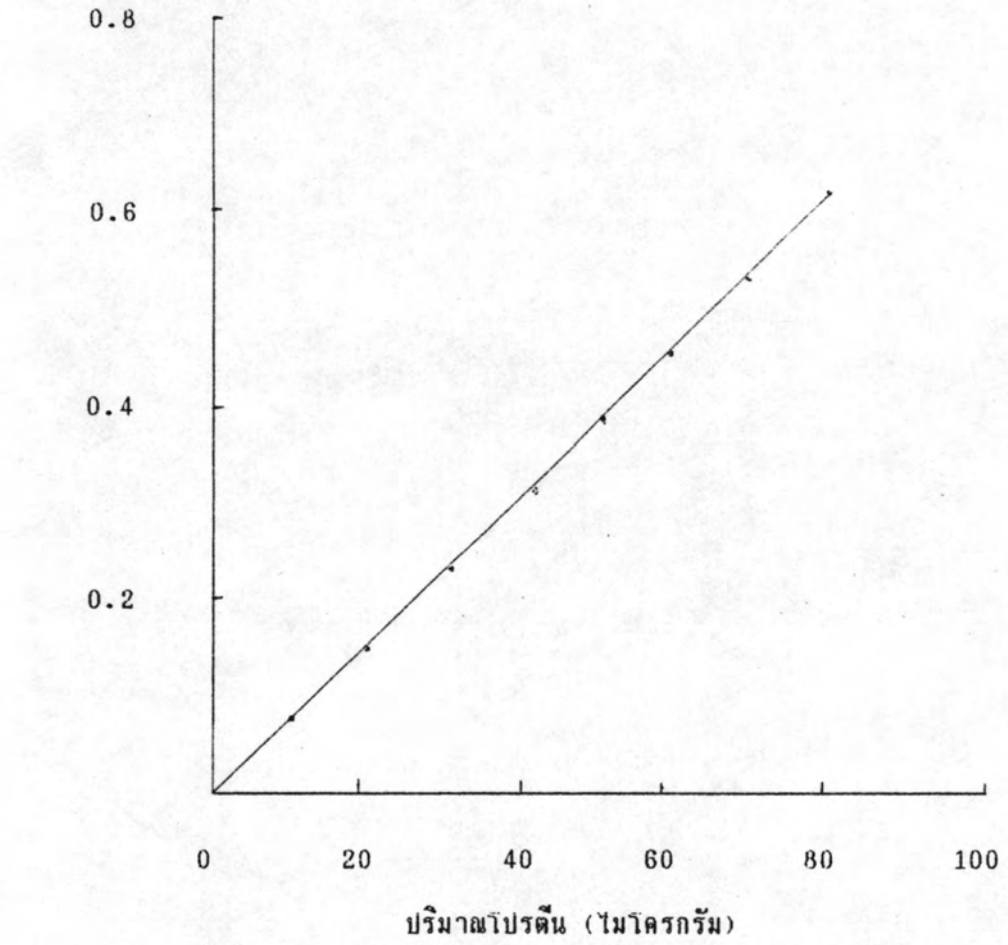
4. การวิเคราะห์ปริมาตรโปรตีนในสารตัวอย่าง

ปิเปตสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายดังกล่าวมา 0.2 มิลลิตร เติมสารละลาย Coomassie 10 มิลลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากค่าการดูดกลืนแสงนำไปอ่านปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน (รูปที่ ค.1) แล้วคำนวณค่า DH ของโปรตีนในสารตัวอย่างได้จากสูตร

$$DH\ (\%) = \frac{\text{มิลลิกรัมโปรตีนในสารละลาย} - \text{มิลลิกรัมโปรตีนในสารละลายที่ผ่านการย่อยสลาย}}{\text{มิลลิกรัมโปรตีนในสารละลาย}} \times 100$$

ตารางที่ค.1 การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Coomassie blue binding

หลอดที่	ปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัม)	0.04%BSA (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	สารละลายCoomassie (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	0.440
7	70	175	25	10.0	0.520
8	80	200	-	10.0	0.600



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Coomassie blue binding

ภาคผนวก ง

รายละเอียดเกี่ยวกับเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g)

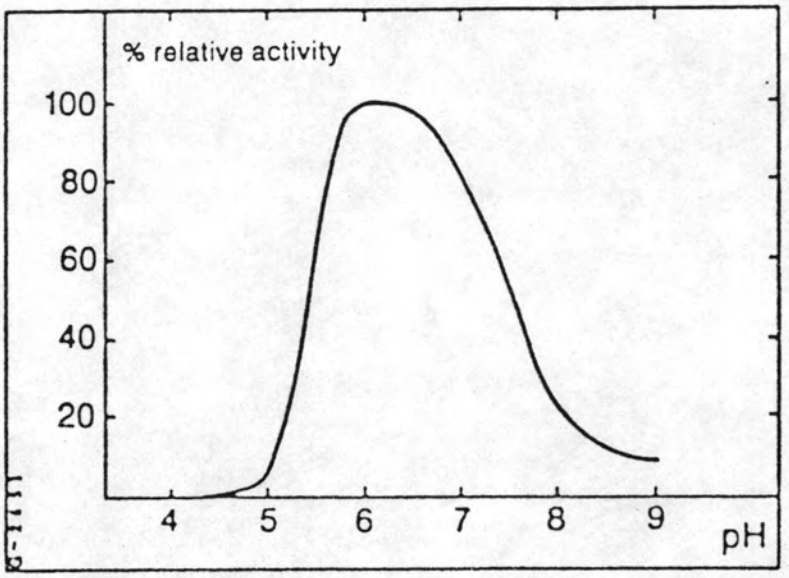
Neutrase® เป็นเอนไซม์ protease ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* มีแต่ส่วนที่เป็น neutral protease ของ *B. Subtilis* เท่านั้น generic name คือ B. subtilis neutral protease ลักษณะผลิตภัณฑ์ Neutrase® 0.5L เป็นของเหลวใส สีน้ำตาล มีความหนาแน่น 1.25 g/ml มี activity ในหน่วย Anson Unit (AU) เท่ากับ 0.5 AU/g ได้รับการรับรองจาก FAO/WHO JECFA และ FCC ให้นำมาใช้ในอาหารได้ โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและราไม่เกิน $5x10^4$/g และ 10^2/g ตามลำดับ

Neutrase® เป็น metallo protease มี Zn^{++} อยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 45,000 และเป็น endopeptidase ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงาน คือ ที่อุณหภูมิ 45-55°C และ pH 5.5-7.5 ตามรูปที่1ง-2ง และยับยั้งการทำงานของ Neutrase® ได้โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 2นาที

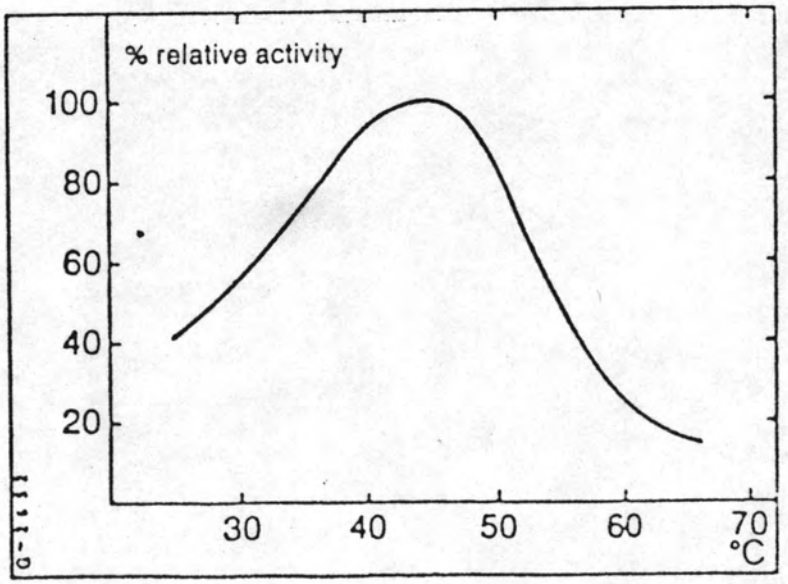
Neutrase® ละลายได้ดีในน้ำ ไม่ไวไฟ ระคายเคืองต่อผิวหนังและตา จึงควรระวังไม่ให้ถูกต้องผิวหนังและเข้าตา ถ้าถูกผิวหนังหรือเข้าตา ต้องล้างน้ำทันที

การเก็บเอนไซม์นี้ ต้องเก็บที่อุณหภูมิ 5°C จะเก็บได้นานอย่างน้อย 1 ปี

(Petersen, 1981; Novo Industri A/S, 1990)



รูปที่ 1ง แสดงการทำงานของเอนไซม์ Neutrase® ที่ pH ต่างๆ ที่ 45°C



รูปที่ 2ง แสดงการทำงานของเอนไซม์ Neutrase® ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่pH 6.0

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จ.1 การวิเคราะห์ข้อมูลของการวางแผนแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

ตารางที่ จ.1 การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design(RCBD)

SOV.	df.	SS.	MS.	F calculated	F table
Treatmentt	t-1	$\sum_i EX_i^2/r - X_{..}^2/rt$	SS_T/df_T	MS_T/MS_E	$f(\%sig., df_T, df_E)$
Block	r-1	$\sum_j EX_j^2/r - x_{..}^2/rt$	SS_{Block}/df_{Block}	MS_{Block}/MS_E	$f(\%sig., df_{Block}, d)$
Error	(t-1)(r-1)	by subtraction	SS_E/df_E		
Total	rt - 1	$\sum_{ij} EX_{ij}^2 - X_{..}^2/rt$			

ง.2 การวิเคราะห์ข้อมูลการวางแผนแบบ Factorial Completely Randomized Design

ตารางที่ ง.2 การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial Completely Randomized Design

SOV.	df.	SS.	MS.	F calculated	F table
Factor					
A	a-1	$\sum EX_{i}...^{2}/bcr - X....^{2}/abcr$	SS_A/df_A	MS_A/MS_E	$f(\%sig., df_A, df_E)$
B	b-1	$\sum EX_{j}...^{2}/acr - X....^{2}/aber$	SS_B/df_B	MS_B/MS_E	$f(\%sig., df_B, df_E)$
C	c-1	$\sum EX_{..k}.^{2}/abr - x....^{2}/aber$	SS_C/df_C	MS_C/MS_E	$f(\%sig., df_C, df_E)$
AB	(a-1)(b-1)	$\sum EX_{ij}..^{2}/cr - x.^{2}/aber - SS_A - SS_B$	SS_{AB}/df_{AB}	MS_{AB}/MS_E	$f(\%sig., df_{AB}, df_E)$
AC	(a-1)(c-1)	$\sum EX_{i\cdot k}^{2}/cr - x.^{2}/aber - SS_A - SS_C$	SS_{AC}/df_{AC}	MS_{AC}/MS_E	$f(\%sig., df_{AC}, df_E)$
BC	(b-1)(c-1)	$\sum EX_{\cdot jk}.^{2}/cr - x..^{2}/aber - SS_A - SS_C$	SS_{BC}/df_{BC}	MS_{BC}/MS_E	$f(\%sig., df_{BC}, df_E)$
ABC	(a-1)(b-1)(c-1)	$\sum EX_{ijk}.^{2}/cr - x.^{2}/aber - SS_A - SS_B - SS_C - SS_{AB} - SS_{AC} - SS_{BC}$	SS_{ABC}/df_{ABC}	MS_{ABC}/MS_E	$f(\%sig., df_{ABC}, df_E)$
Error	(abc-1)(r-1)	by subtraction	SS_E/df_E		
Total	(abcr-1)	$\sum\sum\sum\sum Ex^{2}_{ijkl}/cr - x....^{2}/abcr$			

ง.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncun's New Multiple Range Test

- คิดค่าเฉลี่ยกรณีข้อมูลแบบfactorialคิดค่าเฉลี่ยสำหรับแต่ละตัวแปรและปฏิสัมพันธ์ต่างๆ ดังตารางที่ ง.3

ตารางที่ ง.3 การคิดค่าเฉลี่ยสำหรับข้อมูลแบบ factorial

factor	ค่าเฉลี่ย	R
A	$_{i}EX_{i}$ /R	bcr
B	$_{j}EX_{j}$ /R	acr
C	$_{k}EX_{k}$ /R	abr
AB	$_{ij}EX_{ij}$ /R	cr
AC	$_{ik}EX_{ik}$ /R	br
BC	$_{jk}EX_{jk}$ /R	ar
ABC	$_{ijk}EX_{ijk}$ /R	r

- เรียงลำดับค่าเฉลี่ยจากน้อยไปหามาก
  คำนวณค่า $S_{\bar{x}} = (MS_E/r)^{1/2}$ r= จำนวนซ้ำ
  กรณีข้อมูลแบบ factorial r= R ตามตารางที่ ง.3
- เปิดตารางอ่านค่า Significant Studentized Range(SSR)ที่ % sig. ที่ต้องการตั้งแต่ p = 2 ถึง p = n-1 ที่ df_E (n=จำนวนค่าเฉลี่ยทั้งหมดที่ต้องการเปรียบเทียบ)
- คำนวณค่า LSR = $S_{\bar{x}}$ X SSR
- เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่กับค่า LSR ตามค่าของ p

ภาคผนวก ฉ

แบบทดสอบลำดับความชอบด้านกลิ่นของผู้บริโภค

วันที่ _____

ชื่อ _____

กรุณาประเมินกลิ่นของตัวอย่างเครื่องดื่มต่อไปนี้ และจัดลำดับตามความชอบของท่าน

_____ ระดับความชอบมากที่สุด

_____

_____

_____ ระดับความชอบน้อยที่สุด

แบบทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

วันที่ _____

ชื่อ _____

ผลิตภัณฑ์ : เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่ว

กรุณาประเมินตัวอย่างเครื่องดื่มต่อไปนี้และให้คะแนนตามลำดับความชอบของท่าน

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

รหัสตัวอย่าง	คุณสมบัติ			การยอมรับรวม
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ

ข้อเสนอแนะ : _____

_____

ขอบคุณค่ะ

ประวัติผู้เขียน

นางสาววารยา บุษปธำรง เกิดวันที่ 6 เมษายน พ.ศ.2512 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ(ประสานมิตร) ในปีการศึกษา 2534 และศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ.2535.