



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved



ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ก.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

### ก.1.1 การวัดค่าสีระบบ Hunter Lab

#### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี Minolta colorimeter (CR-410) (Minolta co.,Ltd, Osaka, Japan)
2. หลอดคิวเวต (cuvette tube) หรือถลပ်ตัวอย่าง

#### วิธีการ

1. ปรับมาตรฐานสี โดยใช้แผ่นเทียบมาตรฐานสีขาว
2. นำตัวอย่างใส่หลอดคิวเวต วัดสีในระบบ CIE LAB Color Space บันทึกค่าที่ได้ประกอบด้วยตัวแปรค่าสี 3 ค่า คือ ค่าสี L\* เป็นค่าความสว่าง (lightness) a\* เป็นค่าสีแดงและเขียว (redness/greenness) และ b\* เป็นค่าสีเหลืองและน้ำเงิน (yellowness/blueness) โดยที่  
ค่าสี L\* บ่งบอกถึงค่าความสว่างมีค่าตั้งแต่ 0 (ดำ) ถึง 100 (ขาว)  
ค่าสี a\* บ่งบอกถึงสีแดงและสีเขียว เมื่อ a\* มีค่าบวกให้ค่าสีทางสีแดง แต่ถ้า a\* มีค่าลบให้ค่าสีทางเขียว  
ค่าสี b\* บ่งบอกถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน เมื่อ b\* มีค่าบวกให้ค่าสีทางสีเหลือง แต่ถ้า b\* มีค่าลบให้ค่าสีทางสีน้ำเงิน
3. ทำการวัด 10 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### ก.1.2 การวิเคราะห์หัตถลักษณะเนื้อสัมผัส (สุรภา, 2548)

#### อุปกรณ์

1. หัวฉีก *warner-bratzler blade*

#### วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่อง texture analyzer เครื่องคอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง
2. ติดตั้งหัวฉีก
3. วางตัวอย่างตามแนวขนาดกับเส้นใยของลำไยอบแห้ง และตั้งค่าเครื่องดังต่อไปนี้
  - เลือกรูปแบบการวัดเป็น cutting
  - กำหนดการเคลื่อนที่ของหัววัดเป็น return to start
  - กำหนดค่า
    - pre-test speed (ความเร็วหัววัดก่อนทดสอบ) 10 mm/s
    - test speed (ความเร็วหัววัดระหว่างการทดสอบ) 2 mm/s
    - post-test speed (ความเร็วหัววัดหลังการทดสอบ) 10 mm/s

distance 30 mm

4. บันทึกค่าในหน่วยนิวตัน (N)
5. ประมวลผลโดยใช้โปรแกรม texture profile analysis (TPA)

## ก.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

### ก.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

#### อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า (electric oven)
2. โถดูดความชื้น (desicator)
3. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (moisture can)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

#### วิธีการ

1. อบอุ่นสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง
2. ทำเช่นเดียวกับข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง
4. อบอุ่นได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

#### การคำนวณปริมาณความชื้นตามสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ โดยน้ำหนักเปียก)} = \frac{\text{ผลต่างน้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}$$

### ก.2.2 ปริมาณโปรตีน (ดัดแปลงมาจาก AOAC, 2000)

#### อุปกรณ์

1. หลอดย่อยโปรตีน (kjeldahl flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ชุดย่อยโปรตีน ประกอบด้วย เตาย่อย (heater) และเครื่องจับไอกรด (scrubber)
4. เครื่อง auto titration
5. ชุดกลั่นโปรตีน kjellect system distilling unit

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยาซึ่งเป็นสารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4$ ) และ โปแตสเซียมซัลเฟต ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) อัตราส่วน 1 : 9
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 (โดยน้ำหนัก)
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนัก)
5. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 N
6. อินดิเคเตอร์เป็นสารผสมระหว่างเมธิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน

#### วิธีการ

##### ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-3 กรัมใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน
2. ใส่สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟตและโปแตสเซียมซัลเฟตประมาณ 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกปริมาณ 15 มิลลิลิตร
4. วางหลอดย่อยในตัวอย่างย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบ ขวดใส่ต่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย
5. เปิดสวิทช์เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อยแล้วตั้งอุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 90 นาที จนได้สารละลายใส
6. ปลอ่ยทิ้งไว้ให้เย็น

##### ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรท

1. จัดอุปกรณ์กลั่น เปิดสวิทช์ให้ความร้อน เปิดน้ำหล่อเย็นและเครื่องควบแน่น
2. นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์แล้วไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรด
3. เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย 30 มิลลิลิตร จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ทำปฏิกิริยาเกินพอ (60 มิลลิลิตร) สังเกตให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลขุ่น

4. กลั่นให้ได้ของเหลวอยู่ในระดับ 125 มิลลิลิตร
5. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 0.2 N จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง

#### การคำนวณปริมาณโปรตีนตามสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times N \times 1.4007}{W}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน} \times F$$

เมื่อ A คือ ปริมาณกรดที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาณกรดที่ใช้ไตเตรทกับแบลนค์ (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของกรด (นอร์มอล)

W คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

F คือ conversion factor เท่ากับ 5.95 (Rungtiwa et. Al., 2005)

#### ก.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

##### อุปกรณ์

1. soxhelt flask
2. หลอดใส่ตัวอย่าง
3. กระดาษกรองเบอร์ 4
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. โถดูดความชื้น

##### สารเคมี

ปิโตเลียมอีเทอร์

##### วิธีการวิเคราะห์

1. นำขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมันซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตรใส่ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัมห่อให้มีมิติใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน soxhelt เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา
4. ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน
5. ปรับความร้อนให้หยดของสารละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 90 นาทีแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก soxhelt ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจาก soxhelt ลงในขวดก้นกลมจนหมด
7. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ
8. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนแห้งจากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
9. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

#### การคำนวณปริมาณไขมันตามสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{(W_3 - W_2) \times 100}{W_1}$$

เมื่อ  $W_1$  คือ น้ำหนักตัวอย่าง (g)

$W_2$  คือ น้ำหนักขวด (g)

$W_3$  คือ น้ำหนักขวดที่มีไขมัน (g)

#### ก.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ดัดแปลงจาก (AOAC, 2000)

##### อุปกรณ์

1. crucible
2. muffle furnace (เตาเผา)
3. hot plate
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

### วิธีการวิเคราะห์

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำออกจากเตาเผาเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล
2. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล ( $W_1$ )
3. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม (S) ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ เเผาบนเตาไฟฟ้าจนหมดควัน
4. นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้กลิ่นเทาอ่อน หรือสีขาวสม่ำเสมอ นำออกจากเตาเผา เก็บในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล
5. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 4 (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) ทำ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย และบันทึกผล ( $W_2$ )

### การคำนวณปริมาณเถ้าตามสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{S}$$

เมื่อ  $W_1$  คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องก่อนเผา (g)

$W_2$  คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องหลังเผา (g)

S คือ น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (g)

### ก.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารโดยวิธีการสกัดด้วยกรด - ด่าง (AOAC, 2000)

#### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณใยอาหาร
2. กระดาษกรองเบอร์ 41
3. suction funnel
4. กรวยกรอง
5. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
6. hot air oven
7. เตาอบ



8. โทคูคความชื้น

9. เครื่องชั่ง

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 1.25

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25

3. เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95

#### วิธีการวิเคราะห์

- นำกระดาษกรองอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงแล้วนำมาใส่ใน โทคูคความชื้นและชั่งน้ำหนัก
- ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วใส่ลงในบีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์ไขมัน
- เติมกรดซัลฟูริก ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
- วางบีกเกอร์ลงบนอุปกรณ์ให้ความร้อนที่ต่อกับเครื่องควบแน่นและเปิดน้ำหล่อเครื่องควบแน่น เปิดสวิตซ์ไฟฟ้า ต้มให้เดือด 30 นาที
- กรองตัวอย่างขณะร้อนผ่านกระดาษกรองล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นกรด
- ถ่ายกากที่ได้ในบีกเกอร์ไปเติมเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
- วางบีกเกอร์ลงบนอุปกรณ์ให้ความร้อนที่ต่อกับเครื่องควบแน่นและเปิดน้ำหล่อเครื่องควบแน่น เปิดสวิตซ์ไฟฟ้า ต้มให้เดือด 30 นาที
- กรองตัวอย่างขณะร้อนผ่านกระดาษกรองล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นด่าง
- ล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
- นำกระดาษกรองพร้อมกากใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบและอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ในโทคูคความชื้น ทิ้งให้เย็น
- ชั่งน้ำหนักซ้ำจนกระทั่งได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

#### การคำนวณหาปริมาณไขมันตามสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{M \times 100}{S}$$

เมื่อ M คือผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ

S คือน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

### ก.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีการคำนวณ (AOAC, 2000)

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต หาได้จาก 100 ลบด้วยผลผลรวมระหว่างปริมาณความชื้น ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน ปริมาณเส้นใยและปริมาณเถ้า

### ก.2.7 การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis) (ดัดแปลงจาก Hoyle and Merritt, 1994)

#### อุปกรณ์

1. หลอดย่อยโปรตีน (kjeldahl flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ชุดย่อยโปรตีน ประกอบด้วย เตาย่อย (heater) และเครื่องจับไอกรด (scrubber)
4. เครื่อง auto titration
5. ชุดกลั่นโปรตีน kjellect system distilling unit
6. เครื่องหมุนเหวี่ยง
7. เครื่องกวน

#### สารเคมี

1. กรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้น 20% (โดยน้ำหนัก)

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. นำสารสกัดโปรตีนรำข้าวที่ได้ผสมกับกรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA) ความเข้มข้น 20% (โดยน้ำหนัก) ในอัตราส่วน 1:10 เขย่าให้เข้ากันในที่เย็น
2. จากนั้นนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที
3. นำส่วนใสที่ได้ไปหาปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี kjeldahl method ตามภาคผนวก ก.2.2

#### การคำนวณระดับการย่อยสลายจากสูตร

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณไนโตรเจนของตัวอย่างที่ละลายใน TCA} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนของวัตถุดิบเริ่มต้น}}$$

$$\text{โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากโปรตีนรำข้าว (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซต} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนในสารสกัด}}$$

### ก.2.8 การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) (AOAC, 2000): Method 920.149

#### อุปกรณ์

1. pH meter
2. เครื่องปั่น
3. กระดาษกรองเบอร์ 4

#### วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งประมาณ 20 กรัมลงในน้ำกลั่นประมาณ 40 มิลลิลิตร (เป็นเวลา 30 นาทีจนเนื้อลำไยอบแห้งเริ่มนุ่ม)
2. ปั่นตัวอย่างเนื้อลำไยอบแห้งให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาณสุดท้ายให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4
4. น้ำสารละลายตัวอย่างที่กรองได้มาวัดค่าด้วย pH meter ซึ่งมีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7 และ 4 ทำการวัดตัวอย่าง 3 ซ้ำแล้วมาหาค่าเฉลี่ย

### ก.2.9 การวิเคราะห์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1 picryl-hydrazyl (DPPH) (ดัดแปลงจาก Brand and Williams, 1995)

#### อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องเขย่าสารละลาย
3. ไมโครปิเปต
4. ขวดปรับปริมาตร 50 และ 100 มิลลิลิตร
5. spectrophotometer

#### สารเคมี

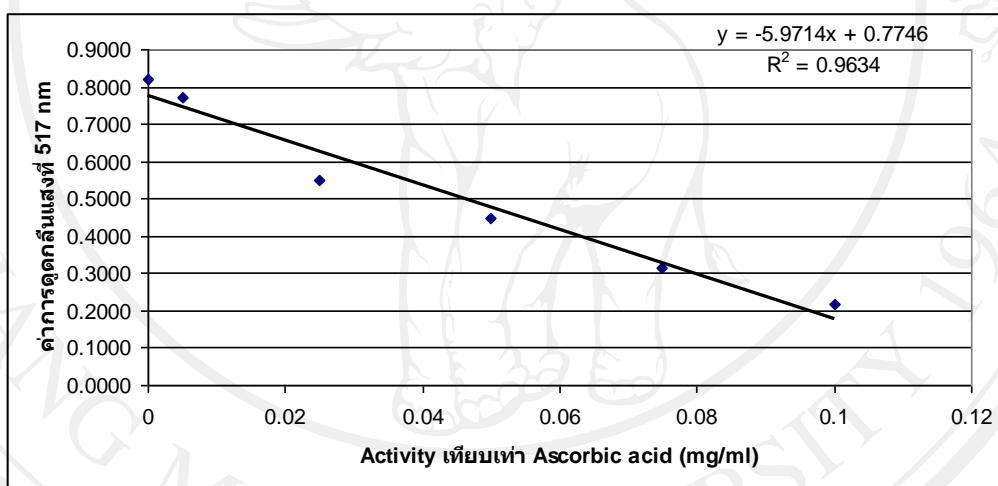
1. สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
2. เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70
3. สารมาตรฐาน ascorbic acid

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมใหม่ ๆ จำนวน 500 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองจากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที
3. ทำ correction blank โดยนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร
5. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลาย ascorbic acid ความเข้มข้น 0 ถึง 0.1 mg/ml แทนสารละลายตัวอย่างในข้อที่ 2 แล้วหาสมการเชิงเส้นบนเส้นกราฟ
6. คำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเทียบกับสารละลาย ascorbic acid (ascorbic acid equivalent antioxidant activity, mg/ml)

ตัวอย่าง กราฟมาตรฐานของ Ascorbic acid



นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแทนค่า y แก้สมการเพื่อหาค่า x (ค่า x คือ ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ ascorbic acid)

**ก.2.10 การวิเคราะห์กิจกรรมการให้อิเล็กตรอนด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power Assay (FRAP) (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain , 1996)**

**อุปกรณ์**

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องเขย่าสารละลาย
3. ไมโครปิเปต

4. ขวดปรับปริมาตร 50 และ 100 มิลลิลิตร
5. spectrophotometer

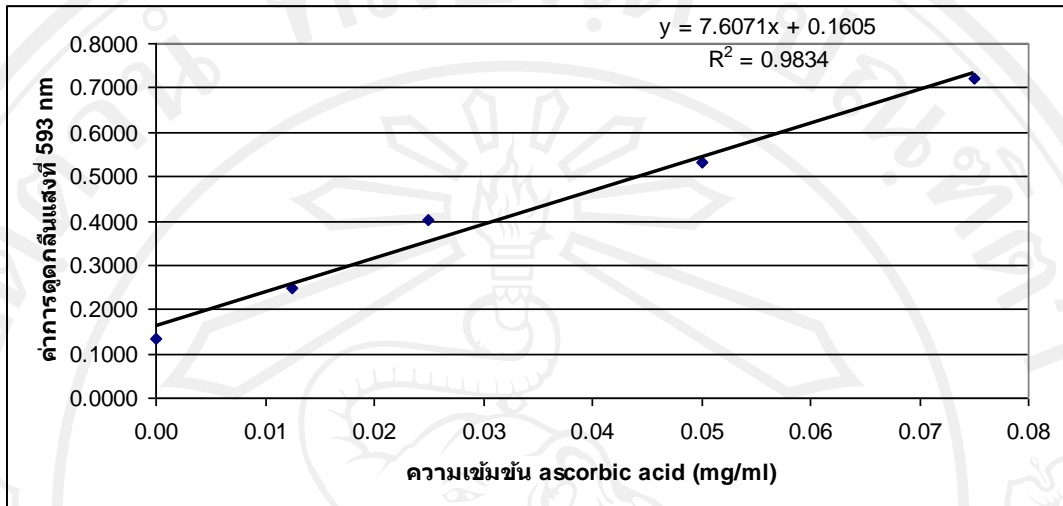
#### สารเคมี

1. sodium acetate (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์
2. (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์
3. hydrochloric acid ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์
4. ferric chloride ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์
5. สารมาตรฐาน ascorbic acid

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. ละลาย 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์
2. ละลาย sodium acetate ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปรับ pH ให้เท่ากับ 3.6
3. ละลาย ferric chloride ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์
4. เติมสารละลายในข้อ 1 ลงไปในสารละลายในข้อ 2 คนให้เข้ากันจากนั้นเติมสารละลายในข้อ 3 ลงไป เรียกว่าสารละลาย FRAP
5. บ่มสารละลายในข้อ 4 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที
6. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
7. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมใหม่ๆ จำนวน 150 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองจากนั้นเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 2,850 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
8. ทำ correction blank โดยนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2,850 ไมโครลิตร
9. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร
10. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลาย ascorbic acid ความเข้มข้น 0 ถึง 0.075 mg/ml แทนสารละลายตัวอย่างในข้อที่ 7 แล้วหาสมการเชิงเส้นบนเส้นกราฟ
11. คำนวณหาค่ากิจกรรมการให้อิเล็กตรอนโดยเทียบกับสารละลาย ascorbic acid (ascorbic acid equivalent antioxidant activity, mg/ml)

ตัวอย่าง กราฟมาตรฐานของ ascorbic acid



นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแทนค่า y แก่สมการเพื่อหาค่า x (ค่า x คือ ค่ากิจกรรมการให้อิเล็กตรอนเทียบเท่ากับ ascorbic acid)



ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ข.1 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

### ข.1.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (Kakali *et al.*, 2008)

#### อุปกรณ์

1. pH meter
2. เครื่องกวนสาร
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง
4. ชุดกลั่นโปรตีน kjellect system distilling unit
5. เครื่อง auto titration
6. เครื่องแก้วเช่น บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่
7. หลอดหมุนเหวี่ยง

#### สารเคมี

1. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายของโปรตีนจากรำข้าวให้มีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 1 กรัม ใน น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
2. ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2, 4, 6, 8 และ 10 โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
3. คนเบาๆอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
4. นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที
5. สารละลายส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method ตาม ภาคนวท ก.2.2

#### การคำนวณหาค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนจากสูตร

$$\text{การละลายของโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในสารละลายใส} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง}}$$



### ข.1.2. การวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Pearce and Kinsella, 1979)

#### อุปกรณ์

1. pH meter
2. เครื่องกวนสาร
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง
4. เครื่องผสม
5. spectrophotometer
6. ไมโครปิเปต
7. เครื่องแก้วเช่น บีกเกอร์ หลอดทดลอง

#### สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์
3. น้ำมันถั่วเหลือง
4. สารละลาย sodium dodecyl sulphat (SDS) เข้มข้นร้อยละ 0.1

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายโปรตีนจากร้าข้าวให้มีโปรตีนเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
2. ปรับพีเอชให้ได้ 2, 4, 6, 8 และ 10 โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
3. ปิเปตน้ำมันถั่วเหลืองมา 2 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายโปรตีนในข้อ 1
4. นำมาโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
5. ปิเปตส่วนที่เป็นอิมัลชันมา 50 ไมโครลิตร ที่เวลา 0 และ 10 นาทีแล้วผสมกับสารละลาย sodium dodecyl sulphat (SDS) เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

#### การคำนวณค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน จากสูตร

$$\text{Emulsifying Activity Index (Abs } 500_{\text{nm}}) = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร}}{\text{ที่เวลา 0 นาที}}$$

$$\text{Emulsifying Stability Index (min)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ } t=0 \text{ นาที} \times 10 \text{ (นาที)}}{\text{ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ } t=0 \text{ นาที และ } t=10 \text{ นาที}}$$

**ข.1.3. การวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง (Okeziot and Bello, 1988)**

**อุปกรณ์**

1. pH meter
2. เครื่องกวนสาร
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง
4. เครื่องผสม
5. เครื่องแก้ว เช่น กระบอกตวง 25 มิลลิลิตร ปิกเกอร์

**สารเคมี**

1. สารละลายโปรตีนจากรำข้าวเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
2. ปรับพีเอชให้ได้ 2, 4, 6, 8 และ 10 โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
3. จากนั้นนำไปโซโม่จิโนซ์ด้วยความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เพื่อทำให้เกิดฟองเป็นเวลา 2 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
4. ทำการถ่ายฟองที่เกิดขึ้นลงในกระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร อ่านปริมาตรของฟองทันที

**การคำนวณค่าความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง จากสูตร**

$$\text{Foaming Capacity (\%volume)} = \frac{\text{ปริมาตรฟองเริ่มต้น (มิลลิลิตร)} \times 100}{\text{ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}$$

$$\text{Foaming stability index (min)} = \frac{\text{ปริมาตรของฟองเริ่มต้นที่เวลา } t=0 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 10}{\text{ผลต่างของปริมาตรของฟองที่เวลา } t=0 \text{ และ } t=10 \text{ (มิลลิลิตร)}}$$



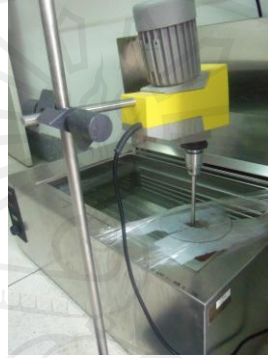
ภาคผนวก ก

ขั้นตอนการสกัดโปรตีนและการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

### ค.1 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากรำข้าว



เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในรำข้าวในอัตราส่วน 1:10  
 คนต่อเนื่องที่อุณหภูมิและเวลาตามกำหนดในตารางที่ 3.1



กรองและหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 15 นาที



ปรับพีเอชของสารละลายผสมให้ได้เท่ากับ 7 จากนั้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส  
 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

## ค.2 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากรำข้าวด้วยเอนไซม์



นำโปรตีนรำข้าวผสมกับ McIlvaine buffer ที่พีเอช 7 ในอัตราส่วนร้อยละ 10 จากนั้นเติมเอนไซม์ที่ระดับต่างๆ คนอย่างต่อเนื่องและทำการเก็บตัวอย่างตามเวลาที่กำหนดตามตารางที่ 3.4



หยุดปฏิกิริยาโดยแช่ลงในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที



กรองด้วยกระดาษกรองหมายเลข 4 และทำการหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะได้สารละลายดังรูป



อบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นางสาว กรรณานุช ศรีกอก

วัน เดือน ปี เกิด

10 กรกฎาคม 2529

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียน ส่วนบุญโญปถัมภ์  
ลำพูน ปีการศึกษา 2548สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการ  
บรรจุ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2552

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Srikok, K. and Jongjareonrak, A. 2012. Optimization of protein  
extraction from Sangyod Phatthalung (*Oryza Sativa* L.) deoiled rice  
bran using response surface methodology. In Proceeding of  
International Conference on food and Applied Bioscience. 6-7  
February 2012, Thailand.