บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่าง

3.1.1 เมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ (*Gossypium spp.*) จากคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.1.2 เมล็ดงาขาว (*Sesamum indicum D.C.*) ซื้อจากร้านโต้วงี่เชียง กรุงเทพฯ

3.1.3 เมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine Max* (L) Merrill) ตราข้าวทอง ของห้างหุ้นส่วนจำกัด อุตสาหกรรมอาหารไทย กรุงเทพฯ

3.2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1 อุปกรณ์

3.2.1.1 เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer) รุ่น Agimatic

3.2.1.2 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น Heraeus Christ Varifuge K.

3.2.1.3 เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Micro Kjeldahl) รุ่น Gerhardt Vapodest 1

3.2.1.4 เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet)

3.2.1.5 เครื่องผสม (Mixer) ของบริษัท Kenwood

3.2.1.6 เครื่องปั่น (Blender) ของบริษัท Mulinex

3.2.1.7 เครื่องวิเคราะห์กรดอะมิโน (Amino acid analyzer) รุ่น Hitachi 833A

3.2.1.8 กระดาษกรองเบอร์ 1, 542 (Whatman Limited, England)

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 เฮกเซน (Haxane) commercial grade (E.Merck, Germany)

3.2.2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.3 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.4 กรดซัลฟริก (Sulfuric acid) A.R. (J.T.Baker Chemical, Holland)

3.2.2.5 กรดบอริก (Boric acid) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.6 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide) A.R. (May & Baker, England)

3.2.2.7 ปิโตรเลียมอีเธอร์ (Petroleum ether) A.R. (J.T.Baker Chemical, Holland)

3.2.2.8 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.9 โซเดียมทังสเตน (Sodium tungstate) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.10 กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.11 กรดน้ำส้ม (Acetic acid) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.12 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium chloride) A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.13 Methyl red A.R. (E.Merck, Germany)

3.2.2.14 Modify methyl red A.R. (May & Baker, England)

3.2.2.15 Kjeltabs Cu/3.5:3.5 g K_2SO_4, 0.4g $CuSO_4.5H_2O$ (Tecator, Sweden)

3.2.2.16 น้ำมันข้าวโพดตรา Mazola (CPC/AJI, Thailand)

3.3 วิธีการวิจัย

3.3.1 การเตรียมกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลือง

3.3.1.1 การเตรียมกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ

3.3.1.1.1 นำเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษมาบดหยาบด้วยเครื่องโม่ไฟฟ้าเพื่อกำจัดเปลือกออก

3.3.1.1.2 บดละเอียดด้วยเครื่องบด (Blender, Moulinex) เป็นเวลา 1 นาที

3.3.1.1.3 สกัดน้ำมันออก โดยใช้สารทำละลาย Haxane ด้วยเครื่องสกัดน้ำมัน (Soxhlet) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง (ตามวิธีของ Magnino, Jr. และ Frederiksen ,1972)

3.3.1.1.4 ระเหยสารทำละลายที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.1.2 การเตรียมกากเมล็ดถั่วเหลือง

3.3.1.2.1 นำเมล็ดถั่วเหลืองบดละเอียดด้วยเครื่องบด (Blender, Moulinex)

3.3.1.2.2 ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1.3-3.3.1.1.4

3.3.1.3 การเตรียมกากเมล็ดงา

นำเมล็ดงาบดละเอียดด้วยเครื่องบดและสกัดน้ำมันออกเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1.3-3.3.1.1.4 เมื่อได้กากเมล็ดงาแล้ว นำกากเมล็ดงามาศึกษาขนาดของกากเมล็ดงาที่มีปริมาณกรดออกซาลิกต่ำเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีน เนื่องจากกรดออกซาลิกมีมากในส่วนของเปลือกเมล็ดงา หากมีการทำจัดเปลือกงาออกจากกากเมล็ดงาก็จะทำให้ปริมาณของกรดออกซาลิกก็จะลดลงด้วย โดยมีขั้นตอนการวิจัยดังนี้

3.3.1.3.1 ศึกษาขนาดของกากเมล็ดงาที่เหมาะสม

3.3.1.3.1.1 นำกากเมล็ดงามาร่อนด้วยแร่ง (Sieving machine) โดยใช้ตะแกรงขนาด 25 30 50 70 และ 100 เมช

3.3.1.3.1.2 นำกากเมล็ดงาขนาดต่างๆ มาวิเคราะห์ปริมาณกรดออกซาลิก (รายละเอียดการวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก จ)

วางแผนงานวิจัยแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.1.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ เมล็ดถั่วเหลืองและเมล็ดงา รวมถึงกากของเมล็ดพืชทั้ง 3 ชนิด

สุ่มตัวอย่างมาเพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้

3.3.1.4.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยใช้เครื่องวัดปริมาณความชื้น(Moisture analysis, Satorius)

3.3.1.4.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl (AOCS, 1990)

3.3.1.4.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet (AOCS, 1990)

3.3.1.4.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ash) โดยการเผาในเตาเผาเถ้า (Muffle furnance) (AOCS, 1990)

3.3.1.4.5 วิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหาร โดยการย่อยด้วยกรดและด่าง (AOCS, 1990)

3.3.1.4.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยการหักลบปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน เส้นใยอาหารและเถ้าออกจาก 100 ที่เหลือจะเป็นปริมาณคาร์โบไฮเดรต

รายละเอียดของวิธีวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ก.

3.3.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลือง

3.3.2.1 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลือง

นำกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลืองมาสกัดโปรตีนด้วยน้ำที่ pH 8 เป็นเวลา 30 นาที ตามวิธีของ Meyer (1970) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.3.2.1.1 นำกากเมล็ดฝ้าย กากเมล็ดถั่วเหลือง และกากเมล็ดงาเติมน้ำกลั่น โดยแปรอัตราส่วนของกากเมล็ดฝ้าย กากเมล็ดถั่วเหลือง และกากเมล็ดงาต่อน้ำที่ 1:20 1:40 1:60 และ 1:80

3.3.2.1.2 ปรับ pH ให้เป็น 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความ เข้มข้น 1 นอร์มอล

3.3.2.1.3 กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer) ด้วยความเร็ว 60 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm2^{\circ}C$)

3.3.2.1.4 นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายโปรตีนออกจากส่วนที่ไม่ละลาย

3.3.2.1.5 นำสารละลายโปรตีนมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl รายละเอียดการวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ข. เพื่อคำนวณปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (%Protein extracted) ซึ่งคำนวณได้จาก

$$\%\text{Protein extracted (\%Protein solubility)} = \frac{\%\text{Protein in solution} \times 100}{\%\text{Protein in raw material}}$$

วิเคราะห์แต่ละครั้งสำหรับกากเมล็ดพืชแต่ละชนิด โดยวางแผนงานวิจัยแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 4 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.2.2 ศึกษาชนิดของสารละลายต่าง และเวลาที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลือง

จากอัตราส่วนของกากเมล็ดพืชทั้ง 3 ชนิดต่อน้ำที่ใช้ในการสกัดโปรตีนที่ pH 8 ที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.2.1 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายต่าง รวมถึงเวลาที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดถั่วเหลือง และกากเมล็ดงาโดยมีขั้นตอนดังนี้

3.3.2.2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลืองด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์

3.3.2.2.1.1 นำกากเมล็ดพืชเติมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในอัตราส่วนที่เหมาะสม(จากข้อ 3.3.2.1) โดยแปรความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการสกัดโปรตีนตามชนิดของกากเมล็ดพืชดังนี้

- กากเมล็ดฝ้ายและกากเมล็ดงาแปรความเข้มข้นที่ 0.10 0.15 และ 0.20 โมล่าร์
- กากเมล็ดถั่วเหลืองแปรความเข้มข้นที่ 0.15 0.20 และ 0.25 โมล่าร์

3.3.2.2.1.2 กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความเร็ว 60 รอบต่อนาที โดยแปรเวลาในการสกัดโปรตีนเป็น 15 30 และ 45 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm2^{\circ}C$)

3.3.2.2.1.3 ปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายโปรตีน

3.3.2.2.1.4 นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl เพื่อคำนวณปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (%Protein extracted)

วิเคราะห์แต่ละครั้งสำหรับกากเมล็ดพืชแต่ละชนิด โดยวางแผนงานวิจัยแบบ Symmetrical Factorial Design แบบ 3x3 ทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.2.2.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลืองด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.3.2.2.2.1 นำกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลือง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในอัตราส่วนที่เหมาะสม (จากข้อ 2.1) โดยแปรความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการสกัดโปรตีนเหมือนกันสำหรับกากพืชน้ำมันทั้ง 3 ชนิดคือที่ 0.005 0.02 และ 0.08 โมล่าร์

3.3.2.2.2.2 กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ที่ความเร็ว 60 รอบต่อนาที โดยแปรเวลาในการสกัดโปรตีนเป็น 15 30 และ 45 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C)

3.3.2.2.2.3 ปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายโปรตีน

3.3.2.2.2.4 นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl เพื่อคำนวณปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (%Protein extracted)

วิเคราะห์แต่ละครั้งสำหรับกากเมล็ดพืชแต่ละชนิด โดยวางแผนงานวิจัยแบบ Symmetrical Factorial Design แบบ 3x3 ทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.2.3 การเปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนทั้ง 3 วิธีจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษกากเมล็ดถั่วเหลือง และกากเมล็ดงา

นำกากเมล็ดพืชทั้ง 3 ชนิดมาสกัดโปรตีนตามภาวะที่เหมาะสมด้วยน้ำที่ pH 8 (จากข้อ 3.3.2.1) สกัดด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (จากข้อ 3.3.2.2.1) และสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (จากข้อ 3.3.2.2.2) เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดพืชทั้ง 3 ชนิด โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.3.2.3.1 ผสมกากเมล็ดพืชต่อน้ำที่ pH 8 หรือ ผสมด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ใช้ภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.2.1 3.3.2.2.1 และ 3.3.2.2.2 ตามลำดับ

3.3.2.3.2 กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า โดยใช้เวลาในการสกัดโปรตีนที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.2.1 3.3.2.2.1 และ 3.3.2.2.2 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C)

3.3.2.3.3 ปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายโปรตีน

3.3.2.3.4 นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl เพื่อคำนวณปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (%Protein extracted)

วิเคราะห์แต่ละครั้งสำหรับกากเมล็ดพืชแต่ละชนิดโดยวางแผนงานวิจัยแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 4 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.3 <u>ศึกษาหาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ทำให้โปรตีนเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษมีความสามารถในการละลายต่ำสุดเพื่อใช้ในการตกตะกอนโปรตีน</u> (Dench และคณะ, 1981.)

3.3.3.1 นำกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษผสมน้ำในอัตราส่วน 1:10 ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 2-10 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมล่าร์ หรือ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมล่าร์

3.3.3.2 กวนเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C)

3.3.3.3 ปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกสารละลายโปรตีนออกจากส่วนที่ไม่ละลาย

3.3.3.4 นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl เพื่อคำนวณค่าความสามารถในการละลายของโปรตีน (%Protein solubility) หรือค่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (%Protein extracted)

วางแผนงานวิจัยแบบCompletely Randomized Design (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3.4 <u>การผลิตโปรตีนสกัดจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดงา และกากเมล็ดถั่วเหลือง</u> (ตามวิธีของ Taha และคณะ. 1987)

จากภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ กากเมล็ดถั่วเหลือง และกากเมล็ดงา(จากข้อ 3.3.2.3) นำภาวะดังกล่าวมาผลิตโปรตีนสกัด โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.3.4.1 นำกากเมล็ดพืชมาผสมกับสารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีน ตามอัตราส่วนของกากเมล็ดพืชต่อสารละลายที่เหมาะสม (จากข้อ 3.3.2.3) และกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าในเวลาที่เหมาะสม (จากข้อ 3.3.2.3) ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C)

3.3.4.2 ปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายโปรตีนออกจากส่วนที่ไม่ละลาย

3.3.4.3 นำส่วนที่ไม่ละลายน้ำมาสกัดโปรตีนอีกครั้งด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:10

3.3.4.4 ปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายโปรตีน

3.3.4.5 นำส่วนของสารละลายโปรตีนจากข้อ 3.3.4.2 และ 3.3.4.4 รวมกันและให้ความร้อนจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำลายสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ

3.3.4.6 ตกตะกอนโปรตีนเมล็ดพืชด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล โดย

- โปรตีนเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษตกตะกอนที่ pH 3.5 (จากข้อ 3.3.1.3)
- ตกตะกอนโปรตีนเมล็ดถั่วเหลืองที่ pH 5.5 (de Rham และ Jost,1979)
- ตกตะกอนโปรตีนเมล็ดงาที่ pH 5.4 (Taha, Fahmy และ Sadek,1987)

3.3.4.7 ล้างตะกอนโปรตีนด้วยน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 1:10 2 ครั้ง

3.3.4.8 ปั่นแยกที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกตะกอนโปรตีน

3.3.4.9 นำตะกอนโปรตีนมาทำแห้งด้วยวิธี Freeze dried

3.3.4.10 นำโปรตีนสกัดที่แห้งแล้ว ชั่งน้ำหนักและบรรจุในภาชนะปิดสนิท

3.3.4.11 หาปริมาณโปรตีนที่ได้ (%Yield) และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ โปรตีนเมล็ดถั่วเหลือง และโปรตีนเมล็ดงา เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.4 และวิเคราะห์ปริมาณแกลือที่เกิดขึ้น (ตามภาคผนวก ข.)

3.3.5 <u>ศึกษาสมบัติการใช้งานของโปรตีนเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ</u>

สมบัติที่ศึกษามีดังต่อไปนี้

3.3.5.1 สมบัติการละลายของโปรตีนสกัด (Dench และคณะ, 1981)

3.3.5.2 สมบัติการดูดซับน้ำของโปรตีนสกัด (Sosulski, 1962)

3.3.5.3 สมบัติการดูดซับน้ำมันของโปรตีนสกัด (Sosulski, 1962)

3.3.5.4 ความหนาแน่นของโปรตีนสกัด (Wang และ Kinsella, 1976)

3.3.5.5 ความสามารถในการเกิดอีมัลชั่น (Franzen และ Kinsella, 1976)

3.3.5.6 สมบัติในการเกิดโฟม (Dench และคณะ, 1981)

รายละเอียดการวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ค.

ในงานวิจัยนี้ไม่ศึกษาสมบัติการใช้งานของโปรตีนเมล็ดถั่วเหลือง และโปรตีนเมล็ดงา เนื่องจากมีผู้ศึกษาในเรื่องนี้มากแล้ว

3.3.6 การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนสกัดจากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ โปรตีนเมล็ดถั่วเหลือง และโปรตีนเมล็ดงาโดยวิธีทางเคมี

นำโปรตีนสกัดจากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษ โปรตีนเมล็ดถั่วเหลือง และโปรตีนเมล็ดงามาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น โดยใช้เครื่องวิเคราะห์กรดอะมิโน (Amino acid analyzer) รายละเอียดการวิเคราะห์โดยวิธีทางเคมีอยู่ในภาคผนวก ง.

นำปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่วิเคราะห์ได้ มาคำนวณค่าอะมิโนแอซิดสคอร์ (Amino acid score) โดย

$$\text{อะมิโนแอซิดสคอร์} = \frac{\text{ปริมาณกรดอะมิโน(มิลลิกรัม) ในโปรตีน 1 กรัม} \times 100}{\text{ปริมาณกรดอะมิโน(มิลลิกรัม) ชนิดเดียวกันโปรตีนมาตรฐาน* 1 กรัม}}$$

* โปรตีนมาตรฐานของ FAO/WHO 1973 .

3.3.7 ปรับปรุงคุณภาพของโปรตีนสกัดจากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษโดยการผสมโปรตีนสกัดจากเมล็ดงาและโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองและประเมินปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นโดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน FAO/WHO(1973)

งานวิจัยส่วนนี้ต้องการศึกษาการผสมโปรตีนสกัดจากเมล็ดถั่วเหลืองและโปรตีนสกัดจากเมล็ดงา เพื่อเสริมคุณภาพของโปรตีนสกัดจากเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษให้สูงขึ้น

3.3.7.1 ผสมโปรตีนสกัดเมล็ดฝ้ายด้วยโปรตีนสกัดเมล็ดงาและโปรตีนสกัดถั่วเหลืองในอัตราส่วนดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 อัตราส่วนของการผสมโปรตีนเมล็ดฝ้ายไร้ต่อมพิษกับโปรตีนเมล็ดงาและโปรตีนถั่วเหลือง

	โปรตีนเมล็ดฝ้าย	โปรตีนเมล็ดงา	โปรตีนถั่วเหลือง
สูตร 1	1	1	1
สูตร 2	1	2	1
สูตร 3	1	1	2
สูตร 4	1	1.5	1.5

3.3.7.2 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น โดยใช้เครื่องอะมิโนแอซิดสคอร์ (Amino acid analyzer) รายละเอียดการวิเคราะห์โดยวิธีทางเคมีอยู่ใน ภาคผนวก ค. และนำปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่วิเคราะห์ได้ มาคำนวณค่าอะมิโนแอซิดสคอร์ (Amino acid score)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย