14887

การสกัดโกลบูลินจากถั่วเหลือง

GLOBULIN ISOLATED FRON SOYBEAN SEED

T096732

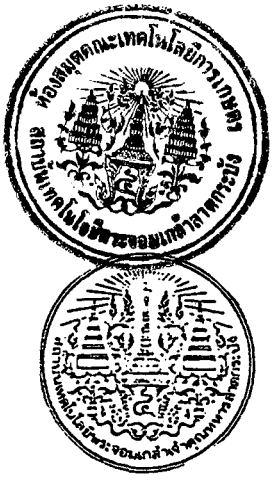
นางสาว สิริวรรณ เสาวภิชาติ
นางสาว นารีรัตน์ ฐิตวิริยะ

ปค.
ส 732 ก
2539
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96732
วัน,เดือน,ปี.....- 4 JUN 2539

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1528



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การสกัดโกลบูลินจากถั่วเหลือง

GLOBULIN ISOLATED FROM SOYBEAN SEED

โดย

นางสาว สิริวรรณ เสาวภิชาติ
นางสาว นารีรัตน์ ฐิตวิริยะ

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 27/3/96 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ยุพร จรมนวัฒกุล)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

(ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ ....30.... **เดือน**.....มี.ค..... **พ.ศ.** .....39.....

ฝพ.
ส732ก
2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิริวรรณ เสาวภิชาติ และ นารีรัตน์ ฐิตวิริยะ : การสกัดโกลบูลินจากถั่วเหลือง (Globulin Isolated from Soybean Seed) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. ยุพร จรรยงค์วรกุล. 38 หน้า.

ถั่วเหลืองจัดเป็นวัตถุดิบที่สามารถหาได้ง่ายในประเทศไทย ราคาถูก มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและที่สำคัญโปรตีนในถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง มีคุณสมบัติในด้านหน้าที่เฉพาะต่างๆ (Functional properties) ที่สำคัญหลายประการ เช่น การทำให้เกิดสภาวะอิมัลชั่น การดูดซึมน้ำ การละลาย การเกิดเจลและการเกิดโฟม เป็นต้น จากการศึกษาพบว่า องค์ประกอบของโปรตีนในถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นโปรตีน Globulin ซึ่งสามารถแยก โดยอาศัยหลักของ Sedimentation coefficient ออกเป็น 4 fraction คือ 2S , 7S , 11S และ 15S globulin โปรตีน 7S และ 11S นี้มีปริมาณรวมประมาณ 70 % ของโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณมากกว่าโปรตีนชนิดอื่นและประการสำคัญคือ 7S และ 11S globulin เป็นตัวควบคุมคุณสมบัติในด้านหน้าที่เฉพาะ (Functional properties) ของโปรตีนในถั่วเหลือง ซึ่งมีความสำคัญต่อการนำโปรตีนจากถั่วเหลืองไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาวิธีการสกัด 7S และ 11S globulin ในสารละลาย Buffer Tris-HCl โดยใช้หลักความสามารถในการละลายที่แตกต่างกันของ 7S และ 11S globulin ที่ pH 6.4 จากผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน จะพบ 7S และ 11S globulin ประมาณ 32% และ 39% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และสามารถแยกองค์ประกอบของ 7S และ 11S globulin ได้โดยวิธี Gel Electrophoresis

		27/3/96
ลายมือชื่อนักศึกษา	**ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา**	**วัน เดือน ปี**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการจัดทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ดร.ยุพร จรรยงค์วรกุล เป็นอย่างสูงในฐานะอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้ความรู้และคำชี้แนะต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำปัญหาพิเศษโดยตลอดจนเป็นผลให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี นอกจากนี้ทางคณะผู้จัดทำต้องขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบ คือถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เพื่อใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกคนที่เป็นกำลังใจ และยังมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษประสบความสำเร็จ รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในระหว่างการปฏิบัติงาน

สุดท้ายนี้คณะผู้จัดทำ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนผู้จัดทำตลอดมาจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

สิริวรรณ เสาวภิชาติ
นารีรัตน์ ฐิตวิริยะ
25 มีนาคม 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้าที่
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญรูป	ง
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทรรศน์	2
2.1 ถั่วเหลือง	2
2.2 การใช้ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์อาหาร	6
2.3 การเตรียมและการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร	6
2.4 โปรตีนจากถั่วเหลือง	10
2.5 ลักษณะโครงสร้างและความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะ(functional property) ของ 7S และ 11S	13
2.6 ความชื้น	16
2.7 การเตรียม Defatted Soybean Meal	16
2.8 การสกัดแยก 7S และ 11S	17
2.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	19
2.6 Gel Electrophoresis	19
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	23
3.1 สารเคมี	23
3.2 อุปกรณ์	24
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	25
4. ผลและวิจารณ์การทดลอง	34
4.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น	34
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย Lowry method	34
4.3 การแยกองค์ประกอบของ 7S และ 11S โดย Gel Electrophoresis	36
5. สรุปผลการทดลอง	38
เอกสารอ้างอิง	
ประวัติผู้เขียน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. พันธ์และลักษณะประจำพันธุ์	4
2. การใช้ functional properties ในอาหาร	7
3. Functional Properties of Soybean Protein	8
4. Composition of Soybean , defatted soybean meal, flour, concentrate	9
5. Composition(%dry weight) of Soybean Protein Concentrate	10
6. องค์ประกอบของ Amino acid ใน Soybean Protein	11
7. ส่วนประกอบของ Protein bodies ในถั่วเหลือง	12
8. ปริมาณและชนิดของโปรตีนโดยการใช้ Ultracentrifuge จากโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้	13
9. ปริมาณความชื้นของถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	34
10. ปริมาณความชื้นของ Defatted Soybean Meal	34
11. ปริมาณโปรตีนของ 7S และ 11S	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. ลักษณะโครงสร้างของโปรตีน 7S	13
2. ลักษณะโครงสร้างของโปรตีน 11S	14
3. ลักษณะของเจลที่ได้จากการเตรียมโดยวิธีของ Laemmli	22
4. SDS-PAGE Electrophoresis of soy protein isolated without reducing agent (β-Mercaptoethanol)	36
5. SDS-PAGE Electrophoresis of soy protein isolated with reducing agent (β-Mercaptoethanol)	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ถั่วเหลืองจัดเป็นอาหารของมนุษย์มาเป็นเวลาหลายๆพันปีแล้ว ในประเทศที่กำลังพัฒนาก็ได้มีการส่งเสริมให้ประชากรมีการบริโภคถั่วเหลืองกันมากขึ้น เนื่องจากถั่วเหลืองนั้นมีคุณค่าทางด้านโภชนาการสูง และที่สำคัญโปรตีนในถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง มีคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะต่างๆ ที่สำคัญ เช่น การทำให้เกิดสภาวะอิมัลชั่น การดูดซึมน้ำ การละลาย การเกิดเจล และการเกิดโฟม เป็นต้น ในขณะที่ประชากรของโลกกำลังเพิ่มขึ้นทุกปี เนื้อสัตว์ต้องมีราคาสูงตามไปด้วย ดังนั้นอาหารโปรตีนที่มีคุณภาพสูงและราคาถูกก็ถูกจำกัดอยู่แต่ถั่วเหลืองเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังสามารถหาได้ง่ายในประเทศไทยและมีราคาถูก ดังนั้นถั่วเหลืองจึงเป็นวัตถุดิบที่ได้รับความสนใจในการศึกษาถึงองค์ประกอบของโปรตีน ซึ่งองค์ประกอบของโปรตีนในถั่วเหลืองที่สำคัญคือ 7S และ 11S โดยเฉพาะ 11S เนื่องจากโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณรวมกันประมาณ 70% ของโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมดซึ่งมีปริมาณมากว่าโปรตีนชนิดอื่น และประการสำคัญคือ 7S และ 11S มีคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะ (functional properties) ที่สำคัญหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติในการละลาย การเกิดเจล การเกิดอิมัลชั่น การฟอร์มเป็นฟิล์ม เป็นต้น โดยที่คุณสมบัติต่างๆ ที่ได้กล่าวมานั้นเป็นประโยชน์อย่างมากต่อผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์เต้าหู้นั้นจะต้องอาศัยคุณสมบัติของโปรตีนเพื่อช่วยให้เต้าหู้เกิด curd ที่ดี ดังนั้นจากที่ได้กล่าวมาข้างต้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาดังนี้

1. ศึกษาวิธีการสกัดแยกโปรตีน 7S และ 11S
2. ศึกษาการแยกองค์ประกอบของ 7S และ 11S โดยวิธี Gel Electrophoresis

โดยในการทดลองครั้งนี้ ผู้ทำการทดลองได้ใช้ถั่วเหลืองพันธุ์ "เชียงใหม่ 60" เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์มาจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่โดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทรรศน์

2.1 ถั่วเหลือง

2.1.1 ลักษณะโดยทั่วไป

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่อยู่ในตระกูล leguminosae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Glycine max,L. สามารถขึ้นได้ในดินเกือบทุกชนิดที่มีการระบายน้ำได้ดีมีความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (pH)พอประมาณ แต่ถั่วเหลืองจะไม่เจริญเติบโตในดินที่เป็นเกลือหรือดินเปรี้ยว (เป็นกรดจัด) แหล่งปลูกใหญ่ๆอยู่ทางภาคเหนือและภาคกลางตอนบน เช่น สุโขทัย เพชรบูรณ์ อ่างทอง สุพรรณบุรี อุทัยธานี อ่างทอง เชียงใหม่ ลำปาง ตาก กำแพงเพชร นครสวรรค์ สิงห์บุรีและชัยนาท เป็นต้น

ในประเทศไทยพันธุ์ที่นิยมนำมาเพาะปลูกมีหลายพันธุ์ด้วยกันและมีลักษณะแตกต่างกันดังนี้ พันธุ์ที่นิยมปลูกมี 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ สจ.1 พันธุ์ สจ.2 พันธุ์ สจ.4 และพันธุ์ เชียงใหม่ 60

2.1.2 พันธุ์

2.1.2.1 ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.1

ลำต้นมีความแข็งแรง สูงประมาณ 80 เซนติเมตร โคนต้นสีม่วง มีลักษณะทอดยอดแตกกิ่งไปมาก ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 35 วัน ดอกมีสีม่วง ดอกจะออกจากโคนต้นแล้วทยอยไปถึงยอด เมล็ดเริ่มแก่เมื่ออายุประมาณ 90 วัน เมื่อใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองควรเก็บเกี่ยวได้เพราะเป็นพันธุ์ที่ฝักแตกง่าย เหมาะสำหรับปลูกในต้นฤดูฝน ผลผลิตประมาณ 250-300 กิโลกรัมต่อไร่

2.1.2.2 ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.2

ลำต้นสูงประมาณ 75 เซนติเมตร ไม่ล้มง่ายและลำต้นไม่ทอดยอด ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 40 วัน ดอกสีม่วงออกรวมกันเป็นกระจุกตามข้อของลำต้นและกิ่ง ดอกออกเกือบพร้อมกันหมดทั้งต้น ฝักจะแก่เมื่ออายุประมาณ 90 วัน ฝักไม่แตกง่ายเหมาะสำหรับปลูกในฤดูแล้ง ผลผลิตประมาณ 200-300 กิโลกรัมต่อไร่

2.1.2.3 ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4

ถั่วเหลืองพันธุ์นี้ต้นสูงประมาณ 70 เซนติเมตร ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 37 วัน ดอกมีสีม่วง ออกเป็นกระจุกที่ข้อ ฝักไม่แตกง่าย สามารถทิ้งไว้ได้นานถึง 2 อาทิตย์ ต้านทานต่อโรคใบสนิม ผลผลิตประมาณ 200-500 กิโลกรัมต่อไร่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.4 ถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60

ปี พ.ศ. 2518 กลุ่มนักปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองของศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ได้ผสมพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวน 22 คู่ สายพันธุ์ 7508-50-10 เป็นลูกผสมคู่ที่ 8 ทำการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ Williams กับ สจ.4 (F_{10} 7019) ซึ่งพันธุ์ Williams เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะดีเด่นคือให้ผลผลิตสูง ลำต้นแข็งแรง ส่วนพันธุ์ สจ.4 เป็นพันธุ์ที่ทนทานต่อโรคราสนิม คุณภาพเมล็ดดี ผสมพันธุ์ทั้งหมด 91 ดอก เก็บเกี่ยวได้ 18 ฝัก หลังจากนั้นได้ปลูกคัดเลือกแบบ Single Pod Descent (ต้นละฝัก) จนถึงชั่วอายุที่ 4 (F_4) คัดเลือกเป็นต้นในชั่วอายุที่ 5 และคัดเลือกเป็นแถวในชั่วที่ 6 คัดเลือกเป็น Family ในชั่วอายุที่ 7 เริ่มนำเข้าประเมินผลผลิตในชั่วอายุที่ 8 โดยเริ่มจากการเปรียบเทียบพันธุ์เบื้องต้น เปรียบเทียบมาตรฐาน เปรียบเทียบพันธุ์ในท้องถิ่น เปรียบเทียบในไร่กสิกร และทดสอบพันธุ์ในไร่กสิกร จนถึงฤดูฝนปี 2529 ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้ประกาศรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 30 กันยายน 2530 ให้ชื่อว่า เชียงใหม่ 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 : พันธุ์และลักษณะประจำพันธุ์

	สจ.1	สจ.2	สจ.4	สจ.5	ชม.60	นครสวรรค์1	สุโขทัย(ผักบุ้ง)
ลำต้น	ทอดยอด	ไม่ทอดยอด	ไม่ทอดยอด	ไม่ทอดยอด	ไม่ทอดยอด	ปานกลาง	กึ่งทอดยอด
ความสูง	82	67	65(121)*	57(132)	61	50	108
อายุเก็บเกี่ยว	91	95	90(99)	92(96)	97	74-78	96
ฝัก/ต้น	42	60	60(46)	(38)		16-36	27
จำนวนเมล็ด/ฝัก							
wt./100เมล็ด	13.7	12.2	15.1(15.6)	14.1(15.2)	14.5	19.6	17.2 g
ผลผลิต	228	264	310(230)	242.8(236)	252	172	198 kg/rai
	266	240	311(285)	283.3(236)	236	320	293 ฝน
	253		308(258)	269.4(236)	246		246
ความสูงของฝักจากโคนต้น(cm.)	-	-	-	7.33	11.63	10.82	12.03 cm. (เชียงใหม่)
เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น	-	-	-	6.58	6.4	4.89	5.9 cm. (เชียงใหม่)

ที่มา : เอกสารวิชาการ เรื่องผลการจัดงานแสดงผลิตภัณฑ์ ถั่วเหลือง กลุ่มพืชน้ำมัน กองส่งเสริม พืชพันธุ์ (2523) กรมส่งเสริมการเกษตร (160 หน้า)

หมายเหตุ : * จากตารางที่ 1 จะเห็นว่า ความสูงของต้นถั่วอยู่ระหว่าง 50-108 cm.

2.1.3 ฤดูปลูก

การปลูกถั่วเหลืองในประเทศไทย แบ่งตามฤดูกาลปลูกได้ 3 ฤดูคือ ต้นฤดูฝน ปลายฤดูฝนและฤดูแล้ง ซึ่งเกษตรในท้องถิ่นต่าง ๆ นิยมปลูกตามแต่สภาพของฤดูกาลแตกต่างกัน

2.1.3.1 ต้นฤดูฝน การปลูกถั่วเหลืองในต้นฤดูฝน จะเริ่มปลูกตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง มิถุนายน ท้องถิ่นที่ทำการปลูกในระยะเวลาดังกล่าวคือ จังหวัดสุโขทัยโดยเฉพาะในเขตอำเภอสวรรคโลก และศรีสัชนาลัย และทำการเก็บเกี่ยวในเดือนสิงหาคมถึงกันยายน พันธุ์มาตรฐานที่ปลูกกันเป็นส่วนมากคือพันธุ์ สจ.1 พันธุ์ สจ.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.2 ปลายฤดูฝน เริ่มปลูกประมาณปลายเดือนกรกฎาคม ถึงต้นเดือนสิงหาคม ซึ่งสามารถเก็บเกี่ยวได้ประมาณเดือนตุลาคม ท้องถิ่นที่ทำการปลูกในปลายฤดูฝนนี้คือภาคเหนือตอนล่างและภาคกลางตอนบนเช่น จังหวัดเพชรบูรณ์ อุทัยธานี นครสวรรค์ สระบุรี ลพบุรี เป็นต้น พันธุ์ที่นิยมปลูกคือ พันธุ์ สจ.4 เมล็ดที่ได้จากการปลูกในฤดูนี้เป็นเมล็ดที่มีคุณภาพดีเนื่องจากเก็บเกี่ยวเมื่อฝนหมดแล้ว เรียกกันในทางการค้าว่า ถั่วเหลืองพระพุทธบาท

2.1.3.3 ฤดูแล้ง การปลูกถั่วเหลืองในฤดูแล้งเป็นการปลูกในเขตชลประทานและปลูกในนาหลังจากการเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว ระยะเวลาที่เหมาะสมคือตั้งแต่วันที่ 15 ธันวาคมถึง 15 มกราคม จะให้ผลผลิตต่อไร่สูงที่สุด การปลูกก่อนหรือหลังจากช่วงเวลานี้ ผลผลิตต่อไร่จะลดลงเนื่องจากจะประสบปัญหาโรคแมลงระบาดทำลายมาก ดังนั้นจึงควรจัดเวลาปลูกให้ตรงกับระยะเวลาที่กำหนดส่วนมาก นิยมปลูกในแถบภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดใกล้เคียง เมล็ดถั่วเหลืองที่ได้นี้มีคุณภาพดี ในทางการค้าเรียกว่า ถั่วเหลืองเชียงใหม่ การปลูกถั่วเหลืองในระยะเวลาดังกล่าวไม่มีปัญหาในเรื่องฤดูปลูก เพราะโดยทั่วไปแล้วเกษตรกรเก็บเกี่ยวข้าวตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ถึง เดือนธันวาคม จึงสามารถเตรียมดินได้ทันแวลา ในภาคกลางเกษตรกรเก็บเกี่ยวช้าไปจนถึงเดือนมกราคมและกุมภาพันธ์ และในบางท้องที่ที่ต้องการปลูกถั่วเหลืองในนาภายหลังการเก็บเกี่ยวข้าว เช่น ปลูกข้าวให้เร็วขึ้น หรือปลูกข้าวพันธุ์ที่เบากว่าที่เคยใช้ปลูก และหาวิธีป้องกันไม่ให้น้ำเข้านาในระยะที่ข้าวใกล้จะเก็บเกี่ยวแล้วถ้าไม่ดัดแปลงแก้ไขร่นระยะเวลาเก็บเกี่ยวให้เร็วขึ้น ก็จะทำให้การปลูกถั่วเหลืองช้ากว่ากำหนดเวลาที่เหมาะสม

2.1.4 <u>แหล่งปลูก</u>

จังหวัดที่มีการปลูกถั่วเหลืองมากได้แก่ สุโขทัย เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ตาก อุตรดิตถ์ สระบุรี เลย แพร่ เชียงราย พิษณุโลก แม่ฮ่องสอน ลำปาง

2.1.5 <u>การเก็บเกี่ยว</u>

ควรทำการเก็บเกี่ยวเมื่อฝักกลายเป็นสีเหลืองแล้วประมาณ 90 % และมีใบร่วง วิธีเก็บให้ใช้มีดคมๆตัดโคนต้น จากนั้นนำมาตากแดด (รวมทั้งต้น) ให้แห้งดีประมาณ 3-4 วัน แล้วนำมานวดโดยใช้ไม้ตีหรือเครื่องนวดก็ได้ เมล็ดถั่วเหลืองที่ได้ให้นำมาตากแดดอีกครั้งก่อนนำไปขายหรือนำไปบรรจุกระสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การใช้ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์อาหาร

การนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ นั้นขึ้นอยู่กับ การยอมรับในการพิจารณาเลือกใช้ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในแง่การให้คุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะ(functional properties) แก่ผลิตภัณฑ์อาหารในด้านใด เช่น คุณสมบัติการทำให้เกิดอิมัลชั่น การดูดซับน้ำและไขมัน การเกิดโฟม กิจกรรมของเอนไซม์ การละลายน้ำและอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง แบ่งออกเป็น 3 ชนิดดังนี้

ก. แป้งถั่วเหลืองและผงถั่วเหลือง(Soybean Flours and Soybean Grits)

ข. โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (Soybean Proyein Concentrate)

ค. โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (Soybean Protein Isolate)

2.3 การเตรียมและการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.3.1 แป้งถั่วเหลืองและผงถั่วเหลือง (Soybean Flours and Soybean Grits) คือ ผลิตภัณฑ์แป้งถั่วเหลืองมีลักษณะคล้ายกับผงถั่วเหลือง แต่จะแตกต่างกันในเรื่องของขนาดซึ่งแป้งถั่วเหลืองจะมีลักษณะเนื้อที่ละเอียดกว่า แป้งถั่วเหลืองและผงถั่วเหลืองนี้ได้จากการนำส่วนของเมล็ดถั่วเหลือง หรือส่วนของเมล็ดถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว อบด้วยความร้อนเพื่อทำลายเอนไซม์ที่อยู่ในถั่วเหลือง กระเทาะเปลือกแล้วนำไปบดให้ละเอียดเช่นเดียวกัน แป้งถั่วเหลืองที่ดีและได้มาตรฐานประมาณ 97% สามารถร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh ได้ ในขณะที่ผงถั่วเหลืองจะมีขนาดหยาบกว่า การเตรียมแป้งถั่วเหลืองนั้นจะมีการเตรียมโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายและจะใช้ความร้อนที่แตกต่างกันไป โปรตีนในแป้งและผงถั่วเหลืองจะมีเปอร์เซนต์โปรตีนระหว่าง 40-50% ซึ่งจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับเปอร์เซนต์ไขมัน ซึ่งการนำไปใช้ประโยชน์ขึ้นอยู่กับความต้องการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ใด แป้งถั่วเหลืองนี้บางชนิดอาจจะมีสีขาว สีแทน (tan or toasted) จะนิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ นมถั่วเหลือง อาหารที่มีโปรตีนสูงและใช้เป็นโปรตีนเสริมแทนโปรตีนจากเมล็ดธัญพืชอื่น ๆ แป้งถั่วเหลืองและผงถั่วเหลืองนี้นิยมนำไปใช้ในอาหารหลายชนิดเนื่องจากมีราคาไม่แพงและมีคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะ(functional properties) หลายประการดังในตารางที่ 2 และ 3 นอกจากนี้แป้งถั่วเหลืองและผงถั่วเหลืองมีส่วนประกอบต่าง ๆดังแสดงในตารางที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 : การใช้ functional properties ในอาหาร

Property	Fuctional criteria
Organoleptic/kinesthetic	Color, flavor, odor, texture, mounthfeel, smoothness, grittiness and turbidity.
Hydration	Solubility, foaming, water absorbtion, swelling, thickening and gelling synersis.
Surface	Emulsification, foaming(aeration), protein-lipid, film formation, lipid-binding and flavor-binding
Orther	Compatability with additives, enzymatic and antioxidant

These properties vary with pH, temperature, protein concentration, protein fraction, prior treatment, ionic strength and dielectric constant of medium. They are also affected by other treatments, interactions with orther macromoleccules in the medium, by processing treatments and modification, by physical, or enzymatic methods

ที่มา : Wilcox (1987)

ตารางที่ 3 : Functional Properties of Soybean Protein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Property	Protein form used	Food system
Emulsification		Frankfurters, bologna sausages
Emulsion formation	F,G,C,I	Breads, cakes, soups
	F	Whipped toppings, frozen desserts
	I	Frankfurters, bologna sausages
		Soups
Emulsion stabilization	F,G,C,I	
	F	
Fat absorption		
Promotion	F,G,C,I	Frankfurters,bologna sausages, meat patties, simulated meats
		Doughnuts, pancakes
Control	F,I	
Water absorption		
Promotion	F,G	Breads, cakes, confections, simulated meats
Control	F	Macaroni
Retention	F,C	Breads, cakes, confection
	C	Meat patties
Texture		
Viscosity	F,C,I	Soups,gravies,chili
Gelation	F,C,I	Ground meats
	I	Simulated ground meats
Shred formation	F,I	Simulated meats
Chip and chunk formation	F	Simulated meats,fruits, nuts,and vegetables
Fiber formation	I	Simulated meats
Spongy structure formation	I	Simulated meats,dried tofu
Dough formation	F,C,I	Baked goods
Adhesion	C,I	Sausages,lunchbeon meats, meat patties,meat loaves and rolls,boned hams
Cohesion	F,I	Baked goods
	F	Macaroni
	I	Simulated meats
	I	Dried tofu
Elasticity	I	Baked goods
	I	Simulated meats
	I	Gels
Film formation	I	Frankfurters, bologna
Color control		
Bleaching	F	Breads
Browning	F	Breads,pancakes,waffles
Aeration	I	Whipping toppings,chiffon mixes,confections

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

F,G,C and I represent flour,grits,concentrates,and isolates,respectively

ที่มา : Norman (1978)

ตารางที่ 4 : Composition of soybean,defatted soybean meals,flours,concentrates,and isolates.

Product	Moisture (%)	Protien (%)	Fat (%)	Fiber (%)	Ash (%)
Soybean	11.0	37.9	17.8	4.7	4.5
Defatted meal ,with hulls	10.4	44.0	0.5	7.0	6.0
Defatted meal ,dehulled	10.7	47.5	0.5	3.5	6.0
Full-fat soy flour	5.0	44.3	21.0	2.0	4.9
Defatted grits and soy flour	7.0	54.9	0.8	2.4	6.0
Protien concentrate	7.5	66.6	-	3.5	5.5
Protien isolate	5.0	93.1	-	0.2	4.0

ที่มา : Wilcox (1987)

2.3.2 โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (Soybean Protien Concentrate) จะมีโปรตีนอย่างน้อย 70 % (น้ำหนักแห้ง) สามารถเตรียมได้โดยการนำส่วนของ Defatted soy meal หรือ Acetone powder มาขจัดส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนหรือคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ออก (ได้แก่ sucrose 7.3 % , raffinose 0.9% และ stachyose 4.6%) โดยการชะล้างหรือสกัดสารละลายผสมระหว่างน้ำและแอลกอฮอล์ หรือน้ำและเอทธานอล หรือการใช้กรดเจือจางและการให้ความร้อนชื้นและน้ำ การเตรียมโดยความร้อนชื้น จะทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนทำให้ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นคาร์โบไฮเดรตซึ่งสามารถละลายได้ในสารละลาย จึงสามารถแยกออกจากโปรตีนได้ง่าย ในขณะที่วิธีการชะล้างด้วยกรดเจือจางโดยการปรับสารละลายให้ได้ pH 4.5 ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอน หลังจากแยกส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนที่ละลายน้ำแล้ว จะทำให้โปรตีนกลับสู่สภาพเดิมด้วยการทำให้เป็นกลางก่อนการทำแห้ง เพื่อทำให้โปรตีนสามารถละลายน้ำได้ดีเมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งองค์ประกอบของโปรตีนเข้มข้นที่เตรียมได้จากทั้ง 3 วิธีที่กล่าวมาดังแสดงในตารางที่ 5 การขจัดส่วนของ sucrose, raffinose และ starchyose จะกระทำในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด เพราะ Oligosaccharide จะไม่เกิดการไฮโดรไลส์ ดูดซึมยากและย่อยได้ต่ำ ทำให้เกิดการหมักเกิด flatus แทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 : Composition (% dry weight) of Soybean Protein Concentrate

Method	Protein	Fat	Crude fiber	Ash
Alcohol leach	70	0.3	3.7	6.0
Acid leach	71	0.3	3.6	5.1
Moist heat,water	72	1.2	4.5	3.8

ที่มา : Weingartner (1987)

โปรตีนเข้มข้นนี้จะใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เพราะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรสชาติและคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะ (functional properties) หลายๆ หน้าที่ เช่น ใช้ในไส้กรอกและผลิตภัณฑ์ที่คล้ายกัน นอกจากนี้ยังใช้ในผลิตภัณฑ์นมผงขาดมันเนยด้วย

2.3.3 โปรตีนสกัด (Soybean Protein Isolate) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 90 % ซึ่งเตรียมได้โดยการนำ defatted flake soybean มาสกัดด้วยสารละลายด่างเจือจาง (pH ต่ำกว่า 9) แล้วนำสารละลายผสมมาเหวี่ยงแยก ส่วนที่ไม่ละลายจะถูกกำจัดออกโดยการกรองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้น ดังกรรมวิธีการเตรียมในขั้นตอนการสกัดโปรตีนเข้มข้น ส่วนที่สกัดจะเรียกว่า supernatant ซึ่งจะนำไปปรับ pH ให้ได้ 4.5 เพื่อจะตกตะกอนโปรตีน โปรตีนสกัดที่ดีจะต้องทำให้เป็นกลางก่อนที่จะนำไปทำแห้ง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายของโปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหาร โปรตีนสกัดมีองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 3 และเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะ (functional properties) ต่างๆ เช่น การเกิดอิมัลชั่น การเกาะติดกับไขมัน การดูดซับน้ำหรือความสามารถในการอุ้มน้ำ การเกิดเป็นกาว การเกิดฟิล์ม และการเกิดโฟม เป็นต้น โปรตีนสกัดนี้นิยมใช้เป็นส่วนผสมเครื่องปรุงในอาหาร ใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์โดยเฉพาะไส้กรอกและเนื้อก้อน ผลิตภัณฑ์นมและอาหารสำหรับเด็กทารก เป็นต้น

2.4 โปรตีนจากถั่วเหลือง (พิชัย,2528)

โดยทั่วไปในถั่วเหลืองจะมีโปรตีนเป็นสารอาหารหลัก และเพื่อก่อให้เกิดความเข้าใจดียิ่งขึ้นในการที่จะกล่าวถึงรูปแบบของผลิตภัณฑ์อื่นๆ อันเกี่ยวข้องกับโปรตีน โปรตีนหลายชนิดรวมทั้งโปรตีนถั่วเหลืองจะไวต่อการเปลี่ยนแปลงโดยสภาวะการต่างๆ (Treatment) ทั้งทางกายภาพ เช่น แรงอัด ความร้อนและทางเคมี เช่น สภาวะความเป็นกรดด่าง ปริมาณอนุมูลโลหะหรือสารเคมีอื่นๆ เป็นต้น ยังผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ทำให้การละลายตัวลดลง ขนาดของโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนไปและมีความหนืด เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนในถั่วเหลืองจะถูกสะสมอยู่ในเซลล์ของเนื้อถั่วเหลือง โดยสะสมกันเป็นที่เรียกว่า Protein bodies หรือ Storage Proteins ซึ่งมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 2-20 ไมครอน แต่ส่วนใหญ่มีขนาด 5.8 ไมครอน และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200,000-600,000 ในสภาวะธรรมชาติโมเลกุลของโปรตีนขนาดใหญ่เหล่านี้ยังสามารถจับตัวกันเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ได้อีกด้วย การเชื่อมกันของ disulfide linkage polymer และโปรตีนที่แยกมาได้เพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์นั้นจะเป็นชนิดของโปรตีนที่เปลี่ยนสภาพโดยการเกิดปฏิกิริยาที่ซับซ้อนรวมกันอยู่ โดยอย่างน้อย 7 ชนิดของโปรตีนจะจับกันเป็น subunits ซึ่งอาจถูกทำให้โมเลกุลเปลี่ยนขนาดไปโดยสภาวะต่างๆ

องค์ประกอบของโปรตีนในถั่วเหลืองนั้นจะมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อมนุษย์เทียบเท่ากับโปรตีนในไข่ ยกเว้น Sulfur-containing amino acid โดยเฉพาะ Methionine และ cystine แต่จะมี lysine ในปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับเมล็ดธัญพืชอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 6 (Norman,1978)

ตารางที่ 6 : องค์ประกอบของ Amino Acid ใน Soybean Protein

Essential amino acids	Meal	Nonessentail amino acids	Meal
Lysine	6.9	Arginine	8.4
Methionine	1.6	Histidine	2.6
Cystine	1.6	Tyrosine	3.9
Tryptophane	1.3	Serine	5.6
Threonine	4.3	Glutamic acid	21.0
Isoleucine	5.1	Aspartic acid	12.0
Leucine	7.7	Glycine	4.5
Phenylalanine	5.0	Alanine	4.5
Valine	5.4	Proline	6.3
		Ammonia	2.1

ที่มา : Norman (1978)

ในการเรียกชื่อของโปรตีนนั้นปัจจุบันยังไม่มีระบบการเรียกชื่อที่ใช้กัน แต่เนื่องจากได้มีนักวิจัยค้นคว้าและกำหนดชื่อเรียกกันตามลักษณะต่างๆ เช่น ใช้บรรทัดฐานของ Sedimentation Coefficients ซึ่งค่าของ Sedimentation properties จะขึ้นอยู่กับสภาพของ buffer condition, pH และปัจจัยอื่นๆ เช่น ionic strength ในส่วนของ Protein Bodies นั้น โปรตีนส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ชื่อว่า Globulin ซึ่งเป็นโปรตีนที่เราสามารถแยกออกมาใช้ได้และประกอบด้วย 2S, 7S, 11S และ 15S fractions โดยปริมาณ fraction ของ 2S น้อย ส่วนโปรตีนที่มีชื่อว่า Trypsin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inhibitors (ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ได้ functional หรือ biological active proteins, enzymes) จะมี fraction ของ 2S อยู่มากในส่วนของโปรตีนที่สกัดออกมาด้วยน้ำนั้นมักจะมีอยู่ในส่วนของ cytoplasm ของเซลล์มากกว่าใน Protein bodies

จากการแยกเอาส่วนของ Protein bodies โดยใช้ถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้วที่ความละเอียด 350 mesh แล้วนำมาละลายในน้ำเชื่อมและปรับ pH ให้อยู่ที่ 5 ซึ่งเป็น pH ที่มีค่าการละลายตัวต่ำสุดของโปรตีนส่วนใหญ่ และเพื่อป้องกันการกระจายตัวของ Protein bodies จากนั้นจึงนำไปเหวี่ยงซึ่งจะได้เป็นตะกอน 2 bands คือ light fraction ตะกอนจะก่อตัวที่ความหนาแน่นต่ำกว่า 1.30 และ heavy fraction ความหนาแน่นที่ 1.32 ผลจากการนำเอา Protein bodies ไปวิคราะห์หาส่วนประกอบพบว่ามีดังแสดงในตารางที่ 7 (พิชัย,2528)

ตารางที่ 7 : ส่วนประกอบของ Protein bodies ในถั่วเหลือง(คำนวณจากน้ำหนักแห้ง)

ส่วนประกอบ	Total Preparation %	Preparation Light %	Heavy %	Total %	Defatted soybean %
Protein(N*5.8)	65.0	97.5	78.5	82.5	50
Total phosphorus	0.94	0.84	0.9	0.48	-
Ribonucleic acid	0.53	0.43	2.04	1.29	1.66
Phospholipid	-	-	-	1.0	2.25
Total lipid	-	1.5	5.6	11.3	8.6
Phytic acid	-	2.6	2.3	1.35	2.24
Carbohydrate	8.5	-	-	3.0	-
Ash	7.7	-	-	-	-
Total	82.7	100.8	87.4	99.3	64.8

ที่มา : พิชัย (2528)

ในส่วนที่เรียกว่า Protein fraction หลังจากสกัดด้วยน้ำหรือสารละลายผสมระหว่างน้ำและด่างเจือจาง (pH 7-9) แล้วผ่านการเหวี่ยงแยกแล้วจะได้ส่วนที่เรียกว่า supernatant ซึ่งสามารถแยกส่วนของโปรตีนออกเป็นโปรตีนหลักๆ ได้ 4 ส่วนตาม Sedimentation coefficients ดังแสดงในตารางที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 : ปริมาณและชนิดของโปรตีนโดยการใช้ Ultracentrifuge แยกจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้

Fraction	Percentage of total	Component	Molecular weight
2S	22	Tripsin inhibitors	8,000-21,500
		Cytochorme C	12,000
7S	37	Hemagglutinins	110,000
		Lipoxygenases	102,000
		B-Amylase	61,700
		7S-Globulin	180,000-210,000
11S	31	11S-Globulin	350,000
15S	11	-	600,000

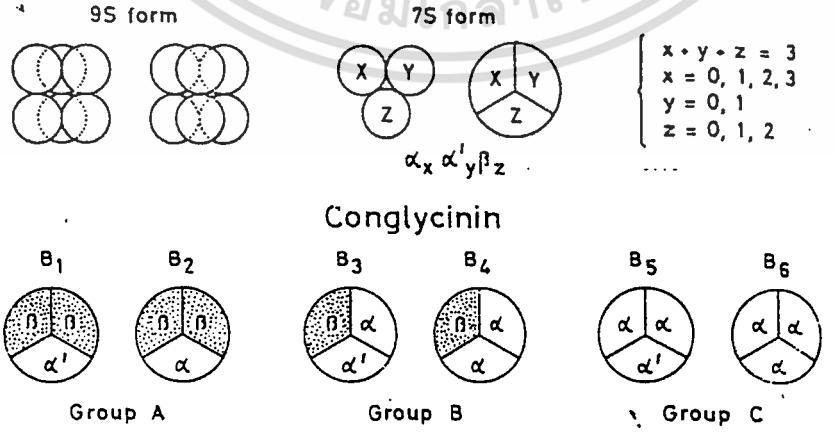
ที่มา : Norman (1978)

2.5 ลักษณะโครงสร้างและความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติในหน้าที่ของ 7S และ 11S globulin

2.5.1 ลักษณะโครงสร้างของ 7S globulin

β-Conglycinin เป็นโปรตีนหลักใน 7S globulin ซึ่งจะจับตัวอยู่ในรูปของ 7S globulin และในรูปของ 9S globulin ณ 0.5 และ 0.1 ionic strenght ตามลำดับ น้ำหนักโมเลกุลของ 7S globulin จะอยู่ในช่วง 150000 - 175000 และน้ำหนักโมเลกุลในรูป 9S globulin ประมาณ 370000 7S globulin จะประกอบด้วย 6 isomer คือ β_1 to β_6 conglycinin แต่ละโมเลกุลของ isomer จะประกอบด้วยโมเลกุลละ 3 subunits

โครงสร้าง subunit ของ 6 isomer-Conglycinin จะมีลักษณะดังนี้



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของโปรตีน 7S

ที่มา : Thanh และ Shibasaki (1976)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในแต่ละ Conglycinin จะประกอบด้วยน้ำตาล N-terminal amino acid 7S-globulin จะมีโปรตีน 2 ชนิดคือ Vicilin-type protein และ legumin type ซึ่งพบว่าประกอบด้วย 12 subunits โดย Vicilin-type ประกอบด้วย 6 isomer Conglycinins มี glutamate, aspartate, lecucine, argimine ในปริมาณมากแต่มี methionine และ cystine น้อย กลุ่ม A,B,C ของ Conglycinins จะมีความแตกต่างกันในส่วนประกอบของกรดอะมิโน โดยกลุ่ม A ถึง C ปริมาณของ glutamate protein lysine และphenylalanine จะลดลง ส่วนกลุ่มที่มี α' - subunit จะมี histidine ในปริมาณสูง

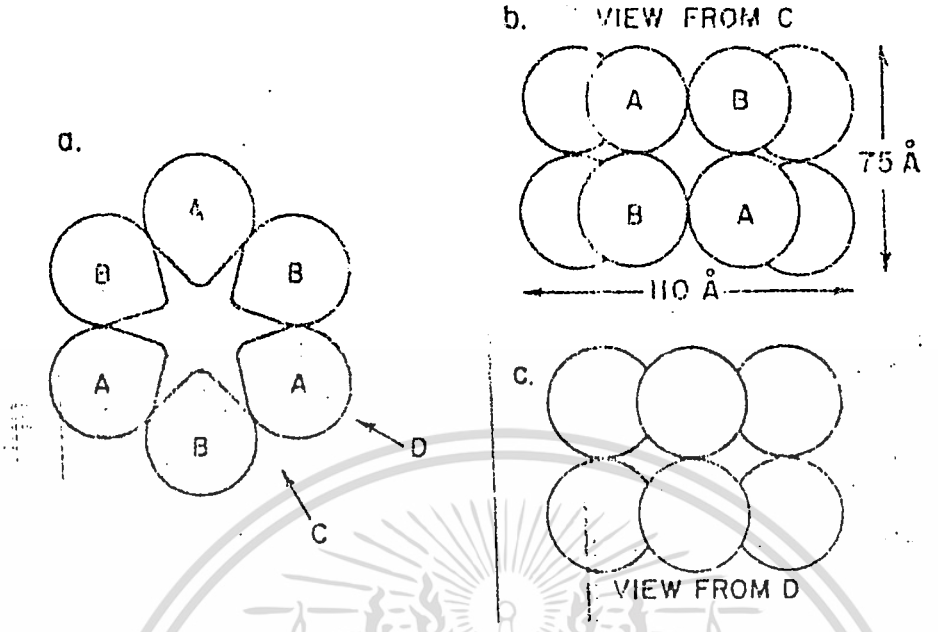
โครงสร้างของ subunits จะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงของ 42000-57000 β-subunit จะมีปริมาณของ glutamate, proline, lysine, arginine และกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำมากกว่าและ α' และ α-subunit ซึ่งให้ลักษณะเดียวกันที่กล่าวแล้วข้างต้นจากกลุ่ม A ถึง C โดยดูจาก proposed composition

2.5.2 ลักษณะโครงสร้างของ 11S globulin

น้ำหนักของโมเลกุลของ 11S globulin 350000 ซึ่งจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับน้ำหนักในโมเลกุลของ subunit องค์ประกอบของกรดอะมิโนของ 11S globulin จะมี methionine ในปริมาณต่ำ แต่มี lysine ปริมาณสูง สัดส่วนของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (Ala, Val, Iic, Leu และ Phe) และกลุ่มที่ชอบน้ำ (Lys, Mis, Agr, Aop และ Glu) เป็น 23.5 และ 46.7% ตามลำดับ N-terminal Amino acid จะพบอยู่ 3 ชนิดคือ glycine, phenylalanine และ Leucine

โครงสร้างของ subunit 11S globulin หรือ glycinin จะประกอบด้วย 6 subunits ในแต่ละ subunit จะประกอบด้วยส่วนของ polypeptide chain ของ acidic และ basic ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 37000 และ 20000 ตามลำดับ ได้แก่ 3 subunits ของ acidic และ 3 subunits ของ basic ในการศึกษาระยะแรกๆ บ้างก็กล่าวว่าประกอบด้วย 4 subunits ของ acidic และ 4 subunits ของ basic และอาจมากถึง 6 subunits ของ acidic และ 6 subunits ของ basic ดังแสดงในรูปที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 แสดงลักษณะโครงสร้างของโปรตีน 11S
ที่มา : Peng และคณะ (1984)

ส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่แน่นอนยังไม่กระจ่างนัก แต่สามารถบอกได้ว่า acidic subunits จะมีปริมาณของ glutamic acid, proline, half-cystine สูงกว่า basic subunit ในขณะที่ basic subunits จะมีกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำมากกว่าใน acidic subunit

2.5.3 <u>ความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติในหน้าที่ระหว่าง 7S และ 11S globulin</u>

ถึงแม้ว่า 7S และ 11S globulin ในโปรตีนจะมีคุณสมบัติในหน้าที่เฉพาะที่สำคัญ ๆ หลายอย่างเช่น คุณสมบัติการละลาย การเกิดอิมัลชั่น การเกิดโฟม การเกาะติดไขมัน การเกิด gel การดูดซับน้ำและไขมัน เป็นต้น แต่เนื่องจาก ในแต่ละชนิดของถั่วเหลืองมีความแตกต่างกันในปริมาณของโปรตีน ดังนั้นปริมาณของ 7S และ 11S globulin ที่สกัดได้จะมีความแตกต่างกันไปด้วย และเมื่อเทียบสัดส่วนระหว่าง 7S และ 11S globulin ความมากน้อยของตัวใดตัวหนึ่งจะมีผลกระทบต่อการให้คุณสมบัติในหน้าที่ในผลิตภัณฑ์อาหารด้วยเช่น เมื่อให้ความร้อนแก่โปรตีนทั้งสองจะเกิดการฟอร์มเจล ซึ่งจะให้ผลที่แตกต่างกันคือ เจลที่ฟอร์มจาก 11S globulin จะมีแรงตึงและแรงเฉือนสูงกว่าและสามารถจับน้ำได้มากกว่าเจลที่ได้จากส่วนของ 7S globulin บางกรณีเมื่อนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งไม่ได้แยกส่วนของ 7S และ 11S ออกจากกัน ดังนั้นสัดส่วนของ β-Conglycinin ต่อ glycinin (7S : 11S) จะให้ลักษณะที่แตกต่างกันเช่น tofu ที่ผลิตจาก 7S ที่มีปริมาณสูงกว่า 11S globulin จะมีลักษณะนุ่มกว่า tofu ที่มีปริมาณของ 11S globulin สูงกว่า เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ความชื้น

อาหารประกอบด้วยน้ำในปริมาณที่แตกต่างกัน น้ำในสภาพอิสระ (free water) เป็นตัวทำละลายแร่ธาตุอาหาร และเป็นตัวกลางการกระจายตัวของคอลลอยด์ (colloid) น้ำในสภาพที่ถูกดูดซับ (absorbed water) บริเวณผิวอนุภาคคอลลอยด์ พบในโปรโตพลาสซึม ผนังเซล และองค์ประกอบของเซล เป็นน้ำที่ถูกดูดซึมเอาไว้อย่างแน่นเรียกว่า bound water

การวิเคราะห์หาความชื้นในอาหารกระทำได้หลายวิธี เช่น อบไล่ความชื้นในตู้อบ กลั่น หรือไตเตรชั่น วิธีอบไล่ความชื้นนับว่าง่ายในทางปฏิบัติโดยคำนวณหาน้ำหนักของสารที่หายไปหลังการอบแห้ง น้ำส่วนที่ระเหยไปนี้คือ free water อย่างไรก็ตาม น้ำหนักที่หายไปมิได้บ่งบอกถึงปริมาณของความชื้นเท่านั้นที่ระเหยไป แต่องค์ประกอบที่ระเหยง่ายก็จะถูกขจัดออกไปพร้อมความชื้นด้วยเช่นกัน การระเหย free water จะเร็วขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้น อาหารบางชนิดเช่น ผลไม้ มีน้ำตาลประกอบอยู่ไม่ควรใช้อุณหภูมิเกิน 70 $^{\circ}$c หรืออบในสูญญากาศ มิเช่นนั้นอาหารจะกลายเป็นสีน้ำตาล หรือไหม้ ตู้อบควรมีระบบหมุนเวียนอากาศช่วยการกระจายความร้อนอย่างสม่ำเสมอ ตัวอย่างที่วางในชั้นต่างๆ จะได้รับความร้อนอย่างเท่าๆ กัน ตัวอย่างที่นำมาไล่ความชื้นแต่ละชนิดจะใช้อุณหภูมิและเวลาในการอบไม่เท่ากัน เช่น ผลิตภัณฑ์นมอบที่อุณหภูมิ 100 $^{\circ}$c เป็นเวลา 3-4 ชม. เมล็ดข้าวโพด ข้าวเจ้า ถั่วเหลือง บดและอบที่อุณหภูมิ 130 $^{\circ}$c นาน 2 ชม.

2.7 การเตรียม Deffated soybean meal

เนื่องจากการศึกษาเรื่องโปรตีนได้รับความสำคัญเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาถึงวิธีการสกัดไขมันออกจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ โดยในที่นี้จะกล่าวถึงการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเนื่องจาก การสกัดด้วยตัวทำละลายนั้นมีข้อดีดังนี้ (Horvath,1939)

- วิธีนี้สามารถสกัดไขมันออกมาได้มากกว่าการสกัดด้วย pressure method
- กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีนี้มีไขมันเหลืออยู่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับ pressure method
- วิธีนี้จะให้ปริมาณโปรตีนมากกว่า pressure method
- โปรตีนที่สกัดได้จะมี adhesive properties ที่ดีกว่า

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้การสกัดไขมันออกจากเมล็ดถั่วเหลืองในระบบอุตสาหกรรมได้ใช้สารประเภท hydrocarbon ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งหมายถึง hexane โดยจะเป็นตัวทำละลาย triglyceride และ ไขมันอื่นๆ ได้ดี และมีราคาถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้ตัวทำละลายอื่นอีก ซึ่งได้แก่

ก. Alcohol alcohol ที่ใช้ในการสกัดไขมันได้แก่ metyl, ethyl และ isopropyl alcohol ซึ่งในการใช้แอลกอฮอล์นั้นพบว่า สารละลายจะปรับปรุงคุณสมบัติในด้านสีและกลิ่นให้แก่ผลิตภัณฑ์ด้วย (Smith และ Circle,1972)

ข. Ether, Carbon disulfide และ Acetone ตัวทำละลายเหล่านี้จะใช้ในการสกัดระดับปฏิบัติการในห้อง lab เนื่องจากสารละลายเหล่านี้มีราคาแพงและไม่ไวไฟ

2.8 การสกัดแยก 7S และ 11S Fraction

มีการศึกษาการตกตะกอน 7S และ 11S globulin (Fractional precipitation) หลาย ๆวิธีด้วยกัน ซึ่งจะใช้คุณสมบัติความสามารถในการละลาย ในสภาวะที่ต่าง ๆกัน เช่น ความแตกต่างของความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด (ความแตกต่างของ ionic strength) ความสามารถในการละลาย ณ. Isoelectric point ได้แก่ Isoelectric precipitation , Use of Metal Cations, Cryoprecipitation และ Ammonium sulfate precipitation

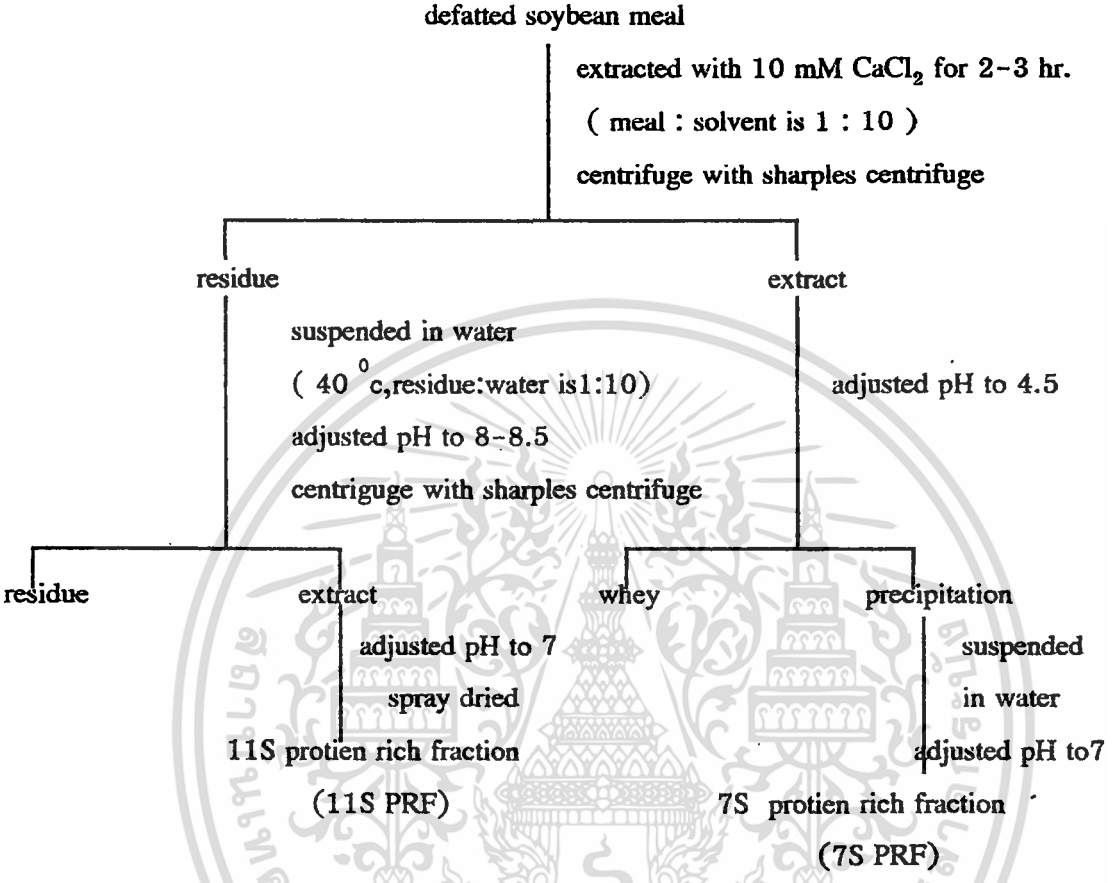
2.8.1 Fractional precipitation

เริ่มต้นด้วยการนำ defatted soybean meal หรือ acetone powder นำมาสกัดให้ได้ whole buffer แล้วนำส่วนของ whole buffer ไปทำการแยกส่วนของ 7S และ 11S fraction จนทำให้ส่วนของ 7S และ 11S fraction มีความบริสุทธิ์มากที่สุด ซึ่งในแต่ละวิธีจะมีความบริสุทธิ์ของ 7S และ 11S globulin ได้ต่าง ๆกัน อันเนื่องมาจากสภาวะที่ใช้ในการตกตะกอนได้แก่ pH ,ionic strength และ protien concentrate ที่แตกต่างกัน (Peng และคณะ,1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96732

2.8.2 Saio's method (Use of Metal Cations)



2.8.3 Cold-Insoluble Fraction & Ammonium Sulfate precipitation

Kitamara และคณะ (1974) กล่าวว่า ในการสกัดและตกตะกอนจะใช้ตัวทำละลายที่ผ่านการทำให้เย็น วิธีการนี้สามารถแยกองค์ประกอบของโปรตีนได้ดังนี้ 5% 2S, 7% 7S, 82% 11S และ 6% 15S ซึ่งจะเห็นว่า ได้ส่วนประกอบของ 11S มากที่สุด และเพื่อให้ได้ 11S ในปริมาณมากที่สุดและมีความบริสุทธิ์ที่สุด สามารถทำได้โดยนำส่วนของ Cold-Insoluble Fraction มาตกตะกอนด้วยสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตซึ่งจะให้ 11S มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 91-93 %

2.8.4 Koshiyama's 11S Protein-Batch Fraction

วิธีนี้จะใช้ความแตกต่างของ ionic strength ในการตกตะกอนแยก 7S และ 11S ด้วยความเข้มข้นของ NaCl ที่ต่างกัน 11S จะตกตะกอนโดยสมบูรณ์ในสารละลายผสมระหว่าง HCl pH 2 ผสมกับ 0.5 M NaCl ในขณะที่ 7S จะตกตะกอนเมื่อความเข้มข้นของ NaCl เป็น 0.8 M หรือมากกว่าเท่านั้น ดังนั้นในทางปฏิบัติ 11S PRF (11S protein rich fraction) จะเตรียมโดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดโปรตีนที่จะตกตะกอนด้วยกรดด้วยสารละลาย HCl ที่ pH 2 ผสมกับ 0.6 M NaCl ดังนั้นส่วนที่ไม่ละลายคือ ส่วนของ 11S PRF

2.8.5 Thanh และคณะ (1975b)

วิธีนี้นิยมใช้มากในการสกัดและตกตะกอน 7S แล 11S เนื่องจากปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อการตกตะกอน 7S และ 11S fraction คือ pH, ionic strenght, Protein concentrate (meal:buffer) วิธีของ Thanh จะศึกษาถึงความแตกต่างในความสามารถในการละลายของ 7S และ 11S โปรตีนในช่วง pH 6.1-6.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อการละลายในสารละลายขณะสกัดและตกตะกอนคือ ionic strenght ของสารละลาย buffer ที่ใช้ ดังนั้นเมื่อเพิ่มค่า ionic strenght (มากกว่า 0.07) โดยเพิ่มความเข้มข้นของ Tris-HCl หรือโดยการเติม CaCl จะมีผลต่อการละลายของ 11S ซึ่งจะอยู่ในส่วนของ 7S ดังนั้นเพื่อขจัดอิทธิพลของ ionic strenght จึงละลาย defatted soybean meal ด้วย Tris -Hcl ในอัตราส่วนที่มาก(meal : beffer = 1: 20) และปรับ pH ของ buffer ให้ได้ 6.4เพื่อแยกโปรตีนทั้ง 2 ชนิดออกจากกัน ดังนั้นในส่วนของ supernatant จะไม่มีส่วนของ 11S อยู่เลย วิธีนี้เหมาะกับการเตรียม fraction protein ในปริมาณมากโดยเกิดการปะปนกันของ 7S และ 11S น้อยที่สุด

2.9 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนนั้นสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น วิธีเจลดาห์ (Kjeldahl method), วิธีไบยูเรท (Biuret method) และวิธีหาโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 nm. แต่วิธีที่จะกล่าวถึงและใช้ในงานวิจัยครั้งนี้คือ วิธีของโฟลิน-เลาวรี (Folin-Lowry method) เนื่องจากวิธีนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้แม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย โดยวิธีของโฟลิน-เลาวรีอาศัยหลักการคือ โปรตีนจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin's phenol reagent ซึ่งประกอบด้วยสารละลายโซเดียมทังสเตนและโซเดียมโมลิบเดทในกรดฟอสฟอริกและกรดไฮโดรคลอริก ได้ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินซึ่งดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยกลไกในการเกิดปฏิกิริยานั้นเกิดได้โดย กรดอะมิโนชนิดไทโรซินและทริปโตเฟน จะรีดิวส์ฟอสโฟโมลิบเดทในสารละลายรวมกับทองแดงชัลเฟตในเบส กลายเป็นสารสีน้ำเงิน

2.10 Gel Electrophoresis

อิเลคโตรโฟรีซิส (Electrophoresis) เป็นวิธีการแยกและวิเคราะห์ชีวโมเลกุลโดยอาศัยหลักการที่ว่า โมเลกุลที่มีประจุต่างกันย่อมมีแรงเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าต่างกัน โปรตีนจะมีประจุได้เนื่องจากการแตกตัวของหมู่อะมิโน หมู่คาร์บอกซิล และหมู่อื่นๆ ใน side chain ที่ค่า pH หนึ่งๆ ของสารละลาย โปรตีนแต่ละชนิดจะมีปริมาณของประจุสุทธิแตกต่างกันออกไป ซึ่งอาจเป็นบวก ลบ หรือเป็นกลางก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Brewer (1970) กล่าวว่า พื้นฐานของอิเลคโตรโฟรีซิสในการแยกโปรตีนนั้น ขึ้นอยู่กับการผ่านกระแสไฟฟ้าไปในตัวกลางซึ่งต้องเป็นบัฟเฟอร์ (Buffer) หรือมีสารละลายที่มีประจุ บัฟเฟอร์ที่มีความแข็งแรงของอิออนน้อยจะทำให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลในโปรตีนเร็ว และเกิดความร้อนน้อย แต่บัฟเฟอร์ที่มีความแข็งแรงของอิออนสูงจะทำให้การแยกเขตต่าง ๆ ชัดเจน โปรตีนที่มีประจุจะถูกบังคับให้เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าไปยังขั้วที่มีประจุตรงข้าม โดยประจุของโปรตีนนั้นจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) และหมู่อะมิโน (Amino group) หมู่คาร์บอกซิลจะแตกตัวให้ประจุลบ ส่วนหมู่อะมิโนจะแตกตัวให้ประจุบวก จุดที่โปรตีนมีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโนเท่ากันเรียกว่า Isoelectric point ซึ่งมี pH เป็นกลาง เมื่อ pH ของสารละลายเพิ่มขึ้นหมู่คาร์บอกซิลจะทำให้ประจุของโปรตีนเป็นลบ แต่ถ้า pH ลดลงจะทำให้ประจุของโปรตีนเป็นบวก เนื่องจากการแตกตัวของหมู่อะมิโน โปรตีนที่มีประจุบวกมากจะเคลื่อนที่ได้เร็ว โดยทั่วไปอัตราการเคลื่อนที่ของโปรตีนจะขึ้นอยู่กับความแรงของกระแสไฟฟ้า

การแยกโดยอิเลคโตรโฟรีซิลนั้นจะต้องอาศัยตัวกลางเป็นที่รองรับให้โปรตีนเคลื่อนที่ผ่านไปซึ่งตัวกลางนั้นต้องมีคุณสมบัติเฉื่อยไม่ทำปฏิกิริยากับโปรตีน อาจเป็น Strach gel, Polyarcylamide, Agar และ Agarose แต่ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับอิเลคโตรโฟรีซิสในปัจจุบันคือ Polyacrylamide ซึ่งเตรียมได้จาก Polymerization ของ Acrylamide monomer โดยมี N,N'-methylene-bis-acrylamide เป็นตัวเชื่อมให้เกิดโพลิเมอร์ ปฏิกิริยาการเกิดเจลนี้สามารถเร่งปฏิกิริยาได้โดย Ammonium persulfate และ TEMED (N,N,N',N'-tetramethyl ethylenediamine)

เจลที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะสามมิติ (Three- dimension network) ที่มีรูพรุน

%T = % โดยน้ำหนักของ Monomer (Acrylamide + Bisacrylamide)

%C = % Bisacrylamide

ขนาดของรูพรุนจะลดลงเมื่อ %T เพิ่มขึ้น

Polyacrylamide Gel ที่ดีมีลักษณะดังนี้คือ

1. ไม่ละลายน้ำ เพื่อป้องกันการปนของเจลกับสารตัวอย่าง
2. มีความยืดหยุ่น
3. ต้านทานการแยกตัว (resistant to disintegration)
4. มีความเหนียวและเกาะติดกับหลอดแก้วได้ดีและไม่หลุดออกจากหลอดขณะกระแสไฟฟ้าผ่าน
5. ไม่บวมเพราะถ้าบวมจะอุดตันช่องทางผ่านของ buffer
6. เจลมีผิวหน้าเรียบ

ในการเคลื่อนที่ของโปรตีนนั้นขึ้นอยู่กับขนาดรูปร่างและประจุสุทธิของโปรตีน ดังนั้นในระบบอิเลคโตรโฟรีซิลสำหรับแยกโปรตีนในสภาพธรรมชาติ (Non - denaturing gel electrophhoresis) จะไม่สามารถแยกความแตกต่างทางรูปร่างขนาดหรือหรือประจุของโปรตีนชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14887

ต่าง ๆ คือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกันอาจเคลื่อนที่ได้เท่ากันในระบบนี้ ดังนั้นวิธีอิเลคโตรโฟรีซิลสำหรับโปรตีนในสภาพธรรมชาติจึงเหมาะสำหรับใช้แยกหรือจำแนกโปรตีนชนิดต่าง ๆ ออกจากกัน แต่ไม่เหมาะสำหรับใช้ตรวจหรือยืนยันความบริสุทธิ์หรือหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งในกรณีนี้จะต้องใช้อีกระบบหนึ่งคือ SDS electrophoresis นอกจากนี้ยังสามารถแยกโปรตีนออกจากกันโดยอาศัยความแตกต่างของค่า pI โดยใช้เทคนิคของ Isoelectric-focusing ที่กล่าวมาทั้งหมดที่เป็น One-dimensional electrophoresis

การนำอิเลคโตรโฟรีซิลแบบ One-dimension นั้นทำได้ 2 แบบคือ แบบเจลในแท่งแก้ว (Dise gel หรือ Tube gel) และแบบเจลแผ่น (slab gel) ปัจจุบันมีการใช้ Slab gel มากขึ้นเพราะสามารถเปรียบเทียบแถบของโปรตีนได้สะดวกกว่า

2.10.1 <u>การเลือกใช้ pH บัฟเฟอร์</u>

โดยทั่วไป pH ของบัฟเฟอร์ที่ใช้ใน polyacrylamide gel อยู่ระหว่าง 3-10 pH ที่เลือกใช้จะต้องห่างจาก pH ที่จุด Isoelectric point จึงจะทำให้โมเลกุลของโปรตีนเคลื่อนที่เร็วขึ้น

2.10.2 <u>การเลือกใช้ความเข้มข้นของเจล</u>

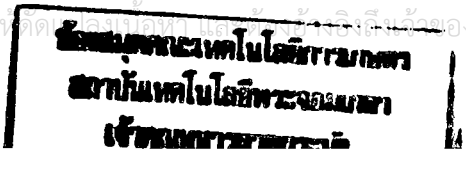
ความเข้มข้นของ acrylamide gel มีผลต่อขนาดของรูพรุน ถ้า acrylamide มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นขนาดของรูพรุนจะลดลง ถ้าใช้ความเข้มข้นของ acrylamide มากเกินไปขนาดของรูพรุนจะเล็กมาก ทำให้โปรตีนไม่ผ่านเข้าไปในเจล ดังนั้นจึงต้องเลือกใช้ความเข้มข้นของ acrylamide ให้เหมาะสมกับขนาดโมเลกุลของโปรตีนเพื่อให้ได้ระยะห่างของแถบที่ดี โดยปกติ acrylamide เข้มข้นต่ำกว่า 2.5 % ใช้ได้ดีกับการกรองโมเลกุลที่มีน้ำหนักมากกว่า 10^6 แต่ที่ความเข้มข้นนี้เจลเกือบจะเป็นน้ำจึงต้องเติม Agarose 0.5 % เพื่อให้เจลแข็งตัวสำหรับ acrylamide ที่มีความเข้มข้นมากกว่าจะใช้ได้ดีกับโมเลกุลที่มีน้ำหนักต่ำ

2.10.3 <u>SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)</u>

SDS (Sodium dodecylsulfate) เป็น detergent ที่มีประจุเป็นลบ ซึ่งจะไปเกาะกับโปรตีนทำให้โปรตีนมีประจุเป็นลบและนอกจากนี้ SDS ยังทำให้โปรตีนเสียสภาพโดยจะทำลายพันธะ non-covalent ในโปรตีนซึ่งเป็นสาเหตุให้โปรตีนเปลี่ยนสภาพจากรูปทรงกลม (Globular) ไปอยู่ในสภาพเหยียดตรง โปรตีนที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยหลายหน่วยเกาะกันอยู่ก็จะแยกออกเป็นแต่ละหน่วยย่อย

ดังนั้นการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าจึงขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลเพียงอย่างเดียว ซึ่งทำให้หาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนได้จากการเทียบค่าระยะการเคลื่อนที่ของโปรตีนตัวอย่างกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลที่แน่นอน นอกจากนี้การปรากฏของแถบโปรตีนเพียงแถบเดียวใน SDS-PAGE ยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงความบริสุทธิ์ของโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



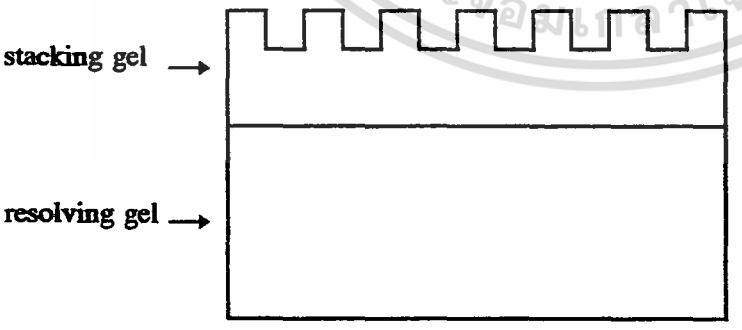
Laemmli Method (SDS-PAGE)

1. Resolving gel

ส่วนประกอบ	7.5 % gel	12% gel
1.5 M Tris-HCl pH 8.8	2.5 ml	2.5 ml
10% SDS	0.1 ml	0.1 ml
Acrylamide/bis (30 %T, 2.7% C)	2.5 ml	4.0 ml
H_2O	4.85 ml	3.35 ml
10% Ammonium persulfate	50 µl	50 µl
TEMED	5 µl	5 µl

2. Stacking gel (4%T , 2.7%C gel)

0.05 M Tris-HCl pH 6.8	2.5 ml
10% SDS	0.1 ml
Acrylamude (30%T)	1.3 ml
H_2O	6.1 ml
10% Ammonium persulfate	10 µl
TEMED	5 µl



รูปที่ 3 แสดงลักษณะของเจลที่ได้จากการเตรียมโดยวิธีของ Laemmli

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียม Defatted Soybean Meal

3.1.1.1 63 mM Tris-HCl pH 7.6

3.1.1.2 2N HCl

3.1.1.3 Acetone

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดโปรตีน

3.1.2.1 0.03 M Tris-HCl pH 8.0

3.1.2.2 2-Mercaptoethanol

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการแยก 7S และ 11S

3.1.3.1 2N HCl

3.1.3.2 0.03 M Tris-HCl pH 6.2

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

3.1.4.1 Reagent

[A] = 20 g Na_2CO_3/1 lit 0.1 N NaOH

[B] = 0.5 g $CuSO_4.5H_2O$/100 ml. 1% sodium citrate

[C] = [A] 50 ml. + [B] 1 ml.

[D] = Folin phenol reagent dilute to 1 N with H_2O

3.1.4.2 Standard Bovin Serum Albumin 0.1 %

3.1.4.3 SDS buffer (0.06 M Tris-HCl pH 6.8, 2% SDS, 10%Glycerol)

3.1.5 สารเคมีที่ใช้สำหรับ Gel Electrophoresis

3.1.5.1 Stock Solution

3.1.5.1.1. 1.5 M Tris-HCl pH 8.8 (concentrated resolving gel buffer)

3.1.5.1.2 0.5 M Tris-HCl pH 6.8 (concentrated stacking gel buffer)

3.1.5.1.3 10% (w/v) Sodium dodecylsulfate (SDS)

3.1.5.1.4 30%T, 2.7%C Acrylamide

3.1.5.1.5 SDS reducing buffer (0.06 M Tris-HCl pH 6.8 , 2% SDS , 10% Glycerol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5.2 Catalyst

3.1.5.2.1 10% Ammonium persulfate (APS) เตรียมก่อนที่จะใช้

3.1.5.2.1 TEMED (N,N,N',N'-tetramethyl ethylenediamine)

3.1.5.3 Electrode buffer

0.025 M Tris-HCl , 0.192 M Glycine , 0.1 %(w/v) SDS

3.1.5.4 Staining solution

0.025% Coomassie Blue R250 , 40% Methanol , 7% Acetic acid

3.1.5.5 Destaining solution

50% Methanol , 10% Acetic acid

3.1.5.6 2- Mercaptoethanol

3.1.5.7 Bromphenol blue

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 Aluminium can

3.2.2 เครื่องชั่งหยาบ (Mettler PE 3000)

3.2.3 เครื่องชั่งหยาบ (Mettler AE 50)

3.2.4 กะละมัง

3.2.5 Blender

3.2.6 Magnetic stirrer

3.2.7 Magnetic bar

3.2.8 ผ้ากรอง

3.2.9 หลอดสำหรับ centrifuge

3.2.10 บีกเกอร์

3.2.11 แท่งแก้วคน

3.2.12 ถาด

3.2.13 โกร่ง

3.2.14 เครื่อง Ultra centrifuge ขนาดเล็ก (CENTRIKON F42K)

3.2.15 หลอด centrifuge

3.2.16 pH-meter (SUNTEX pH/mV/TEMP. METER SP 70)

3.2.17 ขวดน้ำกลั่น

3.2.18 ช้อนตักสารสแตนเลส

3.2.19 หลอดทดลอง

3.2.20 rack

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.21 water bath

3.2.22 เครื่องวัดค่า Absorbance (CECIL 292)

3.2.23 cuvatte

3.2.24 เทอร์โมมิเตอร์

3.2.25 ปิเปต

3.2.26 ชุดทดลอง electrophoresis แบบ slab gel ประกอบด้วยแผ่นแก้ว (กว้างประมาณ 16 เซนติเมตร ยาว 16-20 เซนติเมตร) Spacer , Comb และ Chamber

3.2.27 เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า

3.2.28 Syrink

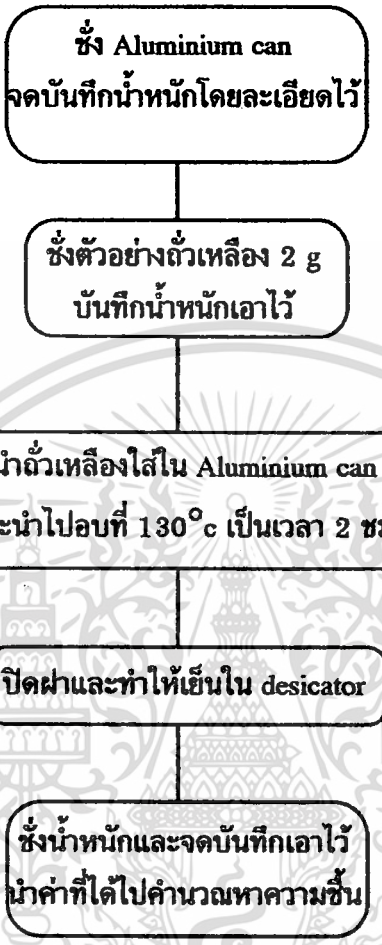
3.2.29 ไมโครปิเปต

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

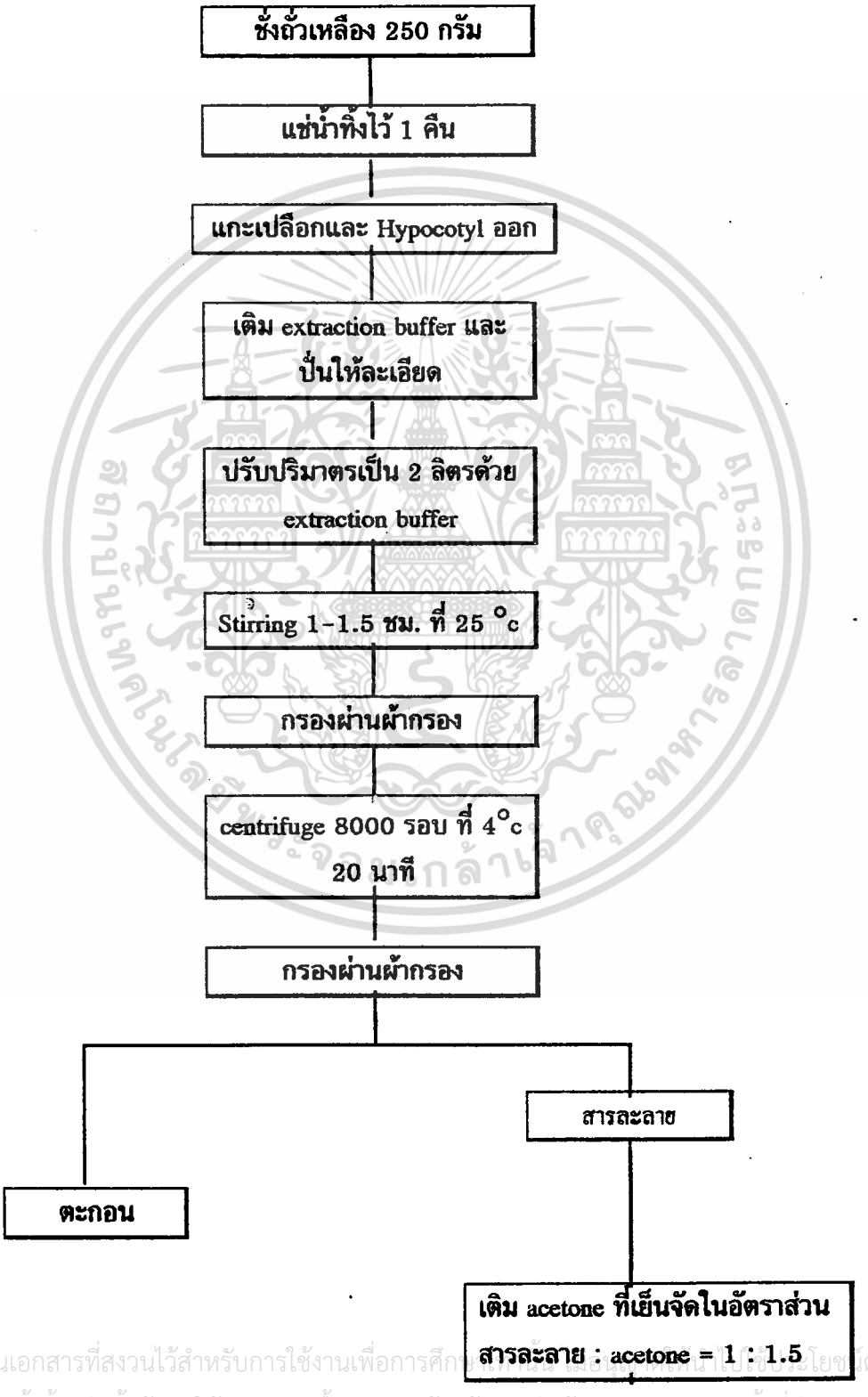
วิเคราะห์ปริมาณความชื้นของ ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด และ Defatted Soybean Meal ตามวิธี AOAC (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

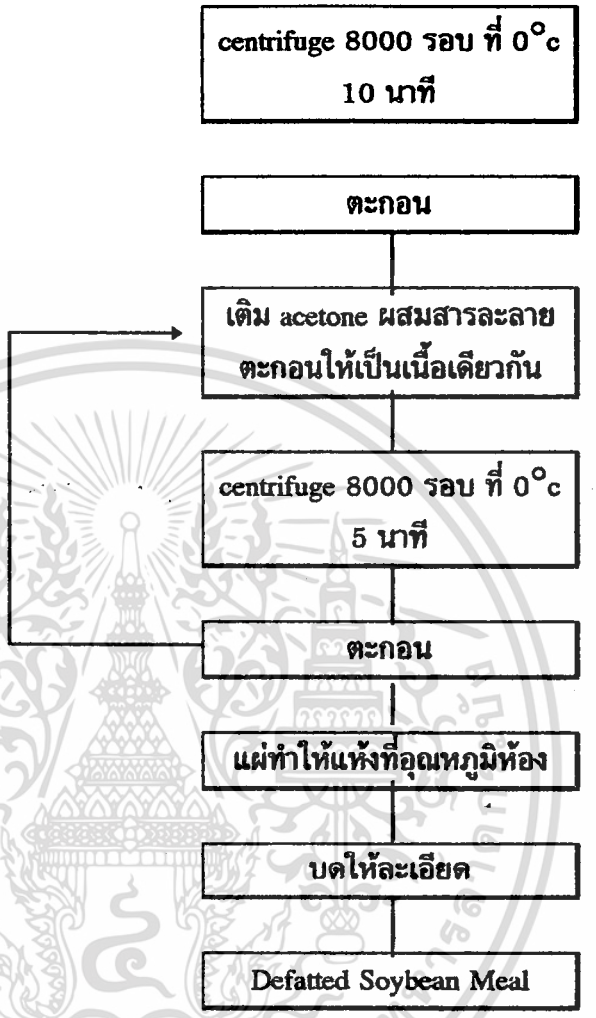


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การเตรียม Defatted Soybean Meal

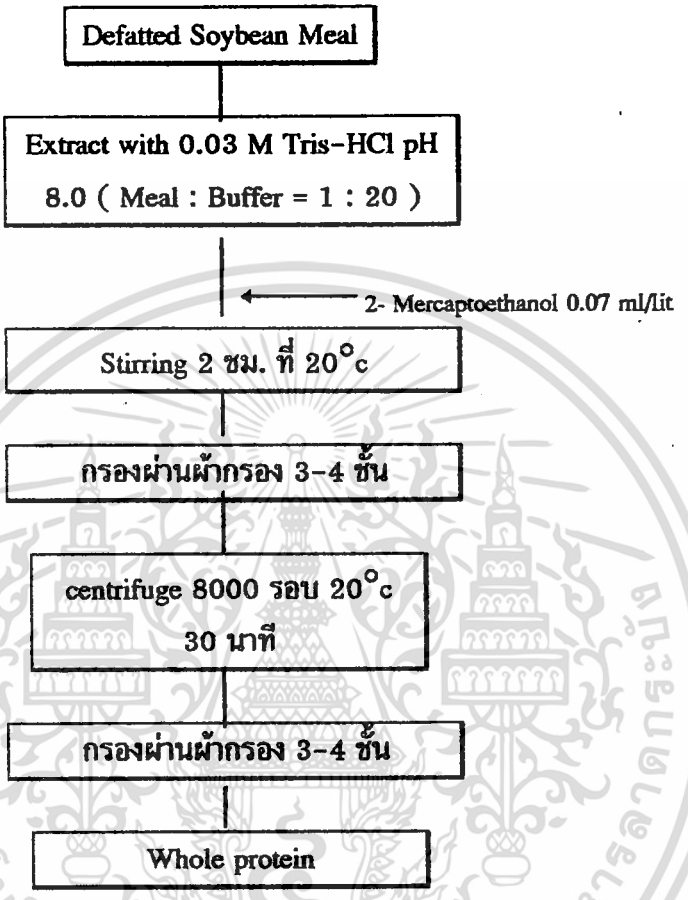


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



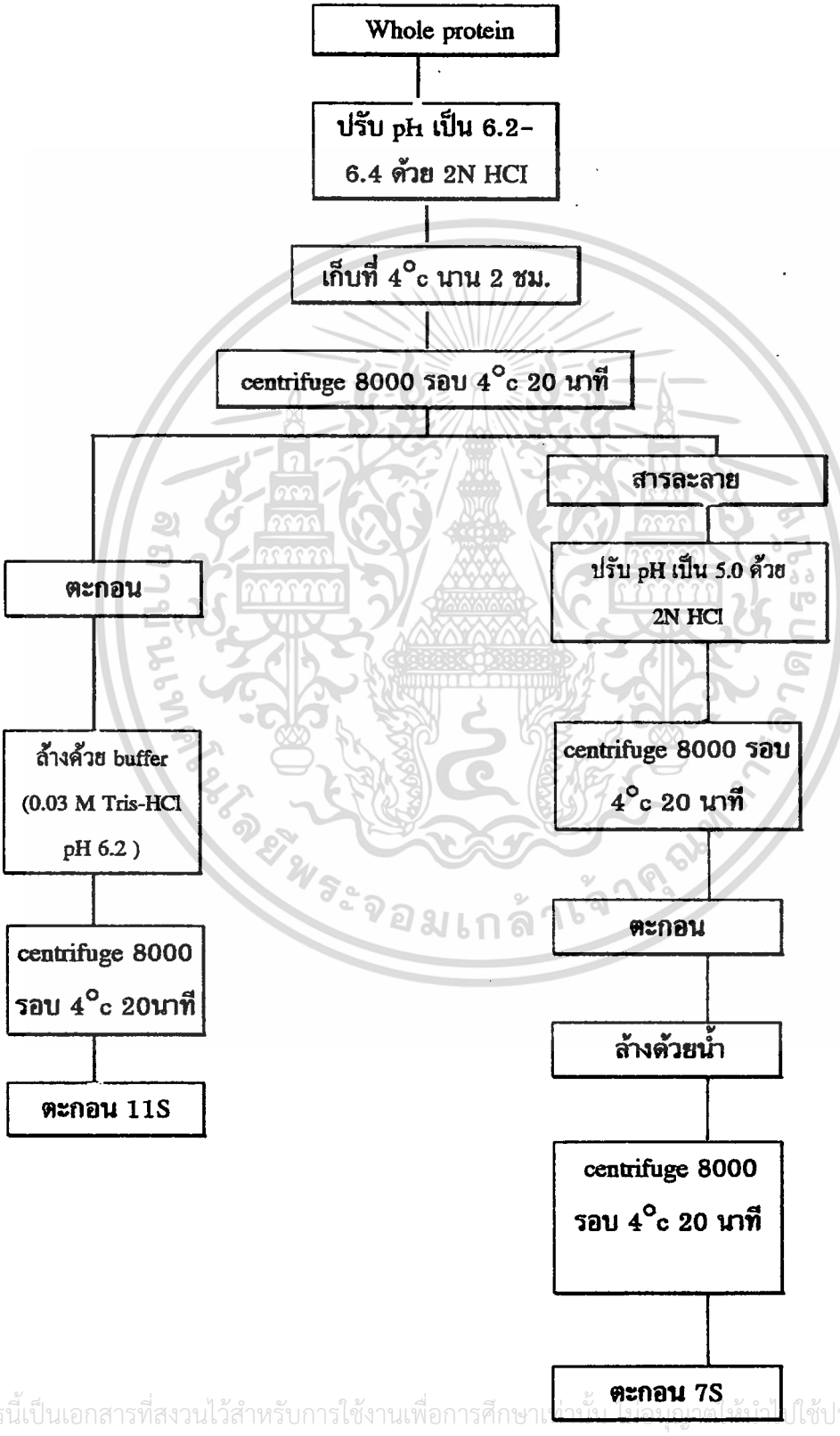
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การสกัดโปรตีน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การแยก 7S และ 11S



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย Lowry method

3.3.5.1 การเตรียมสารตัวอย่าง

3.3.5.1.1 Whole protein ปิเปต whole protein 0.05,0.1 ml. แล้วเติม SDS buffer 15 ml.

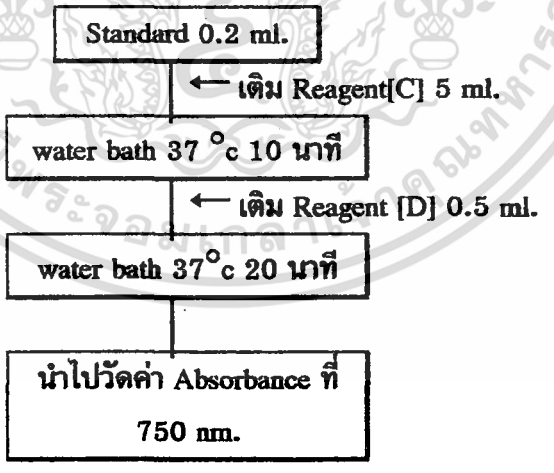
3.3.5.1.2 7S ชั่ง 7S มา 0.1 g แล้วเติม SDS buffer 10 ml.

3.3.5.1.3 11S ชั่ง 11S มา 0.1 g แล้วเติม SDS buffer 10 ml.

3.3.5.2 วิธีการทดลอง

3.3.5.2.1 Standard curve

conc (%)	0	0.0125	0.025	0.0375	0.05	0.075	0.1
BSA (µl)	0	100	200	300	400	600	800
H_2O (µl)	800	700	600	500	400	200	0



3.3.5.2.2 สารตัวอย่าง

ทดลองเช่นเดียวกับการทำ standrad curve

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6 การแยกองค์ประกอบของโปรตีนโดย Gel Electrophoresis

3.3.6.1 การเตรียม Slab gel

3.3.6.1.1 การเตรียมสารละลาย Resolving gel

A solution	7.5	ml	
B solution	4.5	ml	} เขย่าให้เข้ากัน
H_2O	6.0	ml	
APS	0.07	ml	} เติมลงก้นสารละลาย
TEMED	0.01	ml	

ใส่ Resolving gel ลงในระหว่างแผ่นแก้วของชุด electrophoresis ที่เตรียมไว้ จากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นให้คลุมผิวหน้าของเจล ทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวประมาณ 20 นาที

3.3.6.1.2 การเตรียมสารละลาย Stacking gel

A solution	0.9	ml	
C solution	1.5	ml	} เขย่าให้เข้ากัน
H_2O	3.6	ml	
APS	0.018	ml	} เติมลงก้นสารละลาย
TEMED	0.006	ml	

เทน้ำออกจากผิวหน้าของเจลแล้วเติม Stacking gel เสียบ comb พักไว้ประมาณ 20 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัว

เมื่อครบ 20 นาทีหรือเจลแข็งตัวแล้วดึง comb ออกล้างส่วนบนของ Stacking gel ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นล้างด้วย electrode buffer ล้างน้ำกลั่นและล้างด้วย electrode buffer อีกครั้ง

3.3.6.2 การเตรียมสารตัวอย่าง

3.3.6.2.1 ผสมสารตัวอย่างกับ SDS- reducing buffer

3.3.6.2.1.1 Whole protein 0.2 ml. แล้วเติม SDS buffer 2 ml.

3.3.6.2.1.2 ชั่ง 7S 0.1 g ละลายใน SDS buffer 2 ml.

3.3.6.2.1.3 ชั่ง 11S 0.1 g ละลายใน SDS buffer 2 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

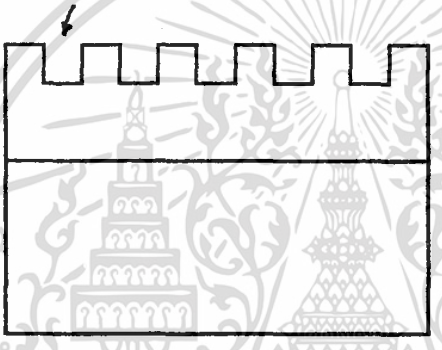
3.3.6.2.2 เติม 2-Mercaptoethnol 0.2%

3.3.6.2.3 เติมสี Bromphenol blue 30 µl แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3.3.6.3 การทำอิเลคโตรโฟรีซิส

3.3.6.3.1 ต่อชุดอิเลคโตรโฟรีซิสทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติม electrode buffer ลงใน Chamber

3.3.6.3.2 ใช้ syrink ดูดสารละลายตัวอย่าง 5 µl ใส่ลงในช่องบน Stacking gel



3.3.6.3.3 ต่อขั้วบวกและขั้วลบ เข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้กระแสไฟฟ้าคงที่ 20 mA เมื่อสารตัวอย่างเคลื่อนที่ผ่าน Stacking gel แล้วปรับกระแสไฟฟ้าเป็น 70-80 mA

3.3.6.3.4 ปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าเมื่อเห็นสีของ Bromphenol blue เคลื่อนที่มาจนถึงปลายล่างของแผ่นเจล

3.3.6.3.5 นำแผ่นแก้วออกจาก Chamber และนำแผ่นเจลออกมา

3.3.6.4 การย้อมสีโปรตีนของแผ่นเจล

3.3.6.4.1 ค่อยๆ นำแผ่นเจลมาใส่ถาดที่มี Staining solution ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที

3.3.6.4.2 เท Staining solution ออกแล้วใสสารละลาย Destaining solution ทิ้งค้างคืนไว้ 1 คืน

3.3.6.4.3 เทสารละลายทิ้งแล้วล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธี AOAC (1995) แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความชื้นของถั่วเหลืองทั้งเมล็ดและ Defatted Soybean Meal จะได้ปริมาณความชื้นดังตารางที่ 9 และ 10

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณความชื้นของถั่วเหลืองทั้งเมล็ด

ครั้งที่	%ความชื้น
1	8.9988
2	8.9788
3	8.9901
เฉลี่ย	8.9892

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณความชื้นของ Defatted Soybean Meal

ครั้งที่	%ความชื้น
1	9.3235
2	9.3372
3	9.3607
เฉลี่ย	9.3407

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณ Protein โดย Lowry method

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Folin-Lowry method โดยหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนของ Whole protein , 7S และ 11S แล้วคิดเป็นน้ำหนักของโปรตีนที่สกัดได้ทั้ง 3 ชนิดจากนั้นจึงนำน้ำหนักโปรตีนของ 7S และ 11S ที่ได้มาคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์กับน้ำหนักของโปรตีนทั้งหมดที่สกัดได้ ซึ่งได้เปอร์เซ็นต์โปรตีนของ 7S และ 11S ดังตารางที่ 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณโปรตีนของ 7S และ 11S

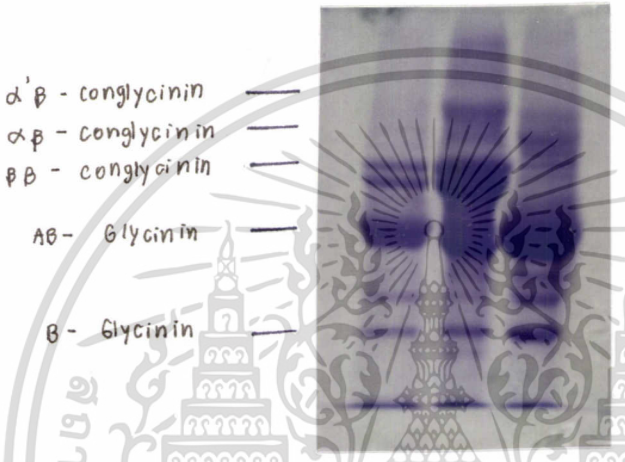
ชนิดของโปรตีน	%Protein (คิดเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
7S	35.4	30.18
11S	39.0	39.76

จากปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้โดยวิธี Lowry method จะได้ 7S และ 11S globulin ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีค่าประมาณ 32% และ 39% ตามลำดับเมื่อคิดเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด

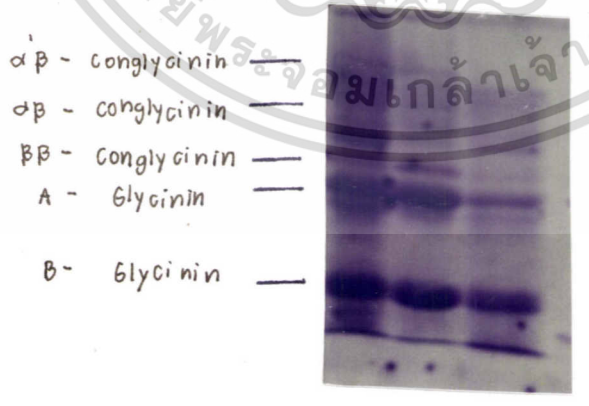
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การแยกองค์ประกอบของ 7S และ 11S globulin โดย Gel Electrophoresis

จากการทดลองแยกองค์ประกอบของโปรตีน โดยใช้ SDS- PAGE (SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis) ซึ่งใช้ตัวอย่างเป็น Whole protein, 7S และ 11S โดยแบ่งตัวอย่างเป็น 2 ชุดคือ ชุดแรกไม่ใส่สาร reducing agent(2-Mercaptoethanol) และชุดที่สองใส่สาร reducing agent แล้วนำมาวิเคราะห์แยกองค์ประกอบของโปรตีนจะได้ แถบขององค์ประกอบย่อยของโปรตีนแต่ละชนิดบนแผ่นเจลดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5 ตามลำดับ



รูปที่ 4 SDS-PAGE Electrophoresis of Soy protein isolated without reducing agent (β-Mercaptoethanol)
W = Whole protien ; A = Acidic Subunit ; B = Basic Subunit



รูปที่ 5 SDS-PAGE Electrophoresis of Soy protein isolated with reducing agent (β-Mercaptoethanol)
W = Whole protien ; A = Acidic Subunit ; B = Basic Subunit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเคลื่อนที่ของโปรตีนบนแผ่นเจลนั้นสามารถอธิบายได้จาก การเคลื่อนที่บน SDS-PAGE ของโปรตีนนั้นขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน โดยที่โปรตีนชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะสามารถเคลื่อนที่ได้ในระยะทางมากกว่าโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก จากรูปที่ 4 และ 5 เราจะเห็นว่ามีความแตกต่างกันระหว่างแถบของโปรตีนที่เกิดขึ้นบนแผ่นเจลระหว่างแผ่นเจลที่ใช้ตัวอย่างสารละลายโปรตีนที่ใส่ reducing agent และไม่ใส่ reducing agent โดยจะเห็นว่า หากเป็นโปรตีนที่ใส่ reducing agent นั้นจะสามารถเห็นองค์ประกอบย่อยของโปรตีนได้อย่างชัดเจน เนื่องจาก reducing agent จะไปทำลายพันธะไดซัลไฟด์ที่เชื่อมต่อกันของโมเลกุลโปรตีน ทำให้องค์ประกอบ 7S และ 11S แตกออกเป็น subunit ย่อยทำให้สามารถเห็นแถบสีบนแผ่นเจลได้ชัดเจนขึ้น ซึ่งจากรูปจะเห็นได้ว่า หากไม่ใส่ reducing agent จะเห็น AB-glycinin เป็นแถบสีเข้มหนา และเห็น แถบสีของ B-glycinin ค่อนข้างอ่อน แต่เมื่อใส่ reducing agent แล้วจะเห็นว่า แถบ AB-glycinin นั้นสีจะจางลงและเห็นเป็นแถบเส้นเดียวได้อย่างชัดเจนโดยเฉพาะแถบในตัวอย่างของสารละลาย 11S ในขณะเดียวกันก็สามารถเห็นแถบของ B-glycinin ได้ชัดเจนมากขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าพันธะไดซัลไฟด์ที่เชื่อมต่อระหว่าง acidic และ basic subunit ของ AB-glycinin ถูกทำลายด้วยสาร reducing agent ทำให้สามารถแยก A-glycinin และ B-glycinin ออกจากกันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ในการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของถั่วเหลืองและ Defatted Soybean Meal พบว่า มีปริมาณความชื้นดังนี้คือ 8.98 % และ 9.34 % ตามลำดับ และการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของ 7S และ 11S เมื่อคิดเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดดังนี้คือ 32% และ 39% ตามลำดับเช่นกัน นอกจากนี้เราสามารถแยกองค์ประกอบของโปรตีนได้โดยการใช้ Gel Electrophoresis ซึ่งจากที่ได้ทำการศึกษามาทั้งหมดนี้จะเห็นได้ว่า เราสามารถสกัดแยกโปรตีน 7S และ 11S ออกมาจากโปรตีนถั่วเหลืองได้ ซึ่งโปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้มีประโยชน์ต่อผลิตภัณฑ์อาหารอย่างมาก โดยที่จะไปพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารให้ดีขึ้น

ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่มีความสนใจในด้านนี้เพื่อที่จะนำไปเป็นข้อมูลสำหรับผู้ที่ต้องการจะทำการศึกษาในขั้นสูงขึ้นไป หรือสามารถนำวิธีในการวิจัยครั้งนี้ไปเป็นต้นแบบในการพัฒนาการสกัดแยก 7S และ 11S ให้มีประสิทธิภาพและมีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถนำไปเป็นแนวทางในการทำการศึกษาถั่วเหลืองพันธุ์อื่น ๆ ที่มีในประเทศไทยต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กองส่งเสริมพืชพันธุ์. 2523. เอกสารวิชาการ เรื่องผลการจัดงานแสดงผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง กลุ่มพืชน้ำมัน. กรมส่งเสริมเกษตร, กรุงเทพฯ. 160 น.

พิชัย สราญรมย์. 2528. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับถั่วเหลืองสำหรับการศึกษาระดับปริญญา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น. 223-225.

Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official Method of Analysis. 16 th ed.

Bressani, R. 1974. In Proceedings of the workshop on soybean for tropical and subtropical, Puerto Rico. pp. 147-155.

Brewer, G.T. 1970. An Introduction To Isozyme Technique. Academic Press, New York. 168p.

Horvath, A.A. 1939. The Soybean Industry. Chemical Publishing, New York. pp. 42-49.

Hughes, S.A. and Murphy, P.A. 1983. Varietal Influence on the Quantity of Glycinin in Soybeans. J. Agric. Food Chem. 31:376-379.

Kitamura, K., Okubo, K., and Shibasaki, K. 1974. The Purification of Soybean 11S Globulin with ConA-Sepharose 4B and Sepharose 6B. Agic. Biol. Chem. 38:1083.

Koshiyama, I. 1972. A New Method of Isolation of the 7S Globulin of Soybean Seed. Agric. Biol. Chem. 36:2255.

Laemmli, U.K. 1970. Nature. 227:680-685.

Matthews, R.H. 1989. In Legumes : Chemistry technology and human nutrition. Marcel Pekker, New York.

Murphy, P.A. and Resurveccion, A.P. 1984 Varietal and Enviromental Differences in Soybean Glycinin and B-conglycinin content. J. Agric Food Chem. 32:911-915.

Norman, A.G. 1978. In Soybean Physiology, Agronomy and Utilization. Academic Press, New York.

Peng, I.C., Quass, D.W., Dayton, W.R., and Allen, C.E. 1984. The Physicochemical and Fucntional Properties of Soybean 11S Globulin. Cereal Chemistry. 61(6): 480-490.

Petruccelli, S. and Anon, M.C. 1995. Soy Protein Isolate Components and Their Interactions. J. Agric. Food Chem. 43:1762-1767.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Smith, A. K. and Circle, S. J. 1972. Soybean : Chemistry and Technology. The AUI Publishing Company, USA. pp. 93-143.

Saio, K., Watanabe, T., and Kaji, M. 1973. Food use of soybean 7S and 11S protein: Extraction and functional propertis of their fraction. J. Food Sci. 39 : 1139.

Thanh, V. H. and Shibasaki, K. 1976. Major or Proteins of Soybean Seeds : A Straight forward Fraction and Treir Charecterization. J. Agric Food Chem. 24(6) : 1117-1121.

Thanh, V. H. and Shibasaki, K. 1978. Major or Proteins of Soybean Seeds : Subunit Stracture of B-conglycinin. J. Agric Food Chem. 26(3) : 692-695.

Weingartner, K. E. 1987. In Soybean for The Tropics, New York. pp. 158-169.

Wilcox, J. R. 1987. Soybean : Improvment, Production and Uses. Mashison. Wisconsin, USA. pp. 847-858.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ครั้งที่ 1

เริ่มสกัดโปรตีนจาก Defatted soybean meal = 5 กรัม

สกัดได้ 7S = 1.96 กรัม

สกัดได้ 11S = 2.60 กรัม

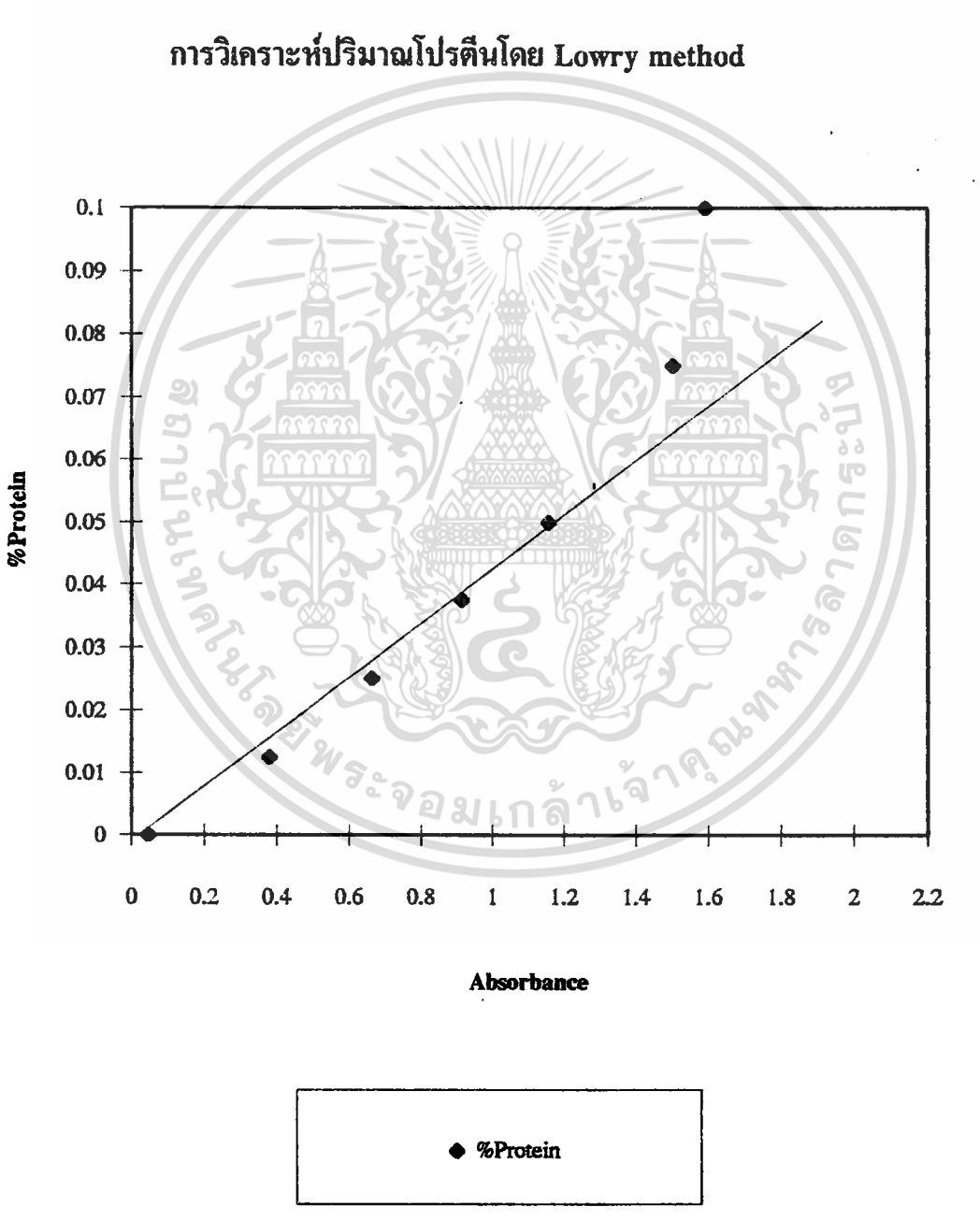
ค่า Aborbance ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ Standard Curve

%Protein	Absorbance		เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	0.051	0.041	0.046
0.0125	0.376	0.381	0.379
0.025	0.663	0.662	0.6625
0.0375	0.875	0.948	0.912
0.05	1.136	1.176	1.156
0.075	1.512	1.492	1.502
0.1	1.692	1.490	1.591

ค่า Aborbance ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	Absorbance		เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
7S	1.690	1.794	1.742
11S	1.476	1.482	1.479
Whole(0.05)	0.367	0.389	0.378
Whole(0.1)	0.393	0.425	0.409

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟจะได้ %Protein ของสารตัวอย่างดังนี้

7S = 0.077 %

11S = 0.064 %

Whole(0.05) = 0.0142 %

Whole(0.1) = 0.016 %

<u>การคำนวณหาปริมาณโปรตีน</u>

(7S)

ตัวอย่าง 0.1 กรัม มีโปรตีน 0.077 %

เจือจางสารตัวอย่าง 100 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.077*100}{0.1}$ = 77 %

ตัวอย่าง 100 กรัมมีโปรตีน 7S 77 กรัม

ตัวอย่าง 1.96 กรัมมีโปรตีน 7S $\frac{77*1.96}{100}$ = 1.5092 กรัม

(11S)

ตัวอย่าง 0.1 กรัม มีโปรตีน 0.064 %

เจือจางสารตัวอย่าง 100 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.064*100}{0.1}$ = 64 %

ตัวอย่าง 100 กรัมมีโปรตีน 11S 64 กรัม

ตัวอย่าง 2.60 กรัมมีโปรตีน 11S $\frac{64*2.60}{100}$ = 1.664 กรัม

Whole protein(0.05)

ตัวอย่าง 0.05 ml มีโปรตีน 0.0142 %

เจือจางสารตัวอย่าง 300 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.0142*300}{0.05}$ = 85.2 %

Whole Protein(0.1)

ตัวอย่าง 0.1 ml มีโปรตีน 0.016 %

เจือจางสารตัวอย่าง 150 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.016*150}{0.1}$ = 24 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง 100 กรัมมีโปรตีนทั้งหมด 85.2 กรัม

ตัวอย่าง 5 กรัมมีโปรตีนทั้งหมด $\frac{85.2 * 5}{100}$ = 4.26 กรัม

โปรตีนทั้งหมด 4.26 กรัมมี 7S 1.5092

โปรตีนทั้งหมด 100 กรัมมี 7S $\frac{1.5092 * 100}{4.26}$ = 35.4 %

โปรตีนทั้งหมด 4.26 กรัมมี 11S 1.664

โปรตีนทั้งหมด 100 กรัมมี 11S $\frac{1.664 * 100}{4.26}$ = 39 %

ดังนั้นจากการคำนวณจะได้ %Protein เมื่อคิดเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดดังนี้

7S = 35.4 %

11S = 39 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 2

เริ่มสกัดโปรตีนจาก Defatted soybean meal = 5 กรัม

สกัดได้ 7S = 2.01 กรัม

สกัดได้ 11S = 2.25 กรัม

ค่า Aborbance ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ Standard Curve

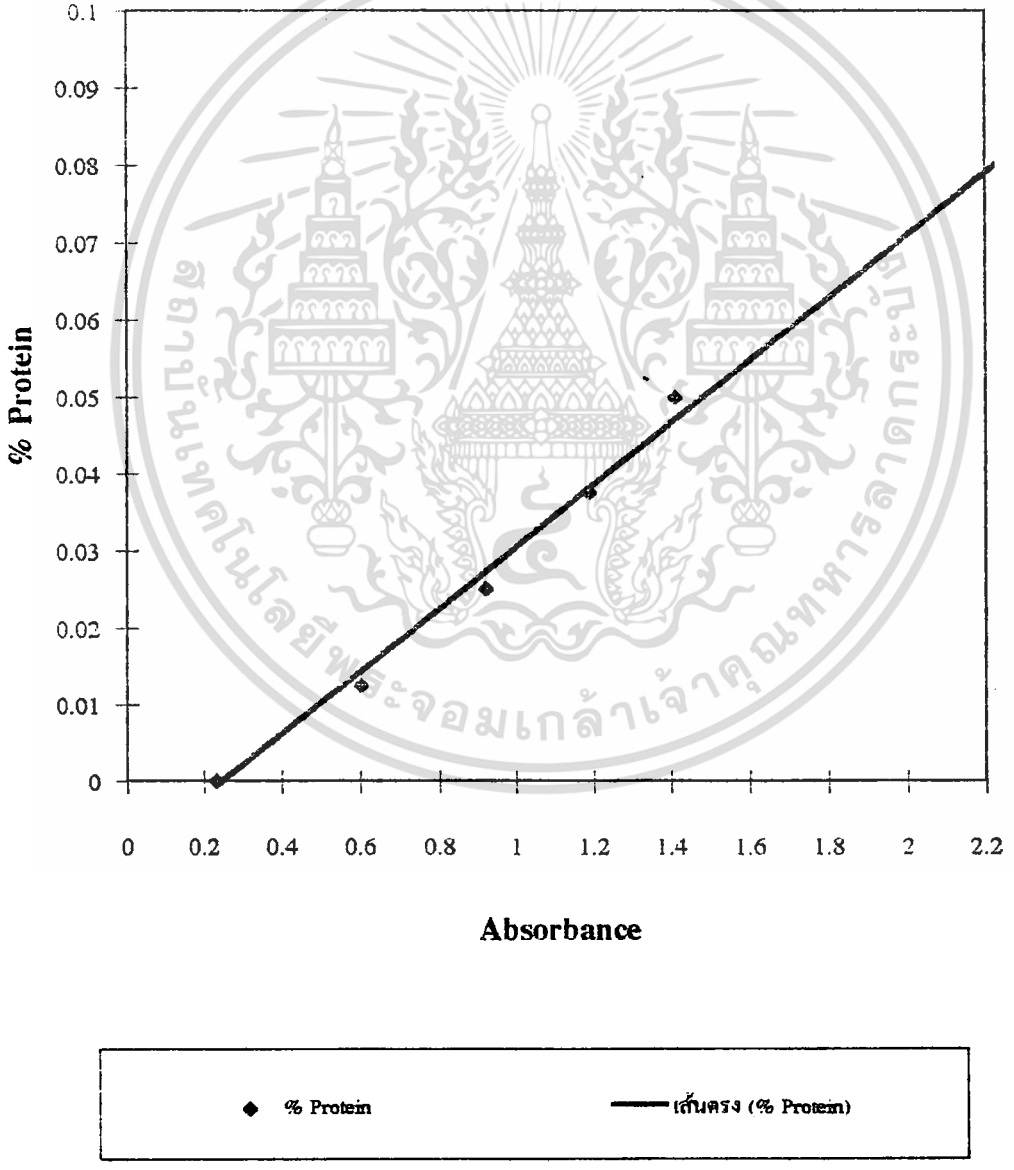
%Protein	Absorbance		เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	0.221	0.242	0.2315
0.0125	0.556	0.636	0.601
0.025	0.925	0.917	0.921
0.0375	1.176	1.204	1.190
0.05	1.420	1.400	1.410
0.075	1.726	1.726	1.726
0.1	1.994	1.944	1.944

ค่า Aborbance ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	Absorbance		เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
7S	0.983	1.054	1.0185
11S	1.168	1.138	1.153
Whole(0.05)	0.726	0.743	0.7345
Whole(0.1)	0.928	0.928	0.928

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย Lawry method



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟจะได้ %Protein ของสารตัวอย่างดังนี้

7S = 0.0335 %

11S = 0.0395 %

Whole(0.05) = 0.0215 %

Whole(0.1) = 0.0298 %

<u>การคำนวณหาปริมาณโปรตีน</u>

(7S)

ตัวอย่าง 0.1 กรัม มีโปรตีน 0.0335 %

เจือจางสารตัวอย่าง 100 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.0335*100}{0.1}$ = 33.5 %

ตัวอย่าง 100 กรัมมีโปรตีน 7S 33.5 กรัม

ตัวอย่าง 2.01 กรัมมีโปรตีน 7S $\frac{33.5*2.01}{100}$ = 0.6733 กรัม

(11S)

ตัวอย่าง 0.1 กรัม มีโปรตีน 0.0395 %

เจือจางสารตัวอย่าง 100 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.0395*100}{0.1}$ = 39.5 %

ตัวอย่าง 100 กรัมมีโปรตีน 11S 64 กรัม

ตัวอย่าง 2.25 กรัมมีโปรตีน 11S $\frac{64*2.25}{100}$ = 0.8875 กรัม

Whole protein(0.05)

ตัวอย่าง 0.05 ml มีโปรตีน 0.0215 %

เจือจางสารตัวอย่าง 300 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.0215*300}{0.05}$ = 129 %

Whole Protein(0.1)

ตัวอย่าง 0.1 ml มีโปรตีน 0.0298 %

เจือจางสารตัวอย่าง 150 เท่ามีโปรตีน $\frac{0.0298*150}{0.1}$ = 44.7 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง 100 กรัมมีโปรตีนทั้งหมด 44.7 กรัม

ตัวอย่าง 5 กรัมมีโปรตีนทั้งหมด $\frac{44.7 * 100}{5}$ = 2.235 กรัม

โปรตีนทั้งหมด 2.235 กรัมมี 7S 0.6733

โปรตีนทั้งหมด 100 กรัมมี 7S $\frac{0.6733*100}{2.235}$ = 30.18 %

โปรตีนทั้งหมด 2.235 กรัมมี 11S 0.8875

โปรตีนทั้งหมด 100 กรัมมี 11S $\frac{0.8875*100}{2.235}$ = 39.7 %

ดังนั้นจากการคำนวณครั้งที่ 2 จะได้ %Protein ดังนี้

7S = 30.18 %

11S = 39.7 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสิริวรรณ เสาวภิชาติ เกิดวันที่ 26 เมษายน 2517 จังหวัดกระบี่ สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายเมื่อปี 2535 จากโรงเรียนอำมาตย์พานิชนุกลู จังหวัดกระบี่ และจบการศึกษาจากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

นางสาวนารีรัตน์ ฐิตวิริยะ เกิดวันที่ 5 พฤศจิกายน 2516 จังหวัดพังงา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายเมื่อปี 2535 จากโรงเรียนสตรีวิทยา 2 และจบการศึกษาจากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้