ปัญหาพิเศษ

การศึกษาการแยกโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ

(Investigations on the Laboratory Scale Separation of Extracted Corn Germ Protein)

โดย

นางสาว เดือนเพ็ญ กวางเส็ง รหัส 42045085

นาย วิทูล ทบศรี รหัส 42045102

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

Project of Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง King Mongkut's Institute of Technology Chaokuntaharn Ladkrabang

กรุงเทพ 10520 Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17511

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาการแยกโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ

(Investigations on the Laboratory Scale Separation of Extracted Corn Germ Protein)

T096950

น.ส. เดือนเพ็ญ กวางเส็ง รหัสประจำตัว 42045085

นาย วิทูล ทบศรี รหัสประจำตัว 42045102

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2543

ปพ.
๗๓๕ก
2543

เลขทะเบียน 96950
วัน.เดือน,ปี -5 JUN 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสาร...สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดทั้งสิ้น ...ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการแยกโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ
(Investigations on the Laboratory Scale Separation of Extracted Corn Germ Protein)

โดย

น.ส. เดือนเพ็ญ กวางเส็ง รหัสประจำตัว 42045085
นาย วิฑูล ทบศรี รหัสประจำตัว 42045102

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.... 14/มิ.ย./44 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ดร. พอใจ ถามากร)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

....

( )

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ .... เดือน .... พ.ศ. ....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดือนเพ็ญ กวางเส็ง และวิทูล ทบศรี 2543 : การศึกษาการแยกโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ (Investigations on the Laboratory Scale of Extracted Corn Germ Protein) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.พอใจ ถามากร. 32 หน้า.

การศึกษาการแยกโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบ และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพด โดยนำกากจมูกข้าวโพดที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้วจากโรงงานอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันข้าวโพดมาสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2Co_3) ความเข้มข้น O โมลาร์ (น้ำกลั่น), 0.05 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนกากจมูกข้าวโพดต่อสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 1 : 10 น้ำหนัก : ปริมาตร) ผสมด้วยเครื่อง Blender เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองกากด้วยผ้าขาวบางผ่าน Block Screen ขนาด 90 mesh แล้วนำสารละลายมาตกตะกอนด้วย 2 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก ที่ pH 4.5 ปล่อยให้โปรตีนตกตะกอน 10 นาที แล้วล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง โดยใช้เครื่อง Centrifuge จากนั้นนำตะกอนโปรตีนไปทำแห้งด้วย Vacuum Oven ที่ 55 องศาเซลเซียส และจะได้ Crude Protein

ผลการสกัดโปรตีน พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 โมลาร์ จะให้โปรตีนเข้มข้นในปริมาณสูงสุดคิดเป็นน้ำหนักฐานแห้ง (dry basis) คือ ร้อยละ 29.84 รองลงมาคือ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ร้อยละ 29.18 และที่ความเข้มข้น 0 โมลาร์ ร้อยละ 25.58 ตามลำดับ และให้ปริมาณโปรตีนเข้มข้น (yield) 7 – 8 เปอร์เซ็นต์

ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์	วัน เดือน ปี
เดือนเพ็ญ กวางเส็ง วิทูล ทบศรี	[signature]	14/3/44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีการศึกษา 2543 โดยมี ดร.พอใจ ถามากร กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

โครงการนี้สามารถสำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี เนื่องจากความอนุเคราะห์จากผู้จัดการโรงงานผลิตน้ำมันข้าวโพด ตราชิม ได้บริจาควัตถุดิบคือกากจมูกข้าวโพดที่สกัดน้ำมันออกแล้ว และได้รับคำปรึกษาและข้อเสนอแนะนำจากท่านอาจารย์ที่ปรึกษารวมทั้ง รศ.ดร.วุฒิชัย นาครักษา นอกจากนี้ยังได้รับกำลังใจจากเพื่อน ๆ รวมทั้งบุคลากรทุกท่านในภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ที่อำนวยความสะดวกมาโดยตลอด

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณสำหรับความกรุณาของอาจารย์ และเพื่อน ๆ และบุคลากรทุกท่าน สำหรับกำลังใจ กำลังทรัพย์ และความช่วยเหลือ

เดือนเพ็ญ กวางเส็ง
วิทูล ทบศรี
15 กุมภาพันธ์ 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ		ค
กิตติกรรมประกาศ		ง
สารบัญเรื่อง		จ
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญภาพ		ซ
บทที่ 1		1
	บทนำ	1
	วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2	วารสารปริทรรศน์	2
	2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าวโพด	2
	2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด	4
	2.3 โปรตีนในเมล็ดข้าวโพด	5
	2.4 โปรตีนจากจมูกข้าวโพด	6
	2.5 Isoelectric point (pI) ของกรดอะมิโน	8
	2.6 การทำให้โปรตีนตกตะกอน	8
	2.7 การแยกโปรตีนและการทำให้บริสุทธิ์	9
	2.8 การทำลายสภาพธรรมชาติ	10
	2.9 ประโยชน์ของข้าวโพด	11
บทที่ 3	วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
	3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	12
	3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง	12
	3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	13
บทที่ 4	ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	16
บทที่ 5	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
เอกสารอ้างอิง		21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Poximate Analysis) 23
ภาคผนวก ข. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 30
ภาคผนวก ค. 31
ประวัติผู้เขียน 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบที่พบในส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวโพด	5
ตารางที่ 2.2	แสดงสัดส่วนของโปรตีนที่พบในองค์ประกอบต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวโพด	6
ตารางที่ 2.3	องค์ประกอบต่าง ๆ และความสมดุลของกรดอะมิโนเมล็ดข้าวโพด และผลิตภัณฑ์จากเมล็ดข้าวโพด	7
ตารางที่ 4.1	แสดงปริมาณอนุภาคขนาดต่าง ๆ ของวัตถุดิบ	16
ตารางที่ 4.2	แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของปริมาณโปรตีน ที่สกัดได้จากกากจมูกข้าวโพด	17
ตารางที่ 4.3	แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ Crude Protein จากการตกตะกอนที่ pH ต่าง ๆ	17
ตารางที่ 4.4	แสดงปริมาณ Crude Protein ที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	18
ตารางที่ 4.5	แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้จาก Crude Protein	19
ตารางที่ ข.1	องค์ประกอบทางเคมีของ Crude Protein	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างและลักษณะเมล็ดข้าวโพด 3
ภาพที่ 2.2 การสูญเสียสภาพธรรมชาติและการกลับเข้าสู่สภาพอีกครั้งหนึ่ง 10
ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 15
ภาพที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณ Crude Protein จากการตกตะกอนที่ pH ต่าง ๆ 18
ภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนจาก Crude Protein ที่สกัดได้ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 19
ภาพที่ ค.1 แสดงการตกตะกอนของสารละลายโปรตีน 31
ภาพที่ ค.2 แสดง Crude Protein ผง 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

กากจมูกข้าวโพด คือ ส่วนจมูกข้าวโพด (Germ) ที่ผ่านกรรมวิธีสกัดน้ำมันออกแล้ว โดยทั่วไปบริษัทผู้ผลิตน้ำมันข้าวโพดจะขายกากจมูกข้าวโพดให้แก่บริษัทผู้ผลิตอาหารสัตว์ในรูป by – product ซึ่งมีราคาต่ำและบริษัทผู้ผลิตอาหารสัตว์ จะนำกากจมูกข้าวโพดไปผลิตเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ต่อไป

จมูกข้าวโพด (Germ) หรือ เอมบริโอ (Embryo) นอกจากจะประกอบไปด้วยไขมันในปริมาณสูงคือ ร้อยละ 33.2 ยังประกอบไปด้วยโปรตีนในปริมาณสูง คือร้อยละ 18.4 ซึ่งโปรตีนที่พบในข้าวโพดส่วนใหญ่จะอยู่ในเอนโดสเปอร์ม (Endosperm) และในจมูกข้าวโพด (Germ) โปรตีนที่พบจะเป็นพวกโปรตีนโปรลามีน (Prolamine) หรือซีอีน (Zein) ร้อยละ 47.2 และโปรตีนกลูตินิน (Glutinin) ร้อยละ 35

โปรตีนซีอีน (Zein) นี้จะประกอบด้วยกรดอะมิโน 2 ชนิดคือ ทริบโตเฟน (Tryptophane) และไลซีน (Lysine) ซึ่งกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acid) ต่อร่างกาย (วุฒิชัย, 2535)

ปัจจุบันราคากากจมูกข้าวโพดจัดอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำมากและได้มีการนำกากดังกล่าวมาใช้ประโยชน์กันอย่างแคบ ๆ ซึ่งส่วนใหญ่นำมาผลิตเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ เมื่อคิดเปรียบเทียบกับผลประโยชน์โดยแท้จริงแล้วจัดว่าใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบที่มีอยู่ได้ไม่เต็มที่ ดังนั้นคณะวิจัยจึงได้ทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะสกัดโปรตีนออกจากกากจมูกข้าวโพดเพื่อนำโปรตีนดังกล่าวมาใช้ในอุตสาหกรรมผลิตอาหารเพื่อบริโภค และเป็นอาหารเสริมของสัตว์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพด ซึ่งเป็นส่วนทิ้งจากอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันข้าวโพด
2. ศึกษา pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพด
3. ศึกษาความเข้มข้นของ Na_2CO_3 ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

ข้าวโพดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays L.* เป็นพืชที่นักโบราณคดีสันนิษฐานกันว่ามนุษย์รู้จักปลูกกันมา 4,500 ปีแล้ว ซึ่งมีต้นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ ปัจจุบันแหล่งที่ปลูกกันมากอยู่ในแถบทวีปอเมริกา มีอยู่หลายชนิดได้แก่ ข้าวโพดไร่ชนิดหัวบุบ ขาวโพดไร่ชนิดหัวแข็ง ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวโพดแป้งและข้าวโพดป่า เป็นต้น สำหรับข้าวโพดที่เป็นพืชเศรษฐกิจของโลกในปัจจุบันได้แก่ ข้าวโพดไร่ซึ่งใช้ในการเลี้ยงสัตว์มี 2 ชนิด คือ ข้าวโพดไร่ชนิดหัวบุบ (Dent corn) และข้าวโพดไร่ชนิดหัวแข็ง (Flint corn) ปลูกมากในยุโรป เอเชีย อเมริกากลางและอเมริกาใต้ ส่วนในประเทศไทยได้มีการปลูกข้าวโพดมานานแล้วโดยเฉพาะพันธุ์กัวเตมาลาเป็นพันธุ์ที่ตลาดต่างประเทศต้องการไปเป็นอาหารสัตว์ (จริยา และสมจิตต์, 2522)

2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าวโพด

โครงสร้างของเมล็ดข้าวโพด ดังแสดงรายละเอียดในภาพที่ 1 ประกอบด้วย 4 ส่วนใหญ่ ๆ คือ

1. เพอริคาร์ป (Pericarp) เป็นส่วนประกอบของเมล็ดประมาณร้อยละ 5 แบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ

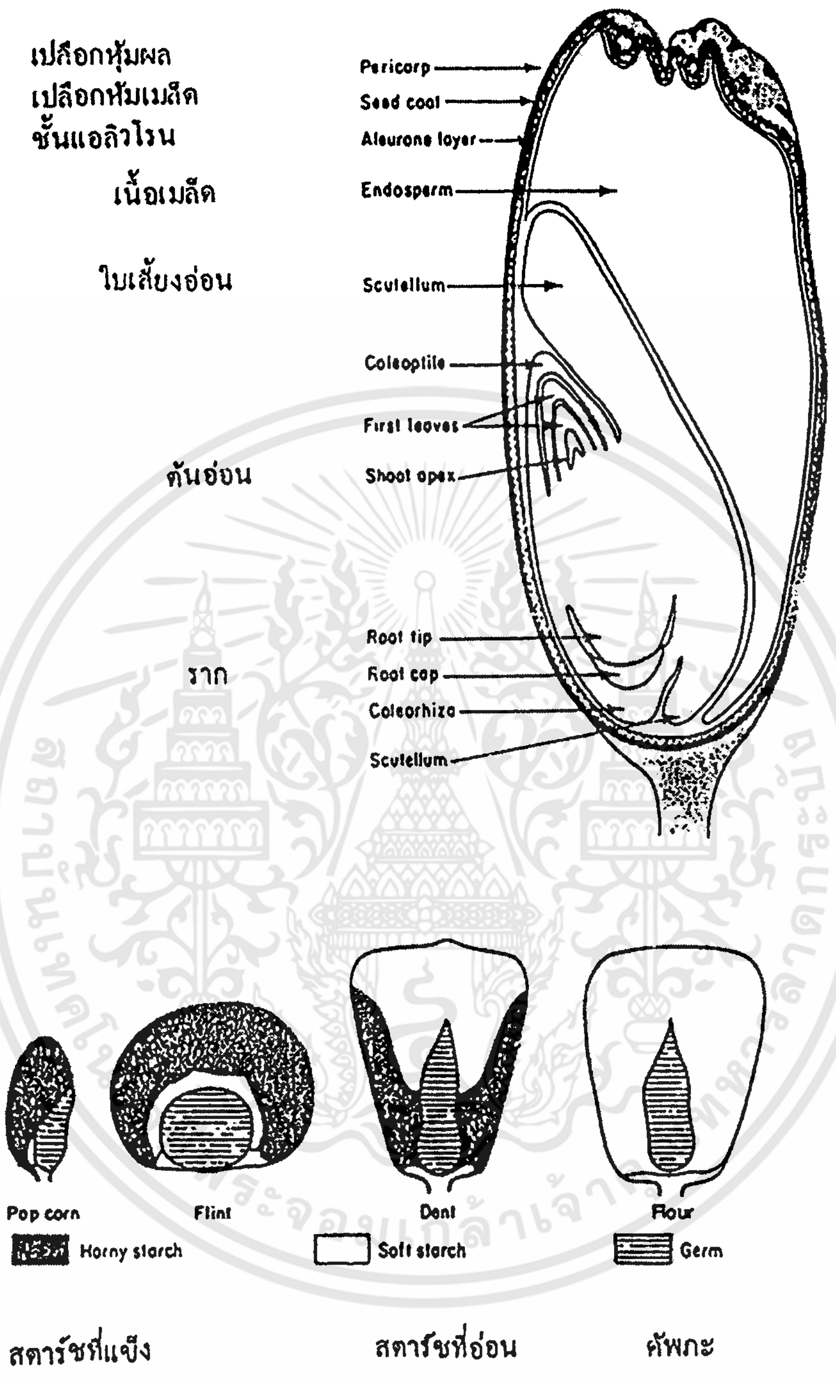
1.1 ชั้นนอก (Out layer) ส่วนใหญ่จะเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างยาว ๆ มีผังเซลล์หนา

1.2 ชั้นกลาง (Mesocarp or spongy layer) มีทั้งเซลล์ที่เรียงตามยาว (Tube cell) และตามขวาง (Cross cell) เป็นเซลล์ที่มีชั้นเดียวเรียงต่อกัน เซลล์ชั้นนี้จะเป็นเซลล์น้ำไหลผ่าน

1.3 เทสต้า (Tasta) เป็นเยื่อของที่หุ้มเมล็ด

1.4 ชั้นอัลลูโลน (Aleurone layer) เป็นเซลล์ที่มีผนังเซลล์หนาขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างและลักษณะเมล็ดข้าวโพด

ที่มา : อรอนงค์, 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. คัพภะ (Embryo) เป็นส่วนประกอบของเมล็ดประมาณร้อยละ 12 ประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ

2.1 เนื้อเยื่อสะคิวเตลลัม (Sacutellum layer) เป็นที่สะสมอาหารสำหรับต้นอ่อน ในขณะที่เจริญเติบโต หรือกำลังงอก

2.2 แกนเอมบริโอ (Embryonic axis) เป็นส่วนที่เจริญไปเป็นต้นอ่อน

3. เอนโดสเปอร์ม (Endosperm) เป็นส่วนประกอบของเมล็ดอีกส่วนหนึ่งประมาณร้อยละ 82 เป็นชั้นที่เก็บสะสมอาหารของเมล็ดประกอบด้วย เม็ดสตาร์ช และโปรตีนสามารถแบ่งได้อีก 2 ส่วน คือ

3.1 เอนโดสเปอร์มชนิดแข็ง (Horny endosperm) เป็นส่วนที่แข็งของเอนโดสเปอร์มประกอบด้วย เม็ดสตาร์ช และโปรตีน (Protein matrix) เกาะกันแน่นมาก

3.2 เอนโดสเปอร์มชนิดแป้ง (Floury endosperm) เป็นเอนโดสเปอร์มที่มีรูปร่างของเซลล์ค่อนข้างใหญ่ มีรูปร่างไม่แน่นอนมีการเกาะเกี่ยวกัน ระหว่างสายโปรตีนกับเม็ดสตาร์ชกระจัดกระจายหรือเกาะกันอย่างหลวม ๆ

4. ทิปแค็บ (Tip cap) เป็นส่วนประกอบของเมล็ดประมาณร้อยละ 1 เป็นส่วนที่ยึดเมล็ดให้ติดกับซัง (cop) ของข้าวโพด (วุฒิชัย, 2535)

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด

โดยทั่วไปเมล็ดข้าวโพดจะประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 13.5 โปรตีนร้อยละ 10 ไขมันหรือน้ำมันร้อยละ 4 สตาร์ชร้อยละ 61 เยื่อใยร้อยละ 2.3 เถ้าร้อยละ 1.4 และสารอื่น ๆ อีกประมาณร้อยละ 0.4 (วุฒิชัย, 2535)

เมื่อจำแนกตามโครงสร้างจะพบองค์ประกอบในส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวโพดดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบที่พบในส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวโพด

Part	Percent Dry Weight Of Whole Kernel	Composition of Kernel Parts (% db)					
		Starch	Fat	Protein	Ash	Sugar	Unaccounted For
Endosperm	82.9	87.6	0.80	8.0	0.30	0.62	2.7
Range	81.8-83.5	86.4-88.9	0.7-1.0	6.9-10.4	0.2-0.5	0.5-0.8	
Germ	11.1	8.3	33.2	18.4	10.5	10.8	8.8
Range	10.2-11.9	5.1-10.0	31.1-35.1	17.3-19.0	9.9-11.3	10.0-12.5	
Pericarp	5.3	7.3	1.0	3.7	0.8	0.34	86.7
Range	5.1-5.7	5.3-10.4	0.7-1.2	2.9-3.9	0.4-1.0	0.2-0.4	
Tip cap	0.8	5.3	3.8	9.1	1.6	1.6	78.6
Range	0.8-1.1	-	3.7-3.9	9.1-10.7	1.4-2.0	-	
Whole Kernels	100	73.4	4.4	9.1	1.4	1.9	9.8
Range	-	67.8-74.0	3.9-5.8	8.1-11.5	1.37-1.5	1.61-2.22	

ที่มา : Stanley A. Watson and Paul E. Ramstad. 1989

2.3 โปรตีนในเมล็ดข้าวโพด (Corn protein)

ในเมล็ดข้าวโพดประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด เช่น Albumin Globulin Zein Glutilin เป็นต้น ซึ่งโปรตีนที่มีปริมาณมากที่สุดคือ Zein (Stanley A. Watson and Paul E. Ramsted, 1989) โดยอัตราส่วนของปริมาณโปรตีนในองค์ประกอบต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวโพด ดังแสดงในตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงสัดส่วนของโปรตีนที่พบในองค์ประกอบต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวโพด (% of total N)

Protein Fraction	Whole Kernel		Endosperm		Germ	
	A	B	A	B	A	B
Albumin		7		3		35
Globulin		5		3		18
Zein – I	41	42	50	48	2.0	4
Zein – II		10		12		1
Prolamin (total zein)		52		60		5
Glutelin – 2		8		9		3
Glutelin – 3		17		17		15
Total protein (% of whole kernel)		100		78		18
Dry weight (% of whole kernel)		100		80		13

A = Form Osborne and Mendel (1914)

B = Form Wilson (1983)

ที่มา : Stanley A. Watson and Paul E. Ramstad. 1989

2.4 โปรตีนจากจมูกข้าวโพด (Germ protein)

โปรตีนจากจมูกข้าวโพด (Germ protein) มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าโปรตีนที่ได้เอนโดสเปอร์ม (Endosperm) เนื่องจากโปรตีนในจมูกข้าวโพดมีความสมดุลของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่สูงกว่า ซึ่งจะเห็นได้ว่าโปรตีนที่สกัดได้จากจมูกข้าวโพดมีความบริสุทธิ์สูงที่สุด คือร้อยละ 84 มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทุกชนิด และมีอัตราส่วนที่เหมาะสม (Stanley A. Watson and Paul E. Ramstad, 1989) ดังแสดงในตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบต่าง ๆ และความสมดุลของกรดอะมิโนในเมล็ดข้าวโพด และผลิตภัณฑ์จากเมล็ดข้าวโพด

Item	Whole Corn	Endosperm	Homing Feed	Corn Germ Flour	Corn Germ Protein isolate	Corn Soy mill	FAO Essential Amino acid Pattern
Protein (%) (N x 6.25)	10.4	9.8	11.5	25.3	84	20	
Fat (%)	4.4	9.0	4.8	0.5	8	6	
Carbohydrate (%)	84	8.9	72	60	3	62	
Crude fiber (%)	1.8	0.4	4.7	4.2	0	1.5	
ASH (%)	1.4	0.4	2.9	10.3	43	3.8	
Calories/100 g	340	364	330	350	365	373	
Essential amino Acid (g/16 g N)							
Lysine	3.0	2.0	4.4	5.9	6.3	5.5	4.2
Tryptophan	0.7	0.5	1.6	1.7	1.3	1.2	1.4
Cystine	1.7	1.8	2.0	2.3	1.5	1.6	2.0
Methionine	2.6	2.8	2.0	2.2	1.9	1.5	2.2
Threonine	3.6	3.5	4.6	4.2	3.8	4.0	2.8
Valine	5.0	4.7	5.6	5.8	5.9	5.4	4.2
Isoleucine	3.7	3.8	3.6	3.7	3.5	5.2	4.2
Leucine	12.8	14.3	11.5	8.7	7.3	9.3	4.8
Tyrosine	4.9	5.3	3.2	5.9	3.3	4.2	2.8
Phenylalanine	5.1	5.3	3.8	3.7	4.5	4.8	2.8

ที่มา : Milner Scrimshaw Wang. 1977

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 Isoelectric point (pI) ของกรดอะมิโน

Isoelectric point (pI) ของกรดอะมิโน มีความสำคัญมากเพราะเป็นค่า pH ที่สามารถใช้บอกคุณสมบัติบางประการของกรดอะมิโนได้ว่ามีค่าสูงสุดหรือต่ำสุด เช่น การนำไฟฟ้า การละลาย และความหนืด จะมีค่าต่ำสุดที่ isoelectric point เพราะประจุรวมของกรดอะมิโนเท่ากับศูนย์ การนำไฟฟ้าที่ย่อมต่ำสุดขณะที่ประจุรวมเป็นศูนย์ กรดอะมิโนจะมี 2 ขั้ว ทำให้มีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลยึดติดกันแน่นและมีพันธะไฮโดเจนที่ทำให้มีความหนาแน่นยิ่งขึ้น โอกาสที่จะทำปฏิกิริยากับสารละลายน้อยลง และมีการละลายต่ำสุด

เป็นที่น่าสังเกตว่า กรดอะมิโนบางชนิดมีหมู่ อะมิโน 1 หมู่ และหมู่คาร์บอกซิล 1 หมู่ และปฏิกิริยาเป็นกลาง แต่ไม่ได้มี isoelectric point ที่ pH 7 ทั้งนี้เพราะค่าคงที่การแตกตัว (dissociation constants) ของทั้งสองหมู่ไม่เท่ากัน ส่วนกรดอะมิโนที่มีหมู่อะมิโนมากกว่าหมู่คาร์บอกซิล จะมีคุณสมบัติเป็นเบสมี isoelectric point ที่สูงกว่า pH 7 และกรดอะมิโนที่มีหมู่อะมิโนน้อยกว่าหมู่คาร์บอกซิลย่อมี isoelectric point ต่ำกว่า pH 7 (กนกอร, 2533)

ส่วน Isoelectric point (pI) ของโปรตีนข้าวโพด (Zein) จะมีค่าที่เหมาะสมอยู่ที่ pH 4.5 (R.K. Maiti and P. Wesche – Ebeling, 1998)

2.6 การทำให้โปรตีนตกตะกอน

1. จากปฏิกิริยาต่อน้ำ โปรตีนเป็นสารประกอบที่มีหมู่ธาตุโพลาร์จำนวนมาก เช่น หมู่ -COOH-NH_2 , -OH , -NH-CO- , -CO- , -COO^- , - NH_3^+-, -SH และอื่น ๆ หมู่ธาตุเหล่านี้รวมกับน้ำได้ดี เมื่ออยู่ในสารละลายเป็นกรดหรือด่างต่อ pI (Isoelectric point) ของมัน แต่เมื่ออยู่ในสารละลายที่มี pH เท่ากับ pI มันจะรวมตัวกับน้ำได้น้อย ดังนั้นโปรตีนจะตกตะกอนในสารละลายที่มี pH เท่ากับ pI

คำว่า “Salting in” หมายถึง การเติมเกลือจำนวนเล็กน้อยลงในสารละลายเพื่อให้โปรตีนละลายได้ดีขึ้น เพราะเกลือจำนวนเล็กน้อยจะเกาะกับโปรตีนทำให้มีประจุมากขึ้น และรวมกับน้ำได้ดีโดยที่ความเข้มข้นของเกลือ (0 – 0.1 M) จะช่วยทำให้โปรตีนละลายน้ำได้ดี

ส่วนคำว่า “Salting out” หมายถึง การเติมเกลือจำนวนมากลงในสารละลายโปรตีนตกตะกอน เพราะเกลือเหล่านั้นไปดึงน้ำออกโมเลกุลของโปรตีน วิธีการนี้ใช้ในการแยกโปรตีนออกจากสารละลายได้ เช่น การเติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต หรือโซเดียมคลอไรด์ลงในสารละลายไข่ขาว แอลบูมินจะตกตะกอนออกมา ซึ่งความเข้มข้นของเกลือ (ประมาณ 0.3 M ขึ้นไป) จะมีแนวโน้มทำให้โปรตีนตกตะกอน (มนตรี, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. จากปฏิกิริยาต่ออิออนต่าง ๆ โปรตีนในสารละลายเป็นด่างต่อค่า pI ของมันมีประจุลบ และอาจรวมกับอิออนบวก เช่น Zn^{++}, Cd^{++}, Hg^{++}, Fe^{++}, Ca^{++} และ Pb^{++} ได้ตะกอนแยกออกมา จึงใช้เป็นวิธีหนึ่งในการแยกโปรตีนจากสารละลาย ส่วนโลหะที่ติดมากับโปรตีนอาจแยกออกได้โดยการเติมกรดหรือผ่านก๊าซ H_2S ได้ตะกอนของโลหะซัลไฟด์

เมื่อโปรตีนอยู่ในสารละลายที่เป็นกรดต่อ pI ของมัน จะมีประจุบวกและรวมกับอิออนลบได้ตะกอนแยกออกเช่นกัน สารที่ใช้ให้โปรตีนตกตะกอนเรียกว่า Protein precipitants ได้แก่ trichloroacetic acid, tungstic acid, phosphotungstic acid, picric acid, sulfosalicylic acid และ tannic acid เป็นต้น

3. จากการเปลี่ยน pH ที่เป็น pI โปรตีนละลายได้น้อยที่สุดที่ pI ของมัน ดังนั้นถ้าต้องการให้โปรตีนตกตะกอน ก็ทำให้สารละลายโปรตีนมี pH เท่ากับ pI

4. จากการเติมแอลกอฮอล์ หรืออะซิโตน แอลกอฮอล์และอะซิโตนมีค่า Dielectirc constant น้อยกว่าน้ำสามารถทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ การใช้แอลกอฮอล์ 70% ทาบริเวณแผลติดเชื้อหรือบริเวณผิวหนังก่อนฉีดยา ก็เพื่อให้เชื้อโรคซึ่งเป็นโปรตีนตกตะกอนนั่นเอง (มุกดา, 2527)

2.7 การแยกโปรตีนและการทำให้บริสุทธิ์

เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีน ถูกทำให้แปรสภาพจากธรรมชาติได้ง่ายการแยกโปรตีนและการทำให้บริสุทธิ์เพื่อนำมาศึกษาหน้าที่ทางชีวภาพของมัน จึงต้องใช้ความระมัดระวังอย่างมาก เช่น จะต้องทำในที่ที่อุณหภูมิต่ำ หากมีการใช้กรดด่างตัวทำละลายอินทรีย์ และโลหะหนักในการตกตะกอนโปรตีนจะต้องอยู่ภายใต้ความควบคุมในสภาพเหมาะสม วิธีแยกโปรตีนจากเซลล์ให้บริสุทธิ์อาจทำได้หลายวิธีซึ่งอาจจะสรุปเป็นขั้นตอนสั้น ๆ ได้ดังนี้

1. ทำให้เซลล์แตกโดยการบดกับทราย การสั่นด้วยคลื่นเหนือเสียง การลดความดัน หรือการเปลี่ยนความดันออสโมติก

2. แยกไขมันด้วยการสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์

3. สกัดด้วยน้ำ น้ำเกลือ กรด หรือด่างเจือจาง

4. ตกตะกอนโปรตีนโดยวิธีต่าง ๆ เช่น ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ pI ทำโดยวิธี Salting out หรือเติมเอธานอล หรืออะซิโตน เป็นต้น

5. แยกสารโมเลกุลเล็กที่อาจติดมากับโปรตีนด้วยวิธี Dialysis

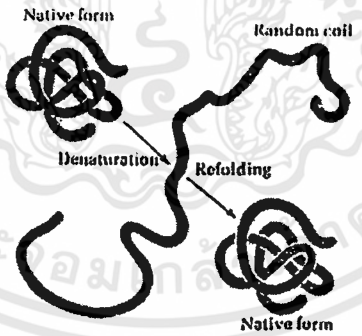
6. ถ้ามีโปรตีนหลายชนิดปนกันอยู่ แยกจากกันได้หลายวิธี เช่น การปรับ pH ใช้แอลกอฮอล์ อะซิโตน ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธี Chromatography ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ความบริสุทธิ์ของโปรตีนที่แยกออกมาอาจตรวจสอบได้โดยวิธีต่าง ๆ เช่น ดูลักษณะการตกตะกอนใน Ultracentrifugation ดูลักษณะการเคลื่อนที่ใน Electrophoresis ที่ pH ต่าง ๆ หรือดูลักษณะทาง Immunology เป็นต้น การดูรูปผลึกไม่สามารถบอกความบริสุทธิ์ของโปรตีนได้ เพราะมีโปรตีนผสมหลายชนิดที่ตกรวมกันเป็นผลึกได้ (มุกดา, 2527)

2.8 การทำลายสภาพธรรมชาติ (Denaturation)

การทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีน หมายถึง การที่โครงสร้างทุติยภูมิโครงสร้างตติยภูมิและโครงสร้างจตุรภูมิของโปรตีนถูกทำลายไปโดยพวกสารเคมี หรือสภาวะบางอย่างทำให้โปรตีนเปปไทด์ ซึ่งเคมีการคดงอที่จำเพาะ (Specific folding) นั้นคลายตัวเป็นเส้นที่ไม่มีระเบียบแบบแผน (Random coil) ในสภาวะที่ไม่รุนแรงนักพันธะเปปไทด์ ซึ่งเป็นพันธะโควาเลนท์จะไม่ถูกทำลายแสดงว่าโครงสร้างปฐมภูมิยังคงมีอยู่ โปรตีนที่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาตินี้มีคุณสมบัติบางอย่างเปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัดก็คือ ไม่สามารถจะแสดงกิจกรรมทางชีววิทยาได้ คุณสมบัติการละลายน้ำลดต่ำลง จนบางครั้งถึงกับตกตะกอนลงมา อย่างไรก็ตามโปลีเปปไทด์ที่เกิดจากการคลายตัวออกมานี้จะสามารถกลับไปมีโครงสร้างแบบเดิมได้ (Renaturation) ถ้าเราแยกสารเคมีนั้นออกไปหรือขจัดสภาวะต้นเหตุนั้นเสีย ถ้าเป็นเอนไซม์ก็สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาได้เหมือนเดิม ดังแสดงในภาพที่ 2.2 (สุนันทา, 2527)



ภาพที่ 2.2 การสูญเสียสภาพธรรมชาติ และการกลับเข้าสู่สภาพอีกครั้งหนึ่ง
ที่มา : สุนันทา, 2527

สารเคมีหรือสภาวะที่สามารถทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีน

1. ความร้อน ความดัน การทำให้แข็ง (Freezing)
2. สารเคมีบางชนิด เช่น Urea Quanidine Hydrochloride
3. รังสีอุตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สารอินทรีย์บางประเภท เช่น เอธานอล เมธานอล และอะซิโตน

5. กรดแก่ และด่างแก่

6. ดีเทอร์เจนต์ เช่น Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

7. เกลือของโลหะหนักบางชนิด เช่น mercuric chloride, lead acetate และ silver nitrate เป็นต้น

8. อัลคาลอยด์รีเจนต์ เป็นสารที่ใช้ตกตะกอนพวกอัลคาลอยด์ ได้แก่ tannic acid, picric acid, phosphomolydic acid เป็นต้น

9. เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน (โปรตีนจะเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติก่อนที่จะถูกย่อย) (สุนันทา, 2527)

2.9 ประโยชน์ของข้าวโพด

สามารถแบ่งการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้ดังนี้ คือ

1. เป็นอาหารของมนุษย์ ประชาชนในบางประเทศเช่น อเมริกาใต้ อินเดีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย อิตาลี โปรตุเกส บริโภคเป็นอาหารหลักประจำวัน หรือนำไปปรุงอาหารในรูปอื่น ๆ

2. เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรม เมล็ดและผลิตผลจากเมล็ดข้าวโพด เช่น รำ คัพภะ สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น ทำแอลกอฮอล์ แป้ง น้ำตาล ชนิดต่าง ๆ น้ำเชื่อม น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์เหล่านี้สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชนิดอื่น ๆ ได้อีก เช่น อาหาร ยารักษาโรค น้ำมันใส่ผม น้ำหอม เป็นต้น

3. เป็นอาหารสัตว์ ประเทศผู้ผลิตปศุสัตว์ที่สำคัญของโลก เช่น อเมริกา ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น ล้วนอาศัยข้าวโพดเป็นอาหารหลักทั้งสิ้น เป็นการเปลี่ยนโปรตีนของพืชให้เป็นโปรตีนของสัตว์และใช้เป็นอาหารมนุษย์อีกทอดหนึ่ง (จริยา และสมจินต์, 2522)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

1. กากจมูกข้าวโพดที่สกัดน้ำมันออกแล้ว
2. กรดซัลฟูริก
3. โซเดียมคาร์บอเนต
4. กรดบอริก
5. กรดไฮโดรคลอริก
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์
7. Catalyst
8. Mixed indicator
9. น้ำกลั่น

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

1. เครื่องบด
2. เครื่องสกัดไขมัน
3. เครื่องสกัดโปรตีน
4. Muffle furnace
5. เครื่องร่อนแยกขนาด
6. เครื่อง Centrifuge
7. ช้อนตักสาร
8. Erlenmeyer flask
9. Volumetric flask
10. Block screen ขนาด 90 mesh
11. Cylinder
12. ขวดเก็บสารเคมี
13. ผ้าขาวบาง
14. Aluminium can
15. Crucible

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. Condenser
17. Tong
18. ชุดไตเตรท
19. Pipette
20. Kjeldahl flask
21. Desiccator
22. Beaker
23. Blender
24. Boiling Chips
25. Hot air oven
26. Cooling
27. Thimble
28. Digestion flask
29. Hot plate
30. หลอด Centrifuge
31. แท่งแก้ว

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของวัตถุดิบ

1. ชั่งกากจมูกข้าวโพด 100 กรัม ทำความสะอาดตะแกรงร่อนและชั่งตะแกรงร่อนทุกอันรวมทั้ง pan บันทึกน้ำหนัก

2. นำกากจมูกข้าวโพดใส่ลงในเครื่องร่อนตะแกรงชั้นบนสุดปิดฝาและล็อคเครื่องให้แน่นพร้อมที่จะทำงาน เปิดสวิทซ์เดินเครื่องตั้งเวลา 5 นาที และตั้งความแรงในการเขย่า 10 แอมพิจูด

3. เมื่อร่อนจนครบเวลานำตะแกรงทุกอันและ pan ชั่งน้ำหนักอีกครั้งนำมาหาเปอร์เซ็นต์กากจมูกข้าวโพดของแต่ละตะแกรง

3.3.2 ศึกษาปริมาณโปรตีนในกากจมูกข้าวโพดแต่ละส่วน

1. แยกกากจมูกข้าวโพดหลังจากการแยกขนาดอนุภาคแล้ว เป็น 3 ขนาด คือ

1.1 ขนาด $\leq$30 mesh

1.2 ขนาด 30 – 100 mesh

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขนาด > 100 mesh

2. นำตัวอย่างกากจมูกข้าวโพดในแต่ละส่วนไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC 1990)

3.3.3 ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนของกากจมูกข้าวโพดที่ pH ต่าง ๆ

1. นำกากจมูกข้าวโพดผสมกับน้ำกลั่นอัตราส่วน 1 : 10 (น้ำหนัก : ปริมาตร)

2. ผสมด้วยเครื่อง Blender 10 นาที

3. กรองกากด้วยผ้าขาวบางผ่าน Block screen ขนาด 90 mesh

4. นำของเหลวไปตกตะกอนโปรตีนด้วย 2 โมลาร์ ของกรดไฮโดรคลอริกที่ pH 6.5

5. ปล่อยให้โปรตีนตกตะกอน 10 นาที

6. Centrifuge ที่ 2500 x g 15 นาที

7. Drian ของเหลวออกแล้วนำตะกอนโปรตีนที่ได้ไปทำแห้งด้วย Vacuum Oven ที่ 55 องศาเซลเซียส ชั่ง crude protein และบันทึกน้ำหนัก

8. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ (1) ถึง ข้อ (7) แต่เปลี่ยน pH ของการตกตะกอนที่ pH 3.5 , 4.5 , 5.5 และ 6.5 ตามลำดับ

9. วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย DMRT เพื่อหา pH ที่เหมาะสมนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.3.4 ศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

กระบวนการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพด ดังแสดงในภาพที่ 3.1

กากจมูกข้าวโพด : โซเดียมคาร์บอเนต
(อัตราส่วน 1 : 10 น้ำหนัก : ปริมาตร)

↓

ผสมด้วยเครื่อง Blender 10 นาที

↓

กรองกากออกด้วยผ้าขาวบางผ่าน Block screen ขนาด 90 mesh

↓

ตกตะกอนโปรตีนด้วย 2 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริกที่ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.3

↓

ปล่อยให้โปรตีนตกตะกอน 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

↓

Contrifuge ที่ 2500 x g 15 นาที

↓

Drain ของเหลวออกและล้างโปรตีนด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง

↓

โปรตีนที่ได้ทำแห้งด้วย Vacuum Oven ที่ 55 องศาเซลเซียส

↓

Crude protein

ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดที่สกัดน้ำมันออกแล้ว

ศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยตัวทำละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0 โมลาร์ (น้ำกลั่น), 0.05 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ โดยบันทึกปริมาณและวิเคราะห์ Crude protein ที่สกัดได้ วางแผนการทดลองแบบ CRD และวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ DMRT

3.3.5 ศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนที่สกัดได้

นำโปรตีนที่สกัดได้มาทำการวิเคราะห์ ดังนี้

1. ปริมาณความชื้น (AOAC 1990)
2. ปริมาณโปรตีน (AOAC 1990)
3. ปริมาณไขมัน (AOAC 1990)
4. ปริมาณเยื่อใย (AOAC 1990)
5. ปริมาณเถ้า (AOAC 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของวัตถุดิบ

จากการสังเกตวัตถุดิบ (กากจมูกข้าวโพด) พบว่า มีอนุภาคขนาดต่าง ๆ ปะปนกัน ซึ่งอาจจะมีส่วนของ Pericarp Endosperm Germ และอื่น ๆ จึงทำการทดลองแยกกากจมูกข้าวโพดออกเป็นส่วน ๆ โดยใช้ตะแกรงร่อน (sieve) ในการแยก

ผลการแยกตามขนาดของอนุภาค แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณขนาดของอนุภาคต่าง ๆ ของวัตถุดิบ

ขนาด (Mesh)	ปริมาณ (%)
≤20	15
20 – 30	15.2
30 – 40	34.5
40 – 100	27
100 – 200	7
> 200	0.5
รวม	99.2

จากตารางการศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของวัตถุดิบพบว่า ที่ตะแกรงร่อนขนาด 30 – 40 mesh จะมีปริมาณกากจมูกข้าวโพดสูงที่สุดคือร้อยละ 34.5 รองลงมาคือ ขนาด 40 – 100 mesh คือร้อยละ 27 ส่วนขนาด > 200 mesh นั้นจะมีปริมาณน้อยที่สุดคือร้อยละ 0.5 ซึ่งจะมีขนาดของอนุภาคที่เล็กที่สุด

4.2 การศึกษาปริมาณโปรตีนในกากจมูกข้าวโพดแต่ละส่วน

จัดกลุ่มขนาดของอนุภาคออกเป็น 3 ส่วนคือ ขนาด ≤30 mesh ขนาด 30 – 100 mesh และขนาด > 100 mesh นำแต่ละส่วนมาหาปริมาณโปรตีน

ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่า ปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบแต่ละส่วนที่มีขนาดอนุภาคต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีโปรตีนประมาณ 18.7%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนในกากจมูกข้าวโพดแต่ละส่วน

ขนาด (Mesh)	ปริมาณโปรตีน* (%)
≤30	$18.72^{a}\pm0.08$
30 – 100	$18.69^{a}\pm0.12$
< 100	$18.70^{a}\pm0.07$

* อักษรกำกับไม่ต่างกัน แสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการศึกษาพบว่าปริมาณโปรตีนในกากจมูกข้าวโพดแต่ละส่วนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นในการแยกขนาดของกากจมูกข้าวโพด สามารถนำมาใช้สกัดโปรตีนได้เลย

4.3 ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนของกากจมูกข้าวโพดที่ pH ต่าง ๆ

เนื่องจากโปรตีนแต่ละชนิดมี pH ของการตกตะกอน (Isoelectric point) ที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำการศึกษา pH ที่ทำให้โปรตีนที่สกัดได้จากกากจมูกข้าวโพดตกตะกอนมากที่สุดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวสกัด

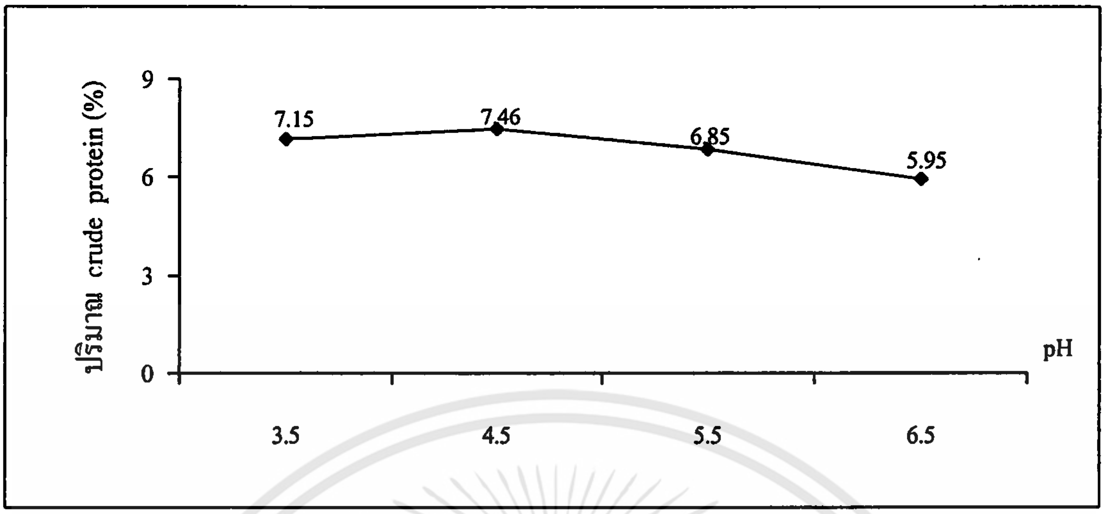
จากการทดลองปริมาณโปรตีนที่ตกตะกอนได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า pH ที่ต่างกันมีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนคือที่ pH 4.5 เนื่องจากได้ปริมาณตะกอน Crude protein สูงที่สุด (ภาพที่ 4.1) ดังนั้นจึงเลือก pH 4.5 เป็น pH ในการตกตะกอนในขั้นตอนการทดลองต่อไป

ตารางที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ Crude protein ที่ pH ต่าง ๆ

pH ที่ตกตะกอน	Crude protein* (% w b)
3.5	7.15^{a}
4.5	7.46^{b}
5.5	6.85^{c}
6.5	5.95^{d}

* อักษรกำกับต่างกันแสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และให้อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96950



ภาพที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณ Crude protein ที่ pH ต่าง ๆ

4.4 ศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

การศึกษาการสกัดโปรตีนโดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เป็นตัวทำละลายพบว่า ปริมาณ Crude protein ที่สกัดได้มีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวทำละลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณ Crude protein ที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (โมลาร์)	ปริมาณ Crude protein (% wb)
0 (น้ำกลั่น)	8.09
0.05	7.07
0.1	7.39

จากตารางปริมาณ Crude Protein ที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 0 โมลาร์ (น้ำกลั่น) ได้ปริมาณ Crude Protein 8.09% ส่วนที่ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ ได้ปริมาณ Crude protein 7.09% และ 7.39 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

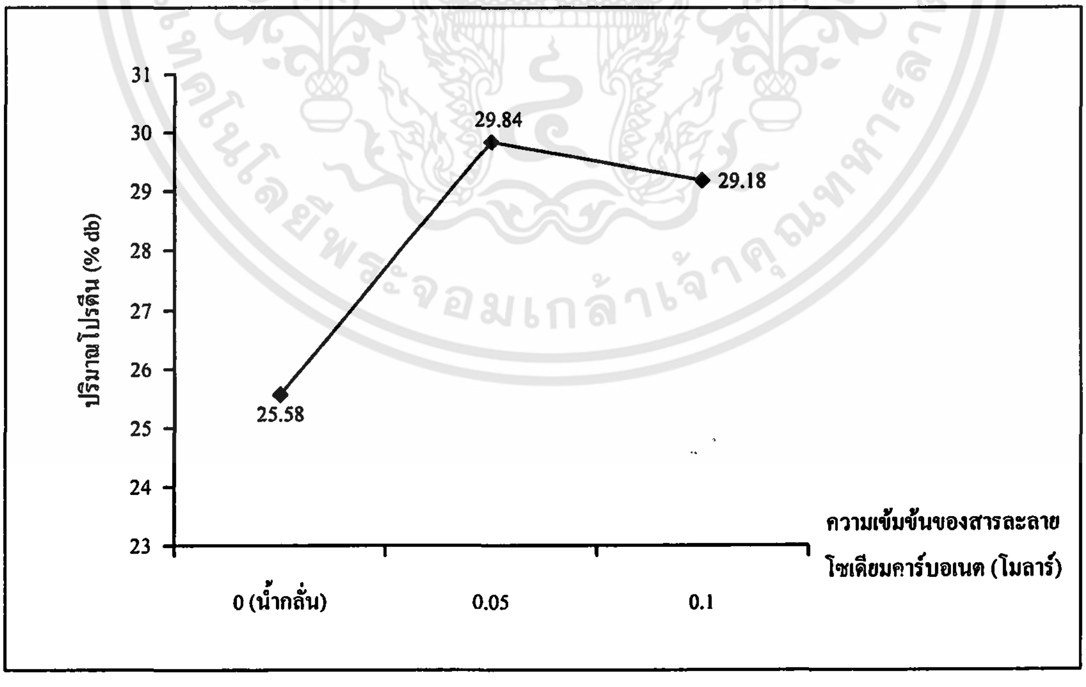
นำ Crude protein ที่สกัดได้ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มต่าง ๆ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Proximate analysis) ซึ่งรายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข ปริมาณโปรตีน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้จาก Crude protein

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (โมลาร์)	ปริมาณโปรตีน * (% db)
0 (น้ำกลั่น)	$25.58^{a}\pm0.14$
0.05	$29.84^{b}\pm0.06$
0.1	$29.18^{c}\pm0.09$

*อักษรกำกับต่างกัน แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางพบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตมีผลต่อปริมาณโปรตีนใน Crude protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ จะได้ Crude protein ที่มีปริมาณโปรตีน 29.84% และ 29.18% ตามลำดับ ในขณะที่การใช้น้ำกลั่นได้ปริมาณโปรตีน 25.58% ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนจาก Crude protein ที่สกัดได้ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการแยกโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบ และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากจมูกข้าวโพด โดยนำกากจมูกข้าวโพดที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้วจากโรงงานอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันข้าวโพดมาสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 0 โมลาร์ (น้ำกลั่น), 0.05 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนกากจมูกข้าวโพดต่อสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 1 : 10 น้ำหนัก : ปริมาตร) ผสมด้วยเครื่อง Blender เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองกากด้วยผ้าขาวผ่าน Block Screen ขนาด 90 mesh แล้วนำสารละลายมาตกตะกอนด้วย 2 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริกที่ pH 4.5 ปล่อยให้โปรตีนตกตะกอน 10 นาที แล้วล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง โดยใช้เครื่อง Centrifuge จากนั้นนำตะกอนโปรตีนไปทำแห้งด้วย Vacuum Oven ที่ 55 องศาเซลเซียสและจะได้ Crude protein

จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

1. การศึกษาการกระจายตัวของวัตถุดิบ (Size distribution) เพื่อนำวัตถุดิบแต่ละส่วนมาหาปริมาณโปรตีน พบว่า วัตถุดิบที่มีอนุภาค $\leq$30 mesh , 30 – 100 mesh และ > 100 mesh มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน คือมีปริมาณโปรตีนประมาณร้อยละ 18

2. การศึกษา pH ที่เหมาะสมที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน พบว่าที่ pH 3.5 , 4.5 , 5.5 และ 6.5 จะให้ตะกอนโปรตีนในปริมาณ ร้อยละ 7.15 , 7.46 , 6.85 และ 5.95 ตามลำดับซึ่งที่ pH 4.5 เหมาะสมที่สุดในการใช้ตกตะกอนโปรตีนเนื่องจากได้ตะกอนโปรตีนในปริมาณสูงที่สุด คือ ร้อยละ 7.46

3. การศึกษาปริมาณ Crude protein ที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0 โมลาร์ (น้ำกลั่น) 0.05 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ จะได้ปริมาณ Crude protein ร้อยละ 8.09 , 7.07 และ 7.39 ตามลำดับ ซึ่งที่ความเข้มข้น 0 โมลาร์ (น้ำกลั่น) จะได้ปริมาณ Crude protein สูงที่สุดคือร้อยละ 8.09

4. การศึกษาปริมาณโปรตีนใน Crude protein ที่สกัดได้ พบว่าเมื่อทำการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0 โมลาร์ (น้ำกลั่น) 0.05 โมลาร์ และ 0.01 โมลาร์ จะได้ปริมาณโปรตีน ร้อยละ 25.58 , 29.84 และ 29.18 ซึ่งที่ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ จะได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ ร้อยละ 29.84 (ร้อยละน้ำหนักฐานแห้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17511

เอกสารอ้างอิง

กนกอร อินทราพิเชฐ. 2533. เคมีอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 136 หน้า

จริยา เจริญวัฒนะ และสมจินต์ สันถวรักษ์. 2522. รายงานผลการศึกษาวิจัยข้าวโพด. โรงพิมพ์ข่าวพาณิชย์, กรุงเทพฯ. 130 หน้า

มนตรี จุฬาวัฒนฑล และคณะ. 2530. ชีวเคมี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. 651 หน้า

มุกดา ฐิตะสุต. 2527. สารชีวโมเลกุล. บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพาณิช จำกัด, กรุงเทพฯ. 285 หน้า

วุฒิชัย นาครักษา. 2535. เทคโนโลยีธัญพืช. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 198 หน้า

สุนันทา ภิญญาวัชน์. 2527. ชีวเคมี. โรงพิมพ์สำนัก มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ. 251 หน้า

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. http://www.oac.go.th

อรอนงค์ นัยวิกุล. เคมีทางธัญญาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 143 หน้า

AOAC. 1990. Official method of Analysis. 15th., Assoc. off Anal. Chem., Washing tor., D.C.

Milner. Scromshaw. Wang. 1977. Protein Resources and Technology AVI Publishing Company, INC wetport, Connecticut U.S.A., 629 p.

R.K. Maiti and P. weshe – Ebeling. 1998. Maize Science. Science Publishers, Inc. U.S.A. 520 p.

Stanley A. Watson Paul E. Ramsted. 1989. Corn Chemistry and Technology. American Association of Cereal chemists, Inc. U.S.A. 605 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Poximate Analysis)

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

อุปกรณ์

1. aluminium can
2. hot air oven
3. ตาชั่งละเอียด
4. desiccator
5. tong

วิธีการทดลอง

1) ชั่งน้ำหนัก aluminium can พร้อมฝาที่สะอาดและผ่านการอบแห้งมาก่อน

2) ใส่ตัวอย่าง 5 กรัม ปิดฝาแล้วนำไปชั่งด้วยตาชั่งละเอียด

3) นำไปอบในตู้อบโดยเปิดฝา aluminium can ใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

4) เมื่อครบกำหนดเวลาที่อบปิดฝา aluminium can นำมาทำให้เย็นใน desiccator ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

5) นำไปอบต่อจนน้ำหนักคงที่หรือต่างกันประมาณ 0.003 – 0.005 กรัม

6) คำนวณเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด $= \dfrac{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

อุปกรณ์

1. ขวด Kjeldahl flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร
3. เครื่อง condenser
4. เครื่องย่อยโปรตีน
5. erlenmeyer flask ในขนาด 250 มิลลิลิตร
6. กระบอกน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ชุดไตเตรท

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc $H_2SO_4$97%) reagent grade

2. กรดบอริค (Boric acid) 2% เตรียมจากสารละลายผลึกของกรดบอริค 10 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดและทิ้งให้เย็นปริมาณ 500 มิลลิลิตร เก็บสารละลายในขวดจุกแก้ว

3. กรดไฮโดรคลอริค 0.1 N

4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 30% เตรียมจากสารละลายเกร็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ 150 กรัม ในน้ำกลั่น 350 มิลลิลิตร

5. Catalyst :

ซิลิเนียมไดออกไซด์ (SeO_2)	2.5	กรัม
โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	100	กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)	20	กรัม

ผสม Catalyst ทั้งสามเข้าด้วยกัน

6. Mixed indicator

6.1 เตรียม 0.1% Bromocresol green ใน 95% แอลกอฮอล์และ 0.1% Methyl red ใน 95% แอลกอฮอล์

6.2 ผสม Bromocresol green จำนวน 10 มิลลิลิตร กับ Methyl red จำนวน 2 มิลลิลิตรในขวดหยด สารละลายดังกล่าว 4 หยดมีปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ลงในขวด kjeldahl flask ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

2. เติม Catalyst 2 กรัม กรดซัลฟูริคเข้มข้น 25 มิลลิลิตร และ boiling chips

3. นำ kjeldahl flask ตั้งบนเตาของชุดย่อยโปรตีนที่มีระบบดูดควันที่ดีใช้ความร้อนต่ำประมาณ 5 นาทีก่อนเร่งความร้อนให้สูงขึ้น ย่อยโปรตีนจนได้สารละลายสีฟ้าใส (ประมาณ 1 ชั่วโมง) ขณะย่อยโปรตีนหมุนขวดเป็นระยะ ๆ

4. รอให้สารละลายเย็นและหมดควันก่อนเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร โดยแยกเติมทีละ 5 มิลลิลิตร

5. เทสารละลายทั้งหมดลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ล้างขวดย่อยโปรตีนด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง แล้วเทลงในขวดปรับปริมาตรจนถึงขีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ทำ blank (ตั้งแต่ข้อ 1 – 6) โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

7. เปิดชุดกลั่นโปรตีนและผ่านน้ำเย็นเข้าออก condenser โดยเปิดสวิทซ์เตาของชุดกลั่นให้มีความร้อนเพียงพอในขณะเริ่มต้นกลั่นและป้องกันการไหลย้อนกลับของสารละลายที่ใช้เก็บแอมโมเนีย

8. ดูดกรดบอริค 10 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ที่แห้งและสะอาด หยด mixed indicator 4 หยด เขย่าให้ดีก่อนนำไปวางใต้เครื่องกลั่นโดยให้ปลาย condenser จุ่มในสารละลาย

9. ดูดสารละลายในข้อ (5) 5 มิลลิลิตร ลงในขวดกลั่น ล้างปิเปตด้วยน้ำกลั่น 2 – 3 ครั้ง ลงในขวดกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30% จำนวน 3 มิลลิลิตร ประกอบเข้าชุดกลั่น

10. แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาจะผ่าน condenser ลงสู่สารละลายบอริค สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วง – น้ำเงิน (bluish purple) ไปเป็นเขียว – น้ำเงิน (bluish green) การเปลี่ยนสีเป็นอย่างรวดเร็วประมาณ 20 – 30 วินาที เมื่อสารละลายบอริคเปลี่ยนสีประมาณ 5 นาที ลดระดับของ erlenmeyer flask ให้ปลาย condenser อยู่เหนือระดับของของเหลว 1 เซนติเมตร ล้างปลาย condenser ด้วยน้ำกลั่น รอให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปประมาณ 1 – 2 นาที ก่อนนำไปไตเตรทกับสารละลายไฮโดรคลอริค 0.1 N จนสีน้ำเงินเปลี่ยนไปเป็นใส – ไม่มีสี

11. ทำการทดลองเช่นเดียวกับ blank

12. คำนวณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน

$$\text{คำนวณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(A - B) \times CD \times 100}{W \times 1000}$$

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = (% ไนโตรเจน) x 6.25

A = มิลลิลิตรของสารละลายไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของสารละลายไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทกับ bank

C = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริค

D = 14

W = น้ำหนักหรือปริมาณของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

อุปกรณ์

1. thimble
2. ชุดสกัดไขมัน soxhled
3. extraction tube
4. hot air oven
5. tong
6. desiccator
7. ตาชั่ง

สารเคมี

1. petroleum ether

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้ว 10 กรัม ใน thimble ปิดตัวอย่างด้านบนด้วยสำลี

2. บรรจุ thimble ในชุดสกัดไขมัน soxhled โดย thimble อยู่ใน extraction tube ซึ่งด้านบนต่อกับ condenser ส่วนด้านล่างต่อกับ roundbottom flask ชนิด 2 คอ

3. ตวง petroleum ether จำนวน 150 มิลลิลิตร ในขวดแก้วก้นกลม ต่อสายยางนำน้ำเข้า และออกจาก condenser ก่อนเปิดสวิทซ์ของเตา heating mantle ปรับระดับความร้อนอย่างเหมาะสมเพื่อให้ไอของ petroleum ether ควบแน่นหยดลงบนตัวอย่างต่อเนื่องนาน 2 ชั่วโมง

4. แยก petroleum ether ออกด้วย vacuum evaporator นำส่วนของไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ไล่ ether จนหมด นำไปทำให้เย็นใน desiccator ก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก crude fat

5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ไขมัน $= \dfrac{\text{น้ำหนักบีกเกอร์และไขมัน} - \text{น้ำหนักบีกเกอร์}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ปริมาณไฟเบอร์

อุปกรณ์

1. digestion flask ขนาด 700 มิลลิลิตร
2. boiling chips
3. condenser
4. buchner funnel
5. กระดาษกรอง
6. กระดาษลิตมัส
7. เตาของชุดย่อย crude fiber
8. ผ้าขาวบาง
9. hot air oven
10. desiccator
11. ตาชั่ง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริค 0.255 N เตรียมจากการเจือจากกรดกำมะถันเข้มข้น 98.1% จำนวน 6.93 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ถ้าใช้กรดซัลฟูริค 96% ใช้กรด 7.09 มิลลิลิตร เจือจางจนได้ปริมาณ 1 ลิตร

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 N เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์เกร็ด 1.25 กรัม ละลายน้ำจนได้ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

3. Sintered glass crucible ที่ผ่านการล้างด้วยด่างโซเดียมไฮดอกไซด์ 5% ตามลำดับ การล้างด้วยน้ำร้อนก่อนล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริค (1 : 3) ล้างด้วยน้ำร้อนอีกครั้งก่อนทำให้แห้ง และเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเมื่อเย็นแล้วและเก็บใน desicator

4. สารละลายโปตัสเซียมซัลเฟต 10% เตรียมจากละลาย K_2SO_4 10 กรัมละลายในน้ำกลั่นจนได้สารละลาย 100 มิลลิลิตร

5. เอธิลแอลกอฮอล์ 95%

6. ผ้ากรองลินินชนิดละเอียด (45 threads per inch)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใน digestion flask ขนาด 700 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นขวดแก้วก้นกลมเติมกรดซัลฟูริกที่ผ่านการต้มเดือดแล้วจำนวน 200 มิลลิลิตร และ boiling chips 2 – 3 ชิ้น ก่อนนำ condenser มาประกอบตอนบนของขวด

2. นำไปต้มบนเตาของชุดย่อย crude fiber โดยให้สารละลายเดือดนาน 30 นาที ต่อเนื่องกัน เขย่าขวดเพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกาะบนผนังขวด

3. กรองกากด้วยผ้ากรองบน buchner funnel และใช้ปั๊มช่วยในการกรอง

4. ล้างกากด้วยน้ำเดือดจนหมดฤทธิ์กรด โดยทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส

5. เทกากกลับไปใน digestion flask เติมสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ผ่านการต้มเดือดจำนวน 200 มิลลิลิตร ต้มส่วนผสมนาน 30 นาที กรองทันทีและล้างกากด้วยน้ำเดือดจนหมดฤทธิ์ต่าง ๆ

6. ล้างกากด้วยสารละลายโปตัสเซียมซัลเฟตร้อน

7. เทกากกลับไปใน digestion flask อีกครั้งล้างตะกอนที่ติดผ้ากรองด้วยน้ำเดือดหลาย ๆ ครั้ง

8. เทกากใน digestion flask ผ่านไปใน sintered glass crucible ล้างกากด้วยน้ำเดือดหลายครั้ง

9. ล้างกากด้วยแอลกอฮอล์จำนวน 30 มิลลิลิตร

10. อบ crucible พร้อมกากที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเมื่อเย็นลง

11. นำไปเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที เพื่อขจัดสาร volatile organic

12. นำ crucible มาทำให้เย็นใน desiccator ก่อนชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่หายไปจะเป็นของ crude fiber (น้ำหนักข้อ 10 – 12)

13. คำนวณเปอร์เซ็นต์ crude fiber = $\frac{\text{น้ำหนัก crude fiber}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

อุปกรณ์

1. Crucibel
2. Muffle furnace
3. Desicator
4. ตะเกียงบุนเซน
5. ตาชั่ง
6. Hot air oven
7. Tong

วิธีการทดลอง

1. ล้าง Crucible ทำให้แห้งก่อนเผาใน muffle furnace นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน disiccator ก่อนนำมาชั่ง หาน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างใน Crucible จำนวน 10 กรัม

3. เผาตัวอย่างด้วยตะเกียงบุนเซนอย่างช้า ๆ จนเผาไหม้หมด (completely carbonized) จึงนำ dish วางในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาว

4. ชั่งน้ำหนักเถ้าด้วยตาชั่งละเอียด คำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้าเช่นเดียวกับการคำนวณ crude fiber

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

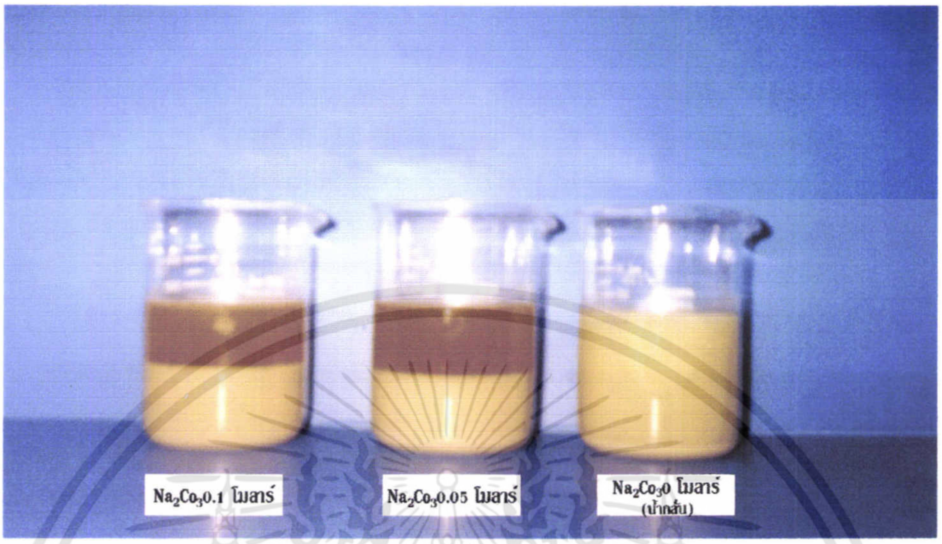
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ตารางที่ ข.1 องค์ประกอบทางเคมีของ Crude protein (% dry basis)

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (โมลาร์)	ความชื้น (%)	ไขมัน (%)	ไฟเบอร์ (%)	เถ้า (%)	โปรตีน (%)
0 (น้ำกลั่น)	8.3947	6.376	0.1092	1.436	25.58
0.05	5.1589	8.365	0.0196	1.734	29.84
1	5.1990	8.651	0.0149	1.345	29.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค



ภาพที่ ค.1 แสดงการตกตะกอนของสารละลายโปรตีน

ภาพที่ ค.2 แสดง Crude Protein ผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเดือนเพ็ญ กวางเส็ง ภูมิลำเนาเดิมจังหวัดนครปฐม วุฒิการศึกษาระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตจันทบุรี

นายวิทูล ทบศรี ภูมิลำเนาเดิม จังหวัดบุรีรัมย์ วุฒิการศึกษาระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตจันทบุรี

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้