บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีน แสดงดังรูปที่ 4.1 เป็นกากถั่วเหลืองจากบริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์ น้ำมันพืชที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกทิ้งไว้ให้แห้งสนิทจากนั้นจึงเก็บในไซโลเพื่อจำหน่ายให้โรงงานผลิตอาหารสัตว์ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากถั่วเหลืองดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตาราง 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลืองที่เป็นวัตถุดิบตั้งต้น

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าเฉลี่ย (%)
ความชื้น	9.99 ± 0.015
โปรตีน	46.01 ± 0.07
ไขมัน	1.44 ± 0.04
เถ้า	0.76 ± 0.04
กากที่ย่อยได้	36.40 ± 0.01
กากที่ย่อยไม่ได้ (เส้นใย)	5.49 ± 0.15

จะเห็นได้ว่ากากถั่วเหลืองที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีโปรตีนอยู่ในปริมาณที่สูงซึ่งเป็นระดับที่สูงพอแก่การนำไปใช้ประโยชน์ต่อ บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช (2537) รายงานว่ากากถั่วเหลืองที่มีคุณภาพดีควรมีโปรตีนอยู่ร้อยละ 44-50 ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ เช่นความชื้น จากการวิเคราะห์พบว่าไม่เกิน ร้อยละ 10 จัดว่ามีความชื้นในระดับต่ำ ซึ่งหากมีความชื้นสูงไปอายุการเก็บรักษาจะลดลง ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในกากถั่วเหลืองมีระดับต่ำเช่นเดียวกัน กากถั่วเหลืองที่ดีควรถูกสกัดน้ำมันออกไปให้มากที่สุด เนื่องจากสามารถทำให้เกิดกลิ่นหืนขึ้นได้ ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลืองสามารถใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพของกากถั่วเหลืองได้

รูปที่ 4.1 กากถั่วเหลืองวัตถุดิบจากบริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช ที่ใช้ในการสกัดโปรตีนถั่วเหลือง

4.2. สกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลือง

จากแผนภาพการสกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลือง ตามรูปที่ 3.1 ในการทดลองได้ปรับ pH ให้เป็น ด่าง เพื่อเพิ่มการละลายของโปรตีนที่ถูกสะสมอยู่ในกากถั่วเหลือง ให้ละลายออกมาอยู่ในน้ำให้มากที่สุด เมื่อแยกส่วนกากซึ่งประกอบด้วยเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ของกากถั่วเหลือง และโปรตีนจำนวนเล็กน้อยที่ติดมาด้วยออก จะได้โปรตีนที่ละลายน้ำได้จำนวนมากในสารละลาย ต่อมาเมื่อปรับ pH ให้ต่ำลงถึง 4.4 หรือจุด isoelectric point (pI)โปรตีนจะตกตะกอนแยกชั้นลงมาดังแสดงในรูป 4.2

รูปที่ 4.2 โปรตีนที่ตกตะกอนลงมาที่ pH 4.4

หลังจากนั้นจึงเหวี่ยงแยกเอาตะกอนโปรตีนที่ได้ออกมา ส่วนที่เหลือในสารละลายคือน้ำตาลที่ละลายได้ผสมอยู่กับโปรตีนบางส่วน เปปไทด์ เกลือ และองค์ประกอบอื่นๆอีกจำนวนเล็กน้อย การสกัดโปรตีนด้วยวิธีดังกล่าวใช้หลักการที่โปรตีนมีความสามารถในการละลายแตกต่างกันที่ pH ต่างๆ Wong (1989) กล่าวว่าที่จุด pI โมเลกุลโปรตีนจะมีประจุรวมเป็น ศูนย์ ทำให้ปฏิกิริยาทางไฟฟ้าสถิตย์ระหว่างโปรตีนที่มีกลุ่มประจุต่างๆ และระหว่างโมเลกุลโปรตีนลดลง กลุ่มประจุในโปรตีนที่ช่วยในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำจะหายไป ส่งผลให้การจับตัวกับน้ำลดลง นอกจากนี้ Wolf (1975) ยังอธิบายว่าที่จุด pI นี้โปรตีนเกิดพันธะไดซัลไฟด์ขึ้น เกิดเป็นสายโพลีเมอร์ของโปรตีน และตกตะกอนลงมา ซึ่งโปรตีนส่วนใหญ่ที่แยกตัวออกมาเป็นโปรตีนพวกโมเลกุลทรงกลม (globulin) จากส่วน 7S (Kinsella ,1979) โปรตีนถั่วเหลืองที่แยกออกมาโดยวิธีนี้จะสามารถสกัดโปรตีนออกมาได้ถึงร้อยละ 90 ส่วนอีกร้อยละ 10 อยู่ในรูปของโปรตีนเวย์ (Whey protein) ซึ่งละลาย

อยู่ในสารละลายที่แยกตัวออกจากตะกอนในขั้นตอนสุดท้าย ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนที่สกัดได้ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลือง

องค์ประกอบทางเคมี	**ค่าเฉลี่ย** (% ,น้ำหนักเปียก)
ความชื้น	96.00 ± 1.72
ปริมาณโปรตีน	3.74 ± 0.91
ปริมาณไขมัน	0.52 ± 0.05
ปริมาณเถ้า	0.03 ± 0.02

จากการวิเคราะห์โปรตีนที่สกัดได้เป็นน้ำหนักแห้ง แสดงให้เห็นว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ถึงร้อยละ 93.58 ซึ่งจะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบสำคัญในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

4.3. **หาอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของ เอนไซม์ในสับสเตรทโปรตีนจากกากถั่วเหลือง**

จากการศึกษาpH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 4 คือ Papain Pepsin Alcalase® และ Protin AC 10® (ภาคผนวก ก) แสดงดังตารางที่ 4.3

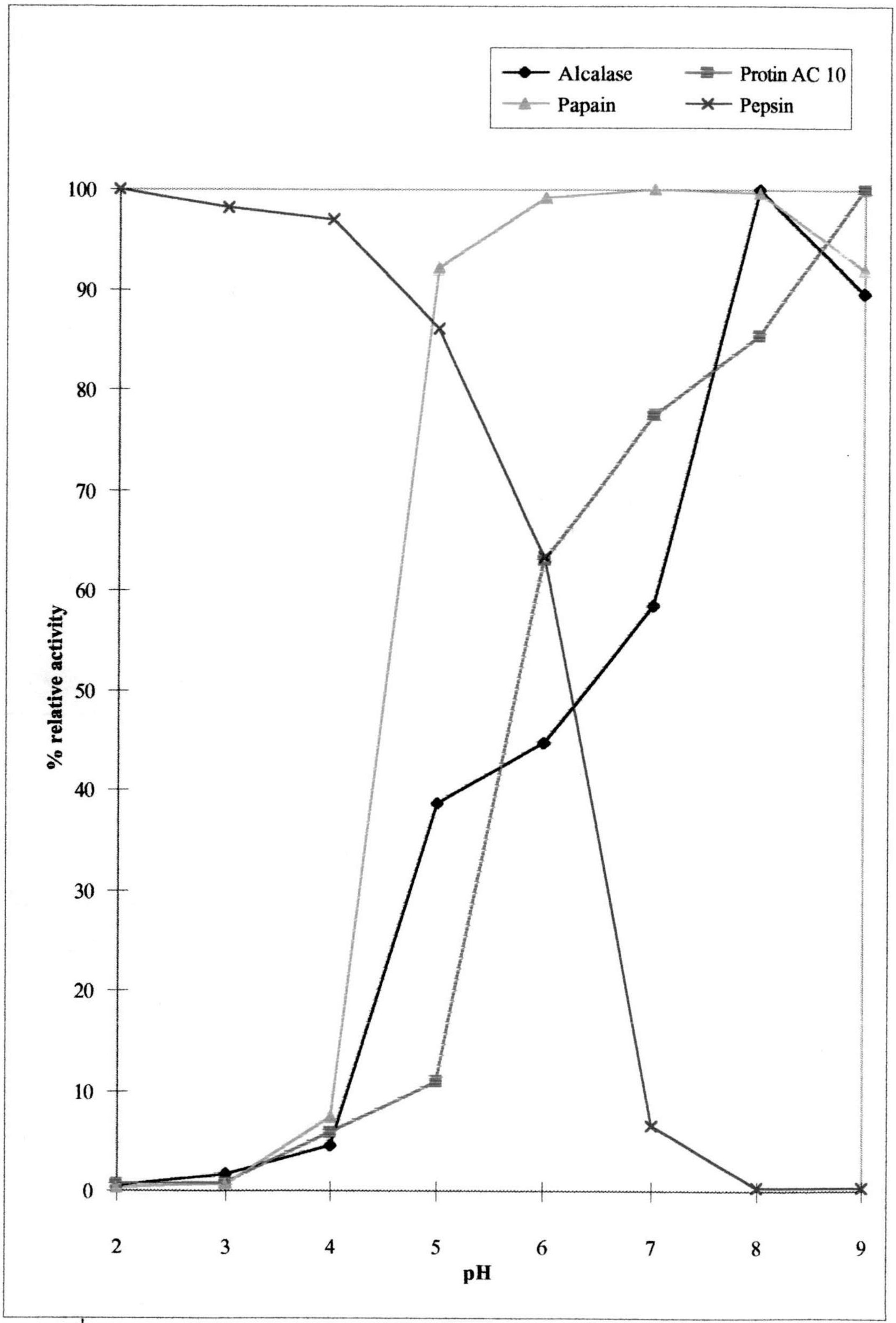
ตารางที่ 4.3 ผลของ pH ต่อความเร็วปฏิกิริยาและ แอคติวิตีสัมพัทธ์ ของ Papain, Pepsin Alcalase ® และ Protin AC 10 ® ในการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลือง

pH	เอนไซม์							
	alcalase®		protin AC10®		papain		pepsin	
	Vel.(μg./ min)*	% re.ac.*	Vel.(μg./ min.) *	% re.ac. *	Vel.(μg./ min) *	% re.ac. *	Vel.(μg./ min) *	% re.ac. *
2	0.05	0.59	0.28	0.74	0.02	0.332	5.71	100
3	0.15	1.76	0.29	0.77	0.04	0.664	5.60	98.07
4	0.38	4.54	2.21	5.85	0.44	7.31	5.54	97.02
5	3.29	38.57	4.14	10.97	5.54	92.0	4.90	85.81
6	3.81	44.66	23.77	62.97	5.96	99.00	3.62	63.40
7	4.99	58.52	29.24	77.47	6.02	100	0.37	6.48
8	8.53	100	32.25	85.43	5.99	99.50	0.02	0.35
9	7.64	89.57	37.75	100	5.53	91.86	0.01	0.18

Vel.(μg./ min)* = ความเร็วปฏิกิริยา (ไมโครกรัมไทโรซีน / นาที)

% re. ac. * = แอคติวิตีสัมพันธ์(% relative activity)

นำค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์จากตารางที่ 4.3 ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pHและ แอคติวิตีสัมพัทธ์ได้ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH และ แอคติวิตีสัมพัทธ์ของ Papain (—▲—), Pepsin (—✕—) Alcalase® (—◆—) และ Protin AC10® (—■—) ในการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 35 °C

ส่วนผลอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอมไซม์ทั้ง 4 แสดงดังตารางที่ 4.4

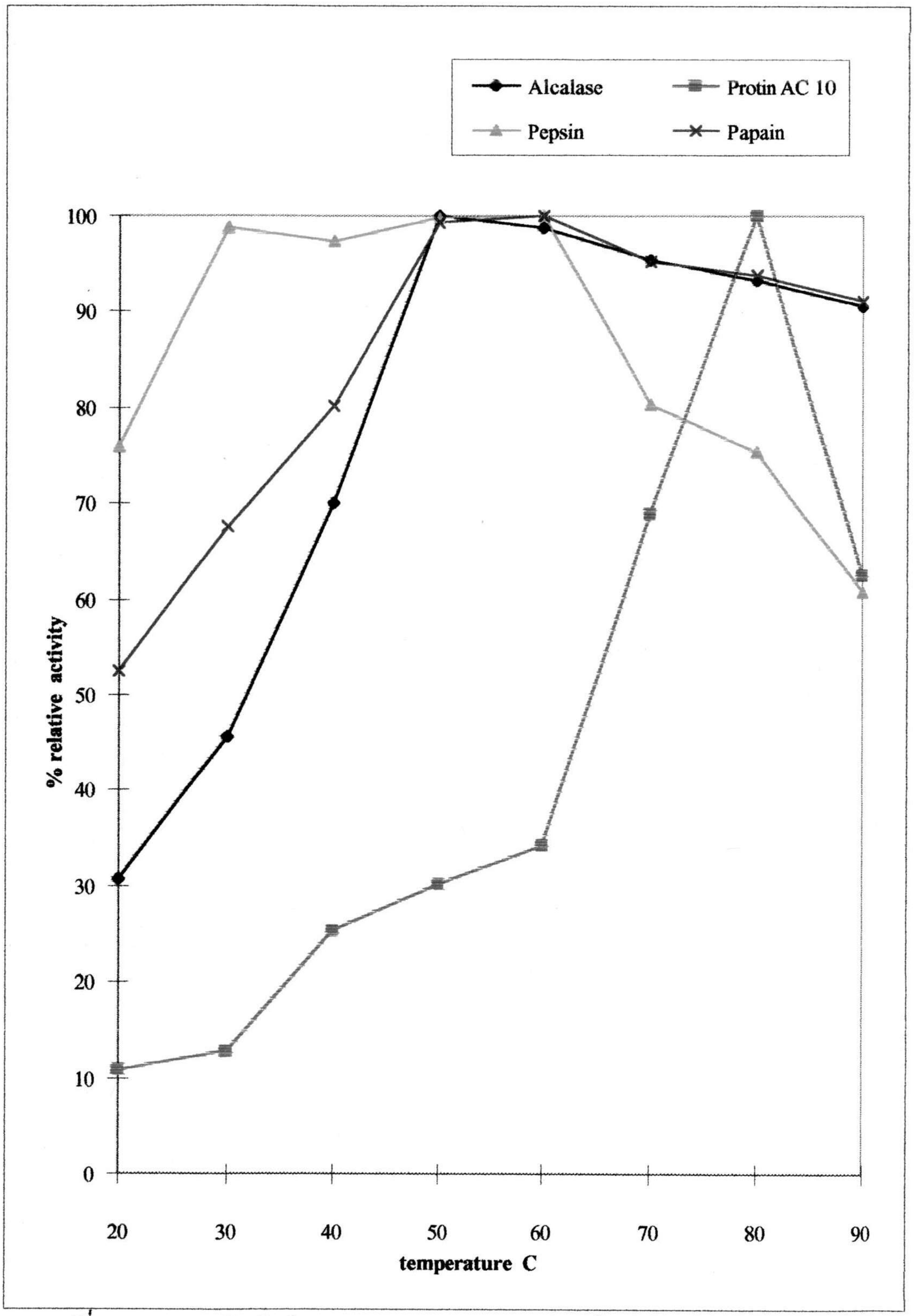
ตารางที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิต่อความเร็วปฏิกิริยา. และแอคติวิตีสัมพัทธ์ในการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลืองของ Papain ที่ pH 7, Pepsin ที่ pH 2, Alcalase ® ที่ pH 8 และ Protin AC 10 ® ที่ pH 9

อุณหภูมิ °C	เอนไซม์							
	alcalase®		protin AC10®		papain		pepsin	
	Vel(μg./ min*	% re.ac*	Vel.(μg. / min)	% re.ac.	Vel(μg ./ min)	% re.ac.	Vel(μg./ min)	% re.ac
20	5.85	30.72	33.66	10.86	4.86	52.54	4.41	75.75
30	8.67	45.54	39.52	12.75	6.25	67.57	5.75	98.80
40	13.33	70.01	78.57	25.35	7.41	80.11	5.67	97.42
50	19.04	100	93.20	30.07	9.17	99.14	5.81	99.83
60	18.81	98.79	105.91	34.17	9.25	100	5.82	100
70	18.15	95.32	214.03	69.05	8.81	95.24	4.68	80.41
80	17.76	93.27	309.96	100	8.68	93.84	4.38	75.26
90	17.24	90.55	193.75	62.51	8.42	91.03	3.54	60.82

Vel.(μg./ min)* = ความเร็วปฏิกิริยา (ไมโครกรัมไทโรซีน / นาที)

% re. ac. * = แอคติวิตีสัมพันธ์(% relative activity)

นำค่า แอคติวิตีสัมพัทธ์ จากตารางที่ 4.4 ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ และแอคติวิตีสัมพัทธ์ ได้ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง อุณหภูมิ และ แอคติวิตีสัมพัทธ์ของในการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลืองของ Papain ที่ pH 7 (—×—), Pepsin ที่ pH2 (—▲—), Alcalase® ที่ pH 8 (—◆—) และ Protin AC10® ที่ pH 9 (—■—)

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.3 และรูปที่ 4.4 ประกอบกัน จะได้ภาวะที่แอคติวิตีของเอมไซม์ทั้ง 4 สูงที่สุดคือ Alcalase® ที่ pH 8 อุณหภูมิ 50 °C ,Protin AC 10® pH 9 อุณหภูมิ 80 °C ซึ่งทำให้แยกเอนไซม์ 2 ชนิดนี้ให้อยู่ในกลุ่ม alkaline protease ได้ เนื่องจากสามารถทำงานได้ดีในช่วง pH ด่าง Papain แอคติวิตีสูงสุดที่ pH 6 อุณหภูมิ 60 °C จึงจัดอยู่ในกลุ่มเอนไซม์พวก neutral protease ส่วน Pepsin มีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 2 อุณหภูมิ 60 °C จัดอยู่ในกลุ่มเอนไซม์พวก acid protease ซึ่งจุด pH ที่เหมาะสมแก่เอนไซม์แต่ละตัวนั้นมีผลทำให้เกิด ionic form ของ สับสเตรท หรือ เอนไซม์ ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาจึงทำให้สามารถวัดค่าแอคติวิตีได้สูงที่สุด ส่วนผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์จากกราฟจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเอนไซม์มีแอคติวิตีเพิ่มขึ้นตามลำดับเนื่องจากอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ที่โมเลกุลของสารมีผลให้เกิดปฏิกิริยาได้มากขึ้นด้วย แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ทำให้โมเลกุลของสารปฏิกิริยามีพลังงานมากเกินไป อาจส่งผลกระทบต่อโมเลกุลของเอนไซม์ได้ เนื่องจากโมเลกุลของเอนไซม์มีโครงสร้างที่ละเอียดอ่อนมากโครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) จะเสียหายมีผลให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ และสูญเสียแอคติวิตี (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535) ซึ่งเอนไซม์แต่ละตัวจะมีระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดของเอนไซม์และเสถียรภาพของเอนไซม์และปัจจัยร่วมต่างๆ

4.4. หาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนจากกากถั่วเหลือง

เตรียมเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมกับเอนไซม์แต่ละตัวดังผลการทดลองข้อ 4.3 จนได้ความเข้มข้นเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ เป็น 1:100 , 1:500 , 1:1,000 , 1:5,000 และ 1:10,000 (กรัมเอนไซม์หรือ มิลลิตรเอนไซม์ กรณีของ Alcalase® ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH เหมาะสมกับเอนไซม์แต่ละชนิด) และย่อยสลายสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้0.1 กรัมด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นดังกล่าวที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเอนไซม์แต่ละตัวดังผลการทดลองข้อ 4.3 (ภาคผนวก ข) วัดค่าความเร็วปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (ปริมาณ tyrosine ที่เกิดขึ้น / เวลา) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกความเข้มข้นเอนไซม์ที่ให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด ผลการวัดความเร็วปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นเอนไซม์ในระดับต่างๆต่อความเร็วปฏิกิริยา เมื่อย่อยสลายสับสเตรทโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลือง

ความเข้มข้นเอนไซม์	ความเร็วปฏิกิริยา (μg. tyrosine / min.)			
	Alcalase®	Protin AC 10®	Papain	Pepsin
1/100	8.49[a]	28.94[a]	5.65[a]	5.88[a]
1/500	8.02[b]	28.33[a]	5.65[a]	5.78[a]
1/1,000	7.98[c]	27.07[a]	5.65[a]	5.74[a]
1/5,000	7.98[d]	26.90[a]	5.32[b]	2.77[b]
1/10,000	7.89[e]	26.67[a]	5.28[b]	2.32[c]

จากตารางความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดที่ให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงสุดคือ Alcalase ® ที่ระดับความเข้มข้น 1 : 100 , Protin AC 10 ® 1 : 10,000 , Papain 1 :1,000 และ Pepsin 1:1,000 เลือกความเข้มข้นเอนไซม์ที่ระดับดังกล่าว ย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองโดยแปรปริมาณสับสเตรทโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลืองในระดับต่างๆ (ภาคผนวก ข) เพื่อหาความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทที่ให้ปฏิกิริยาสูงสุด

วัดความเร็วปฏิกิริยา(ปริมาณ tyrosine ที่เกิดขึ้นเป็นไมโครกรัม/นาที) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

หาความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทที่เหมาะสมใน Pepsin โดยเตรียม Pepsin 0.1 มล.ความเข้มข้น 1:1,000 (น้ำหนัก/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ เมื่อแปรปริมาณสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้เป็น 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 กรัมน้ำหนักเปียก (สับสเตรทมีปริมาณโปรตีนคิดเป็นน้ำหนักเปียกอยู่ 8.9 %) คิดเป็นอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีนคือ 1/80 1/160 1/240 1/320 1/400 ผลการวัดความเร็วปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลของความเข้มข้นโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่างๆ ต่อความเร็วปฏิกิริยา เมื่อย่อยสลายด้วย Pepsin ความเข้มข้น 1:1,000 (น้ำหนัก/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 60 °C และ pH 2

ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อโปรตีนจากถั่วเหลือง (น้ำหนัก,กรัม / น้ำหนัก,กรัม)	**ความเร็วปฏิกิริยา** (µg. tyrosine /min)
1 / 80	5.69[d] ± 0.01
1 / 160	10.63[c] ± 0.01
1 / 240	19.86[b] ± 0.02
1 / 320	27.8[a] ± 0.02
1 / 400	27.46[a] ± 0.00

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเหลืองความเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น จนถึงระดับที่ความเร็วของปฏิกิริยาคงที่ เพราะเอนไซม์เริ่มอิ่มตัวด้วย สับสเตรทโปรตีนถั่วเหลือง ซึ่งเป็นระดับที่เลือกมาใช้ศึกษาขั้นต่อไป การเลือกความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทระดับนี้จะช่วยลดปริมาณการสูญเสียเอนไซม์จากการใช้เอนไซม์มากเกินไปเป็นการลดต้นทุนการผลิตลง โดยที่ยังมีความเร็วในการทำปฏิกิริยาสูงทำให้ไม่ใช้เวลาในกระบวนการผลิตหรือทำปฏิกิริยาของเอนไซม์มากเกินไป

ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้น Pepsin (กรัม) **ต่อความเข้มข้นโปรตีนถั่วเหลือง** (กรัม) **ที่ระดับ** 1:400 **หรือคิดเป็นร้อยละของเอนไซม์ต่อสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองคือ** 0.25 % (W/W)

หาความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทที่เหมาะสมใน Papain โดยเตรียม Papain 0.1 มล.ความเข้มข้น 1:1,000 (น้ำหนัก/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ เมื่อแปรปริมาณสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้เป็น 0.01 0.02 0.03 0.04 0.05 0.06 0.07 0.08 กรัมน้ำหนักเปียก (สับสเตรทมีปริมาณโปรตีนคิดเป็นน้ำหนักเปียกอยู่ 10%) คิดเป็นอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีนคือ 1/10 1/20 1/30 1/40 1/50 1/60 1/70 1/80 ผลการวัดความเร็วปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลของความเข้มข้นโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่างๆต่อความเร็วปฏิกิริยา เมื่อย่อยสลายด้วย Papain ความเข้มข้น 1:1,000 (น้ำหนัก/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$C และ pH 6

ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อโปรตีนจากถั่วเหลือง (น้ำหนัก,กรัม / น้ำหนัก,กรัม)	**ความเร็วปฏิกิริยา (µg. tyrosine /min)**
1 / 10	$11.15^{g} \pm 0.01$
1 / 20	$14.11^{f} \pm 0.03$
1 / 30	$19.49^{e} \pm 0.1$
1 / 40	$24.61^{d} \pm 0.03$
1 / 50	$28.85^{c} \pm 0.00$
1 / 60	$33.7^{b} \pm 0.08$
1 / 70	$46.06^{a} \pm 0.00$
1 / 80	$46.78^{a} \pm 0.00$

ผลของสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองต่อความเร็วปฏิกิริยาของ papain อธิบายได้เช่นเดียวกับผลจาก pepsin

เลือกใช้ความเข้มข้น Papain (กรัม) ต่อความเข้มข้นโปรตีนถั่วเหลือง (กรัม) ที่ระดับ 1:80 หรือคิดเป็นร้อยละของเอนไซม์ต่อสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองคือ 1.25 % (W/W)

หาความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทที่เหมาะสมใน Alcalase® โดยเตรียม Alcalase® 0.1 มล.ความเข้มข้น 1:100 (ปริมาตร /ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ เมื่อแปรปริมาณสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้เป็น 1 2 3 4 กรัมน้ำหนักเปียก (สับสเตรทมีปริมาณโปรตีนคิดเป็นน้ำหนักเปียกอยู่ 8.75 %) คิดเป็นอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีนคือ 1/87 1/175 1/255 1/350 ผลการวัดความเร็วปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลของความเข้มข้นโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่างๆต่อความเร็วปฏิกิริยา เมื่อย่อยสลายด้วย Alcalase® ความเข้มข้น 1:100 (ปริมาตรเอนไซม์/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 50 °C และ pH 8

ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อโปรตีนจากถั่วเหลือง (ปริมาตร ,มล. / น้ำหนัก,กรัม)	ความเร็วปฏิกิริยา (μg. tyrosine /min)
1 / 87	$5.69^{d} \pm 0.01$
1 / 175	$10.63^{c} \pm 0.01$
1 / 255	$19.86^{b} \pm 0.02$
1 / 350	$27.8^{a} \pm 0.02$

ผลของสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองต่อความเร็วปฏิกิริยาของ Alcalase® อธิบายได้เช่นเดียวกับผลจาก pepsin

เลือกใช้ความเข้มข้น Alcalase® **ต่อโปรตีนถั่วเหลือง (มล. / กรัม) ที่ระดับ** 1 / 350 **หรือคิดเป็นร้อยละของเอนไซม์ต่อสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองคือ** 0.285 % (V/W)

หาความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทที่เหมาะสมใน Protin AC 10 ®โดยเตรียม Protin AC 10 ® 0.1 มล.ความเข้มข้น 1:10,000 (น้ำหนัก/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ เมื่อแปรปริมาณสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้เป็น 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 1.4 กรัมน้ำหนักเปียก (สับสเตรทมีปริมาณโปรตีนคิดเป็นน้ำหนักเปียกอยู่ 5.1 %) คิดเป็นอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีนคือ 1/1020 1/2040 1/3060 1/4080 1/5100 1/6120 1/7140 ผลการวัดความเร็วปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลของความเข้มข้นโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่างๆต่อความเร็วปฏิกิริยา เมื่อย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® ความเข้มข้น 1:10,000 (น้ำหนัก/ปริมาตรบัฟเฟอร์) ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ **อุณหภูมิ 80 °C และ pH 9**

ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อโปรตีนจากถั่วเหลือง (น้ำหนัก,กรัม / น้ำหนัก,กรัม)	**ความเร็วปฏิกิริยา (µg. tyrosine /min)**
1 / 1020	$38.15^{f} \pm 0.03$
1 / 2040	$55.26^{e} \pm 0.00$
1 / 3060	$83.48^{d} \pm 0.07$
1 / 4080	$94.71^{c} \pm 0.01$
1 / 5100	$116.93^{b} \pm 0.00$
1 / 6120	$145.35^{a} \pm 0.00$
1 / 7140	$145.75^{a} \pm 0.00$

ผลของสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองต่อความเร็วปฏิกิริยาของ Protin AC 10® อธิบายได้เช่นเดียวกับผลจาก pepsin

เลือกใช้ความเข้มข้น Protin AC 10 ® ต่อโปรตีนถั่วเหลือง (กรัม / กรัม) **ที่ระดับ** 1:7140 **หรือคิดเป็นร้อยละของเอนไซม์ต่อสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองคือ** 0.014 % (W/W)

4.5. **หาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลือง**

เนื่องจาก อุณหภูมิ เวลา และ pH ในการย่อยสลายต่างมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ จึงศึกษาผลของตัวแปรดังกล่าวร่วมกัน เพื่อหาความสัมพันธ์ของภาวะการย่อยสลายดังกล่าวที่มีต่อลักษณะการเป็นสารให้ฟองของโปรตีนถั่วเหลือง โดยแปรปัจจัยทั้ง 3 คือ อุณหภูมิที่ระดับ 20 °C 40 °C และ 60 °C ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิโดยทั่วไปที่เอนไซม์ทั้ง 4 สามารถทำงานได้**และไม่สูงเกินไป เพื่อหลีกเลี่ยงการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนถั่วเหลือง** เนื่องจากความร้อนแปร pH ที่ระดับ 2 , 3 และ 4 สำหรับ acid protease (Pepsin) pH ที่ระดับ 6 , 7 และ 8 สำหรับ neutral protease (Papain) และ alkaline protease (Protin AC 10®, Alcalase®) ซึ่งเป็นช่วง pH ที่ใกล้

เคียงกับpH เหมาะสมแก่การทำงานของเอนไซม์แต่ละตัวซึ่งได้จากการทดลองที่ผ่านมา และแปรเวลาการย่อยสลายเป็น 5 , 10 , 15 , 20 และ 25 นาที การจำกัดเวลาไว้ที่ระดับไม่สูงมากเพื่อทำให้เกิดการย่อยสลายอย่างจำกัด ซึ่งจะทำให้เกิดการตัดสายพันธะไดซัลไฟด์ในโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่างๆ ได้สายโปรตีนที่มีลักษณะและความยาวแตกต่างกัน เนื่องจากลักษณะของโมเลกุลโปรตีนเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเป็นสารให้ฟองที่ดี (Fennema, 1996)

ผลิตสารให้ฟองตามแผนภาพการผลิต (รูปที่ 3.3) โดยเลือกใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทในเอนไซม์แต่ละชนิด ดังที่สรุปได้จากการทดลองข้างต้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้ในทุกการทดลองวิเคราะห์ค่าการเกิดฟองโดยวัดเป็นร้อยละการขยายตัวของฟองที่เพิ่มขึ้น วิเคราะห์ค่าความคงตัวของฟอง และวิเคราะห์อัตราการย่อยสลายที่เกิดขึ้น ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.10 - 4.13

ตารางที่ 4.10 ผลของอุณหภูมิ เวลา และ pHที่มีต่อค่าการขยายตัวของฟอง (FE) ความคงตัวของฟอง (FS) และอัตราการย่อยสลาย (DH)เมื่อย่อยสลายด้วย Alcalase®

เวลาย่อย (min.)	สมบัติของโปรตีนที่ถูกย่อย*	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 8	ปฏิกิริยาที่ T.40°C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.40 °C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 8	ปฏิกิริยาที่ T.60° C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.60° C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.60° CpH 8
5	F.E.	100.00 ± 0.0	100.00 ±0.0	100.00 ±0.0	480.00 ±7.07	500.00 ±14.1	540.00 ± 14.1	545.00 ± 7.07	545.00 ±0.0	550.00 ±7.07
	F.S.	28.78 ± 1.1	28.34 ± 0.48	28.10 ±0.14	112.9 ±52.8	155.31 ±6.78	185.72 ±7.63	214.72 ±2.78	197.67 ±10.36	222.86 ±4.08
	DH	0.42 ±0.02	0.45 ± 0.0	0.44 ±0.05	3.85 ±0.21	4.53 ±0.04	5.68 ±0.96	10.87 ±1.23	11.65 ±0.21	13.82 ± 1.23
10	F.E.	95.00 ± 7.07	95.00 ±7.07	95.00 ±0.00	540.00 ±0.00	540.00 ±28.28	545.00 ±7.07	555.00 ±0.00	560.00 ±0.00	565.00 ±0.00
	F.S.	38.78 ±0.27	38.56 ±2.49	38.31 ±6.10	285.78 ±7.22	204.72 ±5.88	215.78 ±7.11	232.94 ±3.46	240.00 ±0.00	125.00 ±7.07
	DH	0.44 ±0.08	0.47 ±0.04	0.42 ±0.11	5.78 ±0.31	7.63 ±0.89	10.78 ±2.43	18.32 ±2.65	20.65 ±0.63	23.13 ±2.64
15	F.E.	100.00 ±0.00	100.00 ±0.00	100.00 ±0.00	545.00 ±7.07	550.00 ±0.00	550.00 ±0.00	565.00 ±7.07	565.00 ±7.07	570.00 ±0.00
	F.S.	42.0 ±4.24	42.30 ±3.81	42.0 ±2.82	214.72 ±0.39	222.36 ±3.33	222.36 ±3.33	88.84 ±12.50	68.84 ±1.64	55.044 ±7.12
	DH	0.45 ±0.07	0.47 ±0.04	0.48 ±0.02	10.4 ±0.56	13.39 ±2.27	15.53 ±0.04	24.21 ±1.11	25.68 ±0.96	27.41 ±0.83
20	F.E.	100.00 ±0.00	100.00 ±0.00	100.00 ±0.00	550.00 ±0.00	555.00 ±3.53	560.00 ±0.00	570.00 ±14.14	575.00 ±7.07	575.00 ±7.07
	F.S.	44.58 ±0.59	44.32 ±0.96	44.09 ±1.28	228.84 ±1.64	228.84 ±1.64	230.94 ±1.32	26.14 ±1.61	20.52 ±0.73	45.2 ±6.78
	DH	0.45 ±0.07	0.51 ±0.01	0.55 ±0.07	15.32 ±0.25	18.64 ±1.92	18.74 ±1.78	30.75 ±0.35	35.65 ±0.21	41.25 ±1.48
25	F.E.	100.00 ±0.00	110.00 ±0.00	120.00 ±0.00	550.00 ±0.00	550.00 ±42.42	555.00 ±3.53	570.00 ±0.00	575.00 ±0.00	575.00 ±0.00
	F.S.	34.21 ±1.11	54.75 ±0.35	55.30 ±0.42	222.36 ±3.33	218.84 ±1.64	235.94 ±5.74	26.49 ±2.10	21.21 ±5.35	35.21 ±6.77
	DH	0.57 ±0.09	0.63 ±0.04	0.72 ±0.02	13.42 ±2.23	15.75 ±0.35	20.75 ±1.06	30.68 ±0.25	34.6 ±1.27	35.2 ±0.28

*F.E. = % foam expansion , F.S. = foam stability (min.) , DH = degree of hydrolysis

ตารางที่ 4.11 ผลของอุณหภูมิ เวลา และ pHที่มีต่อค่าการขยายตัวของฟอง (FE) ความคงตัวของฟอง (FS) และอัตราการย่อยสลาย (DH)เมื่อย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ®

เวลาย่อย (min.)	สมบัติของโปรตีนที่ถูกย่อย*	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 8	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 8	ปฏิกิริยาที่ T.60° C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.60° C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.60° CpH 8
5	F.E.	200.00 ± 0.0	200.00 ±0.0	200.00 ±0.0	650.00 ±0.0	650.00 ±0.0	640.00 ± 14.1	670.00 ± 14.1	660.00 ±14.1	650.00 ±0.0
	F.S.	12.78 ±0.31	12.59 ±0.12	12.69 ±0.12	240.00 ±0.00	195.00 ±0.00	190.00 ±0.00	190.00 ±0.00	180.00 ±0.00	175.00 ±7.07
	DH	0.47 ±0.03	0.12 ± 0.04	0.14 ±0.01	5.37 ±0.18	6.83 ±0.24	7.36 ± 0.19	8.31 ±0.27	10.27 ±0.38	12.46 ±0.05
10	F.E.	190.00 ± 0.00	190.00 ±14.1	200.00 ±0.00	660.00 ±14.1	660.00 ±0.00	655.00 ±7.07	650.00 ±0.00	665.00 ±0.00	665.00 ±0.00
	F.S.	12.37 ±0.04	12.67 ±0.24	12.54 ±0.05	195.00 ±7.07	180.00 ±0.00	175.00 ±7.07	175.00 ±0.00	175.00 ±0.00	175.00 ±0.00
	DH	0.69 ±0.01	0.73 ±0.02	0.74 ±0.01	7.04 ±0.05	9.68 ±0.45	11.56 ±1.32	12.94 ±0.62	13.46 ±0.05	16.33 ±0.94
15	F.E.	200.00 ±0.00	200.00 ±0.00	200.00 ±0.00	660.00 ±0.00	650.00 ±0.00	665.00 ±0.00	665.00 ±0.00	670.00 ±0.00	665.00 ±0.00
	F.S.	13.77 ±1.08	13.45 ±0.07	13.50 ±0.00	180.00 ±0.00	175.00 ±0.00	175.00 ±7.07	175.00 ±7.07	170 .00 ±0.00	35.25 ±0.35
	DH	0.73 ±0.01	0.88 ±0.11	0.89 ±0.01	10.49 ±0.01	12.53 ±0.04	13.18 ±0.25	16.24 ± 0.36	20.93 ±1.31	28.41 ±0.84
20	F.E.	200.00 ±0.00	200.00 ±0.00	200.00 ±0.00	670.00 ±14.1	670 .00 ±14.1	670.00 ±28.2	670.00 ±0.00	670.00 ±14.1	665.00 ±0.00
	F.S.	12.37 ±0.18	13.67 ±0.24	13.54 ±0.05	175.00 ±0.00	170.00 ±0.00	35.29 ±0.41	20.82 ±0.00	19.62 ±14.1	19.62 ±0.00
	DH	0.69 ±0.01	0.73 ±0.04	0.74 ±0.05	16.53 ±0.66	20.78 ±0.39	29.39 ±0.86	35.68 ± 0.96	38.39 ±2.27	39.63 ±0.52
25	F.E.	200.00 ±0.00	210.00 ±14.1	210.00 ±14.1	670.00 ±0.00	670.00 ±14.1	670.00 ±0.00	670.00 ±0.00	670.00 ±0.00	670.00 ±0.00
	F.S.	13.55 ±0.00	13.79 ±14.1	13.99 ±14.1	19.62 ±0.00	19.62 ±14.1	19.85 ± 0.00	18.58 ± 0.00	16.86 ±0.00	14.85 ±0.00
	DH	0.97 ±0.17	0.95 ±0.04	0.98 ±0.02	30.48 ±2.23	32.68 ±0.35	40.99 ± 1.06	46.82 ± 0.25	57.75 ±1.27	60.62 ±0.17

* F.E. = % foam expansion , F.S. = foam stability (min.) , DH = degree of hydrolysis

ตารางที่ 4.12 ผลของอุณหภูมิ เวลา และ pHที่มีต่อค่าการขยายตัวของฟอง (FE) ความคงตัวของฟอง (FS) และอัตราการย่อยสลาย (DH)เมื่อย่อยสลายด้วย Papain

เวลาย่อย (min.)	สมบัติของโปรตีนที่ถูกย่อย*	ปฏิกิริยาที่ T.20°C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.20°C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.20°C pH 8	ปฏิกิริยาที่ T.40°C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.40°C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.40°C pH 8	ปฏิกิริยาที่ T.60°C pH 6	ปฏิกิริยาที่ T.60°C pH 7	ปฏิกิริยาที่ T.60°CpH 8
5	F.E.	340.00 ± 0.0	355.00 ±4.24	345.00 ± 0.00	440.00 ±7.07	400.00 ±0.00	440.00 ± 2.82	460.00 ±0.00	440.00 ±7.07	440.00 ±0.0
	F.S.	10.58 ±0.11	10.14 ±0.17	10.72 ±0.25	30.68 ±0.25	22.5 ±3.53	30.68 ± 0.45	30.68 ±0.25	31.30 ±0.25	27.27 ±0.46
	DH	1.32 ±0.25	1.78 ± 0.03	1.05 ±0.63	4.58 ±0.11	2.59 ±0.12	3.78 ±0.39	4.78 ±0.03	4.32 ±0.25	4.47 ±0.04
10	F.E.	355.00 ± 0.00	355.00 ±0.00	355.00 ±7.07	440.00 ±0.00	440.00 ±0.00	440.00 ±0.00	480.00 ±0.00	460.00 ±7.07	460 .00 ±0.00
	F.S.	10.14 ±0.51	10.42 ±0.11	10.42 ±0.11	30.68 ±0.25	31.36 ±0.87	30.68 ± 1.15	39.89 ±0.15	38.12 ±1.95	39.56 0 ±0.08
	DH	1.78 ±0.17	1.95 ±0.04	2.05 ±0.67	3.75 ±0.22	3.23 ±0.09	3.45 ±0.07	7.41 ±0.14	6.95 ±0.42	6.79 ±0.03
15	F.E.	355.00 ±0.00	355.00 ±0.00	400.00 ±0.00	440.00 ±0.00	440.00 ±2.82	440.00 ±7.07	480.00 ±0.00	480.00 ±7.07	480.00 ±7.07
	F.S.	10.14 ±0.51	10.42 ±0.11	13.75 ±2.47	30.68 ±0.25	30.68 ±0.25	30.68 ± 0.02	45.00 ±0.00	38.75 ±1.06	38.75 ±0.35
	DH	1.79 ±0.05	1.99 ±0.03	2.25 ±0.07	4.32 ±0.04	3.75 ±0.35	3.03 ±0.02	7.03 ±0.69	8.05 ±0.63	8.00 ±0.00
20	F.E.	355.00 ±7.07	400.00 ±0.00	400.00 ±0.00	455.00 ±7.07	440.00 ±0.00	440 .00 ±0.00	500.00 ±0.00	500.00 ±0.00	500.00 ±0.00
	F.S.	10.42 ±0.11	10.0 ±0.00	12.75 ±0.35	29.67 ±1.17	30.68 ±0.02	30.68 ± 0.18	33.2 ±1.83	18.0 ±0.71	18.0 ±1.06
	DH	1.99 ±0.08	2.03 ±0.03	2.15 ±0.07	5.65 ±0.21	4.52 ±0.73	4.33 ± 0.09	8.92 ±1.33	9.35 ±0.21	9.20 ±0.42
25	F.E.	380.00 ±0.00	400.00 ±0.00	400.00 ±0.00	500.00 ±0.00	490.00 ±2.82	490.00 ±7.07	640.00 ±0.00	520.00 ±0.00	540.00 ±7.07
	F.S.	11.05 ±1.84	15.00 ±0.00	15.00 ±0.00	28.00 ±0.71	33.87 ±2.30	36.93 ± 0.81	10.93 ±1.94	18.84 ±2.34	14.81 ±0.97
	DH	2.09 ±0.57	2.35 ±0.01	2.32 ±0.14	8.90 ±0.42	8.28 ±0.04	7.89 ± 0.08	11.26 ±1.75	9.82 ±0.45	10.64 ±0.19

* F.E. = % foam expansion , F.S. = foam stability (min.) , DH = degree of hydrolysis

ตารางที่ 4.13 ผลของอุณหภูมิ เวลา และ pHที่มีต่อค่าการขยายตัวของฟอง (FE) ความคงตัวของฟอง (FS) และอัตราการย่อยสลาย (DH)เมื่อย่อยสลายด้วย Pepsin

เวลาย่อย (min.)	สมบัติของโปรตีนที่ถูกย่อย*	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 2	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 3	ปฏิกิริยาที่ T.20° C pH 4	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 2	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 3	ปฏิกิริยาที่ T.40° C pH 4	ปฏิกิริยาที่ T.60° C pH 2	ปฏิกิริยาที่ T.60° C pH 3	ปฏิกิริยาที่ T.60° CpH 4
	F.E.	95.00 ± 0.00	90.00 ± 0.00	95.00 ± 0.00	570.00 ±10.6	530.00 ±2.82	530.00 ± 7.07	570.00 ± 7.07	570.00 ±0.00	565.00 ±4.24
5	F.S.	12.63 ±0.18	11.11 ±0.55	13.68 ±0.96	240.00 ±7.07	120.24 ±0.36	61.42 ±1.37	192.38 ±10.77	240.00 ±7.07	214.98 ±0.03
	DH	0.35 ±0.02	0.27 ± 0.02	0.22 ±0.04	4.98 ±0.01	3.05 ±0.04	2.51 ±0.34	7.38 ±0.07	5.42 ±0.18	4.25 ± 0.35
	F.E.	97.00 ± 2.82	95.00 ±0.00	90.00 ±0.00	570.00 ±0.00	565.00 ±4.24	560.00 ±0.00	580.00 ±7.07	570.00 ±7.07	570.00 ±0.00
10	F.S.	13.69 ±0.21	13.20 ±0.42	12.98 ±0.03	240.00 ±7.07	216.03 ±1.45	160.31 ±0.44	174.89 ±0.15	240.00 ±0.00	197.52 ±3.56
	DH	0.30 ±0.07	0.24 ±0.01	0.22 ±0.02	5.09 ±0.22	4.75 ±0.28	3.36 ±0.01	15.07 ±0.05	12.90 ±0.21	10.99 ±1.43
	F.E.	95.00 ±0.00	95.00 ±0.00	95.00 ±0.00	570.00 ±2.82	570.00 ±0.00	530.00 ±7.07	580.00 ±7.07	580.00 ±7.07	580.00 ±2.82
15	F.S.	12.35 ±0.21	12.00 ±0.00	14.65 ±0.21	240.00 ±2.83	240.00 ±7.07	135.72 ±0.99	31.72 ±4.63	96.19 ±0.44	89.75 ±0.35
	DH	0.34 ±0.00	0.35 ±0.00	0.29 ±0.01	5.57 ±0.05	5.98 ±0.01	3.07 ±0.61	21.59 ±0.06	18.2 ±0.21	19.87 ±0.75
	F.E.	97.00 ±2.82	95.00 ±0.00	93.00 ±2.82	570.00 ±7.07	570.00 ±7.07	565.00 ±0.00	580.00 ±0.00	580.00 ±7.07	580.00 ±0.00
20	F.S.	12.33 ±0.95	11.78 ±0.31	13.45 ±0.07	240.00 ±2.82	240.00 ±2.82	159.74 ±0.37	22.41 ±3.66	26.55 ±2.19	22.34 ±1.23
	DH	0.35 ±0.07	0.32 ±0.04	0.30 ±0.03	5.69 ±0.27	5.99 ±0.48	3.35 ±0.21	22.78 ±1.02	22.59 ±0.13	22.34 ±0.22
	F.E.	95.00 ±0.00	95.00 ±0.00	95.00 ±0.00	570.00 ±7.07	570.00 ±7.07	565.00 ±0.00	580.00 ±7.07	580.00 ±0.00	580.00 ±0.00
25	F.S.	12.78 ±0.31	12.35 ±0.21	13.77 ±0.38	240.00 ±0.00	240.00 ±0.00	211.45 ±5.02	26.55 ±1.48	24.31 ±0.97	24.31 ±0.97
	DH	0.35 ±0.21	0.35 ±0.07	0.31 ±0.03	5.83 ±0.24	5.89 ±0.15	4.15 ±0.49	22.65 ±0.49	22.88 ±0.17	24.31 ±0.15

* F.E. = % foam expansion , F.S. = foam stability (min.) , DH = degree of hydrolysis

เมื่อนำผลการทดลองจากตารางที่ 4.10-4.13 **มาวิเคราะห์ความแปรปรวน ซึ่งแสดงผลดัง**ตารางที่ 4.14-4.17

ตารางที่ 4.14 **การวิเคราะห์ความแปรปรวน** ค่าการ**ขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองที่ได้**จากสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง ที่ย่อยสลายด้วย Alcalase ®เมื่อแปรเวลา **อุณหภูมิ และ pHในการย่อยสลายโปรตีน**

SOV	d.f.	M.S.	
		ค่าการ**ขยายตัวของฟอง**	**ความคงตัวของฟอง**
เวลา (A)	4	6327.74*	6900.68
อุณหภูมิ (B)	2	1903386.88*	204298.38*
pH (C)	2	1949.03	24617.49
AB	8	5279.21	22.62
AC	8	2189.28	869.95
BC	4	1881.79	1354.06
ABC	16	2566.76	847.29
Error	44	2403.53	0.035

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.15 **การวิเคราะห์ความแปรปรวน** ค่าการ**ขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองที่ได้**จากสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง ที่ย่อยสลายด้วย Protin AC 10®เมื่อแปรเวลา **อุณหภูมิ และ pHในการย่อยสลายโปรตีน**

SOV	d.f.	M.S.	
		ค่าการ**ขยายตัวของฟอง**	**ความคงตัวของฟอง**
เวลา (A)	4	350380.28	44951.05*
อุณหภูมิ (B)	2	3329278.61*	133.131.11*
pH (C)	2	346070.28	14087.97*
AB	8	340095.28	5072.31
AC	8	350274.44	1093.71
BC	4	347525.28	1386.19
ABC	16	350663.82	1847.93
Error	44	334347.25	10.37

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)

ตารางที่ 4.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวน ค่าการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองที่ได้จากสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง ที่ย่อยสลายด้วย Papain เมื่อแปรเวลา อุณหภูมิ และ pHในการย่อยสลายโปรตีน

SOV	d.f.	M.S.	
		ค่าการขยายตัวของฟอง	ความคงตัวของฟอง
เวลา (A)	4	16117.78*	188.40
อุณหภูมิ (B)	2	421210.00 *	3493.09*
pH (C)	2	1616.94 *	278.91
AB	8	1023.33	26.38
AC	8	538.61	12.01
BC	4	2578.33 *	59.24
ABC	16	679.03	18.14
Error	44	93.53	0.02

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)

ตารางที่ 4.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวน ค่าการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองที่ได้จากสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง ที่ย่อยสลายด้วย Alcalase® เมื่อแปรเวลา อุณหภูมิ และ pHในการย่อยสลายโปรตีน

SOV	d.f.	M.S.	
		ค่าการขยายตัวของฟอง	ความคงตัวของฟอง
เวลา (A)	4	3499.18	10690.28
อุณหภูมิ (B)	2	219.4872.18*	259939.45*
pH (C)	2	2366.34	25192.56*
AB	8	3473.24	6445.11
AC	8	1619.24	683.40
BC	4	2803.58	10065.04
ABC	16	1649.16	1067.96
Error	44	75.38	0.027

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลพบว่า ปัจจัยร่วมส่วนใหญ่ (AB, AC, BC, และ ABC) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) และการนำปัจจัยหลัก คือเวลา อุณหภูมิ และ pH มาพิจารณาแยกค่าเฉลี่ยทีละปัจจัย เพื่อเลือกปัจจัยหลักที่มีผลกระทบต่อการเกิดฟอง เพื่อสร้างกราฟ 3 มิติ และ 2 มิติ ซึ่งจะช่วยเลือกภาวะการผลิตสารให้ฟองที่ดีที่สุดได้ รายละเอียดดังกล่าวจะได้แสดงถึงต่อไป

จากผลการทดลองที่ได้นำค่า **ร้อยละการขยายตัวของฟอง** (% foam expansion) มาหาความสัมพันธ์ในรูปสมการยกกำลัง 2 ซึ่งมีรูปแบบทั่วไปของสมการคือ

$$Y = B_0 + \Sigma B_1 X_1 + \Sigma B_{i,i+1} X_i X_{i+1} + \Sigma B_{ii} X_i^2$$

ซึ่ง Y คือ ตัวแปรตาม ในที่นี้คือ ค่าเปอร์เซนต์ฟองที่เพิ่มขึ้นจากเดิม

X_i คือ ตัวแปรอิสระ โดยที่

X_1 คือ เวลา

X_2 คือ pH

X_3 คือ อุณหภูมิ ($^{\circ}$C)

และ b_0 , b_i , b_{ii} และ b_{ij} คือ ค่าคงที่สัมประสิทธิ์ จะได้สมการความสัมพันธ์ดังนี้คือ

เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนถั่วเหลือง	ภาวะการย่อยสลาย	สมการความสัมพันธ์ของค่าการขยายตัวของฟอง	ค่า coefficent of determination (R^2)
Alcalase®	pH 6 , 7 , 8 อุณหภูมิ.20 , 40 , 60 $^{\circ}$C เวลา 5 , 10 , 15 , 20 , 25 นาที	$-781.133 + 4.375X_1 - 5.6 X_2 - 52.734 X_3 - 0.233X_1 X_2 + 0.02X_1 X_3 + 0.025X_2 X_3 - 0.075 X_1^2 + 0.9 X_2^2 - 0.52 X_3^2$	0.998
Protin AC 10®	pH 6 , 7 , 8 อุณหภูมิ.20 , 40 , 60 $^{\circ}$C เวลา 5 , 10 , 15 , 20 , 25 นาที	$-700.985 - 0.937 X_1 + 59.091X_2 - 5.044X_3 + 0.178X_1 X_2 + 0.005X_1 X_3 - 0.03X_2 X_3 - 0.009 X_1^2 - 0.565X_2^2 + 0.356X_3^2$	0.999

Papain	pH 6 , 7 , 8 อุณหภูมิ 20 , 40 , 60 °C เวลา 5 , 10 , 15 , 20 , 25 นาที	$-159.055 - 4.633X_1 + 49.5X_2 - 17.104X_3 - 0.733X_1X_2 + 0.175X_1X_3 + 0.512X_2X_3 + 0.167X_1^2 - 4.667X_2^2 - 0.212X_3^2$	0.962
Pepsin	pH 2 , 3 , 4 อุณหภูมิ 20 , 40 , 60 °C เวลา 5 , 10 , 15 , 20 , 25 นาที	$-776.73 + 0.929X_1 + 2.9X_2 + 54.47X_3 + 0.152X_1X_2 + 0.013X_1X_3 - 0.01X_2X_3 - 0.155X_1^2 - 5.933X_2^2 - 0.532X_3^2$	0.982

จากสมการความสัมพันธ์ค่า x_1 = เวลา (นาที)

x_2 = pH

x_3 = อุณหภูมิ (°C)

เนื่องจากข้อมูลที่ได้มีค่าตอบสนองต่อตัวแปรที่ศึกษาที่หลากหลาย จึงเลือกใช้ Response - surface method (Gunst and Hess, 1989) ช่วยในการพิจารณาเลือกภาวะการผลิตที่เหมาะสม ถึงแม้ว่าวิธีนี้ ควรจะเลือกใช้แผนการทดลองดังเช่น Box-Behnken design , Central composite design และ Rotatable design ซึ่งเป็นแบบการทดลองที่ใช้ทำนายผลการทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Gacula and Singh,1984) แต่เนื่องจากการสร้างกราฟ 2 มิติที่เรียกว่า Contour plot ซึ่งใช้ในการอธิบายผลของตัวแปรหรือผลร่วมของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง และอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา สร้างขึ้นจากสมการความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและค่าตอบสนอง และสมการความสัมพันธ์ที่สร้างขึ้นจากการทดลองดังที่แสดงก่อนหน้านี้ ให้ค่า R^2 ค่อนข้างสูง แสดงว่าความถูกต้องแม่นยำในการนำสมการความสัมพันธ์ไปใช้ค่อนข้างมาก กราฟ 2 มิติ ที่ใช้สมการดังกล่าวจึงสามารถแสดงถึงความสัมพันธ์ของตัวแปรและค่าการตอบสนองได้ นอกจากนี้การเลือกใช้วิธี Response surface method ยังมีข้อดีคือ การผลิตสารให้ฟองที่ดีต้องการคุณสมบัติการเกิดฟองสูงและมีความคงตัวอยู่ได้นานประกอบกัน การใช้เทคนิคการซ้อนภาพ 2 มิติ ของค่าร้อยละการเกิดฟอง และกราฟ 2 มิติ ของความคงตัวของฟอง จะช่วยในการพิจารณาเลือกภาวะการผลิตได้อย่างสะดวก และแม่นยำ (Mason , Gunst and Hess , 1989) การนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ (Surface plot) และ 2 มิติ ในขั้นตอนต่อไป ต้องมีการกำหนดตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งใน 3 ตัวคือ อุณหภูมิ เวลา และ pH ให้คงที่ ซึ่งจะพิจารณาจากผลของ อุณหภูมิ เวลา และ pH ที่มีต่อการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองทีละปัจจัย เพื่อเปรียบเทียบว่าตัวแปรใดที่ส่งผลกระทบต่อ ค่าการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองในช่วงที่ศึกษาน้อยที่

สุด ซึ่งจะเลือกใช้ตัวแปรนั้นคงที่ไว้ สามารถเลือกตัวแปรที่เหลืออีก 2 ปัจจัยมาสร้างกราฟ 2 มิติ ได้ ดังนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้จากเอนไซม์ทั้ง 4 จากตาราง 4.10 - 4.13 แยกดูผลของตัวแปรแต่ละตัว โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงในตารางที่ 4.18 เมื่อย่อยถั่วเหลืองด้วย Alcalase® ตารางที่ 4.19 เมื่อย่อยถั่วเหลืองด้วย Protin AC 10® ตารางที่ 4.20 เมื่อย่อยถั่วเหลืองด้วย Papain และ ตารางที่ 4.21 เมื่อย่อยถั่วเหลืองด้วย Pepsin

ตารางที่ 4.18 ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟองและค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟองที่เพิ่มขึ้นของโปรตีน ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase® ที่เวลา อุณหภูมิ และ pH ต่างๆ

เวลา (นาที)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
5	384.33^{c}	130.492^{a}
10	398.88^{b}	146.674^{a}
15	405.00^{ab}	110.94^{a}
20	409.44^{a}	101.496^{a}
25	411.66^{a}	102.701^{a}
อุณหภูมิ (°C)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
20	100.93^{c}	41.641^{c}
40	540.66^{b}	205.697^{a}
60	564.00^{a}	108.044^{b}
pH	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
6	397.66^{b}	117.475^{a}
7	401.26^{ab}	119.105^{a}
8	406.66^{a}	118.802^{a}

a , b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.19ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟองและค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟองที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Protin AC 10® ที่เวลา อุณหภูมิ และ pH ต่างๆ

เวลา (นาที)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
5	502.22 [c]	134.23 [b]
10	501.66 [c]	123.62 [b]
15	508.88 [b]	105.67 [a]
20	512.77 [ab]	53.32 [a]
25	515.55 [a]	16.74 [a]
อุณหภูมิ (°C)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
20	200.00 [c]	13.15 [c]
40	659.00 [b]	142.95 [a]
60	665.66 [a]	104.04 [b]
pH	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
6	506.66 [a]	96.92 [a]
7	509.00 [a]	91.15 [a]
8	509.00 [a]	72.08 [a]

a , b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.20 **ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟองและค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟองที่เพิ่มขึ้น** ของโปรตีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Papain ที่เวลา อุณหภูมิ และ pH ต่างๆ

เวลา (นาที)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
5	373.33^{e}	22.72^{b}
10	387.22^{d}	26.80^{a}
15	396.66^{c}	27.65^{a}
20	410.00^{b}	21.48^{bc}
25	451.11^{a}	20.49^{c}
อุณหภูมิ ($^{\circ}$C)	**ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง**	**ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง**
20	270.00^{c}	11.39^{b}
40	449.00^{b}	30.56^{a}
60	492.00^{a}	29.54^{a}
pH	**ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง**	**ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง**
6	398.33^{a}	24.04^{a}
7	408.00^{a}	24.64^{a}
8	404.66^{a}	22.81^{a}

a , b, c , d **ตัวเลข**ที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.21 ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟองและค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟองที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Pepsin ที่เวลา อุณหภูมิ และ pH ต่างๆ

เวลา (นาที)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
5	381.66^{c}	122.95^{b}
10	410.77^{b}	140.95^{a}
15	410.55^{b}	96.93^{c}
20	414.44^{a}	83.37^{e}
25	414.44^{a}	89.46^{d}
อุณหภูมิ ($^{\circ}$C)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
20	94.46^{c}	12.85^{c}
40	548.33^{b}	548.33^{a}
60	576.33^{a}	576.33^{b}
pH	ค่าเฉลี่ยร้อยละการขยายตัวของฟอง	ค่าเฉลี่ยความคงตัวของฟอง
2	414.6^{a}	114.12^{a}
3	410.33^{a}	116.24^{a}
4	394.2^{a}	89.84^{a}

a , b, c , ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.18 , 4.19 , 4.20 และ 4.21 พบว่าผลของ pH ทั้ง 3 ระดับต่อค่าการขยายตัวของฟองคิดเป็นร้อยละ และความคงตัวของฟอง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์สามารถทำงานได้ใน pH ช่วงกว้าง แต่สำหรับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายมีผลต่อการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง โดยผลิตภัณฑ์มีค่าการขยายตัวของฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเวลาและอุณหภูมิการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ส่วนความคงตัวของฟองในผลิตภัณฑ์นั้นมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเวลาและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นดังนั้นภาวะที่เอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด สามารถตัดสายโปรตีนอย่างจำกัดและอย่างจำเพาะ เกิดเป็นสารให้ฟองที่มีปริมาตร และความคงตัวสูงสุดขึ้นกับปัจจัยของเวลาร่วม กับอุณหภูมิ จึงเลือกใช้ pH ที่ระดับคงที่เพื่อเลือกหาเวลา และอุณหภูมิที่เหมาะสมจาก Contour Plot ดังนี้ Alcalase® ที่ pH 8 , Protin AC 10® ที่ pH 6 , Papain ที่ pH 6 และ Pepsin ที่ pH 2

นำปัจจัยของเวลาการย่อย และอุณหภูมิการย่อยที่มีต่อค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟอง ที่ pH ดังกล่าวไปสร้างกราฟ 3 มิติ และ 2 มิติโดยสร้างสมการความสัมพันธ์ขึ้นใหม่ซึ่งเป็นสมการที่ใช้ข้อมูลของค่าตอบสนองหรือในที่นี้คือ ค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และความคงตัวของฟอง ต่ออุณหภูมิ และเวลา จากตารางที่ 4.10 - 4.13 เฉพาะที่ pH ซึ่งได้เลือกให้คงที่ไว้จากตารางที่ 4.10 - 4.13 จะได้สมการความสัมพันธ์ดังนี้

เอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลือง	ภาวะการย่อยสลาย	สมบัติโปรตีนที่ย่อยสลาย	สมการความสัมพันธ์ภายใต้ภาวะการย่อยสลาย	ค่า coefficient of determination (R^2)
Alcalase®	ความเข้มข้น 0.285% pH 8 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ร้อยละการขยายตัวของฟอง	$-784.5+54.48 X_1+ 0.7 X_2-0.54 X_1^2 + 0.01X_1 X_2 + 0.00 X_2^2$	0.99
Alcalase®	ความเข้มข้น 0.285% pH 8 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ความคงตัวของฟอง (นาที)	$-528.23+35.04 X_1 + 3.07X_2 - 0.26 X_1 X_2 - 0.37 X_1^2 + 0.18X_2^2$	0.99
Protin AC 10®	ความเข้มข้น 0.014% pH 6 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ร้อยละการขยายตัวของฟอง	$-713.66 +56.9 X_1 - 0.96 X_2- 0.56 X_1^2 +0.05X_2^2$	0.99
Protin AC 10®	ความเข้มข้น 0.014% pH 6 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ความคงตัวของฟอง (นาที)	$-441.44 +25.81X_1 + 13.28X_2-0.25 X_1 X_2 - 0.24 X_1^2 - 0.32X_2^2$	0.88
Papain	ความเข้มข้น 1.25% pH 6 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ร้อยละการขยายตัวของฟอง	$312.66 +5.72 X_1 - 13.03X_2+0.15X_1 X_2 - 0.05X_1^2+0.37 X_2^2$	0.94
Papain	ความเข้มข้น 1.25% pH 6 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ความคงตัวของฟอง (นาที)	$-41.83 + 2.40 X_1 + 2.28 X_2 -0.01 X_1 X_2 +0.02 X_1^2 -0.06X_2^2$	0.89
Pepsin	ความเข้มข้น 0.25% pH 6 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ร้อยละการขยายตัวของฟอง	$- 844.6 + 58.52 X_1+ 0.42X_2 + 0.01X_1 X_2 - 0.58 X_1^2 - 0.02X_2^2$	0.99
Pepsin	ความเข้มข้น 0.25% pH 6 T. 20 , 40 , 60 °C เวลาย่อย 5 , 10 , 5 20 , 25 นาที	ความคงตัวของฟอง (นาที)	$-659 +43.31X_1 + 1.36X_2 - 0.24 X_1 X_2 - 0.47X_1^2 +0.17X_2^2$	0.94

จากสมการความสัมพันธ์ดังกล่าวค่าของ X_1 คือ อุณหภูมิในการย่อยสลาย (°C)

X_2 คือ เวลาในการย่อยสลาย (นาที)

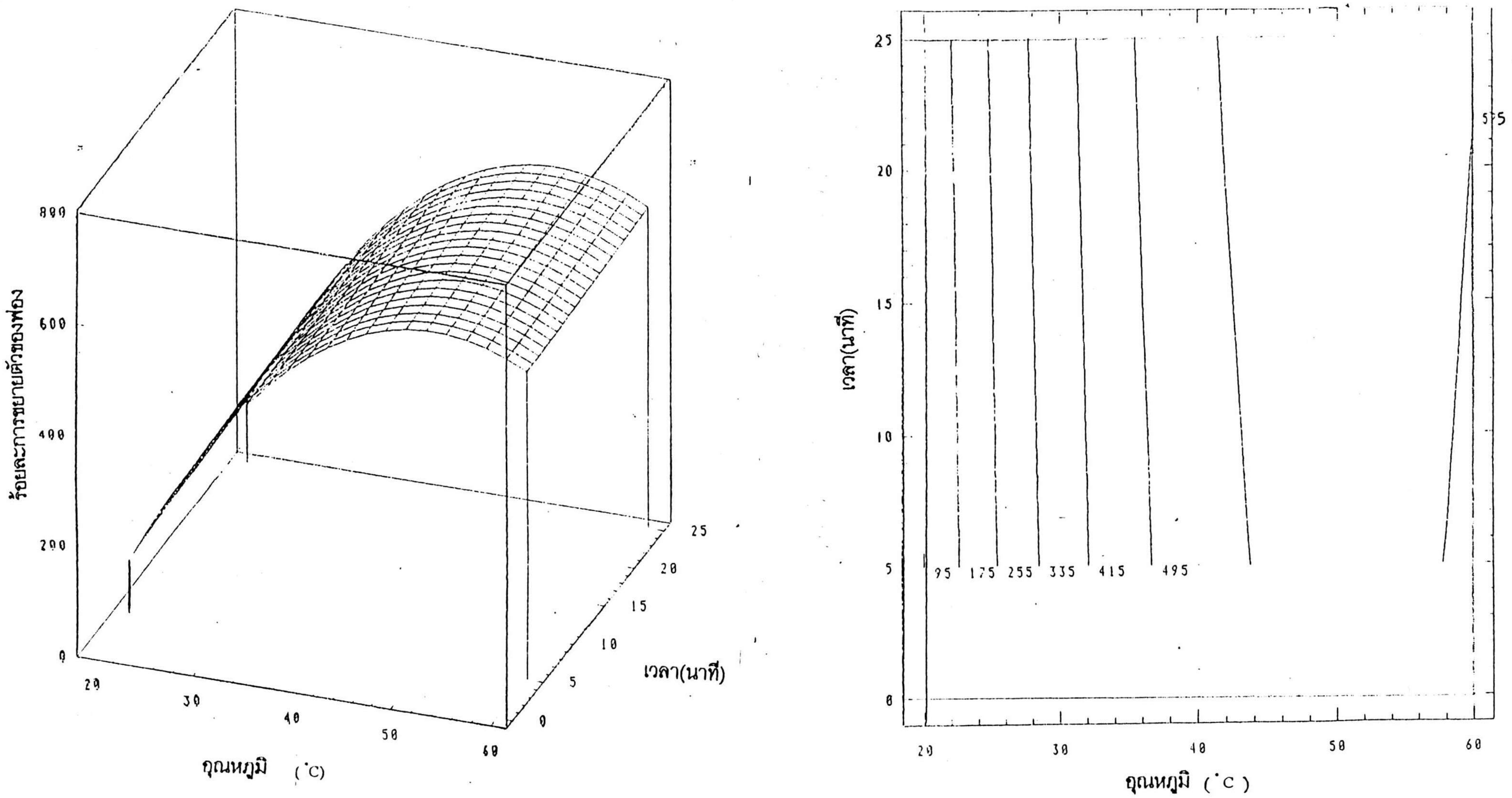
เมื่อนำสมการไปสร้างกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ และ 2 มิติ ระหว่างค่าการขยายตัวของฟองเป็นร้อยละกับค่าอุณหภูมิ และเวลาการย่อยโปรตีน และระหว่างค่าความคงตัวของฟองค่าอุณหภูมิและเวลาการย่อยโปรตีน

พบว่า ผลการย่อยด้วย Alcalase ® ค่าการขยายตัวของฟองเป็นร้อยละ ได้กราฟ 3 มิติ และ 2 มิติ ดังรูปที่ 4.5 ค่าความคงตัวของฟอง ได้กราฟ2 มิติ ดังรูปที่ 4.6

ผลการย่อยด้วย Protin AC 10® ค่า การขยายตัวของฟองเป็นร้อยละ ได้กราฟ3 มิติ และ 2 มิติ ดังรูปที่ 4.7 ค่าความคงตัวของฟอง ได้กราฟ2 มิติ ดังรูปที่ 4.8

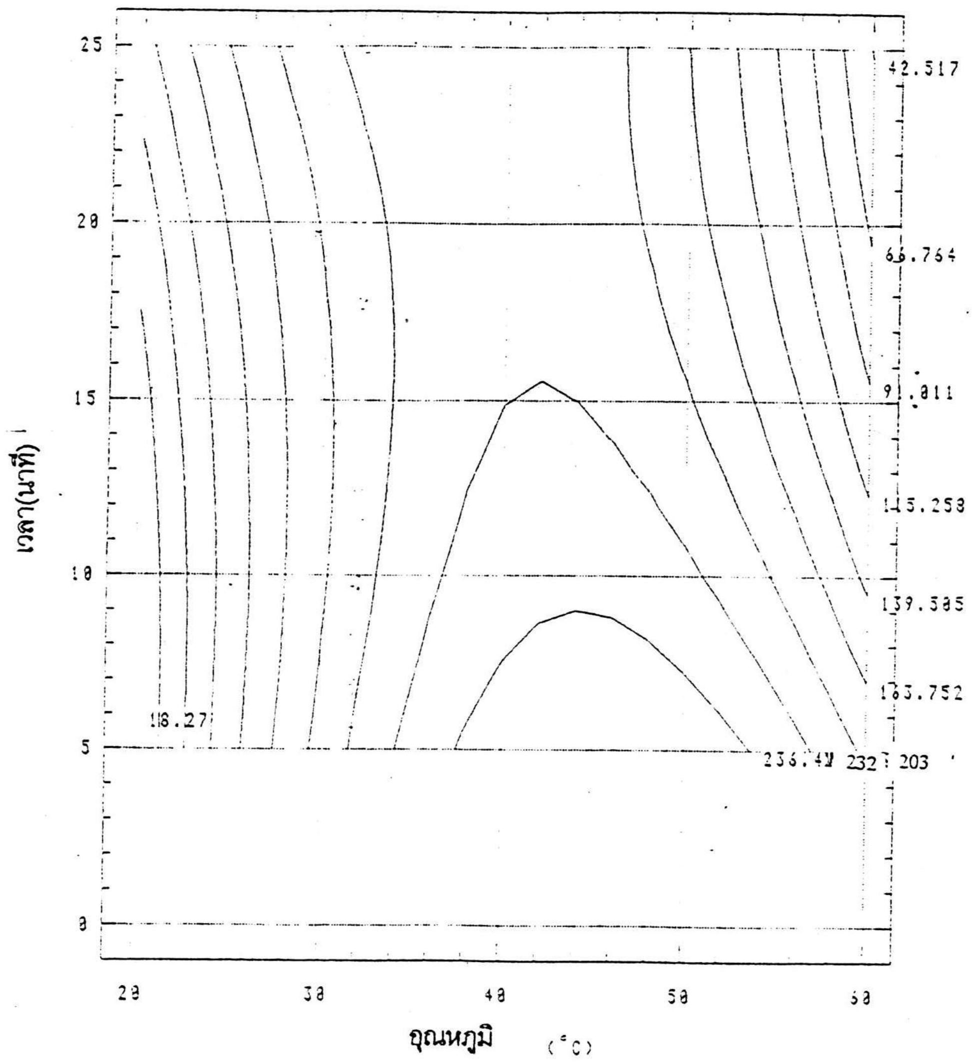
ผลการย่อยด้วย Papain ค่า การขยายตัวของฟองเป็นร้อยละ ได้กราฟ3 มิติและ 2 มิติ ดังรูปที่ 4.9 ค่า ความคงตัวของฟอง ได้กราฟ2 มิติ ดังรูปที่ 4.10

ผลการย่อยด้วย Pepsin ค่า การขยายตัวของฟองเป็นร้อยละ ได้กราฟ3 มิติและ 2 มิติ ดังรูปที่ 4.11 ค่าความคงตัวของฟอง ได้กราฟ2 มิติ ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.5 รูปสามมิติและสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการขยายตัวของฟองกับอุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Alcalase® 0.285 % โดยปริมาตร (มล.) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง (กรัม) ที่ pH 8 ซึ่งสร้างจากสมการ $-784.5 + 54.48 X_1 + 0.7 X_2 - 0.54 X_1^2 + 0.01 X_1 X_2 + 0.00 X_2^2$

เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)



รูปที่ 4.6 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคงตัวของฟอง (นาที) กับอุณหภูมิ และเวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Alcalase ® 0.285 % โดยปริมาตร (มล.) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง (กรัม) ที่ pH 8 ซึ่งสร้างจากสมการ $-528.23 + 35.04 X_1 + 3.07X_2 - 0.26 X_1 X_2 - 0.37 X_1^2 + 0.18X_2^2$ เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)

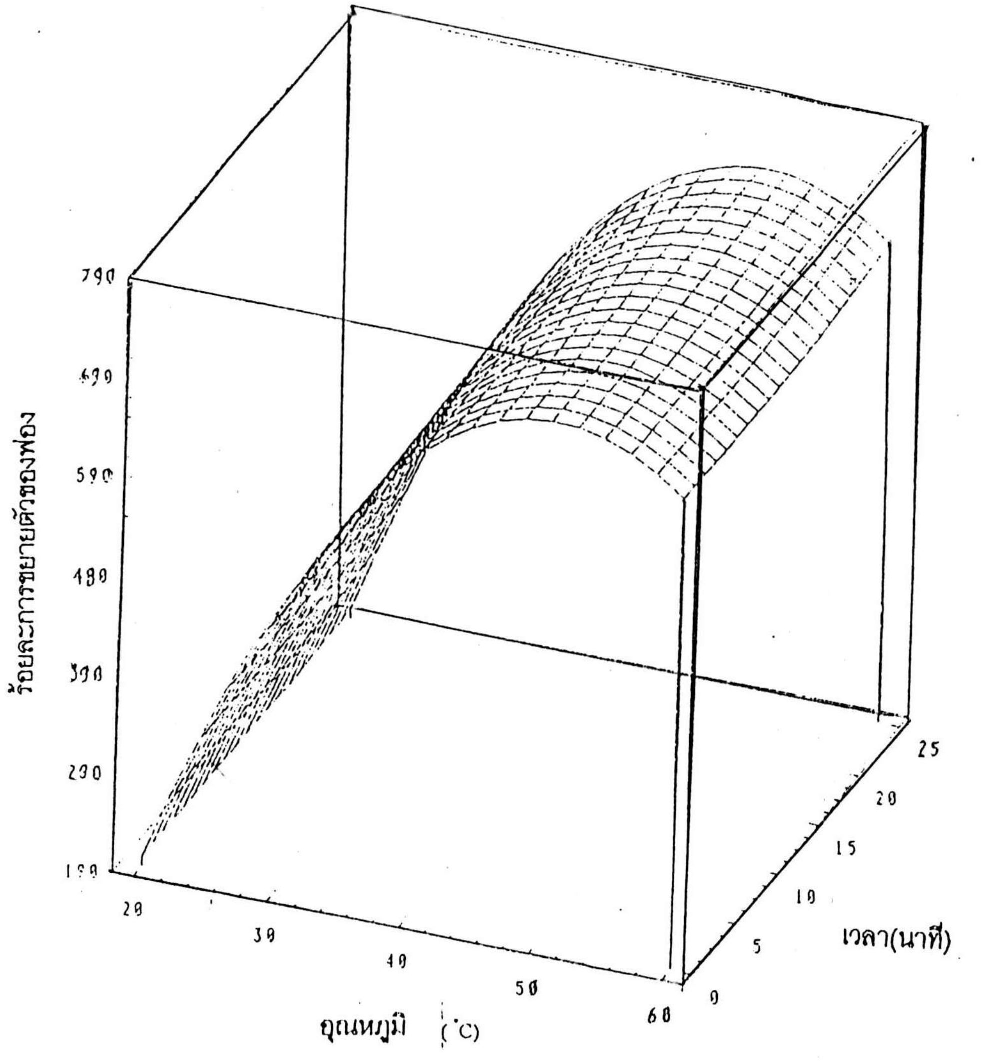
จากกราฟ 3 มิติรูปที่ 4.5 ซึ่งแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองของโปรตีนถั่วเหลือง กับอุณหภูมิ และ เวลาการย่อยสลายด้วย Alcalase ® การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการขยายตัวของฟองกล่าวคือเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิการย่อยคงที่ การเพิ่มอุณหภูมิการย่อยจะทำให้ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองเพิ่มขึ้นซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนในช่วงอุณหภูมิ 20° C - 40 ° C กราฟจะชันขึ้นอย่างมากแสดงว่า ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอีกค่าร้อยละการขยายตัวของฟองจะค่อนข้างคงที่ตั้งแต่อุณหภูมิ 40 °C ถึงช่วงปลายของอุณหภูมิ 50°C จนกระทั่งอุณหภูมิใกล้ 60 °C มีผลให้ ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองลดลงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาผลจาก เวลาการย่อยสลายเห็นว่าไม่มีผลต่อค่าร้อยละการขยายตัวของฟองโดยที่ทุกๆอุณหภูมิการย่อยสลายเมื่อเปลี่ยนแปลงเวลาการย่อยสลาย จะเห็นจากกราฟถึงความสัมพันธ์ที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลง ความสัมพันธ์นี้จะเห็นชัดเจนเมื่อพิจารณาจาก2 มิติ ในรูปที่ 4.5 เช่นกัน ที่ชี้ให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของค่าร้อยละการขยายตัวของฟองเมื่อมีการแปรค่าปัจจัยทั้งสองในช่วงต่างๆ ซึ่งจะเห็นว่าที่เวลาการย่อยสลายคงที่ การเพิ่มอุณหภูมิจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองซึ่งจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนกระทั่งอุณหภูมิ 40 °c จะเห็นเส้นความถี่ของค่าร้อยละการขยายตัวของฟองมีค่าเท่ากับ 570 เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 59°C - 60 °C จะเห็นว่าค่าร้อยละการขยายตัวของฟองเท่าเดิม แสดงว่าเส้นความถี่โค้งกลับมา ดังนั้นที่ช่วงอุณหภูมิ 40°C - 60 °C ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองจะคงที่อยู่ที่ 570 การที่โปรตีนจากกากถั่วเหลืองสามารถเกิดฟองที่ขยายตัวได้เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากเอนไซม์ตัดสายพันธะของโปรตีนถั่วเหลืองเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งมีโมเลกุลเป็นทรงกลมแข็งตัวให้ยืดหยุ่นขึ้นสามารถจัดเรียงตัวเป็นสายของกรดอะมิโนที่ขึ้นระหว่างชั้นผิว และหันเหเอาหมู่อะมิโนมีขั้ว (hydrophillic) เข้าสู่ชั้นน้ำและหันเหเอาหมู่อะมิโนไม่มีขั้ว(hydrophobic) เข้าสู่ชั้นอากาศได้ดีขึ้น เกิดเป็นฟิล์มโปรตีนที่จำเป็นต่อการกักเก็บไว้ในรูปฟองอากาศ (Damadaran, 1996) และการเพิ่มเวลาการย่อยสลายไม่มีผลต่อค่าค่าร้อยละการขยายตัวของฟองเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิคงที่ใดๆ ซึ่งจะพบว่าเส้นค่าการขยายตัวของฟอง ซึ่งเป็นแกนตั้งขนานกับเวลาไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆเมื่อเพิ่มเวลาการย่อยสลาย ดังที่ได้กล่าวมาก่อนนี้เมื่อพิจารณาจากกราฟ 3 มิติ แต่จะเห็นได้ชัดเจนกว่าในกราฟ 2 มิติ

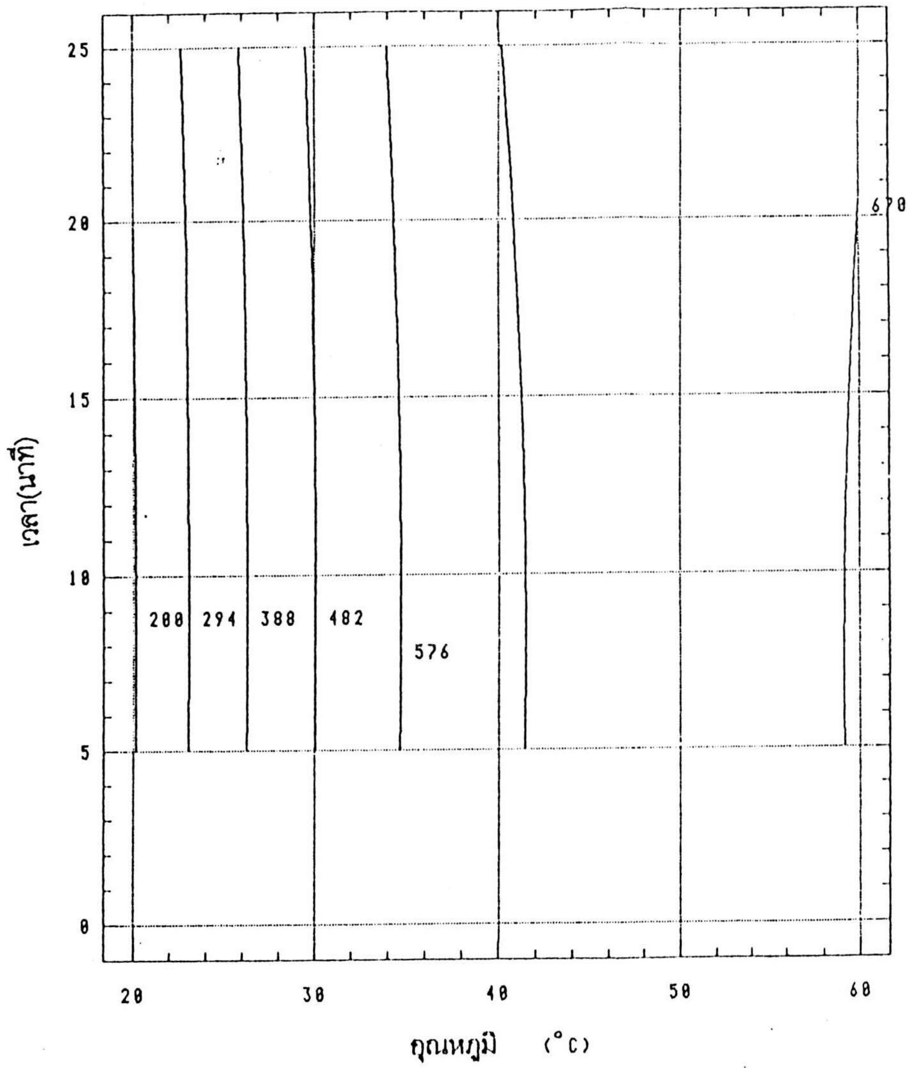
ส่วนกราฟ 2 มิติ ที่แสดงความสัมพันธ์ของความคงตัวของฟอง ดังแสดงในรูปที่ 4.6 คือการเพิ่มอุณหภูมิที่ช่วงเวลาการย่อยสลายคงที่ต่างๆกัน ค่าความคงตัวของฟองจะเพิ่มขึ้น จนถึงช่วงอุณหภูมิประมาณ 40 °C จะมีค่าสูงสุด และเริ่มลดลงอีกครั้งเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอีก ขณะเดียวกันเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิการย่อยสลายคงที่ การเพิ่มค่าเวลาการย่อยมากขึ้นมีผลให้ค่า

ความคงตัวของฟองลดลง ซึ่งเมื่อเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนมากขึ้น เกิดการตัดสายพันธะเปปไทด์มากเกินไป สายโปรตีนจะสั้นเกินโปรตีนมีความยืดหยุ่นลดลง และไม่แข็งแรงพอที่จะคงตัวอยู่ที่ชั้นระหว่างอากาศ - น้ำ ฟิลม์โปรตีนเกิดลดลง (Richardson, 1977; Kuehler and Stine, 1974) ดังนั้นจึงเลือกช่วงภาวะที่เกิดสารให้ฟองที่ดี จากกราฟ 2 มิติ ของทั้ง ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองเมื่อย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองด้วย Alcalase® ได้

โดยจากรูปที่ 4.5 พบว่าระดับเวลาและอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้เกิดฟองเพิ่มขึ้นสูงสุดคืออยู่ที่ 575 % อุณหภูมิ 44 °C - 59 °C ในเวลาการย่อย 5 - 25 นาที จากรูปที่4.6 พบว่า ช่วงเวลา และอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้ฟองคงตัวสูง คือ 232 -236 นาที อยู่ที่ อุณหภูมิ 34 °C - 57 °C เวลาการย่อย 5 - 15 นาที เมื่อทำการผลิตที่อุณหภูมิ 34 °C - 57° C เวลาตั้งแต่ 5 - 15 นาที ฟองสามารถคงตัวอยู่ได้ระหว่างเวลา 232 - 236 นาที ยกเว้นช่วงการผลิตที่อุณหภูมิตั้งแต่ 38°C - 54 °C ที่เวลา 5-8 นาทีซึ่งภาวะการผลิตดังกล่าวจะให้ค่าความคงตัวของฟองที่ 236 นาที เมื่อพิจารณากราฟ 2 มิติ ทั้ง 2 พร้อมกันสามารถเลือกภาวะที่ให้ทั้งกำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองสูงสุดที่ระดับเวลาการย่อย 5 - 15 นาที อุณหภูมิ 44°C - 57 °C ซึ่งให้กำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้น 575 % มีความคงตัว 232 -236 นาที

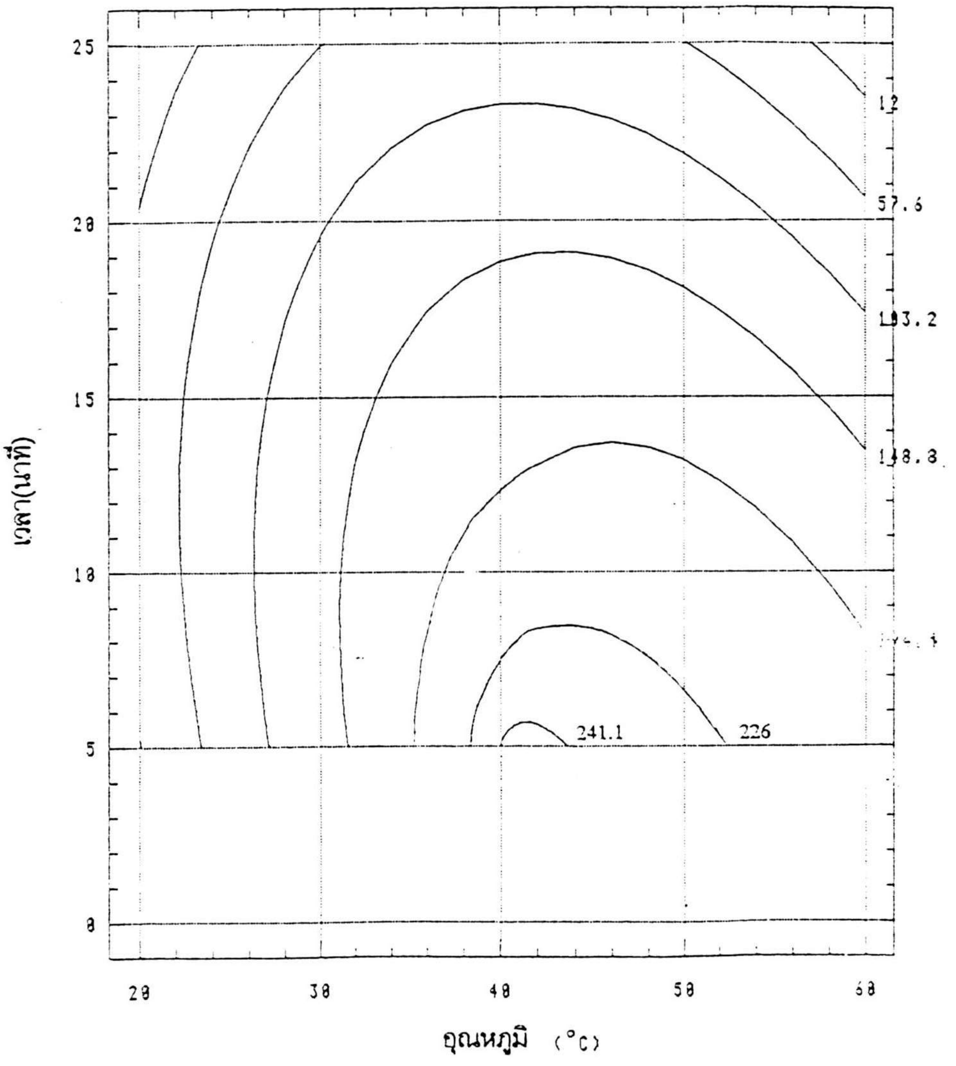
รูปที่ 4.6 รูปสามมิติและสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการขยายตัวของฟอง กับ อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Protin AC 10 ® 0.014 %โดยน้ำหนัก (กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง (กรัม) ที่ pH 6 ซึ่งสร้างจากสมการ $-713.66 + 56.9X_1 - 0.96X_2 - 0.56X_1^2 + 0.05X_2^2$ เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ ($^{\circ}C$) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)





รูปที่ 4.7 รูปสามมิติและสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการขยายตัวของฟองกับ อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Protin AC 10 ® 0.014% โดยน้ำหนัก (กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง (กรัม) ที่ pH 6 ซึ่งสร้างจากสมการ $- 713.66 + 56.9 X_1 - 0.96 X_2 - 0.56 X_1^2 + 0.05 X_2^2$

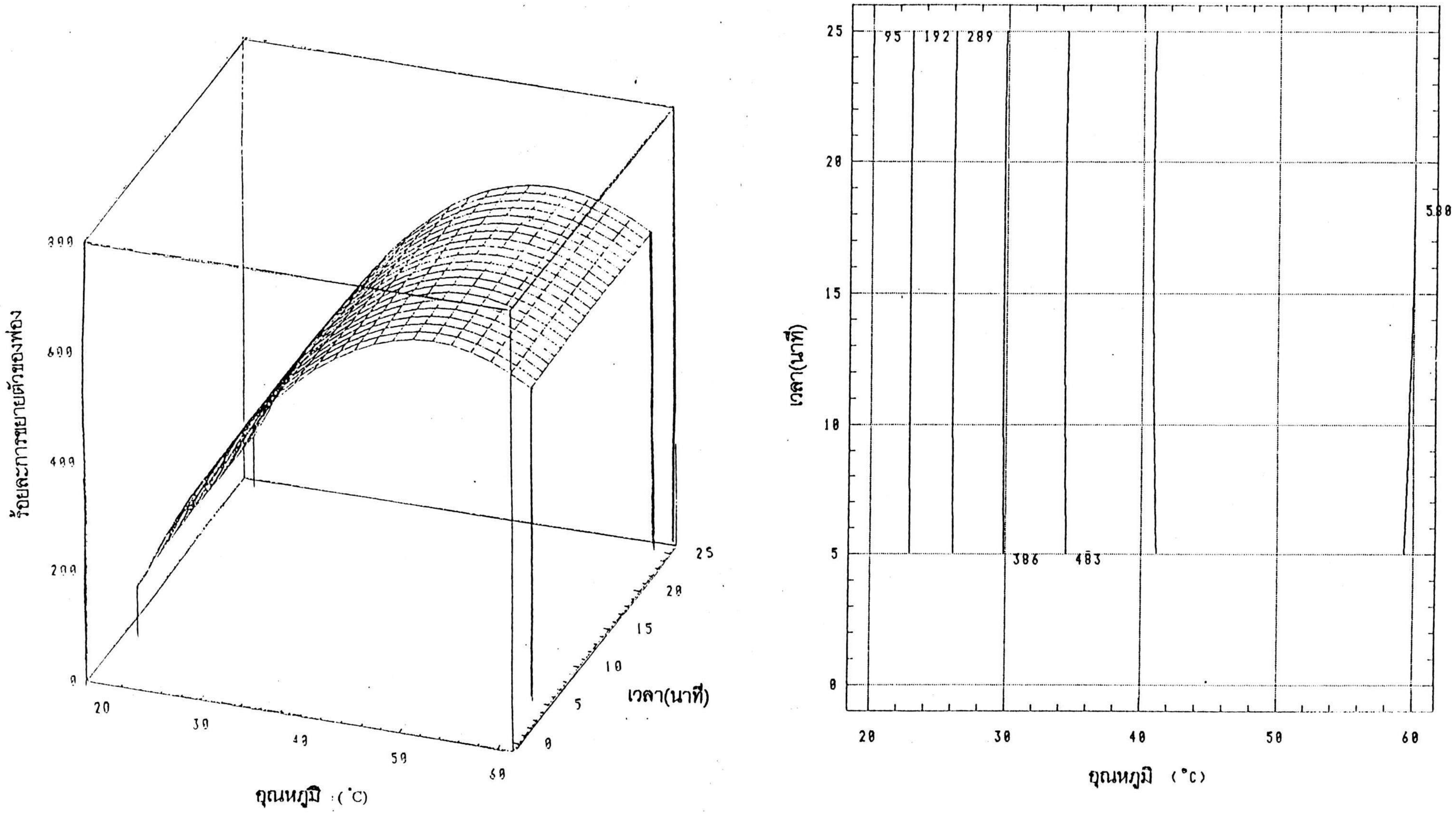
เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)



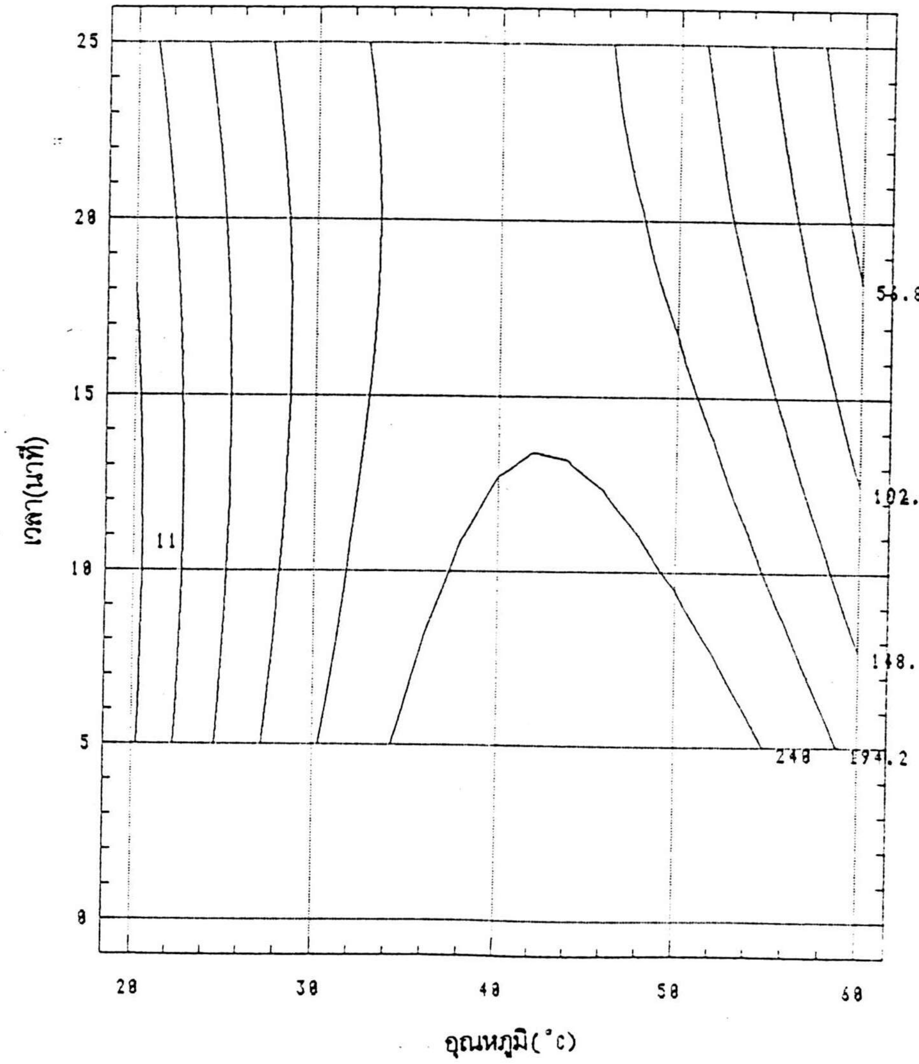
รูปที่ 4.8 **รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความคงตัวของฟอง(นาที) อุณหภูมิ และ เวลา** การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Protin AC 10 ® 0.014% โดยน้ำหนัก(กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง ที่ pH 6 ซึ่งสร้างจากสมการ $-441.44 + 25.81X_1 + 13.28X_2 - 0.25X_1X_2 - 0.24X_1^2 - 0.32X_2^2$ เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการขยายตัวของฟองของโปรตีนถั่วเหลือง กับ อุณหภูมิและเวลาการย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® จากกราฟ 3 มิติ และกราฟ 2 มิติ ที่แสดงในรูป 4.7 อธิบายด้วยหลักการที่เหมือนการพิจารณาความสัมพันธ์เมื่อใช้ Alcalase ® ส่วนความสัมพันธ์ของค่าความคงตัวของฟองของโปรตีนถั่วเหลืองกับอุณหภูมิและเวลาการย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® จากกราฟ 2 มิติ ที่แสดงในรูป 4.8 อธิบายด้วยหลักการที่เหมือนการพิจารณาความสัมพันธ์ เมื่อใช้ Alcalase ® ได้เช่นกัน ดังนั้นจึงเลือกช่วงภาวะที่เกิดสารให้ฟองที่ดีจากกราฟ 2 มิติของทั้งค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟอง เมื่อย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองด้วย Protin AC 10 ® ได้

โดยจากรูปที่ 4.7 พบว่าระดับเวลาและอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้เกิดฟองเพิ่มขึ้นสูงสุดคืออยู่ที่ 670 % อุณหภูมิ 41 °C - 59 °C ในเวลาการย่อย 5 - 25 นาที และจากรูปที่ 4.8 พบว่าระดับเวลา และอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้ฟองคงตัวสูงสุด คือ 240 นาที อยู่ที่อุณหภูมิ 42 °C - 44 °C เวลาการย่อย 5 นาที เมื่อพิจารณากราฟ2 มิติ ทั้ง 2 พร้อมกันสามารถเลือกภาวะที่ให้ทั้งกำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองสูงสุดที่ระดับเวลาการย่อย 5 นาที อุณหภูมิ 42 °C - 44 °C ซึ่งให้กำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้น 670% มีความคงตัว 240 นาที



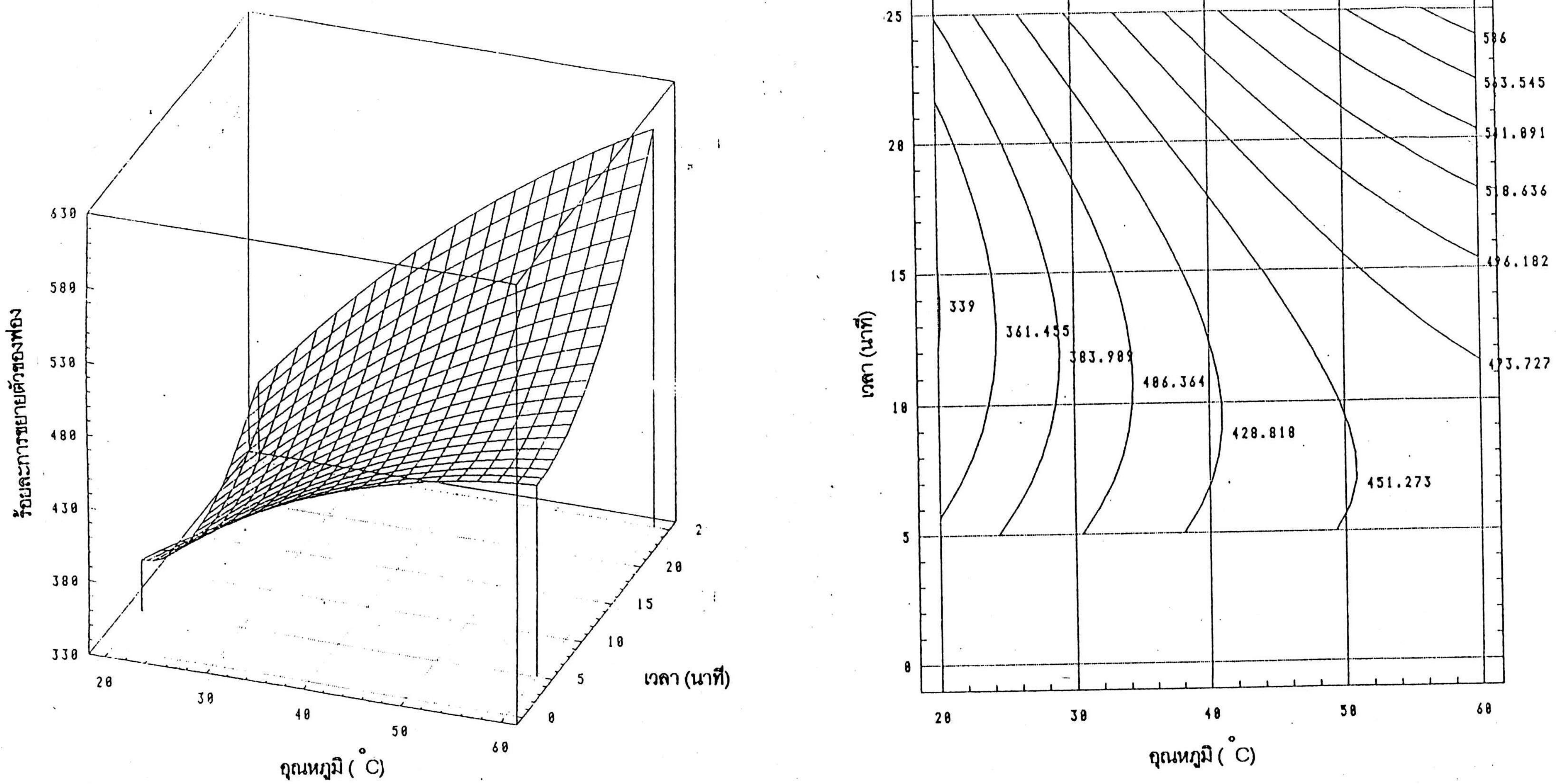
รูปที่ 4.9 รูปสามมิติและสองมิติ แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละการขยายตัวของฟองกับ อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Pepsin 0.25 % โดยน้ำหนัก (กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง(กรัม) ที่ pH 2 ซึ่งสร้างมาจากสมการ- 844.6 + 58.52 X_1 + 0.42X_2 + 0.01$X_1 X_2$ - 0.58 X_1^2 - 0.02X_2^2 เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ ($^{\circ}$C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)



รูปที่ 4.10 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคงตัวของฟองกับ อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Pepsin 0.25 % โดยน้ำหนัก (กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง(กรัม) ที่ pH 2 ซึ่งสร้างมาจากสมการ $-659 + 43.31X_1 + 1.36X_2 - 0.24X_1X_2 - 0.47X_1^2 + 0.17X_2^2$ เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)

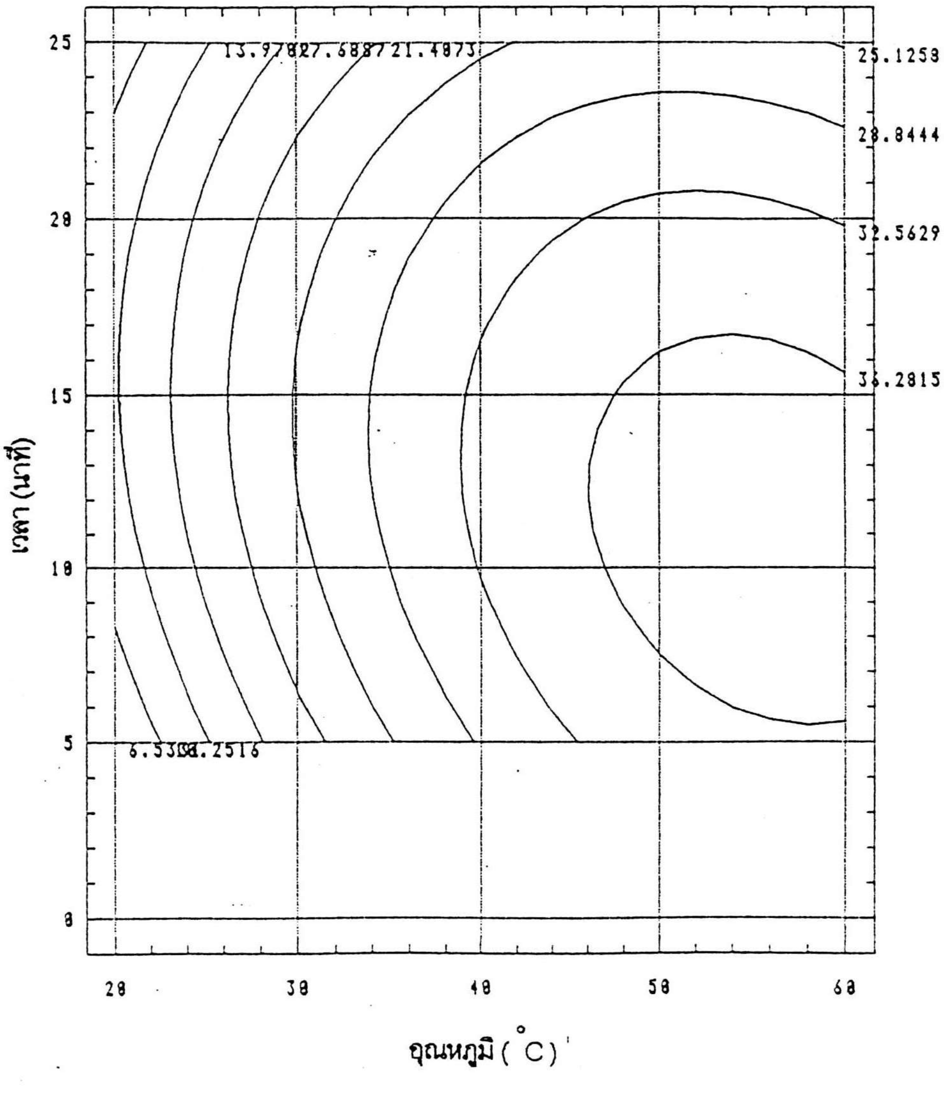
ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการขยายตัวของฟองของโปรตีนถั่วเหลือง กับ อุณหภูมิและเวลาการย่อยสลายด้วย Pepsin จากกราฟ 3 มิติ และกราฟ 2 มิติ ที่แสดงในรูป 4.9 อธิบายด้วยหลักการที่เหมือนการพิจารณาความสัมพันธ์เมื่อใช้ Alcalase ® ส่วนความสัมพันธ์ของค่าความคงตัวของฟองของโปรตีนถั่วเหลืองกับอุณหภูมิและเวลาการย่อยสลายด้วย Pepsin จากกราฟ 2 มิติ ที่แสดงในรูป 4.10 อธิบายด้วยหลักการที่เหมือนการพิจารณาความสัมพันธ์ เมื่อใช้ Alcalase ® ได้เช่นกัน ดังนั้นจึงเลือกช่วงภาวะที่เกิดสารให้ฟองที่ดีจากกราฟ 2 มิติของทั้งค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟอง เมื่อย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองด้วย Pepsinได้

โดย จากรูปที่ 4.9 พบว่าระดับเวลาและอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้เกิดฟองเพิ่มขึ้นสูงสุดคือ 580 % อยู่ที่อุณหภูมิ 41°C - 59 °C ในเวลาการย่อย 5 - 25 นาที และจากรูปที่ 4.10 พบว่าระดับเวลา และอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้ฟองคงตัวสูงสุดคือ 240 นาที อยู่ที่อุณหภูมิ 34 °C เวลาการย่อย 5 นาที , อุณหภูมิ 42 °C เวลาการย่อย 13 นาที , อุณหภูมิ 50 °C เวลาการย่อย 10 นาที และ อุณหภูมิ 54 °C เวลาการย่อย 5 นาที **เมื่อพิจารณากราฟ 2 มิติทั้ง 2 พร้อมกันสามารถเลือกภาวะที่ให้ทั้งกำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองสูงที่ระดับอุณหภูมิ 42 °C เวลาการย่อย 5 นาที , อุณหภูมิ 42 °C เวลาการย่อย 13 นาที , อุณหภูมิ 50 °C เวลาการย่อย 10 นาที และ อุณหภูมิ 54 °C เวลาการย่อย 5 นาที ซึ่งให้กำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้น 580% มีความคงตัว 240 นาที**



รูปที่ 4.11 รูปสามมิติ และสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการขยายตัวของฟองกับ อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Papain 1.25 % โดยน้ำหนัก (กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง(กรัม) ที่ pH 6 ซึ่งสร้างมาจากสมการ $312.66 + 5.72 X_1 - 13.03X_2+0.15X_1 X_2 - 0.05X_1^2+0.37 X_2^2$

เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)



รูปที่ 4.12 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความคงตัวของฟองกับ อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Papain 1.25 % โดยน้ำหนัก (กรัม) ต่อน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลือง(กรัม) ที่ pH 6 ซึ่งสร้างมาจากสมการ $-41.83 + 2.40 X_1 + 2.28 X_2 - 0.01 X_1 X_2 + 0.02 X_1^2 - 0.06 X_2^2$ เมื่อ X_1 คืออุณหภูมิ (°C) X_2 คือเวลาการย่อยสลาย (นาที)

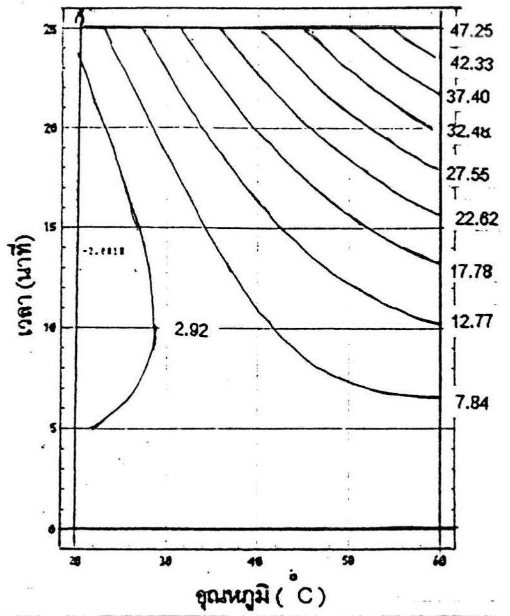
ผลของการย่อยสลายด้วย papain จากกราฟ 3 มิติรูปที่ 4.11 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิ และ/หรือ การเพิ่มเวลาจะทำให้ค่า การขยายตัวของฟองสูงขึ้น ในทุกๆอุณหภูมิที่ทำการทดลองค่าการขยายตัวของฟองจะเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาการย่อยโปรตีนสูงขึ้น และที่เวลาคงที่ใดๆการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองเพิ่มขึ้นเช่นกัน ความสัมพันธ์นี้จะเห็นชัดเจนเมื่อพิจารณาจากกราฟ 2 มิติ การเปลี่ยนแปลงความถี่ของเส้น ร้อยละการขยายตัวของฟองเมื่อมีการแปรอุณหภูมิและเวลาในช่วงต่างๆชี้ให้เห็นถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่า ร้อยละการขยายตัวของฟองที่เพิ่มขึ้น ส่วนความสัมพันธ์ของค่าความคงตัวของฟองกับอุณหภูมิและเวลาการย่อยโปรตีนแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.12 พบว่า ความคงตัวของฟองมีผลกระทบเนื่องจากเวลาการย่อยมากกว่าอุณหภูมิการย่อย เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเมื่อเวลาคงที่ใดๆ จะทำให้ค่าความคงตัวของฟองสูงขึ้นตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาผลของเวลาการย่อยมีผลให้ค่าความคงตัวของฟองค่อยๆเพิ่มขึ้นและกลับลดลงเมื่อเวลาการย่อยสูงขึ้น ในช่วงอุณหภูมิ 20° C - 40° C อาจเห็นไม่ชัดเจนเท่าอุณหภูมิในช่วง 40° C - 60° C ตัวอย่างเช่น เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิคงที่ที่ 60° C ที่เวลาการย่อยที่ 5 นาที ความคงตัวของฟองมีค่าประมาณ 35 นาที เมื่อเพิ่มเวลาการย่อยขึ้นเรื่อยๆที่ช่วงเวลาประมาณ 6 - 16 นาที ค่าความคงตัวของฟองจะสูงที่สุดคือ 36 นาที และเมื่อเพิ่มเวลาการย่อยขึ้นตั้งแต่ 16 -25 นาที พบว่าค่าความคงตัวของฟองลดลงตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกช่วงภาวะที่เกิดสารให้ฟองที่ดีจาก กราฟ2 มิติ ของทั้ง ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและค่าความคงตัวของฟองเช่นเดียวกับเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านมาได้ดังนี้คือ

จากรูปที่ 4.11 พบว่า ระดับเวลาและอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้เกิดฟองเพิ่มขึ้นสูงคือ ช่วง 520 - 586 % อุณหภูมิ 43 °C - 60 °C ในเวลาการย่อย 25 - 18 นาที และจากรูปที่ 4.12 พบว่าระดับเวลา และอุณหภูมิการย่อยที่ทำให้ฟองคงตัวสูง คือ ช่วง 32 - 36 นาที อยู่ที่อุณหภูมิ 42 °C - 60 °C เวลาการย่อย 5 - 20 นาที **เมื่อพิจารณากราฟ 2 มิติ ทั้ง 2 พร้อมกันสามารถเลือกภาวะที่ให้ทั้งกำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองสูงที่ระดับเวลาการย่อย 20 นาที อุณหภูมิ 60°C ซึ่งให้กำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้น 530% มีความคงตัว 32 นาที**

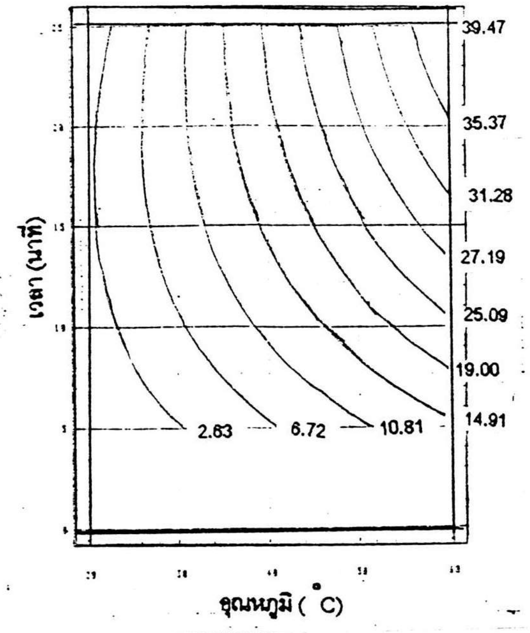
จากลักษณะกราฟ 3 มิติรูปที่ 4.5 , 4.7 , 4.9 และ 4.11 ของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด คือ Alcalase ® Protin AC 10® Pepsin และ Papain พบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม Alcalase ® Protin AC 10® Pepsin และ Papain คือกลุ่มของเอนไซม์ Alcalase ® Protin AC 10® และ Pepsin จะมี ค่าการขยายตัวของฟองที่เพิ่มขึ้น คงที่และอาจจะลดลงอีกครั้ง และค่าความคงตัวของฟอง ซึ่งพิจารณาจากกราฟ 2 มิติ รูปที่ 4.6 , 4.8 และ 4.10 ของ Alcalase ® Protin AC 10® Pepsin ก็มีค่าของ ความคงตัวของฟองที่สูงสุดที่อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40 °C ในช่วงเวลาการย่อย

สลายแรกๆ เมื่อย่อยสลายต่อๆไป เรื่อยๆที่ระดับอุณหภูมิและเวลาที่สูงขึ้นค่าความคงตัวของฟองจะลดลงอย่างรวดเร็วขณะที่ผลจาก papain ค่าตอบสนองต่างๆที่สังเกตพบนั้นแสดงว่า ยังไม่เลยจุดที่เหมาะสมที่สุดไป ดังกราฟ 3 มิติ ของ papain รูปที่ 4.11 แสดงถึง ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และค่าความคงตัวของฟอง ที่พิจารณาจากกราฟรูปที่ 4.12 ก็แสดงว่าค่าความคงตัวของฟองที่สูงที่สุดเกิดที่ช่วงอุณหภูมิ 60 °C ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิที่สูงที่สุดในการศึกษา ในระยะเวลาการย่อยตั้งแต่ 5-15 นาที

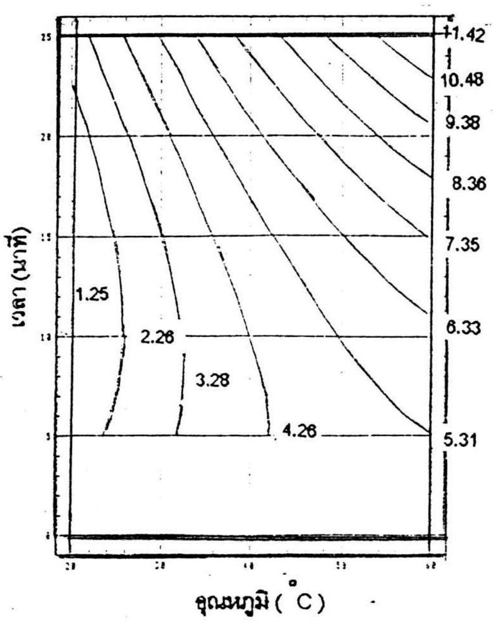
ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจจะอธิบายได้จากค่าระดับการย่อยสลาย DH ของเอนไซม์แต่ละชนิดที่เกิดขึ้นในภาวะที่ศึกษานั้น โดยทุกๆการทดลองจะมีการศึกษาถึงระดับการย่อยสลายที่เกิดขึ้น (ภาคผนวก จ) ควบคู่ไปด้วยดังผลที่แสดงในตาราง 4.9 , 4.10 , 4.11 และ 4.12 ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงระดับการย่อยสลายในภาวะที่เลือกมาศึกษาคือ Protin AC 10® ที่ระดับ pH 6 Alcalase® ที่ระดับ pH 8 Papain ที่ระดับ pH 6 และ Pepsin ที่ระดับ pH 2 ซึ่งเสนอในรูปกราฟ 2 มิติ ดังรูปที่ 4.13 , 4.14 , 4.15 และ 4.16 ตามลำดับ



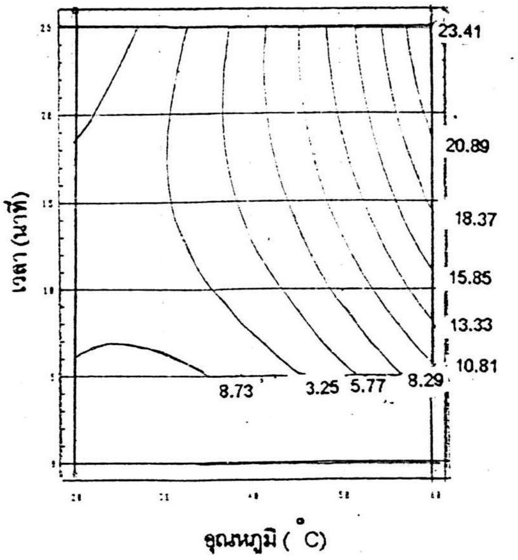
รูปที่4.13 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับการย่อยสลาย อุณหภูมิ และ เวลาการย่อยโปรตีน ด้วยเอนไซม์ Protin AC 10® 0.014 % ที่ระดับ pH 6



รูปที่ 4.14 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ ระหว่าง ระดับการย่อยสลาย อุณหภูมิ และเวลาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Alcalase® 0.285 % ที่ระดับ pH 8



รูปที่ 4.15 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับการย่อยสลาย อุณหภูมิ และเวลาการย่อย โปรตีนด้วยเอนไซม์ Papain 1.25 % ที่ ระดับ pH 6



รูปที่ 4.16 รูปสองมิติแสดงความสัมพันธ์ ระหว่าง ระดับการย่อ ยสลาย อุณหภูมิ และเวลาการย่อย โปรตีนด้วยเอนไซม์ Pepsin 0.25%ที่ ระดับ pH 2

จากกราฟจะเห็นว่า เมื่ออุณหภูมิ และ/หรือ เวลาการย่อยระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นไปตามหลักการทำงานของเอนไซม์นั้นคือการเพิ่มอุณหภูมิแก่ระบบจะเพิ่มพลังงานจลน์แก่โมเลกุลของสารทำให้เกิดปฏิกิริยาได้มากขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง ,2535) ส่วนเวลาที่เพิ่มขึ้นย่อมทำให้เอนไซม์เกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของโปรตีนได้มากขึ้น จึงส่งผลให้เกิดระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นดังกล่าว แต่ระดับการย่อยสลาย ที่พบจากกราฟ 2 มิติ ของ papain จะต่ำกว่าระดับการย่อยสลายใน Alcalase ® Protin AC 10® และ Pepsinทำให้ลักษณะของกราฟ 2 มิติ ของค่าร้อยละการขยายตัวของฟองรูปที่ 4.11 มีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ ขณะที่ระดับการย่อยสลายในAlcalase® Protin AC 10® และ Pepsin ที่สูงกว่ามีผลทำให้ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองในรูปที่ 4.5 , 4.7, 4.9 คงที่และมีแนวโน้มลดลงดังกล่าว ดังนั้นระดับการย่อยสลายจึงเป็นปัจจัยหนึ่ง ซึ่งสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลือง เป็นสารให้ฟองที่เกิดฟองปริมาตรสูงและคงตัวอยู่นาน Casella และ Whitaker (1990) รายงานว่าการย่อยสลายโปรตีนอย่างจำกัดส่งผลให้โปรตีนมีสมบัติการเกิดฟองเพิ่มขึ้น เนื่องจากระดับการย่อยสลายที่สูงโปรตีนจะถูกตัดพันธแปปไทด์มากเกินไปเกิดสายโปรตีนสั้นๆที่มีความยืดหยุ่นต่อการจัดเรียงตัวอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวอากาศ-น้ำต่ำ

ดังนั้นถ้าพิจารณาจากระดับของอุณหภูมิและเวลาซึ่งทำให้เกิดฟองที่ดีดังที่เลือกได้ในเอนไซม์แต่ละตัว มาหาระดับการย่อยสลายที่เกิดขึ้นจากกราฟ 2 มิติ รูปที่ 4.13 , 4.14 , 4.15 และ 4.16 พบว่า Alcalase ® มีระดับการย่อยสลายประมาณ 8 % - 13 % Protin AC 10 ® มีระดับการย่อยสลายประมาณ 6% - 7% Papain มีระดับการย่อยสลายประมาณ 8 % - 9 % และ Pepsin มีระดับการย่อยสลายประมาณ 3 % - 8 % ซึ่งเห็นว่าอยู่ในระดับที่ไม่สูงนักและสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการผลิตสารให้ฟองได้เช่นกัน

4.6. **เปรียบเทียบค่าร้อยละการขยายฟอง และความคงตัวของฟองจากตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วยเอนไซม์กับสารให้ฟองจากโปรตีนไข่ขาวผง** (egg albumen powder)

จากข้อ 4.5 สามารถประมาณภาวะการผลิตสารให้ฟองอากาศที่มีปริมาตรสูง และคงตัวอยู่นานได้ โดยอาศัยกราฟ 2 มิติ เลือกภาวะการผลิตดังกล่าวดังตารางที่ 4.22 มาศึกษาการย่อยสลายเพื่อยืนยันผลการทำนายค่าดังกล่าว

ตารางที่ 4.22 ภาวะอุณหภูมิ เวลา และ pH ในการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองเป็นสารให้ฟองที่มีปริมาตรและความคงตัวสูงโดยเอนไซม์ Alcalase® Protin AC 10® Papain และ Pepsin คัดเลือกได้จาก กราฟ 2 มิติของค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และ ความคงตัวของฟองสูง

ชนิดเอนไซม์	ภาวะการย่อยสลาย		
	pH	อุณหภูมิ (°C)	เวลาการย่อย (min.)
Alcalase® 0.285 % (ปริมาตร/น้ำหนักโปรตีน)	8	42	15
Protin AC 10® 0.014 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	6	42	5
Papain 1.25 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	6	60	20
Pepsin0.25 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	2	42	5

ย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองด้วยภาวะดังกล่าวแล้ววัดค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และความคงตัวของฟอง ของสารให้ฟองที่เตรียมจากภาวะดังกล่าว ดังแสดงในตารางที่ 4.23 และตารางที่ 4.24

ตารางที่ 4.23 ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองของสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ย่อยด้วย Alcalase ® Protin AC 10 ® Papain และ Pepsin ที่ได้จากการประมาณด้วยกราฟ 2 มิติและค่าที่วัดได้จริง

ชนิดเอนไซม์	ภาวะ	ร้อยละการขยายตัวของฟองจากกราฟ	ร้อยละการขยายตัวของฟองจากที่วัดได้	ความแตกต่าง (%)
Alcalase ® 0.285% (ปริมาตร/น้ำหนักโปรตีน)	pH 8 อุณหภูมิ42 °C 15 min.	575	565	1.73
Protin AC 10 ® 0.014 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	pH 6 อุณหภูมิ42 °C 5 min.	670	660	1.49
Papain 1.25 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	pH 6 อุณหภูมิ60 °C 20 min.	530	520	1.88
Pepsin0.25 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	pH 2 อุณหภูมิ42 °C 5 min.	580	570	1.72

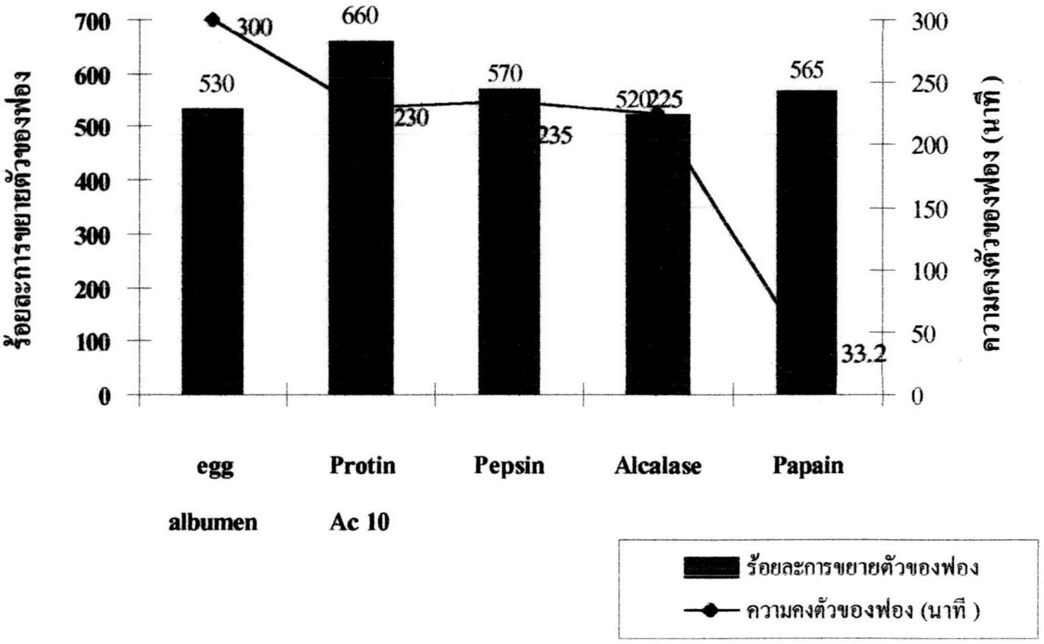
ตารางที่ 4.24 ค่าความคงตัวของฟองจากสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ย่อยด้วย Alcalase ® Protin AC 10 ® Papain และ Pepsin ที่ได้จากการประมาณด้วยกราฟ 2 มิติ และค่าที่วัดได้จริง

ชนิดเอนไซม์	ภาวะ	. ความคงตัวของฟอง จากกราฟ (นาที)	ความคงตัวของฟองที่วัดได้ (นาที)	ความแตกต่าง (%)
Alcalase ® 0.285% (ปริมาตร/น้ำหนักโปรตีน)	pH 8 อุณหภูมิ42 °C 15 min.	232	225	3.02
Protin AC 10 ® 0.014 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	pH 6 อุณหภูมิ42 °C 5 min.	240	230	4.16
Papain 1.25 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	pH 6 อุณหภูมิ60 °C 20 min.	32	33.2	3.75
Pepsin 0.25 % (น้ำหนัก/น้ำหนักโปรตีน)	pH 2 อุณหภูมิ42 °C 5 min.	240	235	2.08

ผลการทดลองวัดค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และ ค่าความคงตัวของฟองของสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลืองดังแสดงในตารางที่ 4.23 และ ตารางที่ 4.24 ตามลำดับ แสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการประมาณ โดยใช้กราฟ 2 มิติ และค่าที่วัดได้จริงในสารให้ฟองในภาวะการผลิตจากการประมาณด้วยกราฟ จะเห็นว่าค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เพราะ กราฟ 2 มิตินี้สร้างขึ้นจากสมการที่มีค่า R^2 สูง จึงมีความแม่นยำในการทำนาย ภาวะการผลิตสารให้ฟองค่อนข้างสูง

จากการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ต่างๆ พบว่าสารให้ฟองที่มาจากการย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® มีสมบัติดีกว่าสารให้ฟองจากเอนไซม์อื่นๆโดยมี

ปริมาตรฟองเพิ่มขึ้นร้อยละ 660 และฟองมีความคงตัว 230นาที ส่วนสารให้ฟองจากเอนไซม์ตัวอื่นที่ให้ค่าใกล้เคียงกับ Protin AC 10 ® มากก็คือ Pepsin และ Alcalase ® โดยสารให้ฟองจาก Pepsin มีปริมาตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 570 มีความคงตัว 235 นาที ส่วนสารให้ฟองจาก Alcalase ® มีปริมาตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 565 มีความคงตัว 225 นาที ขณะที่ Papain ย่อยได้โปรตีนที่มีสมบัติของสารให้ฟองต่ำที่สุดคือ มีปริมาตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 520 มีความคงตัวเพียง 33.2 นาที ซึ่งต่ำกว่าเอนไซม์ตัวอื่น เมื่อเปรียบเทียบการเกิดฟองระหว่างโปรตีนที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์กับโปรตีนไข่ขาวผลแสดงดังกราฟรูปที่ 4.17 แม้ว่า Papain จะมีปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้นในขั้นแรกเท่ากับโปรตีนไข่ขาวก็ตามแต่ไข่ขาวมีความคงตัวนานกว่าโดยไข่ขาวมีความคงตัวนาน 300 นาที



รูปที่ 4.17 เปรียบเทียบการขยายตัวของฟอง และ ความคงตัวของฟอง ระหว่าง โปรตีนที่ย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ®, Pepsin, Alcalase ® และ Pepain เปรียบเทียบกับโปรตีนไข่ขาวผง (egg albumen powder)

การที่เอนไซม์ Protin AC 10 ® และ Pepsin มีความจำเพาะต่อหมู่ amino hydrophobic คือ Protin AC 10 ® จำเพาะต่อหมู่ Phenylalanine, Leusine ส่วน Pepsin จำเพาะต่อหมู่ Alanine, Leusine, Phenylalanine, Tyrosine และ Trypthophane ให้ผลการเกิดฟองที่ดี แต่ Papain ซึ่งจำเพาะต่อหมู่ amino hydrophillic คือ Arginine, Lysine ให้ผลการเกิดฟองและทำให้ฟองคงตัวดีด้วย ซึ่งTownsendและNakai, 1983 ได้ศึกษาพบว่า โปรตีนที่มีหมู่อะมิโน hydrophobic สูงขึ้นจะช่วยเพิ่มการเกิดฟองได้มากขึ้นและนานขึ้น Damodaran, 1996 พบว่าโมเลกุลโปรตีนที่ไม่มีขั้วจะถูกดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวอากาศของเหลวมากขึ้น

4.7. วิเคราะห์ปริมาณมอลโทเดกซ์ทริน ที่เหมาะสมในการเป็นสารช่วยการทำแห้งสารให้ฟองซึ่งคัด เลือกจาก RSM model

เนื่องจากโปรตีนที่ผลิตได้เมื่อผ่านการ ทำแห้งจะมีความสามารถในการละลายต่ำเพราะผลิตภัณฑ์จับตัวกันเป็นอนุภาคแข็ง จึงศึกษาปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมต่อการเป็นสารช่วยการทำแห้ง (drying carrier)

จากนั้นศึกษาปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมในการเป็นสารช่วยการทำแห้งสารให้ฟองทั้ง 4 ที่มีปริมาตรและความคงตัวของฟองสูงที่เลือกได้ดังกล่าวโดย เตรียมสารละลายโปรตีนดังกล่าวให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 ผสมลงไป กวนด้วย magnetic stirrer จนละลายหมดจึงนำไปทำแห้งด้วยวิธี freeze dry โดยศึกษาถึงปริมาณของมอลโทเดกซ์ทริน 4 ระดับ คือร้อยละ 5 10 15 และ 20 โดยน้ำหนัก maltodextrin ต่อน้ำหนักสารละลาย วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

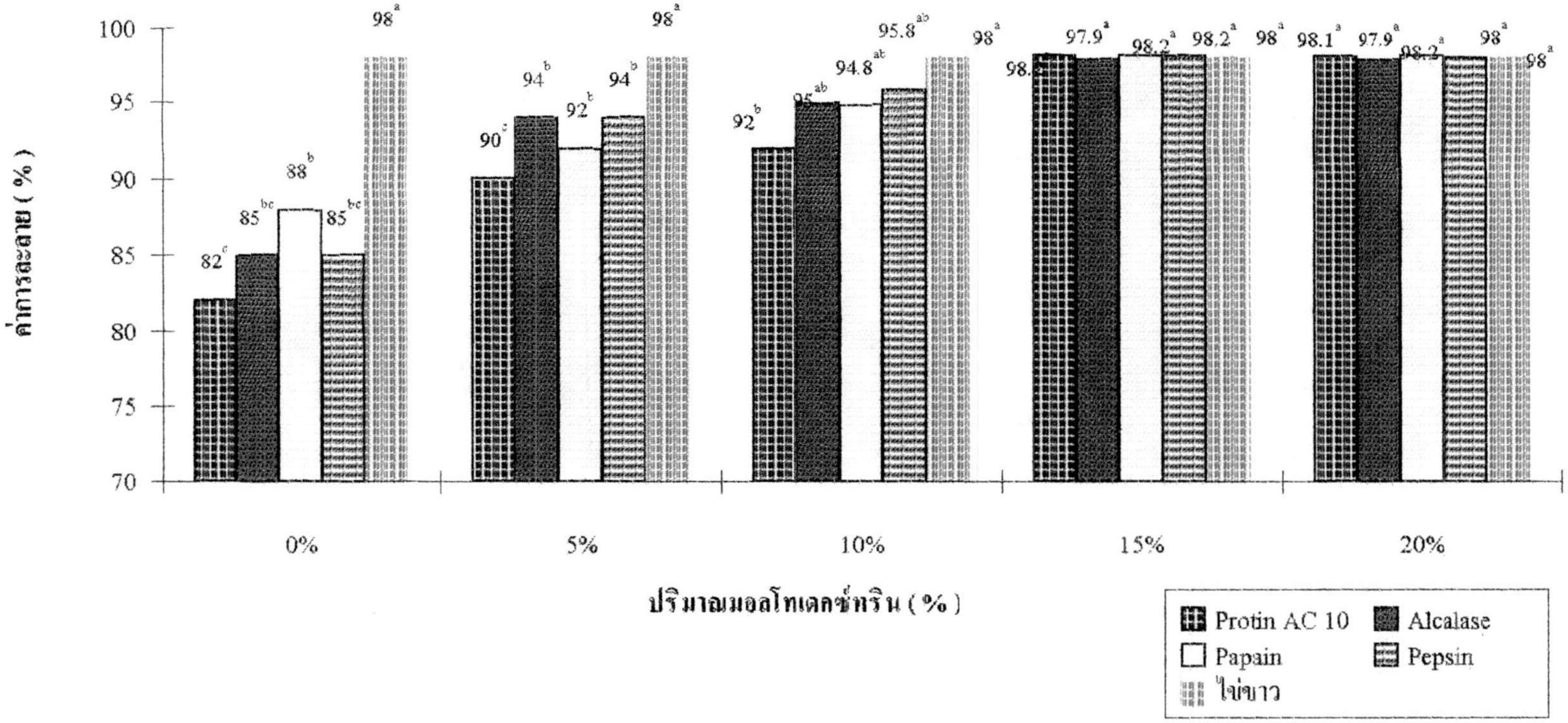
ประเมินผลโดยการวิเคราะห์ค่าต่างๆดังนี้

ความสามารถในการละลายน้ำของสารให้ฟองผง ซึ่งมีองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และมอลโทเดกซ์ทรินอยู่ร่วมกัน (Boyce,1986) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ฉ.)

ร้อยละของปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้น (% foam expansion) ตามวิธีของ Bernadi (1991) (ภาคผนวก ค.)

ความคงตัวของฟอง (foam stability) วัดค่าเป็นเวลา (นาที) ที่ปริมาตรสูงสุดของฟองลดลงเหลือปริมาตรครึ่งหนึ่ง ตามวิธีของ Damodaran(1996) (ภาคผนวก ง.)

มอลโทเดกซ์ทรินสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายของสารให้ฟองที่ผลิตได้ โดยที่ระดับมอลโทเดกซ์ทริน 15 และ 20 % ทำให้ค่าการละลายสูงที่สุดและเมื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถในการละลายกับสารให้ฟองทางการค้าโปรตีนไข่ขาว พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %ดังแสดงในรูปที่ 4.24 ดังนั้นจึงเลือกระดับมอลโทเดกซ์ทรินที่ 15 % เพื่อใช้เป็นสารช่วยการทำแห้ง และปริมาณมอลโทเดกซ์ -ทริน ในระดับที่ศึกษาดังกล่าวนั้นพบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟอง ดังแสดงในตารางที่ 4.25



รูปที่ 4.24 เปรียบเทียบค่าการละลายน้ำของสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดย Protin AC 10, Alcalase,Papain และ Pepsin เมื่อแปรปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินในการช่วยทำแห้ง กับสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง

ตารางที่ 4.25 ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟอง ของสารให้ฟองจาก Protin AC 10 ®, Alcalase ®, Papain และ Pepsin เมื่อเติมมอลโทเดกซ์ทรินในระดับต่างๆ

ปริมาณมอลโทเดกซ์ตริน	% foam expansion				foam stability (min)			
	Alcalase ® NS	Protin AC10 ® NS	Papain NS	Pepsin NS	Alcalase ® NS	Protin AC10 ® NS	Papain NS	Pepsin NS
0	562.5 ± 3.54	660.0 ± 0.00	530.0 ± 0.00	572.5 ± 3.54	225.0 ± 7.07	240.0 ± 0.00	30.0 ± 2.83	240.0 ± 7.07
5	560.0 ± 0.06	662.5 ± 3.54	530.0 ± 0.00	570.0 ± 0.00	230.0 ± 0.00	245.0 ± 0.00	30.0 ± 0.00	240.0 ± 0.00
10	565.0 ± 0.00	665.0 ± 0.00	530.0 ± 14.14	575.0 ± 0.00	230.0 ± 0.00	260.0 ± 28.28	32.0 ± 0.00	250.0 ± 0.00
15	562.5 ± 3.54	660.0 ± 0.00	530.0 ± 0.00	572.5 ± 3.54	245.0 ± 7.07	265.0 ± 7.07	35.0 ± 0.00	260.0 ± 14.14
20	560.0 ± 0.00	662.5 ± 3.54	530.0 ± 14.14	575.0 ± 0.00	250.0 ± 14.14	265.0 ± 7.07	35.0 ± 1.41	260.0 ± 0.00

NS = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

ลักษณะสารให้ฟองก่อนและหลังการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งเยือกแข็ง (Freeze dry) แสดงดังรูปที่ 4.19

รูปที่ 4.19 สารให้ฟองก่อนการทำแห้ง และหลังผ่านกระบวนการทำแห้งเยือกแข็ง

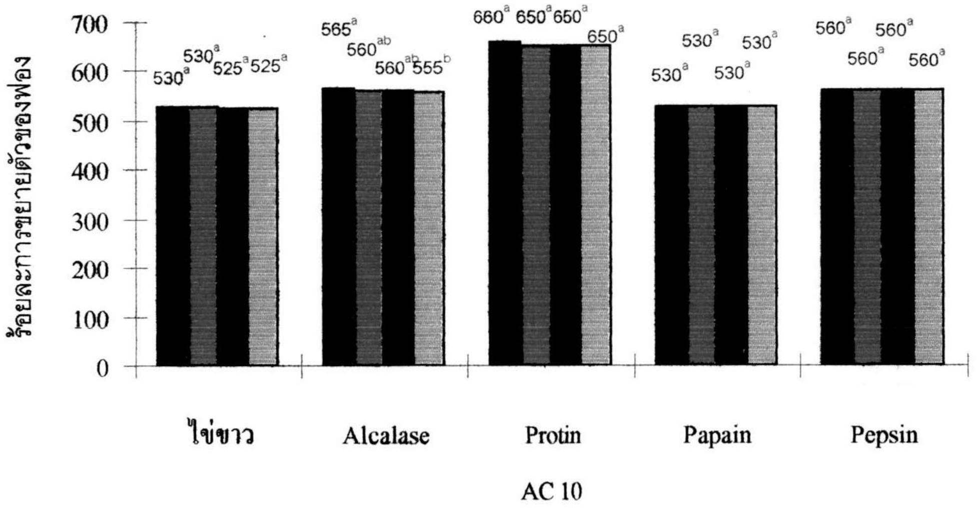
4. 8. **ประเมินลักษณะของสารให้ฟองผงที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองจากการย่อยโปรตีนด้วย** Protin AC 10 ®, Alcalase ®, Papain **และ** Pepsin

ตารางที่ 4.26 ลักษณะผลิตภัณฑ์สารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลือง

สารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย	ร้อยละการขยายตัวของฟอง	ความคงตัวของฟอง	% การละลาย	% ความชื้น	% โปรตีน	% เถ้า	ขนาดอนุภาค (mesh)	pH
Alcalase ®	565.00± 3.54	240.0 ± 7.07	98.10 ± 0.14	4.43 ± 0.23	45.40 ± 3.39	7.79 ± 0.00	100 - 200	6.5
Protin AC 10 ®	660.00± 0.00	265.0 ± 7.07	97.95 ± 7.07	4.75 ± 0.05	48.04 ± 0.22	8.45 ± 0.63	100 - 200	6.78
Papain	515.00± 0.00	35.0 ± 0.00	98.55 ± 0.07	4.37 ± 0.51	45.40± 3.08	7.57 ± 0.00	100 - 200	6.71
Pepsin	575.00± 3.54	260.0 ± 14.14	98.00± 0.00	4.89 ± 0.00	44.30± 3.01	7.66 ± 0.16	100 - 200	6.59

4.9 ทดสอบประสิทธิภาพของสารให้ฟองเมื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์

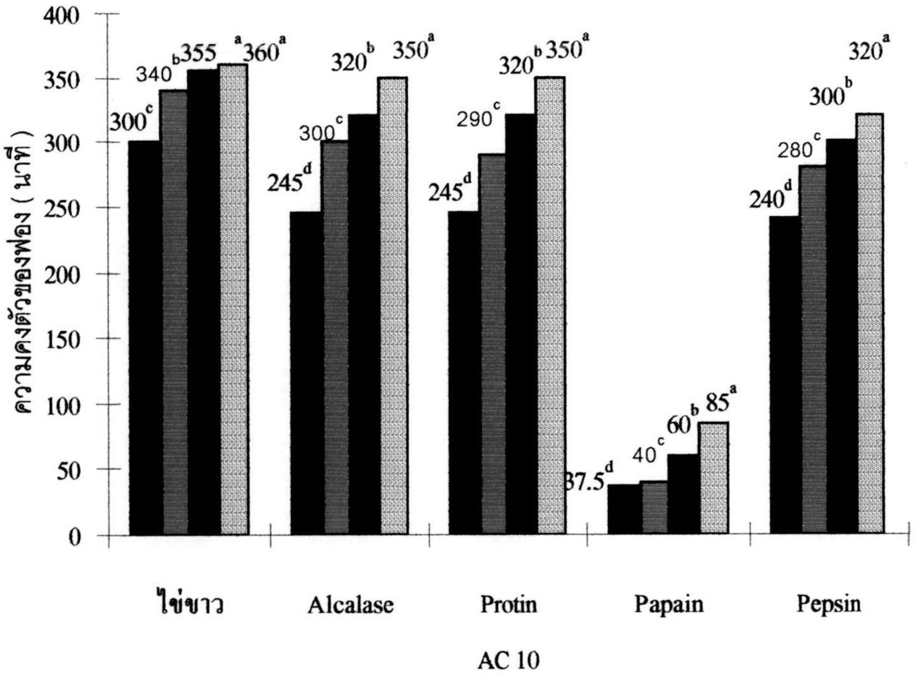
4.9.1 ผลของน้ำตาลที่มีต่อการเกิดฟองโดยใช้สารให้ฟอง Protin AC 10 ®, Alcalase ®, Papain และ Pepsin ผสมกับน้ำตาลในอัตราส่วน 10% ,28.6% และ 50% โดยมีสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาวผงเป็นตัวแทนสารให้ฟองทางการค้าและเป็นมาตรฐาน ผลของน้ำตาลในส่วนผสมต่อการขยายตัวของฟองเป็นร้อยละ เปรียบเทียบกับค่าการขยายตัวของฟองเป็นร้อยละ โดยไม่ผสมน้ำตาล แสดงดังรูปที่ 4.20



a, b.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.20 ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองจากสารให้ฟองไข่ขาวผง สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ย่อยสลายด้วย Alcalase®, Protin AC 10®, Papain และ Pepsin ในสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 0 % (■), 10% (■), 28.6%(■), 50% (■)

จากรูปที่ 4.20 พบว่าน้ำตาลซึ่งเป็นส่วนผสมสำคัญส่วนหนึ่งในสูตรของเมอะแรงส์ไม่มีผลกระทบต่อค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าร้อยละการขยายตัวของฟองก่อนการผสมน้ำตาล และการผสมน้ำตาลลงไป ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่ปริมาณน้ำตาลที่ระดับเดียวกันนี้สามารถทำให้ค่าความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้นได้โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างค่าความคงตัวของฟอง ก่อนการผสมน้ำตาลและหลังการผสมน้ำตาลลงไป พบว่ามีค่าความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.21



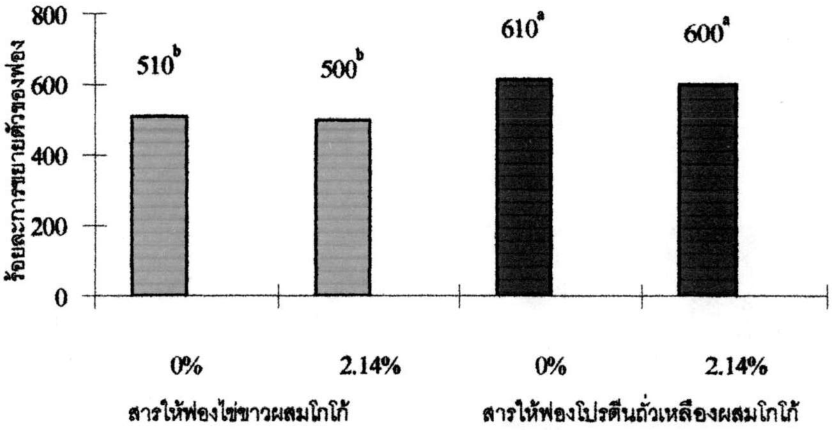
a, b.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.21 ค่าความคงตัวจากฟองของสารให้ฟองไข่ขาวผง สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ย่อยสลายด้วย Alcalase, Protin AC 10, Papain และ Pepsin ในสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 0 % (■), 10% (■), 28.6% (■), 50% (▒)

น้ำตาลเพิ่มความคงตัวของฟอง ได้โดยการช่วยเพิ่มความหนืดของโปรตีนที่จัดเรียงตัวอยู่ระหว่างผิวอากาศ และน้ำ ทำให้ของเหลวหรือน้ำที่อยู่ในส่วนชั้นบาง (lamellae) ของฟองอากาศมีอัตราการไหลออกลดลง จากรูปที่ 4.20 และ 4.21 สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® ซึ่งให้ค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และความคงตัวของฟองสูงกว่าสารให้ฟองที่ย่อยสลายโดยเอนไซม์ตัวอื่น จึงเลือกสารให้ฟองที่ย่อยสลายโดย Protin AC 10 ® ที่มีผสมอยู่ของน้ำตาล 28.6 % น้ำ 64.3 % และสารให้ฟอง 7.1 % ไปทดสอบผลของไขมันจากผงโกโก้ต่อไป

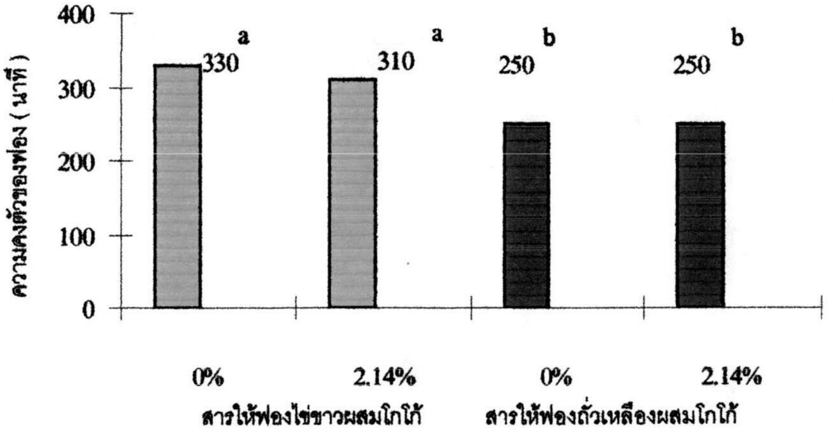
4.9.2 ผลของไขมันจากผงโกโก้ที่มีต่อการเกิดฟองโดยใช้สารให้ฟอง Protin AC 10 ® Alcalase ®, Papain และ Pepsin เมื่อเลือกสารให้ฟองที่ย่อยสลายโดย Protin AC 10 ® จากข้อ4.9.1 ผสมผงโกโก้ 1 ส่วนต่อสารให้ฟอง 3 ส่วน (Pintauro, 1979) ได้ส่วนผสมที่มีอัตราส่วนของสารให้ฟองต่อ

น้ำ ต่อ น้ำตาล ต่อผงโกโก้ เป็น 7.1 % ต่อ 61.85 % ต่อ 28.6 % ต่อ 2.14% ทดสอบผงของโกโก้ใน โดยมีสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาวผงเป็นตัวแทนฟองทางการค้าและเป็นมาตรฐาน ปริมาณผงโกโก้ที่ 21.4 % ไม่มีผลต่อการเกิดฟอง ในแง่ร้อยละการขยายตัวของฟอง ผลแสดงดังรูปที่ 4.22 และความคงตัวของฟอง ผลแสดงดังรูปที่ 4.23



a, b.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

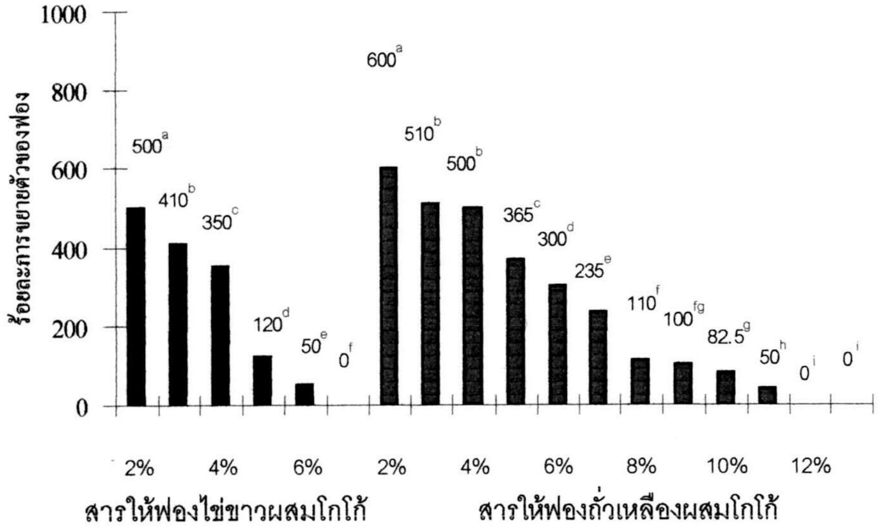
รูปที่ 4.22 ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองจากสารให้ฟองไข่ขาว สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® ในสารละลายน้ำตาล 28.6 % เมื่อเพิ่มส่วนผสมผงโกโก้ลงไป 2.17 %



a, b.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

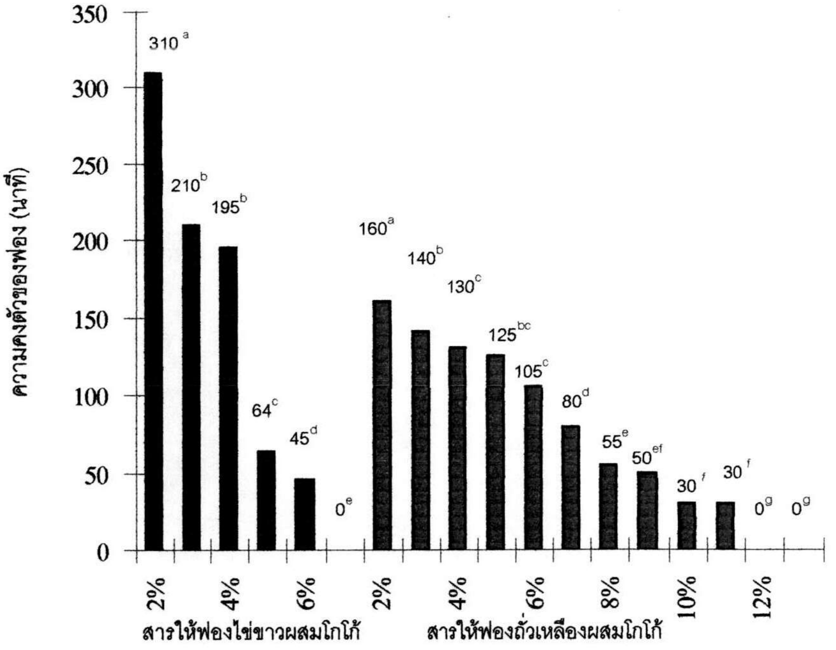
รูปที่ 4.23 ค่าความคงตัวของฟองจากสารให้ฟองไข่ขาว สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® ในสารละลายน้ำตาล 28.6 % เมื่อเพิ่มส่วนผสมผงโกโก้ลงไป 2.14 %

จากรูปที่ 4.22 และ 4.23ปริมาณผงโกโก้ 2.14 % ไม่มีผลต่อค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และความคงตัวของฟอง โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าร้อยละการขยายตัวของฟอง และความคงตัวของฟอง ที่ไม่ผสมโกโก้ลงไปและผสมผงโกโก้ลงไปในสารให้ฟอง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) อาจเนื่องจากปริมาณผงโกโก้ 2.14 % คิดเป็นปริมาณไขมันได้ 1.6 % (ผงโกโก้มีไขมัน 75 %)ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำ จึงเสียปริมาณโปรตีนไปเพียงส่วนน้อยเพื่อจับกับไขมันในผงโกโก้ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากโปรตีนในสารให้ฟองมีสมบัติเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ได้ด้วย เพราะสารให้ฟองเป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลส่วนมีขั้ว ซึ่งจะหันเหเข้าสู่ผิวน้ำและโมเลกุลส่วนไม่มีขั้วจะหันเหเข้าสู่ผิวน้ำมัน จึงไม่มีผลกระทบต่อโปรตีนส่วนใหญ่ที่จัดฟองอากาศอยู่ดังเดิม จากปริมาณผงโกโก้ 2.14 % ไม่พบผลกระทบต่อการเกิดฟอง จึงแปรปริมาณผงโกโก้มากขึ้น ได้ข้อมูลดังรูปที่ 4.24 แสดงค่าร้อยละการขยายตัวของฟองเมื่อแปรความเข้มข้นของผงโกโก้ในระดับต่างๆ และรูปที่ 4.25 แสดงค่าความคงตัวของฟองเมื่อแปรความเข้มข้นของผงโกโก้ในระดับต่างๆ



a, b.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.24 ค่าร้อยละการขยายตัวของฟองจากสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาวและโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® ในสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 28.6 % เมื่อผสมผงโกโก้ความเข้มข้นระดับต่างๆ



a, b.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.25 ค่าร้อยละความคงตัวของฟองจากสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาวและโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย Protin AC 10 ® ในสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 28.6 % เมื่อผสมผงโกโก้ความเข้มข้นระดับต่างๆ

จากรูปที่ 4.24 และ 4.25 แสดงว่าโปรตีนจากสารให้ฟองมีสมบัติเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ แต่หากมีไขมันในปริมาณสูง จะทำให้ฟองที่เกิดขึ้นลดลงเนื่องจากโปรตีนจะจัดเรียงตัวเข้าจับกับชั้นไม่มีขั้วในส่วนไขมันแทนส่วนอากาศ ทำให้เกิดฟองลดลงและไขมันสามารถยึดเกาะที่ชั้นระหว่างผิวน้ำ - อากาศ ได้ดีกว่าโปรตีน ทำให้การยึดเกาะของโปรตีนลดลง ขณะที่ฟิลม์ที่เกิดจากไขมันนั้นขาดความยืดหยุ่นไม่เหมือนสายโมเลกุลของโปรตีนจึงทำให้ฟองอากาศที่เกิดระหว่างที่มีการตีอากาศยุบตัวลง ทำให้เกิดฟองลดลงกว่าเมื่อไม่มีไขมันเจือปนอยู่ (Damonaran, 1996)

4.9.3 การประเมินค่าทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่อเมอะแรงส์ที่ผลิตโดยสารให้ฟองแต่ละชนิดคือ Pepsin , Papain , Protin AC 10 ® และ Alcalase ®

เมื่อเตรียมเมอะแรงส์จากสารให้ฟองที่ย่อยด้วยเอนไซม์ต่างๆ กับสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาว ตามสูตรของ Kuchler และ Stine (1974) ซึ่งเป็นสูตรที่มีส่วนผสมคิด

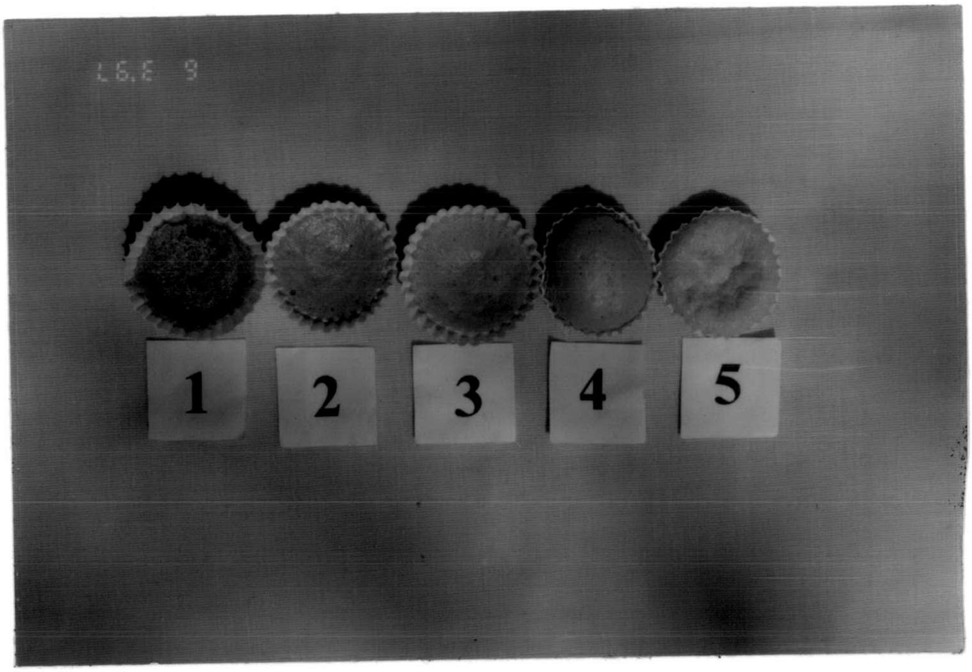
เป็นอัตราส่วนดังนี้ ปริมาณสารให้ฟอง 7.1 % น้ำตาล 28.6 % น้ำ 64.3 % ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสแสดงดังตารางที่ 4.27

ตารางที่ 4.27 ค่าการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวมของเมอะแรงส์ที่เตรียมจากสารให้ฟองชนิดต่างๆ

ตัวอย่างสารให้ฟอง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม
โปรตีนไข่ขาว (egg albumen)	$7.93^{a} \pm 0.80$	$7.27^{a} \pm 0.70$	6.67 ± 0.82	$8.07^{a} \pm 0.80$	$7.87^{a} \pm 0.83$
โปรตีนถั่วเหลืองย่อยด้วยProtin AC 10®	$7.07^{a} \pm 0.80.$	$6.87^{a} \pm 0.74$	$6.47^{ab} \pm 1.36$	$6.47^{b} \pm 0.52$	$7.33^{a} \pm 0.49$
โปรตีนถั่วเหลืองย่อยด้วย Alcalase®	$5.67^{b} \pm 0.90$	$6.80^{a} \pm 0.41$	$5.87^{ab} \pm 0.92$	$5.47^{c} \pm 1.13$	$6.13^{b} \pm 0.83$
โปรตีนถั่วเหลืองย่อยด้วย Pepsin	$4.07^{c} \pm 1.67$	$6.20^{b} \pm 0.85$	$6.07^{ab} \pm 0.80$	$5.20^{c} \pm 1.15$	$5.67^{b} \pm 1.05$
โปรตีนถั่วเหลืองย่อยด้วย Papain	$3.20^{c} \pm 1.61$	$6.00^{b} \pm 0.77$	$6.13^{b} \pm 0.64$	$4.00^{d} \pm 1.69$	$4.60^{c} \pm 1.45$

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.27 พบว่าคะแนนเฉลี่ย ลักษณะ สี กลิ่น และความชอบรวม ของเมอะแรงส์ที่ผลิตจาก Protin AC 10® กับโปรตีนไข่ขาวมีค่าสูงที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยที่คะแนนเนื้อสัมผัสของ Protin AC 10® น้อยกว่าโปรตีนไข่ขาว เนื่องจากผู้ทดสอบรู้สึกว่ามีความแข็งมากกว่า จะเห็นได้ว่าลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยผลิตภัณฑ์ที่ดูกรอบฟูมีความกรุบกรอบจะมีค่าการยอมรับมากที่สุด ถ้าเทียบกับสารให้ฟองจากการผลิตด้วยเอนไซม์ตัวอื่นๆ รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะของผลิตภัณฑ์เมอะแรงส์จากสารให้ฟองชนิดต่างๆ



รูปที่ 4.26 ตัวอย่างเมอะแรงส์ที่เตรียมจากสารให้ฟองที่ย่อยสลายด้วยด้วยเอนไซม์ Papain (1) Alcalase ® (2) Pepsin (3) Protin AC 10® (4) และสารให้ฟองจากโปรตีนไข่ขาว (5)

เนื่องจากสารให้ฟองจากการย่อยโดย Protin AC 10® ที่เลือกได้เมื่อใช้สูตรมาตรฐานของเมอะแรงส์ในการทดลองนี้ (Kuehler and Stine , 1974) มีเนื้อสัมผัสที่แข็งเกินไปจึงศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารให้ฟองจาก Protin AC 10® ที่ให้มีเนื้อสัมผัสที่เบาฟูขึ้น โดยจากสูตรมาตรฐานเดิม (ภาคผนวก ฉ) คิดเป็นอัตราส่วนของโปรตีน (จากสารให้ฟอง) : น้ำ : น้ำตาล เท่ากับ 1:9:4 หรือคิดเป็นปริมาณโปรตีนร้อยละ 7.1 จึงศึกษาระดับโปรตีนที่ลดลงเป็นร้อยละ 6 ,5,4 และ 3 ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.28

ตารางที่ 4.28 ค่าการประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมของเมอะแรงส์ ที่ผลิตโดยใช้สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองจากการย่อยด้วยProtin AC 10® ในความเข้มข้นระดับต่างๆเปรียบเทียบกับสารให้ฟองจากโปรตีนไข่ขาว

ตัวอย่างสารให้ฟอง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	การยอมรับ
โปรตีนไข่ขาว (egg albumen)	$7.40^{a} \pm 0.74$	$7.40^{a} \pm 0.74$	$7.60^{a} \pm 0.51$	$7.47^{a} \pm 0.83$	$8.00^{a} \pm 0.85$
สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง 6%	$6.93^{a} \pm 0.59$	$7.33^{a} \pm 0.82$	$7.47^{a} \pm 0.64$	$7.05^{b} \pm 0.82$	$7.07^{b} \pm 1.03$
สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง 5%	$7.47^{a} \pm 0.74$	$7.53^{a} \pm 0.64$	$7.67^{ab} \pm 0.69$	$7.47^{a} \pm 0.92$	$7.87^{a} \pm 0.83$
สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง 4%	$5.87^{b} \pm 0.92$	$5.80^{b} \pm 0.56$	$7.67^{a} \pm 0.49$	$6.47^{b} \pm 0.74$	$5.93^{c} \pm 0.70$
สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง 3%	$5.80^{b} \pm 0.77$	$5.47^{b} \pm 0.64$	$7.60^{a} \pm 0.63$	$5.53^{c} \pm 0.64$	$5.80^{c} \pm 0.68$

a , b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อใช้สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 6% ทำเมอะแรงส์ ผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับรวมน้อยกว่าสารให้ฟองที่ความเข้มข้น 5% เนื่องจากมีเนื้อสัมผัสที่แข็งกว่า ขณะที่เมอะแรงส์ที่ผลิตโดยใช้สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองจากการย่อยด้วย Protin AC 10® ที่ระดับความเข้มข้นโปรตีน5% มีคะแนนการยอมรับสูงและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) กับสารให้ฟองทางการค้าโปรตีนไข่ขาว เมื่อลดระดับความเข้มข้นโปรตีนลงที่4 % และ 3% คะแนนด้านเนื้อสัมผัสจะลดลงเนื่องจากปริมาณโปรตีนที่ลดลงทำให้มอะแรงส์กักเก็บอากาศไว้ได้น้อย เมอะแรงส์จะไม่ฟูทำให้คะแนนลักษณะปรากฏและการยอมรับรวมลดลง ส่วนคะแนนความรู้สึกด้านกลิ่นพบว่าทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

ดังนั้นปริมาณสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองจากการย่อยด้วย Protin AC 10® ที่ 5% (w/w) สามารถนำมาผลิตเมอะแรงส์ตามสูตรของ Kuchler และ Stine (1974) ได้คุณภาพเช่นเดียวกับเมอะแรงส์จากโปรตีนไข่ขาวที่ระดับความเข้มข้น 7 % รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะของผลิตภัณฑ์เมอะแรงส์ที่ผลิตโดยใช้สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองจากการย่อย Protin AC 10® ในความเข้มข้นระดับต่างๆ

รูปที่ 4.27 ตัวอย่างเมอะแรงส์ที่เตรียมโดยใช้สารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลือง่อยสลายด้วย Protin AC 10® โดยแปรความเข้มข้นโปรตีนในสารให้ฟอง ที่ความเข้มข้น 3 % (1) ความเข้มข้น 4 % (2) ความเข้มข้น 5 % (3) ความเข้มข้น 6 % (4) เปรียบเทียบกับสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาว (5)

ส่วนผลของไขมันในผงโกโก้ที่มีต่อสารให้ฟอง ในแง่การทดสอบทางประสาทสัมผัสเลือกใช้ไขมันจากผงโกโก้ผสมในเมอะแรงส์จากสารให้ฟองที่ผลิตได้ ที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด จากการทดลองที่ผ่านมาคือ เมอะแรงส์ที่ผลิตจากสารให้ฟองที่ย่อยด้วย Protin AC 10® ในระดับความเข้มข้นโปรตีน 5% โดยผสมผงโกโก้ 1 ส่วนต่อสารให้ฟอง 3 ส่วน

(Pintauro,1979) เปรียบเทียบกับเมอะแรงส์ที่เตรียมจากสารให้ฟองที่ย่อยด้วย Protin AC 10® ในระดับความเข้มข้นโปรตีน 5% โดยไม่ผสมผงโกโก้ และเมอะแรงส์ที่เตรียมจากสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาวในระดับความเข้มข้นโปรตีน 7% ที่ไม่ผสมผงโกโก้ และผสมผงโกโก้ เนื่องจากผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับเท่ากับการใช้โปรตีนถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 5% และผลการประเมินค่าทางประสาทสัมผัสแสดงดังตารางที่ 4.29

ตารางที่ 4.29 ค่าการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมของเมอะแรงส์ จากสารให้ฟองโปรตีนไข่ขาวและโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย ที่มีส่วนผสมของน้ำตาล 28.6%และผงโกโก้ 2.14%

	ลักษณะปรากฏ NS	สี NS	กลิ่น NS	เนื้อสัมผัส NS	การยอมรับรวม NS
โปรตีนไข่ขาว ผสมน้ำตาล 28.6 %	7.20 ± 0.84	7.60-± 0.55	6.80 ±. 0.45	7.60 ± 0.55	7.40 ± 0.55
โปรตีนไข่ขาว ผสมน้ำตาล 28.6 % ผงโกโก้ 2.14 %	7.00 ± 1.00	7.20 ± 0.45	7.40 ± 0.55	7.60 ± 0.55	7.40 ± 0.89
โปรตีนถั่วเหลือง ผสมน้ำตาล 28.6 %	7.60 ± 0.55	7.40 ± 0.55	7.00 ± 0.77	7.60 ± 0.55	7.40 ± 0.81
โปรตีนถั่วเหลืองผสมน้ำตาล 28.6 % ผงโกโก้ 2.14 %	7.25 ± 0.79	7.20 ± 0.84	7.60 ± 0.55	7.20 ± 0.84	7.40 ± 0.55

NS = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

พบว่าไขมันจากผงโกโก้ไม่มีผลกระทบต่อค่าทางประสาทสัมผัสเมอะแรงส์ เนื่องจากคะแนนเฉลี่ยการยอมรับของผู้บริโภค ในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$)