

ผลของสารก่อการจับก้อนและวิธีการทำแห้งต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจาก  
ถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

นายประเสริฐ เตชชีวพงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2555  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF COAGULANTS AND DRYING METHODS ON FUNCTIONAL PROPERTIES  
OF MUNG BEAN AND AZUKI BEAN PROTEIN CONCENTRATES

Mr. Prasert Techacheewapong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์               | ผลของสารก่อการจับก่อนและวิธีการทำแห้งต่อสมบัติ       |
|                                 | เชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ |
| โดย                             | นายประเสริฐ เตชชีวพงศ์                               |
| สาขาวิชา                        | เทคโนโลยีทางอาหาร                                    |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์         |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม | อาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช                          |

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(อาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช)

..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.ชนิษฐา ฐานานวงศ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปาริฉัตร หงสประภาส)

ประเสริฐ เตชชีวพงศ์ : ผลของสารก่อการจับก้อนและวิธีการทำแห้งต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ. (EFFECTS OF COAGULANTS AND DRYING METHODS ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF MUNG BEAN AND AZUKI BEAN PROTEIN CONCENTRATES) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : อ.ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช, 139 หน้า.

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของสารก่อการจับก้อน (กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก) ต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ โดยพบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดทั้งสองชนิดที่ปรับค่า pH เท่ากับ 5.0 และตามด้วย 4.5 ได้ร้อยละผลผลิตโปรตีนเข้มข้นมากกว่าการตกตะกอนโปรตีนที่ pH เพียงค่าเดียว จากการตรวจสอบรูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดแต่ละชนิดมีรูปแบบโปรตีนคล้ายคลึงกัน แต่แตกต่างจากรูปแบบโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิ ในด้านองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วชนิดเดียวกันที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกมีปริมาณความชื้นและไขมันไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) แต่มีปริมาณโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน ( $p \leq 0.05$ ) โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่มีความคงตัวของอิมัลชัน ค่า surface hydrophobicity และระดับความเข้มข้นในการเกิดเจลของโปรตีนต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน ในด้านวิธีการทำแห้ง พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่ทำแห้งแบบถาดมีโครงสร้างทางจุลภาคเป็นอนุภาคที่มีขอบชัดเจน และมีการกระจายของขนาดอนุภาคในช่วงกว้างกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการดูดน้ำกลับสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบถาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่มีค่า  $a_w$  และความหนาแน่นรวมต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด ซึ่งผลที่ได้พบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิด้วย ในด้านองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ พบว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณความชื้นต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่มีความคงตัวของอิมัลชัน ค่า surface hydrophobicity และระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด ซึ่งผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันสำหรับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ เมื่อเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งและแบบถาดลงในซูริมิ พบว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่าความแข็งแรง , ค่าการอุ้มน้ำ และค่าความขาวแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อ.....  
 สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....  
 ปีการศึกษา.....2555.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

# # 5372277023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS: PROTEIN CONCENTRATES/ MUNG BEAN/ ADZUKI BEAN/COAGULANTS/DRYING

PRASERT TECHACHEEWAPONG: EFFECTS OF COAGULANTS AND DRYING METHODS ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF MUNG BEAN AND AZUKI BEAN PROTEIN CONCENTRATES. ADVISOR : ASST. PROF. KIATTISAK DUANGMAL, Ph.D., CO-ADVISOR : THANACHAN MAHAWANICH, Ph.D., 139 pp.

This research was aimed at studying the effect of coagulants (hydrochloric acid and citric acid) and drying methods (tray drying and freeze drying) on functional properties of protein concentrates from mung bean (*Vigna radiata* (L.)) and azuki bean (*Vigna angularis*). Both mung bean protein concentrate (MPC) and azuki bean protein concentrate (APC) were prepared using isoelectric precipitation. Protein concentrates obtained by precipitation at pH 5.0 and followed by pH 4.5 exhibited higher yield compared to single pH precipitation. Protein concentrates from both beans treated with either hydrochloric acid or citric acid showed similar protein pattern as revealed by SDS-PAGE but the protein pattern of APC was different from that of MPC. Protein concentrates from the same type of bean treated with either hydrochloric acid or citric acid exhibited no significant difference in moisture and fat contents ( $p > 0.05$ ) but a significant difference was found in protein, ash and carbohydrate contents ( $p \leq 0.05$ ). MPC and APC treated with hydrochloric acid contained significantly higher protein content than those proteins treated with citric acid ( $p \leq 0.05$ ). For functional properties of protein concentrates, MPC and APC treated with hydrochloric acid showed significantly higher solubility, water holding capacity and emulsifying activity index than those treated with citric acid ( $p \leq 0.05$ ); protein concentrates from both beans treated hydrochloric acid had lower emulsifying stability index, surface hydrophobicity and least gelation concentration than those treated using citric acid. The drying methods affected microstructure and physicochemical properties of protein concentrates. MPC and APC obtained from tray drying exhibited more clearly faceted of crystalline and wide-range particle size distribution than MPC and APC from freeze drying. Protein concentrates from both beans obtained from freeze drying showed significantly higher rehydration ( $p \leq 0.05$ ) but they had lower  $a_w$ , bulk density and moisture content than MPC and APC from tray drying. MPC and APC obtained from freeze drying exhibited significantly higher solubility, water holding capacity and emulsifying activity index than those from tray drying ( $p \leq 0.05$ ) whereas emulsifying stability index, surface hydrophobicity and least gelation concentration were lower than those obtained from tray drying. Addition of all protein concentrates showed a pronounced effect on surimi gel quality. The surimi gel containing protein concentrates exhibited a significant difference in gel strength, % expressible drip and whiteness compared to the control ( $p \leq 0.05$ ).

Department : ..... Food Technology ..... Student's Signature .....

Field of Study : ..... Food Technology ..... Advisor's Signature .....

Academic Year : ..... 2012 ..... Co-advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญาโทมหาบัณฑิตและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ โดยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ อาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ทั้งความรู้ และแนวความคิดตลอดการทำงาน พร้อมทั้งเสียสละเวลาอันมีค่าในการให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความช่วยเหลือตลอดการทำวิทยานิพนธ์ จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเกียรติ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ชนิษฐา ธนาอนุวงศ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ปาริฉัตร หงสประภาส ที่ร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำแนะนำ และเสียสละเวลาอันมีค่าสำหรับการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ตามหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และพี่ ๆ ระดับปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือ กำลังใจ และน้ำใจที่มีให้เสมอมา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน สำหรับความช่วยเหลือ และการอำนวยความสะดวกในการวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ รวมถึงญาติทุกท่าน สำหรับความรัก ความห่วงใย การให้กำลังใจและการให้ความสนับสนุนด้วยดีตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

## สารบัญ

|   | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....  | ง    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....   | จ    |
| กิตติกรรมประกาศ.....  | ฉ    |
| สารบัญ.....   | ช    |
| สารบัญตาราง.....  | ฅ    |
| สารบัญรูป.....  | ๗    |
| สัญลักษณ์และคำย่อ.....  | จ    |
| <br>  |      |
| บทที่ 1 บทนำ.....   | 1    |
| บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....   | 3    |
| 2.1 พีชตระกูลถั่ว.....  | 3    |
| 2.2 การสกัดโปรตีนและการตกตะกอนโปรตีน.....   | 5    |
| 2.3 การทำแห้ง.....  | 9    |
| 2.4 การใช้ประโยชน์ของโปรตีนเข้มข้นในผลิตภัณฑ์อาหาร.....   | 13   |
| 2.5 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน.....   | 16   |
| บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย.....   | 26   |
| 3.1 การเตรียมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....  | 28   |
| 3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....  | 30   |
| 3.3 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....  | 30   |
| 3.4 ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ..... | 33   |
| 3.5 ศึกษาการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิต่อคุณภาพของเจลซูริมิ.....                                  | 36   |
| บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....   | 38   |
| 4.1 การเตรียมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....  | 38   |
| 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....   | 45   |
| 4.3 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....   | 47   |

|   | หน้า |
|---|------|
| 4.4 ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของ<br>โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ..... | 57   |
| 4.5 ศึกษาการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิต่อคุณภาพของเจลซูริมิ..   | 71   |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....  | 78   |
| รายการอ้างอิง.....  | 80   |
| ภาคผนวก.....  | 89   |
| ภาคผนวก ก.....  | 90   |
| ภาคผนวก ข.....  | 107  |
| ภาคผนวก ค.....  | 122  |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....   | 124  |



## สารบัญตาราง

| ตารางที่  | หน้า |
|---|------|
| 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียวและถั่วอะซูกิแสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง.....   | 4    |
| 2.2 ความแตกต่างระหว่างการทำแห้งแบบดั้งเดิมและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง.....  | 11   |
| 4.1 ร้อยละผลผลิต (%yield) ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ได้จากแป้งถั่วเขียวและแป้งถั่วอะซูกิ.....                     | 39   |
| 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก.....                         | 46   |
| 4.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก.....                    | 50   |
| 4.4 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก.....               | 52   |
| 4.5 ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก.....               | 53   |
| 4.6 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก.....               | 55   |
| 4.7 ค่า water activity และค่าการดูดน้ำกลับของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบลาดและแบบแช่เยือกแข็ง..... | 61   |
| 4.8 ค่าความหนาแน่นรวม (Bulk density) ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบลาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....      | 62   |
| 4.9 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบลาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....                      | 63   |
| 4.10 ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบลาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....                | 67   |
| 4.11 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบลาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....           | 68   |
| 4.12 ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบลาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....           | 69   |

| ตารางที่  | หน้า |
|---|------|
| 4.13 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำ<br>แห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....   | 71   |
| 4.14 ค่า force, deformation และ gel strength ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้น<br>จากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....           | 72   |
| 4.15 ความสามารถในการอุ้มน้ำแสดงในรูป %expressible drip ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็ม<br>โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง..... | 74   |
| 4.16 ค่าสีและความขาวของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่<br>ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....                                    | 76   |
| ก.1 การเจือจางสารละลาย BSA สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน.....   | 91   |
| ก.2 Molecular weight marker proteins แบบ Wide range 6,500-200,000 Da.....   | 98   |
| ก.3 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม separating gel ความเข้มข้น 10% และ stacking<br>gel ความเข้มข้น 4.5%.....   | 100  |
| ก.4 Specification ของซูริมิที่ซื้อจากบริษัท อนุสรณ์มหาชัยซูริมิ จำกัด.....  | 104  |
| ก.5 ภาวะที่ใช้ในการวัดความแข็งแรงของซูริมิ.....   | 105  |
| ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิตของ<br>โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก.....                                      | 107  |
| ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิตของ<br>โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก.....   | 107  |
| ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิตของ<br>โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก.....                                     | 107  |
| ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิตของ<br>โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก.....  | 108  |
| ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก่อนต่อปริมาณความชื้นของโปรตีน<br>เข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....   | 108  |
| ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก่อนต่อปริมาณไขมันของโปรตีน<br>เข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....  | 108  |
| ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก่อนต่อปริมาณโปรตีนของโปรตีน<br>เข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....   | 109  |

| ตารางที่   | หน้า |
|--|------|
| ข.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อปริมาณเถ้าของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                            | 109  |
| ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                    | 109  |
| ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 3.5.....     | 110  |
| ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 5.5.....     | 110  |
| ข.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 7.5.....     | 110  |
| ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก.....            | 111  |
| ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก.....                 | 111  |
| ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก.....           | 111  |
| ข.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก.....                | 112  |
| ข.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....          | 112  |
| ข.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                 | 112  |
| ข.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนต่อค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....          | 113  |
| ข.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า water activity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ..... | 113  |
| ข.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่าการดูดน้ำกลับของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....    | 113  |



| ตารางที่   | หน้า |
|--|------|
| ข.36 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อความ<br>คงตัวของอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                                | 118  |
| ข.37 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                          | 119  |
| ข.38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>force ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                 | 119  |
| ข.39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>deformation ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....           | 119  |
| ข.40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>gel strength ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....          | 120  |
| ข.41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>%expressible drip ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่ว<br>อะซูกิ..... | 120  |
| ข.42 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>L* ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                    | 120  |
| ข.43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>a* ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                    | 121  |
| ข.44 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>b* ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....                    | 121  |
| ข.45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า<br>whiteness ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ.....             | 121  |

## สารบัญรูป

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 2.1 โครงร่างแบบยึดเกาะระหว่างโปรตีนชนิดอื่นที่เติมลงไปในซูริมกับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน.....   | 15   |
| 2.2 โครงร่างแบบแทรกสอดระหว่างโปรตีนชนิดอื่นที่เติมลงไปในซูริมกับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน.....   | 16   |
| 4.1 รูปแบบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (a) ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและ (b) ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก.....   | 42   |
| 4.2 รูปแบบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิ (a) ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและ (b) ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก.....  | 44   |
| 4.3 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก.....  | 48   |
| 4.4 โครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แบบถาด (a) และแบบแช่เยือกแข็ง (c) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำให้แบบถาด (b) และแบบแช่เยือกแข็ง (d) จาก scanning electron microscope (SEM) กำลังขยาย 550 เท่า.... | 59   |
| 4.5 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำให้แบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง.....   | 65   |
| ก.1 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry.....   | 92   |
| ก.2 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry.....  | 95   |
| ค.1 โครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แบบถาด (a) และแบบแช่เยือกแข็ง (c) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำให้แบบถาด (b) และแบบแช่เยือกแข็ง (d) จาก scanning electron microscope (SEM) กำลังขยาย 200 เท่า.... | 122  |
| ค.2 ลักษณะของเจลซูริมิที่ไม่เติมโปรตีนเข้มข้น (a) เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แบบถาด (b) และแบบแช่เยือกแข็ง (c) เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำให้แบบถาด (d) และแบบแช่เยือกแข็ง (e).....                         | 123  |

### สัญลักษณ์และคำย่อ

- MF-HCI = แป้งถั่วเขียวที่ถูกตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก
- MF-CA = แป้งถั่วเขียวที่ถูกตกตะกอนด้วยกรดซิตริก
- AF-HCI = แป้งถั่วอะซูกิที่ถูกตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก
- AF-CA = แป้งถั่วอะซูกิที่ถูกตกตะกอนด้วยกรดซิตริก
- MPC-HCI = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอน
- MPC-CA = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน
- APC-HCI = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอน
- APC-CA = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน
- MPC-TD = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด
- MPC-FD = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง
- APC-TD = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด
- APC-FD = โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง

## บทที่ 1

### บทนำ

พืชตระกูลถั่วเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่ดี เนื่องจากมีโปรตีนในปริมาณสูง ซึ่งอยู่ในช่วง 16-28% โดยน้ำหนักแห้ง (Sathe, 2002) อีกทั้งพืชตระกูลถั่วยังมีราคาถูก โปรตีนมีคุณภาพสูง สามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนหลายชนิดเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบอาหาร (food ingredient) ในกระบวนการแปรรูปอาหาร ถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย นิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น วุ้นเส้นและเส้นขนม (ขนมเปียะ ถั่วกวน) เป็นต้น ขณะที่ถั่วอะซูกิเป็นพืชตระกูลถั่วอีกชนิดหนึ่งที่เริ่มได้รับความสนใจในประเทศไทย มีการปลูกกันมากในประเทศทางแถบเอเชียโดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศญี่ปุ่น

ในทางการค้าผลิตภัณฑ์โปรตีนจากพืชตระกูลถั่วมักอยู่ในลักษณะโปรตีนเข้มข้น และโปรตีนไอโซเลท โปรตีนเข้มข้นเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีการแยกส่วนน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ เช่น ซูโครส แรฟไฟโนสและสตาคิโอส รวมถึงสารที่มีโมเลกุลต่ำ เช่น กรดไฟติก เป็นต้น ทำให้โปรตีนเข้มข้นที่ได้มีปริมาณโปรตีนอยู่มากกว่าร้อยละ 70 แต่ไม่เกินร้อยละ 90 โดยโปรตีนเข้มข้นสามารถผลิตได้หลายวิธี แต่วิธีการผลิตทั่วไปนิยมใช้การตกตะกอนโปรตีนด้วยสารก่อการจับก้อนประเภทกรดไฮโดรคลอริก โดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่า isoelectric precipitation และตะกอนโปรตีนส่วนใหญ่จะผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง โปรตีนเข้มข้นที่ผลิตได้จะใช้ในการผลิตอาหารเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่บางประการในระบบอาหาร เช่น ความสามารถในการอุ้มน้ำ การเกิดอิมัลชันและการเกิดเจล ในขณะที่โปรตีนไอโซเลทเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีการกำจัดคาร์โบไฮเดรตที่ละลายและไม่ละลายน้ำ รวมทั้งองค์ประกอบอื่นที่ไม่ใช่โปรตีนออกไปให้มากที่สุด ทำให้โปรตีนไอโซเลทมีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 90 (Hettiarachchy, Kalapathy and Wu, 1998)

โปรตีนเข้มข้นทางการค้าส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง มีการใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำสลัด ขนมปังและเนื้อเทียม เป็นต้น โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองมีความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ต่ำและมีปัญหาในเรื่องของกลิ่นรสเฉพาะตัวจึงเป็น



ข้อจำกัดในการนำไปใช้ผลิตอาหารในวงกว้าง ดังนั้นจึงมีแนวความคิดในการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ซึ่งเป็นถั่วเมล็ดแห้งที่มีหาซื้อได้ง่ายและมีปริมาณโปรตีนสูง โดยใช้สารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันสองชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก ผ่านกระบวนการทำแห้งสองวิธี คือ การทำแห้งแบบลาดและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เพื่อศึกษาผลของสารก่อการจับก้อนและวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกันต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นที่ผลิตได้

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยจะเป็นข้อมูลเพื่อการเลือกใช้สารก่อการจับก้อนและวิธีการทำแห้งในการผลิตโปรตีนเข้มข้นที่มีสมบัติเชิงหน้าที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร และยังเป็นทางเลือกใหม่สำหรับการใช้โปรตีนเข้มข้นจากพืชตระกูลถั่วนอกจากถั่วเหลือง

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 พืชตระกูลถั่ว (Legumes)

ถั่วเมล็ดแห้งได้จากพืชตระกูลถั่วซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae พืชในสกุลนี้ปัจจุบันพบประมาณ 700 สกุล แบ่งออกเป็น 18,000 สปีชีส์ (Franc and Martina, 2006) โดยถั่วเมล็ดแห้งเป็นแหล่งอาหารจากพืชที่มีโปรตีนสูง มีคุณภาพดีและราคาถูกกว่าเนื้อสัตว์ ถั่วเมล็ดแห้งสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ ชนิดที่มีโปรตีนสูงไขมันสูง ถั่วชนิดนี้สะสมพลังงานอยู่ในรูปไขมันจัดเป็นพืชน้ำมัน เช่น ถั่วเหลือง และถั่วลิสง เป็นต้น ในขณะที่ถั่วเมล็ดแห้งอีกกลุ่มหนึ่งเป็นชนิดโปรตีนสูงไขมันต่ำ ซึ่งสะสมพลังงานในรูปคาร์โบไฮเดรตและเมล็ดแก่จัดจะมีแป้งมาก เช่น ถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วดำ เป็นต้น (ไชยา เฟิงอูน, 2539)

##### 2.1.1 ถั่วเขียว (Mung bean)

ถั่วเขียว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiata* (L.) Wilczek ในอดีตเรียกว่า *Phaseolus aureus* Roxb. หรือ *Phaseolus radiatus* L. และรู้จักกันในชื่อสามัญว่า mung bean หรือ green gram และในบางประเทศมีการใช้ชื่อ golden gram (Duke, 1981) ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกชนิดใบเลี้ยงคู่ประเภทหนึ่ง ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด โดยเฉพาะดินร่วนที่มีสภาพเป็นกลาง ถั่วเขียวที่นิยมปลูกในประเทศไทย คือ ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวสีทอง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547)

##### 2.1.2 ถั่วอะซูกิ (Azuki bean)

ถั่วอะซูกิ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi เป็นพืชตระกูลถั่วที่อยู่ในสกุลเดียวกับถั่วเขียวผิวมัน (mung bean) และถั่วนี้้วนางแดง (rice bean) นิยมปลูกในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลีและไต้หวัน (Motomiya and Ito, 1972) โดยสายพันธุ์ที่นำมาปลูกในประเทศไทย คือ อิมิโร (Emiro) เป็นสายพันธุ์จากประเทศญี่ปุ่น (สุนีย์ จีงธีรพานิช, 2551)

### 2.1.3 ลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

เมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดถั่วอะซูกิมีลักษณะโครงสร้างที่ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ เปลือกนอก (hull) ใบเลี้ยง (cotyledon) และต้นอ่อน (hypocotyl) ซึ่งใบเลี้ยงเป็นส่วนที่มีมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 90 ของเมล็ด เป็นส่วนที่มีการสะสมของโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรต โดยถั่วเขียวและถั่วอะซูกิมีองค์ประกอบทางเคมีแสดงดังตารางที่ 2.1

โปรตีนส่วนใหญ่ในถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจะกระจายอยู่บริเวณใบเลี้ยง โดยรวมกันเป็นกลุ่มเรียกว่า protein body ที่มีขนาด 1-5 ไมครอน มีส่วนของกลุ่มไขมัน เรียกว่า spherosome กระจายรอบ protein body และมีเม็ดแป้ง (starch granule) ที่มีขนาด 25-40 ไมครอน แทรกตัวอยู่ระหว่าง protein body ซึ่งขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งแตกต่างกันตามชนิดของถั่ว (McEwen, Dronzek and Bushuk, 1974; Wilden, Herman and Chrispeels, 1980)

โปรตีนที่พบในถั่วเขียวและถั่วอะซูกิเป็นชนิดกลอบบูลิน (globulin) ซึ่งมีมากถึง 89% ของโปรตีนทั้งหมดในเมล็ด โดยโปรตีนในถั่วเขียวสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ vicilin (8S), vicilin (7S) และ legumin (11S) คิดเป็นร้อยละ 89, 1.4 และ 7.6 ตามลำดับ (Mendoza et al., 2001) ขณะที่ถั่วอะซูกิจะมีโปรตีนเพียง 2 ชนิด คือ vicilin (7S) และ legumin (11S) คิดเป็นร้อยละ 89 และ 11 ตามลำดับ (Tang and Sun, 2010) โปรตีนส่วนใหญ่ที่พบในถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจะมีกรดอะมิโนในกลุ่มที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (sulphur amino acid) ได้แก่ เมไทโอนีนและซีสเทอีนในปริมาณน้อย และมีกรดอะมิโนไลซีนในปริมาณสูง (Meng and Ma, 2001)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียวและถั่วอะซูกิแสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

| องค์ประกอบทางเคมี | ถั่วเขียว* | ถั่วอะซูกิ** |
|-------------------|------------|--------------|
| ไขมัน             | 0.94       | 1.25         |
| โปรตีน            | 26.0       | 24.0         |
| ถั่ว              | 3.36       | 3.75         |
| คาร์โบไฮเดรต      | 69.7       | 71.0         |

ที่มา: ดัดแปลงจาก \*\*Sathe (2002) และ \*Yousif, Kato and Deeth (2007)

## 2.2 การสกัดโปรตีนและการตกตะกอนโปรตีน (protein extraction and precipitation)

### 2.2.1 วิธีการสกัดโปรตีน

วิธีการสกัดโปรตีนที่ได้จากเมล็ดพืชตระกูลถั่วอาจทำได้โดยการบดถั่วเมล็ดแห้งให้เป็นแป้งถั่ว ถั่วเมล็ดแห้งที่มีปริมาณไขมันสูงจำเป็นต้องสกัดไขมันออกก่อนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น บีโทรลีสมีเออร์ ไดเอทิลอีเธอร์ หรือเฮกเซน แล้วจึงสกัดโปรตีนโดยใช้วิธีการต่างๆ ซึ่งอาจสกัดโปรตีนตามความสามารถในการละลายของโปรตีนแต่ละชนิด เช่น การใช้น้ำเพื่อสกัดโปรตีนในกลุ่มอัลบูมิน (albumin) การใช้สารละลายเกลือเพื่อสกัดโปรตีนกลอบบูลิน (globulin) การใช้สารละลายแอลกอฮอล์เพื่อสกัดโปรตีนโพรลามีน (prolamine) และ การใช้สารละลายกรด-ด่างเจือจางในการสกัดโปรตีนกลูเตลิน (glutelin) เป็นต้น นอกจากนี้ Bressami และ Elias (1974) รายงานว่าสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 N จัดเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการสกัดโปรตีนในเมล็ดถั่วที่ค่า pH ในช่วง 8.0 – 9.5 เนื่องจากโปรตีนทั่วไปในเมล็ดถั่วจะเกิดการละลายได้ดีที่สภาพเป็นด่าง

สมชาย จอมดวง (2528) รายงานว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งถั่วเขียว คือ การใช้อัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1 ต่อ 30 ปรับค่า pH ที่ 9.5 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 N และกวนด้วยเครื่อง magnetic stirrer นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 30 °C สามารถสกัดโปรตีนได้สูงถึงประมาณร้อยละ 92 ของโปรตีนทั้งหมดในแป้งถั่วเขียว

Kinsella และ Nicholas (1976) ศึกษาการสกัดโปรตีนจากแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N ที่ pH 7.0 – 10.0 พบว่าการสกัดโปรตีนในสภาพด่างสามารถสกัดโปรตีนได้มีประสิทธิภาพที่สุด แต่การใช้ด่างที่ pH สูงเกินไป (มากกว่า 9.5) อาจทำให้สกัดโปรตีนได้น้อยลง ซึ่งอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างแป้งถั่วเหลืองและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีน คือ 1 ต่อ 10 และสกัดที่อุณหภูมิ 25 °C

Thompson (1977) รายงานว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งถั่วเขียว คือ อัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1 ต่อ 15 และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N ปรับค่า pH เป็น 9.0 จากนั้นเขย่าที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 20 นาที และตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N ได้เป็นโปรตีนถั่วเขียวสกัดที่มีปริมาณกรดอะมิโนไลซีนสูงแต่มีปริมาณกรดอะมิโนเมไทโอนีนและซีสเทอีนต่ำ

## 2.2.2 การตกตะกอนโปรตีน

ภายหลังการสกัดโปรตีน โปรตีนส่วนใหญ่จะอยู่ในตัวทำละลาย จึงจำเป็นต้องทำการตกตะกอนโปรตีนก่อนนำไปทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ ก่อนนำไปใช้ต่อไป โดยปกติโปรตีนที่อยู่ในสารละลายที่มีน้ำอยู่ด้วย โมเลกุลโปรตีนจะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้ดีกว่ากับโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเอง ส่งผลให้โปรตีนเกิดการละลายได้ ดังนั้นการตกตะกอนโปรตีนจึงเป็นกระบวนการที่ทำให้โมเลกุลโปรตีนเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้น้อยลง และส่งเสริมอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนด้วยกัน เกิดการเกาะกลุ่มและตกตะกอนแยกจากสารละลาย การตกตะกอนโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การให้ความร้อนร่วมกับการปรับค่า pH ให้เข้าใกล้ค่า pI (isoelectric point) ของโปรตีนที่ต้องการแยก การตกตะกอนด้วยเกลือชนิดต่างๆ ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) เฟอริกคลอไรด์ (FeCl<sub>3</sub>) และอะลูมิเนียมซัลเฟต (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>) (Knorr, 1980) แต่วิธีที่นิยมใช้ในการตกตะกอนโปรตีนเพื่อผลิตโปรตีนเข้มข้น คือ การตกตะกอนโปรตีนด้วยสารก่อการจับก้อน หรือสารสร้างตะกอน (coagulants) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้อนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในของเหลว รวมตัวกันเป็นก้อน ช่วยทำให้ตกตะกอนได้ง่ายขึ้น สารก่อการจับก้อนส่วนใหญ่จะเป็นกรดชนิดต่างๆ ทั้งกรดอินทรีย์ เช่น กรดไฮโดรคลอริก (HCl) กรดซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) และกรดไนตริก (HNO<sub>3</sub>) เป็นต้น และอาจเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก (citric acid) กรดอะซิติก (acetic acid) เป็นต้น (Sathe, Deshpande and Salunkhe, 1982) ในการตกตะกอนกรดเหล่านี้จะเหนี่ยวนำโปรตีนให้เกิดการเกาะกลุ่มเพิ่มขึ้น โดยอาศัยกระบวนการที่เรียกว่า isoelectric precipitation

หลักการของกระบวนการ isoelectric precipitation คือ การลดค่า pH ของสารละลายโปรตีนให้เข้าใกล้จุด pI ของโปรตีนในวัตถุประสงค์ที่ต้องการแยก เนื่องจากโปรตีนแต่ละชนิดมีค่า pI เฉพาะตัว เมื่อทำการปรับค่า pH ของสารละลายโปรตีนจนมีค่าเข้าใกล้หรือเท่ากับ pI ประจุสุทธิบนโมเลกุลโปรตีนจะมีค่าเป็นศูนย์ ทำให้แรงผลักทางไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลโปรตีนลดลง โปรตีนเกิดการเคลื่อนที่เข้าใกล้กันมากขึ้นและรวมตัวกันเพื่อตกตะกอนลงมา โดยสารก่อการจับก้อนที่เป็นกรดจะทำหน้าที่ลดค่า pH ของสารละลายโปรตีนให้เข้าใกล้ค่า pI ซึ่งกรดอินทรีย์และกรดอินทรีย์ที่ต่างชนิดกันอาจมีความสามารถในการเร่งการจับก้อนและเกิดการตกตะกอนที่แตกต่างกัน (Salt et al., 1982)

น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป (2547) ศึกษาการใช้กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกต่อการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว โดยทำการตกตะกอนโปรตีนด้วยวิธี isoelectric precipitation ซึ่งปรับค่า pH ของสารละลายโปรตีนเป็น 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณผลผลิต 2.64% ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกมีปริมาณผลผลิต 2.41% โดยคิดจากปริมาตรเริ่มต้นของสารละลายโปรตีน

ฐิติพร แก้วอัมพร (2549) ศึกษาผลของสารก่อการจับก้อนต่อความสามารถในการละลายและความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว โดยการใช้สารก่อการจับก้อนประเภทเกลือ 3 ชนิด ได้แก่ โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และแอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ร่วมกับการใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 พบว่าการตกตะกอนโปรตีนด้วย KCl กับ NaCl ให้ผลผลิตภัณฑโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่มีความสามารถในการละลายสูงที่สุดเท่ากับ 77.98% และ 77.17% ตามลำดับ ขณะที่การตกตะกอนโปรตีนด้วย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ทำให้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ได้มีความสามารถในการละลายต่ำที่สุดเท่ากับ 74.61% ส่วนความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ใช้เกลือ KCl และ NaCl ให้ความสามารถในการอุ้มน้ำใกล้เคียงกันเท่ากับ 0.96 และ 0.95 กรัม/น้ำต่อกรัมโปรตีน ซึ่งมากกว่า

โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำเพียง 0.73 กรัม น้ำต่อกรัมโปรตีน

Knorr (1980) ศึกษาผลของการใช้สารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากมันฝรั่ง โดยใช้สารก่อการจับก้อน 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก ทำการตกตะกอนโปรตีนจากมันฝรั่งที่ค่า pH 3.0 พบว่าโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการตกตะกอนด้วยกรดซิตริก และเมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากมันฝรั่งที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกแสดงความสามารถในการอุ้มน้ำดีกว่าการใช้กรดซิตริกในการผลิตโปรตีนเข้มข้น

Salt และคณะ (1982) ศึกษาผลของการตกตะกอนด้วยกรดต่างชนิดต่อโครงสร้างของโปรตีนถั่วเหลือง โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกและกรดซัลฟูริกในการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเหลืองที่ pH 4.6 พบว่าโปรตีนไกลซินิน (glycinin) ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกเกิดการเสียสภาพธรรมชาติมากกว่าการตกตะกอนด้วยกรดซัลฟูริก ขณะที่การตกตะกอนโปรตีนไกลซินินด้วยกรดซัลฟูริกให้ค่า % recovery สูงกว่าการใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนโปรตีน โดย % recovery จากการใช้กรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริกตกตะกอนโปรตีนไกลซินินเท่ากับ 86% และ 56% ตามลำดับ

Lucena และคณะ (2007) เปรียบเทียบการตกตะกอนแอลฟาแลคตัลบูมินจากโปรตีนเข้มข้นจากเวย์ทางการค้าด้วยสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกัน ซึ่งใช้กรดที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก กรดซิตริกและกรดแลคติก ทำการตกตะกอนโปรตีนโดยปรับค่า pH ของสารละลายโปรตีนเป็น 4.2 พบว่าการใช้กรดซิตริกในการตกตะกอนแอลฟาแลคตัลบูมินจะให้ปริมาณผลผลิตมากกว่าการใช้กรดชนิดอื่นในการตกตะกอน โดยสามารถตกตะกอนโปรตีนได้มากถึง 60% ของโปรตีนที่มีในสารละลายโปรตีนเริ่มต้น เนื่องจากกรดซิตริกมีสมบัติเป็น chelating agent ซึ่งสามารถจับกับ  $\text{Ca}^{2+}$  ในโมเลกุลของแอลฟาแลคตัลบูมินได้ดีกว่ากรดชนิดอื่น ทำให้แอลฟาแลคตัลบูมินสูญเสียความคงตัวและเกิดการคลายตัวได้รวดเร็ว จึงเกิดการเกาะกลุ่มตกตะกอนลงมาได้ดีกว่าการใช้กรดไฮโดรคลอริกและกรดแลคติกในการตกตะกอน

Hrynets และคณะ (2011) เปรียบเทียบการใช้กรดซิตริกและเกลือแคลเซียมคลอไรด์ต่อองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากเนื้อไก่่งวง พบว่าการใช้กรดซิตริกในการตกตะกอนโปรตีนจะทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ได้มีปริมาณโปรตีนถึง 71.2% ขณะที่การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแคลเซียมคลอไรด์ได้ปริมาณโปรตีนเพียง 66.7% และเมื่อพิจารณาปริมาณไขมัน พบว่ากรดซิตริกมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดไขมันออกจากผลิตภัณฑ์โปรตีน เนื่องจากกรดซิตริกแสดงบทบาทในการเป็น binding agent ในการแย่งจับกรดอะมิโนในกลุ่ม basic amino acid ที่เชื่อมต่อกับชั้นฟอสโฟลิปิดของเมมเบรนในเนื้อไก่่งวง ส่งผลให้เมมเบรนเกิดการปลดปล่อยโปรตีนให้มาเกาะกลุ่มรวมกันได้มากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ได้มีปริมาณโปรตีนสูงและปริมาณไขมันลดลงจากการใช้เกลือแคลเซียมคลอไรด์ในการตกตะกอนโปรตีน

### 2.3 การทำแห้ง (Drying)

การทำแห้ง หมายถึง การใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อกำจัดน้ำส่วนใหญ่ออกที่มีอยู่ในอาหาร อาจด้วยวิธีการระเหยน้ำหรือการระเหิด จัดเป็นการถนอมรักษาอาหารวิธีหนึ่ง ขั้นตอนการทำแห้งเป็นขั้นตอนสุดท้ายของการผลิตโปรตีนไม่ว่าจะเป็นโปรตีนเข้มข้นหรือโปรตีนไอโซเลท ซึ่งส่วนใหญ่จะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดและมีปริมาณความชื้นต่ำ ทำให้สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โปรตีนเหล่านี้ไว้ได้นานขึ้น

Sapakie, Stein และ Kaufmann (1984) เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ ต่อน้ำหนักวัตถุดิบ 4,540 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ในหน่วยเงินดอลลาร์สหรัฐ พบว่าการทำแห้งด้วยลมร้อนมีค่าใช้จ่ายต่ำที่สุดเป็นเงินประมาณ 198 ดอลลาร์สหรัฐ ขณะที่การทำแห้งแบบระเหิดจะมีค่าใช้จ่ายสูงสุดคิดเป็นเงินประมาณ 3,528 ดอลลาร์สหรัฐ แม้ว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะมีค่าใช้จ่ายสูง แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็มีคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการที่ดีกว่าการทำแห้งด้วยวิธีอื่น จึงทำให้วิธีการทำแห้งแบบระเหิดยังคงเป็นวิธีการทำแห้งที่อุตสาหกรรมอาหารนิยมเลือกใช้ในปัจจุบัน



### 2.3.1 การทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryers)

เครื่องอบแห้งประเภทนี้ประกอบด้วยกล่องโลหะที่บุด้วยฉนวน ภายในตู้มีชั้นวางถาด แต่ละถาดจะมีช่องตาข่ายอยู่ด้านล่าง ลมร้อนจะไหลหมุนเวียนอยู่ภายในตู้ที่ความเร็วในช่วง 0.5 ถึง 5 เมตรต่อวินาทีต่อตารางเมตรของพื้นที่ผิวของถาด มีระบบท่อหรือแบฟเฟิลเพื่อนำลมร้อนขึ้นไปด้านบน เพื่อให้ลมร้อนกระจายอย่างสม่ำเสมอ อาจมีการติดตั้งเครื่องทำความร้อนเพิ่มบริเวณด้านบนหรือด้านข้างของถาดเพื่อเพิ่มอัตราการทำแห้ง (Fellows, 2000)

กลไกการทำแห้งแบบลมร้อน คือ เมื่อลมร้อนเคลื่อนที่ผ่านผิวหน้าของอาหารที่เปียกจะเกิดการถ่ายเทความร้อนที่ผิวหน้าของอาหาร น้ำในอาหารจะระเหยออกมาด้วยความร้อนแฝงของการเกิดไอ ไอน้ำจะถูกพาไปด้วยลมร้อน เมื่อเวลาทำแห้งผ่านไปความดันไอที่ผิวหน้าของอาหารจะต่ำกว่าด้านในอาหาร ทำให้เกิดความแตกต่างของความดันไอ ซึ่งส่งผลให้เกิดการแพร่ของน้ำจากชั้นในสู่ผิวหน้าและระเหยออกจากอาหาร กระบวนการนี้จะเกิดต่อเนื่องจนกระทั่งตัวอย่างอาหารแห้ง (วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล และคณะ, 2548)

### 2.3.2 การทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryers)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นเทคนิคการทำแห้งที่นิยมใช้กับสารที่มีการสลายตัวได้ง่าย เมื่อถูกความร้อน โดยน้ำจะถูกกำจัดออกโดยการระเหิด

กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกเป็นการแช่เยือกแข็งตัวอย่างจนมีอุณหภูมิต่ำกว่า  $0^{\circ}\text{C}$  จนถึง  $-30^{\circ}\text{C}$  หรือต่ำกว่า ซึ่งทั่วไปนิยมแช่แข็งตัวอย่างแบบรวดเร็ว เนื่องจากผลึกน้ำแข็งที่ได้จะมีขนาดเล็ก ทำให้รูพรุนที่เกิดขึ้นภายหลังการระเหิดมีขนาดเล็กตามไปด้วย ขั้นตอนที่สอง เรียกว่า การทำแห้งปฐมภูมิ เป็นการระเหิดน้ำแข็งที่เปลี่ยนวัฏภาคมาจากน้ำอิสระหรือความชื้นออกจากตัวอย่าง และขั้นตอนสุดท้าย เรียกว่า การทำแห้งทุติยภูมิ เป็นการกำจัดน้ำที่ยึดเหนี่ยวออกจากตัวอย่าง ด้วยการทำให้ความชื้นหรือตัวทำละลายอื่นในตัวอย่างเคลื่อนที่ออกไปในรูปของไอ โครงสร้างของตัวอย่างจึงไม่เกิดความเสียหายจากผลของแรงตึงผิวของของเหลวขณะเคลื่อนที่ผ่านโครงสร้างดังกล่าว เนื่องจากแรงตึงผิวของไอน้ำมีค่าต่ำกว่าแรงตึงผิวของของเหลวมาก ดังนั้นตัวอย่างภายหลังการทำแห้งแบบ

แช่เยือกแข็งจึงมีโครงสร้างที่มีความพรุน (porosity) สูงกว่าการทำแห้งแบบอื่น ทำให้สามารถดูดน้ำกลับได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นวิธีการทำแห้งที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด (ลักกมน เทพหัสดิน ณ อยุธยา, 2555)

กระบวนการทำแห้งแบบลมร้อนดั้งเดิมและแบบระเหิดมีความแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 2.2

**ตารางที่ 2.2** ความแตกต่างระหว่างการทำแห้งแบบดั้งเดิมและการทำแห้งแบบระเหิด

| การทำแห้งแบบดั้งเดิม   | การทำแห้งแบบระเหิด                                |
|--|---|
| อุณหภูมิในช่วง 37 – 93 °C                                    | อุณหภูมิในช่วงต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง                 |
| ความดันบรรยากาศ (101,325 Pa)                                 | ความดันต่ำ (27 – 133 Pa)                          |
| อาศัยการระเหยน้ำจากผิวหน้าอาหาร                              | อาศัยการระเหิดของน้ำแข็ง                          |
| เกิดการกำจัดน้ำอย่างช้าๆ และไม่สมบูรณ์                       | เกิดการกำจัดน้ำอย่างรวดเร็วและสมบูรณ์             |
| แรงดันในอาหารทำให้เกิดความเสียหายของโครงสร้างและเกิดการหดตัว | เกิดความเสียหายของโครงสร้างและเกิดการหดตัวน้อยมาก |
| สีของผลิตภัณฑ์มักจะคล้ำลง                                    | สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อย             |
| อาหารแห้งมีความหนาแน่นสูงกว่าวัตถุดิบ                        | อาหารแห้งมีความหนาแน่นต่ำกว่าวัตถุดิบ             |
| คุณค่าทางโภชนาการลดลง  | คุณค่าทางโภชนาการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก               |
| ต้นทุนต่ำ  | ต้นทุนสูง   |

**ที่มา:** ดัดแปลงจาก Fellows (2000)

ในปัจจุบันการทำแห้งอาหารมีหลายหลายวิธี การเลือกใช้วิธีการทำแห้งเพื่อผลิตโปรตีนเข้มข้นหรือโปรตีนไอโซเลทที่แตกต่างกันส่งผลต่อสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ได้แตกต่างกันด้วย ดังเช่นงานวิจัยดังต่อไปนี้

พงษ์สันต์ อรุณสินทวีพร (2548) เปรียบเทียบวิธีการทำแห้งแบบถาดลมร้อนและวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว โดยใช้การทำแห้งแบบถาดที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ส่วนการทำแห้งแบบพ่นฝอยกำหนดอุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ 180 °C และขาออกที่ 90 °C พบว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ได้จากการทำแห้งแบบถาดลมร้อนและแบบ

พ่นฝอยมีปริมาณโปรตีนร้อยละโดยน้ำแห้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 87.02% และ 87.50% สำหรับการทำให้แห้งแบบถาดลมร้อนและแบบพ่นฝอยตามลำดับ ขณะที่การทำให้แห้งทั้งสองวิธีส่งผลให้ปริมาณความชื้นของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 7.55% และ 3.68% สำหรับการทำให้แห้งแบบถาดลมร้อนและแบบพ่นฝอยตามลำดับ

Knorr (1982) ศึกษาวิธีการทำให้แห้งต่อการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากมันฝรั่งด้วยเครื่องทำให้แห้งที่แตกต่างกันสามรูปแบบ คือ เครื่องทำให้แห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งกำหนดอุณหภูมิลมร้อนเข้าที่ 210 – 220 °C และขาออกที่ 105 – 110 °C เครื่องทำให้แห้งแบบลูกกลิ้งและเครื่องทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำดีที่สุดเท่ากับ 348% (w/w) รองลงมาเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยและแบบลูกกลิ้งตามลำดับ ผลดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าการใช้วิธีการทำให้แห้งที่แตกต่างกัน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ได้แตกต่างกันไปด้วย

Cepeda, Villaran และ Aranguiz (1998) ศึกษาผลของการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งและแบบพ่นฝอยต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจาก faba bean พบว่าการทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็งทำให้โปรตีนเข้มข้นจาก faba bean มีค่า emulsifying activity index สูงกว่าการทำให้แห้งด้วยวิธีแบบพ่นฝอย เนื่องจากการทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็งจะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นที่โครงสร้างมีรูพรุนมาก ประกอบกับโปรตีนยังคงสภาพธรรมชาติที่มากกว่า เมื่อเคลื่อนที่ไปยังบริเวณ oil-water interface จะเกิดการดูดซับน้ำมันที่บริเวณ oil-water interface ได้มากขึ้น ทำให้เกิดอิมัลชันได้ดีขึ้น

Glencross และคณะ (2007) ศึกษาผลของกระบวนการทำให้แห้งที่แตกต่างกันต่อองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลันเตา (lupin protein concentrate) โดยใช้วิธีการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง และแบบพ่นฝอย รวมทั้งตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 150 °C พบว่าการทำให้แห้งที่แตกต่างกันมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลันเตาอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลันเตาที่ผ่านการทำให้แห้งแบบตู้อบลมร้อนมีปริมาณโปรตีนและ

เถ้าสูงที่สุด ขณะที่การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณโปรตีนและเถ้าต่ำสุด ในด้านปริมาณไขมัน พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลันเตาที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะมีปริมาณไขมันสูงที่สุด และการทำแห้งแบบตู้อบลมร้อนจะมีปริมาณไขมันต่ำที่สุด

Joshi และคณะ (2011) ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกันต่อองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิล (lentil protein isolates) ซึ่งใช้วิธีการทำแห้งสามวิธี คือ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ที่อุณหภูมิ 48 °C การทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าและขาออกเท่ากับ 180 °C และ 85 °C ตามลำดับ และการทำแห้งแบบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 60 °C ความดัน 85 kPa พบว่าปริมาณโปรตีนและเถ้าของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเลนทิลที่ผ่านการทำแห้งทั้งสามวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่มีความแตกต่างกันในด้านของขนาดอนุภาค ( $p \leq 0.05$ ) พบว่าโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิลที่ทำแห้งด้วยวิธีพ่นฝอยมีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยเท่ากับ 6.75 ไมครอน ขณะที่การทำแห้งแบบสูญญากาศจะได้โปรตีนไอโซเลทที่มีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยเท่ากับ 228 ไมครอน

## 2.4 การใช้ประโยชน์ของโปรตีนเข้มข้นในผลิตภัณฑ์อาหาร

โปรตีนเข้มข้นที่ผลิตได้หลังการทำแห้งสามารถนำมาใช้งานด้านอุตสาหกรรมอาหารอย่างหลากหลาย ซึ่งโปรตีนเข้มข้นที่นิยมนำมาใช้ เช่น โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง โปรตีนเข้มข้นจากจำข้าว และโปรตีนเข้มข้นจากเวย์ เป็นต้น โดยนำไปทดแทนวัตถุดิบบางชนิดในสูตรอาหารเพื่อเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารใหม่ให้เกิดขึ้น อีกทั้งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและปรับปรุงคุณลักษณะของอาหารโดยอาศัยสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นในด้านต่างๆ เช่น การละลาย การเกิดโฟม การอิมัลชันและการเกิดเจล เป็นต้น รวมทั้งการนำโปรตีนเข้มข้นไปใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตเพื่อการประยุกต์ใช้ต่อไป

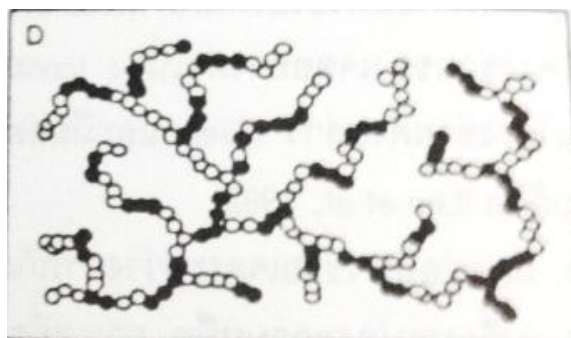
พงษ์สันต์ อรุณสินทวีพร (2548) ศึกษาการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวเพื่อใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์น้ำสลัด ซึ่งทำการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 และปรับค่า pH ของตะกอนโปรตีนก่อนการทำแห้งที่ 7.0 แล้วทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาดที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 8 ชั่วโมง (ความชื้นต่ำกว่า 7%) จากนั้นใช้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ความเข้มข้น 2% (w/v)

ทดแทนการใช้ไข่แดงในสูตรน้ำสลัด พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำสลัดที่ใช้ไข่แดงผงทางการค้ามีความคงตัวของอิมัลชันดีกว่าผลิตภัณฑ์น้ำสลัดที่ใช้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว โดยมีส่วนของวัฏภาคอิมัลชันที่ยังคงตัวอยู่ได้หลัง ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ( $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) เท่ากับ 71.26% และ 49.44% สำหรับน้ำสลัดสูตรไข่แดงผงและโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวตามลำดับ เนื่องจาก ไข่แดงใช้กลไกรักษาความคงตัวของอิมัลชันด้วยอนุภาค (particle stabilization) ที่บริเวณผิวสัมผัส ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวมีกลไกรักษาความคงตัวของอิมัลชันโดยความเกาะของโมเลกุล (steric stabilization) ที่บริเวณผิวสัมผัส และเมื่อพิจารณาด้านการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าผู้บริโภคยอมรับสูตรน้ำสลัดที่ผสมโปรตีนถั่วเขียวในระดับปานกลาง

Drake และคณะ (2000) ทดแทนนมผงพร่องมันเนยด้วยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ซึ่งมีการใช้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 1%, 2.5% และ 5% (w/v) แล้วเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือนที่อุณหภูมิ  $5^{\circ}\text{C}$  พบว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองไม่มีผลต่อระยะเวลาการหมักและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก แต่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้มีความข้นหนืด กลิ่นรสของถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น และการใช้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองที่ระดับ 1 หรือ 2.5% จะได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะใกล้เคียงกับที่ใช้นมผงเป็นส่วนประกอบ

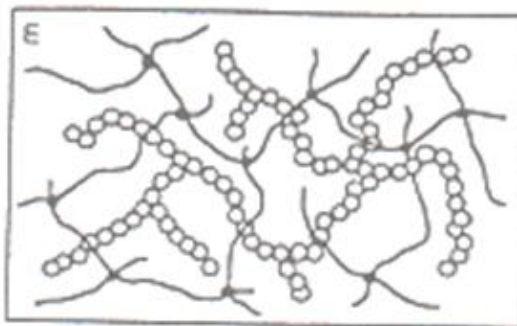
Haper, Jiamyangyuen และ Srijesdaruk (2004) ศึกษาการประยุกต์ใช้โปรตีนเข้มข้นจากรำข้าว (rice bran protein concentrate; RBPC) ในกระบวนการผลิตขนมปัง โดยใช้ RBPC ที่ความเข้มข้น 1 – 5% (w/v) ผสมกับส่วนผสมอื่น จากนั้นนำตัวอย่างขนมปังที่ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและค่า weight loss พบว่าปริมาณโปรตีนและเส้นใยของขนมปังที่เสริมด้วย RBPC มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ RBPC อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม เนื่องจากรำข้าวมีโปรตีนและเส้นใยสูง จึงส่งผลโดยตรงต่อปริมาณโปรตีนและเส้นใย การเพิ่มความเข้มข้นของ RBPC จะทำให้ค่า weight loss ของขนมปังมีค่าลดลง เนื่องจากปริมาณเส้นใยที่สูงจะส่งผลให้ขนมปังสามารถดูดซับน้ำได้มากขึ้น ประกอบกับ RBPC มีความสามารถในการดูดซับน้ำที่ดี ทำให้ขนมปังที่ได้ภายหลังการอบมีความอ่อนนุ่ม ไม่แข็งกระด้างมากเกินไป

Rawdkuen และคณะ (2004) ศึกษาผลการใช้โปรตีนเข้มข้นจากเลือดไก่ต่อการเกิดเจลของชูริมิจากปลากะพงข้างเหลือง (bigeye snapper) โดยเติมโปรตีนเข้มข้นจากเลือดไก่ที่ระดับ 0.25% - 2.00% (w/w) พบว่าค่า breaking force และ deformation ของเจลชูริมิมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโปรตีนที่เพิ่มขึ้นจนถึงระดับ 0.5% เนื่องจากโปรตีนจากเลือดไก่ที่ระดับความเข้มข้นต่ำทำหน้าที่เป็นตัวยึดเกาะ (binder) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน ของเนื้อปลา และเหนี่ยวนำให้เกิดโครงร่างเจลที่แข็งเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนจากเลือดไก่เพิ่มขึ้นมากกว่า 0.5% จะเกิดการยับยั้งการสร้างโครงร่างเจล เพราะปริมาณไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนลดลง รวมถึงโปรตีนเข้มข้นจากเลือดไก่จะขัดขวางการเกิด cross-linking ของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน ทำให้เจลชูริมิที่ได้มีค่า breaking force และ deformation ลดลง นอกจากนี้เมื่อระดับของโปรตีนเข้มข้นจากเลือดไก่เพิ่มขึ้นค่าความยาวของเจลชูริมิมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



**รูปที่ 2.1** โครงร่างแบบยึดเกาะระหว่างโปรตีนชนิดอื่นที่เติมลงไปในชูริมิกับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน  
ที่มา: สุทธิวัฒน์ เบญจกุล, 2549

นอกจากนี้การเสริมสร้างความแข็งแรงของเจล อาจเกิดได้จากการเกิดโครงร่างแบบแทรกสอดระหว่างโปรตีนบางชนิด เช่น โปรตีนถั่วเหลืองกับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน ดังรูปที่ 2.2 ทำให้เจลชูริมิที่ได้มีความแข็งแรงขึ้น



**รูปที่ 2.2** โครงร่างแบบยึดเกาะระหว่างโปรตีนชนิดอื่นที่เติมลงไปในซูริมกับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน  
ที่มา: สุทธิวัฒน์ เบญจกุล, 2549

Dervisoglu, Yazici และ Aydemir (2005) ศึกษาผลของการทดแทน non-fat dry milk ด้วยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง (soy protein concentrate; SPC) ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของไอศกรีม โดยใช้ SPC 3 ระดับ คือ 1.5, 3 และ 4.5% (w/v) แทนการใช้ non-fat dry milk (NFDM) จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน % overrun และระยะเวลาในการละลายเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ใส่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง พบว่าปริมาณไนโตรเจนของไอศกรีมที่เติม SPC มีค่ามากกว่าตัวอย่างควบคุม ขณะที่ค่า % overrun ลดลง เมื่อเพิ่มปริมาณ SPC เนื่องจากโปรตีนจากถั่วเหลืองที่มากขึ้นจะทำให้เกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุล เช่น hydrophobic interaction เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ฟิล์มโปรตีนที่เกิดขึ้นหลังการตีผสมมีความแข็งแรงขึ้นและขยายตัวได้ยาก แต่การทดแทน NFDM ด้วย SPC ทำให้ไอศกรีมละลายได้ช้าลง เนื่องจาก SPC มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า NFDM เมื่อทดแทนแล้วจะทำให้โครงสร้างของไอศกรีมเกิดความหนืดได้มากกว่าจึงชะลอการละลายของไอศกรีมได้

## 2.5 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Functional properties of proteins)

การประยุกต์ใช้โปรตีนเข้มข้นในกระบวนการผลิตอาหารส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการนำสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ สมบัติทางด้านพื้นผิว และความสามารถในการเกิดเจล โดยสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน หมายถึง สมบัติทางกายภาพและเคมีที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของโปรตีนในอาหาร ระหว่างกระบวนการแปรรูป การบริโภคและการเก็บรักษา (Kinsella and Nicholas, 1976)

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ลักษณะปรากฏและการยอมรับของผู้บริโภค สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจะเกิดได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับทั้งปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิ pH และค่า ionic strength เป็นต้น และปัจจัยภายใน เช่น ความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำของโมเลกุลโปรตีน โครงสร้าง ขนาด รูปร่าง น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนกับสารโมเลกุลอื่น รวมถึงชนิด จำนวนและลำดับการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีน เป็นต้น (Damodaran and Paraf, 1997)

### 2.5.1 ความสามารถในการละลาย (Solubility)

ความสามารถในการละลายของโปรตีนเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ในด้านอื่น เช่น การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม และการเกิดเจล เป็นต้น โปรตีนโดยทั่วไปไม่เกิดการละลายที่แท้จริงเมื่ออยู่ในน้ำ เนื่องจากโปรตีนมีขนาดโมเลกุลใหญ่จึงเกิดเป็นลักษณะของคอลลอยด์กระจายตัวในน้ำ การละลายของโปรตีนขึ้นอยู่กับสมดุลของความชอบน้ำและไม่ชอบน้ำของโมเลกุลโปรตีน (hydrophilicity – hydrophobicity balance) ดังนั้นองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโมเลกุลโปรตีนจึงมีผลต่อความสามารถการละลายของโปรตีน อีกทั้งการละลายของโปรตีนยังขึ้นอยู่กับอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับตัวทำละลาย โปรตีนกับโปรตีน และตัวทำละลายกับตัวทำละลายอีกด้วย (Damodaran, 1996)

ความสามารถในการละลายของโปรตีนส่วนใหญ่ยังขึ้นอยู่กับค่า pH เมื่อ pH สูงกว่าหรือต่ำกว่าจุด pI โปรตีนจะมีการเปลี่ยนแปลงของประจุ ทำให้เกิดแรงผลักรังไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ส่งผลให้มีการเพิ่มประจุสุทธิและแรงผลักระหว่างสายโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการละลายน้ำได้มากขึ้น เมื่อปรับค่า pH ของโปรตีนให้เข้าใกล้หรือเท่ากับจุด pI โปรตีนจะมีการละลายน้อยที่สุด เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเท่ากับศูนย์ ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนมากกว่าโปรตีนกับตัวทำละลาย โมเลกุลโปรตีนจึงเข้าใกล้กันได้มากขึ้นและรวมตัวกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่เกิดการตกตะกอนในที่สุด

เกลือมีผลต่อการละลายใน 2 ลักษณะ ทำให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นหรือลดลงก็ได้ โดยในลักษณะแรก เมื่อใช้ ionic strength ต่ำ หรือความเข้มข้นของเกลือน้อยกว่า 0.6 M ไอออน



ของเกลือจะจับกับประจุตรงข้ามของโปรตีนเกิดเป็นชั้นของหมู่ไอออนิกที่ปลดแรงทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุล ทำให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้น เรียกว่า salting in ส่วนอีกลักษณะหนึ่งคือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ หรือ ionic strength มากกว่า 0.6 M จะทำให้การละลายของโปรตีนลดลง เนื่องจากไอออนของเกลือแย่งจับโมเลกุลน้ำที่ล้อมรอบโปรตีน เพื่อให้เกลือเกิดการละลาย ทำให้โมเลกุลโปรตีนที่หลุดออกจากโมเลกุลของน้ำเกิดการรวมตัวกันและตกตะกอน ซึ่งเป็นผลมาจากอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน เรียกว่า salting out (Hall, 1996)

### 2.5.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity)

ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือยึดจับน้ำของโปรตีน หมายถึง จำนวนกรัมของน้ำที่โปรตีนสามารถยึดจับได้ต่อกรัมของโปรตีนเริ่มต้น โดยการยึดจับน้ำของโปรตีนจะอาศัยการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลโปรตีนกับโมเลกุลน้ำแล้วกักเก็บน้ำไว้ภายในโครงสร้างของโปรตีน ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำหรือยึดจับน้ำของโปรตีนมีหลายปัจจัย เช่น สัดส่วนของหมู่อะมิโนที่มีขั้วและไม่มีขั้วในโมเลกุลโปรตีน ชนิดและจำนวนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน ความเข้มข้นของโปรตีน ค่า pH อุณหภูมิและค่า ionic strength เป็นต้น ถ้าโปรตีนเป็นชนิดที่มีกรดอะมิโนซึ่งมีขั้วและมีประจุในปริมาณมากจะสามารถยึดจับน้ำได้สูงสุด รองลงมา คือ โปรตีนที่มีกรดอะมิโนในกลุ่มที่มีขั้วแต่ไม่มีประจุ และโปรตีนที่มีกรดอะมิโนในกลุ่มไม่มีขั้วจะมี ความสามารถในการยึดจับน้ำได้ต่ำที่สุด (Hall, 1996)

ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนยังขึ้นกับวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วย โปรตีนที่ได้จากการตกตะกอนที่จุด pI และตามด้วยการทำให้แห้งจะสูญเสียความเป็นประจุที่ผิวของโมเลกุลทำให้เกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้น้อยลง จึงมีความสามารถในการอุ้มน้ำน้อยกว่าโปรตีนที่ตกตะกอนที่จุด pI และปรับ pH ให้เป็นค่าอื่นก่อนการทำให้แห้ง เพราะการปรับ pH ของตะกอนโปรตีนให้เป็นค่าอื่นก่อนการทำให้แห้งเป็นการทำให้โมเลกุลโปรตีนมีประจุที่ผิวเพิ่มขึ้น ทำให้สามารถสร้างพันธะกับโมเลกุลของน้ำได้ดีขึ้น (Kinsella and Nicholas, 1976)

### 2.5.3 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifying properties)

อิมัลชัน คือ ระบบที่ประกอบด้วยของเหลวสองชนิดที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน มีของเหลวชนิดหนึ่งเป็นวัฏภาคกระจาย (dispersed phase) ซึ่งกระจายตัวอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง (continuous phase) หยดของเหลวที่กระจายตัวจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.1 – 100 ไมครอน อิมัลชันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ หรือ oil-in-water (O/W) เช่น นม มายองเนส เป็นต้น และอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน หรือ water-in-oil (W/O) เช่น เนย มาการีน เป็นต้น

โปรตีนสามารถทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ดี เนื่องจากเป็นสาร amphiphilic โดยมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ในโมเลกุล เมื่อโปรตีนอยู่ในระบบอิมัลชันจะเกิดการดูดซับที่ผิวรอยต่อระหว่างน้ำมันและน้ำ (oil – water interface) ซึ่งโปรตีนจะเกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติ และเกิดการคลายตัวได้เป็นสายพอลิเพปไทด์ที่มีส่วนของสายยาวส่วนที่เป็นห่วง และส่วนที่เป็นหาง โดยส่วนของโปรตีนที่ไม่ชอบน้ำจะดูดซับบนผิวเม็ดน้ำมันและขดมันววนโครงสร้างเข้ากับเม็ดน้ำมันได้ดี ขณะที่ส่วนที่ชอบน้ำจะหันเข้าสู่ส่วนของโมเลกุลน้ำ เกิดโครงสร้างที่ขัดขวางไม่ให้เม็ดน้ำมันเคลื่อนที่มารวมตัวกันเนื่องจากแรง steric force ดังนั้นเม็ดน้ำมันที่ล้อมรอบด้วยโมเลกุลโปรตีนจะสามารถกระจายตัวอยู่ในส่วนของน้ำเกิดเป็นอิมัลชันที่มีความคงตัว โปรตีนที่มีสัดส่วนกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วสูงจะสามารถดูดซับบนเม็ดน้ำมันได้มากจึงเกิดอิมัลชันได้ดี (Pomeranz, 1991) นอกจากนี้ Kinsella และ Nicholas (1976) ได้รายงานว่าการโปรตีนแต่ละชนิดมีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่แตกต่างกัน โดยโปรตีนที่ละลายน้ำได้มากจะสามารถเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี เนื่องจากมีโปรตีนเกิดการละลายไปที่ oil-water interface ในปริมาณมากและเกิดการคลายตัวสร้างอิมัลชันได้รวดเร็วขึ้น นอกจากนี้การเติมเกลือยังทำให้โปรตีนทำงานเป็นอิมัลซิไฟเออร์ดีขึ้น เนื่องจากโปรตีนมีการละลายที่มากขึ้น

### 2.5.4 สมบัติการเกิดโฟม (Foaming properties)

โฟม เป็นระบบคอลลอยด์ประเภทหนึ่งที่มีลักษณะคล้ายกับระบบอิมัลชัน เนื่องจากประกอบด้วยวัฏภาคกระจายที่ส่วนมากเป็นฟองอากาศหรือก๊าซกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคต่อเนื่อง

ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำ ระบบโฟมสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ unstable foam เป็นโฟมที่เกิดขึ้นแล้วไม่มีความคงตัวหรือมีความคงตัวต่ำ เช่น โฟมที่เกิดจากสารละลายของกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และอีกชนิดหนึ่ง คือ metastable foam เป็นโฟมที่เกิดขึ้นแล้วมีความคงตัวสูงกว่าแบบแรก เช่น โฟมที่ได้จากสารละลายโปรตีน (Zayas, 1997)

กลไกการเกิดโฟมเริ่มจากการตีผสมอาหาร ทำให้อากาศบริเวณโดยรอบอาหารถูกดึงเข้าไปในระบบและเกิดเป็นฟองอากาศจำนวนมาก โดยที่แต่ละฟองมีชั้นของเหลวล้อมรอบเกิดเป็นชั้นระหว่างผิวอากาศและน้ำที่เรียกว่า air-water interface ต่อมาโปรตีนจะเกิดการเคลื่อนที่ไปสู่ air-water interface และเกิดการคลายตัวเป็นสายพอลิเพปไทด์ที่มีส่วนหลัก 3 ส่วน คือ ส่วนที่มีลักษณะคล้ายวงแหวน (loop) ที่ประกอบด้วยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) ของกรดอะมิโนที่หันเข้าสู่ชั้นของฟองอากาศ ส่วนที่เป็นปลายหรือหาง (tail) ที่สามารถยื่นไปยังชั้นน้ำได้ และส่วนของโปรตีนสายตรง (train) การคลายตัวของโมเลกุลโปรตีนในลักษณะนี้จะทำให้เกิดเป็นชั้นฟิล์มไปล้อมรอบฟองอากาศเกิดเป็นระบบโฟมที่มีความคงตัวขึ้น โดยที่ความเร็วของการดูดซับที่ air-water interface ขึ้นอยู่กับรูปแบบการกระจายตัวของหมู่มีขั้วและไม่มีขั้วในโปรตีน ในกรณีที่พื้นผิวของโปรตีนมีหมู่มีขั้วมากการดูดซับที่ air-water interface จะเกิดได้น้อย ตรงข้ามกับกรณีที่พื้นผิวของโปรตีนมีหมู่ไม่มีขั้วสูงจะเกิดการดูดซับได้ดีกว่า (Damodaran, Parkin and Fennema, 2008)

การเกิดโฟมของโปรตีนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ pH โดยโปรตีนจะเกิดโฟมที่มีความคงตัวสูงที่ pH ใกล้เคียง pI เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนได้เป็นฟิล์มที่มีความแข็งแรง แต่โฟมที่ได้จะมีปริมาตรต่ำ เพราะโปรตีนเกิดการละลายที่จุดนี้ได้น้อยจึงเกิดการดูดซับที่ air-water interface ได้น้อย (Davis and Foegeding, 2007) นอกจากนี้การเติมเกลือจะช่วยให้โปรตีนมีความสามารถในการเกิดโฟมสูงขึ้น เนื่องจากไอออนของเกลือทำหน้าที่ลดแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลโปรตีนที่ถูกดูดซับและไม่ถูกดูดซับบริเวณ air-water interface ทำให้โมเลกุลโปรตีนถูกดูดซับได้เพิ่มขึ้น เมื่อทำการตีผสมฟองอากาศ ฟิล์มโปรตีนที่ได้จะสามารถขยายตัวได้ง่ายและทำให้ปริมาตรของฟองอากาศเพิ่มขึ้นไปด้วย (Raikos, Campbell and Euston, 2007)

### 2.5.6 ความสามารถในการเกิดเจล (Gelation)

เจล คือ ระบบคอลลอยด์ที่ไม่แสดงการไหล มีลักษณะกึ่งของแข็ง (semi-solid) ประกอบด้วยอนุภาคของแข็งที่สานตัวเป็นร่างแหและสามารถกักเก็บของเหลว โดยส่วนมากเป็นน้ำ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) การเกิดเจลของโปรตีนเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนจาก sol ไปเป็นเจล โดยการเกิดเจลขึ้นอยู่กับสมดุลของแรงดึงดูดและแรงผลักระหว่างโมเลกุลโปรตีน และระหว่างโมเลกุลโปรตีนกับน้ำ หากแรงดึงดูดมากกว่าแรงผลักจะทำให้โมเลกุลโปรตีนเคลื่อนที่เข้ามาใกล้ชิดกันมากขึ้น จนทำให้โครงสร้างเจลกักเก็บน้ำได้ลดลง จึงเกิดกระบวนการที่เรียกว่า syneresis แต่ในทางตรงข้ามถ้าแรงผลักมากกว่าแรงดึงดูด โมเลกุลโปรตีนจะเคลื่อนตัวออกห่างจากกันไม่สามารถเกิดการยึดจับกันได้ส่งผลให้เกิดโครงสร้างเจลได้ยาก (Zayas, 1997)

เจลของโปรตีนมี 2 ลักษณะ คือ coagulum type gel เกิดจากโปรตีนที่สานตัวเป็นร่างแหแบบสุ่มไม่เป็นระเบียบ ลักษณะของเจลจะขุ่นและทึบแสง มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ มีช่องขนาดใหญ่เกิด syneresis ได้ง่าย เช่น เจลของไข่ขาว เจลลูกชิ้นหมู เป็นต้น เจลอีกชนิดหนึ่งคือ translucent gel เป็นเจลที่มีลักษณะใสโปร่งแสง มีความสามารถในการอุ้มน้ำดีและมีความยืดหยุ่น เช่น เจลของเจลาติน และโดยปกติโครงสร้างร่างแหของเจลมีการยึดเหนี่ยวกันด้วยแรงทางเคมีหลายประเภท เช่น hydrogen bond, electrostatic interactions และ hydrophobic interaction เป็นต้น (Damodaran and Paraf, 1997)

โปรตีนที่มีกรดอะมิโนกลุ่มไม่มีขั้วในปริมาณสูงจะทำให้เกิดเป็น coagulum type gel ได้ง่าย เนื่องจากกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วเหล่านี้ยึดเหนี่ยวด้วยแรง hydrophobic เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น ทำให้ hydrophobic interaction มีความแข็งแรงมากขึ้น แต่ถ้าโปรตีนมีกรดอะมิโนชนิดมีขั้วปริมาณสูง เมื่อให้ความร้อนจะทำให้แรงยึดเหนี่ยวที่เกิดจากกรดอะมิโนชนิดมีขั้วอ่อนแอลง ส่งผลให้โครงสร้างเจลที่ได้อ่อนแอตามไปด้วย โปรตีนประเภทนี้ส่วนใหญ่มักจะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนมากกว่าเกิดเป็นเจล

อภิญา นาม (2551) ศึกษาผลของความร้อนต่อการเกิดเจลของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (mung bean protein concentrate; MBPC) ที่ผ่านการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนที่จุด  $pI$  และไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยใช้สารละลายโปรตีนถั่วเขียวที่ความเข้มข้น 25% (w/v) ในการศึกษาการเกิดเจลและรายงานเป็นอุณหภูมิต่ำสุดที่ทำให้เกิดเจลที่คงรูป พบว่า MBPC ที่เตรียมโดยการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนที่จุด  $pI$  สามารถเกิดเจลได้ดีที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}C$  ในขณะที่ MBPC ที่ไม่ได้รับความร้อนสามารถเกิดเจลได้ดีที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}C$  การที่ MBPC จากการเตรียมโดยให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนที่จุด  $pI$  สามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า MBPC ที่ไม่ได้รับความร้อน เนื่องจากเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและการคลายเกลียวบางส่วน ของโปรตีน (partial denaturation) ทำให้โปรตีนมีความไวต่อการปรับสภาวะ เช่น การปรับเปลี่ยน อุณหภูมิและการเปลี่ยนแปลง pH มากขึ้น MBPC ที่ผ่านการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนจึง สามารถเกิดโครงสร้างสามมิติได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเสียสภาพปกติ อีกทั้งการที่ MBPC สามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิที่เสียสภาพธรรมชาติตามปกติ ทำให้ช่วยลดพลังงาน ในการขึ้นรูปเจลและยังสามารถนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำได้

Sathe และคณะ (1982) ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลันเตา (lupin protein concentrate; LPC) โดยเตรียมสารละลายโปรตีนความเข้มข้น 1% (w/v) ปรับ pH ของสารละลายโปรตีนเป็น 2, 4, 6, 8 และ 10 เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย พบว่า LPC แสดงค่าการละลายต่ำสุดที่ pH 4.0 ซึ่งเป็นจุด  $pI$  ของโปรตีนในถั่วลันเตาและการเพิ่ม pH ให้เป็นด่างจะทำให้ LPC มีการละลายสูงกว่าการปรับ pH ให้เป็นกรด โดยมีการละลายสูงสุดที่ pH 12 จากนั้นวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำโดยการผสม LPC จำนวน 1 กรัมกับน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรและวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดเจลของ LPC โดยเตรียมสารละลายโปรตีนความเข้มข้นตั้งแต่ 2% ถึง 16% (w/v) จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ  $100^{\circ}C$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า LPC มีความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 1.37 กรัมต่อกรัมโปรตีน และมีความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่ใช้ในการเกิดเจลได้ที่ 8% (w/v)

Akintayo, Oshodi และ Esuoso (1999) ศึกษาผลของความเข้มข้นโปรตีนต่อความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนเข้มข้นจากถั่ว pigeon (pigeon pea protein concentrate; PPC) โดยใช้สารละลายโปรตีนความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10% (w/v) มาทำการตีปั่น 3 นาที แล้ววิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟม พบว่าความสามารถในการเกิดโฟมของ PPC ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น การใช้ PPC ที่ความเข้มข้น 10% ทำให้ปริมาณโฟมเพิ่มขึ้นถึง 152% ขณะที่การใช้ PPC ที่ความเข้มข้น 2% มีปริมาณโฟมเพียง 80% เนื่องจากโปรตีนใน PPC เป็น globular protein เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความยืดหยุ่นสูง ทำให้เมื่อใช้ PPC ความเข้มข้นสูงจะสร้างฟิล์มโปรตีนที่มีความยืดหยุ่นและลดแรงตึงผิวได้มากขึ้นจึงเกิดการขยายตัวรับฟองอากาศได้มากกว่าการใช้ PPC ที่ความเข้มข้นต่ำ

Rao และคณะ (2002) แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการละลายและการเกิดอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง (soy protein concentrate; SPC) ที่ผลิตโดยวิธี membrane ultrafiltration และโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลือง (soy protein isolate; SPI) ที่ผลิตโดยวิธีการตกตะกอนด้วยกรดที่จุด pI พบว่า SPC และ SPI มีความสามารถในการละลายที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) SPC แสดงความสามารถในการละลายสูงกว่า SPI โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง pH 7 ถึง 10 ซึ่งที่ pH 10 โปรตีนทั้งสองมีการละลายสูงสุด โดย SPC มีค่าการละลายประมาณ 73% ขณะที่ SPI มีค่าการละลายเพียงแค่ 27% เนื่องจากการผลิต SPI ด้วยการตกตะกอนโดยใช้กรดทำให้โปรตีนบางส่วนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและเกิดการคลายตัวเผยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำบนโมเลกุลโปรตีนมากขึ้นทำให้เกิดการละลายได้น้อยลง ในด้านความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนทั้งสองชนิด พบว่า SPI มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่า SPC เนื่องจากการผลิต SPI โดยใช้กรดตกตะกอน ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ได้มีการเผยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำบนโมเลกุลโปรตีนมากขึ้นจึงเกิดอันตรกิริยากับหยดไขมันที่บริเวณ oil-water interface ได้ดีกว่า ส่งผลให้เกิดอิมัลชันได้ดีขึ้น

Adebowale และ Lawal (2003) ศึกษาความสามารถในการละลายและการเกิดเจลของโปรตีนเข้มข้นจากถั่ว mucuna (mucuna protein concentrate; MPC) โดยเตรียมสารละลายโปรตีนความเข้มข้น 1% (w/v) แล้วปรับ pH ของสารละลายโปรตีนให้อยู่ในช่วง 2 – 10 ด้วย

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 0.1 M สำหรับการละลายพบว่า MPC แสดงค่าการละลายต่ำสุดที่ pH ในช่วง 4 – 5 แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นหรือลดลงจากช่วงนี้ MPC จะมีค่าการละลายสูงขึ้น เนื่องจากที่ pH 4 – 5 เป็นช่วง pI ของโปรตีนจากถั่ว mucuna ทำให้ความมีประจุของโปรตีนเข้าใกล้ศูนย์ เกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้น้อยลง สำหรับการเกิดเจล เตรียมโดยใช้สารละลายโปรตีนความเข้มข้นตั้งแต่ 2% ถึง 20% (w/v) แล้วให้ความร้อนอุณหภูมิที่ 100 °C จากนั้นแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า MPC สามารถเกิดเจลได้ที่ความเข้มข้นโปรตีน 12% (w/v) ขึ้นไป

Gao และคณะ (2010) เปรียบเทียบความสามารถในการละลายและการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไฮโซเลทจากถั่ว chickpea สองสายพันธุ์ คือ Kabuli type (G-1 chickpea protein isolate; GCPI) และ Desi type (Z-1 chickpea protein isolate; ZCPI) ซึ่งทำการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N และทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า GCPI และ ZCPI มีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ pH ในช่วง 4 – 5 และมีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น เมื่อค่า pH ออกจากช่วงนี้ โดย GCPI มีความสามารถในการละลายที่ pH 7.0 สูงกว่า ZCPI เล็กน้อย สำหรับการเกิดอิมัลชัน พบว่าโปรตีนไฮโซเลททั้งสองชนิดมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดย GCPI มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่า ZCPI เนื่องจาก GCPI มีความสามารถในการละลายที่สูงกว่า ZCPI จึงเกิดการละลายไปยังบริเวณ oil-water interface ได้รวดเร็วกว่าและโมเลกุลโปรตีนจาก GCPI จะเกิดการคลายตัวโอบล้อมหยดไขมันได้มากขึ้น เร่งกระบวนการเกิดอิมัลชันได้เร็วกว่า ZCPI

Sai-Ut และคณะ (2009) ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโซเลทจากถั่วแดง (red bean) ถั่วอะซูกิ (adzuki bean) และถั่วขาว (navy bean) โปรตีนไฮโซเลททั้งสามชนิดเตรียมจากการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N และทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นวิเคราะห์ความสามารถในการละลายและความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่าโปรตีนไฮโซเลทจากถั่วทั้งสามชนิดมีแนวโน้มการละลายไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีความสามารถในการละลายต่ำสุดในช่วง pH 4 – 5 และเมื่อ pH มากกว่า 6.5 โปรตีนไฮโซเลททั้งหมดมีความสามารถในการละลายมากกว่า 70% เนื่องจากโปรตีนในพืชตระกูลถั่วส่วนใหญ่มี

จุด pI อยู่ในช่วง pH 4-5 ดังนั้นการละลายของโปรตีนในช่วงนี้จึงลดลง สำหรับความสามารถในการคั่งน้ำ พบว่าโปรตีนไอโซเลทจากถั่วขาวแสดงความสามารถในการคั่งน้ำสูงที่สุดเท่ากับ 1.2 กรัมต่อกรัมโปรตีน ซึ่งมากกว่าโปรตีนไอโซเลทจากถั่วแดงและถั่วอะชูกิถึง 3 เท่า ขณะที่โปรตีนไอโซเลทจากถั่วแดงและถั่วอะชูกิไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ของความสามารถในการคั่งน้ำ



### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

##### วัสดุดิบ

เมล็ดถั่วเขียว ตราไร้ทิพย์ จากบริษัท ไทยซีเรียลเวิลด์ จำกัด

เมล็ดถั่วอะซูกิ จากมูลนิธิโครงการหลวง

ซูริมิ (ปลาทรายแดง) แซ่เยือกแข็งเกรด KA จากบริษัท อนุสรณ์มหาชัยซูริมิ จำกัด

(ภาคผนวก ก.4.1)

##### สารเคมี

|   |           |
|---|-----------|
| Acrylamide solution (Amersham Phamacia Biotech, Sweden)       | A.R.grade |
| Ammonium persulphate (Vivantis, USA)                          | A.R.grade |
| 1-anilino-8-napthalene sulfonate (Sigma Aldrich, Switzerland) | A.R.grade |
| Boric acid (Carlo Erba Reagenti, Italy)                       | A.R.grade |
| Bovine serum albumin (Merck, Germany)                         | A.R.grade |
| Bromocresol green (Merck, Germany)                            | A.R.grade |
| Bromophenol blue (Merck, Germany)                             | A.R.grade |
| Butanol (Fischer, UK)   | A.R.grade |
| Citric acid (Univar, Australia)                               | A.R.grade |
| Coomassie brilliant blue R-250 (Panreac, Spain)               | A.R.grade |
| Copper sulfate (QReC™, New Zealand)                           | A.R.grade |
| Di-sodium hydrogen orthophosphate (Univar, Australia)         | A.R.grade |
| Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma Aldrich, Switzerland) | A.R.grade |
| Glacial acetic acid (QReC™, New Zealand)                      | A.R.grade |
| Glycerol (Univar, Australia)                                  | A.R.grade |
| Glycine (Vivantis, USA)                                       | A.R.grade |

|  |           |
|--|-----------|
| Hydrochloric acid (Merck, Germany)                     | A.R.grade |
| 2-mercaptoethanol (Loba Chemie, India)                 | A.R.grade |
| Methyl red (Merck, Germany)                            | A.R.grade |
| Petroleum ether (Fischer, UK)                          | A.R.grade |
| Potassium Chloride (Univar, Australia)                 | A.R.grade |
| Potassium sodium tartrate (Carlo Erba Reagenti, Italy) | A.R.grade |
| Selenium reagent mixture (Carlo Erba Reagenti, Italy)  | A.R.grade |
| Standard protein marker (Sigma Aldrich, Switzerland)   | A.R.grade |
| Sodium carbonate (QReC™, New Zealand)                  | A.R.grade |
| Sodium chloride (Univar, Australia)                    | A.R.grade |
| Sodium deoxycholate (Fluka, Switzerland)               | A.R.grade |
| Sodium dihydrogen orthophosphate (Univar, Australia)   | A.R.grade |
| Sodium dodecyl sulfate (Vivantis, USA)                 | A.R.grade |
| Sodium hydroxide (Carlo Erba Reagenti, Italy)          | A.R.grade |
| Sulfuric acid (QReC™, New Zealand)                     | A.R.grade |
| TEMED (Carlo Erba Reagenti, Italy)                     | A.R.grade |
| Toluene (QReC™, New Zealand)                           | A.R.grade |
| Trichloroacetic acid (Carlo Erba Reagenti, Italy)      | A.R.grade |
| Trisma™ base (Vivantis, USA)                           | A.R.grade |

### อุปกรณ์การทดลอง

|  |
|--|
| Centrifuge (Hettich® Rotanta 460R, Model 5605, USA)                                  |
| Electrophoresis power supply (Amersham Pharmacia Biotech, Model EPS-301, Sweden)     |
| Electrophoresis system, Slab gel (Amersham Pharmacia Biotech Heofer mini VE, Sweden) |
| Food grinder (Kenwood, Model KM800, Britain)   |

Freeze dryer (Thermo Scientific, Model Supermodulyo-230, Germany)

Homogenizer (Ystral X10/20, Ystral, Germany)

Hot air oven (Mettler GmbH+Co.KG, Model 600, Germany)

Moisture analyzer (Satorius, Model MA30, Bradford, Germany)

Muffle furnace (Carbolite, Model CWF-1200, UK)

Soybean grinder (Lita<sup>®</sup> Hatsuyuki, Model NSB-6, Bangkok, Thailand)

Tray dryer (Yeo Heng, Model HA-100S, Bangkok, Thailand)

Texture analyzer (Stable Micro System, Model TA.XT2i, Godalming, UK)

Protein digestion (Buchi, Model K-424, Flawil, Switzerland)

Protein distillation (Velp Scientifica, Model UDK-127, Italy)

Protein scrubber (Buchi, Model B-414, Flawil, Switzerland)

pH meter (Eutech, Model pH2700, Queenstown, Singapore)

Scanning electron microscope (JEOL, Model JSM-5410LV, Tokyo, Japan)

Soxlet apparatus (Gerhardt, Model EV-16, Konigswinter, Germany)

Spectrofluorometer (Jasco, Model FP-6200, Tokyo, Japan)

Spectrophotometer (Thermo Spectronic<sup>®</sup>, Model Genesys 10UV, Rochester, USA)

Water activity meter (Aqua Lab, Model AwCX3TE, USA)

Water bath (TECHNE, Model TE-10D Tempunit, Cambridge, UK)

## ขั้นตอน และวิธีการดำเนินการวิจัย

### 3.1. การเตรียมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

#### 3.1.1 ศึกษาค่า pH ต่อการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

นำถั่วเขียวและถั่วอะซูกิทั้งเมล็ดมาบดด้วยเครื่องบดชนิดลูกหิน (Ball mill) และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 ไมครอน ได้เป็นแป้งถั่วเขียวและแป้งถั่วอะซูกิ จากนั้นเก็บแป้งถั่วเขียวและแป้งถั่วอะซูกิในถุงออลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เพื่อใช้ในการเตรียมโปรตีนเข้มข้นต่อไป

เตรียมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ โดยการผสมแป้งถั่วแต่ละชนิดกับ น้ำกลั่น อัตราส่วน 1:10 (w/v) และปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 9.5 ด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N โดยกวนสารละลายทุก 15 นาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) นำสารละลายภายหลังการปรับค่า pH ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500g เป็นเวลา 20 นาที แยกสารละลายส่วนใส (สารละลายโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ) นำสารละลายโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิมาตกตะกอนด้วยหลักการ isoelectric precipitation โดยใช้สารก่อการจับก้อน 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้น 6 N ซึ่งปรับ pH ของสารละลายโปรตีนเพื่อให้เกิดการตกตะกอนเป็น 4 รูปแบบ (ช่วง pH 4.5-5.0) คือ pH 4.5, pH 5.0, pH 5.0 และตามด้วย 4.5, pH 5.0, 4.8 และตามด้วย 4.5 โดยการตกตะกอนที่ pH มากกว่า 1 จุด ให้ตั้งสารละลายทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) ก่อนการตกตะกอนที่ pH จุดต่อไป จากนั้นนำสารละลายโปรตีนที่ตกตะกอนแล้วไปหมุนเหวี่ยงที่ ความเร็ว 3,500g เป็นเวลา 20 นาที แยกตะกอนโปรตีนและปรับ pH ของตะกอนโปรตีนที่ได้ให้ เป็น 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N และทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบ ภาดที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (ความชื้นสุดท้ายน้อยกว่า 6%) ได้เป็นโปรตีนเข้มข้น ถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ และคำนวณร้อยละผลผลิตโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ จากนั้น เก็บโปรตีนเข้มข้นในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ ต่อไป

เลือกรูปแบบ pH สำหรับการตกตะกอนโปรตีนที่ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุด เพื่อเตรียมโปรตีนเข้มข้นสำหรับการทดลองต่อไป โดยใช้วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้างต้น

### 3.1.2 ศึกษาารูปแบบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

ตรวจสอบรูปแบบโปรตีนด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) ในการทดลองนี้ใช้เจล 10% separating gel และ 4.5% stacking gel จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นทั้งหมดด้วยวิธี Modified Lowry (ภาคผนวก ก.1.2) และคำนวณปริมาณโปรตีนสำหรับ โหลดในเจลให้มีปริมาณโปรตีน 7  $\mu$ g ตั้งค่ากระแสไฟฟ้า 40 mA สำหรับแผ่นเจล 2 แผ่น และ ดำเนินการทดลองดังภาคผนวก ก.2

### 3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

3.2.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามภาคผนวก ก.3.1

3.2.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามภาคผนวก ก.3.2

3.2.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามภาคผนวก ก.3.3

3.2.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามภาคผนวก ก.3.4

3.2.5 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต จากการคำนวณ โดยการนำผลบวกขององค์ประกอบอื่นที่วิเคราะห์ได้ในข้อ 3.2.1 – 3.2.4 หักออกจากค่า 100

### 3.3. ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจากข้อ 3.1.1 จำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก (MPC-HCI และ MPC-CA) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก (APC-HCI และ APC-CA) มาศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นดังนี้

#### 3.3.1 ความสามารถในการละลาย

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว และถั่วอะซูกิ ดัดแปลงจากวิธีของ Adebowale และ Lawal (2003) โดยการละลายโปรตีน 1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับค่า pH ของสารละลายให้เป็น 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N กวนสารละลายโปรตีนด้วย magnetic stirrer นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) นำสารละลายโปรตีนไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000g นาน 15 นาที วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสารละลายส่วนใสด้วยวิธี Lowry (Lowry et al., 1951) ดังแสดงในภาคผนวก ก.1.1 และปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่างวิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl จากนั้นคำนวณความสามารถในการละลายตามสมการดังนี้

$$\% \text{ Protein solubility} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในสารละลายส่วนใส}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง}} \times 100$$

### 3.3.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ

ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity, WHC) คัดแปลงจากวิธีของ Quinn และ Paton (1979) ซึ่งตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิจำนวน 1 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ผสมกับน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ปรับ pH ของตัวอย่างให้แตกต่างกัน 3 ค่า คือ 3.5, 5.5 และ 7.5 จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer ที่ความเร็วสูงสุด นาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) นาน 30 นาที นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,200g นาน 15 นาที เทสารละลายส่วนใสทิ้งแล้วเอียงให้สะเด็ดน้ำประมาณ 15 นาที ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือ คำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นตามสมการ

$$\text{Water holding capacity (WHC)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังปั่นเหวี่ยง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}$$

### 3.3.3 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์

วิเคราะห์สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิจำนวน 1 กรัม โดยคัดแปลงจากวิธีของ Pearce และ Kinsella (1978) เตรียมโปรตีนเข้มข้น 1% (w/v) โดยละลายโปรตีนเข้มข้น 0.3 กรัมด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร และเติมน้ำมันข้าวโพด 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 22,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เจือจางอิมัลชันที่ได้ด้วย 0.1% SDS ในอัตราส่วน 1:400 (v/v) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และคำนวณความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity index, EAI) ดังสมการ

$$EAI (m^2/g) = \frac{2 \times \tau}{c \times \emptyset}$$

$$\tau (\text{ค่าความขุ่น}) = \frac{2.303 \times A_0 \times F}{l}$$

$A_0$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร

$F$  = จำนวนเท่าที่ใช้เจือจางอิมัลชัน

$C$  = ปริมาณโปรตีนเริ่มต้น (กรัม/มิลลิลิตร)

$\emptyset$  = สัดส่วนของน้ำมันที่ใช้ในการทำให้เกิดอิมัลชัน

$l$  = ระยะความกว้างของเซลล์ (เมตร)

วิเคราะห์ความคงตัวของอิมัลชันที่ได้โดยการตั้งสารละลายอิมัลชันทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นดูสัดส่วนที่เป็นอิมัลชันมาเจือจางด้วย 0.1% SDS ในอัตราส่วน 1:400 (v/v) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และคำนวณความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability index, ESI) ดังสมการ

$$ESI (min) = \frac{\tau \times \Delta t}{\Delta \tau}$$

$\Delta \tau$  = ค่าความขุ่นที่เปลี่ยนไป

$\Delta t$  = ระยะเวลาที่เปลี่ยนไป (นาที)

### 3.3.4 วิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity

วิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ดัดแปลงจากวิธีของ Wagner และ Anon (1990) โดยตั้งโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ 0.3 กรัมละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 100 ml กวนสารละลายโปรตีนด้วย magnetic stirrer นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000g นาน 20 นาที วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายส่วนใสด้วยวิธี Lowry (ภาคผนวก ก.1.2) และแบ่งสารละลายใสมาเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ความเข้มข้น 0.01 M ให้ได้ปริมาณโปรตีนในช่วงความเข้มข้น 0.010 – 0.035 %

(w/v) จากนั้นปิเปตสารละลายโปรตีนแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 3 มิลลิลิตร เติม fluorescent probe (8 mM 1-anilino-8-naphthalene sulfonate, ANS ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ความเข้มข้น 0.1 M) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร นำไปวัดค่า fluorescent intensity โดยตั้งค่า excitation wavelength ที่ 390 nm และ emission wavelength ที่ 470 nm พร้อมทั้งกำหนดค่า excitation และ emission slit width ที่ 5 และ 5 nm ตามลำดับ ด้วย Spectrofluorometer จากนั้นพลอตกราฟระหว่าง fluorescent intensity กับปริมาณโปรตีนในช่วงความเข้มข้น 0.010 – 0.035 % (w/v) ความชันของกราฟที่ได้คือค่า surface hydrophobicity โดยใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นสารมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นเดียวกันกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 3.3.5 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจล

ระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจลของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ดัดแปลงจากวิธีของ Adebowale และ Lawal (2003) โดยการเตรียมตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 % (w/v) ปิเปตใส่หลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 30 นาที แล้วทำให้เย็นทันที จากนั้นนำไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 1 ชั่วโมง ตรวจสอบระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้โดยไม่มีของเหลวแยกตัวหรือไหลออกมา

### 3.4. ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

เลือกตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ใช้สารก่อการจับก้อน ซึ่งให้ปริมาณโปรตีน ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ และระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจลดีที่สุด มาเตรียมตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิดังข้อ 3.1.1 โดยการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบถาด ที่อุณหภูมิ 55 °C ระยะเวลา 8 ชั่วโมงและแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช ได้เป็นโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจำนวน 4 ตัวอย่าง คือ โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งด้วยลมร้อนแบบถาด และแบบ



แช่เยือกแข็ง (MPC-TD และ MPC-FD) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ทำแห้งด้วยลมร้อนแบบ ถาดและแบบแช่เยือกแข็ง (APC-TD และ APC-FD)

### 3.4.1 ศึกษาโครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ที่ผ่านวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกัน

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิบรรจุลงใน aluminium stub จากนั้นทำการเคลือบด้วยทอง และวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคด้วยเครื่องกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) โดยใช้ค่าศักย์ไฟฟ้าเร่งอิเล็กตรอน 15 กิโลโวลต์ และถ่ายภาพที่กำลังขยาย 200 และ 550 เท่า

### 3.4.2 การวัดค่า water activity ( $a_w$ )

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นใส่ถ้วยตัวอย่าง สำหรับวัดค่า  $a_w$  ด้วยเครื่อง water activity meter (Aqua Lab, Model AwCX3TE, USA) ปิดฝาทิ้งไว้ให้เข้าสู่ภาวะสมดุลประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าสู่เครื่องวัดค่า  $a_w$

### 3.4.3 ศึกษาการดูดน้ำกลับของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ ผ่านวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกัน

เตรียมสารละลายเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์อิ่มตัว (ความชื้นสัมพัทธ์ 84%) ที่ อุณหภูมิ  $30 \pm 2$  °C โดยละลาย KCl จำนวน 200 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้ว คนในระหว่างเตรียมสารลงไป รอจนสารไม่สามารถละลายได้อีก จากนั้นชั่งตัวอย่างโปรตีนเข้มข้น จากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ 1.0000 กรัมลงในถ้วยอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน และนำไปวาง ในโถแก้วซึ่งบรรจุสารละลายเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์อิ่มตัว พร้อมทั้งบรรจุสารละลายโทลูอีนลงใน แก้วขนาดเล็กที่หุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ด้านบนเจาะรู 2-3 รู เพื่อให้ไอโทลูอีนระเหยได้ เก็บแก้ว ที่บรรจุโทลูอีนลงในโถแก้วที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัวไว้ ( $30 \pm 2$  °C) ทำการชั่งน้ำหนักของ ตัวอย่างเมื่อเก็บรักษาทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างคงที่ ( $\pm 0.05\%$  ของน้ำหนักเริ่มต้น) รายงานค่าการดูดน้ำกลับเป็นกรัมของน้ำที่ถูกดูดซับต่อกรัมตัวอย่าง

### 3.4.4 การวัดค่าความหนาแน่นรวม

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เคาะภาชนะบรรจุตัวอย่าง ให้ได้ปริมาตรตามต้องการ และนำไปชั่งน้ำหนัก รายงานค่าความหนาแน่นรวม (bulk density) เป็นน้ำหนักของตัวอย่างต่อปริมาตร (กรัม/มิลลิลิตร)

### 3.4.5 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว และถั่วอะซูกิที่ผ่านวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกัน

3.4.5.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามข้อ 3.2.1

3.4.5.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามข้อ 3.2.2

3.4.5.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามข้อ 3.2.3

3.4.5.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC. (2000) ตามข้อ 3.2.4

3.4.5.5 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต จากการคำนวณ โดยการนำผลบวกขององค์ประกอบอื่นที่วิเคราะห์ได้ในข้อ 3.4.3.1-3.4.3.4 หักออกจากค่า 100

### 3.4.6 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกัน

3.4.6.1 ความสามารถในการละลาย ตามข้อ 3.3.1

3.4.6.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ ตามข้อ 3.3.2

3.4.6.3 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ตามข้อ 3.3.3

3.4.6.4 วิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ตามข้อ 3.3.4

3.4.6.5 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจล ตามข้อ 3.3.5

### 3.5. การเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิต่อคุณภาพของเจลซูริมิ

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจากข้อ 3.4 มาใช้ในกระบวนการผลิตเจลซูริมิ ดังนี้

#### 3.5.1 การเตรียมเจลซูริมิจากการทดแทนด้วยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิมาศึกษาการผลิตเจลซูริมิโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น โดยเตรียมเจลซูริมิจากการดัดแปลงวิธีของ Mahawanich, Lekhavichitr และ Duangmal (2010) นำซูริมิ (ปลาทรายแดง) แช่เยือกแข็งมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 °C) นานประมาณ 2 ชั่วโมง จนตัวอย่างซูริมามีอุณหภูมิประมาณ 0 – 4 °C สุ่มตัวอย่างซูริมิไปวัดปริมาณความชื้นโดยใช้เครื่อง moisture analyzer จากนั้นหั่นตัวอย่างเป็นชิ้นเล็กๆ บดผสมซูริมิให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที ด้วยเครื่องสับผสม เติมโปรตีนเข้มข้นที่ความเข้มข้น 2% (w/w) ลงในน้ำที่ใช้ปรับความชื้นของซูริมิให้เป็น 78% กวนสารละลายโปรตีนเป็นเวลา 1 ชั่วโมงด้วย magnetic stirrer นำไปแช่เย็น และนำมาผสมกับซูริมิ จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 3% (w/w) ของน้ำหนักซูริมิ สับผสมต่ออีก 2 นาที จนได้ซูริมิเพสต์ (surimi paste) ที่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยควบคุมอุณหภูมิระหว่างบดผสมให้ต่ำกว่า 10 °C จากนั้นอัดซูริมิเพสต์ลงในไส้เทียม (casing) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 cm สูง 20 cm ปิดปลาย casing ทั้ง 2 ด้านและรัดให้แน่นด้วยเชือก นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C นาน 20 นาที ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วด้วยน้ำแข็งประมาณ 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.5.2 การวิเคราะห์คุณภาพของเจลซูริมิ

วิเคราะห์คุณภาพเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมเจลซูริมิที่ไม่ได้ใส่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ดังนี้

### 3.5.2.1 วัดค่าความแข็งแรงของเจล

วัดค่าความแข็งแรงของเจลซูริมิด้วยเครื่อง Texture analyzer ดัดแปลงจากวิธีการของ Lainer และคณะ (1992) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก.4.2

### 3.5.2.2 วัดค่า expressible drip ของเจลซูริมิ

วัดค่า expressible drip ของเจลซูริมิ ดัดแปลงจากวิธีการของ Rawdkuen และคณะ (2004) โดยวิเคราะห์ในรูปของปริมาณสารละลายที่เจลปลดปล่อยออกมาตัดตัวอย่างเจลซูริมิให้ได้ความหนาประมาณ 0.5 cm นำไปชั่งน้ำหนัก นำกระดาษกรอง Whatman No. 1 วางลงด้านบนของตัวอย่าง 1 แผ่นและด้านล่าง 2 แผ่น จากนั้นกดด้วยแรงกดคงที่ 5 kg ด้วยตุ้มน้ำหนัก เป็นเวลา 2 นาที ชั่งน้ำหนักเจลซูริมิที่ได้และคำนวณค่าปริมาณน้ำที่ปลดปล่อยออกตามสมการต่อไปนี้

$$\text{Expressible drip (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนกด (g)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังกด (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนกด (g)}} \times 100$$

### 3.5.2.3 การวัดค่าสี

วัดสีของเจลซูริมิโดยใช้เครื่องวัดสีในระบบ CIE L\* a\* b\* ด้วยเครื่อง Minolta Chromameter ใช้แหล่งกำเนิดแสง D<sub>65</sub> มุมการมอง 10° คำนวณค่าความขาว (whiteness) โดยใช้สูตรตามวิธีของ Lainer (1992) รายละเอียดในภาคผนวก ก.4.3

## 3.6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองข้อ 3.1-3.4 ทั้งหมด 3 ซ้ำ และข้อ 3.5 ทั้งหมด 2 ซ้ำ ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ analysis of variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS v.17 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การเตรียมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

##### 4.1.1 ผลของค่า pH ต่อการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

ขั้นตอนก่อนการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจะนำแป้งถั่วแต่ละชนิดผสมน้ำกลั่น และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 M เพื่อปรับ pH ในการสกัดให้เท่ากับ 9.5 ซึ่งจะทำให้โปรตีนส่วนใหญ่ที่ยึดเกาะกับแกรนูลของสตาร์ชเกิดการละลายออกมา หลังจากนั้นจึงใช้สารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันสองชนิด (กรดไฮโดรคลอริก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 6 M) ในการปรับ pH ของสารละลายโปรตีนให้เข้าใกล้ค่า pI ทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนลงมา จากตารางที่ 4.1 พบว่าการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ค่า pH แตกต่างกัน ทำให้ได้ร้อยละผลผลิตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตาราง ข.1-ข.4 โดยการตกตะกอนโปรตีนที่ pH มากกว่า 1 จุด จะได้รับร้อยละผลผลิตมากกว่าการตกตะกอนโปรตีนที่ pH เพียงแค่จุดเดียว มีรายงานว่าโปรตีนที่พบในพืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเหลือง (Kinsella, 1979), ถั่วเขียว (Gao et al., 2010) ถั่วแดงและถั่วอะซูกิ (Sai-Ut et al., 2009) มีค่า pI อยู่ในช่วง pH เท่ากับ 4.0 – 5.0 ซึ่งโปรตีนที่พบในถั่วส่วนใหญ่เป็นชนิด vicilin และ legumin ซึ่งมีค่า pI ที่ช่วง pH ประมาณ 4.6-5.0 (Derbyshire, Wright and Boulter, 1976) และ 4.5-5.5 (Sathe, 2002) ตามลำดับ ดังนั้นการตกตะกอนโปรตีนที่ค่า pH 2 จุด คือ pH 5.0 ตามด้วย pH 4.5 และการตกตะกอนโปรตีนที่ค่า pH 3 จุด คือ pH 5.0 ตามด้วย pH 4.8 และ pH 4.5 จะทำให้โปรตีนชนิดต่างๆ ในถั่วเกิดการตกตะกอนได้มากกว่าการตกตะกอนที่ค่า pH 4.5 หรือ 5.0 เพียงจุดเดียว ส่งผลให้ร้อยละผลผลิตโปรตีนภายหลังการทำแห้งมีปริมาณสูงขึ้น แต่ร้อยละผลผลิตจากการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 2 จุด และ 3 จุด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เนื่องจากเป็นไปได้ว่าโปรตีนที่มีค่า pI ที่ pH 4.8 หรือใกล้เคียงมีปริมาณเพียงเล็กน้อย ทำให้ส่งผลต่อร้อยละผลผลิตน้อยมากเมื่อทำการตกตะกอนโปรตีน

**ตารางที่ 4.1** ร้อยละผลผลิตของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ได้จากแป้งถั่วเขียวและแป้งถั่วอะซูกิ

| pH               | MF-HCl                    | MF-CA                     | AF-HCl                    | AF-CA                     |
|------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 4.5              | 16.92 <sup>b</sup> ± 0.02 | 15.67 <sup>b</sup> ± 0.02 | 15.14 <sup>b</sup> ± 0.08 | 14.57 <sup>b</sup> ± 0.03 |
| 5.0              | 16.62 <sup>b</sup> ± 0.30 | 15.40 <sup>c</sup> ± 0.05 | 14.67 <sup>c</sup> ± 0.03 | 14.06 <sup>c</sup> ± 0.04 |
| 5.0 และ 4.5      | 17.22 <sup>a</sup> ± 0.01 | 16.49 <sup>a</sup> ± 0.02 | 16.37 <sup>a</sup> ± 0.02 | 15.34 <sup>a</sup> ± 0.02 |
| 5.0, 4.8 และ 4.5 | 17.19 <sup>a</sup> ± 0.03 | 16.47 <sup>a</sup> ± 0.01 | 16.34 <sup>a</sup> ± 0.02 | 15.36 <sup>a</sup> ± 0.02 |

\*A,B,C....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

การตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิจะได้ร้อยละผลผลิตที่แตกต่างกัน ซึ่งการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวจะได้ร้อยละผลผลิตมากกว่าการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วอะซูกิเมื่อใช้สารก่อการจับก้อนทั้งสองชนิด ทั้งนี้เนื่องจากถั่วอะซูกิมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าถั่วเขียว โดยถั่วอะซูกิมีปริมาณโปรตีนภายในเมล็ดร้อยละ 24 ขณะที่ถั่วเขียวมีปริมาณโปรตีนภายในเมล็ดร้อยละ 26 โดยน้ำหนักแห้ง (Sathe, 2002) โดยทั่วไป protein bodies ในเมล็ดพืชสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ (1) protein bodies ที่ภายในบรรจุ amorphous protein ซึ่งอยู่ภายใน proteinaceous matrix, (2) protein bodies ที่ภายในมีบริเวณ globoid ที่มีกรดไฟติกอยู่ร่วมกับ amorphous protein และ (3) protein bodies ที่มีบริเวณของ crystalloid ซึ่งป็นโปรตีนกับ globoid อยู่ร่วมกับ amorphous protein (Pernollet, 1987) มีรายงานว่าถั่วทั้งสองชนิดมี protein bodies ที่แตกต่างกัน ซึ่งถั่วเขียวจะมีโปรตีนสะสม (storage proteins) ในลักษณะของ protein bodies ที่ภายในบรรจุ amorphous protein ในส่วนของ proteinaceous matrix ขณะที่ถั่วอะซูกิจะมีโปรตีนสะสมในลักษณะของ protein bodies ที่มีบริเวณที่เป็น globoid ร่วมอยู่กับ amorphous protein (Hsieh, Swanson and Lumpkin, 2002)

น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป (2547) รายงานว่าถั่วเขียวผ่าซีกและถั่วเขียวทั้งเมล็ดที่ตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ pH 4.5 มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 3.32 และ 2.64% (คิดจากปริมาตรเริ่มต้นของสารละลายโปรตีน) ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการใช้กรดซิตริกที่ pH 4.5 ในการตกตะกอนโปรตีนที่มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 2.99 และ 2.41% ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาในด้านของสารก่อการจับก้อน พบว่าการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิด้วยสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันทำให้ได้ร้อยละผลผลิตแตกต่างกัน โดยการใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนโปรตีนจะได้ร้อยละผลผลิตมากกว่าการใช้กรดซิตริกในการตกตะกอนโปรตีน อาจเนื่องจากโปรตีนสะสมของพืชตระกูลถั่วอยู่ภายใน protein bodies และยึดเกาะอยู่บริเวณโดยรอบแกรนูลของสตาร์ชด้วยพันธะไฮโดรเจนอย่างแข็งแรง (Harris and Chrispeels, 1975; Hoover, 1991) พร้อมทั้งมี spherosomes ที่เป็นเมนเบรนออร์แกนเนลล์ที่มีชั้นฟอสโฟลิปิดเพียงชั้นเดียว (Bhatnagar and Sawhney, 1981) ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมไขมัน (lipid storage) แทรกอยู่ระหว่าง protein bodies และแกรนูลของสตาร์ช (Wolf and Baker, 1975; Aykroyd, Doughty and Walker, 1982) เมื่อแช่แป้งถั่วแต่ละชนิดในสารละลายต่างและตามด้วยการเติมสารก่อการจับก้อน จะทำให้เกิดการจับก้อนและการตกตะกอนของโปรตีน ซึ่งการใช้กรดไฮโดรคลอริกที่เป็นกรดแก่จะสลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างคาร์โบไฮเดรตกับโปรตีนได้มากกว่ากรดซิตริกที่เป็นกรดอ่อน (Salt et al., 1982; Hoover, 1991) ทำให้โปรตีนเกิดการหลุดออกมาและรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนเพื่อตกตะกอนได้มากขึ้น

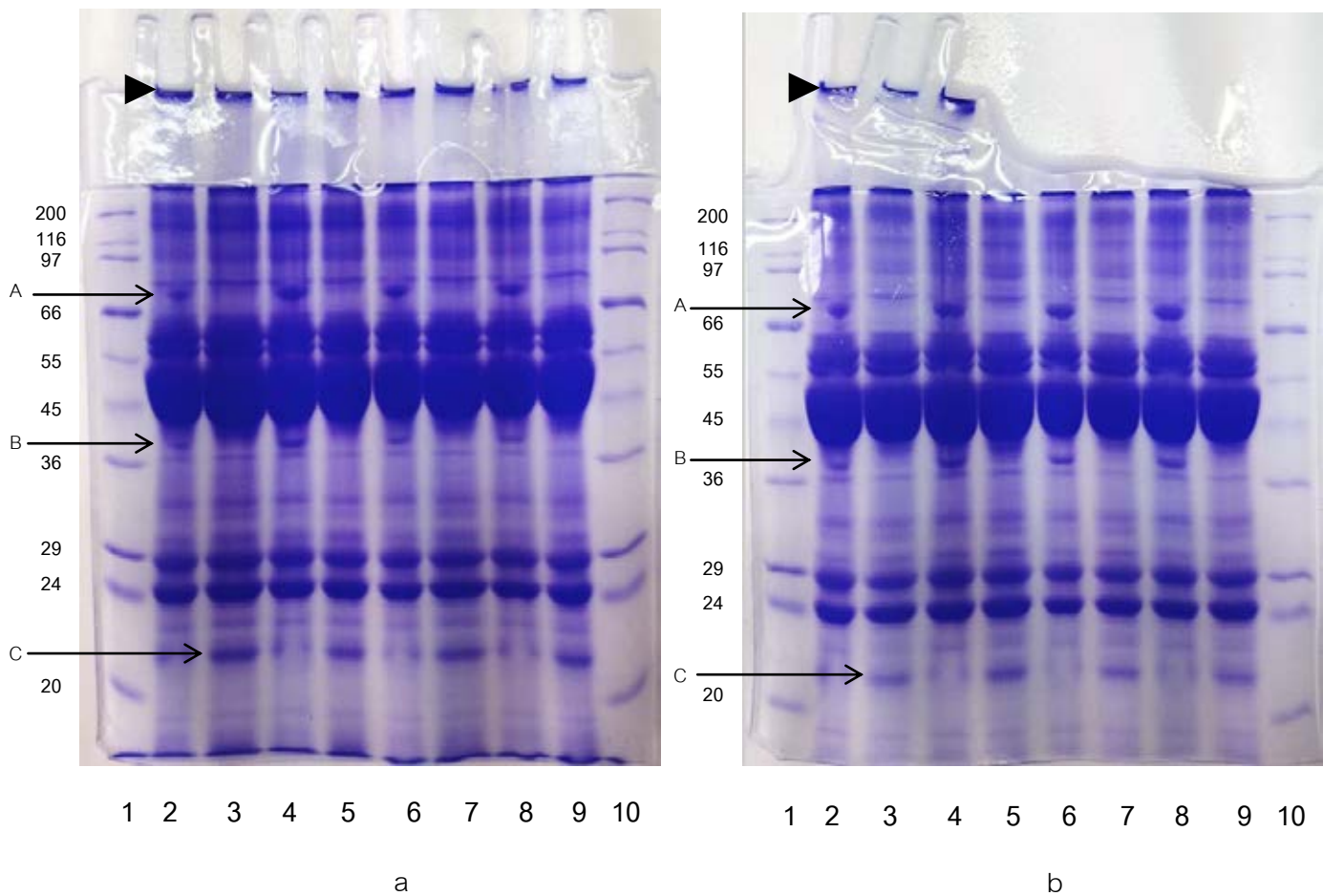
โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดทั้งสองชนิดอาจมีสารอื่นนอกจากโปรตีน เช่น คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ที่สามารถตกตะกอนลงมาพร้อมกับโปรตีนด้วย ส่งผลให้เกิดความแตกต่างในด้านขององค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีผลต่อร้อยละผลผลิตที่ได้ ดังแสดงในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นในหัวข้อที่ 4.2

#### 4.1.2 ผลของสารก่อกการจับก้อนต่อรูปแบบแถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

ศึกษารูปแบบแถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) เมื่อพิจารณา lane ที่ 2, 4, 6 และ 8 ของรูปที่ 4.1a และ b ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่ใส่  $\beta$ -mercaptonethanol พบว่าไม่มีความแตกต่างของจำนวนแถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกที่ค่า pH 4 รูปแบบ (pH 4.5, pH 5.0, pH 5.0 ตามด้วย 4.5, pH 5.0 ตามด้วย pH 4.8 และ pH 4.5) จึงเป็นไปได้ว่าชนิดของสารก่อกการจับก้อนไม่มีผลต่อรูปแบบแถบโปรตีนที่ได้ แถบโปรตีนที่พบเด่นชัดมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 65, 47, 28 และ 24 kDa อีกทั้งยังพบแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 69 และ 40 kDa ที่จุด A และ B ด้วย ซึ่งแถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นที่พบชัดเจนและมีความเข้มดังกล่าวอาจเป็นโปรตีนชนิดหลักที่พบในถั่วเขียว โดย Mendoza และคณะ (2001) ได้รายงานว่ามีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับข้างต้นเป็นของโปรตีนชนิดหลักที่พบในถั่วเขียว ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ 11S legumin ที่เป็นโมเลกุลโปรตีนแบบ trimer ซึ่งยึดติดกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ 7S vicilin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 69 และ 40 kDa ตามลำดับ และ 8S vicilin ที่เป็นโมเลกุลโปรตีนแบบ tetramer ประกอบด้วย 4 แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 60, 48, 32 และ 26 kDa

จากการใส่  $\beta$ -mercaptonethanol ใน lane 3, 5, 7, 9 ของรูปที่ 4.1a และ b พบว่าแถบโปรตีนที่ได้มีความแตกต่างจากแถบโปรตีนที่ไม่ได้ใส่  $\beta$ -mercaptonethanol ซึ่งการใส่  $\beta$ -mercaptonethanol มีผลต่อแถบโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยสารก่อกการจับก้อนทั้งสองชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 69 และ 40 kDa ที่จุด A และ B ตามลำดับ ทำให้แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวเกิดการหายไป และปรากฏเป็นแถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 22 kDa ที่จุด C ขึ้นมาแทน ซึ่งเป็นไปได้ว่าการใส่  $\beta$ -mercaptonethanol จะเกิดการสลายพันธะไดซัลไฟด์ของโมเลกุลโปรตีนที่รวมตัวกันให้โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 69 และ 40 kDa ให้เป็นโปรตีนหน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลง โดย Tang และ Sun (2010) รายงานว่าการใส่





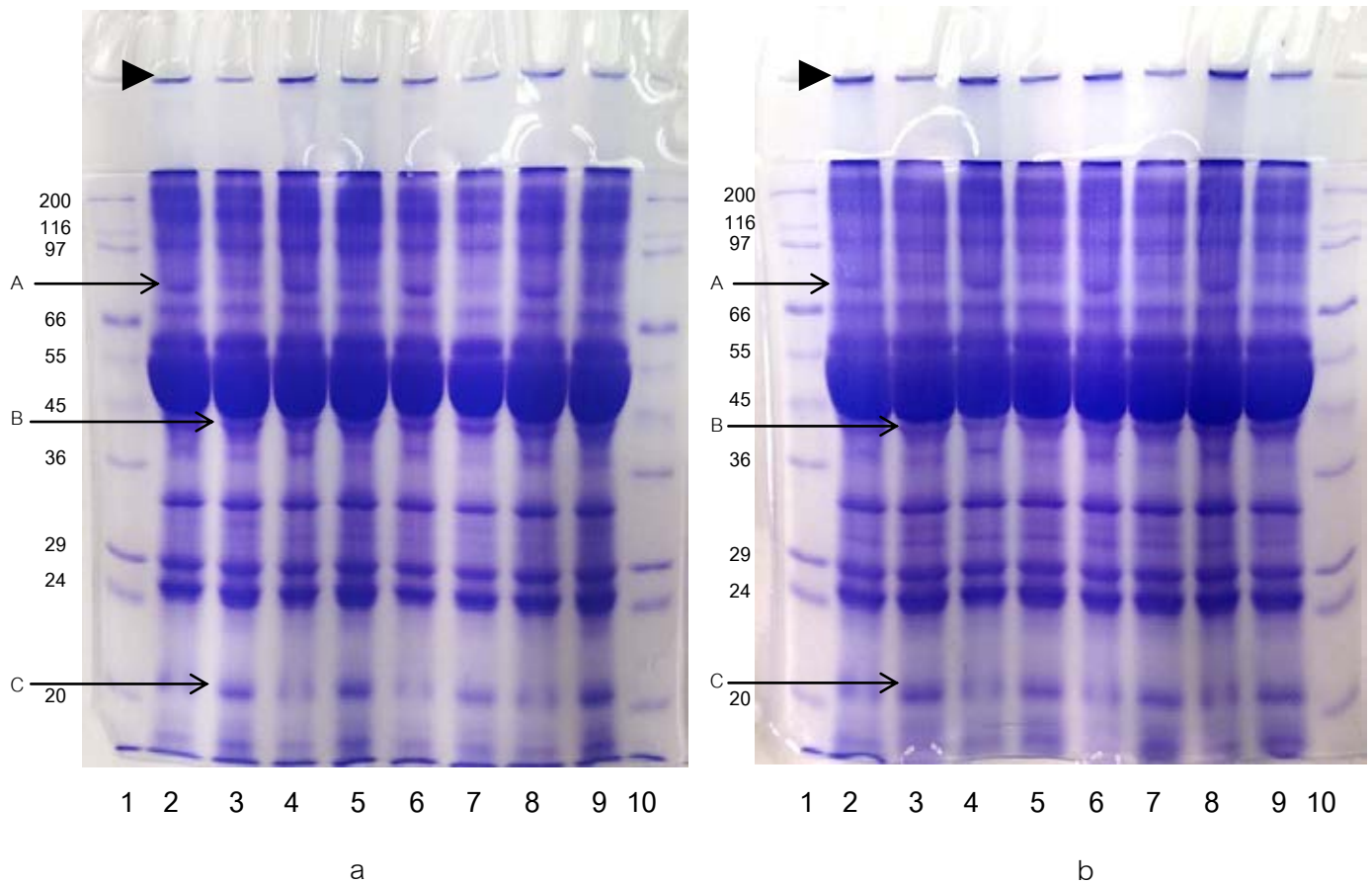
**รูปที่ 4.1** รูปแบบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (a) ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก และ (b) ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก

Lane 1 และ 10: แถบโปรตีนมาตรฐาน (S8445) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 20-200 kDa  
 Lane 2 และ 3: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนที่ pH 4.5 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ  
 Lane 4 และ 5: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนที่ pH 5.0 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ  
 Lane 6 และ 7: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนที่ pH 5.0 และตามด้วย pH 4.5 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ  
 Lane 8 และ 9: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนที่ pH 5.0 ตามด้วย pH 4.8 และ pH 4.5 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ

$\beta$ -mercaptonethanol ส่งผลให้เกิดการสลายพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีน 11S legumin (69 kDa) และ 7S vicilin (40 kDa) ได้เป็นโปรตีนหน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลงเท่ากับ 40 และ 22 kDa สำหรับ 11S legumin กับ 28 และ 16 kDa สำหรับ 7S vicilin แต่จากการทดลองในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวพบว่าหน่วยย่อยที่ปรากฏมีเพียงแถบโปรตีนที่ 22 kDa เท่านั้น

เมื่อพิจารณาแถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิใน lane ที่ 2,4,6 และ 8 ของรูปที่ 4.2a และ b ในสถานะที่ไม่ได้ใส่  $\beta$ -mercaptonethanol พบว่าจำนวนแถบโปรตีนที่ได้จากการใช้สารก่อการจับก้อนทั้งสองชนิดมีลักษณะไม่แตกต่างกัน ดังนั้นเป็นไปได้ว่าชนิดของกรดที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนไม่มีผลต่อรูปแบบแถบโปรตีน โดยพบแถบโปรตีนที่มีลักษณะเข้มชัดเจนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 60, 51, 34, 28 และ 25 kDa แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวอาจเป็นโปรตีนกลุ่มหลักที่พบในถั่วอะชูกิ Meng และ Ma (2001) ได้รายงานว่ามีโปรตีน 11S legumin ที่พบในถั่วอะชูกิมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 54-90 kDa ขณะที่ Tang และ Sun (2011) รายงานว่ามีโปรตีน 7S vicilin ในถั่วอะชูกิประกอบด้วย 5 แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 65, 55, 36, 31 และ 28 kDa

จากการเปรียบเทียบแถบโปรตีนที่ใส่  $\beta$ -mercaptonethanol ใน lane 3, 5, 7, 9 ของรูปที่ 4.2a และ b กับแถบโปรตีนที่ไม่ได้ใส่  $\beta$ -mercaptonethanol พบว่าแถบโปรตีนที่ได้มีความแตกต่างกัน เมื่อใส่  $\beta$ -mercaptonethanol จะทำให้แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 75 kDa ที่จุด A เกิดการหายไป และทำให้แถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40 kDa ที่จุด B เข้มขึ้น พร้อมทั้งปรากฏแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 22 kDa ที่จุด C ขึ้นมาแทน ซึ่งเป็นไปได้ว่าการใส่  $\beta$ -mercaptonethanol ทำให้เกิดการสลายพันธะไดซัลไฟด์ของโมเลกุลโปรตีนที่รวมตัวกันได้เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 75 kDa โดย Meng และ Ma (2001) รายงานว่า  $\beta$ -mercaptonethanol มีผลต่อโปรตีน 11S legumin ในถั่วอะชูกิที่ประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ทำให้เกิดการสลายตัวของโมเลกุลโปรตีนเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลงเกิดเป็นโปรตีนขนาด 40 และ 22 kDa



**รูปที่ 4.2** รูปแบบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิ (a) ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก และ (b) ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก

Lane 1 และ 10: แถบโปรตีนมาตรฐาน (S8445) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 20-200 kDa  
 Lane 2 และ 3: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิตกตะกอนที่ pH 4.5 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ  
 Lane 4 และ 5: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนที่ pH 5.0 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ  
 Lane 6 และ 7: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนที่ pH 5.0 และตามด้วย pH 4.5 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ  
 Lane 8 และ 9: โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนที่ pH 5.0 ตามด้วย pH 4.8 และ pH 4.5 ในสถานะที่เต็มและไม่เต็ม  $\beta$ -mercaptonethanol ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อสังเกตที่ช่องไหลดตัวอย่าง (well) ในรูปที่ 4.1 และ 4.2 ทั้ง a และ b (ลูกศรสีดำ) พบว่ามีแถบโปรตีนบางส่วนที่ไม่ได้เกิดการเคลื่อนที่ลงมาในแผ่นเจล ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าโปรตีนที่ติดอยู่ที่ well เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 205 kDa และเมื่อทำการเติม  $\beta$ -mercaptonethanol ลงไปใน lane ที่ 2 4 6 และ 8 ของทั้งถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก พบว่าความเข้มของแถบโปรตีนที่ติดอยู่ที่ well มีการจางลง ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าโปรตีนที่ติดอยู่ที่บริเวณดังกล่าวมีบางส่วนที่เชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ดังนั้นการเติม  $\beta$ -mercaptonethanol ทำให้เกิดการสลายพันธะดังกล่าว แถบโปรตีนจึงมีความเข้มลดลง นอกจากนี้แถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ติดอยู่บริเวณ well ในรูปที่ 4.2 มีความเข้มน้อยกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว อาจเป็นไปได้ว่าชนิดและปริมาณโปรตีนที่พบในถั่วอะชูกิแตกต่างจากถั่วเขียว

จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการตกตะกอนที่ค่า pH มากกว่าหนึ่งจุดจะได้อัตราผลผลิตสูงกว่าการตกตะกอนที่ค่า pH เพียงจุดเดียว ขณะที่การตกตะกอนโปรตีนที่ค่า pH 2 และ 3 จุดได้อัตราผลผลิตไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกรูปแบบการตกตะกอนที่ค่า pH 5.0 และตามด้วย pH 4.5 เพื่อผลิตโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกสำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

#### 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 4.2) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วชนิดเดียวกันที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกไม่มีความแตกต่างทางสถิติในด้านปริมาณความชื้นและไขมัน ( $p > 0.05$ ) แต่มีปริมาณโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.5-ข.9 โปรตีนเข้มข้นของถั่วที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก อาจเนื่องมาจากในขั้นตอนการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่เป็นกรดแก่เกิดการสลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโปรตีนที่อยู่ภายใน protein bodies กับองค์ประกอบบางส่วนของสตาร์ชที่ปลดปล่อยออกมาภายหลังการเติมสารละลายต่างได้มากกว่ากรดซิตริกที่เป็นกรดอ่อน จึงเกิดการกระตุ้นการจับก้อนของโปรตีนและเกิดการตกตะกอนได้มากกว่ากรดซิตริก (Salt et al., 1982; Israkarn et

al., 2007) การใช้กรดซิตริกยังมีผลต่อปริมาณไขมันในโปรตีนเข้มข้นด้วย เนื่องจากกรดซิตริกสามารถจับกับกรดอะมิโนในกลุ่ม basic amino acid ที่เชื่อมต่อกับชั้นฟอสโฟลิปิดของ spherosomes (Hrynets et al., 2011) ทำให้โปรตีนที่ได้มีปริมาณไขมันเกาะติดมาน้อยลง ดังนั้นจึงพบว่าปริมาณไขมันของโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกมีค่าต่ำกว่ากรณีที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนเล็กน้อย

นอกจากนี้โปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างที่ตกตะกอนด้วยกรดทั้งสองชนิดยังคงพบคาร์โบไฮเดรตบางส่วนที่ตกตะกอนลงมาร่วมกับโปรตีนด้วย ซึ่งอาจมาจากองค์ประกอบบางส่วนที่หลุดออกมาจากแกนของสตาร์ช และมาจากคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ใน protein bodies ทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างยังคงมีค่าสูงอยู่ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป (2547) ที่รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวซึ่งตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 M ที่ pH 4.5 มีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 6 M ที่ pH 4.5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ 4.2** องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก

| องค์ประกอบทางเคมี                 | MPC-HCl                   | MPC-CA                    | APC-HCl                   | APC-CA                    |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ความชื้น (%w.b.)                  | 5.17 <sup>b</sup> ± 0.32  | 5.14 <sup>b</sup> ± 0.29  | 5.83 <sup>a</sup> ± 0.31  | 5.69 <sup>a</sup> ± 0.10  |
| ไขมัน (%d.b.)                     | 1.16 <sup>cd</sup> ± 0.11 | 0.88 <sup>d</sup> ± 0.14  | 1.71 <sup>ab</sup> ± 0.26 | 1.51 <sup>bc</sup> ± 0.24 |
| โปรตีน (%d.b.)                    | 85.07 <sup>a</sup> ± 0.13 | 81.92 <sup>b</sup> ± 1.05 | 78.26 <sup>c</sup> ± 0.62 | 75.76 <sup>d</sup> ± 0.67 |
| เถ้า (%d.b.)                      | 4.62 <sup>c</sup> ± 0.31  | 5.15 <sup>ab</sup> ± 0.05 | 4.67 <sup>c</sup> ± 0.06  | 4.97 <sup>bc</sup> ± 0.21 |
| คาร์โบไฮเดรต <sup>†</sup> (%d.b.) | 9.18 <sup>d</sup> ± 0.44  | 12.05 <sup>c</sup> ± 0.74 | 15.36 <sup>b</sup> ± 0.79 | 17.76 <sup>a</sup> ± 1.04 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>†</sup> คาร์โบไฮเดรตคำนวณจากการนำผลบวกของไขมัน โปรตีนและเถ้า หักลบจาก 100

จากตารางที่ 4.2 พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวมีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิ ทั้งนี้อาจเนื่องจากความแตกต่างของ protein bodies ระหว่างถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ โดย protein bodies ของถั่วอะชูกิมีลักษณะของบริเวณ globoid อยู่ร่วมกับ amorphous protein

ขณะที่ protein bodies ของถั่วเขียวมีลักษณะเป็น amorphous protein กระจายอยู่ภายใน protein bodies (Hsieh, Swanson and Lumpkin, 2002)

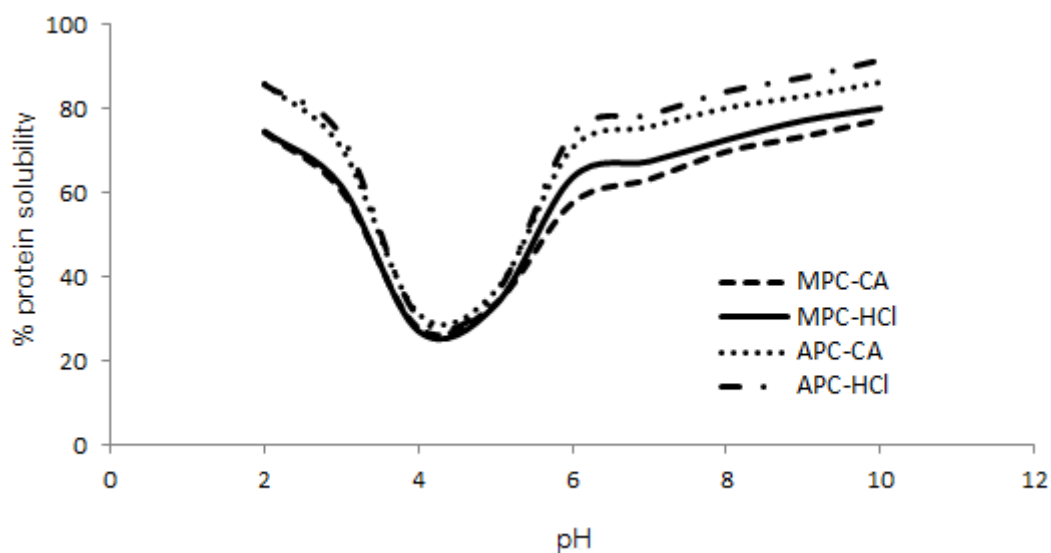
อย่างไรก็ตามโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากมีเยื่อใยหยาบ (crude fiber) ปนอยู่ในปริมาณน้อยมาก จึงอาจเป็นไปได้ว่าเยื่อใยหยาบส่วนนี้มาจากขั้นตอนการตกตะกอนโปรตีน ซึ่งตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นทางการค้าส่วนใหญ่จะไม่มีกระบวนการปริมาณเยื่อใยหยาบไว้

#### 4.3 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

##### 4.3.1 ความสามารถในการละลายของโปรตีน

ความสามารถในการละลายเป็นสมบัติที่สำคัญของโปรตีน ซึ่งส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ในด้านอื่น เมื่อพิจารณาความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกในการตกตะกอน (รูปที่ 4.3) พบว่าโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีรูปแบบความสามารถในการละลายคล้ายคลึงกันในช่วง pH 2 – 10 โดยมีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ pH ในช่วง 4 – 5 และความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า pH ลดลงหรือเพิ่มขึ้นจากช่วงดังกล่าว เนื่องจากจุดไอโซอิเล็กทริก หรือ pI ของโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ รวมถึงถั่วเมล็ดแห้งส่วนใหญ่ เช่น ถั่วเหลือง (Kinsella, 1979) ถั่วเลนทิล (Gao et al., 2010) และถั่วแดง (Sai-Ut et al., 2009) มีค่า pI อยู่ในช่วง pH เท่ากับ 4.0 – 5.0 ที่ค่า pH ในช่วงดังกล่าวจะทำให้โมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเข้าใกล้ศูนย์ ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนมากกว่าโปรตีนกับตัวทำละลาย โมเลกุลโปรตีนจึงเคลื่อนที่เข้าใกล้กันมากขึ้นและจับตัวกัน ทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง แต่เมื่อค่า pH ของสารละลายห่างจากจุด pI ความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากที่สภาวะ pH < 3 โมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นบวก และเป็นลบเมื่อ pH > 6 ทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนละลายน้ำได้มากขึ้น Rao และคณะ (2002) รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองมีการละลายต่ำสุดที่ pH 4.5 ขณะที่ Sirikulchayanont และคณะ (2007) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวมีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ช่วง pH 4-5 และ Sai-Ut และคณะ (2009) ได้รายงานว่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิมีค่าการละลายต่ำสุดที่ช่วง pH 4-5 เช่นกัน

นอกจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยสารก่อการจับก้อนทั้งสองชนิดจะมีรูปแบบการละลายคล้ายคลึงกันแล้ว เมื่อพิจารณาผลของสารก่อการจับก้อนต่อการละลายของโปรตีน พบว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อค่า pH > 6 ซึ่งพบเหตุการณ์นี้ในถั่วทั้งสองชนิด อาจเนื่องจากการตกตะกอนด้วยกรดซิตริกส่งผลให้โมเลกุลของโปรตีนเผยกรดอะมิโนที่มีหมู่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) ออกมามากขึ้น ดังแสดงได้จากรายงานทดลองต่อไป ทำให้อันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโมเลกุลน้ำเกิดได้น้อยลง ส่งผลให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง (Knorr, 1980)



**รูปที่ 4.3** ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก

เมื่อพิจารณารูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดทั้งสองชนิดมีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ใช้กรดทั้งสองชนิดในการตกตะกอน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากความสามารถในการละลายของโปรตีนขึ้นอยู่กับสมดุลของความชอบน้ำ-ไม่ชอบน้ำในโมเลกุลโปรตีน ดังนั้นองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโมเลกุลโปรตีนจึงมีผลต่อการละลาย (Damodaran et al., 1996) ซึ่งกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนจากถั่วอะซูกิจะมีปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสปาทิกที่สูงกว่าถั่วเขียว (Meng and Ma, 2001)

ทำให้เมื่ออยู่ในสภาวะที่  $pH > pI$  กรดอะมิโนทั้งสองชนิดจะแสดงประจุที่เป็นลบ และเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลน้ำได้มากขึ้นความสามารถการละลายจึงเพิ่มขึ้น

#### 4.3.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ

ตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าที่  $pH$  7.5 และ 5.5 โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกมีความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ขณะที่  $pH$  3.5 ตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติสำหรับความสามารถในการอุ้มน้ำ ( $p > 0.05$ ) ดังตาราง ข.10-ข.16 โดยตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นทั้งหมดมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำสุดที่  $pH$  5.5 และเมื่อ  $pH$  เพิ่มขึ้นหรือลดลงจากค่านี้ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งมีแนวโน้มคล้ายคลึงกับความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้น (รูปที่ 4.3) โดย Sathe (2002) รายงานว่าความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการละลายของโปรตีน ดังนั้นการที่โปรตีนเข้มข้นมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำที่  $pH$  5.5 เนื่องจากที่  $pH$  ดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกับจุด  $pI$  ของโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ ( $pH$  4 – 5) ทำให้ประจุสุทธิของกรดอะมิโนบนผิวของโมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเข้าใกล้ศูนย์ จึงเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้น้อยกว่า ทำให้มีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง แต่เมื่อ  $pH$  เพิ่มขึ้นหรือลดลง ประจุสุทธิบนผิวของโมเลกุลโปรตีนจะแสดงประจุสุทธิเป็นลบ หรือเป็นบวก ทำให้เกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำและยึดจับโมเลกุลน้ำได้มากขึ้น ความสามารถในการอุ้มน้ำจึงเพิ่มขึ้น

โปรตีนเข้มข้นที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่างมีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ (Hall, 1996) โปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดซิตริก ปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าจะยึดจับโมเลกุลของน้ำได้มากขึ้น ส่งผลให้กักเก็บโมเลกุลของน้ำไว้ภายในโปรตีนเพิ่มขึ้น โดย นันทิพย์ วงษ์ประทีป (2547) รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ Knorr (1980) รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากมันฝรั่งที่ตกตะกอน



ด้วยกรดซิตริกมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ 4.3** ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก

| Samples | Water Holding Capacity (g water/g protein) |                           |                           |
|---------|--|---------------------------|---------------------------|
|         | pH 3.5 <sup>ns</sup>                       | pH 5.5                    | pH 7.5                    |
| MPC-HCl | 2.64 <sup>b</sup> ± 0.12                   | 2.45 <sup>Ab</sup> ± 0.09 | 3.13 <sup>Ca</sup> ± 0.10 |
| MPC-CA  | 2.53 <sup>b</sup> ± 0.06                   | 2.23 <sup>Bc</sup> ± 0.07 | 2.89 <sup>Da</sup> ± 0.04 |
| APC-HCl | 2.73 <sup>b</sup> ± 0.14                   | 2.63 <sup>Ab</sup> ± 0.14 | 3.67 <sup>Aa</sup> ± 0.12 |
| APC-CA  | 2.65 <sup>b</sup> ± 0.04                   | 2.46 <sup>Ac</sup> ± 0.06 | 3.39 <sup>Ba</sup> ± 0.01 |

\*A,B,C....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

\*a,b,c....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

\*ns = ข้อมูลตามแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ในด้านชนิดของถั่วที่ใช้ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิมีความสามารถในการอุ้มน้ำมากกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว อาจเนื่องจากถั่วอะชูกิมีกรดอะมิโนที่มีซัลฟิวหรือซอบอน้ำ ยกตัวอย่างเช่น กรดอะมิโนกลูตามิก และแอสปาร์ติก สูงกว่าถั่วเขียว (Tang, Sun and Yin, 2009) ประกอบกับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (ตารางที่ 4.2) ทำให้สามารถเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้มากกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิจึงเกิดการอุ้มน้ำได้มากขึ้น Moure และคณะ (2006) ได้ศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่แตกต่างกัน พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองมีความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 2.27 กรัม น้ำต่อกรัมโปรตีน ซึ่งสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลู่พินที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 2.00 กรัม น้ำต่อกรัมโปรตีน ความแตกต่างดังกล่าวอาจเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนและองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ภายในโปรตีนของพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน

### 4.3.3 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และ Surface hydrophobicity

ตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.17 โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนมีค่า emulsifying activity index (EAI) สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก (รูปที่ 4.3) จึงมีปริมาณโปรตีนที่มากกว่าที่เคลื่อนที่ไปยังบริเวณ oil-water interface และเกิดการคลายตัวโอบล้อมโมเลกุลน้ำมัน ส่งผลให้ความสามารถในการสร้างอิมัลชันเพิ่มขึ้น (Rao et al., 2002) โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกจะมีความคงตัวของอิมัลชันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.18 โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอนมีค่า emulsifying stability index (ESI) สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอน ซึ่งพบได้ในทำนองเดียวกันกับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิ เนื่องจากโปรตีนที่มีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดีต้องมีส่วนที่กระจายตัวได้ดีในน้ำ (hydrophilic region) เพราะมีหมู่ที่มีประจุหรือโพลาร์ และส่วนที่ละลายได้ดีในไขมัน (lyophilic region) เพราะมีหมู่ที่เป็นนอนโพลาร์ เกิดการละลายไปยังบริเวณ oil-water interface จะเกิดการดูดซับได้อย่างรวดเร็ว และเกิดการคลายตัวยึดจับเม็ดน้ำมันและโมเลกุลน้ำ ทำให้สามารถรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันได้ (ปาริฉัตร หงสประภาส, 2545) แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป โมเลกุลโปรตีนที่มีการละลายสูงกว่า จะเคลื่อนที่มาบริเวณ oil-water interface มากขึ้น และเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) แทนที่จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับไขมัน (protein-oil interaction) ทำให้อนุภาคน้ำมันเกิดการรวมตัวกันได้ง่าย ทำให้เร่งกระบวนการเกิด flocculation และ coalescence ความคงตัวของอิมัลชันจึงลดลง (Lawal, 2004) Gao และคณะ (2010) พบว่าโปรตีนไอโซเลทจากถั่ว chickpea สายพันธุ์ G-1 มีค่า EAI ที่สูงกว่าสายพันธุ์ Z-1 ซึ่งค่า EAI เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของโปรตีนในการดูดซับที่ oil-water interface ระหว่างการสร้างอิมัลชัน โดยค่า EAI ที่สูงกว่าอาจเนื่องจากโปรตีน

ไอโซเลทของถั่ว chickpea สายพันธุ์ G-1 มีค่าการละลายที่มากกว่าโปรตีนไอโซเลทของถั่ว chickpea สายพันธุ์ Z-1 ทำให้เคลื่อนที่ไปยัง oil-water interface และเกิดการดูดซับที่บริเวณดังกล่าว พร้อมกับเกิดการคลายตัวของโปรตีนโอบล้อมอนุภาคน้ำมันได้มากขึ้น ทำให้กระบวนการเกิดอิมัลชันเกิดได้ดีขึ้น

**ตารางที่ 4.4** สมบัติการเป็นอิมัลซีไฟเออร์ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก

| Samples | EAI (m <sup>2</sup> /g)   | ESI (min)                  |
|---------|---------------------------|----------------------------|
| MPC-HCl | 12.36 <sup>b</sup> ± 0.04 | 135.31 <sup>b</sup> ± 2.50 |
| MPC-CA  | 10.19 <sup>c</sup> ± 0.09 | 152.58 <sup>a</sup> ± 0.87 |
| APC-HCl | 13.02 <sup>a</sup> ± 0.50 | 126.00 <sup>c</sup> ± 2.83 |
| APC-CA  | 12.41 <sup>b</sup> ± 0.15 | 135.96 <sup>b</sup> ± 1.90 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิแสดงค่า EAI สูงกว่า แต่มีค่า ESI ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (ตารางที่ 4.4) เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิมีความสามารถในการละลายสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว จึงมีปริมาณโปรตีนที่มากกว่าที่เคลื่อนที่ไปยังบริเวณ oil-water interface และเกิดการคลายตัวโอบล้อมโมเลกุลน้ำมัน ส่งผลให้ความสามารถในการสร้างอิมัลชันเพิ่มขึ้น สำหรับค่า ESI ที่ต่ำกว่าของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิ อาจเนื่องมาจากโปรตีนจากถั่วอะชูกิมีกรดอะมิโนที่มีขั้วสูง เช่น กลูตามิก และแอสปาทิก (Meng and Ma, 2001) ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับไขมันได้น้อยลงที่บริเวณ oil-water interface จึงรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันได้น้อยกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว

จากการวิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 4.5) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกมีค่า surface hydrophobicity มากกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่การตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก โดยผลลัพธ์ดังกล่าวพบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่าต่ำกว่าโปรตีนมาตรฐาน BSA อย่างมี

นัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.19 โดยค่า surface hydrophobicity มีความสัมพันธ์กับปริมาณหมู่มิมีขั้วที่อยู่ผิวของโมเลกุลโปรตีน ซึ่งมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่บางประการในระบบอาหาร

**ตารางที่ 4.5** Surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก

| Samples | Surface hydrophobicity ( $S_0$ ) <sup>†</sup> |
|---------|---|
| BSA     | 27660.67 <sup>a</sup> ± 32.88                 |
| MPC-HCl | 1146.43 <sup>b</sup> ± 17.04                  |
| MPC-CA  | 1419.47 <sup>c</sup> ± 3.660                  |
| APC-HCl | 974.50 <sup>d</sup> ± 7.010                   |
| APC-CA  | 1024.60 <sup>e</sup> ± 2.700                  |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>†</sup> หาจาก initial slope

Wagner และ Anon (1990) รายงานว่าค่า surface hydrophobicity และความสามารถในการละลายของโปรตีนมีความสัมพันธ์กัน ซึ่งโปรตีนที่มีค่า surface hydrophobicity ที่สูง จะมีความสามารถในการละลายที่ต่ำ เนื่องจากมีหมู่มิมีขั้วที่ผิวของโมเลกุลโปรตีนมากขึ้น ทำให้เกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้น้อยลง ส่งผลให้เกิดการละลายได้น้อยกว่าโปรตีนที่มีค่า surface hydrophobicity ต่ำ คำอธิบายดังกล่าวสอดคล้องกับการที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกมีค่า surface hydrophobicity สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอน ทำให้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกมีความสามารถในการละลายต่ำกว่านั่นเอง (รูปที่ 4.3)

ค่า surface hydrophobicity มีความสัมพันธ์กับสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนด้วย โดยโปรตีนที่สามารถรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันได้ดีต้องมีความสมดุลของหมู่มิมีขั้วและหมู่มิมีขั้วที่เพียงพอ ซึ่งจะช่วยให้ยึดเกาะระหว่างวฏภาคไขมันและน้ำได้ดีขึ้น (Hall, 1996) โปรตีนที่มีค่า surface hydrophobicity สูงจะแสดงถึงการมีหมู่มิมีขั้วมากขึ้น ทำให้ยึดจับ

อนุภาคน้ำมันในระบบอิมัลชันได้อย่างแข็งแรงกว่ากรณีโปรตีนที่มีหมู่ชอบน้ำสูง ทำให้อนุภาคน้ำมันมารวมตัวกันเองได้ยากขึ้น ความคงตัวของระบบอิมัลชันจึงสูงขึ้น (Voutsinas, Cheung and Nakai, 1983) แต่อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของหมู่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำต้องมีความเหมาะสม ดังนั้นการที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกมีค่า ESI ที่สูงจึงอาจมีสาเหตุหนึ่งมาจากการที่มีค่า surface hydrophobicity สูง ทำให้สามารถรักษาความคงตัวของอิมัลชันได้ดีกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก

#### 4.3.4 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ของโปรตีนเข้มข้น

เมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นต่ำสุดของโปรตีนเข้มข้นที่สามารถเกิดเจลได้ (ตารางที่ 4.6) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้แตกต่างกัน โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก โดยผลดังกล่าวพบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิเช่นกัน เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนมีปริมาณโปรตีนมากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก (ตารางที่ 4.2) ซึ่งปริมาณโปรตีนที่มากกว่าส่งผลให้สามารถเกิดการสร้างโครงร่างแหผ่าน protein-protein interaction ได้มากขึ้น (Damodaran and Paraf, 1997) จึงทำให้โปรตีนสามารถเกิดเจลได้ดีขึ้น โดย Wiseman และ Price (1987) รายงานว่าความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนนอกจากจะขึ้นอยู่กับสมมูลของประจุบวกและประจุลบบนโมเลกุลโปรตีนแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนและความเข้มข้นของโปรตีนด้วยผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของน้ำทิพย์ วงษ์ประทีป (2547) รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 M ที่ pH 4.5 มีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ 14% (w/v) ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 6 M ที่ pH 4.5 มีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้เท่ากับ 17% (w/v) นอกจากนี้ Lawal (2004) รายงานว่าโปรตีนไอโซเลทจาก locust bean ที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 M ที่ pH 4.5 มีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้เท่ากับ 10% (w/v) ซึ่งการที่โปรตีน

ไอโซเลทเกิดเจลได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าโปรตีนที่เตรียมได้ เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนในโปรตีนไอโซเลทมากกว่านั่นเอง

**ตารางที่ 4.6** ความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก

| Samples | ปริมาณโปรตีน (% w/v) |
|---------|----------------------|
| MPC-HCl | 14                   |
| MPC-CA  | 16                   |
| APC-HCl | 12                   |
| APC-CA  | 14                   |

โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ตกตะกอนด้วยสารก่อการจับก้อนทั้งสองชนิดมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว อาจเนื่องจากในกระบวนการเกิดเจลอาศัยการยึดจับโมเลกุลของตัวทำละลายที่ส่วนมาก คือ โมเลกุลของน้ำ ด้วยโครงร่างแหของสารพอลิเมอร์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีน แต่ในบางครั้งการเกิดเจลของโปรตีนสามารถเกิดได้จากอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนกับคาร์โบไฮเดรต โดยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับคาร์โบไฮเดรตสามารถเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้ดีขึ้น ส่งผลให้โครงร่างแหที่ได้มีความยืดหยุ่นและมีความแข็งแรงมากขึ้น (Damodaran and Paraf, 1997) ดังนั้นแม้ว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิจะมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าแต่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (ตารางที่ 4.3) จึงสามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ทำให้ความเข้มข้นต่ำสุดของโปรตีนในการเกิดเจลของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิต่ำกว่ากรณีโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว โดย Sathe และคณะ (1982) รายงานว่าการที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วลูพิน (lupin) เท่ากับ 8% (w/v) ซึ่งแตกต่างจากโปรตีนเข้มข้นของถั่วชนิดอื่น เช่น ถั่วเหลือง และถั่วดำ ประมาณ 3% อาจเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนคาร์โบไฮเดรต ไขมันและองค์ประกอบอื่นภายในโปรตีนเข้มข้นที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ Adebowale และ Lawal (2003) ได้ศึกษาสมบัติการเกิดเจลของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วมูคูนา

(mucuna) พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่สูงซึ่งพบในโปรตีนเข้มข้นสามารถส่งผลให้การเกิดเจลของโปรตีนดีขึ้นได้ โดยทำให้ค่า thermodynamic affinity ซึ่งเป็นค่าทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของพลังงานอิสระภายในโมเลกุลโปรตีนลดลง

จากผลการทดลองด้านองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่าง พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่า และมีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการคั่งน้ำ ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจลดีกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก ดังนั้นจึงเลือกวิธีการผลิตโปรตีนเข้มข้นโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเพื่อตกตะกอนโปรตีนสำหรับศึกษาผลวิธีการทำแห้งต่อไป

#### 4.4 ผลของวิธีการทำแห้งต่อองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

##### 4.4.1 ผลของวิธีการทำแห้งต่อโครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

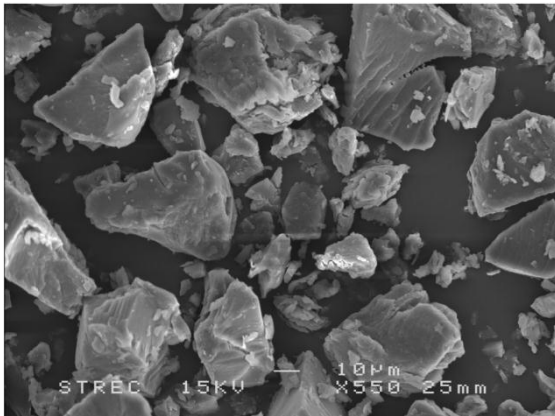
จากการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยการถ่ายภาพโครงสร้างของโปรตีนเข้มข้นที่กำลังขยาย 200 เท่าได้ภาพที่ไม่ชัดเจน (ภาคผนวก ค.1) จึงเพิ่มกำลังขยายในการศึกษาเป็น 550 เท่า พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านวิธีการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างจุลภาคที่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.4a และ c โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด (รูป 4.4a) จะมีโครงสร้างทางจุลภาคที่เป็นลักษณะของอนุภาค (particle) ที่มีขอบเด่นชัด (clearly faceted) และมีการกระจายของขนาดอนุภาคในช่วงกว้าง (wide-range particle size distribution) ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะมีโครงสร้างจุลภาคที่เป็นแผ่นที่บางกว่าและมีการกระจายของขนาดอนุภาคที่สม่ำเสมอและมีรูปร่างคล้ายกัน (uniformed shape)

ความแตกต่างของโครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวดังกล่าวข้างต้นยังพบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งด้วย ดังแสดงในรูปที่ 4.4b และ d โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด (รูป 4.4b) จะมีโครงสร้างจุลภาคคล้ายกับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีเดียวกัน โดยมีลักษณะเป็นอนุภาคที่มีขอบชัดเจน แต่มีการกระจายของขนาดอนุภาคน้อยกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว กล่าวคือ อนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กถึงใหญ่ต่างกันไม่มากเท่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (รูป 4.4d) จะมีโครงสร้างจุลภาคเป็นแผ่นบางที่มีขอบไม่ชัดเจน แต่มีการกระจายของขนาดอนุภาคที่สม่ำเสมอมากกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ทำแห้งแบบถาด

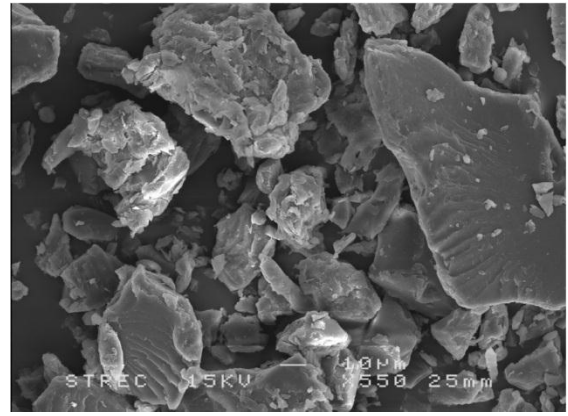
การที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิมีโครงสร้างทางจุลภาคที่แตกต่างกันเมื่อใช้วิธีการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากวิธีการทำแห้งทั้งสองวิธีมีหลักการในการ



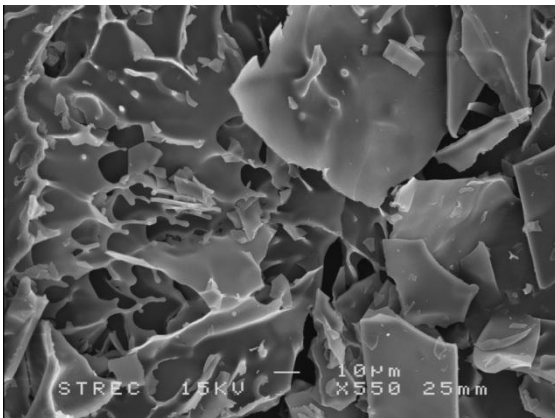
ทำแห้งที่แตกต่างกัน โดยการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งจะเป็นการทำให้เนื้อภายในตัวอย่างเกิดการแข็งตัวและตามด้วยการระเหิดของน้ำแข็งในรูปของไอส่งผลให้โครงสร้างของตัวอย่างที่ได้ภายหลังการทำแห้งเกิดความพรุน (porosity) สูงกว่าการทำแห้งแบบอื่น (สั๊กมณ เทพหัสดิน ณ อยุธยา, 2555) ซึ่งอาจทำให้มีการละลายที่ดีกว่าผลิตภัณฑ์จากการทำแห้งด้วยวิธีอื่น แต่การทำแห้งแบบถาดจะอาศัยลมร้อนเคลื่อนที่ผ่านผิวหน้าของตัวอย่างที่เปียก ทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนที่ผิวหน้าของตัวอย่าง น้ำจึงเกิดการระเหยออกมาและไอน้ำที่ได้จะถูกพาไปด้วยลมร้อน จากนั้นความดันไอที่ผิวหน้าของตัวอย่างจะต่ำกว่าด้านใน ทำให้เกิดความแตกต่างของความดันไอ ซึ่งส่งผลให้เกิดแรงดันผลักดันน้ำจากชั้นในสู่ผิวหน้าและระเหยออกจากอาหาร (สั๊กมณ เทพหัสดิน ณ อยุธยา, 2555) นอกจากนี้การทำแห้งแบบถาดเป็นการทำให้แห้งที่ใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจส่งผลให้ผิวหน้าของตัวอย่างเกิดการแข็งเป็นเปลือกแข็งที่เรียกว่า case hardening ทำให้น้ำที่อยู่ภายในตัวอย่างระเหยออกมาได้ยากขึ้น ตัวอย่างที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดจึงกำจัดน้ำที่อยู่ภายในได้ช้ากว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ทำให้โครงสร้างของตัวอย่างที่ทำแห้งแบบถาดมีการหดตัวน้อยกว่า ผลดังกล่าวคล้ายกับงานวิจัยของ Joshi และคณะ (2011) พบว่าการใช้วิธีการแห้งที่แตกต่างกันส่งผลให้โครงสร้างจุลภาคของโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิลแตกต่างกัน โดยโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิลที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างจุลภาคที่เป็นแผ่นบางมีขอบมุมที่ไม่ชัดเจนแต่มีขนาดที่ใกล้เคียงกัน ขณะที่การทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying) จะได้โครงสร้างจุลภาคที่เป็นอนุภาคที่มีขอบมุมชัดเจนและมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่กว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



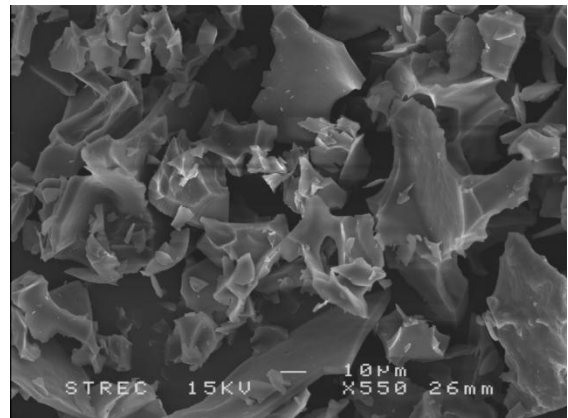
a



b



c



d

**รูปที่ 4.4** โครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด (a) และแบบแช่เยือกแข็ง (c) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด (b) และแบบแช่เยือกแข็ง (d) จาก scanning electron microscope (SEM) กำลังขยาย 550 เท่า

#### 4.4.2 ค่า $a_w$ และค่าการดูดน้ำกลับ

จากการวิเคราะห์ค่า  $a_w$  (ตารางที่ 4.7) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า  $a_w$  ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ทำแห้งแบบถาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตาราง ข.20 เนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นการกำจัดน้ำด้วยวิธีการระเหิด ทำให้โครงสร้างของตัวอย่างมีรูพรุน จึงลดปริมาณน้ำในตัวอย่างได้มากกว่า ขณะที่การทำแห้งแบบถาดมีอัตราการแห้งที่ต่ำกว่า อีกทั้งในช่วงท้ายของการทำแห้งตัวอย่างอาจเกิด case hardening ทำให้ขัดขวางการระเหยน้ำออกจากตัวอย่าง จึงเหลือปริมาณน้ำอิสระภายในตัวอย่างมากกว่าการทำแห้งแบบระเหิด แต่อย่างไรก็ตามตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นทั้งหมดมีค่า  $a_w$  น้อยกว่า 0.5 ทำให้ไม่เกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ แต่อาจเกิดการเสื่อมเสียจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมันได้

เมื่อพิจารณาค่าการดูดน้ำกลับของโปรตีนเข้มข้นดังตารางที่ 4.7 พบว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถเกิดการดูดน้ำกลับได้มากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตาราง ข.21 โดยผลที่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้งโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างที่มีความพรุนสูง ประกอบกับมีค่า  $a_w$  ที่ต่ำ จึงมีสมบัติการดูดความชื้น (hygroscopicity) ที่ดี คือ สามารถรับหรือถ่ายเทความชื้นให้กับบรรยากาศรอบๆ ได้ง่าย ทำให้เกิดการดูดน้ำหรือความชื้นภายในอากาศเข้าไปในตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นได้มากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด Oliveira และ Ilincanu (1999) รายงานว่าความพรุนภายในโครงสร้างของตัวอย่างมีบทบาทสำคัญต่อการดูดน้ำกลับ ซึ่งการมีรูพรุนในโครงสร้างมากจะเกิดการดูดน้ำกลับได้มากขึ้น โดยได้ทดลองในแอปเปิ้ลอบแห้งที่มีความพรุนเท่ากับ 52% และ 21% พบว่าแอปเปิ้ลอบแห้งที่มีความพรุนในโครงสร้าง 52% มีการดูดน้ำกลับเท่ากับ 6 กรัมของน้ำต่อน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น ขณะที่แอปเปิ้ลอบแห้งที่มีความพรุนในโครงสร้าง 21% จะดูดน้ำกลับได้ประมาณ 4.4 กรัมของน้ำต่อน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

**ตารางที่ 4.7** ค่า  $a_w$  และค่าการดูดน้ำกลับของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | $a_w$                    | Rehydration<br>(กรัม น้ำต่อกรัม โปรตีน ตัวอย่าง) |
|---------|--------------------------|--|
| MPC-TD  | 0.47 <sup>a</sup> ± 0.01 | 0.12 <sup>a</sup> ± 0.01                         |
| MPC-FD  | 0.25 <sup>b</sup> ± 0.01 | 0.19 <sup>b</sup> ± 0.02                         |
| APC-TD  | 0.49 <sup>a</sup> ± 0.03 | 0.11 <sup>a</sup> ± 0.01                         |
| APC-FD  | 0.28 <sup>b</sup> ± 0.01 | 0.20 <sup>b</sup> ± 0.01                         |

\*a,b ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.4.3 ค่าความหนาแน่นรวม (Bulk density)

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.8 พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งมีความหนาแน่นรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตาราง ข.22 โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดมีค่าความหนาแน่นรวมสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งประมาณ 30% และผลที่ได้พบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิด้วยเช่นกัน ค่าความหนาแน่นรวมเป็นสมบัติทางกายภาพของอาหาร หมายถึง ปริมาณมวลหรือน้ำหนักของตัวอย่างภายในภาชนะคงที่ต่อปริมาตรของภาชนะคงที่นั้น นอกจากนี้ Canovas และ Juliano (2005) รายงานว่าความหนาแน่นรวมมีความสัมพันธ์กับความมีรูพรุนของตัวอย่าง ซึ่งในกรณีนี้ที่ทราบทั้งค่าความหนาแน่นรวมและความหนาแน่นเนื้อ (particle density) จะสามารถคำนวณหาค่าความพรุนได้ ดังนั้นการที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่าความหนาแน่นรวมที่ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด อาจเนื่องจากโปรตีนเข้มข้นที่ทำการแช่เยือกแข็งมีความพรุนภายในโครงสร้างมากกว่า ประกอบกับมีลักษณะโครงสร้างทางจุลภาคที่เป็นแผ่นบางกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด (รูปที่ 4.4) ทำให้ตัวอย่างมีความฟูหรือเบาค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงมีมวลน้อยกว่าตัวอย่างที่ทำการแช่เยือกแข็ง เมื่อเทียบในกรณีที่มีปริมาตรภาชนะบรรจุเท่ากัน Koc, Eren และ Ertekin (2008) รายงานว่าการทำให้แห้งผล quince ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน คือ การทำให้แห้งแบบถาด และการ

ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ทำให้มีค่าความหนาแน่นรวมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยผล quince ที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่าความหนาแน่นรวมต่ำกว่าผล quince ที่ทำแห้งแบบตากเท่ากับ 47.62% เนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความพรุนในโครงสร้างสูง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีน้ำหนักที่เบากว่าการทำแห้งแบบตาก Joshi และคณะ (2011) พบว่าวิธีการทำแห้งที่ต่างกันมีผลต่อความหนาแน่นรวมของโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิล โดยโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิลที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความหนาแน่นต่ำ ( $276 \text{ kg/m}^3$ ) ขณะที่โปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิลที่ทำแห้งแบบสุญญากาศมีความหนาแน่น  $596 \text{ kg/m}^3$  ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างที่มีความพรุนที่มากกว่าของโปรตีนไอโซเลทที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

**ตารางที่ 4.8** ค่าความหนาแน่นรวมของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบตากและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | Bulk density (g/ml) |
|---------|---------------------|
| MPC-TD  | $0.91^a \pm 0.01$   |
| MPC-FD  | $0.28^b \pm 0.03$   |
| APC-TD  | $0.90^a \pm 0.01$   |
| APC-FD  | $0.30^b \pm 0.02$   |

\*a,b ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.4.4 ผลของวิธีการทำแห้งต่อองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

จากการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ดังแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วชนิดเดียวกันที่การทำแห้งแบบตากและแบบแช่เยือกแข็งไม่มีความแตกต่างทางสถิติในปริมาณไขมัน โปรตีน เกล็ดและคาร์โบไฮเดรต ( $p > 0.05$ ) แต่มีปริมาณความชื้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.23-ข.27 โดยปริมาณความชื้นที่แตกต่างกันในถั่วทั้งสองชนิดที่ทำแห้งแบบตากและแบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอาศัยกระบวนการระเหิด ซึ่งสามารถกำจัด

น้ำออกไปได้มากและรวดเร็วกว่าการทำแห้งแบบถาด ทำให้ความชื้นสุดท้ายที่ได้มีปริมาณน้อยกว่าอันเป็นผลมาจากปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ภายในโครงสร้างโปรตีนเข้มข้นที่น้อยกว่า ขณะที่การทำแห้งแบบถาดจะเกิดกระบวนการ case hardening ทำให้อัตราการแห้งลดลง การระเหยน้ำจากภายในตัวอย่างอาหารทำได้ยากและช้ากว่า ส่งผลให้ปริมาณความชื้นที่ได้ภายหลังการทำแห้งสูงกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ผลที่ได้คล้ายกับงานวิจัยของ พงษ์สันต์ อรุณสินทวีพร (2548) ที่พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ได้จากการทำแห้งแบบถาดและแบบพ่นฝอยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในปริมาณโปรตีน ( $p > 0.05$ ) แต่มีปริมาณความชื้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากการทำแห้งแบบถาดเกิดการกำจัดน้ำได้ยากลำบากกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ผิวของเหลวจะสัมผัสกับลมร้อนได้มากกว่า

**ตารางที่ 4.9** องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| องค์ประกอบทางเคมี                 | MPC-TD                    | MPC-FD                    | APC-TD                    | APC-FD                    |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ความชื้น (%w.b.)                  | 5.17 <sup>b</sup> ± 0.32  | 2.62 <sup>c</sup> ± 0.25  | 5.83 <sup>a</sup> ± 0.31  | 2.87 <sup>c</sup> ± 0.03  |
| ไขมัน (%d.b.)                     | 1.16 <sup>b</sup> ± 0.11  | 0.98 <sup>b</sup> ± 0.02  | 1.71 <sup>a</sup> ± 0.26  | 1.63 <sup>a</sup> ± 0.07  |
| โปรตีน (%d.b.)                    | 85.07 <sup>a</sup> ± 0.13 | 85.99 <sup>a</sup> ± 0.70 | 78.26 <sup>b</sup> ± 0.62 | 78.82 <sup>b</sup> ± 0.86 |
| เถ้า <sup>ns</sup> (%d.b.)        | 4.62 ± 0.31               | 4.51 ± 0.11               | 4.67 ± 0.06               | 4.58 ± 0.16               |
| คาร์โบไฮเดรต <sup>†</sup> (%d.b.) | 9.18 <sup>b</sup> ± 0.44  | 8.53 <sup>b</sup> ± 0.61  | 15.36 <sup>a</sup> ± 0.79 | 15.02 <sup>a</sup> ± 0.95 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

† คาร์โบไฮเดรตคำนวณจากการนำผลบวก ไขมัน โปรตีน และเถ้า หักลบจาก 100

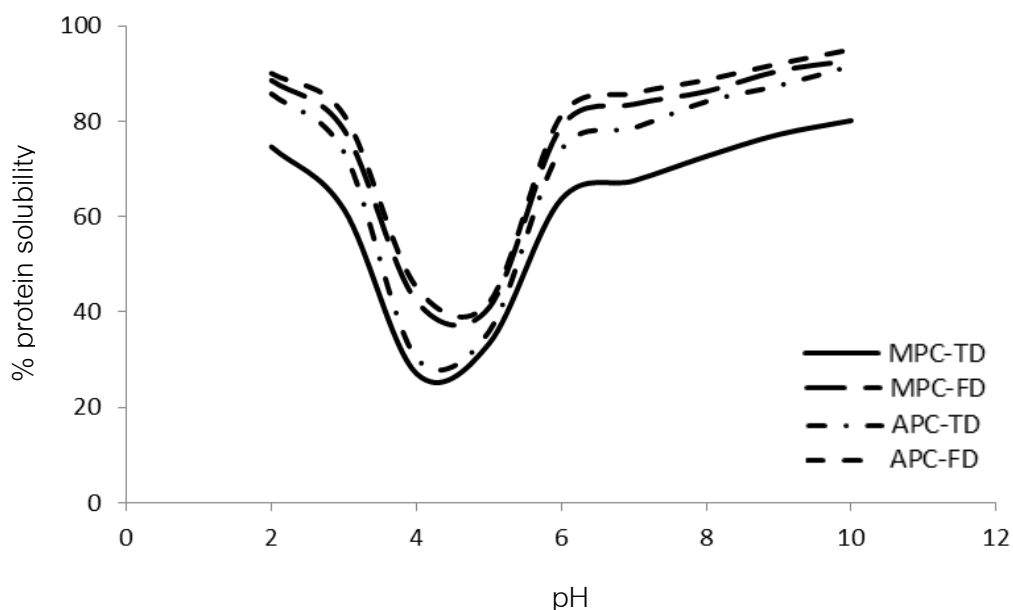
\*ns = ข้อมูลตามแนวนอนไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 4.4.5 ผลของวิธีการทำแห้งต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ

##### 4.4.5.1 ความสามารถในการละลาย

เมื่อพิจารณาสมบัติการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง (รูปที่ 4.5) พบว่าโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างที่ผ่านการทำให้แห้งทั้งสองวิธีมีรูปแบบความสามารถในการละลายคล้ายคลึงกันในช่วง pH 2 – 12 โดยมีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ pH ในช่วง 4 – 5 และความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า pH ลดลงหรือเพิ่มขึ้นจากช่วงดังกล่าว เนื่องจากจุดไอโซอิเล็กทริก หรือ pI ของโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิอยู่ในช่วง pH 4 - 5 (Kinsella, 1979; Gao et al., 2010; Sai-Ut et al., 2009)

เมื่อเปรียบเทียบแต่ละชนิดของถั่ว พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการละลายที่สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด (รูปที่ 4.5) และผลที่ได้ยังพบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิเช่นกัน โดยที่ค่า pH เท่ากับ 10 โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่าการละลายเท่ากับ 92.84 และ 95.24% ตามลำดับ ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ทำแห้งแบบถาดมีค่าการละลายเท่ากับ 80.12 และ 91.59% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีการละลายที่ดีกว่าการทำแห้งแบบถาดนั้น เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความพรุนมากกว่าการทำแห้งแบบถาด ทำให้โมเลกุลน้ำสามารถแทรกซึมเข้าไปภายในโครงสร้างของโปรตีนเข้มข้นได้มากกว่า ประกอบกับโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างทางจุลภาคที่เป็นแผ่นบาง และมีการกระจายของขนาดอนุภาคอย่างสม่ำเสมอมากกว่าการทำแห้งแบบถาด (รูปที่ 4.4) จึงเกิดการกระจายตัวในน้ำและเกิดการละลายได้ง่ายกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาด ส่งผลให้โปรตีนเข้มข้นละลายน้ำได้ดีและรวดเร็วขึ้น (Cepeda et al., 1998)



**รูปที่ 4.5** ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว และถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

#### 4.4.5.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ

จากการศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 4.10) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ทุก pH ที่ศึกษา ( $p \leq 0.05$ ) แต่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ pH 3.5 และ 5.5 ( $p \leq 0.05$ ) ขณะที่ pH 7.5 มีความสามารถในการอุ้มน้ำไม่มีความแตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง ข.28-ข.34 โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ทำแห้งทั้งสองวิธีมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุดที่ pH เท่ากับ 7.5 ผลที่ได้คล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Kinsella (1979) พบว่าค่า pH มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน โดยการเพิ่มค่า pH จาก 5 ถึง 7 ส่งผลให้โปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลืองมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงขึ้นและมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุดที่ pH 7 เท่ากับ 4.10 กรัมต่อกรัมโปรตีน โปรตีนเข้มข้นจากถั่วที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วชนิดเดียวกันที่ทำแห้งแบบถาด ยกเว้นที่ pH 5.5 เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมี



โครงสร้างที่เป็นรูพรุนสูง ทำให้มีพื้นที่ผิวในการเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำมากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาดซึ่งมีรูพรุนในโครงสร้างน้อยกว่า อีกทั้งการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นการใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่ต่ำกว่าการทำแห้งแบบถาดส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติในระหว่างการทำแห้งได้น้อยกว่า จึงเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้ดีกว่าการทำแห้งแบบถาด Knorr และ Betchart (1983) พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองที่ทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งอธิบายได้ว่าโปรตีนที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะเกิดการระเหิดของน้ำที่อยู่ภายในอาหาร ทำให้โครงสร้างที่ได้มีความพรุนสูง จึงมีพื้นที่ผิวที่จะเกิดอันตรกิริยาและกักเก็บโมเลกุลของน้ำได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Joshi และคณะ (2011) พบว่าโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเลนทิลที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยมีค่าเท่ากับ 0.48 และ 0.43 กรัม น้ำต่อกรัมโปรตีน เนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย โปรตีนจึงเกิดการเสียสภาพธรรมชาติได้น้อย ทำให้เกิดอันตรกิริยากับน้ำได้ดีกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย

โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำแห้งทั้งสองวิธีมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำสุดที่ pH 5.5 เนื่องจากเป็นจุดที่ใกล้กับจุดไอโซอิเล็กทริก หรือ pI ของโปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ ทำให้โมเลกุลโปรตีนแสดงความมีขั้วหรือมีประจุลดลง และเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้น้อยลง จึงส่งผลให้กักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างของโปรตีนได้ลดลง (Rao et al., 2002) ซึ่ง Zayas (1997) ได้รายงานว่าคุณค่า pH มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน โดยโปรตีนจะแสดงความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำสุดที่ pH ใกล้เคียงกับ pI

**ตารางที่ 4.10** ความสามารถในการอุ้มน้ำโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | Water Holding Capacity (g water/g protein) |                           |                           |
|---------|--|---------------------------|---------------------------|
|         | pH 3.5                                     | pH 5.5                    | pH 7.5                    |
| MPC-TD  | 2.64 <sup>Cb</sup> ± 0.12                  | 2.45 <sup>Bb</sup> ± 0.09 | 3.13 <sup>Ba</sup> ± 0.10 |
| MPC-FD  | 3.21 <sup>Ba</sup> ± 0.05                  | 2.22 <sup>Cb</sup> ± 0.21 | 3.76 <sup>Aa</sup> ± 0.23 |
| APC-TD  | 2.73 <sup>Cb</sup> ± 0.14                  | 2.63 <sup>Ac</sup> ± 0.14 | 3.67 <sup>Aa</sup> ± 0.12 |
| APC-FD  | 3.51 <sup>Ab</sup> ± 0.12                  | 2.42 <sup>Ba</sup> ± 0.07 | 3.80 <sup>Ac</sup> ± 0.04 |

\*A,B,C....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.4.5.3 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และค่า Surface hydrophobicity

จากการศึกษาสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในตารางที่ 4.11 พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งมีสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.35 โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า EAI สูงกว่า แต่มีค่า ESI ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบถาด ซึ่งผลที่ได้ก็พบในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ทำแห้งทั้งสองวิธีเช่นกัน ค่า EAI ที่สูง ซึ่งพบในโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง อาจเนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งส่งผลให้โปรตีนเข้มข้นที่ได้มีโครงสร้างทางจุลภาคที่เป็นแผ่นบางและมีการกระจายของขนาดอนุภาคสม่ำเสมอ (รูปที่ 4.4) ทำให้เกิดการละลายได้มากกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการทำแห้งแบบถาด โปรตีนที่มีการละลายสูงมีโอกาสเกิดการเคลื่อนที่ไปยังบริเวณ oil-water interface และเกิดการคลายตัวโอบล้อมโมเลกุลน้ำมันได้รวดเร็วขึ้น ส่งผลให้สามารถสร้างเป็นอิมัลชันได้มากขึ้น (Zayas, 1997) Cepeda และคณะ (1998) รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วปากอ้า (faba bean) ที่ทำแห้งแบบ แช่เยือกแข็งมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วปากอ้าที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เพราะโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการละลายที่สูง จึงเกิดเคลื่อนที่ไปยัง oil-water interface และเกิดการคลายตัวโอบล้อมเม็ดน้ำมันได้เพิ่มขึ้น

**ตารางที่ 4.11** สมบัติการเป็นอิมัลชันไฟเออร์ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | EAI (m <sup>2</sup> /g)   | ESI (min)                  |
|---------|---------------------------|----------------------------|
| MPC-TD  | 12.36 <sup>d</sup> ± 0.04 | 135.31 <sup>a</sup> ± 2.50 |
| MPC-FD  | 13.88 <sup>b</sup> ± 0.21 | 128.49 <sup>b</sup> ± 1.61 |
| APC-TD  | 13.02 <sup>c</sup> ± 0.50 | 126.00 <sup>b</sup> ± 2.83 |
| APC-FD  | 14.74 <sup>a</sup> ± 0.10 | 116.98 <sup>c</sup> ± 1.00 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ในด้านค่า ESI ของโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่าต่ำกว่าการทำแห้งแบบถาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.36 อาจเนื่องจากการมีปริมาณโปรตีนที่บริเวณ oil-water interface มากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการละลายที่สูงของโปรตีนเข้มข้นจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ส่งผลให้โมเลกุลโปรตีนที่บริเวณ oil-water interface เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนได้มากขึ้น (Lawal, 2004) แทนที่จะต้องเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำมันเพื่อรักษาความคงตัวของอิมัลชัน ทำให้อนุภาคน้ำมันเกิดการรวมตัวกันเองได้ง่ายและเร่งกระบวนการเกิด flocculation, coalescence และ creaming เป็นสาเหตุให้ความคงตัวของอิมัลชันลดลง (Zayas, 1997)

เมื่อพิจารณาค่า surface hydrophobicity (ตารางที่ 4.12) จะเห็นได้ว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า surface hydrophobicity ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.37 ผลที่ได้พบเช่นกันในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ทำแห้งแบบถาดและแช่เยือกแข็ง การที่โปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาดมีค่า surface hydrophobicity สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง อาจเนื่องจากการทำแห้งแบบถาดใช้อุณหภูมิในการทำแห้ง (55 °C) ที่สูงกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ทำให้โมเลกุลโปรตีนบางส่วนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและเกิดการคลายตัวเผยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) ที่ซ่อนอยู่ภายในโมเลกุลโปรตีนออกมาที่พื้นผิวได้มากขึ้น (Damodaran and Paraf, 1997) ส่งผลให้ค่า surface hydrophobicity ที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูง

แต่เมื่อเทียบค่า surface hydrophobicity ระหว่างโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างกับโปรตีนมาตรฐาน BSA พบว่าโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่า surface hydrophobicity ต่ำกว่า BSA อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

การที่โปรตีนจะเกิดอิมัลชันและรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันได้นั้น จำเป็นต้องมีค่า surface hydrophobicity ที่สมดุลเพียงพอ (Zayas, 1997; Dalgleish, 2001) กล่าวคือเกิดความสมดุลของหมู่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำในการที่จะยึดจับอนุภาคน้ำมันและน้ำในระบบอิมัลชัน การที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ทำแห้งแบบถาดมีค่า surface hydrophobicity ที่สูง อาจทำให้ความสมดุลของหมู่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำที่พื้นผิวโมเลกุลโปรตีนดีกว่าโปรตีนเข้มข้นที่มีค่า surface hydrophobicity ต่ำ ทำให้เกิดการดูดซับที่บริเวณ oil-water interface และยึดเกาะกับอนุภาคน้ำมันได้อย่างแข็งแรงขึ้น จึงช่วยรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันได้ดีกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ตารางที่ 4.11) ซึ่งสอดคล้องกับ Cepeda และคณะ (1998) ที่รายงานว่าความคงตัวของระบบอิมัลชันจะเพิ่มขึ้นตามหมู่ hydrophobic บนโมเลกุลโปรตีน โดยโปรตีนเข้มข้นที่มีหมู่ hydrophobic ในโมเลกุลมากจะสามารถเกิดการดูดซับและเกิดอันตรกิริยากับอนุภาคน้ำมันได้ดีขึ้น

**ตารางที่ 4.12** Surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | Surface hydrophobicity ( $S_0$ ) <sup>†</sup> |
|---------|---|
| BSA     | 27660.67 <sup>a</sup> ± 32.88                 |
| MPC-TD  | 1146.43 <sup>b</sup> ± 17.04                  |
| MPC-FD  | 1029.37 <sup>c</sup> ± 10.45                  |
| APC-TD  | 974.50 <sup>d</sup> ± 7.01                    |
| APC-FD  | 854.59 <sup>e</sup> ± 8.66                    |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>†</sup> หาจาก initial slop

#### 4.4.5.4 ความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจล

กระบวนการเกิดเจลของโปรตีนเกิดจากการสร้างโครงร่างแหของโมเลกุลโปรตีนด้วยอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) และมีการกักเก็บน้ำ (water retain) ไว้ภายในโมเลกุลโปรตีน Zayas (1997) รายงานว่าอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำ (protein-water interaction) มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลของโปรตีน โดยเฉพาะในระหว่างการเปลี่ยนสถานะจาก sol ไปเป็นเจล ซึ่งโปรตีนที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงจะสามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างของเจลได้มากขึ้นและเกิดเจลได้ดีขึ้น จากตารางที่ 4.13 พบว่าโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้แตกต่างกัน โดยการที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วชนิดเดียวกันที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด อาจเนื่องจากโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างที่มีความพรุนและเกิดการเสียสภาพธรรมชาติน้อยกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด ส่งผลให้มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาด (ตารางที่ 4.10) และจากองค์ประกอบทางเคมีในตารางที่ 4.9 แม้ว่าปริมาณโปรตีนที่พบจากการทำให้แห้งทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาดเล็กน้อย โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าการทำแห้งแบบถาดประมาณ 1.08% และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าการทำแห้งแบบถาดประมาณ 0.72% ปริมาณโปรตีนที่สูงขึ้นทำให้โปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถสร้างโครงร่างแหของเจล (gel network) ผ่านอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) ได้มากขึ้น และทำให้กักเก็บน้ำได้ดีขึ้น (Kinsella, 1979) ดังนั้นจึงเกิดเจลได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า

**ตารางที่ 4.13** ความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำให้แห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | ปริมาณโปรตีน (% w/v) |
|---------|----------------------|
| MPC-TD  | 14                   |
| MPC-FD  | 10                   |
| APC-TD  | 12                   |
| APC-FD  | 8                    |

#### 4.5 การเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิต่อคุณภาพของเจลซูริมิ

##### 4.5.1 ความแข็งแรงของเจล (Gel strength)

ค่าความแข็งแรงของเจลซูริมิเป็นหนึ่งในการวิเคราะห์คุณภาพซูริมิที่นิยมวัดภายหลังจากเกิดเจลของซูริมิ ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงคุณภาพเจลซูริมิที่ผลิตได้ จากตารางที่ 4.14 พบว่าค่าความแข็งแรงของเจลซูริมิระหว่างตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมโปรตีนเข้มข้นและตัวอย่างที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.38-ข.40 โดยเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่าความแข็งแรงของเจลมากกว่าเจลซูริมิที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น เนื่องจากโปรตีนที่เติมลงไปในซูริมิส่วนใหญ่มีกลไกเป็นสารเติมเต็มที่เรียกว่า simple filler โดยมีทั้งชนิดที่ขัดขวางการเกิดเจลและส่งเสริมการเกิดเจลซูริมิ นอกจากนี้การเติมโปรตีนชนิดอื่นลงไปในซูริมียังขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ด้วย โดยปกติไม่ควรเติมโปรตีนเกิน 5-6% (w/w) เนื่องจากจะไปขัดขวางการเกิดเจลโดยการลดปริมาณไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนในเนื้อปลาที่เป็นโปรตีนหลักในการเกิดโครงร่างเจลซูริมิอาจทำให้ความแข็งแรงของเจลลดลงได้ ซึ่งโปรตีนจากถั่วส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มที่เสริมสร้างการเกิดเจลซูริมิให้มีความแข็งแรงมากขึ้นหากเติมลงในปริมาณที่พอดี โดยสามารถเกิดเจลแบบแทรกสอดกับโครงข่ายไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนในซูริมิ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) Rawdkuen และคณะ (2004) ศึกษาผลการเติมโปรตีนเข้มข้นจากเลือดไก่ ปริมาณ 2% (w/w) ต่อคุณภาพของเจลซูริมิ พบว่าค่า breaking force และ deformation ของเจลซูริมิมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนจากเลือดไก่ทำหน้าที่เป็นตัวยึดเกาะ (binder) ซึ่ง

สามารถเกิดอันตรกิริยากับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนและเหนียวนำไปเกิดโครงร่างเจลที่แข็งเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Luo, Pan และ Ji (2004) พบว่าการเติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 10% (w/w) ในการผลิตเจลซูริมิ ทำให้เจลซูริมิที่ได้มีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นจากตัวอย่างที่ไม่ได้ใส่โปรตีนไอโซเลท เนื่องจากโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลืองจะลดการเกิดชั้นตอน " โมโดริ " โดยการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาระหว่างการให้ความร้อนในการเซตเจล

**ตารางที่ 4.14** ค่า force, deformation และ gel strength ของเจลซูริมิที่เติมและไม่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | Force (g)                  | Deformation <sup>ns</sup> (cm) | Gel strength (g cm)        |
|---------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Control | 212.82 <sup>e</sup> ± 2.53 | 1.37 ± 0.02                    | 291.85 <sup>e</sup> ± 3.08 |
| MPC-TD  | 247.29 <sup>d</sup> ± 1.84 | 1.36 ± 0.01                    | 336.56 <sup>d</sup> ± 2.62 |
| MPC-FD  | 273.07 <sup>b</sup> ± 1.70 | 1.38 ± 0.00                    | 376.26 <sup>b</sup> ± 2.71 |
| APC-TD  | 259.28 <sup>c</sup> ± 1.49 | 1.40 ± 0.01                    | 362.72 <sup>c</sup> ± 1.98 |
| APC-FD  | 283.34 <sup>a</sup> ± 2.12 | 1.39 ± 0.03                    | 395.39 <sup>a</sup> ± 2.92 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

\*ns = ข้อมูลตามแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

เมื่อพิจารณาในกรณีของเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกัน พบว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.38-ข.40 ผลที่ได้พบเช่นเดียวกันในเจลที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิ ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาด (ตารางที่ 4.10) ทำให้เกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้มากขึ้นและโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งยังมีปริมาณโปรตีนที่มากกว่าการทำแห้งแบบถาด ทำให้เกิดอันตรกิริยากับไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนได้เป็นโครงร่างเจลที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ค่าความแข็งแรงของเจลจึงสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาในด้านชนิดของถั่วที่เติมลงไปในเจลซูริมิ พบว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิงไปในเจลซูริมิ ส่งผลให้เจลซูริมิที่ได้มีค่าความแข็งแรงของเจลมากกว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิงมีสมบัติการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (ตารางที่ 4.10) ทำให้เจลซูริมิที่ได้มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามความแข็งแรงของเจลไม่ได้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการอุ้มน้ำเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) ด้วยเช่นกัน โดย Chung และ Lee (1990) รายงานว่าสมบัติการจับน้ำหรือความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนที่เติมลงไปในซูริมามีผลต่อค่าความแข็งแรงของเจลซูริมิที่ได้ นอกจากนี้ Kudre, Benjakul และ Kishimura (2013) พบว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเขียวมีค่าความแข็งแรงของเจลมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมโปรตีนไอโซเลท โดยอธิบายได้ว่าการเติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเขียวจะเป็นการเพิ่มอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนจากถั่วเขียวและไมโอไฟบริลลารีโปรตีนในซูริมิ อีกทั้งโปรตีนไอโซเลทมีความสามารถในการอุ้มน้ำที่ดี เมื่อเติมลงไปในซูริมิทำให้เจลที่ได้สามารถอุ้มน้ำได้มากขึ้น ดังนั้นเจลซูริมิที่จึงมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น

#### 4.5.2 ค่า % expressible drip

ค่า % expressible drip หรือปริมาณของเหลวบีบอัด เป็นค่าที่ใช้ในการตรวจสอบสถานะของน้ำภายในเจลซูริมิหรือบ่งชี้ถึงความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลซูริมิ (Niwa, 1992) จากตารางที่ 4.15 พบว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมี % expressible drip ต่ำกว่าเจลซูริมิที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.41 โดยเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่า % expressible drip ลดลงประมาณ 10-45% จากตัวอย่างควบคุม เนื่องจากการเติมโปรตีนเข้มข้นในเจลซูริมิส่งผลให้โครงสร้างของเจลมีความแข็งแรงมากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และสามารถรักษาโมเลกุลของน้ำไว้ภายในโครงสร้างเจลได้ดีขึ้น ซึ่งโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีความสามารถในการอุ้มน้ำที่สูง ประกอบกับเจลซูริมิส่วนใหญ่มีค่า pH ในช่วง 6 – 7 (Lin and Park, 1998) ซึ่งในช่วง pH ดังกล่าวโปรตีนเข้มข้นที่เติมลงไปสามารถเกิดการอุ้มน้ำได้ดี (ตารางที่ 4.10) ปริมาณของเหลวที่ถูกบีบอัดออกมาจึงลดน้อยลง Kudre และคณะ (2013) พบว่าการเติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเขียวที่ความเข้มข้น 1.5% (w/w) ลงในเจลซูริมิ



สามารถลด % expressible drip ของเจลชูริมิเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมโปรตีนไอโซเลท โดยค่า % expressible drip ลดจาก 10.86% เป็น 6.81% เนื่องจากโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเขียวมีสาร trypsin inhibitor ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มโปรตีเอส (proteases) ในกล้ามเนื้อปลา จึงป้องกันการสลายตัวของ myosin heavy chain ในระหว่างการให้ความร้อนเมื่อเจลอยู่ในชั้นโมดิรี ทำให้โครงร่างแหของเจลภายหลังการให้ความร้อนมีปริมาณ myosin ลดลงเล็กน้อย และมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น เจลจึงเกิดการอุ้มน้ำได้ดีขึ้น

**ตารางที่ 4.15** ความสามารถในการอุ้มน้ำแสดงในรูปของ % expressible drip ของเจลชูริมิที่เติมและไม่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | Expressible drip (%)      |
|---------|---------------------------|
| Control | 28.79 <sup>a</sup> ± 0.82 |
| MPC-TD  | 26.18 <sup>b</sup> ± 0.86 |
| MPC-FD  | 23.17 <sup>d</sup> ± 1.17 |
| APC-TD  | 25.10 <sup>c</sup> ± 1.50 |
| APC-FD  | 18.24 <sup>e</sup> ± 0.83 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

เจลชูริมิที่มีการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า % expressible drip ต่ำกว่าในกรณีที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบถาด ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.41 และสำหรับเจลชูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิก็ได้ผลในทำนองเดียวกันกับถั่วเขียว เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างที่มีความพรุนมากกว่าและมีการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนน้อยกว่า ทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด โดย สุทรวัดณ์ เบญจกุล (2549) กล่าวว่าเจลชูริมิที่มีความแข็งแรงต่ำจะมีปริมาณของเหลวบีบอัด (% expressible drip) สูงกว่าเจลชูริมิที่มีความแข็งแรงหรือมีความยืดหยุ่นสูง เนื่องจากเจلدังกล่าวมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำนั่นเอง

ในด้านชนิดของถั่วต่อค่า % expressible drip พบว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิมีค่า % expressible drip น้อยกว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่เติมลงไปเจลซูริมิมีความสามารถในการอุ้มน้ำที่สูงกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว (ตารางที่ 4.10) ทำให้รักษาโมเลกุลน้ำไว้ในโครงร่างของเจลได้ดีขึ้นเมื่อทำการบีบอัดเจล โครงสร้างของเจลจึงเกิดการปลดปล่อยของเหลวออกมาได้น้อยกว่า

#### 4.5.3 ค่าสีและความขาวของเจลซูริมิ

ความขาวใช้เป็นเกณฑ์หนึ่งในการตัดสินคุณภาพของเจลซูริมิ ถึงแม้ว่าในการผลิตเจลซูริมินิยมใช้ปลาเนื้อขาว (white meat) แต่ความขาวของผลิตภัณฑ์นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความสดของปลา ประสิทธิภาพการล้าง สารปรุงแต่งหรือสารที่เพิ่มเติมลงไปเจลซูริมิ เป็นต้น (สุทรววัฒน์ เบญจกุล, 2549) โดยค่าความขาวสามารถคำนวณได้จากค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  จากตารางที่ 4.16 พบว่าเจลซูริมิที่เติมและไม่เติมโปรตีนเข้มข้นมีค่าความขาวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.42-ข.45 โดยเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีค่าความขาวต่ำกว่าเจลซูริมิที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น ซึ่งเมื่อพิจารณาค่า  $L^*$  ของเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่าง พบว่ามีค่าน้อยกว่าเจลซูริมิที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น การลดลงของค่าความขาวภายหลังการเติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างสามารถอธิบายได้จากการที่เจลซูริมิเกิดการปนเปื้อนจากสีของรงควัตถุ (pigment) ตามธรรมชาติที่มีในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นที่เติมลงไปในช่วงการผลิตเจลซูริมิ Rawdkuen และคณะ (2004) พบว่าเจลซูริมิภายหลังการเติมโปรตีนเข้มข้นจากเลือดไก่ที่ระดับความเข้มข้น 2% (w/w) จะทำให้ค่าความขาวของเจลซูริมิที่ได้มีค่าลดลงจาก 79.34 ของตัวอย่างควบคุมเป็น 73.65 ซึ่งอธิบายได้จากเกิดการปนเปื้อนของรงควัตถุ (ฮีโมโกลบิน) ที่มีอยู่ในโปรตีนจากเลือดไก่

เมื่อเปรียบเทียบการเติมโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านวิธีการทำแห้งต่างกันลงในเจลซูริมิ พบว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบถาดมีค่าความขาวลดลงใกล้เคียงกับการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และผลที่ได้พบในทำนองเดียวกันกับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิด้วย เนื่องจากค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วชนิดเดียวกันที่ผ่าน

วิธีการทำแห้งแต่ละแบบมีค่าใกล้เคียงกัน แม้ว่าจะมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญก็ตาม ( $p \leq 0.05$ ) ดังตาราง ข.42-ข.45

**ตารางที่ 4.16** ค่าสีและความขาวของเจลซูริมิที่เติมและไม่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็ง

| Samples | L*                        | a*                        | b*                       | Whiteness                 |
|---------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Control | 76.38 <sup>a</sup> ± 0.49 | -3.23 <sup>e</sup> ± 0.07 | 3.55 <sup>c</sup> ± 0.22 | 75.90 <sup>a</sup> ± 0.45 |
| MPC-TD  | 66.65 <sup>b</sup> ± 0.86 | 0.14 <sup>c</sup> ± 0.16  | 5.85 <sup>b</sup> ± 0.39 | 66.13 <sup>b</sup> ± 0.82 |
| MPC-FD  | 68.31 <sup>b</sup> ± 0.47 | -0.61 <sup>d</sup> ± 0.11 | 6.36 <sup>b</sup> ± 0.27 | 67.67 <sup>b</sup> ± 0.47 |
| APC-TD  | 59.18 <sup>c</sup> ± 1.92 | 7.47 <sup>a</sup> ± 0.37  | 8.11 <sup>a</sup> ± 0.39 | 57.72 <sup>c</sup> ± 1.88 |
| APC-FD  | 60.85 <sup>c</sup> ± 0.83 | 6.75 <sup>b</sup> ± 0.29  | 7.81 <sup>a</sup> ± 0.38 | 59.50 <sup>c</sup> ± 0.84 |

\*a,b,c.....ตัวเลขที่มีอักษรแตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

เมื่อพิจารณาชนิดของถั่วต่อค่าความขาว พบว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิมีค่าความขาวน้อยกว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียว เนื่องจากโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิมีสีของรงควัตถุเป็นสีแดง เมื่อทำการเติมลงไปในเจลซูริมิจะได้เจลซูริมิที่มีลักษณะสีแดงสังเกตจากค่า a\* ที่เพิ่มมากขึ้น ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวมีสีของรงควัตถุเป็นสีเขียวทำให้เจลซูริมิที่ได้มีสีเขียว และมีความสว่างกว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิ สังเกตได้จากค่า L\* ที่สูงกว่า และ a\* ที่น้อยกว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิ Kudre และคณะ (2013) พบว่าการเติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วดำและถั่วเขียวทำให้เจลซูริมิมีค่าความขาวลดลงจากตัวอย่างควบคุม โดยเจลซูริมิที่เติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วดำมีค่าความขาวต่ำกว่าเจลซูริมิที่เติมโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเขียว ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของสีจากรงควัตถุที่พบในโปรตีนไอโซเลทแต่ละชนิด ซึ่งสีรงควัตถุในโปรตีนไอโซเลทจากถั่วดำมีสีดำซึ่งมีความเข้มมากกว่าสีเขียวจากถั่วเขียว ทำให้ค่าความขาวของเจลซูริมิที่ได้ลดลงมากกว่า

ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้น อาจกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความขาวของเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นอาจมีอิทธิพลมาจากชนิดของถั่วมากกว่าวิธีการทำแห้ง เนื่องจากรงควัตถุตาม

ธรรมชาติที่พบในโปรตีนเข้มข้นจากวัตถุดิบแต่ละประเภทมีชนิด ปริมาณ และการให้สีที่แตกต่างกัน

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

กระบวนการเตรียมโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากงานวิจัยนี้ คือ การใช้สารก่อการจับก้อนในการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วทั้งสองชนิดที่ค่า pH 5.0 และตามด้วย pH 4.5 ซึ่งการใช้กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนที่ pH ดังกล่าว ทำให้ได้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 17.22% และ 16.37% สำหรับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิตตามลำดับ จากนั้นตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดทั้งสองชนิดมีรูปแบบแถบโปรตีนไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากแถบโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิ โปรตีนเข้มข้นที่เตรียมจากการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีปริมาณโปรตีนสูงกว่า แต่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน เมื่อนำโปรตีนเข้มข้นทั้งหมดไปวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ พบว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่สูง แต่มีความคงตัวของอิมัลชัน ค่า surface hydrophobicity และความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก ซึ่งผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้งโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าโปรตีนเข้มข้นที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกจะมีร้อยละผลผลิต ปริมาณโปรตีน และสมบัติเชิงหน้าที่ในด้านต่างๆ ที่ดีกว่าการใช้กรดซิตริกในการตกตะกอน จึงนำมาใช้ในการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อไป

จากการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อสมบัติของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิ พบว่าวิธีการทำแห้งมีผลต่อโครงสร้างทางจุลภาค สมบัติทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเข้มข้นที่ได้ โดยโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ทำแห้งแบบถาดมีโครงสร้างทางจุลภาคเป็นอนุภาคที่มีขอบเด่นชัด และมีการกระจายขนาดอนุภาคในช่วงกว้าง ขณะที่โปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีโครงสร้างทางจุลภาคที่เป็นแผ่นบางและมีการกระจายขนาดอนุภาคที่สม่ำเสมอ โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะชูกิที่ทำ

แห้งแบบแช่เยือกแข็งจะมีค่าการดูดน้ำกลับสูงกว่า แต่มีค่า  $a_w$  และความหนาแน่นรวมต่ำกว่า โปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาด โปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 2.62% และ 2.87% สำหรับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด ในด้านสมบัติเชิงหน้าที่พบว่า โปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการคั่งน้ำ ความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่สูง แต่มีความคงตัวของอิมัลชัน ค่า surface hydrophobicity และความเข้มข้นต่ำสุดที่เกิดเจลได้ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งแบบถาด โดยผลลัพธ์ที่ได้พบทั้งในโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

เมื่อนำโปรตีนเข้มข้นจากถั่วทั้งสองชนิดที่ทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งเติมลงในซูริมิ และเปรียบเทียบผลของเจลที่ได้กับเจลซูริมิที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น จะเห็นได้ว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นทุกตัวอย่างมีผลต่อคุณภาพของเจลซูริมิ โดยพิจารณาจากค่า gel strength, %expressible drip และ whiteness โดยเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นทั้งหมดจะมีค่า gel strength เพิ่มขึ้น ขณะที่ค่า %expressible drip และค่า whiteness ลดลงจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น จากนั้นเมื่อเปรียบเทียบเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นที่ทำแห้งด้วยวิธีที่แตกต่างกัน พบว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในซูริมิ ทำให้ค่า gel strength สูงขึ้น แต่มีค่า %expressible drip ต่ำกว่าการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ทำแห้งแบบถาด ขณะที่ค่า whiteness ของซูริมิที่ได้จากการเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งต่างวิธีกันมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งผลดังกล่าวยังพบได้จากเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิด้วย

## 5.2 ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

การนำโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิไปใช้ในกระบวนการผลิตเจลซูริมิ ถึงแม้จะทำให้คุณภาพของเจลซูริมิดีขึ้นในด้านค่าความแข็งแรงและการคั่งน้ำของเจล แต่อย่างไรก็ตาม ค่า whiteness ของเจลซูริมิที่ใส่โปรตีนเข้มข้นจะมีค่าลดลงกว่าเจลซูริมิปกติ ทำให้อาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นในขั้นตอนการเตรียมโปรตีนเข้มข้นเพื่อไปใช้งานควรหาวิธีการกำจัดควัตถุตามธรรมชาติที่มีในโปรตีนเข้มข้น เพื่อลดปัญหาเรื่องสีที่จะเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับมากขึ้น

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

ไชยา เพ็งอุ้น. 2539. ถั่วและพืชคลุมดิน. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์เทคโนโลยีเพื่อสังคม.

ฐิติพร แก้วอัมพร. 2549. ผลของ pH และสารตกตะกอนต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิธยา รัตนานนท์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไอเดียนส์ไตร์.

น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป. 2547. การปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปาริฉัตร หงสประภาส. 2545. เคมีกายภาพของอาหาร คอลลอยด์ อิมัลชัน และเจล. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พงศ์สันต์ อรุณสินทวีพร. 2548. การพัฒนาโปรตีนถั่วเขียวสำหรับใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์อาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

วิวัฒน์ ตันทะพานิชกุล, Shuji, A., Shuichi Y., Hajime, T. และ Takeshi, F. 2548. เทคโนโลยีอบแห้งในอุตสาหกรรมอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

ศักดิ์มน เทพหัสดิน ณ อยุธยา. 2555. การอบแห้งอาหารและวัสดุชีวภาพ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ทีโอป.

สมชาย จอมดวง. 2528. การผลิตและการทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวและถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2549. ซูริมิ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อปลาบด. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไอเดียนส์ไตร์.

สุนีย์ จิ่งธีรพานิช. 2551. การพัฒนาถั่วอะซูกิผงโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2547. ถั่วเขียว: เนื้อที่ ผลผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ โดยรวมทั้งประเทศปี 2544-2546. แหล่งที่มา: <http://www.doae.go.th/data/rice/greenNut.pdf> [2 ธันวาคม 2548].

อภิญา นามพร. 2551. คุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

### ภาษาอังกฤษ

Adebowale, K.O. and Lawal, O.S. 2003. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. Food Chemistry 83: 237-246.

Akintayo, E.T., Oshodi, A.A. and Esuoso, K.O. 1999. Effects of NaCl, ionic strength and pH on the foaming and gelation of pigeon pea (*Cajanus cajan*) protein concentrates. Food Chemistry 66: 51-56.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> ed. Washington, D.C: The Association of Official Analytical Chemists.

Aykroyd, W.R., Doughty, J. and Walker, A.F. 1982. Legumes in human nutrition. FAO Food and Nutrition Paper 20: 27-34.

Bhatnagar, S.P. and Sawhney, V. 1981. Endosperm-Its morphology, ultrastructure and histochemistry. International Review of Cytology 73: 55-102.

Bressani, R. and Elias, L.G. 1974. Legume Foods. In A.M. Altschul. New Protein Foods. Vol I. New York: Academic Press.

Canovas, G.V.B. and Juliano, P. 2005. Physical and chemical properties of food powders. In Onwulata, C. Encapsulated and Powdered Food. FL: CRC Press.



- Cepeda, E., Villaran, M.C. and Aranguiz, N. 1998. Functional properties of faba bean (*Vicia faba*) protein flour dried by spray drying and freeze drying. Journal of Food Engineering 36: 303-310.
- Chung, K.H. and Lee, C.M. 1990. Relationships between physicochemical properties of nonfish protein and textural properties of protein incorporated surimi gel. Journal of Food Science 55(4): 972-975.
- Dalgleish, D.A. 2001. Food Emulsions. In Sjoblom, J. Emulsions and Emulsion Stability. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Damodaran, S. 1996. Functional properties. In Damodaran, S. and Paraf, A. Food Protein: Properties and Characterization. USA: Marcel Dekker, Inc.
- Damodaran, S. and Paraf, A. 1997. Food Proteins and their Applications. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Damodaran, S., Parkin, K.L. and Fennema, O.R. 2008. Fennema's Food Chemistry. 4<sup>th</sup> ed. Great Britain: CRC Press.
- Davis, J. P., and Foegeding, E. A. 2007. Comparison of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white protein. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 54: 200-210.
- Drake, M.A., Chen, X.O., Tamarapu, S. and Leenanon, B. 2000. Soy protein fortification affects sensory, chemical and microbiological properties of dairy yogurt. Journal of Food Science 65: 1244-1247.
- Derbyshire, E., Wright, D.J. and Boulter, D. 1976. Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. Phytochemistry 15: 3-24.
- Dervisoglu, M., Yazici, F., and Aydemir, O. 2005. The effect of soy protein concentrate addition on the physical, chemical and sensory properties of strawberry flavored ice cream. European Food Research and Technology 221: 466 – 470.
- Duke, J.A. 1981. Handbook of Legumes of World Economic Importance. New York: Plenum Press.
- Fellows, P. 2000. Food Processing Technology: principles and practice. USA: Woodhead Publishing Limited.

- Franc, B. and Martina, B. 2006. Legumes. In Franc, B. and Martina, B. Organic Production and Use of Alternative Crops. FL: CRC Press.
- Gao, W.R., Wang, X.S., Li, J.G., Zhang, J.S. and Ma, H. 2010. Physicochemical and processing functional properties of proteins from two chinese chickpea (*Cicer Arietinum* L.) cultivars. Journal of Food Processing and Preservation 34: 575-594.
- Glencross, B., Hawkins, W., Evans, D., Rutherford, N., Dods, K., McCafferty, P. and Sipsas, S. 2007. Evaluation of the influence of drying process on the nutrition value of lupin protein concentrates when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 265: 218-229.
- Hall, G.M. 1996. Methods of testing protein functionality. London: Blackie Academic and Professional.
- Haper, W.J., Jiamyangyuen, S., and Srijesdaruk, V. 2004. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. Songklanakarin Journal Science Technology 27(1): 55 – 64.
- Harris, N., and Chrispeels, M.J. 1975. Histochemical and biochemical observation on storage protein metabolism and protein body autolysis on cotyledons of germinating mung bean. Plant Physiology 56: 292-299.
- Hettiarachchy, N., Kalapathy, U. and Wu, W. 1998. A Renewable resource for food and nonfood ingredients. In Sessa, D.J. and Willett, J.L., Paradigm for Successful Utilization of Renewable Resources, 183-197. USA: AOCS Publishing.
- Hoover, R. 1991. Composition, structure, functionality, and chemical modification of legumes starches: a review. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 69(1): 79-92.
- Hoover, R., Li, Y.X., Hynes, G. and Senanayake, N. 1997. Physicochemical characterization of mung bean starch. Food Hydrocolloids 11(4): 401-408.
- Hrynets, Y., Omana, D.A., Xu, Y. and Betti, M. 2011. Impact of citric acid and calcium ions on acid solubilization of mechanically separated turkey meat: effect on lipid and pigment content. Poultry Science 90: 458-466.

- Hsieh, H.M., Swanson, B.G. and Lumpkin, T.A. 1999. Starch gelatinization and microstructure of azuki an granules prepared from whole, abraded, or ground beans. Lebensmittel-Wissenschaft and Technogie 32: 469-480.
- Israkarn, K., Hongsprabhas, P. and Hongsprabhas, P. 2007. Influences of granule-associated proteins on physicochemical properties of mungbean and cassava starches. Carbohydrate Polymers 68: 314-322.
- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J.E. and Kasapis, S. 2011. Physicochemical and functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods. Food Chemistry 129: 1513-1522.
- Kinsella, J.E. and Nicholas, M. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 7(3): 219-280.
- Kinsella, J.E. 1979. Functional properties of soy proteins. Journal of American Oil Chemists' Society 56: 242-258.
- Knorr, D. 1980. Effect of recovery methods on yield, quality and functional properties of potato protein concentrates. Journal of Food Science 45(5): 1183-1186.
- Knorr, D. 1982. Effect of recovery methods on the functionality of protein concentrates from food processing wastes. Journal of Food Process Engineering 5: 215-230.
- Knorr, D. and Betschart, A.A. 1983. Effect of dehydration methods on the functionality of plant protein concentrates. Starch/Starke 35(1): 23-28.
- Koc, B., Eren, I. and Ertekin, K. 2008. Modeling bulk density, porosity and shrinkage of quice during drying: effect of drying method. Journal of Food Engineering 85: 340-349.
- Kudre, T., Benjakul, S. and Kishimura, H. 2013. Effects of protein isolates from black bean and mung bean on proteolysis and gel properties of surimi from sardine (*Sardinella albella*). LWT-Food Science and Technology 50: 511-518.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685.
- Lanier, T.C. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties. In Lanier, T.C. and Lee, C.M., Surimi Technology. New York: Marcel Dekker, Inc.

- Lawal, O.S. 2004. Functionally of african locust bean (*Parkia biglobossa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrates. Food Chemistry 86: 345-355.
- Lee, C.M., Wu, M.C. and Okada, M. 1992. Ingredient and formulation technology for surimi-based products. In Lanier, T.C. and Lee, C.M., Surimi Technology. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Lin, H.X. and Park, J.W. 1998. Solubility of salmon myosin as affected by conformational changes at various ionic strengths and pH. Journal of Food Science 63(2): 215-218.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.
- Lucena, M.E., Alvarez, S., Menendez, C., Riera, F.A. and Alvarez, R. 2007.  $\alpha$ -lactalbumin precipitation from commercial whey protein concentrates. Separation and Purification Technology 52: 446-453.
- Luo, Y.K., Pan, D.D. and Ji, B.P. 2004. Gel properties of surimi from bighead carp (*Aristichthys nobilis*): Influence of setting and soy protein isolate. Journal of Food Science 69(8): E374-E378.
- Mahawanich, T., Lekhavichitr, J. and Duangmal, K. 2010. Gel properties of red tilapia surimi: effects of setting condition, fish freshness and frozen storage. International Journal of Food Science and Technology 45: 1777-1786.
- McEwen, T.J., Dronzek, B.L. and Bushuk, W. 1974. A scanning electron microscope study of fababean seed. Cereal Chemistry 51: 750-757.
- Mendoza, E.M.T., Adachi, M., Bernardo, A.E.N. and Utsumi, S. 2001. Mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] globulins: purification and characterization. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 1552-1558.
- Meng, G.T. and Ma, C.Y. 2001. Thermal properties of *Phaseolus angularis* (red bean) globulin. Food Chemistry 73: 453-460.

- Motomiya, M and Ito, R. 1972. Domestic production, importation and utilization of food legumes and research organization in Japan. Tropical Agriculture Research Series 6: 23-32.
- Moure, A., Sineiro, J., Dominguez, H. and Parajo, J.C. 2006. Functionality of oilseed protein products: a review. Food Research International 39: 945-963.
- Niwa, E. 1992. Chemistry of surimi gelation. In Lanier, T.C. and Lee, C.M. Surimi Technology. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Oliveira, F.A.R. and Iancu, L. 1999. Rehydration of dried plant tissues basic concepts and mathematical modeling. In Oliveira, F.A.R. and Oliveira, J.C., Processing Foods: Quality Optimization and Process Assessment. FL: CRC Press.
- Pearce, K.N. and Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry 26(3): 716-723.
- Pernollet, J.C. 1978. Protein bodies of seeds: ultrastructure, biochemistry, biosynthesis and degradation. Phytochemistry 17: 1473-1480.
- Peterson, G. L. 1983. Determination of total protein. Methods in Enzymology 91: 95-119.
- Pomeranz, Y. 1991. Functional Properties of Food Component. San Diego: Academic Press.
- Quinn, J.R. and Paton, D.P. 1979. A practical measurement of water hydration capacity of protein materials. Cereal Chemistry 56(1): 38-40.
- Raikos, V., Campbell, L., and Euston, S. R. 2007. Effects of sucrose and sodium chloride on foaming properties of egg white protein. Food Research International 40: 347-355.
- Rao, A., Shallo, H.E., Ericson, A.P. and Thomas, R.L. 2002. Characterization of soy protein concentrate produced by membrane ultrafiltration. Journal of Food Science 67(4): 1412-1418.
- Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T.C. 2004. Chicken plasma protein affects gelation of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Hydrocolloids 18: 259-270.

- Sai-Ut, S., Ketnawa, S., Chaiwut, P. and Rawdkuen, S. 2009. Biochemical and functional properties of protein from red kidney, navy and adzuki beans. Asian Journal of Food and Agro-Industry 2(4): 493-504.
- Salt, D.J., Leslie, R.B., Lillford, P.J. and Dunnill, P. 1982. Factors influencing protein structure during acid precipitation: a study of soya proteins. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 14: 144-148.
- Sapakie, S.F., Stein, E.W. and Kaufmann, H.B. 1984. Economics of drying and concentration of foods. In McKenn, B.M. Engineering and Food vol. 2, London: Elsevier Applied Science Publishing.
- Sathe, S.K. 2002. Dry bean protein functionality. Critical Reviews in Biotechnology 22(2): 175-223.
- Sathe, S.K., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. 1982. Functional properties of lupin seed (*Lupinus mutabilis*) proteins and protein concentrates. Journal of Food Science 47: 491-497.
- Sirikulchayanont, P., Jayanta, S., Pradipasena, P. and Miyawaki, O. 2007. Characteristics of microparticulated particles from mung bean protein. International Journal of Food Properties 10(3): 621-630.
- Tang, C.H. and Sun, X. 2010. Physicochemical and structural properties of 8S and/or 11S globulins from mung bean [*Vigna radiate* (L.) Wilczek] with various polypeptide constituents. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 6395-6402.
- Tang, C.H. and Sun, X. 2011. A comparative study of physicochemical and conformational properties in three vicilins from *Phaseolus* legumes: implications for the structure-function relationship. Food Hydrocolloids 25: 315-324.
- Tang, C.H., Sun, X. and Yin, S.W. 2009. Physicochemical, functional and structural properties of vicilin-rich protein isolates from three *Phaseolus* legumes: effect of heat treatment. Food Hydrocolloids 23: 1771-1778.
- Tang, H., Watanabe, K. and Mitsunaga, T. 2002. Characterization of storage starches from quinoa, barley and adzuki seeds. Carbohydrate Polymer 49:13-22.

- Thompson, L.U. 1977. Preparation and evaluation of mung bean protein isolates. Journal of Food Science 42: 202-206.
- Voutsinas, L.P., Cheung, E. and Nakai, S. 1983. Relationships of hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatured proteins. Journal of Food Science 48: 26-32.
- Wagner, J.R. and Anon, M.C. 1990. Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates. Journal of Food Science 55(3): 765-770.
- Wilden, W.V.D., Herman, E.M. and Chrispeels, M.J. 1980. Protein bodies of mung bean cotyledons as autophagic organelles. Proceedings of the Nation Academy of Science 77(1): 428-432.
- Wiseman, M.O. and Price, R.L. 1987. Functional properties of protein concentrates from pressed jojoba meal. Cereal Chemistry 64: 94-97.
- Wolf, W.J. and Baker, F.L. 1975. Scanning electron microscopy of soy beans, soy flours protein concentrates, and protein isolates. Chemical Chemistry 52(3): 387-396.
- Yousif, A.M., Kato, J. and Deeth, H.C. 2007. Effect of storage on the biochemical structure and processing quality of adzuki bean (*Vigna angularis*). Food Reviews International 23(1): 1-33.
- Zayas, J.F. 1997. Functionality of Proteins in Foods. Berlin, Germany: Springer-Verlag.

ภาคผนวก



## ภาคผนวก ก

### ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

#### ก.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry

วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry ดัดแปลงจากวิธีของ Lowry และคณะ (1951)

#### สารเคมี

Bovine serum albumin (BSA)

Copper sulfate

Folin-Ciocalteu's phenol reagent

Potassium sodium tartrate

Sodium carbonate

Sodium hydroxide

#### การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์

##### 1. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ A

เตรียมสารละลาย 0.1 M sodium hydroxide ผสมกับสารละลาย 0.1 M sodium carbonate แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C)

##### 2. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ B

เตรียมสารละลาย 0.05 M copper sulfate ปริมาตร 50 ml และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C)

##### 3. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ C

เตรียมสารละลาย 0.1 M potassium sodium tartrate ปริมาตร 50 ml และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C)

#### 4. สารละลาย Lowry (Lowry solution)

ผสมสารละลายรีเอเจนต์ A, สารละลายรีเอเจนต์ B และสารละลายรีเอเจนต์ C ในอัตราส่วน 100:1:1 (v/v) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C)

#### 5. Folin-Ciocalteu's phenol reagent

ผสม Folin-Ciocalteu's phenol reagent กับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) ในที่ไม่มีแสง

### วิธีการทดลอง

#### 1. การสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1 ชั่ง BSA 0.05 g ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 500 ml จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ BSA เท่ากับ 100 mg/L จากนั้นปิเปตสารละลาย BSA ที่เตรียมได้ตามตารางด้านล่าง

ตาราง ก.1 การเจือจางสารละลาย BSA สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน

| ปริมาตรน้ำกลั่น (ml) | ปริมาตร BSA (ml) | ความเข้มข้นโปรตีน (mg/L) |
|----------------------|------------------|--------------------------|
| 10                   | 0                | 0                        |
| 8                    | 2                | 20                       |
| 6                    | 4                | 40                       |
| 4                    | 6                | 60                       |
| 2                    | 8                | 80                       |
| 0                    | 10               | 100                      |

1.2 ปิเปตสารละลาย BSA ที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.5 ml ลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้

1.3 เติม Lowry solution ปริมาตร 0.7 ml ลงในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากันด้วย vortex meter และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) ในที่ไม่มีแสงเป็นเวลา 20 นาที

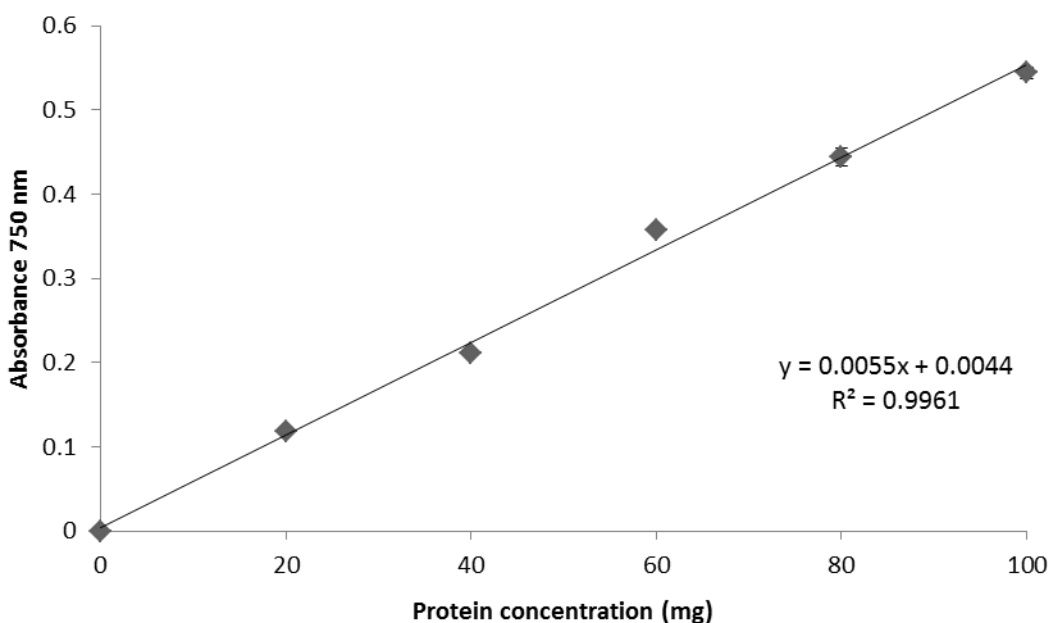
1.4 เติม Folin-Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 0.1 ml ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย vortex meter และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) ในที่ไม่มีแสงเป็นเวลา 30 นาที

1.5 หลังครบ 30 นาที นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank

1.6 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณโปรตีนของ BSA

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1.2 – 1.5 แต่ใช้เป็นสารละลายตัวอย่างแทนสารละลาย BSA คำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมไว้



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry

## ก.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry ดัดแปลงจากวิธีของ Peterson (1983)

### สารเคมี

Bovine serum albumin (BSA)

Copper sulfate

Folin-Ciocalteu's phenol reagent

Potassium sodium tartrate

Sodium carbonate

Sodium deoxycholate (DOC)

Sodium dodecyl sulfate (SDS)

Sodium hydroxide

Trichloroacetic acid (TCA)

### การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์

#### 1. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ A

ทำการเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ A โดยเตรียมสารละลาย 0.1% (w/v) copper sulfate ใน 0.2% (w/v) potassium sodium tartrate ผสมกับ 10% (w/v) sodium carbonate ใน 0.8 N sodium hydroxide และเติม 10% (w/v) SDS ในอัตราส่วนเท่าๆ กัน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C)

#### 2. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ B

ผสม Folin-Ciocalteu's phenol reagent กับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:5 (v/v) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) ในที่ไม่มีแสง

## วิธีการทดลอง

### 1. การสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1 เตรียมสารละลาย 0.1% (w/v) BSA โดยชั่ง BSA 10 mg ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 10 ml จากนั้นปิเปตสารละลาย BSA ให้ได้ปริมาตร 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100  $\mu$ l ลงใน Eppendorf tube และปรับปริมาตรแต่ละหลอดเป็น 1 ml ด้วยน้ำกลั่น และเตรียม blank โดยใช้ น้ำกลั่น 1 ml ใส่ลงใน Eppendorf tube

1.2 เติมสารละลาย 0.15% (w/v) DOC ปริมาตร 100  $\mu$ l ลงในแต่ละ Eppendorf tube ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เป็นเวลา 10 นาที

1.3 เติมสารละลาย 72% (w/v) TCA ปริมาตร 100  $\mu$ l ลงในแต่ละ Eppendorf tube ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000g เป็นเวลา 15 นาที

1.4 เทส่วนใสทิ้ง โดยระวังอย่าให้ตะกอนหล่นหายไป จากนั้นเติมสารละลายรีเอเจนต์ A ปริมาตร 1 ml เขย่าผสมจนตะกอนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เป็นเวลา 10 นาที

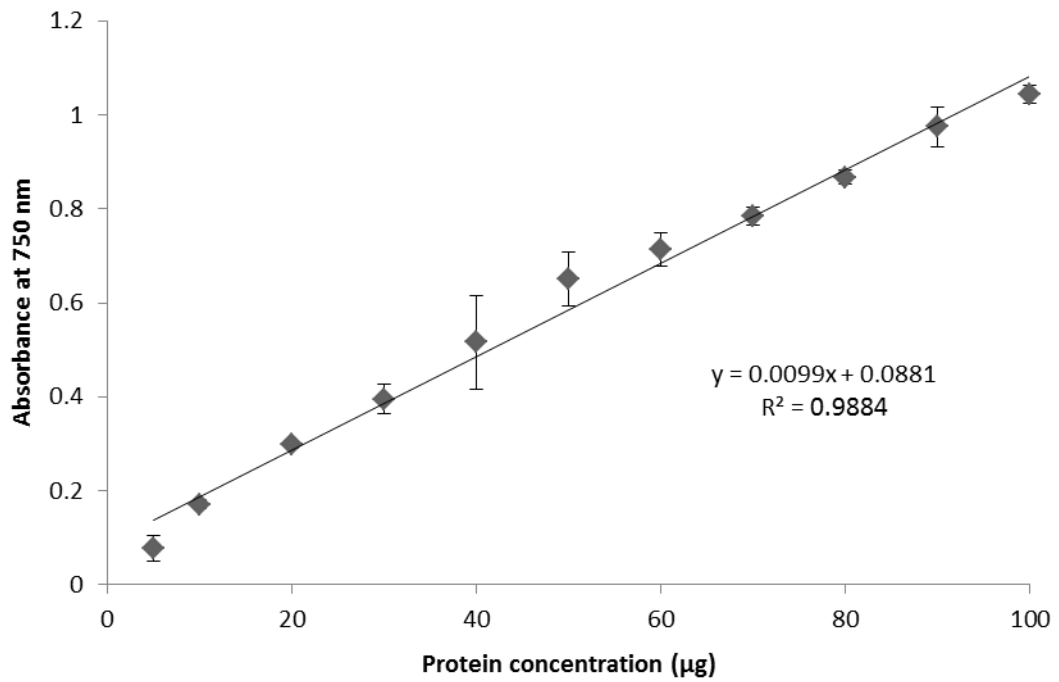
1.5 เติมสารละลายรีเอเจนต์ B ปริมาตร 0.5 ml ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เป็นเวลา 30 นาที ในที่ไม่มีแสง

1.6 เมื่อครบ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm

1.7 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณโปรตีนของ BSA

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1.1 – 1.6 แต่ใช้เป็นสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100  $\mu$ l แทนสารละลาย BSA คำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมไว้



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry

## ก.2 การวิเคราะห์รูปแบบแถบโปรตีนด้วยวิธี Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

### ก.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

#### 1. Acrylamide stock solution [30% (w/v) acrylamide, 0.8% (w/v) bisacrylamide]

ซึ่ง acrylamide 29.2 g และ bisacrylamide 0.8 g ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

#### 2. Separating gel buffer (1.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8)

ซึ่ง Trisma™ base 9.1 g ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 40 ml ปรับ pH ของสารละลายเป็น 8.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

#### 3. Stacking gel buffer (0.5 M Tris-HCl buffer, pH 6.8)

ซึ่ง Trisma™ base 3.0 g ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 40 ml ปรับ pH ของสารละลายเป็น 6.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

#### 4. Sodium dodecyl sulfate (SDS) solution

ซึ่ง SDS 10 g ละลายด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 ml แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C)

#### 5. Ammonium persulphate solution

ซึ่ง ammonium persulphate 0.1 g ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 1 ml สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่เสมอเมื่อทำการวิเคราะห์

## 6. Electrophoresis buffer

ชั่ง Trisma™ base 9.06 g, glycine 43.2 g และ SDS 3.0 g ละลายด้วยน้ำกลั่นจนมี ปริมาตร 3 L

## 7. Sample treatment buffer

เตรียม sample treatment buffer สำหรับ non-reducing และ reducing condition

Sample treatment buffer สำหรับ non-reducing condition เตรียมโดยใช้ stacking gel buffer 2.5 ml, glycerol 2.0 ml, 10% (w/v) SDS 4.0 ml และ bromophenol blue 0.1 mg สารละลายถูกปรับปริมาตรเป็น 10 ml ด้วยน้ำกลั่น และแบ่งใส่ Eppendorf tube ละ 1 ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$

Sample treatment buffer สำหรับ reducing condition เตรียมโดยใช้ stacking gel buffer 2.5 ml, glycerol 2.0 ml, 10% (w/v) SDS 4.0 ml,  $\beta$ -mercaptoethanol 0.28 ml และ bromophenol blue 0.1 mg สารละลายถูกปรับปริมาตรเป็น 10 ml ด้วยน้ำกลั่น และแบ่งใส่ Eppendorf tube ละ 1 ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$

## 8. Coomassie brilliant blue staining solution

ชั่ง Coomassie brilliant blue R-250 1.0 g ละลายด้วย 95% ethanol 500 ml และ glacial acetic acid 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

## 9. Destaining solution

ผสม 95% ethanol 250 ml และ glacial acetic acid 100 ml และปรับปริมาตรเป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น



## 10. Molecular weight marker solution

เตรียม molecular weight marker solution โดยการละลายผง marker proteins (Sigma S8445, freeze dried powder) ด้วย sample treatment buffer 400  $\mu$ l จากนั้นแบ่งใส่ Eppendorf tube ละ 40  $\mu$ l เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  molecular weight marker proteins มีน้ำหนักโมเลกุลแสดงในตาราง ก.2

ตาราง ก.2 Molecular weight marker proteins แบบ Wide range 6,500 - 200,000 Da

| Marker proteins  | Molecular weight (Da) |
|--|-----------------------|
| Myosin from porcine heart                                      | 200,000               |
| $\beta$ -Galactosidase from <i>E. coli</i>                     | 116,000               |
| Phosphorylase b from rabbit muscle                             | 97,000                |
| Albumin, bovine serum  | 66,000                |
| Glutamic dehydrogenase from bovine liver                       | 55,000                |
| Ovalbumin from chicken egg                                     | 45,000                |
| Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase<br>from rabbit muscle | 36,000                |
| Carbonic anhydrase from bovine erythrocytes                    | 29,000                |
| Trypsinogen from bovine pancreas                               | 24,000                |
| Trypsin inhibitor from soybean                                 | 20,000                |
| $\alpha$ -Lactalbumin from bovine milk                         | 14,200                |
| Aprotinin from bovine lung                                     | 6,500                 |

## ก.2.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีนด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

ชั่งตัวอย่างโปรตีนเข้มข้น 1 g ละลายด้วย 5% (w/v) SDS ปริมาตร 10 ml นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนตัวอย่างละลายหมด จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000g เป็นเวลา 20 นาที และเก็บส่วนใส (supernatant) เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry

นำตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นภายหลังการทราบปริมาณโปรตีนมาผสม sample treatment buffer ในอัตราส่วน 1:1 (w/v) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้ในการตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีนต่อไป

## ก.2.3 การตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีนด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

การตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) ดังนี้

1. ล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำสะอาด และเช็ดด้วย ethanol ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง
2. ประกบกระจกทั้ง 2 แผ่นเข้าด้วยกัน แล้วใช้ spacer คั่นไว้ที่ขอบทั้ง 2 ด้าน จากนั้นหันกระจกด้านที่มีรอยเว้าเข้าประกบกับตัวเครื่อง
3. ปิเปตสารละลาย separating gel ความเข้มข้น 10% (ตาราง ค.2) เติมลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายอยู่ห่างจากของกระจกด้านบนประมาณ 1.5 cm จึงหยุด และหยดสารละลาย n-butanol ปิดทับหน้า separating gel ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมงจนเจลแข็งตัว

ตาราง ก.3 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม separating gel ความเข้มข้น 10% และ stacking gel ความเข้มข้น 4.5%

| สารเคมี                   | separating gel | stacking gel  |
|---------------------------|----------------|---------------|
| Acrylamide stock solution | 6.7 ml         | 0.99 ml       |
| Separating gel buffer     | 5.0 ml         | -             |
| Stacking gel buffer       | -              | 1.87 ml       |
| Sodium dodecyl sulfate    | 0.2 ml         | 74.25 $\mu$ l |
| Distilled water           | 8.0 ml         | 4.57 ml       |
| TEMED                     | 6.7 $\mu$ l    | 37.58 $\mu$ l |
| Ammonium persulphate      | 100 $\mu$ l    | 3.71 $\mu$ l  |

\* สูตรในตารางใช้เตรียมแผ่นเจลหนาประมาณ 1 mm ได้จำนวน 2 แผ่น

4. เทสารละลาย n-butanol บนผิวหน้าเจล แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 3 ครั้ง จากนั้นเปิดสารละลาย stacking gel ความเข้มข้น 4.5% (ตาราง ค.2) เติมลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายถึงขอบกระจกจึงสอด comb ลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  °C) เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงจนเจลแข็งตัว

5. ถอด comb ออกจะได้แผ่นเจลที่พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ SDS-PAGE

6. ต่อชุด electrophoresis เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า จากนั้นเติม electrophoresis buffer ลงใน chamber และระหว่างแผ่นกระจกจนสารละลายท่วมแผ่นเจล

7. บีบสารละลายโปรตีนที่จะทำการวิเคราะห์ให้มีปริมาณโปรตีน 7  $\mu$ g ลงในช่องด้านบนของ stacking gel ช่องละ 1 ตัวอย่าง

8. ตั้งค่ากระแสไฟฟ้า 40 mA สำหรับแผ่นเจล 2 แผ่น จากนั้นเปิดกระแสไฟฟ้า รอจนกระทั่งตัวอย่างเคลื่อนที่ห่างจากขอบล่างกระจกประมาณ 0.5 – 1 cm จึงปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า และแกะแผ่นเจลออกจากแผ่นกระจก

9. นำแผ่นเจลที่ได้ไปแช่ใน staining solution เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างเท staining solution ที่ล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 3 ครั้ง

10. นำแผ่นเจลไปแช่ใน destaining solution จนเห็นแถบโปรตีนชัดเจน จึงเทสารละลายที่ล้างและล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น นำไปศึกษาตามต้องการ

### ก.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

#### ก.3.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 – 5 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นซึ่งอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้ hot air oven โดยควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 100 – 105 °C นาน 6 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่

3. นำตัวอย่างออกจากตู้อบ ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ได้

4. คำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% w.b.)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (g)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)}}$$

#### ก.3.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.3 g ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง

2. เติม selenium reagent mixture 1 g และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 ml จากนั้นนำไปย่อยบนเครื่องย่อยโปรตีนจนตัวอย่างในหลอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ายน้ำปลาและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

3. เตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml สำหรับเก็บสารที่ได้จากชุดกลั่นที่ปลายของเครื่องกลั่น โดยให้ปลายท่อจุ่มอยู่ใน 4% (w/v) กรดบอริกปริมาตร 25 ml ตลอดเวลาและหยุด

indicator (ผสม methyl red 20 mg และ bromocresol green 100 mg ใน ethanol 100 ml) ประมาณ 2 – 3 หยด

4. นำสารละลายที่ย่อยได้ไปใส่ในเครื่องกลั่น เพื่อหาปริมาณไนโตรเจน โดยตั้งค่าเครื่องที่ภาวะการใช้ น้ำกลั่น 40 ml และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 45% ปริมาณ 80 ml (หรือจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีดำ) และตั้งเวลาในการกลั่น 3 นาทีให้ได้ปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร เครื่องจะทำการกลั่นจนสารละลายมีสีเขียว

5. ล้างส่วนปลายท่อที่จุ่มในขวดรูปชมพู่ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายทั้งหมดไปไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.5 M จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู จึงบันทึกปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (ทำ blank ทุกครั้งที่วิเคราะห์) และคำนวณหาปริมาณโปรตีนตามสมการ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\% w.b.)} = \frac{6.25 \times 14 \times (B - A) \times M \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

A = ปริมาตร (ml) ของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank

B = ปริมาตร (ml) ของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

M = Molarity ของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกใช้ในการไทเทรต

### ก.3.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างที่ประมาณ 2 g ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1
2. นำตัวอย่างใส่ใน thimble ตามด้วย glass wool หรือ cotton wool แล้วนำไปใส่ในชุดสกัดไขมันที่ต่ออยู่กับ Soxhlet flask ซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนของ Soxhlet flask แล้ว
3. เติม petroleum ether ประมาณ 250 ml ลงในชุดสกัดไขมัน นำไปสกัดไขมันเป็นเวลาประมาณ 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำ Soxhlet flask ไประเหย petroleum ether ออกจนหมด ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator)

4. นำ Soxhlet flask ไปอบด้วยเครื่อง hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 °C ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
5. ชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้จากการสกัดจนน้ำหนักคงที่ แล้วคำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%w.b.)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

### ก.3.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผาใส่โถดูดความชื้น รอจนกระทั่งอุณหภูมิของถ้วยลดลงถึงอุณหภูมิต้อง ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักที่ได้
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2 g ใส่ถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว เผาในตู้ดูดควัน จนเป็นเถ้าสีดำและหมดควัน
3. นำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C จนได้เถ้าสีขาวหรือสีเทาอ่อน ถ้ายังมีสีดำให้กรดไนตริก (HNO<sub>3</sub>) ความเข้มข้น 4 N ประมาณ 4-5 หยด เพื่อเร่งให้ได้เถ้าเร็วขึ้น
4. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่ได้ คำนวณปริมาณเถ้าตามสมการ

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (g)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (g)}}$$

### ก.3.5 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

นางองค์ประกอบทางเคมีที่หาได้ข้างต้นมาคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (\%w.b.)} = (\text{ความชื้น} - \text{ไขมัน} - \text{โปรตีน} - \text{เถ้า}) - 100$$

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (\%d.b.)} = (\text{ไขมัน (\%d.b.)} + \text{โปรตีน (\%d.b.)} + \text{เถ้า (\%d.b.)}) - 100$$

## ก.4 การวัดความแข็งแรงและการวัดค่าสีของเจลซูริมิ

### ก.4.1 รายละเอียดของตัวอย่างซูริมิ

ซูริมิที่ใช้ในการทดลองเป็นซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็งจากบริษัท อนุสรณ์มหาชัยซูริมิ จำกัด โดยมีรายละเอียดที่สำคัญดังนี้

ตาราง ก.4 Specification ของซูริมิที่ซื้อจากบริษัท อนุสรณ์มหาชัยซูริมิ จำกัด

|                     |         |
|---------------------|---------|
| Code                | ITOYORI |
| Grade               | KA      |
| Gel strength (g cm) | 200-300 |
| Whiteness           | > 70    |
| Moisture (%)        | 70-80   |

### ก.4.2 วัดค่าความแข็งแรงของเจล (Gel strength)

วัดค่าความแข็งแรงของเจลซูริมิ ดัดแปลงจากวิธีของ Lanier (1992) ด้วยเครื่องเครื่อง Texture analyzer

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ แล้วเข้าสู่โปรแกรม Texture Expert (Stable Micro System) ทำการ calibrate force โดยใช้ลูกตุ้มขนาด 5 kg
2. ทำการ calibrate หัววัด โดยก่อนการ calibrate ให้ติดตั้งหัววัดที่ใช้เข้ากับเครื่องให้เรียบร้อย และตั้งระยะทางระหว่างหัววัดกับฐานของแท่นวัดที่ 35 mm จากนั้นเริ่มทำการ calibrate หัววัด
3. นำตัวอย่างเจลซูริมิขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 cm สูง 3 cm (2x3) วางบนแท่นของเครื่องวัด ตั้งค่าภาวะที่ใช้ในการวัด (ตาราง ก.5) และเริ่มวัดโดยเข้าไปที่เมนู Run a test ตั้งข้อมูลของตัวอย่าง ระบุชนิดของหัววัดและตั้งค่า macro เพื่อให้โปรแกรมคำนวณค่าที่ต้องการ

4. วัดตัวอย่างด้วยหัวกดลูกตุ้ม (spherical probe, P-0.25S) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 mm จนกระทั่งผิวหน้าแตก

5. วัดค่าน้ำหนักที่กด (force) และระยะทางของหัวกดที่กดลงในตัวอย่างจนแตก (deformation)

6. คำนวณตามสมการด้านล่าง

$$\text{Gel strength (g.cm)} = \text{น้ำหนักที่กด (g)} \times \text{ระยะทางของหัวกดที่กดลงในตัวอย่างจนแตก (cm)}$$

**ตาราง ก.5** ภาวะที่ใช้ในการวัดความแข็งแรงของเจลซูริมิ

| command               | Texture analyzer setting     |
|-----------------------|------------------------------|
| TA-XT2 Setting Mode   | Measure Force in Compression |
| Option                | Return to Start              |
| Pre-Test Speed        | 1.0 mm/sec                   |
| Test Speed            | 1.1 mm/sec                   |
| Post-Test Speed       | 10.0 mm/sec                  |
| Distance              | 15 mm                        |
| Trigger Force         | Auto-10 g                    |
| Data Acquisition Rate | 200 pps                      |

#### ก.4.3 การวัดค่าสีของเจลซูริมิ (Lanier, 1992)

วัดสีของเจลซูริมิด้วยเครื่องวัดสี Minolta Chromameter ในระบบ CIE L\* a\* b\* ดังนี้

1. เลื่อนปุ่ม power ไปที่ตำแหน่ง on พร้อมกับกดปุ่ม all data clear
2. กดปุ่ม index set
3. เลือกแหล่งแสง D<sub>65</sub> แล้วกดปุ่ม enter



4. กดปุ่ม calibrate เพื่อป้อนค่า Y, x, y ที่ระบุไว้ในแผ่นสีขาวมาตรฐานตามชนิดของแหล่งแสงที่เลือกใช้

5. นำหัววัดมาวางบนแผ่นสีขาวมาตรฐาน กดปุ่ม measure เครื่องจะทำการ calibrate และจะมีแสงกระพริบ 3 ครั้ง เป็นการเสร็จสิ้นการ calibrate

6. กดปุ่ม color space select เพื่อเลือกระบบสีที่ต้องการ

7. วัดสีตัวอย่างโดยกดปุ่ม measure

8. คำนวณค่า whiteness จากสมการ

$$\text{Whiteness} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

โดย  $L^*$  = ค่าความสว่าง มีค่าระหว่าง 0 – 100 คือ สีดำถึงสีขาว

$a^*$  = ค่าสีแดง (+) หรือ สีเขียว (-)

$b^*$  = ค่าสีเหลือง (+) หรือ สีนํ้าเงิน (-)

## ภาคผนวก ข

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

**ตาราง ข.1** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิต (%yield) ไปรตื้นเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.255 | 11.041* |
| Error     | 8    | 0.023 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.2** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิต (%yield) ไปรตื้นเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value   |
|-----------|------|-------|-----------|
| Treatment | 3    | 0.923 | 1068.789* |
| Error     | 8    | 0.001 |           |
| Total     | 11   |       |           |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.3** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิต (%yield) ไปรตื้นเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value   |
|-----------|------|-------|-----------|
| Treatment | 3    | 2.201 | 1057.796* |
| Error     | 8    | 0.002 |           |
| Total     | 11   |       |           |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.4** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่อร้อยละผลผลิต (%yield) ไปรตื้นเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value   |
|-----------|------|-------|-----------|
| Treatment | 3    | 1.198 | 1328.824* |
| Error     | 8    | 0.001 |           |
| Total     | 11   |       |           |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.5** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันต่อปริมาณความชื้นของไปรตื้นเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.371 | 5.069*  |
| Error     | 8    | 0.073 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.6** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันต่อปริมาณไขมันของไปรตื้นเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.405 | 10.279* |
| Error     | 8    | 0.039 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.7** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันต่อปริมาณโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value  |
|-----------|------|--------|----------|
| Treatment | 3    | 50.130 | 102.279* |
| Error     | 8    | 0.490  |          |
| Total     | 11   |        |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.8** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันต่อปริมาณเถ้าของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.191 | 5.286*  |
| Error     | 8    | 0.036 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.9** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อการจับก้อนที่แตกต่างกันต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value |
|-----------|------|--------|---------|
| Treatment | 3    | 42.587 | 69.567* |
| Error     | 8    | 0.612  |         |
| Total     | 11   |        |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.10** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อนการจับก้อนต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 3.5

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.020 | 2.035*  |
| Error     | 8    | 0.010 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

**ตาราง ข.11** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อนการจับก้อนต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 5.5

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.078 | 8.971*  |
| Error     | 8    | 0.009 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.12** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของสารก่อนการจับก้อนต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 7.5

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.338 | 54.476* |
| Error     | 8    | 0.006 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.13** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วเขียวตักตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 2    | 0.382 | 36.384* |
| Error     | 6    | 0.010 |         |
| Total     | 8    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.14** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วเขียวตักตะกอนด้วยกรดซิตริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 2    | 0.325 | 92.937* |
| Error     | 6    | 0.004 |         |
| Total     | 8    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.15** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตักตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 2    | 0.994 | 57.414* |
| Error     | 6    | 0.017 |         |
| Total     | 8    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.16** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ตกตะกอนด้วยกรดซิตริก

| SOV       | d.f. | MS    | F value  |
|-----------|------|-------|----------|
| Treatment | 2    | 0.718 | 425.575* |
| Error     | 6    | 0.002 |          |
| Total     | 8    |       |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.17** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลสารก่อนการจับก้อนต่อความสามารถในการเกิด  
อิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 4.590 | 78.018* |
| Error     | 8    | 0.059 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.18** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลสารก่อนการจับก้อนต่อความคงตัวของอิมัลชันของ  
โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS      | F value |
|-----------|------|---------|---------|
| Treatment | 3    | 348.436 | 74.842* |
| Error     | 8    | 4.656   |         |
| Total     | 11   |         |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.19** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลสารก่อนการจับก้อนต่อค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS          | F value      |
|-----------|------|-------------|--------------|
| Treatment | 4    | 422053067.6 | 1463877.258* |
| Error     | 10   | 288.312     |              |
| Total     | 14   |             |              |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.20** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า  $a_w$  ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS      | F value  |
|-----------|------|---------|----------|
| Treatment | 3    | 0.047   | 203.056* |
| Error     | 8    | 0.00023 |          |
| Total     | 11   |         |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.21** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่าการดูดน้ำกลับของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS       | F value |
|-----------|------|----------|---------|
| Treatment | 3    | 0.06     | 64.841* |
| Error     | 8    | 0.000095 |         |
| Total     | 11   |          |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )



**ตาราง ข.22** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการทำงานแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่าความหนาแน่นรวม (Bulk density) ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value   |
|-----------|------|--------|-----------|
| Treatment | 3    | 0.374  | 1793.123* |
| Error     | 8    | 0.0002 |           |
| Total     | 11   |        |           |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.23** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณความชื้นของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 6.299 | 82.007* |
| Error     | 6    | 0.077 |         |
| Total     | 9    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.24** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณไขมันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.290 | 10.572* |
| Error     | 6    | 0.027 |         |
| Total     | 9    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.25** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณโปรตีนของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value  |
|-----------|------|--------|----------|
| Treatment | 3    | 40.757 | 119.608* |
| Error     | 6    | 0.341  |          |
| Total     | 9    |        |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.26** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณเถ้าของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.011 | 0.294*  |
| Error     | 6    | 0.039 |         |
| Total     | 9    |       |         |

\*ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

**ตาราง ข.27** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value |
|-----------|------|--------|---------|
| Treatment | 3    | 33.505 | 69.070* |
| Error     | 6    | 0.485  |         |
| Total     | 9    |        |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.28** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 3.5

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.404 | 28.435* |
| Error     | 8    | 0.014 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

**ตาราง ข.29** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 5.5

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.183 | 10.765* |
| Error     | 8    | 0.017 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.30** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิที่ pH 7.5

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 0.260 | 15.132* |
| Error     | 8    | 0.017 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.31** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 2    | 0.382 | 36.384* |
| Error     | 6    | 0.010 |         |
| Total     | 8    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.32** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 2    | 1.219 | 35.790* |
| Error     | 6    | 0.034 |         |
| Total     | 8    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.33** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการขุดน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 2    | 0.994 | 57.414* |
| Error     | 6    | 0.017 |         |
| Total     | 8    |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.34** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ต่อความสามารถในการข่มน้ำของโปรตีน  
เข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

| SOV       | d.f. | MS    | F value  |
|-----------|------|-------|----------|
| Treatment | 2    | 1.065 | 147.059* |
| Error     | 6    | 0.007 |          |
| Total     | 8    |       |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.35** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อ  
ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 3    | 3.218 | 51.527* |
| Error     | 8    | 0.062 |         |
| Total     | 11   |       |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.36** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อ  
ความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS      | F value |
|-----------|------|---------|---------|
| Treatment | 3    | 171.641 | 37.431* |
| Error     | 8    | 4.585   |         |
| Total     | 11   |         |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.37** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS          | F value      |
|-----------|------|-------------|--------------|
| Treatment | 4    | 426509502.1 | 1422731.085* |
| Error     | 10   | 299.782     |              |
| Total     | 14   |             |              |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.38** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า force ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS       | F value  |
|-----------|------|----------|----------|
| Treatment | 4    | 1493.093 | 159.854* |
| Error     | 5    | 9.340    |          |
| Total     | 9    |          |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.39** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า deformation ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value |
|-----------|------|-------|---------|
| Treatment | 4    | 0.001 | 1.226*  |
| Error     | 5    | 0.000 |         |
| Total     | 9    |       |         |

\*ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

**ตาราง ข.40** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า gel strength ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS       | F value  |
|-----------|------|----------|----------|
| Treatment | 4    | 3220.796 | 867.992* |
| Error     | 5    | 3.711    |          |
| Total     | 9    |          |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.41** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า %expressible drip ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value  |
|-----------|------|--------|----------|
| Treatment | 4    | 31.132 | 348.270* |
| Error     | 5    | 0.089  |          |
| Total     | 9    |        |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.42** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า L\* ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value |
|-----------|------|--------|---------|
| Treatment | 4    | 93.044 | 57.849* |
| Error     | 5    | 1.608  |         |
| Total     | 9    |        |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.43** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า  $a^*$  ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS     | F value   |
|-----------|------|--------|-----------|
| Treatment | 4    | 45.014 | 1219.550* |
| Error     | 5    | 0.037  |           |
| Total     | 9    |        |           |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.44** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า  $b^*$  ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

| SOV       | d.f. | MS    | F value  |
|-----------|------|-------|----------|
| Treatment | 4    | 6.684 | 150.819* |
| Error     | 5    | 0.044 |          |
| Total     | 9    |       |          |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตาราง ข.45** การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการทำแห้งแบบถาดและแบบแช่เยือกแข็งต่อค่า whiteness ของเจลซูริมิที่เต็มและไม่เต็มโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ

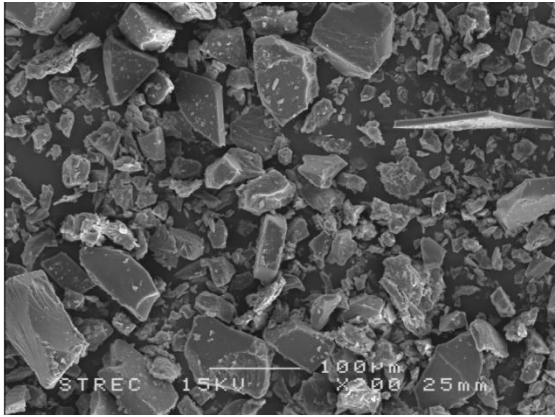
| SOV       | d.f. | MS      | F value |
|-----------|------|---------|---------|
| Treatment | 4    | 104.835 | 67.162* |
| Error     | 5    | 1.561   |         |
| Total     | 9    |         |         |

\*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

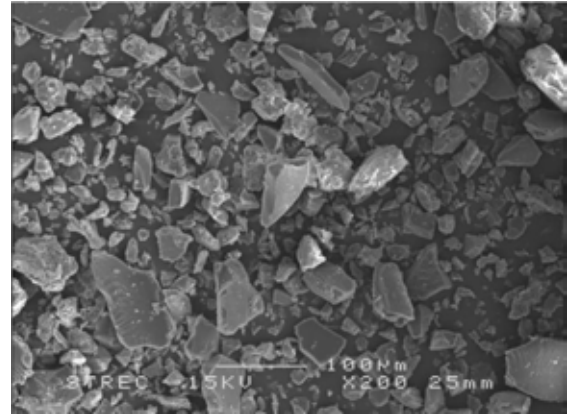


## ภาคผนวก ค

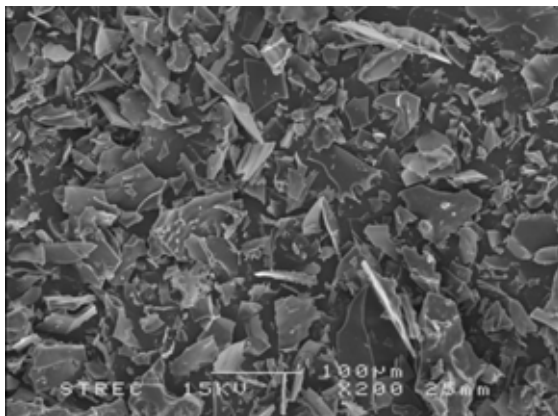
## รูปภาพจากการวิจัย



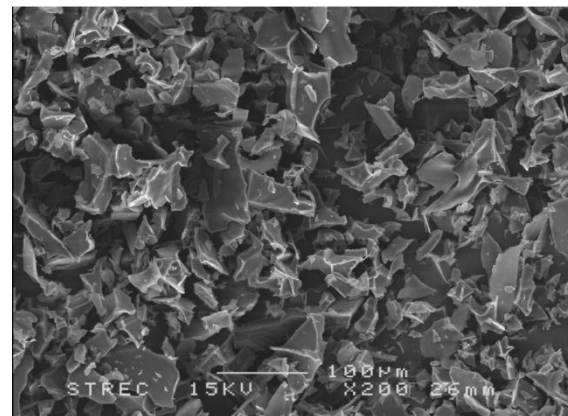
a



b



c



d

**รูปที่ ค.1** โครงสร้างจุลภาคของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบลาด (a) และแบบแช่เยือกแข็ง (c) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะซูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบลาด (b) และแบบแช่เยือกแข็ง (d) จาก scanning electron microscope (SEM) กำลังขยาย 200 เท่า



a



b



c



d



e

**รูปที่ ค.2** ลักษณะของเจลซูริมที่ไม่ได้เติมโปรตีนเข้มข้น (a) เติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด (b) และแบบแช่เยือกแข็ง (c) กับเติมโปรตีนเข้มข้นจากถั่วอะชูกิที่ผ่านการทำแห้งแบบถาด (d) และแบบแช่เยือกแข็ง (e)

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายประเสริฐ เดชชีวพงศ์ เกิดเมื่อวันที่ 26 สิงหาคม 2530 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับ 1 สาขา วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เมื่อปีการศึกษา 2552 และ เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาคต้นปีการศึกษา 2553

ในระหว่างการศึกษาได้เข้าร่วมเสนอผลงานภาคบรรยายในการประชุมทางวิชาการ นานาชาติ คือ Pure and Applied Chemistry International Conference 2013 (PACCON 2013) ระหว่างวันที่ 23 มกราคม ถึง 25 มกราคม 2556 ณ เดอะไทด์ รีสอร์ท บางแสน ชลบุรี ใน หัวข้อเรื่อง “ผลของสารก่อการจับก้อนต่อความสามารถในการละลายและสมบัติการเป็น อิมัลชันไฟเออร์ของโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ (Effect of Coagulants on Solubility and Emulsifying Properties of Protein Concentrates from Mung Bean and Adzuki Bean)” โดยงานวิจัยได้รับการตีพิมพ์ในรายงานวิจัยเรื่องเต็มของการประชุม