บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการใช้ใบมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตโปรตีนเข้มข้น แสดงผลในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*)

องค์ประกอบทางเคมี (โดยน้ำหนักแห้ง)		ค่าเฉลี่ย* ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
โปรตีน	(%)	31.76 ± 0.01
ไขมัน	(%)	11.65 ± 0.35
เส้นใยหยาบ	(%)	15.07 ± 0.28
เถ้า	(%)	8.86 ± 0.03
กรดไฮโดรไซยานิก	(ppm)	854.91 ± 29.77

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่าใบมันสำปะหลังที่นำมาวิเคราะห์ในส่วนนี้มีค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนสูง 31.76% โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งอยู่ในช่วงของปริมาณโปรตีนในใบมันสำปะหลังที่ใช้ตลอดงานวิจัยคือ 24-39% ความแตกต่างของปริมาณโปรตีนนี้ขึ้นอยู่กับการเพาะปลูก ฤดูกาล และสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามใบมันสำปะหลังก็ยังจัดว่าเป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณโปรตีนมากพอที่จะพิจารณาเป็นแหล่งโปรตีนเสริมได้ (Oke, 1971; Fafunso and Bassir, 1976; Tupynamba and Vieira, 1979; Ravindran and Ravindran, 1988; Ravindran, 1993; Castellanos et al., 1994)

ปริมาณไขมันวิเคราะห์โดยใช้อีเธอร์สกัด (ether extract) พบว่ามี 11.65% ทั้งนี้การวิเคราะห์วิธีนี้สามารถทำให้วิตามินที่ละลายในไขมัน (fat-soluble vitamin) และรงควัตถุที่ละลายในไขมัน (fat-soluble pigment) ถูกสกัดรวมอยู่ด้วย จากงานวิจัยของ Nagy และ Nordby (1983) พบว่าไขมันจากพืชนี้ประกอบด้วย neutral lipid ประมาณ 75% ซึ่งเป็นไขมัน

ชนิดไม่อิ่มตัวมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีไกลโคลิปิด (glycolipid) ประมาณ 22% และฟอสโฟลิปิด (phospholipid) ประมาณ 3% ปริมาณไขมันที่เหลืออยู่หลังจากการสกัดโปรตีนเข้มข้นสามารถให้คุณค่าทางอาหารได้ แต่อาจมีอิทธิพลต่อคุณภาพโปรตีนเนื่องจากสามารถเกิดออกซิเดชั่นในผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บไว้นานในภาวะไม่เหมาะสม (Arkcoll, 1973; Nagy, Nordby and Telek, 1978)

สำหรับปริมาณเส้นใยหยาบพบว่ามีสูงถึง 15.07% เป็นปัจจัยจำกัดคุณค่าทางอาหารของโปรตีนที่จะได้รับ หากบริโภคในรูปใบพืชทั้งใบ (leaves meal) (Ravindran, 1993) นอกจากนี้ในการนำไปผลิตโปรตีนเข้มข้นยังต้องใช้แรงและพลังงานมากในการทำให้เซลแตกและคั้นแยกน้ำออกมา (Arkcoll and Davys, 1973)

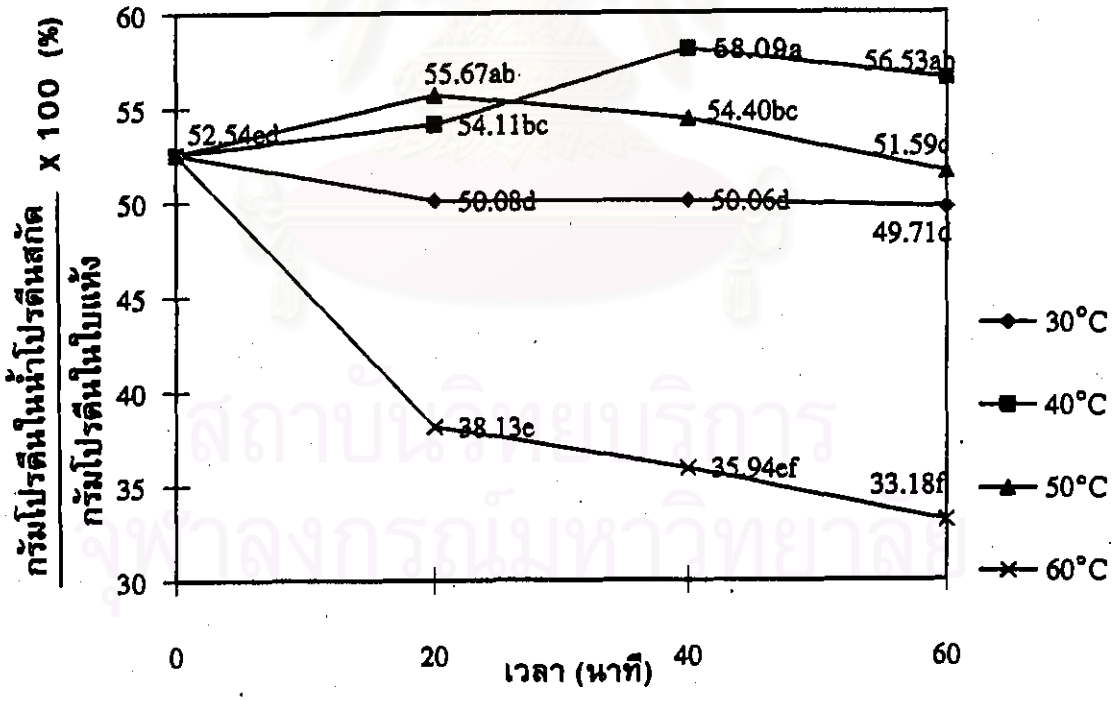
จากการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าในใบมันสำปะหลังพบว่ามีปริมาณถึง 8.86% โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณแร่ธาตุในใบมันสำปะหลังด้วย ทั้งนี้ตามธรรมชาติใบมันสำปะหลังมีแร่ธาตุอยู่หลายชนิด ได้แก่ เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปตัสเซียม แมกนีเซียม มังกานีส และสังกะสี เป็นต้น และหากใช้วัตถุดิบที่ไม่ผ่านการล้างให้สะอาดก่อน ปริมาณเถ้าจะยิ่งสูงมากเนื่องจากมีดินหรือทรายที่ติดมาจากการเก็บเกี่ยวปนอยู่ (Ravindran, 1993) สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองนี้จะถูกล้างน้ำจนสะอาดก่อนนำมาใช้เสมอ

องค์ประกอบทางเคมีที่บ่งบอกความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลัง ไม่ว่าจะเป็นจากหัวหรือใบคือปริมาณกรดไฮโดรไซยานิก ซึ่งทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้ถ้าบริโภคถึง lethal dose คือ 0.5-3.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Voldrich, 1995) พิษต่อร่างกายจะเกิดได้ 2 ลักษณะคือ ทำให้ร่างกายขาดกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เพราะมีการดึงซัลเฟอร์ไปลดความเป็นพิษ (detoxify) ไฮโดรไซยานิกให้อยู่ในรูปไธโอไซยาเนตเพื่อพยายามขับออกทางปัสสาวะ อีกกรณีจะเป็นพิษโดยเฉียบพลันถึงตายได้ (Voldrich, 1995) จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกในใบมันสำปะหลังส่วนที่ใช้ในการทดลองข้อ 4.1 พบว่ามี 854.91 ppm โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นปริมาณที่ทำให้เกิดโทษได้เมื่อบริโภควัตถุดิบ 30 กรัม โดยน้ำหนักแห้ง สำหรับผู้ที่มีน้ำหนักตัว 60 กิโลกรัม แต่การนำใบสดไปตากแดดหรือต้มเดือด สามารถลดปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกลงได้ (Ravindran, 1993; Awoyinka et al., 1995) ขณะที่กระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นทั่วไปสามารถลดปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกลงได้ถึงประมาณ 98% (Fafunso and Bassir, 1976)

4.2 การปรับสภาพใบมันสำปะหลังด้วยความร้อน

จากการทดลองเบื้องต้นได้ศึกษาช่วงอุณหภูมิ และเวลาเพื่อใช้ในการทดลอง และศึกษาอัตราส่วนของใบต่อน้ำในการแช่ รวมทั้ง pH ในการสกัด พบว่าการใช้อุณหภูมิมากกว่า 60°C โปรตีนที่สกัดออกมาได้จะน้อยลง และการใช้เวลามากกว่า 60 นาที ไม่ทำให้สกัดโปรตีนเพิ่มมากขึ้น สำหรับอัตราส่วนใบต่อน้ำที่ใช้แช่ใบคือ 1 : 10 ซึ่งเป็นปริมาณไม่มากเกินไปที่ทำให้ใบที่แช่จมพอดี สำหรับ pH ในการสกัดหลังจากทดลองในช่วง 7-11 พบว่า pH 9 สามารถสกัดโปรตีนออกมาได้ดีที่สุด

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเมื่อแปรอุณหภูมิของน้ำกลั่นเป็น 30 40 50 และ 60°C เวลา 0 20 40 และ 60 นาที (ภาคผนวก จ) ในการแช่ใบก่อนนำไปสกัดเป็นน้ำโปรตีนสกัดตามขั้นตอนในข้อ 3.4.2 พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิในการแช่และเวลาแสดงผลดังรูปที่ 4.1



a, b,....f ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.1 ร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดต่อปริมาณโปรตีนในใบแห้ง (%protein recovery) ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิของน้ำที่ให้ความร้อนกับเวลาในการให้ความร้อนแก่ใบมันสำปะหลัง

จากอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและเวลาในการแช่ใบที่มีผลต่อร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดต่อปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบสำหรับขั้นตอนการสกัด (%protein recovery) พบว่าการแช่ใบมันสำปะหลังในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 30°C แต่ละเวลาในการทดลอง ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า %protein recovery เมื่อเทียบกับใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (เวลา 0 นาที) แต่การเพิ่มอุณหภูมิจาก 40 เป็น 50 และ 60°C ในแต่ละเวลาการแช่ มีผลให้ %protein recovery ลดลง ($p \leq 0.05$) และหากพิจารณาการเพิ่มเวลาในการแช่ที่อุณหภูมิ 40 50 และ 60°C จะสังเกตเห็นแนวโน้มการลดลงของค่า %protein recovery ด้วย ($p \leq 0.05$) ซึ่งการแช่ใบที่อุณหภูมิ 40 และ 50°C ภายในเวลาที่ทำการทดลองจะทำให้ %protein recovery สูงขึ้นเมื่อเทียบกับใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อิทธิพลของความร้อนต่อสภาพใบวัตถุดิบสามารถทำให้เกิดการเพิ่มของ %protein recovery ได้ โดยความร้อนจะทำให้เพคตินซึ่งเป็นสารเชื่อมในผนังเซล (Brett and Waldron, 1990) เกิดสลายเป็นโมเลกุลที่เล็กลง จากเดิมที่ต่อกันเป็นโพลิเมอร์ที่แข็งแรง (Keijbets, 1974; Van Buren, 1983) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการสลายตัวของพันธะไฮโดรเจนของน้ำตาลโมเลกุลใหญ่อื่นๆในผนังเซลได้ (Edwards, 1995) เป็นเหตุให้ผนังเซลพืชอ่อนแอลงและสูญเสียการเกาะติดกันในแต่ละเซล (Keijbets, 1974; Van Buren, 1983; Edwards, 1995) ดังนั้นจึงสามารถปั่นใบมันสำปะหลังที่ผ่านความร้อนจากการทดลองนี้ให้ละเอียดได้ง่ายและทั่วถึงมากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น สำหรับกรณีที่อุณหภูมิสูงหรือเวลานานเกินไปจนทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง เกิดเพราะโปรตีนที่อยู่ภายในเซลพืชเกิดเสียสภาพ (denature) จนตกตะกอน (Lehninger, 1975) และถ้าโปรตีนตกตะกอนอยู่ภายในเซลถึงแม้จะทำให้ใบละเอียดได้มากขึ้น แต่โปรตีนก็จะค้างอยู่ในกากทำให้การสกัดไม่ดีเท่าที่ควร (De Jong, 1982) ทั้งนี้การแช่ใบที่ 40°C 40 และ 60 นาที และ 50°C 20 นาที ให้ค่า %protein recovery สูงสุด

ดังนั้นการปรับสภาพใบด้วยความร้อนจากการทดลองนี้จึงใช้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 40 นาที เนื่องจากให้ค่า %protein recovery สูงสุด และเป็นภาวะที่เหมาะกับการผลิตโปรตีนเข้มข้นมากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า

4.3 การปรับสภาพใบด้วยสารเคมี

ในการทดลองใช้สารเคมีปรับสภาพใบ ได้แบ่งการทดลองเป็น 3 ส่วนเพื่อให้สามารถสรุปได้โดยใช้ใบในกลุ่มตัวอย่างเดียวกัน เนื่องจากใบสดที่นำมาใช้ทดลองมีอายุการเก็บสั้น เน่าเสียง่าย ไม่สามารถเก็บไว้ในปริมาณมากเพื่อทำการทดลองที่ต้องแปรหลายตัวแปรและหลายระดับพร้อมๆกัน

4.3.1 การเลือกสารละลายที่ใช้แช่วัตถุดิบจากสารทั้ง 3 ชนิดได้แก่โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4% โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05M และโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 M เทียบกับการแช่น้ำกลั่น

การกำหนดชนิดและความเข้มข้นของสารที่นำมาเปรียบเทียบกันในการทดลองนี้ได้อ้างอิงจากงานวิจัยของ Kokta (1989) เกี่ยวกับการทดลองใช้สารเคมีได้แก่สารละลายด่างและสารละลายเกลือ ในการปรับสภาพวัตถุดิบในการทำกระดาษเพื่อให้แยกเส้นใยออกได้ง่ายขึ้น และจากงานวิจัยของ Chavan และคณะ (1979) ที่มีการใช้สารเคมีช่วยปรับปรุงคุณภาพโปรตีนจากพืชโดยนำวัตถุดิบไปแช่ในสารละลายด่าง จึงได้นำความเข้มข้นสูงสุดจากงานวิจัยดังกล่าวมาทดลองใช้ในการแช่ใบมันสำปะหลังเพื่อศึกษาอิทธิพลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีน ซึ่งพิจารณาในภาวะใกล้เคียงอุณหภูมิห้องก่อนที่จะมีการใช้กับอุณหภูมิสูงมากขึ้นในการทดลองต่อไป ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดเทียบกับโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้นเมื่อแช่วัตถุดิบในสารละลายชนิดต่างๆกัน ที่อุณหภูมิ 30°C นาน 60 นาที

สารละลาย	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดต่อโปรตีนในวัตถุดิบ (%) ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
น้ำกลั่น	$47.69^{c} \pm 0.94$
โซเดียมคลอไรด์ 4%	$53.15^{a} \pm 1.11$
โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05M	$49.42^{b} \pm 1.36$
โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.05M	$51.06^{b} \pm 0.88$

a,b,c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันจากแถวในแนวตั้ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การแช่ใบในสารละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่โซเดียมคลอไรด์ 4% โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05M และ โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.05M ในภาวะใกล้เคียงอุณหภูมิห้องคือที่ 30°C ให้ค่า %protein recovery ในการสกัดมากกว่าการสกัดโปรตีนจากใบที่ผ่านการแช่น้ำกลั่นหรือที่ความเข้มข้นของสารเป็น 0 ($p \leq 0.05$)

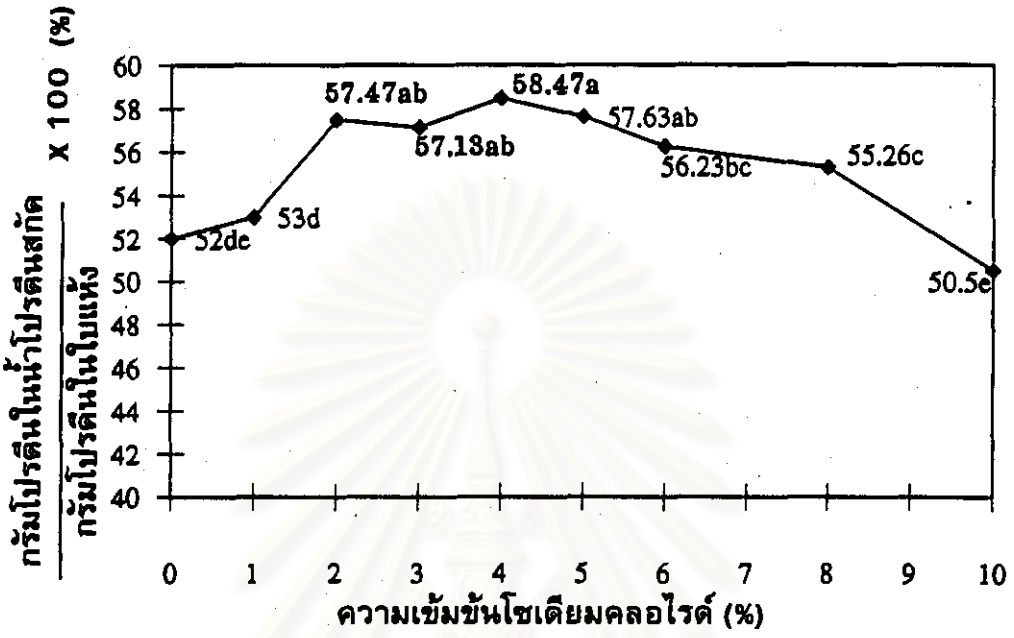
จากการที่ใบในแต่ละภาวะจะถูกนำไปสกัดโปรตีนโดยวิธีเดียวกันและภายใต้ภาวะเดียวกันคือปั่นละเอียดที่ pH 9 ดังนั้นความแตกต่างของค่า %protein recovery จะอยู่ที่ประสิทธิภาพในช่วงการปั่นใบให้ละเอียด และแยกน้ำโปรตีนสกัดออกมา ซึ่งสารเคมีแต่ละชนิดมีอิทธิพลต่อสภาพใบโดยโซเดียมคลอไรด์ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Van Buren (1983) ที่ได้ทดลอง

แช่ Snap bean ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิห้องพบว่าทำให้เซลพืชอ่อนตัวลง เมื่อประกอบกับการวัดปริมาณแคลเซียมที่สูญเสียออกมาในน้ำแช่โดยวิธี Atomic absorption spectroscopy จึงสรุปว่าการที่เซลอ่อนตัวหลังจากแช่ในเกลือโมโนวาเลนท์เนื่องจากเกิดการแทนที่ของแคลเซียมบางส่วนที่อยู่ในส่วนแมทริกซ์ระหว่างเซลพืช (Dainty et al., 1960) ดังนั้นการสูญเสียแคลเซียม ซึ่งเป็นสะพานอิออนิก (ionic bridge) ระหว่างเพคตินในผนังเซลจึงทำให้เซลไม่แข็งแรงและมีความอ่อนนิ่ม นอกจากนี้โซเดียมคลอไรด์ยังสามารถแยกพันธะอิออนิกระหว่างหมู่คาร์บอกซีของเพคตินกับโปรตีนที่เป็นโครงสร้างในผนังเซลได้ (Fry, 1986) ส่วนโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถแยกพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซีของเพคตินกับหมู่ไฮดรอกซีของเซลลูโลส ขณะที่โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์สามารถแยกพันธะไฮโดรเจนระหว่างเฮมิเซลลูโลสกับเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสด้วยกัน (Meyer, 1960; Fry, 1986) การทำงานดังกล่าวสามารถทำให้ผนังเซลหลวมและสูญเสียการเกาะติดกันในแต่ละเซลได้ จึงปั่นใบให้แตกเพื่อสกัดโปรตีนง่ายขึ้น

จากการทดลองแช่ใบมันสำปะหลังในสารละลายต่าง ๆนี้สรุปได้ว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05M และโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.05M มีผลต่อการเพิ่ม %protein recovery น้อยกว่าการแช่ใบในโซเดียมคลอไรด์ 4% นอกจากนี้การแช่ใบมันสำปะหลังในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ก็สามารถล้างออกจากใบได้ง่ายก่อนนำไปสกัด จึงเลือกโซเดียมคลอไรด์ไปศึกษาขั้นต่อไป

4.3.2 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของสารที่เลือกได้

จากการทดลองข้อ 4.3.1 ได้เลือกโซเดียมคลอไรด์มาใช้ในการปรับสภาพใบด้วยเหตุผลในแง่ประสิทธิภาพ ความสะดวกในการจัดหา และความปลอดภัย เพื่อศึกษาหาความเข้มข้นในช่วงกว้างที่ยังมีผลต่อการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดต่อไป โดยแปรความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในช่วง 0-10% ควบคุมอุณหภูมิที่ 30°C ในการแช่ใบมันสำปะหลังก่อนนำไปสกัดโปรตีน และประเมินประสิทธิภาพการสกัด แสดงผลดังรูปที่ 4.2



a, b,....f ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.2 ร้อยละปริมาณโปรตีนที่มีในน้ำโปรตีนสกัดต่อปริมาณโปรตีนที่มีในวัตถุดิบ เมื่อแปรความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในช่วง 0-10% ที่ใช้แช่วัตถุดิบ

นอกจากนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในใบที่ผ่านการแช่และล้างน้ำสะอาดมาแล้ว เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการประเมินว่าที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ระดับใดเริ่มทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง เนื่องจากปริมาณเกลือตั้งแต่ 0.3M ขึ้นไปสามารถทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ (ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, 2530) แสดงผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่วิเคราะห์ได้ในใบมันสำปะหลังที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 30°C 60 นาที

ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ที่แช่ใบ (%)	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ในใบ* (M) ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	0.020 ± 0.000
1	0.075 ± 0.007
2	0.105 ± 0.005
3	0.125 ± 0.007
4	0.160 ± 0.013
5	0.190 ± 0.015
6	0.340 ± 0.000
8	0.556 ± 0.008
10	0.621 ± 0.000

*ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระดับต่าง ๆมีผลต่อ %protein recovery ในการสกัด (รูปที่ 4.2) โดยความเข้มข้น 2-5% จะให้ค่าสูงสุด ขณะที่ความเข้มข้น 6-10% สังเกตเห็นแนวโน้มการลดลงของ %protein recovery ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้การมีอิออนของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นในระบบจะส่งผลต่อการละลายของโปรตีน กล่าวคืออิออนของโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นช่วงต้นจะล้อมรอบหมู่อะมิโนของโปรตีนช่วยให้โมเลกุลของโปรตีนจับน้ำได้มากขึ้นจึงมีการละลายดีขึ้น (ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, 2530) ประกอบกับอิทธิพลของโซเดียมคลอไรด์ที่ทำให้เกิดการสูญเสียแคลเซียมจากผนังเซลจนผนังเซลอ่อนแอ (Van Buren, 1983) จึงทำให้ประสิทธิภาพในการปั่นใบให้ละเอียดและแยกน้ำโปรตีนออกมาดีขึ้นเมื่อเทียบกับจุดที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ แต่ถ้าความเข้มข้นของเกลือในระบบมากกว่า 0.3M จะเกิดการแย่งน้ำจากโมเลกุลโปรตีนได้ และทำให้โปรตีนตกตะกอนในที่สุด (ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, 2530) ซึ่งหากโปรตีนเกิดการตกตะกอนในเซลจะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนน้อยลง ดังนั้นนอกจากต้องพิจารณาผลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อความแข็งแรงของผนังเซลแล้วยังต้องคำนึงถึงปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่จะตกค้างอยู่ภายในใบ ซึ่งอาจทำให้โปรตีนตกตะกอนอยู่ในกากใบหลังจากการสกัดได้ จึงวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในใบมันสำปะหลัง ตามวิธีของ มอก. (2513) (ภาคผนวก ก) (ตารางที่ 4.3) จะเห็นว่าการแช่ใบมันสำปะหลังในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 6-10% ให้ผลวิเคราะห์ปริมาณโซเดียม

คลอไรด์ในใบมากกว่า 0.3M จึงมีส่วนทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลงได้ สำหรับปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในใบที่ความเข้มข้นระหว่าง 5% และ 6% มีความแตกต่างกันมากอาจเนื่องมาจากเซลใบเมื่อแช่ที่ 6% มีความอ่อนแอมากดังนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงกว่า 5% เซลจึงดูดซึมโซเดียมคลอไรด์เข้าไปได้มาก

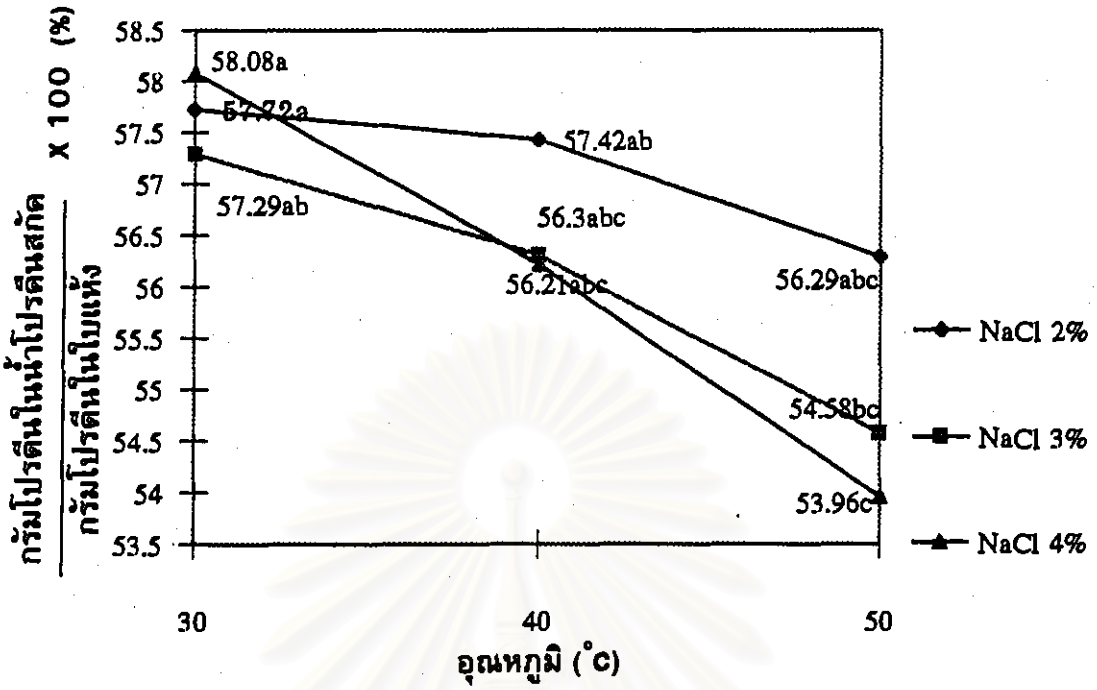
ดังนั้นช่วงความเข้มข้นที่เลือกจากการทดลองนี้จะเป็น 2 3 และ 4% สำหรับการทดลองต่อไป ทั้งนี้ไม่เลือกความเข้มข้นที่ 5% เนื่องจากใช้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์มากกว่าแต่ % protein recovery ไม่ต่างกับที่ 4%

4.3.3 การหาภาวะที่เหมาะสมเมื่อใช้สารละลายแปรร่วมกับอุณหภูมิและเวลาในการแช่

จากข้อ 4.3.2 พบว่าความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ที่ 2 3 และ 4% มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด จึงนำมาแปรร่วมกับอุณหภูมิที่ 30 40 และ 50°C เวลา 0 20 40 และ 60 นาที สำหรับที่อุณหภูมิ 60°C ไม่ได้นำมาแปรร่วมด้วยเนื่องจากในการทดลองข้อ 3.4.2 พบว่า %protein recovery ในการสกัดลดลงมาก ($p \leq 0.05$)

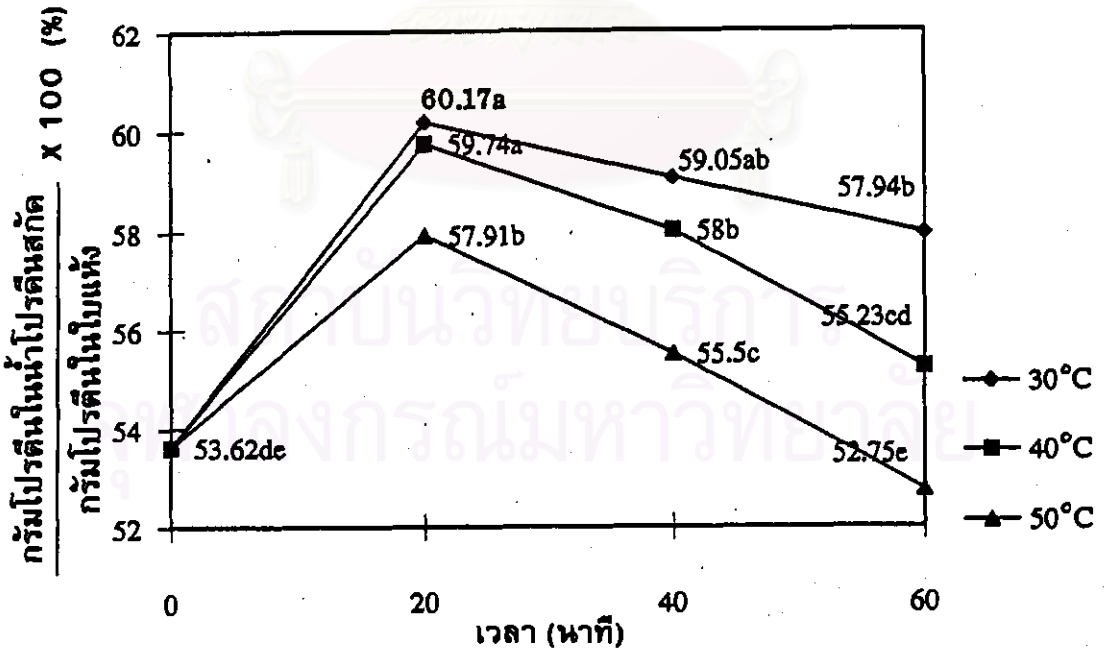
จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของทั้ง 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้น อุณหภูมิ และเวลาในการแช่วัตถุดิบ (ภาคผนวก จ) พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์กับอุณหภูมิในการแช่ ($p \leq 0.05$) และระหว่างอุณหภูมิกับเวลาในการแช่ จึงวิเคราะห์อิทธิพลร่วมทั้งสองดังแสดงผลในรูปที่ 4.3 และ 4.4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



a, b, c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.3 ร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดต่อปริมาณโปรตีนในใบแห้ง (%protein recovery) ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และอุณหภูมิในการแช่วัตถุดิบ ภายในเวลา 0-60 นาที



a, b,....e ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.4 ร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดต่อปริมาณโปรตีนในใบแห้ง (%protein recovery) ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและเวลาในการแช่วัตถุดิบ เมื่อพิจารณาในช่วงความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 2-4%

สำหรับอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารกับอุณหภูมิต่อ %protein recovery ในขั้นตอนการสกัด (รูปที่ 4.3) พบว่าที่ 30°C และ 40°C ในแต่ละความเข้มข้นให้ค่า %protein recovery ไม่แตกต่างกัน แต่ที่ 50°C ค่าจะลดลงชัดเจนขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4% ($p \leq 0.05$) ผลดังกล่าวเนื่องมาจากการทำงานร่วมกันของโซเดียมคลอไรด์กับความร้อนดังที่อธิบายในการทดลองที่ผ่านมาคือโซเดียมคลอไรด์จะมีผลต่อการแยกพันธะอิออนิกระหว่างโปรตีนกับเพคตินในผนังเซล (Fry, 1986) และมีผลต่อการสูญเสียแคลเซียมจากผนังเซล แต่ไม่มีผลต่อการสลายตัวของเพคติน ขณะที่ความร้อนจะมีผลต่อการสลายตัวของเพคติน แต่ไม่มีผลต่อการสูญเสียแคลเซียมจากผนังเซล (Van Buren, 1983) เมื่อทำงานร่วมกันในภาวะที่เหมาะสมจึงทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น แต่อุณหภูมิ 50°C แม้จะสามารถปั่นใบให้ละเอียดมากขึ้นแต่โปรตีนบางส่วนจะดกตะกอนได้ (Lehninger, 1975) และตกค้างในกากใบหลังจากการแยกน้ำโปรตีนออกมา ประสิทธิภาพในการสกัดจึงลดลง จากการพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นกับอุณหภูมิพบว่าผลที่ 30 และ 40°C ไม่ต่างกัน จึงเลือกที่ 30°C ได้ ส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 2%

อย่างไรก็ตามการสรุปภาวะที่เหมาะสมต้องพิจารณาร่วมกับอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิกับเวลาในการแช่ที่มีผลต่อ %protein recovery ในการสกัดด้วย (รูปที่ 4.4) ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการทดลองปรับสภาพใบด้วยความร้อนที่ผ่านมาในข้อ 4.2 ที่ยังไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ กล่าวคืออุณหภูมิที่สูงขึ้นและเวลาที่นานขึ้นทำให้ %protein recovery ลดลงได้ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการเสียสภาพของโปรตีน แต่จากการทำงานร่วมของโซเดียมคลอไรด์ปรากฏว่าแม้ที่อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง คือ ที่ 30°C ก็ให้ค่า %protein recovery สูงสุดไม่ต่างจากที่ 40°C ขณะที่เวลาที่เหมาะสมคือ 20 นาที

ข้อมูลที่ได้จากการปรับสภาพใบด้วยการใช้สารเคมีร่วมกับความร้อนแสดงให้เห็นว่าในภาวะที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ลงไปไม่จำเป็นต้องเพิ่มอุณหภูมิให้สูงกว่า 30°C ดังเช่นในปรับสภาพใบด้วยความร้อนจากการทดลองที่ 4.2 ดังนั้นจึงได้ภาวะที่เหมาะสมในการทดลองนี้คือใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% อุณหภูมิ 30°C เวลา 20 นาที

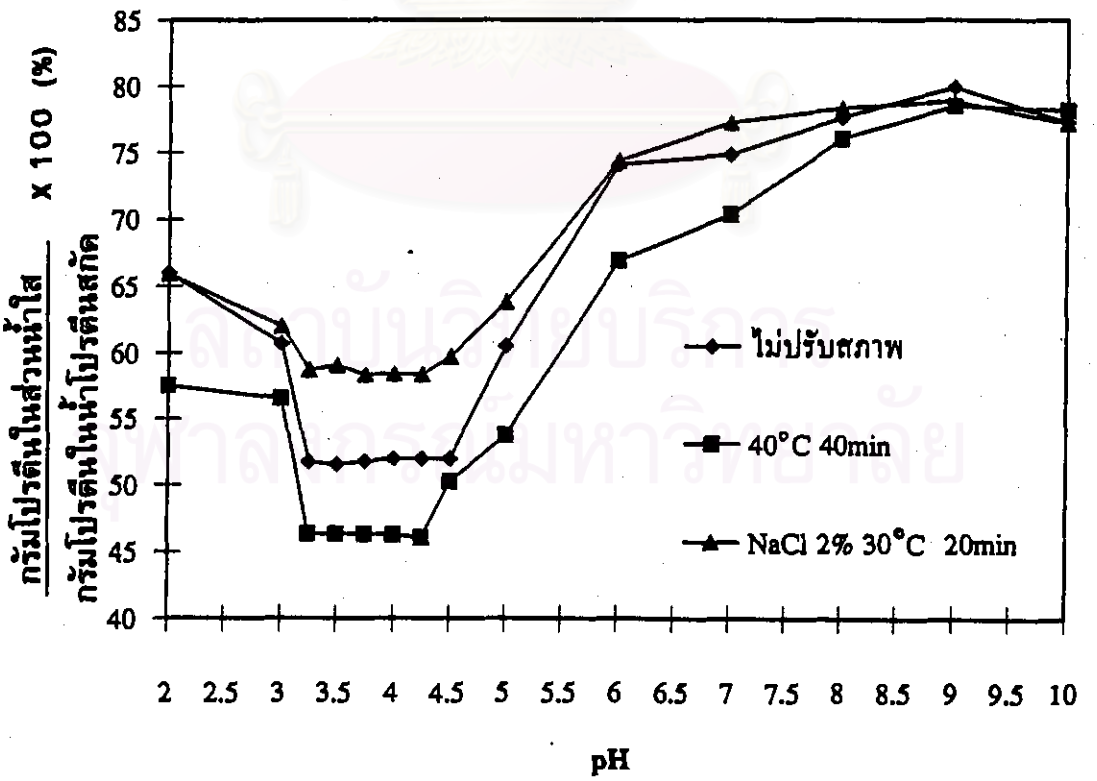
4.4 การตกตะกอนโปรตีนโดยการปรับ pH ของน้ำโปรตีนสกัดจากใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและปรับสภาพทั้ง 2 วิธี จากข้อ 4.2 และ 4.3

การศึกษาการตกตะกอนโปรตีนจากน้ำโปรตีนสกัดในการทดลองเบื้องต้นได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนระหว่างวิธีใช้ความร้อนที่ 80°C กับการปรับ pH ให้ได้ประมาณ 4 (Tupynamba and Vieira, 1979) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้เป็นส่วนใหญ่ในการตกตะกอนโปรตีนเข้ม

ขันจากใบมันสำปะหลังเนื่องจากไม่ต้องมีการลงทุนมาก ปรากฏว่าการใช้ความร้อนให้ผลผลิตด้อยกว่า เก็บตัวอย่างยากเพราะตะกอนโปรตีนไม่ค่อยเกาะกันแน่น แต่จะติดค้างกับภาชนะเป็นส่วนใหญ่นอกจากนี้น้ำใสหลังจากการตกตะกอนยังมีลักษณะขุ่นเป็นสีน้ำตาลอมเขียว (ภาคผนวก ฉ) ซึ่งแสดงว่ายังตกตะกอนไม่สมบูรณ์พอ แต่สำหรับการตกตะกอนโดยการปรับ pH จะได้ตะกอนมากกว่าแม้ว่าตะกอนที่ได้ยังมีลักษณะไม่เกาะกันแน่นและเหนียวติดภาชนะ ส่วนน้ำที่เหลือหลังการตกตะกอนจะใสมีสีเหลืองอ่อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาการตกตะกอนโดยการปรับ pH เพื่อให้ได้โปรตีนเข้มข้น

4.4.1 การหา pH ที่โปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดมีการละลายต่ำสุด

การตกตะกอนโปรตีนโดยปรับ pH ในช่วง 2-10 และพิจารณาจากค่าร้อยละปริมาณโปรตีนในน้ำใสที่ได้หลังการแยกตะกอนต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำโปรตีนที่นำมาตกตะกอน (%solubility) ตามวิธีการทดลองข้อ 3.4.4 โดยใช้น้ำโปรตีนสกัดทั้ง 3 ตัวอย่างซึ่งมาจากการสกัดโปรตีนจากใบที่ปรับสภาพทั้ง 2 วิธีคือให้ความร้อน 40°C 40 นาที ในน้ำกลั่นและโดยแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% อุณหภูมิ 30°C 20 นาที รวมทั้งน้ำโปรตีนจากใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ แสดงผลดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ร้อยละการละลายของโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดแต่ละตัวอย่างที่มีการปรับสภาพใบต่างกัน เมื่อปรับ pH ในช่วง 2-10

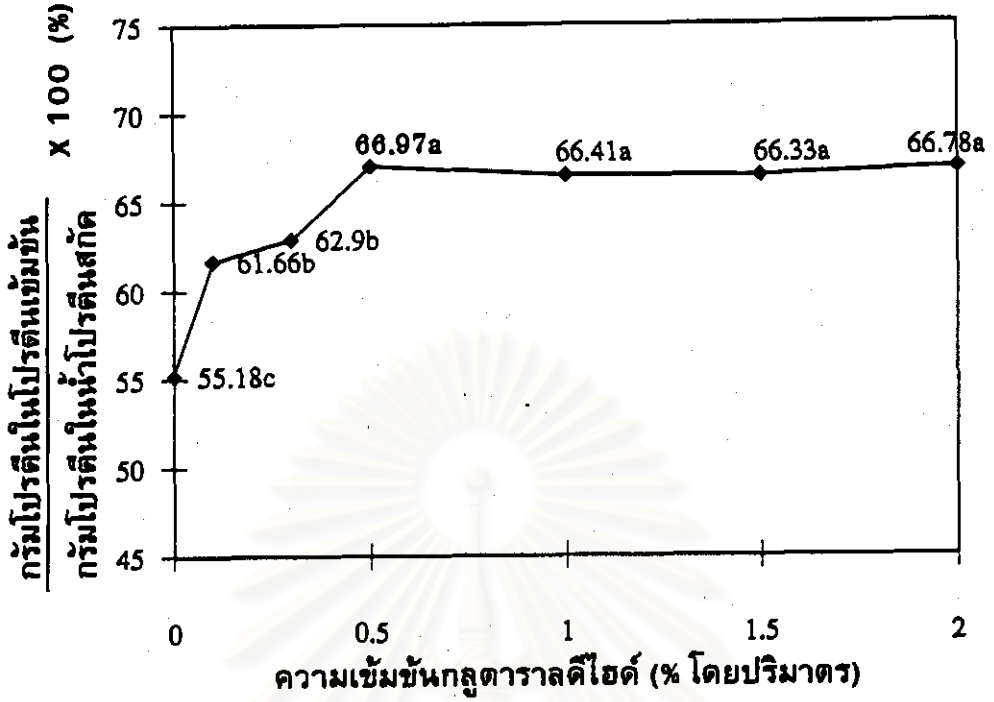
หลังจากนำน้ำโปรตีนแต่ละตัวอย่างซึ่งมี pH เริ่มต้นใกล้เคียงกันในช่วง 8.65-8.8 พบว่าโปรตีนในแต่ละตัวอย่างมีการละลายต่ำสุดที่ pH ช่วงเดียวกันคือ 3.25-4.25 แม้ในตัวอย่างที่มีโซเดียมคลอไรด์ในระบบมากกว่าตัวอย่างอื่นๆ เนื่องจากการละลายของโปรตีนที่ pH ในช่วงใกล้จุดไอโซอิเลคตริกไม่ขึ้นกับปริมาณเกลือที่มีอยู่ กล่าวคือไม่ว่าจะมีเกลืออยู่เท่าใด การละลายของโปรตีนที่ช่วงใกล้จุดไอโซอิเลคตริกก็ยังต่ำที่สุดเทียบกับที่ pH อื่น (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) แต่อิทธิพลของเกลือก็ยังทำให้โปรตีนมีการละลายดีกว่าตัวอย่างอื่น

ในการทดลองต่อจากนี้จะปรับ pH ที่ 3.7-3.75 ซึ่งอยู่ในช่วงกลางระหว่าง 3.25-4.25 เพื่อควบคุมให้ความคลาดเคลื่อนจากการปรับ pH อยู่ในช่วงแคบ

4.4.2 การหาปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ที่เหมาะสม เพื่อช่วยตกตะกอนร่วมกับการปรับ pH

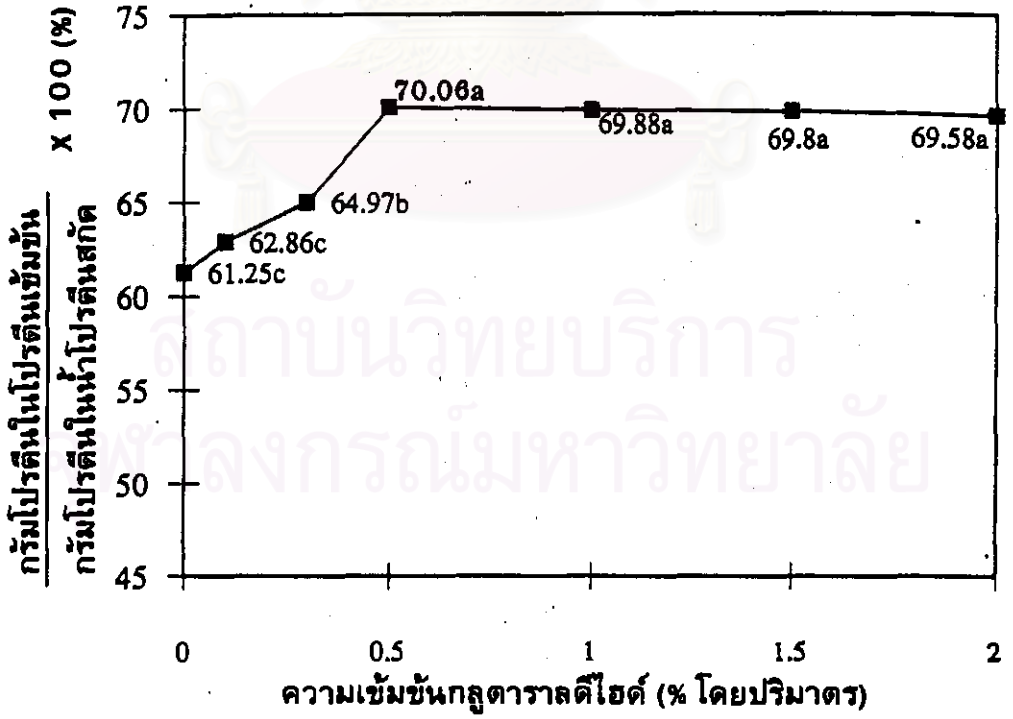
การเพิ่มประสิทธิภาพในการตกตะกอนด้วยการปรับ pH สามารถใช้ร่วมกับความร้อนและสารเคมีได้ แต่จากการทดลองเบื้องต้นในการใช้ความร้อนร่วมกับการปรับ pH ตะกอนโปรตีนที่ได้ติดกับภาชนะมากและไม่เกาะตัวกันแน่น จึงทดลองใช้กลูตาราลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารที่ช่วยก่อพันธะในการตกตะกอนโปรตีน เนื่องจากสามารถจับโปรตีนไว้ด้วยกันเป็นร่างแหใหญ่ทำให้การตกตะกอนจะสมบูรณ์ขึ้น โดยได้ศึกษาลักษณะการใช้จากงานวิจัยของ De Jong (1982) ที่มีการนำไปใช้ร่วมกับการปรับ pH ในการตกตะกอนโปรตีนจากใบอัลฟัลฟาในทางการค้ามาก่อน pH ที่ทำงานได้ดีอยู่ในช่วง 3.0-5.0 ความเข้มข้นที่เคยใช้อยู่ในช่วง 0.05-1% โดยปริมาตร ซึ่งจะต้องเติมลงไปก่อนปรับ pH เป็นการป้องกันไม่ให้โปรตีนจับกับสารประกอบฟีนอลิกระหว่างการตกตะกอน เนื่องจากจะทำให้โปรตีนมีความสามารถในการถูกย่อยได้ (digestibility) ต่ำเมื่อบริโภคเข้าไป ขณะที่การก่อพันธะเชื่อมกับกลูตาราลดีไฮด์ไม่ปรากฏว่ามีปัญหาเรื่องนี้ และไม่มีรายงานถึงผลเสียในการใช้งานลักษณะนี้หากใช้ในปริมาณที่เหมาะสม (Mangan et al., 1980; De Jong, 1982)

กลูตาราลดีไฮด์ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสารละลายเข้มข้น 5.6M มีการผลิตขายในทางการค้า แปรปริมาณที่เติมในช่วง 0-2.0% โดยปริมาตร ก่อนนำไปปรับ pH ที่ 3.7-3.75 ประเมินผลจากค่าร้อยละปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัด (%protein recovery) แสดงผลดังรูปที่ 4.6-4.8



a, b, c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

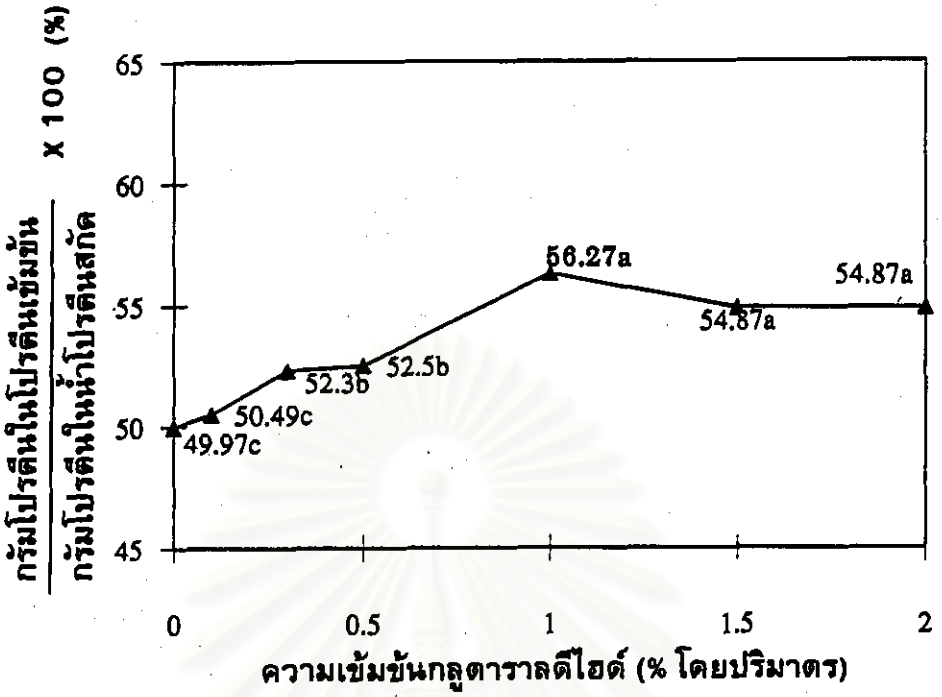
รูปที่ 4.6 ร้อยละปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดของกระบวนการผลิตที่ใช้ใบไม่ผ่านการปรับสภาพ เมื่อแปรปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ในการตกตะกอน



a, b, c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.7 ร้อยละปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดของกระบวนการผลิตที่ใช้ใบปรับสภาพที่ 40°C 40 นาที เมื่อแปรปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ในการตกตะกอน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



a, b, c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.8 ร้อยละปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดของกระบวนการผลิตที่ใช้ใบปรับสภาพโดยแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% ที่ 30°C 20 นาที เมื่อแปรปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ในการตกตะกอน

พบว่าปริมาณกลูตาราลดีไฮด์มีผลต่อร้อยละปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นอบแห้งต่อปริมาณโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัด กล่าวคือการเพิ่มปริมาณกลูตาราลดีไฮด์มากขึ้นจะทำให้ %protein recovery ในการตกตะกอนเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมของกลูตาราลดีไฮด์คือจุดที่ให้ค่า %protein recovery ในการตกตะกอนเริ่มคงที่ สำหรับน้ำโปรตีนจากใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (รูปที่ 4.6) ใช้ความเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตร สำหรับลักษณะของข้อมูลที่มีการเพิ่มขึ้นในช่วงแรกแล้วคงที่ เนื่องมาจากความเข้มข้นที่พอดีกันของกลูตาราลดีไฮด์และความเข้มข้นของโปรตีนในการเกิดพันธะกัน (Hopwood, 1969; Siebert et al., 1996) ถ้าจำนวนตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาพอดีกันก็จะสามารถก่อเป็นร่างแหที่แข็งแรงให้อนุภาคขนาดใหญ่และตกตะกอนออกมาได้ดี แต่ถ้ามีตัวใดตัวหนึ่งน้อยกว่ากันมาก ประสิทธิภาพในการจับโปรตีนจะไม่ดี อนุภาคตะกอนจะเล็กและตกตะกอนได้ยากกว่า เมื่อก่อพันธะกันจนทั่วถึงแล้ว การเพิ่มปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ลงไปอีกก็จะไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพให้มากกว่าเดิม (Hopwood, 1969; De Jong, 1972; Siebert et al., 1996)

ผลการทดลองในทำนองเดียวกันจะพบในการตกตะกอนจากน้ำโปรตีนสกัดอีกสองตัวอย่าง โดยน้ำโปรตีนสกัดจากใบที่ปรับสภาพโดยแช่น้ำที่ 40°C นาน 40 นาที ใช้กลูตาราลดีไฮด์ 0.5% โดยปริมาตร (รูปที่ 4.7) ขณะที่น้ำโปรตีนสกัดจากใบที่ปรับสภาพ

โดยแช่โซเดียมคลอไรด์ 2% อุณหภูมิ 30°C นาน 20 นาที ใช้กลูตาราลดีไฮด์ 1% โดยปริมาตร (รูปที่ 4.8) เนื่องจากอิทธิพลของอิออนของโซเดียมคลอไรด์ที่มีอยู่ในระบบมากกว่าตัวอย่างอื่น จะล้อมรอบหมู่อะมิโนของโปรตีนทำให้โปรตีนมีแนวโน้มจะจับอยู่กับน้ำได้มากกว่ารวมตัวกันตกตะกอน (ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, 2530) จึงต้องใช้ปริมาณกลูตาราลดีไฮด์มากกว่าตัวอย่างอื่นในการเพิ่มโอกาสที่โปรตีนจะพบกับตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาของกลูตาราลดีไฮด์และเกิดพันธะกัน

จากผลการทดลองในขั้นนี้ทำให้ทราบว่าปริมาณโปรตีนที่เติมในน้ำโปรตีนสกัดจากใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และจากใบที่ปรับสภาพด้วยการแช่น้ำที่ 40°C 40 นาที เป็น 0.5% โดยปริมาตร สำหรับน้ำโปรตีนจากใบที่ปรับสภาพด้วยการแช่โซเดียมคลอไรด์ 2% 30°C 20 นาที ใช้ 1% โดยปริมาตร ทั้งนี้แต่ละตัวอย่างปรับ pH เท่ากันที่ 3.7-3.75 หลังจากเติมกลูตาราลดีไฮด์

4.5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการผลิตโปรตีนเข้มข้นที่ประกอบด้วยการปรับสภาพใบและการตกตะกอนโปรตีนตามภาวะที่เหมาะสม

กระบวนการที่นำมาเปรียบเทียบกันทั้ง 3 กระบวนการ ซึ่งสรุปจากการทดลองข้อ 4.2-4.4 แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 กระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นทั้ง 3 กระบวนการที่สรุปได้

ขั้นตอนการผลิต	กระบวนการ 1	กระบวนการ 2	กระบวนการ 3
• วิธีปรับสภาพ	ไม่ปรับสภาพ	แช่น้ำกลั่น 40°C 40 นาที	แช่โซเดียมคลอไรด์ 2% 30°C 20 นาที
• การสกัด	ปั่นใบกับบัฟเฟอร์ pH 9	ปั่นใบกับบัฟเฟอร์ pH 9	ปั่นใบกับบัฟเฟอร์ pH 9
• การตกตะกอน - ปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ (% โดยปริมาตร)	0.5	0.5	1.0
- pH ที่ใช้ตกตะกอน	3.7-3.75	3.7-3.75	3.7-3.75
• อบแห้ง	55°C 24 ชั่วโมง	55°C 24 ชั่วโมง	55°C 24 ชั่วโมง

กระบวนการที่ 1 ใช้ใบสดไม่ผ่านการปรับสภาพ สกัดโดยการปั่นใบให้ละเอียดร่วมกับบัฟเฟอร์ pH 9 ตกตะกอนโดยเติมกลูตารัลดีไฮด์ 0.5% โดยปริมาตร แล้วปรับ pH 3.7-3.75 อบแห้งตะกอนโปรตีนที่ 55°C 24 ชั่วโมง กระบวนการที่ 2 ต่างจากกระบวนการแรกที่การปรับสภาพใบด้วยความร้อน 40°C 40 นาที ส่วนกระบวนการที่ 3 ต่างจากกระบวนการที่ 1 และ 2 ที่การปรับสภาพใบโดยการแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2% อุณหภูมิ 30°C 20 นาที และเติมกลูตารัลดีไฮด์ 1% โดยปริมาตร ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพแต่ละกระบวนการแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ร้อยละปริมาณโปรตีนที่ได้ต่อปริมาณโปรตีนเริ่มต้น แยกพิจารณาจากขั้นตอนการสกัด การตกตะกอน และจากทั้งกระบวนการ

กระบวนการ	ค่าร้อยละเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ได้ต่อโปรตีนเริ่มต้น ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	Extraction	Precipitation	Overall
1	$53.41^{c} \pm 0.15$	$67.21^{b} \pm 0.69$	$35.89^{c} \pm 0.31$
2	$64.56^{b} \pm 0.21$	$72.17^{a} \pm 0.33$	$46.59^{a} \pm 0.24$
3	$67.23^{a} \pm 0.82$	$58.22^{c} \pm 0.31$	$39.14^{b} \pm 0.34$

a,b,c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันจากแถวในแนวตั้งเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Extraction ขั้นตอนการสกัดจากใบจนได้น้ำโปรตีน

Precipitation ขั้นตอนการตกตะกอนจากน้ำโปรตีนจนได้โปรตีนเข้มข้นอบแห้ง

Overall ทั้งกระบวนการจากใบเริ่มต้นจนได้โปรตีนเข้มข้นอบแห้ง

นอกจากค่าร้อยละปริมาณโปรตีนที่มีในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นแห้งต่อปริมาณโปรตีนในใบวัตถุดิบ (%overall protein recovery) แล้ว ในตารางที่ 4.5 ยังแสดงค่า %protein recovery ในขั้นตอนการสกัดซึ่งคิดปริมาณโปรตีนเริ่มต้นจากใบมันสำปะหลังที่ใช้ และขั้นการตกตะกอนซึ่งคิดปริมาณโปรตีนเริ่มต้นจากน้ำโปรตีนสกัดไว้ด้วย พบว่าในขั้นตอนการสกัดของกระบวนการที่ 3 ให้ค่า %protein recovery มากที่สุด ($p \leq 0.05$) ซึ่งความแตกต่างของ %protein recovery ในขั้นตอนการสกัดของกระบวนการต่างๆ เนื่องมาจากสภาพใบวัตถุดิบที่ต่างกัน อันเป็นผลจากภาวะการปรับสภาพใบ เมื่อพิจารณาสภาพเซลจากภาพตัดขวางของใบมันสำปะหลังแต่ละภาวะด้วยเทคนิค scanning electron microscope (ภาคผนวก ข) พบว่าเซลใบที่ถูกแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์มีสภาพเสียหายมากที่สุด แต่จากการทดลองวัดปริมาณโปรตีนในน้ำที่เหลือหลังการแช่ใบแต่ละภาวะ (ภาคผนวก จ) ปรากฏว่ามีโปรตีนอยู่น้อยมาก แสดงว่าผนังเซลที่ถูกทำลายนี้น่าจะยังไม่ถึงระดับที่โปรตีนจะละลายออกมาในน้ำแช่มากจนส่งผลให้โปรตีน

ที่ได้ลดลง เพราะฉะนั้นเมื่อเซลอ่อนแอมากกว่าตัวอย่างอื่น จึงทำให้การปั่นใบให้ละเอียดและแยกน้ำออกมาทำได้ดีกว่า ประกอบกับอิทธิพลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีในระบบมากกว่าตัวอย่างอื่นและทำให้โปรตีนมีการละลายดีขึ้น %protein recovery ที่ได้ในการสกัดจึงมากกว่ากระบวนการที่ 1 และ 2

แต่เมื่อพิจารณาในขั้นตอนการตกตะกอนซึ่งเริ่มจากน้ำโปรตีนสกัดจนได้โปรตีนเข้มข้นอบแห้ง พบว่าการตกตะกอนในกระบวนการที่ 3 กลับมี %protein recovery น้อยที่สุด ($p \leq 0.05$) เนื่องมาจากอิทธิพลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีในระบบ ขณะที่การตกตะกอนโปรตีนในกระบวนการที่ 2 มี %protein recovery มากที่สุด ($p \leq 0.05$) คือมีการตกตะกอนได้ดีที่สุด ทั้งนี้เป็นผลมาจากโปรตีนในน้ำโปรตีนจากกระบวนการที่ 2 ได้รับอิทธิพลของความร้อนในการปรับสภาพใบมาก่อน จึงทำให้อยู่ในภาวะไม่เสถียรและเริ่มเกิดการเสียสภาพ หากนำไปอยู่ในภาวะที่มี pH ใกล้เคียงจุดไอโซอิเลคตริกจะเกิดการตกตะกอนอย่างรวดเร็วและง่ายกว่าการเปลี่ยนแปลงจากโครงสร้างดั้งเดิม (native conformation) (Meyer, 1960)

จากการทดลองนี้พบว่ากระบวนการที่ 2 และ 3 (ใช้ใบที่ปรับสภาพ) จะมีประสิทธิภาพมากกว่ากระบวนการที่ 1 (ใช้ใบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ) และกระบวนการที่ 2 ให้ค่า %overall protein recovery สูงที่สุด จึงผลิตโปรตีนเข้มข้นตามวิธีในกระบวนการที่ 2 นำไปทดลองขั้นต่อไป

4.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนเข้มข้น

โปรตีนเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ขั้นตอนนี้มีวิธีการผลิตเริ่มจากการปรับสภาพใบโดยแช่น้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 40°C นาน 40 นาที สกัดใบโดยปั่นละเอียดร่วมกับบัฟเฟอร์ pH 9 ตกตะกอนโดยเติมสารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้น 5.6M ปริมาณ 0.5% โดยปริมาตร แล้วปรับ pH ในช่วง 3.7-3.75 นำไปแยกตะกอน จากนั้นทำแห้งระบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถรักษาคุณค่าทางอาหารได้ดีกว่าการทำแห้งโดยวิธีอื่น (Holden, 1983) องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้จะถูกเปรียบเทียบกับใบมันสำปะหลังซึ่งเป็นวัตถุดิบผลแสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นที่ผลิตได้ เทียบกับใบมันสำปะหลัง

องค์ประกอบทางเคมี (โดยน้ำหนักแห้ง)		ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน	
		โปรตีนเข้มข้น*	ใบมันสำปะหลัง
โปรตีน	(%)	61.47 ± 0.23	31.76 ± 0.01
ไขมัน	(%)	17.82 ± 0.23	11.65 ± 0.35
เส้นใยหยาบ	(%)	-	15.07 ± 0.28
เถ้า	(%)	3.16 ± 0.19	8.86 ± 0.03
กรดไฮโดรไซยานิก	(ppm)	25.30 ± 0.07	854.91 ±29.77

* ใช้ใบสด(ความชื้น 72.27% โปรตีน 31.76%) 1 กิโลกรัมได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้น 64.1 กรัม (ตัวอย่างการคำนวน %protein recovery แสดงในภาคผนวก ช)

- น้อยมากจนไม่สามารถวิเคราะห์ได้

จากตารางที่ 4.6 พบว่าร้อยละโปรตีนในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นหลังจากนำวัตถุดิบไปผ่านขั้นตอนการผลิตโปรตีนเข้มข้น เนื่องจากมีการแยกส่วนกากออกไปและตกตะกอนแยกโปรตีนออกมา อย่างไรก็ตาม Fafunso และ Oke (1976) พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังจำนวน 15 พันธุ์รวมทั้งพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้มีปริมาณไนโตรเจนที่มาจากโปรตีนประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้ ทำให้ปริมาณโปรตีนที่แท้จริงน้อยกว่าค่าที่วิเคราะห์ได้ ปริมาณไขมันแม้จะหายไปบางส่วนระหว่างการผลิตในขั้นตอนการแยกกากและแยกน้ำออกจากตะกอนโปรตีน แต่ก็ยังมีเหลือในผลิตภัณฑ์ส่วนหนึ่งซึ่งจากการคำนวณได้ค่าร้อยละเพิ่มขึ้นเพราะองค์ประกอบส่วนใหญ่หายไป ทั้งนี้จากงานวิจัยของ Nagy และคณะ (1978) พบว่าในไขมันทั้งหมดประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากที่สุด ซึ่งสามารถให้คุณค่าทางอาหารที่เป็นประโยชน์ได้ สำหรับเส้นใยหยาบของโปรตีนเข้มข้นจะมีน้อยมากจนในที่นี้ไม่สามารถวัดได้ เนื่องจากขั้นตอนหลักในการผลิตมีการแยกกากใบออกไป ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากโปรตีนเข้มข้นจึงไม่มีปัญหาเรื่องการมีเส้นใยเป็นข้อจำกัดคุณค่าทางอาหารที่ได้รับ ส่วนปริมาณเถ้าจะลดลงได้จากแต่ละขั้นตอนการผลิตตั้งแต่แยกกากจนถึงการแยกตะกอนโปรตีนออกมา และจากการวิเคราะห์กรดไฮโดรไซยานิกพบว่ากระบวนการนี้ช่วยให้ลดลงได้ประมาณ 97% จากที่มีอยู่ในวัตถุดิบ 854.91 ppm เหลือ 25.30 ppm ซึ่งปริมาณที่เหลือนี้เมื่อคำนวณตาม lethal dose คือ 0.5-3.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Voldrich, 1995) จะเกิดโทษต่อร่างกายได้เมื่อบริโภคผลิตภัณฑ์นี้มากกว่า 1 กิโลกรัม ในคราวเดียวกันสำหรับผู้มีน้ำหนักตัว 60 กิโลกรัม ซึ่งไม่น่าเป็นปริมาณบริโภคปกติ ดังนั้นถือว่ากระบวนการผลิตนี้ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกรดไฮโดรไซยานิกอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย เมื่อพิจารณาร้อยละของปริมาณผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นแห้งที่ได้ต่อปริมาณวัตถุดิบที่ใช้พบว่าจากการทดลองข้อ 4.6 นี้คิดเป็นร้อยละ 6.41

แม้ว่าโปรตีนเข้มข้นที่ได้จะมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 61.47 แต่ในการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ควรพิจารณาข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์ร่วมด้วย เพื่อให้สามารถประเมินได้ว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการนี้สามารถให้คุณค่าทางโภชนาการได้มากน้อยเพียงใด ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลของ FAO/WHO (1965) และค่า Chemical Score แสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนเข้มข้น (LPC) จากใบมันสำปะหลัง เทียบกับค่ามาตรฐานจาก FAO/WHO และค่า Chemical Score

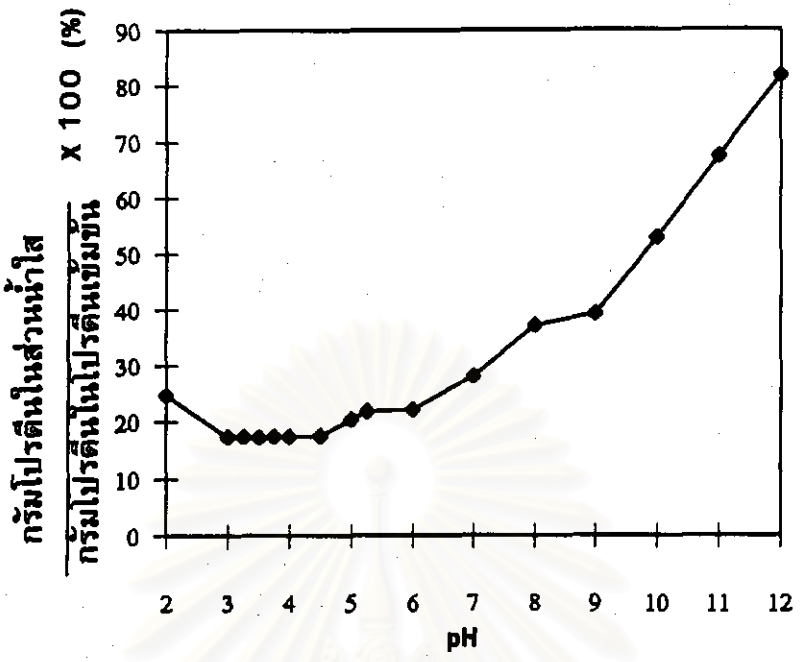
กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (กรัมอะมิโน/100 กรัมโปรตีน)		Chemical Score (%)
	LPC จากใบมันสำปะหลัง	FAO/WHO (1965)	
กรดแอสปาติก (Aspartic acid)	7.16		
ทรีโอนีน (Threonine)	3.5	2.8	125
ซีรีน (Serine)	3.35		
กรดกลูตามิก (Glutamic acid)	8.48		
โปรลีน (Proline)	6.32		
ไกลซีน (Glycine)	4.03		
อลานีน (Alanine)	4.27		
วาลีน (Valine)	2.97	4.2	70.71
ซีสทีน (Cystine)	1.08	2.0	54
เมทไธโอนีน (Methionine)	2.31	2.2	105
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	2.99	4.2	71.19
ลิวซีน (Leucine)	6.83	4.8	142.29
ไธโรซีน (Tyrosine)	3.37	2.8	120.36
เฟนีลอลานีน (Phenylalanine)	4.29	2.8	153.21
ไลซีน (Lysine)	3.35	4.2	79.76
ฮีสทิดีน (Histidine)	1.81		
อาร์จินีน (Arginine)	2.67		
ทริปโทฟาน (Tryptophan)	ND	1.4	-

ND-ไม่มีการวิเคราะห์

จากผลการทดลองพบว่ากรดอะมิโนซีสทีนมีปริมาณน้อยที่สุด ทั้งนี้จากงานวิจัยของ Wenck และคณะ (1980) ได้จำแนกซีสทีนไว้ในประเภทกรดอะมิโนกึ่งจำเป็น เนื่องจากการบริโภคซีสทีนสามารถช่วยลดเมทไธโอนีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนจำเป็นลงได้ และเมื่อพิจารณาควบคู่กับค่า Chemical Score ซึ่งคำนวณจากร้อยละปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นชนิดที่มีน้อยที่สุดต่อร้อยละปริมาณกรดอะมิโนชนิดเดียวกันจากค่ามาตรฐาน อันเป็นค่าที่บ่งบอกได้ว่ากรดอะมิโนจำเป็นชนิดใดเป็นตัวจำกัด (limiting amino acid) (Woodham, 1978) พบว่า Chemical Score ของซีสทีนมีค่าน้อยที่สุดเช่นกัน ดังนั้นจึงจัดว่าซีสทีนเป็นกรดอะมิโนที่เป็นตัวจำกัดสำหรับผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังนี้ถึงแม้ว่ากรดอะมิโนที่จำเป็นตัวอื่นจะมีมากกว่าค่ามาตรฐานแต่ก็ไม่สามารถให้คุณค่าได้อย่างเต็มที่เพราะกรดอะมิโนที่เป็นตัวจำกัดกำหนดสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นในการให้ประโยชน์แก่ร่างกายไม่ว่าจะเป็นคนหรือสัตว์ (Woodham, 1978) ดังนั้นการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งโปรตีนเสริมควรมีการเพิ่มซีสทีนลงไปด้วย แม้ว่างานวิจัยของ Byers (1971) จะสรุปว่าขั้นตอนการแยกโปรตีนมีผลกระทบต่อปริมาณกรดอะมิโนบางตัวได้แก่ไลซีน แต่การเติมกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบลงไปจะช่วยเสริมคุณค่าทางอาหารได้ดีมากกว่าการเติมกรดอะมิโนตัวอื่น (Wallace, 1973)

4.7 การวิเคราะห์สมบัติด้านการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลัง

ศึกษาสมบัติด้านการใช้งานเพื่อช่วยในการประเมินความเป็นได้ในการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ผสมกับอาหารที่มีองค์ประกอบอื่นๆอยู่ในระบบ (Schoen, 1977; Knorr, 1983) โดยในการทดลองขั้นนี้ใช้วิธีทำแห้งระบบแช่เยือกแข็งสำหรับโปรตีนเข้มข้น เนื่องจากช่วยรักษาคุณภาพของโปรตีนได้ดีกว่าการทำแห้งโดยการทำแห้งโดยใช้ความร้อนซึ่งจะมีผลทำให้สมบัติด้านการทำงานบางอย่างด้อยไป (Knorr, 1983) ผลการวิเคราะห์แสดงในรูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.8



รูปที่ 4.9 การละลายของโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังที่ pH 2-12

จากรูปที่ 4.9 จะเห็นว่าโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังมีการละลายต่ำสุดที่ pH 3-4.5 ซึ่งอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับโปรตีนเข้มข้นจากใบอัลฟัลฟาที่ผลิตโดยตกตะกอนที่ pH 3.7 และทำแห้งระบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกัน ซึ่งมีการละลายต่ำสุดในช่วง pH 3-4 (Wang and Kinsella, 1976A) นอกจากนี้พบว่าโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังละลายได้ดีที่ pH สูง ดังจะเห็นได้จากที่ pH 8-10 มีการละลายอยู่ในช่วง 37-52.87% แต่ถ้า pH สูงขึ้นในช่วง 11-12 การละลายจะมากถึง 67.31-81.79% อย่างไรก็ตามโปรตีนเข้มข้นจากใบอัลฟัลฟาที่ pH 10 สามารถละลายได้ถึงประมาณ 80% (Wang and Kinsella, 1976A) ปัจจัยสำคัญที่ทำให้การละลายของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการนี้ค่อนข้างต่ำ น่าจะมาจากความร้อนที่ให้แก่วัตถุดิบก่อนเข้ากระบวนการผลิต เนื่องจากความร้อนสามารถทำให้โปรตีนเสียสภาพไปได้และเกิดการเปลี่ยนแปลงด้านโครงสร้างไปบางส่วน ส่งผลให้กลุ่มไฮโดรโฟบิกซึ่งไม่ชอบน้ำที่เคยอยู่ภายในโมเลกุลโปรตีนในสภาพปกติออกมาอยู่ที่ผิวนอกของโมเลกุลได้ ดังนั้นความสามารถในการละลายของโปรตีนจึงลดลง (Bohinski, 1976; Knorr, 1983; Whitaker, 1983)

ตารางที่ 4.8 สมบัติด้านการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังเทียบกับใบอัลฟัลฟา

สมบัติ	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	ใบมันสำปะหลัง*	ใบอัลฟัลฟา**
ความหนาแน่น (bulk density) (กรัม/มิลลิลิตร)	0.74 ± 0.01	0.54 ± 0.00
การดูดซับน้ำ (water absorption) (มิลลิลิตร ของน้ำ/กรัม ของผลิตภัณฑ์)	1.10 ± 0.005	1.50 ± 0.07
การดูดซับน้ำมัน (fat absorption) (มิลลิลิตรของน้ำมัน/กรัมของผลิตภัณฑ์)	1.54 ± 0.02	1.75 ± 0.07
การเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity) (%)	52.65 ± 1.31	49.10 ± 0.00
เสถียรภาพของอิมัลชัน (emulsifying stability) (%)	29.29 ± 1.01	76.60 ± 5.40
การขยายตัวของโฟม (foam expansion) (%)	4.00 ± 0.00	110
เสถียรภาพของโฟม (foam stability) (%)		
0 นาที	100 ± 0.00	100
1 นาที	56.25 ± 8.84	***
5 นาที	37.50 ± 0.00	87.27
10 นาที	12.5 ± 0.00	83.64
15 นาที	-	78.18

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

** Wang and Kinsella (1976A, 1976B)

*** ไม่มีการวัดค่า

\- น้อยจนไม่สามารถวัดได้

สมบัติด้านการทำงานจากตารางที่ 4.8 พบว่ามีความหนาแน่นสูง 0.74 กรัม/มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับโปรตีนเข้มข้นจากใบอัลฟัลฟาจากงานวิจัยของ Wang และ Kinsella (1976A) ซึ่งมีค่า 0.54 กรัม/มิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจากการใช้กลูตารัลดีไฮด์ในการช่วยตกตะกอนร่วมกับการปรับ pH ซึ่งทำให้ตะกอนจับตัวกันเองแน่น น้ำส่วนที่อยู่ระหว่างอนุภาคจึงน้อย หลังจากทำแห้งแล้วค่าความหนาแน่นจึงสูง (Wang and Kinsella, 1976A; De Jong, 1982) แสดงว่าลักษณะผลิตภัณฑ์หลังออกจากเครื่องทำแห้งจับตัวแน่นไม่ค่อยมีความโปร่งในเนื้ออนุภาค ส่วนค่าการดูดซับน้ำในที่นี้มีค่าเท่ากับ 1.10 มิลลิลิตรของน้ำต่อกรัมของผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับค่าการดูดซับน้ำของโปรตีนเข้มข้นจากใบอัลฟัลฟา (1.50 มิลลิลิตรของน้ำต่อ

กรัมของตัวอย่าง) (Wang and Kinsella, 1976A) เป็นผลจากความร้อนที่ให้แก่วัตถุดิบทำให้ส่วนไฮโดรโฟบิกมาอยู่ที่ผิวโมเลกุลโปรตีนมากขึ้น ขณะที่สมบัติด้านไฮโดรฟิลิกซึ่งส่งผลถึงการดูดซับน้ำของโปรตีนจะด้อยลง (Bohinski, 1976; Knorr, 1983; Whitaker, 1983) ประกอบกับโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังยังมีไขมันปนอยู่มากถึง 17.82% (ตารางที่ 4.6) ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไขมันกับโปรตีนซึ่งลดความสามารถในการดูดซับน้ำได้ (Wang and Kinsella, 1976A) สำหรับการศึกษาการเกิดโฟมเพื่อให้ทราบสมบัติเฉพาะด้านนี้เมื่อจะนำไปผสมในส่วนผสมอื่นต่อไป ได้ทดสอบหลังจากผสมผงโปรตีนเข้มข้น 6% ในน้ำกลั่นโดยของผสมที่ได้ก่อนดีโฟมมี pH 4.8-5.0 ซึ่งแม้เป็น pH ที่โปรตีนเข้มข้นมีการละลายไม่สมบูรณ์เท่าที่ควร แต่มีรายงานว่าการเกิดโฟมและความแข็งแรงของโฟมโปรตีนเข้มข้นจากใบ clover (Buckingham, 1970) และใบอัลฟัลฟา (Wang and Kinsella, 1976B) จะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออยู่ใน pH ช่วงแคบๆที่สูงกว่าจุดไอโซอิเลคตริกเล็กน้อย ซึ่งโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังจากการทดลองที่ 4.7 นี้มีการละลายต่ำสุดที่ pH 3.0-4.5 (รูปที่ 4.9) แต่จากผลการทดลองพบว่าโฟมมีปริมาตรเพิ่มขึ้นเพียง 4% และโฟมสลายตัวหมดหลังจากเวลาเพียง 10 นาที ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนแก่วัตถุดิบทำให้สัดส่วนของกลุ่มไฮโดรโฟบิกมีมากขึ้นส่งผลให้การเกิดโฟมซึ่งเกี่ยวข้องกับการจับตัวของโปรตีนกับน้ำน้อยลง (Wang and Kinsella, 1976B; Pour-El, 1979) แม้ว่าโปรตีนที่ถูกความร้อนจะให้โฟมที่แข็งแรงและอยู่ตัวมากขึ้นเนื่องจากโปรตีนที่มีการตกตะกอนทำให้ผนังฟองอากาศแข็งแรง (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) แต่จากงานวิจัยของ Wang และ Kinsella (1976B) รายงานว่าสารประกอบเชิงซ้อนของไขมันกับโปรตีนดังกล่าวมาแล้วสามารถลดการแผ่กระจายตัวของโปรตีนที่พื้นผิวและจะทำลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างชั้นของโปรตีนที่ล้อมรอบฟองอากาศไว้โฟมจึงยุบตัวอย่างรวดเร็ว ส่วนการดูดซับน้ำมันและการเกิดอิมัลชันจากผลการทดลองพบว่าดีพอสมควรคือสามารถดูดซับน้ำมันได้ 1.54 มิลลิลิตรของน้ำมันต่อกรัมของผลิตภัณฑ์ ส่วนความสามารถในการเกิดอิมัลชันมีค่า 52.65% ใกล้เคียงกับค่าจากใบอัลฟัลฟาในงานวิจัยของ Wang และ Kinsella (1976A) ซึ่งสามารถดูดซับน้ำมันได้ 1.75 มิลลิลิตรของน้ำมันต่อกรัมของตัวอย่าง และความสามารถในการเกิดอิมัลชันมีค่า 49.10% (pH ของส่วนผสมมีค่าประมาณ 4.9-5.23) แต่เสถียรภาพของอิมัลชันที่ได้ของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังมีค่าเพียง 29.29% เทียบกับโปรตีนเข้มข้นจากใบอัลฟัลฟาที่มีเสถียรภาพของอิมัลชัน 76.6% ทั้งนี้ผลของการดูดซับน้ำมันของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang และ Kinsella (1976A) ซึ่งได้รายงานว่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันมีความสัมพันธ์กับค่าความหนาแน่นของผลิตภัณฑ์ด้วยกล่าวคือผลิตภัณฑ์ที่มีความหนาแน่นต่ำมีความโปร่งมากพบว่ามีการดูดซับน้ำมันได้มากด้วย สำหรับโปรตีนที่ได้รับความร้อนมาก่อนซึ่งมีสัดส่วนของไฮโดรโฟบิกมากขึ้นจะทำให้การเกิดอิมัลชันดีเนื่องจากโปรตีนสามารถเกาะติดกับเม็ดน้ำมันได้มากขึ้น (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) ส่วนผลของเสถียรภาพของอิมัลชันที่ค่อนข้างต่ำ น่าจะมีสาเหตุมาจากโปรตีนในผลิตภัณฑ์นี้

ผ่านความร้อนมาก่อนในการปรับสภาพใบทำให้เกิดความไม่เสถียรและเสียสภาพไปบางส่วน เมื่อผ่านความร้อนอีกครั้งในการทดสอบเสถียรภาพอิมัลชัน ฟิล์มโปรตีนที่เกิดขึ้นจึงอ่อนแอและถูกทำลายได้ง่าย (Meyer, 1960; Wang and Kinsella, 1976A)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย