



วิทยานิพนธ์

คุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

**PROPERTIES OF COMPOSITE STRUCTURE FROM
MUNGBEAN PROTEIN AND STARCH**

นางสาวอภิญญา นาพรม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง คุณสมบัติของ โครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

Properties of Composite Structure from Mungbean Protein and Starch

นามผู้วิจัย นางสาวอภิญา นามพร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ปาริฉัตร หงสประภาส, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาศอุบล ทองงาม, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์น้ำฝน ลำดับวงศ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุลย์ สัจจอนันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 4 เดือน เมษายน พ.ศ. ๒๕๖1

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

คุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

Properties of Composite Structure from Mungbean Protein and Starch

โดย

นางสาวอภิญญา นาพรม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

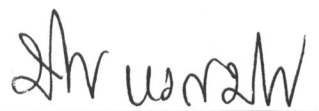
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรจารย์การอาหาร)

พ.ศ. 2551

อภิญา นภาพรม 2551: คุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร) สาขาวิทยาศาสตรการอาหาร ภาควิชา
วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร ปรธานกรรมการที่ปรึกษา:
รองศาสตราจารย์ปริญธร หงสประภาส, Ph.D. 98 หน้า

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างและแคลเซียม ไอออนต่อสมบัติของโครงสร้างประกอบ
ระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว จากการวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว
(RVA) พบว่า สตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายด่างมีค่าความหนืดสุดท้ายที่อุณหภูมิ 50 °ซ สูง
กว่าสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก และการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนแก่
สารละลายโปรตีนถั่วเขียวที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเกิดเจลที่คงรูปได้ที่
ความเข้มข้นต่ำสุดร้อยละ 20-22 อุณหภูมิต่ำสุดในการเกิดเจล คือที่อุณหภูมิ 60 °ซ และมีความสามารถในการ
รักษาความคงตัวของอิมัลชันเมื่อทำการให้ความร้อนซ้ำที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 30 นาที สูงกว่าโปรตีนถั่ว
เขียวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอน การให้ความร้อนแก่สารละลายโปรตีนถั่วเขียวก่อนการ
ตกตะกอนสามารถเหนี่ยวนำให้โปรตีนถั่วเขียวเกิดการเสียสภาพและเกิดการรวมมวลทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่
ขึ้น เมื่อนำโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ผ่านการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนมาขึ้นรูปร่วมกับสตาร์ชถั่วเขียวที่
สตาร์ชแกรนูลมีความแข็งแรงต่างกันเป็นฟิลเลอร์ในโครงข่ายของโปรตีนที่อุณหภูมิ 121 °ซ 15 นาที พบว่า
คุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อน (thermo-mechanical properties) ของโครงสร้างประกอบสามารถควบคุม
ได้โดยอันตรกิริยาเชิง ไอออนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว แผ่นเทอร์มอพลาสติกของ
โครงสร้างประกอบ (ที่มีวอเตอร์แอคทีวิตี 0.26-0.30) มีค่าสตอเรจ มอดูลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันอยู่ในช่วง
2.74-4.20 เมกะพาสคัล ค่าลอส มอดูลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันอยู่ในช่วง 0.91-1.54 เมกะพาสคัล และ
อุณหภูมิกลาสทรานซิชันอยู่ในช่วง 57.58-67.57 °ซ จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าสามารถออกแบบโครงสร้าง
ประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวให้มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความ
ร้อนโดยควบคุมอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน โปรตีนกับสตาร์ช และสตาร์ชกับสตาร์ช ด้วยการเชื่อม
ข้ามด้วยพันธะ โควเวเลนซ์และพันธะเชิงไอออน ตามลำดับ

อภิญา นภาพรม
ลายมือชื่อนิติ


ลายมือชื่อประธานกรรมการ

21 / 10 / 2551

Apinya Naprom 2008: Properties of Composite Structure from Mungbean Protein and Starch.
Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and
Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Parichat Hongsprabhas, Ph.D. 98 pages.

This study investigated the effect of pH and calcium ion on the properties of composite structure fabricated from mungbean protein and starch. The Rapid Visco Analyser (RVA) showed that the alkali-treated mungbean starch and flour had higher final viscosity at 50 °C than the acid-treated ones. Heat treatment at 80 °C for 30 min, applied to mungbean protein solution prior to the protein coagulation, resulted in the mungbean protein concentrate that formed self-supporting gel at 20-22 % (w/v) as minimum concentration, gelled at 60 °C and retained emulsion stability when the emulsion was heated at 80 °C for 30 min. Heat treatment applied prior to protein separation induced the denaturation of mungbean protein and polymerization, which increased the molecular weight (MW) of mungbean proteins. The composite structure with heated mungbean protein as continuous phase and mungbean starch granules, with difference strength as embedded filler, was fabricated at 121 °C 15 min. The thermoplastic disc (water activity 0.26-0.30) had storage modulus at glass transition temperature rang from 2.74-4.20 MPa, loss modulus at glass transition temperature ranged from 0.91-1.54 MPa and glass transition temperature range of 57.58-67.57 °C. This study suggested that the composite structure with various physicochemical and thermo-mechanical properties can be designed by regulating the interactions between protein-protein, protein-starch and starch-starch through covalent bond formation and ionic interactions.

Apinya Naprom
Student's signature

Parichat Hongsprabhas 21 March 2008
Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบุคคลดังต่อไปนี้ที่ล้วนมีส่วนให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รศ.ดร. ปาริฉัตร หงสประภาส ประธานกรรมการที่ปรึกษา สำหรับความรู้ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทให้ และกรุณาอบความเอาใจใส่ ช่วยเหลือให้คำปรึกษา คำแนะนำ แนวทางในการแก้ไขปัญหา ตลอดจนการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. มาศอุบล ทองงาม กรรมการวิชาเอก ผศ.ดร. น้ำฝน ลำดับวงศ์ กรรมการวิชาการ และ ผศ.ดร. ฆรณี ดุษฎีเต็มวงศ์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะ คำปรึกษาต่างๆ ทั้งหมดล้วนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ครบถ้วนสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สวพ.มก.) ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร และทุนวิจัยเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและนานาชาติในการทำงานวิจัย ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ได้เอื้อเฟื้อเงินทุนสนับสนุนงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (เอ็มเทค) เจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการเซรามิกขั้นสูง ภาควิชาวัสดุศาสตร์และศูนย์เครื่องมือส่วนกลาง คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่บริษัทเมทเทอโร โทเลโด

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เจ้าหน้าที่ประจำคณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือและแนะนำเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือในการวิจัย เจ้าหน้าที่ห้องสมุดคณะอุตสาหกรรมเกษตร ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ สำหรับความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านตลอดระยะเวลาในการศึกษาระดับปริญญาโท

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ น้องชาย คุณป้า คุณน้า ที่อบรมสั่งสอนและสนับสนุนค่าใช้จ่ายระหว่างการศึกษา และคุณวินัย พันนาคี ที่ให้กำลังใจตลอดมาจนสามารถประสบความสำเร็จ

อภิญา นาพรหม
กุมภาพันธ์ 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	31
อุปกรณ์	31
วิธีการ	37
ผลและวิจารณ์	45
สรุปและข้อเสนอแนะ	68
สรุป	68
ข้อเสนอแนะ	68
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	70
ภาคผนวก	80
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์	81
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	92
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของสสารหรือแก๊วเฉียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โดยน้ำหนักเปียก)	46
2	โปรไฟล์ด้านความหนืดของสสารหรือแก๊วเฉียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์	48
3	ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนถั่วเฉียว	51
4	ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของโปรตีนถั่วเฉียวต่อสมบัติการเกิดเจลในตัวทำละลายต่าง ๆ	52
5	อุณหภูมิต่ำสุดต่อสมบัติการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเฉียวที่อุณหภูมิต่าง ๆ	53
6	แสดงอุณหภูมิที่จุดเริ่มต้น จุดสูงสุด จุดสิ้นสุด และความร้อนทั้งหมดในการเสียดสภาพของโปรตีนถั่วเฉียวที่ไม่ได้รับความร้อนและได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน	57
7	อุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสสารถั่วเฉียว	65
8	ค่าสโตเรจ มอดูลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันของ โครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสสารถั่วเฉียว	66
9	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า T_g และ G' ของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสสารถั่วเฉียว	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก1	ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ของโครงสร้างประกอบระหว่าง โปรตีนและสตาร์ช ถั่วเขียว	91
ข1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชหรือแป้ง ถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอก ไซด์	93
ข2	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพารามิเตอร์จากเครื่องวิเคราะห์ความหนืด แบบรวดเร็วของสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์	94
ข3	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนถั่วเขียวที่ ความเข้มข้นโปรตีนร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	95
ข4	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสูงของชั้นอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียว อิมัลซิไฟด์โดยเติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ของน้ำหนัก โปรตีน	96
ข5	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสูงของชั้นน้ำมันอิสระในอิมัลชันของ โปรตีนถั่วเขียวโดยเติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ของ น้ำหนักโปรตีน	96
ข6	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้าง ประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว	97
ข7	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสโตเรจ มอดูลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน ของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว	97

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของสตา์รชเกรนูลในเจตของซูริมิ	6
2	แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของโปรตีนภายหลังได้รับความร้อนเมื่อไม่เติมและเติมสารรีดิวซ์ซิง และ sulfhydryl blocking agent (NEM)	9
3	แสดงลักษณะของเม็ดสตา์รชถั่วเขียวหลังจากการสกัดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องกราดที่กำลังขยาย 3,600 เท่า	15
4	แสดงร้อยละของ hexanal remaining จากผลการใช้สารประกอบแอโรแมติกจากถั่วเขียวและถั่วเหลือง	17
5	แสดงร้อยละความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันของสารประกอบแอโรแมติกจากถั่วเขียวและถั่วเหลือง	19
6	แสดงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารไลโซไซม์ที่สกัดจากถั่วเขียว	20
7	แสดงผลการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium solani</i> โดยใช้สารไลโซไซม์จากถั่วเขียว	21
8	แสดงไมซีเลียม (mycelium) ของเชื้อรา <i>Fusarium solani</i> จากกล้องจุลทรรศน์หลังจาก 48 ชม.	22
9	เปรียบเทียบปริมาณการผลิตโคโคแซนจากการใช้ผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม	25
10	ลักษณะโปรไฟล์ด้านความหนืดของสตา์รชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งวัดด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว	49
11	ความสูงของชั้นอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวอิมัลซิไฟด์โดยเติมน้ำมันรำข้าวและความสูงของชั้นน้ำมันอิสระในอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียว	54
12	SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเขียว เปรียบเทียบลักษณะมวลโมเลกุลโปรตีนที่ไม่ได้รับความร้อนและได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน	56
13	โครงสร้างระดับจุลภาคของโปรตีนที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนและทำแห้งแบบพ่นฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องกราดที่ 15 kV	58
14	SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน เปรียบเทียบลักษณะมวลโมเลกุลโปรตีนที่ทำแห้งด้วยวิธีต่างกัน	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	แสดงค่าลอการิทึมของค่าสโตเรจ มอดูลัสของโครงสร้างประกอบระหว่าง โปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว	63

คุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

Properties of Composite Structure from Mungbean Protein and Starch

คำนำ

โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิพิด เกลือแร่ วิตามิน และน้ำ เป็นองค์ประกอบหลักของอาหาร โดยองค์ประกอบเหล่านี้ส่งผลให้อาหารมีคุณสมบัติและโครงสร้างแตกต่างกัน โดยโครงสร้างหลักอาหารพื้นฐานที่พบมี 4 ประเภท ได้แก่ โครงสร้างเซลล์ (cellular structure) โครงสร้างเส้นใย (fibrous structure) โครงสร้างเจล (gel structure) และ โครงสร้างผลึก (crystalline) (Aguilera and Stanley, 1999)

กระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาทำให้องค์ประกอบเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้เกิดโครงสร้างประกอบ เช่น ผลึกไขมันนมอบ ผลึกไขมันนม และอื่นๆ โครงสร้างพื้นฐานที่ได้กล่าวถึงและปรากฏในอาหารจึงแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (Aguilera, 1992) ได้แก่

ก. โครงสร้างของฟองแข็ง (solid foam) เช่น ฟองอากาศกระจายตัวในเมทริกซ์ของอิมัลชันที่เปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งในไอศกรีม และฟองอากาศกระจายตัวในเมทริกซ์ของแป้งและโปรตีนที่ผ่านการให้ความร้อนในผลิตภัณฑ์ขนมอบ และผลิตภัณฑ์อัดฟอง

ข. โครงสร้างของเส้นใยที่กระจายตัวในเมทริกซ์ (fibruse composite) เช่น เส้นใยกล้ามเนื้อกระจายตัวอยู่ในมัดกล้ามเนื้อ

ค. โครงสร้างของอนุภาคที่กระจายตัวในเมทริกซ์ (particulate composite) เช่น อนุภาคของโปรตีนกระจายตัวและประสานกันเป็นร่างแหในเจลของเต้าหู้และเนยแข็ง

โครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับเม็ดสตาร์ชจะพบมากในอาหารประเภทผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์อัดฟอง ซึ่งเป็นโครงสร้างสามมิติระหว่างร่างแหของโปรตีนกับแป้งที่เจลาทิไนซ์ การเหนียวทำให้เกิดการคอนจูเกต (conjugate) กันระหว่างโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตโดยปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reactions) ทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น ช่วยเพิ่มความหนืดและ/หรือ

เพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของคาร์โบไฮเดรต เช่น การเติมส่วนไฮโดรโฟบิกให้แก่คาร์โบไฮเดรตจากโปรตีนเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ให้แก่สตาร์ช (ปาริฉัตร, 2548) ซึ่งอาจส่งผลให้ได้เมทริกซ์ที่มีความยืดหยุ่นและสามารถอุ้มฟองอากาศที่ขยายตัวระหว่างการอบได้ ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจ การศึกษาบทบาทของโปรตีนหรือเม็ดสตาร์ชในโครงสร้างประกอบ (composite structure) อาจช่วยในการออกแบบให้โครงสร้างประกอบนั้นมีความคงทนต่อความร้อน แรงที่มากระทำ ความดัน หรือตัวทำละลาย ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการห่อหุ้มสาร เช่น กลีนิรส เอนไซม์ สารต้านจุลินทรีย์ สารต้านออกซิเดชัน เพราะการที่โครงสร้างประกอบมีผนังที่มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นหรือมีคุณสมบัติเชิงความร้อน เช่น อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (glass transition temperature) สูง จะช่วยเพิ่มความสามารถในการปกป้องสารที่ต้องการห่อหุ้มได้

การนำเอาวัสดุทางชีวภาพ (biopolymers) เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิพิด เกลือแร่ วิตามิน น้ำ ซึ่งเป็นองค์ประกอบพื้นฐานในระบบโครงสร้างของอาหารมาผสมรวมกันจะก่อให้เกิดโครงสร้างประกอบซึ่งมีสมบัติแตกต่างออกไปจากเดิม โครงสร้างประกอบของโปรตีนกับเม็ดสตาร์ชเป็นโครงสร้างประกอบชนิดหนึ่งที่พบในอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์อัดฟอง และซูริมิ แหล่งของโปรตีนที่ใช้อาจได้จาก ไข่ขาว โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนนม และโปรตีนกลุ้มเนื้อปลา ซึ่งอาจมีต้นทุนสูง

ถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของไทย ถั่วเขียวเป็นพืชอายุสั้น ใช้น้ำน้อยกว่าพืชไร่หลายชนิด สามารถปลูกทดแทนข้าวนาปรังหรือปลูกก่อนข้าวโพดในพื้นที่ประสบภัยแล้ง ช่วยบำรุงรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื่องจากตรึงไนโตรเจนได้ดี จึงสามารถใช้เป็นปุ๋ยพืชสดได้ ด้านอุตสาหกรรม ถั่วเขียวถือเป็นแหล่งของวัตถุดิบที่สำคัญในการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ทั้งระดับอุตสาหกรรมและครัวเรือน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมวุ้นเส้น นอกจากนี้ ถั่วเขียวยังมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในสัดส่วนสูง ซึ่งโปรตีนเหล่านี้สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนของผลิตภัณฑ์ได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2550)

ในประเทศไทย ถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งมีองค์ประกอบของสตาร์ชและโปรตีนในสัดส่วนสูง ในอุตสาหกรรมวุ้นเส้น ซึ่งต้องแยกสตาร์ชมาผลิตเป็นวุ้นเส้น ส่วนโปรตีนถั่วเขียวมักนำมาตกตะกอนและจำหน่ายเป็นอาหารสัตว์ ซึ่งโปรตีนเหล่านี้สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนในโครงสร้างประกอบได้ และยังช่วยลดต้นทุนของวัตถุดิบโครงสร้างประกอบ เนื่องจากมีราคาถูกกว่าโปรตีนไข่ขาวและโปรตีนถั่วเหลืองซึ่งนำเข้า การเข้าใจถึงอิทธิพลและความสำคัญของบทบาทของโปรตีนในการเป็นเมทริกซ์ต่อเนื่อง (continuous matrix) และเม็ด

สตาร์ชซึ่งเป็นฟิลเลอร์ (filler) จะเป็นประโยชน์ในการช่วยพัฒนา ปรับปรุง ตลอดจนนำไปสู่การเกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ขึ้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของการเติมเม็ดสตาร์ชถั่วเขียวซึ่งใช้เป็นฟิลเลอร์ลงในเมทริกซ์ต่อเนื่องของโปรตีนถั่วเขียว ต่อคุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว การเข้าใจถึงอิทธิพลและความสำคัญของบทบาทของโปรตีนในการเป็นเมทริกซ์ต่อเนื่องและเม็ดสตาร์ชซึ่งเป็นฟิลเลอร์ จะเป็นประโยชน์ในการช่วยพัฒนา ปรับปรุง ตลอดจนนำไปสู่การเกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ เกิดขึ้น โดยผู้วิจัยมีแนวความคิดว่าสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียวสามารถปรับเปลี่ยนหรือถูกควบคุมได้โดยการควบคุมอันตรกิริยาของเฟสต่อเนื่องของฟิลเลอร์ และที่ผิวร่วมระหว่างเฟสต่อเนื่องกับฟิลเลอร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านเพศของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียว
2. เพื่อศึกษาผลของความร้อนต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนถั่วเขียว
3. เพื่อศึกษาผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวต่อคุณสมบัติเชิงความร้อนของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียวในสภาวะที่พีเอชและความแรงของไอออนตามที่กำหนด

การตรวจเอกสาร

วัสดุทางชีวภาพ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และลิพิด เป็นองค์ประกอบพื้นฐานในระบบของอาหาร และสามารถประกอบประกอบเหล่านี้ในโครงสร้างประกอบ การนำองค์ประกอบเหล่านี้มาผสมรวมกันอาจทำให้เกิดโครงสร้าง ซึ่งเรียกว่า โครงสร้างประกอบ (composite structure) ซึ่งวัสดุอาหาร (food materials) เหล่านี้สามารถนำมาใช้เป็นตัวเฟสต่อเนื่อง (continuous phase) และเฟสที่กระจายตัว (dispersed phase)

โครงสร้างประกอบของโปรตีนและเม็ดสตาร์ช

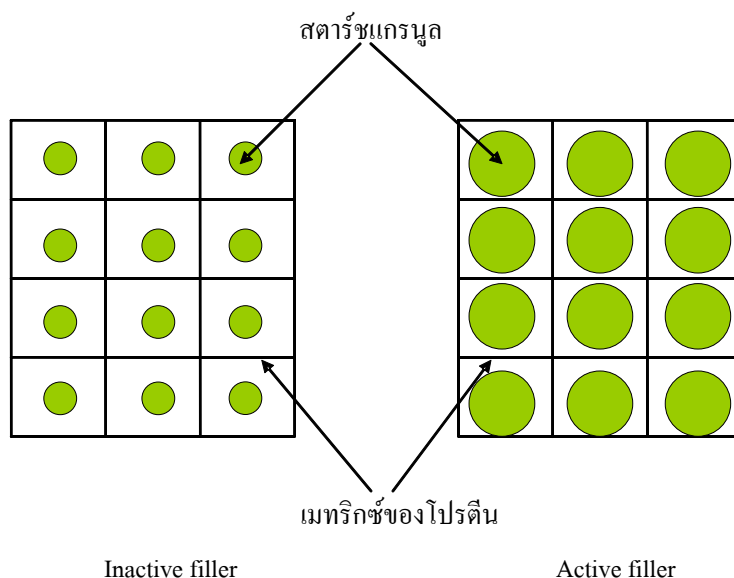
จากการที่วัสดุทางชีวภาพแต่ละชนิด ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน สตาร์ช ไฮโดรคอลลอยด์ หรือลิพิด มีคุณสมบัติเด่นและข้อจำกัดในการใช้งานต่างกัน การรวมจุดเด่นของวัสดุทางชีวภาพแต่ละชนิด อาจใช้เป็นแนวทางในการสร้างโครงสร้างประกอบที่มีคุณสมบัติตามต้องการได้

ซูริมิ เป็นตัวอย่างของโครงสร้างประกอบที่เม็ดสตาร์ชกระจายตัวในเมทริกซ์ของโปรตีนของปลาในรูปแบบของเจล โดยซูริมิ คือ เนื้อปลาสดที่ผ่านการล้าง (washing) และสะเด็ดน้ำ (dewatering) เพื่อกำจัดไขมันและซาร์โคพลาสมิคโปรตีน (sarcoplasmic proteins) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ออก เพื่อทำให้ไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน (myofibrillar proteins) เข้มข้นมากขึ้น (จิรวัดณ์, 2541; จักร, 2544; Okada, 1992)

ซูริมิเป็นอาหารซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก การเตรียมผลิตภัณฑ์ซูริมิมิมีส่วนประกอบที่ผสมรวมกันหลายอย่าง เช่น โปรตีนไข่ขาว เกลือ น้ำมันพืช ซึ่งส่วนผสมเหล่านี้จะกระจายอยู่ในเฟสต่อเนื่องของเมทริกซ์โปรตีน และสตาร์ชเป็นส่วนประกอบอีกชนิดหนึ่งที่เติมลงไปและมีความสำคัญมากเนื่องจากช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) สมบัติทางเคมีกายภาพ (physico-chemical properties) มีความสามารถอุ้มน้ำได้สูงเพราะสตาร์ชเกิดการบวมพองได้ เจลที่ได้มีความแข็งแรงสูงและคงทนต่อการละลายระหว่างการแช่เยือกแข็ง (freeze-thaw stability) การแช่เย็นหรือแช่แข็ง (Wu *et al.*, 1985; Lee *et al.*, 1992; Campo and Tovar, 2008)

อิทธิพลของสตาร์ชต่อเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิ-สตาร์ชขึ้นกับ อุณหภูมิ ดังรายงานวิจัยของ Yang and Park (1998) ได้ศึกษาผลของสตาร์ชและสภาวะการให้ความร้อนของกระบวนการแปร

รูปต่อ โครงสร้างระดับจุลภาค (microstructure) และเนื้อสัมผัส คณะผู้วิจัย พบว่า การให้ความร้อนแก่เจลของซูริมิ-สตาร์ช ความเข้มข้นของของแข็งประมาณร้อยละ 22 ที่อุณหภูมิ 70 °ซ พบว่า แกรนูลของสตาร์ชดูดซับน้ำและพองตัวไม่เพียงพอ ทำให้ไม่สามารถเติมเต็ม (fill up) โครงข่ายของเจลได้ แรงดันของสตาร์ชที่กระทำต่อเมทริกซ์มีน้อย สตาร์ชไม่สามารถเสริมความแข็งแรง (reinforcement) ของเมทริกซ์ ส่งผลได้ให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่อ่อนแอ (weak gel) ในขณะที่การให้ความร้อนแก่เจลของซูริมิ-สตาร์ชที่อุณหภูมิ 90 °ซ แกรนูลของสตาร์ชเกิดการบวมพองได้ดีจึงช่วยเติมเต็ม โครงข่ายของเจล ทำให้แรงดันของสตาร์ชที่กระทำต่อเมทริกซ์มีมาก ดังนั้น โครงสร้างของเจลจึงแข็งแรง ลักษณะดังที่กล่าวมาคณะผู้วิจัยได้แสดงแบบจำลองดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของสตาร์ชแกรนูลในเจลของซูริมิ

ที่มา: Yang and Park (1998)

นอกจากอิทธิพลของอุณหภูมิในกระบวนการแปรรูปที่มีต่อคุณสมบัติของซูริมิแล้ว ยังมีอิทธิพลของ ความเข้มข้นของสตาร์ช วิธีการตัดแปรรสตาร์ช สัดส่วนของแอมิโลสต่อแอมิโลเพกติน และแหล่งของสตาร์ช โดยอิทธิพลเหล่านี้จะมีผลต่อการยอมรับในผลิตภัณฑ์ซูริมิ (Yang and Park, 1998)

ฟิล์มประกอบซึ่งรายงานโดย Rhim *et al.* (1998) และ Wongsasulak *et al.* (2006, 2007) เป็นตัวอย่างของ โครงสร้างประกอบที่เม็ดสตาร์ชกระจายตัวในเมทริกซ์ของโปรตีนในรูปแบบของ

ฟิล์ม โดยที่ในฟิล์มประกอบทั้งสองงานวิจัย สตาร์ชมีบทบาทสำคัญในการเป็นฟิลเลอร์

Rhim *et al.* (1998) ศึกษาผลของการเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ช (dialdehyde starch; DAS) ต่อคุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์มประกอบ (composite film) ระหว่างโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช โดยคณะผู้วิจัย พบว่า ฟิล์มประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตที่เติม DAS ความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลต) มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และการเติม DAS ลงไปจะทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำผ่านฟิล์มของฟิล์มประกอบเพิ่มสูงกว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตเพียงเล็กน้อย แต่ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble matter) ของฟิล์มลดลงร้อยละ 50 แสดงให้เห็นว่าการเติม DAS ทำให้โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตต้านทานความชื้นได้มากขึ้น ดังนั้นการเติม DAS จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตด้านการใช้งานเป็นภาชนะบรรจุและการห่อหุ้มอาหาร

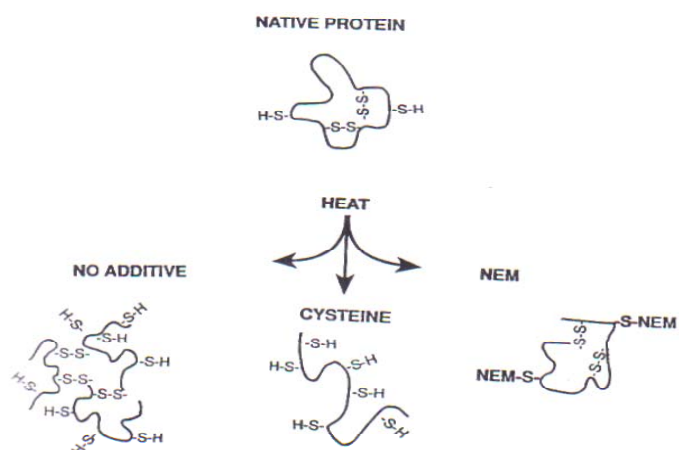
นอกจากฟิล์มประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองแล้วยังมีงานวิจัยที่ศึกษาอิทธิพลของปริมาณความชื้นต่อคุณสมบัติด้านความร้อนและคุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อนของฟิล์มประกอบระหว่างโปรตีนไข่ขาวและสตาร์ชมันสำปะหลังซึ่งมีอนุภาคของหยดไขมันจากน้ำมันเมล็ดทานตะวันประกอบภายในระบบ Wongsasulak *et al.* (2006) พบว่า ฟิล์มที่มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (a_w) ต่ำ (0.06-0.32) มีค่าสโตเรจ มอดุลัส (G') และค่าลอส มอดุลัส (G'') สูงกว่า ฟิล์มที่มีค่า a_w สูง (0.59-0.74) อย่างไรก็ตาม การให้ความร้อนแก่ฟิล์มที่มีความชื้นและ a_w ต่างกัน ทำให้ฟิล์มดังกล่าวมีคุณลักษณะเชิงกลเมื่อได้รับความร้อน (thermo-mechanical properties) แตกต่างกัน กล่าวคือ การให้ความร้อนทำให้ฟิล์ม ที่มี a_w ประมาณ 0.06-0.32 (a_w ต่ำ) มีค่า G' และ G'' ลดลง เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในขณะที่การให้ความร้อนแก่ฟิล์มที่มี a_w ประมาณ 0.96 (a_w สูง) มีค่า G' และ G'' เพิ่มขึ้น แสดงว่าฟิล์มประกอบดังกล่าว มีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นสูงเมื่อฟิล์มมีความชื้นและได้รับความร้อน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการกักเก็บสารที่ต้องการที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนและตัวอาหารเองมีความชื้นสูง

Wongsasulak *et al.* (2007) ยังได้ศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยสารประกอบแคโรทีนอยด์จากฟิล์มประกอบด้วย พบว่า เมื่อค่าความแข็งแรง (strength) และค่าความยืดหยุ่น (elasticity) ของฟิล์มประกอบเพิ่มสูงขึ้น การปลดปล่อยสารประกอบแคโรทีนอยด์จะลดลงที่อุณหภูมิและความชื้นสูง ดังนั้น ฟิล์มประกอบที่เตรียมโดยอาศัยหลักการดังกล่าวจะสามารถใช้ในการห่อหุ้มสารที่ต้องการผ่านกระบวนการแปรรูปที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูง

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวมา แหล่งของโปรตีนที่ใช้เป็นเฟสต่อเนื่อง ได้แก่ โปรตีนจากปลา ไข่ขาว โปรตีนอัลบูมิน และโปรตีนจากถั่วเหลือง ข้อจำกัดของโปรตีนเหล่านี้ในประเทศไทย คือ มีต้นทุนที่สูง ดังนั้น การเลือกใช้แหล่งของโปรตีนที่มีราคาถูกกว่าจะช่วยลดต้นทุนให้กับผลิตภัณฑ์ได้ และการที่โปรตีนถั่วเขียวซึ่งส่วนใหญ่จะถูกทิ้งไปกับน้ำทิ้งภายหลังกระบวนการผลิตวุ้นเส้น หรือขายเป็นอาหารสัตว์ งานวิจัยนี้จึงได้พิจารณาในการนำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในโครงสร้างประกอบ

ผลของความร้อนต่อการเสถียรภาพตามธรรมชาติของโปรตีน

การให้ความร้อนแก่โปรตีนซึ่งอยู่ในน้ำหรือตัวทำละลายชนิดอื่น จะทำให้พันธะที่อยู่ระหว่างโมเลกุล (inter-molecular bonds/interactions) และพันธะภายใน โมเลกุล (intra-molecular bonds/interactions) ของโปรตีนซึ่งยึดเหนี่ยวโครงสร้างตามธรรมชาติของโปรตีนถูกทำลาย โดยความร้อนจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับทุติยภูมิ (secondary structure) และโครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) ของโปรตีน ทำให้ส่วนไฮโดรโฟบิก (hydrophobic region) ที่ถูกฝังอยู่ภายในจะออกมาสู่ด้านนอกจากการคลายเกลียวของโมเลกุลและปลดปล่อยหมู่ที่สามารถทำอันตรกิริยา (reactive group) ได้ออกสู่ภายนอก ทำให้โปรตีนสามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุล ส่งผลให้โปรตีนเกิดการเกาะกลุ่ม (aggregate) และเกิดพันธะเชื่อมข้าม (cross linking) ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ หรืออันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interactions) ทำให้มวลโมเลกุลของโปรตีนเพิ่มขึ้น (Boye *et al.*, 1997) แสดงดังภาพที่ 2 ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างที่เกิดขึ้นนี้จะมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ของโปรตีน เนื่องจากสมบัติด้านโครงสร้างจะสัมพันธ์กับคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (structure-function relationship) เช่น สมบัติการละลาย (solubility properties) สมบัติการเกิดเจล (gelation properties) สมบัติการเป็นอิมัลชัน (emulsification properties) แม้ว่าการให้ความร้อนแก่โปรตีนจะทำให้โปรตีนเสถียรภาพตามธรรมชาติ แต่จะช่วยปรับปรุงสมบัติด้านการเกิดเจลและสมบัติการเป็นอิมัลชัน แม้จะลดความสามารถในการละลายของโปรตีน นอกจากสมบัติด้านโครงสร้างระดับโมเลกุลซึ่งเป็นปัจจัยภายในที่มีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่แล้ว ปัจจัยภายนอก ได้แก่ พีเอช ความแรงของไอออน อุณหภูมิ และการทำอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับส่วนประกอบอื่นๆ (Damodaran, 1994; Damodaran, 1996b; Zayas, 1997) ก็ยังมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนภายหลังจากได้รับความร้อนเมื่อไม่เติม และเติมสารรีดิวซ์ซิง และ sulfhydryl blocking agent (NEM)

ที่มา: Boye *et al.* (1997)

กระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน

กระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน คือ กระบวนการที่นำเมล็ดข้าวโพดมาแช่และหุงต้มภายใต้สารละลายต่าง โดยส่วนใหญ่มักใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) กระบวนการนี้เป็นกระบวนการขั้นต้นก่อนการนำข้าวโพดไปทำเป็นอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารประเภทอาหารเม็กซิกัน เช่น ทอติลลา (tortilla) ทามาเลส (tamales) และผลิตภัณฑ์ข้าวโพดอื่นๆ (Mondragon *et al.*, 2004; Sefa-Dedeh *et al.*, 2004; Mendez-montealvo *et al.*, 2006; Anonymous, 2007) การใช้ต่างในกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดเปลือกด้านนอกของเมล็ดข้าวโพดออกไปและยังช่วยปรับปรุงคุณสมบัติด้านกลิ่นรส นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถช่วยลดระดับของสารพิษจากเชื้อรา (mycotoxins)

กระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันเกิดจากกระบวนการพื้นเมืองของชาวเม็กซิกัน (Toro-Vazquez and Gomez-Aldapa., 2001; Mondragon *et al.*, 2004; Sefa-Dedeh *et al.*, 2004) และมีการพัฒนาเรื่อยมา จนเป็นระดับอุตสาหกรรมในยุคปัจจุบัน โดยเป็นกระบวนการขั้นต้นในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตผลิตภัณฑ์จากข้าวโพด อาหารที่ใช้ข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันเป็นวัตถุดิบในการผลิตนี้ไม่ได้เป็นที่นิยมและต้องการเฉพาะชาวเม็กซิกันเท่านั้น ยังเป็นที่นิยมกับชาวอเมริกันและเริ่มแพร่หลายมายังทวีปยุโรปและเอเชียด้วย (Mondragon *et al.*, 2004)

อิทธิพลของกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ช

1. องค์ประกอบทางเคมีของแป้งหรือสตาร์ชที่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน

กระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันได้ส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการนี้มีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างไปจากแป้งหรือสตาร์ชที่ไม่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน โดยพบว่า ข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันมีปริมาณโปรตีน ไชมันและเส้นใยลดลง (Trejo-Gonzalez *et al.*, 1982; Jackson *et al.*, 1988; Bressani *et al.*, 1999; Rooney and Suhendro, 1999) แต่ปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น (Trejo-Gonzalez *et al.*, 1982; Bressani *et al.*, 1999)

2. ความสามารถในการดูดซับน้ำของแป้งหรือสตาร์ชที่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน

Sefa-Dedeh *et al.* (2004) ได้ศึกษากระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันต่อคุณสมบัติทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของแป้งข้าวโพด โดยนำข้าวโพดมาแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.33 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) คัมมาน 30 นาที แล้วแช่เป็นเวลานาน 12 ชม. จากนั้นล้างสารละลายต่างออกไป โม่บดและอบแห้งแล้วทดสอบความสามารถในการดูดซับน้ำ (water absorption capacity) พบว่า การแช่ข้าวโพดในสารละลายต่างทำให้แป้งข้าวโพดมีความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายต่างจะทำให้ความสามารถในการดูดซับน้ำที่อุณหภูมิ 25 °C เพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการดูดซับน้ำที่อุณหภูมิ 70 °C จะลดลง

นอกจากนี้ มีงานวิจัยที่ได้ศึกษาความสามารถในการกักเก็บน้ำ (water retention capacity) ของสตาร์ชข้าวโพด โดยการเตรียมสารละลายข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 5 ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า ค่าความสามารถในการกักเก็บน้ำของสตาร์ชเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายเป็นร้อยละ 0.1 เนื่องจากสารละลายต่างจะทำให้ส่วนที่เป็นบริเวณ โครงสร้างผลึกหลุดออกจากกันและเมทริกซ์ของสตาร์ชแกรนูลคลายและกางออก โดยการแทนที่ของโปรตอนด้วยแคทไอออนจาก Ca^{2+} จึงทำให้แกรนูลของสตาร์ชสามารถกักเก็บน้ำได้เพิ่มขึ้นและแกรนูลมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.2-0.6 ความสามารถในการกักเก็บน้ำของสตาร์ชจะลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากแคลเซียมไอออนจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลที่ถูก

ไอออนของโมเลกุลสตาร์ช ทำให้แกรนูลของสตาร์ชคงตัวและมีความแกร่งมากขึ้น ปริมาตรของแกรนูลลดลงจึงเป็นสาเหตุให้สตาร์ชมีความสามารถในการกักเก็บน้ำลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มเป็นร้อยละ 0.6-1.0 พบว่า ความสามารถในการกักเก็บน้ำจะคงที่เนื่องจาก Ca^{2+} และ $\text{Ca}(\text{OH})^+$ จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสตาร์ช สตาร์ชแกรนูลจะแกร่งมากยิ่งขึ้นเนื่องจากการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่าง divalent cation กับ โมเลกุลของสตาร์ช ค่าความสามารถในการกักเก็บน้ำลดลง (Bryant and Hamaker, 1997)

3. สมบัติด้านความหนืดของแป้งหรือสตาร์ชที่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน

แป้งข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชันมีสมบัติด้านความหนืดซึ่งประเมินลักษณะความหนืดด้านเพสท์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (RVA) พบว่า แป้งข้าวโพดมีค่าความหนืดตลอดทั้งโปรไฟล์ตั้งแต่ช่วงเพิ่มอุณหภูมิ คงอุณหภูมิ และลดอุณหภูมิสูงกว่าแป้งข้าวโพดที่ไม่ผ่านกระบวนการนิกซ์ทามัลไลเซชัน (Gomez *et al.*, 1992) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Bryant and Hamaker (1997) ได้ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อคุณสมบัติด้านเพสท์ของแป้งข้าวโพดและตรวจสอบคุณสมบัติของเพสท์ด้วยเครื่อง Brabender viscoamylograph พบว่า ค่าความหนืดของเพสท์ของแป้งข้าวโพดที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่ำ (0-0.2 %) มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากแกรนูลบวมพองเพิ่มขึ้นแกรนูลของสตาร์ชกางและขยายออกโดยการแทนที่ของ Ca^{2+} หรือ $\text{Ca}(\text{OH})^+$ จึงส่งผลให้ส่วนที่เป็นโครงสร้างผลึกในเม็ดสตาร์ชแกรนูลคลี่แผ่ขยายออกไปจากกัน เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์สูงขึ้น (0.5-1.0 %) ค่าความหนืดจะลดลง เนื่องจากที่สภาวะต่างซึ่งมีพีเอชประมาณ 12 หมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) ของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินสามารถไอออนไนซ์ได้และจะมีประจุเป็นลบทำให้เกิดอันตรกิริยากับไอออนของ Ca^{2+} และ $\text{Ca}(\text{OH})^+$ โดยเกิดพันธะเชื่อมข้าม ส่งผลให้แกรนูลของสตาร์ชมีความแข็งแรงและแกร่งมากขึ้น (Bryant and Hamaker, 1997)

ด้านการทำปฏิกิริยาระหว่างสตาร์ชกับน้ำ ดังที่กล่าวแล้วว่า การที่หมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลสตาร์ชเกิดอันตรกิริยากับไอออนของ Ca^{2+} และ $\text{Ca}(\text{OH})^+$ โดยเกิดพันธะเชื่อมข้าม อาจทำให้หมู่ไฮดรอกซิลที่ยังว่างและสามารถจับกับโมเลกุลของน้ำมีน้อยลง แกรนูลบวมพองน้อย ค่าความหนืดจึงลดต่ำลง

ถั่วเขียว

ถั่วเขียว เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยชนิดหนึ่ง ความสำคัญของถั่วเขียวได้ทวีขึ้นตามลำดับ เนื่องจากถั่วเขียวเป็นสินค้าที่ทำรายได้ให้กับประเทศปีละไม่น้อย ถึงแม้ว่าถั่วเขียวจะไม่ได้เป็นสินค้าส่งออกในลำดับต้น เช่น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง และยางพาราก็ตาม แต่ก็นับว่าเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ในระดับนำเมื่อเปรียบเทียบกับสินค้าเกษตรกรรมอื่นๆ (เพิ่มพูน, 2531)

1. ประวัติและถิ่นกำเนิด

ถั่วเขียวที่ปลูกกันในปัจจุบันนี้ เชื่อว่ามีถิ่นกำเนิดในประเทศพม่า และแคว้นอัสสัม ประเทศอินเดีย ต่อมาได้แพร่กระจายไปในประเทศอิหร่าน ศรีลังกา จีนแผ่นดินใหญ่ และภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย ถั่วเขียวได้แพร่กระจายโดยพ่อค้าหรือผู้เดินทางไปยังตะวันออกกลาง หมู่เกาะแปซิฟิก ออสเตรเลีย แอฟริกาตะวันออก และอเมริกา สำหรับประวัติถั่วเขียวในประเทศไทย ยังไม่มีใครทราบว่าเริ่มตั้งแต่เมื่อใด แต่เชื่อว่ากสิกรู้จักถั่วเขียวและรู้จักนำมาบริโภคมานานแล้ว การปลูกถั่วเขียวในสมัยก่อนไม่ได้ปลูกกันเป็นล่ำเป็นสันเหมือนเช่นปัจจุบันนี้ เมื่อมีความต้องการบริโภคมากขึ้นและสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ จึงมีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกกันมาก (เพิ่มพูน, 2531)

2. พฤกษศาสตร์ของถั่วเขียว

ถั่วเขียวเคยถูกจัดอยู่ใน *Phaseolus* spp. ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ต่างๆ กัน เช่น *Phaseolus aureas*, *Phaseolus radiata* แต่ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันมากกว่า ชื่อวิทยาศาสตร์ของถั่วเขียว (green gram และ golden gram) คือ *Vigna radiata* ชนิดของถั่วเขียวในประเทศไทย ได้แก่ ถั่วเขียวเมล็ดมันใหญ่ ถั่วเขียวธรรมดาหรือถั่วเขียวเมล็ดด้าน ถั่วทองหรือถั่วเขียวสีทอง และถั่วเมล็ดแดง ส่วนถั่วเขียวพิวคามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna mungo* เนื่องจากการจำแนกถั่วเขียวยังมีปัญหาอยู่จึงมีผู้ใช้คำว่า mung beans เรียกทั้งสองสปีชีส์นี้ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2528)

3. พันธุ์ถั่วเขียว

ถั่วเขียวที่ปลูกในประเทศไทยมีมากมายหลายพันธุ์ด้วยกัน (เพิ่มพูน, 2531) และมักจะให้ผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำ หน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรจึงพยายามที่จะคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อให้มีผลผลิตสูงและต้านทานต่อโรค เท่าที่ปลูกกันในปัจจุบันมีดังต่อไปนี้

ถั่วเขียวพันธุ์อุทอง 1 ลักษณะเด่น ออกดอกและติดฝักชุดแรกในเวลาเกือบพร้อมกัน และออกเป็นจำนวนมากประมาณร้อยละ 80-85 ของทั้งต้น จึงทำให้ฝักแก่พร้อมที่จะเก็บเกี่ยวได้ในเวลาเดียวกันฝักที่แก่แล้วยังเหนียวไม่แตกง่ายเก็บเกี่ยวได้สะดวก

ถั่วเขียวพันธุ์อุทอง 2 ลักษณะเด่น ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พื้นเมืองประมาณร้อยละ 12 และเมล็ดมีขนาดใหญ่จึงทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ

ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 ลักษณะเด่น ฝักชูขึ้นเหนือพุ่มใบ จึงทำให้เก็บเกี่ยวได้ง่าย

ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ลักษณะเด่น ผลผลิตต่ำกว่าถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 เล็กน้อยแต่เมล็ดมีสีเขียวเข้มกว่า เป็นที่ต้องการของพ่อค้าในชนบท มีความต้านทานต่อโรคราแป้งและใบจุดได้ดีกว่าพันธุ์กำแพงแสน 1 เล็กน้อย

ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 60 ลักษณะเด่น ช่อฝักชูเหนือทรงพุ่มเด่นชัดจึงทำให้มีการดูแลรักษาและเก็บเกี่ยวสะดวก

ถั่วเขียวสามารถปลูกได้ทุกภาคในประเทศไทย โดยมีพื้นที่เพาะปลูกรวมทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2547 คิดเป็น 1.794 ล้านไร่ โดยมีผลผลิตรวมทั้งประเทศ 0.218 ล้านตัน (นิรนาม, 2547)

4. โปรตีนถั่วเขียว

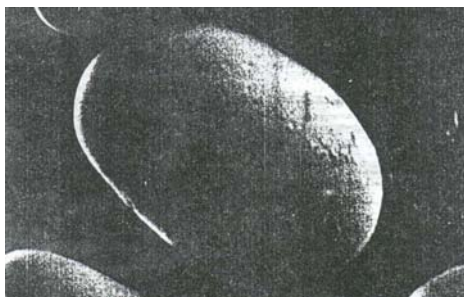
โปรตีนถั่วเขียวเป็นโปรตีนทรงกลม (globular protein) ประกอบด้วยส่วนของโปรตีนสะสม (storage proteins) และส่วนที่เป็นเมตาบอลิกโปรตีน (metabolic proteins) สำหรับส่วนของโปรตีนสะสมประกอบด้วยโปรตีนโกลบูลิน (globulin) และโปรตีนอัลบูมิน (albumin) เป็นหลัก โดยโปรตีนโกลบูลินมีปริมาณมากที่สุดเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง

(Sathe *et al.*, 1984) โปรตีน โกลบูลินจะอยู่ในรูปของ วิซิลิน (vicilin; 7S protein) เลกูมิน (legumin; 11S protein) และเบสิก (basic; 8S protein) (Mendoza *et al.*, 2001) ส่วนโปรตีนอัลบูมินละลายได้ในน้ำ และเมทาบอลิกโปรตีนทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม ระหว่างการพัฒนาของเมล็ด (Sathe *et al.*, 1984)

การสกัดและการทำแห้งโปรตีนถั่วเขียว การแยกโปรตีนถั่วเขียวสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งอาจทำได้โดยการตกตะกอนโดยใช้เกลือและแยกตะกอนด้วยวิธีอัลตราฟิลเตรชัน (Anantraksakul, 1989) แต่วิธีที่นิยมคือการตกตะกอนโปรตีนถั่วเขียวจากสารละลายที่จุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point: pI) (อรพิน, 2531; สมจิต, 2529; Coffman and Garcia, 1977; Thomson, 1977) โดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือกรดอะซิติกจนถึงจุดไอโซอิเล็กทริกในช่วงความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.0-4.5 ที่ช่วงไอโซอิเล็กทริกนี้ โปรตีนจะมีการละลายน้อยที่สุดเนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนมีประจุสุทธิเท่ากับศูนย์จึงทำให้แรงผลักกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนต่ำ และแรงดึงดูดกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนมีมากกว่าแรงดึงดูดระหว่างโปรตีนกับน้ำ โปรตีนจึงจับตัวกันเป็นกลุ่มโปรตีน (protein aggregate) และตกตะกอน สามารถแยกตะกอนของโปรตีนออกมาด้วยการหมุนเหวี่ยง จากนั้นจึงทำแห้งโปรตีนถั่วเขียวด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การทำแห้งแบบระเหิด (freeze drying) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) หรือวิธีการทำแห้งด้วยลมร้อนแบบถาด (tray drying) เป็นต้น (พงศ์ตันต์, 2548; อรพิน, 2531; Coffman and Garcia, 1977)

5. สตาร์ชถั่วเขียว

สตาร์ชจากถั่วเขียวใช้เป็นแหล่งของวัตถุดิบในการผลิตวุ้นเส้น และการผลิตเส้นซ่าหริ่มในระดับอุตสาหกรรม วุ้นเส้นมีลักษณะเนื้อใส เส้นมีความสม่ำเสมอ ไม่เปื่อยยุ่ยง่าย (เพิ่มพูน, 2531) เม็ดสตาร์ช (starch granule) เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีลักษณะค่อนข้างกลมรีคล้ายกับรูปไตและบริเวณผิวมีลักษณะเรียบแสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของเม็ดสตาร์ชถั่วเขียวหลังจากการสกดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องกราดที่กำลังขยาย 3,600 เท่า

ที่มา: วุฒิชัย (2526)

เมื่อตรวจสอบความชื้นหนืดด้วยเครื่อง Brabender Visco Amylograph ให้ลักษณะของกราฟเป็นแบบ C คือเม็ดสตาร์ชมีการพองตัวน้อยและจะให้เจลที่มีความคงตัวและการกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ดี ลักษณะของเจลที่ได้จะมีความยืดหยุ่นและใส (วุฒิชัย, 2526)

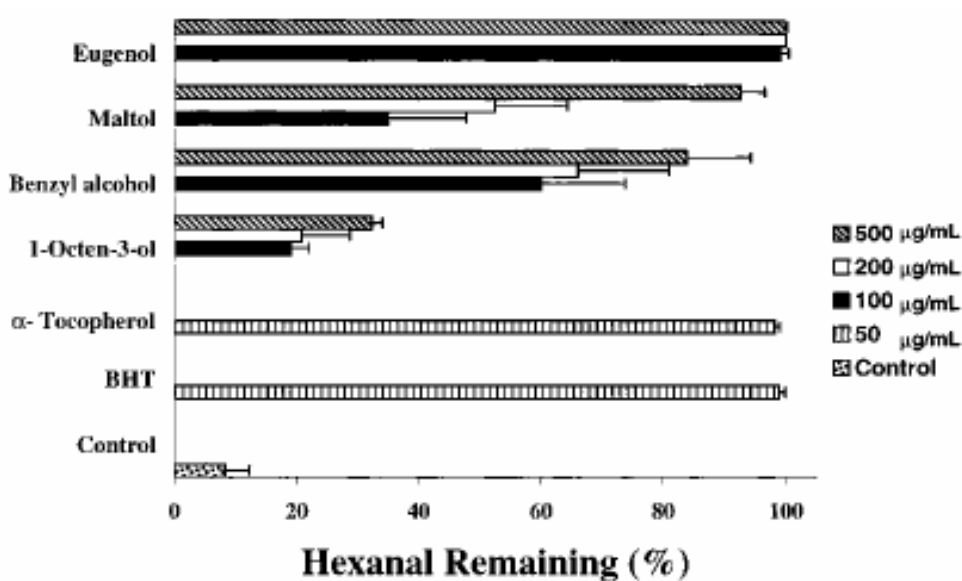
Israkarn *et al.* (2007) ได้ศึกษาอิทธิพลของโปรตีนที่อยู่กับแกรนูลสตาร์ชต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสตาร์ชถั่วเขียวและสตาร์ชมันสำปะหลัง และศึกษาลักษณะรูปร่างของสตาร์ชแกรนูล สมบัติด้านการเกิดเพสท์ และสมบัติทางเคมีกายภาพ เมื่อเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายแคลเซียมแลคเตท พบว่า การเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้ส่งผลให้แกรนูลของสตาร์ชสามารถเกิดการบวมพองได้ที่อุณหภูมิห้องและเมื่อให้ความร้อนที่ 80 °C 30 นาที สตาร์ชได้สูญเสียความเป็นแกรนูลไป แต่ยังพบเศษชิ้นส่วนของสตาร์ช (ghosts remnant) บางส่วนอยู่ถึงแม้ว่าจะมีการรั่ว (leaching) ของปริมาณสตาร์ชที่อยู่ภายในแกรนูลออกมาแล้วก็ตาม ซึ่งการเข้าทำปฏิกิริยาของด่างจะเริ่มจากการที่ด่างละลายส่วนของโปรตีนที่อยู่กับสตาร์ชแกรนูลออก ตามมาด้วยการสูญเสียความเป็นแกรนูล (disintegration) ดังนั้น สารละลายด่างจึงสนับสนุนการพองตัวของสตาร์ชแกรนูลและทำให้ใช้อุณหภูมิในการเปลี่ยนเฟส (transition temperature) ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมด่าง ในขณะที่การเติมสารละลายแคลเซียมแลคเตทร่วมกับด่างซึ่งมีพีเอชประมาณ 12 ทำให้ลักษณะของสตาร์ชแกรนูลเมื่อตรวจสอบจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงส่องผ่าน (light microscope) และกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอล เลเซอร์สแกนนิ่ง (confocal laser scanning microscopy) มีคุณลักษณะแตกต่างไปจากตัวอย่างที่มีการเติมด่างเพียงอย่างเดียว กล่าวคือ การเติมสารละลายแคลเซียมแลคเตทและมีพีเอชสูงทำให้สตาร์ชแกรนูลมีขนาดเล็กกว่าตัวอย่างอื่น ๆ มีสตาร์ชรั่วออกมานอกแกรนูล แต่สตาร์ชแกรนูลไม่ยุบตัว (collapse) และค่าความหนืดสุดท้าย

วิเคราะห์จากเครื่อง RVA มีค่าต่ำ ซึ่งอธิบายได้ค่า Ca^{2+} ได้เชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลของโปรตีนซึ่งมีประจุลบในสภาวะที่มีพีเอชสูงกว่า pI กับประจุลบของแอมิโนสและแอมิโนเพกติน เพราะหมู่ไฮดรอกซิลของแอมิโนสและแอมิโนเพกตินสามารถให้ออในซได้ ในสภาวะที่มีความเป็นด่างสูงซึ่งพีเอชประมาณ 12 ทำให้แกรนูลของสตาร์ชแข็งแรงแรง บวมพองลดลงและยังทำให้ transition temperature เพิ่มขึ้นกว่าการใช้ด่างเพียงอย่างเดียว จากการศึกษาของ Israkarn *et al.* (2007) จึงเปิดเผยและทำให้สามารถเข้าใจได้อย่างชัดเจนถึงอิทธิพลของด่างและแคลเซียมให้ออนต่อคุณสมบัติของสตาร์ชถั่วเขียวภายหลังกระบวนการนิกซ์ทามักไลเซชันตามที่ Bryant and Hamaker (1997) ได้ อธิบายไว้ในสตาร์ชข้าวโพด

6. การใช้ประโยชน์จากถั่วเขียว

6.1 การใช้ประโยชน์จากเมล็ดถั่วเขียว

ถั่วเขียวทั้งเมล็ดมีองค์ประกอบคิดเป็นร้อยละ ดังนี้ คาร์โบไฮเดรต 73.09 โปรตีน 19.92 ความชื้น 10.11 เส้นใย 3.21 ไขมัน 1.25 (สมชาย, 2526) การใช้ประโยชน์จากเมล็ดถั่วเขียว อาจอยู่ในรูปของเมล็ดพันธุ์ (seed) เพื่อเพาะปลูกและเมล็ด (grain) เพื่อเพาะถั่วงอก โดยพันธุ์ที่นิยมนำมาเพาะถั่วงอกคือถั่วเขียวผิวดำซึ่งจะให้ถั่วงอกที่ขาวอวบและไม่มีกลิ่นเหม็นเขียว นอกจากนี้ถั่วเขียวยังสามารถนำมาทำขนมต่างๆ เช่น ถั่วเขียวต้มน้ำตาล ถั่วกวน เต้าส่วน ขนมจีนน้ำพริก นอกจากการใช้ประโยชน์เหล่านี้แล้วถั่วเขียวยังสามารถใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ อีก เช่น สารสกัดจากถั่วเขียวมีคุณสมบัติในการเป็นตัวต้านออกซิเดชัน (antioxidants) Lee and Shibamoto (2000) รายงานว่า สารประกอบเอโรแมติก (aroma compounds) ซึ่งสกัดจากถั่วเหลือง 54 ชนิด และถั่วเขียว 37 ชนิด มีโครงสร้างเป็นแอลกอฮอล์ (alcohols) 26 ชนิด อัลดีไฮด์ (aldehydes) และคีโตน (ketones) 10 ชนิด สารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic compounds) 8 ชนิด แลคโตน (lactone) 3 ชนิด และสารประกอบอื่นๆ อีก 6 ชนิด โดยสารประกอบหลักที่พบในถั่วเขียวคือ hexanal (3.234 ppm) benzyl alcohol (2.060 ppm) γ -butyrolacton (1.857 ppm) 2-methyl-2-propanal (1.633 ppm) และ pentanol (1.363 ppm) ส่วนสารหลักในถั่วเหลืองคือ 1-octen-3-ol (13.699 ppm) maltol (1.662 ppm) phenylethyl alcohol (1.474 ppm) hexanol (1.430 ppm) และ γ -butyrolacton (1.370 ppm) คณะผู้วิจัยได้เลือกสารให้กลิ่นจากถั่วเขียว 2 ชนิด คือ eugenol และ benzyl alcohol และจากถั่วเหลืองคือ 1-octen-3-ol และ maltol มาทดสอบความสามารถการเป็นตัวต้านออกซิเดชันและรายงาน ดังภาพที่ 4

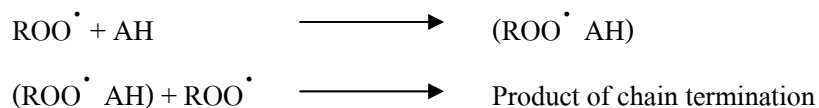


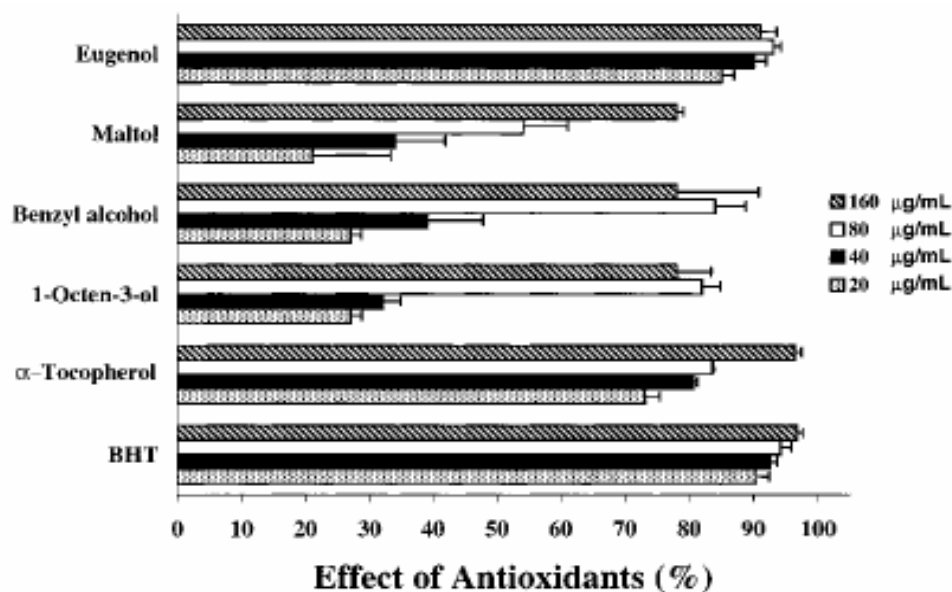
ภาพที่ 4 แสดงร้อยละเฮกซาลที่เหลือยู่ (% hexanal remaining) จากผลการใช้สารประกอบ
แอรโรแมติกจากถั่วเขียวและถั่วเหลือง

ที่มา: Lee and Shibamoto (2000)

เมื่อเปรียบเทียบสารให้กลิ่นที่สกัดจากถั่วเขียวและถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับตัวต้านออกซิเดชันทางการค้า 2 ชนิด คือ α -tocopherol และ butylated hydroxytoluene (BHT) ที่ความเข้มข้น 0 50 100 200 และ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ประเมินคุณสมบัติการเป็นตัวต้านออกซิเดชันโดยการวิเคราะห์สารเฮกซาลที่ยังเหลืออยู่จากการเปลี่ยนเฮกซาลเป็นกรดเฮกซานอิก เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันภายหลังระยะเวลา 40 วัน หากมีการเปลี่ยนเฮกซาลเป็นกรดเฮกซานอิกมากจะแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมาก พบว่าสาร eugenol สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากที่สุดคือร้อยละ 99 ที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับ α -tocopherol และ BHT ที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ร้อยละ 100 ที่ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน maltol benzyl alcohol และ 1-octen-3-ol ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเฮกซาลได้โดยคงร้อยละ hexanal ไว้ได้ร้อยละ 93 84 และ 32 ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาการทดลอง 40 วัน และยังพบว่า eugenol ซึ่งเป็นสารสกัดจากถั่วเขียวมีความสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากที่สุด นอกจากนี้ยังตรวจสอบความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันของสารที่สกัดได้ดังภาพที่ 5 โดยการวิเคราะห์ลิวปีด/มาโลนัลดีไฮด์ (malonaldehyde; MAL) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นหืนที่เกิดจากปฏิกิริยา lipid oxidation เปรียบเทียบกับตัวต้านออกซิเดชันทางการค้า 2 ชนิด คือ α -tocopherol และ BHT

เช่นเดิมที่ปริมาณ 20 40 80 และ 60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยการวัดปริมาณการเกิด MA ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้น้ำมันจากตับของปลาคอดเป็นซับสเตรตแล้วคิดเป็นร้อยละการต้านออกซิเดชัน (effect of antioxidants) หากมีปริมาณของ MA มากแสดงว่าเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากจะเกิดกลิ่นหืนมากซึ่งแสดงว่าความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันของสารนั้นน้อย Lee and Shibamoto (2000) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 160 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร BHT และ α -tocopherol มีความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันร้อยละ 97 และ 96 ตามลำดับ สารสกัดจากถั่วเขียว eugenol และ benzyl alcohol มีความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันร้อยละ 91 และร้อยละ 78 ตามลำดับ และสารสกัดจากถั่วเหลือง maltol และ 1-octen-3-ol มีความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันร้อยละ 78 จะพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน สาร eugenol ซึ่งเป็นสารสกัดจากถั่วเขียวมีความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสาร maltol และ 1-octen-3-ol ซึ่งสกัดจากถั่วเหลือง เนื่องจาก eugenol เป็นสารประกอบฟีนอลที่มีความสามารถรวมตัวกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์เกิดเป็นสารเชิงซ้อนแล้ว สารนี้อาจทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกไซด์อื่นๆ ได้อีก และเกิดเป็นสารประกอบสุดท้ายที่ไม่เปลี่ยนแปลงต่อไปดังสมการ (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, 2543; Lee and Shibamoto, 2000)





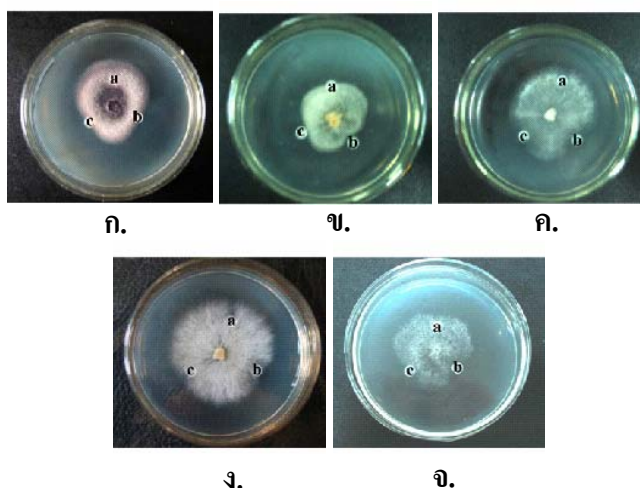
ภาพที่ 5 แสดงร้อยละความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันของสารประกอบแโรแมติก จากถั่วเขียวและถั่วเหลือง

ที่มา: Lee and Shibamoto (2000)

การสกัดสารไลโซไซม์จากถั่วเขียวเพื่อเป็นสารป้องกันแบคทีเรียและเชื้อรา (antibacterial and antifungal agents) สารไลโซไซม์ (lysozyme) มักพบทั้งในเซลล์ยูแคริโอตและโพรแคริโอต สารไลโซไซม์มีความสามารถในการทำลายแบคทีเรียมีทั้งหมด 6 ชนิด คือ c-type พบในไข่ขาวของไข่ไก่ ในกระเพาะอาหาร (stomach lysozyme) ไลโซไซม์ที่จับกับแคลเซียม (calcium-binding lysozyme) ในห่าน (goose-type lysozyme; a-type) ในพืช (plant lysozyme) และในแบคทีเรีย (bacterial lysozyme) และ c-type มักพบและมีการนำมาศึกษามากที่สุดแต่ lysozyme ยังสามารถพบได้จากแหล่งอื่นๆ อีก จากการศึกษายของ Wang *et al.* (2005) พบว่า สารไลโซไซม์ที่สกัดจากถั่วเขียวมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 14.4 กิโลดาลตัน เมื่อตรวจสอบด้วยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (SDS-PAGE) พบว่า มีจุดไอโซอิเล็กทริก (pI) มากกว่า 9.7 มีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ 5.5 และ 55 °C ตามลำดับ โดย Wang *et al.* (2005) ได้นำไลโซไซม์ที่สกัดได้จากเมล็ดถั่วเขียว (mungbean seeds) ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* และแกรมลบ คือ *Salmonella* spp. โดยทำการลดความเข้มข้นของสารละลายไลโซไซม์ลงครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นเริ่มต้นเป็นลำดับตั้งแต่ $2^0 \times 17 - 2^9 \times 17$ ไมโครโมลาร์ พบว่าไลโซไซม์มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกคือ *Staphylococcus aureus* โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของไลโซไซม์ $2^0 \times 17 - 2^5 \times 17$ ไมโครโมลาร์ เนื่องจากไลโซ-

ไช้จะเข้าไปย่อยและทำลายบริเวณผนังเซลล์ (cell wall) ของแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Salmonella* spp.

เมื่อ Wang *et al.* (2005) นำไลโซไช้จากเมล็ดถั่วเขียวมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Scerotium rolfsii* และ *Botrytis cineria* ดังภาพที่ 6 โดยการวางแผนกระดาษวงกลมที่มีเชื้อราไว้ตรงกลาง Petri dish แล้ววางแผนกระดาษที่จุ่มสารละลายสารละลายเกลือฟอสเฟตบัพเฟอร์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นชุดการทดลองควบคุม (control) ไลโซไช้ 300 และ 60 ไมโครกรัม วางไว้รอบๆ เพื่อทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า บริเวณที่วางแผนกระดาษที่จุ่มไลโซไช้ 300 และ 60 ไมโครกรัม มีการเจริญของเส้นใยเชื้อราน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม



ภาพที่ 6 แสดงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (a.) เกลือฟอสเฟตบัพเฟอร์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ (b.) ไลโซไช้จากถั่วเขียว ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัม (c.) ไลโซไช้จากถั่วเขียว ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัม

หมายเหตุ ก. *Fusarium oxysporum*

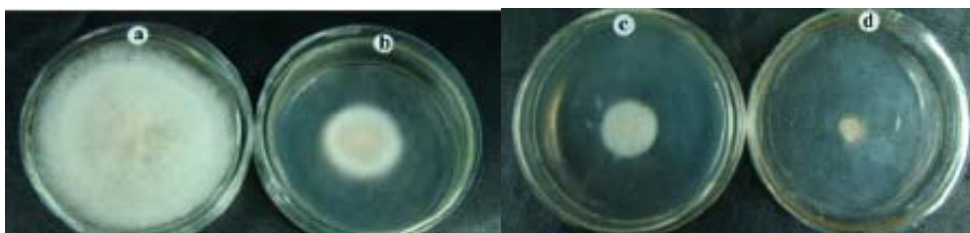
ข. *Fusarium solani*

ค. *Pythium aphanidermatum*

ง. *Scerotium rolfsii*

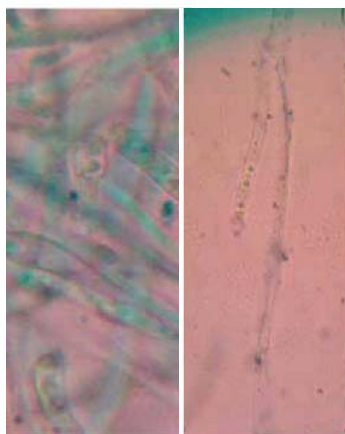
จ. *Botrytis cineria*

ที่มา: Wang *et al.* (2005)



ภาพที่ 7 แสดงผลการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium solani* โดยใช้ไลโซไซม์จากถั่วเขียว (a.) ชุดควบคุม (b.) ไลโซไซม์จากถั่วเขียว ความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ (c.) ไลโซไซม์จากถั่วเขียว ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ (d.) ไลโซไซม์จากถั่วเขียว ความเข้มข้น 70 ไมโครโมลาร์ ที่มา: Wang *et al.* (2005)

จากภาพที่ 7 เป็นภาพที่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium solani* โดยใช้ความเข้มข้นของไลโซไซม์ ความเข้มข้น 0 12.5 50 และ 70 ไมโครโมลาร์ จะสังเกตเห็นว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของไลโซไซม์การเจริญของเชื้อรา *Fusarium solani* ลดลง เมื่อตรวจสอบการเจริญของไมซีเลียม (mycelium) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดังภาพที่ 8 โดยเปรียบเทียบการเจริญของไมซีเลียมของเชื้อรา *Fusarium solani* เมื่อเติมไลโซไซม์ 300 ไมโครกรัม ภายหลังจากการบ่ม 48 ชม. Wang *et al.* (2005) รายงานว่า เมื่อเติมไลโซไซม์ที่ระดับ 300 ไมโครกรัม จำนวนไมซีเลียมมีน้อยมาก แต่กลไกของไลโซไซม์จากเมล็ดถั่วเขียวในการยับยั้งการเจริญและกิจกรรมของเชื้อราเกิดจากการที่ไลโซไซม์เข้าไปทำลายผนังเซลล์ (cell wall) และเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) จึงทำให้ลำดับหน่วยย่อย (subsequent) ไหลออกมาจากไซโทพลาซึม (cytoplasm) เป็นผลให้สูญเสียสภาพ ส่งผลให้ลดกิจกรรมและการเจริญของเชื้อรา ดังจะเห็นแล้วว่าสารไลโซไซม์ที่สกัดจากถั่วเขียวมีประสิทธิภาพในการทำลายได้ทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียจึงมีความเป็นไปได้ในการนำพัฒนาและประยุกต์ใช้เพื่อป้องกันและควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำให้พืชผักเน่าเสียได้



ก.

ข.

ภาพที่ 8 แสดงไมซีเลียม (mycelium) ของเชื้อรา *Fusarium solani* จากกล้องจุลทรรศน์ หลังจาก 48 ชม. (ก.) ไม่เติมไลโซไซม์ (ข.) เติมไลโซไซม์ ที่ระดับความเข้มข้น 300 ไมโครกรัม
ที่มา: Wang *et al.* (2005)

6.2 การใช้ประโยชน์จากเปลือกถั่วเขียว

Duh *et al.* (1999) ได้ศึกษาการสกัดเมทาโนลิก (methanolic) ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation และ non-lipid oxidation เช่น methanolic จากเปลือกของถั่วเขียวและนำมาศึกษาความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันช่วยป้องกันปฏิกิริยา lipid peroxidation (liposome oxidation) non-lipid peroxidation (deoxyribose peroxidation, protein oxidation และ 2-deoxyguanosine oxidation) Duh *et al.* (1999) รายงานว่า สาร methanolic ที่สกัดจากเปลือกถั่วเขียวมีความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และ non-lipid oxidation ได้เนื่องจากสารเมทาโนลิกมีความสามารถในการจับกับโลหะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลเปอร์ออกซิซึ่งช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และ non-lipid oxidation จึงช่วยลดปัญหาของอุตสาหกรรมอาหารอันเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเก็บรักษาอาหารซึ่งทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติไม่เป็นที่ต้องการแก่ผู้บริโภคได้

6.3 การใช้ประโยชน์จากแป้งถั่วเขียว

การใช้ประโยชน์เป็นสารทดแทนไขมัน Adair (2001) ได้ศึกษาการใช้ถั่วเขียวทดแทนถั่วลิสงและทดสอบความสามารถในการยอมรับคูกี้เนยถั่วได้โดยการเติมเพสต์ถั่วเขียวเพื่อ

เป็นสารทดแทนไขมันในเนยถั่วในปริมาณร้อยละ 25 50 75 และ 100 แล้วศึกษาความสามารถในการยอมรับ โดยทดสอบคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสในด้านความแข็ง (hardness) การแตกหัก (fracturability) กลิ่นถั่ว (peanut flavor) กลิ่นเนย (butter flavor) ความแตกต่างของกลิ่น (different flavor) และการยอมรับรวม (acceptability test) เมื่อเปรียบเทียบกับคุกกี้ชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมเพสต์ถั่วเขียว พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับคุกกี้ที่มีการเติมเพสต์ถั่วเขียวที่ร้อยละ 25 ให้คะแนนคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสใกล้เคียงกับชุดการทดลองควบคุม (control) มากที่สุด แสดงว่าเพสต์ถั่วเขียวมีบทบาทในการเป็นสารทดแทนไขมันในคุกกี้ได้ซึ่งเป็นผลดีแก่ผู้บริโภคที่ต้องการรับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำ เพื่อช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเส้นเลือดและเป็นผลดีแก่ผู้ประกอบการที่ปัจจุบันต้องมีการแข่งขันทางการค้าและหากกลยุทธ์ใหม่ๆ เพื่อเพิ่มทางเลือกและความหลากหลายให้แก่ลูกค้า

6.4 การใช้ประโยชน์จากสตาร์ชถั่วเขียว

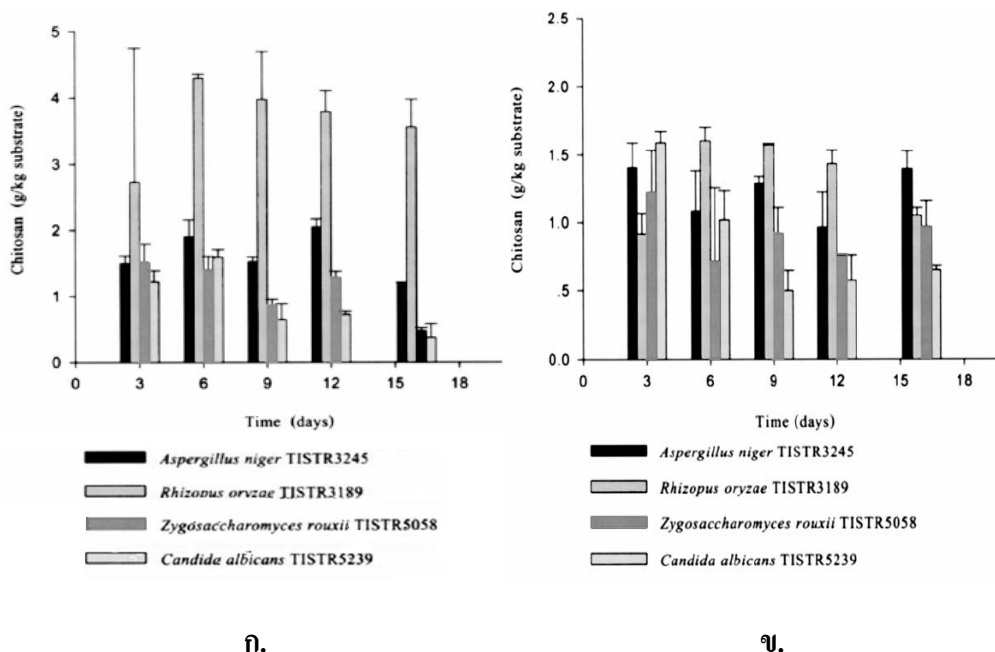
สตาร์ชจากถั่วเขียวใช้เป็นแหล่งของวัตถุดิบในการผลิตวุ้นเส้นและการผลิตเส้นซ่าหริ่มในระดับอุตสาหกรรม จะได้วุ้นเส้นชั้นดี เนื้อใส เส้นมีความสม่ำเสมอ ไม่เปื่อยยุ่ยง่าย แต่ปัจจุบันตามโรงงานผลิตวุ้นเส้นมักจะลดต้นทุนการผลิตโดยการเติมแป้งจากพืชอื่นๆ ลงไปด้วย เช่น แป้งมันสำปะหลัง ทำให้คุณภาพของวุ้นเส้นไม่ดีเท่าที่ควร (เพิ่มพูน, 2531)

การผลิตเด็กซ์ทริน (dextrin) สตาร์ชจากถั่วเขียวสามารถผลิตเด็กซ์ทรินได้ด้วยวิธีการตัดแปรทางเคมีเรียกว่าวิธีเด็กซ์ทรีไนเซชัน (dextrinization) โดยการใช้ความร้อนร่วมกับกรด ในขั้นตอนแรกจะมีการเตรียมสตาร์ช annealed ก่อนโดยใช้ความร้อนร่วมกับความชื้นเพื่อทำลายส่วนของอสัณฐาน (amorphous) และส่วนของผลึก (crystalline) บางส่วนจะเกิดการรวมตัวกันทำให้เกิดช่องว่างเพื่อให้กรดเข้าม่าย่อยง่ายขึ้น จากนั้นขั้นตอนต่อมาจะเติมกรดลงไป ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะทำให้แป้งมีอุณหภูมิในการเกิดเจลาตินในซึ้งสูงขึ้น (Nakasawa, 2003) จะได้เด็กซ์ทรินที่เรียกว่า naegeli dextrins ที่ทนต่อกระบวนการผลิตที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงและแป้งที่ได้จะมีความหนืดลดลงทำให้สามารถเติมในปริมาณสูงขึ้นได้ ซึ่งเป็นที่ต้องการในบางอุตสาหกรรม เช่น ลูกกวาด ลูกอม ซุปกึ่งสำเร็จรูป เพราะกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้ต้องใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิต นอกจากนี้ยังมีการใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกด้วย เช่น อุตสาหกรรมผลิตกาวหรือแถบกาวของสติ๊กเกอร์เนื่องจากมีคุณสมบัติในการเกาะติดพื้นผิวได้ดี

6.5 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนถั่วเขียว

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต (hydrolysate protein) โปรตีนจากถั่วเขียวซึ่งเป็นผลพลอยได้ (by-product) จากโรงงานอุตสาหกรรมวุ้นเส้นสามารถผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต เพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหารมีงานวิจัยของ Jantawat *et al.* (1998) ได้ศึกษาสถานะในการผลิตโปรตีนถั่วเขียวไฮโดรไลเซตโดยใช้สัดส่วนของโปรตีนต่อปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกเป็น 1:2 1:3 1:4 1:5 และ 1:7 (กรัม/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 4 และ 6 โมลาร์ แล้วนำโปรตีนถั่วเขียวไฮโดรไลเซตมาทดสอบคุณลักษณะ ด้านกลิ่นโดยใช้ 9-hedonic scale เปรียบเทียบกับกลิ่นทางการค้า 5 กลิ่น คือ hydrolysed vegetable protein (HVP) กลิ่นปลาหวาน กลิ่นไก่ กลิ่นเนื้อ และกลิ่นปลาหมึก โดยคะแนนคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตของโปรตีนถั่วเขียวไฮโดรไลเซตเมื่อเปรียบเทียบกับทางการค้า พบว่าสถานะที่ผู้ทดสอบให้คะแนนสูงสุดที่สถานะสัดส่วนของโปรตีนถั่วเขียวต่อกรดเป็น 1:3 ระยะเวลา 6 ชม. ที่ 120 °ซ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกเป็น 6 โมลาร์ ดังนั้นที่สถานะนี้จึงเป็นสถานะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนถั่วเขียวไฮโดรไลเซตเพื่อใช้เป็นสารให้กลิ่นรส

การนำส่วนเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารที่นิยมบริโภคกัน เช่น จากโรงงานอุตสาหกรรมวุ้นเส้นและโรงงานผลิตนํ้านมถั่วเหลืองในประเทศไทยสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ดังงานวิจัยของ Suntornsuk *et al.* (2002) รายงานว่า การผลิตโคโคแซนจากเชื้อจุลินทรีย์ 5 ชนิด คือ *Aspergillus niger* TISTR 3245, *Rhizopus oryzae* TISTR 3189, *Rhizopus oryzae* TISTR 3189, *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5058 และ *Candida albicans* TISTR 5239 พบว่า ปริมาณโคโคแซนที่ได้จากการหมักของผลพลอยได้จากโรงงานวุ้นเส้นด้วยจุลินทรีย์ดังกล่าวมีความเข้มข้น 0.5-1.6 กรัม/กก. ซับสเตรต น้อยกว่าปริมาณโคโคแซนที่ได้จากผลพลอยได้จากโรงงานนํ้านมถั่วเหลืองซึ่งได้ปริมาณโคโคแซน 0.4-4.3 กรัม/กก. ซับสเตรต แสดงถึงภาพที่ 9 และยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตโคโคแซนได้มากที่สุด คือ เชื้อ *Rhizopus oryzae* TISTR 3189 แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงคุณสมบัติของโคโคแซนที่ผลิตได้ (Suntornsuk *et al.*, 2002)



ภาพที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณการผลิตไคโตแซนจากการใช้ผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม

(ก.) โรงงานผลิตวุ้นเส้น (ข.) โรงงานผลิตน้ำมันถั่วเหลือง

ที่มา: Suntornsuk *et al.* (2002)

สมบัติทางกลแบบพลวัต

สมบัติทางกลของวัสดุเป็นสมบัติที่บ่งบอกความแข็งแรงหรือทนทานของวัสดุ วัสดุนั้นจะแข็งแรงหรือทนทานมากน้อยเพียงใดเราสามารถให้แรงกระทำในลักษณะต่างๆ ต่อวัสดุนั้น เช่น แรงดึง แรงทึง หรือแรงกระแทก แล้วประเมินผลการตอบสนองของวัสดุต่อแรงที่ได้รับ หากวัสดุที่มีความแข็งแรงน้อยมักแตกหักเสียหายหรือเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ง่ายเมื่อใช้แรงกระทำเพียงเล็กน้อยในทางกลับกันหากวัสดุที่แข็งแรงมากกว่ามักแตกหักเสียหายหรือเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ยาก (ปิยวรรณ, 2548)

พอลิเมอร์เป็นวัสดุที่มีลักษณะเฉพาะทางด้านความแข็งแรงที่มีความแตกต่างจากวัสดุประเภทโลหะหรือเซรามิกซึ่งมีความแข็งแรงมากกว่าและส่วนใหญ่มีสมบัติยืดหยุ่น (elastic) เพียงอย่างเดียว ในขณะที่พอลิเมอร์โดยส่วนใหญ่จะมีความแข็งแรงน้อยกว่าและมีสมบัติแบบวิสโคอีลาสติก (viscoelastic) สมบัติทางกลแบบพลวัต (dynamic mechanical properties) เป็นหนึ่งในการศึกษาสมบัติทางกลที่เหมาะสมกับการศึกษาวัสดุที่มีสมบัติแบบวิสโคอีลาสติก เช่น พอลิเมอร์ ผลที่ได้จากการศึกษาจะทำให้ทราบถึงความแข็งแรงของตัวอย่างที่อุณหภูมิต่างๆ และการตอบสนองต่อ

แรงและความถี่ที่มากระทำ โดยการศึกษาลักษณะสมบัติทางกลแบบพลวัตจะช่วยในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ การทำนายอายุการใช้งานหรือการบ่งบอกถึงความเหมาะสมในการนำผลิตภัณฑ์นั้นไปใช้งาน นอกจากนี้ยังทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับ โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของตัวอย่างซึ่งมี ประโยชน์มากสำหรับการพัฒนาวัสดุให้มีสมบัติตามที่ต้องการ (ปิยวรรณ, 2548)

1. การวิเคราะห์สมบัติทางกลแบบพลวัต

การวิเคราะห์สมบัติทางกลแบบพลวัตสามารถทดสอบโดยเครื่องวิเคราะห์สมบัติทางกล แบบพลวัต (dynamic mechanical analyzer; DMA) ซึ่งสามารถใช้ในการศึกษาพอลิเมอร์ ระบบของ พอลิเมอร์ พฤติกรรมของวัสดุ ความเป็นผลึก และ glass transition เครื่องมือนี้สามารถจำลองสภาวะ ที่คล้ายกับการใช้งานจริงมาทำการทดสอบพอลิเมอร์เพื่อศึกษาว่าหากมีแรงที่มีลักษณะเป็นคาบ (period) มากกระทำต่อวัสดุด้วยความถี่ (frequency) คงที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไรบ้าง ในการวิเคราะห์สมบัติทางกลแบบพลวัตนั้นค่าความแข็งแรงซึ่ง โดยทั่วไปจะให้ค่าเป็น 3 พารา- มิเตอร์ ดังนี้ (ปิยวรรณ, 2548; Ma and Harwalkar, 1990)

ก. สตอเรจ มอดุลัส (storage modulus; G') คือ ค่าการกักเก็บพลังงานของวัสดุแสดงถึง ความแข็งแรงเหนียว (stiffness) และความสามารถในการต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของวัสดุ

ข. ลอส มอดุลัส (loss modulus; G'') คือ ค่าความสามารถในการกระจายแรง (dissipated) ที่มากกระทำต่อวัสดุ

ค. แทนเจนต์ เดลตา (tangent delta; $\tan \delta$) คือ ค่าสัดส่วนของค่า G'' ต่อ G' โดยวัดพลังงาน ที่สูญเสียไปและแสดงในเทอมของพลังงานที่ใช้ในการกลับคืนตัวของวัสดุ แสดงให้เห็นถึงความ ต้านทานเชิงกลหรือการขัดสีกันระหว่างวัสดุในระบบที่เป็นวิสโคอีลาสติก (Anonymous, 2008)

ค่า $\tan \delta$ สูง บ่งชี้ว่า วัสดุนั้นมีสมบัติเป็น นอนอีลาสติกหรือไม่ยืดหยุ่น (non-elastic) (Anonymous, 2008)

ค่า $\tan \delta$ ต่ำ บ่งชี้ว่า วัสดุนั้นมีความยืดหยุ่น (elastic) (Anonymous, 2008)

โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ค่า $\tan \delta$ มีค่าสูงสุดจะเป็นอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (glass transition temperature; T_g) (Pomet *et al.*, 2003) ซึ่งของแข็งอสัณฐานจะเปลี่ยนเฟสจากสภาวะกลาส (glassy state) เป็น สภาวะคล้ายยาง (rubbery state) และมีค่าความยืดหยุ่นลดลงเนื่องจากเกิดการผ่อนคลายโมเลกุล (molecular relaxation) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในช่วง T_g

2. ลักษณะการใช้งาน

งานวิจัยที่สามารถนำมาศึกษาสมบัติทางกลแบบพลวัตด้วยเทคนิค DMA มีหลายประเภท เช่น ยางธรรมชาติ ยางสังเคราะห์ เส้นใย พลาสติก ฟิล์มประกอบ เจลของ แป้ง/สตาร์ช หรือ โปรตีน (ปิยวรรณ, 2548; Wongsasulak *et al.*, 2006) แต่การศึกษาสมบัติทางกลแบบพลวัตด้วยเทคนิค DMA เพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างควรคำนึงถึง ลักษณะ รูปร่าง ของตัวอย่าง และข้อมูลที่ ต้องการทราบจากพารามิเตอร์ที่วัดได้

เทอร์มอพลาสติกจากวัสดุชีวภาพ

เทอร์มอพลาสติก (thermoplastic) คือ พลาสติกชนิดหนึ่งที่สามารถยืดหยุ่นและสามารถหลอมได้เมื่อได้รับความร้อน เมื่อได้รับความเย็นจะมีสภาพคงเดิม เมื่อนำมาเพิ่มอุณหภูมิจะหลอมเหลวและนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ตัวอย่างของเทอร์มอพลาสติกที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ โพลีเอทิลีน โพลีโพรพิลีน โพลีสไตรีน โพลีเอไมด์ (ทานตะวันและคณะ, 2544) ซึ่งพลาสติกเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเรา เพราะผลิตภัณฑ์เกือบทุกชนิดถูกบรรจุอยู่ในพลาสติกแต่ผลกระทบจากปริมาณขยะพลาสติกที่เพิ่มขึ้น คือ ต้องใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายนาน เมื่อเผาทำลายก็ทำให้เป็นมลพิษแก่สิ่งมีชีวิต ก่อให้เกิดปัญหาโลกร้อนซึ่งเป็นปัญหาที่ทั่วโลกกำลังตื่นตัวกันเป็นอย่างมาก ดังนั้น พลาสติกชีวภาพ (bioplastic) จึงเป็นอีกทางเลือกที่อาจจะช่วยบรรเทาปัญหาที่เกิดขึ้นได้

1. พลาสติกชีวภาพและความสำคัญของพลาสติกชีวภาพในประเทศไทย

พลาสติกชีวภาพผลิตจากไบโอพอลิเมอร์ที่ผลิตจากวัสดุธรรมชาติ สามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพแล้วเปลี่ยนเป็นธาตุคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน ซึ่งวัสดุธรรมชาติเหล่านี้ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไตรกลีเซอไรด์ (รมณีย์, 2551)

สำหรับประเทศไทยนั้น ทั้งภาครัฐและภาคเอกชน ได้มีการตื่นตัวและให้ความสำคัญกับพลาสติกชีวภาพเป็นอย่างมาก ในส่วนของภาครัฐ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้เร่งผลักดันให้พลาสติกชีวภาพหรือไบโอพลาสติกให้เป็นที่สนใจแก่ผู้ประกอบการ เพราะประเทศไทยเองได้รับผลกระทบโดยตรง ซึ่งตลาดในต่างประเทศ เช่น สหภาพยุโรปหรืออียูได้กำหนดให้ผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์หรือบรรจุภัณฑ์ควรเป็นพลาสติกชีวภาพ จึงมีผลกระทบต่อประเทศไทยเพราะเราได้ส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ผลไม้ อาหารทะเล ล้วนต้องใช้พลาสติกทั้งสิ้น (ผู้จัดการออนไลน์, 2549) ส่วนภาคเอกชน ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมพลาสติกไทยก็ได้รวมตัวกันก่อตั้งสมาคมพลาสติกชีวภาพไทย ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อผลักดันอุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพให้เป็นอุตสาหกรรมคลื่นลูกใหม่ของไทย สร้างนวัตกรรมใหม่ๆ ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอย่างเป็นทางการ และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศไทยไปพร้อมกัน (ผู้จัดการออนไลน์, 2550)

2. พลาสติกชีวภาพที่ผลิตจากสตาร์ช

การนำสตาร์ชมาให้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตพลาสติกชีวภาพมีข้อดี คือ สตาร์ชได้จากแหล่งของพืชซึ่งมีราคาถูก สามารถผลิตได้ในปริมาณสูง (Lorcks, 1998) แต่เนื่องจากเทอร์โมพลาสติกสตาร์ชนี้มีข้อด้อยหรืออุปสรรคในการใช้งาน เพราะมีสมบัติทางกลต่ำ สมบัติในการชอบน้ำ (high hydrophilic) และการซึมผ่านไอน้ำ (water vapour permeability) สูง (Lorcks, 1998; Averous *et al.*, 2000) ซึ่งสมบัตินี้จะเป็นก่อให้เกิดปัญหาและอุปสรรคต่อความคงตัวของเทอร์โมพลาสติกสตาร์ชเมื่อต้องนำมาใช้งานจริงเป็นเวลานานหรืออาจเกิดริโทกราเดชัน (Gaspar *et al.*, 2005) ดังนั้น จึงมีงานวิจัยที่ได้พยายามปรับปรุงข้อด้อยเหล่านี้ โดยการพัฒนาเอาสตาร์ชผสมกับพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น พอลิเอทิลีน แต่ก็ยังมีปัญหาคือไม่สามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ จึงได้มีการปรับปรุงโดยการเติมกรดพอลิแลคติก (poly lactic acid; PLA) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับอะลิฟาติก พอลิเอสเทอร์ เป็นเทอร์โมพลาสติกที่เป็นพลาสติกชีวภาพที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นและเป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ มีสมบัติให้ความแข็งแรงและให้ค่ามอดุลัสสูง แต่มีข้อเสียคือมีราคาสูงมากและยังไม่เหมาะกับการใช้กับอาหารที่มีอายุการเก็บรักษายาวนาน (Wang *et al.*, 2008) จะสลายตัวเมื่อกับวัสดุที่มีน้ำอยู่ด้วยและมีอุณหภูมิสูง ด้วยเหตุนี้จึงทำให้คุณสมบัติเชิงกลต่ำ (Garlotta, 2001)

3. พลาสติกชีวภาพที่ผลิตจากโปรตีน

Jerez *et al.* (2007) ได้ศึกษาผลของการแปรผันอุณหภูมิ ความดัน และระยะเวลาในกระบวนการผลิตพลาสติกชีวภาพต่อคุณสมบัติทางกลเมื่อได้รับความร้อนของพลาสติกชีวภาพที่ผลิตจากไข่ขาว (egg white base bioplastic; EWB) และโปรตีนกลูเตนจากข้าวสาลี (wheat gluten base bioplastic; WGB) จากการศึกษา พบว่า EWB มีค่าสโตเรจ โมดูลัส (storage modulus, E') สูงกว่า WGB โดยค่า E' ของ EWB จะมีค่าใกล้เคียงกับค่า E' ของพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (low density polyethylene; LDPE) ในขณะที่ค่า E' ของ WGB มีค่าต่ำกว่าพลาสติก LDPE ค่อนข้างมากแต่ก็สามารถปรับปรุงให้ค่า E' ของ WGB สูงขึ้นได้โดยเพิ่มระยะเวลาในกระบวนการผสมให้นานขึ้นแต่ค่า E' ก็ยังต่ำกว่าพลาสติก LDPE

นอกจากการใช้แหล่งของโปรตีนที่ได้จากสัตว์ เช่น โปรตีนไข่ขาวที่ได้กล่าวไปแล้วยังสามารถใช้แหล่งของโปรตีนจากพืชได้ ซึ่งโปรตีนจากพืชมีข้อดี คือ สามารถผลิตในระดับกิโลตัน/ปี (Jerez *et al.*, 2007) ราคาวัตถุดิบไม่แพงและยังมีสัดส่วนสูงในวัตถุดิบ (Irissin-Mangata *et al.*, 2001) โดยโปรตีนที่มีการนำมาศึกษาการผลิตเป็นพลาสติกชีวภาพ เช่น โปรตีนถั่วเหลือง (Liu *et al.*, 2005) ผู้วิจัยได้ศึกษาการใช้โปรตีนถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบหลักในการผลิตพลาสติกชีวภาพ ร่วมกับการเติมเส้นใยจากใบสับปะรดและประเมินสมบัติของพลาสติกชีวภาพ จากการประเมินสมบัติทางกลแบบพลวัตด้วยเครื่อง DMA พบว่า ค่าสโตเรจ โมดูลัสของพลาสติกชีวภาพจากโปรตีนถั่วเหลืองจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณการเติมเส้นใยจากใบสับปะรดเพิ่มขึ้นและค่า $\tan \delta$ จะมีค่าลดลง เพราะการเพิ่มปริมาณเส้นใยจากใบสับปะรดจะทำให้ลดการเคลื่อนไหวของโมเลกุลภายในโครงสร้างประกอบ และการที่ต้องเติมเส้นใยจากใบสับปะรดลงไปพลาสติกชีวภาพของโปรตีนถั่วเหลืองนี้เนื่องมาจากพลาสติกจากโปรตีนถั่วเหลืองมีข้อจำกัดในการใช้งานเพราะมีความแข็งแรงต่ำ และมีความสามารถในการดูดความชื้นสูง นอกจากโปรตีนถั่วเหลืองแล้วยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนกลูเตน (Irissin-Mangata *et al.*, 2001) ซึ่งผู้วิจัยได้ศึกษาชนิดของพลาสติกไซเซออร์ที่เติมลงไปฟิล์มต่อคุณสมบัติของฟิล์ม ผู้วิจัยพบว่าชนิดของพลาสติกไซเซออร์มีผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์ม แต่ค่า T_g มีค่าใกล้เคียงกัน ค่า T_g ของฟิล์มโปรตีนกลูเตนซึ่งมีค่าเท่ากับ 77°C (Irissin-Mangata *et al.*, 2001) โดยใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ (ทั้งนี้ค่า T_g ยังขึ้นกับชนิดของพลาสติกไซเซออร์ที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มด้วย) ซึ่งโปรตีนกลูเตนเป็นโปรตีนชนิดที่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol soluble) ดังนั้นในขั้นตอนการเตรียมฟิล์มจึงต้องละลายโปรตีนในแอลกอฮอล์ โปรตีนกลูเตนมีพันธะไดซัลไฟด์ทั้งภายในและระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเป็นพันธะที่สำคัญในการฟอร์ม โครงสร้างของฟิล์ม

ดังที่ได้กล่าวไปแล้วว่าการผลิตพลาสติกชีวภาพจากวัสดุชีวภาพเพียงชนิดเดียวนั้น มีผลต่อคุณสมบัติการใช้งาน ทั้งคุณสมบัติเชิงกล การไวต่อความชื้น เพราะโดยธรรมชาติทั้งสตาร์ชและโปรตีนเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการชอบน้ำ (hydrophilic) ดังนั้น ระบบโครงสร้างประกอบจากการรวมโปรตีนและสตาร์ชเข้าด้วยกันอาจช่วยปรับปรุงสมบัติของพลาสติกชีวภาพและยังเพิ่มประโยชน์การใช้งานให้มีความกว้างขวางขึ้น โดยมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการเติมสตาร์ชจะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านทานแรงดึงขาดและลดค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของฟิล์ม (Rhim *et al.*, 1998) สำหรับประเทศไทย ถั่วเขียวเป็นแหล่งของโปรตีนและสตาร์ชซึ่งทั้งสององค์ประกอบนี้มีอยู่ในสัดส่วนสูงและสามารถหาได้ไม่ยาก งานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นว่าถั่วเขียวเป็นพืชที่มีศักยภาพและน่าสนใจในการนำมาศึกษาโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

1.1 ถั่วเขียวกระเทาะเปลือกผ่าซีก ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 18.98 (Nx5.71) (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดยวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ตราไรท์พิย์, บริษัท ไร่ชัยญะ จำกัด, ประเทศไทย)

1.2 สตาร์ชถั่วเขียว ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 0.14 (Nx5.71) (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดยวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ตราต้นสน, บริษัท สิทธิพันธ์ จำกัด, ประเทศไทย)

1.3 metallic laminate film (PET₁₂/V_m-CPP₂₅, โดยการอนุเคราะห์จาก บริษัท ฟุจิเอช จำกัด)

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.2.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H₂SO₄: Analytical grade, lot. K35221131 539, Merck KGaA, Germany)

2.2.2 กรดบอริก (Boric acid; H₃BO₃: Analytical grade, lot. A577065 442, Merck KGaA, Germany)

2.2.3 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; CuSO₄: Analytical grade, lot. 0236071A, Fisher Chemicals, Fisher Scientific UK Limited, UK)

2.2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Commercial grade, Thasco Chemical Co., Ltd., Thailand)

2.2.5 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate; K₂SO₄: Analytical grade, lot. AF505372, UNIVAR, Ajax Finechem, New Zealand)

2.2.6 เมทิลเรด (methyl red; C₁₅H₁₅N₃O₂: Analytical grade, lot. 810278KP, Panreac, Panreac Quimica SK, Spain)

2.2.7 โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green; $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$: Analytical grade, lot. AF404011, LABCHEM, Ajax Finechem, New Zealand)

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

2.2.1 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein; $C_{20}H_{14}O_4$: Analytical grade, lot. F3E217, LABCHEM, Ajax Finechem, New Zealand)

2.2.2 เอทิลอีเทอร์ (Ethyl ether; $(C_2H_5)_2O$: Analytical grade, lot. A44B27, J. T. Baker, USA)

2.2.3 ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether: Analytical grade, lot. B10756, Mallinckrodt Chemicals, USA)

2.2.4 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide; NH_4OH : Analytical grade, lot. B08B16, Mallinckrodt Chemicals, USA)

2.2.5 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethanol; C_2H_5OH : Analytical grade, lot. K35091883 536, Merck KGaA, Germany)

2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย

2.3.1 กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4 : Analytical grade, lot. K35221131 539, Merck KGaA, Germany)

2.3.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; $NaOH$: Analytical grade, lot. B250098 249, Merck KGaA, Germany)

2.3.3 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethanol; C_2H_5OH : Analytical grade, lot. K35091883 536, Merck KGaA, Germany)

2.4 สารเคมีสำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียว

2.4.1 กรดแลคติก (Lactic acid 88%: Food grade, lot. 0302000082, PURAC FCC 88, แบ่งบรรจุโดย Vicchi Consolidate Co., Ltd., Bangkok)

2.4.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; $NaOH$: Analytical grade, lot. B250098 249, Merck, KGaA, Germany)

2.5 สารเคมีสำหรับการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

2.5.1 น้ำมันรำข้าว (ตราคิง, บริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด, ประเทศไทย)

2.5.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Analytical grade, lot. B250098 249, Merck KGaA, Germany)

2.5.3 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl: Analytical grade, lot. K28575417 049, Merck KGaA, Germany)

2.5.4 Oil Red "O" (lot. 1098329 22104123, Fluka, USA)

2.6 สารเคมีสำหรับการแยกโปรตีนโดยกระแสไฟฟ้าแบบพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SDS-PAGE)

2.6.1 สารละลายมาตรฐาน (Protein standard, High-Range Rainbow Molecular Weight Markers (14.3-220 KDa), lot. 98, Amersham Biosciences, UK)

2.6.2 อะคริลาไมด์-เพจ (Acrylamide-PAGE; $\text{CH}_2\text{:CHCONH}_2$: Ultrapure, lot. K32714603 429, PlusOne, Amersham Biosciences AB, Sweden)

2.6.3 แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate; $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$: Ultrapure, lot. 113523 usb, USB corporation, Japan)

2.6.4 บริลเลียนบลู อาร์ 250 (Brilliant Blue R (Coomassie[™] brilliant blue R-250); $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2\text{Na}$: Ultrapure, lot. 110583 usb, USB corporation, Japan)

2.6.5 โบรโมฟีโนลบลู (Bromophenol Blue Sodium Salt; $\text{C}_{19}\text{H}_9\text{Br}_4\text{NaO}_5\text{S}$: Ultrapure, lot. 110583 usb, USB corporation, Austria)

2.6.6 บีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล (2-mercaptoethanol; HSCH_2CHOH : Ultrapure, lot. S3901589 403, PlusOne, Amersham Biosciences AB, Sweden)

2.6.7 เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (Methylenebisacrylamide; $(\text{CH}_2\text{:CHONH})_2\text{CH}_2$: Ultrapure, lot. K33351017 429, PlusOne, Amersham Biosciences AB, Sweden)

2.6.8 ไกลซีน (Glycine; $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO}_2\text{H}$: Ultrapure, lot. 115135 usb, USB corporation, Cleveland, USA)

2.6.9 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate (SDS); $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$, Ultrapure, lot. 1136325, Fluka, Sigma-Aldrich Chemie, USA)

2.6.10 ทริส (ไฮดรอกซิลเมทิล) อะมิโนมีเทน (Tris (hydroxyl methyl) aminomethane; $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$; Ultrapure, lot. 115164 usb, USB corporation, Cleveland, USA)

2.6.11 กลีเซอรอล (Glycerol; $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$; Analytical grade, lot. 5L056145L, Cario Erba Reagents, Italy)

2.7 สารเคมีสำหรับการศึกษาคูณสมบัติเชิงความร้อน

2.7.1 โซเดียม ไดไฮโดรเจน ออโทฟอสเฟต (Sodium dihydrogen orthophosphate; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Analytical grade, lot. AF502342, UNIVAR, Ajax Finechem, New Zealand)

2.7.2 ได-โซเดียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต-7-ไฮเดรต (*di*-Sodium hydrogen phosphate-7-hydrate; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; Analytical grade, lot. 22180, Riedel-de Haen, Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, USA)

2.7.3 โซเดียม เอไซด์ (Sodium azide, ReagentPlus™, lot. 095K0118, Sigma-Aldrich Chemie, USA)

2.8 สารเคมีสำหรับการศึกษาโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

2.8.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH ; Analytical grade, lot. B250098 249, Merck KGaA, Germany)

2.8.2 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide; $\text{Ca}(\text{OH})_2$; Analytical grade, lot. AF403123, LABCHEM, Ajax Finechem, New Zealand)

2.8.3 กลีเซอรอล (Glycerol; $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$; Analytical grade, lot. 5L056145L, Cario Erba Reagents, Italy)

2.8.4 Oil Red "O" (lot. 1098329 22104123, Fluka, USA)

3. เครื่องมือสำหรับการผลิต

3.1 เครื่องชั่ง 1 ตำแหน่ง

3.2 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven: Model 400, Memmert GmbH + Co.KG., Germany)

3.3 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer: GmbH 37070 Gottingen, Germany) โดยใช้หัวแบบ Two fluid nozzle ที่ความดัน 1 บาร์

- 3.4 เครื่องกวนผสม (Overhead stirrer: RW 20.n IKA, Labortechnik, Germany)
- 3.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge: Sorvall RC 28S, Dopont, USA.)
- 3.6 เครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก (Microcentrifuge: Labnet spectrafuge 16 M, Labnet International, Inc., USA)
- 3.7 เครื่องหมุนเหวี่ยงฮีมาโตคริต (Hematokrit: KHT-400, Taiwan)
- 3.8 ตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช (Mesh sieve: Restch GmbH & Co.KG, Germany)
- 3.9 ตู้แช่เย็น 4 °ซ (Refrigerator: Sunyo, Japan)
- 3.10 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath: OB14, Memmert, Germany)
- 3.11 เครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer: HS-101, GEM, Thailand)
- 3.12 เตาไฟฟ้า (Hot plate)
- 3.13 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer: T 25 basic, Kika-werk Ultra-turrax, Germany)
- 3.14 เครื่องปั่นผสม (Blender: VA-mILL, Hitachi, Japan)
- 3.15 เครื่องโม่บด (Hammer mill: SKI, Retch, Germany)
- 3.16 เครื่อง Colloid mill (Colloid mill: 2F-COLLOID MILL, APV GAULIN Inc., Wilmington., USA)
- 3.17 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่สูง (Untrasonic bath: Brasonic 32, Sunvalley. Calif)

4. เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพ

- 4.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Model SPB31, Scale Tech, Germany)
- 4.2 เครื่องตรวจสอบความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer, RVA3D, Newport Scientific Instrument & Engineering, Australia)
- 4.3 ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl apparatus, Buchi Labortechnik AG, Switzerland)
- 4.4 ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Soxtec system HT; 1043 Extraction unit, Tecator, Sweden)
- 4.5 ชุดวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (Fibertec system M1020 Hot Extractor, Tecator, Sweden)
- 4.6 ชุดวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Muffle furnace Gallenkamp, FSE-261-210D, UK)
- 4.7 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter: Model 06071 N, Jenco electronics LTD, China)

4.8 หลอดฮีมาโตคริต คาพิลลารี (Hematokrit capillary tube: 100 Haematokrit-kapillaren, 910 01 75, Hirschmann[®] Laborgerate, Germany) เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-1.6 มม. ความยาว 75 มม. ความจุ 75 ไมโครลิตร

4.9 ชุดวิเคราะห์อิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis Cell: Model Mini-Protein II, Bio-Rad Laboratories, Inc., USA)

4.10 เครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC 823[°], Mettler Toledo, Switzerland)

4.11 กล้องจุลทรรศน์ชนิดแบบลำแสงส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM: JEOL/EO JSM-6480 Version 1.1, Japan)

4.12 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave: ES-315, Tomy, Japan)

4.13 เครื่องวัดสมบัติเชิงกลแบบพลวัต (Dynamic Mechanical Analysis; DMA: DMA/SDTA 861[°], Mettler Toledo, Switzerland)

4.14 เครื่องวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทีวิตี (Tesco 650, Tesco, Germany)

4.15 เวอเนียร์ คาลิเปอร์ (Vernier Caliper: Ser. No. 60123467, Mitutoyo Corporation, Japan)

4.16 เครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็นในการวิเคราะห์ (Glass ware)

วิธีการ

1. ผลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านเพศของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียว

1.1 การเตรียมสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านเพศ

นำแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการโม่บดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช และสตาร์ชถั่วเขียวทางการค้ามาแช่ในสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างสตาร์ชหรือแป้งต่อสารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็น 1 ต่อ 4 เป็นเวลา 16-18 ชม. นำสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวไปหมუნเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนที่เป็นตะกอนสตาร์ชหรือแป้งไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. เมื่อตัวอย่างแห้งแล้ว บดลดขนาดด้วยเครื่องตีป่น และร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 °ซ ก่อนการประเมินคุณภาพ

1.2 วัดความเป็นกรด-ด่าง

วัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลายสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียว โดยเตรียมสารละลายของสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้มีความเข้มข้นของสตาร์ชหรือแป้งร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) กวนเป็นระยะเวลา 30 นาที และวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter 06071 N, Jenco electronics Ltd , USA)

1.3 การตรวจสอบคุณลักษณะความหนืดของเพศ

วัดการเปลี่ยนแปลงความหนืดเมื่อน้ำแป้งได้รับความร้อนและลดอุณหภูมิโดยใช้เครื่องตรวจสอบความหนืดแบบรวดเร็ว (rapid visco analyser, RVA) (Newport Scientific, 1995) โดยในช่วงของการให้ความร้อนจาก 50 °ซ ถึง 95 °ซ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 12 °ซ/นาที ในช่วงของการให้คงอุณหภูมิที่ 95 °ซ เป็นเวลา 2.5 นาที และในช่วงของการลดอุณหภูมิจาก 95 °ซ ถึง 50 °ซ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 12 °ซ/นาที โดยเตรียมน้ำแป้งที่มีของแข็งทั้งหมด

3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์อุณหภูมิในการเกิดเพสท์ (pasting temperature) อุณหภูมิที่ทำให้เพสท์มีความหนืดสูงสุด (peak temperature) เวลาที่ทำให้เพสท์มีความหนืดสูงสุด (peak time) ความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (through) ความหนืดลดลง (breakdown) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) และค่าเซ็ทแบค (setback from trough)

2. ผลของความร้อนต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนถั่วเขียว

2.1 การสกัดโปรตีนถั่วเขียว

2.1.1 โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน นำแป้งถั่วเขียวผสมกับน้ำกลั่นอัตราส่วน 1 ต่อ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนด้วย overhead stirrer เป็นเวลา 20 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกตะกอนของแป้งถั่วเขียว นำส่วนใสหลังการหมุนเหวี่ยงมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ 30 นาที ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ทำให้เย็น (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นผ่านการให้ความร้อน: HMPC-heated mungbean protein concentration) และอีกส่วนไม่ได้รับความร้อน (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นไม่ผ่านการให้ความร้อน: NMPC-native mungbean protein concentration) นำสารละลายทั้ง 2 ส่วนมาปรับพีเอชเป็น 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 โมลาร์ เพื่อตกตะกอนโปรตีนที่ไอโซอิเล็กทริกพีเอช จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนของโปรตีนที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตะกอนของโปรตีนถั่วเขียวมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นเวลา 14-16 ชม. ด้วยตู้อบลมร้อน นำโปรตีนที่แห้งแล้วมาบดด้วยเครื่อง hammer mill แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช และเก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมที่อุณหภูมิ -10 °ซ ก่อนการประเมินคุณภาพ ตรวจสอบปริมาณความชื้นและโปรตีนตามวิธี AOAC (1990)

2.1.2 โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย เตรียมโปรตีนถั่วเขียวตามวิธีที่ได้กล่าวถึงข้างต้น โดยนำตะกอนโปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านความร้อน 80 °ซ เป็นเวลา 30 นาที (HMPC) มาศึกษา นำตะกอนของโปรตีนที่ได้มาผสมกับน้ำกลั่น โดยมีอัตราส่วนเป็น 1 ต่อ 2 ส่วน (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) คนให้เข้ากันจนตะกอนของโปรตีนถั่วเขียวกระจายตัว จากนั้นนำสารละลายโปรตีนผ่านเข้าเครื่อง colloid mill เป็นระยะเวลา 3 นาที หลังจากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (GmbH 37070 Gottingen, Germany) โดยอุณหภูมิลมร้อนเข้า 180 °ซ และอุณหภูมิลมร้อนออก 80 °ซ โดยมีอัตราการป้อนสารละลายในการพ่นฝอยที่ความเร็วรอบช่วงต้น 13-

14 รอบ/นาทิจ เพื่อป้องกันการอุดตันของหัวฉีดพ่นและหลังจากนั้นเพิ่มอัตราการป้อนสารละลายเป็น 16-17 รอบ/นาทิจ จะได้เป็นผงโปรตีน นำมาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 °ซ ก่อนการประเมินคุณภาพ

2.2 การประเมินคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเขียว

2.2.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำ เตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเขียว 1 มล. จากโปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 °ซ ในตู้อบลมร้อน ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยน้ำกลั่น (พีเอช 5-6) ในหลอดแอฟเพนคอร์ท เขย่าให้เข้ากันนาน 1 นาที ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นทันทีและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 °ซ) เป็นเวลา 2 ชม. แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แยกส่วนใสออกเพื่อนำตะกอนไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณหาความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity, WHC) ต่อน้ำหนักโปรตีนแห้ง (Hongsprabhas *et al.*, 2007) จากสมการด้านล่าง

$$\text{ความสามารถในการอุ้มน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักตะกอน (กรัม)} - \text{น้ำหนักแห้งตัวอย่าง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งโปรตีน (กรัม)}}$$

2.2.2 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของโปรตีนถั่วเขียวต่อสมบัติการเกิดเจลที่คงรูป เตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเขียว 1 มล. ในหลอดขึ้นรูป ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 1-25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้ น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย เขย่าให้เข้ากันนาน 1 นาที ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ เวลา 30 นาที ทำให้เย็นทันทีและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 °ซ) เป็นเวลา 2 ชม. เคาะตัวอย่างจากหลอดขึ้นรูปและรายงานเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เกิดเจลที่คงรูป (self-supporting gel)

2.2.3 ผลของอุณหภูมิต่อสมบัติการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเขียว เตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเขียว ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย เขย่าให้เข้ากันนาน 1 นาที ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 60 70 และ 80 °ซ เวลา 30 นาที ทำให้เย็นทันทีและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(27 °ซ) เป็นเวลา 2 ชม. เคาะตัวอย่างจากหลอดขึ้นรูปและรายงานอุณหภูมิต่ำสุดที่ทำให้เกิดเจลที่คงรูป

2.2.4 สมบัติการเกิดอิมัลชัน เตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเขียวที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้ น้ำกลั่น หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย ปั่นผสมที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 30 วินาที เติมน้ำมันรำข้าวที่ผสม Oil Red “O” ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ของน้ำหนักโปรตีน แล้วปั่นผสมอีกครั้งที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ด้วยโฮโมจีไนเซอร์ (T 25 basic, Kika-werk Ultra-turrax, Germany) บรรจุอิมัลชันในหลอดคาพิลลารีแล้วลนด้วยไฟปิดหัวและท้ายหลอดคาพิลลารี นำหลอดตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที 20 นาที ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงฮีมาโตคริท (KHT-400, Taiwan) ส่วนบนสุดของหลอดคาพิลลารีจะแยกเป็นชั้นของน้ำมันอิสระ ตามด้วยอิมัลชัน ส่วนใส และตะกอน ตามลำดับ จากนั้นวัดส่วนสูงของชั้นอิมัลชันและวัดส่วนสูงของชั้นน้ำมัน คำนวณสัดส่วนของความสูงของชั้นอิมัลชัน (% ความสูงของชั้นอิมัลชัน) เป็นความสามารถในการอู่มน้ำมัน และวัดส่วนสูงของชั้นน้ำมันอิสระ คำนวณสัดส่วนของความสูงของน้ำมันอิสระ (% ความสูงของส่วนน้ำมันอิสระ) เปรียบเทียบกับความสูงของชั้นน้ำมันอิสระในหลอดคาพิลลารีที่นำไปให้ความร้อนที่ 80 °ซ 30 นาที เพื่อดูความคงตัวต่อความร้อนของอิมัลชัน (McDermott *et al.*, 1981) จากสมการด้านล่าง

$$\% \text{ ความสูงของชั้นอิมัลชัน} = \frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชัน (มม.)}}{\text{ความสูงทั้งหมด (มม.)}} \times 100$$

$$\% \text{ ความสูงของน้ำมันอิสระ} = \frac{\text{ความสูงของชั้นน้ำมัน (มม.)}}{\text{ความสูงทั้งหมด (มม.)}} \times 100$$

2.3 การประเมินสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนถั่วเขียว

2.3.1 มวลโมเลกุลของโปรตีนถั่วเขียว ทำการแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) เตรียมโปรตีนถั่วเขียวความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบระเหิด (NMPC) โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อน (NMPC) และโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อน (HMPC) แล้วทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน และโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบพ่นฝอย (HMPC) นำโปรตีนถั่วเขียวมา

ละลายใน sample buffer Tris-HCl (pH 6.8) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ แยกโปรตีนตามความแตกต่างของมวลโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้าในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; SDS-PAGE) ตามวิธีของ Laemmli (1970) โดยใช้ความเข้มข้นของ stacking gel ร้อยละ 4 และ separating gel ร้อยละ 13.5 ซึ่งมีการเติมและไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล (β -mercaptoethanol) ใช้ศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ และระยะเวลาในการเคลื่อนที่ของโปรตีนประมาณ 46 นาที แยกโดยเปรียบเทียบมวลโมเลกุลกับสารละลายโปรตีนมาตรฐานชนิดมวลโมเลกุลสูง (14.3-220 กิโลดาลตัน)

2.3.2 คุณสมบัติเชิงความร้อน วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงเอนทัลปีจากการเสียสภาพตามธรรมชาติ (denature) ของโปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อน (NMPC) และได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน (HMPC) ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 เตรียมโดยชั่งน้ำหนักโปรตีนจนได้น้ำหนักที่ต้องการ เติมสารละลายโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยให้ความเข้มข้นของโซเดียมเอไซด์สุดท้ายเป็นร้อยละ 0.02 เพื่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 จนได้ปริมาตรตามที่ต้องการ เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 16 ชม. ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Differential scanning calorimeter: DSC โดยใส่สารละลายโปรตีนปริมาตร 20 ไมโครลิตร ในภาชนะสแตนเลสที่มีปะเก็นสำหรับเครื่อง DSC ปิดฝาภาชนะให้สนิท ให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 25 ถึง 150 °C มีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 5 °C/นาที ตรวจสอบค่าอุณหภูมิที่จุดเริ่มต้น (onset temperature, T_o) อุณหภูมิที่จุดสูงสุด (peak temperature, T_p) อุณหภูมิที่จุดสิ้นสุด (conclusion temperature, T_c) ของการเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation temperature) ของโปรตีน (°C) และความร้อนทั้งหมดของเสียสภาพธรรมชาติ (หน่วยเป็นจูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

3. ผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวต่อคุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อน (thermo-mechanical) ของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

3.1 โครงสร้างระดับจุลภาคของโปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

นำโปรตีนถั่วเขียวผงที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที (HMPC) โดยทำแห้งแบบพ่นฝอยและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช นำเทปคาร์บอน (carbon

tape) ทาบผงโปรตีน ให้ผงโปรตีนถั่วเขียวติดที่เทปคาร์บอน จากนั้นเคาะ 2-3 ครั้ง เพื่อไม่ให้ผงโปรตีนหนาจนเกินไป นำแผ่นเทปที่มีผงโปรตีนติดอยู่ไปเคลือบด้วยทอง แล้วนำไปตรวจสอบโครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบลำแสงส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ควบคุมสภาวะการทดลองที่ค่าอัตราเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ และใช้กำลังขยายที่ 5,000 เท่า

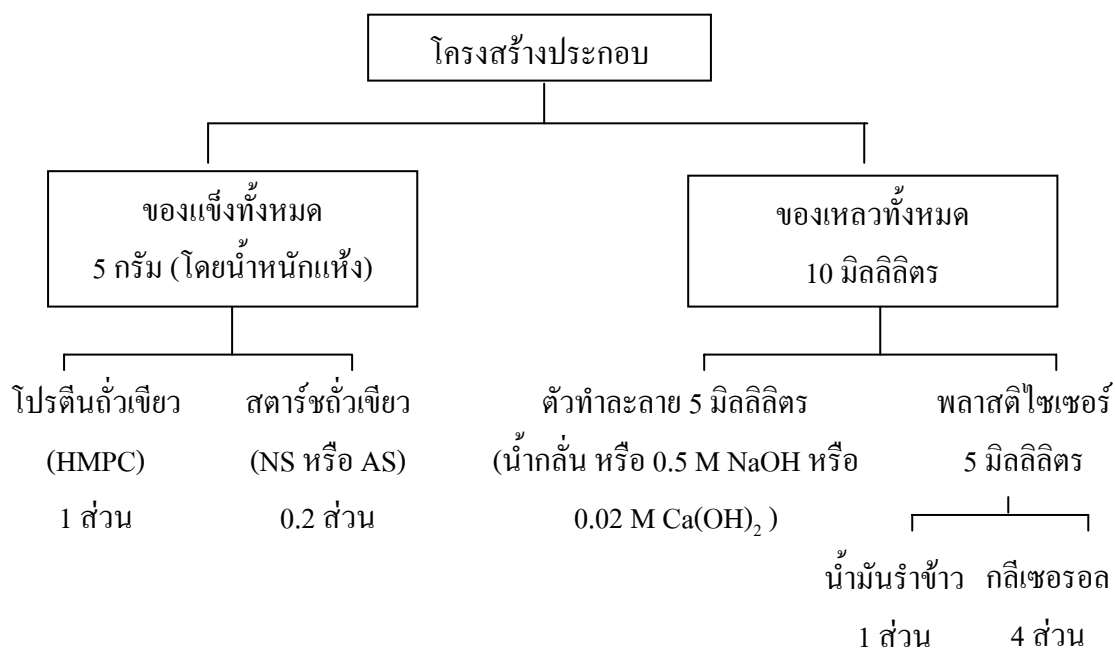
3.2 การเตรียมเมล็ดสตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยด่าง (alkali treated starch)

นำสตาร์ชถั่วเขียวทางการค้ามาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างสตาร์ชต่อสารละลายเป็น 1 ต่อ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แช่เป็นเวลา 16-18 ชม. นำสตาร์ชไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที อบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำสตาร์ชถั่วเขียวที่แห้งแล้วมาเติมน้ำกลั่นเป็น 4 เท่า ของน้ำหนักแห้งของสตาร์ชถั่วเขียว คนให้สตาร์ชกระจายตัวแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 °ซ) เพื่อให้สตาร์ชตกลงมาที่ก้นบีกเกอร์ เทน้ำส่วนใสที่อยู่ข้างบนไปวัดพีเอช ทำเช่นนี้จนกระทั่งน้ำส่วนใสมีพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำสตาร์ชที่นอนก้นอยู่ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °ซ ได้เป็นสตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายด่างและล้างจนมีพีเอชเป็นกลาง (alkali treated starch: AS) ก่อนนำไปศึกษาต่อไป

3.3 การเตรียมโครงสร้างประกอบของโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

นำโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนที่ 80 °ซ 30 นาที (HMPC) ก่อนการตกตะกอน และทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งเลือกจากคุณสมบัติเชิงหน้าที่เป็นตัวบ่งชี้ มาผสมกับสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ (native starch: NS) หรือแอลคาไลสตาร์ช (AS) เตรียมโครงสร้างประกอบโดยผสมโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวให้เข้ากัน จากนั้นเติมตัวทำละลาย น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ แล้วเติมพลาสติกไซเซออร์ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำมันรำข้าวที่ผสม Oil Red “O” และกลีเซอรอล จากนั้นผสมให้เข้ากัน แล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนขนาดกว้าง 20 มม. ซึ่ง อยู่ในหลอดทดลอง pyrex no.9820 ปิดฝาหลอดทดลองแล้วนำไปให้ความร้อนที่ 90 °ซ นาน 5 นาที ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำไปให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ

121 °ซ นาน 15 นาที แล้วนำออกมาแช่ในอ่างน้ำแข็งทันที นาน 30 นาที ก่อนนำไปทดสอบต่อไป โดยสัดส่วนของส่วนประกอบแสดงดังแผนผังนี้



โดยแบ่งชุดการทดลองเป็นดังนี้

ชุดการทดลอง 1 คือ HMPC + NS + น้ำกลั่น + พลาสติกไซเซอร์

ชุดการทดลอง 2 คือ HMPC + NS + สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ + พลาสติกไซเซอร์

ชุดการทดลอง 3 คือ HMPC + AS + น้ำกลั่น + พลาสติกไซเซอร์

ชุดการทดลอง 4 คือ HMPC + AS + สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ + พลาสติกไซเซอร์

ชุดการทดลอง 5 คือ HMPC + NS + สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ + พลาสติกไซเซอร์

ชุดการทดลอง 6 คือ HMPC + AS + สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ + พลาสติกไซเซอร์

3.3 การประเมินคุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อนของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

เตรียมตัวอย่างของ โครงสร้างประกอบ โดยตัดตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มม. ความหนา 1 มม. ใส่ตัวอย่างในภาชนะซึ่งบรรจุซิลิกาเจลอยู่ข้างในแล้วปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 °ซ) ที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณร้อยละ 26-30 เป็นเวลา 2 วัน โดยตัวอย่างของโครงสร้างประกอบมีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีอยู่ในช่วง 0.26-0.30 จากนั้นนำไปวัดคุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อน (thermo-mechanical properties) ด้วยเครื่อง Dynamic Mechanical Analysis: DMA (DMA/SDTA 861°, Mettler Toledo, Switzerland) ที่ช่วงอุณหภูมิ 25 ถึง 150 °ซ โดยมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 3 °ซ ต่อนาที ที่ความถี่ 1 เฮิรซ์ (Hz) ตรวจวัดค่าสตอเรจ มอดุลัส (storage modulus; G') ค่าลอส มอดุลัส (loss modulus; G'') และค่าแทนเจนเดลตา ($\tan \delta$)

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำด้วยการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี t-test วิเคราะห์สมบัติของอิมัลชัน อุณหภูมิกลาสทรานซิชันประเมินจากอุณหภูมิที่ $\tan \delta$ peak และค่าสตอเรจ มอดุลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 12.0

5. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการและอาคารแปรรูป ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ระยะเวลาการทดลอง

ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2547 ถึงเดือนกันยายน 2550

ผลและวิจารณ์

1. ผลของพืชต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านเพศของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียว

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวภายหลังการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ตารางที่ 1) พบว่า สตาร์ชและแป้งถั่วเขียว ภายหลังการแช่สารละลายกรดและด่างแล้ว ไม่มีความแตกต่างกันในปริมาณความชื้น ($p \geq 0.05$) แป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายด่างมีปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำกว่าแป้งที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ($p < 0.05$) โดยปริมาณโปรตีนที่ลดต่ำลงนั้นเนื่องจากว่าที่สภาวะเป็นด่างโปรตีนสามารถละลายออกมาจากแกรนูลของเมล็ดสตาร์ชได้ ซึ่งคาดว่าอาจเป็นโปรตีนชนิดกลูเตลิน (glutelin) เป็นส่วนใหญ่ (Trejo-Gonzalez *et al.*, 1982) และมีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นซึ่งอาจมาจากไอออนของ Na^+ จากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณเส้นใยของแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายด่างมีปริมาณสูงกว่าแป้งที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ($p < 0.05$) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสตาร์ชมีปริมาณสูงกว่าแป้งเนื่องจากสตาร์ชจะมีองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ น้อยกว่าแป้ง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โดยน้ำหนักเปียก)

องค์ประกอบทางเคมี	ชุดการทดลอง			
	กรดแลคติก		โซเดียมไฮดรอกไซด์	
	ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์		ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์	
	สตาร์ช	แป้ง	สตาร์ช	แป้ง
ความชื้น	6.04 ^a	6.37 ^a	5.99 ^a	6.41 ^a
โปรตีน	0.11 ^c	16.90 ^a	0.11 ^c	3.69 ^b
ไขมัน	0.03 ^b	0.62 ^a	0.02 ^b	0.13 ^b
เส้นใย	0.11 ^c	0.24 ^b	0.08 ^c	0.42 ^a
เถ้า	0.16 ^d	1.20 ^c	2.14 ^b	2.37 ^a
คาร์โบไฮเดรต	93.54 ^a	74.67 ^d	91.65 ^b	87.04 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษตามแนวนอนที่แตกต่างกัน หมายความว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการตรวจสอบคุณลักษณะด้านเพสท์ของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว ซึ่งแสดงดังตารางที่ 2 พบว่า การแช่สตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวในสารละลายกรดหรือด่าง ไม่มีผลต่ออุณหภูมิในการเกิดเพสท์ (pasting temperature) ($p \geq 0.05$) แต่ทำให้แป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายด่างมีอุณหภูมิที่ทำให้เพสท์มีความหนืดสูงสุด (peak temperature) มีอุณหภูมิสูงที่สุด และระยะเวลาที่ทำให้เพสท์มีความหนืดสูงสุด (peak time) มีค่าสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ($p < 0.05$) สตาร์ชที่ผ่านการแช่สารละลายกรดมีค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดลดลง (breakdown) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) และเซตแบค (setback) มีค่าต่ำกว่าสตาร์ชหรือแป้งที่ผ่านการแช่สารละลายด่าง ($p < 0.05$) เนื่องจากระหว่างการแช่สตาร์ชหรือแป้งในสารละลายกรด กรดจะย่อยหรือตัดโมเลกุลของสตาร์ชให้มีขนาดโมเลกุลสั้นลงโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Shildneck and Smith, 1967; Rohwer and Klem, 1984; Betancur and Chel, 1997) โดยที่โปรตอน (H^+) จากกรดและจะเข้าทำลายพันธะ-

แอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิกระหว่าง C₁ และ O ของสายแอมิโลสให้แตกออก ทำให้ส่วนของพันธะ-แอลฟา-1,6 ไกลโคซิดิกยังคงเหลือมากกว่า (Zherebtsov *et al.*, 1995) ดังนั้นเมื่อกรดย่อยโมเลกุลของสตาร์ชให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงจึงส่งผลให้การบวมพอง ความคงทนของแกรนูลต่อแรงเฉือน และการเกิดโครงสร้างใหม่เป็นโครงสร้าง 3 มิติ มีค่าต่ำลงไปด้วย แม้ว่าแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกจะมีค่าความหนืดต่ำเหมือนกับสตาร์ชที่ผ่านการแช่สารละลายกรดก็ตาม แต่แป้งถั่วเขียวมีค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง และความหนืดสุดท้ายสูงกว่า สตาร์ชถั่วเขียว ($p < 0.05$) การที่มีค่าความหนืดสูงกว่าสตาร์ชที่ผ่านการแช่สารละลายกรดอาจเป็นผลมาจากการที่แป้งถั่วเขียวมีโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มีมากรองลงมา มีบทบาททำให้ความหนืดของระบบมีค่าสูงกว่าความหนืดของสตาร์ชที่แช่กรด เนื่องจากค่าพีเอชของแป้งที่ผ่านการแช่กรดมีค่าใกล้เคียงกับ pI ของโปรตีนถั่วเขียวซึ่งเป็นจุดที่โปรตีนเกิดการเกาะกลุ่ม (aggregate) กันจึงส่งผลให้ความหนืดของระบบโดยรวมมีค่าสูงกว่า

สตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายต่างมีค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดสุดท้าย และเซตแบคสูงกว่าสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชหรือแป้งมีความสามารถในการบวมพองและการเกิดโครงสร้าง 3 มิติ ได้สูงกว่า เนื่องจากเมื่อสตาร์ชแกรนูลอยู่ในระบบที่มีสภาวะความเป็นกรด-ด่างสูง ($\text{pH} \sim 12$) หมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) ของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินจะเกิดการไอออนไนซ์ได้ โมเลกุลของน้ำจะเคลื่อนที่มาจับกับออกซิเจน ไอออน (O^-) ซึ่งอยู่บนสายแอมิโลส (amylose) หรือแอมิโลเพกติน (amylopectin) ส่งผลให้แกรนูลของสตาร์ชเกิดการบวมพอง (granule swelling) จึงทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น (Bryant and Hamaker, 1997; Han and Lim, 2004; Israkarn *et al.*, 2007) และในระบบที่ศึกษานี้มีพีเอชของสารละลายสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่แช่สารละลายต่างอยู่ในช่วง 11.83-13.09 ซึ่งคาดว่าหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินอาจจะเกิดการไอออนไนซ์ได้เช่นกัน การบวมพองและค่าความหนืดจึงสูงกว่าชุดการทดลองที่แช่สารละลายกรด

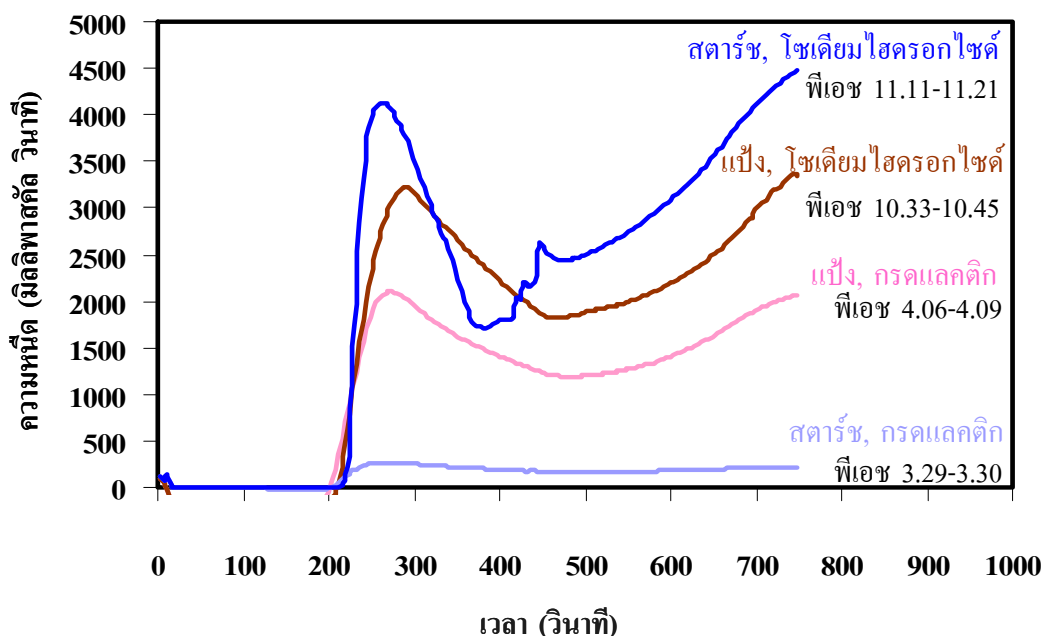
ตารางที่ 2 โพรไฟล์ด้านความหนืดของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง			
	กรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์		โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์	
	สตาร์ช	แป้ง	สตาร์ช	แป้ง
อุณหภูมิในการเกิดเพสท์ (องศาเซลเซียส)	64.6 ^a	64.4 ^a	63.9 ^a	63.9 ^a
อุณหภูมิที่ทำให้เพสท์มีความหนืดสูงสุด (องศาเซลเซียส)	91.5 ^b	91.8 ^b	90.1 ^b	95 ^a
เวลาที่ทำให้เพสท์มีความหนืดสูงสุด (นาท)	4.5 ^b	4.5 ^b	4.4 ^b	4.8 ^a
ความหนืดสูงสุด (มิลลิพาสคัล วินาที)	264.5 ^d	2100.2 ^c	4128 ^a	3221 ^b
ความหนืดต่ำสุด (มิลลิพาสคัล วินาที)	158.8 ^c	1188 ^b	1881.8 ^a	1813.2 ^a
ความหนืดลดลง (มิลลิพาสคัล วินาที)	105.8 ^c	912.2 ^b	2246.2 ^a	1407.8 ^b
ความหนืดสุดท้าย (มิลลิพาสคัล วินาที)	224.5 ^c	2069.5 ^b	4474.2 ^a	3331.5 ^{ab}
เช็ดแบค (มิลลิพาสคัล วินาที)	65.8 ^c	881.5 ^{bc}	2592.5 ^a	1518.2 ^{ab}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษตามแนวนอนที่แตกต่างกัน หมายความว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ภาพที่ 10 แสดงโพรไฟล์ของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดหรือสารละลายด่าง จากโพรไฟล์จะเห็นว่าสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกนั้น มีลักษณะโพรไฟล์ของความหนืดแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยสตาร์ชมีความหนืดต่ำกว่าแป้งเป็นอย่างมาก ในขณะที่สตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ด่าง) มีลักษณะโพรไฟล์ของความหนืดในช่วงลดอุณหภูมิใกล้เคียงกันมากกว่า โดยสตาร์ชที่ผ่านการแช่

สารละลายต่างจะมี signal to noise ratio ต่ำกว่าแป้งถั่วเขียว จากข้อสังเกตแม้ว่าสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวจะมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน เมื่อคำนวณปริมาณของสตาร์ช (คิดจากปริมาณคาร์โบไฮเดรต) และปริมาณโปรตีนมีอยู่ร้อยละ 11.11 และ 0.01 ตามลำดับ ในของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12 ในขณะที่แป้งถั่วเขียวมีปริมาณสตาร์ชและโปรตีนอยู่ร้อยละ 10.42 และ 0.44 ตามลำดับ จากของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12 ซึ่งจะเห็นว่าแม้ว่าแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายต่างจะมีสัดส่วนของปริมาณสตาร์ชลดลงแต่ความหนืดช่วงของการลดอุณหภูมิ (ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการเกิดโครงสร้าง 3 มิติ) มีค่าใกล้เคียงกับสตาร์ชถั่วเขียว อาจเป็นไปได้ว่าในสภาวะต่าง โปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวสามารถเกิดโครงสร้างสามมิติภายหลังการให้ความร้อน



ภาพที่ 10 ลักษณะโปรไฟล์ด้านความหนืดของสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งวัดด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว

การแช่สตาร์ชและแป้งถั่วเขียวในสารละลายกรดแลคติกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นขั้นตอนซึ่งสามารถคัดแปรหรือเปลี่ยนแปลงกลุ่มประจุ (charge group) บนโมเลกุลของโปรตีนและโมเลกุลของสตาร์ชเพื่อคัดเลือกสภาวะที่มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการนำไปเตรียมโครงสร้างประกอบ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้เลือกชุดการทดลองที่สตาร์ชถั่วเขียวผ่านการแช่สารละลายต่างเพื่อ

นำไปศึกษาในขั้นตอนของการเตรียม โครงสร้างประกอบต่อไป เนื่องจากให้ความหนืดช่วงการลด อุณหภูมิสูงสุด

2. ผลของความร้อนต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนถั่วเขียว

โปรตีนถั่วเขียวที่เตรียมโดยไม่ผ่านการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอน (NMPC: native mungbean protein concentration) และเตรียมโดยให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 80 °ซ 30 นาที (HMPC: heated mungbean protein concentration) และอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นเวลา 16-18 ชม. มีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับร้อยละ 79.86 และ 73.65 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งได้นำไปศึกษาผลของการให้ความร้อนแก่สารละลายโปรตีนก่อนการตกตะกอน ต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเขียวต่อไป ในขณะที่โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความร้อน ก่อนการตกตะกอนและทำแห้งโปรตีนด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ ร้อยละ 73.19 (โดยน้ำหนักแห้ง)

2.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนถั่วเขียว

โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อน (NMPC) และได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน (HMPC) มีความสามารถในการอุ้มน้ำ 2-3 เท่า ของน้ำหนักโปรตีน (ตารางที่ 3) การให้ความร้อนแก่ สารละลายโปรตีนถั่วเขียวไม่มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ ($p \geq 0.05$) อาจเป็นผลเนื่อง มาจาก ในขั้นตอนการตกตะกอน โปรตีน จะตกตะกอนโดยอาศัยหลักการปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.5 ซึ่งเป็น จุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric: pI) ของโปรตีนถั่วเขียวเช่นเดียวกัน ประจุสุทธิของโปรตีนจะเท่ากับศูนย์จึงไม่มีแรงผลักระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเป็นผลให้เกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของ โปรตีนมีมากกว่า โปรตีนจึงจับตัวกันเป็นก้อน (Damodaran, 1996b) ซึ่งที่พีเอชเป็นพีเอชที่โปรตีน มีความเสถียรและละลายได้น้อยที่สุด จึงทำให้โปรตีนถั่วเขียวทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างในด้าน ความสามารถในการอุ้มน้ำ

ตารางที่ 3 ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนถั่วเขียว

ร้อยละโปรตีน (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	NMPC (กรัมของน้ำต่อกรัมน้ำหนัก แห้งของโปรตีน)	HMPC (กรัมของน้ำต่อกรัมน้ำหนัก แห้งของโปรตีน)
5	2.74 ^a	3.08 ^a
10	2.63 ^a	2.96 ^a
15	2.46 ^a	2.78 ^a
20	2.43 ^a	2.82 ^a
25	2.43 ^a	2.81 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p \geq 0.05$)

2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของโปรตีนถั่วเขียวต่อสมบัติการเกิดเจลคงรูป

โปรตีนถั่วเขียวไม่สามารถเกิดเจลที่คงรูปได้เมื่อนำมาละลายในน้ำกลั่น แสดงดังตารางที่ 4 เนื่องจากโปรตีนเกิดการเกาะกลุ่มและตกตะกอน อาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโปรตีน-โปรตีนมีมากกว่าปฏิกิริยาระหว่างโปรตีน-ตัวทำละลายและตัวทำละลาย-ตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามโปรตีนถั่วเขียวสามารถเกิดเจลได้ที่พีเอชเป็นด่างสูง เนื่องจากเมื่อปรับพีเอชให้สูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก โปรตีนบางส่วนจะมีประจุสุทธิเป็นลบ โมเลกุลของโปรตีนเกิดการผลักกัน สมดุลระหว่างแรงผลักและแรงดึงดูดในตัวทำละลายดังกล่าว เอื้อต่อการเกิดเจลที่คงรูปได้ (Boye *et al.*, 1997) อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ เป็นตัวทำละลายอาจทำให้เกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลมากจนไม่สามารถเกิดเจลได้ ทั้งนี้ โปรตีนถั่วเขียวสามารถเกิดเจลที่คงรูปได้เมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย โดย HMPC ต้องการความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจลที่ร้อยละ 20-22 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าโปรตีนถั่วเขียว NMPC ซึ่งต้องการความเข้มข้นต่ำสุดในการเกิดเจลร้อยละ 18-20 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ตารางที่ 4 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของโปรตีนถั่วเขียวต่อสมบัติการเกิดเจลในตัวทำละลายต่างๆ

ชุดการทดลอง	ชนิดสารละลาย		
	น้ำกลั่น	โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (ร้อยละโปรตีน)	โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ (ร้อยละโปรตีน)
NMPC	-	18-20	-
HMPC	-	20-22	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่เกิดเจล

2.3 ผลของอุณหภูมิต่อการเกิดเจลที่คงรูปของโปรตีนถั่วเขียว

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเขียว HMPC สามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ในขณะที่ NMPC เกิดเจลที่อุณหภูมิ 80 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 5 HMPC สามารถเกิดเจลที่คงรูปได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า NMPC คาดว่าการให้ความร้อนเบื้องต้นทำให้เกิดการเสียสภาพและการคลายเกลียวบางส่วนของโปรตีน (partial denaturation) โปรตีนจึงมีความไวต่อการปรับสภาวะ เช่น การปรับเปลี่ยนอุณหภูมิและการปรับเปลี่ยน pH มากขึ้น (Boye *et al.*, 1997) โปรตีนถั่วเขียวจึงสามารถเกิดโครงสร้างสามมิติได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเสียสภาพปกติ ซึ่งการที่โปรตีนถั่วเขียวสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเสียสภาพปกตินี้ทำให้ช่วยลดพลังงานในการขึ้นรูปเจลและยังเหมาะสมแก่การนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Barbut and Foegeding, 1993)

ตารางที่ 5 อุณหภูมิต่ำสุดต่อสมบัติการเกิดเจลของโพรตีนถั่วเขียวที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ			
	50 °ซ	60 °ซ	70 °ซ	80 °ซ
NMPC	-	++	+++	++++
HMPC	-	++++	++++	++++

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่เกิดเจล

+ หมายถึง เกิดการจับตัวรวมกันเป็นก้อน มีการแยกชั้น

++ หมายถึง เกิดการจับตัวรวมกันเป็นก้อน ไม่มีการแยกชั้น

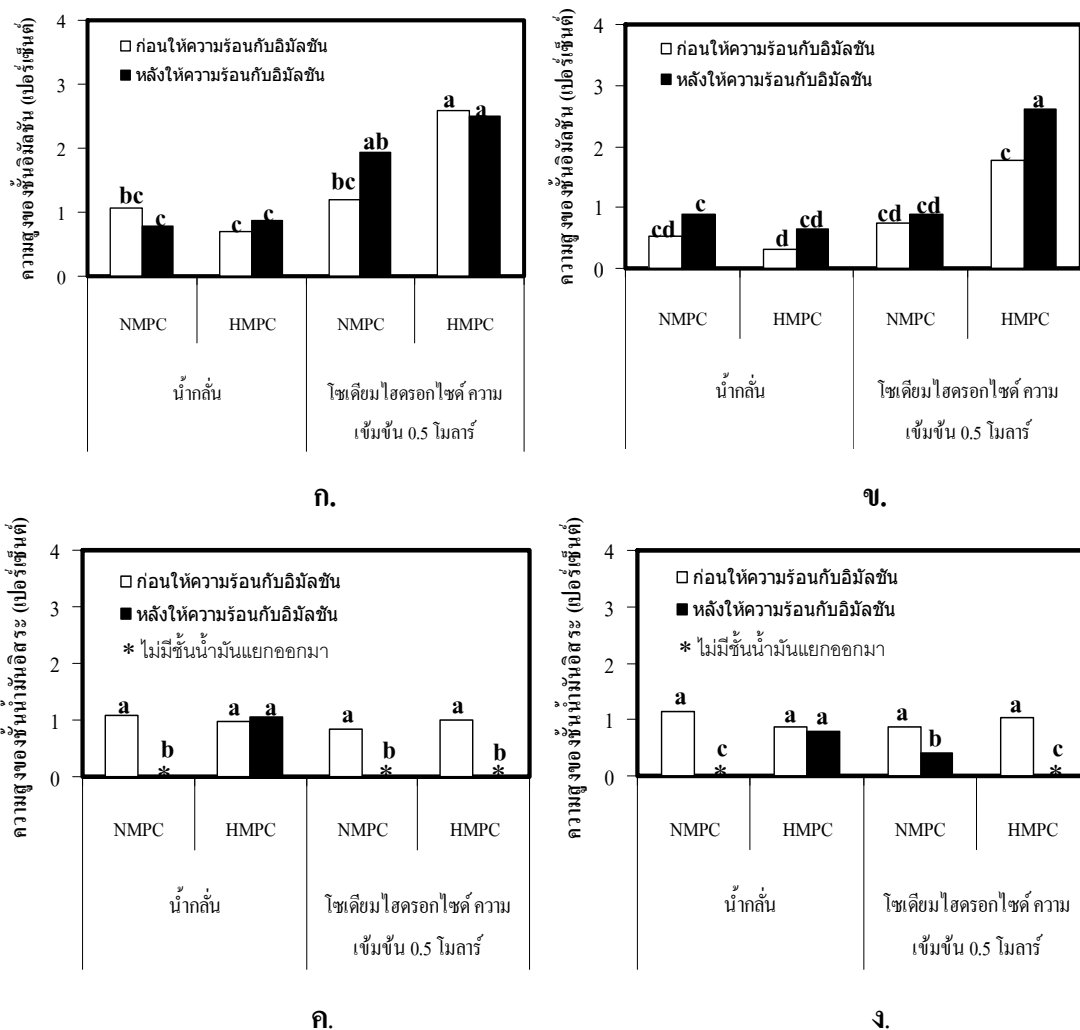
+++ หมายถึง เจลคงตัวสามารถตัดเป็นแท่งๆ ได้

++++ หมายถึง เจลคงตัวสามารถตัดเป็นแท่งๆ ได้ เรียบเนียน ยืดหยุ่น

2.4 สมบัติการเกิดอิมัลชันของโพรตีนถั่วเขียว

ความสามารถในการอู๋มน้ำมันของ NMPC และ HMPC แสดงดังภาพที่ 11 โดยใช้ความสูงชั้นอิมัลชันเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความสามารถในการอู๋มน้ำมัน พบว่า การเตรียมอิมัลชันในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะมีความสูงของชั้นอิมัลชันสูงกว่าการเตรียมอิมัลชันในน้ำกลั่น โดย HMPC จะให้ร้อยละความสูงของชั้นอิมัลชันสูงกว่า NMPC และภายหลังการให้ความร้อนซ้ำแก่อิมัลชัน ความสูงของชั้นอิมัลชันจะมีค่าสูงขึ้น การที่โพรตีนถั่วเขียวมีความสามารถในการอู๋มน้ำมันเพิ่มขึ้นในสภาวะต่างเนื่องจากการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริกทำให้ส่วนไฮโดรโฟบิกซึ่งเป็นส่วนที่ชอบน้ำมันถูกปลดปล่อยมาอยู่ที่ผิวมากขึ้น เมื่อร่วมกับสภาวะต่างซึ่งละลายโพรตีนได้ดี จะทำให้ส่วนไฮโดรโฟบิกมีการกระจายตัวในเฟสของน้ำมันมากขึ้น (Damodaran, 1997; Zayas, 1997) ความสามารถของโพรตีนในการถูกดูดซับที่ผิวร่วมระหว่างน้ำกับน้ำมันในสภาวะต่างจึงสูงกว่าสภาวะอื่น ทำให้มีสัดส่วนของอิมัลชันสูง

ความสูงของชั้นน้ำมันอิสระเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความคงตัวของอิมัลชัน พบว่า การเตรียมอิมัลชันในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และให้ความร้อนซ้ำแก่อิมัลชันทำให้อิมัลชันมีความคงตัวสูงขึ้นเนื่องจากไม่มีชั้นของน้ำมันแยกออกมา



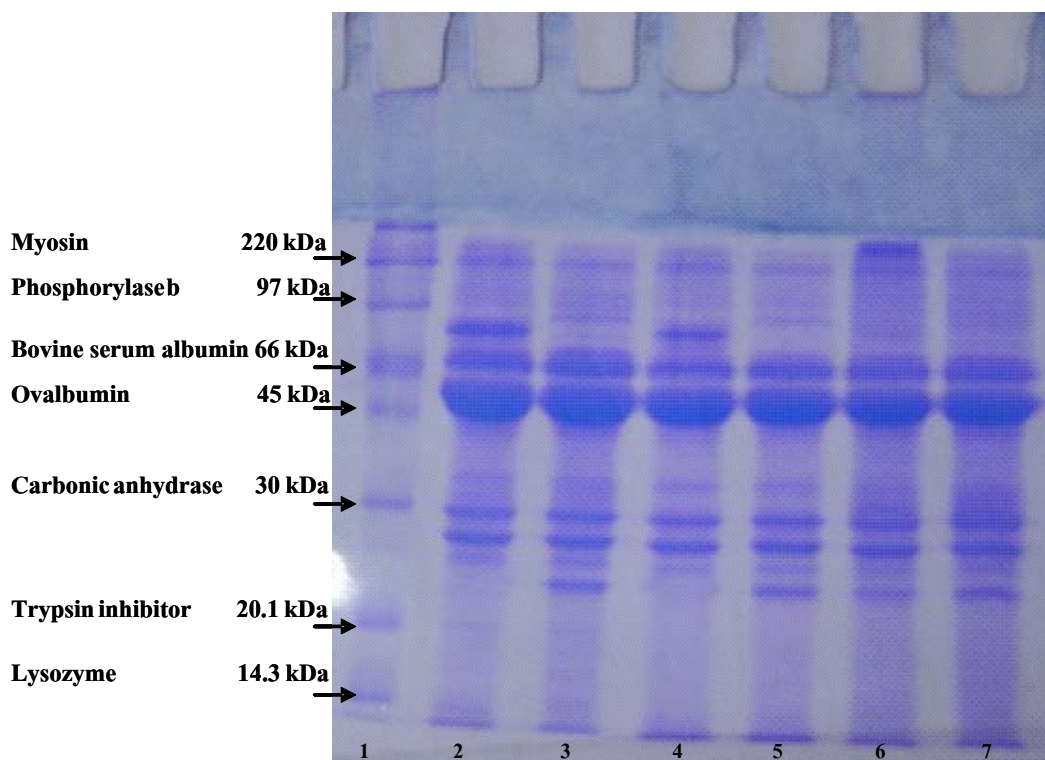
ภาพที่ 11 ความสูงของชั้นอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวอิมัลชันไฟต์โคยเดิมน้ำมันรำข้าวและความสูงของชั้นน้ำมันอิสระในอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียว

- หมายเหตุ ก. ความสูงของชั้นอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวที่เติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 10 ของน้ำหนักโปรตีน
- ข. ความสูงของชั้นอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวที่เติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 15 ของน้ำหนักโปรตีน
- ค. ความสูงของชั้นน้ำมันอิสระของโปรตีนถั่วเขียวที่เติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 10 ของน้ำหนักโปรตีน
- ง. ความสูงของชั้นน้ำมันอิสระของโปรตีนถั่วเขียวที่เติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 15 ของน้ำหนักโปรตีน

2.5 โมลโมเลกุลของโปรตีนในโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

ภาพที่ 12 แสดงให้เห็นว่า HMPC และทำแห้งแบบระเหิด (freeze dried) (lane 2) เป็นโปรตีนถั่วเขียวชนิดอัลบูมิน (albumin) เป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากในขั้นตอนของการสกัดโปรตีนใช้น้ำในการสกัด โปรตีนมีโมลโมเลกุลอยู่ในช่วง 45-66 กิโลดาลตัน เป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อเติมบีตา-เมอร์แคปโตเอธานอลซึ่งมีคุณสมบัติรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ (Andrews, 1986) (lane 3) พบว่าปรากฏแถบโปรตีนเกิดขึ้นในช่วง 20.1-30 กิโลดาลตัน

เมื่อสกัดโปรตีนถั่วเขียวแล้วนำสารละลายโปรตีนมาให้ความร้อนที่ 80°C 30 นาที แล้วทำแห้งโปรตีนด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55°C 14-16 ชม. (lane 6, 7) เปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน (lane 4, 5) พบว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่สามารถเหนี่ยวนำให้โปรตีนถั่วเขียวเกิดการเสียสภาพแล้วเกิดการรวมมวล (polymerization) ทำให้มีขนาดมวลโมเลกุลใหญ่ขึ้น สังเกตได้จากการค้ำของโปรตีนบน stacking gel (lane 6) เมื่อเติมบีตา-เมอร์แคปโตเอธานอล พบว่า บริเวณดังที่กล่าวมามีสีจางลงและมีแถบของโปรตีนปรากฏขึ้นในหลายตำแหน่งใน lane 7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรตีนถั่วเขียวเกิดการรวมมวลด้วยพันธะไดซัลไฟด์ แต่ก็อาจมีการรวมมวลของโปรตีนถั่วเขียวจากพันธะอื่นร่วมด้วยเนื่องจากเมื่อเติมบีตา-เมอร์แคปโตเอธานอลลงไปแล้วก็ยังปรากฏเห็นสีน้ำเงินจางๆ บนบริเวณ stacking gel อยู่



ภาพที่ 12 SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเขียว เปรียบเทียบลักษณะมวลโมเลกุลโปรตีนที่ไม่ได้รับความร้อนและได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน

หมายเหตุ Lane 1 หมายถึง สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นดัชนีมวลโมเลกุล

Lane 2 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบระเหิดที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 3 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบระเหิดที่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 4 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 5 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 6 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 7 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

2.6 คุณสมบัติเชิงความร้อน

คุณสมบัติเชิงความร้อนซึ่งตรวจสอบอุณหภูมิการเสียสภาพตามธรรมชาติ (denaturation temperature) ของ NMPC และ HMPC ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เตรียมในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ด้วยเครื่อง DSC แสดงในตารางที่ 6 บ่งชี้ว่า โปรตีนถั่วเขียวมีอุณหภูมิในการเสียสภาพตามธรรมชาติเริ่มที่ 81.76 °ซ โดยต้องการพลังงานความร้อนในการเสียสภาพของโปรตีนเท่ากับ 9.36 จูลต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ในขณะที่โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนไม่ปรากฏอุณหภูมิและพลังงานในการเปลี่ยนเฟสของโปรตีนเกิดขึ้นเนื่องจากได้เสียสภาพไปแล้ว

ตารางที่ 6 แสดงอุณหภูมิที่จุดเริ่มต้น จุดสูงสุด จุดสิ้นสุด และความร้อนทั้งหมดในการเสียสภาพของโปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน

	NMPC	HMPC
T_o (°ซ)	81.76±0.69	-
T_p (°ซ)	90.86±1.99	-
T_c (°ซ)	99.02±2.72	-
Enthalpy of denaturation (ΔH , J/g)	9.36±2.01	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ปรากฏการเปลี่ยนเฟสในช่วงอุณหภูมิที่ทำการศึกษา

การตรวจสอบคุณลักษณะมวลโมเลกุลของโปรตีนถั่วเขียวด้วยเทคนิค SDS-PAGE และสมบัติเชิงความร้อนด้วยเครื่อง DSC แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนแก่สารละลายโปรตีนถั่วเขียวที่อุณหภูมิ 80 °ซ 30 นาที เพียงพอที่จะทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพและเกิดการรวมมวลเกิดขึ้นจนส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเขียว (der Plancken *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2007; Skipnes *et al.*, 2008)

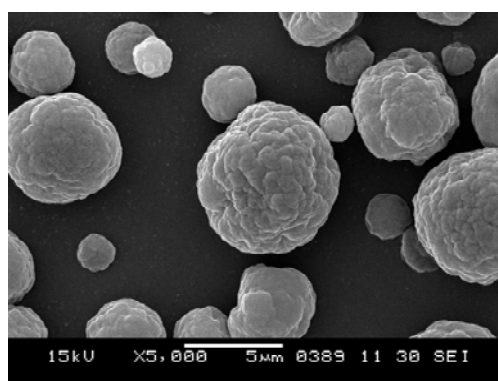
การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของ HMPC พบว่า มีความสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าและมีความสามารถในการอุ้มน้ำมันสูงกว่า NMPC ซึ่งเป็นสมบัติที่ต้องการในโครงสร้างประกอบ ดังนั้น จึงเลือก HMPC มาทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) เนื่องจาก

ในเชิงการผลิต การทำแห้งแบบพ่นฝอยสามารถผลิตในระดับใหญ่ (large scale) และโปรตีนที่ทำแห้งแล้วอยู่ในรูปผงโปรตีนซึ่งสะดวกแก่การนำไปใช้ประโยชน์ ก่อนที่จะนำโปรตีนไปศึกษาการเตรียมโครงสร้างประกอบในข้อ 3 ต่อไป

3. ผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวต่อคุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

3.1 โครงสร้างระดับจุลภาคของโปรตีนถั่วเขียว

ลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคของโปรตีนที่ได้รับการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนและทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงดังภาพที่ 13 ลักษณะโครงสร้างของโปรตีนถั่วเขียวเมื่อตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องกราด อนุภาคของโปรตีนซึ่งจะเห็นว่ามี 2 ขนาด ขนาดเล็กมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 2.61 ไมโครเมตร และขนาดใหญ่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 6.14 ไมโครเมตร อนุภาคของโปรตีนมีลักษณะเป็นทรงกลม พื้นผิวของอนุภาคมีลักษณะขรุขระ

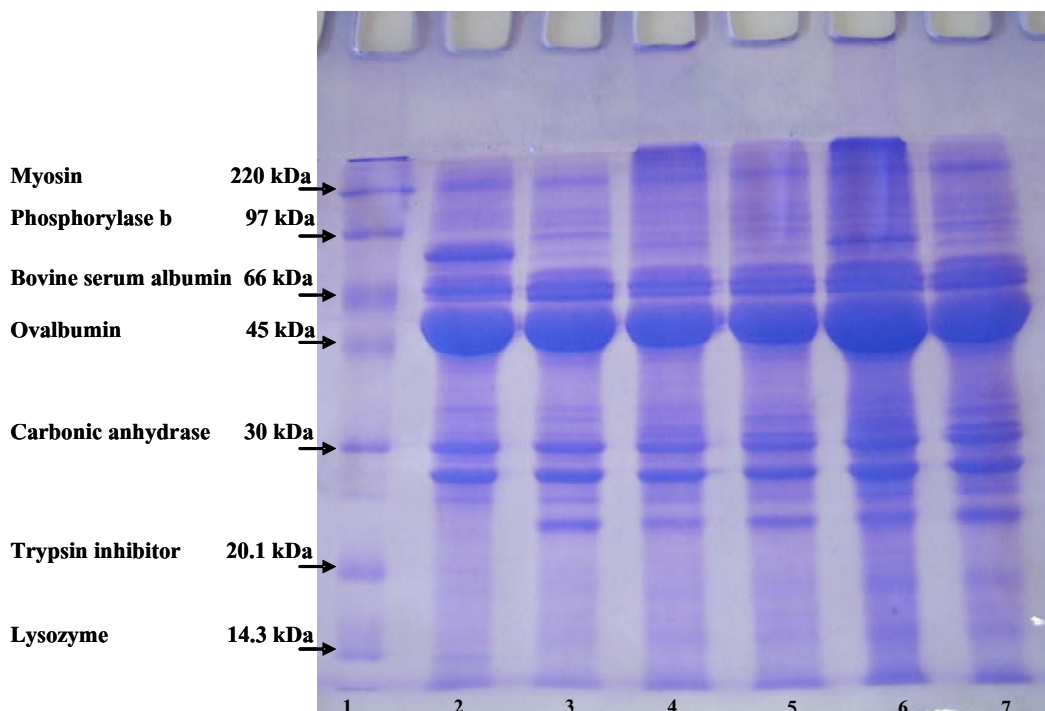


ภาพที่ 13 โครงสร้างระดับจุลภาคของโปรตีนที่ได้รับการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนและทำแห้งแบบพ่นฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องกราดที่ 15 kV

3.2 คุณลักษณะด้านมวลโมเลกุล

จากภาพที่ 14 เมื่อเปรียบเทียบโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนแล้วทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (lane 4 และ lane 5) และโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับการให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนและทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) (lane 6 และ lane 7) พบว่า ลักษณะมวลโมเลกุล

ของโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนและทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล (lane 6) มีโปรตีนค้างบน stacking gel เช่นเดียวกับโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนแล้วทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (lane 4) แต่แถบของโปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 45-66 กิโลดาลตัน มีสีน้ำเงินเข้มและแถบของโปรตีนมีความหนามากกว่าโปรตีนที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการทำแห้งโปรตีนถั่วเขียวด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ส่งเสริมให้โปรตีนถั่วเขียวมีการรวมมวลเพิ่มมากขึ้นและเกิดการรวมมวลมากกว่าโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนแล้วทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ต่อมาเมื่อเติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล (lane 7) ได้ปรากฏแถบโปรตีนขึ้นมาใหม่และมีขนาดมวลโมเลกุลเล็กลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนที่ 80°C 30 นาที และการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ทำให้โปรตีนถั่วเขียวเกิดการรวมมวลด้วยพันธะไดซัลไฟด์ นอกจากนี้แล้วโปรตีนถั่วเขียวอาจมีการรวมมวลด้วยพันธะอื่นนอกเหนือจากพันธะไดซัลไฟด์ก็อาจเป็นไปได้ เนื่องจากบริเวณ stacking gel ของ lane 5 และ 7 ยังมีสีน้ำเงินจางๆ ปรากฏอยู่แม้ว่าจะเติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอลไปแล้วก็ตาม



ภาพที่ 14 SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอน เปรียบเทียบลักษณะมวลโมเลกุลโปรตีนที่ทำแห้งด้วยวิธีต่างกัน

หมายเหตุ Lane 1 หมายถึง สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นดัชนีมวลโมเลกุล

Lane 2 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบระเหิดที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 3 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ไม่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบระเหิดที่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 4 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 5 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

Lane 6 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ไม่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

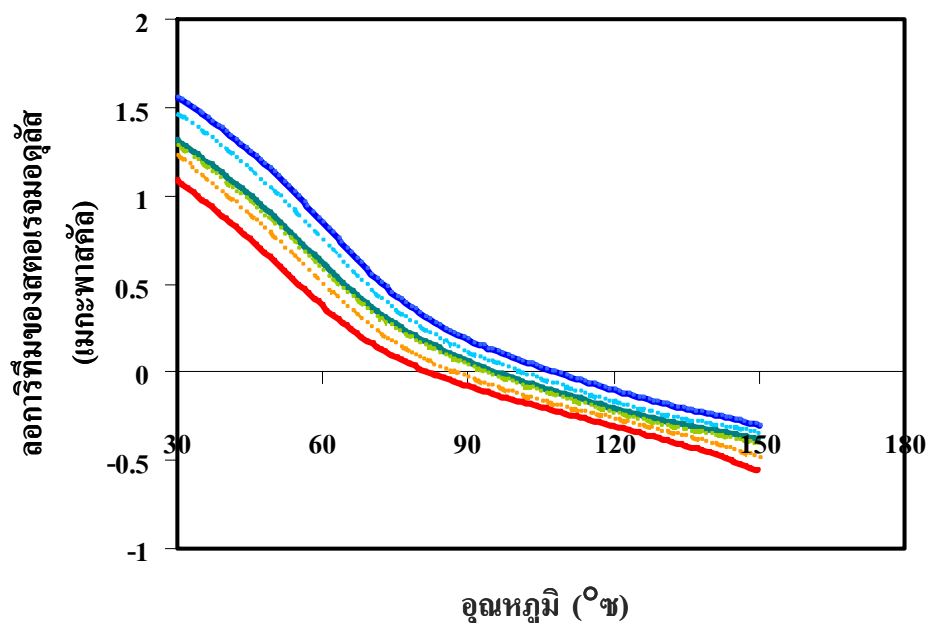
Lane 7 หมายถึง โปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนและทำแห้งแบบพ่นฝอยที่เติมบีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล

3.3 คุณสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว

การตรวจสอบสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อนของโครงสร้างประกอบของโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวด้วยเครื่อง DMA แสดงดังภาพที่ 15 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิแก่โครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียวจากอุณหภูมิ 30 °C - 150 °C ค่าลอกาทิมของสต่อเรจมอดูลัสจะลดลงเรื่อยๆ ในทุกชุดการทดลอง โครงสร้างประกอบซึ่งเตรียมโดยใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลายมีค่าสต่อเรจมอดูลัสสูงกว่าโครงสร้างประกอบซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างประกอบมีความแข็งเหนียว (stiffness) และมีความสามารถต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (deformation) สูง เนื่องจากการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลที่มีประจุลบของโปรตีนกับโปรตีน โปรตีนกับสตาร์ช และสตาร์ชกับสตาร์ชโดยแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ เพราะสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นตัวทำละลายมีพีเอชเท่ากับ 12.53 ซึ่งที่พีเอชดังกล่าวอาจส่งผลต่อสมบัติของโปรตีน เพราะเป็นค่าพีเอชที่สูงกว่า pI (pI 4.5) โปรตีนจะมีประจุเป็นลบ (Damodaran, 1996a; Zayas, 1997) ส่วนสตาร์ชเมื่ออยู่ในระบบที่มีพีเอชเป็นค่าสูง ซึ่งมีพีเอช ~ 12 สามารถทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินเกิดการไอออไนซ์ได้จึงทำให้ Ca^{2+} เชื่อมข้ามระหว่างพอลิเมอร์ที่มีประจุลบทั้งสองชนิดได้ (Bryant and Hamaker, 1997; Han and Lim, 2004; Israkarn *et al.*, 2007) จึงส่งผลให้ตัวอย่างมีความแข็งแรงสูง ในขณะที่โครงสร้างประกอบซึ่งเตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย มีค่าสต่อเรจมอดูลัสต่ำกว่าตัวอย่างโครงสร้างประกอบอื่นๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างประกอบมีความแข็งเหนียวและมีความสามารถต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างต่ำ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นตัวทำละลายมีพีเอชอยู่ในช่วง 13.6-13.8 ซึ่งค่าพีเอชสูงกว่า pI ของโปรตีน ประจุสุทธิของโปรตีนเป็นลบทำให้แรงผลัทางไฟฟ้า (electrostatic repulsive force) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น (Damodaran, 1996a) นอกจากนี้ยังอาจเกิดแรงผลัทางไฟฟ้าระหว่างประจุลบของโมเลกุลโปรตีนกับโมเลกุลที่มีประจุลบของสตาร์ชเพราะค่าพีเอชของตัวทำละลายที่ใช้เตรียมโครงสร้างประกอบมีค่าสูงพอที่จะทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินสามารถไอออไนซ์ได้ (Bryant and Hamaker, 1997; Han and Lim, 2004; Israkarn *et al.*, 2007) ดังนั้นโครงสร้างของตัวอย่างจึงมีความแข็งแรงลดลง

การเกิดอันตรกิริยาของโปรตีนซึ่งเป็นเฟสต่อเนื่องกับสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติที่ใช้เป็นฟิลเลอร์นั้น เกิดจากอันตรกิริยาที่ผิวร่วมระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับเม็ดสตาร์ชแกรนูล

เนื่องจากว่าแกนของสตาร์ชั้วเขียวแบบธรรมชาติจะมีความแกร่ง แข็งแรงมากกว่าสตาร์ชั้วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง เม็ดสตาร์ชอาจยังคงแกนอยู่ได้ ดังนั้น การเกิดอันตรกิริยาจึงเกิดขึ้นที่ผิวร่วมระหว่างเม็ดสตาร์ชและเมทริกซ์ของโปรตีนทำให้โครงสร้างมีความแข็งแรงมากกว่า โครงสร้างประกอบซึ่งเตรียมจากการเติมสตาร์ชั้วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง ในขณะที่โครงสร้างประกอบที่เติมสตาร์ชั้วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้างนี้เม็ดสตาร์ชแกนอาจมีรูพรุนที่เกิดจากขั้นตอนการเตรียมสตาร์ชก่อนการนำมาเติมเพื่อเป็นฟิลเลอร์ ซึ่งรูพรุนนี้อาจเป็นช่องทางให้โมเลกุลของแอมิโลสและแอมิโลเพกตินสามารถรั่วออกมาในช่วงของการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียมโครงสร้างประกอบได้ การเกิดอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นจึงเกิดจากโมเลกุลของโปรตีนซึ่งเป็นเฟสต่อเนื่องกับ โมเลกุลของแอมิโลสและแอมิโลเพกตินที่รั่วซึมออกมาซึ่งลักษณะดังกล่าวได้ส่งผลให้โครงสร้างประกอบที่เติมสตาร์ชั้วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้างนี้มีความแข็งแรงของโครงสร้างต่ำกว่า แต่ยกเว้นตัวอย่าง โครงสร้างประกอบที่เตรียมจากการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลายเหมือนกันแต่เติมสตาร์ชั้วเขียวแบบธรรมชาติเป็นฟิลเลอร์ซึ่งมีความแตกต่างจากตัวอย่าง โครงสร้างประกอบอื่นๆ อาจเป็นไปได้ว่าจากการที่สตาร์ชั้วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้างมีความอ่อนแอ สตาร์ชแกนอาจไม่ทนต่อกระบวนการเตรียม โครงสร้างประกอบ เม็ดสตาร์ชอาจแตกได้ง่ายและมีการรั่วออกมาของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินจะส่งเสริมให้เกิดการคอนจูเกตของหมู่ น้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งกับกรดแอมิโนของโปรตีน โดยผ่านปฏิกิริยาเมลลาร์ดในช่วงการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียม โครงสร้างประกอบ พันธะที่เกิดขึ้นเป็นพันธะโคเวเลนต์ซึ่งมีความแข็งแรงจึงอาจส่งผลให้โครงสร้างประกอบที่เติมสตาร์ชั้วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้างมีโครงสร้างที่แข็งแรงมากกว่าโครงสร้างประกอบที่เติมสตาร์ชั้วเขียวแบบธรรมชาติ แต่ข้อสันนิษฐานนี้ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลการทดลองอีกต่อไป



ภาพที่ 15 แสดงค่าลอการิทึมของค่าสตอเรจ มอดุลัสของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

หมายเหตุ — หมายถึง โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

.. หมายถึง โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ต่างและใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

— หมายถึง โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

.. หมายถึง โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ต่างและใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

— หมายถึง โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

.. หมายถึง โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ต่างและใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

ค่าอุณหภูมิของแทนเจนต์เดลต้าที่มีค่าสูงสุด ($\tan \delta$ peak) แสดงดังตารางที่ 7 เป็นสัดส่วนของลอส มอดุลัส (loss modulus; G'') ต่อสตอเรจ มอดุลัส (storage modulus; G') ซึ่งเป็นค่าบ่งชี้ถึงอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (glass transition temperature; T_g) (Pommet *et al.*, 2003) คือ

อุณหภูมิที่ของแข็งเปลี่ยนสภาพจากโครงสร้างที่ไม่มีระเบียบซึ่งมีความหนืดสูงมากจากสถานะที่มีคุณสมบัติคล้ายแก้ว (glassy state) เป็นสถานะที่มีคุณสมบัติคล้ายยาง (rubbery state) จากผลการทดลอง พบว่า ค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวที่มีระดับการคงสภาพแกรนูลต่างกันแต่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) แต่ค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในตัวอย่างของโครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและเตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย และตัวอย่างของโครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและเตรียมโดยใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและเตรียมโดยใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย มีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันสูงซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าต้องใช้อุณหภูมิสูงในการทำให้ของแข็งเปลี่ยนสภาพจากสถานะกลาสเป็นสถานะคล้ายยาง ซึ่งเป็นอิทธิพลมาจากการที่แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลที่มีประจุลบของโมเลกุลโปรตีนกับโปรตีน โปรตีนกับสตาร์ช และสตาร์ชกับสตาร์ช จึงส่งผลให้ตัวอย่างคงความแข็งแรงของโครงสร้างได้ สาเหตุเป็นเช่นเดียวกับที่อธิบายในภาพที่ 15 ในขณะที่โครงสร้างประกอบซึ่งเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติและเตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย มีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันต่ำที่สุดซึ่งเป็นอิทธิพลมาจากแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลของไบโอพอลิเมอร์มีเพิ่มสูงขึ้นนั่นเอง จากการที่ค่าพีเอชสูงกว่า pI ของโปรตีนเมื่อโปรตีนอยู่ในสถานะค่าง จึงส่งผลให้ประจุของโปรตีนเป็นลบทำให้แรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (Damodaran, 1996a) และยังสามารถเกิดจากแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างประจุลบของโปรตีนกับโมเลกุลที่มีประจุลบของสตาร์ชจึงส่งผลให้ค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันต่ำ

ตารางที่ 7 อุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (องศาเซลเซียส) ประเมินจาก $\tan \delta$ peak
น้ำกลั่น	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	62.17±4.54 ^{ab}
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง	60.16±6.74 ^{ab}
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	57.58±0.69 ^b
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง	60.93±2.10 ^{ab}
สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	67.57±0.30 ^a
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง	65.59±1.44 ^{ab}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายความว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 8 แสดงค่าสตอเรจ มอดุลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันของตัวอย่าง โครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว โครงสร้างประกอบที่เตรียมจากการเติมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย และเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติเป็นฟิลเลอร์ให้ค่าสตอเรจ มอดุลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันมีค่าสูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับโครงสร้างประกอบที่เตรียมจากการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย และเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติเป็นฟิลเลอร์ให้ค่าสตอเรจ มอดุลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันมีค่าต่ำที่สุด โดยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียวเป็นดังที่ได้อธิบายดังภาพที่ 15

ตารางที่ 8 ค่าสต่อเรจ มอดูลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบระหว่างโพรตีน และสตาร์ชถั่วเขียว

ชุดการทดลอง	ค่าสต่อเรจ มอดูลัสที่ อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (เมกะพาสคัล)
น้ำกลั่น	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	3.57±0.61 ^{ab}
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ด่าง	3.64±0.05 ^{ab}
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	2.74±0.54 ^b
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ด่าง	2.99±0.49 ^{ab}
สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	4.20±0.02 ^a
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ด่าง	3.83±0.65 ^{ab}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายความว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ความสัมพันธ์ของค่า T_g และ G' แสดงดังตารางที่ 9 จะช่วยให้สามารถออกแบบคุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อน (thermo-mechanical properties) หรือสมบัติของ thermoplastic ของโครงสร้างประกอบระหว่างโพรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวได้ หากต้องการโครงสร้างประกอบที่มีค่า T_g ต่ำ และ G' ต่ำ สามารถเตรียมโครงสร้างประกอบโดยเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติเป็นฟิลเลอร์และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย โครงสร้างประกอบที่มีค่า T_g ต่ำ และ G' สูง สามารถเตรียมโครงสร้างประกอบโดยเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ด่างเป็นฟิลเลอร์ และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย โครงสร้างประกอบที่มีค่า T_g สูง และ G' ต่ำ สามารถเตรียมโครงสร้างประกอบโดยเติมสตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ด่างเป็นฟิลเลอร์ และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย และโครงสร้างประกอบที่มีค่า T_g สูง และ G' สูง สามารถเตรียมโครงสร้างประกอบโดยเติมสตาร์ชถั่ว

เจลแบบธรรมชาติเป็นฟิลเลอร์ และใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า T_g และ G' ของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (T_g)	สตอเรจ มอดุลัส (storage modulus; G')	ชุดการทดลอง
ต่ำ	ต่ำ	สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ, สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย
ต่ำ	สูง	สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง, น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย
สูง	ต่ำ	สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง, สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย
สูง	สูง	สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ, สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย

คุณสมบัติเชิงกลเมื่อได้รับความร้อน (thermo-mechanical properties) ของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวดังที่กล่าวมา สามารถควบคุมได้โดยอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและสตาร์ช

โครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวมีข้อดีคือโปรตีนถั่วเขียวที่ใช้เป็นเฟสต่อเนื่องของระบบซึ่งถือว่าเป็นองค์ประกอบหลักนั้น เป็นโปรตีนชนิดละลายในน้ำ (water soluble) เนื่องจากใช้น้ำในการสกัดโปรตีน ทำให้ลดต้นทุนในการสกัดโปรตีนซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมโครงสร้างประกอบ จึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำไปใช้ประโยชน์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. พีเอชมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านเพศของสตาร์ชและแป้งถั่วเขียว โดยสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายต่างมีแนวโน้มว่าสามารถเกิดโครงข่ายสามมิติได้ดีกว่าสตาร์ชและแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรด ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงสตาร์ชและโปรตีนระหว่างช่วงการให้ความร้อนและช่วงลดอุณหภูมิจึงสามารถควบคุมได้โดยการเปลี่ยนแปลงพีเอช

2. การให้ความร้อนก่อนการตกตะกอนแก่สารละลายโปรตีนถั่วเขียวได้เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่และสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนถั่วเขียวโดยโปรตีนถั่วเขียวที่ได้รับความร้อนก่อนการตกตะกอนสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำ มีความสามารถในการอุ้มน้ำมันสูง และมีขนาดมวลโมเลกุลใหญ่ขึ้น

3. สตาร์ชที่มีระดับการคงสภาพแกรนูลต่างกันไม่มีผลต่อค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนกับสตาร์ชถั่วเขียว แต่สถานะพีเอชและความแรงของไอออนเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติของโครงสร้างประกอบ โครงสร้างประกอบที่เตรียมโดยมีสถานะพีเอชสูงแต่ความแรงไอออนต่ำจะมีโครงสร้างที่มีความอ่อนแอกว่า ขณะที่โครงสร้างประกอบที่มีพีเอชสูงและความแรงไอออนสูงจะมีโครงสร้างที่แข็งแรง ดังนั้น การควบคุมสมบัติของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียวสามารถทำได้โดยการควบคุมอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน โปรตีนกับสตาร์ช และสตาร์ชกับสตาร์ช จากการเกิดพันธะโคเวเลนต์และพันธะเชิงไอออน ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

โครงสร้างประกอบซึ่งเตรียมจากการใช้โปรตีนถั่วเขียวเป็นเฟสต่อเนื่องและสตาร์ชถั่วเขียวเป็นฟิลเลอร์ อาจนำไปประยุกต์เป็น โครงสร้างที่ใช้ในการห่อหุ้ม กลิ่นรส เอนไซม์ สารต้านจุลินทรีย์ หรือสารต้านออกซิเดชัน โดยโครงสร้างประกอบนี้มีข้อดีคือสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากโครงสร้างประกอบมีช่วงอุณหภูมิที่จะเปลี่ยนเฟสจากสถานะที่มีคุณสมบัติคล้ายแก้ว

เป็นสภาวะที่มีคุณสมบัติคล้ายยางซึ่งมีความเสถียรต่ำกว่า อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 58-68 °ซ แต่โครงสร้างประกอบนี้ยังมีข้อจำกัดคืออาจไม่ทนต่อกระบวนการแปรรูปเนื่องจากมีอุณหภูมิในการเปลี่ยนเฟสไม่สูงมากนัก

จากผลการทดลองที่ได้ศึกษา ได้กำหนดปริมาณของสตาร์ชถั่วเขียวที่เติมลงไป ในโครงสร้างประกอบต่อคุณสมบัติทาง thermo-mechanical ดังนั้น อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการแปรผันปริมาณสตาร์ชถั่วเขียวที่เติมลงไปต่อคุณสมบัติของ โครงสร้างประกอบเพื่อเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2550. ถั่วเขียว. ฐานความรู้ด้านพืช กรมวิชาการเกษตร. แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/pl_data/MUNGBEAN/1stat/st01.html, 18 พฤษภาคม 2550.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2528. ถั่วเขียว. เอกสารวิชาการ ชุดพืชศาสตร์ (crop manual). โรงพยาบาลศูนย์ทหารราบ, กรุงเทพฯ.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2543. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จักร ทองเรือง. 2544. ชูริมิ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล. 2541. การเกิดเจลของก๊อแลมเนื้อปลา. อาหาร. 28(4): 245-254.
- ทานตะวัน เต็กชืน, นิรันดร์ จันรัมย์ และอดิศักดิ์ แก้วใส. 2544. พลาสติก 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัทสกายบุ๊กส์ จำกัด, กรุงเทพฯ.
- นิรนาม, 2547. การใช้ประโยชน์. ถั่วเขียว. แหล่งที่มา: <http://www.doae.go.th/plant/mungbn.htm>, 19 มกราคม 2548.
- ปาริฉัตร หงสประภาส. 2548. บทนำ-การใช้โปรตีนเป็นสารผสมอาหาร. เอกสารประกอบการสอน วิชาโปรตีนในอาหาร.
- ปิยวรรณ สุรัญชานาจิรกุล. 2548. สมบัติทางกลแบบพลวัตของโพลิเมอร์. Polymer Science (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ). ตุลาคม-ธันวาคม: 62-64.
- ผู้จัดการออนไลน์. 2549. ตัดริบบิ้นงานตลาดนัดนวัตกรรม ปลัดวิทย์เร่งดันไบโอพลาสติก. แหล่งที่มา: <http://w3.manager.co.th/Science/ViewNews.aspx?NewsID=949000011887>, 19 มกราคม 2551.

- ผู้จัดการออนไลน์. 2550. สมาคมพลาสติกชีวภาพ บุคคลาตบรรจุกัณฑ์สิ่งแวดล้อมรับกระแส
โลกร้อน. แหล่งที่มา: <http://www.manager.co.th/Science/ViewNews.aspx?NewsID=9500000142073>, 21 มกราคม 2551.
- พงศ์สันต์ อรุณสินทวีพร. 2548. การพัฒนาโปรตีนถั่วเขียวสำหรับการใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์อาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เพิ่มพูน ศักดิ์เกษม. 2531. ถั่วเขียว. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพ, กรุงเทพฯ.
- รมณีย์ หวังศิธรรม. 2551. ไบโอฟลาสติก เทคโนโลยีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม. แหล่งที่มา: <http://opac.tistr.or.th/multimedia/STJN/4901/4901-1.pdf>, 21 มกราคม. 2551.
- วุฒิชัย นาครักษา. 2526. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์ของถั่วเขียวที่เหมาะสมต่อการ
ใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สมจิต เพิ่มทรัพย์. 2529. คุณสมบัติการใช้ประโยชน์ของถั่วเขียวทั้งเมล็ด สตาร์ช และโปรตีนที่สกัด
ได้จากถั่วเขียวสายพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- สมชาย จอมดวง. 2526. การผลิตและการทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์ถั่วเขียวและถั่วเหลือง.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรพิน ชัยประสพ. 2531. การปรับปรุงสมบัติการใช้ประโยชน์ของโปรตีนถั่วเหลืองและถั่วเขียว.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Adair, M. 2001. Acceptability of peanut butter cookies prepared using mungbean paste as a fat
substitute. *J. of The American Dietic Association*. 101(4): 467-469.

- Aguilera, J. M. 1992. Generation of engineered structures in gels, pp. 387-422. *In* H. G. Schwartzberg and R.W. Hartel, eds. **Physical Chemistry of Foods**. Marcel Dekker, Inc., USA.
- _____, J. M. and D. W. Stanley. 1999. Food structuring, pp. 185-249. *In* Aguilera, J. M. and D. W. Stanley, eds. **Microstructural Principles of Food Processing and Engineering**. Aspen Publishers, Inc., USA.
- Anantraksakul , P. 1989. **Protein recovery from mungbean vermicelli industry by ultrafiltration**. Asain Institute of Technology Thesis, Bangkok.
- Andrewes, A. T. 1986. **Electrophoresis: theory, techniques, and biochemical and clinical applications, 2nd ed.** Oxford University Press, USA.
- Anonymous. 2007. **Nixtamalization**. Available Source:
<http://en.wikipedia.org/wiki/Nixtamalization>, 27 December 2007.
- _____. 2008. **Dynamic mechanical analysis (DMA)**. Available Source:
http://files.hanser.de/hanser/docs/20041012_2411215439-82_3-446-22673-7.pdf, 18 January 2008.
- AOAC. 1990. **Official methods of Analysis**. 16th ed., The Association of Official Analytical Chemist, Arligton, Virginia.
- Averous, L., L. Moro, P. Dole and C. Fringant. 2000. Properties of thermoplastic blends: starch-polycaprolactone. **Polymer**. 41: 4157-4167.
- Barbut, S. and E. A. Foegeding. 1993. Ca²⁺-induced gelation of pre-heated whey protein isolate. **J. Food Sci.** 58(4): 867-871.

- Betancur, A. D. and G. L. Chel. 1997. Acid hydrolysis and characterization of *Canacalia ensiformis* starch. **J. Agric Food. Chem.** 45: 4237-4241.
- Boye, J. I., C.-Y. Ma and V. R. Harwalkar. 1997. Thermal denaturation and coagulation of proteins, pp. 25-56. *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds. 1997. **Food Proteins and Their Applications**. Marcel Dekker, Inc., USA.
- Bressani, R., V. Benavides, E. Acevedo and M. A. Ortiz. 1990. Change in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality-protein maize during rural tortilla preparation. **Cereal Chem.** 67(6): 515-518.
- Bryant, C. M. and B. Hamaker. 1997. Effect of lime on gelatinization of corn flour and starch. **Cereal Chem.** 74(2): 171-175.
- Campo, L. and C. Tovar. 2008. Influence of the starch content in the viscoelastic properties of surimi. **J. Food Eng.** 84(1): 140-147.
- Coffman, C. W. and V. V. Garcia. 1977. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mungbean flour. **J. Food Technol.** 12(5): 473-484.
- Damodaran, S. 1994. Structure-function relationship of food proteins, pp. 1-77. *In* N. S. Hettiarachchy and G. R. Ziegler, eds. 1994. **Protein Functionality in Food Systems**. Marcel Dekker, Inc., USA.
- _____. 1996a. Amino acids, peptides, and proteins. pp. 321-430. *In* O. R. Fennema, 1996, eds. **Food Chemistry**. 3rd ed., Marcel Dekker, Inc., USA.
- _____. 1996b. Functional properties, pp. 167-234. *In* S. Damodaran and A. Paraf. 1996, eds. **Food Protein: Properties and Characterization**. Marcel Dekker, Inc., USA.

- Damodaran, S. 1997. Protein-stabilized foams and emulsions, pp. 57-110. *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds. 1997. **Food Proteins and Their Applications**. Marcel Dekker, Inc., USA.
- der Plancken, I. V., A. V. Loey and M. E. Hendrickx. 2006. Effect of heat-treatment on the physico-chemical properties of egg white proteins: A kinetic study. **J. Food Eng.** 75: 316-326.
- Duh, P. D., P. D. Du and G. C. Yen. 1999. Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. **Food Chem. Toxicol.** 37: 1055-1061.
- Garlotta, D. 2001. A literature review of poly(lactic acid). **J. Polym. Environ.** 9(2): 63-84.
- Gaspar, M., Z Benko, G. Dogossy, K. Reczey and T. Czigany. 2005. Reducing water absorption in compostable starch-based plastics. **Polym. Degrad. Stab.** 90: 563-569.
- Gomez, M. H., J. K. Lee, C. M. McDorough, R. D. Waniska and L. W. Rooney. 1992. Corn starch changes during tortilla and tortilla chip processing. **Cereal Chem.** 69(3): 275-279.
- Han, J.-A. and S.-T. Lim. 2004. Structural changes in corn starches during alkaline dissolution by vortexing. **Carbohydr. Polym.** 55: 193-199.
- Hongsprabhas, P., K. Israkarn, and C. Rattanawattanapakit. 2007. Architectural changes of heated mungbean, rice and cassava starch granules: effects of hydrocolloids and protein-containing envelope. **Carbohydr. Polym.** 67: 614-622.
- Irrissin-mangata, J., G. Bauduin, B. Boutevin and N. Gontard. 2001. New plasticizers for wheat gluten films. **Eur. Polym. J.** 37: 1533-1541.

- Israkarn, K., P. Hongsprabhas and P. Hongsprabhas. 2007. Influence of granule-associated proteins on physiochemical properties of mungbean and cassava starches. **Carbohydr. Polym.** 68: 314-322.
- Jackson, D. S., C. Choto-Owen, R. D. Waniska and L. W. Rooney. 1988. Characterization of starch cooked in alkali by aqueous-high-performance size-exclusion chromatography. **Cereal Chem.** 65(6): 493-496.
- Jantawat, P., N. Chinprahast and U. Siripatrawan. 1998. Effects of hydrolyzing conditions on chemical and sensory properties of hydrolysed mungbean protein. **J. Sci. Soc. Thailand.** 24: 147-154.
- Jerez, A., P. Partal, I. Martinez, C. Gallegos and A. Guerrero. 2007. Egg white-based bioplastics developed by thermomechanical processing. **J. Food Eng.** 82: 608-617.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature.** 227: 680-685.
- Lee, C. M., M. C. Wu and M. Okada. 1992. Ingredient and formulation technology for surimi-based products. *In* T. C. Lanier and C. M. Lee, eds. **Surimi Technology.** Marcel Dekker, Inc., USA.
- Lee, K. G. and T. Shibamoto. 2000. Antioxidant properties of aroma compounds isolated from soybeans and mung beans. **J. Agric. Food. Chem.** 48(9): 4290-4293.
- Liu, W., M. Misra, P. Askeland, L. T. Drzal and A. K. Mohanty. 2005. 'Green' composites from soy based plastic and pineapple leaf fiber: fabrication and properties evaluation. **Polymer.** 46: 2710-2721.
- Lorcks, J. 1998. Properties and applications of compostable starch-based plastic material. **Polym. Degrad. Stab.** 59: 245-249.

- Ma, C. Y. and V. R. Harwalkar. 1990. Instrumentation and techniques of thermal analysis in food research, pp. 1-15. *In* V. R. Harwalkar and C. Y. Ma, eds. 1990. **Thermal Analysis of Food**. Elsevier Science Publishers Ltd., England.
- McDermott, W. J. Harper and R. Whitley. 1981. A centrifugal method for characterization of salad dressing emulsions. **Food Technol.** 31: 81-82, 84-85, 87.
- Mendez-montealvo, G., M. M. Sanchez-Rivera, O. Paredes-Lopez and L. A. Bello-Perez. 2006. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. **Int. J. Biol. macromol.** 40: 59-63.
- Mendoza, E. M. T., M. Adachi, A. E. N. Bernandes and S. Utsumi. 2001. Mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) globulins: purification and characterization. **J. Agric. Food. Chem.** 49: 1552-1558.
- Mondragon, M., L. A. Bello-Perez, E. Agama, A. Melo, D. Betancur-Ancona and J. L. Pena. 2004. Effect of nixtamalization on modification of the structure of maize starch. **Carbohydr. Polym.** 55: 411-418.
- Nakasawa, Y. 2003. Acid hydrolysis of native and annealed starches and branch-structure of their naegeli dextrans. **Carbohydr. Res.** 338: 2871-2882.
- Newport Scientific. 1995. **Operation manual for Series 4 Rapid Visco Analyser**. Warriewood, New South Wales. 93p.
- Okada, M. 1992. History perspective and resources, pp. 3-22. *In* T. C. Lanier and C. M. Lee, eds. **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., USA.
- Pommet, M., A. Redl, M. -H. Morel and S. Guilbert. 2003. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. **Polymer.** 44: 115-122.

- Rhim, J. -W., A. Gennadios, C. L. Weller, C. Cezeirat and M. A. Hanna. 1998. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. **Industrial Crops and Products**. 8: 195-203.
- Rohwer, R. G. and R. E. Klem. 1984. Acid-modified starch: production and use, pp. 529-541. *In* R. L. Whistler, J. N. Bemiller and E. F. Paschall, eds. **Starch, Chemistry and Technology**. 2nd ed., Academic press, USA.
- Rooney, L. W. and E. L. Suhendro. 1999. Perspectives on nixtamalization (alkaline cooking) of maize for tortillas and snacks. **Cereal Chem**. 74(2): 171-175.
- Sathe, S. K., S. S. Deshpande and D. K. Salunkhe. 1984. Dry beans of Phaseolous: a review. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr**. 21: 41-93.
- Sefa-Dedeh, S., B. Cornelius, E. Sakyi-Dawson and E. Ohene Afoakwa. 2004. Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. **Food Chem**. 86: 317-324.
- Shildneck, P. and C. Smith. 1967. Production and use of acid-modified starch, pp. 403-420. *In* R. L. Whistler, J. N. Bemiller and E. F. Paschall, eds. **Starch, Chemistry and Technology**. Academic press, USA.
- Skipnes, D., I. V. der Plancken, A. V. Loey and M. E. Hendrickx. 2008. Kinetics of heat denaturation of proteins from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). **J. Food Eng**. 85: 51-58.
- Suntornsuk, W., P. Pochanaranich and L. Suntorsuk. 2002. Fungal chitosan production on food processing by-product. **Process Biochem**. 37: 727-729.
- Tang, C. H., S. -M. Choi and C. -Y. Mab. 2007. Study of thermal properties and heat-induced denaturation and aggregation of soy proteins by modulated differential scanning calorimetry. **In. J. Biol. macromol**. 40(2): 96-104.

- Thomson, U. 1977. Preparation and evaluation of mung bean protein isolate. **J. Food Sci.** 42: 202-206.
- Toro-Vazquez, J. E. and C. A. Gomez-Aldapa. 2001. Chemical and physicochemical properties of maize starch after industrial nixtamalization. **Cereal Chem.** 78(5): 543-550.
- Trejo-Gonzalez, A., A. Feria-morales and C. Wild-Altamirano. 1982. The role of lime alkaline treatment of corn for tortilla preparation, pp. 245-263. *In* R. E. Feeney and J. R. Whitaker, eds. **Modification of Proteins: Food, Nutritional and Pharmacological Aspects, Advances in Chemistry, Series 198.** American chemical society, Washington, USA.
- Wang, N., J. Yu, P. R. Chang and X. Ma. 2008. Influence of formamide and water on the properties of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends. **Carbohydr. Polym.** 71: 109-118.
- Wang, S., T. N. Bun, T. Chen, D. Lin, J. Wa, P. Rau and X. Ye. 2005. First report of a novel plant lysozyme with both antifungal and antibacterial activities. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 327: 820-827.
- Wongsasulak, S., T. Yoovidhya, S. Bhumiratana and P. Hongsprabhas. 2007. Physical properties of egg albumen and cassava starch composite network formed by salt-induced gelation method. **Food Res. Int.** 40(2): 249-256.
- _____, _____, _____, _____, D. J. McClements and J. Weiss. 2006. Thermo-mechanical properties of egg albumen-cassava starch composite films containing sunflower-oil droplets as influenced by moisture content. **Food Res. Int.** 39(3): 277-284.
- Wu, M. C., D. D. Hamann and T. C. Lanier. 1985. Thermal transitions of admixed starch/fish protein systems during heating. **J. Food Sci.** 50: 20-25.

Yang, H. and J. W. Park. 1998. Effects of starch properties and thermal-processing conditions on surimi-starch gels. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.** 31: 344-353.

Zayas, J. F. 1997. **Functionality of proteins in food.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

Zherebtsov, N. A., I. D. Ruadze and A. N. Yakovlev. 1995. Mechanism of acid-catalyzed and enzymatic hydrolysis of starch. **App. Biochem. microb.** 31: 511-514

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีการวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์

ก1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

1.1.2 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

1.1.3 ถ้วยอะลูมิเนียม (moisture can)

1.1.4 เดซิเคเตอร์ (decicator)

1.2 วิธีการวิเคราะห์

1.2.1 ทำแห้งถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ที่อุณหภูมิ 130 ° ซ เป็นเวลา 1 ชม. นำมาใส่ เดซิเคเตอร์ทิ้งให้เย็น นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

1.2.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างในภาชนะใส่ตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2-3 กรัม นำไปใส่ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 ° ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยเปิดฝาภาชนะไว้ เมื่อครบเวลาแล้วนำออกจากตู้อบ ปิดฝาภาชนะและนำมาใส่ในเดซิเคเตอร์ทันที ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึง อุณหภูมิห้อง (ปกติ 45-60 นาที) แล้วจึงนำไปชั่งจนน้ำหนักคงที่

1.3 วิธีคำนวณ

สามารถคำนวณหาปริมาณร้อยละของความชื้นในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละปริมาณความชื้น} = \frac{(A)}{(B)} \times 100$$

เมื่อ A หมายถึง น้ำหนักของตัวอย่างที่หายไปหลังทำแห้ง (กรัม)

B หมายถึง น้ำหนักของตัวอย่างก่อนทำแห้ง (กรัม)

ก2. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (BUCHI) (AOAC, 1990)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 2.1.2 หลอด kjeldahl
- 2.1.3 ชุดย่อย (Digestion unit model K-435, BÜCHI)
- 2.1.4 ชุดคักจับไอกรด (Scrubber model B-414, BÜCHI)
- 2.1.5 ชุดกลั่นอัดโนมัติ (Distillation Unit model B-324, BÜCHI)
- 2.1.6 ขวดรูปชมพู่ (flask)

2.2 สารเคมี

- 2.2.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- 2.2.2 สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
- 2.2.3 สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2
- 2.2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 35
- 2.2.5 คอปเปอร์ซัลเฟต
- 2.2.6 โพแทสเซียมซัลเฟต
- 2.2.7 สารละลายอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมทิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน

2.3 วิธีวิเคราะห์

2.3.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5-1 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ในหลอดย่อย ระวังอย่าให้ติดข้างหลอด

2.3.2 ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วยโพแทสเซียมซัลเฟต 10 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม รวมทั้งลูกแก้วกันเคียด (glass bead) 2-3 เม็ด จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

2.3.3 นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดย่อย ย่อยจนได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น

2.3.4 นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดกลั่นอัด โนมัตติ เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35 จนกว่าสารละลายในหลอดเปลี่ยนเป็นสี น้ำตาล

2.3.5 กลั่นสารละลายประมาณ 3 นาที และรองรับสารละลายที่กลั่นได้ด้วยขวดรูป ชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์อยู่

2.3.6 นำไปไทเทรตด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่ง ได้ สารละลายสีเทา (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรสารละลายกรดที่ใช้เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของ ไนโตรเจนและร้อยละของโปรตีน

2.3.7 ทำแบลนด์ควบคู่ไปด้วยโดยไม่มีตัวอย่างในหลอดย่อย

2.3.8 หาค่าแฟกเตอร์ของกรดที่ใช้ในการไทเทรต โดยการชั่งทริสบัฟเฟอร์ 120 มิลลิกรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไป ไทเทรตด้วยสารละลายกรดที่เตรียมไว้จนเปลี่ยนเป็นสีเทา จดปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรต

2.4 วิธีการคำนวณ

สามารถคำนวณหาร้อยละของไนโตรเจนและร้อยละของโปรตีนในตัวอย่างได้จาก สมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละไนโตรเจน} = \frac{(S - B) \times N \times f \times 1400}{W}$$

$$\text{ร้อยละของโปรตีน} = \text{ร้อยละของไนโตรเจน} \times 5.71$$

เมื่อ S หมายถึง ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B หมายถึง ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรตแบลนด์ (มิลลิลิตร)

W หมายถึง น้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

N หมายถึง ความเข้มข้นของกรดในหน่วยนอร์มัล

f หมายถึง แฟกเตอร์ของกรดที่ใช้ในการไทเทรต ซึ่งหาได้ดังนี้

$$f = \frac{E}{121.14 \times N \times V}$$

- เมื่อ N หมายถึง ความเข้มข้นของกรดในหน่วยนอร์มัล
 V หมายถึง ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไทเทรตทริสบัฟเฟอร์ (มิลลิลิตร)
 E หมายถึง น้ำหนักของทริสบัฟเฟอร์ (มิลลิกรัม)

ก3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1990)

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec System HT2; 1045 Extraction unit)
- 3.1.2 เครื่องทำความเย็น
- 3.1.3 Extraction cup
- 3.1.4 Thimble
- 3.1.5 เดซิเคเตอร์

3.2 สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์ที่มีจุดเดือดในช่วง 40-60 °C

3.3 วิธีการวิเคราะห์

- 3.3.1 ออบ extraction cup และทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักไว้ (W_1)
- 3.3.2 ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัมลงบนกระดาษกรองและห่อให้มิดชิด บันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน (W_2) แล้วนำมาใส่ลงใน thimble
- 3.3.3 นำ thimble ใส่ลงใน extraction unit แล้วเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ จำนวน 45 มิลลิลิตร ลงใน extraction cup
- 3.3.4 นำ extraction cup เข้าไปในเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ทำการสกัดเป็นเวลา 20 นาที และทำการชะล้างเป็นเวลา 45 นาที นำ extraction cup ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อระเหยตัวอย่างออกไป ทิ้ง extraction cup ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ และชั่งน้ำหนัก (W_3)

3.4 วิธีการคำนวณ

$$\text{ร้อยละปริมาณไขมัน} = \frac{(W_3 - W_1)}{W_2}$$

เมื่อ W_1 หมายถึง น้ำหนัก extraction cup เป็นกรัม

W_2 หมายถึง น้ำหนักตัวอย่างที่วิเคราะห์ เป็นกรัม

W_3 หมายถึง น้ำหนัก extraction cup และไขมันที่สกัดได้ เป็นกรัม

ก4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

4.1.1 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)

4.1.2 เตาเผา (muffle furnace)

4.1.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

4.1.4 เดซิเตเตอร์

4.1.5 ตะเกียงเบนเสน

4.2 วิธีการวิเคราะห์

4.2.1 เเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน ทิ้งให้เย็นใน เดซิเตเตอร์ ชั่งน้ำหนัก

4.2.2 ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมลงในถ้วยกระเบื้อง นำไปเผาไล่ควันด้วยตะเกียงเบนเสน

4.2.3 นำเข้าเตาเผา เเผาที่อุณหภูมิ 550 °C จนได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา ทิ้งไว้ให้เย็นใน เดซิเตเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

4.3 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณร้อยละของเถ้าในตัวอย่าง} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100$$

- เมื่อ W_0 หมายถึง น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบเป็นกรัม
 W_1 หมายถึง น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างก่อนเผาเป็นกรัม
 W_2 หมายถึง น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างหลังเผาเป็นกรัม

ก5. การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (AOAC, 1990)

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 5.1.1 ชุดวิเคราะห์เส้นใย
- 5.1.2 ครุชชีเบิ้ล
- 5.1.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 5.1.4 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 5.1.5 เตาเผาถ่าน (muffle furnace, Gellen kamp)
- 5.1.6 เดซิเคเตอร์ (decicator)

5.2 สารเคมี

- 5.2.1 สารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.255 นอร์มัล
- 5.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.313 นอร์มัล
- 5.2.3 เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95

5.3 วิธีการวิเคราะห์

- 5.3.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างใส่ลงในครุชชีเบิ้ลให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5-3 กรัม ใช้ที่จับ จับครุชชีเบิ้ลวางลงในตำแหน่งที่บรรจุครุชชีเบิ้ลของเครื่อง Fibertec Hot Extraction Unit
- 5.2.2 กดคันโยกด้านข้างของเครื่องลง เพื่อล็อกครุชชีเบิ้ลกับเครื่อง Fibertec Hot Extraction Unit แล้วเลื่อนปุ่มบังคับที่แผงด้านข้างของเครื่องกดคันโยกด้านข้างของเครื่องลง เพื่อล็อกครุชชีเบิ้ลกับเครื่อง Fibertec Hot Extraction Unit มายังตำแหน่ง Close
- 5.3.2 เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.255 นอร์มัล ลงในคอลัมส์โดยผ่านกรวยไปถึงขีดบอกระดับ เพื่อทำการสกัดนาน 30 นาที

5.3.3 กดสวิทช์ heater ที่ด้านบนซ้ายของเครื่องปรับ heater-control ตามเข็มนาฬิกาจนเต็มสเกลจากนั้นหยุดสารป้องกันการเกิดฟอง (เช่น n-octanol) 2-3 หยด ลงในคอลัมส์

5.3.4 เมื่อสารละลายเริ่มเดือดให้ปรับระดับให้ความร้อนที่ heater-control

5.3.5 เมื่อจะทำการดูดสารละลายออกจากคอลัมส์ ให้เลื่อนปุ่มบังคับที่แผงด้านหน้าเครื่อง Fibertec Hot Extraction Unit มาที่ตำแหน่ง vacuum ให้สังเกตปุ่มบังคับที่แผงด้านหน้าของเครื่อง Fibertec cold Extraction Unit อยู่ที่ตำแหน่ง Close (Fibertec Cold Extraction Unit และ Fibertec Hot Extraction Unit ต่อกับ vacuum pump เดียวกัน)

5.3.6 เปิดก๊อกน้ำเพื่อให้เกิดการ Vacuum suction จนกรดซัลฟูริกหมดจากคอลัมส์

5.3.7 เลื่อนปุ่มบังคับที่แผงด้านหน้าเครื่องมาที่ตำแหน่ง Close

5.3.8 เติมน้ำกลั่นซึ่งต้มจนเดือดเพื่อล้างกรดให้หมด แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.313 นอร์มัล เพื่อทำการสะกดยาน 30 นาที ทำการ vacuum suction ตามขั้นตอนที่ 5.2.6-5.2.8

5.3.9 เติมหทานอลร้อยละ 95 เพื่อล้างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จนหมดเลื่อนปุ่มบังคับที่แผงด้านหน้าเครื่องมาที่ตำแหน่ง Close

5.3.10 หลังใช้เครื่องเสร็จให้เลื่อนปุ่มบังคับที่แผงด้านหน้าของเครื่องมาที่ตำแหน่ง Rest ทุกครั้ง

5.4 การหาปริมาณเส้นใยหยาบของตัวอย่าง

5.4.1 นำครุชเชิลพร้อมตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยกรดและเบสแล้วไปอบที่ 105-110 °ซ เป็นเวลา 2 ชม. ปล่อยให้เย็นในเดซิกเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนัก

5.4.2 ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง จนน้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม น้ำหนักที่ได้คือ W_1 (น้ำหนักครุชเชิล + กาก เป็นกรัม)

5.4.3 นำไปเผาที่ 600 ± 20 °ซ 30 นาที ปล่อยให้เย็นในเดซิกเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนัก

5.4.4 ทำซ้ำอีกครั้งจนน้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม น้ำหนักที่ได้คือ W_2 (น้ำหนักครุชเชิล + เถ้า เป็นกรัม)

5.5 วิธีคำนวณ

สามารถคำนวณหาปริมาณร้อยละของปริมาณเส้นใยหยาบในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละปริมาณเส้นใยหยาบ} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_0}$$

- เมื่อ W_0 หมายถึง น้ำหนักตัวอย่าง เป็นกรัม
 W_1 หมายถึง น้ำหนักครูชิเบ็ด + กาก เป็นกรัม
 W_2 หมายถึง น้ำหนักครูชิเบ็ด + เถ้า เป็นกรัม

ก6. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความหนืด (AACC, 2000)

6.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer, RVA3D, Newport Scientific Instruments & Engineering, Australia)

6.2 วิธีการวิเคราะห์

6.2.1 ตัวอย่างแป้งและสตาร์ชถั่วเขียวที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องผ่านการบดจนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าหรือเท่ากับ 0.5 มิลลิเมตร แล้วจึงนำไปหาความชื้นตามวิธี AOAC (1990) ก่อนการวิเคราะห์

6.2.2 ชั่งแป้งหรือสตาร์ชถั่วเขียวจำนวน 3 กรัมใส่ลงในอุปกรณ์ชั่งน้ำหนัก และตวงน้ำปริมาตร 25 มิลลิตร (± 0.1 มิลลิตร) ใส่ลงในถ้วยทรงกระบอก (คำนวณที่ความชื้นร้อยละ 12) แต่ถ้าตัวอย่างมีความชื้นไม่เท่ากับร้อยละ 12 สามารถคำนวณปริมาณน้ำและแป้งที่ใช้ในการวิเคราะห์ตามสูตร

$$\text{สำหรับปริมาณของแป้ง} \quad s = \frac{88 \times 3.0}{100 - M}$$

$$\text{สำหรับปริมาณน้ำ} \quad W = 25 + (3.0 - S)$$

เมื่อ S หมายถึง น้ำหนักตัวอย่างที่ปรับค่าแล้ว
 W หมายถึง น้ำหนักน้ำที่ปรับค่าแล้ว
 m หมายถึง ปริมาณความชื้นที่แท้จริงของตัวอย่าง (ร้อยละ)

6.2.3 ใส่แป้งหรือสตาร์ชตัวเขียวลงบนผิวหน้าของน้ำในถ้วยทรงกระบอก ใช้ใบพายเขย่าตัวอย่างในถ้วยทรงกระบอกขึ้นลง 10 ครั้ง แต่ถ้าแป้งหรือสตาร์ชยังคงอยู่บนผิวหน้าและติดบนใบพาย ให้เขย่าตัวอย่างซ้ำอีกครั้ง

6.2.4 ใส่ใบพายในถ้วยทรงกระบอกและสวมใบพายเข้ากับที่ยึดโดยให้ใบพายอยู่กึ่งกลางถ้วย แล้วเริ่มต้นการวิเคราะห์โดยกดมอเตอร์ของเครื่องลง และมีสิ่งที่ต้องระวังคืออย่าผสมแป้งหรือสตาร์ชกับน้ำนานกว่า 1 นาทีก่อนการวิเคราะห์ ซึ่งสถานะที่ใช้ในการวิเคราะห์ให้มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลาดังนี้

อุณหภูมิ	ระยะเวลา
(องศาเซลเซียส)	(นาที : วินาที)
50.0 (อุณหภูมิเริ่มต้น)	
50.0	1:00
95.0	4:45
95.0	7:15
50.0	11:06
สิ้นสุดการทดสอบ	12:30

โดยให้ความเร็วรอบเริ่มต้นที่ใช้ คือ 960 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วินาที แล้วจึงให้ความเร็วรอบต่อนาทีคงที่ตลอดการทดสอบ

6.2.5 บันทึกอุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืด (pasting temperature) ความหนืดสูงสุดขณะร้อน (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลง (breakdown) เป็นความแตกต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดและต่ำสุด และค่าเซตแบค (setback) เป็นความแตกต่างระหว่างความหนืดสุดท้ายและความหนืดต่ำสุด

ก7. การวัดค่าวอเตอร์แอกทिवิตี

เตรียมตัวอย่างโดยตัดเจลประกอบขนาดความกว้าง 20 มล. ความหนา 1 มล. ใส่ตัวอย่างเจลประกอบลงในถ้วยพลาสติก นำถ้วยพลาสติกใส่ใน chamber ของเครื่อง ทิ้งตัวอย่างไว้ในเครื่องจนกระทั่งสิ้นสุดการทำงาน หน้าจอเครื่องจะแสดงค่าวอเตอร์แอกทिवิตี

ตารางผนวกที่ ก1 ค่าวอเตอร์แอกทिवิตีของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

ชุดการทดลอง	ค่าวอเตอร์แอกทिवิตี
น้ำกลั่น	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	0.28±0.03
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง	0.26±0.01
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	0.27±0.01
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง	0.30±0.02
สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์	
สตาร์ชถั่วเขียวแบบธรรมชาติ	0.27±0.01
สตาร์ชถั่วเขียวแบบที่ผ่านการแช่ค้าง	0.28±0.001

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ข1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียว
ที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

Treatment	Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F	Sig.
Moisture	Treatment	3	0.292	9.733E-02	0.122	0.943
	Error	4	3.198	0.800		
	Total	7	3.490			
Protein	Treatment	3	382.076	127.359	341.926	0.000
	Error	4	1.490	0.372		
	Total	7	383.566			
Fat	Treatment	3	0.484	0.161	42.215	0.002
	Error	4	1.528E-02	3.820E-03		
	Total	7	0.499			
Fiber	Treatment	3	0.139	4.633E-02	49.478	0.001
	Error	4	3.725E-03	9.313E-04		
	Total	7	0.143			
Ash	Treatment	3	6.083	2.028	347.052	0.000
	Error	4	2.337E-02	5.843E-03		
	Total	7	6.107			
Carbohydrate	Treatment	3	432.470	144.157	353.810	0.000
	Error	4	1.630	0.407		
	Total	7	434.099			

ตารางผนวกที่ ข2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพารามิเตอร์จากเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็วของสตาร์ชหรือแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

Treatment	Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F	Sig.
อุณหภูมิในการเกิดเพสท์	Treatment	3	0.810	0.270	0.168	0.913
	Error	4	6.445	1.611		
	Total	7	7.255			
อุณหภูมิที่ทำให้เพสท์ที่มีความหนืดสูงสุด	Treatment	3	25.520	8.507	21.378	0.006
	Error	4	1.592	0.398		
	Total	7	24.112			
เวลาที่ทำให้เพสท์ที่มีความหนืดสูงสุด	Treatment	3	0.217	7.236E-02	25.586	0.005
	Error	4	1.131E-02	2.828E-03		
	Total	7	0.228			
ความหนืดสูงสุด	Treatment	3	1.7E+07	5538000.365	70.771	0.001
	Error	4	313010.6	78252.656		
	Total	7	1.7E+07			
ความหนืดต่ำสุด	Treatment	3	3821187	1273728.948	34.185	0.003
	Error	4	149037.4	37259.344		
	Total	7	3970224			
ความหนืดลดลง	Treatment	3	4827773	1609257.500	25.847	0.004
	Error	4	249046.5	62261.625		
	Total	7	5076819			
ความหนืดสุดท้าย	Treatment	3	2.0E+07	6633198.865	19.275	0.008
	Error	4	1376532	344133.031		
	Total	7	2.1E+07			
เซตแบค	Treatment	3	6823327	2274442.417	9.726	0.026
	Error	4	935399.3	233849.813		
	Total	7	7758727			

ตารางผนวกที่ ข3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนถั่วเขียวที่
ความเข้มข้นโปรตีนร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

Treatment	Source	df	SD	MD	t-test	sig (2-tailed)	95 % Confidence Interval of The Difference	
							Lower	Upper
5 %	Equal variances assumed	4	0.3424	-0.3467	-1.013	0.369	-1.2973	0.6039
10 %	Equal variances assumed	4	0.1460	-0.3300	-2.260	0.087	-0.7354	7.644E-02
15 %	Equal variances assumed	4	0.1180	-0.3133	-2.656	0.057	-0.6409	1.427E-02
20 %	Equal variances assumed	4	0.1507	-0.3933	-2.610	0.059	-0.8117	2.508E-02
25 %	Equal variances assumed	4	0.2976	-0.3800	-1.277	0.271	-1.2063	0.4463

ตารางผนวกที่ ข4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสูงของชั้นอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวอิมัลซิไฟด์โดยเติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ของน้ำหนักโปรตีน

Treatment	Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F	Sig.
10 %	Treatment	7	12.615	1.802	6.591	0.001
	Error	16	4.374	0.273		
	Total	23	16.989			
15 %	Treatment	7	12.349	1.764	31.007	0.000
	Error	16	0.910	5.689E-02		
	Total	23	13.259			

ตารางผนวกที่ ข5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสูงของชั้นน้ำมันอิสระในอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวโดยเติมน้ำมันรำข้าวความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ของน้ำหนักโปรตีน

Treatment	Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F	Sig.
10 %	Treatment	7	5.646	0.807	20.050	0.000
	Error	16	0.644	4.023E-02		
	Total	23	6.289			
15 %	Treatment	7	3.583	0.512	12.260	0.000
	Error	14	0.584	4.175E-02		
	Total	21	4.167			

ตารางผนวกที่ ข6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F	Sig.
Treatment	5	134.551	26.910	2.207	0.182
Error	6	73.171	12.195		
Total	11	207.722			

ตารางผนวกที่ ข7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสตอเรจ มอดุลัสที่อุณหภูมิกลาสทรานซิชันของโครงสร้างประกอบระหว่างโปรตีนและสตาร์ชถั่วเขียว

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F	Sig.
Treatment	5	2.945	0.589	2.647	0.134
Error	6	1.335	0.223		
Total	11	4.280			

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอภิญญา นาพรม
วัน เดือน ปี ที่เกิด	24 ธันวาคม 2524
สถานที่เกิด	จังหวัดกาฬสินธุ์
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร (2547)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	รางวัลผลงานวิจัยในระดับ “ดี” สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ในการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 45 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2550)
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	เงินทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการ ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและนานาชาติ บัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2549)