



วิทยานิพนธ์

บทบาทของเอนไซม์โปรติเอสต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของ
ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

**ROLE OF PROTEOLYTIC ENZYMES ON FUNCTIONAL
PROPERTIES OF MUNGBEAN PROTEIN PRODUCTS**

นางสาวปัทมา ผาสุธาน

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2549



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตรการอาหาร

สาขา

วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร

ภาควิชา

เรื่อง บทบาทของเอนไซม์โปรติเอสต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

Role of Proteolytic Enzymes on Functional Properties of Mungbean Protein Products

นามผู้วิจัย นางสาวปัทมา ผาสถาน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ทนง ภักร์ขันธ์, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์โชคชัย วีระกุลเกียรติ, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วาณี ชนเห็นชอบ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจอนันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 10 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

บทบาทของเอนไซม์โปรติเอสต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

Role of Proteolytic Enzymes on Functional Properties of Mungbean Protein Products

โดย

นางสาวปัทมา ภาสุถาน

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1616-3

ปีพ.ศ. ๒๕๔๙: บทบาทของเอนไซม์โปรติเอสต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์
โปรตีนจากถั่วเขียว ปรินญาวิทยาสาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)
สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ทง ภักร์ขันธ์, Ph.D. 151 หน้า
ISBN 974-16-1616-3

จากการศึกษาการดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวซึ่งมีปริมาณโปรตีน
ร้อยละ 88.27 โดยน้ำหนักแห้ง เพื่อเพิ่มความสามารถในการใช้ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจาก
ถั่วเขียวให้หลากหลายขึ้น โดยย่อยด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดได้แก่ ฟิซิน และทริปซิน สภาวะที่เหมาะสมใน
การย่อยสลายด้วยฟิซินคือ ที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 55°C ส่วนของทริปซินที่ pH 8.0 อุณหภูมิ 45°C จาก
การย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวช่วงความเข้มข้นเอนไซม์ 6 ระดับได้แก่ ร้อยละ 0.25, 0.5,
0.75, 1.0, 1.25 และ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน และระยะเวลาการย่อยสลาย 6 ระดับได้แก่
5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ปรากฏว่าระดับการย่อยสลาย (DH) ของเอนไซม์ทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้น
เมื่อความเข้มข้นเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นและมีค่ามากที่สุดที่ความเข้มข้นเอนไซม์
ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที คือ ร้อยละ 30.26 และ
18.05 ของฟิซินและทริปซิน ตามลำดับ ซึ่งฟิซินมี DH มากกว่าของทริปซิน สมบัติเชิงหน้าที่ของ
ผลิตภัณฑ์โปรตีนภายหลังการดัดแปรด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดด้านดัชนีการละลายของไนโตรเจน (NSI)
ความคงตัวของกาเกิดฟอง (FS) และความคงตัวของกาเกิดอิมัลชัน (ES) พบว่ามีเปลี่ยนแปลงไปใน
ทิศทางเดียวกันตาม DH โดยเมื่อ DH เพิ่มขึ้นทำให้ NSI เพิ่มขึ้น แต่ลด FS และ ES ลง เอนไซม์ที่ต่าง
ชนิดกันส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ด้านอื่น ๆ ได้แก่ ความสามารถในการจับน้ำ (WBC)
ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (OBC) ความสามารถในการเกิดฟอง (FC) กิจกรรมในการเกิด-
อิมัลชัน (EA) และความสามารถในการเกิดเจลไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งทริปซินทำให้สมบัติ
เหล่านี้มีค่าเพิ่มขึ้นตาม DH ที่เพิ่มขึ้น ส่วนฟิซินให้ค่า WBC และความสามารถในการเกิดเจลเพิ่มขึ้นใน
ช่วง DH ร้อยละ 3.36-22.22 และ OBC, FC และ EA เพิ่มขึ้นในช่วง DH ร้อยละ 3.36-20.70 แต่ที่ DH
สูงชันกว่านี้ (การย่อยสลายมากเกินไป) ทำให้สมบัติดังกล่าวลดลง เมื่อเปรียบเทียบสมบัติเชิงหน้าที่ของ
ผลิตภัณฑ์โปรตีนระหว่างการใชฟิซินและทริปซินในการดัดแปรพบว่าฟิซินทำให้ NSI, WBC และ
ความสามารถในการเกิดเจลดีกว่าการใช้ทริปซิน แต่ OBC, FC, FS, EA และ ES ทริปซินให้ผลดีกว่า
นอกจากนี้สมบัติเชิงหน้าที่ภายหลังการดัดแปรด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่ทุก DH เปลี่ยนแปลงดีขึ้นกว่า
ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย ยกเว้น FS และ ES ให้ผลดีกว่าในช่วง DH ต่ำร้อยละ 2.14-4.17

Pattama Phasuthan 2006: Role of Proteolytic Enzymes on Functional Properties of Mungbean Protein Products. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Thanong Pukruspan, Ph.D. 151 pages.
ISBN 974-16-1616-3

Enzymatic modification for functional properties of mungbean protein products (MPPs) (88.27% protein on dry basis) was studied. MPPs were hydrolysed with 2 different enzymes, namely: ficin and trypsin. Their optimum conditions for hydrolysis were pH 6.0 55°C and pH 8.0 45°C, respectively. Hydrolysis treatment of MPPs was conducted at 6 levels of enzyme concentration (0.25%, 0.5%, 0.75%, 1.0%, 1.25% and 1.5% w/w of protein) and 6 levels of reaction time (5, 10, 15, 20, 25 and 30 min.). Changes in degree of hydrolysis (DH) and functional properties such as solubility in term of nitrogen solubility index (NSI), water binding capacity (WBC), oil binding capacity (OBC), foaming properties as foaming capacity (FC) and foaming stability (FS), emulsion properties as emulsion activity (EA) and emulsion stability (ES) and gelation were determined. The DH of MPPs which modified with 2 enzymes increased as enzyme concentration and reaction time increased. The highest DH (30.26% for ficin and 18.05% for trypsin) was observed at 1.5% (w/w of protein) concentration for 30 min. of both enzymes. The DH by ficin was higher than those by trypsin. Some properties of modified MPPs by both enzymes were similar in some cases, such as NSI, FS and ES. NSI which increased along with the DH whereas FS and ES decreased. However, WBC, OBC, FC, EA and gelation properties of modified MPPs exhibited differently depend on the types of enzyme. The trypsin resulted these functional properties increased with the DH. Those by ficin, WBC and gelation properties were increased as the DH was carrying on during 3.36-22.22% whereas OBC, FC and EA increased as carrying on during 3.36-20.70%. But at a higher level of DH (intensive hydrolysis), made these properties decreased. As comparison the functional properties of modified MPPs by ficin and trypsin hydrolysis, the results showed that the ficin gave better NSI, NBC and gelation properties than trypsin but OBC, FC, FS, EA and ES of trypsin showed better results than the ficin. Modified MPPs showed better functional properties than the original MPPs in most levels of DH, except FS and ES, which gave better results at low levels of DH ranging from 2.14-4.17%.

P. Phasuthan

Student's signature

T. Pukruspan

Thesis Advisor's signature

3 / May / 2006

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ทง ภักร์ชพันธุ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับความเมตตา แนวทางการดำเนินงานวิจัย คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างมากทั้งต่องานวิจัยและการศึกษาในระดับปริญญาโท ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา รวมทั้งเสียสละเวลาตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย ชีรกุลเกียรติ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วณิ ชนเห็นชอบ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย สุวรรณสิขณน์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำข้อคิดเห็นถึงสิ่งที่ควรปรับปรุงเพื่อความถูกต้องและสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณครูและอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและประสาทวิชาความรู้แก่ข้าพเจ้าตั้งแต่เด็กจนกระทั่งถึงปัจจุบัน

ขอขอบคุณบริษัท อีสเอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ฟิซิน

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่านสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือในทุกด้าน

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบคุณความสำเร็จและส่วนดีของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ต่อคุณพ่อ คุณแม่ ผู้ซึ่งมอบความรัก ความเข้าใจ ความทุ่มเททั้งแรงกายและแรงใจ และกำลังใจทรัพย์ เพื่อให้ข้าพเจ้าได้รับการศึกษาและความรู้ซึ่งเป็นสมบัติที่มีค่ายิ่ง รวมทั้งญาติพี่น้อง ผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้เอื้อนนามสำหรับกำลังใจและความห่วงใยตลอดมา

ปีทมา ศาสถาน

เมษายน 2549

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(9)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	29
อุปกรณ์	29
วิธีการ	30
สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย	33
ผลและวิจารณ์	34
สรุป	74
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	77
ภาคผนวก	87
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	88
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์โปรตีน	93
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีน	95
ภาคผนวก ง ผลการทดลอง	99
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ทางสถิติ	134
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	151

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วเขียว	5
2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกาย (กรัมต่อ 16 กรัมไนโตรเจน) ของเมล็ดถั่วเขียว โปรตีนถั่วเขียวไฮโซเลท และมาตรฐาน FAO/WHO	7
3 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก	34
4 องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่สกัดจากเมล็ด ถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก	36
5 ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	67
6 ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	68
7 ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	69
8 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีน จากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	70
 ตารางผนวกที่	
ง1 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ	100
ง2 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ	100

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
๖3 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	101
๖4 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	102
๖5 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	103
๖6 คำนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	104
๖7 คำนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	105
๖8 คำนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	106
๖9 ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	107
๖10 ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง20 ความคงตัวของกาเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	118
ง21 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	119
ง22 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา การย่อยสลายต่าง ๆ	120
ง23 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	121
ง24 ความคงตัวของกาเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	122
ง25 ความคงตัวของกาเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	123
ง26 ความคงตัวของกาเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	124
ง27 ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถ เกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	125

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง28	ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ126
ง29	ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ127
ง30	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ128
ง31	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ129
ง32	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ130
ง33	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ131
ง34	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ132
ง35	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ133

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
จ1 การวิเคราะห์ทางสถิติระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ	135
จ2 การวิเคราะห์ทางสถิติระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ	135
จ3 การวิเคราะห์ทางสถิติระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	136
จ4 การวิเคราะห์ทางสถิติดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	137
จ5 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	138
จ6 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	139
จ7 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	140
จ8 การวิเคราะห์ทางสถิติความคงตัวของการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	141
จ9 การวิเคราะห์ทางสถิติกิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	142

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
จ10 การวิเคราะห์ทางสถิติความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	143
จ11 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	144
จ12 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	145
จ13 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	146
จ14 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	147
จ15 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	148
จ16 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	149
จ17 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ	150

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	แบบจำลองการดูดซับที่รอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมันโดยโมเลกุลโพรตีน18
2	แบบจำลองการดูดซับของโมเลกุลโพรตีนบนอนุภาคของเม็ดน้ำมัน และแรงผลักดันเชิงรีก19
3	แบบจำลองการเกิดฟองโดยโมเลกุลโพรตีน20
4	ลักษณะการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส22
5	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่างๆ39
6	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ39
7	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ41
8	ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ44
9	ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโพรตีน) ของผลิตภัณฑ์โพรตีนจาก ถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ47
10	ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโพรตีน) ของผลิตภัณฑ์โพรตีน จากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ50
11	ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ53

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
12	ความคงตัวของการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ55
13	กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ59
14	ความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน การย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้น ของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ60
15	ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถ เกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา การย่อยสลายต่าง ๆ63
16	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับ ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ66
17	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย ด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ73

บทบาทของเอนไซม์โปรติเอสต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

Role of Proteolytic Enzymes on Functional Properties of Mungbean Protein Products

คำนำ

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์โปรตีนจากพืชได้รับความนิยมใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเนื่องจากผลิตภัณฑ์โปรตีนจากพืชมีปริมาณมาก ราคาถูก และมีสมบัติเชิงหน้าที่เฉพาะ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณลักษณะที่ดี เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และ/หรือเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์อาหาร (Sánchez-Vioque *et al.*, 1999)

ถั่วเขียวจัดเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีปริมาณโปรตีนอยู่ค่อนข้างสูงคือ ร้อยละ 19.1-28.3 ของน้ำหนักแห้งโดยแปรผันตามสายพันธุ์และแหล่งที่ปลูก (Duke, 1981) มีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายคล้ายคลึงกับถั่วเหลืองและมาตรฐานกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกายของผู้ใหญ่ซึ่งแนะนำโดย FAO/WHO (El-Adawy, 1996; Sathe, 1996) นิยมนำส่วนของคาร์โบไฮเดรตมาผลิตแปรรูปถั่วเขียว แป้งสตาร์ชหรือแป้งข้าวจ้าว และวุ้นเส้น (สมชาย, 2534) ทำให้เหลือส่วนของโปรตีนปริมาณมาก แต่การนำส่วนของโปรตีนนี้มาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนเพื่อใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารยังอยู่ในวงจำกัด และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในประเทศไทยยังไม่แพร่หลายเหมือนโปรตีนถั่วเหลืองแม้ว่าถั่วเขียวคือพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย

ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่นำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารส่วนมากอยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นและผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลต โดยโปรตีนเป็นสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการและยังมีบทบาทสำคัญต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหารทั้งทางด้านสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส ซึ่งสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเช่น สมบัติการละลาย การเกิดอิมัลชัน การเกิดฟอง และการเกิดเจล มีบทบาทอย่างมากต่อคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร (Damodaran, 1997) จากงานวิจัยของ Thompson (1977) และ El-Adawy (2000) พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีสมบัติเชิงหน้าที่บางประการที่สามารถดัดแปรเพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายขึ้นเช่น สมบัติการละลายของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีค่าต่ำในช่วง pH เป็นกรดเล็กน้อย (pH 4-5) ทำให้เป็นข้อจำกัดของการใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภท

เครื่องคั่วที่เป็นกรด นมเปรี้ยว และโยเกิร์ต เป็นต้น ทั้งยังอาจมีผลทำให้สมบัติเชิงหน้าที่ด้านอื่น ๆ ค่อยลงด้วย ซึ่งวิธีการดัดแปรโปรตีนแบ่งได้เป็นวิธีทางเคมี การใช้ความร้อน และการใช้เอนไซม์ โปรติเอส (Vojdani and Whitaker, 1994) โดยวิธีการใช้เอนไซม์ได้รับความนิยมในการดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนชนิดต่าง ๆ เนื่องจากสภาวะการเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง มีความจำเพาะเจาะจงต่อซับสเตรต ไม่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการ และผู้บริโภคให้การยอมรับ (Alder-Nissen, 1986; Qi *et al.*, 1997) Chan and Ma (1999) ดัดแปรสมบัติการละลายความสามารถในการจับน้ำ และสมบัติการเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจากกากถั่วเหลือง (okara) ด้วยเอนไซม์ทริปซินโดยให้ระดับการย่อยสลายร้อยละ 5-14 ส่วน Vioque *et al.* (2000) ใช้เอนไซม์อัลคาเลส (alcalase) ย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจาก rapeseed อย่างจำกัด (ระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.1-7.7) สามารถดัดแปรความสามารถในการจับน้ำ ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน สมบัติการเกิดฟองและความคงตัว และสมบัติการเกิดอิมัลชัน และความคงตัว ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทดลองดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยการใช้เอนไซม์โปรติเอส 2 ชนิดคือ เอนไซม์ฟิซิน และเอนไซม์ทริปซินย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว โดยมีเป้าหมายเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ถั่วเขียว เพิ่มความสามารถในการใช้ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวให้หลากหลายมากขึ้น และยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. คัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน
2. ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวภายหลังผ่านการคัดแปรด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

การตรวจเอกสาร

1. ถั่วเขียว

ถั่วเขียว (mungbean, green gram หรือ golden gram) จัดเป็นพืชล้มลุกตระกูลถั่ว ประเภท ใบเลี้ยงคู่ อยู่ในแฟมิลี Fabaceae หรือ Leguminosae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์หลายชื่อเช่น *Vigna radiata* (L.) Wilczek, *Vigna aureus* (Roxb.) Hepper, *Phaseolus aureus* Roxb. หรือ *Phaseolus radiatus* L. แหล่งกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย ปัจจุบันนิยมปลูกกันในหลายประเทศแถบทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แอฟริกา จีน และสหรัฐอเมริกา (Sathe, 1996) ถั่วเขียวเป็นพืชอายุสั้น ปลูกง่าย สามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีปริมาณความชื้นจำกัดและสภาพภูมิอากาศต่าง ๆ (Adsule *et al.*, 1970) เมล็ดมีรูปร่างกลมคล้ายรูปไต หลากหลายสีโดยขึ้นกับลักษณะสายพันธุ์เช่น สีเขียว สีเขียวปนดำ สีดำ หรือสีน้ำตาล สายพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยสามารถแบ่งได้ 4 ชนิด ตามรูปร่าง ลักษณะเมล็ด และสีของเปลือกคือ (เพิ่มพูน, 2531; จินตนา และคณะ, 2538)

1.1 ถั่วเขียวธรรมดาหรือถั่วเขียวเมล็ดด้าน มีผลผลิตต่อไร่คือ 300-350 กิโลกรัมต่อไร่ นิยมใช้ผลิตถั่วงอก วุ้นเส้น และส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ

1.2 ถั่วทองหรือถั่วเขียวสีทอง สายพันธุ์นี้มีสีของเปลือกและเนื้อภายในเป็นสีเหลืองหรือสีทอง นิยมใช้ผลิตขนมเช่น ขนมถั่วแปบ เต้าส่วน และเม็ดยก เพราะมีสีเหลืองน่ารับประทาน

1.3 ถั่วเขียวผิวมันเมล็ดใหญ่ได้แก่ พันธุ์กำแพงเพชร 1 กำแพงเพชร 2 ชัยนาท 72 ชัยนาท 36 และอุทอง 1 ลักษณะเมล็ดเป็นมันและมีขนาดเมล็ดโตกว่าสายพันธุ์อื่น ผลผลิตต่อไร่คือ 250-300 กิโลกรัมต่อไร่ นิยมส่งออกจำหน่ายยังประเทศสิงคโปร์ ส่องกง อินโดนีเซีย จีน อินเดีย และอังกฤษ

1.4 ถั่วเขียวผิวดำได้แก่ พันธุ์อุทอง 2 และพิษณุโลก 2 สีของเปลือกเป็นสีดำ สมัยก่อนไม่นิยมปลูกในประเทศไทยแม้ว่าจะให้ผลผลิตต่อไร่สูงและปลูกง่าย เนื่องจากเมื่อนำมาผลิตอาหารแล้วให้รสชาติไม่ดีจึงใช้เป็นอาหารสัตว์หรือปุ๋ย แต่ในปัจจุบันใช้ผลิตถั่วงอกส่งออกจำหน่ายยังประเทศญี่ปุ่น

2. ลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว

โครงสร้างของเมล็ดถั่วเขียวมีองค์ประกอบสำคัญ 3 ส่วนคือ เปลือกนอก (seed coat หรือ hull) ใบเลี้ยง (cotyledon) และต้นอ่อน (hypocotyl) ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 12.1 ร้อยละ 85.6 และ ร้อยละ 2.3 ของเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ (Singh *et al.*, 1968)

Sood *et al.* (1982) ศึกษาความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวจำนวน ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ พบว่าแต่ละองค์ประกอบมีค่าอยู่ในช่วงต่าง ๆ ดังนี้คือ ปริมาณความชื้น ร้อยละ 8.40-9.30 โปรตีนร้อยละ 23.92-27.77 ไขมันร้อยละ 1.10-2.27 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 57.34-61.38

สมชาย (2531) ศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วเขียว (ตารางที่ 1) พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองมีปริมาณ โปรตีนและไขมันมากกว่าเมล็ดถั่วเขียว แต่ปริมาณ คาร์โบไฮเดรตน้อยกว่า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วเขียว

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)	เมล็ดถั่วเหลือง	เมล็ดถั่วเขียว
โปรตีน	40.00	25.98
ไขมัน	21.04	1.30
เถ้า	4.79	3.80
คาร์โบไฮเดรต	28.76	64.12
เส้นใยทั้งหมด	5.41	4.79

ที่มา: คัดแปลงจากสมชาย (2531)

อรอนงค์และคณะ (2531) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวโดยใช้สายพันธุ์ที่ ได้รับการปรับปรุงจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์จำนวน 20 สายพันธุ์ พบว่ามีปริมาณความชื้น ร้อยละ 6.98-9.45 โปรตีนร้อยละ 19.00-23.70 ไขมันร้อยละ 1.04-1.37 เถ้าร้อยละ 3.80-4.71 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 59.80-65.70 และเส้นใยร้อยละ 0.82-3.24

Amarteifio and Moholo (1998) ใช้เมล็ดถั่วเขียวที่ปลูกในประเทศบอตสวานา (Botswana) เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยได้ผลการศึกษาดังนี้ ถั่วเขียวมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 26.37 ไขมันร้อยละ 1.10 เส้นใยร้อยละ 4.30 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 59.80 และเส้นใยร้อยละ 4.30 นอกจากนี้การศึกษาถึงองค์ประกอบของเกลือแร่พบปริมาณโพแทสเซียมมากที่สุด 1093 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด รองลงมาคือฟอสฟอรัส แคลเซียม เหล็ก และโซเดียมปริมาณ 304, 88, 4.5 และ 3.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ

2.1 โปรตีน สะสมอยู่ภายในเมล็ดและเกาะรวมกันเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดเช่นเดียวกับไขมัน เรียกกลุ่มของโปรตีนลักษณะคล้ายเม็ดว่า protein bodies (Jacks *et al.*, 1967) โปรตีน ประกอบด้วยกรดอะมิโนโดยถั่วเขียวประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกาย (essential amino acids) ครบทุกชนิด ซึ่งมีกรดอะมิโนลิวซีน (leucine) และไลซีน (lysine) มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกายของผู้ใหญ่ที่แนะนำโดย FAO/WHO พบว่าโปรตีนถั่วเขียวมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกายมากกว่ามาตรฐานของ FAO/WHO แต่มีปริมาณของกรดอะมิโนทริปโตเฟน (tryptophan) และกรดอะมิโนกลุ่มที่มีสารกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (sulfur-containing amino acids) คือ เมไทโอนีน (methionine) ต่ำกว่า (ตารางที่ 2) ทำให้โปรตีนถั่วเขียวมีข้อจำกัดด้านคุณค่าทางโภชนาการ (limiting amino acid) (Coffmann and Garcia, 1977; Sathe, 1996)

2.2 ไขมัน เมล็ดถั่วเขียวสะสมไขมันอยู่ภายในเมล็ดและเกาะรวมกันเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายเม็ดเรียกว่า spherosomes มีปริมาณต่ำคือ ร้อยละ 2.14-3.00 โดยแตกต่างกันตามสายพันธุ์ แหล่งกำเนิด สถานที่ปลูก ฤดูกาล สภาพภูมิอากาศ และสภาวะการเพาะปลูก (Worthington *et al.*, 1972)

Sathe (1996) รายงานองค์ประกอบของไขมันในเมล็ดถั่วเขียวคือ กรดไขมัน ซึ่งมีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) ร้อยละ 27.7 ของปริมาณไขมันทั้งหมด และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มากที่สุด ร้อยละ 72.8 ของปริมาณไขมันทั้งหมด โดยกรดไขมันอิ่มตัว ประกอบด้วยกรดพาล์มติก (palmitic acid) ร้อยละ 14.1 และกรดสเตียริก (stearic acid) ร้อยละ 4.3 ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวประกอบด้วยกรดโอเลอิก (oleic acid) ร้อยละ 20.8 กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) ร้อยละ 16.3 และกรดลิโนเลนิก (linolenic acid) ร้อยละ 35.7 ซึ่งจัดว่ากรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกเป็นกรดไขมันหลักในเมล็ดถั่วเขียว

Lee and Lim (1997) ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในเมล็ดถั่วเขียว 9 สายพันธุ์ พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 33.0-40.0 มีกรดพาล์มิติกร้อยละ 21.72 และกรดสเตียริกร้อยละ 5.88 เป็นองค์ประกอบ ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีปริมาณร้อยละ 60.0-67.0 ประกอบด้วยกรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก ร้อยละ 5.98 33.46 และ 21.87 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกาย (กรัมต่อ 16 กรัมไนโตรเจน) ของ เมล็ดถั่วเขียว โปรตีนถั่วเขียวไฮโซเลท และมาตรฐาน FAO/WHO

ชนิดกรดอะมิโน	เมล็ดถั่วเขียว	โปรตีนถั่วเขียวไฮโซเลท	มาตรฐาน FAO/WHO
อาร์จินีน (arginine)	6.3	7.0	-
ฮิสติดีน (histidine)	2.7	2.5	-
ไอโซลิวซีน (isoleucine)	6.3	5.5	4.2
ลิวซีน (leucine)	7.7	9.3	4.8
ไลซีน (lysine)	7.3	6.8	4.2
เมไทโอนีน (methionine)	1.5	1.3	2.2
ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine)	5.3	6.8	2.8
เทรโอนีน (threonine)	3.4	1.8	2.8
ทริปโตเฟน (tryptophan)	0.4	-	1.4
แวลีน (valine)	6.9	6.7	4.2

ที่มา: ดัดแปลงจาก Coffmann and Garcia (1977) และ Sathe (1996)

2.3 คาร์โบไฮเดรต ในเมล็ดถั่วเขียวสามารถจำแนกคาร์โบไฮเดรตได้เป็นน้ำตาลและ พอลิแซ็กคาไรด์โดยปริมาณแตกต่างกันตามสายพันธุ์ สภาพการเพาะปลูก และตำแหน่งที่อยู่ภายใน เมล็ด (Adsule *et al.*, 1970) ชนิดของน้ำตาลนั้นมีทั้งโมโนแซ็กคาไรด์เช่น น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 0.05 โอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดไดแซ็กคาไรด์เช่น น้ำตาลซูโครสร้อยละ 0.3-2.0 และไตรแซ็กคาไรด์ เช่น น้ำตาลราฟิโนส (raffinose) ร้อยละ 0.3-2.6 น้ำตาลสตาคิโอส (stachyose) ร้อยละ 1.2-2.8 และน้ำตาลเวอร์บาสโกส (verbascose) ร้อยละ 1.7-3.8 (Naivikul and D'Applonia, 1978; Reddy, *et al.*, 1984) สำหรับพอลิแซ็กคาไรด์แบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ ส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์ที่เก็บไว้ภายใน

เมล็ด (storage polysaccharide) และส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทำหน้าที่เป็น โครงสร้าง (structural polysaccharide) ซึ่งส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์ที่เก็บไว้ในเมล็ดคือ สตาร์ชร้อยละ 37.0-53.6 ที่ประกอบด้วยเอมิโลเพกทิน (amylopectin) ร้อยละ 70-80 ของปริมาณสตาร์ชทั้งหมด และเอมิโลส (amylose) ร้อยละ 20-28 ของปริมาณสตาร์ชทั้งหมด สำหรับส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างคือ เส้นใยหยาบ (crude fiber) ร้อยละ 1.2-12.8 ประกอบด้วยลิกนิน (lignin) ร้อยละ 2.2-7.2 ของปริมาณเส้นใยทั้งหมด เซลลูโลส (cellulose) ร้อยละ 2.5-4.6 ของปริมาณเส้นใยทั้งหมด และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ร้อยละ 0.3-9.1 ของปริมาณเส้นใยทั้งหมด (Daisy, 1979; Reddy, *et al.*, 1984)

2.4 กลีออแร่ เมล็ดถั่วเขียวจัดเป็นแหล่งกลีออแร่ที่ดี มีปริมาณโพแทสเซียม 1132-1296 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด ฟอสฟอรัส 280-464 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด แคลเซียม 105-140 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด และเหล็ก 4.0-8.4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด ความแตกต่างของปริมาณกลีออแร่ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และตำแหน่งที่อยู่ภายในเมล็ดเช่น แคลเซียมพบมากที่สุดในเปลือกนอก รองลงมาคือ ดันอ่อน และใบเลี้ยง ขณะที่โพแทสเซียมพบมากที่ดันอ่อน เป็นต้น (Singh *et al.*, 1968; Adsule *et al.*, 1970)

2.5 วิตามิน ประกอบด้วยวิตามินบี 1 (thiamin) วิตามินบี 2 (riboflavin) และไนอาซิน (niacin) ปริมาณมากคือ ร้อยละ 0.08-0.68, 0.24-0.50 และ 1.10-2.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ (Adsule *et al.*, 1970)

3. โปรตีนถั่วเขียว

3.1 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเขียว เมื่อพิจารณาตามโครงสร้างของโปรตีน พบว่าโปรตีนถั่วเขียวเป็นโปรตีนประเภทกลอบูลาร์โปรตีน (globular protein) ประกอบด้วยส่วนของโปรตีนที่เก็บไว้ในเมล็ด (storage proteins) และส่วนที่เป็นเมแทบอลิกโปรตีน (metabolic proteins) เล็กน้อย ซึ่งส่วนที่เป็นเมแทบอลิกโปรตีนทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมระหว่างการพัฒนาของเมล็ด สำหรับส่วนของโปรตีนที่เก็บไว้ในเมล็ดประกอบด้วยโปรตีน 3 ชนิดคือ โปรตีนกลอบูลิน (globulin) ปริมาณมากที่สุดโดยสามารถละลายได้ด้วยสารละลายเกลือเจือจาง โปรตีนอัลบูมิน (albumin) ละลายได้ด้วยน้ำ และโปรตีนกลูเตลิน (glutelin) ละลายด้วยสารละลายกรดหรือด่างเจือจาง ซึ่งโปรตีนทั้งสามชนิดนี้มีปริมาณร้อยละ 70, 15-20 และ 15-10 ของส่วนของโปรตีนที่เก็บไว้ในเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ (Sathe *et al.*,

1984; Poehlman, 1991) องค์ประกอบของโปรตีนกลอบูลินของถั่วเขียวสามารถแบ่งได้ 2 ชนิดคือ โปรตีนเลกูมิน (legumin) และโปรตีนวิซิลิน (vicillin) มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอน (sedimentation coefficient: S) เป็น 11S และ 7S-8S ตามลำดับ ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนกลุ่มกรด (acidic amino acids) ในปริมาณสูง แต่มีกรดอะมิโนกลุ่มที่มีสารกำมะถันเป็นองค์ประกอบปริมาณน้อย ค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็นค่าที่แสดงอัตราเร็วของการตกตะกอนโดยคำนวณขึ้นอยู่ กับขนาดและรูปร่างของโมเลกุลโปรตีน ตัวย่อ S มีค่าเท่ากับ 1×10^{-13} วินาที เรียกว่า Svedberg Unit ดังนั้นโปรตีนเลกูมินและโปรตีนวิซิลินมีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเท่ากับ 11×10^{-13} วินาที และ 7×10^{-13} - 8×10^{-13} วินาที ตามลำดับ (Whitaker, 1972; Ericson and Chrispeels, 1973; Poehlman, 1991)

Ericson and Chrispeels (1973) รายงานว่าโปรตีนถั่วเขียวประกอบด้วยโปรตีนกลอบูลินชนิดโปรตีนเลกูมินและโปรตีนวิซิลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 8S ปริมาตรร้อยละ 15 และ 85 ของโปรตีนกลอบูลินทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่งองค์ประกอบของโปรตีนเลกูมินนั้นมีหน่วยย่อย (subunit) ทั้งหมด 3 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุล 56000, 44000 และ 16500 ทั้งยังมีกลูโคซามีน (glucosamine) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 1 ส่วนโปรตีนวิซิลินประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย มีน้ำหนักโมเลกุล 63500, 50000, 29500 และ 24000 รวมทั้งกลูโคซามีนร้อยละ 0.2 และน้ำตาลแมนโนส (mannose) ร้อยละ 1

Ericson (1975) ศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนวิซิลินจากโปรตีนถั่วเขียว ซึ่งประกอบด้วย 4 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุล 63500, 50000, 29000 และ 24000 ทั้งยังมีคาร์โบไฮเดรต 1 กลุ่มต่ออยู่ที่ปลายอะมิโน (N-terminal) ของกรดอะมิโนแอสพาราจีน (asparagine) โดยองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตคือ กลูโคซามีน และน้ำตาลแมนโนส

Derbyshire and Boulter (1976) ศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนเลกูมินจากถั่วเขียว โดยการหมุนเหวี่ยงเร็วยิ่งยวด (ultracentrifugation) พบว่าโปรตีนเลกูมินมีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเท่ากับ 11×10^{-13} วินาที โดยมี 3 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุล 37000, 34000 และ 20000

Mendoza *et al.* (2001) ศึกษาองค์ประกอบโปรตีนกลอบูลินของถั่วเขียวด้วย gel electrophoresis (SDS-PAGE) พบว่าโปรตีนกลอบูลินประกอบด้วยโปรตีนเลกูมินและโปรตีน

วิชิลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 7S-8S โดยโปรตีนเลกูมินมีน้ำหนักโมเลกุล 360000 ปริมาตรร้อยละ 7.6 ของโปรตีนกลอบูลินทั้งหมด ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย น้ำหนักโมเลกุล 40000 และ 24000 โปรตีนวิชิลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 7S มีน้ำหนักโมเลกุล 135000 ปริมาตรร้อยละ 3.4 ของโปรตีนกลอบูลินทั้งหมด ที่มี 2 หน่วยย่อย น้ำหนักโมเลกุล 28000 และ 16000 ส่วนโปรตีนวิชิลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 8S มีน้ำหนักโมเลกุล 200000 ปริมาตรร้อยละ 89 ของโปรตีนกลอบูลินทั้งหมด ที่มี 4 หน่วยย่อย น้ำหนักโมเลกุล 60000, 48000, 32000 และ 26000 สำหรับการศึกษาความสามารถในการละลายของโปรตีนเหล่านี้ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-0.4 โมลาร์ แสดงให้เห็นว่าโปรตีนเลกูมินสามารถละลายด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.35 โมลาร์ โปรตีนวิชิลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 7S ละลายที่ความเข้มข้น 0.15 โมลาร์ ส่วนโปรตีนวิชิลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 8S ละลายได้ที่ความเข้มข้นหลายระดับ

3.2 ผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียว ส่วนใหญ่โปรตีนถั่วเขียวเป็นโปรตีนกลอบูลินที่มีสมบัติละลายน้ำได้น้อยที่สุดที่ pH 4.5 เรียกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point: pI) เหมือนกับโปรตีนถั่วเหลือง จากสมบัติดังกล่าวทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวโดยใช้หลักการเดียวกับการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลือง แต่อาจมีความแตกต่างกันบ้างด้านปริมาณโปรตีนที่ผลิตได้ (สมชาย, 2528; Shehata and Thannoun, 1981)

ผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวสามารถเป็นผลออกมาในรูปของโปรตีนเข้มข้น (protein concentrates) และโปรตีนไอโซเลท (protein isolates) ซึ่งโปรตีนเข้มข้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่แยกส่วนของน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ (เช่น น้ำตาลซูโครส น้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสตาคีโอส) และสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเช่น เปปไทด์ (peptide) และกรดไฟติก (phytic acid) ออกจากวัตถุดิบส่งผลให้โปรตีนเข้มข้นที่ผลิตได้มีองค์ประกอบอื่นอยู่ด้วยนอกจากโปรตีน ดังนั้นโปรตีนเข้มข้นจึงมีปริมาณโปรตีนอยู่ร้อยละ 70 หรือสูงกว่า สามารถสกัดได้โดยใช้สารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 60-80 สารละลายกรดเจือจางที่มี pH 4.5 และการใช้ไอน้ำหรือน้ำร้อน (Wolf, 1977) ส่วนโปรตีนไอโซเลทเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือมากกว่าร้อยละ 90 เพราะใช้ความร้อนต่ำที่สุดในการสกัดโดยใช้สารละลายต่างเจือจางในช่วง pH 7.0-9.0 เพื่อแยกส่วนโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำออกโดยการหมุนเหวี่ยง (centrifuge) เหลือส่วนของน้ำตาลและโปรตีนที่ละลายน้ำซึ่งจะนำส่วนที่เหลือนี้มาตกตะกอนโปรตีนด้วยสารละลายกรด pH 4.5 และหมุนเหวี่ยงโปรตีนออกจากน้ำตาล โปรตีนบางส่วน กลีโกลเปปไทด์ และสารประกอบที่มีปริมาณเล็กน้อยอื่น ๆ หลังจากนั้นล้างตะกอนโปรตีนด้วยน้ำ ทำให้

ความเข้มข้นขึ้นและทำแห้ง บางครั้งอาจปรับ pH ให้เป็นกลาง (neutralizing) ก่อนการทำแห้งซึ่งการทำแห้งมีหลายวิธีเช่น การใช้ตู้อบแห้ง เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง แต่ที่นิยมมากคือ เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย เพราะทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทละลายน้ำได้ดีและสามารถเกิดการรวมตัวกันได้ง่าย (Meyer, 1971) โดยปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดโปรตีนทั้งทางด้านปริมาณผลผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนได้แก่ ขนาดอนุภาคของวัตถุดิบ อุณหภูมิ pH อัตราเร็วและระยะเวลาในการสกัด กำลังไอออนิก (ionic strength) ของสารสกัด อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อสารสกัด และชนิดของสารสกัด เป็นต้น (Kinsella, 1976)

Coffmann and Garcia (1977) สกัดโปรตีนถั่วเขียวไอโซเลทโดยการใช้อัตราส่วนระหว่างแป้งถั่วเขียวต่อสารสกัด (สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.001 นอร์มัล) เป็น 1 ต่อ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนทุก 15 นาที นาน 1 ชั่วโมง แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกสารละลายโปรตีน หลังจากนั้นตกตะกอนด้วยการปรับ pH สารละลายโปรตีนเป็น 4.4-4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 นอร์มัล แยกตะกอนโปรตีนออกมาปรับ pH ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 นอร์มัลให้เป็นกลางช่วง pH 6.8-7.0 และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง ได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 92.83 โดยน้ำหนักแห้ง พบองค์ประกอบของกรดอะมิโนเช่นเดียวกับกรดอะมิโนในแป้งถั่วเขียวแต่มีปริมาณแตกต่างกันเล็กน้อย และผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทไม่พบกรดอะมิโนซิสทีน (cystine) ซึ่งคาดว่าอาจเกิดการย่อยสลายด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (สารละลายด่าง) ระหว่างขั้นตอนการผลิต

Thompson (1977) ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจากแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการบดแห้ง พบว่าสถานะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ใช้อัตราส่วนระหว่างแป้งถั่วเขียวต่อสารสกัด (น้ำ) เป็น 1 ต่อ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับ pH 9.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นปรับ pH เป็น 4.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มัลเพื่อตกตะกอนโปรตีนและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง ผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 92 โดยน้ำหนักแห้ง ประกอบด้วยกรดอะมิโนไลซีนปริมาณมาก แต่มีปริมาณกรดอะมิโนเมไทโอนีน และซิสทีนปริมาณน้อยที่สุด มีความสามารถละลายน้ำได้มากที่สุดที่ pH ห่างจากจุดไอโซอิเล็กทริก เมื่อนำผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทนี้เติมลงในผลิตภัณฑ์ขนมปังเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการนั้นพบว่าสามารถเติมได้ถึงร้อยละ 10 ของส่วนผสมทั้งหมด โดยขนมปังมีคุณภาพดีและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

สมชาย (2528) ศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นและผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวไอโซเลทจากสารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้น โดยทดลองผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นจากสารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้น 4 วิธีคือ วิธีที่ 1 ทำแห้งสารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย กำหนดอุณหภูมิร้อนเข้า 190°C และอุณหภูมิร้อนออก 80°C วิธีที่ 2 ปรับ pH สารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นเป็น 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 นอร์มัล ก่อนการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย วิธีที่ 3 ปรับ pH สารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นเป็น 9.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 นอร์มัล เพื่อเพิ่มการละลายของโปรตีน แล้วแยกตะกอนทิ้งโดยการหมุนเหวี่ยงและนำสารละลายมาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย วิธีที่ 4 ปรับ pH สารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นเป็น 9.5 แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของสารละลายและตะกอน นำตะกอนนี้ผสมน้ำจำนวน 100 มิลลิลิตรและปรับ pH เป็น 9.5 และหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง หลังจากนั้นรวมส่วนของสารละลายที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงทั้งสองครั้งมาปรับ pH ให้เป็นกลางด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกก่อนการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย จากการศึกษาพบว่าการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นจากสารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นด้วยวิธีที่ 4 เหมาะสมที่สุดเพราะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 74.0 โดยน้ำหนักแห้ง ทั้งยังให้ลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคให้การยอมรับทั้งด้านสี และกลิ่น ส่วนการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวไอโซเลทจากสารละลายของเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นเริ่มจากปรับ pH สารละลายเป็น 9.5 หมุนเหวี่ยงแยกตะกอนเพื่อนำตะกอนมาสกัดอีกครั้งโดยการผสมกับน้ำและปรับ pH 9.5 แล้วแยกตะกอนทิ้งไปโดยการหมุนเหวี่ยง นำสารละลายโปรตีนที่ได้มารวมกันแล้วปรับ pH 4.5 หมุนเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีนเพื่อนำมาปั่นผสมกับน้ำในเครื่องปั่นผสม ปรับ pH เป็นกลาง กรองผ่านผ้าขาวบาง และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวไอโซเลทที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 92.87 โดยน้ำหนักแห้ง

อรอนงค์และคณะ (2531) ผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนจากแป้งถั่วเขียวแบบบดแห้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้สารละลายเกลือโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เป็นสารสกัด ในอัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อสารสกัด 1 ต่อ 40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนผสมนาน 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วหมุนเหวี่ยงแยกสารละลายโปรตีนมาปรับ pH 4.0 ก่อนหมุนเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อแยกตะกอนโปรตีนและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง ผลิตภัณฑ์โปรตีนมีปริมาณโปรตีนช่วงร้อยละ 70-77

Ko *et al.* (1994) ศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวจากน้ำทิ้งของกระบวนการผลิตแป้งด้วยวิธีการกรองโดยเยื่อเมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) เพราะกระบวนการผลิตแป้งจากถั่วเขียวมีการสูญเสียโปรตีนไปกับน้ำทิ้งถึงร้อยละ 80 ลักษณะเมมเบรนที่ใช้เป็นแบบแผ่นม้วน (spiral wound) มีความสามารถกรองสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล 30000 และ 500000 หรือเรียกว่ามี molecular weight cut off (MWCO) 30000 และ 500000 สภาวะที่ใช้ในการกรองคือ อุณหภูมิ 40°C ความดัน 4 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร พบว่าเมมเบรน MWCO 30000 สามารถกรองโปรตีนได้มากที่สุดร้อยละ 87.8 ส่วนเมมเบรน MWCO 500000 กรองได้ร้อยละ 50.3 หลังจากนั้นนำโปรตีนที่ผ่านการกรองมาทำแห้งเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีน ทำให้ช่วยลดปัญหาสภาพแวดล้อมและเพิ่มการใช้ประโยชน์ของโปรตีน

Rahma *et al.* (2000) เปรียบเทียบองค์ประกอบและสมบัติของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากแป้งถั่วเขียวซึ่งผ่านการผลิตด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 2 วิธีคือ วิธีที่ 1 สกัดด้วยด่างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 8.0 อัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อสารสกัด 1 ต่อ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนผสมนาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วหมუნเหวี่ยงเพื่อนำส่วนสารละลายโปรตีนมาปรับ pH 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก นำตะกอนโปรตีนปั่นผสมกับน้ำปรับ pH กลาง และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง วิธีที่ 2 ใช้การ micellisation กับโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสารละลายเกลือ (สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์) ในอัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อสารสกัด 1 ต่อ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนผสมนาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง กรองสารละลายโปรตีนให้มีความเข้มข้น 40-50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการ micellisation โดยการเติมน้ำลงไป 5 เท่าของปริมาณสารละลายโปรตีน ตั้งทิ้งไว้ในห้องเย็นข้ามคืน เมื่อครบเวลานำไปหมუნเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีนมาปั่นผสมกับน้ำ ปรับ pH เป็นกลางและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็งเช่นเดียวกับวิธีที่ 1 เมื่อวิเคราะห์ด้วย size exclusion chromatography, gel electrophoresis (SDS-PAGE) และการหมუნเหวี่ยงเร็วยิ่งยวดที่ความเร็วสูง พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนจากทั้ง 2 วิธีมีองค์ประกอบหลักคือ โปรตีนกลอบูลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 7S ส่วนโปรตีนกลอบูลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 11S ปริมาณเล็กน้อย โดยผลิตภัณฑ์โปรตีนจากวิธี micellisation มีปริมาณโปรตีนกลอบูลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 7S มากกว่า ซึ่งโปรตีนกลอบูลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 7S ไม่มีพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond: S-S) ระหว่างสายพอลิเปปไทด์ (polypeptide) ส่วนโปรตีนกลอบูลินที่มีค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนเป็น 11S มีพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมระหว่างสายพอลิเปปไทด์

น้ำทิพย์ (2547) ทดลองนำวัตถุดิบ 3 ชนิดคือ สารละลายโปรตีนถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก สารละลายโปรตีนถั่วเขียวทั้งเมล็ด และสารละลายโปรตีนถั่วเขียวจากโรงงานวันเส้น มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนโดยวิธีการผลิต 3 วิธีคือ วิธีที่ 1 ปรับ pH สารละลายทั้ง 3 ชนิดเป็น 9.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ กวนนาน 90 นาที หมุนเหวี่ยงแยกสารละลาย แล้วนำสารละลายส่วนใสไปตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริก (pH 4.5) ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก นำตะกอนที่ได้ปรับ pH 7.0 วิธีที่ 2 ตกตะกอนสารละลายทั้ง 3 ชนิดที่จุดไอโซอิเล็กทริก และนำตะกอนที่ได้ปรับ pH 7.0 วิธีที่ 3 ปรับ pH สารละลายทั้ง 3 ชนิดเป็น 7.0 แล้วทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวที่ได้จากสารละลายโปรตีนถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกมีสีเหลืองนวลถึงสีเหลืองสว่างคล้ายผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองทางการค้า ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากสารละลายโปรตีนถั่วเขียวทั้งเมล็ดมีสีเขียวจนถึงสีเขียวอ่อน และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากสารละลายโปรตีนถั่วเขียวจากโรงงานวันเส้นมีสีเขียวเข้มถึงสีขาวยาว และมีการกลั่นของกัมมันต์ค่อนข้างแรง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ของวิธีการผลิตทั้ง 3 วิธีพบว่า วิธีที่ 1 สามารถผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุด รองลงมาคือ วิธีที่ 2 และวิธีที่ 3 ตามลำดับ เนื่องจากวิธีที่ 1 ได้ปรับ pH 9.5 ซึ่งเป็นสภาวะต่างทำให้โปรตีนสามารถละลายได้มาก นอกจากนี้ยังมีการแยกส่วนขององค์ประกอบอื่น ๆ ที่ไม่สามารถละลายได้ในสภาวะต่างออกไปบางส่วนด้วยการหมุนเหวี่ยง และการปรับ pH 4.5 ทำให้องค์ประกอบเฉพาะโปรตีนเกิดการตกตะกอน ส่วนองค์ประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนยังคงละลายอยู่ในน้ำ ในทางกลับกันเมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตวิธีที่ 3 ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดเพราะไม่มีการสูญเสียปริมาณของแข็งที่มีอยู่ในสารละลาย

4. สมบัติเชิงหน้าที่

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหารหมายถึงสมบัติทางเคมีและกายภาพที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของโปรตีนในระบบอาหารระหว่างกระบวนการเตรียมอาหาร การแปรรูป การเก็บรักษา และการบริโภค โดยส่งผลถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารและการยอมรับของผู้บริโภคเช่น สมบัติการละลาย การเกิดฟอง การเกิดอิมัลชัน และการเกิดเจล (Damodaran, 1996) ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหารสามารถแบ่งได้เป็นปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอก โดยปัจจัยภายในคือสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนเช่น ขนาด รูปร่าง น้ำหนักโมเลกุล ชนิดและลำดับการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ ความชอบน้ำ (hydrophilicity) ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) การกระจายตัวของประจุ ประจุสุทธิ

โครงสร้างของโปรตีนระดับทุติยภูมิ (secondary structure) ตติยภูมิ (tertiary structure) และจตุรภูมิ (quaternary structure) หรืออันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับแมโครโมเลกุล (macromolecule) อื่น ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารเช่น ไขมัน ซึ่งปัจจัยด้านขนาด รูปร่าง น้ำหนักโมเลกุล ชนิดและลำดับการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบถือว่าเป็นปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อปัจจัยภายในด้านอื่น ๆ ส่วนปัจจัยภายนอกนั้นเป็นสภาวะแวดล้อมของสารละลายเช่น อุณหภูมิ pH กำลังไอออนิก และคุณสมบัติของสารสกัด (Kinsella, 1976; Sikorski, 2001)

4.1 สมบัติการละลาย โปรตีนไม่สามารถเกิดเป็นสารละลายที่แท้จริงได้เมื่ออยู่ในน้ำ เนื่องจากโปรตีนมีโมเลกุลขนาดใหญ่ทำให้โปรตีนอยู่ในลักษณะคอลลอยด์กระจายตัวในน้ำ (Milewski, 2001) สมบัติการละลายมักมีอิทธิพลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ด้านอื่น ๆ ของโปรตีนด้วยเช่น การเกิดอิมัลชัน การเกิดฟอง และการเกิดเจล ดังนั้นการละลายจึงเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญมากที่สุดของโปรตีน การละลายของโปรตีนขึ้นอยู่กับความสมดุลของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำ (protein-water interaction) และระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) ในระหว่างการละลาย โดยอันตรกิริยาไอออนิก (ionic interaction) สนับสนุนอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำ ส่วนอันตรกิริยาไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) สนับสนุนอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน ซึ่งอันตรกิริยาไอออนิกทำให้เกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลโปรตีนในสารละลายนั้นแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ (1) แรงผลักระหว่างไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic repulsion) ระหว่างโมเลกุลโปรตีนที่เกิดจากประจุสุทธิบวกหรือลบที่ pH อื่น ๆ นอกเหนือจากจุดไอโซอิเล็กทริก (2) แรงผลักระหว่าง hydration shells รอบหมู่ที่มีประจุ ปัจจัยภายในที่มีผลกระทบคือ สมบัติของโปรตีนเองเช่น ความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำบนพื้นผิวของโปรตีน (surface hydrophilicity and surface hydrophobicity) และสัดส่วนระหว่างความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำของโปรตีน (hydrophilicity and hydrophobicity balance) แสดงว่าองค์ประกอบของกรดอะมิโนของโปรตีนมีผลต่อสมบัติการละลายของโปรตีน (Damodaran, 1997) นอกจากปัจจัยภายในแล้วสมบัติการละลายยังได้รับอิทธิพลจากปัจจัยภายนอกเช่น pH อุณหภูมิ การมีตัวทำละลายอินทรีย์ ชนิดของเกลือ และกำลังไอออนิก โดยโปรตีนแสดงการละลายน้อยที่สุดที่จุดไอโซอิเล็กทริกเนื่องจากโมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์คือ ประจุบวกเท่ากับประจุลบ ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนมากกว่าระหว่างโปรตีนกับน้ำส่งผลให้โปรตีนสามารถเข้าใกล้กันได้มากจนเกิดเชื่อมติดเป็นอนุภาคเดียวกันขนาดใหญ่ (coalescence) และตกตะกอนในที่สุด ที่ pH ต่ำกว่าและสูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริกมีผลเพิ่มประจุสุทธิและแรงผลักระหว่างสายโปรตีนระหว่างหมู่ที่มีประจุเหมือนกันทำให้โปรตีนพองตัวไม่สามารถเข้าใกล้กันได้และสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น โดยที่ pH ต่ำ (กรด) ส่งผลให้

โมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นบวก ส่วนที่ pH สูง (ด่าง) โมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นลบ (Damodaran, 1996)

เกลืออาจทำให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับกำลังไอออนิกของสารละลายซึ่งมี 2 ปฏิกิริยาการกระทำคือ ที่กำลังไอออนิกต่ำ (low ionic strength) หรือใช้ความเข้มข้นของเกลือน้อยกว่า 0.5 โมลาร์ ทำให้การละลายของโปรตีนส่วนมากเพิ่มขึ้นเนื่องจากไอออนของเกลือมีผลลดแรงดึงดูดระหว่างหมู่ที่มีประจุตรงข้ามกันระหว่างโมเลกุลโปรตีน โดยไอออนของเกลือที่มีน้ำจับอยู่เกิดปฏิกิริยากับหมู่ที่มีประจุเหล่านั้นส่งผลให้น้ำไปละลายส่วนของโปรตีนที่มีประจุด้วย เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า salting in แต่เมื่อเพิ่มกำลังไอออนิกขึ้นมีผลลดการละลายของโปรตีนซึ่งถ้าเพิ่มกำลังไอออนิกมากถึงจุดหนึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอนทั้งหมด เนื่องจากเมื่อเติมเกลือลงไปทำให้ไอออนของเกลือดึงน้ำที่ล้อมรอบโมเลกุลโปรตีนมาล้อมรอบตัวเองเพื่อทำให้เกลือละลายได้ ดังนั้นการเพิ่มกำลังไอออนิกหรือการเติมเกลือปริมาณมากขึ้น ส่งผลให้โปรตีนถูกดึงดูดนํ้าที่ล้อมรอบอยู่ออกไปมาก โปรตีนรวมตัวกันและตกตะกอนเนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า salting out นอกจากปรากฏการณ์ทั้งสองแล้วยังพบว่าการใช้เกลือที่ให้อนุมูลที่มีประจุบวกมากกว่าหนึ่งเช่น แมกนีเซียมคลอไรด์ และแมกนีเซียมซัลเฟต สามารถเพิ่มการละลายได้สูงกว่าเกลือที่ให้อนุมูลที่มีประจุบวกหนึ่งเช่น โซเดียมคลอไรด์ และ โพแทสเซียมคลอไรด์ (Milewski, 2001)

อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์อาหารในช่วง 0-40°C มีผลทำให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40°C การละลายของโปรตีนลดลงเนื่องจากโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ (denature) เกิดการคลายตัวทำให้โปรตีนแสดงส่วนที่ไม่มีขั้ว (nonpolar group) หรือส่วนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) ออกมามากขึ้น ซึ่งโครงสร้างเดิมของโปรตีนมีการม้วนขดพับซ้อนไปมาโดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วไว้ภายในโครงสร้าง และหันส่วนที่มีขั้ว (polar group) หรือส่วนชอบน้ำ (hydrophilic group) ออกภายนอก ดังนั้นเมื่อโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติทำให้มีโอกาสที่ส่วนที่ไม่มีขั้วหรือส่วนไม่ชอบน้ำของโปรตีนแต่ละโมเลกุลเข้าใกล้กันมากขึ้นจนเกิดการเชื่อมติดกันเป็นก้อนขนาดใหญ่เพราะเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนส่งผลให้ลดความสามารถในการละลายของโปรตีนลง (Milewski, 2001; Sikorski, 2001)

4.2 ความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity: WBC) หมายถึงจำนวนกรัมของน้ำที่โปรตีนสามารถจับไว้ได้ภายหลังการหมุนเหวี่ยงต่อกรัมของโปรตีนโดยที่โปรตีนอยู่ในรูปของ

ผงแห้ง เนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำและกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน ความสามารถในการจับน้ำของโปรตีนแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งกรดอะมิโนกลุ่มที่มีขั้วและแตกตัวได้ (มีประจุ) สามารถจับน้ำได้สูงสุด รองลงมาคือ กรดอะมิโนกลุ่มที่มีขั้วแต่ไม่แตกตัว (ไม่มีประจุ) และกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วมีความสามารถในการจับน้ำต่ำสุด นอกจากนี้ปัจจัยภายนอกที่มีผลได้แก่ pH อุณหภูมิ กำลังไอออนิก ความเข้มข้นและขนาดอนุภาคของโปรตีน (Kinsella, 1976; Zayas, 1997)

4.3 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil binding capacity: OBC) เป็นความสามารถทางกายภาพของโปรตีนในการเกิดพันธะไม่ชอบน้ำ (hydrophobic bond) กับโมเลกุลของน้ำมันและกักเก็บน้ำมันไว้ในโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนเนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและไขมัน (protein-lipid interaction) ซึ่งความสามารถในการดูดซับน้ำมันนั้นมีความสัมพันธ์กับค่าความไม่ชอบน้ำบนพื้นผิวของโปรตีน (Zayas, 1997) รวมทั้งขึ้นกับปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหาร รูปแบบของประจุ สภาพความคล่องตัวของน้ำมัน วิธีที่ใช้ตรวจสอบ และความสามารถในการจับตัวกันของน้ำมัน (El-Adawy, 2000)

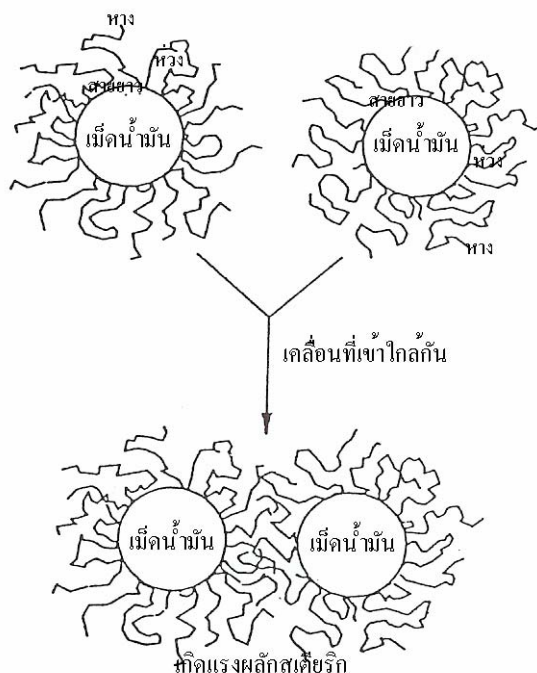
4.4 สมบัติการเกิดอิมัลชัน อิมัลชันคือระบบของอาหารที่มีลักษณะเป็นเนื้อผสมประกอบด้วยของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัวเป็นหยดเม็ดกลมเล็ก ๆ (droplet) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.1-100 ไมโครเมตร เรียกว่าส่วนอนุภาคตัวกระจายหรือเฟสกระจาย (dispersed phase) อยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันเรียกว่าส่วนตัวทำละลายหรือเฟสต่อเนื่อง (continous phase) ระบบของอิมัลชันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดตามลักษณะการกระจายตัวคือ อิมัลชันระบบน้ำมันในน้ำ (oil-in-water หรือ O/W) โดยมีหยดน้ำมันกระจายอยู่ในน้ำเช่น นม และมายองเนส แต่ถ้าหยดน้ำกระจายตัวในน้ำมันเรียกว่าอิมัลชันระบบน้ำในน้ำมัน (water-in-oil หรือ W/O) เช่น เนย และมาการีน (Dickinson and Stainsby, 1982; McClements, 1999) จากการที่อิมัลชันเกิดจากของเหลวที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันทำให้การผลิตทำได้ยากเพราะมีแรงตึงผิวระหว่างของเหลวจึงรวมตัวกันได้ยาก อีกทั้งส่วนอนุภาคตัวกระจายนั้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.1-100 ไมโครเมตร ทำให้อิมัลชันมีความคงตัวไม่นานนัก เนื่องจากเกิดการดึงดูดกันระหว่างอนุภาคตัวกระจายที่อยู่ใกล้กันหรือการเคลื่อนที่เข้ามาสัมผัสหรือชนกันของตัวกระจายจนเกิดการรวมกลุ่ม (aggregation หรือ flocculation) ซึ่งบางครั้งอาจมีการรวมกลุ่มกันมากจนกระทั่งมีความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของอนุภาคตัวกระจายและตัวทำละลายมาก ทำให้มีส่วนหนึ่งลอยขึ้นแยกเป็นครีม ต่อมาเกิดการเชื่อมติดของส่วนอนุภาคตัวกระจายเข้าด้วยกันจนมีขนาดใหญ่ขึ้นและในที่สุดเกิดการแยกตัวของน้ำและน้ำมันอย่างสมบูรณ์ (Petrowski, 1976; Pomeranz, 1991) ดังนั้นการเพิ่ม

การเกิดอิมัลชันและรักษาให้อิมัลชันมีความคงตัวได้นานขึ้นนั้นสามารถทำได้โดยการเติมตัวกระทำอิมัลชัน (emulsifier) เพื่อลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลว 2 ชนิด ทำให้รวมตัวกันได้ หรืออาจเติมสารเพิ่มความหนืด (stabilizer) ด้วย ซึ่งโปรตีนทำหน้าที่เป็นตัวกระทำอิมัลชันและมีบทบาทสำคัญในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันในระยะยาว (long-term stabilization) เนื่องจากโปรตีนมีสมบัติเป็นสารแอมฟิฟิลิก (amphiphilic) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ไม่มีขั้วและส่วนที่มีขั้ว เมื่อโปรตีนอยู่ในระบบอิมัลชันจะเกิดการดูดซับที่ผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน โดยโปรตีนเกิดเสียสภาพธรรมชาติและคลายตัวหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหาเม็ดน้ำมันและหันส่วนที่มีขั้วออกสู่น้ำ เกิดลักษณะเป็นสายยาว (train) ห่วง (loop) และหาง (tail) (ดังแสดงในภาพที่ 1) ลักษณะสายยาวคือ ส่วนของโปรตีนที่ไม่มีขั้วดูดซับบนผิวเม็ดน้ำมันได้หลายตำแหน่งและสามารถปรับตัวโค้งงอเข้ากับเม็ดน้ำมันได้ดี ส่วนของโมเลกุลที่ไม่ถูกดูดซับบนผิวเม็ดน้ำมันหรือส่วนที่มีขั้วของโปรตีนอาจมีลักษณะเป็นห่วงหรือหางอยู่ในส่วนของน้ำ ทำให้เกิดโครงสร้างซึ่งทำหน้าที่กีดขวางไม่ให้เม็ดน้ำมันเคลื่อนที่รวมตัวกันได้เนื่องจากแรงผลักระหว่าง (steric force) หรือกลไกการรักษาความคงตัวโดยโมเลกุลผิวสัมผัส (steric stabilization) ดังแสดงในภาพที่ 2 และกลไกการรักษาความคงตัวโดยอนุภาคผิวสัมผัส (particle stabilization) ดังนั้นเม็ดน้ำมันที่ล้อมรอบด้วยโมเลกุลโปรตีนสามารถกระจายตัวอยู่ในส่วนของน้ำเกิดเป็นอิมัลชันที่มีความคงตัว ซึ่งโปรตีนที่มีสัดส่วนของกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วสูงส่งผลให้ดูดซับบนเม็ดน้ำมันได้มากจึงเกิดอิมัลชันได้ดี (ปาริฉัตร, 2545; Dickinson and Stainsby, 1982; Wong, 1989)

ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติการเป็นตัวกระทำอิมัลชันของโปรตีนได้แก่ ความเข้มข้นของโปรตีนที่มีอยู่ในระบบ พื้นที่ผิวของเม็ดน้ำมัน ระยะเวลาที่โปรตีนสัมผัสกับผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน การจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างโปรตีนที่รอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนเช่น ความไม่ชอบน้ำบนพื้นผิว และประจุ นอกจากนี้ยังรวมถึงสภาวะการแปรรูปเช่น pH อุณหภูมิ กำลังไอออนิก และชนิดของเครื่องมือ (Dickinson, 1993; Sikorski, 2001)



ภาพที่ 1 แบบจำลองการดูดซับที่รอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมันโดยโมเลกุลโปรตีน
ที่มา: ดัดแปลงจาก Wong (1989)

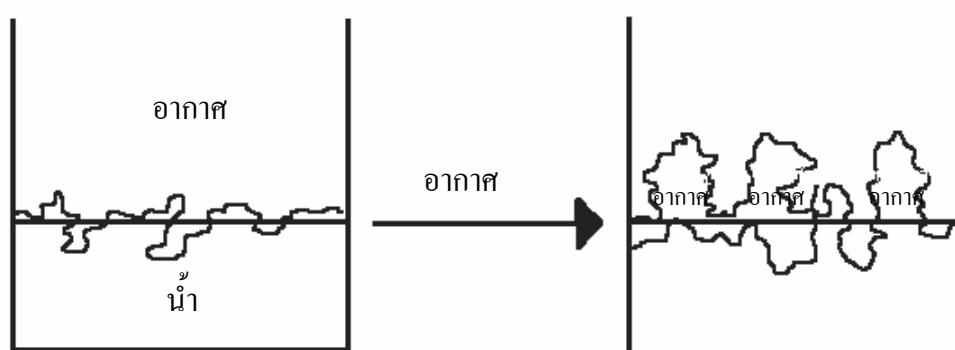


ภาพที่ 2 แบบจำลองการดูดซับของโมเลกุลโปรตีนบนอนุภาคของเม็ดน้ำมันและแรงผลักระหว่าง
ที่มา: ดัดแปลงจาก Parker (1987)

การใช้ตัวกระทำอิมัลชันที่มีขนาดโมเลกุลเล็กเช่น เลซิทีน (lecithin) โมโนและไดกลีเซอไรด์ (mono- and diglycerides) ร่วมกับโปรตีนช่วยลดประสิทธิภาพการทำหน้าที่กีดขวางไม่ให้เม็ดน้ำมันรวมตัวของโปรตีนลง โดยทำให้แรงผลักระหว่างของโปรตีนและความหนาของชั้นโปรตีนที่ผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมันลดลง เนื่องจากเกิดการแข่งขันระหว่างตัวกระทำอิมัลชันที่มีขนาดเล็กและโปรตีนในการดูดซับที่รอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน (ปาริฉัตร, 2545)

4.5 สมบัติการเกิดฟอง ฟอง (foam) ประกอบด้วยฟองอากาศขนาดเล็กกระจายตัวอย่างต่อเนื่องอยู่ในตัวทำละลายที่เป็นของเหลว ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะของฟองอยู่ได้แก่ ไอศกรีม เค้ก และวิปครีม เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีโปรตีนทำหน้าที่เป็นสารลดความตึงผิว (surface active agent) หรือเรียกว่าสารทำฟอง (foaming agent) ช่วยทำให้เกิดฟองและรักษาความคงตัวของฟองอากาศที่แพร่กระจายอยู่ (Damodaran, 1997) สมบัติการเกิดฟองของโปรตีนคือความสามารถของโปรตีนในการสร้างฟิล์มบางที่มีความเหนียวเพียงพอที่ผิวรอยต่อระหว่างฟองอากาศกับของเหลว โดยฟิล์มบางนี้ป้องกันไม่ให้ฟองอากาศแตกและรวมตัวกันได้อีกซึ่งกลไกการเกิดฟองของโปรตีนคล้ายกับการเกิดอิมัลชันคือ เมื่อโปรตีนที่ละลายอยู่ในของเหลวจะดูดซับที่ผิว

รอยต่อระหว่างอากาศและน้ำ (ของเหลว) โดยเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและกลายเป็นฟิล์มบาง จัดเรียงตัวในลักษณะเป็นสายยาว ห่วง และหางโดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วสู่ฟองอากาศที่ถูกใส่เข้าไป และหันส่วนที่มีขั้วสู่ น้ำ ส่งผลให้โปรตีนสามารถกักเก็บฟองอากาศไว้ภายในโครงสร้างและแพร่กระจายฟองอากาศให้อยู่ภายในส่วนของเหลวได้ ด้านการรักษาความคงตัวของฟองนั้นเนื่องจากโมเลกุลโปรตีนสามารถยึดเกาะโมเลกุลข้างเคียง เกิดเป็นฟิล์มที่แข็งแรงและยืดหยุ่นเพียงพอต่อการป้องกันการยุบตัวของฟองอากาศเช่น เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) โดยการเชื่อมโยงข้ามของสายโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ช่วยเพิ่มความหนาแน่นหรือความหนืดแก่ฟิล์มโปรตีน ทำให้ฟองอากาศคงตัวและยุบยาก (แสดงการเกิดฟองดังภาพที่ 3) ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมบัติการเกิดฟองแบ่งได้เป็นปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอก โดยปัจจัยภายในคือ สมบัติที่เกี่ยวข้องกับโมเลกุลของโปรตีน (molecular properties) ได้แก่ การยืดหยุ่นของโมเลกุล (molecular flexibility) ความหนาแน่นของประจุบนโมเลกุล การกระจายตัวของประจุ และความไม่ชอบน้ำ นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับสัดส่วนของกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วโดยความสามารถในการเกิดฟองของโปรตีนสูงขึ้นเมื่อสัดส่วนของกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วมากขึ้นแต่ความสามารถนี้ไม่เพิ่มมากนักเมื่อสัดส่วนของกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วสูงมาก รวมทั้งการทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติโดยใช้ความร้อนนั้นมีส่วนทำให้เกิดฟองได้ดีถ้าโปรตีนนั้นมีสัดส่วนของกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วมากพอ ส่วนปัจจัยภายนอกได้แก่ pH ค่าลึงไอออนิก น้ำตาล น้ำมัน และความเข้มข้นของโปรตีน (Mitchell, 1986; Damodaran, 1996)



ภาพที่ 3 แบบจำลองการเกิดฟองโดยโมเลกุลโปรตีน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Wong (1989)

4.6 สมบัติการเกิดเจล เจลคือระบบคอลลอยด์ที่ไม่แสดงการไหล (no steady state flow)

ลักษณะคล้ายของแข็ง (solid-like) หรือกึ่งของแข็ง (semi-solid) ประกอบด้วยอนุภาคของแข็ง

ทำหน้าทีสานตัวเป็นโครงสร้างร่างแหแขวนลอยอยู่ในตัวทำละลายที่เป็นของเหลว (น้ำ) โดยตัวทำละลายเคลื่อนที่หรือไหลไม่ได้ทำให้เจลอยู่ในสภาพคล้ายของแข็ง (นิธิยา, 2545; Ziegler and Foegeding, 1990) การเกิดเจลของโปรตีนนั้นเป็นกระบวนการเปลี่ยนสภาพของโปรตีนจากสภาพโซล (sol) ลักษณะเป็นของเหลวไหลได้ให้กลายเป็นเจล ซึ่งการเกิดเจลขึ้นอยู่กับความสมดุลของแรงดึงดูด (attractive hydrophobic interaction) และแรงผลัก (repulsion electrostatic interaction) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเองและระหว่างโมเลกุลโปรตีนและน้ำ หากแรงดึงดูดมีมากกว่าแรงผลักทำให้โครงสร้างของเจลไม่สามารถถักเก็บน้ำไว้ได้หรือเกิดการแยกน้ำ (syneresis) แต่ในทางตรงข้ามถ้าแรงผลักมีมากกว่ามีผลให้ไม่เกิดโครงสร้างของเจลเพราะโมเลกุลโปรตีนไม่สามารถจับตัวกันได้ ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจลของโปรตีนแบ่งเป็นปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอก ซึ่งปัจจัยภายในคือ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนเช่น น้ำหนักโมเลกุล องค์ประกอบของกรดอะมิโน และความไม่ชอบน้ำ ส่วนสภาวะแวดล้อมของสารละลายถือเป็นปัจจัยภายนอกเช่น ความเข้มข้นของโปรตีน อุณหภูมิ pH และกำลังไอออนิก (Damodaran, 1996; Cayot and Lorient, 1997)

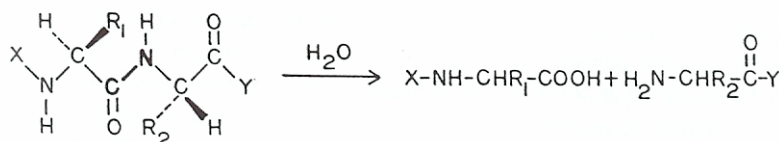
วิธีที่ทำให้เกิดเจลมีทั้งวิธีทางกายภาพ (เช่น การใช้ความร้อน และความดันสูง) และวิธีทางเคมี (เช่น การใช้ยูเรีย ค้าง และเอนไซม์) โดยวิธีที่ได้รับความนิยมคือการใช้ความร้อนซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน เริ่มจากให้ความร้อนแก่สารละลายโปรตีนเพื่อให้โมเลกุลโปรตีนเสียสภาพหรือคลายตัวเปลี่ยนสภาพจากโซลเป็น progel ที่มีความเหนียวหนืดมากขึ้น ขั้นตอนที่ 2 คือ การจับตัวและเชื่อมโยงข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) เช่น พันธะไดซัลไฟด์ และ/หรือพันธะนอนโควาเลนต์ (noncovalent bond) เช่น พันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก (ionic bond) และพันธะไม่ชอบน้ำ (hydrophobic bond) ส่งผลให้โมเลกุลสานตัวเป็นโครงสร้างร่างแหสามมิติที่มีโมเลกุลของน้ำซึ่งเคลื่อนที่ไม่ได้แทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลโปรตีนภายในโครงสร้างร่างแห ปัจจัยที่มีผลต่อชนิดของพันธะในการสร้างโครงสร้างร่างแหได้แก่ชนิดของโปรตีน สภาวะการให้ความร้อน ระดับการเสียสภาพของโปรตีน และสภาวะของสารละลาย (Damodaran, 1996; Zayas, 1997; Totousaus *et al.*, 2002) ถ้าอัตราเร็วการเกิดขั้นตอนที่ 2 (ขั้นตอนการสร้างโครงสร้างร่างแห) เร็วกว่าขั้นตอนแรก (ขั้นตอนการเสียสภาพของโมเลกุลโปรตีน) มีผลให้โมเลกุลโปรตีนสานตัวเป็นร่างแหขณะให้ความร้อนอย่างสม่ำเสมอไม่เป็นระเบียบ ลักษณะของเจลขุ่น ทึบแสง (opaque) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity: WHC) ต่ำ และมีร่อนขนาดใหญ่จึงสามารถเกิดการแยกน้ำได้ แต่ถ้าอัตราเร็วการเกิดขั้นตอนที่ 2 ช้ากว่าโมเลกุลโปรตีนสานตัวช่วงทำให้เย็นอย่างมีระเบียบ ลักษณะของเจลใส โปร่งแสง (translucent) ความสามารถในการอุ้มน้ำดีและยืดหยุ่น (elastic) ในกรณีที่เจลสามารถเกิดการผันกลับได้ใน

ขั้นตอนที่ 2 คือ เจลสามารถหลอมละลายกลับสู่สภาพ progel เมื่อให้ความร้อนและสานตัวเป็นเจลได้อีกครั้ง เรียกเจลชนิดนี้ว่าเทอร์โมเซตเจล (thermoset หรือ thermally reversible gels) ส่วนเจลชนิดที่ขั้นตอนที่ 2 ไม่ผันกลับเรียกว่าเทอร์โมพลาสติกเจล (thermoplastic หรือ thermally irreversible gels) ซึ่งไม่สามารถผันกลับสู่สภาพ progel อีกครั้งเมื่อให้ความร้อน (Wong, 1989; Damodaran, 1996)

โครงสร้างร่างแหของเจลโปรตีนสามารถแบ่งได้ 2 ชนิดคือ โครงสร้างที่ได้จากการจับตัวของสายโมเลกุลโปรตีน (macromolecular gel) และโครงสร้างที่ได้จากการจับตัวของอนุภาคโปรตีน (particle gel) โครงสร้างร่างแหชนิดแรกเป็นเจลจากโปรตีนบางชนิดที่สามารถคลี่เป็นสายยาวเช่น เจลาติน เป็นต้น โดยอาจจับตัวกันบริเวณใดบริเวณหนึ่งหรือจุดใดจุดหนึ่งของสายโมเลกุลโปรตีน เจลมีลักษณะใส โปร่งแสง และความสามารถในการอุ้มน้ำดี ส่วนโครงสร้างร่างแหชนิดที่ 2 เกิดขึ้นในเจลโปรตีนประเภทกลอบูลาร์โปรตีนเช่น โปรตีนเวย์ เคซีนและเคซีนต โปรตีนไข่ และโปรตีนถั่วเหลือง ซึ่งมีการจับตัวของอนุภาค 2 แบบคือ แบบเป็นสายยาว (string of beads) และแบบกลุ่มก้อน (random aggregation) ลักษณะเจลขุ่น ทึบแสง และความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ (ปาริฉัตร, 2545; Doi, 1993)

5. เอนไซม์โปรติเอส (protease)

เอนไซม์โปรติเอสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ของโปรตีนให้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ หรือกรดอะมิโนอิสระในสถานะที่มีน้ำอยู่ในสารละลาย ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ลักษณะการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส

ที่มา: Whitaker (1994)

เอนไซม์ชนิดนี้พบได้ทั้งในพืช สัตว์ และเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีอยู่มากมายหลายชนิดลักษณะแตกต่างกันทางด้านความจำเพาะเจาะจงต่อซับสเตรต กลไกการเร่งปฏิกิริยา ลักษณะของบริเวณเร่ง

(active site) ลำดับกรดอะมิโนในโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล ช่วง pH และอุณหภูมิที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นการจัดแบ่งกลุ่มของเอนไซม์โปรติเอสจึงมีหลายแบบเช่น จัดแบ่งตามแหล่งกำเนิดคือ จากพืช สัตว์ หรือได้จากการผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ แบ่งตามความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาช่วง pH กรด กลาง หรือเบส หรือแบ่งตามลักษณะการย่อยสลายพันธะเปปไทด์บนสายพอลิเปปไทด์คือ การย่อยสลายอย่างอิสระภายในสายพอลิเปปไทด์ (endopeptidase) และการย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายพอลิเปปไทด์ (exopeptidase) ที่ปลายอะมิโน (N-terminal) และที่ปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) แต่การจัดแบ่งกลุ่มที่เป็นที่ยอมรับเป็นการจำแนกตามกลไกการทำงานของเอนไซม์เนื่องจากบริเวณเร่งได้ 4 กลุ่ม ดังต่อไปนี้ (ปราณี, 2543; Arbige and Pitcher, 1986)

5.1 เซรีนโปรติเอส (serine protease) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) และเอนไซม์ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) เป็นต้น จัดเป็นพวกแอลคาไลโปรติเอส (alkaline protease) เพราะสามารถเกิดกิจกรรม (activity) สูงสุดภายใต้สภาวะเบสที่ช่วง pH 7.0-11.0 มีกรดอะมิโนฮิสติดีนและเซรีนอยู่บริเวณเร่งและย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายพอลิเปปไทด์

เอนไซม์ทริปซิน (E.C.3.4.21.4) สารตั้งต้นของเอนไซม์ทริปซินถูกสร้างขึ้นภายในตับอ่อนเรียกว่าทริปซิโนเจน (trypsinogen) โดยสามารถได้รับการกระตุ้นให้เป็นเอนไซม์ทริปซินได้โดยเอนไซม์ enterokinase ใน intestinal mucous membrane เอนไซม์ทริปซินประกอบด้วยสายพอลิเปปไทด์ซึ่งมีกรดอะมิโน 233 กรดอะมิโน น้ำหนักโมเลกุล 24000 สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่อนุมูลกรดอะมิโนไลซีนและอาร์จินีน ซึ่ง pH ที่เหมาะสมในการเกิดกิจกรรมอยู่ในช่วง pH 7-9 โดยมีความคงตัวที่ pH 3 สารยับยั้งการเกิดกิจกรรมคือ diisopropyl fluorophosphonate (DEP) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (OH⁻) ของอนุมูลเซรีล (seryl residue) ที่อยู่ในบริเวณเร่ง (Uhlir, 1998)

5.2 ซัลไฟดริลโปรติเอส (sulfhydryl protease) หรือไทออลโปรติเอส (thiol protease) หรือซิสเตอีนโปรติเอส (cysteine protease) พบได้ในพืชชั้นสูงและเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ปาเปน (papain) เอนไซม์บรอไมเลน (bromelain) และเอนไซม์ฟิซิน (ficin) เป็นต้น จัดเป็นพวกนิวทรัลโปรติเอส (neutral protease) เพราะสามารถเกิดกิจกรรมสูงสุดภายใต้สภาวะกลางที่ช่วง pH 6.0-7.5 มีกรดอะมิโนซิสเตอีนอยู่บริเวณเร่งและย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายพอลิเปปไทด์

เอนไซม์ฟิซิน (E.C.3.4.22.3) ได้จากยางของต้นมะเดื่อ (*Ficus carica*) ในส่วนของใบ ลำต้น และผล มีน้ำหนักโมเลกุล 26000 สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่อนุกรดอะมิโน ไลซีน ไทโรซีน แอสพาราจีน ไกลซีน ลิวซีน แอลานีน และอะลานีน ซึ่ง pH ที่เหมาะสมในการเกิดกิจกรรมขึ้นอยู่กับชนิดของซับสเตรตซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง pH 5-8 เช่น ที่ pH 6.7 เมื่อย่อยสลายเคซีน เป็นต้น และเอนไซม์มีความคงตัวสูงช่วง pH 3.5-9 อุณหภูมิที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดกิจกรรมโดยสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 80°C บริเวณเร่งของเอนไซม์ฟิซินมีหมู่ซัลไฟดริล (sulfhydryl group: -SH) ของกรดอะมิโนซิสเทอีน ทำให้เร่งการเกิดกิจกรรมได้ด้วยซิสเทอีน, EDTA, ไซยาไนด์ (cyanide) และเมอร์แคปโทเอทานอล (mercaptoethanol) เป็นต้น ส่วนสารยับยั้งการเกิดกิจกรรมได้แก่ โลหะหนัก, ตัวออกซิไดส์ (oxidant), เมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride), N-ethylmaleimide, iodoacetic acid และ chloroacetamide เป็นต้น (Liener and Friedenson, 1970; Alder-Nissen, 1986; Arai and Fujimaki, 1991; Uhlig, 1998)

5.3 เมทัลโลโปรตีเอส (metalloprotease) เป็นเอนไซม์โปรตีเอสที่มีไอออนของโลหะรวมอยู่ในโมเลกุลของเอนไซม์หรือมีส่วนร่วมในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์คาร์บอกซีเปปติเดส (carboxypeptidase) เป็นต้น ซึ่งจัดเป็นพวกนิวคลีโพรตีเอสสามารถเกิดกิจกรรมสูงสุดที่ช่วง pH 6.0-7.5 ถูกยับยั้งกิจกรรมได้ด้วยสารจับไอออนของโลหะ (metal chelating agent) เช่น EDTA เนื่องจากสารดังกล่าวเข้าไปจับกับอะตอมของโลหะในโมเลกุลของเอนไซม์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนทำให้เอนไซม์ทำงานไม่ได้ โดยเกือบทั้งหมดย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายพอลิเปปไทด์

5.4 แอซิดโปรตีเอส (acid protease) สามารถเกิดกิจกรรมสูงสุดภายใต้สภาวะกรด pH น้อยกว่า 7 โดยทั่วไปเอนไซม์กลุ่มนี้มีช่วง pH ที่เหมาะสมคือ pH 2.0-4.0 เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์เปปซิน (pepsin) ไคโมซิน (chymosin) และเรนิน (renin) เป็นต้น

6. การดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส

การดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนเป็นหนทางหนึ่งในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ให้มากขึ้น การดัดแปรผลิตภัณฑ์โปรตีนสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 วิธีคือ การดัดแปรโดยวิธีทางเคมี การใช้ความร้อน และการใช้เอนไซม์โปรตีเอส แต่การใช้เอนไซม์ทำให้โปรตีนที่ผ่านการดัดแปรมีความปลอดภัยและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากกว่าการใช้สารเคมี เนื่องจากสภาวะการเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง มีความจำเพาะเจาะจงต่อซับสเตรต ไม่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่

ไม่ต้องการ และผู้บริโภคให้การยอมรับ (Alder-Nissen, 1986; Vojdani and Whitaker, 1994; Qi *et al.*, 1997)

เอนไซม์โปรติเอสสามารถดัดแปรผลิตภัณฑ์โปรตีนโดยการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนได้ผลผลิตเป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ หรือกรดอะมิโนอิสระ โปรตีนแสดงส่วนที่ไม่มีขั้วมากขึ้น ทั้งยังมีผลทำให้หมู่อะมิโนและหมู่คาร์บอกซิลิกเป็นอิสระส่งผลให้เพิ่มประจุบวกและประจุลบของโมเลกุลมากขึ้น จึงเกิดการผลักกันของโมเลกุลโปรตีนมากตามไปด้วยมีผลให้สามารถดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนได้ ซึ่งระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis: DH) ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (Kuehler and Stine, 1974)

Mohri and Matsushita (1984) ทดลองดัดแปรโดยใช้เอนไซม์บล็อคมิเลนแก่โปรตีนกลอบูลินชนิดโปรตีนเลกูมิน และผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 100°C ระยะเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำมาทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ 35°C แล้วเติมเอนไซม์บล็อคมิเลนแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35°C ระยะเวลา 150 นาทีสำหรับโปรตีนกลอบูลินชนิดโปรตีนเลกูมิน และ 110 นาทีสำหรับผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลท พบว่าสามารถเพิ่มความสามารถในการจับน้ำของโปรตีนกลอบูลินชนิดโปรตีนเลกูมิน และผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทประมาณ 2.0-2.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ผ่านการดัดแปร

Buchbjerg and Madsen (1987) ดัดแปรผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทโดยใช้เอนไซม์นิวทริลโปรติเอส ที่อุณหภูมิ 37°C ระยะเวลา 30 นาที pH 6.6-6.8 พบว่าโปรตีนที่ผ่านการดัดแปรมีคุณสมบัติการเกิดอิมัลชันดีมาก สามารถใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น ไส้กรอก เป็นต้น เอนไซม์นิวทริลโปรติเอสสามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายพอลิเปปไทด์ ทำให้ลดขนาดโมเลกุลของโปรตีนลงจึงสามารถดูดซับที่รอยต่อของอิมัลชันได้ดีขึ้น และการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ภายในสายพอลิเปปไทด์ส่งผลให้โปรตีนแสดงส่วนไม่มีขั้วมากขึ้น ทำให้โมเลกุลโปรตีนสามารถดูดซับบนผิวของเม็ดน้ำมันได้มากขึ้นส่งผลให้เกิดอิมัลชันดี

Qi *et al.* (1997) ทดลองดัดแปรสมบัติการละลายและการเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทถั่วเหลืองโดยเติมเอนไซม์แพนทีเอติน (pancreatin) (เป็นเอนไซม์จากตับอ่อนประกอบด้วยเอนไซม์หลัก ๆ คือ เอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน) ลงไปในสารละลายผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลืองจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ระยะเวลา 10, 60, 120 และ 180 นาที ซึ่งทำให้มีระดับการย่อยสลายคือ ร้อยละ 7, 11, 15 และ 17 ตามลำดับ เมื่อครบกำหนดหยุด

ปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยใช้ความร้อนอุณหภูมิ 95°C ระยะเวลา 5 นาที และทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วปรับ pH ให้เป็นกลางด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทถั่วเหลืองที่ผ่านการดัดแปรเอนไซม์แพนทีเอดินมีสมบัติการละลายเพิ่มขึ้นที่ pH 4.5 โดยเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น สำหรับสมบัติการเกิดอิมัลชันเพิ่มเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นกัน ยกเว้นที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 17 ที่การเกิดอิมัลชันลดลง แสดงว่าระดับการย่อยร้อยละ 15 เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการเกิดอิมัลชัน เอนไซม์แพนทีเอดินจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มแอลคาไลโปรติเอส ซึ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีความจำเพาะเจาะจงต่อซับสเตรตที่อนุโมเลกุลอะมิโนที่ไม่มีขั้ว ทำให้เกิดการย่อยสลายโมเลกุลโปรตีนที่กรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วส่งผลให้โมเลกุลโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายแสดงส่วนที่ไม่มีขั้วมากขึ้น โมเลกุลโปรตีนเกิดดูซึบบนผิวของเม็ดน้ำมันได้มากขึ้น อิมัลชันจึงเกิดดีตามไปด้วย ส่วนความคงตัวของอิมัลชันลดลงเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเพราะเอนไซม์ย่อยสลายพันธะเปปไทด์มากเกินไปทำให้โมเลกุลโปรตีนมีขนาดสั้นลงมากจนไม่สามารถคงตัวอยู่ระหว่างรอยต่อของน้ำมันและน้ำได้ ทำให้ความคงตัวของอิมัลชันไม่ดี

Were *et al.* (1997) ทดลองเปรียบเทียบสมบัติการละลายและสมบัติการเกิดฟองที่รายงานเป็นค่าความสามารถในการเกิดฟอง (foaming capacity: FC) และความคงตัวของฟอง (foaming stability: FS) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทที่ผ่านการดัดแปรด้วยการใช้ด่างที่ pH 10.0 กับการใช้เอนไซม์ปาเปน พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนมีการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้นมากกว่าการดัดแปรด้วยการใช้สารละลายด่างและไม่ผ่านการดัดแปร โดยการละลายสมบูรณ์เมื่อ $\text{pH} \geq 7$ ความสามารถในการเกิดฟองมีค่าใกล้เคียงกับไข่ขาวเมื่อ pH 7.0 แต่ความคงตัวของฟองต่ำกว่าไข่ขาว และผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทที่ผ่านการดัดแปรด้วยการใช้ด่างมีความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวต่ำที่สุด

ปารินทร์ และ ปราณี (2540) ใช้แอลคาไลโปรติเอส (Protin AC 10[®]) นิวทรัลโปรติเอส (เอนไซม์ปาเปน) และแอซิดโปรติเอส (เอนไซม์เปปซิน) ย่อยสลายผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไอโซเลทจากกากถั่วเหลืองเพื่อดัดแปรสมบัติการเกิดฟองและความคงตัว พบว่าสามารถทำให้สมบัติทั้งสองชนิดดีขึ้นได้เมื่อใช้เอนไซม์เปปซินที่อุณหภูมิ 50°C ระดับการย่อยสลายร้อยละ 4.5 pH 2.0 ซึ่งมีการเกิดฟองเพิ่มขึ้นร้อยละ 580 และฟองมีความคงตัวที่ 240 นาที และเอนไซม์ Protin AC 10[®] ที่อุณหภูมิ 40°C ระดับการย่อยสลายร้อยละ 5.37 pH 6.0 สามารถทำให้การเกิดฟองเพิ่มขึ้นร้อยละ 670 และฟองมีความคงตัวที่ 240 นาที ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้ดัดแปรสมบัติของโปรตีนได้ดีที่สุด ส่วน

เอนไซม์ปาเปนที่อุณหภูมิ 60°C ระดับการย่อยสลายร้อยละ 7.2 pH 6.0 ให้คุณสมบัติการเกิดฟองใกล้เคียงกับการใช้เอนไซม์ Protin AC 10[®] และเอนไซม์เปปซิน แต่ความคงตัวของฟองลดลงคือมีการเกิดฟองเพิ่มขึ้นร้อยละ 530 และฟองมีความคงตัวเพียง 32 นาที การที่เอนไซม์ Protin AC 10[®] และเอนไซม์เปปซินมีความจำเพาะเจาะจงต่อซับสเตรตที่อนุโมลกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วคือ เอนไซม์ Protin AC 10[®] จำเพาะเจาะจงต่อกรดอะมิโนฟีนอลอะลานีน และไลซีน ส่วนเอนไซม์เปปซินจำเพาะเจาะจงต่อกรดอะมิโนอะลานีน ฟีนอลอะลานีน ลิวซีน ไทโรซีน และทรีปโตเฟน ทำให้การเกิดฟองดี แต่เอนไซม์ปาเปนซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อซับสเตรตที่อนุโมลกรดอะมิโนที่มีขั้วคือ อาร์จินีน และไลซีน ทำให้การเกิดฟองไม่ดีแสดงว่ากรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วอาจจะมีผลช่วยเพิ่มการเกิดฟองและทำให้ฟองคงตัวดีขึ้นด้วย และเมื่อเปรียบเทียบสมบัติของโปรตีนที่ผ่านการตัดแปรโดยใช้เอนไซม์ทั้งสามชนิดกับโปรตีนไข่ขาว พบว่าโปรตีนที่ผ่านการตัดแปรโดยใช้เอนไซม์ Protin AC 10[®] มีสมบัติใกล้เคียงกับโปรตีนไข่ขาวมากที่สุดคือ โปรตีนไข่ขาวมีการเกิดฟองร้อยละ 530 และความคงตัวที่ 300 นาที ส่วนโปรตีนที่ผ่านการตัดแปรโดยเอนไซม์ Protin AC 10[®] มีการเกิดฟองร้อยละ 670 และความคงตัวที่ 240 นาที

ปาริฉัตร และ ปราณี (2541) นำผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ผ่านการตัดแปรด้วยเอนไซม์ 3 ชนิดคือ Protin AC 10[®] เอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์เปปซินมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอบชนิดหนึ่งซึ่งเป็นอิมัลชันของน้ำตาลเรียกว่า เมอแรงส์ (meringues) เปรียบเทียบกับคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เมอแรงส์กับการใช้โปรตีนไข่ขาว พบว่าผลิตภัณฑ์เมอแรงส์ที่ผ่านการตัดแปรโดยใช้เอนไซม์ทั้งสามชนิดมีลักษณะปรากฏ กลิ่น สี เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมของผู้บริโภคอยู่ในเกณฑ์ดี โดยผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ผ่านการตัดแปรโดยเอนไซม์ Protin AC 10[®] มีผลให้ผลิตภัณฑ์เมอแรงส์มีคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสใกล้เคียงกับการใช้โปรตีนไข่ขาว ทำให้เป็นไปได้ในการใช้ผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทที่ผ่านการตัดแปรเป็นสารทำฟองทดแทนโปรตีนไข่ขาว

Chan and Ma (1999) ตัดแปรสมบัติการละลาย ความสามารถในการจับน้ำ และสมบัติการเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจากกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ทรีปซิน โดยให้มีระดับการย่อยสลายร้อยละ 5-14 พบว่าสามารถตัดแปรสมบัติดังกล่าวให้ดีขึ้นกว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ไม่ผ่านการตัดแปรซึ่งเพิ่มสมบัติการละลายขึ้นมากกว่า 2 เท่า

Vioque *et al.* (2000) ย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจาก rapeseed ด้วยเอนไซม์ อัลคาเลส (alcalase) อย่างจำกัด ในช่วงระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.1-7.7 พบว่าความสามารถในการจับน้ำ ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน สมบัติการเกิดฟองและความคงตัว และสมบัติการเกิดอิมัลชันและความคงตัวดีขึ้นกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย ส่งผลให้เพิ่มความหลากหลายของการนำผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทจาก rapeseed ไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 เมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก ตราไร้ทิพย์

1.2 เอนไซม์ฟิซิน (ficin) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Biochem-europe จำกัด ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อีสเอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด มีความสามารถในการเกิดกิจกรรม (activity) 500 MCU/mg

1.3 เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Fluka จำกัด มีความสามารถในการเกิดกิจกรรม 90 U/mg

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance ยี่ห้อ Scaltec รุ่น SPB31)

2.2 เครื่องชั่งหยาบ (Balance ยี่ห้อ OHAUS รุ่น TP4000)

2.3 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter ยี่ห้อ Jenco)

2.4 ตู้อบลมร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Hot air oven ยี่ห้อ Memmert รุ่น ULE500)

2.5 เตาเผา (Muffle furnace ยี่ห้อ Gallenkamp รุ่น FSE-261-210D)

2.6 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer ยี่ห้อ Niro Atomizer)

2.7 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec apparatus ยี่ห้อ Tecator รุ่น Soxtec system HT 1043 Extraction unit)

2.8 เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Micro Kjeldahl apparatus ยี่ห้อ Buchi รุ่น Kjelttec system)

2.9 เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC 5C Plus)

2.10 เครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Homogenizer ยี่ห้อ Janke&Kunkel IKA-Labortechnik รุ่น ultra turrax T-25)

2.11 เครื่องกวนผสมแบบแกนหมุน (Overhead stirrer ยี่ห้อ IKA-Labortechnik รุ่น Eurostar basis)

2.12 ตะแกรงร่อน (Sieve)

- 2.13 เตาไฟฟ้า (Hot plate ยี่ห้อ Gem)
- 2.14 อ่างชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Water bath ยี่ห้อ Memmert รุ่น WB22)
- 2.15 เครื่องปั่นผสม (Blender ยี่ห้อ Waring รุ่น 34BL99)
- 2.16 เครื่องผสม (Vortex ยี่ห้อ Vortex-genie 2 รุ่น G-560E)
- 2.17 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ สำหรับใช้ในการวิเคราะห์

วิธีการ

1. การผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

นำเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกที่ผ่านการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีข้อ 2 จำนวน 200 กรัมมาล้างทำความสะอาดแช่น้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตร นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำถั่วเขียวที่แช่น้ำปั่นผสมน้ำปริมาตร 350 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องปั่นผสมที่ระดับความเร็ว 4 นาน 5 นาที เติมน้ำอีก 850 มิลลิลิตร และกวนสารละลายดังกล่าวด้วยเครื่องกวนผสมแบบแกนหมุนที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ตั้งสารละลายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง เพื่อให้สตาร์ชถั่วเขียวตกตะกอน เมื่อครบเวลาเทสารละลายโปรตีนออกจากสตาร์ชถั่วเขียว ปรับ pH 9.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ นาน 15 นาที หมุนเหวี่ยงสารละลายด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิความเร็ว $3,781 \times g$ อุณหภูมิ 25°C นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว $3,781 \times g$ อุณหภูมิ 25°C นาน 10 นาที ล้างตะกอนโปรตีนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น ซึ่งตะกอนโปรตีนนี้ส่วนหนึ่งนำไปศึกษาผลของการดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินตามข้อ 3 และอีกส่วนปรับ pH ให้เป็นกลาง (pH 7.0) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า $190 \pm 5^{\circ}\text{C}$ อุณหภูมิลมร้อนออก $90 \pm 5^{\circ}\text{C}$ และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีข้อ 2 และวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ตามวิธีข้อ 5 โดยดัดแปลงจากวิธีของน้ำทิพย์ (2547)

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

2.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยการอบด้วยตู้อบลมร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิตามวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก

2.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง Micro Kjeldahl ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก

2.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยเครื่อง Soxtec ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก

2.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยการเผาในเตาเผาตามวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก

2.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ ได้จากผลบวกขององค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ในข้อ 2.1-2.4 หักออกจาก 100

3. การดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

3.1 ศึกษา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

นำตะกอนผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผลิตได้จากข้อ 1 ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับ pH 4 ระดับ คือ 5.0, 6.0, 7.0 และ 8.0 ให้ความร้อนในอ่างชนิดควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 40, 45, 50, 55 และ 60°C หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน กวนผสมอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนผสมแบบแกนหมุนความเร็ว 500 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการย่อยสลาย 30 นาที ยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 90°C นาน 5 นาที ทำให้เย็นและศึกษาระดับการย่อยสลายซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Qi *et al.* (1997) ดังแสดงในภาคผนวก ข เพื่อหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซิน โดยเลือก pH และอุณหภูมิที่เอนไซม์มีระดับการย่อยสลายสูงสุด สำหรับเอนไซม์ทริปซิน pH 4 ระดับ คือ 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ส่วนอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 40, 45, 50, 55 และ 60°C

3.2 ศึกษาผลของชนิดของเอนไซม์โปรติเอส ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่อระดับการย่อยสลาย สมบัติเชิงหน้าที่ด้านต่าง ๆ องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณผลผลิต (yield) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

นำตะกอนผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผลิตได้จากข้อ 1 ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับ pH ที่เหมาะสม (ข้อ 3.1) และให้ความร้อนในอ่างชนิดควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 3.1) สำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.25-1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน กวนผสมอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนผสมแบบแกนหมุนความเร็ว 500 รอบต่อนาที ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-30 นาที ยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 90°C นาน 5 นาที ทำให้เย็น แบ่งส่วนหนึ่งไปศึกษาการย่อยสลายซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Qi *et al.* (1997) ดังแสดงในภาคผนวก ข อีกส่วนทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมिर้อนเข้า $190 \pm 5^{\circ}\text{C}$ อุณหภูมิร้อนออก $90 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช คำนวณปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากน้ำหนักผงโปรตีนที่ได้ต่อน้ำหนักเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกเริ่มต้น วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีข้อ 2 และวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ตามวิธีข้อ 4

4. ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวและผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

4.1 สมบัติการละลาย (solubility) โดยรายงานเป็นค่าดัชนีการละลายของไนโตรเจน (nitrogen solubility index: NSI) ดัดแปลงจากวิธีของ Bera and Mukherjee (1989) ดังแสดงในภาคผนวก ค

4.2 ความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity: WBC) โดยรายงานเป็นค่ากรัมต่อกรัมของโปรตีน ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Beuchat (1977) ดังแสดงในภาคผนวก ค

4.3 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil binding capacity: OBC) โดยรายงานเป็นค่ากรัมต่อกรัมของโปรตีน ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Beuchat (1977) ดังแสดงในภาคผนวก ค

4.4 สมบัติการเกิดฟอง (foaming properties) โดยรายงานเป็นค่าความสามารถในการเกิดฟอง (foaming capacity: FC) และความคงตัวของฟอง (foaming stability: FS) คัดแปลงจากวิธีของ Johnson and Brekke (1983) ดังแสดงในภาคผนวก ก

4.5 สมบัติการเกิดอิมัลชัน (emulsifying properties) โดยรายงานเป็นค่ากิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (emulsion activity: EA) และความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability: ES) คัดแปลงจากวิธีของ Yasumatsu *et al.* (1972) ดังแสดงในภาคผนวก ก

4.6 คุณสมบัติการเกิดเจล (gelation properties) คัดแปลงจากวิธีของ Coffmann and Garcia (1977) โดยรายงานเป็นค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์โปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Factorial experiment in Complete Randomized Design) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของการทดลองโดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 12.0

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

1. สถานที่

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

2. ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มต้นเดือนเมษายน 2547 สิ้นสุดเดือนตุลาคม 2548

ผลและวิจารณ์

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก

เมล็ดถั่วเขียวที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองนั้นเป็นเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด เมื่อนำเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่ามีการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก^{1/}

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ) ^{2/}
ความชื้น	10.20
โปรตีน	25.17
ไขมัน	0.57
เถ้า	3.53
คาร์โบไฮเดรตและอื่นๆ	70.73

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง ยกเว้นความชื้นคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเปียก

โดยจะเห็นได้ว่าเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดร้อยละ 70.73 โดยน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ โปรตีนร้อยละ 25.17 โดยน้ำหนักแห้ง และไขมันมีปริมาณน้อยที่สุดร้อยละ 0.57 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สมชาย (2528) และน้ำทิพย์ (2547) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าถั่วเขียวจัดเป็นพืชตระกูลถั่วที่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต ทำให้นิยมแยกส่วนของคาร์โบไฮเดรตมาแปรรูปเป็นแป้งถั่วเขียว (mungbean flour) แป้งสตาร์ชจากถั่วเขียวหรือแป้งงาหิริม (mungbean starch) และใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตวุ้นเส้น (สมชาย, 2524) สำหรับในส่วนของคุณภาพโปรตีนนั้นจัดว่าเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกมีปริมาณโปรตีนอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูงจึงเหมาะสมต่อการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่สกัดจากเมล็ดถั่วเขียว กะเทาะเปลือกผ่าซีก

โปรตีนในถั่วเขียวประกอบด้วยโปรตีนกลอบูลินมากที่สุดถึงร้อยละ 70 ของส่วนของโปรตีนที่เก็บไว้ในเมล็ดทั้งหมด (Poehlman, 1991) ซึ่งโปรตีนกลอบูลินมีสมบัติละลายน้ำได้น้อยที่สุดที่จุดไอโซอิเล็กทริก แต่ถ้าปรับ pH ด้วยการเพิ่มปริมาณสารละลายกรดหรือสารละลายด่างเพื่อให้ pH เปลี่ยนห่างออกไปจากจุดไอโซอิเล็กทริก โปรตีนจะมีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น (Wolf, 1977) ดังนั้นจึงได้ใช้หลักการพื้นฐานที่โปรตีนมีความสามารถในการละลายแตกต่างกันที่ pH ต่าง ๆ นี้ ในการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยสารสกัดน้ำโดยใช้เมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกเป็นวัตถุดิบ เพื่อศึกษาการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินต่อไป โดยเตรียมสารละลายถั่วเขียวจากการบดเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกกับน้ำ ปรับ pH ของ สารละลายให้เป็นด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (pH 9.5) ซึ่งเป็นค่า pH ที่โปรตีนถั่วเขียวมีความสามารถในการละลายมากที่สุด เนื่องจากสารละลายด่างสามารถทำลายพันธะไดซัลไฟด์ที่เป็นพันธะเชื่อมภายใน โมเลกุล (intramolecular bonding) และพันธะเชื่อมข้ามระหว่างสายพอลิเปปไทด์ของโมเลกุลโปรตีน (intermolecular bonding) ทำให้โมเลกุลโปรตีนที่จากเดิมมีการเกาะตัวรวมกันอย่างแข็งแรงละลายออกมาได้มากขึ้น (นิธิยา, 2545; Hamada, 1997) รวมทั้งที่ pH ดังนี้โมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นลบ ก่อให้เกิดแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตย์ (repulsion electrostatic) ระหว่างหมู่ที่มีประจุเหมือนกันของโปรตีน ทำให้โปรตีนพองตัวไม่สามารถเข้าใกล้กันได้ ส่งเสริมการเกิดแรงดึงดูดของอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำ (protein-water interaction) มากขึ้น โปรตีนจึงมีความสามารถในการละลายน้ำมากขึ้น (Wong, 1989; Damodaran, 1996) การปรับ pH สารละลายถั่วเขียวลงจาก 9.5 เป็น 4.5 ซึ่งเป็นจุดไอโซอิเล็กทริกมีผลในการแยกโปรตีนออกจากสารประกอบอื่น ๆ ที่อยู่ในสารละลายถั่วเขียว เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์คือประจุบวกเท่ากับประจุลบ ทำให้สูญเสียแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตย์ระหว่างหมู่ที่มีประจุของโปรตีน แต่เพิ่มการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) ด้วยอันตรกิริยาไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ส่งผลให้โปรตีนสามารถเข้าใกล้กันได้มากขึ้นจนเกิดการเชื่อมติดกันเป็นอนุภาคเดียวกันขนาดใหญ่และตกตะกอนในที่สุด (Damodaran, 1996)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวที่สกัดได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่าปริมาณโปรตีนร้อยละ 88.27 โดยน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งเกือบใกล้เคียงกับระดับปริมาณโปรตีนของผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทที่นิยามไว้ว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลทคือ ผลิตภัณฑ์

โปรตีนที่มีปริมาณโปรตีนมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 ส่วนนิยามของผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้น คือ ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีปริมาณโปรตีนระหว่างร้อยละ 65-90 (Rakosky, 1989) สำหรับ องค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ พบว่าปริมาณความชื้น ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ มีปริมาณ น้อยกว่าองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีก ซึ่งปริมาณไขมันเป็น องค์ประกอบที่มีน้อยที่สุด ทำให้เป็นผลดีต่อการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนเนื่องจากถ้ามีปริมาณ ไขมันมากจะเกิดการรวมตัวกันระหว่างไขมันและโปรตีน เกิดเป็นโครงสร้างที่ใหญ่และซับซ้อนขึ้น จึงเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีน (Roach and Gehrke, 1970) ส่วนปริมาณเถ้า พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีปริมาณมากกว่าเมล็ดถั่วเขียวเพราะระหว่างขั้นตอนการสกัด โปรตีนและการตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริก ทำให้เกิดการสร้างสารโซเดียมคลอไรด์หรือ เกลือ (NaCl) จากปฏิกิริยาสะเทินระหว่างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรด ไฮโดรคลอริก (Chavan *et al.*, 2001)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่สกัดจากเมล็ดถั่วเขียวกะเทาะ เปลือกผ่าซีก^{1/}

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ) ^{2/}
ความชื้น	3.52
โปรตีน	88.27
ไขมัน	0.36
เถ้า	4.16
คาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ	7.20

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง ยกเว้นความชื้นคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเปียก

3. การดัดแปรสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ ทรูปซิน

3.1 ศึกษา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วย เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทรูปซิน

ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วย เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินด้วยการปรับ pH ช่วง 5.0-8.0 และอุณหภูมิช่วง 40-65°C สำหรับเอนไซม์ฟิซิน ส่วนเอนไซม์ทริปซินปรับ pH ช่วง 6.0-9.0 และอุณหภูมิช่วง 40-65°C เพื่อหา pH และอุณหภูมิที่เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินสามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวได้มากที่สุดโดยการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงจำนวนเปปไทด์ที่ถูกย่อยสลายทั้งหมดด้วยเอนไซม์ ระดับการย่อยสลายมีความสัมพันธ์กับค่าความยาวสายเปปไทด์ คือ เมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้น ความยาวสายเปปไทด์ลดลง นอกจากนี้ยังสามารถใช้ระดับการย่อยสลายเพื่อควบคุมขอบเขตการย่อยสลายเพื่อให้ได้สายพอลิเปปไทด์ที่มีขนาดเหมาะสม (Adler-Nissen, 1986) ดังนั้นระดับการย่อยสลายสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถของ เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ใช้เป็นซับสเตรต ถ้าระดับการย่อยสลายมีค่าสูงแสดงว่าเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินสามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวจนได้เปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระจำนวนมากหรือโปรตีนมีความยาวสายเปปไทด์ลดลงนั่นเอง ผลการทดลองของเอนไซม์ฟิซินแสดงในภาพที่ 5 ส่วนเอนไซม์ทริปซินแสดงในภาพที่ 6

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของเอนไซม์ทั้งสองชนิดพบว่า pH อุณหภูมิการย่อยสลาย และปัจจัยร่วมระหว่าง pH และอุณหภูมิการย่อยสลายมีผลต่อระดับการย่อยสลายของ ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดย pH 6.0 และอุณหภูมิการย่อยสลาย 55°C เอนไซม์ฟิซินสามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวได้มากที่สุดร้อยละ 13.19 (ภาพที่ 5) ส่วนเอนไซม์ทริปซินมีค่ามากที่สุดร้อยละ 5.87 ที่ pH 8.0 และอุณหภูมิการย่อยสลาย 45°C (ภาพที่ 6) แสดงว่า pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายนี้น่าจะทำให้เอนไซม์เกิดการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนได้ดีที่สุด จึงเลือก pH 6.0 และอุณหภูมิการย่อยสลาย 55°C เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนของเอนไซม์ฟิซินและ pH 8.0 และอุณหภูมิการย่อยสลาย 45°C สำหรับเอนไซม์ทริปซินเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งเมื่อ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระดับการย่อยสลายมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่งแล้วลดลง (ภาพที่ 5 และภาพที่ 6) เนื่องจากเอนไซม์คือ กลุ่มโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเนื่องจากโครงรูปสามมิติของเอนไซม์มีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบในทิศทางที่จะต้องจับที่บริเวณจับและบริเวณเร่งปฏิกิริยา โดย pH มีผลต่อการแตกตัวของไอออน (ionization) ของหมู่โปรโตโทรฟิก (prototropic group) ที่อยู่ภายในบริเวณเร่งของเอนไซม์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปสามมิติซึ่งมีผลไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับซับสเตรตหรือการเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ pH ยังมีผลให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรต ส่วนถ้าอุณหภูมิที่ใช้ในการ

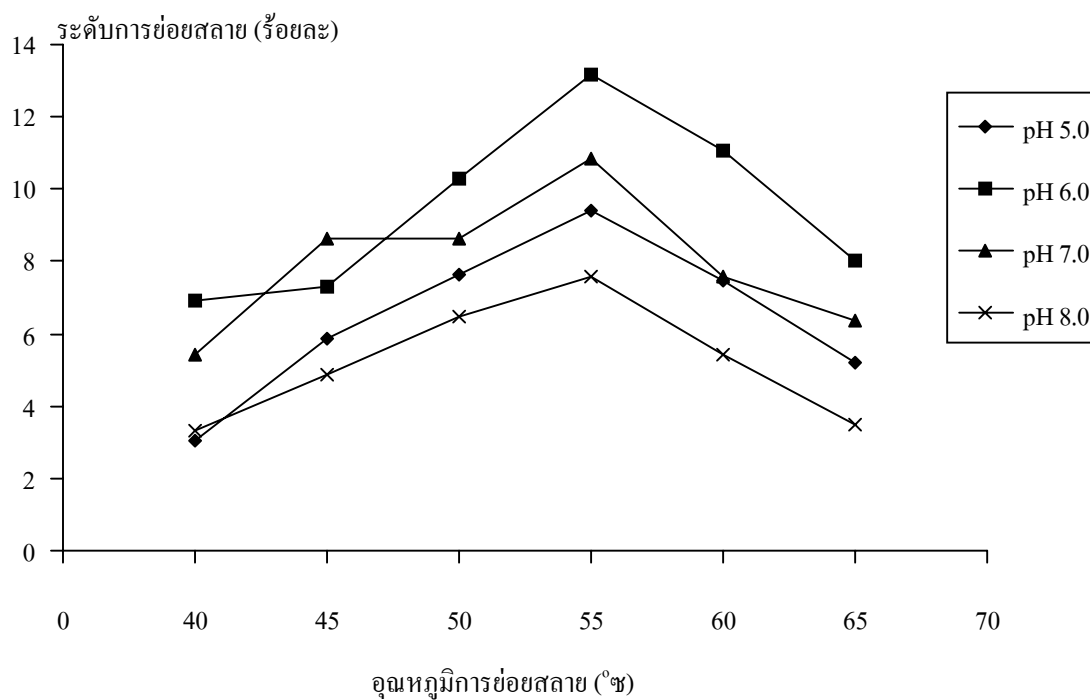
เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสูงเกินไปส่งผลให้พันธะที่มีแรงยึดเหนี่ยวต่ำเช่น พันธะไอออนิก และพันธะไฮโดรเจนเกิดการแตกตัว โครงรูปสามมิติเสียหาย ทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติและสูญเสียความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา (Whitaker, 1994)

3.2 ศึกษาผลของชนิดของเอนไซม์โปรติเอส ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่อระดับการย่อยสลาย สมบัติเชิงหน้าที่ด้านต่าง ๆ องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

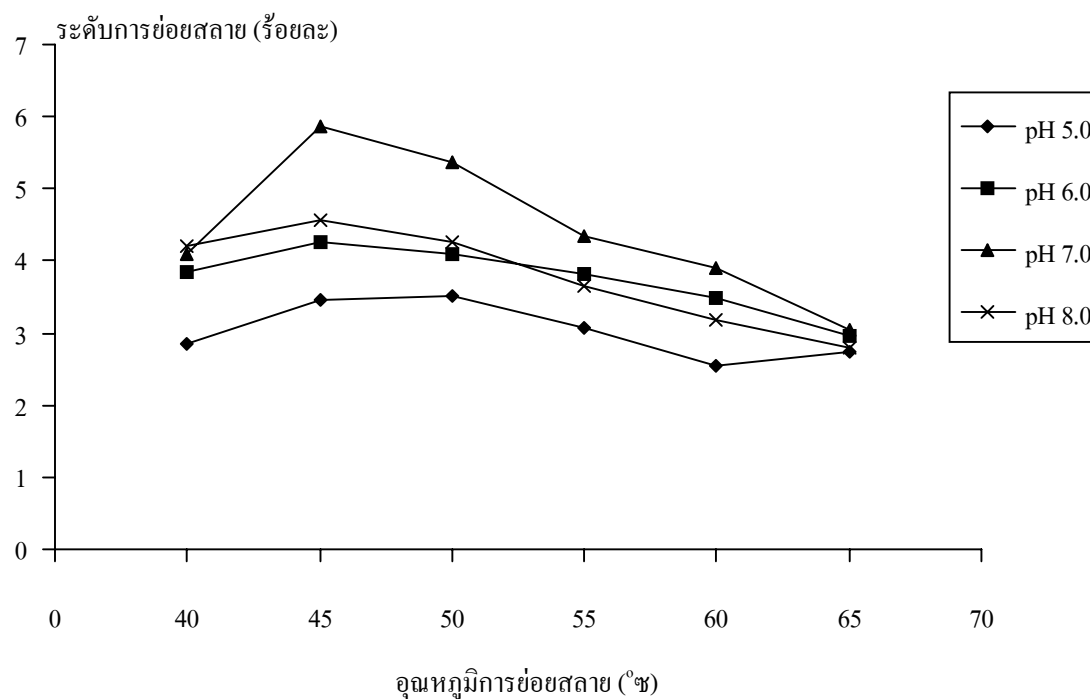
ศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินเป็นร้อยละ 0.25-1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของโปรตีน และระยะเวลาการย่อยสลาย 5-30 นาที ควบคุม pH 6.0 อุณหภูมิ 55°C สำหรับเอนไซม์ฟิซิน ส่วนเอนไซม์ทริปซินควบคุม pH 8.0 อุณหภูมิ 45°C เมื่อครบเวลายับยั้งปฏิกิริยาคด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C นาน 10 นาที แล้ววิเคราะห์ระดับการย่อยสลายสมบัติเชิงหน้าที่ด้านต่าง ๆ องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว

3.2.1 ระดับการย่อยสลาย

ผลการทดลองระดับการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 7 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อระดับการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินมีระดับการย่อยสลายมากที่สุดร้อยละ 30.26 และ 18.05 ตามลำดับ เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที แสดงว่าเอนไซม์ทั้งสองสามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวได้มากที่สุดในสภาวะดังกล่าว โดยเอนไซม์ฟิซินมีระดับการย่อยสลายมากกว่าเอนไซม์ทริปซินเนื่องจากเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีความจำเพาะเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ฟิซินอยู่ในกลุ่มซัลโฟดริล โปรติเอสชนิดเอนโคเปปติเดสที่สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายโปรตีนและมีความจำเพาะเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ต่ำ (broad specificity) ทำให้สามารถย่อยพันธะเปปไทด์ได้ที่อนุโมลกรดอะมิโนหลายชนิด ภายหลังการย่อยสลายจึงมีจำนวน



ภาพที่ 5 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรดีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ฟิซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิการย่อยสลายต่าง ๆ



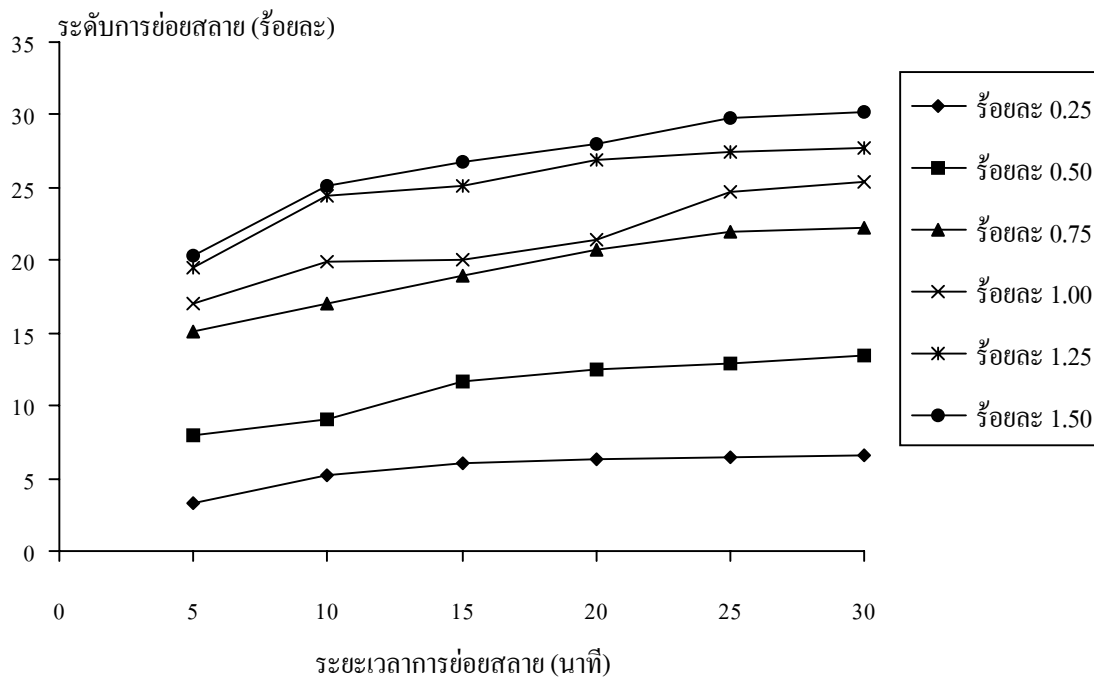
ภาพที่ 6 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โพรดีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ทริปซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิการย่อยสลายต่าง ๆ

เปปไทด์ที่ถูกย่อยสลายทั้งหมดหรือมีระดับการย่อยสลายมากกว่าการใช้เอนไซม์ทริปซินซึ่งจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสชนิดเอนโดเปปติเคสที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์สูง (high specificity) ที่อนุมูลกรดอะมิโนไลซีนและอาร์จินีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดที่มีหมู่ R ที่มีขั้วและแสดงประจุบวก (Arai and Fujimaki, 1991; Cai *et al.*, 1996; Damodaran, 1996)

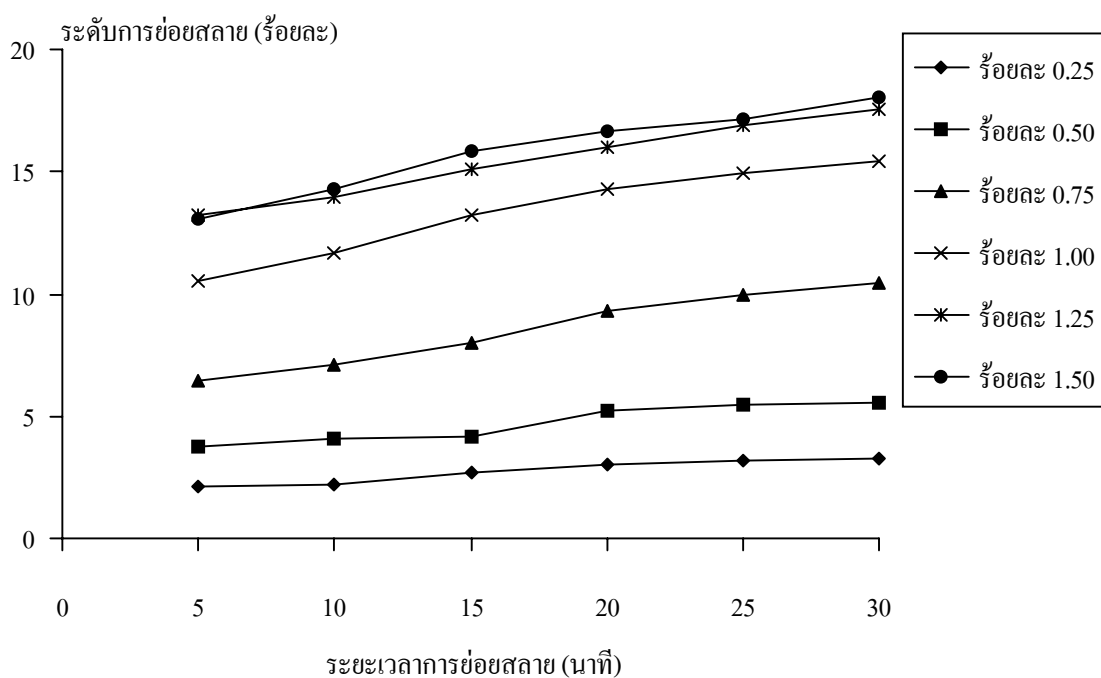
เอนไซม์ทั้งสองชนิดเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น นั่นคือความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายแสดงถึงระดับการย่อยสลาย โดยระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นรวดเร็วในช่วงแรกของการย่อยสลาย หลังจากนั้นระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากช่วงแรกของการย่อยสลายนั้นเอนไซม์จะดูดซับเข้าจับกับโปรตีนอย่างรวดเร็ว เกิดการย่อยสลายจนทำให้เกิดเปปไทด์ขึ้น หลังจากนั้นเมื่อระดับการย่อยสลายสูงจะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน (competition inhibition) โดยเกิดการแข่งขันกันระหว่างโปรตีนที่เป็นซับสเตรตและเปปไทด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาในการเข้าจับกับเอนไซม์ หรืออาจเนื่องมาจากปริมาณโปรตีนที่เป็นซับสเตรตหมดไป (Adler-Nissen, 1986) การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แล้วมีผลทำให้ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเนื่องจากปริมาณเอนไซม์ในการย่อยสลายซับสเตรตมากจึงสามารถเกิดการย่อยสลายได้ดีส่งผลให้มีจำนวนเปปไทด์ที่ถูกย่อยสลายทั้งหมดจำนวนมาก ส่วนเวลาที่มากขึ้นมีผลให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวได้นานขึ้น ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวถูกย่อยเป็นเปปไทด์จำนวนมากส่งผลให้ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นซึ่งตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ฟิซินและระยะเวลาการย่อยสลายมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

เมื่อเปรียบเทียบระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการย่อยสลายต่างๆกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีระดับการย่อยสลายร้อยละ 1.96 พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ($p \leq 0.05$)

ก) เอนไซม์ฟิซิน



ข) เอนไซม์ทริปซิน



ภาพที่ 7 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย
ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา
การย่อยสลายต่าง ๆ

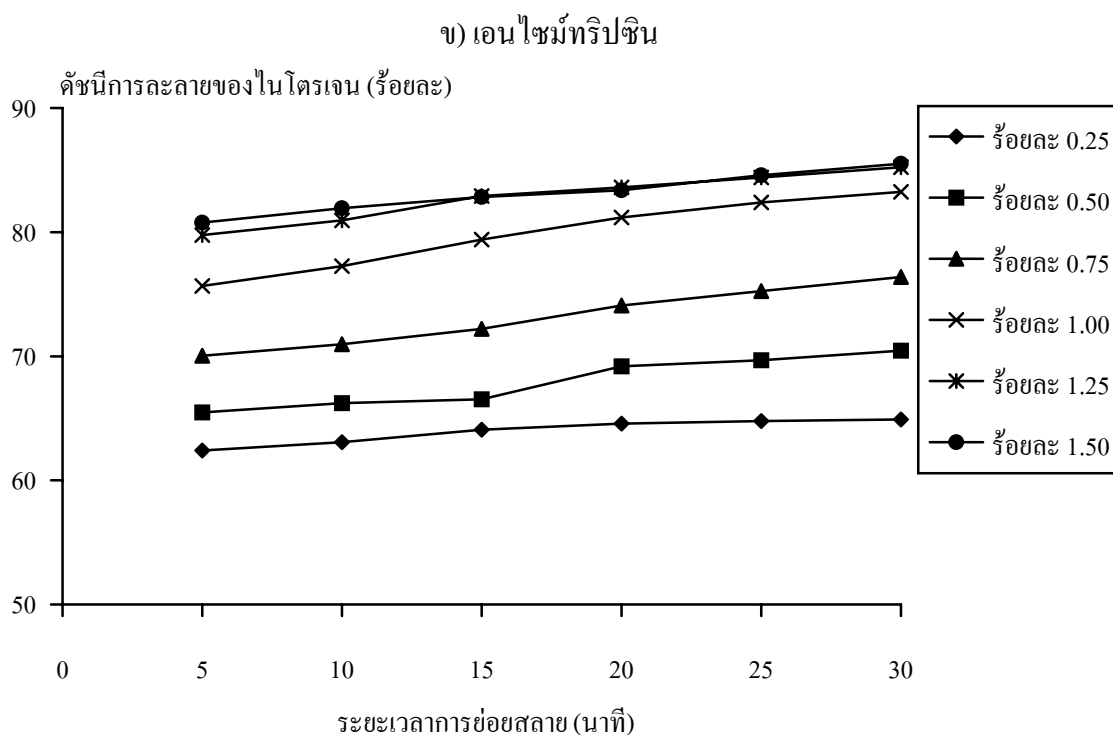
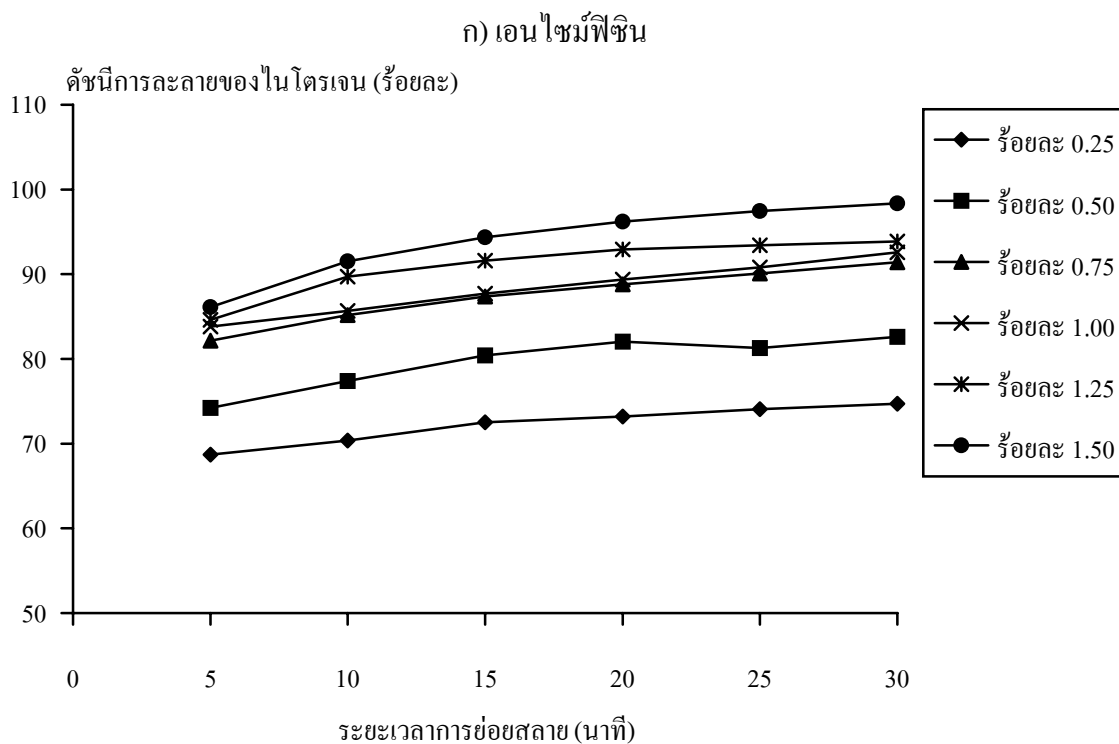
3.2.2 สมบัติการละลาย

สมบัติการละลายของโปรตีนเป็นสมบัติที่สำคัญมากที่สุดของโปรตีนเนื่องจากสมบัติการละลายนี้มีอิทธิพลต่อคุณสมบัติทางหน้าที่ด้านอื่น ๆ เช่น สมบัติการเกิดฟองและความคงตัว สมบัติการเกิดอิมัลชันและความคงตัว และคุณสมบัติการเกิดเจล เป็นต้น (Knorr, 1980; Damodaran, 1997) ซึ่งในการทดลองได้วิเคราะห์สมบัติการละลายเป็นค่าดัชนีของการละลายของไนโตรเจน (NSD) ซึ่งคำนวณจากปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ในสารละลายเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของตัวอย่าง ผลการทดลองดัชนีการละลายของไนโตรเจนของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 8

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อดัชนีการละลายของไนโตรเจนของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยความเข้มข้นของเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที ทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีดัชนีการละลายของไนโตรเจนมากที่สุดคือ ร้อยละ 98.35 และ 85.51 ตามลำดับ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับค่าระดับการย่อยสลาย ซึ่งการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์เป็นการกำจัดพันธะเชื่อมข้ามของโปรตีนซึ่งเป็นตัวขัดขวางการละลาย และลดน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเกิดเป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ นอกจากนี้ยังเพิ่มจำนวนหมู่ที่มีประจุที่ได้แก่ หมู่อะมิโน (NH_3^+) และหมู่คาร์บอกซิล (COO^-) ซึ่งสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้มากขึ้น เพิ่มความชอบน้ำของโปรตีน ส่งผลให้สมบัติการละลายเพิ่มขึ้น (Mahmond, 1994) โดยเอนไซม์ฟิซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีดัชนีการละลายของไนโตรเจนมากกว่าเอนไซม์ทริปซินเพราะเอนไซม์ฟิซินสามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ได้ที่อนุโมลกรดอะมิโนหลายชนิดส่งผลให้ภายหลังการย่อยสลายโมเลกุลโปรตีนประกอบด้วยเปปไทด์สายสั้น ๆ ขนาดเล็กและแสดงหมู่ที่มีประจุจำนวนมาก

เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น (ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น) มีผลทำให้ดัชนีการละลายของไนโตรเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 68.71 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุดร้อยละ 3.36) ถึงร้อยละ 98.35 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุดร้อยละ 30.26) ของเอนไซม์ฟิซิน และจากร้อยละ 62.40 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุดร้อยละ 2.14) ถึงร้อยละ 85.51 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุดร้อยละ 18.05) ของเอนไซม์ทริปซิน โดยมีแนวโน้ม

เพิ่มขึ้นรวดเร็วในช่วงแรกของการย่อยสลายหลังจากนั้นดัชนีการละลายของไนโตรเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเช่นเดียวกับผลการทดลองของระดับการย่อยสลาย เนื่องจากเกิดการแข่งขันกันระหว่างโปรตีนที่เป็นซับสเตรตและเปปไทด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ของการเกิดปฏิกิริยาในการเข้าจับกับเอนไซม์ หรืออาจเนื่องมาจากปริมาณโปรตีนที่เป็นซับสเตรตหมดไป (Adler-Nissen, 1986) จากผลการทดลองจะเห็นว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลาย ระดับการย่อยสลาย และดัชนีการละลายของไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกัน คือเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระดับการย่อยสลายและดัชนีการละลายของไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีดัชนีการละลายของไนโตรเจนร้อยละ 60.80 ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดเปปไทด์สายสั้นซึ่งน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีขนาดเล็ก รวมทั้งเกิดกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้เป็นโมเลกุลที่มีขั้วทำให้เกิดพันธะกับไฮโดรเจนของโมเลกุลน้ำ ทำให้เกิดการละลายดีดังนั้น ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่ทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์



ภาพที่ 8 ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

3.3.3 ความสามารถในการจับน้ำ

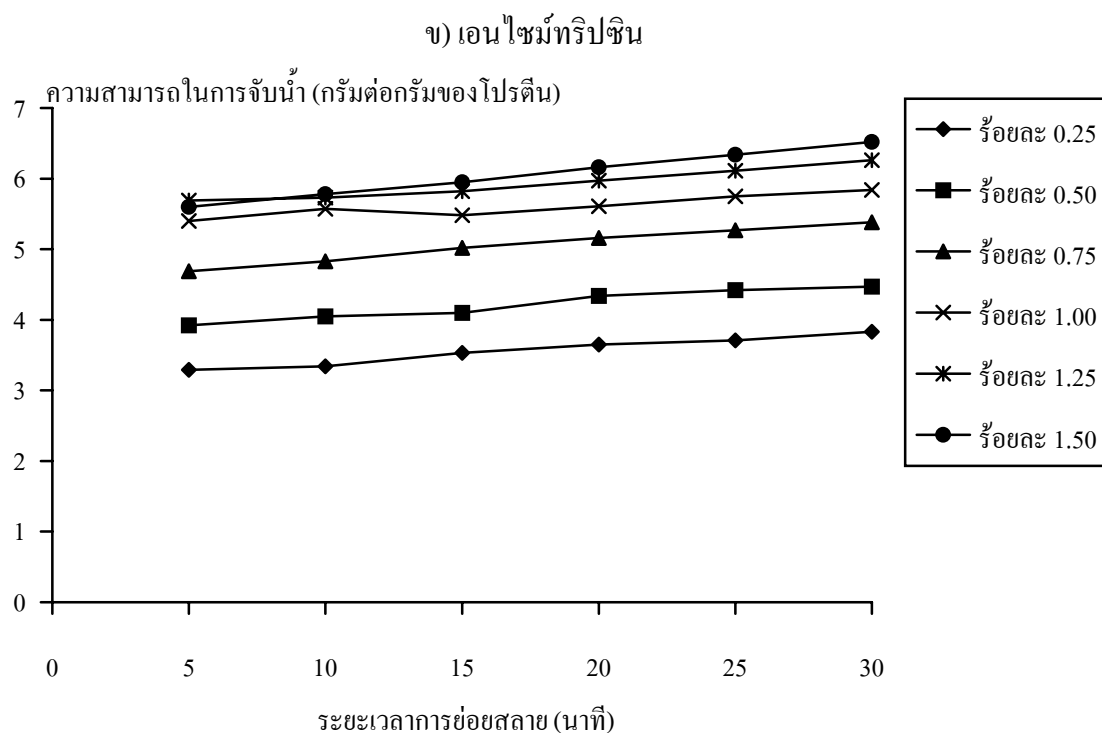
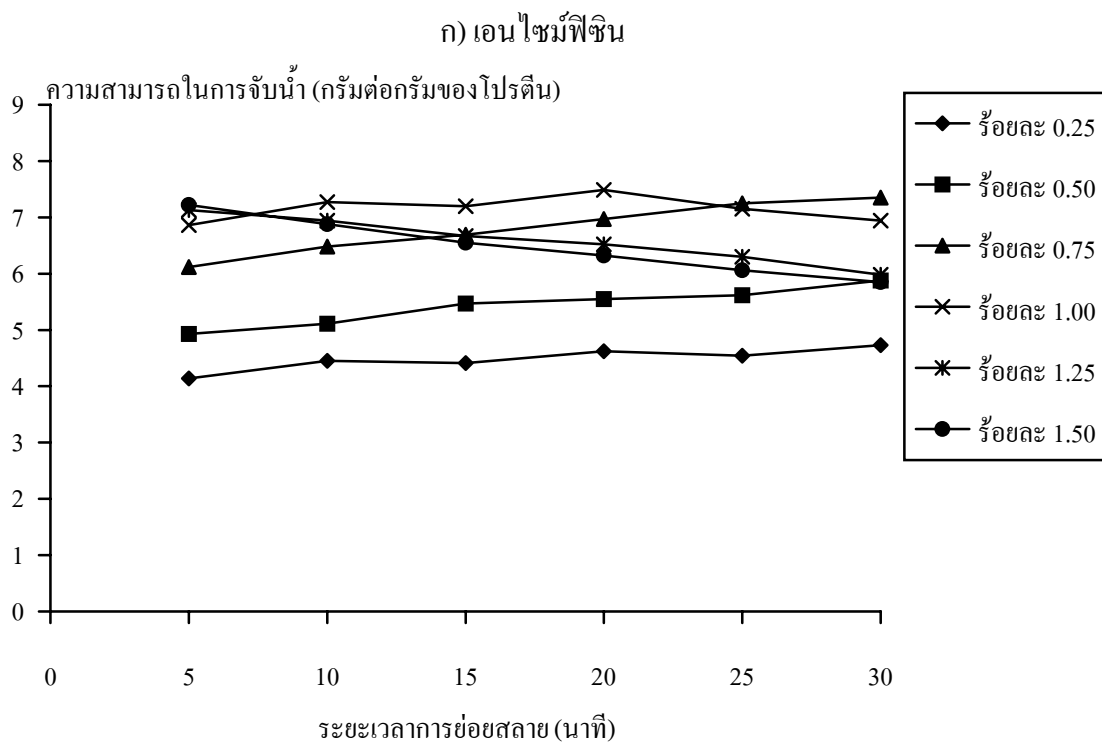
ความสามารถในการจับน้ำเป็นความสามารถของโปรตีนในการจับกับน้ำ หลังจากการหมุนเหวี่ยง ทำให้โปรตีนเกิดการพองตัว ช่วยเพิ่มน้ำหนัก ลักษณะของความฉ่ำน้ำ (juiciness) และความเหนียวนุ่ม (tenderness) ให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Damodaran, 1996) ผลการทดลองความสามารถในการจับน้ำของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลาย ต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 9 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อความสามารถในการจับน้ำของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีความสามารถในการจับน้ำมากที่สุด 7.49 กรัมต่อกรัมของโปรตีน เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 นาที และเอนไซม์ทริปซินมีความสามารถในการจับน้ำมากที่สุด 6.52 กรัมต่อกรัมของโปรตีน เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.50 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายนี้นั้นมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่า 2.93 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ($p \leq 0.05$)

การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึงเมื่อระดับการย่อยสลายและดัชนีการละลายของไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ความสามารถในการจับน้ำของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวเพิ่มขึ้นเนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายบ่งบอกถึงระดับการย่อยสลาย และระดับการย่อยสลายมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับดัชนีการละลายของไนโตรเจนดังแสดงในผลการทดลองข้างต้น (ภาพที่ 8) สาเหตุที่ทำให้ความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้นเพราะเอนไซม์มีผลให้โปรตีนแสดงหมู่ที่มีประจุได้แก่หมู่ อะมิโน และหมู่คาร์บอกซิล ซึ่งหมู่ดังกล่าวสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำ และกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ภายในโครงสร้างโปรตีนได้ดีขึ้น โดยทั่วไปโมเลกุลน้ำที่จับกับโมเลกุลโปรตีนสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรกเป็นน้ำที่จับอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน เรียกว่า bound water และกลุ่มที่สองเป็นน้ำที่อยู่ในโครงสร้างร่างแหของโปรตีน เรียกว่า free water ซึ่งน้ำในส่วนนี้สามารถแยกออกจากโปรตีนได้ (Mahmond, 1994; Zayas, 1997) เอนไซม์ฟิซินนั้นพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ช่วงร้อยละ 0.25-0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของโปรตีน ทุกระยะเวลา

การย่อยสลาย, ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-22.22) ผลึกภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงกว่านี้ (ระดับการย่อยสลายสูง: ช่วงร้อยละ 24.44-30.26) ผลึกภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวกลับมีความสามารถในการจับน้ำลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมาก แสดงว่าระดับการย่อยสลายที่มากเกินไปมีผลให้ผลึกภัณฑ์โปรตีนมีดัชนีการละลายของไนโตรเจนสูงมากและเอนไซม์ทำลายโครงสร้างร่างแหที่กักเก็บโมเลกุลน้ำของโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนไม่สามารถกักเก็บน้ำไว้ภายในได้เหมือนเดิม

ความสามารถในการจับน้ำจึงลดลง (Bombara *et al.*, 1997)

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการจับน้ำของผลึกภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินจะเห็นได้ว่าเอนไซม์ฟิซินทำให้ผลึกภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวมีความสามารถในการจับน้ำมากกว่าการใช้เอนไซม์ทริปซิน เนื่องจากเอนไซม์ฟิซินมีความจำเพาะเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ต่ำ โดยย่อยพันธะเปปไทด์ที่อนุโมลกรดอะมิโนหลายชนิดคือ (1) กรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกมีขั้วและแตกตัวแสดงประจุบวก (กรดอะมิโนไลซีน) (2) กรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกมีขั้วและแตกตัวแสดงประจุลบ (กรดอะมิโนไทโรซีน) (3) กรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกมีขั้วและไม่แตกตัว (กรดอะมิโนแอสพาราจีน) และ (4) กรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกไม่มีขั้ว (กรดอะมิโนไกลซีน ลิวซีน แวลีน และอะลานีน) ส่วนเอนไซม์ทริปซินมีความจำเพาะเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์สูงที่อนุโมลกรดอะมิโนไลซีนและอาร์จินีนเท่านั้น (กรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกมีขั้วและแตกตัวแสดงประจุบวก) ซึ่งกรดอะมิโนกรดที่มีหมู่ R เป็นพวกมีขั้วและแตกตัวได้สามารถจับโมเลกุลของน้ำได้มากที่สุดประมาณ 6 โมลของน้ำต่อโมเลกุลโปรตีน รองลงมาคือ กรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกมีขั้วและไม่แตกตัวสามารถจับโมเลกุลของน้ำได้มากที่สุดประมาณ 2 โมลของน้ำต่อโมเลกุลโปรตีน และกรดอะมิโนที่มีหมู่ R เป็นพวกไม่มีขั้วจะสามารถจับโมเลกุลของน้ำได้น้อยที่สุดหรือไม่จับเลย (Arai and Fujimaki, 1991; Damodaran, 1996; Zayas, 1997) ดังนั้นเอนไซม์ฟิซินจึงมีผลให้โมเลกุลโปรตีนแสดงหมู่ X ของกรดอะมิโนที่สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำได้หลายโมเลกุลกว่าเอนไซม์ทริปซิน ทั้งยังเพิ่มจำนวนหมู่อะมิโนและคาร์บอกซิลซึ่งจะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้มากกว่าด้วย



ภาพที่ 9 ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

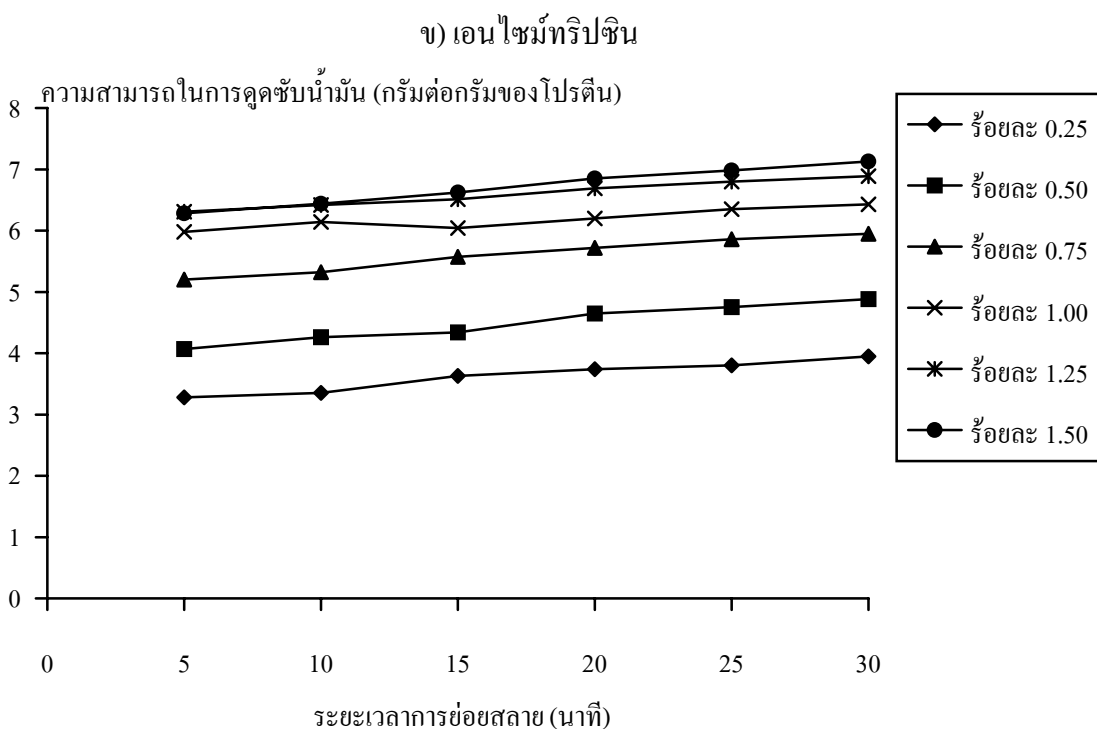
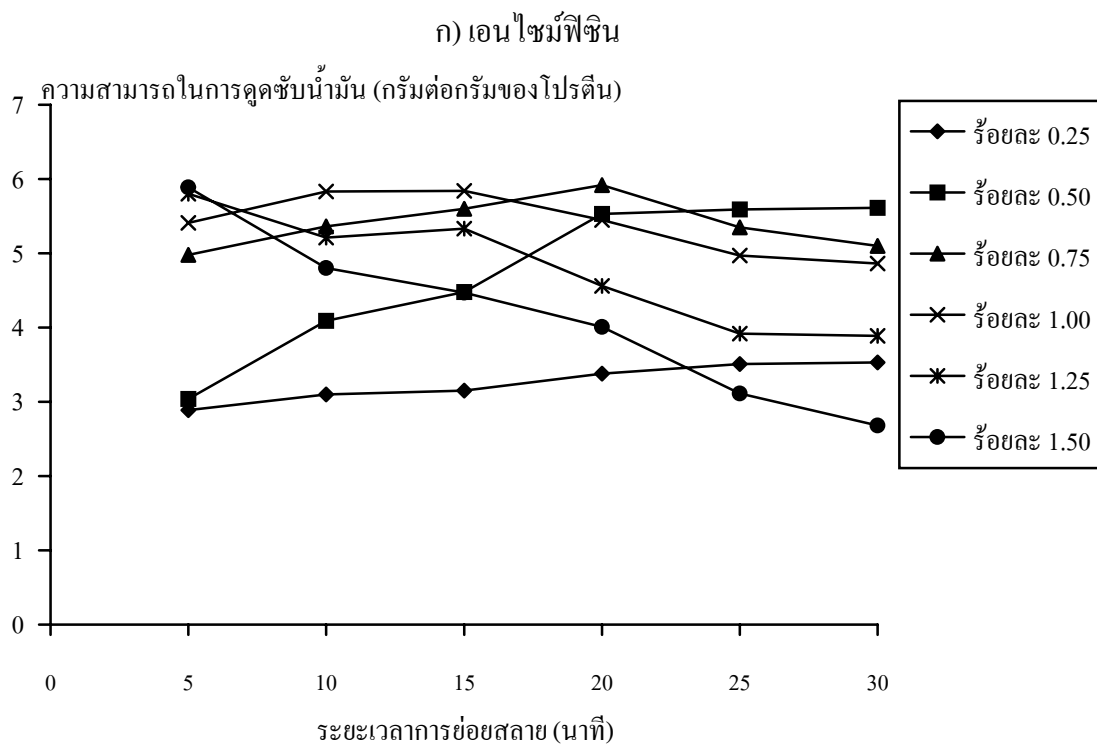
3.3.4 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน

ความสามารถในการดูดซับน้ำมันเป็นลักษณะปรากฏการณ์การจับตัวทางกายภาพระหว่างโปรตีนและน้ำมัน (Zayas, 1997) ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการดูดซับน้ำมัน ได้แก่ ปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหาร พื้นที่ผิวของโปรตีนต่อความไม่ชอบน้ำ รูปแบบของประจุ สภาพความคล่องตัวของน้ำมัน วิธีที่ใช้ตรวจสอบ และความสามารถในการจับตัวกันของน้ำมัน (Kinsella, 1976) ผลการทดลองความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 10 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันมากที่สุด 5.92 กรัมต่อกรัมของโปรตีน เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 นาที และเอนไซม์ทริปซินมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันมากที่สุด 7.13 กรัมต่อกรัมของโปรตีน เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที ซึ่งผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายนี้นั้นมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่า 2.29 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ($p \leq 0.05$)

การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความสามารถในการดูดซับน้ำมันเพิ่มขึ้น (ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น) เนื่องจากโปรตีนแสดงส่วนที่ไม่มีขั้วมากขึ้น ซึ่งโดยปกติแล้วโมเลกุลโปรตีนจะม้วนขดตัวโดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าไปภายในโครงสร้างโมเลกุลและหันส่วนที่มีขั้วมาอยู่ที่ผิวของโมเลกุลโปรตีน เมื่อถูกย่อยสลายจึงมีผลให้โปรตีนแสดงส่วนที่ไม่มีขั้วดังกล่าวมากขึ้น ทำให้โปรตีนสามารถเกาะหรือสานตัวกับส่วนที่เป็นสายไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ของน้ำมันได้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (Vioque *et al.*, 2000) ด้านเอนไซม์ฟิซินนั้นพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ช่วงร้อยละ 0.25-0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีนทุกระยะเวลาการย่อยสลาย, ความเข้มข้นของร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที, ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-15 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายต่ำสุดถึงปานกลาง: ช่วงร้อยละ 3.36-20.70) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการ

การดูดซับน้ำมันเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน ส่วนเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงขึ้น (ระดับการย่อยสลายสูง: ช่วงร้อยละ 21.43-30.26) ความสามารถในการดูดซับน้ำมันลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมากอาจเพราะการย่อยสลายโปรตีนที่ระดับการย่อยสลายสูงนั้นอิทธิพลของโปรตีนในการแสดงหมู่ที่มีประจุที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนของโมเลกุลน้ำส่งผลให้มีดัชนีการละลายของโปรตีนสูงซึ่งมีอิทธิพลมากกว่าการแสดงส่วนที่ไม่มีขั้วของโปรตีนจึงทำให้โปรตีนมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันลดลง หรืออาจเป็นเพราะเอนไซม์ทำลายโครงสร้างร่างแหของโมเลกุลโปรตีนส่งผลให้โปรตีนดูดซับน้ำมันลดลง

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน พบว่าเอนไซม์ทริปซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันมากกว่าการใช้เอนไซม์ฟิซินอาจเนื่องมาจากเอนไซม์ทริปซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการจับน้ำต่ำกว่าเอนไซม์ฟิซิน เมื่อนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ณ สภาวะเดียวกัน ผงโปรตีนที่ได้มีความชื้นต่ำกว่า (ผลของความชื้นแสดงในภาพที่ 16) ทำให้การยึดเกาะระหว่างอนุภาคโปรตีนมีน้อย ค่าความหนาแน่นของผงโปรตีนจึงต่ำ ซึ่งผงโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำและขนาดอนุภาคเล็กสามารถดูดซับและกักเก็บน้ำมันได้มากกว่าผงโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (Zayas, 1997)



ภาพที่ 10 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่างๆ

3.3.5 สมบัติการเกิดฟอง

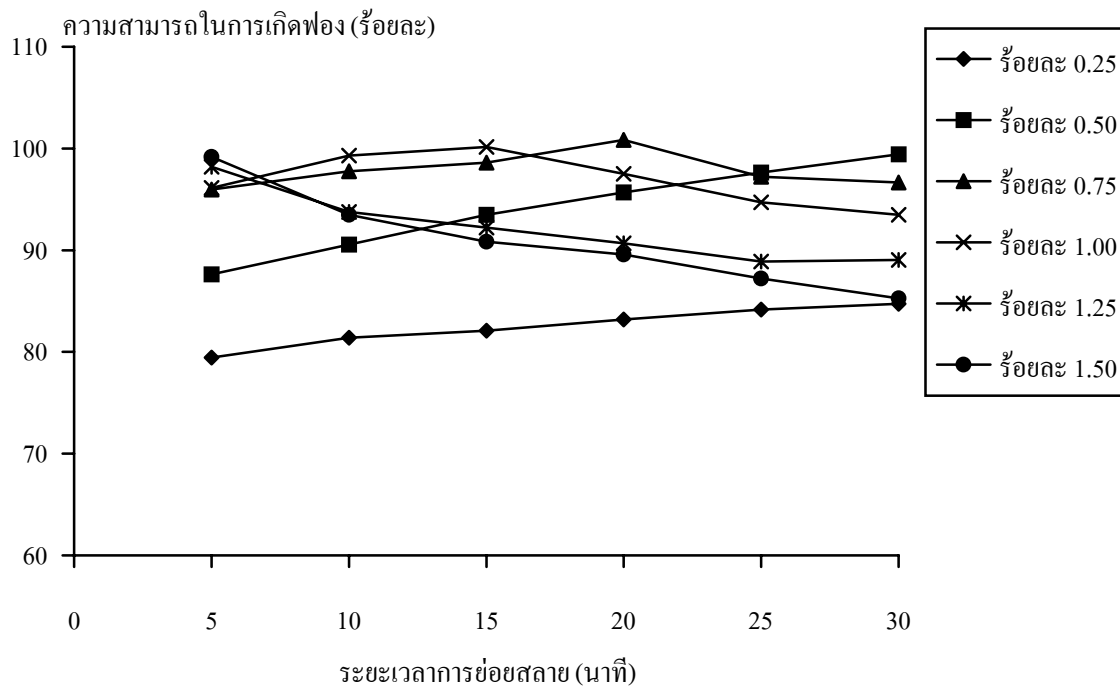
สมบัติการเกิดฟองรายงานเป็นค่าความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของการเกิดฟอง ผลการทดลองความสามารถในการเกิดฟองของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 11 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อความสามารถในการเกิดฟองของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีความสามารถในการเกิดฟองมากที่สุดร้อยละ 100.83 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 นาที เอนไซม์ทริปซินมีความสามารถในการเกิดฟองมากที่สุดร้อยละ 124.65 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และทุกระยะเวลาการย่อยสลายมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 77.36 ($p \leq 0.05$)

การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความสามารถในการเกิดฟองเพิ่มขึ้น (ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น) เนื่องจากกลไกการเกิดฟองของโปรตีนประกอบด้วยสามขั้นตอน คือ อันดับแรกโปรตีนที่ละลายได้จะเกิดการแพร่กระจาย (diffusion) ไปยังผิวรอยต่อระหว่างอากาศและน้ำ เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนที่รอยต่อนี้จะทำให้แรงตึงผิวลดลง อันดับต่อมาโปรตีนเกิดการคลายตัว เปลี่ยนรูปร่างและจัดเรียงส่วนที่ไม่มีขั้วล้อมรอบฟองอากาศและหันส่วนที่มีขั้วสู่น้ำ กระทั่งเกิดปฏิกิริยาระหว่างสายพอลิเปปไทด์เพื่อสร้างเป็นฟิล์มที่แข็งแรงล้อมรอบฟองอากาศ (Damodaran, 1996) การย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีผลให้โปรตีนมีขนาดเล็กลง และมีความยืดหยุ่น (flexibility) มากขึ้น จึงสามารถแพร่กระจายไปยังรอยต่อระหว่างอากาศและน้ำได้รวดเร็วขึ้นเพราะโปรตีนละลายมากขึ้น แสดงว่าสมบัติการละลายมีผลต่อความสามารถในการเกิดฟองโดยสมบัติการละลายเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการเกิดฟองเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งยังทำให้โปรตีนหันส่วนที่ไม่มีขั้วที่แต่เดิมอยู่ภายในโครงสร้างออกมาภายนอกเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สามารถอ้อมฟองอากาศได้มากขึ้น เพิ่มความสามารถในการเกิดฟอง (Were *et al.*, 1997) ส่วนเอนไซม์ฟิซินนั้นพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ช่วงร้อยละ 0.25-0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ทุกระยะเวลาการย่อยสลาย, ความเข้มข้นของร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที,

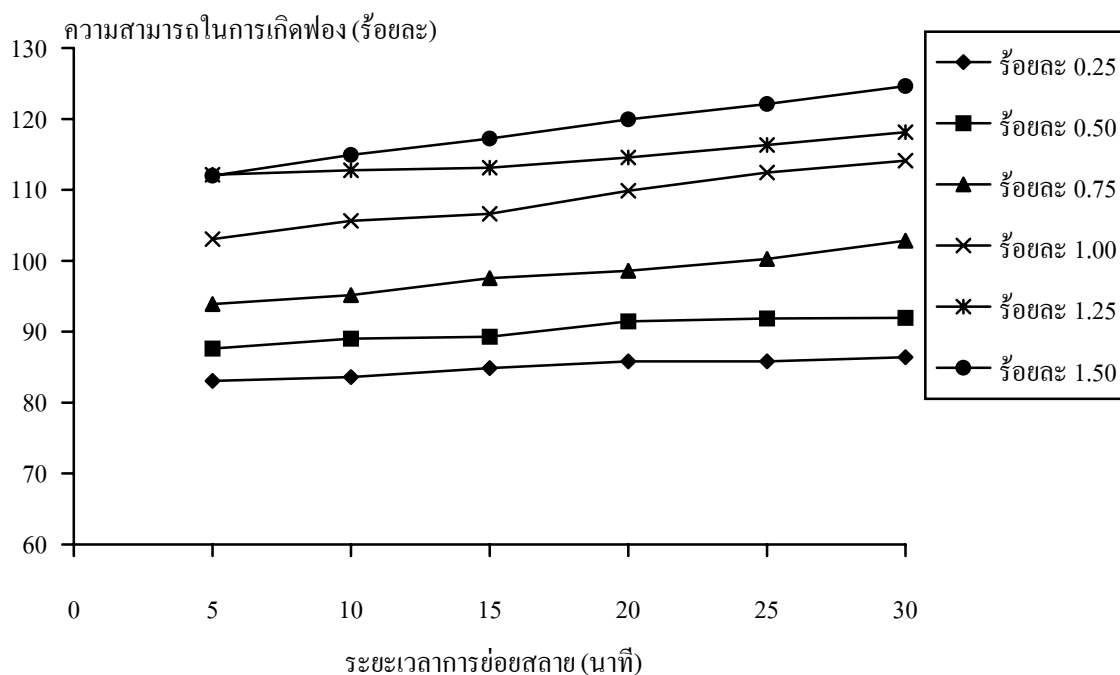
ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-15 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-20.70) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการเกิดฟองเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงขึ้น (ระดับการย่อยสลายสูง: ช่วงร้อยละ 21.43-30.26) ความสามารถในการเกิดฟองลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 11) เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนมากเกินไปส่งผลให้เกิดการเสียสมดุลระหว่างส่วนที่ไม่มีขี้และส่วนที่มีขี้ของโมเลกุลโปรตีน จึงลดการดูดซับที่ผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน (Zayas, 1997)

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเกิดฟองของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน พบว่าเอนไซม์ทริปซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการเกิดฟองมากกว่าการใช้เอนไซม์ฟิซินเพราะหลังจากการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ด้วยเอนไซม์ฟิซินแล้ว ผลผลิตที่ได้มีความยาวสายเปปไทด์มากกว่าการใช้เอนไซม์ฟิซินเนื่องจากเอนไซม์ทริปซินมีความจำเพาะเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์สูง จึงยังคงมีกรดอะมิโนพวกไม่มีขี้และพวกมีขี้ขี้อยู่ภายในสายดังกล่าวมากกว่า ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวระหว่างผิวรอยต่อของอากาศกับน้ำและสร้างฟิล์มที่แข็งแรงล้อมรอบฟองอากาศได้มากกว่า (Turgeon *et al.*, 1991)

ก) เอนไซม์ฟิซิน



ข) เอนไซม์ทริปซิน

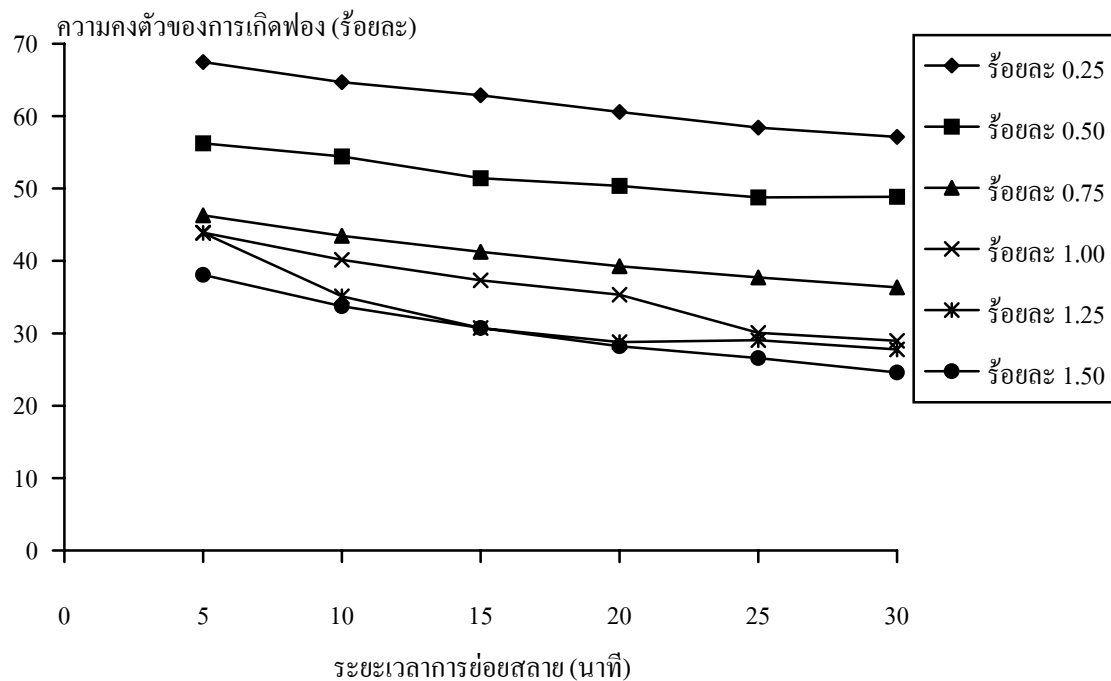


ภาพที่ 11 ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่างๆ

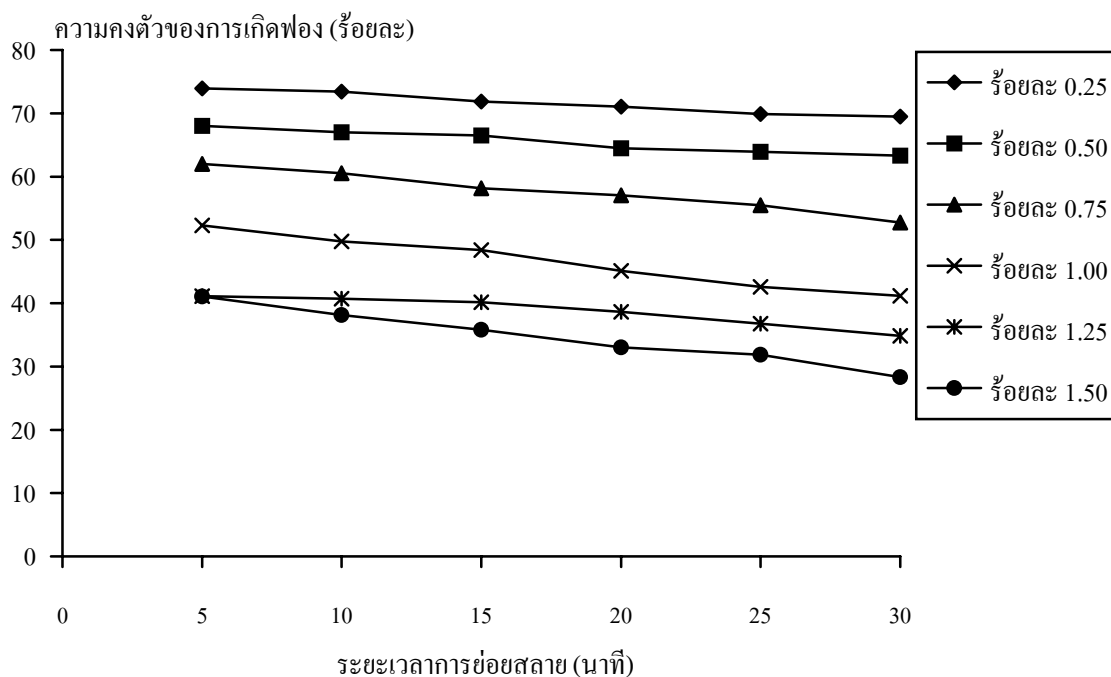
ผลการทดลองความคงตัวของการเกิดฟองของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 12 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อความคงตัวของการเกิดฟองของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีความคงตัวของฟองมากที่สุดร้อยละ 67.48 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที เอนไซม์ทริปซินมีความคงตัวของฟองมากที่สุดร้อยละ 73.44-73.91 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-10 นาที ซึ่งเอนไซม์ทริปซินมีความคงตัวมากกว่าเอนไซม์ฟิซิน และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินมีความคงตัวของการเกิดฟองมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 65.08 ในช่วงความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่ำ (ระดับการย่อยสลายต่ำ) ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที (ระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.36) สำหรับเอนไซม์ทริปซินคือระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-30 นาที และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-15 นาที (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 2.14-4.17) แต่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงกว่นี้พบว่าความคงตัวของการเกิดฟองน้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย ดังนั้นการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินสามารถเพิ่มความคงตัวของการเกิดฟองได้เมื่อใช้ระดับการย่อยสลายต่ำ ๆ เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย

เอนไซม์ทั้งสองชนิดเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ลดความคงตัวของการเกิดฟองลงจากร้อยละ 67.48 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุด ร้อยละ 3.36) เหลือร้อยละ 24.59 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุดร้อยละ 30.26) ของเอนไซม์ฟิซิน และจากร้อยละ 73.44-73.91 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุดร้อยละ 2.14-2.17) เหลือร้อยละ 28.30 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุดร้อยละ 18.05) ของเอนไซม์ทริปซิน เนื่องจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้โปรตีนมีขนาดโมเลกุลเล็กและสายสั้นลงจนไม่สามารถคงตัวอยู่ตรงผิวรอยต่อระหว่างฟองอากาศและน้ำได้นาน (Qi *et al.*, 1997) นอกจากนี้การที่โปรตีนมีประจุสุทธิมากขึ้นอาจลดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและโปรตีนและป้องกันการสร้างฟิล์มที่ยึดหุ้มล้อมรอบฟองอากาศ (Puski, 1975; Phillips and Beuchat, 1981) จึงลดความคงตัวของการเกิดฟองลง

ก) เอนไซม์ฟิซิน



ข) เอนไซม์ทริปซิน



ภาพที่ 12 ความคงตัวของสารเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่างๆ

3.3.6 สมบัติการเกิดอิมัลชัน

สมบัติการเกิดอิมัลชันรายงานเป็นค่ากิจกรรมในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของ การเกิดอิมัลชัน โดยผลการทดลองกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจาก ถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 13 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของ เอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดย เอนไซม์ฟิซินมีกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันมากที่สุดร้อยละ 88.00 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ ร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 นาที ส่วนเอนไซม์ ทริปซินมีกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันมากที่สุดร้อยละ 98.36 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที และผลิตภัณฑ์โปรตีนจาก ถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะ เวลาการย่อยสลายมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 63.50 ($p \leq 0.05$)

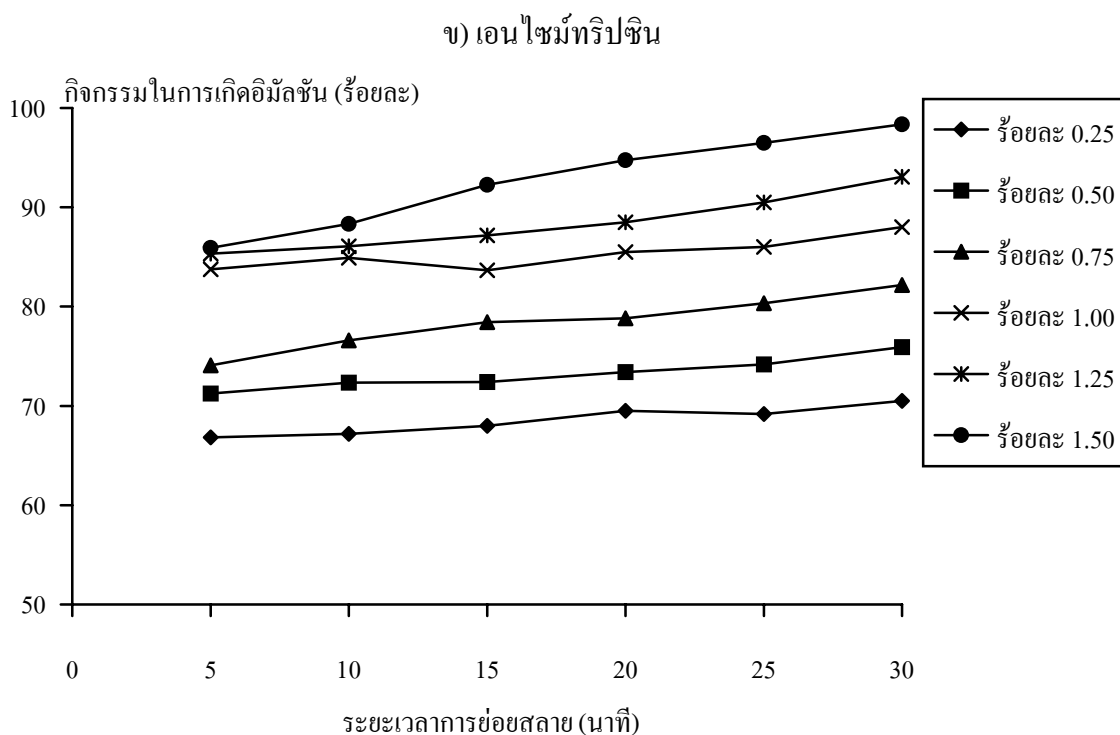
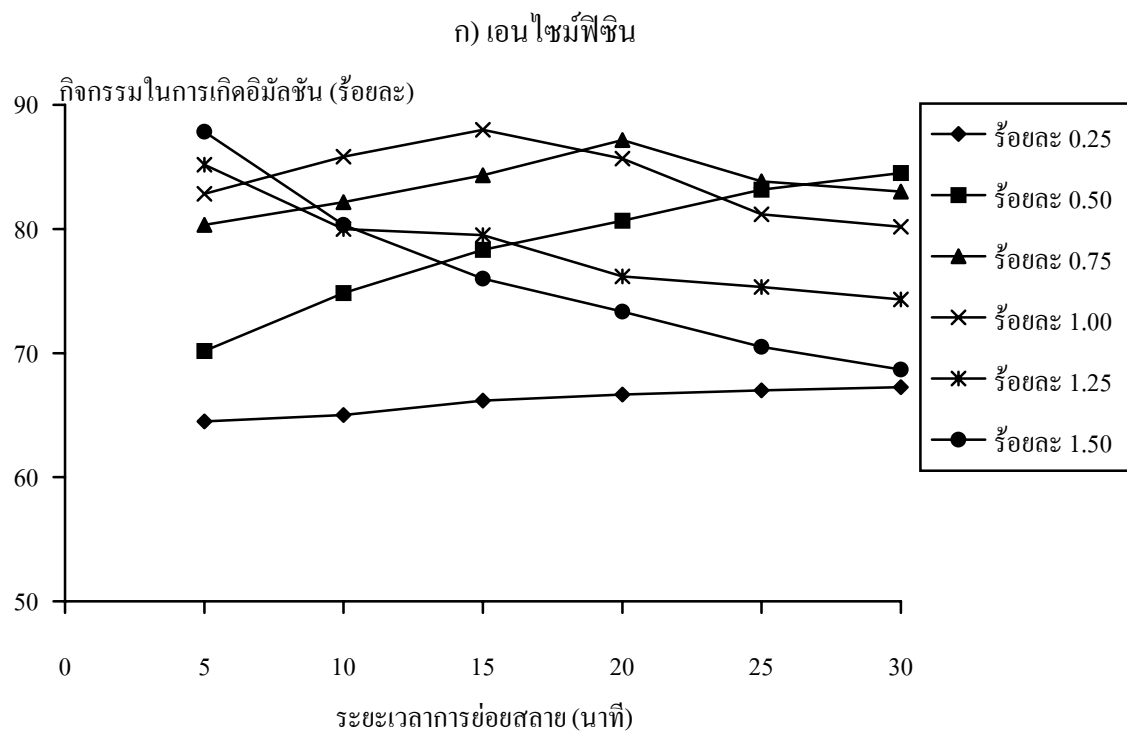
โปรตีนประกอบด้วยส่วนที่ไม่มีขั้วและส่วนที่มีขั้วซึ่งสามารถกระทำตัวเหมือน สารลดความตึงผิว (Wong, 1989) โดยมีผลในการลดความตึงผิวที่เกิดจากแรงยึดเกาะที่ไม่เท่ากันที่ ผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน (ของเหลวและของเหลว) ทำให้น้ำและน้ำมันไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน (immiscible liquid) โดยน้ำและน้ำมันจะมีความตึงผิวสูงจึงไม่สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้ ด้วยตัวเอง แต่อาจผสมกันได้ชั่วคราวถ้ามีการเขย่าอย่างรุนแรง ถ้าจะให้อิมัลชันที่เกิดขึ้นนี้มีความ คงตัวดีต้องใช้สารลดความตึงผิว โดยในระบบอิมัลชันสารลดความตึงผิวที่ใช้คือ ตัวกระทำอิมัลชัน (emulsifier) นั่นเอง (Aurand and Woods, 1973) การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีน จากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ กิจกรรมในการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้น (ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น) เนื่องจากกลไกการลดความตึงผิว ระหว่างน้ำและน้ำมันของโปรตีนนั้นเหมือนกับการเกิดฟองโดยเริ่มจากโปรตีนที่ละลายได้จะ สามารถเกิดการแพร่กระจายไปยังผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมัน เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนที่ผิว รอยต่อนี้จะทำให้แรงตึงผิวลดลง โมเลกุลโปรตีนเกิดการเสียสภาพและคลายตัวดูดซับที่ผิวรอยต่อ ระหว่างน้ำและน้ำมันเกิดลักษณะเป็นสายยาวของโมเลกุลโปรตีน ซึ่งโมเลกุลโปรตีนที่ถูกดูดซับ สามารถโค้งงอ ปรับตัวเข้ากับเมื่อน้ำมันหรือมีบางส่วนของโมเลกุลสามารถฝังตัวเข้าไปอยู่ใน โมเลกุลเมื่อน้ำมันด้วยโดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหาเมื่อน้ำมัน สำหรับส่วนที่มีขั้วหันเข้าสู่ น้ำซึ่ง

โมเลกุลของโปรตีนอาจมีลักษณะเป็นส่วนของห่วงและหางล้อมรอบเม็ดน้ำมัน (Wong, 1989; Damodaran, 1996) การใช้เอนไซม์มีผลให้โปรตีนที่โดยปกติแล้วมีการม้วนพับตัวโดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าไปภายในโครงสร้างโมเลกุลและส่วนที่มีขั้วอยู่บริเวณผิวโมเลกุล เมื่อเกิดการย่อยสลายโปรตีนที่พันธะเปปไทด์ด้วยเอนไซม์ทำให้โครงสร้างโปรตีนเปลี่ยนแปลง โดยโปรตีนมีขนาดโมเลกุลเล็กลงหรือเกิดเปปไทด์มากขึ้น จำนวนหมู่ที่มีประจุเพิ่มขึ้นส่งผลให้มีการละลายมากขึ้นตามผลการทดลองสมบัติการละลาย โปรตีนจึงสามารถแพร่กระจายและดูดซับที่ผิวรอยต่อระหว่างน้ำและน้ำมันได้รวดเร็ว นอกจากนี้การย่อยสลายโปรตีนมีผลให้แสดงส่วนที่ไม่มีขั้วหันออกสู่ภายนอกซึ่งโปรตีนจะหันส่วนที่ไม่มีขั้วสู่เม็ดน้ำมันและหันส่วนที่มีขั้วเข้าหาโมเลกุลน้ำหรือโมเลกุลมีขั้ว ส่งผลให้สามารถล้อมรอบเม็ดน้ำมันได้ดี กิจกรรมในการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้น (Nielsen, 1997; Were *et al.*, 1997) เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ฟิซินช่วงร้อยละ 0.25-0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ทุกระยะเวลาการย่อยสลาย, ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที, ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-15 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-20.70) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงขึ้น (ระดับการย่อยสลายสูง: ช่วงร้อยละ 21.43-30.26) กิจกรรมในการเกิดอิมัลชันลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมากเพราะเกิดการย่อยสลายโปรตีนมากเกินไปทำให้เกิดโปรตีนที่มีขนาดเล็กซึ่งแม้สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างรวดเร็วแต่ความสามารถในการดูดซับที่ผิวหน้าเม็ดน้ำมันไม่ดีนักเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า ประสิทธิภาพการลดความตึงผิวระหว่างน้ำและน้ำมันจึงต่ำ มีผลให้สูญเสียกิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (Mahmond, 1994)

เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน พบว่าเอนไซม์ทริปซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันมากกว่าการใช้เอนไซม์ฟิซินเพราะเอนไซม์ทริปซินให้ผลผลิตที่มีความยาวสายเปปไทด์มากกว่าการใช้เอนไซม์ฟิซิน ภายในสายจึงมีกรดอะมิโนพวกไม่มีขั้วมากกว่า ซึ่งกรดอะมิโนพวกไม่มีขั้วนี้สามารถล้อมรอบเม็ดน้ำมันได้ดีกว่า (Turgeon *et al.*, 1991)

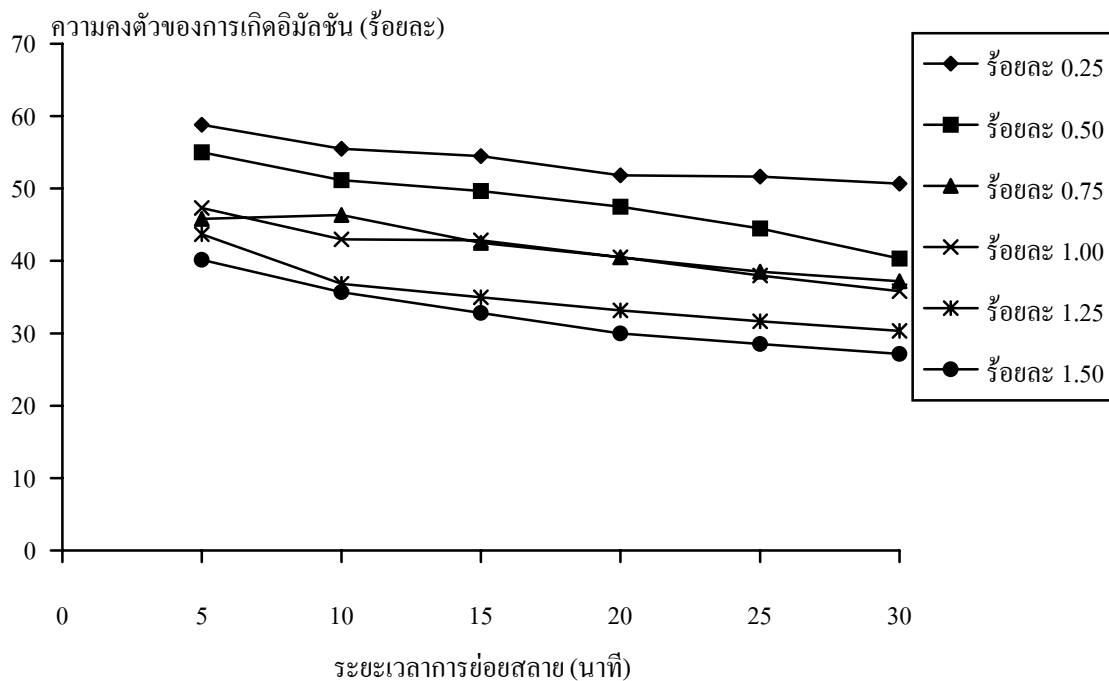
ผลการทดลองความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 14 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของ เอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดย เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินมีความคงตัวของอิมัลชันมากที่สุดร้อยละ 58.83 และ 64.33 ตามลำดับ เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลา การย่อยสลาย 5 นาที ซึ่งเอนไซม์ทริปซินมีความคงตัวมากกว่าเอนไซม์ฟิซินและผลิตภัณฑ์โปรตีน จากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินมีความคงตัวของอิมัลชันมาก กว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 57.17 ในช่วงความเข้มข้นของ เอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่ำ (ระดับการย่อยสลายต่ำ) ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับ ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที (ระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.36) สำหรับเอนไซม์ทริปซินคือระดับความเข้มข้นของ เอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-30 นาที และ ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-15 นาที (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 2.14-4.17) แต่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงกว่านี้พบว่า ความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันน้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย ดังนั้นการย่อยสลาย ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินสามารถเพิ่มความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันได้เมื่อใช้ระดับการย่อยสลายต่ำ ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย

เอนไซม์ทั้งสองชนิดเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลาย เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ลดความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันลงจากร้อยละ 58.83 (ที่ระดับการย่อยสลาย ต่ำสุดร้อยละ 3.36) เหลือร้อยละ 27.17 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุดร้อยละ 30.26) ของเอนไซม์ ฟิซิน และจากร้อยละ 64.33 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุดร้อยละ 2.14) เหลือร้อยละ 28.75 (ที่ ระดับการย่อยสลายสูงสุดร้อยละ 18.05) ของเอนไซม์ทริปซิน เนื่องจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้โปรตีนมีขนาดโมเลกุลเล็กและสายสั้นลงจนไม่สามารถคงตัวอยู่ตรงผิวรอยต่อระหว่างน้ำ และน้ำมันได้นาน รวมทั้งการที่โปรตีนมีประจุสุทธิมากขึ้นอาจลดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและ โปรตีนและป้องกันการสร้างฟิล์มที่ยึดหุ้มล้อมรอบเม็ดน้ำมัน ความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันจึง ลดลง

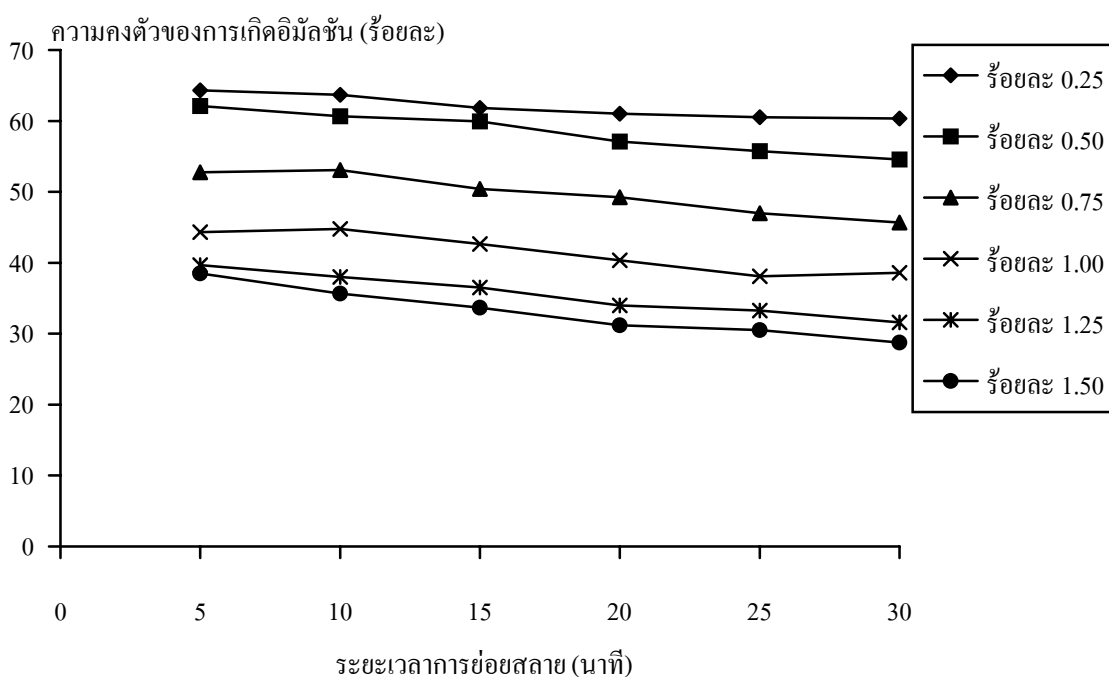


ภาพที่ 13 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

ก) เอนไซม์ฟิซิน



ข) เอนไซม์ทริปซิน



ภาพที่ 14 ความคงตัวของเอนไซม์ฟิซิน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่างๆ

3.3.7 สมบัติการเกิดเจล

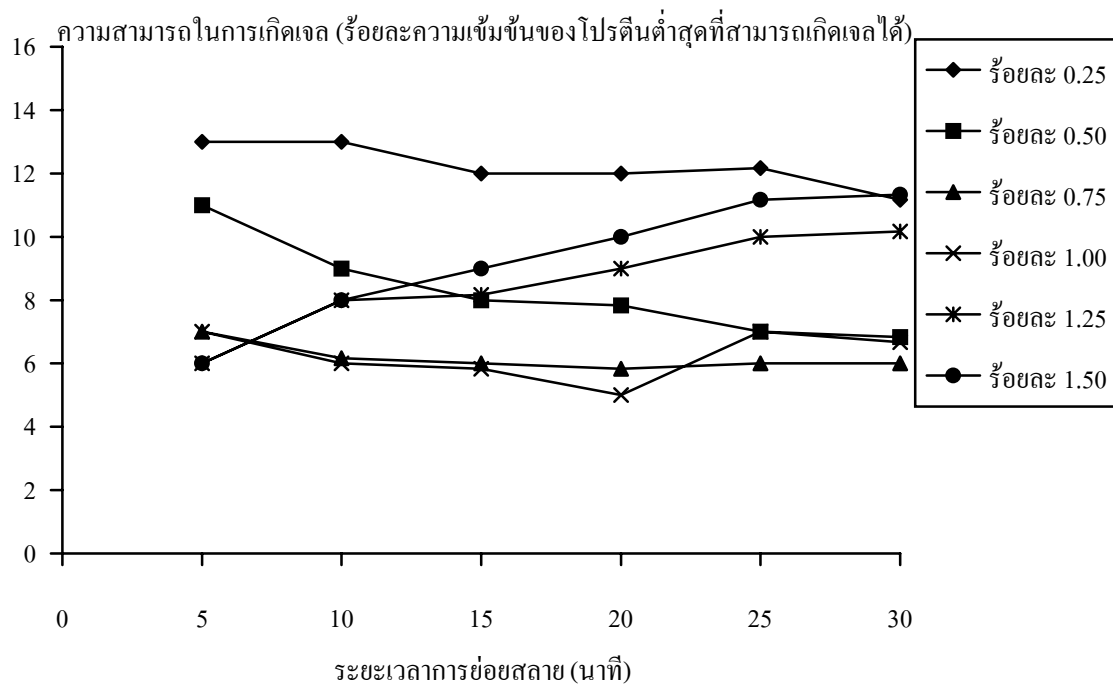
สมบัติการเกิดเจลของโปรตีนเป็นผลเนื่องมาจากบริเวณส่วนที่ไม่มีขั้วถูกเปิดออกและสานตัวเป็นร่างแห เนื่องจากหมู่ซัลไฟดริล (sulfhydryl group: -SH) ของโปรตีนซึ่งบทบาทของส่วนที่ไม่มีขั้ว สมบัติการละลาย และความสามารถในการจับน้ำเกี่ยวข้องกับการเกิดเจล (Voutsinas *et al.*, 1983; Doi, 1993) สมบัติการเกิดเจลรายงานเป็นค่าความสามารถในการเกิดเจลโดยมีวัดเป็นร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้ โดยยิ่งความเข้มข้นของโปรตีนต่ำเท่าไรยิ่งมีความสามารถในการเกิดเจลมากขึ้นเท่านั้น ผลการทดลองความสามารถในการเกิดเจลของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 15 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อความสามารถในการเกิดเจลของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีความสามารถในการเกิดเจลมากที่สุดร้อยละ 5.00 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของโปรตีนระยะเวลาการย่อยสลาย 20 นาที และเอนไซม์ทริปซินมีความสามารถในการเกิดเจลมากที่สุดร้อยละ 7.00 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของโปรตีนระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที โดยผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายนี้น่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 14.00 ($p \leq 0.05$)

การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความสามารถในการเกิดเจลเพิ่มขึ้น (ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น) เพราะเอนไซม์มีผลให้โปรตีนมีสมบัติการละลายเพิ่มขึ้น ขนาดโมเลกุลเล็กลง โมเลกุลโปรตีนคลายตัว เกิดพันธะไม่ชอบน้ำระหว่างกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่มีขั้วทำให้เกิดโครงสร้างร่างแห ส่งผลให้ความสามารถในการเกิดเจลดีขึ้น (King *et al.*, 1985) ส่วนเอนไซม์ฟิซินนั้นพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ช่วงร้อยละ 0.25-0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ทุกระยะเวลาการย่อยสลาย, ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-22.22) ผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเขียวมีความสามารถในการเกิดเจลเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงขึ้น (ระดับการย่อยสลาย

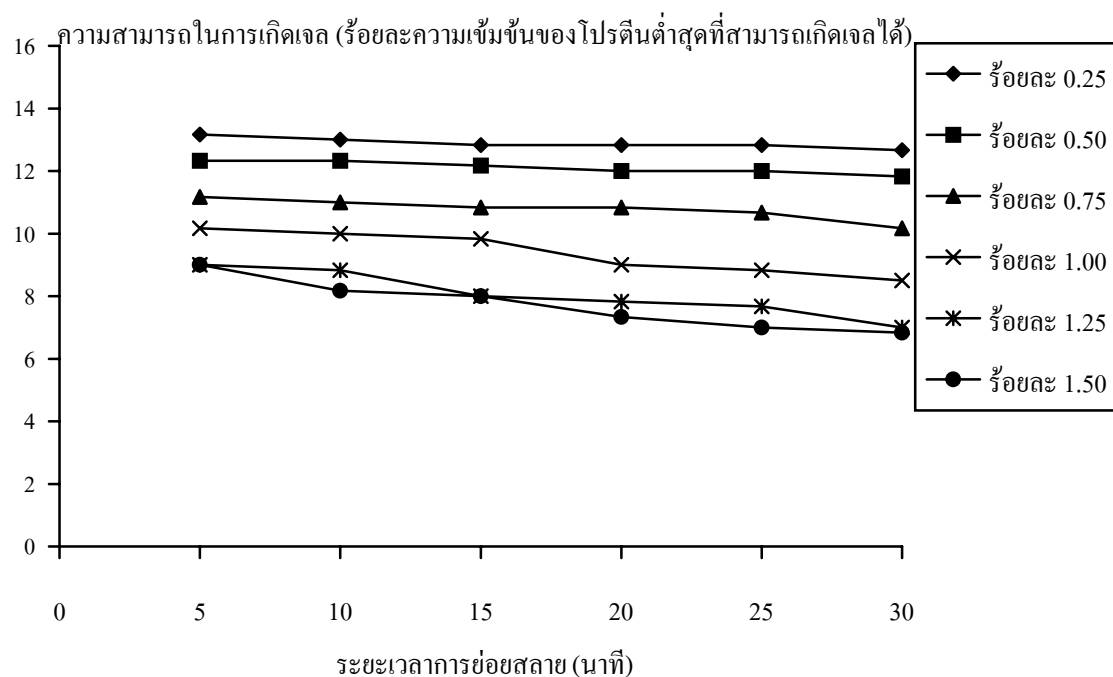
สูง: ช่วงร้อยละ 24.44-30.26) ความสามารถในการเกิดเจลลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมากเพราะโปรตีนมีสมบัติการละลายสูงเนื่องจากขนาดที่เล็กและโมเลกุลที่มีประจุมาก (ดังผลการทดลองดัชนีการละลายของไนโตรเจนก่อนหน้านี้) ทำให้โปรตีนไม่สามารถเกิดโครงสร้างร่างแหเพื่อกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ภายในได้ ซึ่งผลการทดลองนี้ให้ผลคล้ายกับความสามารถในการจับน้ำ แสดงว่าความสามารถในการเกิดเจลและความสามารถในการจับน้ำมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันคือความสามารถในการเกิดเจลเพิ่มขึ้นเมื่อความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-22.22) เนื่องจากถ้าความสามารถในการจับน้ำสูง โปรตีนจะสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำ และกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ในโครงสร้างร่างแหของโปรตีน เมื่อทำให้เกิดเจลจะเกิดการเปลี่ยนสภาพของน้ำให้กลายเป็นของเหลว ลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวไว้ภายในโครงสร้างร่างแหที่ทำให้น้ำไม่มีการเคลื่อนที่ไหลออกมา โดยการเกิดการม้วนขดของพันธะไฮโดรเจนกับส่วนที่มีขั้วของสายพอลิเปปไทด์และหมู่ที่มีประจุ (Damodaran, 1997) โปรตีนจึงมีความสามารถในการเกิดเจลสูงและเจลมีความแข็งแรง แต่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงร้อยละ 24.44-30.26 โปรตีนมีสมบัติการละลายสูงส่งผลให้ความสามารถในการจับน้ำต่ำ ดังนั้นทำให้ความสามารถในการเกิดเจลต่ำด้วยเพราะความสามารถในการเกิดเจลและความสามารถในการจับน้ำมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเกิดเจลของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน พบว่าเอนไซม์ฟิซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีความสามารถในการเกิดเจลมากกว่าการใช้เอนไซม์ทริปซินเนื่องจากเอนไซม์ฟิซินทำให้โปรตีนมีความสามารถในการจับน้ำสูง

ก) เอนไซม์ฟิซิน



ข) เอนไซม์ทริปซิน



ภาพที่ 15 ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

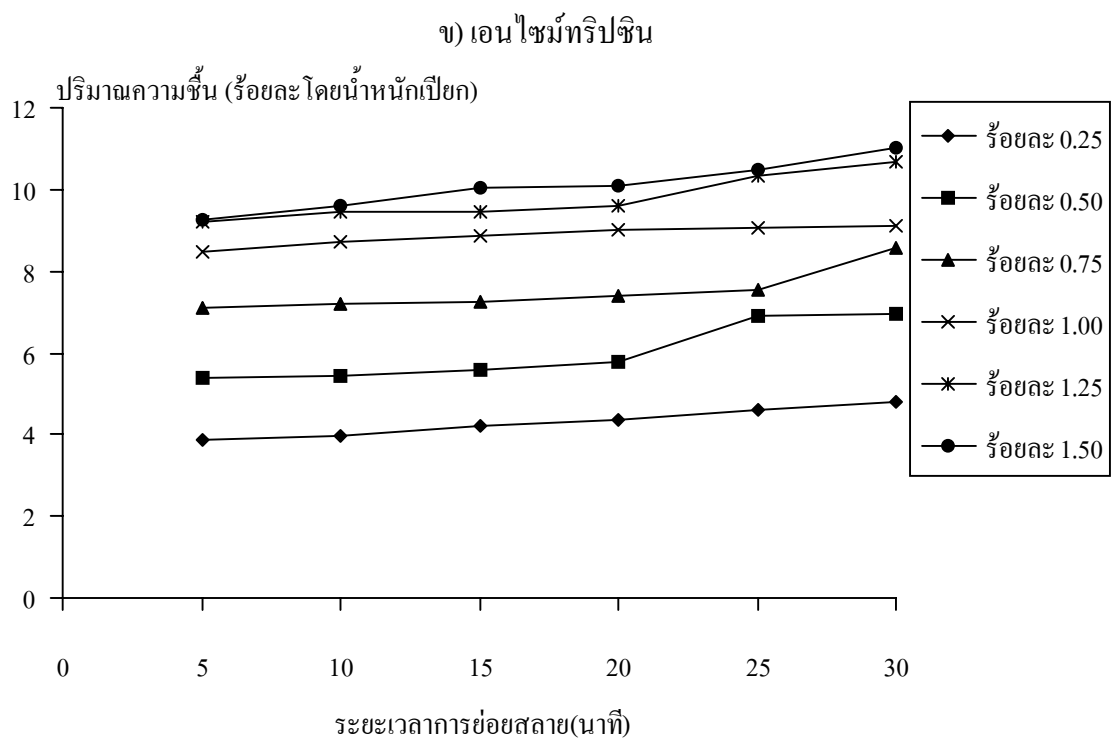
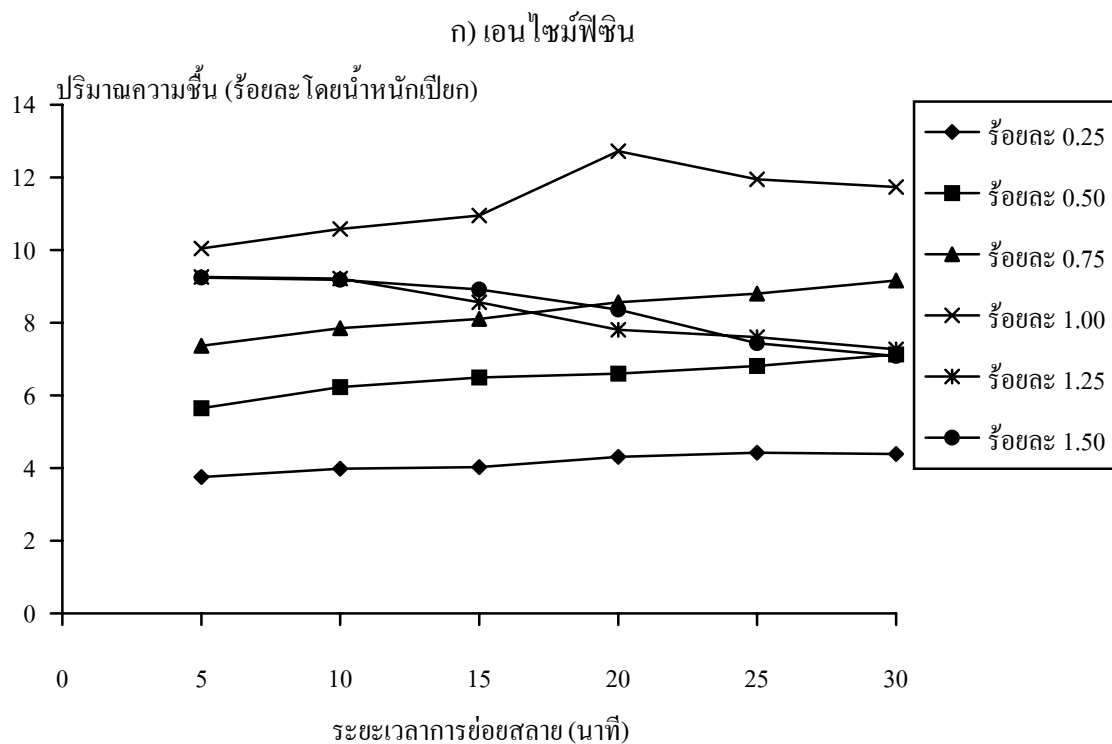
3.3.8 องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

ผลการทดลองปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 16 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีปริมาณความชื้นมากที่สุดร้อยละ 12.72 โดยน้ำหนักเปียก เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 นาที ส่วนเอนไซม์ทริปซินมีปริมาณความชื้นมากที่สุดร้อยละ 11.02 โดยน้ำหนักเปียก เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 นาที และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายนี้นั้นค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 3.54 โดยน้ำหนักเปียก ($p \leq 0.05$)

การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น ส่วนเอนไซม์ฟิซินนั้นพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ช่วงร้อยละ 0.25-0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ทุกระยะเวลาการย่อยสลาย, ความเข้มข้นของร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-22.22) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงกว่านี้ (ระดับการย่อยสลายสูง: ช่วงร้อยละ 24.44-30.26) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวจะมีปริมาณความชื้นลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมาก แสดงว่าระดับการย่อยสลายสูงมีผลให้ปริมาณความชื้นลดลง

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินจะเห็นได้ว่าเอนไซม์ฟิซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีปริมาณความชื้นมากกว่าการใช้เอนไซม์ทริปซิน เพราะเอนไซม์ฟิซินทำให้ผงโปรตีนมีความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้นนั่นเอง

สำหรับผลการทดลองปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า และปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 5-8 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า และปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยปริมาณโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 87.16-90.88, 0.27-0.43, 3.89-4.46 และ 5.06-8.35 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ และปริมาณองค์ประกอบดังกล่าวไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย ($p>0.05$)



ภาพที่ 16 ปริมาณความชื้น (ร้อยละ โดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ^{ns}						
		0	5	10	15	20	25	30
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
ไม่ผ่าน การย่อย	0	88.27	-	-	-	-	-	-
ฟิซิน	0.25	-	87.16	88.15	88.10	88.02	87.38	87.60
	0.50	-	88.69	89.20	89.92	88.93	89.12	89.93
	0.75	-	89.62	88.88	90.80	90.88	89.83	89.41
	1.00	-	88.56	88.88	88.44	88.70	87.01	87.65
	1.25	-	88.72	89.92	89.15	88.95	89.29	88.00
	1.50	-	89.50	90.03	89.50	89.36	89.66	89.75
ทริปซิน	0.25	-	88.56	88.97	88.07	88.84	89.98	88.84
	0.50	-	88.14	88.03	89.85	89.16	89.36	89.44
	0.75	-	89.05	88.80	88.96	89.29	88.59	89.09
	1.00	-	89.28	88.79	89.80	89.01	88.76	88.92
	1.25	-	89.89	88.70	88.51	89.96	89.27	88.79
	1.50	-	88.68	87.99	88.87	89.24	87.91	89.26

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{ns} แสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 6 ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ^{ns}						
		0	5	10	15	20	25	30
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
ไม่ผ่าน การย่อย	0	0.36	-	-	-	-	-	-
ฟิซิน	0.25	-	0.36	0.37	0.39	0.43	0.40	0.38
	0.50	-	0.40	0.35	0.40	0.35	0.43	0.27
	0.75	-	0.33	0.35	0.35	0.35	0.37	0.32
	1.00	-	0.45	0.39	0.33	0.40	0.34	0.38
	1.25	-	0.38	0.36	0.34	0.34	0.41	0.42
	1.50	-	0.36	0.39	0.41	0.33	0.37	0.40
ทริปซิน	0.25	-	0.40	0.39	0.30	0.41	0.35	0.34
	0.50	-	0.39	0.40	0.41	0.35	0.41	0.35
	0.75	-	0.38	0.41	0.36	0.37	0.41	0.40
	1.00	-	0.40	0.34	0.41	0.41	0.36	0.36
	1.25	-	0.34	0.34	0.35	0.39	0.38	0.40
	1.50	-	0.39	0.38	0.30	0.41	0.35	0.34

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{ns} แสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 7 ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการ
ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ
ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ^{ns}						
		0	5	10	15	20	25	30
		นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก
ไม่ผ่าน การย่อย	0	4.16	-	-	-	-	-	-
ฟิซิน	0.25	-	4.46	4.21	4.37	3.91	4.04	4.26
	0.50	-	4.32	4.22	4.19	4.16	4.01	3.89
	0.75	-	4.16	4.14	4.44	4.14	4.33	4.30
	1.00	-	4.24	4.24	4.39	4.08	4.16	3.96
	1.25	-	4.10	4.27	4.22	4.12	4.03	3.98
	1.50	-	4.27	4.24	4.36	4.21	3.97	3.96
ทริปซิน	0.25	-	4.39	4.17	4.03	4.26	4.37	4.01
	0.50	-	4.27	4.10	4.32	4.15	4.23	4.25
	0.75	-	3.91	4.29	4.25	4.16	4.24	4.05
	1.00	-	4.19	4.40	4.01	4.29	3.97	4.34
	1.25	-	4.38	4.09	4.02	4.36	4.11	4.06
	1.50	-	4.39	4.17	4.04	4.26	4.37	4.01

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{ns} แสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 8 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ^{ns}						
		0	5	10	15	20	25	30
		นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก
ไม่ผ่าน การย่อย	0	7.20	-	-	-	-	-	-
ฟิซิน	0.25	-	7.80	7.28	7.15	7.65	8.18	7.76
	0.50	-	6.58	6.22	5.49	6.56	6.45	5.91
	0.75	-	5.89	6.64	5.28	4.15	5.06	5.97
	1.00	-	6.45	6.48	6.84	6.94	8.57	7.81
	1.25	-	6.59	5.44	6.28	6.58	6.27	7.60
	1.50	-	5.87	5.34	5.73	6.10	6.00	5.89
ทริปซิน	0.25	-	6.53	7.67	6.80	6.10	7.38	6.38
	0.50	-	7.20	7.47	5.43	7.39	6.00	5.97
	0.75	-	8.31	8.08	8.35	6.18	6.76	6.45
	1.00	-	6.13	6.46	5.78	6.30	7.01	6.48
	1.25	-	5.38	6.87	7.12	5.29	6.24	6.75
	1.50	-	6.53	7.68	6.80	6.09	7.38	6.38

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{ns} แสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

3.3.9 ปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซิน

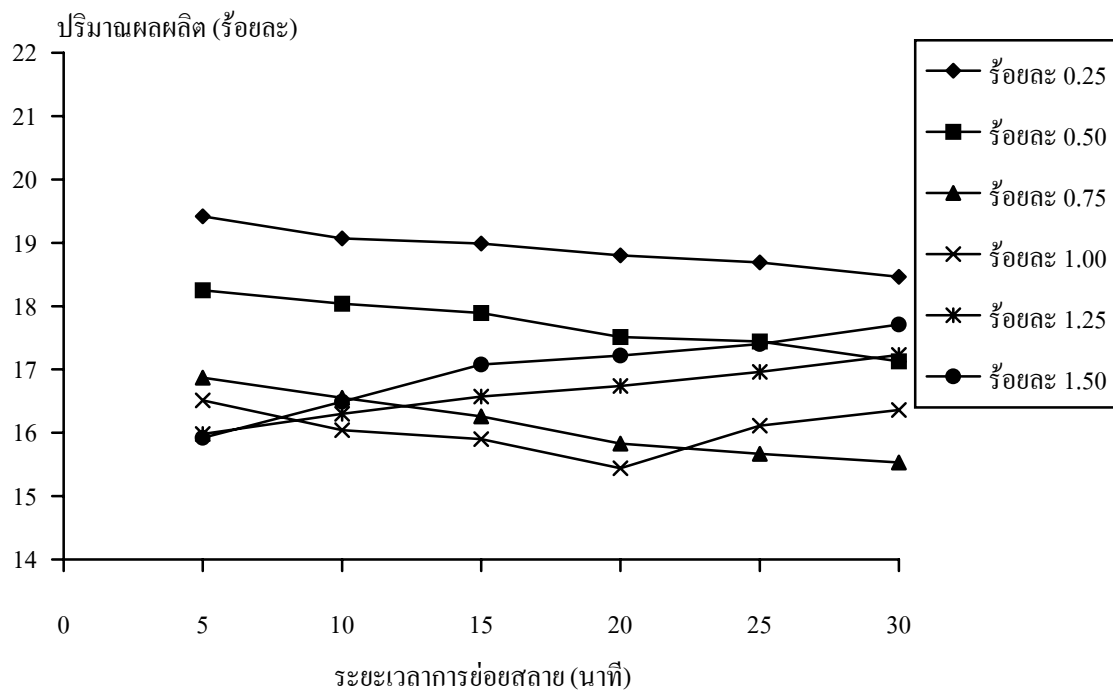
ผลการทดลองปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่างๆ แสดงในภาพที่ 17 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ฟิซินมีปริมาณผลผลิตมากที่สุดร้อยละ 19.42 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ส่วนเอนไซม์ทริปซินมีปริมาณผลผลิตมากที่สุดร้อยละ 20.10-20.14 เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-10 นาที และผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และทุกระยะเวลาการย่อยสลายมีค่าน้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าร้อยละ 20.60 ($p \leq 0.05$)

การใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้มีปริมาณผลผลิตลดลง เนื่องจากผงโปรตีนมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นตามความสามารถในการจับน้ำ ส่งผลให้มีผงโปรตีนติดอยู่ภายในตัวเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยจึงเกิดการสูญเสียผลผลิต ส่วนเอนไซม์ฟิซินนั้นพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ช่วงร้อยละ 0.25-0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ทุกระยะเวลาการย่อยสลาย, ความเข้มข้นของร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อยสลาย 5-20 นาที และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 5 นาที ทุกระดับความเข้มข้น (ระดับการย่อยสลายช่วงร้อยละ 3.36-22.22) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวมีปริมาณผลผลิตลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ทริปซิน แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาที่สูงกว่านี้ (ระดับการย่อยสลายสูง: ช่วงร้อยละ 24.44-30.26) ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวจะมีปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมากเนื่องจากปริมาณความชื้นของผงโปรตีนลดลง

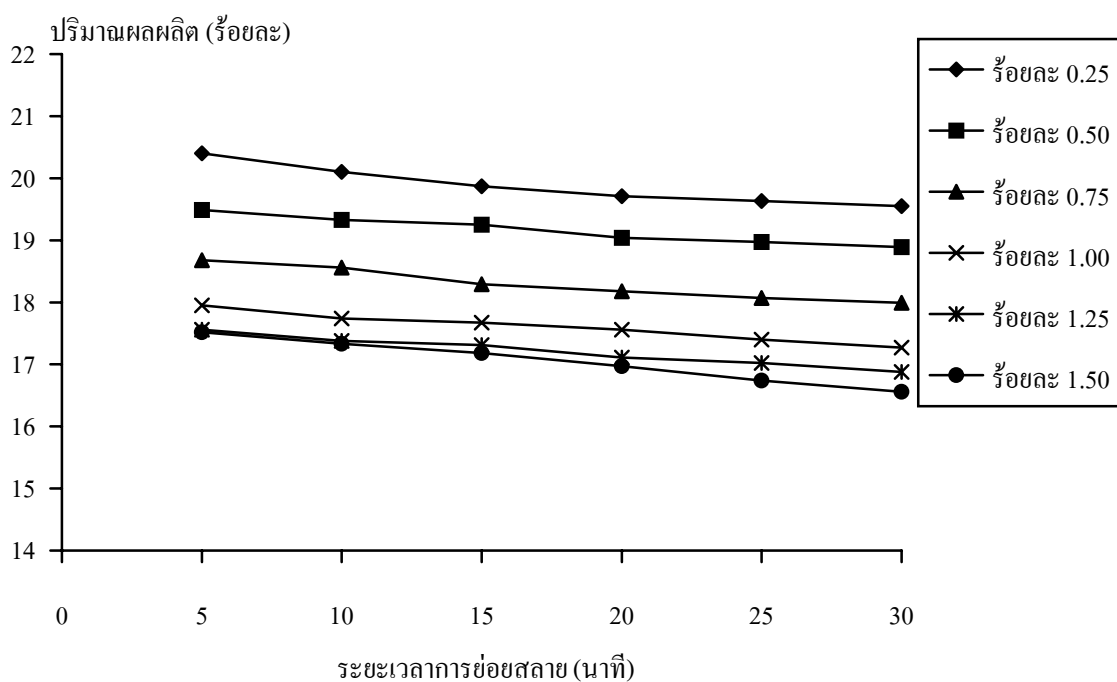
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินจะเห็นได้ว่าเอนไซม์ฟิซินทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนจาก

ถั่วเขียวมีปริมาณผลผลิตน้อยกว่าการใช้เอนไซม์ทริปซินเพราะเอนไซม์ฟิซินทำให้ผงโปรตีนมีปริมาณความชื้นและความสามารถในการจับน้ำมากกว่านั่นเอง

ก) เอนไซม์ฟิซิน



ข) เอนไซม์ทริปซิน



ภาพที่ 17 ปริมาณผลผลิต (รื่อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วย
 ก) เอนไซม์ฟิซิน และ ข) เอนไซม์ทริปซิน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

สรุป

1. เมล็ดถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกและผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่สกัดจากเมล็ด ถั่วเขียวกะเทาะเปลือกผ่าซีกมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 25.17 และ 88.27 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

2. สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ฟิซินคือ pH 6.0 และอุณหภูมิ 55°C ส่วนเอนไซม์ทริปซินคือ pH 8.0 และอุณหภูมิ 45°C

3. ชนิดของเอนไซม์โปรติเอส ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลาย และอิทธิพลของปัจจัยร่วมทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อระดับการย่อยสลาย สมบัติเชิงหน้าที่ด้านต่าง ๆ ปริมาณความชื้น และปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ได้ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนี้

3.1 ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายแสดงถึงระดับการย่อยสลาย โดยเมื่อระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น และมีค่ามากที่สุดที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 30 นาที คือ ร้อยละ 30.26 และ 18.05 ของฟิซินและทริปซิน ตามลำดับ โดยฟิซินย่อยได้มากกว่าการใช้เอนไซม์ทริปซิน

3.2 คำนีการละลายของไนโตรเจน ความคงตัวของการเกิดฟอง และความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันของเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกันตามระดับการย่อยสลายคือ ระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 68.71 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุดร้อยละ 3.36) ถึงร้อยละ 98.35 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุกร้อยละ 30.26) ของเอนไซม์ฟิซิน และจากร้อยละ 62.40 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุดร้อยละ 2.14) ถึงร้อยละ 85.51 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุกร้อยละ 18.05) ของเอนไซม์ทริปซิน ส่วนความคงตัวของ การเกิดฟองและความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันมีค่าลดลงโดยความคงตัวของ การเกิดฟองลดลงจากร้อยละ 67.48 และ 73.44-73.91 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุด) เหลือร้อยละ 24.59 และ 28.30 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุกร้อยละ 30.26) ของเอนไซม์ฟิซินและทริปซิน ตามลำดับ ความคงตัวของ การเกิดอิมัลชันลดลงจากร้อยละ 58.83 และ 64.33 (ที่ระดับการย่อยสลายต่ำสุด) เหลือร้อยละ 27.17 และ 28.75 (ที่ระดับการย่อยสลายสูงสุกร้อยละ 18.05) ของเอนไซม์ฟิซินและทริปซิน ตามลำดับ

3.3 ที่ทุกระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทริปซินพบว่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการจับน้ำ ความสามารถในการเกิดเจล และปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้น โดยมีค่ามากที่สุดร้อยละ 6.52 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้ร้อยละ 7.00 และร้อยละ 11.02 โดยน้ำหนักเปียก ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 30 นาที ตามลำดับ ส่วนฟิซินให้ผลเพิ่มขึ้นช่วงระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.36-22.22 แต่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงกว่านี้ร้อยละ 24.44-30.26 ให้ผลลดลง โดยมีค่ามากที่สุดร้อยละ 7.49 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้ร้อยละ 5.00 และร้อยละ 12.72 โดยน้ำหนักเปียก ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 20 นาที

3.4 ที่ทุกระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทริปซินพบว่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน ความสามารถในการเกิดฟอง และกิจกรรมในการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้น โดยมีค่ามากที่สุดร้อยละ 7.13 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ร้อยละ 124.65 และร้อยละ 98.36 ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 30 นาที ตามลำดับ ส่วนฟิซินให้ผลเพิ่มขึ้นช่วงระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.36-20.70 แต่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงกว่านี้ร้อยละ 21.43-30.26 ให้ผลลดลง โดยมีค่ามากที่สุดร้อยละ 5.92 กรัมต่อกรัมของโปรตีน ร้อยละ 100.83 และร้อยละ 88.00 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.75 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 20 นาที

3.5 ปริมาณผลผลิตให้ผลตรงข้ามกับความสามารถในการจับน้ำ ความสามารถในการเกิดเจล และปริมาณความชื้น คือ ที่ทุกระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ทริปซินพบว่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณผลผลิตลดลง โดยมีค่ามากที่สุดร้อยละ 20.10-20.14 ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 5-10 นาที ตามลำดับ ส่วนฟิซินให้ผลลดลงช่วงระดับการย่อยสลายร้อยละ 3.36-22.22 แต่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงกว่านี้ร้อยละ 24.44-30.26 ให้ผลเพิ่มขึ้น โดยมีค่ามากที่สุดร้อยละ 19.42 ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน ระยะเวลาการย่อย 5 นาที

3.6 ฟิซินทำให้ดัชนีการละลายของไนโตรเจน ความสามารถในการจับน้ำ ความสามารถในการเกิดเจล และปริมาณความชื้นดีกว่าการใช้ทริปซิน แต่ความสามารถในการดูดซับ

น้ำมัน ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัว กิจกรรมในการเกิดอิมัลชันและความคงตัว และปริมาณผลผลิต ทรีปซินให้ผลดีกว่า

3.7 ที่ทุกระดับการย่อยสลายพบว่าการใช้ฟิซินและทรีปซินทำให้สมบัติเชิงหน้าที่ทุกด้านดีขึ้นกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย ยกเว้นความคงตัวของการเกิดฟองและความคงตัวของการเกิดอิมัลชันที่ให้ผลดีกว่าเมื่อระดับการย่อยสลายต่ำช่วงระดับการย่อยสลายร้อยละ 2.14-4.17

3.8 ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า และปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ พบว่าชนิดของเอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยให้ผลอยู่ในช่วงร้อยละ 87.16-90.88, 0.27-0.43, 3.89-4.46 และ 5.86-8.35 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ และมีปริมาณไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จินตนา อุปติสสกุล, อรอนงค์ นัยวิกุล และ สมชาย ประภาวัต. 2538. การใช้ประโยชน์จาก ถั่วเขียว, น. 348-363. ใน รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียว ครั้งที่ 6. ศูนย์วิจัยพืชไร่ ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2545. เคมี่อาหาร. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป. 2547. การปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์ โปรตีนจากถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ปาริฉัตร ทัพพะสุต. 2541. สมบัติของสารให้ฟองผงจากโปรตีนถั่วเหลืองและการประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร. อาหาร. 28(1): 42-53.
- _____ และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2540. การผลิตสารให้ฟองจากการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองด้วย เอนไซม์. อาหาร. 27(2): 108-119.
- ปาริฉัตร หงสประภาส. 2545. เคมี่กายภาพของอาหาร คอลลอยด์ อิมัลชัน และเจล. สำนักพิมพ์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- เพ็ญพูน ศักดิ์เกษม. 2531. ถั่วเขียว. ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- สมชาย จอมดวง. 2528. การผลิตและการทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวและ ถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมชาย ประภาวัต. 2531. การใช้ประโยชน์จากถั่วเขียว. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- สมชาย ประภาวัต. 2534. เทคโนโลยีการทำ flour และ starch จากถั่วเขียวและถั่วแระ. สถาบัน
ค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรอนงค์ นัยวิกุล, จิตธนา แจ่มเมฆ, อรพิน ภูมิภมร และ วุฒิชัย นาครักษา. 2531. คุณสมบัติของ
สตาร์ชและโปรตีนสกัดจากถั่วเขียวบางสายพันธุ์. *ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.)*. 22: 330-337.
- Adler-Nissen, J. 1986. **Enzymic Hydrolysis of Food Proteins**. Elsevier Applied Science,
London.
- Adsule, R.N., S.S. Kadam and D.K. Salunkhe. 1970. Chemistry and technology of green gram
(*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 25: 73-105.
- Amarteifio, J.O. and D. Moholo. 1998. The chemical composition of flour legumes consumed in
Botswana. **J. Food Comp. Anal.** 11: 329-332.
- AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17th ed. Association of
Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Md.
- Arai, S. and M. Fujimaki. 1991. **Food Enzymology**. Elsevier Applied Science, London.
- Arbige, M.V. and W.H. Pitcher. 1986. Industrial enzymology: a look forwards the future.
Trends. Biotech. 7: 330-335.
- Aurand, L.W. and A.E. Woods. 1973. **Food Chemistry**. AVI Publishing Company, Inc.,
Westport, Connecticut.
- Bera, M.B. and R.K. Mukherjee. 1989. Solubility, emulsifying and foaming properties of rice
bran protein concentrates. **J. Food Sci.** 54: 142-145.

- Beuchat, L.R. 1977. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. **J. Agric. Food Chem.** 25(2): 258-261.
- Bombara, N., M.C. Anon and A.M.R. Pilosof. 1997. Functional properties of protease modified wheat flours. **Lebensm. Wiss. U. Technol.** 30 (5): 441-447.
- Buchbjerg, E. and R.F. Madsen. 1987. **Production of Improved Protein Isolate Derived from Seeds of a Grain Legume.** U.S. Patent 4,677,065.
- Cai, T., K.C. Chang and H. Lunde. 1996. Physicochemical properties and yields of sunflower protein enzymatic hydrolysates as affected by enzyme and defatted sunflower meal. **J. Agric. Food Chem.** 44(11): 3500-3506.
- Cayot, P. and Lorient, D. 1997. Structure-function relationship of whey proteins, pp. 225-256. *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds. **Food Protein and their Applications.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Chan, W.M. and C.Y. Ma. 1999. Modification of proteins from soymilk residue (okara) by trypsin. **J. Food Sci.** 64: 781-786.
- Chavan, U.D., D.B. McKenzie and F. Shahidi. 2001. Functional properties of protein isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). **Food Chem.** 74: 177-187.
- Coffmann, C.W. and V.V. Garcia. 1977. Functional properties and amino acid content of protein isolate from mungbean flour. **J. Food Technol. (U.K.).** 12: 473-485.
- Daisy, E.K. 1979. **Food Legumes.** Tropical Product Institutes, London.
- Damodaran, S. 1996. Amino acid, peptides and proteins, pp. 321-430. *In* O.R. Fennema, ed. **Food Chemistry.** Marcel Dekker, Inc., New York.

Damodaran, S. 1997. Food proteins: an review, pp. 1-24. *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds.

Food Protein and their Applications. Marcel Dekker, Inc., New York.

Derbyshire, E. and D. Boulter. 1976. Isolation of legumin like protein from *Phaseolous aureus* and *Phaseolous vulgaris*. **Phytochem.** 15: 411-414.

Dickinson, E. and G. Stainsby. 1982. **Colloids in Food.** Applied Science Publishers, London.

_____. 1993. Towards more natural emulsifiers. **Trends Food Sci. Technol.** 4: 330.

Doi, E. 1993. Gels and gelling of globular proteins. **Trends Food Sci. Technol.** 4: 1-5.

Duke, J.A. 1981. **Handbook of Legumes of World Economic Importance.** Plenum Press, New York.

El-Adawy, T.A. 1996. Chemical, nutritional and functional properties of mungbean protein isolate and concentrate. **Menofiya J. Agric. Res.** 21: 657-672.

_____. 2000. Functional properties and nutritional quality of acetylated and succinylated mungbean protein isolated. **Food Chem.** 70: 83-89.

Ericson, M.C. and M.J. Chispeels. 1973. Isolation and characterization of glucosamine containing storage glycoproteins from the cotyledons of *Phaseolous aureus*. **Plant Physiol.** 52: 98-101.

Ericson, M.C. 1975. Isolation and characterization of glucosamine containing storage glycoproteins from mungbeans (*Phaseolous aureus* Roxb.). **Diss. Abstr.** 35: 4767.

Hall, G.M. 1996. **Methods of Testing Protein Functionality.** Blackie Academic & Professional, London.

- Hamada, J.S. 1997. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective method of protein solubilization. **Cereal Chem.** 74: 662-668.
- Jacks, T.J., L.Y. Yatsu and A.M. Altschul. 1967. Isolation and characterization of peanut spherosomes. **Plant physiol.** 42: 585-597.
- Johnson, E.A. and C.J. Brekke. 1983. Functional properties of acylated pea protein isolates. **J. Food Sci.** 48: 722-725.
- King, T., C. Aguirre and S. dePablo. 1985. Functional properties of lupin protein isolates (*Lupinus albus* CV *Multolupa*). **J. Food Sci.** 50: 82-87.
- Kinsella, J.E . 1976. Functional properties of proteins in foods : A survey. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 7: 219-280.
- Kistinsson, H.G. and B.A. Rasco. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 40: 43-81.
- Knorr, D. 1980. Protein recovery from food waste: the influence of various methods of protein coagulation upon yield, quality and properties of potato protein concentrates. **J. Food Sci.** 45: 1183-1186.
- Ko, W.C., W.J. Chen and T.H. Lai. 1994. Recovery and functional properties of protein from the wastewater of mungbean starch processing by ultrafiltration. **Jap. Soc. Food Sci. Technol.** 41: 633-638. **FSTA Current 1990-2002/12 Database.** Accession no. 1995-06-JO124.
- Kuehler, C.A. and C.M. Stine. 1974. Effect of enzymatic hydrolysis on some functional properties of whey protein. **J. Food Sci.** 39: 379-382.

- Lee, C. and G. Lim. 1997. Varietal differences of major chemical components and fatty acid composition in mung bean. **Korean J. Crop Sci.** 42: 1-6.
- Liener, I.E. and B. Friedenson. 1970. Ficin, pp. 261-273. *In* G.E. Perlmann and L. Lorand, eds. **Methods in Enzymology.** vol. 19. Academic Press, New York.
- Mahmond, M.I. 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. **Food Technol.** 58: 89-95.
- McClements, D.J. 1999. **Food Emulsion: Principles, Practice and Techniques.** CRC Press, New York.
- Mendoza, E.M.T., M. Adachi, A.E.N. Bernardo and S. Utsumi. 2001. Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) globulin: purification and characterization. **J. Agric. Food chem.** 49: 1552-1558.
- Meyer, E.W. 1971. Oilseed protein concentrates and isolates. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 48: 484-488.
- Milewski, S. 2001. Protein structure and physicochemical properties, pp. 35-56. *In* Z.E. Sikorski, ed. **Chemical and Functional Properties of Food Proteins.** Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.
- Mitchell, J.R. 1986. Foaming and emulsifying properties of proteins, pp. 291-338. *In* B.J.F. Hudson, ed. **Development in Food Protein.** Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Mohri, M. and S. Matsushita. 1984. Improvement of water absorption of soybean protein by treatment with bromelain. **J. Agric. Food Chem.** 32: 486-490.

- Naivikul, O. and B.L. D' Applonia. 1978. Comparison of legume and wheat flour carbohydrate I. sugar analysis. **Cereal Chem.** 55: 913-918.
- Nielsen, P.M. 1997. Functionality of protein hydrolysates, pp. 443-472. *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds. **Food Protein and their Applications.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Parker, N.S. 1987. Properties and functions of stabilizing agents in food emulsions, pp. 258-318. *In* T.E. Furia, ed. **CRC Critical reviews in food Science and Nutrition.** CRC Press Inc., Florida.
- Petrowski, G.E. 1976. Emulsion stability and its relation to food, pp. 309-359. *In* C.O. Chiohester, E.M.M and G.F. Stewart, eds. **Advances in Food Researchs.** Academic Press, Inc., New York.
- Phillips, R.D. and L.R. Beuchat. 1981. Enzyme modification of proteins, pp. 275-310. *In* J.P. Cherry, ed. **Functionality in Foods.** American Chemical Society, Washington, D.C.
- Poehlman, J.M. 1991. **The Mungbean.** Westview Press, Colorado.
- Pomeranz, Y. 1991. **Functional Properties of Food Components.** Academic Press, Inc., New York.
- Puski, G. 1975. Modification of functional properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatmeat. **Cereal Chem.** 52: 655-664.
- Qi, M., N.S. Hettiarachchy and U. Kalapathy. 1997. Solubility and emulsifying properties of soy protein isolates modified by pancreatin. **J. Food Sci.** 62: 1110-1115.
- Rahma, E.H., S. Dudek, R. Mothes, E. Gornitz and K.D. schwenke. 2000. Physicochemical characterization of mung bean (*Phaseolous aureus*) protein isolates. **J. Sci. Food. Agric.** 80: 477-483.

- Rakosky, J. 1989. **Protein Additives in Food Service Preparation**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Reddy, N.R., M.D. Pierson, SK. Sathe and D.K. Salunkhe. 1984. Chemical nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates: a review. **Food Chem.** 13: 25-68.
- Roach, D. and R.W. Gehrke. 1970. The hydrolysis of protein. **J. Chromatog.** 52: 393-404.
- Sánchez-Vioque, R., A. Clement, J. Vioque, J. Bautista and F. Millan. 1999. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, Functional properties and protein characterization. **Food Chem.** 64: 237-243.
- 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.
- _____. 1996. The nutritional value of selected asiatic pulses: chickpea, black gram, mung bean and pigeon pea, pp. 220-345. *In* E. Nwokolo and J. Smartt, eds. **Food and Feed from Legumes and Oilseeds**. Chapman & Hall, New York.
- Shehata, A.D. and M.M. Thannoun. 1981. Extractability of nitrogenous constituents from iragi mungbean as affected by pH, salt, type, and other factors. **J. Agric. Food Chem.** 29: 53-57.
- Sikorski, Z.E. 2001. Functional properties of proteins in food systems, pp. 113-136. *In* Z.E. Sikorski, ed. **Chemical and Functional Properties of Food Proteins**. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.
- Singh, S., H.D. Singh and K.C. Sikka. 1968. Distribution of nutrients in the anatomical parts of common Indian pulses. **Cereal Chem.** 45: 13-18.

- Sood, D.R., D.S. Wagle and K.S. Dhindsa. 1982. Studies on the nutritional quality of some varieties of mung bean (*Vigna radiata*). **J. Food Sci. Technol.** 19: 123-125.
- Thompson, L.U. 1977. Preparation and evaluation of mungbean protein isolate. **J. Food Sci.** 42: 202-206.
- Totosaus, A., J.G. Montejano, J.A Salazar and I. Guerrero. 2002. A review of physical and chemical protein-gel induction. **Int. J. Food Sci. Technol.** 37: 589-601.
- Uhlig, H. 1998. **Industrial Enzymes and their Applications**. John Wiley&Sons, Inc., New York.
- Vioque, J., R. Sanchez-Vioque, A. Clemente, J. Pedroche and E. Millan. 2000. Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 77: 447-450.
- Vojdani, F. and J.R. Whitaker. 1994. Chemical and enzymatic modification of proteins for improved functionality, pp. 261-310. *In* N.S. Hettiarachchy and G.R. Ziegler, eds. **Protein Functionality in Food Systems**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Voutsinas, L.P., E. Cheung and S. Nakai. 1983. Relationship of hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatured protein. **J. Food Sci.** 48: 26-32.
- Were, L., N.S. Hettiarachchy and U. Kalapathy. 1997. Modified soy proteins with improved foaming and water hydration properties. **J. Food Sci.** 62: 821-823, 850.
- Whitaker, J.R. 1972. **Principles of Enzymology for the Food Science**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- _____. 1994. **Principles of Enzymology for the Food Sciences**. 2nd ed. Marcel Dekker, New York.

- Wolf, W.J. 1975. Soy protein for fabricated foods. pp. 59-60. *In* G.E. Inglett, ed. **Fabricated Foods**. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- _____. 1977. Legumes : seed composition and structure, processing into protein products and protein properties, pp. 291-314. *In* J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum, eds. **Food Proteins**. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Wong, D.W.S. 1989. **Mechanism and Theory in Food Chemistry**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Worthington, R.E., R.O. Hammons and J.R. Allison. 1972. Varietal differences and seasonal effects on fatty acid composition and stability of oil from 82 peanut genotypes. **J. Agric. Food chem.** 26: 1241-1246.
- Yasumatsu, K., K. Sawada, S. Moritaka, J. Toda, T. Wada and K. Ishii. 1972. Whipping and emulsifying properties of soybean products. **Agric. Biol. Chem.** 36(5): 719-727.
- Zayas, J.F. 1997. **Functionality of Protein in Food**. Springer, New York.
- Ziegler, GR and E.A. Foegeding. 1990. The gelation of proteins. **Adv. Food Nutr. Res.** 34: 203-298.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-3 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นซึ่งผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105°C นาน 2-3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (desiccator) ชั่งน้ำหนัก แล้วนำตัวอย่างกลับไปอบซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่หรือน้ำหนักแตกต่างไม่เกิน 1 มิลลิกรัม คำนวณหาปริมาณความชื้นจาก

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W_1)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียม (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมและน้ำหนักตัวอย่างก่อนการอบ (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมและน้ำหนักตัวอย่างหลังการอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้ชุดวิเคราะห์ Buchi ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนคือ digestion system และ distilled unit

2.1 สารเคมี

2.1.1 สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 96

2.1.2 สารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

2.1.3 สารเร่งปฏิกิริยา ประกอบด้วย โพแทสเซียมซัลเฟต 10 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม

2.1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 32

2.1.5 สารละลายบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 เตรียมโดยใช้น้ำร้อน

2.1.6 สารละลายอินดิเคเตอร์ เตรียมโดยละลายเมทิลเรด (methyl red) 0.02 กรัม และบรอมครีซอลกรีน (bromocresol green) 0.1 กรัม ในเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.2 วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5-1.0 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในหลอดย่อย เติมสารเร่งปฏิกิริยาและใส่ glass bead 2-3 เม็ด เติมสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 20-25 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดย่อยให้สนิทและนำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดเครื่องย่อย เริ่มต้นการย่อยโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิระดับ 8-10 หลังจากนั้นปรับอุณหภูมิลง ย่อยจนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใส ทิ้งให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 60-75 มิลลิลิตร (เดิมเป็น 3 เท่าของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้) นำไปต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นที่อุณหภูมิประมาณ 2 นาที โดยใช้ขวดรูปชมพู่รองรับสารที่กลั่นได้ ซึ่งขวดรูปชมพู่บรรจุสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร และหยดสารละลายอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ได้สารละลายสีชมพู เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตรประมาณ 3 เท่าของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ลงในหลอดย่อยหรือเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลั่นประมาณ 3 นาที เมื่อครบเวลาสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่รองรับเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า และปริมาตรเพิ่มขึ้นเป็น 150 มิลลิลิตร นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเทาหรือไม่มีสี (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรทโดยหลอดควบคุม (blank) ประกอบด้วยสารเคมีทุกอย่างยกเว้นตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ คำนวณหาปริมาณโปรตีนจาก

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times f \times 1400}{E}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} \times 6.25$$

เมื่อ V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่างควบคุม (มิลลิลิตร)

N คือ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐาน (นอร์มัล)

f คือ แฟกเตอร์ (factor) ของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐาน

E คือ ปริมาณตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

2.3 การหาแฟกเตอร์ของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐาน โดยใช้ทริสบัฟเฟอร์หรือทริส (ไฮดรอกซีเมทิล) อะมิโนมีเทน (Tris (hydroxymethyl) aminomethane)

ชั่งทริสบัฟเฟอร์ 120 มิลลิกรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารละลายอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเทา คำนวณหาค่า f จาก

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

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐาน (นอร์มัล)

V คือ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

E คือ น้ำหนักของทริสบัฟเฟอร์ (มิลลิกรัม)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์ Soxtec system HT 1043 Extraction unit ของ Tecator ซึ่งตัวอย่างประมาณ 3-5 กรัม ใส่ใน thimble และเติมสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงใน extraction cup ที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอนปริมาตร 50-75 มิลลิลิตร นำ thimble และ extraction cup ดังกล่าวต่อเข้ากับเครื่องมือวิเคราะห์ซึ่งใช้เวลาการสกัด (boiling) นาน 20 นาที เวลาการชะล้าง (rinsing) นาน 45 นาที และระเหยสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์นาน 10 นาที หลังจากนั้นนำ extraction cup ออบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105°C นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก และคำนวณหาปริมาณไขมันจาก

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของ extraction cup (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนักของ extraction cup และไขมันที่สกัดได้ (กรัม)

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ให้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ในครุชีเบิล (crucible) ซึ่งผ่านการเผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำครุชีเบิลที่ใส่ตัวอย่างไปเผาเพื่อไล่ควันจนหมด จากนั้นนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550°C นาน 2-3 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก แล้วนำตัวอย่างกลับไปอบซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาปริมาณเถ้าจาก

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักของครุชีเบิล (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของครุชีเบิลและน้ำหนักตัวอย่างก่อนการเผา (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนักของครุชีเบิลและน้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา (กรัม)

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์โปรตีน

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์โปรตีน (ดัดแปลงจากวิธีของ Qi *et al.*, 1997)

นำสารละลายผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไทรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid: TCA) ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุม อุณหภูมิที่ความเร็ว 10,000×g นาน 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ด้วยวิธี Kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2000) คำนวณระดับการย่อยสลายจาก

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)} = \frac{\begin{array}{l} \text{ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ในสารละลายกรด} \\ \text{ไทรคลอโรอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 10} \\ \text{โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (กรัม)} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารละลายเริ่มต้น} \\ \text{ก่อนการย่อยสลาย (กรัม)} \end{array}} \times 100$$

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีน

1. สมบัติการละลาย (ดัดแปลงจากวิธีของ Bera and Mukherjee , 1989)

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีน 5 กรัม ลงในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร เขย่าอย่างสม่ำเสมอที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 5000×g อุณหภูมิ 25°ซ นาน 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 และนำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ด้วยวิธี Kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2000) กำหนดสมบัติการละลายโดยรายงานเป็นค่าดัชนีการละลายของไนโตรเจน (nitrogen solubility index: NSI) จาก

$$\text{ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ในส่วนใส (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีน 5 กรัม (กรัม)}}$$

2. ความสามารถในการจับน้ำ (ดัดแปลงจากวิธีของ Beuchat, 1977)

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีน 1 กรัม ลงในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมความเร็วสูงสุด นาน 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที หลังจากนั้นหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 8000×g นาน 15 นาที รินส่วนใสทิ้งแล้วเอียงหลอดให้สะเด็ดน้ำประมาณ 15 นาที นำไปชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลืออยู่ในหลอด กำหนดความสามารถในการจับน้ำจาก

$$\text{ความสามารถในการจับน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนหลังการหมุนเหวี่ยง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนเริ่มต้น (กรัม)}}$$

3. ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (ดัดแปลงจากวิธีของ Beuchat, 1977)

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีน 1 กรัม ลงในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง เติมน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมความเร็วสูงสุด นาน 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที หลังจากนั้นหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิด

ควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 8000×g นาน 15 นาที รินส่วนใสทิ้งแล้วเอียงหลอดให้สะเด็ดน้ำมัน ประมาณ 15 นาที นำไปชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลืออยู่ในหลอด คำนวณความสามารถในการดูดซับน้ำมันจาก

$$\text{ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนหลังการหมุนเหวี่ยง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

4. สมบัติการเกิดฟอง (ดัดแปลงจากวิธีของ Johnson and Brekke, 1983)

เตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำสารละลายดังกล่าวปริมาตร 50 มิลลิลิตรมาปรับ pH เป็น 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล ปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นผสมที่ความเร็วสูงสุด นาน 3 นาที หลังจากนั้นเทใส่กระบอกตวงขนาดปริมาตร 100 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ และวัดปริมาตรทั้งหมดหลังการปั่นผสมของฟอง คำนวณสมบัติการเกิดฟองของผลิตภัณฑ์โปรตีนโดยรายงานเป็นค่าความสามารถในการเกิดฟอง (foaming capacity: FC) จาก

$$\text{ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาตรทั้งหมดหลังการปั่นผสม} - \text{ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนก่อนการปั่นผสม}}{\text{ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนก่อนการปั่นผสม}} \times 100$$

หลังจากนั้นตั้งกระบอกตวงดังกล่าวทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที แล้ววัดปริมาตรของฟองที่เหลืออยู่หลังการตั้งทิ้งไว้ 30 นาที คำนวณความคงตัวของฟอง (foaming stability: FS) จาก

$$\text{ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาตรของฟองที่เหลืออยู่หลังการตั้งทิ้งไว้ 30 นาที}}{\text{ปริมาตรของฟองเริ่มต้น}} \times 100$$

5. สมบัติการเกิดอิมัลชัน (ดัดแปลงจากวิธีของ Yasumatsu *et al.*, 1972)

เตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำสารละลายดังกล่าวปริมาตร 30 มิลลิลิตร มาเติมน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูงที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที หลังจากนั้นเทอิมัลชันที่ได้ลงในกระบอกตวงขนาดปริมาตร 100 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 60 นาที และวัดปริมาตรส่วนที่เป็นอิมัลชัน คำนวณสมบัติการเกิดอิมัลชันโดยรายงานเป็นค่ากิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (emulsion activity: EA) จาก

$$\text{กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาตรส่วนที่เป็นอิมัลชันหลังการตั้งทิ้งไว้ 60 นาที} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลายทั้งหมดก่อนการปั่นผสม (ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนและ ปริมาตรของน้ำมันถั่วเหลือง)}}$$

หลังจากนั้นตั้งกระบอกตวงดังกล่าวทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องต่ออีก 3 ชั่วโมง แล้ววัดปริมาตรส่วนที่เป็นอิมัลชันที่เหลืออยู่หลังการตั้งทิ้งไว้อีก 3 ชั่วโมง คำนวณความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability: ES) จาก

$$\text{ความคงตัวของอิมัลชัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาตรส่วนที่เป็นอิมัลชันที่เหลืออยู่ หลังการตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลายทั้งหมดก่อนการโฮโมจีไนส์ (ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนและ ปริมาตรของน้ำมันถั่วเหลือง)}}$$

6. สมบัติการเกิดเจล (ดัดแปลงจากวิธีการของ Coffmann and Garcia, 1977)

เตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 2-20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปิเปตใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นและเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C นาน 1 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบระดับความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์โปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้โดยไม่มีการไหลของของเหลวแยกตัวออกมาเมื่อเอียงหลอดทดลอง

ภาคผนวก ง

ผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ๑1 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

pH	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ^{2/}					
	40°ซ	45°ซ	50°ซ	55°ซ	60°ซ	65°ซ
5.0	3.06 m	5.89 j	7.61 fg	9.40 d	7.47 g	5.21 kl
6.0	6.91 h	7.30 gh	10.27 c	13.19 a	11.09 b	8.04 f
7.0	5.44 jk	8.64 e	8.61 e	10.87 b	7.59 fg	6.35 i
8.0	3.32 m	4.86 l	6.46 i	7.56 fg	5.44 jk	3.49 m

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๑2 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

pH	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ^{2/}					
	40°ซ	45°ซ	50°ซ	55°ซ	60°ซ	65°ซ
6.0	2.85 jk	3.46 h	3.52 h	3.06 ij	2.54 l	2.73 kl
7.0	3.85 g	4.26 e	4.10 ef	3.82 g	3.48 h	2.95 ijk
8.0	4.10 c	5.87 a	5.36 b	4.34 de	3.91 fg	3.05 ij
9.0	4.21 e	4.56 cd	4.25 e	3.66 gh	3.17 i	2.80 jk

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 3 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการ
ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์
และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	นาทีก	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	1.96	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	3.36	5.19	6.03	6.33	6.41	6.60	18.43 a
	0.50	-	7.98	9.05	11.61	12.50	12.91	13.43	
	0.75	-	15.03	17.08	18.91	20.70	21.92	22.22	
	1.00	-	17.07	19.88	20.07	21.43	24.77	25.45	
	1.25	-	19.53	24.44	25.06	26.91	27.46	27.74	
	1.50	-	20.33	25.15	26.73	27.99	29.78	30.26	
ทริปซิน	0.25	-	2.14	2.17	2.68	3.00	3.21	3.29	10.10 b
	0.50	-	3.78	4.07	4.17	5.23	5.43	5.54	
	0.75	-	6.46	7.12	8.02	9.27	9.92	10.42	
	1.00	-	10.50	11.67	13.24	14.27	14.96	15.42	
	1.25	-	13.20	13.92	15.09	15.98	16.88	17.58	
	1.50	-	13.05	14.26	15.82	16.69	17.12	18.05	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 4 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	1.96 t	-	-	-	-	-	-
0.25	-	3.36 s	5.19 r	6.03 qr	6.33 q	6.41 q	6.60 q
0.50	-	7.98 p	9.05 o	11.61 n	12.50 mn	12.91 m	13.43 m
0.75	-	15.03 l	17.08 k	18.91 j	20.70 hi	21.92 g	22.22 g
1.00	-	17.07 k	19.88 ij	20.07 i	21.43 gh	24.77 e	25.45 e
1.25	-	19.53 fg	24.44 e	25.06 e	26.91 cd	27.46 cd	27.74 cd
1.50	-	20.33 f	25.15 e	26.73 d	27.99 c	29.78 b	30.26 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 5 ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	1.96 u	-	-	-	-	-	-
0.25	-	2.14 t	2.17 t	2.68 s	3.00 r	3.21 r	3.29 qr
0.50	-	3.78 q	4.07 p	4.17 p	5.23 o	5.43 no	5.54 n
0.75	-	6.46 m	7.12 l	8.02 k	9.27 j	9.92 j	10.42 i
1.00	-	10.50 i	11.67 h	13.24 fg	14.27 e	14.96 de	15.42 d
1.25	-	13.20 fg	13.92 f	15.09 de	15.98 d	16.88 bc	17.58 b
1.50	-	13.05 g	14.26 e	15.82 d	16.69 c	17.12 b	18.05 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๖ ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของ
เอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	60.80	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	68.71	70.36	72.51	73.19	74.08	74.72	85.46 a
	0.50	-	74.22	77.38	80.43	82.04	81.29	82.59	
	0.75	-	82.16	85.16	87.37	88.81	90.08	91.41	
	1.00	-	83.81	85.68	87.71	89.36	90.82	92.59	
	1.25	-	84.62	89.72	91.60	92.94	93.40	93.87	
	1.50	-	86.11	91.53	94.37	96.21	97.45	98.35	
ทริปซิน	0.25	-	62.40	63.07	64.07	64.57	64.77	64.91	75.15 b
	0.50	-	65.48	66.21	66.54	69.20	69.68	70.45	
	0.75	-	70.03	70.98	72.20	74.09	75.26	76.39	
	1.00	-	75.66	77.26	79.41	81.17	82.40	83.25	
	1.25	-	79.77	80.94	82.90	83.60	84.40	85.22	
	1.50	-	80.77	81.93	82.82	83.38	84.58	85.51	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 7 ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา
การย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	60.80v	-	-	-	-	-	-
0.25	-	68.71 u	70.36 u	72.51 t	73.19 st	74.08 rs	74.72 r
0.50	-	74.22 r	77.38 q	80.43 p	82.04 no	81.29 op	82.59 n
0.75	-	82.16 no	85.16 kl	87.37 j	88.81 i	90.08 gh	91.41 f
1.00	-	83.81 m	85.68 k	87.71 j	89.36 hi	90.82 fg	92.59 e
1.25	-	84.62 lm	89.72 hi	91.60 f	92.94 de	93.40 de	93.87 cd
1.50	-	86.11 k	91.53 f	94.37 c	96.21 b	97.45 b	98.35 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๘ ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะ
เวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	60.80u	-	-	-	-	-	-
0.25	-	62.40 t	63.07 t	64.07 s	64.57 s	64.77 rs	64.91 rs
0.50	-	65.48 qr	66.21 pq	66.54 p	69.20 o	69.68 no	70.45 mn
0.75	-	70.03 no	70.98 m	72.20 l	74.09 k	75.26 j	76.39 i
1.00	-	75.66 ij	77.26 h	79.41 g	81.17 e	82.40 d	83.25 cd
1.25	-	79.77 g	80.94 ef	82.90 cd	83.60 bc	84.40 b	85.22 b
1.50	-	80.77 f	81.93 e	82.82 cd	83.38 b	84.58 b	85.51 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 9 ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	2.93	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	4.15	4.45	4.41	4.62	4.54	4.73	6.16 a
	0.50	-	4.93	5.11	5.47	5.55	5.62	5.88	
	0.75	-	6.12	6.48	6.69	6.97	7.25	7.35	
	1.00	-	6.86	7.27	7.20	7.49	7.15	6.94	
	1.25	-	7.13	6.94	6.67	6.52	6.30	5.98	
	1.50	-	7.22	6.88	6.55	6.32	6.06	5.85	
ทริปซิน	0.25	-	3.29	3.34	3.53	3.65	3.71	3.83	5.07 b
	0.50	-	3.92	4.05	4.10	4.34	4.42	4.47	
	0.75	-	4.69	4.83	5.02	5.16	5.27	5.38	
	1.00	-	5.40	5.57	5.48	5.61	5.75	5.84	
	1.25	-	5.69	5.73	5.82	5.97	6.11	6.26	
	1.50	-	5.60	5.78	5.95	6.16	6.34	6.52	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

ตารางผนวกที่ 10 ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	2.93 u	-	-	-	-	-	-
0.25	-	4.15 t	4.45 st	4.41 st	4.62 qr	4.54 rs	4.73 q
0.50	-	4.93 p	5.11 o	5.47 n	5.55 mn	5.62 m	5.88 kl
0.75	-	6.12 i	6.48 g	6.69 f	6.97 e	7.25 bcd	7.35 b
1.00	-	6.86 e	7.27 bc	7.20 cd	7.49 a	7.15 cd	6.94 e
1.25	-	7.13 d	6.94 e	6.67 f	6.52 g	6.30 h	5.98 jk
1.50	-	7.22 cd	6.88 e	6.55 g	6.32 h	6.06 ij	5.85 l

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 11 ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	2.93 r	-	-	-	-	-	-
0.25	-	3.29 q	3.34 p	3.53 op	3.65 op	3.71 o	3.83 n
0.50	-	3.92 mn	4.05 m	4.10 m	4.34 lm	4.42 l	4.47 l
0.75	-	4.69 k	4.83 j	5.02 ij	5.16 i	5.27 i	5.38 h
1.00	-	5.40 h	5.57 g	5.48 cdB	5.61 g	5.75 efg	5.84 e
1.25	-	5.69 g	5.73 fg	5.82 de	5.97 d	6.11 bc	6.26 b
1.50	-	5.60 g	5.78 fg	5.95 d	6.16 c	6.34 b	6.52 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนั่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 12 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	2.29	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	2.89	3.10	3.15	3.38	3.51	3.53	4.62 b
	0.50	-	3.04	4.09	4.48	5.53	5.59	5.61	
	0.75	-	4.98	5.36	5.60	5.92	5.35	5.10	
	1.00	-	5.41	5.83	5.84	5.45	4.97	4.86	
	1.25	-	5.80	5.21	5.33	4.56	3.92	3.89	
	1.50	-	5.89	4.80	4.47	4.01	3.11	2.68	
ทริปซิน	0.25	-	3.28	3.35	3.63	3.74	3.80	3.95	5.54 a
	0.50	-	4.07	4.26	4.34	4.65	4.75	4.88	
	0.75	-	5.20	5.32	5.57	5.72	5.86	5.95	
	1.00	-	5.98	6.14	6.04	6.20	6.35	6.43	
	1.25	-	6.31	6.42	6.51	6.69	6.80	6.89	
	1.50	-	6.28	6.44	6.62	6.85	6.98	7.13	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

ตารางผนวกที่ 13 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	2.29 s	-	-	-	-	-	-
0.25	-	2.89 r	3.10 o	3.15 o	3.38 n	3.51 m	3.53 m
0.50	-	3.04 p	4.09 j	4.48 i	5.53 bc	5.59 b	5.61 b
0.75	-	4.98 g	5.36 d	5.60 b	5.92 a	5.35 d	5.10 f
1.00	-	5.41 cd	5.83 ab	5.84 ab	5.45 cd	4.97 g	4.86 gh
1.25	-	5.80 ab	5.21 e	5.33 d	4.56 i	3.92 kl	3.89 l
1.50	-	5.89 ab	4.80 h	4.47 i	4.01 jk	3.11 o	2.68 q

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 14 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	2.29 u	-	-	-	-	-	-
0.25	-	3.28 t	3.35 s	3.63 r	3.74 q	3.80 q	3.95 p
0.50	-	4.07 op	4.26 op	4.34 o	4.65 n	4.75 mn	4.88 m
0.75	-	5.20 m	5.32 l	5.57 k	5.72 j	5.86 i	5.95 h
1.00	-	5.98 h	6.14 g	6.04 gh	6.20 f	6.35 e	6.43 de
1.25	-	6.31 e	6.42 de	6.51 de	6.69 d	6.80 c	6.89 bc
1.50	-	6.28 e	6.44 de	6.62 d	6.85 bc	6.98 b	7.13 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 15 ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของ
เอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดย น้ำหนักของ น้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพล หลักของ ชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	77.36	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	79.44	81.39	82.08	83.19	84.17	84.72	92.39 b
	0.50	-	87.64	90.56	93.47	95.69	97.64	99.44	
	0.75	-	95.97	97.77	98.61	100.83	97.22	96.67	
	1.00	-	96.11	99.31	100.14	97.50	94.72	93.47	
	1.25	-	98.19	93.75	92.22	90.69	88.89	89.03	
	1.50	-	99.17	93.47	90.83	89.58	87.22	85.28	
ทริปซิน	0.25	-	83.06	83.61	84.86	85.83	85.83	86.39	102.47 a
	0.50	-	87.64	89.02	89.31	91.46	91.88	91.94	
	0.75	-	93.89	95.14	97.57	98.61	100.28	102.85	
	1.00	-	103.06	105.63	106.60	109.86	112.43	114.10	
	1.25	-	112.15	112.78	113.13	114.58	116.32	118.13	
	1.50	-	112.01	114.93	117.22	119.93	122.08	124.65	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 16 ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา
การย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	77.36u	-	-	-	-	-	-
0.25	-	79.44 t	81.39 s	82.08 s	83.19 r	84.17 q	84.72 pq
0.50	-	87.64 o	90.56 m	93.47 k	95.69 i	97.64 fgh	99.44 bc
0.75	-	95.97 i	97.77 fg	98.61 cde	100.83 a	97.22 gh	96.67 hi
1.00	-	96.11 i	99.31 bc	100.14 b	97.50 gh	94.72 j	93.47 k
1.25	-	98.19 def	93.75 j	92.22 l	90.69 m	88.89 n	89.03 n
1.50	-	99.17 bcd	93.47 k	90.83 m	89.58 n	87.22 o	85.28 p

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 17 ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ
ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	77.36x	-	-	-	-	-	-
0.25	-	83.06 w	83.61 w	84.86 v	85.83 uv	85.83 uv	86.39 uv
0.50	-	87.64 u	89.02 t	89.31 st	91.46 st	91.88 s	91.94 s
0.75	-	93.89 r	95.14 q	97.57 pq	98.61 p	100.28 o	102.85 n
1.00	-	103.06 m	105.63 l	106.60 k	109.86 j	112.43 hi	114.10 g
1.25	-	112.15 i	112.78 hi	113.13 h	114.58 fg	116.32 e	118.13 d
1.50	-	112.01 hi	114.93 f	117.22 d	119.93 c	122.08 b	124.65 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 18 ความคงตัวของสารเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของ
เอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความคงตัวของสารเกิดฟอง (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	65.08	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	67.48	64.68	62.86	60.60	58.42	57.13	42.19 b
	0.50	-	56.26	54.45	51.41	50.37	48.79	48.88	
	0.75	-	46.31	43.47	41.27	39.26	37.72	36.35	
	1.00	-	43.93	40.14	37.31	35.33	30.06	28.98	
	1.25	-	43.85	35.12	30.72	28.79	29.06	27.77	
	1.50	-	38.09	33.73	30.73	28.22	26.59	24.59	
ทริปซิน	0.25	-	73.91	73.44	71.85	71.04	69.90	69.46	52.45 a
	0.50	-	67.99	67.01	66.48	64.47	93.94	63.29	
	0.75	-	61.98	60.51	58.15	57.04	55.47	52.74	
	1.00	-	52.29	49.77	48.40	45.13	42.56	41.15	
	1.25	-	41.11	40.70	40.15	38.61	36.78	34.86	
	1.50	-	41.04	38.13	35.78	33.01	31.86	28.30	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 19 ความคงตัวของสารเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา
การย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความคงตัวของสารเกิดฟอง (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	65.08b	-	-	-	-	-	-
0.25	-	67.48 a	64.68 b	62.86 c	60.60 d	58.42 e	57.13 f
0.50	-	56.26 f	54.45 g	51.41 h	50.37 h	48.79 i	48.88 i
0.75	-	46.31 j	43.47 k	41.27 l	39.26 lm	37.72 n	36.35 op
1.00	-	43.93 k	40.14 l	37.31 no	35.33 pq	30.06 st	28.98 tuv
1.25	-	43.85 k	35.12 q	30.72 s	28.79 uv	29.06 tu	27.77 v
1.50	-	38.09 m	33.73 r	30.73 s	28.22 uv	26.59 w	24.59 x

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 20 ความคงตัวของกาเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา
เวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความคงตัวของกาเกิดฟอง (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	65.08g	-	-	-	-	-	-
0.25	-	73.91 a	73.44 a	71.85 b	71.04 bc	69.90 cd	69.46d
0.50	-	67.99 e	67.01 ef	66.48 f	64.47 h	93.94 hi	63.29 hi
0.75	-	61.98 i	60.51 j	58.15 k	57.04 k	55.47 l	52.74 m
1.00	-	52.29 m	49.77 n	48.40 o	45.13 p	42.56 q	41.15 r
1.25	-	41.11 r	40.70 r	40.15 r	38.61 s	36.78 t	34.86 u
1.50	-	41.04 r	38.13 s	35.78 tu	33.01 v	31.86 v	28.30 w

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 21 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของ
เอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	63.50	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	64.50	65.00	66.17	66.67	67.00	67.25	77.78 b
	0.50	-	70.17	74.83	78.33	80.67	83.17	84.50	
	0.75	-	80.33	82.17	84.33	87.17	83.83	83.00	
	1.00	-	82.83	85.83	88.00	85.67	81.17	80.17	
	1.25	-	85.17	80.00	79.50	76.17	75.33	74.33	
	1.50	-	87.83	80.33	76.00	73.33	70.50	68.67	
ทริปซิน	0.25	-	66.83	67.17	68.00	69.50	69.17	70.50	81.10 a
	0.50	-	71.25	72.33	72.42	73.42	74.17	75.92	
	0.75	-	74.08	76.58	78.42	78.83	80.33	82.17	
	1.00	-	83.75	84.92	83.67	85.50	86.00	88.00	
	1.25	-	85.33	86.08	87.17	88.50	90.50	93.08	
	1.50	-	85.92	88.33	92.25	94.76	96.50	98.36	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 22 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลา
การย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	63.50y	-	-	-	-	-	-
0.25	-	64.50 x	65.00 wx	66.17 vw	66.67uv	67.00 uv	67.25 u
0.50	-	70.17 s	74.83 pq	78.33 n	80.67 jk	83.17 gh	84.50 cd
0.75	-	80.33 jkl	82.17 i	84.33 cd	88.00 a	83.83 de	83.00 ghi
1.00	-	82.83 hi	85.83 b	87.17 b	85.67 b	81.17 j	80.17 lm
1.25	-	85.17 bc	80.00 lm	79.50 m	76.17 o	75.33 op	74.33 q
1.50	-	87.83 a	80.33 jkl	76.00 o	73.33 r	70.50 s	68.67 t

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 23 กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่าน
การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ
ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	กิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	63.50w	-	-	-	-	-	-
0.25	-	66.83 v	67.17 v	68.00 u	69.50 tu	69.17 tu	70.50 st
0.50	-	71.25 rs	72.33 qr	72.42 qr	73.42 pq	74.17 p	75.92 o
0.75	-	74.08 p	76.58 o	78.42 n	78.83 n	80.33 m	82.17 l
1.00	-	83.75 k	84.92 j	83.67 k	85.50 i	86.00 hi	88.00 fg
1.25	-	85.33 i	86.08 hi	87.17 gh	88.50 f	90.50 e	93.08 d
1.50	-	85.92 i	88.33 fg	92.25 d	94.76 c	96.50 b	98.36 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 24 ความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	57.17	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	58.83	55.50	54.50	51.83	51.67	50.67	42.07 b
	0.50	-	55.00	51.17	49.67	47.50	44.50	40.33	
	0.75	-	45.83	46.33	42.50	40.50	38.50	37.17	
	1.00	-	47.33	43.00	42.83	40.50	38.00	35.83	
	1.25	-	43.67	36.83	35.00	33.17	31.67	30.33	
	1.50	-	40.17	35.67	32.83	30.00	28.50	27.17	
ทริปซิน	0.25	-	64.33	63.67	61.83	61.00	60.50	60.33	46.66 a
	0.50	-	62.08	60.67	59.92	57.08	55.75	54.58	
	0.75	-	52.75	53.08	50.42	49.25	47.00	45.67	
	1.00	-	44.33	44.75	42.67	40.33	38.08	38.58	
	1.25	-	39.67	38.00	36.50	34.00	33.25	31.58	
	1.50	-	38.50	35.67	33.67	31.17	30.50	28.75	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

ตารางผนวกที่ 25 ความคงตัวของกรดอะมิโน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความคงตัวของกรดอะมิโน (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	57.17b	-	-	-	-	-	-
0.25	-	58.83 a	55.50 c	54.50 c	51.83 d	51.67 d	50.67 de
0.50	-	55.00 c	51.17 d	49.67 e	47.50 f	44.50 hi	40.33 k
0.75	-	45.83 gh	46.33 fg	42.50 j	40.50 k	38.50 l	37.17 lmn
1.00	-	47.33 f	43.00 j	42.83 j	40.50 k	38.00 lm	35.83 no
1.25	-	43.67 ij	36.83 mn	35.00 o	33.17 p	31.67 qr	30.33 rs
1.50	-	40.17 k	35.67 no	32.83 pq	30.00 s	28.50 t	27.17 t

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 26 ความคงตัวของกรดอะมิโน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความคงตัวของกรดอะมิโน (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที	นาที
0.00	57.17f	-	-	-	-	-	-
0.25	-	64.33 a	63.67 b	61.83 cd	61.00 cde	60.50 e	60.33 e
0.50	-	62.08 c	60.67 de	59.92 e	57.08 f	55.75 g	54.58 g
0.75	-	52.75 h	53.08 h	50.42 i	49.25 i	47.00 j	45.67 k
1.00	-	44.33 l	44.75 kl	42.67 m	40.33 n	38.08 q	38.58 op
1.25	-	39.67 no	38.00 q	36.50 r	34.00 s	33.25 s	31.58 t
1.50	-	38.50 op	35.67 r	33.67 s	31.17 t	30.50 t	28.75 u

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๖27 ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุด ที่สามารถเกิดเจลได้)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	14.00	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	13.00	13.00	12.00	12.00	12.00	11.00	8.00 a
	0.50	-	11.00	9.00	8.00	8.00	7.00	7.00	
	0.75	-	7.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	
	1.00	-	7.00	6.00	6.00	5.00	7.00	7.00	
	1.25	-	6.00	8.00	8.00	9.00	10.00	10.00	
	1.50	-	6.00	8.00	9.00	10.00	11.00	11.00	
ทริปซิน	0.25	-	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00	11.00 b
	0.50	-	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	
	0.75	-	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	10.00	
	1.00	-	10.00	10.00	10.00	9.00	9.00	9.00	
	1.25	-	9.00	9.00	8.00	8.00	8.00	7.00	
	1.50	-	9.00	8.00	8.00	7.00	7.00	7.00	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 28 ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	14.00a	-	-	-	-	-	-
0.25	-	13.00 b	13.00 b	12.00 c	12.00 c	12.00 c	11.00 d
0.50	-	11.00 d	9.00 f	8.00 g	8.00 g	7.00 h	7.00 h
0.75	-	7.00 h	6.00 i	6.00 i	6.00 i	6.00 i	6.00 i
1.00	-	7.00 h	6.00 i	6.00 i	5.00 j	7.00 h	7.00 h
1.25	-	6.00 i	8.00 g	8.00 g	9.00 f	10.00 e	10.00 e
1.50	-	6.00 i	8.00 g	9.00 f	10.00 e	11.00 d	11.00 d

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 29 ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	14.00a	-	-	-	-	-	-
0.25	-	13.00 b	13.00 bc	13.00 bcd	13.00 bcd	13.00 bcd	13.00bcde
0.50	-	12.00cdef	12.00cdef	12.00 def	12.00 ef	12.00 ef	12.00 f
0.75	-	11.00 g	11.00 g	11.00 gh	11.00 gh	11.00 gh	10.00 hi
1.00	-	10.00 hi	10.00 i	10.00 i	9.00 i	9.00 j	9.00 jk
1.25	-	9.00 j	9.00 j	8.00 klm	8.00 klm	8.00 lm	7.00 m
1.50	-	9.00 j	8.00 kl	8.00 klm	7.00 m	7.00 m	7.00 n

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนั่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 30 ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)							ค่าเฉลี่ย
	ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	0	5	10	15	20	25	30	อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
ไม่ผ่าน การย่อย	0	3.54	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	3.75	3.98	4.03	4.31	4.42	4.39	7.82 a
	0.50	-	5.65	6.23	6.49	6.60	6.81	7.13	
	0.75	-	7.37	7.85	9.11	9.56	9.95	10.16	
	1.00	-	9.06	10.58	10.95	12.72	9.80	9.74	
	1.25	-	9.26	9.22	8.56	7.81	7.60	7.27	
	1.50	-	10.04	9.18	8.92	8.36	7.44	7.08	
ทริปซิน	0.25	-	3.77	3.85	4.03	4.22	4.31	4.46	7.73 b
	0.50	-	5.38	5.45	5.56	5.80	6.92	6.95	
	0.75	-	7.10	7.21	7.26	7.40	7.56	8.59	
	1.00	-	8.46	8.70	8.85	9.03	9.04	9.09	
	1.25	-	9.21	9.43	9.46	9.59	10.33	10.67	
	1.50	-	9.27	9.58	10.06	10.11	10.49	11.02	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

ตารางผนวกที่ 31 ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	3.54 v	-	-	-	-	-	-
0.25	-	3.75 u	3.98 tu	4.03 stu	4.31 st	4.42 s	4.39 s
0.50	-	5.65 r	6.23 q	6.49 pq	6.60 pq	6.81 op	7.13 no
0.75	-	7.37 mn	7.85 k	9.11 h	9.56 fg	9.95 def	10.16 d
1.00	-	9.06 h	10.58 c	10.95 b	12.72 a	9.80 def	9.74 ef
1.25	-	9.26 gh	9.22 gh	8.56 ij	7.81 kl	7.60 klm	7.27 mn
1.50	-	10.04 de	9.18 gh	8.92 hi	8.36 j	7.44 lmn	7.08 no

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 32 ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	3.54x	-	-	-	-	-	-
0.25	-	3.77 w	3.85 w	4.03 v	4.22 u	4.31 u	4.46 t
0.50	-	5.38 s	5.45 rs	5.56 r	5.80 q	6.92 p	6.95 p
0.75	-	7.10 o	7.21 no	7.26 mn	7.40 m	7.56 l	8.59 jk
1.00	-	8.46 k	8.70 j	8.85 i	9.03 h	9.04 h	9.09 gh
1.25	-	9.21 fg	9.43 e	9.46 de	9.59 d	10.33 bc	10.67 b
1.50	-	9.27 f	9.58 de	10.06 c	10.11 bc	10.49 b	11.02 a

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนั่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 33 ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย
ด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และ
ระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ชนิด	ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนัก โปรตีน)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)							ค่าเฉลี่ย อิทธิพลหลัก ของชนิดของ เอนไซม์ ^{2/}
		0	5	10	15	20	25	30	
		นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	
ไม่ผ่าน การย่อย	0	20.60	-	-	-	-	-	-	
ฟิซิน	0.25	-	19.42	19.07	18.99	18.80	18.69	18.46	17.07 b
	0.50	-	18.25	18.04	17.89	17.51	17.44	17.13	
	0.75	-	16.87	16.55	16.26	15.83	15.67	15.53	
	1.00	-	16.51	16.04	15.90	15.44	16.11	16.36	
	1.25	-	15.98	16.30	16.57	16.74	16.96	17.23	
	1.50	-	15.92	16.49	17.08	17.22	17.40	17.71	
ทริปซิน	0.25	-	20.14	20.10	19.87	19.71	19.63	19.55	18.19 a
	0.50	-	19.49	19.33	19.25	19.04	18.97	19.89	
	0.75	-	18.68	18.56	18.29	18.18	18.07	17.99	
	1.00	-	17.95	17.74	17.67	17.56	17.40	17.27	
	1.25	-	17.56	17.38	17.31	17.11	17.02	16.88	
	1.50	-	17.52	17.33	17.18	16.97	16.74	16.56	

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 34 ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	20.60a	-	-	-	-	-	-
0.25	-	19.42 b	19.07 c	18.99 cd	18.80 de	18.69 ef	18.46 fg
0.50	-	18.25 gh	18.04 hi	17.89 ij	17.51 kl	17.44 lm	17.13 no
0.75	-	16.87 op	16.55 pqr	16.26 stu	15.83 vw	15.67 vw	15.53 w
1.00	-	16.51pqrs	16.04 tuv	15.90uvw	15.44 v	16.11 tuv	16.36qrst
1.25	-	15.98 uv	16.30 rstu	16.57 pq	16.74 op	16.96 nop	17.23 mn
1.50	-	15.92uvw	16.49pqrs	17.08 nop	17.22mno	17.40 lm	17.71 jk

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวนอนและแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ 35 ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลาย
ด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการ
ย่อยสลายต่าง ๆ^{1/}

ความเข้มข้น ของเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก ของน้ำหนักโปรตีน)	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ^{2/}						
	0	5	10	15	20	25	30
	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่	นาที่
0.00	20.60a	-	-	-	-	-	-
0.25	-	20.14 b	20.10 b	19.87 c	19.71 cd	19.63 de	19.55 de
0.50	-	19.49 ef	19.33 fg	19.25 g	19.04 h	18.97 h	19.89 h
0.75	-	18.68 i	18.56 i	18.29 j	18.18 jk	18.07 kl	17.99 kl
1.00	-	17.95 l	17.74 m	17.67 mn	17.56mno	17.40 opq	17.27 qrs
1.25	-	17.56mno	17.38opqr	17.31 pqrs	17.11 stu	17.02 tuv	16.88 vw
1.50	-	17.52 nop	17.33 pqr	17.18 rst	16.97 uv	16.74 w	16.56 x

หมายเหตุ ^{1/} ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ

^{2/} ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในแนวดิ่งและแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่าง
มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ จ1 การวิเคราะห์ทางสถิติระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
pH (A)	3	123.202	41.067	874.115*
อุณหภูมิในการย่อยสลาย (B)	5	156.261	31.252	665.203*
A×B	15	17.770	1.185	25.216*
Error	24	1.128	0.047	
Total	48	2823.033		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ จ2 การวิเคราะห์ทางสถิติระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ pH และอุณหภูมิในการย่อยสลายต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
pH (A)	3	13.709	4.570	343.705*
อุณหภูมิในการย่อยสลาย (B)	5	15.435	3.087	232.188*
A×B	15	3.306	0.220	16.579*
Error	24	0.319	0.013	
Total	48	715.293		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑3 การวิเคราะห์ทางสถิติระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	2396.482	2396.482	15821.382*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	5672.839	1134.568	7490.325*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	480.705	96.141	634.715*
A×B	5	282.064	56.413	372.432*
A×C	5	52.555	10.511	69.392*
B×C	25	60.872	2.435	16.075*
A×B×C	25	16.187	0.647	4.275*
Error	72	10.906	0.151	
Total	144	37927.066		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑4 การวิเคราะห์ทางสถิติดัชนีการละลายของไนโตรเจน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	3831.035	3831.035	21618.902*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	7624.218	1524.844	8604.840*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	855.802	171.160	965.875*
A×B	5	182.133	36.427	205.558*
A×C	5	60.817	12.163	68.639*
B×C	25	41.542	1.662	9.377*
A×B×C	25	28.610	1.144	6.458*
Error	72	12.759	0.177	
Total	144	941247.685		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑5 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการจับน้ำ (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	42.199	42.199	16646.470*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	112.994	0.387	152.622*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	1.934	22.599	8914.760*
A×B	5	1.573	0.315	124.101*
A×C	5	7.877	1.575	621.499*
B×C	25	3.828	0.153	60.397*
A×B×C	25	5.007	0.200	79.007*
Error	72	0.183	0.002535	
Total	144	4715.924		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๖ การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัมของโปรตีน) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	30.503	30.503	11080.241*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	98.221	19.644	7135.710*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	1.196	0.239	86.923*
A×B	5	33.787	6.757	2454.640*
A×C	5	5.955	1.191	432.618*
B×C	25	16.177	0.647	235.049*
A×B×C	25	15.407	0.616	223.869*
Error	72	0.198	0.002753	
Total	144	3915.251		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๖7 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์
โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่
ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	3652.971	3652.971	22648.907*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	7970.823	1594.165	9884.033*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	175.679	35.136	217.847*
A×B	5	4857.937	971.587	6023.971*
A×C	5	358.113	71.623	444.069*
B×C	25	220.954	8.838	54.798*
A×B×C	25	554.918	22.197	137.623*
Error	72	11.613	0.161	
Total	144	1384699.576		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑๘ การวิเคราะห์ทางสถิติความคงตัวของฟอง (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	3794.771	3794.771	11152.081*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	21618.900	4323.780	12706.734*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	1687.915	337.583	992.089*
A×B	5	655.607	131.121	385.340*
A×C	5	86.715	17.343	50.968*
B×C	25	131.400	5.256	15.446*
A×B×C	25	72.486	2.899	8.521*
Error	72	24.500	0.340	
Total	144	350509.141		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑๑ การวิเคราะห์ทางสถิติกิจกรรมในการเกิดอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	398.557	398.557	1545.455*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	5496.757	1099.351	4262.875*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	92.591	18.518	71.807*
A×B	5	2226.371	445.274	1726.607*
A×C	5	330.640	66.128	256.419*
B×C	25	354.886	14.195	55.045*
A×B×C	25	801.600	32.064	124.332*
Error	72	18.568	0.258	
Total	144	918442.603		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑10 การวิเคราะห์ทางสถิติความคงตัวของอิมัลชัน (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	760.074	760.074	1782.102*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	11748.119	2349.624	5509.025*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	1445.612	289.122	677.888*
A×B	5	104.377	4.175	9.789*
A×C	5	74.357	14.871	34.868*
B×C	25	650.744	130.149	305.152*
A×B×C	25	28.484	1.139	2.671*
Error	72	30.708	0.427	
Total	144	298295.195		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑11 การวิเคราะห์ทางสถิติความสามารถในการเกิดเจล (ร้อยละความเข้มข้นของโปรตีนต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	112.007	112.007	1792.111*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	390.124	78.025	1248.398*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	5.309	1.062	16.990*
A×B	5	201.785	40.357	645.711*
A×C	5	10.933	2.187	34.985*
B×C	25	36.723	1.469	23.503*
A×B×C	25	72.692	2.908	46.523*
Error	72	4.500	0.00625	
Total	144	13223.000		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑12 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) ของผลิตภัณฑ์จากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	0.275	0.275	14.632*
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	560.503	112.101	5965.778*
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	7.724	1.545	82.207*
A×B	5	58.199	11.640	619.449*
A×C	5	10.059	2.012	107.068*
B×C	25	25.567	1.023	54.425*
A×B×C	25	26.207	1.048	55.788*
Error	72	1.353	0.0188	
Total	144	9388.427		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑13 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	0.079	0.079	0.060 ^{ns}
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	23.365	4.673	3.541 ^{ns}
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	6.496	1.299	0.984 ^{ns}
A×B	5	20.927	4.185	3.171 ^{ns}
A×C	5	5.321	1.064	0.806 ^{ns}
B×C	25	16.548	0.662	0.502 ^{ns}
A×B×C	25	11.315	0.453	0.343 ^{ns}
Error	72	95.020	1.320	
Total	144	1139508.122		

หมายเหตุ ^{ns} แสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑14 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	0.0002367	0.0002367	0.062 ^{ns}
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	0.00332	0.0006639	0.173 ^{ns}
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	0.008146	0.001629	0.424 ^{ns}
A×B	5	0.001879	0.003757	0.979 ^{ns}
A×C	5	0.004759	0.0009518	0.248 ^{ns}
B×C	25	0.06892	0.002757	0.718 ^{ns}
A×B×C	25	0.05367	0.002147	0.559 ^{ns}
Error	72	0.276	0.003838	
Total	144	20.471		

หมายเหตุ ^{ns} แสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑15 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเก่า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของผลิตภัณฑ์
โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่
ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	0.008	0.008	0.147 ^{ns}
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	0.058	0.012	0.208 ^{ns}
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	0.368	0.074	1.315 ^{ns}
A×B	5	0.125	0.025	0.445 ^{ns}
A×C	5	0.565	0.113	2.019 ^{ns}
B×C	25	0.932	0.037	0.666 ^{ns}
A×B×C	25	0.961	0.038	0.686 ^{ns}
Error	72	4.032	0.056	
Total	144	2528.888		

หมายเหตุ ^{ns} แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑16 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคาร์โบไฮเดรตและอื่น ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก-แห้ง) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซิน และเอนไซม์ทริปซินที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	1.827	1.827	1.341 ^{ns}
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	15.410	3.082	2.262 ^{ns}
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	4.975	0.995	0.730 ^{ns}
A×B	5	34.232	6.846	5.025 ^{ns}
A×C	5	9.212	1.842	1.352 ^{ns}
B×C	25	31.081	1.243	0.913 ^{ns}
A×B×C	25	11.141	0.446	0.327 ^{ns}
Error	72	98.094	1.362	
Total	144	6449.648		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑17 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณผลผลิต (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจาก ถั่วเขียวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ฟิซินและเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ ความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยสลายต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
ชนิดของเอนไซม์ (A)	1	45.616	45.616	4072.808
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (B)	5	129.218	25.844	2307.432
ระยะเวลาการย่อยสลาย (C)	5	3.005	0.601	53.658
A×B	5	16.881	3.376	301.436
A×C	5	1.635	0.327	29.204
B×C	25	5.824	0.233	20.800
A×B×C	25	7.368	0.295	26.313
Error	72	0.806	0.011	
Total	144	44961.958		

หมายเหตุ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวปัทมา ผาสุถาน
เกิดวันที่	6 มกราคม พ.ศ. 2523
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. เกียรตินิยมอันดับ 2 (เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ (พ.ศ. 2545)