

การเตรียมผลิตภัณฑ์โปรตีนจากกากธัญชาติของการผลิตเบียร์

Preparation of Protein Products from Brewer's Spent Grain

คำนำ

เบียร์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่นิยมดื่มกันมากโดยเฉพาะในกลุ่มคนวัยทำงาน ปัจจุบันมีเบียร์หลายยี่ห้ออยู่ในท้องตลาด การตลาดของเบียร์ในประเทศไทยมีการแข่งขันกันอย่างรุนแรงเพื่อช่วงชิงส่วนแบ่งการตลาดให้ได้มากที่สุด โดยเฉพาะในช่วงฤดูหนาวมีการแย่งพื้นที่สำหรับเปิดลานเบียร์ในย่านธุรกิจกลางคืนของเบียร์หลายยี่ห้อ การตลาดเบียร์ในไทยมีการเติบโตเพิ่มขึ้นทุกปีจาก 61,000 ล้านบาทในปี 2545 เพิ่มขึ้นเป็น 73,000 ล้านบาทในปีถัดมา และปี 2547 ที่ผ่านมามูลค่าการตลาดรวมมีประมาณ 82,000 ล้านบาท (ประชาชาติธุรกิจ, 2548) เบียร์ตามความหมายดั้งเดิม หมายถึง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการหมักของข้าวมอลต์ ฮอป (hop) และยีสต์แต่ในปัจจุบันนี้มีเพียงประเทศเยอรมันประเทศเดียวเท่านั้นที่มีการผลิตเบียร์ตามความหมายนี้ประเทศอื่นจะมีการใช้ธัญชาติอื่นๆ ผสมกับข้าวมอลต์ในการผลิตเบียร์ ธัญชาติที่นิยมใช้ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวสาลี เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากข้าวมอลต์มีราคาสูง นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงกลิ่นรสของเบียร์อีกด้วย เนื่องจากเบียร์ที่ผลิตจากข้าวมอลต์ล้วนๆ เช่นเบียร์เยอรมันจะมีรสเข้มข้น ไม้เป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค การใส่ธัญชาติชนิดอื่นเพิ่มลงไปจึงเป็นการเจือจางรสเข้มข้นของมอลต์จากข้าวบาร์เลย์ และทำให้เบียร์มีรสชาติกลมกล่อมขึ้น สัดส่วนและปริมาณการใช้ขึ้นอยู่กับสูตรเบียร์ของแต่ละโรงงาน โดยทั่วไปมักใช้ประมาณร้อยละ 20-40 ของวัตถุดิบทั้งหมด (Juliano, 1985) ในกระบวนการผลิตเบียร์มีการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาล เรียกว่า น้ำเวิร์ด เพื่อใช้เป็นสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ เมื่อกระบวนการย่อยเสร็จสิ้นลงจะกรองเอากากธัญชาติออกเพื่อนำเวิร์ดไปใช้ในกระบวนการต่อไป ส่วนของแข็งที่เหลือจากการกรอง เรียกว่า กากธัญชาติเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์ (brewer's spent grain, BSG) Dreese and Hosenev (1981) กล่าวว่า การผลิตเบียร์ 1 บาร์เรล หรือ 360 ปอนด์ ก่อให้เกิดกากธัญชาติเหลือทิ้งถึง 12.5 ปอนด์ โดยน้ำหนัก ส่วนใหญ่มักกำจัดโดยขายเป็นอาหารสัตว์เนื่องจากยังคงมีสารอาหารที่มีประโยชน์อยู่สามารถนำมาเลี้ยงสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เตรียมอาหารสำหรับมนุษย์ได้อีกด้วย ได้แก่ การใช้โดยตรงโดยทดแทนแป้งบางส่วนในการผลิตขนมปัง คุกกี้ มัฟฟิน เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารประเภทโปรตีนและไฟเบอร์ (Prentice *et al.*, 1978; Finley and Hanamoto, 1980; Ozturk, 2002) และในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ (meat product) (Junnila *et al.*, 1981) เป็นต้น และยังมีรายงานการ

ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนคอนเซนเตรท (Lasztity, 1996) ในการนำกากธัญชาติไปใช้เป็น ส่วนประกอบในอาหารโดยตรงต้องมีการแยกเปลือกออกก่อน เนื่องจากเปลือกมีลักษณะหยาบทำให้ผู้ บริโภคไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ กากธัญชาติที่ได้จากการผลิตเบียร์มีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน เนื่องจากพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ ชนิดและปริมาณของธัญชาติอื่นที่เพิ่มลงไปตามสูตรการผลิตและ กระบวนการผลิตของแต่ละโรงงานทำให้กากธัญชาติมีสมบัติทางเคมีแตกต่างกัน ดังนั้นในการวิจัย นี้จึงศึกษาวิธีการเตรียมผลิตภัณฑ์แป้งโปรตีนให้มีลักษณะเหมาะสม สามารถนำไปใช้กับอาหารได้ โดยตรง ศึกษาวิธีการเตรียมโปรตีนจากกากธัญชาติในรูปโปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนดังกล่าว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาวิธีการเตรียมแป้งโปรตีนที่ผลิตจากกากธัญชาติของกระบวนการผลิตเบียร์
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทจาก กากธัญชาติของกระบวนการผลิตเบียร์
3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซ เลทจากกากธัญชาติของกระบวนการผลิตเบียร์
4. ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลท ได้แก่ ความสามารถในการละลายของโปรตีน (protein solubility) ความสามารถในการคูดน้ำ (water holding capacity) และความสามารถในการทำให้เป็นอิมัลชัน (emulsifying activity) และ ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsifying stability)

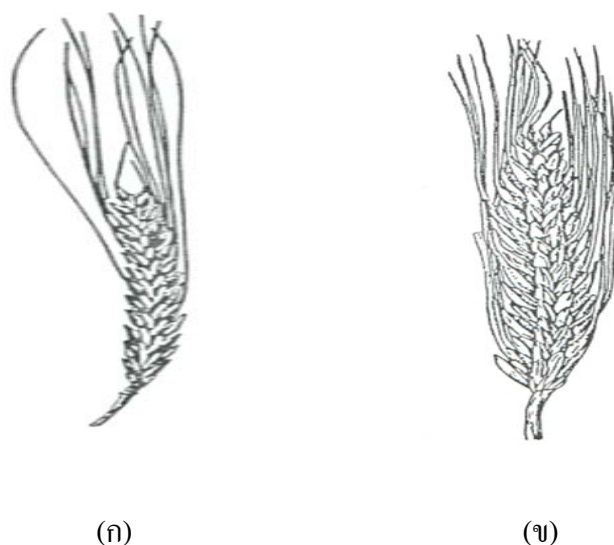
การตรวจเอกสาร

ข้าวบาร์เลย์

ข้าวบาร์เลย์ (Barley) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hordeum vulgare* Linn. เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในตระกูลหญ้า (family Gramineae) (กองวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2534) ข้าวบาร์เลย์มีถิ่นกำเนิดในตะวันตกเฉียงเหนือของอินเดียและโมร็อกโก (ศิริรัตน์, 2540) มีการปลูกกันอย่างกว้างขวางตั้งแต่แถบอาร์กติก เซอร์เคิล (Arctic circle) จนถึงใกล้เขตศูนย์สูตร ข้าวบาร์เลย์ชอบอากาศเย็นโดยเฉพาะกลางคืนที่เย็น (10-18 องศาเซลเซียส) และกลางวันที่ไม่ร้อนจัด (12-25 องศาเซลเซียส) และควรเป็นความเย็นที่แห้งหรือร้อนแห้งไม่ร้อนชื้น ข้าวบาร์เลย์มักขึ้นได้ดีในที่สูงและสภาพดินร่วนมีการระบายน้ำดี น้ำไม่ขัง ข้าวบาร์เลย์เป็นพืชใหม่สำหรับประเทศไทย ดังนั้นการปลูก วิธีการปลูก ตลอดจนการดูแลรักษาที่ถูกต้องเหมาะสมย่อมเป็นปัจจัยสำคัญ ที่จะทำให้ได้ผลผลิตสูง คุณภาพดีเหมาะแก่การใช้ประโยชน์ แหล่งที่มีศักยภาพในการผลิตข้าวบาร์เลย์ในประเทศไทย ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน สกลนคร เลย ขอนแก่น และกาฬสินธุ์ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2542)

การจำแนกข้าวบาร์เลย์ อาศัยหลักการพิจารณาที่ต่างกัน ดังนี้ (วิฑูรย์, 2538; กองวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2534)

1. พิจารณาการเรียงตัวของดอกย่อยที่อยู่บนช่อดอก สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด ชนิดแรกคือ ข้าวบาร์เลย์ชนิด 2 แถว (two-row barley) แสดงดังภาพที่ 1 (ก) โดยรวงของข้าวบาร์เลย์ชนิดนี้ในรวงหนึ่งจะมีเมล็ดอยู่ด้านข้างของรวงทั้งสองข้างๆ ละ 1 แถว รวมเป็น 2 แถว แถวหนึ่งจะมีเมล็ดเรียงกันจากโคนรวงไปถึงปลายรวง ต้นละ 12-18 เมล็ด ข้าวบาร์เลย์ชนิดนี้ปลูกกันมากในออสเตรเลีย ยุโรป และบางท้องที่ในอเมริกาตะวันตก ส่วนชนิดที่สองคือ ข้าวบาร์เลย์ชนิด 6 แถว (six-row barley) แสดงดังภาพที่ 1 (ข) ในรวงหนึ่งๆ จะมีเมล็ดเรียงเป็นด้นๆ ละ 3 เมล็ด อยู่ด้านข้างทั้ง 2 ข้าง รวมทั้งสองข้างจะมีเมล็ดอยู่ 6 เมล็ด มีปริมาณเมล็ด 25-60 เมล็ดต่อรวง มีปลูกมากในสหรัฐอเมริกา



ภาพที่ 1 ข้าวบาร์เลย์ชนิด 2 แถว (ก) และข้าวบาร์เลย์ชนิด 6 แถว (ข)
ที่มา: อรอนงค์ (2532)

2. พิจารณาลักษณะนิสัยในการเจริญเติบโต สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ ชนิดต้องการอากาศหนาวเย็น (winter barley) ข้าวบาร์เลย์ชนิดนี้ต้องการอุณหภูมิต่ำเพื่อกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของช่อดอกที่สมบูรณ์เป็นระยะเวลาหนึ่ง จึงมีช่วงเวลาปลูกนานถึง 10 เดือน ส่วนอีกชนิดหนึ่งคือ ข้าวบาร์เลย์ที่ไม่ต้องการอากาศหนาวเย็น (spring barley) ข้าวบาร์เลย์ชนิดนี้มีอายุสั้นกว่า คือมีอายุตั้งแต่ปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 4 เดือน เนื่องจากไม่ต้องการอุณหภูมิต่ำในการกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาช่อดอก ข้าวบาร์เลย์ที่ปลูกในประเทศไทยในปัจจุบันเป็นข้าวบาร์เลย์ชนิดดังกล่าวนี้

3. พิจารณาลักษณะเปลือกหุ้มเมล็ด สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ชนิดเปลือกอ่อน (naked barley) เมื่อนวดหรือกะเทาะเมล็ด เปลือกจะหลุดร่วงออกจากเมล็ด ไม่ติดแน่นอยู่กับเมล็ด อีกชนิดหนึ่งคือข้าวบาร์เลย์ชนิดเปลือกหุ้ม (hulled barley) เมื่อนวดหรือกะเทาะเมล็ด เปลือกจะไม่หลุดร่อนออกจากเมล็ด ยังคงติดแน่นอยู่กับเมล็ดทั้งหมดหรือบางส่วนของเปลือก

ข้าวบาร์เลย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายลักษณะ ข้าวบาร์เลย์ที่ผลิตได้ทั่วโลกมากกว่าร้อยละ 50 ถูกใช้เป็นอาหารสัตว์ ประมาณร้อยละ 30 ใช้แปรรูปเป็นมอลต์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ประเภทกลั่นและอุตสาหกรรมเคมีภัณฑ์อื่นๆ (กองวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2534) นอกจากนี้ยังใช้แปรรูปเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ได้อย่างมากมาย เช่น อาหารเด็ก

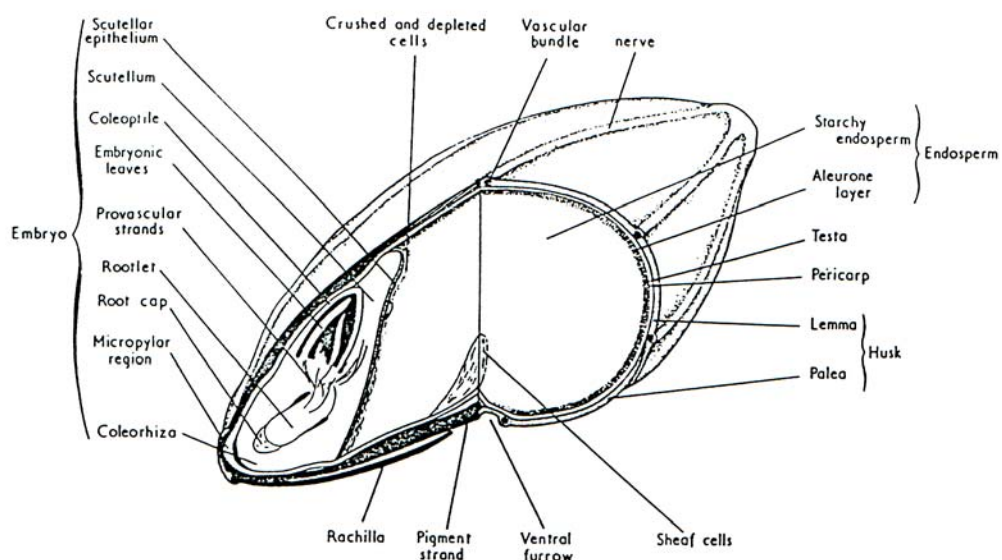
ทาร์ก แป้งสำหรับทำขนมปังแผ่น (flat bread) ข้าวสารบาร์เลย์ (pearled barley) ข้าวต้มจากข้าวบาร์เลย์บด ข้าวต้มจากข้าวบาร์เลย์หัก และมอลท์สกัด มีรายงานการใช้แป้งข้าวบาร์เลย์และแป้งข้าวบาร์เลย์โปรตีนสูงในอาหารสำหรับทาร์กและพาสตา (pasta) และใช้ข้าวบาร์เลย์ผลิตเป็นโปรตีนคอนเซนเตรตสำหรับใช้ในอาหาร (lasztity, 1996.)

1. ลักษณะโครงสร้างของเมล็ดข้าวบาร์เลย์

เมล็ดข้าวบาร์เลย์มีลักษณะเมล็ดเล็กและเรียวยาว (spindle shape) มีน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ย 21-45 มิลลิกรัม ความยาว 6.0-12.0 มิลลิเมตร กว้าง 2.7-5.0 มิลลิเมตร และมีความหนา 1.8-4.5 มิลลิเมตร มีสีเหลืองอ่อนจนถึงเหลืองทอง ผลของข้าวบาร์เลย์มีลักษณะเป็นผลแห้งและมีเมล็ดเดียว (cryopsis) ประกอบด้วยเปลือกหุ้มผลล้อมรอบเมล็ดและรวมตัวอย่างหนาแน่นกับเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) ซึ่งแตกต่างจากผลของพืชชนิดอื่นที่สามารถแยกเปลือกหุ้มผล และเปลือกหุ้มเมล็ดออกจากกันอย่างชัดเจน (Pomeranz, 1985) โครงสร้างของข้าวบาร์เลย์แบ่งเป็น 4 ส่วนใหญ่ๆ คือ เปลือกชั้นนอก (husk) เปลือกหุ้มผล (pericarp) เมล็ด (seed) และคัพภะ (embryo) แสดงดังภาพที่ 2 และ 3

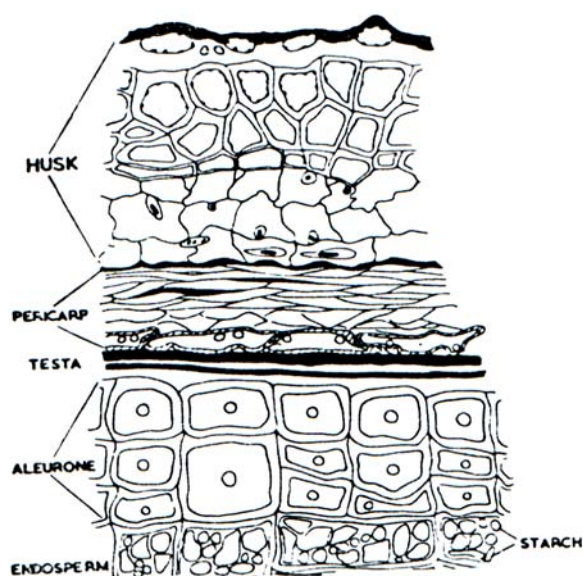
1.1 เปลือกชั้นนอก (husk) เป็นเซลล์ชั้นนอกสุดที่ห่อหุ้มผลเพื่อป้องกันอันตรายให้ผล แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เซลล์เลมมา (lemma) เป็นเซลล์ชั้นนอกสุดมีลักษณะเป็นเซลล์รูปแท่งตามความยาวของผล เป็นส่วนหนึ่งที่ยึดติดกับรวง ส่วนที่สองคือเซลล์พาเลีย (palea) เป็นเซลล์ชั้นในมีรูปร่างหลายแบบไม่สม่ำเสมอ เป็นส่วนที่เชื่อมต่อกับส่วนของเมล็ดและเป็นส่วนที่กั้นน้ำและแมลงไม่ให้เข้าไปทำลายผล (Briggs, 1978)

1.2 เปลือกหุ้มผล (pericarp) ประกอบด้วยเซลล์อีก 3 ชั้น ชั้นนอกเป็นเซลล์ขวางรูปสี่เหลี่ยม ชั้นในเป็นเซลล์รูปแท่งยาวรีทรงกระบอก ส่วนชั้นระหว่างกลางมีรูปร่างหลายแบบไม่สม่ำเสมอ (Briggs, 1978) ในส่วนเปลือกหุ้มผลนี้มีเม็ดสี (pigments) แทรกอยู่คือแอนโทไซยานินชนิดที่ให้สีแดง เป็นส่วนที่ให้ลักษณะสีเฉพาะของข้าวบาร์เลย์แต่ละสายพันธุ์โดยทำงานร่วมกับแอนโทไซยานินชนิดที่ให้สีน้ำเงินที่อยู่ในส่วนเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer) (Pomeranz, 1985)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของเมล็ดข้าวบาร์เลย์

ที่มา: Briggs (1978)



ภาพที่ 3 ภาพส่วนเปลือกของข้าวบาร์เลย์

ที่มา: Briggs (1978)

1.3 เมล็ด (seed) ประกอบด้วย 4 ส่วนหลัก ดังนี้

1.3.1 เปลือกหุ้มเมล็ดและชั้นรงควัตถุ (testa) เปลือกหุ้มเมล็ดเป็นชั้นที่เชื่อมต่อกับชั้นรงควัตถุรวมเป็นชั้นหุ้มเนื้อของเมล็ดและคัพภะ

1.3.2 เยื่อโปร่งใส (hyaline layer) มีลักษณะเป็นเซลล์บางโปร่งใส มีคุณสมบัติในการกั้นน้ำไม่ให้เข้าสู่ภายในเมล็ด

1.3.3 เนื้อเมล็ด (endosperm) ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด (aleurone layer) เป็นเซลล์รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าผนังเซลล์หนา และมีนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง เป็นส่วนที่มีโปรตีนและไขมันเป็นส่วนประกอบหลัก ห่อหุ้มรอบส่วนเนื้อในเมล็ดเอาไว้ และมีบางส่วนเชื่อมต่อเข้ากับส่วนของคัพภะ ผนังเซลล์ของเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดประกอบด้วย อะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) ร้อยละ 85 % และเซลลูโลสร้อยละ 8 (McNeil *et. al*, 1975) ส่วนที่อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด คือผนังเซลล์ของเนื้อเมล็ด (endosperm cell wall) ประกอบด้วยอะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) ร้อยละ 25 % และเบตาไกลูแคนร้อยละ 75 (Duffus, 1987; Etokakpan, 1992; Etokakpan and palmer, 1994) ถัดมาเป็นสตาร์ชในเนื้อเมล็ด (starchy endosperm) เป็นส่วนที่มีเม็ดสตาร์ช (starch granule) ชีดติดกันเป็นโครงร่างรูปตาข่ายโดยมีโปรตีนเป็นตัวเชื่อมระหว่างเม็ดสตาร์ช เม็ดสตาร์ชเป็นส่วนที่ได้รับการพัฒนามาจากการรวมตัวของเซลล์พาราไคมา (parenchyma) ที่ตายแล้วทำให้เม็ดสตาร์ชในเนื้อในเมล็ดมีขนาดที่แตกต่างกันไป บริเวณที่เชื่อมต่อกันระหว่างส่วนของสตาร์ชในเนื้อเมล็ดกับเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดนี้เป็นส่วนที่ใช้สะสมโปรตีน สามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของข้าวบาร์เลย์ตามปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ได้ (Briggs, 1978)

1.4 คัพภะ (embryo) เป็นส่วนที่อยู่บริเวณส่วนล่างของเมล็ด เป็นส่วนที่จะเจริญเป็นต้นอ่อนต่อไป ประกอบด้วยส่วนแกนกลางของคัพภะ (embryo axis) รวมเอาส่วนของยอด (apical meristem) และรากเป็นแกนเดียวกัน โดยส่วนของยอดเจริญเป็นต้นและใบอ่อน (embryonic leaves) ส่วนด้านล่างจะมีส่วนของรากแก้วและรากแขนงโดยมีหมวกราก (root cap) ปิดอยู่ (Briggs, 1978) ส่วนที่สำคัญที่สุดในคัพภะคือ ส่วนของใบเลี้ยงอ่อน (scutellum) เป็นส่วนที่สะสมอาหารโดยเชื่อมต่ออยู่กับเนื้อเมล็ด ช่วยในการดูดซึมอาหารที่ส่งมาจากเนื้อเมล็ดสู่ลำต้นและรากในขณะงอก (Palmer, 1980)

ปริมาณส่วนประกอบต่างๆ ในข้าวบาร์เลย์มีค่าแตกต่างกันไป ขึ้นกับลักษณะประจำสายพันธุ์ ภูมิอากาศและภูมิประเทศที่เพาะปลูก ตลอดจนขึ้นกับการดูแลรักษาทั้งขณะทำการเพาะปลูก

และการปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว แต่โดยทั่วไปแล้วประกอบด้วยเปลือก (hull) ร้อยละ 13 เปลือกหุ้มผล (pericarp) รวมกับเปลือกหุ้มเมล็ด (testa) ร้อยละ 2.9 เยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด (aleurone) ร้อยละ 4.8 เนื้อเมล็ด (starchy endosperm) ร้อยละ 76.2 คัพภะ (embryo) ร้อยละ 1.7 และส่วนของใบเลี้ยงอ่อน (scutellum) ร้อยละ 1.3 (Kent, 1983)

2. องค์ประกอบทางเคมีของข้าวบาร์เลย์

ข้าวบาร์เลย์ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ แร่ธาตุ คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 11.8, 1.8, 5.3, 3.1 และ 78.1 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเมล็ดแห้ง ตามลำดับ (Kent, 1983)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ ได้แก่

2.1 โปรตีน

โปรตีนเป็นส่วนประกอบที่มีมากรองลงไปจากสตาร์ช โดยทั่วไปข้าวบาร์เลย์มีโปรตีนร้อยละ 10-16 ของส่วนประกอบทั้งหมด (Kent, 1983) โปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดและสะสมอยู่มากในส่วนเนื้อเมล็ดในชั้นรอยต่อระหว่างเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดและส่วนเนื้อเมล็ด (subaleurone region) (MacGregor, 1993)

ข้าวบาร์เลย์ประกอบด้วยโปรตีน 4 ชนิด แบ่งตามลักษณะการละลายได้ในสารละลายต่างๆ ตามวิธีของ Osborn คือ แอลบูมิน ละลายได้ในน้ำ มีปริมาณร้อยละ 3-4 โกลบูลิน ละลายในน้ำเกลือ มีปริมาณร้อยละ 10-20 โปรลามินหรือฮอร์ดิน ละลายในแอลกอฮอล์ และกลูเตลิน ละลายในกรดหรือด่างเจือจาง มีชนิดละ 35-45 ของโปรตีนทั้งหมดในเมล็ด (Kent, 1983; Lasztity, 1996; Pomeranz, 1987) โปรตีนในกลุ่มโปรลามิน และกลูเตลินมีกรดอะมิโนกลูตามีน (กรดกลูตามิก) และโปรลีนเป็นองค์ประกอบถึงครึ่งหนึ่งของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด และมีกรดแอสพาทิก ไกลซีน และไลซีนเป็นองค์ประกอบเพียงเล็กน้อย (Pomeranz, 1987)

สัดส่วนกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในข้าวบาร์เลย์มีลักษณะคล้ายคลึงกับธัญชาติอื่นๆ คือ มีกรดกลูตามิก (glutamic acid) และโปรลีน (proline) สูง มีปริมาณกรดอะมิโนพวกด่าง (basic amino acid) ค่อนข้างต่ำ (Lasztity, 1996) โดยโปรตีนในเอนโดสเปิร์ม

ประกอบด้วยกรดกลูตามิกประมาณร้อยละ 35 โพรลีนประมาณร้อยละ 12 และไลซีนต่ำกว่าร้อยละ 3.2 ส่วนโปรตีนในคัพพะพบว่ามีปริมาณไลซีนสูง นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนเปลือกมีปริมาณโปรตีนต่ำ แต่เป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ คือมีไลซีนสูง (Hoseney, 1986) ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของกรดอะมิโนของข้าวบาร์เลย์บางสายพันธุ์ ซึ่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับระดับไนโตรเจนในดินและปริมาณโปรตีนทั้งหมด

ตารางที่1 องค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนในข้าวบาร์เลย์

กรดอะมิโน (กรัม/ 100 กรัมโปรตีน)	บาร์เลย์ พันธุ์ปกติ	บาร์เลย์พันธุ์ High-Lysine mutant KVL 468	บาร์เลย์พันธุ์ High- Lysine mutant 1508
ไลซีน	3.5	3.76	5.35
ฮิสทีดีน	2.1	2.33	2.77
อาร์จินีน	4.4	5.13	7.05
กรดแอสพาทิก	6.1	5.56	8.29
ทรีโอนีน	3.5	3.57	4.33
เซรีน	4.2	4.37	4.77
กรดกลูตามิก	24.6	23.45	17.02
โพรลีน	10.9	11.06	7.25
ไกลซีน	4.2	4.02	5.63
อะลานีน	4.1	4.12	5.08
ซีสทีน	2.5	2.20	2.07
วาลีน	5.4	5.05	5.77
เมทไธโอนีน	1.6	1.85	2.16
ไอโซลิวซีน	3.8	3.53	3.57
ลูซีน	6.9	6.94	6.91
ไทโรซีน	2.5	3.59	3.70
เฟนิลอะลานีน	5.1	5.28	4.38
ทริปโตเฟน	1.4	1.45	1.61

ที่มา: Lasztity (1996)

2.2 สตาร์ช

องค์ประกอบหลักของข้าวบาร์เลย์ คือ สตาร์ช ซึ่งเก็บสะสมอยู่ในส่วนของเนื้อเมล็ด (starchy endosperm) คิดเป็นร้อยละ 65 ของน้ำหนักเมล็ด สตาร์ชประกอบด้วยโพลิเมอร์ของกลูโคสสองรูปแบบด้วยกันคือ อะมิโลส (amylose) เป็นโพลิเมอร์สายตรงต่อเชื่อมกันด้วยพันธะ α - (1, 4) - glucoside ปริมาณร้อยละ 25 และอะมิโลเพคติน (amylopectin) เป็นโพลิเมอร์สายตรงต่อเชื่อมกันด้วยพันธะ α - (1, 4) - glucoside มีกิ่งก้านแยกออกมาด้วยพันธะ α - (1, 6) - glucoside ปริมาณร้อยละ 75 (MacGregor, 1993)

2.3 โพลีแซคคาไรด์

โพลีแซคคาไรด์ แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ อะราบิโนไซแลน (arabinoxylans) เบตากลูแคน (β -glucan) และเซลลูโลส (cellulose) โดยแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังนี้

2.3.1 อะราบิโนไซแลน เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลไซโลสและอะราบิโนส มีปริมาณร้อยละ 1 ของส่วนประกอบทั้งหมดในข้าวบาร์เลย์ พบสะสมอยู่ในชั้นผนังเซลล์ของเนื้อเมล็ดและเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด พบทั้งในรูปที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ โพลีแซคคาไรด์ชนิดนี้มีความสำคัญเกี่ยวกับการดูดน้ำของเมล็ดในกระบวนการแช่ข้าวบาร์เลย์ (steeping process) เป็นตัวที่ทำให้เกิดลักษณะหนืดขึ้นในน้ำเวิร์ต (MacGregor, 1993)

2.3.2 เบตากลูแคน เป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสต่อเชื่อมกันด้วยพันธะ β - (1, 3) - หรือ β - (1, 4) - glucoside มีปริมาณร้อยละ 1.5 ของปริมาณส่วนประกอบทั้งหมด และร้อยละ 75 ของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ในส่วน secondary endosperm (Etokakpan and Palmer, 1994) โพลีแซคคาไรด์ชนิดนี้เมื่อละลายน้ำจะให้คุณสมบัติของความเหนียว เป็นตัวก่อให้เกิดปัญหาการอุดตันในขณะทำการกรองน้ำเวิร์ต (Miller and Fulcher, 1994) อย่างไรก็ตามเบตากลูแคนนี้ จะถูกย่อยสลายได้มากกว่าร้อยละ 80 โดยเอนไซม์ β - (1, 3) - หรือ β - (1, 4) - gluconase ที่ถูกผลิตออกมาในขณะเมล็ดมีการงอก (Etokakpan, 1992; Ogbonna and Egunwu, 1994)

2.3.3 เซลลูโลส เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β - (1, 4) - glucoside พบมากในส่วนเปลือกและผนังเซลล์ของเนื้อเมล็ด มีปริมาณร้อยละ 1.4-5.0 ของน้ำหนักเมล็ดแห้ง (Pomeranz, 1985)

2.4 ไขมัน

ข้าวบาร์เลย์มีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 3.5 ของน้ำหนักเมล็ดแห้ง ไขมันในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ประกอบด้วยไขมันที่เป็นกลางพวกไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 65-78 ไกลโคลิปิดร้อยละ 7-13 และฟอสโฟลิปิดร้อยละ 15-26 กรดไขมันในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ประกอบด้วยกรดปาล์มติก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิกเป็นส่วนใหญ่ (Briggs and Hough , 1981)

2.5 น้ำตาล

น้ำตาลพบมากในส่วนคัพพะประกอบด้วยน้ำตาลหลัก 4 ชนิด คือ กลูโคส ฟรุคโตส ราฟิโนส และซูโครส ปริมาณร้อยละ 2.9 ของน้ำหนักแห้ง (MacGregor, 1993)

2.6 แร่ธาตุ

แร่ธาตุพบกระจายทั่วไปในเมล็ดข้าวโดยเฉพาะในส่วนเปลือกชั้นนอก (husk) ในชั้นเซลล์เลมามีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบอยู่มาก ในเปลือกหุ้มเมล็ด (pericarp) เป็นแหล่งสะสมของโปแตสเซียมและแคลเซียม ในผนังเซลล์ของเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดพบโปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และแคลเซียม โดยเฉพาะในชั้น subaleurone มีแคลเซียมสะสมอยู่มากที่สุด (Liu and Pomeranz, 1975)

2.7 วิตามิน

ข้าวบาร์เลย์และข้าวมอลต์เป็นแหล่งของอาหารที่ใช้ในการเจริญ (growth factor) ของยีสต์หรือกล่าวได้ว่าเป็นแหล่งของวิตามินสำหรับการเจริญของมนุษย์ วิตามินมีมากในเนื้อเยื่อคัพพะและเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด วิตามินซีมีปริมาณเพิ่มขึ้นในขั้นตอนการผลิตข้าวมอลต์ และถูกทำลายในขั้นตอนการอบแห้ง (kilning) (Briggs and Hough , 1981) ข้าวบาร์เลย์เป็นแหล่งของวิตามินบีคอมเพล็กซ์ ได้แก่ ไทอามีน (B1) ไพริดอกซิน (B6) ไรโบฟลาวิน (B2) และมีไนอาซินสูง มีวิตามินอีเล็กน้อยซึ่งพบในคัพพะ (Hockett and Nilan, 1985)

ความหมายและกรรมวิธีการผลิตเบียร์

1. ความหมายของเบียร์

เบียร์ตามความหมายดั้งเดิม หมายถึง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการหมักของ ข้าวมอลต์ ฮอป (hop) และยีสต์ แต่ในปัจจุบันนี้มีเพียงประเทศเยอรมันประเทศเดียวเท่านั้นที่มีการผลิตเบียร์ตามความหมายนี้ ประเทศอื่นจะมีการใช้ธัญชาติอื่นๆ ผสมกับข้าวมอลต์ในการผลิตเบียร์ ธัญชาติที่นิยมใช้ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวสาลี เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากข้าวมอลต์มีราคาสูง (Reed and Nagodawithana, 1991)

2. กรรมวิธีการผลิตเบียร์

การผลิตเบียร์เริ่มจากการผลิตข้าวมอลต์ (Malting) ประกอบด้วยขั้นตอนการแช่เมล็ด (steeping) ทำโดยแช่ข้าวบาร์เลย์ที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-7 วัน เพื่อให้เกิดการงอก (germination) ซึ่งในระหว่างการงอกจะมีการสร้างเอนไซม์หลายชนิด โดยเฉพาะเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสและโปรติเอส หลังจากงอกได้ที่ดีแล้วก็จะทำให้แห้ง (kilning) เพื่อหยุดกระบวนการเปลี่ยนแปลงไม่ให้เกิดมากเกินไปจนกลายเป็นคั้นอ่อน ข้าวมอลต์ที่ได้จะนำมาใช้ในขั้นตอนแมชชิง (Mashing) ต่อไป ซึ่งเป็นการนำข้าวมอลต์มาบดแล้วต้มสกัดกับน้ำในหม้อต้มที่ควบคุมเวลาและอุณหภูมิเพื่อให้เอนไซม์ที่สร้างขึ้นเปลี่ยนแปลงในข้าวมอลต์ให้เป็นน้ำตาล ระหว่างนี้สามารถเติมธัญชาติอื่นๆ ลงไปเพื่อเพิ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวเจ้า เป็นต้น เมื่อย่อยเสร็จสมบูรณ์แล้วต่อไปจะทำการกรองของเหลวที่ได้ซึ่งเรียกว่าน้ำเวิร์ต ออกมาโดยใช้หม้อกรองที่เรียกว่า lauter tun ของแข็งที่เหลือจากการแยกน้ำเวิร์ต ออกไปแล้วเรียกว่า กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ (brewer's spent grain, BSG) ซึ่งยังคงมีคุณค่าทางอาหารอยู่สามารถนำไปเป็นอาหารสัตว์ได้ ส่วนน้ำเวิร์ตที่ได้นำไปต้มกับฮอปเพื่อสกัดสารบางชนิดจากฮอป และเพื่อตกตะกอนโปรตีน นอกจากนี้ยังเป็นการยับยั้งเอนไซม์ส่วนที่เหลือจากขั้นตอนแมชชิงอีกด้วย จากนั้นทำให้เย็นลงแล้วเติมยีสต์เพื่อทำการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ เมื่อหมักจนได้ที่แล้วให้ทำการกรองแยกยีสต์ออก ทำการบรรจุเพื่อขายต่อไป (อรพิน, 2526; อรอนงค์, 2532; คุษณิ, 2543)

ของเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์

ในกระบวนการผลิตเบียร์ก่อให้เกิดของเหลือทิ้งหลายชนิด ได้แก่ กากมอลต์ กากฮอป และ กากยีสต์ (ศิริวัลย์, 2530) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. กากมอลต์หรือกากธัญชาติ เป็นส่วนของแข็งที่ได้จากการกรองแยกน้ำเวิร์ตออกไปแล้ว ส่วนนี้อาจเก็บในสถานะเปียกโดยต้องอัดให้แน่นและโรยเกลือในอัตรา 1 กิโลกรัมต่อกากมอลต์ 100 กิโลกรัม หรือทำให้แห้งโดยวิธีตากแดด กากมอลต์เปียกประมาณ 4 กิโลกรัม เมื่อทำให้แห้งจะมีน้ำหนักเหลือเพียง 1 กิโลกรัม

2. กากฮอป เป็นกากที่ได้จากการกรองภายหลังจากการต้มฮอปกับน้ำเวิร์ต อาจใช้เป็นอาหารสัตว์หรือใช้ทำปุ๋ยได้ เนื่องจากมีส่วนของโปรตีนซึ่งตกตะกอนจากน้ำเวิร์ตในระหว่างการต้ม แต่ฮอปมีโปรตีนที่น้อยได้ต่ำจึงมีคุณค่าทางอาหารต่ำ มีรสขื่นและขม การผสมในอาหารสัตว์จึงทำได้ในปริมาณต่ำ

3. กากยีสต์ เป็นส่วนที่กรองออกจากเบียร์ภายหลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลง กากยีสต์มีสีน้ำตาลและมีกลิ่นเบียร์

องค์ประกอบทางเคมีของของเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของของเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์

	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)	เส้นใยหยาบ (ร้อยละ)	เถ้า (ร้อยละ)	ส่วนสกัดที่ปราศจาก ไนโตรเจน (ร้อยละ)
กากธัญชาติ	7.2-7.7	21.1-27.5	6.4-6.9	15.3-17.6	3.9-4.2	39.4-42.9
กากฮอป	6.2	23.0	3.6	24.5	5.3	37.4
กากยีสต์	4.3	50.0	0.5	0.5	10.0	34.7

ที่มา: Pomeranz, 1987

กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์

ในกระบวนการผลิตเบียร์มีการย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลเรียกว่าน้ำเวิร์ต เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ เมื่อกระบวนการย่อยเสร็จสิ้นลงจะกรองเอากากธัญชาติออกเพื่อนำน้ำเวิร์ตไปใช้ในกระบวนการผลิตเบียร์ต่อไป ส่วนของแข็งที่เหลือจากการกรองเรียกว่ากากธัญชาติเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์ (brewers' spent grain, BSG) ลักษณะปรากฏของกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ประกอบด้วย เปลือก เปลือกหุ้มผล เปลือกหุ้มเมล็ดซึ่งห่อหุ้มเมล็ดข้าวบาร์เลย์ไว้นอกจากนี้ยังประกอบด้วยเนื้อเมล็ดซึ่งเหลือจากกระบวนการผลิตมอลท์และเชื้อหุ้มเมล็ด (Mussatto *et. al*, 2006)

องค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติมีความแตกต่างกันขึ้นกับพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ ระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยว สภาพที่ใช้ในขั้นตอนการผลิตมอลท์และเมชซึ่ง คุณภาพและชนิดของธัญชาติชนิดอื่นๆ (adjuncts) ที่เติมลงไปในการผลิตเบียร์ (Mussatto *et. al*, 2006) เนื่องจากการผลิตเบียร์ของแต่ละโรงงานมีสูตรการผลิตแตกต่างกัน แต่ละโรงงานมีการใช้ข้าวบาร์เลย์เป็นธัญชาติหลักในการผลิตเบียร์ และมีการเติมธัญชาติชนิดอื่น (adjunct) ลงไปด้วยเพื่อลดต้นทุนการผลิตและปรับปรุงกลิ่นรสของเบียร์ ธัญชาติชนิดอื่นที่ใช้เป็นส่วนผสม ได้แก่ ข้าวเจ้า ข้าวโพด ข้าวสาลี เป็นต้น และสัดส่วนที่ใช้ก็มีความแตกต่างตามสูตรการผลิตเบียร์แต่ละยี่ห้อ โดยทั่วไปมักใช้ประมาณร้อยละ 30 ของวัตถุดิบธัญชาติทั้งหมด ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ของแต่ละโรงงานจึงมีค่าแตกต่างกัน โดยมีปริมาณโปรตีน เส้นใยหยาบ ไขมัน ส่วนสกัดที่ปราศจากไนโตรเจน เถ้า และน้ำ มีค่าอยู่ในช่วง 21.1-27.5, 15.3-17.6, 6.4-6.9, 39.4-42.9, 3.9-4.2 และ 7.2-7.7 % ตามลำดับ (Pomeranz , 1987) นอกจากนี้ยังพบว่ากากธัญชาติมีปริมาณโปรตีน ไขมันและเส้นใยหยาบสูงกว่าธัญชาติเริ่มต้นที่ใช้เป็นวัตถุดิบ เนื่องจากการย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลในขั้นตอนการผลิตข้าวมอลท์และเมชซึ่ง เพื่อเป็นอาหารของยีสต์ในการผลิตเบียร์ ซึ่งน้ำตาลดังกล่าวจะละลายอยู่ในส่วนของน้ำเวิร์ตที่แยกออกไป ทำให้องค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ของกากธัญชาติมีสัดส่วนสูงขึ้น (Dreese and Hoseneey, 1982) โดยทั่วไปข้าวบาร์เลย์ประกอบด้วยโปรตีน เส้นใยหยาบ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ร้อยละ 11.8, 5.3, 1.8, 78.1 และ 3.1 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเมล็ดแห้ง ตามลำดับ (Kent, 1983)

ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนของกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์เปรียบเทียบกับวัตถุดิบ ข้าวบาร์เลย์ และธัญชาติชนิดอื่นที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเบียร์ เช่น ข้าวเจ้า ข้าวโพด และ ข้าวสาลี แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนในกากธัญชาติ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวเจ้า ข้าวโพดและ ข้าวสาลี

กรดอะมิโน (กรัม/ 100 กรัมโปรตีน)	กากธัญชาติ ¹	ข้าวบาร์เลย์ ²	ข้าวเจ้า ²	ข้าวโพด ²	ข้าวสาลี ²
ไลซีน	3.6	3.5	3.7	3.0	2.3
ฮิสทีดีน	2.3	2.1	2.3	2.8	2.2
อาร์จินีน	5.1	4.4	7.7	4.7	4.0
กรดแอสพาดิก	N.A.	6.1	10.4	6.4	4.7
ทรีโอนีน	3.9	3.5	4.1	3.6	2.8
เซรีน	5.2	4.2	5.2	4.9	5.0
กรดกลูตามิก	N.A.	24.5	20.4	18.8	33.1
โพรลีน	4.4	10.9	4.8	8.8	11.1
ไกลซีน	4.4	4.2	5.0	3.9	3.7
อะลานีน	N.A.	4.1	6.0	7.7	3.3
ซีสตีน	1.2	2.5	1.1	2.5	2.6
วาลีน	6.4	5.4	5.7	5.2	4.4
เมทไธโอนีน	1.8	1.6	2.4	1.8	1.7
ไอโซลูซีน	5.6	3.8	3.9	4.0	3.8
ลูซีน	9.8	6.9	8.0	12.5	6.7
ไทโรซีน	4.5	2.5	3.3	4.4	2.7
เฟนิลอะลานีน	5.6	5.1	5.2	5.1	4.8
ทริปโตเฟน	1.4	1.4	1.4	0.8	1.5

ที่มา: ¹Hardwick (1994) และ ²Kent (1983)

ปัจจุบันกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์มักนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์หลายชนิด เช่น ปลา สัตว์ปีก สุกร โค กระบือ เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแก๊สชีวภาพ ถ่าน (charcoal brick) เป็นส่วนผสมในการทำอิฐบล็อก กระดาษ ใช้เป็น substrate สำหรับเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์และผลิตเอนไซม์ (Mussatto *et. al*, 2006) เป็นต้น ส่วนประโยชน์ด้านอาหารพบว่ามีการใช้ ในรูปแป้งโปรตีนสูงกับอาหารประเภทผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ได้แก่ ขนมปัง มัฟฟิน คูกี้ เค้ก โดนัท และบราวนี่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการใช้กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ในการผลิตอาหารจากข้าว บาร์เลย์งอก (germinated barley foodstuff, GBF) โดยการบดและร่อนแยกเปลือกออกจากเยื่อหุ้ม เนื้อเมล็ด ใบเลี้ยงอ่อนและคัพภะ ดังนั้น GBF จึงประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่เซลลูโลสและ โปรตีนที่มีกลูตามีนสูง (Kanauchi and Agata, 1997)

ประโยชน์ของการบริโภคกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์หรือผลิตภัณฑ์จากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ คือ ช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ เพิ่มการขับถ่ายคอเลสเตอรอลและไขมัน และช่วยลด น้ำในอุจจาระ (Fastaught, 2001) การให้กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์กับหนูทดลองพบว่า มี ประโยชน์กับการย่อยอาหารในลำไส้เล็ก ช่วยบรรเทาอาการท้องผูกและท้องร่วงซึ่งเป็นผลเนื่องมา จากโปรตีนที่มีกรดอะมิโนกลูตามีนสูง (glutamine-rich protein) และมีปริมาณโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่เซลลูโลส (non-cellulosic polysaccharide) พวกอะราบิโนไซเลนสูง และมีเบตากลูแคนต่ำ (McCleary and Nurthen, 1986; Vietor *et. al.*, 1993) หนูทดลองที่ได้รับกากธัญชาติจากการผลิต เบียร์ช่วยป้องกันการเพิ่มขึ้นของไขมันและคอเลสเตอรอลในเลือด (Ishiwaki *et al.*, 2000) ซึ่งอาจ เป็นผลเนื่องจากการเพิ่มปริมาณอุจจาระซึ่งนำมาสู่การลดการดูดซึมไขมัน หรือเพิ่มการขับถ่ายกรด น้ำดี ไขมันและสเตอรอล (1, 3 และ 1, 4) – β -glucan เป็นเส้นใยที่ละลายน้ำได้ (soluble dietary fiber) เป็นตัวการสำคัญทำให้คอเลสเตอรอลในเม็ดเลือดลดลง และลดระดับกลูโคสในเลือด (Brennan and Cleary, 2005)

การผลิตโปรตีนจากพืช

ปัจจุบันมีการพัฒนาแหล่งโปรตีนใหม่ๆ ขึ้นมากมายโดยเฉพาะโปรตีนจากพืชซึ่งมีราคาถูกเพื่อใช้ทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์ซึ่งมีราคาสูง ตัวอย่างพืชที่ใช้เป็นแหล่งผลิตโปรตีน แสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การแบ่งกลุ่มพืชที่ใช้ในการผลิตโปรตีน

แหล่งโปรตีน	พืชที่เป็นแหล่งโปรตีน
พืชน้ำมัน	ถั่วเหลือง เมล็ดฝ้าย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดดอกคำฝอย งา เรปซิด ถั่วลิสง เมล็ดลินิน
พืชเมล็ดเดี่ยว	ข้าวสาลี ข้าว ไรย์ ไรย์คิล ทรินคิล โอ๊ต มะพร้าว
พืชใบ	แอลฟาฟ่า Clover Grasses พืชน้ำ ของเสียจากพืช

ที่มา: Kohle and Lyon (1977)

โปรตีนสำหรับใช้ในอาหารมักอยู่ในรูปแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทแต่ละชนิดมีวิธีการผลิตแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบ คุณสมบัติของโปรตีนที่ต้องการ และลักษณะการใช้งาน ต่อไปนี้จะกล่าวถึงตัวอย่างวิธีการผลิตโปรตีนชนิดต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. แป้งโปรตีน

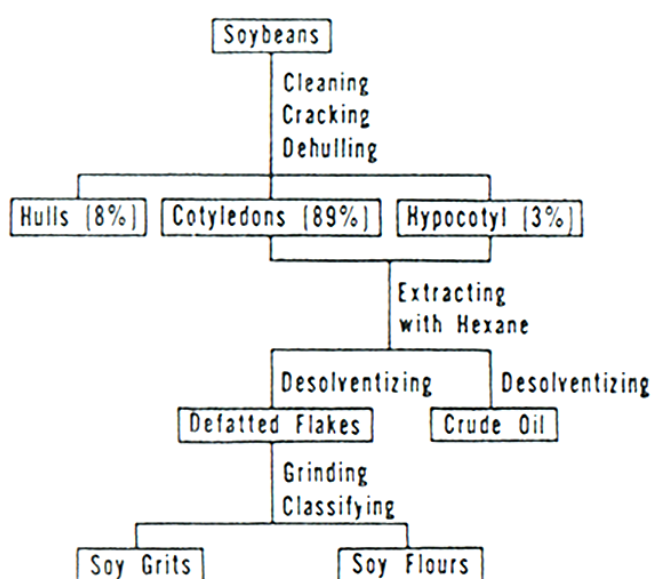
แป้งโปรตีนจากพืชที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในอาหาร ได้แก่ แป้งถั่วเหลือง มีทั้งแบบแป้งถั่วเหลืองไขมันเต็ม (full fat soy flours) และแป้งถั่วเหลืองกำจัดไขมัน (defatted soy flours) วิธีการผลิตแป้งถั่วเหลืองไขมันเต็มเชิงการค้าทำได้โดยทำความสะอาดเมล็ดถั่วเหลือง ให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำ เพื่อยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenases) ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ จากนั้นทำให้แห้ง บดให้แตกด้วยลูกกลิ้งผิวขรุขระ กำจัดเปลือกออกโดยการเป่าลม แล้วทำการร่อน บด และร่อนอีกครั้ง หรืออาจผ่านขั้นตอนการบดให้แตกและกำจัดเปลือกก่อนให้ความร้อนก็ได้ นอกจากนี้ยังสามารถ

เตรียมได้จากวิธีการเอ็กชทรูชันด้วยความร้อน (extrusion cooking) ซึ่งทำโดยบดถั่วเหลืองให้แตก กำจัดเปลือก ให้ความร้อน ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 18 เอ็กชทรูที่อุณหภูมิ 121-143 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นลง และทำการบดต่อไป องค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเหลืองที่เตรียมด้วยวิธีการดังกล่าวมาแล้ว คล้ายกับวัตถุดิบถั่วเหลืองมาก เนื่องจากวิธีการดังกล่าวเพียงกำจัดเปลือกออกไปเท่านั้น การให้ความร้อนในระหว่างกระบวนการผลิตแป้งถั่วเหลืองทำให้สมบัติการละลายของโปรตีนลดลง แต่ยังคงมีค่า protein efficiency ratio (PER) ประมาณ 90 เมื่อเทียบกับเคซีนมาตรฐาน (Wolf, 1977)

แป้งถั่วเหลืองกำจัดไขมันทางการค้าผลิตโดยทำความสะอาดเมล็ดถั่วเหลือง ทำให้แตกออก และกำจัดเปลือก นำส่วนที่กำจัดเปลือกออกแล้วไปให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำ ทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ (flake) แล้วกำจัดไขมันโดยใช้เฮกเซน จากนั้นกำจัดตัวทำละลายเฮกเซนออก แล้วทำการแยกเป็นส่วนกริต (grit) ซึ่งมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 100 ไมครอน และส่วนแป้งซึ่งมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าหรือเท่ากับ 100 ไมครอน วิธีการผลิตแสดง ดังภาพที่ 4 (Wolf, 1977)

จากวิธีการเตรียมแป้งโปรตีนจากถั่วเหลือง ดังกล่าวมาแล้วพบว่าขั้นตอนการแยกเปลือกออกสามารถทำได้ง่ายๆ โดยการเป่าลม แต่สำหรับพืชพวกข้าวบาร์เลย์ซึ่งมีเปลือกหุ้มผล (pericarp) และเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) รวมตัวกันแน่นไม่สามารถแยกเปลือกได้โดยวิธีการที่ใช้กับถั่วเหลือง ดังนั้นการแยกเปลือกหุ้มผล (pericarp) เปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) และเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด (aleurone layer) ออกจากเอนโดสเปิร์มโดยไม่เสียหาย ต้องบดเพียงผิวของเมล็ดโดยใช้เครื่องบดเฉพาะ (Kohle and Lyon, 1977)

ข้าวบาร์เลย์ที่นิยมใช้ในการผลิตเบียร์เป็นชนิดที่มีเปลือกหุ้มเพื่อป้องกันการถูกทำลายในระหว่างการงอกในขั้นตอนการผลิตข้าวมอลต์ และเปลือกยังช่วยในขั้นตอนการกรองอีกด้วย การนำกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์มาใช้เสริมในผลิตภัณฑ์อาหารโดยตรงต้องมีการแยกเปลือกเหล่านี้ออกก่อนเนื่องจากเปลือกทำให้อาหารมีเนื้อสัมผัสหยาบไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค



ภาพที่ 4 แสดงวิธีการผลิตแป้งถั่วเหลืองปราศจากไขมันทางการค้า
ที่มา: Wolf (1977)

Dresse and Hosney (1981) เตรียมแป้งโปรตีนโดยแยกส่วนเปลือกซึ่งให้เนื้อสัมผัสหยาบออกจากกากธัญชาติอบแห้งจากการผลิตเบียร์ เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมปัง โดยบดกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ด้วยเครื่องบดแบบลูกกลิ้ง (roller mill) แล้วร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 22 และ 36 ที่วางซ้อนกัน สังเกตลักษณะปรากฏ พบว่าส่วนที่ค้างบนตะแกรงเบอร์ 22 คิดเป็นร้อยละ 27 ของกากธัญชาติทั้งหมด เป็นส่วนเปลือก มีโปรตีนร้อยละ 6.6 ส่วนที่สองเป็นส่วนที่สามารถผ่านตะแกรงเบอร์ 22 แต่ค้างบนตะแกรงเบอร์ 36 คิดเป็นร้อยละ 22 ของกากธัญชาติทั้งหมด ยังคงมีเปลือกเป็นส่วนผสมอยู่ ที่เหลือส่วนที่สามเป็นส่วนที่ผ่านตะแกรงเบอร์ 36 มีโปรตีนร้อยละ 39.9 ไม่พบเปลือกเป็นส่วนผสมสามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตขนมปังได้โดยตรง และให้ขนมปังที่มีเนื้อสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังพบว่าในส่วนที่ 3 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด เนื่องจากผ่านรูตะแกรงที่มีขนาดเล็กกว่าสามารถแยกเปลือกชิ้นใหญ่ซึ่งเป็นเส้นใยหยาบออกไปได้มากที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในกากธัญชาติขนาดต่างๆ ที่ผ่านการบดและไม่ผ่านการบด โดยร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 36 ซึ่งวางซ้อนกันดังกล่าวมาแล้ว พบว่าปริมาณโปรตีนในกากธัญชาติที่ผ่านการบดสูงกว่า เนื่องจากการบดเป็นการแยกเปลือกที่เกาะเกี่ยวกับโครงสร้างส่วนอื่นของกากธัญชาติให้หลุดออกมา ซึ่งโครงสร้างอื่นนี้อาจเป็นเปลือกหุ้มผลหรือคัพพะซึ่งมีโปรตีนสูงกว่าเปลือก และมีโครงสร้างที่แน่นกว่า เมื่อผ่านการบดทำให้มีอนุภาคขนาดเล็ก

กว่า ดังนั้นการนำกากธัญชาติไปใช้เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารประเภทโปรตีน จึงควรทำการบดและร่อนแยกเปลือกออกก่อนนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์

ในอุตสาหกรรมการบด การแยกโดยใช้แรงลม (air classification) เป็นวิธีที่รู้จักดีในการแยกส่วนสตาร์ชออกจากโปรตีนโดยอาศัยความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นและขนาดของอนุภาค (Lasztity, 1996) Chaudhary and Weber (1990) หาสภาวะที่เหมาะสมในการบดและร่อนเพื่อแยกกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ออกเป็นส่วนของโปรตีนสูงและส่วนที่มีเส้นใยหยาบสูง เพื่อความเหมาะสมในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยบดกากธัญชาติที่ผ่านการทำแห้งแล้วด้วยเครื่องบดที่มีระบบการแยกโดยใช้แรงลม ตั้งจานหมุนเครื่องบด (rotor) ให้หมุนด้วยความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที แปรผันความเร็วระบบแยกด้วยแรงลม (classifier speed) เป็น 500 1,000 และ 1,500 รอบต่อนาที จากนั้นทำการร่อนผ่านตะแกรงร่อน (Reed- hung sifter) ขนาด 120 และ 130 ไมครอน เพื่อแยกส่วนละเอียดซึ่งสามารถผ่านตะแกรงร่อนทั้ง 2 ขนาดได้ เรียกว่าแป้งโปรตีนสูง (protein rich flour) ออกจากส่วนหยาบซึ่งค้างอยู่บนตะแกรงร่อนทั้ง 2 ขนาด เรียกว่าแป้งเส้นใยหยาบสูง (fiber rich flour) ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและปริมาณสารใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการแยกคือการบดโดยใช้ความเร็วของจานหมุน 5,000 รอบต่อนาที ความเร็วในการแยกด้วยลมที่ 1,000 รอบต่อนาที สามารถป้อนตัวอย่างได้ที่อัตราเร็ว 150 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และทำการร่อนผ่านตะแกรงขนาด 120 และ 130 ไมครอน สามารถแยกโปรตีนออกจากส่วนเส้นใยหยาบซึ่งมีขนาดและรูปร่างต่างกัน เป็นแป้งโปรตีนสูง ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 39.0 และเส้นใยหยาบร้อยละ 35.5 และแป้งเส้นใยหยาบสูง ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 21.5 และเส้นใยหยาบร้อยละ 70.0

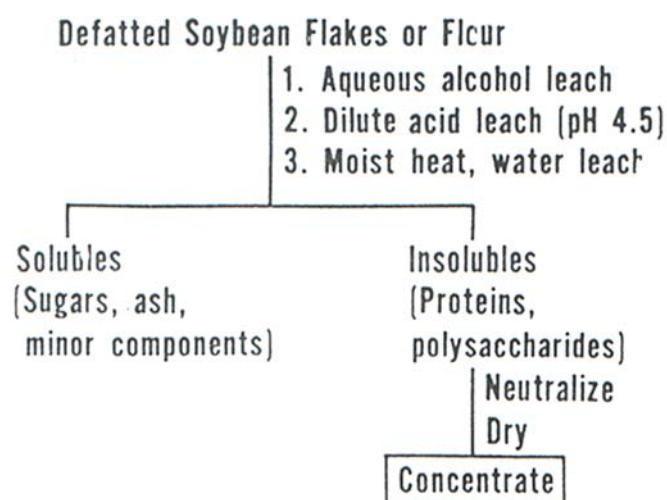
จากที่กล่าวมาแล้วกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ ประกอบด้วยส่วนของเปลือกซึ่งเป็นชิ้นขนาดใหญ่ มีลักษณะเป็นเส้นใย จึงมีความเหนียวกว่า เมื่อผ่านการบดจึงสามารถทนต่อแรงเฉือนได้ดีกว่าโครงสร้างส่วนอื่นซึ่งมีเนื้อสัมผัสนุ่มกว่า ดังนั้นเมื่อผ่านการบดด้วยแรงที่เท่ากันจึงสามารถลดขนาดได้เล็กกว่า Chaudhary and Weber (1990) ทดลองบดกากธัญชาติที่ผ่านการทำแห้งแล้วด้วยเครื่องบดที่มีระบบการแยกโดยใช้แรงลม กากธัญชาติที่ได้จะมีขนาดอยู่ในช่วง 50-600 ไมครอน หากการกระจายของขนาดอนุภาค (size distribution) โดยใช้ตะแกรงเบอร์ขนาด 35, 48, 65, 100 และ 150 เมช ซึ่งมีขนาดช่องเปิด 420, 297, 210, 149 และ 105 ไมครอน ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและปริมาณสารใยอาหารทั้งหมดของอนุภาคแต่ละขนาดที่ค้างบนตะแกรง พบว่ามีโปรตีนร้อยละ 9.0, 14.0, 24.7, 34.2, 41.5 และ 45.9 ตามลำดับ และมีปริมาณสารใยอาหารร้อยละ

ละ 85.0, 74.5, 57.2, 46.0, 38.0 และ 29.3 ตามลำดับ ในส่วนที่มีอนุภาคขนาดเล็กถึงกลาง ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ปริมาณสารเชื้อใยอาหารมีแนวโน้มลดลง โดยส่วนที่มีขนาดอนุภาคละเอียดที่สุดมีปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ ร้อยละ 45.9 และมีปริมาณสารเชื้อใยอาหารต่ำสุด คือ ร้อยละ 29.3 ส่วนอนุภาคหยาบที่สุดมีปริมาณปริมาณสารเชื้อใยอาหารสูงที่สุดคือร้อยละ 85 และมีปริมาณโปรตีนต่ำสุด คือร้อยละ 9

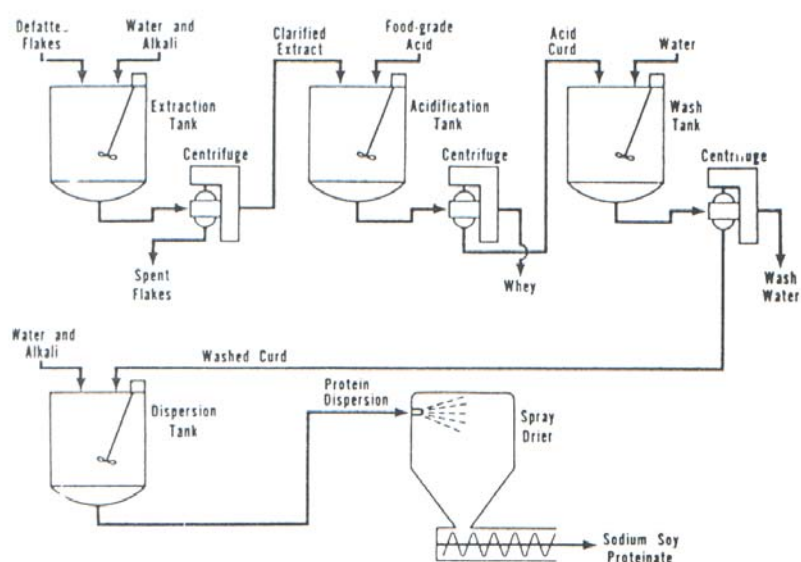
2. โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลท

โดยทั่วไปแล้วการเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลท เริ่มจากการสกัดโปรตีนจากวัตถุดิบ การสกัดโปรตีนทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยสารละลายต่าง การสกัดด้วยสารละลายกรด การสกัดโดยใช้ดีเทอร์เจนต์ และการสกัดโดยใช้เอนไซม์ เป็นต้น เมื่อได้สารสกัดโปรตีนแล้วจึงนำไปเตรียมเป็นโปรตีนคอนเซนเตรทหรือโปรตีนไอโซเลท Wolf (1977) ยกตัวอย่างการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองคอนเซนเตรททางการค้า 3 วิธี ดังภาพที่ 5 วิธีแรกกำจัดน้ำตาลและส่วนประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนออกจากแป้งถั่วเหลืองกำจัดไขมันโดยใช้สารละลายแอลกอฮอล์ในน้ำ หลังจากกำจัดสารละลายแอลกอฮอล์แล้วได้โปรตีนคอนเซนเตรทที่ประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนที่ละลายในแอลกอฮอล์ วิธีที่ 2 ใช้กรดเจือจาง pH 4.5 ในการกำจัดน้ำตาลที่ละลายได้ โดยไม่ละลายโปรตีน เนื่องจากที่ pH ดังกล่าวเป็นจุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนกลอบูลิน (globulin) จากนั้นนำตะกอนโปรตีนมาทำให้เป็นกลาง และทำแห้ง ได้โปรตีนคอนเซนเตรท ส่วนวิธีที่ 3 เป็นการให้ความร้อนกับแป้งกำจัดไขมัน ทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพเนื่องจากความร้อน โปรตีนจึงไม่สามารถละลายได้ ล้างด้วยน้ำ จากนั้นกำจัดน้ำตาล และทำแห้งโปรตีน-โพลีแซคคาไรด์ส่วนที่เหลือ โปรตีนคอนเซนเตรทที่ได้จากวิธีการเตรียมแต่ละวิธีก็มีคุณสมบัติแตกต่างกัน

ส่วนการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลททางการค้าทำโดยสกัดโปรตีนจากแป้งถั่วเหลืองกำจัดไขมันด้วยสารละลายต่าง pH 7-9 ทำการเหวี่ยงแยกเพื่อกำจัดกากของแข็งที่ไม่ละลายออกไป ปรับ pH สารละลายสกัดเป็น 4.5 ซึ่งเป็นจุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีน จุดนี้โปรตีนสามารถละลายได้ต่ำที่สุด ตกตะกอนออกมา ทำการเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ทำให้เป็นกลางแล้วทำแห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย ดังภาพที่ 6 (Wolf, 1977)



ภาพที่ 5 กรรมวิธีการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองคอนเซนเตรททางการค้า
ที่มา: Wolf (1977)



ภาพที่ 6 กรรมวิธีการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลททางการค้า
ที่มา: Wolf (1977)

ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดโปรตีน ได้แก่ ขนาดและคุณภาพของวัตถุดิบ ชนิดและปริมาณของสารที่ใช้สกัด อุณหภูมิและ pH ในการสกัด (Kinsella, 1976) Vassel *et al.* (1949) ทำการสกัดโปรตีนจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มัล pH 11.6 และอัตราส่วนกากธัญชาติต่อสารละลายในการสกัดเท่ากับ 3 ต่อ 100 ทำการเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนได้ร้อยละ 52 ของไนโตรเจนในกากธัญชาติเริ่มต้น เมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นพบว่าสามารถสกัดไนโตรเจนได้ในปริมาณมากขึ้นด้วย โดยการสกัดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ให้ไนโตรเจนสูงถึงร้อยละ 90.6 เมื่อทำการวิเคราะห์ผลของขนาดอนุภาคต่อประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีน พบว่าปริมาณไนโตรเจนที่สกัดได้จากกากธัญชาติที่ผ่านการบดมีค่า 87.3 เปอร์เซนต์ซึ่งสูงกว่าปริมาณไนโตรเจนจากกากธัญชาติที่ไม่ผ่านการบดซึ่งมีค่า 68.0 เปอร์เซนต์ นอกจากนี้ยังทำการตกตะกอนโปรตีนที่สกัดได้โดยการปรับ pH พบว่า pH ที่สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ดี คือที่ 3.75 และ 4.55 ได้ตะกอนโปรตีนร้อยละ 75.8 และ 74.7 ของสารละลายที่สกัดได้ ตามลำดับ

Wu *et al.* (1979) เตรียมโปรตีนไอโซเลทจากข้าวบาร์เลย์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CI 4362, Hiproly และ riso 1508 ซึ่งมีปริมาณโปรตีน 18.3, 21.4 และ 14.5 ตามลำดับ โดยสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.06 นอร์มัล สำหรับพันธุ์ Hiproly ส่วนอีก 2 สายพันธุ์สกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.045 นอร์มัล นาน 25 นาที ที่ pH 11.2 ในอัตราส่วนตัวอย่างกับสารละลายในการสกัดเท่ากับ 1 ต่อ 10 หลังจากนั้นทำการหมุนเหวี่ยงแยกกากออกด้วยเครื่องเซนติฟิวส์ความเร็ว $3300 \times g$ 15 นาที ปรับ pH เป็น 5.3-5.4 ด้วย กรดไฮโดรคลอริก 6 นอร์มัล แล้วหมุนเหวี่ยงแยกตะกอนอีกครั้ง ทำให้เป็นกลาง จากนั้นนำมาทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง พบว่าผลผลิตโปรตีนไอโซเลทจากข้าวบาร์เลย์สายพันธุ์ CI 4362, Hiproly และ riso 1508 มีปริมาณร้อยละ 16, 15 และ 10 ตามลำดับ และมีโปรตีนไอโซเลทร้อยละ 72, 59 และ 51 ตามลำดับ ส่วนไขมันมีปริมาณ 7.3, 8.1 และ 22.5 ตามลำดับ และมีเถ้าปริมาณ 1.9, 1.8 และ 2.0 ตามลำดับ

Ervin *et al.* (1989) เตรียมโปรตีนไอโซเลทจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ โดยการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulphate, SDS) ร้อยละ 3 ร่วมกับสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) ร้อยละ 0.5 พบว่าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สกัดไนโตรเจนได้สูงสุด (ร้อยละ 62.4) เมื่อเทียบกับการสกัดที่อุณหภูมิ 27, 45, 60, 75 และ 90 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการตกตะกอนด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้ คือ ปรับ pH ของสารสกัดเป็น pH 2 การเติมสารละลายเอทานอลในสารละลายสกัด การแช่เย็นสารละลายสกัดที่ 4 องศาเซลเซียส

และการใช้อาหารร่วมกับการแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งวิธีการสุดท้ายเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการตกตะกอนโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น โดยวิธีนี้ให้ปริมาณตะกอนร้อยละ 22.8 ของน้ำหนักกากกัญชาที่ตั้งต้น ตะกอนที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 61.1 และปริมาณไนโตรเจนของตะกอนที่เก็บเกี่ยวได้คือร้อยละ 49.2 ของกากกัญชาที่ตั้งต้น

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

ปัจจุบันมีการใช้โปรตีนจากแหล่งต่างๆ ในการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร โปรตีนแสดงสมบัติเชิงหน้าที่ต่างๆ ในอาหารในรูปของคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส เช่น โปรตีนถั่วเหลืองและไมเซลล์ของเคซีน มีคุณสมบัติในการเกิดฟอง โปรตีนจากไข่ขาวมีสมบัติในการเกิดฟอง การตีให้ขึ้นฟู และเกิดการแข็งตัวเมื่อให้ความร้อน (heat setting property) (Damodaran, 1994) ดังนั้นการใช้โปรตีนเป็นส่วนผสมในอาหารต้องพิจารณาถึงสมบัติเชิงหน้าที่ เนื่องจากสมบัติดังกล่าวสามารถประเมินแนวโน้มการใช้ประโยชน์โปรตีนในอาหารได้

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร คือ สมบัติทางกายภาพ (physical property) และสมบัติทางเคมี (chemical property) ซึ่งมีผลกับคุณลักษณะของโปรตีนในระบบอาหารระหว่างการแปรรูป การเก็บรักษา การเตรียมอาหารและการบริโภค (Damodaran, 1996) Cheftel *et al.* (1985) กล่าวว่าสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในอาหารแสดงถึงความสามารถของโปรตีนในการทำให้อาหารมีลักษณะตามต้องการ ดังนั้นการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ จึงขึ้นกับสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนนั้นๆ เช่น ผลิตภัณฑ์นม นักวิทยาศาสตร์การอาหารสนใจสมบัติการเกิดอิมัลชันเป็นสำคัญ และการใช้โปรตีนทดแทนไขมัน ควรเลือกโปรตีนที่มีความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชัน ความสามารถในการละลาย สี ความรู้สึกลื่นในปาก และกลิ่นรสที่เหมาะสม ส่วนในผลิตภัณฑ์ผงและผลิตภัณฑ์เนื้อมักคำนึงถึงสมบัติเชิงหน้าที่ด้านความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชัน ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน ความสามารถในการรวมตัวกับไขมันและความต้านทานความร้อน (Zayas, 1997) เป็นต้น ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนชนิดต่างๆ ที่จะนำไปใช้ในอาหาร

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สำคัญในอาหารมีดังต่อไปนี้

1. สมบัติการละลาย (solubility)

การละลายของโปรตีนเป็นสมบัติเชิงหน้าที่อันดับแรกที่ต้องทดสอบ เนื่องจากการละลายของโปรตีนเป็นสมบัติทางเคมีกายภาพซึ่งมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ได้แก่ การเกิดโฟม การเกิดอิมัลชัน และการเกิดเจล โปรตีนที่มีความสามารถในการละลายสูง แสดงว่ามีความสามารถในการแพร่กระจาย (dispersibility) ของโมเลกุลหรืออนุภาคที่ดี และทำให้กระจายได้ดีในระบบคอลลอยด์ (Zayas, 1997) ดังนั้นความสามารถในการละลายของโปรตีนเป็นปัจจัยสำคัญที่สุด และเป็นดัชนีบ่งชี้ที่ยอดเยียมเกี่ยวกับการทำหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร

ปัจจัยที่มีอิทธิพลกับความสามารถในการละลายของโปรตีนประการแรก คือ สมบัติทางเคมีกายภาพของกรดอะมิโนหรือโปรตีน ได้แก่ ชนิดและลำดับของกรดอะมิโน จำนวนหมู่มีซัวและไม่มีซัวของกรดอะมิโน น้ำหนักและโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน เนื่องจากมีผลกับสมบัติไฮโดรโฟบิกและไฮโดรฟิลิก ส่วนปัจจัยที่สอง คือ สิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความแรงไอออน (ionic strength) ชนิดของตัวทำละลาย (solvent) pH อุณหภูมิ และสภาวะการแปรรูป (Zayas, 1997)

การละลายของโปรตีนเป็นสมดุลทางอุณหพลศาสตร์ระหว่างโปรตีนด้วยกันและระหว่างโปรตีนกับตัวทำละลายซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงค่าพลังงานอิสระที่เกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างส่วนไฮโดรโฟบิกและส่วนไฮโดรฟิลิกของโปรตีนกับตัวทำละลาย (Damodaran, 1996) ดังสมการ



โปรตีนที่จะนำไปใช้ในอาหารมักทำการทดสอบการละลายของโปรตีนที่ค่าพีเอชเป็นกลางหรือค่าพีเอชที่จุดไอโซอิเล็กทริก (pI) โดยแสดงเป็นดัชนีการละลายได้ของไนโตรเจน (nitrogen solubility index, NSI) กระบวนการที่ใช้ในการสกัดโปรตีนและการทำให้โปรตีนบริสุทธิ์อาจทำให้เกิดการเสียสภาพและการไม่ละลายอยู่บ้าง เมื่อโปรตีนได้รับความร้อนจนถึงระดับหนึ่ง สมบัติการละลายจะลดลงอย่างไม่สามารถย้อนกลับได้ (Cheftel *et al.*, 1985)

Wu *et al.* (1979) รายงานความสามารถในการละลายของโปรตีนไอโซเลทจากข้าวบาร์เลย์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CI 4362, Hiproly และ riso 1508 ที่เตรียมโดยสกัดด้วยสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.06 นอร์มัล สำหรับพันธุ์ Hiproly ส่วนที่เหลือใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.045 นอร์มัลในการสกัด หลังจากนั้นปรับ pH สารละลายโปรตีนสกัดเป็น 5.3-5.4 แล้วนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนโปรตีน ปรับให้เป็นกลาง จากนั้นนำมาทำแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง เมื่อนำมาทดสอบการละลายที่ pH ต่างๆ พบว่าโปรตีนทั้ง 3 ชนิดไม่ละลาย ที่ pH 5-6 และโปรตีนจากข้าวบาร์เลย์สายพันธุ์ CI 4362 มีความสามารถในการละลายร้อยละ 60 ที่ pH ต่ำกว่า 5 ซึ่งดีกว่าโปรตีนจากข้าวบาร์เลย์อีก 2 ชนิด แต่ที่ pH 2.2 การละลายลดลงเหลือร้อยละ 47 ส่วนโปรตีนจากข้าวบาร์เลย์สายพันธุ์ Hiproly สามารถละลายได้ดีขึ้นที่ pH 6.3 และละลายได้ถึงร้อยละ 89 ที่ pH 9.9

Bera and Mukherjee (1989) ศึกษาการละลายของโปรตีนรำข้าวคอนเซนเตรทที่เตรียมจากรำข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการสกัดไขมันที่ pH ต่างๆ พบว่าโปรตีนดังกล่าวมีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ pH 4.5 และมีความสามารถในการละลายสูงขึ้นเมื่อ pH อยู่ในช่วงค่าโดย pH 9.0-10.5 มีความสามารถในการละลายสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลกับความสามารถในการละลายของโปรตีนดังกล่าวโดยความสามารถในการละลายลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็น 1.0 นอร์มัล เนื่องจากผลของ salting out และความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์อยู่ที่ระดับ 0.1 นอร์มัล โดยสามารถละลายได้สูงสุดที่ pH 8.0-10.5 และเมื่อเปรียบเทียบผลของค่าความแรงไอออนิกกับความสามารถในการละลายพบว่าเมื่อความแรงไอออนิกอยู่ในช่วง 0.2-0.8 ความสามารถในการละลายของโปรตีนรำข้าวคอนเซนเตรทที่เตรียมจากรำข้าวทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการสกัดไขมันมีค่าสูงขึ้น แต่จะมีค่าลดลงเมื่อค่าความแรงไอออนิกเท่ากับ 1.0

2. สมบัติการอิมัลซิไฟน์ (emulsifying properties)

สมบัติการอิมัลซิไฟน์ของโปรตีนเป็นลักษณะเชิงหน้าที่ที่สำคัญอีกประการหนึ่งของโปรตีนที่จะนำไปใช้ในอาหารเนื่องจากอาหารหลายชนิดอยู่ในระบบอิมัลชัน เช่น นม ครีม ไอศกรีม เนย และมายองเนส เป็นต้น โปรตีนในอาหารจึงทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ทำให้ระบบอิมัลชันในอาหารมีความคงตัว จึงสามารถคงลักษณะอาหารนั้นๆ ไว้ได้ (Zayas, 1997)

การทดสอบสมบัติการอิมัลซิไฟน์ของโปรตีนในอาหารมีหลายวิธี เช่น ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity, EA) ความสามารถในการอิมัลซิไฟน์น้ำมัน (emulsion capacity, EC) ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability, ES) (Damodaran, 1996; Hill, 1996)

การประเมินความสามารถของโปรตีนในการช่วยให้เกิดและรักษาความคงตัวของอิมัลชัน แสดงได้ด้วยค่า emulsifying activity (EA) และ emulsifying activity index (EAI) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาสมบัติของโปรตีน แต่ทั้ง 2 ค่านี้มีวิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน ไม่สามารถนำค่ามาเปรียบเทียบกันได้ (Hill, 1996)

การประเมินค่า EA สามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีวัดความแตกต่างของขนาดอนุภาคของเฟสกระจายตัว (disperse phase) ซึ่งสามารถวัดได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เครื่องนับจำนวน (coulter counting) หรือวัดความขุ่นด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง หรือใช้เทคนิคเลเซอร์สแคทเทอริง นอกจากนี้ EA ยังสามารถวิเคราะห์ได้จากการวัดค่าการนำไฟฟ้า โดยวิธีของ Kato *et al.* (1985) ซึ่งวัดความแตกต่างระหว่างค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายโปรตีน และค่าการนำไฟฟ้าต่ำที่สุดของอิมัลชันระหว่างการโฮโมจิไนซ์เป็นเวลา 1 นาที (Hill, 1996) และ Yasumatsu *et al.* (1972) วัด EA โดยการหมุนเหวี่ยงอิมัลชันที่ความเร็ว $1300 \times g$ นาน 5 นาที จากนั้นคำนวณเป็นค่าร้อยละของปริมาตรของอิมัลชันที่คงอยู่หลังหมุนเหวี่ยงต่อปริมาตรทั้งหมด (Puski, 1975) ดังนี้

$$EA = \frac{\text{ปริมาตรของอิมัลชันที่คงอยู่หลังหมุนเหวี่ยง} \times 100}{\text{ปริมาตรทั้งหมด}}$$

การประเมิน EAI โดยวิธีของ Pearce and Kinsella (1978) ทำโดยวัดความขุ่นของอิมัลชัน โดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร รายงานเป็นหน่วยพื้นที่ที่ผิวร่วม (interfacial area) มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตรต่อหน่วยน้ำหนักของโปรตีนในอิมัลชันที่ถูกทำให้คงตัว (Hill, 1996)

ความสามารถในการอิมัลซิไฟน์น้ำมัน (emulsion capacity, EC) คือปริมาณน้ำมันสูงสุดมีหน่วยเป็นมิลลิลิตรที่ถูกอิมัลซิไฟน์ไว้ได้โดยโปรตีน 1 กรัม ภายใต้สภาวะหนึ่ง EC ของอิมัลซิไฟเออร์ขึ้นกับการเกิดฟิล์มรอบเม็ดไขมัน และความสามารถในการลดแรงดึงผิวของโปรตีนที่ผิวร่วม

ระหว่างน้ำมันและน้ำ วิธีนี้สามารถทดสอบโดยการเติมน้ำมันในอัตราคงที่ลงในสารละลายโปรตีน ซึ่งมีการกวนอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปั่นผสมอาหาร (food blender) แล้วตรวจวัดน้ำมันปริมาณมากที่สุดที่สามารถเติมลงไปในระบบอิมัลชันก่อนเกิดการกลับเฟส เมื่อเกิดการกลับเฟส อิมัลชันจะมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดหรือมีการเปลี่ยนสีอย่างทันทีทันใดหากมีการเติมสี oil-red O ลงในน้ำมัน หรือมีความต้านทานกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้น การกลับเฟสมักเกิดเมื่อปริมาณไขมัน (oil volume fraction, ϕ) มีค่าประมาณ 0.65-0.85 และก่อนเกิดการกลับเฟสจะเกิด water-in-oil-in-water double emulsion (Damodaran, 1996; Hill, 1996)

ES คือความสามารถของโปรตีนซึ่งช่วยรักษาความคงตัวของอิมัลชัน ป้องกันไม่ให้เม็ดไขมันมารวมตัวกันจนเกิดครีม (creaming) การหลอมรวม (coalescing) และการเกาะกลุ่มกันของเม็ดไขมัน (flocculation) (Zayas, 1997) วิธีการวัด ES สามารถทำได้หลายวิธีแต่มักใช้การวัดไขมันหรือครีมที่แยกออกจากอิมัลชันตามแรงดึงดูดของโลกในช่วงเวลาและอุณหภูมิที่แน่นอนค่าหนึ่ง โดยในระบบที่มีความเข้มข้นต่ำสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยสายตาหรือการใช้เทคนิค light scattering และสามารถใช้อุปกรณ์จุลทรรศน์ชนิด confocal light microscope ในการสังเกตการเปลี่ยนแปลงได้ทั้งระบบที่มีความเข้มข้นต่ำและสูง (Hill, 1996) วิธีมาตรฐานสำหรับวัดการหลอมรวมของเม็ดไขมันน้ำมัน คือวิธีของ Tornberg and Hermansson (1977) ทำโดยวัดน้ำมันที่ปลดปล่อยออกมาจากอิมัลชันหลังได้รับการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วต่ำ Yasumatsu *et al.* (1972) และ Betschart *et al.* (1979) มีการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงถึง 90 องศาเซลเซียสก่อนนำไปหมุนเหวี่ยง (Hill, 1996)

Wu (1978) เติมน้ำมันโปรตีนไอโซเลทจากข้าวฟ่างพันธุ์ที่มีปริมาณไลซีนสูง 2 สายพันธุ์คือ IS 11758 และ P-751 และพันธุ์ที่มีปริมาณไลซีนปกติ TE77 โดยสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.15 นอร์มัล ที่ pH 11.9 อัตราส่วนตัวอย่างกับสารละลายในการสกัดเท่ากับ 1 ต่อ 6 จากนั้นทำการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.8 ทำแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง ทดสอบความสามารถในการอิมัลซิไฟน์ของโปรตีนตามวิธีของ Yasumatsu *et al.* (1972) พบว่าไอโซเลทจากข้าวฟ่างพันธุ์ IS 11758 และ P-751 ที่มีค่าความสามารถในการทำให้เป็นอิมัลชันร้อยละ 54 และ 53 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทซึ่งมีค่าร้อยละ 45 ส่วนความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันมีค่าร้อยละ 47 และ 40 ตามลำดับ ส่วนโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทมีค่าร้อยละ 44 ส่วนข้าวฟ่างพันธุ์ที่มีปริมาณไลซีนปกติมีค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันและการรักษาความคงตัวของอิมัลชันอยู่ในระดับต่ำ คือ ร้อยละ 3 ทั้ง 2 ค่า

Bera and Mukherjee (1989) ทดสอบคุณสมบัติการอิมัลซิไฟน์น้ำมัน (emulsion capacity) ของโปรตีนคอนเซนเตรทจากรำข้าวที่ผ่านและไม่ผ่านการสกัดน้ำมันที่ pH ต่างๆ โดยแสดงเป็นค่า มิลลิลิตรของน้ำมันต่อกรัมของโปรตีน พบว่าโปรตีนคอนเซนเตรทจากรำข้าวไขมันเต็มที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันมีความสามารถในการอิมัลซิไฟน์น้ำมันสูงสุด 150.1 มิลลิลิตรของน้ำมันต่อกรัมของโปรตีนที่ pH 10.5 ส่วนโปรตีนคอนเซนเตรทจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันมีความสามารถในการอิมัลซิไฟน์น้ำมันสูงสุด 72.9 มิลลิลิตรของน้ำมันต่อกรัมของโปรตีนที่ pH 7

3. สมบัติการอุ้มน้ำ (water holding capacity)

ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือการดูดซับน้ำของโปรตีนเป็นปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับน้ำ ซึ่งเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญเนื่องจากส่งผลกับลักษณะเนื้อสัมผัส สี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับน้ำ และระหว่างโปรตีนด้วยกันเอง เป็นตัวกำหนดหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร เช่น การทำให้เกิดเจล หรือการทำให้อนุภาคคอลลอยด์แพร่กระจายในอาหาร นอกจากนี้ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนยังเกี่ยวข้องกับสมบัติด้านการละลาย ความหนืด การเกิดเจลและการเกิดอิมัลชันอีกด้วย (Zayas, 1932) การเลือกโปรตีนเพื่อเสริมในอาหารจึงควรพิจารณาถึงสมบัติการอุ้มน้ำของโปรตีนชนิดนั้นด้วย

Liadakis *et al.* (1998) เปรียบโปรตีนไอโซเลทจากเมล็ดมะเขือเทศโดยสกัดด้วยสารละลายโซเดียมซัลเฟต สารละลายโซเดียมคลอไรด์ และน้ำ จากนั้นทำการตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริก pH 3.9–4.0 แล้วทำแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง เมื่อตรวจวัดความสามารถในการดูดซับน้ำโดยวิธีของ Liadakis *et al.* (1993) ซึ่งรายงานเป็นจำนวนกรัมของน้ำต่อตัวอย่าง 100 กรัม พบว่า โปรตีนไอโซเลทที่สกัดโดยสารละลายโซเดียมซัลเฟต และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ มีความสามารถในการดูดซับน้ำเป็น 311 และ 409 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยน้ำ และโปรตีนถั่วเหลืองทางการค้าชนิด S6 ซึ่งมีความสามารถในการดูดซับน้ำ 276.3 และ 241.2 ตามลำดับ แต่ยังคงต่ำกว่าโปรตีนถั่วเหลืองทางการค้าชนิด P6 และ S5 ซึ่งมีค่า 525.5 และ 855.5 ตามลำดับ

Lawal (2004) ทดสอบความสามารถในการดูดซับน้ำของโปรตีนไอโซเลทจากอ์ฟริกัณโลคัสปีน โดยวิธีของ Beuchat (1977) โดยแปรผันค่าความแรงไอออนิกโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0-1.0 โมลาร์ พบว่า ความสามารถในการดูดซับน้ำของโปรตีนไอโซเลทจากอ์ฟริกัณโลคัสปีนในน้ำมีค่า 3.1 มิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่าง แต่เมื่ออยู่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1

โมลาร์ความสามารถในการดูดซับน้ำมันมีค่าเพิ่มขึ้น จนมีค่าสูงสุดคือ 3.7 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จากนั้นความสามารถในการดูดซับน้ำมันจะค่อยๆ ลดลงจนเหลือ 1.8 มิลลิกรัมต่อกรัมเมื่ออยู่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.8 และ 1.0 โมลาร์

4. ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil absorption capacity)

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ด้านการดูดซับหรือการจับน้ำมันของโปรตีนมีความสำคัญกับชนิดของอาหาร เช่น อาหารชนิดอิมัลชันเหลว อาหารผง ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก ผลิตภัณฑ์ขนมปัง การจับของไขมันกับองค์ประกอบอื่นๆ ของอาหาร เช่น โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ส่งผลกับเนื้อสัมผัสของอาหารและคุณภาพของอาหาร การตรวจวัดความสามารถในการดูดซับหรือการจับไขมันของโปรตีนอาจใช้เป็นข้อมูลในการเลือกโปรตีนที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร

กลไกการดูดซับไขมันยังไม่มีการศึกษาไว้อย่างชัดเจน แต่เชื่อว่าเกิดจากคุณสมบัติทางกายภาพด้านโครงสร้างของโปรตีนที่ประกอบด้วยหมู่ไม่มีขั้วในโมเลกุลซึ่งเป็นตำแหน่งที่เกิดการจับกันระหว่างไขมันและโปรตีน สำหรับโปรตีนจากพืชการดูดซับน้ำมันขึ้นกับความเข้มข้นของโปรตีน จำนวนหมู่ไม่มีขั้ว และการจับกันระหว่างโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต (Zayas, 1932)

Lawal (2004) สกัดโปรตีนจากแป้งอัมฟริกานโลกส์ปิ่นที่ผ่านการสกัดน้ำมันแล้ว ด้วยสัดส่วนแป้งต่อน้ำ เป็น 1 ต่อ 5 ปรับ pH เป็น 9.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ สกัดนาน 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส ทำการสกัด 2 ครั้ง แยกสารละลายโปรตีนโดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว $4000 \times g$ 30 นาที แล้วรวมสารละลายโปรตีนสกัดทั้ง 2 ครั้งเข้าด้วยกัน จากนั้นตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 แยกตะกอนอีกครั้งด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว $4000 \times g$ 20 นาที ล้างตะกอน 2 ครั้งด้วยน้ำกลั่น ละลายตะกอนอีกครั้งด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับ pH เป็น 7 ก่อนทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นทดสอบความสามารถในการดูดซับน้ำมันของโปรตีนไอโซเลท ตามวิธีของ Beuchat (1977) พบว่ามีความสามารถในการดูดซับน้ำมัน 1.97 มิลลิกรัมต่อกรัมของโปรตีน ซึ่งต่ำกว่าโปรตีนถั่วเหลืองทางการค้า ซึ่งมีค่า 3.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของโปรตีน

Lqari (2002) สกัดโปรตีนจากแป้งกำจัดไขมันของ *Lupinus angustifolius* ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ pH 12 และสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่ pH 10.5 เรียกว่า โปรตีนไอโซเลทชนิด A และโปรตีนไอโซเลทชนิด B ตามลำดับ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แยกสารละลายโปรตีนด้วยการ

หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว $8,000 \times g$ แล้วปรับ pH เป็น 4.3 เพื่อตกตะกอนโปรตีน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อแยกตะกอนที่ความเร็ว $8000 \times g$ ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น แล้วทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับน้ำมันตามวิธีการของ lin *et. al.* (1974) ซึ่งทำโดยผสมตัวอย่าง 0.5 กรัม กับน้ำมันคาโนล่าปริมาตร 6 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว $1,600 \times g$ นาน 25 นาที ชั่งน้ำหนักสารละลายส่วนใส รายงานค่าความสามารถในการดูดซับไขมันของโปรตีนเป็นจำนวนกรัมของน้ำมันที่ค้างในตัวอย่าง 100 กรัม พบว่าแป้งกำจัดไขมันของ *Lupinus angustifolius* โปรตีนไอโซเลทชนิด A และโปรตีนไอโซเลทชนิด B มีความสามารถในการดูดซับน้ำมัน 235.7, 446.7 และ 383.3 กรัมของน้ำมันต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

กากธัญชาติเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์ของบริษัทอาหารเสริม จำกัด

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีน

- 2.1.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
- 2.1.2 สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 นอร์มัล
- 2.1.3 คะตะลิส ได้แก่ โพแทสเซียมซัลเฟต และคอปเปอร์ซัลเฟต
- 2.1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์
- 2.1.5 กรดบอริกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์
- 2.1.6 อินดิเคเตอร์ ได้แก่ เมทิลเรด และโบรโมคริสซอลกรีน
- 2.1.7 ไฮดรอกซีเมทิล อะมิโนมีเทน

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์เส้นใย

- 2.2.1 สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.255 นอร์มัล
- 2.2.2 สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.313 นอร์มัล

2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไขมัน

- 2.3.1 ปีโตรเลียมอีเทอร์ที่มีจุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1 เครื่องร่อนแยกขนาด ยี่ห้อ Retsch รุ่น AS200 control
- 3.2 ตะแกรงร่อนแยกขนาด 30 60 80 100 120 และ 140 เมช
- 2.3 เครื่องเหวี่ยงแยกน้ำแบบตะกร้า (basket centrifuge)
- 2.4 ตู้อบลมร้อนแบบถาด
- 2.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ Spectro รุ่น 22
- 2.6 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Jenco รุ่น 6071
- 2.7 เครื่องผสมแบบใบกวน (overhead stirrer) ยี่ห้อ IKA
- 2.8 เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer) ยี่ห้อ Cole Parmer รุ่น 51450
- 2.9 เครื่องบดแฮมเมอร์มิลล์ ยี่ห้อ AEG รุ่น AM 80 NX2
- 2.10 เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงอุณหภูมิต่ำ (refrigerate centrifuge)

ยี่ห้อ Himac รุ่น CR 20B2

- 2.11 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนซึ่งประกอบด้วยชุดย่อย Buchi Digestion Unit K-435 ชุดดักจับไอกรด Buchi Scrubber 412 และชุดกลั่น Buchi Distillation Unit B-316
- 2.12 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ยี่ห้อ Heto รุ่น FD2.5
- 3.13 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ยี่ห้อ GEA รุ่น Niro A/S Gladsaxevej 305 DK 2860

Soeborg Denmark

- 2.13 เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ แบบใบพัด ยี่ห้อ IKA Tissuemizer ultra turrax รุ่น T-25
- 2.14 เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Minolta รุ่น CM-3500d
- 3.16 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ยี่ห้อ Lab Companion รุ่น BS-11
- 3.17 อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ

วิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบและการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติอบแห้ง

1.1 การเตรียมกากธัญชาติอบแห้ง

เก็บตัวอย่างน้ำกากธัญชาติจากโรงงานผลิตเบียร์ (บริษัทอาหารเสริม จำกัด) แล้วนำมา แยกน้ำด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกน้ำแบบตะกร้า นาน 15 นาที จากนั้นอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้กากธัญชาติอบแห้ง มีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10

1.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำกากธัญชาติอบแห้งมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน และ เส้นใยหยาบ ตามวิธีการของ AOAC (1990)

2. การหาความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคกับปริมาณโปรตีนในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ก่อน และหลังการบดลดขนาด

นำกากธัญชาติอบแห้งจากข้อ 1.1 มาแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่งนำมาร่อนแยกขนาดโดยตรง ส่วนที่สองนำไปบดลดขนาดด้วยเครื่องบดแบบค้อน (hammer mill) ซึ่งมีตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ร่อนกากธัญชาติอบแห้งทั้ง 2 ส่วนผ่านตะแกรงเบอร์ 30, 60, 80, 100, 120 และ 140 เมช ที่วางซ้อนกัน เพื่อแบ่งกากธัญชาติอบแห้งตามขนาดออกเป็น 7 ส่วน สังเกตลักษณะปรากฏและ บันทึกน้ำหนักของกากธัญชาติแต่ละส่วนแล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจลดัลดา (kjeldahl method) (AOAC, 1990) และคำนวณแสดงการกระจายของโปรตีนในกากธัญชาติแต่ละส่วนที่แยกได้

3. การศึกษาสมบัติทางด้านการละลายของโปรตีนในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์

สกัดโปรตีนจากกากธัญชาติอบแห้งหลังการร่อนผ่านตะแกรงขนาด 30 เมช ที่ pH 2, 3, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 8, 10, 11.5, 12 และ 13 ควบคุม pH ตลอดการสกัดโดยการปรับด้วยสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 นอร์มัล หรือกรดไฮโดรคลอริก 5 นอร์มัล โดยใช้อัตราส่วนกากัญชา 10 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร สกัดโดยมีการผสมกวนตลอดเวลาด้วยเครื่องผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แยกส่วนของเหลวหรือสารละลายสกัด (extract) ซึ่งเป็นส่วนที่มีโปรตีนละลายอยู่ออกจากกากโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 9,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้หรือสารละลายสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต (biuret method) (อาภัสสร, 2536) (ภาคผนวก ก) กำหนดเป็นความสามารถในการละลายของโปรตีน (protein solubility) เลือกค่า pH ที่ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนสูงสุดเป็นค่า pH สำหรับการสกัดโปรตีน และ pH ที่ให้ค่าดัชนีการละลายต่ำสุดหรือจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point) เป็น pH ในการตกตะกอนโปรตีน

$$\text{ความสามารถในการละลายของโปรตีน (\% protein solubility)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในน้ำสกัด (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างที่นำมาสกัด (กรัม)}} \times 100$$

4. การหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากัญชาจากการผลิตเบียร์

เตรียมกากัญชาดิบแห้งด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 1.1 จากนั้นทำการลดขนาดกากัญชาด้วยการบดด้วยเครื่องบดแบบค้อน นำตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาผลของปริมาณโปรตีนเริ่มต้นของแป้งโปรตีนจากกากัญชาและเวลาสกัดต่อความสามารถในการสกัดโปรตีน โดยแปรผันปริมาณโปรตีน 3 ระดับซึ่งได้จากการร่อนกากัญชาที่ผ่านการบดแล้วด้วยตะแกรงขนาด 30, 80 และ 140 เมช จากนั้นสกัดโปรตีนโดยใช้อัตราส่วนกากัญชา 10 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร กวนด้วยเครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็ก สกัดที่ pH ที่โปรตีนสามารถละลายได้สูงสุดจากการทดลองข้อ 3 ควมคุม pH ให้คงที่ตลอดระยะเวลาการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 5 นอร์มัลและสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 นอร์มัล แปรผันเวลาสกัด 3 ระดับ ได้แก่ 30, 60 และ 90 นาที เมื่อครบเวลาแยกส่วนของเหลวหรือสารละลายสกัด (extract) ซึ่งเป็นส่วนที่มีโปรตีนละลายอยู่ออกจากกากโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 9,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้หรือสารละลายสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาลล์ (kjeldahl method) กำหนดค่าความสามารถในการละลายของโปรตีน (% protein solubility) โดยเลือกปริมาณโปรตีนของแป้งโปรตีนและเวลาสกัดที่ให้ค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนสูงสุดเป็นสถานะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนเพื่อเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทในการทดลองข้อต่อไป

5. การเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทจากแป้งโปรตีน

เตรียมกากธัญชาติอบแห้งด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 1.1 ทำการบดกากธัญชาติด้วยเครื่องบดแบบก้อน แล้วร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ที่ให้แป้งโปรตีนที่มีขนาดอนุภาคเหมาะสมซึ่งให้ผลการสกัดสูงสุดจากการทดลองข้อ 4 ทำการสกัดโปรตีนจากแป้งโปรตีนดังกล่าวโดยใช้แป้งโปรตีน 200 กรัม ต่อน้ำ 2 ลิตร กวนผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนผสมแบบใบกวน ด้วยความเร็ว 1,100 รอบต่อนาที ซึ่งไม่ทำให้เกิด vortex ทำการสกัดที่ pH ที่สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุดจากข้อ 3 ควบคุม pH ตลอดการสกัดโดยการปรับด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 นอร์มัล หรือกรดไฮโดรคลอริก 5 นอร์มัล โดยใช้เวลาสกัดที่ให้ผลการสกัดสูงสุดจากการทดลองข้อ 4 เมื่อครบเวลา แยกส่วนของเหลวหรือสารละลายสกัด (extract) ซึ่งเป็นส่วนที่มีโปรตีนละลายอยู่ออกจากกากโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 9,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที กรองสารละลายโปรตีนสกัดด้วยผ้าขาวบางซ้อนทับกัน 3 ชั้น แบ่งสารละลายโปรตีนสกัดออกเป็น 2 ส่วน สำหรับเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรท และอีกส่วนสำหรับเตรียมโปรตีนไอโซเลท

การเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรททำโดยนำสารละลายโปรตีนสกัดส่วนที่หนึ่ง มาปรับ pH เป็น 6.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 5 นอร์มัล และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) โดยป้อนตัวอย่างให้เข้าไปในกระแสนของลมร้อนอุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 1.2 ลิตรต่อชั่วโมง เพื่อปรับให้อุณหภูมิขาออกเป็น 80 องศาเซลเซียส ได้เป็นโปรตีนคอนเซนเตรท เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมปิดผนึกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

การเตรียมโปรตีนไอโซเลททำโดยนำสารละลายโปรตีนสกัดอีกส่วนหนึ่งมาทำการแยกโปรตีนโดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยวิธีการปรับ pH สารละลายโปรตีนสกัดไปที่จุดไอโซอิเล็กทริกที่ได้จากการทดลองข้อ 3 แยกตะกอนโปรตีนออกโดยการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 9,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ล้างตะกอน 2 ครั้ง โดยใช้น้ำกลั่น อัตราส่วนตะกอนต่อน้ำกลั่นเป็น 1 ต่อ 3 นำก้อนตะกอนโปรตีนที่ได้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปรับ pH ของตะกอนให้เป็น 6.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 นอร์มัล และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) จากนั้นทำการบดให้เป็นผง ได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไอโซเลท เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมปิดผนึกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใยหยาบและคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีการของ AOAC (1990) ดังภาคผนวก ก

5.2 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนโดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งวิเคราะห์ตามวิธีการของ Cohen and Michaud (1993) ดังภาคผนวก ก

5.3 วัดค่าสีในระบบ CIE Lab (L^* a^* b^*) โดยใช้เครื่อง Minolta รุ่น CM-3500d ดังภาคผนวก ก

6. การตรวจวัดคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีน

ตรวจวัดคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนคอนเซนเตรตและโปรตีนไอโซเลตที่เตรียมได้จากข้อ 5 ดังต่อไปนี้

6.1 ดัชนีการละลายของโปรตีน (protein solubility index, PSI) ตามวิธีการซึ่งดัดแปลงจาก AACC (1983) ดังแสดงในภาคผนวก ก

6.2 ความสามารถในการดูดซับน้ำ (water absorption capacity) ตามวิธีการของน้ำทิพย์ (2547) ดังแสดงในภาคผนวก ก

6.3 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil absorption capacity) ตามวิธีการของน้ำทิพย์ (2547) ดังแสดงในภาคผนวก ก

6.4 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion activity) และความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) ตามวิธีการของน้ำทิพย์ (2547) ดังแสดงในภาคผนวก ก

7. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

วิธีการข้อ 2 และ 3 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ส่วนการทดลองข้อ 4 วางแผนการทดลองแฟกทอเรียล 2×3 ในแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (2×3 factorial Experiment in Completely Randomized Design)

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาทำการวิจัย

การทดลองครั้งนี้เริ่มตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2547 และสิ้นสุดในเดือนธันวาคม 2548

ผลและการวิจารณ์

1. กากธัญชาติอบแห้งและองค์ประกอบทางเคมี

กากธัญชาติสดจากโรงงานเบียร์ เป็นของผสมระหว่างส่วนที่เหลือจากการย่อยข้าวมอลต์จากบาร์เลย์และธัญชาติอื่นๆ (adjunct) ที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเบียร์ ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในขั้นตอนการเมชชิ่ง กากธัญชาติที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อาหารเสริม จำกัด มีลักษณะเป็นกากชุ่มน้ำ มีความชื้นสูงประมาณร้อยละ 77-80 จึงต้องมีการลดความชื้นเพื่อเก็บรักษาตัวอย่างไว้ใช้ทดลองในขั้นต่อไป พบว่ากากธัญชาติจากการผลิตหลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกน้ำแบบตะกร้าเป็นเวลา 15 นาที ส่วนนี้มีความชื้นร้อยละ 61.82 จึงนำไปลดความชื้นต่อด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

กากธัญชาติหลังจากผ่านการอบแห้งแล้ว มีลักษณะปรากฏแสดงดังภาพที่ 7 พบว่าประกอบด้วยเปลือกข้าวบาร์เลย์ และส่วนอื่นๆ ของโครงสร้างเมล็ดข้าวบาร์เลย์ ซึ่งอาจเป็นเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด (aleurone) หรือคัพพะ (embryo) ที่มีขนาดแตกต่างกันโดยเป็นชิ้นขนาดเล็กและเป็นผงละเอียด มีสีเหลืองน้ำตาล เนื่องจากกากธัญชาติเป็นส่วนที่ได้หลังจากผ่านการเมชชิ่งซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีการย่อยคาร์โบไฮเดรตในธัญชาติที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ ได้แก่ มอลต์จากข้าวบาร์เลย์ซึ่งเป็นส่วนผสมหลักและธัญชาติชนิดอื่นที่ใช้เติมลงไปเพื่อเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นกากธัญชาติจึงเป็นส่วนที่เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสย่อยไม่ได้หรือย่อยไม่หมด



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะปรากฏของกากธัญชาติอบแห้ง

กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์มีโปรตีนสูงกว่าวัตถุดิบข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตเบียร์ทั่วไป เนื่องจากในกระบวนการผลิตเบียร์มีการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลในขั้นตอนเมชซึ่ง ทำให้องค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ในกากธัญชาติสูงขึ้น เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติอบแห้ง ได้ผลดังตารางที่ 5 พบว่ากากธัญชาติอบแห้งมีโปรตีนเฉลี่ยสูงถึงร้อยละ 29.50 ซึ่งสูงพอที่จะนำไปใช้ในอาหารเพื่อเสริมคุณค่าอาหารประเภทโปรตีน นอกจากนี้ยังพบว่ากากธัญชาติมีปริมาณเส้นใยหยาบเฉลี่ยสูงถึงร้อยละ 17.29 ซึ่งมาจากเปลือกของข้าวบาร์เลย์เป็นส่วนใหญ่ เมื่อนำไปใช้ในอาหารทำให้อาหารมีเนื้อสัมผัสหยาบ ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคจึงต้องหาวิธีการกำจัดเปลือกออกก่อนนำไปใช้เสริมโปรตีนในอาหาร

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติอบแห้ง

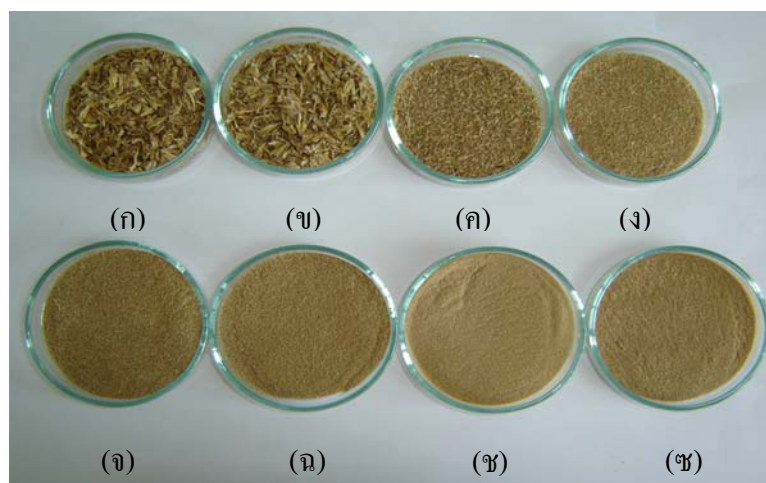
องค์ประกอบทางเคมี	กากธัญชาติอบแห้ง			
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	เฉลี่ย
ความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักสด)	8.32	6.22	5.91	6.81
โปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	27.79	30.34	30.37	29.50
เส้นใยหยาบ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	17.58	-	17.00	17.29

2. ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคกับปริมาณโปรตีนในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์

กากธัญชาติประกอบด้วยส่วนต่างๆ ของธัญชาติที่เหลือจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในขั้นตอนการเมชซึ่ง โดยทั่วไปธัญชาติที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ ได้แก่ มอลต์จากข้าวบาร์เลย์ซึ่งใช้เป็นส่วนผสมธัญชาติหลัก และธัญชาติชนิดอื่นๆ (adjunct) ที่ใช้เป็นส่วนผสมธัญชาติรองซึ่งโรงงานที่ให้ความอนุเคราะห์กากธัญชาติในการวิจัยครั้งนี้ ใช้มอลต์จากข้าวบาร์เลย์เป็นส่วนผสมหลัก และใช้ข้าวหักเป็นส่วนผสมธัญชาติรอง ดังนั้น กากธัญชาติที่ได้จากการทดลองนี้จึงประกอบด้วยเปลือกข้าวบาร์เลย์ เยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด (aleurone) และคัพภะ (embryo) และส่วนอื่นๆ ของข้าวบาร์เลย์และข้าวหักที่ย่อยไม่ได้ด้วยเอนไซม์จากข้าวมอลต์ หลังจากแยกกากธัญชาติตามขนาดพบว่าแต่ละส่วนมีลักษณะแตกต่างกันเนื่องจากองค์ประกอบของกากธัญชาติมีหลายส่วน ได้แก่ เปลือก ผลเยื่อเมล็ดน้ำตาลซึ่งอาจเป็นข้าวหักที่ผ่านการบดหรืออาจเป็นส่วนเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดหรือคัพภะ ซึ่งอาจมีขนาดแตกต่างกันเนื่องจากในกระบวนการผลิตเบียร์มีการบดธัญชาติที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตทำให้เปลือกและองค์ประกอบอื่นๆ มีขนาดเล็กลง เมื่อแยกขนาดกากธัญชาติอบ

แห้งด้วยตะแกรง 6 ขนาดที่วางซ้อนกัน สามารถแยกกาณัฏฐชาติได้ 7 ส่วน แต่ละส่วนมีลักษณะปรากฏดังภาพที่ 8 โดยกาณัฏฐชาติร้อยละ 90 อยู่ในส่วนที่ 1 มีลักษณะคล้ายกาณัฏฐชาติอบแห้งที่ยังไม่แยกขนาด คือ ประกอบด้วยชิ้นเปลือกขนาดใหญ่สีเหลืองอ่อนและส่วนอื่นๆ ที่ไม่ใช่เปลือกซึ่งอาจเป็นเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ด (aleurone) หรือคัพพะ (embryo) เป็นชิ้นและผงขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้ม ส่วนที่ 2 ถึงส่วนที่ 6 ยังคงประกอบด้วยชิ้นเปลือก และส่วนอื่นๆ ที่ไม่ใช่เปลือกแต่มีขนาดเล็กลง ส่วนที่ 7 มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลเข้ม สังเกตไม่พบเปลือกซึ่งมีสีเหลือง

เปลือกของข้าวมอลที่จากข้าวบาร์เลย์เป็นเส้นใยหยาบมีขนาดใหญ่เนื่องจากเป็นส่วนที่ใช้ห่อหุ้มเมล็ดข้าวบาร์เลย์จึงมีความแข็งแรงกว่าโครงสร้างอื่นๆ ภายในเมล็ด มีหน้าที่ควบคุมปริมาณน้ำที่จะซึมเข้าภายในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ในขณะงอกเป็นข้าวมอล แต่เมื่อผ่านการบดในขั้นตอนก่อนการต้มสกัด เปลือกและโครงสร้างอื่นๆ ภายในเมล็ดจะแตกออกเพื่อทำให้ง่ายต่อการย่อยของเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามเปลือกเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรง มีความเหนียวเนื่องจากโครงสร้างของเปลือกมีลักษณะเป็นเส้นใย เมื่อผ่านการบดจึงยังคงมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับโครงสร้างอื่นๆ ภายในเมล็ด นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีหลักๆ ของเปลือก คือเส้นใยหยาบ ดังนั้นเมื่อทำการแยกขนาดกาณัฏฐชาติอบแห้ง แล้ววิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเส้นใยหยาบได้ผลการทดลองดังตารางที่ 6 พบว่ากาณัฏฐชาติส่วนที่มีขนาดใหญ่เป็นส่วนที่มีเส้นใยหยาบสูง และกาณัฏฐชาติส่วนที่มีขนาดเล็กลง จะมีปริมาณเส้นใยหยาบลดลงทำให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้นเนื่องจากมีเปลือกปะปนลงไปน้อยลง เช่น ส่วนที่ 1 เป็นกาณัฏฐชาติส่วนที่มีขนาดใหญ่กว่า 600 ไมครอน มีปริมาณเส้นใยหยาบสูงที่สุดถึงร้อยละ 15.83 เมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ ในทางตรงกันข้ามส่วนนี้จะมีปริมาณโปรตีนต่ำที่สุด คือร้อยละ 22.31 ส่วนกาณัฏฐชาติที่มีขนาดเล็กลงจะมีปริมาณเส้นใยหยาบลดลงตามลำดับ แต่ในขณะเดียวกันก็จะทำให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้นตามขนาดที่ลดหลั่นกันไป เช่น ในส่วนที่ 7 ซึ่งเป็นส่วนกาณัฏฐชาติ ซึ่งมีขนาดเล็กที่สุดคือเล็กกว่า 106 ไมครอน ดังนั้นกาณัฏฐชาติส่วนนี้จึงมีปริมาณเส้นใยหยาบน้อยที่สุดคือร้อยละ 6.45 และมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือร้อยละ 48.34 โปรตีนที่เป็นผงละเอียดน่าจะเป็นโปรตีนจากส่วนเมล็ดที่แยกออกจากส่วนคาร์โบไฮเดรตซึ่งถูกย่อยในกระบวนการย่อยสกัด



ภาพที่ 8 ลักษณะปรากฏของกากธัญชาติขนาดต่างๆ ก่อนบดที่แยกด้วยตะแกรง 6 ขนาด
 (ก) ก่อนร่อน (ข) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 30 เมช (ค) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 60 เมช
 (ง) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 80 เมช (จ) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 100 เมช
 (ฉ) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 120 เมช (ช) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 140 เมช
 (ซ) ผ่านตะแกรงเบอร์ 140 เมช

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ปริมาณผลผลิต โปรตีนและเส้นใยหยาบในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด

ส่วนที่	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)	ผลผลิต (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	เส้นใยหยาบ (ร้อยละ)
1	>600	90.40 a	22.31 e	15.83
2	250-600	7.32 b	40.71 d	11.23
3	180-250	0.67 c	42.17 cd	11.14
4	150-180	0.35 c	43.20 bcd	9.67
5	125-150	0.26 c	44.28 bc	9.48
6	106-125	0.54 c	45.92 ab	7.63
7	<106	0.46 c	48.34 a	6.45
รวม	-	100	24.17	15.36

หมายเหตุ ค่าตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

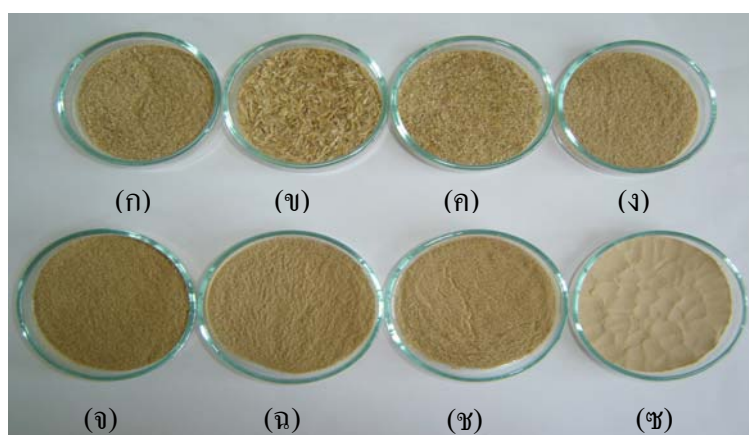
จากข้อมูลในตารางที่ 6 สามารถคำนวณปริมาณโปรตีนเป็นกรัมต่อผลผลิตในแต่ละส่วนได้ เช่น กากล้วยชาติส่วนที่ 1 มีโปรตีน 22.31 กรัม คิดจากผลผลิต 100 กรัม แต่ส่วนที่ 1 มีผลผลิตเพียง 90.40 กรัม ดังนั้นปริมาณโปรตีนในส่วนที่ 1 จึงมี 20.17 กรัม เมื่อทราบปริมาณโปรตีนเป็นกรัมในแต่ละส่วนแล้ว ก็จะทราบปริมาณโปรตีนรวมในกากล้วยชาติทั้งหมดโดยการรวมปริมาณโปรตีนในแต่ละส่วนในที่นี้คือ 24.17 กรัม จากนั้นสามารถคำนวณหาการกระจายของโปรตีนในแต่ละส่วนได้ โดยคิดว่าปริมาณโปรตีนรวมในกากล้วยชาติทั้งหมดในที่นี้คือ 24.17 กรัม คิดเป็น 100 เปอร์เซนต์ ดังนั้นในส่วนที่ 1 มีปริมาณโปรตีน 20.17 กรัม แสดงว่าโปรตีนกระจายอยู่ในส่วนที่ 1 ถึง 83.47 เปอร์เซนต์ ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ผลการคำนวณแสดงไว้ในตารางที่ 7 พบว่าโปรตีนส่วนใหญ่กระจายอยู่ในส่วนที่ 1 และ 2 คือร้อยละ 83.47 และ 12.32 ของโปรตีนที่มีอยู่ทั้งหมด แสดงว่าโปรตีนยังคงอยู่รวมกันในโครงสร้างเดิมของส่วนเมล็ดที่เหลือจากการย่อยสัลดคาร์โบไฮเดรต และอยู่รวมกับส่วนเปลือก จึงควรหาวิธีในการแยกโปรตีนและเปลือกออกจากกันซึ่งอาจทำได้โดยการลดขนาดด้วยการบด

ตารางที่ 7 การกระจายของโปรตีนในกากล้วยชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด

ส่วนที่	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)	ผลผลิต (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	โปรตีน (กรัม)	การกระจายของโปรตีน (ร้อยละ)
1	>600	90.40 a	22.31 e	20.17 a	83.47 a
2	250-600	7.32 b	40.71 d	2.98 b	12.32 b
3	180-250	0.67 c	42.17 cd	0.28 c	1.17 c
4	150-180	0.35 c	43.20 bcd	0.15 c	0.63 c
5	125-150	0.26 c	44.28 bc	0.11 c	0.47 c
6	106-125	0.54 c	45.92 ab	0.25 c	1.02 c
7	<106	0.46 c	48.34 a	0.22 c	0.92 c
รวม	-	100	24.17	24.17	100

หมายเหตุ ค่าตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

หลังจากบดกากธัญชาติอบแห้งด้วยเครื่องบดแบบค้อนพบว่ากากธัญชาติบดก่อนแบ่งขนาด มีสีครีมเข้ม มีส่วนหยาบปะปนอยู่กับส่วนละเอียด เนื้อหยาบ ไม่ลื่นเนียน เมื่อร่อนแบ่งขนาดเป็น 7 ส่วนด้วยตะแกรง 6 ขนาดที่วางเรียงซ้อนกัน ได้กากธัญชาติที่มีลักษณะปรากฏดังภาพที่ 9 แล้วนำไปวิเคราะห์โปรตีนในกากธัญชาติแต่ละส่วน ได้ผลดังตารางที่ 8 พบว่าส่วนที่ 1, 2 และ 3 มีโปรตีนคิดเป็นร้อยละต่ำกว่าวัตถุดิบ ซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 24.17 เนื่องจากมีชิ้นส่วนเปลือกปะปน แต่ส่วนที่ 4, 5, 6 และ 7 มีร้อยละโปรตีนสูงกว่าวัตถุดิบ และสูงขึ้นตามลำดับของขนาดที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏ คือมีลักษณะเป็นผงละเอียดโดยเฉพาะส่วนที่ 7 มีลักษณะเป็นผงเนียนละเอียด สีขาวอมเหลือง ไม่เห็นเป็นชิ้นส่วนเปลือก



ภาพที่ 9 ลักษณะปรากฏของกากธัญชาติขนาดต่างๆ หลังบดแยกด้วยตะแกรง 6 ขนาด

- (ก) ก่อนร่อน (ข) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 30 เมช (ค) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 60 เมช
 (ง) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 80 เมช (จ) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 100 เมช
 (ฉ) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 120 เมช (ช) ค้างบนตะแกรงเบอร์ 140 เมช
 (ซ) ผ่านตะแกรงเบอร์ 140 เมช

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ปริมาณผลผลิต โปรตีนและเส้นใยหยาบในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ ขนาดต่างๆ หลังการบด

ส่วนที่	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)	ผลผลิต (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	เส้นใยหยาบ (ร้อยละ)
1	>600	0.98 f	15.28 g	24.91
2	250-600	47.12 a	18.43 f	24.63
3	180-250	18.11 b	23.13 e	10.94
4	150-180	7.78 c	27.30 d	10.73
5	125-150	4.55 d	30.94 c	7.92
6	106-125	2.84 e	32.07 b	7.79
7	<106	18.63 b	36.54 a	7.01
รวม	-	100	24.26	16.48

หมายเหตุ ค่าตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคกับปริมาณโปรตีนและเส้นใยหยาบ จากตารางที่ 8 พบว่าส่วนที่มีขนาดเล็กลงยังคงมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นและมีปริมาณเส้นใยหยาบลดลงตามลำดับเช่นเดียวกับกากธัญชาติก่อนลดขนาด เนื่องจากการบดทำให้ทั้งส่วนโปรตีนและส่วนเปลือกลดขนาดลง โดยส่วนโปรตีนมีความอ่อนเปราะบดลงได้ง่าย ขณะที่ส่วนเปลือกมีลักษณะเป็นสารเยื่อใย มีความเหนียวมากกว่าโปรตีน จึงสามารถทนแรงกระทำจากการบดได้มากกว่า ส่วนเปลือกจึงมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าโปรตีน หลังจากทำการร่อนซึ่งเป็นการแยกเปลือกหรือสารเยื่อใยที่มีขนาดใหญ่กว่าออกไปแล้ว ส่วนที่เหลือที่มีขนาดเล็กลงจึงมีปริมาณโปรตีนที่สูงขึ้น และมีปริมาณเส้นใยหยาบลดลงตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการกระจายของโปรตีนในส่วนต่างๆ ของกากธัญชาติหลังจากผ่านการบดลดขนาด จากตารางที่ 9 พบว่า เปลี่ยนแปลงไปจากกากธัญชาติที่ไม่ผ่านการบดก่อนร่อน โดยโปรตีนกระจายตัวอยู่ในส่วนต่างๆ ดีขึ้น ทั้งนี้เพราะการบดสามารถแยกโปรตีนออกจากเปลือกและเป็นการลดขนาดโปรตีน โปรตีนจึงมีขนาดลดลงเป็นขนาดต่างๆ กัน และสามารถกระจายในส่วนที่มี

ขนาดต่างๆ ดีขึ้น การบดและแบ่งขนาดกากธัญชาติออกเป็น 7 ส่วน แม้สามารถเพิ่มร้อยละโปรตีนในส่วนที่ 4, 5, 6 และ 7 ให้สูงกว่าร้อยละโปรตีนในกากธัญชาติเริ่มต้น แต่ปริมาณกากธัญชาติส่วนนั้นๆ ค่อนข้างต่ำ การเพิ่มร้อยละโปรตีนโดยการแบ่งเป็น 7 ส่วน จึงไม่เหมาะสมเนื่องจากผลผลิตส่วนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในปริมาณน้อย

ตารางที่ 9 การกระจายตัวของโปรตีนในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังการบด

ส่วนที่	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)	ผลผลิต (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	โปรตีน (กรัม)	การกระจายของโปรตีน (ร้อยละ)
1	>600	0.98 f	15.28 g	0.15 g	0.61 g
2	250-600	47.12 a	18.43 f	8.68 a	35.78 a
3	180-250	18.11 b	23.13 e	4.19 c	17.26 c
4	150-180	7.78 c	27.30 d	2.12 d	8.75 d
5	125-150	4.55 d	30.94 c	1.41 e	5.79 e
6	106-125	2.84 e	32.07 b	0.91 f	3.76 f
7	<106	18.63 b	36.54 a	6.81 b	28.05 b
รวม	-	100	24.26	24.26	100

หมายเหตุ ค่าตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การบดและแบ่งขนาดกากธัญชาติออกเป็น 7 ส่วน ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของขนาดกับปริมาณโปรตีนและเส้นใยหยาบ สามารถนำมาคำนวณปริมาณผลผลิตของกากที่คาดว่าจะได้รับหากใช้ตะแกรงร่อนเพียงอันเดียวในการเตรียมตัวอย่าง โดยใช้ผลการทดลองจากตารางที่ 8 และ 9 ในการคำนวณปริมาณผลผลิตและปริมาณโปรตีนและเส้นใยหยาบในกากธัญชาติที่เตรียมจากการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ เพียงอันเดียว ได้ผลดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณผลผลิตโปรตีนและเส้นใยหยาบในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังการบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนเพียงตะแกรงเดียว

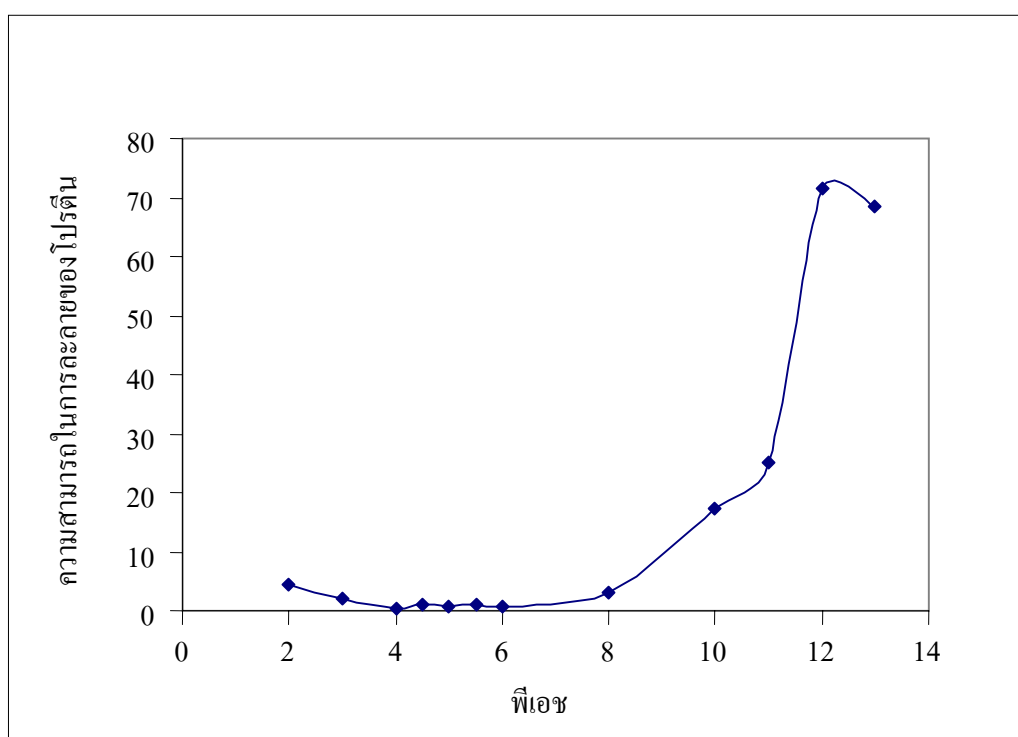
เบอร์ตะแกรง (เมช)	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)	ผลผลิต (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	เส้นใยหยาบ (ร้อยละ)	ปริมาณที่คงรักษาไว้ (ร้อยละ)	
					โปรตีน	เส้นใยหยาบ
-	กากธัญชาติ	100	24.26	16.48	100	100
30	< 600	99.03 a	24.35 f	16.43	99.39	98.92
60	< 250	51.91 b	29.74 e	9.08	63.61	28.83
80	< 180	33.80 c	33.28 d	8.06	46.35	16.49
100	< 150	26.03 d	35.06 c	7.24	37.60	11.33
120	< 125	21.48 e	35.95 b	7.11	31.81	9.42
140	< 106	18.63 f	36.54 a	7.01	28.05	8.07

หมายเหตุ ค่าตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

พบว่ากากธัญชาติที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาดตั้งแต่ 60 เมชเป็นต้นไป มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากเดิม และมีปริมาณเส้นใยหยาบลดลงกว่าครึ่ง สามารถนำไปใช้โดยตรงเป็นแป้งโปรตีน เพื่อเสริมโปรตีนและสารใยในอาหาร การร่อนผ่านตะแกรงที่ละเอียดขึ้น ทำให้แป้งโปรตีนมีปริมาณเปลือกซึ่งเป็นเส้นใยหยาบลดลง มีเนื้อสัมผัสเนียนหากใช้เติมในอาหารโดยตรงก็จะเป็นที่ยอมรับมากขึ้น แต่ในทางกลับกันจะให้ผลผลิตน้อย ดังนั้นการกำหนดขนาดอนุภาคของแป้งโปรตีนจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์เพื่อนำไปใช้ในอาหาร จึงต้องเลือกขนาดที่ให้ความสมดุลระหว่างการยอมรับของผู้บริโภคและปริมาณผลผลิตที่ได้ นอกจากการใช้ประโยชน์โดยตรงยังสามารถใช้แป้งโปรตีนเป็นวัตถุดิบในการเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลท เป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากกากธัญชาติที่สามารถแก้ปัญหาการไม่ยอมรับของผู้บริโภคต่อเนื้อสัมผัสหยาบซึ่งเกิดจากส่วนเปลือกหรือเส้นใยได้อีกด้วย

3. สมบัติทางด้านการละลายของโปรตีนจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์

จากการตรวจสอบสมบัติด้านการละลายของโปรตีนจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ที่ pH 2, 3, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 8, 10, 11.5, 12 และ 13 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและตกตะกอนโปรตีนโดยนำกากธัญชาติที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงเบอร์ 30 ซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 43 มาละลายในน้ำกลั่นในสัดส่วน 1 ต่อ 10 แล้วปรับ pH ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกหรือสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อสกัดครบเวลา 30 นาที ทำการหมุนเหวี่ยงแยกสารละลายที่สกัดได้ แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในสารละลายสกัดต่อปริมาณโปรตีนในกากธัญชาติที่ใช้สกัด รายงานผลเป็นความสามารถในการละลายของโปรตีน (protein solubility) ที่ pH ต่างๆ แสดงดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 การละลายของโปรตีนที่ pH ต่างๆ

พบว่าโปรตีนในกากธัญชาติมีความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ pH ต่างๆ แตกต่าง กัน สามารถละลายได้น้อยที่สุดที่ pH 4 ซึ่งมีค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนต่ำสุด คือ 0.4% และโปรตีนมีความสามารถในการละลายสูงขึ้นเมื่อ pH เปลี่ยนไปทั้งด้านเพิ่มขึ้นหรือลดลง เนื่องจากโปรตีนมีอนุภาคที่สามารถแสดงประจุทั้งบวกและลบหลายตำแหน่ง (Zwitter ion) ซึ่งขึ้น กับสภาพการรวมตัว (association) หรือแตกตัว (dissociation) ซึ่งขึ้นกับค่า pH ที่จุดไอโซอิเล็กทริก โปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำเนื่องจากมีประจุบวกและลบเท่ากันทำให้ประจุสุทธิเป็น ศูนย์จึงไม่มีแรงผลักรังไฟฟ้า (electrostatic repulsion) ดังนั้นโปรตีนจึงเกิดการเกาะกลุ่มกันและตก ตะกอน ส่วนที่ pH ต่ำกว่าและสูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นบวกและลบ ตามลำดับ การมีประจุรวมเป็นอย่างไรอย่างหนึ่งทำให้เกิดการผลักกันระหว่างโปรตีนและการรวม ตัวของโปรตีนกับน้ำซึ่งมีประจุทั้งบวกและลบ จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีน (Damodaran,1996) ช่วง pH 2 และ 3 โปรตีนมีความสามารถในการละลายดีขึ้นเพียงเล็กน้อย และ ความสามารถในการละลายเริ่มสูงขึ้นที่ pH มากกว่า 6 เป็นต้นไปจนมีค่าสูงสุดที่ pH 12 ซึ่งมีค่าดัชนี การละลายของโปรตีนสูงถึง 71.4% สอดคล้องกับการทดลองของ Chen and Houston (1970) และ Prakash (1996) ซึ่งทำการสกัดโปรตีนจากรำข้าวที่ pH 9-12 พบว่าเมื่อ pH สูงขึ้นโปรตีนมีการ กระจายตัวเพิ่มขึ้น Damodaran (1996) กล่าวว่าโปรตีนส่วนมากมีความสามารถในการละลายสูงที่ pH ช่วงค่า 8 การสกัดโปรตีนจากพืช เช่น ถั่วเหลืองจึงมักทำการสกัดที่ pH 8-9 และทำการตก ตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริกคือ pH 4.5-4.8

จากการทดสอบสมบัติด้านการละลายของโปรตีนที่ pH ต่างๆ สามารถใช้เป็นแนวทางใน การเลือก pH ในการสกัดและตกตะกอนโปรตีนจากกากธัญชาติเพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์โปรตีนชนิด คอนเซนเตรทหรือไอโซเลตได้ โดยเลือกสกัดที่ pH 12 ซึ่งสามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด และทำให้ โปรตีนมีความบริสุทธิ์ขึ้นโดยแยกโปรตีนด้วยการตกตะกอนที่ pH 4

4. สภาพที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์

กากธัญชาติที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นกากธัญชาติรุ่นที่ 2 ที่เตรียมขึ้นใหม่ ตามวิธีการใน ข้อ 1 เมื่อนำกากธัญชาติดังกล่าวมาศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนโดยแปรผันปริมาณ โปรตีน 3 ระดับ ซึ่งทำโดยร่อนกากธัญชาติผ่านตะแกรกร่อนขนาด 30, 80 และ 140 เมช ได้แบ่ง โปรตีนจากกากธัญชาติที่มีขนาดเล็กกว่า 600, 180 และ 106 ไมครอน ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์

โปรตีนพบว่าปริมาณร้อยละ 30.19, 43.88 และ 46.21 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการทดลองที่ผ่านมา อาจเป็นเพราะว่าเป็นตัวอย่างต่างรุ่นกับการศึกษาที่ผ่านมา

เมื่อศึกษาปริมาณโปรตีนและเวลาที่เหมาะสมในการสกัด พบว่าเมื่อทำการสกัดโปรตีนจาก แป้งโปรตีนที่ได้จากการบดและร่อนกากธัญชาติผ่านตะแกรงขนาด 30, 80 และ 140 เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที โดยใช้อัตราส่วนแป้งโปรตีน 10 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ใช้ pH ที่ดีที่สุดสำหรับ สกัดจากผลการทดลองข้อ 3 คือ pH 12 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายโปรตีนสกัดแล้ว คำนวณความสามารถในการละลายของโปรตีน (% protein solubility) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 11 พบว่าขนาดอนุภาคและระยะเวลาที่ใช้สกัดมีผลต่อความสามารถในการละลายโปรตีน แต่ไม่มี อิทธิพลร่วมกันระหว่างอนุภาคและระยะเวลา โดยเมื่อใช้เวลาในการสกัดเท่ากัน แป้งโปรตีนที่มี ปริมาณโปรตีนสูงกว่ามีความสามารถในการละลายสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องจาก แป้งที่มีโปรตีนเริ่มต้นสูงกว่ามีขนาดเล็กกว่าทำให้มีปริมาณองค์ประกอบอื่นๆ ที่อาจเกาะเกี่ยวกับ โปรตีนแล้วขัดขวางการสกัดปะปนน้อยกว่า นอกจากนี้แป้งโปรตีนที่มีขนาดอนุภาคเล็กลงมีพื้นที่ ผิวต่อหน่วยน้ำหนักมากขึ้นจึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดมากขึ้น เนื่องจากเพิ่มพื้นที่ผิว สัมผัสระหว่างแป้งโปรตีนกับน้ำที่ใช้สกัดมากขึ้น จึงสกัดได้ดีขึ้น การสกัดให้ได้โปรตีนมากจึงควร เลือกใช้แป้งโปรตีนที่มีอนุภาคขนาดเล็กซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูง สอดคล้องกับการทดลองของ Betschart *et al.* (1977) ซึ่งพบว่าเมื่อขนาดอนุภาคของรำข้าวลดลง สามารถสกัดโปรตีนได้เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาเวลาในการสกัด พบว่าหากใช้เวลาสกัด 30 นาที สามารถสกัดโปรตีนได้ต่ำที่ สุดและเมื่อใช้เวลาสกัดนานขึ้นเป็น 60 นาที ความสามารถในการละลายของโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดนานออกไปเป็น 90 นาที ความสามารถในการ ละลายของโปรตีนมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการสกัดที่เวลา 60 นาที ในทุกขนาดอนุภาค จึง อาจสรุปได้ว่าการใช้เวลาในการสกัดเพียง 60 นาที ก็เพียงพอสำหรับสกัดโปรตีนในรูปอิสระที่ไม่ เกาะเกี่ยวกับองค์ประกอบอื่นๆ ออกมาได้หมด ดังนั้นเมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นโปรตีนจึงไม่ สามารถละลายได้เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาปัจจัยเรื่องขนาดอนุภาคร่วมกับเวลาที่ใช้สกัดต่อความ สามารถในการละลายของโปรตีนพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากกากธัญชาติคือใช้ กากธัญชาติที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 106 ไมครอน ซึ่งต้องร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 140 เมช ทำการ สกัดที่ pH 12 เป็นเวลา 60 นาที โปรตีนสามารถละลายได้ในปริมาณมากที่สุดคือร้อยละ 45.68

ตารางที่ 11 ความสามารถในการละลายของโปรตีนจากกากธัญชาติของการผลิตเบียร์ที่มีขนาดต่างกันที่ pH 12 เป็นเวลาต่างกัน

ขนาด (ไมครอน)	ปริมาณโปรตีนตั้งต้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ความสามารถในการละลายของโปรตีน (ร้อยละ)		
		30 นาที	60 นาที	90 นาที
< 600	33.19	31.38 d	36.37 c	37.09 c
<180	43.88	35.67 c	43.07 ab	43.56 ab
<106	46.21	41.33 b	45.68 a	44.75 ab

หมายเหตุ ค่าตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. ผลของการเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทจากแป้งโปรตีน

การเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทในหัวข้อนี้ใช้กากธัญชาติสดรุ่น 3 ซึ่งเตรียมโดยวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 1 ได้กากธัญชาติอบแห้ง ที่มีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นร้อยละ 30.37 โดยน้ำหนัก แล้วทำการลดขนาดด้วยเครื่องบดแบบค้อน จากนั้นทำการสกัดโปรตีนในระดับเพิ่มขนาดการผลิตโดยใช้สภาวะที่ดีที่สุดจากการทดลองข้อ 4 กล่าวคือ สกัดโปรตีนจากแป้งโปรตีนที่ผ่านการบดและร่อนให้ได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 106 ไมครอน โดยใช้สัดส่วนแป้งโปรตีน 200 กรัมต่อน้ำ 2 ลิตร กวนด้วยเครื่องผสมแบบใบกวน (overhead stirrer) และควบคุม pH ในการสกัดให้เป็น 12 ตลอดการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 นอร์มัล หรือกรดไฮโดรคลอริก 5 นอร์มัล เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาแยกสารละลายโปรตีนออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง ได้สารละลายโปรตีนที่มีสีน้ำตาลเข้ม กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วแบ่งสารละลายโปรตีนสกัดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งใช้สำหรับเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรท อีกส่วนหนึ่งใช้เตรียมโปรตีนไอโซเลท

การเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรททำโดยนำสารละลายโปรตีนส่วนที่หนึ่งมาปรับ pH ให้เป็น 6.5 ปรากฏว่าสารละลายโปรตีนมีสีอ่อนลง หลังการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ได้ผงโปรตีนคอนเซนเตรทขนาดเล็กละเอียด ลื่นเนียน สีน้ำตาลเทา มีลักษณะโปร่งเบา ส่วนโปรตีนไอโซเลททำโดยปรับ pH สารละลายโปรตีนส่วนที่สองไปที่จุดไอโซอิเล็กทริก (pH 4) ทำให้โปรตีน

ตกตะกอนออกมา หลังจากทำการเหวี่ยงแยกและล้างตะกอนแล้ว ได้ตะกอนโปรตีนสีเหลืองทอง แต่เมื่อปรับ pH ให้เป็น 6.5 ตะกอนมีสีเข้มขึ้นจนเป็นสีน้ำตาล เมื่อทำแห้งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็ง แบบถาดได้แผ่นโปรตีนสีน้ำตาลเข้ม แล้วทำการบดให้เป็นผงละเอียด ได้ผงโปรตีนสีน้ำตาล

ผลิตภัณฑ์โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์มีลักษณะทั่วไปแตกต่างกัน และแตกต่างจากแป้งโปรตีนจากกากธัญชาติที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมผลิตภัณฑ์โปรตีนดังกล่าว ลักษณะปรากฏและค่าสีของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท แสดงดังตารางที่ 12 และภาพที่ 11

ตารางที่ 12 ลักษณะปรากฏและค่าสีของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท

ผลิตภัณฑ์โปรตีน	ลักษณะปรากฏ	ค่าสี		
		L*	a*	b*
แป้งโปรตีน	ผงละเอียดสีเหลืองอ่อน เนื้อเนียนลื่น	71.22 a	4.58 b	18.74 a
โปรตีนคอนเซนเตรท	ผงละเอียดสีน้ำตาลเทา เนื้อโปร่งเบา	70.08 b	2.86 c	10.19 c
โปรตีนไอโซเลท	ผงละเอียดสีน้ำตาล เนื้อหยาบ	51.92 c	5.55 a	15.71 b

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันตามในตั้งหมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 11 ลักษณะปรากฏของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท

เมื่อทำการวัดสีผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่องวัดสี minolta รายงานผลเป็นค่า L^* a^* b^* โดยค่า L^* แสดงถึงความสว่างของสีซึ่งมีค่าจาก 0 ถึง 100 หากตัวอย่างมีความสว่างมากหรือมีความขาวมากจะมีค่าเข้าใกล้ 100 ในทางตรงกันข้ามหากมีความสว่างน้อยหรือมีสีคล้ำดำจะมีค่าเข้าใกล้ค่า 0 พบว่าแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทมีค่าความสว่างเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ 71.22 70.08 และ 51.92 ซึ่งสอดคล้องกับสีของโปรตีนทั้ง 3 ชนิด โดยแป้งโปรตีนและโปรตีนคอนเซนเตรทมีสีอ่อนกว่าโปรตีนไอโซเลทมาก เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีค่าความสว่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่า a^* สามารถมีได้ทั้งค่าบวกและลบ บ่งบอกถึงความเป็นสีแดงและเขียวตามลำดับ ดังนั้นผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่า a^* ทางด้านบวกจึงบ่งบอกถึงความเป็นสีแดง โดยโปรตีนไอโซเลทมีค่าเข้าใกล้สีแดงมากที่สุด รองลงมาคือแป้งโปรตีนและโปรตีนคอนเซนเตรทมีค่า 5.55, 4.58 และ 2.86 ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า b^* มีทั้งค่าบวกบ่งบอกความเป็นสีเหลือง และค่าลบบอกความเป็นสีน้ำเงิน พบว่าค่า b^* ของผลิตภัณฑ์โปรตีนมีค่าด้านบวก บ่งบอกความเป็นสีเหลือง โดยแป้งโปรตีนมีค่า b^* สูงสุด สอดคล้องกับลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสีเหลือง ส่วนโปรตีนไอโซเลทและคอนเซนเตรทมีค่า b^* ลดหลั่นกันไปตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สีของโปรตีนคอนเซนเตรทและไอโซเลทมีสีน้ำตาลเนื่องจากใช้สภาวะการสกัดที่ pH สูง ทำให้สารละลายโปรตีนมีสีน้ำตาลเข้มซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mwasaru *et al.* (1999 a) ที่รายงานว่าเมื่อใช้ pH ในการสกัดโปรตีนสูงขึ้น ทำให้โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น

เนื่องจากสารประกอบประเภทฟีนอลิกละลายออกมามากขึ้น Damodaran (1996) กล่าวว่าในเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสามารถออกซิไดซ์ไปเป็นควิโนนได้ที่ pH ช่วงต่างโดยอาศัยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสซึ่งมีอยู่แล้วในเนื้อเยื่อพืชต่างๆ ไป ควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารโมเลกุลใหญ่ซึ่งมีสีน้ำตาลซึ่งเรียกว่าแทนนิน

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีน ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เกลือ เส้นใยหยาบ และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ได้ผลดังตารางที่ 13 พบว่าเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่าสูงกว่าปริมาณโปรตีนของกากธัญชาติเริ่มต้นซึ่งมีค่า 30.37 โดยแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 38.36 50.26 และ 67.30 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ตารางที่ 13 องค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติ แป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	กากธัญชาติ ³	แป้งโปรตีน	โปรตีน คอนเซนเตรท	โปรตีน ไอโซเลท
ความชื้น ¹	5.91	6.36	6.09	4.70
โปรตีน ²	30.37	38.36	50.26	67.30
ไขมัน ²	8.58	13.22	13.07	18.82
เส้นใยหยาบ ²	17.00	7.30	2.11	1.28
เกลือ ²	-	2.74	14.89	3.36
คาร์โบไฮเดรต ²	-	38.38	19.67	9.24

หมายเหตุ ¹ ร้อยละโดยน้ำหนักสด

² ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

³ องค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติรุ่นเฉพาะที่ใช้กับการทดลองข้อนี้

โปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณไขมันเป็นองค์ประกอบสูงเนื่องจากไม่มีการสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบก่อนเตรียมผลิตภัณฑ์โปรตีน โดยแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทมีไขมันร้อยละ 13.22 13.07 และ 18.82 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ปริมาณเส้นใยหยาบในผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่าต่ำกว่าวัตถุดิบเริ่มต้นมากโดยเฉพาะโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลท เนื่องจากวิธีการเตรียมผลิตภัณฑ์โปรตีนดังกล่าว ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดโปรตีนด้วยตัวทำละลาย ซึ่งสามารถแยกโปรตีนออกจากองค์ประกอบอื่นๆ โดยเฉพาะเส้นใยหยาบได้เป็นอย่างดี โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทจึงมีเส้นใยหยาบปริมาณน้อยกว่าแป้งโปรตีน เนื่องจากวิธีการเตรียมแป้งโปรตีนโดยการบดและร่อนผ่านตะแกรง เป็นเพียงการแยกเส้นใยหยาบบางส่วนออกจากองค์ประกอบอื่นๆ เท่านั้น ทำให้ปริมาณเส้นใยหยาบในแป้งโปรตีนยังมีอยู่ถึงร้อยละ 7.30 แต่น้อยกว่ากากธัญชาติเริ่มต้นซึ่งมีปริมาณเส้นใยหยาบร้อยละ 17

เมื่อพิจารณาปริมาณเถ้าในผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดพบว่าโปรตีนคอนเซนเตรทมีปริมาณเถ้าสูงสุดถึงร้อยละ 14.89 เนื่องจากมีการใช้ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดไฮโดรคลอริกในการปรับ pH ระหว่างการสกัดโปรตีนแล้วไม่มีการแยกเกลือออก ทำให้เหลือเกลือในผลิตภัณฑ์โปรตีนดังกล่าวในปริมาณสูง เมื่อเกลียดังกล่าวไม่สูญเสียไปเมื่อทำการเผาด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูง ทำให้มีปริมาณเถ้าสูง ส่วนการเตรียมโปรตีนไอโซเลทหลังจากทำการสกัดโปรตีนแล้วมีการตกตะกอนโปรตีนซึ่งเป็นการแยกโปรตีนออกจากองค์ประกอบอื่นๆ รวมทั้งเกลือแร่ จึงไม่เหลือเกลือตกค้างในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทำให้มีปริมาณเถ้าต่ำกว่าโปรตีนคอนเซนเตรทมาก ส่วนแป้งโปรตีนมีปริมาณเถ้าต่ำที่สุดเนื่องจากไม่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีการปรับ pH ของสารละลายสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบ

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดเป็นค่าที่ได้จากการคำนวณด้วยวิธีการดังแสดงในภาคผนวก ก พบว่าแป้งโปรตีนมีการโบไฮเดรตในปริมาณสูงที่สุดถึงร้อยละ 38.38 ซึ่งสูงกว่าโปรตีนสกัดทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้พบว่าโปรตีนคอนเซนเตรทมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 19.67 สูงกว่าโปรตีนไอโซเลทซึ่งมีค่าเพียงร้อยละ 9.24 เท่านั้น เนื่องจากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่างสามารถสกัดสารโพลีแซคคาไรด์ออกมาด้วย เมื่อนำไปทำแห้งหลังจากทำการสกัดโดยไม่มีการแยกสารโพลีแซคคาไรด์ดังกล่าวออกก่อน จึงทำให้มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในผลิตภัณฑ์สุดท้ายสูงกว่าโปรตีนไอโซเลทซึ่งผ่านการแยกโปรตีนออกจากสารประกอบอื่นๆ ที่สกัดได้ (Lqari *et al.*, 2002) แต่โพลีแซคคาไรด์บางส่วนยังคงสามารถรวมกับโปรตีนได้ที่ pH 4 ซึ่งใช้ในการตกตะกอนโปรตีน จึงทำให้โปรตีนไอโซเลทยังคงมีสารโพลีแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท แสดงดังตารางที่ 14 พบว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีสัดส่วนของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ตามข้าวบาร์เลย์และข้าวเจ้าซึ่งเป็นองค์ประกอบในกากธัญชาติ โดยมีกรดกลูตามิกในสัดส่วนสูงที่สุด รองลงมาคือโพรลีน ลูซีน กรดแอสพาดิก และมีกรดอะมิโนซิสทีนในปริมาณต่ำที่สุด Pomeranz (1987) กล่าวว่าธัญชาติทั่วไปประกอบด้วยกรดอะมิโนกลูตามิกและโพรลีนในระดับสูง มีกรดอะมิโนกลุ่มต่ำ (ไลซีน อาร์จินีน และฮิสทีดีน) ในระดับต่ำ และมีซิสทีนค่อนข้างต่ำมากซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของข้าวบาร์เลย์

โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทมีปริมาณกรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ ไลซีน และซิสทีน มีปริมาณลดลงครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งโปรตีน อาจเนื่องมาจากใช้สภาวะในการสกัดที่รุนแรงจึงอาจทำให้กรดอะมิโนดังกล่าวเปลี่ยนไปอยู่ในรูปอื่น Friedman (1977) กล่าวว่ากรดอะมิโนซิสทีนสามารถเกิดปฏิกิริยาในสภาวะที่เป็นด่างสูง เปลี่ยนไปอยู่ในรูปดีไฮโดรอะลานีน และทำปฏิกิริยากับเอพซีสลอนอะมิโนของไลซีนเป็นไลซีนอะลานีน สอดคล้องกับ DeGroot and Slump (1969) ซึ่งทดลองในถั่วเหลือง

เมื่อพิจารณากรดอะมิโนจำเป็นของผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดเปรียบเทียบกับค่าความต้องการกรดอะมิโนมาตรฐานของ FAO/WHO (1973) ดังตารางที่ 15 พบว่าแป้งโปรตีนมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นสูงกว่ามาตรฐานที่ร่างกายต้องการทั้งสี่ชนิดเว้นไลซีน ส่วนโปรตีนคอนเซนเตรทมีกรดอะมิโนจำเป็นชนิดไอโซลูซีน ลูซีน เฟนิลอะลานีน และไทโรซีนสูงกว่าค่ามาตรฐาน และโปรตีนไอโซเลทมีกรดอะมิโนจำเป็นเพียง คือ เฟนิลอะลานีน และไทโรซีนที่สูงกว่าค่ามาตรฐานที่ร่างกายต้องการ

เนื่องจากธัญชาติทั่วไปรวมทั้งข้าวบาร์เลย์มักมีกรดอะมิโนไลซีนในปริมาณต่ำอยู่แล้ว ประกอบกับไลซีนเป็นกรดอะมิโนที่สามารถเปลี่ยนรูปง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่รุนแรงในการสกัดเช่น การสกัดที่ pH สูงหรือการใช้ความร้อน ทำให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปไลซีนอะลานีน ดังที่ได้ดังกล่าวมาแล้ว ทำให้คุณค่าทางโภชนาการลดลง เนื่องจากไม่สามารถย่อยได้

ตารางที่ 14 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีน
ไอโซ เลท

กรดอะมิโน (กรัม/100 กรัม โปรตีน)	แป้งโปรตีน	โปรตีนคอนเซนเตรท	โปรตีนไอโซเลท
อะลานีน	6.24	4.01	4.11
ลูซีน	10.15	7.28	6.61
วาลีน	6.57	4.56	4.75
ไอโซลูซีน	4.85	4.64	3.69
ไทโรซีน	5.38	4.07	4.30
เฟนิลอะลานีน	7.21	6.38	5.99
กรดแอสฟาดิก	10.09	7.35	7.26
กรดกลูตามิก	23.93	20.39	17.03
ไลซีน	4.55	2.83	2.87
อาร์จินีน	8.26	6.14	6.33
ฮิสทีดีน	2.44	1.96	1.74
ไกลซีน	5.16	4.14	3.91
เซรีน	6.46	4.48	4.42
ทรีโอนีน	4.63	3.31	3.26
เมทไธโอนีน	2.63	1.60	1.65
ซีสทีน	2.33	1.03	0.95
โพรลีน	10.12	9.01	8.26

ตารางที่ 15 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท เปรียบเทียบกับค่าความต้องการกรดอะมิโนมาตรฐานของ FAO/WHO (1973)

กรดอะมิโน (กรัม/100 กรัม โปรตีน)	FAO/ WHO	แป้งโปรตีน	โปรตีนคอนเซนเตรท	โปรตีนไอโซเลท
ไลซีน	5.5	4.55	2.83	2.87
ทรีโอนีน	4.0	4.63	3.31	3.26
วาเลีน	5.0	6.57	4.56	4.75
ไอโซลิวซีน	4.0	4.85	4.64	3.69
ลิวซีน	7.0	10.15	7.28	6.61
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	3.5	4.96	2.63	2.6
เฟนิลอะลานีน + ไทโรซีน	6.0	12.59	10.45	10.29

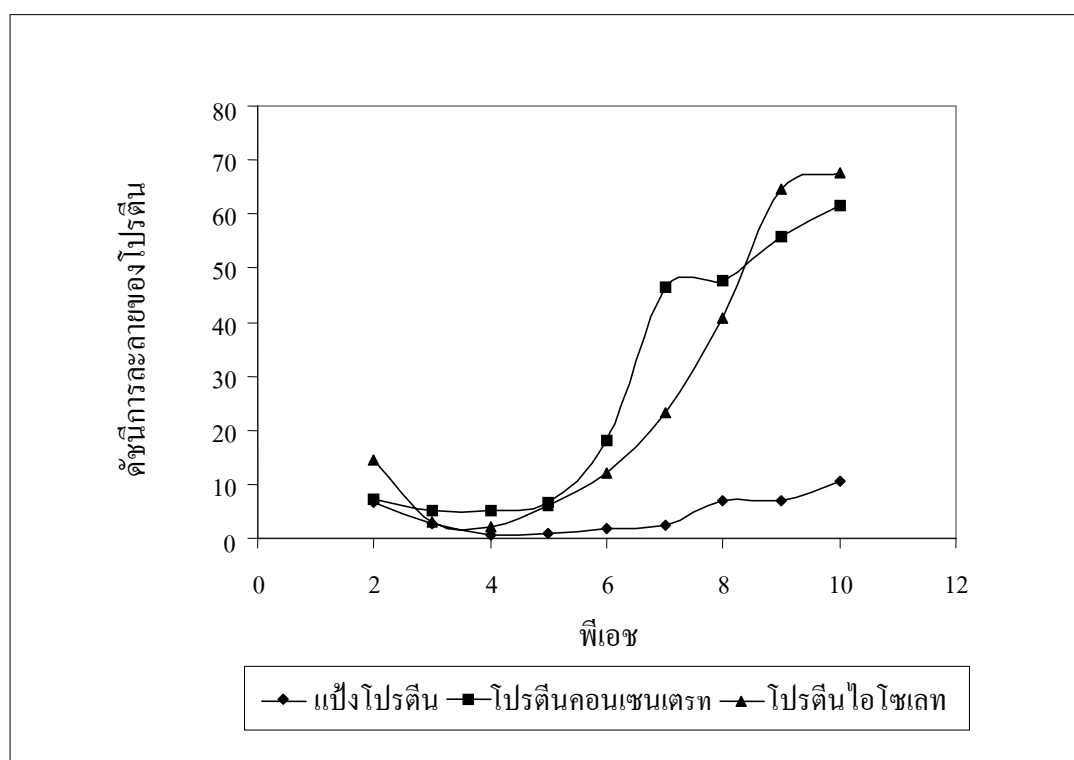
ผลผลิต (yield) ของโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลท แสดงดังตารางที่ 16 พบว่า แป้งโปรตีน 100 กรัม สามารถผลิตโปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทได้ 16.47 และ 13.78 กรัม ตามลำดับ สภาวะที่ใช้ผลิตโปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทดังกล่าว สามารถเก็บเกี่ยวโปรตีน (% protein recovery) จากแป้งโปรตีน ได้ร้อยละ 19.80 และ 24.57 ของปริมาณโปรตีนในแป้งโปรตีนเมื่อเตรียมเป็นโปรตีนคอนเซนเตรทและไอโซเลท ตามลำดับ

ตารางที่ 16 ผลผลิตโปรตีน และปริมาณโปรตีนที่เก็บเกี่ยวได้

ผลิตภัณฑ์โปรตีน	ผลผลิต (ร้อยละ) (เทียบกับแป้งโปรตีน)	ปริมาณโปรตีนที่เก็บเกี่ยวได้ (ร้อยละ) (เทียบกับแป้งโปรตีน)
โปรตีนคอนเซนเตรท	16.47	19.80
โปรตีนไอโซเลท	13.78	24.57

6. สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

จากการตรวจวัดดัชนีการละลายของโปรตีน (protein solubility index) ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทที่ pH ต่างๆ โดยวิธีการซึ่งดัดแปลงจาก AACC (1983) โดยละลายตัวอย่างผงโปรตีน 1 กรัมในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับ pH สารละลายไปที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ทำการกวนตลอดเวลานาน 2 ชั่วโมง แล้วแยกสารละลายโปรตีนโดยการหมุนเหวี่ยง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลล์คาล รายงานผลเป็นดัชนีการละลายของโปรตีนได้ผลดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 ดัชนีการละลายของโปรตีน (protein solubility index) ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทที่ pH ต่างๆ

ผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดยังคงละลายได้น้อยที่สุดที่ pH 4 และละลายได้มากขึ้นเมื่อ pH ห่างจากจุดดังกล่าว นอกจากนี้พบว่าแป้งโปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำสุดในทุก pH แต่เมื่อเตรียมเป็นโปรตีนคอนเซนเตรทและไอโซเลทแล้วทำให้ความสามารถในการละลายดีขึ้นมาก โดยเฉพาะช่วง pH สูงกว่า 7 เป็นต้นไป โปรตีนคอนเซนเตรทและไอโซเลทมีการละลายสูงขึ้นมาก เมื่อเทียบกับแป้งโปรตีน ซึ่งอาหารส่วนมากมี pH อยู่ในช่วงนี้ ดังนั้นจึงสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์ในอาหารได้มากขึ้น โดยที่ pH 3-8 โปรตีนคอนเซนเตรทมีความสามารถในการละลายสูงกว่าไอโซเลท อาจเป็นผลของเกลือที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์โปรตีนคอนเซนเตรท ทำให้โปรตีนคอนเซนเตรทมีความสามารถในการละลายดีกว่าเนื่องจากเกิด salting in แต่เมื่อมีการปรับ pH ของสารละลายโปรตีนให้สูงขึ้นเป็น pH 9 และ 10 ด้วยสารละลายค่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 นอร์มอลอาจทำให้เกิดเกลือที่มีความแรงของไอออน (ionic strength) สูงเกินไปทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนคอนเซนเตรทลดลง ดังนั้นที่ pH 9-10 โปรตีนไอโซเลทจึงมีความสามารถในการละลายสูงกว่า Damodaran (1996) กล่าวว่าโปรตีนไอโซเลทที่เตรียมจากการตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริกจะมียังมีองค์ประกอบของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไปจากวัตถุดิบ เนื่องจากโปรตีนบางส่วนสามารถละลายได้ที่จุดไอโซอิเล็กทริกดังนั้นจึงไม่ตกตะกอนออกมา ทำให้องค์ประกอบของโปรตีนจึงเปลี่ยนแปลงไปซึ่งมีผลกับคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไอโซเลท กราฟความสามารถในการละลายของโปรตีนมีลักษณะคล้ายกับการทดลองของ Bera and Mukhejee (1989) ซึ่งทำการทดลองในโปรตีนรำข้าวคอนเซนเตรทชนิดไขมันเต็ม พบว่าโปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำสุดที่ pH 4.5 (13 %) ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อ pH อยู่ในช่วงกรด โดยที่ pH 2 ความสามารถในการละลายมีค่า 20 % ส่วนที่ pH ช่วงด่าง โปรตีนมีความสามารถในการละลายสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ความสามารถในการละลายสูงสุดมีค่า 97 % ที่ pH 10.5

เมื่อตรวจวัดความสามารถในการดูดซับน้ำ (water absorption capacity) และความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil absorption capacity) ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรตและโปรตีนไอโซเลท โดยคัดแปลงตามวิธีของ น้ำทิพย์ (2547) ได้ผลดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ความสามารถในการดูดซับน้ำ (water absorption capacity) และความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil absorption capacity) ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรตและโปรตีนไอโซเลท

ผลิตภัณฑ์โปรตีน	ความสามารถในการดูดซับน้ำ (กรัม/กรัมตัวอย่าง)	ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (กรัม/กรัมตัวอย่าง)
แป้งโปรตีน	3.63	2.54
โปรตีนคอนเซนเตรต	4.10	2.46
โปรตีนไอโซเลท	4.69	2.22

พบว่าความสามารถในการดูดซับน้ำของผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกันเมื่อเปรียบเทียบที่ปริมาณตัวอย่างเท่ากัน แป้งโปรตีนมีความสามารถในการดูดซับน้ำ 3.63 กรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งต่ำกว่าโปรตีนอีก 2 ชนิดซึ่งมีความสามารถในการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นตามปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์ โดยโปรตีนไอโซเลทมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูงสุดคือ 4.69 กรัมต่อกรัมตัวอย่าง ความสามารถในการดูดซับน้ำหมายถึงความสามารถของโปรตีนในการดูดซับและคงรักษาน้ำไว้ในโปรตีนเมทริกซ์ ดังนั้นหากนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โปรตีนที่มีความสามารถในการดูดซับน้ำสูงกว่าจะช่วยรักษาน้ำในอาหารไว้ได้ดีกว่า (Damodaran, 1996)

ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกันโดยแป้งโปรตีนมีความสามารถในการดูดซับน้ำมัน 2.54 กรัมต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่าโปรตีนคอนเซนเตรตและโปรตีนไอโซเลทเล็กน้อยอาจเนื่องจากแป้งโปรตีนมีปริมาณเส้นใยหยาบและคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบสูงกว่า และองค์ประกอบดังกล่าวมีส่วนช่วยในการดูดซับไขมัน นอกจากนี้โปรตีนคอนเซนเตรตยังมีความสามารถในการดูดซับน้ำมัน 2.46 ซึ่งสูงกว่าโปรตีนไอโซเลทเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากโปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติเนื่องจากความร้อนในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยในการเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรตทำให้หมู่ไม่ชอบน้ำเผยออกมาอยู่ด้านนอกของโมเลกุลโปรตีนจึงสามารถเกิดปฏิสัมพันธ์กับน้ำมันได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับ Xu and

Diosady (1994) ซึ่งกล่าวว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับน้ำมันเกิดบริเวณหมู่ไม่มีขั้วบนโมเลกุลของโปรตีน และ Zayas (1997) กล่าวว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลกับความสามารถในการดูดซับน้ำมันของโปรตีนจากพืชคือ ความเข้มข้นของโปรตีน จำนวนหมู่ไม่มีขั้วในโมเลกุลของโปรตีน และปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้โปรตีนชนิดที่มีความสามารถในการละลายต่ำหรือเป็นพวกไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มักมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันสูง

เมื่อตรวจวัดความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion capacity) และความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) ของโปรตีนจากกากธัญชาติโดยวิธีของน้ำทิพย์ (2547) ซึ่งทดลองโดยเตรียมสารละลายโปรตีนความเข้มข้นของผงโปรตีนร้อยละ 1, 2 และ 4 ปรับ pH ของสารละลายเป็น 7 นำสารละลายโปรตีนแต่ละความเข้มข้นมา 30 มิลลิลิตร เติมน้ำมันถั่วเหลือง (มีการเติมสี oil red O ซึ่งทำให้น้ำมันมีสีแดง ทำให้ง่ายต่อการมองเห็นชั้นน้ำมัน) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ทำให้เกิดอิมัลชันด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์แบบใบพัดโดยใช้ความเร็วของใบพัด 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตความสามารถในการเกิดอิมัลชันของสารละลายโปรตีนแต่ละความเข้มข้น (emulsifying activity, % EA) ภายหลังจากทำการโฮโมจิไนซ์ทันที พบว่าโปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่ทุกความเข้มข้น เนื่องจากระหว่างการโฮโมจิไนซ์ไขมันจะมีขนาดลดลง โปรตีนซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลแอมฟิฟิลิก (amphiphilic molecule) จะถูกดูดซับที่ผิวร่วมระหว่างน้ำและน้ำมัน เนื่องจากมีทั้งส่วนมีขั้วซึ่งกระจายได้ดีในน้ำและส่วนไม่มีขั้วซึ่งกระจายได้ดีในน้ำมันแล้วทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์หรือเป็นตัวประสานระหว่างน้ำและน้ำมันซึ่งปกติจะไม่สามารถรวมตัวกันได้ ทำให้เกิดระบบอิมัลชัน (Zayas, 1997) จากนั้นวิเคราะห์ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันต่อทันทีโดยการเทอิมัลชันใส่กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ตั้งอิมัลชันทิ้งไว้ 180 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วอ่านปริมาตรส่วนที่ยังคงเป็นอิมัลชันจากสเกลปริมาตรของกระบอกตวง แล้วคำนวณความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsifying stability, % ES) จากสูตรต่อไปนี้ ได้ผลดังตารางที่ 18

$$\% ES = \frac{\text{ปริมาตรอิมัลชันที่ยังคงตัวอยู่เมื่อตั้งทิ้งไว้ 180 นาที}}{\text{ปริมาตรอิมัลชันที่เวลา 0 นาที}} \times 100$$

ตารางที่ 18 ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability, % ES) ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรทและโปรตีนไอโซเลทความเข้มข้นต่างๆ

ผลิตภัณฑ์โปรตีน	ความสามารถในการรักษาความคงตัว, %		
	โปรตีน 1 %	โปรตีน 2 %	โปรตีน 4 %
แป้งโปรตีน	20.26	30.00	41.70
โปรตีนคอนเซนเตรท	51.46	59.97	88.31
โปรตีนไอโซเลท	48.02	48.78	54.00

เมื่อใช้โปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 1 แป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลทมีความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน หลังจากตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 180 นาที 20.26, 51.46 และ 48.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของระบบอิมัลชันที่ถูกทำให้คงตัวด้วยโปรตีนแต่ละแบบพบว่าเมื่อเวลาผ่านไประบบอิมัลชันเริ่มไม่คงตัวโดยระบบอิมัลชันที่ใช้แป้งโปรตีนมีการตกตะกอนของโปรตีนบางส่วนลงสู่ด้านล่าง เกิดการแยกเฟสของชั้นน้ำและชั้นอิมัลชัน โดยน้ำมีความหนาแน่นมากกว่าจะอยู่ชั้นล่างส่วนอิมัลชันมีความหนาแน่นน้อยกว่าจึงอยู่ชั้นบน นอกจากนี้ยังพบหยดน้ำมันขนาดต่างๆ กระจายอยู่ทั่วไปในชั้นอิมัลชันโดยหยดน้ำมันขนาดใหญ่จะอยู่กันอย่างหนาแน่นที่ส่วนบนของชั้นอิมัลชัน ส่วนหยดน้ำมันขนาดรองลงมาจะอยู่คั่นหล่นลงมาจากหยดน้ำมันขนาดใหญ่ ส่วนระบบอิมัลชันที่ใช้โปรตีนคอนเซนเตรทพบว่าโปรตีนบางส่วนที่ไม่สามารถละลายได้ตกตะกอนลงมา มีการแยกเฟสของน้ำออกจากชั้นอิมัลชันแต่ไม่พบหยดน้ำมันในชั้นอิมัลชัน และระบบอิมัลชันที่ใช้โปรตีนไอโซเลทพบว่าโปรตีนที่ไม่สามารถละลายได้ตกตะกอนลงมาและมีการแยกเฟสน้ำออกจากระบบอิมัลชันเช่นเดียวกัน แต่มีหยดน้ำมันขนาดเล็กปริมาณเพียงเล็กน้อยลอยตัวอยู่ส่วนบนของชั้นอิมัลชัน

การตกตะกอนของโปรตีนเนื่องจากโปรตีนบางส่วนไม่สามารถละลายได้ในน้ำที่ pH 7 ซึ่งเป็น pH ที่ทำการทดลองดังนั้นโปรตีนส่วนนี้จึงมีแนวโน้มที่จะเกิดปฏิสัมพันธ์ด้วยกันกับโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเองจึงตกตะกอนออกมา ไม่สามารถทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ แต่ยังคงมีโปรตีนอีกส่วนที่สามารถละลายได้ที่ pH 7 ซึ่งโปรตีนส่วนนี้จะถูกดูดซับที่ผิวระหว่างน้ำและน้ำมันแล้วทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์หรือตัวประสานระหว่างน้ำและน้ำมัน ทำให้อิมัลชันคงตัวอยู่ได้ ดังนั้นความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันจึงเกี่ยวข้องกับความสามารถในการละลายของโปรตีนด้วยโดยโปรตีนที่มีความสามารถในการละลายสูงจะมีความสามารถในการรักษา

ความคงตัวของอิมัลชันสูงตามไปด้วย (Bera, 1989) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองเนื่องจากที่ pH 7 โปรตีนคอนเซนเตรทมีความสามารถในการละลายสูงสุทธองลงมาคือโปรตีนไอโซเลทและแป้งโปรตีน ตามลำดับ ดังนั้น โปรตีนดังกล่าวจึงมีความสามารถในการรักษาความคงตัวเรียงลำดับตามความสามารถในการละลายของโปรตีนนั้น ๆ ด้วย

ความไม่คงตัวของระบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำเกิดจากปรากฏการณ์การเกาะกลุ่มกันของเม็ดไขมัน (floculation) การหลอมรวมของหยดน้ำมัน (coalescence) การลอยตัวสู่ด้านบนของหยดน้ำมัน (creaming) เนื่องจากมีความหนาแน่นน้อยกว่าเฟสต่อเนื่อง และการแยกตัวของน้ำมัน (oiling off) (Hill, 1996)

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีน ทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัวมากขึ้นจึงเกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวข้างต้น เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนที่ผิวร่วมระหว่างน้ำและน้ำมันหนาขึ้นจึงชะลอการเกิดการเกาะกลุ่มกันของเม็ดไขมันซึ่งเกิดจากการชนกันและเกาะติดขณะเคลื่อนที่แบบบราวเนียน ทำให้อิมัลชันมีความคงตัวนานขึ้น ดังนั้นเมื่อครบเวลา 180 นาที ระบบอิมัลชันของแป้งโปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 2 แม้ว่าจะยังคงพบหยดน้ำมันขนาดเล็กและใหญ่กระจายอยู่ทั่วไปในชั้นอิมัลชันแต่หยดน้ำมันมีขนาดเล็กกว่าและชั้นของหยดน้ำมันบางกว่าระบบอิมัลชันที่ใช้แป้งโปรตีนความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยหยดน้ำมันขนาดใหญ่กว่ายังคงเกาะกลุ่มกันอย่างหนาแน่นที่ด้านบนของชั้นอิมัลชันส่วนหยดน้ำมันขนาดรองลงมาจะอยู่ถัดลงมา มีค่าความสามารถในการรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันสูงขึ้น (30 เปอร์เซ็นต์) ส่วนระบบอิมัลชันของโปรตีนคอนเซนเตรทความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่ายังคงมีโปรตีนบางส่วนที่ไม่สามารถละลายได้ตกตะกอนลงมา มีการแยกเฟสของน้ำออกจากชั้นอิมัลชันแต่ไม่มีเม็ดไขมันอิสระแยกตัวออกจากระบบอิมัลชัน ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันมีค่า 59.97 เปอร์เซ็นต์ ระบบอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลทความเข้มข้นร้อยละ 2 มีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับเมื่อใช้ความเข้มข้นร้อยละ 1 คือมีโปรตีนที่ไม่สามารถละลายได้ตกตะกอนลงมาเป็นชั้นแต่หนากว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 เกิดการแยกเฟสน้ำออกจากระบบอิมัลชันและมีเม็ดไขมันอิสระขนาดเล็กปริมาณเพียงเล็กน้อยแยกตัวออกจากชั้นอิมัลชันลอยอยู่ด้านบน และมีความสามารถในการรักษาความคงตัว 48.78 เปอร์เซ็นต์ซึ่งใกล้เคียงกับความเข้มข้นร้อยละ 1 อาจเนื่องมาจากที่ความเข้มข้นของโปรตีนไอโซเลทร้อยละ 1 และ 2 มีโปรตีนที่ละลายได้และที่ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในปริมาณใกล้เคียงกัน

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนในระบบอิมัลชันเป็นร้อยละ 4 พบว่าความสามารถในการรักษาความคงตัวของโปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่าสูงขึ้นโดยแป้งโปรตีน มีค่าร้อยละ 41.70 จึงพบการเปลี่ยนแปลงของระบบอิมัลชันน้อยลง แต่ยังคงมีการตกตะกอนของโปรตีนและการแยกชั้นระหว่างชั้นน้ำและชั้นอิมัลชัน ยังคงพบเม็ดไขมันขนาดเล็กปริมาณเพียงเล็กน้อยกระจายอยู่ทั่วไปในชั้นอิมัลชัน มีหยดน้ำมันขนาดใหญ่กว่าปริมาณเล็กน้อยลอยอยู่ส่วนบนภายในชั้นอิมัลชัน ส่วนความสามารถในการรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันของโปรตีนคอนเซนเตรทความเข้มข้นร้อยละ 4 มีค่าร้อยละ 88.31 ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 เนื่องจากมีการตกตะกอนของโปรตีนเพียงเล็กน้อย แสดงว่าโปรตีนส่วนใหญ่สามารถละลายน้ำได้ดีและทำให้มีปริมาณโปรตีนทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ผิวร่วมระหว่างน้ำและน้ำมันมากจึงพบการแยกของชั้นน้ำออกจากชั้นอิมัลชันเพียงเล็กน้อย และไม่พบหยดน้ำมันอิสระในชั้นอิมัลชันแสดงว่าระบบอิมัลชันมีความคงตัวดี ส่วนระบบอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลทความเข้มข้นร้อยละ 4 มีความสามารถในการรักษาความคงตัวสูงขึ้นเล็กน้อยเป็นร้อยละ 54.00 พบตะกอนโปรตีนเป็นชั้นหนาตามความเข้มข้นที่สูงขึ้นของโปรตีนที่ใช้ และมีการแยกเฟสน้ำออกจากระบบอิมัลชัน มีหยดน้ำมันอิสระขนาดเล็กปริมาณเพียงเล็กน้อยลอยอยู่ด้านบนของชั้นอิมัลชัน แสดงว่าแม้จะใช้โปรตีนความเข้มข้นสูงขึ้นแต่โปรตีนที่สามารถละลายได้และทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย จึงทำหน้าที่ในการรักษาความคงตัวได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

จากการวัดความสามารถในการรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันของผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ สรุปว่าผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันแตกต่างกันขึ้นกับปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีน Zayas (1997) กล่าวว่าความคงตัวของอิมัลชันมีอิทธิพลเนื่องมาจากปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์โปรตีน นอกจากนี้ความสามารถในการรักษาความคงตัวยังขึ้นกับความสามารถในการละลายของโปรตีนในสถานะที่ทำการทดสอบโดยที่ความเข้มข้นเดียวกันโปรตีนคอนเซนเตรทมีความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันสูงสุด รองลงมาคือโปรตีนไอโซเลท และแป้งโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีการละลายของโปรตีนทั้ง 3 ชนิดที่ pH 7 ซึ่งเป็น pH ที่ทำการทดสอบ โดยโปรตีนชนิดที่มีความสามารถในการละลายสูงกว่า จะทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดีกว่าเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในการประสานน้ำและไขมันสูงกว่า จึงช่วยรักษาความคงตัวของอิมัลชันได้ในระยะเวลายาวนานกว่า ดังนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนพบว่า ความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันมีค่าสูงขึ้นเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ผิวร่วมเป็นชั้นหนากว่า

สรุป

1. การบดและการร่อนเป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนในส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงได้ โดยส่วนกากธัญชาติที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าจะมีโปรตีนสูงกว่า

2. การบดและการร่อนกากธัญชาติผ่านตะแกรงขนาด 140 เมช ให้ผลผลิตแป้งโปรตีนที่มีลักษณะเป็นผงเนื้อเนียนละเอียด มีความชื้นร้อยละ 6.36 ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 38.36, 13.22, 7.30, 2.74 และ 38.38 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

3. การเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรทโดยการสกัดโปรตีนจากแป้งโปรตีนที่เตรียมจากการบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 140 เมช สกัดที่ pH 12 นาน 60 นาที แล้วทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ผลผลิตร้อยละ 16.47 เทียบกับแป้งโปรตีน วิธีการนี้สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตโปรตีนได้ร้อยละ 19.80 เมื่อเทียบกับโปรตีนในแป้งโปรตีน โปรตีนดังกล่าวประกอบด้วย ความชื้นร้อยละ 6.09 โดยน้ำหนักสด และประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 50.26, 13.07, 2.11, 14.89 และ 19.67 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

4. การเตรียมโปรตีนไอโซเลทโดยใช้สภาวะในการสกัดเช่นเดียวกับการเตรียมโปรตีนคอนเซนเตรท จากนั้นแยกโปรตีนโดยทำให้ตกตะกอนที่ pH 4 แล้วทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ผลผลิตร้อยละ 13.78 เทียบกับแป้งโปรตีน วิธีการนี้สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตโปรตีนได้ร้อยละ 24.57 เมื่อเทียบกับโปรตีนในแป้งโปรตีน โปรตีนดังกล่าวมี ความชื้น ร้อยละ 4.70 โดยน้ำหนักสด และประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 67.30, 18.82, 1.28, 3.369 และ 9.24 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

5. ผลึกภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีกรดอะมิโนกลูตามิกสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ แป้งโปรตีนมีกรดอะมิโนจำเป็นได้มาตรฐานตามที่ FAO/WHO กำหนดทั้งสี่ชนิด ไลซีน ส่วนโปรตีนคอนเซนเตรทมีกรดอะมิโนจำเป็นชนิดไอโซลิวซีน ลิวซีน เฟนิลอะลานีน และไทโรซีนสูงกว่าค่ามาตรฐาน และโปรตีนไอโซเลทมีเฟนิลอะลานีน และไทโรซีนสูงกว่าค่ามาตรฐานที่ร่างกายต้องการ

6. แป้งโปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุดในทุก pH ในช่วง pH 3-8 โปรตีนคอนเซนเตรทมีความสามารถในการละลายสูงสุด และช่วง pH ต่ำกว่า 3 และสูงกว่า 8 โปรตีนไอโซเลทมีความสามารถในการละลายสูงสุด

7. โปรตีนไอโซเลทมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูงที่สุด ถึง 4.69 กรัมของน้ำต่อกรัมของตัวอย่าง รองลงมาคือโปรตีนคอนเซนเตรทและแป้งโปรตีนซึ่งมีค่า 4.10 และ 3.63 กรัมของน้ำต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ

8. ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของผลิตภัณฑ์โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน แต่มีแนวโน้มตรงข้ามกับความสามารถในการดูดซับน้ำ โดยแป้งโปรตีนมีค่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันสูงสุด รองลงมาคือโปรตีนคอนเซนเตรท และโปรตีนไอโซเลท ซึ่งมีค่า 2.54, 2.46 และ 2.2 กรัมของน้ำต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ

9. โปรตีนทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันและมีความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันโดยโปรตีนคอนเซนเตรทมีความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันสูงสุด รองลงมาคือโปรตีนไอโซเลท และแป้งโปรตีน และเมื่อใช้ความเข้มข้นของโปรตีนสูงขึ้นความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันจะสูงขึ้นตามลำดับ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2534. ข้าวบาร์เลย์ พืชเมืองหนาวในประเทศไทย. เอกสารเศรษฐกิจการเกษตร (70).

คุณิ ธนะบริพัฒน์. 2538. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2. โครงการตำรา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิรนาม. 2548. คาร์ลสเบอร์กคืนถิ่นเวทิดอดจับสิ่งที่เป็นพันธมิตร. หนังสือพิมพ์รายสัปดาห์ ประชาชาติธุรกิจ. ฉบับที่ 3744: 28-30 พฤศจิกายน 2548.

น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป. 2547. การปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิฑูรย์ ชันธุกุล. 2538. เอกสารวิชาการการปลูกข้าวบาร์เลย์. เอกสารประกอบการฝึกอบรมการปลูกข้าวบาร์เลย์. บริษัทบุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด, กรุงเทพฯ. 22 น.

ศิริรัตน์ สาโพธิ์สิงห์. “วไรตี้”. เดลินิวส์ (20 มกราคม 2540): 5.

ศิริวัลย์ รัตนนาคินทร์. 2530. การใช้กากเหลือจากอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มบางชนิดแทนวัตถุดิบอาหารเพื่อเลี้ยงปลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2532. เคมีทางโภชนาการ. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 148 น.

อรพิน ภูมิภมร. 2526. ระบบชีวภาพที่สำคัญต่อเทคโนโลยีชีวภาพ เล่ม 2: จุลินทรีย์ในเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์และอาหารหมักพื้นเมือง. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อาภัสสรฯ ชูเทศะ. 2536. **ปฏิบัติการชีวเคมี**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

A.A.C.C. 1983. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 8th ed. American Association of Cereal Chemists Inc., Minnesota.

A.O.A.C. 1990. **Official Method of Analysis**. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Bera, M.B. and R.K. Mukherjee. 1989. Solubility emulsifying and foaming properties of rice bran protein concentrates. **J. Food Sci.** 54: 142-145.

Brennan, C.S., L.J. Cleary, 2005. The potential use of (1→3,1→4)-β-D-glucans as functional food ingredients. **J. Cereal Sci.** 42: 1-13.

Briggs, D.E. 1978. **Barley**. Chapman & Hall, London.

Briggs, D.E. and J.S. Hough. 1981. **Malting and Brewing Science**. Chapman and Hall.

Betschart, A.A., R.Y. Fong and R.M. Saunders. 1977. Rice by-products: comparative extraction and precipitation of nitrogen from U.S. and Spanish bran and germ. **J. Food Sci.** 42(4): 1088-1093.

Beuchat, L.R. 1977. Functional and electrophoretic characterizations of succinylated peanut flour protein. **J. Agric. Food Chem.** 25 (2): 258-261.

Chen, L. and D.F. Houston. 1970. Solubilization and recovery of protein from defatted rice bran. **Cereal chem.** 47: 72-79.

- Chaudhary, V.K. and F.E. Weber. 1990. Dietary fiber ingredients obtained by processing brewer's dried grain. **J. Food Sci.** 55(2): 551-553.
- Cheftel, J.C., J.L. Cuq and D. Lorient. 1985. Amino acid, peptides and protein, pp. 282-310. *In* O.R. Fennema (ed.). **Food Chemistry**. 3rd ed. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Cohen, S.A. and D.P. Michaud. 1993. Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate, and its application for analysis of hydrolysate amino acid via High-Performance Liquid Chromatography. **Analytical Biochem.** 211: 279-287.
- Damodaran, S. 1996. Amino acid, Peptides, and proteins, pp.321-430. Cited O.R. Fenema. (ed.). 1980. **Food Chemistry**. 3rd ed. Marcel Dekker, Inc., New York.
- DE Groot, A.P. and P. Slump. 1969. Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutritive value. **J. Nutrition.** 98: 45-56.
- Dreese, P.C. and R.C. Hoseney. 1981. **Method of Removing Hull from Brewer's Spent Grain**. U.S. patent 4,377,601.
- Duffus, C.M. 1987. **Physiological Aspects of Enzymes during Grain Development and Germination**, pp. 83-116. Cited J.E. Kruger, D. Lineback and C.E. Stauffer (eds.). 1987. **Enzymes and their Role in Cereal Technology**. American Association of Cereal Chemists Inc., Minnesota.
- Etokakpan, O.U. 1992. Comparative studies of the degradation of non-starchy polysaccharides by sorghums and barleys during malting. **J. Sci. Food Agric.** 58: 129-134.
- Etokakpan, O.U and G.H. Palmer. 1994. Properties of endosperm cell walls isolated from unmalted and malted grains of barley and sorghums. **Process Biochem.** 29: 559-563.

- Erwin, V.,I. Alli, J.P. Smith and Z. Li. 1989. Extraction and precipitation of proteins from brewer's spent grain. **Can. Inst. Food Sci. Technol. J.** 22(3): 216-221.
- FAO/WHO. 1973. **Energy and protein requirements.** FAO nutrition meeting report series no. 52, WHO Technical report series No. 522, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Finley, J.E. and M.M. Hanamoto. 1980. Milling and baking properties of dried brewer's spent grains. **Cereal Chem.** 57: 166. *In* Erwin, V.,I. Alli, J.P. Smith and Z. Li. 1989 Extraction and precipitation of proteins from brewer's spent grain. **Can. Inst. Food Sci. Technol. J.** 22(3): 216-221.
- Friedman, M. 1985. **Effects of lysine modification on chemical, physical, nutritive, and functional properties of proteins.** pp. 446-483. *In* J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.). **Foods Protein.** AVI Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut
- Hill, S.E. 1996. **Emulsion.** pp. 153-182. *In* Hall, G.M. 1996. **Methods of Testing Functionality.** Blackie Academic and Professional, London.
- Hockett, E.A. and Nilan, R.A. 1985. **Genetics: Barley.** ASA Mono. 26, Am. Soc. Madison, WI, Agron.
- Hoseney, R.C. 1986. **Principles of Cereal Science and Technology.** American Association of cereal Chemists, USA.
- Lin, M.J., E.S. Humbert, F.W. Sosulki. 1975. Certain functional properties of sunflower meal products. **J. Food Sci.** 193: 265-275.
- Liu, D.J. and Pomeranz. 1975. Distribution of minerals in barley and the cellular level by X-ray analysis. **Cereal Chem.** 52: 620-629.

- Ishiwaki, N., H. Murayama, O. Kanauchi, T. Sato. 2000. Development of high value uses of spent grain by fractionation technology. **MBAA Technical Quarterly**, 37: 261-265.
- Juliano, B.O. 1985. **Rice: Chemistry and Technology**. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- Junnila, M., J. Koivurinta, R. Kurkela and P.Koivistoinen. 1981. Functional properties of brewer's spent grain, brewer's yeast and disstilller's stillage in food systems. Applications to sausages and meatball. **Fleischwirtschaft**. 61: 1024.
- Kanauchi, O., K. Agata. 1997. Protein and dietary fiber-rich new food stuff from brewer's spent grain increased excretion of feces and jejunum mucosal protein content in rats. **Bioscience, Biotechniloy and Biochemistry**. 61: 29-33.
- Kent, N.L. 1983. **Technology of Cereals**. 3rd ed Pergamon Press Ltd.
- Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of food proteins: A review. CRC Crit. Rev. **Food Sci. Nutr**. 7: 219-280.
- Kohle, G.O. and C.K. Lyon, 1977. **Plant protein source**. pp. 516-541. In J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.). **Foods Protein**. AVI Pulb. Co. Inc., Westport, Connecticut.
- Liadakis, G.N., C Tzia, V. Oreopoulou and C.D. Thomopoulos. 1995. Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. **J. Food Sci**. 60(3): 477-480.
- Lasztity, R. 1996. **The Chemistry of Cereal Proteins**. 2nd ed. CRC Press, Inc., Florida.
- Lawal, O.S. 2004. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobossa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. **Food Chem**. 86: 345-355.

- Lqari, H., J. Vioque, J. Pedroche and F. Millan. 2002. *Lupinus angustifolius* protein isolate: chemical composition, functional properties and protein characterization. **Food Chem.** 76: 349-356. Cited Kolar, C.W., Richert, S.H., Decker, C.D., Steinke, F.H. and R.J. Vander. 1985. Isolated soy proteins. **New Proteins Food Vol. 5**. New York: Academic Press.
- Lqari, H., J. Vioque, J. Pedroche and F. Millan. 2002. *Lupinus angustifolius* protein isolate: chemical composition, functional properties and protein characterization. **Food Chem.** 76: 349-356. Cited Fernandez-Quintela, A. , Larralde, J., Macarulla, M.T., Marcos, R. and J.A. Martinez. 1993. Leguminosas y concentrados de proteina: Nuevas perspectivas y aplicaciones, **Alimentaria, Febrero**, 59-63.
- McCleary, B.v., E. Nurthen. 1986. Measurement of (1→3,1→4)-β-D-glucan in malt, wort and beer. **Journal of institute of Brewing.** 92: 168-173.
- Mwasaru, M.A., K. Muhammad, J. Baker and Y.B.C. Man. 1999a. Effect of isolation technique and conditions on the extractability, physical and functional properties of pigeonpea (*Cajanus cajan*) protein isolates. I physicochemical properties. **Food Chem.** 67: 435-443.
- Mwasaru, M.A., K. Muhammad, J. Baker and Y.B.C. Man. 1999a. Effect of isolation technique and conditions on the extractability, physical and functional properties of pigeonpea (*Cajanus cajan*) protein isolates. II physicochemical properties. **Food Chem.** 67: 445-452.
- McNeil, M., P. Albersheim, P. Taiz and R.L. Jones. 1975. The structure of plant cell walls VII. Barley aleurone cells. **Plant Physiol.** 55 (64): 64-68.
- Mussatto, S.I., G. Dragone, I.C. Roberto. 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **J. Cereal Sci.** 43: 1-14.

- Mussatto, S.I., G. Dragone, I.C. Roberto. 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **J. Cereal Sci.** 43: 1-14. Cited Brennan, C.S. and L.J. Cleary. 2005. The potential use of (1→3, 1→4) -β-D-glucana as functional food ingredients. **J. Cereal Sci.** 42: 1-13.
- Ogbonna, A.C. and A.L. Egunwu. 1994. β-glucan degradation in malting sorghum. **World J. of Microbiol and Biotechnol.** 10: 595-596.
- Ozturk, S., O.Ozboy, I. Cavidoglu and H. Koksel. 2002. Effect of brewer's spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. **J. Inst. Brew.** 108 (1): 23-27.
- Palmer, G.H. 1980. **The Morphology and Physiology of Malting Barleys**, pp. 301-308. Cited E.I. George and L. Munck (eds.). 1980. **Cereal for Food and Beverages**. Academic Press, New York.
- Pearce, K.N. and J.E. Kinsella. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of turbidimetric technique. **J. Agric. Food Chem.** 26: 16-722.
- Pomeranz, Y. 1985. **Functional Properties of Food Components**. Academic Press, U.S.A. 820 p.
- Prentice, N. and B.L. D'apponia. 1977. High fiber bread containing brewer's spent grain. **Cereal Chem.** 54: 1084-1095.
- Reed, G. and T.W. Nagadawithana. 1991. **Yeast Technology**. 2nd ed. AVI Publ. Co. Inc., New York.
- Tornberg, E. and A.M. Hermansson. 1977. Functional characterization of protein stabilized emulsions: effect of processing. **J. Food Sci.** 42: 468-472.

- Vassel, B., S.J. Stephens and P.R. Celusta-Howard. 1949. Solubility studies on the nitrogenous constituents of spent brewer's grains. **Cereal Chem.** 26: 182.
- Vietor, R.J., A.G.J. Voragen, S.A.G.F. Angelino. 1993. Composition of non-starch polysaccharides in wort and spent grain from brewing trials with malt and spent grain from brewing trials with malt from a good malting Quality barley and a feed barley. **Journal of the Institute of Brewing** 99: 243-248.
- Wolf, W. J. 1977. **Legums: seed composition and structure, processing into protein products and protein properties**, pp. 291-314. In J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.). **Foods Protein**. AVI Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut.
- Wu, Y.V. 1978. Protein concentrate from normal and high-lysine Sorghum : preparation composition and properties. **J. Agric. Food Chem.** 26(2): 305-309.
- Wu, Y.V, R.S. Kenneth and J.E. Sanderson. 1979. Barley protein concentrate from high-protein high-lysine varieties. **J. Food Sci.** 44:1580-1583.
- Xu, L. and L.L. Diosady. 2000. Interaction between canola proteins and phenolic compounds in aqueous media. **Food Res. Int.** 33 (9): 725-731.
- Yasumatsu, K., K. Sawada, S. Moritaka, M. Misaki, J. Toda, T. Wada and K. Ishii. 1972. Whipping and emulsifying properties of soybean products. **Agric. Biol. Chem.** 37: 719.
- Zayas, J.F. 1997. **Functionality of Proteins in Food**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1.1 การวิเคราะห์ความชื้น (A.O.A.C., 1990)

ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ลงในภาชนะหาความชื้น (moisture can) ที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักแน่นอน นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในเคชเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนัก แล้วนำไปอบซ้ำตามขั้นตอนเดิม จนน้ำหนักต่างกันไม่เกิน 0.005 กรัม คำนวณปริมาณความชื้น

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

1.2 การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีเจลดัลคาล (โดยใช้เครื่องของ Buchi Kjeldahl System และดัดแปลงวิธีของ AOAC. (1990))

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5-1 (± 0.005) กรัม สำหรับตัวอย่างของแข็ง และ 5 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างของเหลว ลงในหลอดย่อย จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน เติมสารแอนไฮดรัสโปแตสเซียมซัลเฟต 6.5 กรัม และ แอนไฮดรัสคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม เติมกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตร และลูกแก้วกันกระเด็น 2-3 เม็ด แล้วนำไปย่อยโดยใช้ชุดย่อย จนได้สารละลายสีเขียวใส เมื่อเย็นลงเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร แล้วนำไปกลั่นด้วยชุดกลั่น โดยเติมสารละลายด่างความเข้มข้นร้อยละ 32 จากเครื่องกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร หรือจนกระทั่งสารละลายในหลอดย่อยมีสีน้ำเงินหรือสีน้ำตาล ทำการกลั่นเป็นเวลา 3 นาที ใช้สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร เป็นสารรองรับสิ่งที่กลั่นได้ จากนั้นทำการไทเทรตด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง (โดยทั่วไปใช้ 0.1 นอร์มัล) จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเทาบันทึกปริมาณกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต คำนวณปริมาณไนโตรเจนและโปรตีนจากสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(V1-V2) \times N \times f \times 1400}{E}$$

E

เมื่อ	V1	คือ	ปริมาณกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
	V2	คือ	ปริมาณกรดที่ใช้ในการไทเทรตแบลนก์ (มิลลิลิตร)
	N	คือ	ความเข้มข้นของกรดเป็นนอร์มัล
	f	คือ	ค่าแฟกเตอร์ของกรด
	E	คือ	ปริมาณตัวอย่างเป็นมิลลิกรัมหรือมิลลิลิตร

โดยที่ f หาได้จากการไทเทรตสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล กับ Tris Buffer ซึ่งเตรียมจาก Tris (hydroxymethyl amino methane) 120 มิลลิกรัม ละลายน้ำ 200 มิลลิลิตร แล้วคำนวณค่า f จากสูตรต่อไปนี้

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

เมื่อ	E	คือ	น้ำหนักของ Tris เป็นมิลลิกรัม
	N	คือ	นอร์มัลของกรด
	V	คือ	ปริมาณกรดที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

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

$$\text{โดยที่ conversion factor} = 6.25$$

1.3 การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต (biuret method) ตามวิธีการของ อาภัสสร (2536)

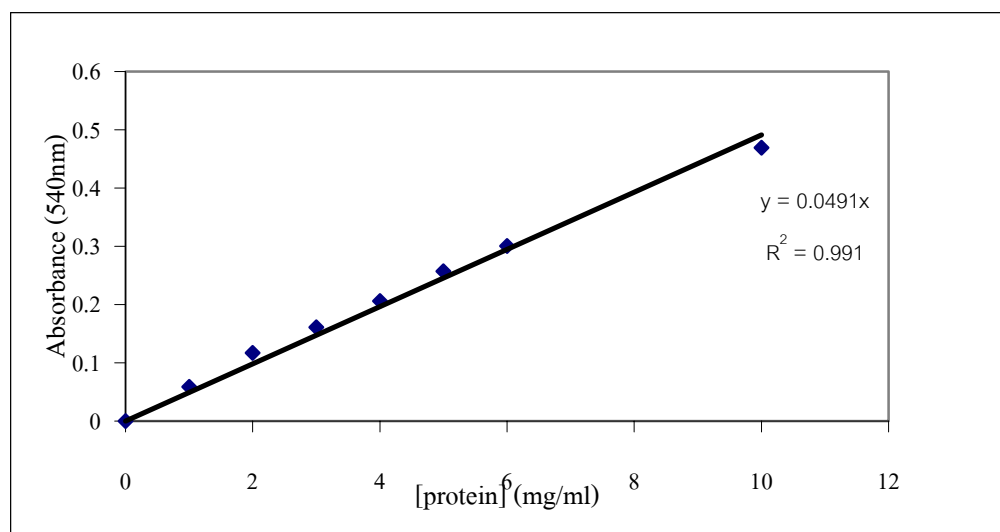
1.3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายดังกล่าวให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บรรจุสารละลายโปรตีนมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นในปริมาณหลอดละ 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรต 4 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน ทิ้งไว้ 20 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ทำ 3 ซ้ำ หากค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่า 0.8 ควรทำการเจือจางสารละลายโปรตีนนี้ก่อนใช้ ถ้าค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่า 0.05 ควรเตรียมสารละลายโปรตีนให้เข้มข้นขึ้น

เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดังกล่าว ดังภาพภาคผนวกที่ ก 1

1.3.2 การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต

บรรจุสารละลายโปรตีน 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเติมสารละลายไบยูเรต 4 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน ทิ้งไว้ 20 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ทำ 3 ซ้ำ หากค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่า 0.8 ควรทำการเจือจางสารละลายโปรตีนนี้ให้มีความเข้มข้นลดลงก่อนทำให้เกิดปฏิกิริยากับสารละลายไบยูเรต ถ้าค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่า 0.05 ควรเตรียมสารละลายโปรตีนใหม่ให้เข้มข้นขึ้น หาปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนกับกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1.3.1



ภาพภาคผนวกที่ ก.1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ความเข้มข้นต่างๆ

1.4 การวิเคราะห์ไขมัน โดยใช้เครื่อง Tecator 1043 Soxtec Sytsem HT6 และดัดแปลงจากวิธีของ AOAC. (1995)

เปิดเครื่องทำน้ำเย็นให้มีอุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส เปิดสวิทช์ให้น้ำไหลเข้าเครื่องสกัด ตั้งอุณหภูมิที่เครื่อง Thermostatic cut-out เท่ากับ 100 องศาเซลเซียส โดยยังไม่เปิดสวิทช์หลัก ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างแห้งให้รู้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำตัวอย่างที่ห่อเสร็จแล้วใส่ในทิมเบล (thimble) นำเข้าเครื่องสกัด โดยใช้ thimble holder จากนั้นเลื่อนปุ่มบังคับทิมเบลมาที่ตำแหน่ง boiling แล้วทำการสกัดด้วยสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในถ้วยสกัด (extraction cup) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน โดยเปิดเครื่อง Thermostatic cut-out เปิดก๊อทดั่วทำลาย สกัดเป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาเลื่อนปุ่มบังคับทิมเบลมาที่ตำแหน่ง rinsing ทำการชะด้วยสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลา ทำการระเหยตัวทำลายเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ โดยปิดก๊อก เลื่อนปุ่มระเหย (evaporation) ลง เปิดไว้ประมาณ 10 นาที จากนั้นนำถ้วยสกัดที่มีไขมันอยู่ไปทำการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ให้ได้น้ำหนักคงที่ คำนวณปริมาณไขมันที่สกัดได้

$$\text{ปริมาณไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}} \times 100$$

1.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 – 5 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ในครุชชีเบลที่ทราบน้ำหนัก ก่อนนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่ง น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังเผา คำนวณปริมาณเถ้า จากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า} = \frac{(a-b)}{W} \times 100$$

เมื่อ a คือ น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)
 b คือ น้ำหนักครุชชีเบลและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)
 W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

1.6 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ โดยใช้เครื่อง Fibertec system M และดัดแปลงจาก วิธีของ AOAC. (1995)

อบด้วยครุชชีเบลที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่างที่กำจัดไขมันแล้วใส่ในครุชชีเบล (W) ประมาณ 1-3 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน วางครุชชีเบลในตำแหน่งให้ตรงกับคอนเดนเซอร์ด้านบน กดกลานลือคให้สนิท เติมน้ำละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.255 นอร์มัล ที่ต้มเดือดแล้ว ลงในคอนเดนเซอร์ประมาณ 150 มิลลิลิตร เปิดสวิทช์ ตั้งเวลาและอุณหภูมิขณะทำการย่อยตัวอย่าง ปรับปุ่มที่เครื่องมาที่ตำแหน่ง close เมื่อครบเวลา เปิดปุ่ม vacuum สลับกับ pressure ล้างตัวอย่างด้วยน้ำเดือด เติมน้ำละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.313 นอร์มัล แล้วทำตามขั้นตอนเช่นเดียวกับการย่อยด้วยกรด นำด้วยครุชชีเบลออกจากเครื่อง นำกากไปอบไล่ความชื้นจนแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักกากและครุชชีเบลก่อนเผา (a) เเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักครุชชีเบลและเถ้าหลังเผาจนได้น้ำหนักที่ (b) คำนวณหาปริมาณเส้นใยหยาบ

$$\text{ปริมาณเส้นใยหยาบ} = \frac{(a-b)}{W} \times 100$$

เมื่อ a คือ น้ำหนักครุชิลและกากก่อนเผา (กรัม)
 b คือ น้ำหนักครุชิลและเถ้าหลังเผา (กรัม)
 W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

1.7 วิธีคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต (โดยผลต่าง)

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)} = 100 - (\% P + \% F + \% Fi + \% A)$$

โดย % P หมายถึง ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง
 % F หมายถึง ปริมาณไขมันเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง
 % Fi หมายถึง ปริมาณไขมันเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง
 % A หมายถึง ปริมาณเถ้าเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

2. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน (Cohen and Michaud, 1993)

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างปริมาณ 0.5 กรัม ย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมลาร์ อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการกรอง และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ผสมสารละลายดังกล่าว 2.5 มิลลิลิตร กับสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.5 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ 70 ไมโครลิตร เติม AccQ. Fluor reagent 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที นำไปวางใน block ที่ 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

2.2 สภาพของเครื่อง HPLC

ดีเทคเตอร์ : UV Detector Ex 250 nm, EM 395 nm, Jasco FP-920

เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) : DI, Acetonitrile, Eluent A (sodium acetate, phosphoric acid, triethylamide)

คอลัมน์ : AccQ Tag column for hydrolysate amino acid analysis

3. การวิเคราะห์ค่าสี

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนจากกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์มาบรรจุในภาชนะใส (petri dish) สำหรับวัดสีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 45 มิลลิเมตร สูง 16 มิลลิเมตร ให้เต็มพื้นที่ผิววัด แล้วนำมาวัดค่าสีด้วยเครื่อง Minolta CM-3500d โดยใช้แหล่งแสง day light 6500 Observe ที่ 10° ในระบบ CIE Lab (L^* a^* b^*)

L^* หมายถึง ค่าความสว่าง (lightness)

$L^* = 0$ (แสดงสีดำสมบูรณ์)

$L^* = 100$ (แสดงสีขาวสมบูรณ์)

a^* หมายถึง สีแดงหรือสีเขียว

a^* เป็น + แสดงค่าสีแดง

a^* เป็น - แสดงค่าสีเขียว

b^* หมายถึง สีเหลืองหรือสีน้ำเงิน

b^* เป็น + แสดงค่าสีเหลือง

b^* เป็น - แสดงค่าสีน้ำเงิน

4. การตรวจวัดคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

4.1 ดัชนีการละลายของโปรตีน (protein solubility index) ตามวิธีการซึ่งดัดแปลงจาก AACC (1983)

ผสมผงโปรตีน 1 กรัม กับน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ทำการกวนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หมุนเหวี่ยงที่ 1,300 x g เป็นเวลา 20 นาทีเพื่อแยกของแข็งและส่วนใสออกจากกัน นำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและคำนวณเป็นดัชนีการละลายของโปรตีนที่แต่ละ pH

$$\text{ดัชนีการละลายของโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในสารละลายสกัด 40 มิลลิลิตร} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง 1 กรัม}}$$

4.2 ความสามารถในการดูดซับน้ำ (water absorption capacity) ตามวิธีการของน้ำทิพย์ (2547)

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัมใส่หลอดหมุนเหวี่ยง เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำเข้าเครื่องเหวี่ยงแยก ทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 x g นาน 15 นาที เทส่วนใสออก และคว่ำหลอดเพื่อเทน้ำออกเป็นเวลา 30 นาที ซึ่งน้ำหนักหลอดที่มีตะกอน คำนวณความสามารถในการดูดซับน้ำ ดังนี้

$$\text{ความสามารถในการดูดซับน้ำ} = \frac{(\text{น้ำหนักหลอด} + \text{น้ำหนักตะกอน}) - \text{น้ำหนักหลอด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

4.3 ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน (oil absorption capacity) ตามวิธีการของน้ำทิพย์ (2547)

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัมใส่หลอดเซนติฟิวส์ เติมน้ำมัน 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที หมุนเหวี่ยงที่ 5,000 x g นาน 15 นาที เทส่วนใสออก และคว่ำหลอดเพื่อเทน้ำมันออกเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักหลอดที่มีตะกอน คำนวณความสามารถในการดูดซับน้ำมัน ดังนี้

$$\text{ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน} = \frac{(\text{น้ำหนักหลุด} + \text{น้ำหนักตะกอน}) - \text{น้ำหนักหลุด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

4.4 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity) และความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) ตามวิธีการของน้ำทิพย์ (2547)

เตรียมสารละลายโปรตีนให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ ปรับ pH ของสารละลายเป็น 7 นำสารละลายโปรตีนมา 30 มิลลิลิตร เติมน้ำมันถั่วเหลือง (มีการผสมสี oil red O เพื่อช่วยในการมองเห็นน้ำมันชัดเจนขึ้น) 20 มิลลิลิตร ทำให้เกิดอิมัลชันด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์แบบใบพัดโดยใช้ความเร็วของใบพัด 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หากไม่มีการแยกชั้นระหว่างสารละลายโปรตีนและน้ำมันทันทีภายหลังการโฮโมจิไนซ์ แสดงว่าโปรตีนนั้นมีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน จากนั้นเทอิมัลชันใส่กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ตั้งอิมัลชันทิ้งไว้ 180 นาที ที่อุณหภูมิห้อง อ่านปริมาตรส่วนที่คงสภาพอิมัลชันจากกระบอกตวง แล้วคำนวณความสามารถในการรักษาความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability, % ES) จากสูตร

$$\%ES = \frac{\text{ปริมาณอิมัลชันที่ยังคงตัวอยู่เมื่อตั้งอิมัลชันทิ้งไว้ 180 นาที}}{\text{ปริมาณสารละลายทั้งหมดในระบบอิมัลชันที่เวลา 0 นาที}} \times 100$$

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ข 1 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อปริมาณผลผลิตกาก
ธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด (ตารางที่ 6 และ 7)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	13576.03	2262.67	10707.61*
Error	7	1.48	0.21	
Total	13	13577.51		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 2 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) ในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด (ตารางที่ 6 และ 7)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	888.28	148.05	79.68*
Error	7	13.01	1.86	
Total	13	901.29		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อปริมาณโปรตีน (กรัม) ในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด (ตารางที่ 7)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	664.13	110.69	1576.28*
Error	7	0.49	0.07	
Total	13	664.62		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด
* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อการกระจายของโปรตีน (ร้อยละ) ในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด (ตารางที่ 7)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	11123.85	1853.98	1845.93*
Error	7	7.03	1.00	
Total	13	11130.88		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ ก่อนบด
* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 5 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อปริมาณผลผลิตกาก
ธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด (ตารางที่ 8 และ 9)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	3113.00	518.83	2294.85*
Error	7	1.58	0.23	
Total	13	3114.58		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 6 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) ในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด (ตารางที่ 8 และ 9)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	708.44	118.07	1204.65*
Error	7	0.69	0.0980	
Total	13	125.06		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๗ การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อปริมาณโปรตีน (กรัม) ในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด (ตารางที่ 9)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	124.97	20.83	1613.74*
Error	7	0.0904	0.0129	
Total	13	2122.89		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด
* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๘ การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาค ต่อการกระจายของโปรตีน (ร้อยละ) ในกากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด (ตารางที่ 9)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	6	2121.40	353.57	1660.49*
Error	7	1.49	0.21	

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบด
* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 9 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคกากัญชาติ ต่อปริมาณ
ผลผลิตโปรตีนจากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อน
เพียงอันเดียว (ตารางที่ 10)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	5	9279.43	1855.89	1.0767.61*
Error	6	1.03	0.17	

หมายเหตุ Treatment คือ กากัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อน
เพียงอันเดียว

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 10 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคกากัญชาติ ต่อปริมาณ
โปรตีน (ร้อยละ) จากการผลิตเบียร์ขนาดต่างๆ หลังบดและร่อนผ่านตะแกรง
ร่อนเพียงอันเดียว (ตารางที่ 10)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	5	218.73	43.75	945.68*
Error	6	0.28	4.63	

หมายเหตุ Treatment คือ กากัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อน
เพียงอันเดียว

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 11 การวิเคราะห์ทางสถิติ ความสามารถในการสกัดโปรตีนจากกากธัญชาติของ
การผลิตเบียร์ที่มีขนาดต่างกันที่ pH 12 เป็นเวลาต่างกัน (ตารางที่ 11)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Corrected model	9	533.333	6.667	16.061*
Intercept	1	43304.864	43304.864	10432.700*
Size	2	373.806	186.903	45.027*
Time	2	154.390	77.195	18.597*
Size*Time	4	5.138	1.284	0.309 ^{ns}
Error	18	74.716	4.151	
Total	26	608.049		

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 30, 80 และ 140 เมช

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{ns} ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ข 12 การวิเคราะห์ทางสถิติ ค่า L* ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และ
โปรตีนไอโซเลท (ตารางที่ 12)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	2	466.224	233.112	2695.456*
Error	3	0.259	0.08648	

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อน
เพียงอันเดียว

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 13 การวิเคราะห์ทางสถิติ ค่า a* ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และ โปรตีนไอโซเลท (ตารางที่ 12)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	2	7.453	3.727	1112.393*
Error	3	0.010	0.034	

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนเพียงอันเดียว

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ข 14 การวิเคราะห์ทางสถิติ ค่า b* ของแป้งโปรตีน โปรตีนคอนเซนเตรท และ โปรตีนไอโซเลท (ตารางที่ 12)

source	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean Square	F-Value
Treatment	2	75.169	37.585	1103.81*
Error	3	0.102	0.034	

หมายเหตุ Treatment คือ กากธัญชาติจากการผลิตเบียร์หลังบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนเพียงอันเดียว

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95