

การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะช่วยสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง
สำหรับผลิตผงโปรตีน



ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2564

การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะช่วยสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง
สำหรับผลิตผงโปรตีน



กัญญาวิทย์ คันทะมูล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

สำนักบริหารและพัฒนาระบบราชการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะช่วยสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง
สำหรับผลิตผงโปรตีน

กัญญาวิทย์ คันทะมุล

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะช่วยสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง สำหรับผลิตผงโปรตีน
ชื่อผู้เขียน	นางสาวกัญญาวิทย์ คันทะมุล
ชื่อปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ

บทคัดย่อ

กระบวนการผลิตผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองโดยทั่วไปจะมีขั้นตอนหลักอยู่ 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการสกัดโปรตีนและขั้นตอนการทำแห้ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการสกัดโปรตีนและวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมโดยได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ในส่วนแรกคือ การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ โดยจะเริ่มจากการหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ ซึ่งผลการศึกษาพบว่า เวลาการสกัดที่เหมาะสมในแต่ละแรงดันไฟฟ้าคือ 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีนและค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีค่าสูงที่สุด จากนั้นทำการศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่เวลาการสกัดที่เหมาะสมต่อสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ และร้อยละผลผลิตของโปรตีนที่สกัดได้ สมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ และรูปแบบของโปรตีน และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ได้แก่ ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง รวมทั้งความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด โดยผลการศึกษาพบว่า การสกัดโปรตีนที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีค่าสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนดีที่สุด ในขณะที่มีค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดน้อยที่สุด นอกจากนี้ผลของรูปแบบโปรตีนซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ยังแสดงให้เห็นว่า โปรตีนที่สกัดได้ที่สภาวะนี้มีโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนโกลูซินิน (7S) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่มากที่สุด จากนั้นทำการศึกษาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:5 1:10 1:15 และ 1:20 โดยมวลต่อปริมาตร โดยควบคุมสภาวะการสกัดที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาทีต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน โดยผลการศึกษาพบว่า การสกัดโปรตีนในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร มีค่าสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนดีที่สุด ดังนั้นผลการศึกษาในส่วนแรกจึงสามารถสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะคือ การใช้แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็น

เวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร ในการศึกษาส่วนที่สอง คือ การนำโปรตีนที่สกัดได้จากการศึกษาในส่วนที่หนึ่งมาศึกษาผลของวิธีการทำแห้งได้แก่ การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบสุญญากาศและการทำแห้งแบบพ่นฝอย ต่อสมบัติทางกายภาพได้แก่ ค่าสี ความชื้น ค่า a_w ขนาดอนุภาค และร้อยละผลผลิตของผงโปรตีน สมบัติทางเคมีได้แก่ ปริมาณโปรตีนและรูปแบบของโปรตีน และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนได้แก่ ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง โดยผลการศึกษาพบว่า วิธีการทำแห้งโปรตีนที่เหมาะสมที่สุดคือ การทำแห้งแบบพ่นฝอย เนื่องจากเป็นวิธีการที่ส่งผลให้ผงโปรตีนที่ได้มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงสุด ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนมีความสม่ำเสมอและขนาดเล็กที่สุด และมีค่าสี ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองดีที่สุดในขณะที่ความสามารถในการอุ้มน้ำมีค่าต่ำที่สุด โดยที่เมื่อความชื้นและค่า a_w เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อบแห้ง และมีโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) อยู่มากที่สุด ในการศึกษาส่วนที่สามคือ การเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพได้แก่ ร้อยละผลผลิตของโปรตีน สมบัติทางเคมีได้แก่ ปริมาณโปรตีน องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณและรูปแบบของโปรตีน และสมบัติเชิงหน้าที่ได้แก่ ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง ของผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมซึ่งใช้สารเคมีและวิธีการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่สภาวะที่เหมาะสมและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย รวมทั้งความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดทั้งสองวิธี โดยผลการศึกษาพบว่า ผงโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะมีสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีที่ดีกว่าโดยที่มีโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) มากกว่าและสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดีกว่า แต่มีค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะน้อยกว่าผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร ร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นกระบวนการที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง โดยที่มีสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่และความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะดีกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

คำสำคัญ : การสกัด, สมบัติเชิงหน้าที่, โปรตีนถั่วเหลือง, สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ, การทำแห้ง

Title	PULSED ELECTRIC FIELD ASSISTED EXTRACTION OF PROTEIN FROM SOYBEAN FOR PRODUCTION OF PROTEIN POWDER
Author	Miss Kanyawee Kanthamoon
Degree	Master of Engineering in Food Engineering
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Yardfon Tanongkankit

ABSTRACT

The production process used in the study consisted of 2 main steps were protein extraction and drying. The objective of this research was to study the production process of protein extraction and drying protein powder. The study was divided into 3 parts. In the first part was study the optimal conditions for protein extraction from soybean using pulsed electric field. It starts with finding the optimal extraction times at voltages 10.5, 11.5 and 12.5 kV. The results showed that optimal extraction times at each voltage were 120, 90 and 60 min, respectively, considering the highest protein content and electrical conductivity disintegration index. Subsequently, study the effects of voltage at the optimum extraction time on physical properties was percentage yield of extracted proteins, chemical properties were protein content and protein profile, and functional properties were water solubility index, water holding capacity, foaming capacity, and foaming stability, including specific energy consumption in extractions method. The results showed that the protein extraction using PEF at 12.5 kV for 60 min led to soy protein with good physicochemical and functional properties. But it has the lowest specific energy consumption during extraction. In addition, the results of protein profile analyzed by the SDS-PAGE technique revealed that protein types of beta-conglycinin (7S) were mostly found in the soy protein extracted. Subsequently, study the effect of solid-to-liquid ratios on physicochemical and functional properties of soy protein extracted at solid-to-liquid ratios of 1:5, 1:10, 1:15, and 1:20 w/v with extraction conditions at 12.5 kV for 60 min. The results showed that protein extraction at solid-to-liquid ratio of

1:15 w/v led to soy protein with good physicochemical and functional properties. Therefore, the results of the first part of the study can be concluded that the optimum conditions for extraction protein from soybean using PEF were voltage at 12.5 kV for 60 min and solid-to-liquid ratio of 1:15 w/v. The extracted proteins from the optimal conditions in the first part of study were used to study in the second part of study. The second part was study the effect of the drying method namely hot air drying, vacuum drying, and spray drying on physical properties were color value, moisture content, a_w value, particle size and percentage of yield of protein powder, chemical properties were protein content and protein profile, and functional properties were water solubility index, water holding capacity, foaming capacity, and foaming stability of soy protein powder. The results showed that the spray drying led to soy protein powder with the highest protein content and percentage of yield, the smallest particle size and good particle distribution, the best values of color, water solubility index, foaming capacity and foaming stability, but water holding capacity was the lowest. The moisture content and a_w of the protein powder also complied with the standard of dried product. Moreover, the results of protein profile revealed that protein types of glycinin (11S) and beta-conglycinin (7S) were mostly found in the protein powder. The third part of the study was comparisons of physical properties were percentage of yield of protein extracted, chemical properties were protein content, proximate composition, and protein profile, and functional properties were water solubility index, water holding capacity, foaming capacity, and foaming stability of soy protein powder extracted by conventional methods using chemical and pulsed electric field method at optimal conditions following by spray drying, including the specific energy consumption during extraction in both extraction methods. The results showed that the soy protein extraction using pulsed electric field following by spray drying led to soy protein powder with good physicochemical and functional properties. In addition, the results of protein profile analyzed by the SDS-PAGE technique revealed that protein types of glycinin (11S) and beta-conglycinin (7S) were mostly found in the soy protein powder. But it has lower specific energy consumption than conventional extraction method. Therefore, considering all the results, it can be concluded that the pulsed electric field

extraction at 12.5 kV for 60 min at solid-to-liquid ratio of 1:15 w/v following by spray drying is the most suitable process to produce soy protein powder with good physicochemical and functional properties and specific energy consumption during extraction were lower than conventional extraction method.

Keywords : Extraction, Functional properties, Soy protein, Pulsed Electric Field, Drying



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นผลงานที่ผู้วิจัยได้ทุ่มเทความตั้งใจ สติปัญญา กำลังกายและกำลังใจ จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์ คำแนะนำและความช่วยเหลือ จากบุคคลหลายฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งขอขอบพระคุณท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ ซึ่งเป็นประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้สละเวลาอันมีค่า ให้ความรู้ คำแนะนำ และคำปรึกษา ตลอดจนให้ความดูแลและเอาใจใส่เป็นอย่างดี จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม ที่กรุณาได้รับเป็นกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้ คำปรึกษาในด้านต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2563 ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณอาจารย์ ชำราชากรและเจ้าหน้าที่ของสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและสาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร ที่คอยให้กำลังใจและคำแนะนำดี ๆ เสมอ และที่ให้ความช่วยเหลือ เพื่อให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาตรี ปริญญาโทและปริญญาเอกทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อประวิทย์ คันทะมูล และคุณแม่กาญจนา คันทะมูล ที่ให้การเลี้ยงดู อบรม ส่งเสริมการศึกษา เป็นกำลังใจที่ดี ให้การสนับสนุนทั้งในด้านการเรียนและการดำเนินชีวิต ให้คำปรึกษา จนทำให้ผู้จัดทำโครงการประสบความสำเร็จในการเรียน

ท้ายที่สุดนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้คงเป็นประโยชน์สำหรับผู้อ่านไม่มากนักน้อยต่อไป

กัญญาวิทย์ คันทะมูล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....ค	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....ช	ช
สารบัญ.....ณ	ณ
สารบัญตาราง.....ฉ	ฉ
สารบัญภาพ.....ช	ช
สารบัญตารางผนวก.....ณ	ณ
สารบัญภาพผนวก.....ด	ด
บทที่ 1 บทนำ..... 1	1
ที่มาและความสำคัญ..... 1	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 3	3
ขอบเขตของงานวิจัย..... 3	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3	3
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและการตรวจเอกสาร..... 4	4
ถั่วเหลือง..... 4	4
โปรตีนในถั่วเหลือง..... 7	7
การสกัดโปรตีน..... 8	8
การทำแห้ง..... 11	11
การวัดการดูดกลืนแสง..... 14	14
Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)..... 16	16
การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมีของอาหาร (Proximate analysis of food)..... 18	18

ร้อยละผลผลิต.....	19
สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง.....	20
ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (Electrical conductivity disintegration index, Z)....	21
ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด (Specific electrical consumption, SEC).....	23
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Water activity, a_w).....	23
ความชื้น.....	25
สี (Color).....	27
การวิเคราะห์ขนาดอนุภาค.....	28
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	29
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	32
วัตถุดิบ.....	32
อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	32
สารเคมี.....	33
แผนการดำเนินงานวิจัยโดยรวม.....	34
วิธีการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1.....	36
วิธีการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2.....	39
วิธีการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3.....	40
การเตรียมตัวอย่างถั่วเหลือง.....	42
ระบบสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะ.....	42
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน.....	43
ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด (SEC).....	48
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	49
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	50

ผลการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 : ผลการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบ จิ้งหะ.....	50
ผลการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 : ผลศึกษาสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน ถั่วเหลือง ที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ.....	63
ผลการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3 : ผลศึกษาสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน ถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	70
แนวคิดการขยายกำลังการผลิตของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ.....	79
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	82
ข้อเสนอแนะ.....	83
บรรณานุกรม.....	84
ภาคผนวก.....	95
ภาคผนวก ก ภาพการดำเนินงาน.....	96
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA).....	103
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE.....	107
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงพลังงานจำเพาะในการสกัด.....	113
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ.....	116
ภาคผนวก ฉ บทความวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่.....	125
ประวัติผู้วิจัย.....	134

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีโดยประมาณของถั่วเหลืองและส่วนต่างๆของถั่วเหลือง	7
ตารางที่ 2 องค์ประกอบของโปรตีนโกลบูลินในถั่วเหลือง	7
ตารางที่ 3 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับปริมาณที่ FAO/WHO แนะนำ	8
ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของวิธีการทำแห้ง.....	13
ตารางที่ 5 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบหลักในอาหาร.....	19
ตารางที่ 6 ข้อดีและข้อเสียของวิธีการต่างๆในการประมาณการเกิดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์จากการให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะแก่อาหาร	22
ตารางที่ 7 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต เวลาที่ใช้ในการสกัดและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ.....	54
ตารางที่ 8 ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ	55
ตารางที่ 9 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's.....	57
ตารางที่ 10 ปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน.....	58
ตารางที่ 11 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน.....	58
ตารางที่ 12 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's.....	61
ตารางที่ 13 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ	64
ตารางที่ 14 ค่าสีของผงโปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ	65
ตารางที่ 15 ขนาดอนุภาคของของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ	65
ตารางที่ 16 สมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ.....	66
ตารางที่ 17 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's.....	69

ตารางที่ 18 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดโปรตีน ด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	71
ตารางที่ 19 ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบ พ่น ฝอย.....	72
ตารางที่ 20 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's.....	74
ตารางที่ 21 องค์ประกอบโดยประมาณของถั่วเหลืองและผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วย วิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	77
ตารางที่ 22 เงื่อนไขของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่พัฒนาขึ้น	80



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะใบแก้วเหลือง	5
ภาพที่ 2 ลักษณะฝักแก้วเหลืองสุก	5
ภาพที่ 3 ลักษณะวงจรการทำงานและสัญญาณแบบ Exponential decay	10
ภาพที่ 4 ลักษณะวงจรการทำงานและสัญญาณแบบ Square wave	10
ภาพที่ 5 ตู้อบลมร้อน	11
ภาพที่ 6 เครื่องทำแห้งสุญญากาศแบบต่อเนื่องลำเลียงด้วยสายพาน	12
ภาพที่ 7 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย	13
ภาพที่ 8 การวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืน (ก) และลักษณะกราฟมาตรฐาน (ข)	15
ภาพที่ 9 หลักการโปรตีนจับกับสี Coomassie brilliant blue G-250	16
ภาพที่ 10 กระบวนการดูดซับที่ผิวหน้าระหว่างน้ำกับอากาศของโปรตีน	21
ภาพที่ 11 การแสดงประเภทของอาหาร โดยอาศัยค่า pH และค่า Water activity	24
ภาพที่ 12 การแสดงระดับค่า Water activity ที่จำกัดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	24
ภาพที่ 13 ระบบสี CIELAB	28
ภาพที่ 14 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยโดยรวม	35
ภาพที่ 15 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1	38
ภาพที่ 16 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2	40
ภาพที่ 17 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3	41
ภาพที่ 18 วงจรระบบสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ	43
ภาพที่ 19 ส่วนประกอบเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ	43
ภาพที่ 20 ปริมาณโปรตีน (แห้ง) และอุณหภูมิ (เส้น) ของสารละลาย ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ	51

ภาพที่ 21 ค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ 53

ภาพที่ 22 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วย สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ.....56

ภาพที่ 23 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วย สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกัน60

ภาพที่ 24 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ.....68

ภาพที่ 25 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลือง ที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย 73

ภาพที่ 26 ลักษณะโครงสร้างของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ81



สารบัญตารางผนวก

	หน้า
ตารางผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA).....	104
ตารางผนวกที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA).....	104



สารบัญภาพผนวก

	หน้า
ภาพผนวกที่ 1 การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหหวะ.....	97
ภาพผนวกที่ 2 การสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม.....	97
ภาพผนวกที่ 3 การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน.....	98
ภาพผนวกที่ 4 การทำแห้งแบบสุญญากาศ.....	98
ภาพผนวกที่ 5 การทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	99
ภาพผนวกที่ 6 ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี.....	99
ภาพผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน.....	100
ภาพผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาค.....	100
ภาพผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น.....	101
ภาพผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ค่า α_w	101
ภาพผนวกที่ 11 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีน.....	102
ภาพผนวกที่ 12 การวัดพลังงานไฟฟ้าเพื่อนำไปวิเคราะห์ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ.....	102
ภาพผนวกที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน.....	105
ภาพผนวกที่ 14 ชุดอุปกรณ์สำหรับการทำ SDS-PAGE.....	108
ภาพผนวกที่ 15 การเตรียมชุดอุปกรณ์และเตรียมเจลสำหรับการทำ SDS-PAGE.....	108
ภาพผนวกที่ 16 การเซตเจลชั้น Separating gel.....	109
ภาพผนวกที่ 17 การเซตเจลชั้น Stacking gel.....	109
ภาพผนวกที่ 18 การต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดเพื่อให้โปรตีนเสียสภาพ.....	110
ภาพผนวกที่ 19 การหยอดตัวอย่างโปรตีนและประกอบเข้าชุดอุปกรณ์รันเจล.....	110
ภาพผนวกที่ 20 การแกะแผ่นกระจกและย้อมด้วยสี Bromophenol blue.....	111
ภาพผนวกที่ 21 การเขย่าเจลและล้างสีย้อมออกจากแผ่นเจล.....	111
ภาพผนวกที่ 22 ตัวอย่างแผ่นเจลที่ได้จากการวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE....	112

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันมีการนำผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองซึ่งเป็นโปรตีนทางเลือกเพื่อทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์มาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มบำรุงสุขภาพมากขึ้น เนื่องจากมีราคาถูก ปริมาณโปรตีนสูงและมีกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ถึง 9 ชนิด (Hudthagosol & Techavichian, 2020; Nishinari et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีการใช้ประโยชน์จากผงโปรตีนสกัดเพื่อปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส รสชาติและคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดเช่น ขนมปัง (Jiamyangyuen et al., 2005) แอัม เส้นพาสต้า ไอศกรีมและคุกกี้ (Singh et al., 2008) เนื่องจากโปรตีนมีสมบัติเชิงหน้าที่ (Functional properties) เช่น การเกิดเจล การช่วยให้เกิดอิมัลชัน และการเกิดฟอง ซึ่งจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเบเกอรี่และมาชเมลโล่ มีลักษณะปรากฏที่เบา พูและมีรูพรุน และช่วยให้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีม โยเกิร์ตมีความคงตัวไม่แยกชั้น (ณัฐมล และคณะ, 2556) โดยสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดและโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งในถั่วเหลืองจะมีโปรตีนกลุ่มโกลบูลินที่เป็นชนิดโกลซีนิน (11S) และ เบต้าคอนโกลซีนิน (7S) อยู่สูง ซึ่งโปรตีนสองชนิดนี้มีสมบัติการละลายในสารละลายได้ดี (นักสิทธิ์, 2563; บังอร, 2561)

กระบวนการผลิตผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองโดยทั่วไปจะมีขั้นตอนหลักอยู่ 2 ขั้นตอนคือการสกัดโปรตีนและการทำแห้ง โดยในกระบวนการสกัดโปรตีนจะทำได้โดยการทำให้โปรตีนตกตะกอนด้วยการปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เท่ากับจุดไอโซอิเล็กทริกของกรดอะมิโนด้วยสารละลายกรด ซึ่งจะส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพและตกตะกอน เมื่อพิจารณากระบวนการสกัดโปรตีนด้วยวิธีนี้จะเห็นได้ว่าจะต้องมีการใช้สารเคมีซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหากเกิดการตกค้างในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังใช้เวลาการสกัดค่อนข้างนาน ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะเพื่อปรับปรุงกระบวนการสกัดโปรตีนแทนการใช้สารเคมีและช่วยลดเวลาในการสกัดลง ซึ่งการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะเป็นเทคนิคการให้กระแสไฟฟ้าที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูงที่มีลักษณะเป็นจันทะ (Pulse) แก่อาหารเหลวหรือของแข็งที่มีน้ำเป็นตัวกลางโดยผ่านขั้วอิเล็กโทรดในช่วงเวลาสั้น จึงส่งผลให้เกิดรูพรุนบนเซลล์อาหารและทำให้โปรตีนถ่ายเทออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น เวลาที่ใช้สกัดจึงลดลง (นิพัฒน์, 2554) จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา

ได้มีการนำเทคนิคการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในการสกัดโปรตีนจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ซึ่งผลการทดลองพบว่าการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ความเข้มข้นไฟฟ้า 30.5 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 40 นาทีส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นร้อยละ 25 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบเดิม (Goettel et al., 2013) นอกจากนี้งานวิจัยของ Prabhu et al. (2019) พบว่า การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะช่วยในการสกัดโปรตีนจากสาหร่ายขนาดใหญ่ (Macroalgae) ที่ 1 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นถึง 4 เท่า ถึงแม้ว่างานวิจัยที่ผ่านจะมีการศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนอย่างแพร่หลาย แต่ผลการศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนนั้นยังมีอยู่อย่างจำกัด

ในส่วนของการกระบวนการทำแห้งโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนซึ่งมีต้นทุนในผลิตที่ค่อนข้างต่ำ แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถแห้งได้หากสภาพอากาศไม่เอื้ออำนวยและต้องใช้พื้นที่ในการทำแห้งมากและใช้เวลานาน (ประทีป และมงคล, 2559) และการทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นวิธีที่ออกซิเจนในระบบมีปริมาณน้อย จึงสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนได้ ซึ่งอาจส่งผลต่อปริมาณโปรตีนและสมบัติกายภาพ เคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน (ชาลีดา, 2555) และอีกวิธีการหนึ่งที่นิยมคือ การทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเป็นวิธีการที่ทำโดยการพ่นอาหารเหลวให้เป็นละอองขนาดเล็กเข้าไปในห้องทำแห้งที่มีอากาศร้อนอุณหภูมิสูงไหลผ่าน จึงทำให้น้ำที่อยู่ในละอองของเหลวเกิดการระเหยอย่างรวดเร็วจนได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของผงแห้ง ซึ่งวิธีการนี้มีอัตราการผลิตสูงและสามารถผลิตเป็นแบบต่อเนื่องและใช้เวลาที่ใช้ในการทำแห้งสั้นมาก แต่วิธีนี้ต้องใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่สูงมาก (มากกว่า 100 องศาเซลเซียส) ซึ่งอาจส่งผลให้ปริมาณโปรตีนและสมบัติกายภาพ เคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป (ณัฐริพร, 2549) ดังนั้นในการผลิตผงโปรตีนถั่วเหลืองเพื่อให้ได้ทั้งปริมาณและสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดีจำเป็นจะต้องศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการสกัด และวิธีการทำแห้ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะและวิธีการทำแห้งโปรตีนจากถั่วเหลืองต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ร้อยละของผลผลิต สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความชื้น ค่า a_w และค่าสี และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้า อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะต่อปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง
2. เพื่อศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณโปรตีน รูปแบบของโปรตีน ค่า α_w ปริมาณความชื้น ค่าสี สัณฐานวิทยา และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ
3. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน รูปแบบของโปรตีนและองค์ประกอบโดยประมาณของผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและผงโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

ขอบเขตของงานวิจัย

1. การทดลองใช้ถั่วเหลือง พันธุ์เชียงใหม่ 60
2. ปริมาตรที่ใช้ในการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะไม่เกิน 500 มิลลิลิตร
3. เปรียบเทียบผลกระทบของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณโปรตีน รูปแบบของโปรตีน ค่า α_w ปริมาณความชื้น ค่าสี สัณฐานวิทยา และความสามารถในการละลายของโปรตีน โดยการทดลองอบสารละลายโปรตีนในระดับห้องปฏิบัติการระหว่างการทำด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และการทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสถานะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ
2. ทราบวิธีการสกัดและวิธีการทำแห้งโปรตีนถั่วเหลืองที่เหมาะสม

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและการตรวจเอกสาร

ถั่วเหลือง

1. ข้อมูลทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Glycine max* (L.) Merrill

ชื่อวงศ์ : Leguminosae

ชื่อสามัญ : Soybean

2. ถิ่นกำเนิด

ไม่มีหลักฐานว่าเริ่มปลูกถั่วเหลืองครั้งแรกเมื่อใด แต่คาดว่าชาวจีนที่อพยพมาได้นำถั่วเหลืองเข้ามายังประเทศไทยเมื่อ 200 ปีที่แล้ว และได้มีการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองอย่างจริงจังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2503 ทำให้มีถั่วเหลืองพันธุ์ดีเป็นจำนวนมาก แต่มีการนำเข้าถั่วเหลืองจากต่างประเทศ เนื่องจากการผลิตถั่วเหลืองในประเทศไทยยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ ปัจจุบันการปลูกถั่วเหลืองในประเทศไทยมีประมาณ 10 พันธุ์ ซึ่งปรับปรุงโดยกรมวิชาการเกษตร คือ สจ.4 สจ.5 สุโขทัย1 สุโขทัย2 สุโขทัย3 นครสวรรค์1 เชียงใหม่60 เชียงใหม่2 เชียงใหม่3 เชียงใหม่4 นอกจากนี้ยังมีถั่วเหลืองที่สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร ได้ดำเนินการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองขึ้นมาใหม่ คือ พันธุ์ศรีสำโรง1 ซึ่งให้ผลผลิตสูง มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ทั้งยังสามารถต้านทานโรคน้ำค้างได้ดี สำหรับพันธุ์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด คือพันธุ์ สจ.4 สจ.5 และเชียงใหม่60

3. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

3.1 ลำต้น เป็นลำต้นตั้งตรงเป็นพุ่ม มีความสูงประมาณ 30-150 เซนติเมตร โดยความสูงจะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของดิน ความชื้นและฤดูที่เพาะปลูก ลำต้นมีขนปกคลุมอยู่ทั่วไป ยกเว้นในส่วนของใบเลี้ยงและกลีบดอก และต้นถั่วเหลืองยังแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ชนิดทอดยอด และชนิดไม่ทอดยอด เมื่อเมล็ดแก่ฝักจะแห้งและต้นจะตายตามไป จึงเป็นที่มาของชื่อ “ถั่วแม่ตาย”

3.2 ใบ ในระยะต้นอ่อนจะมีใบเลี้ยง ใบจริงคู่แรกเป็นใบเดี่ยว โดยใบจริงที่เกิดขึ้นต่อมาจะเป็นใบประกอบแบบ 3 ใบย่อย คือ มีใบย่อยด้านปลาย 1 ใบ และมีใบย่อยด้านข้างอีก 2 ใบ ลักษณะของใบมีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปไข่จนถึงเรียวยาว ส่วนที่โคนของก้านใบประกอบจะมีหูใบ

อยู่ 2 อัน และส่วนที่โคนของก้านใบย่อย มีหูใบย่อยอยู่ 1 อัน ที่ใบมีขนสีน้ำตาลหรือเทาปกคลุมอยู่ทั่วไป แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะใบถั่วเหลือง

ที่มา: ทรงสมร และคณะ (2560)

3.3 ฝัก ถั่วเหลืองออกฝักเป็นกลุ่ม กลุ่มละประมาณ 2-10 ฝัก บริเวณฝักมีขนสีเทาหรือสีน้ำตาลปกคลุมอยู่ทั่วฝัก ฝักมีความยาวประมาณ 2-7 เซนติเมตร ในแต่ละฝักจะมีเมล็ดอยู่ประมาณ 1-5 เมล็ด ซึ่งส่วนใหญ่จะมีอยู่ประมาณ 2-3 เมล็ด ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแตกออกทำให้เมล็ดร่วงออกมา แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะฝักถั่วเหลืองสุก

ที่มา: ทรงสมร และคณะ (2560)

3.4 เมล็ด มีลักษณะเป็นสีเหลือง สีเขียว สีน้ำตาล หรือสีดำ โดยจะมีขนาดและรูปร่างต่างกัน ลักษณะของเมล็ดมีตั้งแต่กลม รีจนถึงยาว หากเป็นเมล็ดขนาดเล็กจำนวน 100 เมล็ด จะมีน้ำหนักประมาณ 2 กรัม แต่ถ้าหากเป็นเมล็ดใหญ่อาจมีน้ำหนักมากกว่า 40 กรัม แต่โดยทั่วไปแล้วจะมีน้ำหนักอยู่ที่ประมาณ 12-20 กรัม (ทรงสมร และคณะ, 2560)

4. ประโยชน์ของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูงมีประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถช่วยลดค่าดัชนีน้ำตาล ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน นอกจากนี้โปรตีนในถั่วเหลืองช่วยลดการขับถ่ายแคลเซียมทางปัสสาวะและช่วยลดอัตราเสี่ยงของโรคกระดูกผุ อีกทั้งยังมีใยอาหารที่ละลายและไม่ละลายน้ำที่ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและที่สำคัญถั่วเหลืองเป็นพืชตระกูลถั่วชนิดเดียวที่มีไอโซฟลาโวน ที่มีคุณสมบัติแบบฮอร์โมนเพศหญิงจำพวกเอสโตรเจน ช่วยป้องกันอาการที่เกิดในหญิงวัยทองได้ดี และมีเกลือแร่ที่ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเป็นโรคกระดูกพรุนและความดันโลหิตสูง (พอฤทัย, 2556)

5. ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ Williams ซึ่งมีลำต้นแข็งแรง จำนวนฝักต่อต้นมาก เป็นพันธุ์รับรองที่ให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อโรคราสนิมที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และคัดเลือกได้สายพันธุ์เชียงใหม่ 60 ซึ่งจากการปลูกศึกษาประเมินผลผลิต จนถึงปี 2529 ปรากฏว่าให้ผลผลิตสูงทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง และทนทานต่อโรคราสนิม

5.1 ลักษณะเด่น ได้แก่ ทนทานต่อโรคราสนิม ผลผลิตสูง 246 กิโลกรัมต่อไร่ ตอบสนองต่อปุ๋ยอัตราต่ำ เมล็ดมีน้ำมันร้อยละ 20 และโปรตีนร้อยละ 43.8

5.2 ลักษณะประจำพันธุ์ ลำต้นมีลักษณะไม่ทอดยอด โคนต้นอ่อนสีเขียว ขนที่ฝักสีน้ำตาล ต้นมีการแตกกิ่งน้อย สูงประมาณ 60 เซนติเมตร ใบสีเขียวเข้ม ใบกว้างและหนา ดอกสีขาว ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 25 วัน เก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 97 วัน ฝักเมื่อแก่จัดมีสีน้ำตาลเข้ม แดงยาก เมล็ดกลมสีเหลือง ขั้วเมล็ดมีสีน้ำตาล น้ำหนัก 100 เมล็ด 15.5 กรัม

5.3 ฤดูปลูกที่เหมาะสม คือ ฤดูฝน ประมาณเดือนพฤษภาคม และฤดูแล้ง ประมาณเดือนธันวาคมถึงกลางเดือนมกราคม

5.4 ความต้านทานโรค ทนทานต่อโรคราสนิมและต้านทานต่อโรคราน้ำค้างปานกลาง

5.5 การรับรองพันธุ์ กรมวิชาการเกษตรพิจารณาให้เป็นพันธุ์ รับรองเมื่อวันที่ 30 กันยายน 2530 (ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่, 2530)

โปรตีนในถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีโปรตีนร้อยละ 35 ถึง 40 โดยน้ำหนัก แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolic protein) และโปรตีนที่ถูกเก็บสะสม (Storage protein) โดยโปรตีนที่ถูกเก็บสะสมไว้จัดเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญที่สุดในกลุ่มของโปรตีนถั่วเหลืองและสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ตามขนาดของโมเลกุลโดยอาศัยหลักการตกตะกอน (Sedimentation velocity) ได้แก่ โปรตีนที่มีลักษณะก้อนกลม (Globular protein) ชนิด 7S และ 11S มีปริมาณรวมกันเป็นร้อยละ 65-80 ของโปรตีนทั้งหมดในเมล็ดถั่วเหลือง ซึ่งเบต้าคอนโกลูบินและโกลูบินมีสมบัติการละลายในสารละลายได้ดี (ขจีรัตน์, 2548)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีโดยประมาณของถั่วเหลืองและส่วนต่างๆของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองและ ส่วนของถั่วเหลือง	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)	คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)	เถ้า (ร้อยละ)
ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	40	21	34	4.9
ใบเลี้ยง	43	23	29	5.0
เปลือกถั่ว	8.8	1	86	4.3
ยอดอ่อน	41	11	43	4.4

ที่มา: ดัดแปลงจาก พิชัย (2528)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของโปรตีนโกลบูลินในถั่วเหลือง

fraction	Percent of Total	component	M.W. (Da)
2S	22	trypsin inhibitors	8,000-12,500
		cytochrome c	12,000
7S	37	hemagglutinins	110,000
		lipoxygenases	102,000
		β -amylase	61,700
		7S globulin	180,000-210,000
11S	31	11S globulin	350,000
15S	11	-	600,000

ที่มา: ดัดแปลงจาก Wolf et al. (2009)

โปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพดี สามารถทดแทนเนื้อสัตว์ได้ เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acid) ทั้งชนิดและปริมาณที่สมดุลมากกว่าถั่วชนิดอื่น แต่กรดอะมิโนที่มีในปริมาณจำกัด (Limiting amino acid) ในถั่วเหลืองคือ เมไทโอนีน (Methionine) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2562ค)

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับปริมาณที่ FAO/WHO แนะนำ

กรดอะมิโน (amino acid)	FAO/WHO มก./ก. โปรตีน	ถั่วเหลือง มก./ก.โปรตีน
Leucine	40	37
Isoleucine	70	74
Lysine	55	59
Methionine + Cystine	35	22
Phenylalanine + tyrosine	60	64
Threonine	40	42
Tryptophan	10	15
Valine	50	50

ที่มา: ดัดแปลงจาก พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา (2562ค)

การสกัดโปรตีน

1. การสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม

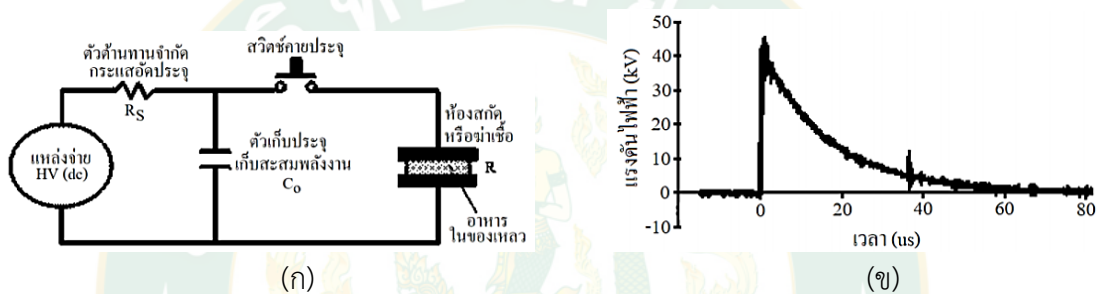
การแยกโปรตีนออกจากถั่วเหลืองด้วยวิธีดั้งเดิม จะอาศัยหลักการทำให้โปรตีนตกตะกอนโดยการนำสารละลายมาปรับ pH ให้ได้ pH ที่เป็นจุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point) คือค่า pH ที่ประจุรวมของกรดอะมิโนหรือโปรตีนเป็นศูนย์ เนื่องจากกรดอะมิโนที่พบในธรรมชาติมีประจุรวมเป็นลบ ซึ่งประจุลบที่เหมือนกันจะเกิดแรงจะผลักกัน ทำให้กรดอะมิโนแขวนลอยหรือละลายในน้ำได้ หากมีการปรับค่า pH ของกรดอะมิโนให้ลดลงเท่ากับจุดไอโซอิเล็กทริก ซึ่งประจุรวมของกรดอะมิโนเป็นศูนย์ แรงผลักกันระหว่างประจุที่เหมือนกันจะลดลง ประจุบวกและลบที่มีอยู่เท่ากัน ณ จุดนี้จะดูดกัน มีผลให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติ (Protein denaturation) และ

ตกตะกอน (Precipitation) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2562ก) เมื่อปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ในจุดไอโซอิเล็กทริกแล้ว จึงทำการเร่งให้อนุภาคตกตะกอนเร็วขึ้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ซึ่งเป็นเครื่องมือสร้างแรงหนีศูนย์กลางหรือแรงปั่นเหวี่ยง สำหรับเร่งอัตราการตกตะกอนของอนุภาคที่ไม่ละลายออกจากของเหลว หรือใช้แยกของเหลวหลายๆชนิดที่มีความถ่วงจำเพาะต่างกันออกจากกัน ภายใต้สนามแรงหนีศูนย์กลาง อนุภาคจะตกตะกอนด้วยอัตราเร็วที่ไม่เท่ากัน การปั่นแยกตะกอนจึงต้องใช้เวลาให้นานเพียงพอที่อนุภาคขนาดเล็กจะนอนกันหมด จนกลายเป็นก้อนตะกอน (Pellet) และของเหลวเหนือตะกอน (Supernatant) (ชูชาติ, 2544) เมื่อได้ก้อนตะกอนของโปรตีน จึงทำการปรับ pH ตะกอนโปรตีนแล้วเหลืองให้มีค่าเป็นกลาง ก่อนการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ (สิรินดา และคณะ, 2554)

2. การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ (Pulsed electric field, PEF)

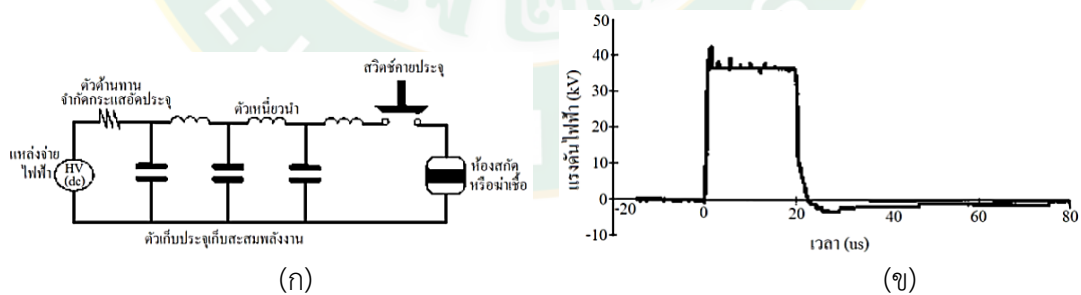
การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบเป็นจังหวะ เป็นเทคนิคการให้กระแสไฟฟ้าที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูง มีลักษณะเป็นจังหวะ (Pulse) แก่อาหารเหลวหรือของแข็งที่มีน้ำเปลี่ยนตัวกลาง โดยผ่านขั้วอิเล็กโทรดในช่วงเวลาสั้น ถือว่าเป็นวิธีการแปรรูปอาหารแบบไม่ใช้ความร้อน (Non-thermal process) ชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถทำได้ที่อุณหภูมิปกติ โดยหลักการทำงานของสนามไฟฟ้าแรงสูง คือ การให้สนามไฟฟ้า (E) ผ่านขั้วอิเล็กโทรดที่สัมผัสกับอาหาร ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำของประจุไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อมีการสะสมประจุไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์จนทำให้มีค่าความเข้มสนามไฟฟ้ามากกว่าค่าความเข้มสนามไฟฟ้าวิกฤต ส่งผลให้เกิดการแตกของเยื่อหุ้มเซลล์ (Ec) ซึ่งจะใช้เวลาสั้นมากและทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า “Electroporation” หรือ “Pore formation” คือเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการแตกเป็นรู ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์มีลักษณะการเป็นเยื่อเลือกผ่านเพิ่มขึ้น มีการไหลเข้า-ออกของสารมากขึ้น ปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ แบบที่หนึ่ง Irreversible electroporation เป็นการแตกของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงมากกว่าค่าความเข้มสนามไฟฟ้าวิกฤตเป็นอย่างมาก ($E \gg E_c$) จนทำให้เกิดการทำลายที่เยื่อหุ้มเซลล์อย่างถาวร จนเกิดเป็นรูขนาดใหญ่ และไม่สามารถกลับมาทำงานตามปกติได้เซลล์นั้นจึงถูกทำลาย ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการถนอมอาหารและสกัดสารออกจากเซลล์ได้ แบบที่สอง Reversible electroporation เป็นการแตกของเยื่อหุ้มเซลล์จากการเหนี่ยวนำด้วยสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงกว่าค่าความเข้มสนามไฟฟ้าวิกฤตเพียงเล็กน้อย ($E \approx E_c$) ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูขนาดเล็ก ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลสารเข้าออกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น โดยเซลล์จะไม่ถูกทำลายหรือเสียหายมาก (นิพัฒน์, 2554)

การสร้างสัญญาณพัลส์สนามไฟฟ้าหรือ PEF ที่นิยมใช้ในงานฆ่าเชื้อและสกัดสารออกจากเซลล์มี 2 แบบคือ Exponential decay และ Square wave ในภาพที่ 3 (ก) เป็นวงจรอย่างง่ายที่ใช้แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงจ่ายพลังงานไฟฟ้าให้กับตัวเก็บประจุที่ทำหน้าที่เก็บสะสมพลังงานและมีการจำกัดกระแสด้วยตัวต้านทาน จากนั้นสวิทช์คายประจุจะทำหน้าที่จ่ายพลังงานไฟฟ้าที่เก็บสะสมไว้ไปยังห้องสกัด (หรือฆ่าเชื้อ) ทำให้ได้สัญญาณแบบ Exponential decay ดังแสดงในภาพที่ 3 (ข) และหากต้องการเพิ่มระยะเวลาของพัลส์ให้นานขึ้นเป็นแบบ Square wave จะใช้เทคนิคเพิ่มอุปกรณ์เก็บสะสมพลังงานให้มากขึ้นตามภาพที่ 4 (ก) ซึ่งจะได้ลักษณะสัญญาณในภาพที่ 4 (ข) (อาทิตย์ และพิสิษฐ์, 2560)



ภาพที่ 3 ลักษณะวงจรการทำงานและสัญญาณแบบ Exponential decay

ที่มา: อาทิตย์ และพิสิษฐ์ (2560)



ภาพที่ 4 ลักษณะวงจรการทำงานและสัญญาณแบบ Square wave

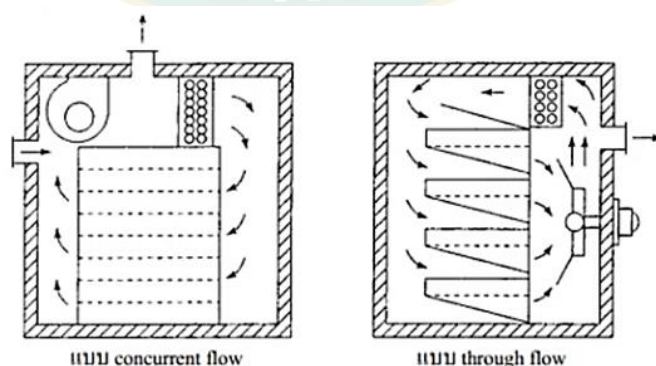
ที่มา: อาทิตย์ และพิสิษฐ์ (2560)

การทำแห้ง

การทำแห้ง (Drying) คือ กระบวนการนำน้ำออกจากวัตถุดิบที่ต้องการทำให้ปริมาณน้ำในวัตถุดิบลดลง (ความชื้นลดลง) โดยส่วนใหญ่ น้ำที่ระเหยออกจากวัตถุดิบนั้นอาจจะต้องระเหยที่จุดเดือดแต่ใช้อากาศพัดผ่านวัตถุดิบเพื่อดึงน้ำออกมา เมื่อทำให้ของเหลวในวัตถุดิบระเหยเป็นไอ จะได้ผลิตภัณฑ์ของแข็งที่มีสัดส่วนของเหลวต่ำลง ซึ่งนอกจากจะมีกรณีที่วัตถุดิบมีสภาพเป็นของแข็งที่เปียกชื้นแล้ว ยังมีกรณีที่ทำแห้งของเหลวข้น (Slurry) หรือของเหลวใสเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ผง โดยส่วนใหญ่กระบวนการทำแห้งมักจะเป็นส่วนสุดท้ายของกระบวนการผลิต ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ทำแห้งแล้วจะกลายเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จทันที ดังนั้นการทำแห้งไม่สม่ำเสมอ เช่น ผลิตภัณฑ์ไม่แห้งหรือแห้งเกินไป หรือรูปร่างของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งปริมาณผลผลิตที่ได้จึงเป็นสิ่งที่ต้องให้ความสนใจ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2547)

1. การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air drying)

การทำแห้งประเภทนี้ เป็นการนำวัตถุดิบวางไว้ในถาด ตะแกรง หรือแผ่นที่มีรูพรุน แล้วเป่าลมร้อนขนานไปกับผิวหน้าวัตถุดิบ หรือเป่าตั้งฉากกับก้นถาดที่ยอมให้ลมผ่านเข้าไปในชั้นวัตถุดิบ ดังแสดงในภาพที่ 5 และเนื่องจากใช้ลมร้อนที่มีความเร็วไม่สูงนัก วัตถุดิบจึงยังอยู่นิ่งและไม่เกิดการสั่นสะเทือนหรือการกระแทกใดๆ วัตถุดิบจึงไม่เกิดความเสียหายจากการแตกหัก นอกจากนี้การทำแห้งประเภทนี้จะทำงานแบบกะ (Batch) จึงเหมาะกับวัตถุดิบที่ต้องการรอบภายใต้เงื่อนไขการอบที่เข้มงวดหรืออบวัตถุดิบหลายชนิดแต่จำนวนน้อย หรือใช้กับการควบคุมแบบโปรแกรมซึ่งค่อยๆ ปรับอุณหภูมิไปตามความเหมาะสม (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2547)

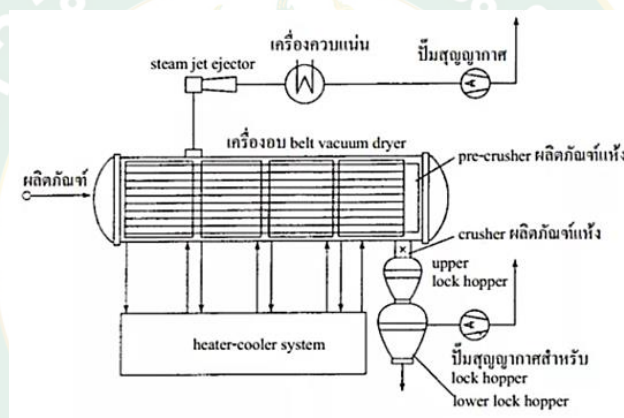


ภาพที่ 5 ตู้อบลมร้อน

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2547)

2. การทำแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum drying)

การทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นวางวัตถุดิบที่จะอบไว้ในสภาวะสุญญากาศอ่อนๆ แล้วให้ความร้อน ผลต่างความดันระหว่างความดันไอของของเหลวกับสุญญากาศที่ผิวหน้าวัตถุดิบ จะทำให้ของเหลวในวัตถุดิบระเหยเป็นไอออกมา และเนื่องจากอุณหภูมิระเหยของเหลวจะขึ้นอยู่กับระดับความเป็นสุญญากาศ ดังนั้นจึงเหมาะกับวัตถุดิบที่เสื่อมสภาพง่ายต่อความร้อน การทำแห้งประเภทนี้จึงนิยมใช้ในอุตสาหกรรมเวชภัณฑ์และอาหาร โดยทั่วไปอุตสาหกรรมเวชภัณฑ์จะมีการผลิตเป็นจำนวนไม่มาก จึงมักเป็นการทำแห้งบนถาดแบบกะ (Batch) ส่วนในอุตสาหกรรมอาหาร ในแง่ของความคุ้มทุนจะต้องผลิตเป็นจำนวนมาก จึงนิยมใช้เครื่องทำแห้งแบบต่อเนื่องลำเลียงด้วยสายพาน ดังแสดงในภาพที่ 6 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2547)



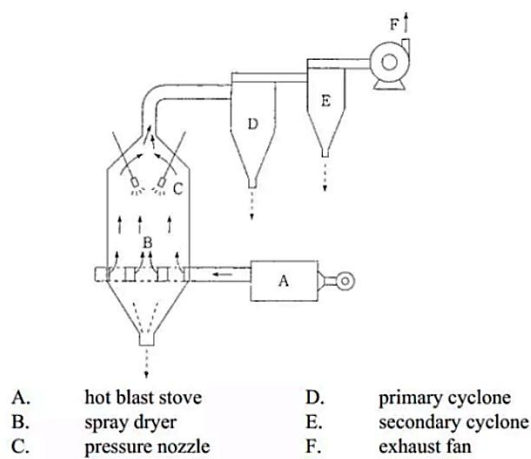
ภาพที่ 6 เครื่องทำแห้งสุญญากาศแบบต่อเนื่องลำเลียงด้วยสายพาน

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2547)

3. การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying)

การทำแห้งประเภทนี้จะใช้กับสารละลาย และวัตถุดิบที่มีลักษณะเป็นของเหลวข้น (Slurry) และครีม ดังนั้นจึงมีวิธีการที่แตกต่างจากวิธีอื่น โดยเป็นการนำวัตถุดิบพ่นเป็นละอองในกระแสอากาศ ให้ความร้อน เพื่อให้แห้งเป็นผงก่อนที่จะตกลงมา ดังแสดงในภาพที่ 7 และเนื่องจากในช่วงแรก วัตถุดิบจะมีอัตราความชื้นสูง จึงต้องใช้ปริมาณความร้อนสูงในการระเหยต่อผลิตภัณฑ์หนึ่งหน่วยมวล แต่การทำแห้งจะเสร็จสิ้นอย่างรวดเร็ว และอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์จะไม่สัมผัสกับอุณหภูมิสูง วิธีนี้จึงสามารถอบสารที่ไม่เสถียรต่อความร้อนได้ ทำให้ได้อนุภาคเป็นเม็ดกลมและสามารถปรับขนาดของอนุภาคได้ด้วยการปรับหัวพ่นละออง และด้วยสมบัติที่ดีเหล่านี้ทางอุตสาหกรรมจึงนำ

เครื่องทำแห้งประเภทนี้มาใช้กับการอบอาหาร ผงซักฟอก เป็นต้น (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2547)



ภาพที่ 7 เครื่องทำแห้งแบบฟุ้งลอย

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน (2547)

จากการศึกษาและเปรียบเทียบการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบสูญญากาศ และการทำแห้งแบบฟุ้งลอย สามารถสรุปข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของการทำแห้งแต่ละวิธีดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของวิธีการทำแห้ง

วิธีการทำแห้ง	ข้อได้เปรียบ	ข้อจำกัด
การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน	มีวิธีและขั้นตอนการทำงานที่ง่ายต่อการควบคุม และมีต้นทุนในการทำแห้งต่ำ	มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการได้ง่าย
การทำแห้งแบบสูญญากาศ	สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการ สี กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ได้ดี	รักษาลักษณะทางกายภาพและคุณค่าทางโภชนาการ
การทำแห้งแบบฟุ้งลอย	สามารถควบคุมกำลังการผลิตได้มากน้อยตามความต้องการ	ใช้พลังงานในการกำจัดความชื้นสูง ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง

ที่มา: ดัดแปลงจาก ซาลิดา (2555)

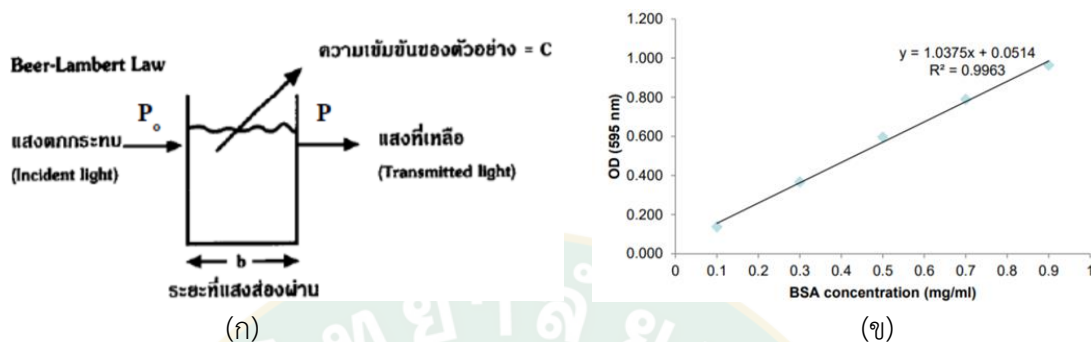
การวัดการดูดกลืนแสง

การหาปริมาณสารใดสารหนึ่งโดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการมีอยู่หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มากคือการวัดความเข้มของสีหรือการวัดความเข้มของแสง โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่า ในระยะแรกๆการเปรียบเทียบความเข้มของสีอาศัยสายตาซึ่งมีความถูกต้องและความแม่นยำต่ำ ต่อมาได้มีการนำตัวไวแสงมาใช้แทนการเปรียบเทียบด้วยสายตา จึงเรียกเครื่องมือที่ใช้ตัวไวแสงว่า Photoelectric colorimeter หรือ Photometer เนื่องจากสารหรือสีที่จะวัดมีความสามารถในการดูดกลืนแสง หรือปล่อยแสงที่มีช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้การวัดมีความจำเพาะและความไวสูง จึงได้พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มของแสงช่วงความยาวคลื่นแคบๆได้อย่างต่อเนื่องตามต้องการ และใช้ตัวไวแสงที่มีประสิทธิภาพสูง คือสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาไปมากมีทั้งแบบอนาล็อกแบบดิจิตอล รวมทั้งแบบดิจิตอลที่ทำงานโดยอัตโนมัติที่มีระบบไมโครโพรเซสเซอร์ควบคุมการทำงาน (ชูชาติ, 2544)

1. การหาปริมาณของสารโดยวิธีวัดการดูดกลืนแสง

การวิเคราะห์ปริมาณสารจะเป็นการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นซึ่งสารนั้นดูดกลืนแสงได้มากที่สุดเปรียบเทียบกับระหว่างสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่ากับสารละลายที่ต้องการหาปริมาณ ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้กันมากเนื่องจากลดความผิดพลาดจากความคลาดเคลื่อนของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงคุณภาพคววเวทท์ ตลอดจนเทคนิคที่ใช้ และการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะต้องเป็นไปตามปฏิกิริยาแบบปฏิกิริยาสมดุล (Equilibrium reaction) ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงเมื่อปฏิกิริยาเคมีสมดุลหรือถึงจุดหยุดปฏิกิริยา จึงนำสารละลายมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยอาศัยทฤษฎีตามกฎของเบียร์ คือ เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเดียว สัดส่วนของความเข้มแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น โดยการวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน ทำได้โดยการทำให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง (P_0) แล้ววัดปริมาณของแสงที่ผ่านทะลุ (P) โดยเปรียบเทียบกับแสงที่ให้ (P_0) ดังแสดงในภาพที่ 8 (ก) (Kantakapun, 2017) แล้วนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าจากกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟมาตรฐานนั้น ทำได้โดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานของสารชนิดเดียวกับที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งเตรียมให้มีความเข้มข้นต่างๆกัน และวัดที่ความยาวคลื่นที่สารนั้นดูดกลืนแสงได้มากที่สุด จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารแต่ละความเข้มข้นที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น

ของสารกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟผ่านจุดกำเนิดเป็นกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในภาพที่ 8 (ข) (วรวิทย์, 2557)

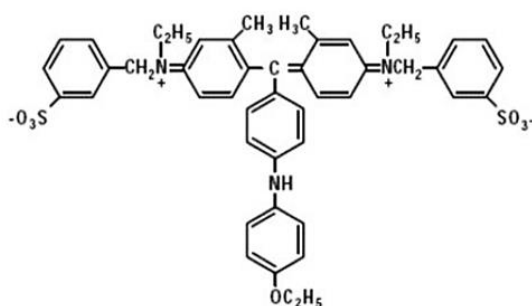


ภาพที่ 8 การวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืน (ก) และลักษณะกราฟมาตรฐาน (ข)

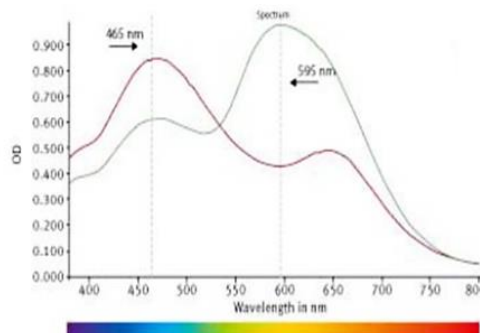
ที่มา: Kantakapun (2017); คณิต (2557)

2. การหาปริมาณโปรตีนรวมจากสารตัวอย่างด้วยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford assay)

วิธีนี้อาศัยหลักการโปรตีนจับกับสี Coomassie brilliant blue G-250 ด้วยแรงยึดเหนี่ยวไฮโดรโฟบิกและแรงยึดเหนี่ยวไอออนิกร่วมกัน ประจุบวกที่แขนข้างของกรดอะมิโนโดยเฉพาะส่วนที่เหลือของอาร์จินีนมีบทบาทสำคัญในการจับกับโมเลกุลของสีซึ่งมีประจุลบ (ภาพที่ 9) โมเลกุลของสีในสภาพที่มีประจุลบให้สีน้ำเงิน แต่เมื่อจับโปรตีนแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มอ่อนๆ การจับของสีกับโปรตีนในสถานะที่เป็นกรดจึงช่วยคงสภาพโครงสร้างประจุลบของสีไว้และให้สีน้ำเงินที่เข้มข้นตามปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ อีกทั้งวิธีนี้มีความสะดวก รวดเร็วและมีผลการรบกวนของสารอื่นน้อยกว่าวิธีอื่น (ชัยวัฒน์, 2556)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 9 หลักการโปรตีนจับกับสี Coomassie brilliant blue G-250

โดย (ก) โครงสร้างที่มีประจุลบของสี Coomassie brilliant blue G-250

(ข) สเปกตรัมของสี Coomassie brilliant blue G-250 เมื่อไม่ได้จับกับโปรตีน (สีแดง)

และสเปกตรัมของสี Coomassie brilliant blue G-250 เมื่อจับกับโปรตีน (สีเขียว)

ที่มา: ชัยวัฒน์ (2556)

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของโปรตีนระหว่างขั้นตอนการทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ใช้ในการศึกษาและหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนหรือหน่วยย่อย (Subunit) ของโปรตีน เมื่อใช้คู่กับเทคนิคทาง Gel filtration chromatography ก็จะทำให้ทราบว่าโปรตีนนั้นๆ ประกอบด้วยหน่วยย่อยกี่หน่วย หลักการของ SDS-PAGE คือ Sodium dodecyl sulfate (SDS) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบไปเกาะกับโปรตีนอย่างแน่นหนา ทำให้โปรตีนทั้งหมดมีประจุลบ นอกจากนี้ SDS ยังทำให้โปรตีนเสียสภาพ เปลี่ยนสภาพจากทรงกลม (Globular) ไปเป็นสภาพที่เหยียดตรง ทำให้โปรตีนที่ประกอบด้วยหน่วยหลายหน่วยจะแยกออกเป็นแต่ละหน่วยย่อย ดังนั้นการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าของโปรตีนทุกชนิดในกรณีนี้ จึงเป็นการเคลื่อนที่โดยอาศัยความแตกต่างในน้ำหนักโมเลกุลเพียงอย่างเดียว โดยจะเป็นการเคลื่อนที่ไปสู่ขั้วไฟฟ้าบวกในอัตราส่วนผกผันกับค่า Log ของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งจะสามารถหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนได้จากระยะการเคลื่อนที่ของโปรตีนที่ต้องการทราบน้ำหนักโมเลกุลกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลแล้ว นอกจากนี้การปรากฏของแถบโปรตีนเพียงแถบเดียวใน SDS-PAGE ยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงความบริสุทธิ์ของโปรตีน (สุพิรดา, 2558)

1. วิธีการทำ SDS-PAGE

มีความแตกต่างกันในแต่ละวิธี เช่น วิธีของ Weber และ Osborne เป็นแบบ Continuous polyacrylamide gel electrophoresis ใช้ Phosphate buffer ส่วนวิธีของ Laemmli ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากและทำในรูปของ Slab gel เป็นแบบ Discontinuous polyacrylamide gel electrophoresis ใช้ 0.5 M Tris-HCl, pH6.8 สำหรับ Concentrate stacking gel buffer, 1.5 M Tris-HCl, pH 8.8 สำหรับ Concentrated resolving gel buffer หรือ Concentrated separating gel buffer และ 0.025 M Tris, 0.192 M Glycine, 0.1% w/v SDS, pH8.3 สำหรับ Electrode buffer วิธีของ Discontinuous gel electrophoresis เป็นวิธีที่ Gel buffer และ Electrode buffer จะทำให้ตัวอย่างที่แยกในระหว่างการเคลื่อนที่ในกระแสไฟฟ้ารวมตัวอัดแน่นและเข้มข้น นอกจากนี้ Stacking gel ที่ %T ต่ำจะช่วยในการรวมตัวอัดแน่นกันของตัวอย่าง ส่วน Separating gel สามารถที่จะเปลี่ยนแปลงค่า %T ตามความต้องการขึ้นอยู่กับขนาดของโปรตีน และยังสามารใช้แบบ Gradient ได้จาก %T ต่ำ (ด้านบน) ไปสู่ %T สูง (ด้านล่าง) ของเจลได้ เพื่อให้การแยกตัวอย่างที่มีความแตกต่างของขนาดได้ดียิ่งขึ้น (สุพิรดา, 2558)

2. การวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE

ของผสมโปรตีนจะถูกทำให้เสียสภาพโดยความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 นาที ในสารละลายที่มี SDS มากเกินพอและมีสารประเภทไทออล (Thiol) เป็นองค์ประกอบ เช่น 2-เมอร์แคปโทเอทานอล (2-mercaptoethanol) เพื่อทำลายพันธะไดซัลไฟด์ (Disulphide bond) ในโปรตีน ภายใต้สภาวะนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะเกาะกับ SDS ในอัตราส่วนโดยน้ำหนักที่คงที่ (1.4 กรัมของ SDS ต่อพอลิเพปไทด์ 1 กรัม) จากนั้นนำของผสมโปรตีนแต่ละตัวอย่างใส่ลงบนเจลทรงกระบอกแต่ละแท่งหรือแต่ละช่องบนเจลแผ่น และนำไปแยกด้วยกระแสไฟฟ้า ซึ่งทั้งเจลและบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการแยกมี SDS เป็นองค์ประกอบอยู่ โปรตีนเทียบเคียงจะให้ผลในลักษณะเดียวกับเจลช่องอื่นๆ โดยโปรตีนจะเคลื่อนที่ไปตามน้ำหนักโมเลกุลของตัวเอง ภายหลังจากการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า ตำแหน่งของแถบโปรตีนที่แยกออกจากกันจะปรากฏขึ้นเมื่อย้อมด้วยสี เช่น สีคูแมซีบลู หรือสีสารประกอบของเงิน ทั้งนี้การแยกด้วยวิธี SDS-PAGE สาร SDS จะจับโปรตีนในอัตราส่วนโดยน้ำหนักที่คงที่ตลอดทั้งเจล ทำให้โปรตีนทุกชนิดมีค่าความหนาแน่นของประจุต่อน้ำหนักโปรตีนเท่ากัน การแยกโปรตีนด้วยวิธีนี้จึงอาศัยการแยกโดยขนาดเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีจำนวนประจุมาเกี่ยวข้อง และเนื่องจากระยะทางที่เคลื่อนที่ไปของสายพอลิเพปไทด์บนเจลมีความสัมพันธ์โดยตรงกับขนาดของพอลิเพปไทด์เท่านั้น การแยกโปรตีนที่สนใจบนเจลนี้ทำได้โดยเทียบน้ำหนักโมเลกุลระหว่างโปรตีนตัวอย่างกับโปรตีนเทียบเคียง ในกรณีที่เรามั่นใจว่าน้ำหนักของโปรตีนที่เราต้องการ

แตกต่างจากโปรตีนอื่นๆ อย่างชัดเจน เราสามารถแยกโปรตีนบนเจลเพื่อนำไปศึกษาองค์ประกอบได้ (โดยที่ไม่ต้องเทียบกับโปรตีนเทียบเคียงที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลแล้ว) (สุพิรดา, 2558)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร (Proximate analysis of food)

ในปัจจุบันการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารมีวิธีการต่างๆ มากมาย ซึ่งได้พัฒนาและปรับปรุงกันมาอย่างต่อเนื่อง โดยอาศัยมาตรฐานจากวิธีการที่นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน 2 ท่าน คือ Hennelbery และ Stohmanu เริ่มต้นวิเคราะห์อาหารสัตว์เป็นครั้งแรกเมื่อ 100 ปีกว่ามาแล้ว เป็นการวิเคราะห์ที่เรียกว่า Proximate analysis of foods หมายถึง การวิเคราะห์เพื่อหาส่วนประกอบหลักที่มีอยู่ในสารอาหารโดยประมาณ ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้จะทำให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว และไม่ต้องใช้เครื่องมือสมัยใหม่หรือที่ยุ่งยากและรีบเร่ง ส่วนประกอบหลักที่นิยมวิเคราะห์ในตัวอย่างอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 5 ได้แก่ ความชื้น (Moisture), เถ้า (Ash), ไขมัน (Crude fat), โปรตีน (Crude protein), กาก (Crude fiber) หรือเส้นใยอาหาร (Dietary fiber) และคาร์โบไฮเดรตโดยอาศัยผลต่าง (By difference) ซึ่งการใช้คำว่า “Crude” นำหน้าไขมันหรือโปรตีน แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้เป็นเพียงค่าโดยประมาณเท่านั้น ไม่ใช่ค่าที่แท้จริงของสารนั้นในอาหาร แต่ก็ก็เป็นค่าที่เชื่อถือได้ หรือมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริง หากต้องการค่าที่แท้จริงจะต้องวิเคราะห์โดยวิธีการอื่นที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำ ซึ่งอาจจะต้องใช้เครื่องมือราคาแพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และเสียค่าใช้จ่ายสูง อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีการพัฒนาเครื่องมือที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์อย่างรวดเร็วและให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น รวมทั้งมีวิธีการวิเคราะห์ที่สามารถหาสารที่มีปริมาณน้อยมากได้ด้วย (กษมา, 2559)

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบหลักในอาหาร

กลุ่มสาร	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น (Moisture content)	การวิเคราะห์ความชื้นด้วยการทำแห้ง
เถ้า (Ash)	เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส
โปรตีนรวม (Crude protein, CP)	Kjeldahl method
ไขมัน (Ether extract, EE)	สกัดตัวอย่างด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์
กากหยาบ (Crude fiber, CF)	
คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (Nitrogen free extract, NFE)	

ที่มา: ดัดแปลงจาก พิมพ์เพ็ญ และนิริยา (2559)

ร้อยละผลผลิต

ความเป็นมาและแนวคิดเรื่องการเพิ่มผลผลิตนั้น เริ่มต้นที่ประเทศสหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ.2454 โดย เฟรดเดอริก ดับบลิว เทเลอร์ (Federick W. Taylor) ได้รับการยกย่องว่าเป็นบิดาแห่งการบริหารเชิงวิทยาศาสตร์ ได้ทำการศึกษาเพื่อหาแนวทางการแก้ปัญหาเกี่ยวกับความสิ้นเปลือง วัสดุดิบและพลังงานในกระบวนการผลิตที่มีสาเหตุมาจากการที่อุตสาหกรรมการผลิตในยุคแรกจะเน้นใช้แรงงานของคนเป็นหลัก โดยเริ่มต้นจากครอบครัว ชุมชน สังคม และประเทศ ซึ่งยังไม่มีแผนการเพิ่มผลผลิตแต่อย่างใด ทำให้คนงานทำงานโดยไม่มีความรู้ ไม่มีทักษะ และไม่มีความถนัดหรือความสามารถเฉพาะทางในงานที่ทำ ส่งผลให้ผลผลิตตกต่ำ หรือมีจำนวนน้อยกว่าที่ควรจะเป็น จึงต้องมีการพัฒนากระบวนการผลิตเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน

การเพิ่มผลผลิตตามแนวคิดทางวิทยาศาสตร์ หมายถึงอัตราส่วนระหว่างปัจจัยการผลิตที่ใช้ไป (Input) (แรงงาน เครื่องมือ วัสดุดิบ เครื่องจักร พลังงาน และอื่นๆ) กับผลผลิตที่ได้จากกระบวนการผลิต (Output) (ตู้เย็น รถยนต์ การขนส่ง) คำนวณได้จากสมการที่ 1 (วิทยา และไพโรจน์, 2559)

$$\text{Productivity} = \frac{\text{Output}}{\text{Input}} \quad (1)$$

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง

1. ความสามารถในการละลาย (Water solubility index, WSI)

ความสามารถในการละลายของโปรตีน เป็นคุณสมบัติที่มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ เช่น ความหนืด ความสามารถในการเกิดฟอง ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและการเกิดเจลของอาหาร เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของอาหารคือน้ำ โปรตีนที่สามารถยึดจับน้ำหรือละลายน้ำได้จึงสามารถรวมตัวเข้ากับอาหารและแสดงสมบัติเชิงหน้าที่ได้ งานวิจัยส่วนมากจึงใช้ความสามารถในการละลายของโปรตีนบ่งชี้คุณภาพของโปรตีนหรือโครงสร้างของโปรตีนทางอ้อม ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนคือ สัดส่วนของส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำของผิวหน้าโปรตีน ค่า pH อุณหภูมิ ค่าความแรงของไอออน ค่าความเข้มข้นของโปรตีน และสารประกอบอื่นๆ เช่น โลหะ หรือ ตัวทำละลายอินทรีย์ (สมหมาย, 2556)

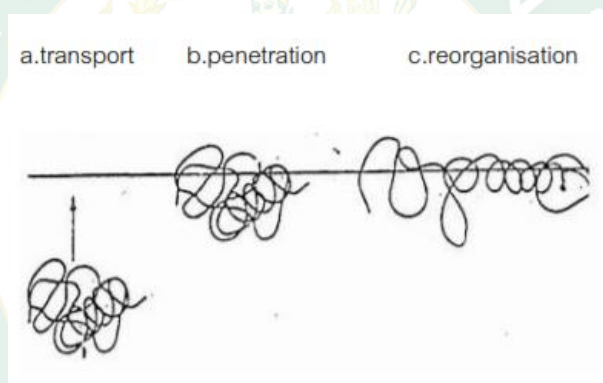
2. ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity, WHC)

โปรตีนมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ ทำให้เนื้อสัมผัสของอาหารมีลักษณะนุ่ม มีรสชาติดี และช่วยให้อาหารมีความคงรูป การอุ้มน้ำของโปรตีนเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลน้ำกับโปรตีน โดยโมเลกุลน้ำจะจับกับโมเลกุลของโปรตีนตรงตำแหน่งที่เป็นกรดอะมิโนชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) ด้วยพันธะไฮโดรเจน โมเลกุลน้ำยังสามารถเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ได้ด้วย แต่น้ำในส่วนนี้มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับน้ำที่จับกับกรดอะมิโนชนิดที่ชอบน้ำ ทั้งนี้การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลกับน้ำจะมีมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีน นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับการให้ความร้อนแก่สารแขวนลอยโปรตีน ด้วยการให้ความร้อนอย่างช้าๆ จะส่งผลให้เจลที่ได้มีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบ ทำให้มีการกักเก็บน้ำภายในโครงสร้างเจลได้ดี (ธนจันทร์ และคณะ, 2550)

3. สมบัติการเกิดฟอง (Foaming properties)

ขนาดของฟองอากาศที่กระจายอยู่ในอาหารมีอิทธิพลต่อลักษณะปรากฏและสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร หากฟองอากาศมีขนาดใหญ่อาหารจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสเบาและมีรูพรุน หากฟองอากาศมีขนาดเล็กลักษณะเนื้อสัมผัสที่ได้จะเบาและเรียบกว่า การทำให้เกิดฟองสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตีให้ขึ้นฟู การเขย่า การอัดอากาศ ซึ่งแต่ละวิธีส่งผลถึงสมบัติของฟองที่เกิดขึ้น อาทิเช่น ความสามารถในการเกิดฟอง (Foaming capacity) ซึ่งวัดจากปริมาตรของฟองที่เกิดขึ้นและแสดงเป็นค่าเปอร์เซ็นต์และความคงตัวของฟอง (Foaming stability) ซึ่งวัดเวลาที่ใช้

สำหรับการสลายตัวของฟอง กลไกการเกิดฟองประกอบด้วยสามขั้นตอน แสดงดังภาพที่ 10 โดยในขั้นตอนแรก โปรตีนที่สามารถละลายได้จะเกิดการเคลื่อนที่ (Transport) ไปยังผิวหน้าระหว่างอากาศกับน้ำ (Air-water interface) ส่วนในขั้นตอนที่สอง โปรตีนที่เคลื่อนตัวมาที่ผิวหน้าจะเกิดการแทรกตัว (Penetration) ระหว่างชั้นของอากาศกับน้ำ ทำให้ความเข้มข้นที่ผิวหน้าเพิ่มขึ้น แรงตึงผิวลดลง สำหรับในขั้นตอนสุดท้าย โปรตีนจะเกิดการคลายตัว (Unfolding) และจัดเรียงตัวใหม่ (Reorganization) โดยหมู่ไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic groups) จะหันเข้าหาเฟสของเหลว (Aqueous phase) และหมู่ไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic groups) หันเข้าหาอากาศ (Air phase) ซึ่งในที่สุดจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างโพลีเปปไทด์เพื่อสร้างเป็นฟิล์มห่อหุ้มอากาศไว้ภายใน ทั้งนี้พบว่าขณะเกิดกลไกข้างต้น โปรตีนอาจมีการเสียสภาพบางส่วน (Partial denaturation) และรวมตัวกันตกตะกอน (Coagulation) ซึ่งการตกตะกอนนี้จะช่วยสนับสนุนการสร้างฟองที่คงตัว ดังเช่นในโปรตีนไข่ขาว (รัตนา, 2548)



ภาพที่ 10 กระบวนการดูดซับที่ผิวหน้าระหว่างน้ำกับอากาศของโปรตีน

ที่มา: Wilde & Clark (1996)

ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (Electrical conductivity disintegration index, Z)

วิธีการที่นิยมใช้ในการประมาณค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์จากการให้สนามไฟฟ้าแก่ตัวอย่างคือ การวัดค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่าง เนื่องจากสารละลายภายนอกและภายในเซลล์มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้า ในขณะที่เซลล์แต่ละเซลล์ถูกล้อมรอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นฉนวน เมื่อให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะแก่อาหารจะเกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้สารละลายภายในเซลล์ถ่ายเทออกมาภายนอกเซลล์ได้มากขึ้น ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างมีค่าสูงขึ้น ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างจึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ได้

(Angersbach et al., 1999; Lebovka et al., 2004; Rezaee et al., 2019) โดย ค่าดัชนี ความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ สามารถประมาณได้หลายวิธี ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ข้อดีและข้อเสียของวิธีการต่างๆในการประมาณการเกิดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ จากการให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะแก่อาหาร

วิธีการ	ข้อดี	ข้อเสีย
กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical microscopy)	เป็นวิธีที่เห็นภาพโดยตรง ชัดเจน และแม่นยำ สามารถใช้ได้กับวัสดุที่มีลักษณะทางชีวภาพแตกต่างกัน	มีความซับซ้อนในการเตรียมตัวอย่าง เช่น ต้องระวังการติดกันของเยื่อหุ้มเซลล์ การย้อมสีของเซลล์ต้องใช้เทคนิคพิเศษ
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopy)	เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมาก สำหรับการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเยื่อหุ้มเซลล์ และผนังเซลล์	มีความซับซ้อนในการเตรียมตัวอย่าง
การวัดคุณสมบัติทางไฟฟ้า (Measurements of electrical characteristics)	เป็นวิธีที่ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีราคาแพง รู้ผลได้อย่างรวดเร็ว และสามารถตรวจวัดได้อย่างต่อเนื่อง	ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ขึ้นอยู่กับขั้นตอนในการหาค่าการนำไฟฟ้าของเนื้อเยื่อที่เสียหายอย่างสมบูรณ์ และอุณหภูมิของตัวอย่าง
ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (Diffusion coefficient)	เป็นวิธีที่ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีราคาแพง	ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ขึ้นอยู่กับขั้นตอนในการหาค่าการแพร่กระจายของเนื้อเยื่อที่เสียหายอย่างสมบูรณ์ และอุณหภูมิของตัวอย่าง
เนื้อสัมผัส (Texture)	เป็นวิธีที่ง่าย	การเตรียมตัวอย่างต้องคำนึงถึงระดับความสุกของวัตถุดิบ
การทดสอบทางเสียง (Acoustic test)	เป็นวิธีที่ง่าย	ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเสียงที่วัดได้

ที่มา: ดัดแปลงจาก Lebovka & Vorobiev (2016)

ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด (Specific electrical consumption, SEC)

วิธีการคำนวณค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ (SEC) เป็นวิธีพื้นฐานอย่างหนึ่งในการคำนวณการใช้พลังงานต่อหน่วยของผลิตภัณฑ์ ในการคำนวณการใช้พลังงานจำเพาะประกอบด้วยจำนวนหน่วยการใช้พลังงานที่เกี่ยวข้องกับการผลิต และปริมาณการผลิตที่ได้ โดยค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ เป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพการใช้พลังงาน ซึ่งหากค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะมีค่าสูง จะแสดงถึงประสิทธิภาพในการใช้พลังงานต่ำ และหากค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะมีค่าต่ำ จะแสดงถึงประสิทธิภาพในการใช้พลังงานสูง (Palamutcu, 2015)

ค่าแอกทีวิตี (Water activity, a_w)

ค่า Water activity เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร จึงมีผลโดยตรงต่อการกำหนดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากค่า Water activity เป็นปัจจัยที่ชี้ระดับปริมาณน้ำต่ำสุดในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ซึ่งสามารถใช้ค่า Water activity ในการประเมินว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดเป็นหรือไม่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเสีย ตลอดจนใช้ในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ เพราะเชื้อจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ภายใต้ค่า Water activity ที่จำกัด โดยเราจะทำให้อาหารมีค่า Water activity ต่ำกว่าที่เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียเกือบทุกชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า Water activity ต่ำกว่า 0.9 และราส่วนใหญ่จะไม่เจริญเติบโตที่ค่า Water activity ต่ำกว่า 0.7 (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2545)

1. ค่า Water activity กับข้อกำหนดและมาตรฐานอาหาร

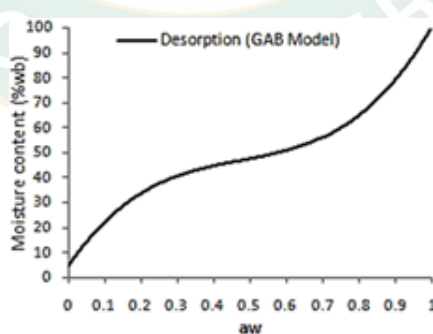
จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า Water activity กับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเกิดการเน่าเสีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ หลายประเทศจึงมีการออกกฎหมายที่ใช้บังคับและควบคุมคุณภาพอาหารที่ผลิตหรือขายในประเทศ เช่น Food and drug administration (FDA) ในสหรัฐอเมริกาใช้ค่า Water activity เป็นดัชนีของความปลอดภัยในการแบ่งประเภทอาหารโดยอาหารจะถูกแบ่งเป็น 4 ประเภท อาศัยค่า pH และค่า Water activity แสดงดังภาพที่ 11

pH ↑	Aw Controlled foods pH > 4.6, Aw < 0.85	Low – acid foods pH > 4.6, Aw > 0.85
	Acid and Aw controlled foods	Acid and Acidified foods

ภาพที่ 11 การแสดงประเภทของอาหาร โดยอาศัยค่า pH และค่า Water activity
ที่มา: (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2545)

2. Water activity กับอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

การเสื่อมเสียของอาหารโดยส่วนใหญ่เกิดจากการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนประกอบที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน และเนื่องจากค่า Water activity เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ดังนั้นวิธีการควบคุมค่า Water activity จึงเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยจะควบคุมให้อาหารมีระดับค่า Water activity ต่ำกว่าค่าที่เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ จะเจริญเติบโต ดังแสดงในภาพที่ 12 สิ่งสำคัญของการป้องกันการเสื่อมเสียเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์คือการป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษได้ เช่น *Clostridium botulinum* จะไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับค่า Water activity ต่ำกว่า 0.93



ภาพที่ 12 การแสดงระดับค่า Water activity ที่จำกัดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ
ที่มา: (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2545)

โดยทั่วไปแล้วอาหารที่มีค่า Water activity สูง ได้แก่ อาหารสด เช่น เนื้อสัตว์ ผัก และผลไม้ รวมทั้งอาหารบางชนิดที่ผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น soft cheese และผลิตภัณฑ์เนื้อม้วน มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นควบคู่ไปด้วย แต่สำหรับกลุ่มอาหารบางชนิดสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้โดยการควบคุมระดับ Water activity เรียกว่า Semi-moist food รวมทั้งเค้กผลไม้ พุดดิ้ง ช็อกโกแลต และคาราเมล เมื่ออาหารเหล่านี้เกิดการเสื่อมเสีย มักเป็นการเสียจากการเจริญของเชื้อราที่ผิวหน้า ซึ่งราโดยส่วนมากจะหยุดการเจริญที่ค่า Water activity ต่ำกว่า 0.8 แต่จะมีเชื้อราบางชนิดสามารถเติบโตได้อย่างช้าๆ ที่ค่า Water activity ระดับนี้ ดังนั้นจึงควรควบคุมให้ค่า Water activity ของผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ให้มีค่าไม่เกิน 0.75 แต่ยังคงไม่สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้สมบูรณ์ เพราะยังคงมียีสต์และราบางชนิดสามารถเจริญได้ที่ค่า Water activity ต่ำกว่านี้ ทั้งนี้อาจพิจารณาเป็นกรณีพิเศษ เช่น ลูกกวาดต้องการให้มีอายุการเก็บมากกว่า 12 เดือนขึ้นไป อาจต้องทำให้มีค่า Water activity ต่ำกว่า 0.6 (Food science Australia fact sheet) (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2545)

ความชื้น

1. ความสำคัญของความชื้นในอาหาร (Moisture content)

1.1 ความชื้นมีผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร (Food spoilage) โดยเฉพาะการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ซึ่งกระทบต่ออายุการวางจำหน่าย อาหารที่มีความชื้นหรือปริมาณน้ำสูงจะเป็นอาหารที่เสื่อมเสียง่าย เนื่องจากมีสภาวะเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และรา

1.2 ความชื้นมีผลต่อความปลอดภัยทางอาหาร (Food safety) อาหารที่มีน้ำสูงเหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและการสร้างสารพิษที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ รวมถึงการสร้างสารพิษของรา ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

1.3 ความชื้นมีผลต่อสมบัติทางกายภาพ และสมบัติเชิงความร้อนของอาหารด้านต่างๆ เช่น จุดหลอมเหลว จุดเดือด การนำความร้อน และความร้อนจำเพาะ เป็นต้น

1.4 ความชื้นมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งมีผลต่อการยอมรับของอาหาร ได้แก่ เนื้อสัมผัส เช่น ความกรอบ ความหนืด และการเกาะติดกันเป็นก้อน

1.5 ความชื้นมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ที่มีผลกระทบทางลบต่ออาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล และปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด

1.6 ความชื้นมีผลต่อการกำหนดราคาสินค้า เช่น ข้าว เมล็ดธัญพืช กำหนดราคาข้าวซื้อผันแปรตามปริมาณความชื้น

2. การแสดงค่าความชื้นของอาหาร นิยมบอกเป็นร้อยละมี 2 รูปแบบคือ

2.1 ความชื้นฐานเปียก (Wet basis) เป็นค่าความชื้นที่มักใช้ในทางการค้า เป็นค่าที่ใช้บ่งชี้ความชื้นโดยทั่วไปในชีวิตประจำวัน มักบอกเป็นร้อยละ

2.2 ความชื้นฐานแห้ง (Dry basis) เป็นค่าที่นิยมใช้กันในการวิเคราะห์กระบวนการทำแห้ง เพราะช่วยให้คำนวณได้สะดวก เนื่องจากน้ำหนักแห้งของอาหารจะคงที่ อาจบอกเป็นร้อยละหรือจำนวนกรัมของน้ำต่อจำนวนกรัมของของแข็ง (g_{H_2O} / g_{solid})

3. การวัดความชื้นของอาหาร

น้ำที่มีอยู่ในอาหารแต่ละชนิดมีการยึดติดอยู่ในโครงสร้าง หรือโมเลกุลของสารอื่นๆ ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารในรูปแบบ และความแข็งแรงต่างกัน ทำให้เทคนิคที่ใช้สำหรับการหาความชื้นของอาหารแต่ละชนิดแตกต่างกันไป ทั้งความยากง่าย ความซับซ้อนของอุปกรณ์ และความถูกต้องแม่นยำของค่าที่ได้ วัตถุประสงค์หลักของบทนี้จึงเป็นการแนะนำให้รู้จักวิธีการหาความชื้นในอาหารแบบต่างๆ ข้อดีและข้อเสียของแต่ละวิธี เพื่อสามารถเลือกนำไปใช้งานได้อย่างเหมาะสม

3.1 การวัดความชื้นโดยตรง (Direct method) เป็นการวัดปริมาณที่มีอยู่ในอาหารโดยตรงสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การแยกเอาน้ำออกด้วยวิธีทางกายภาพ เช่น การทำแห้งทำให้น้ำระเหยออกไป การกลั่นแยกเอาน้ำออกจากอาหาร หรือการใช้วิธีการทางเคมี โดยการใช้สารเคมีทำปฏิกิริยากับน้ำ เป็นต้น วิธีการวัดโดยตรงเป็นการวัดที่ทำลายตัวอย่าง แต่ละวิธีจะมีความถูกต้องแตกต่างกัน วิธีที่มีการยอมรับกันทั่วไปว่ามีความถูกต้องแม่นยำสูง จะนิยมใช้เป็นค่าความชื้นมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวัดด้วยวิธีการอื่นๆ ก่อนนำค่าที่ได้ไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ การทำปฏิกิริยาเคมี การวิเคราะห์ความชื้นด้วยการทำแห้ง การวิเคราะห์ความชื้นด้วยการกลั่นและการใช้รังสีอินฟราเรดหรือคลื่นไมโครเวฟ วิธีวัดความชื้นเหล่านี้มีจุดเด่นที่ให้การวัดถูกต้อง แต่จุดด้อยสำคัญคือ อุปกรณ์และเครื่องมือมีราคาแพง การใช้งานต้องเตรียมอุปกรณ์หลายชิ้น และการวัดแต่ละครั้งใช้เวลานาน

3.2 การวัดโดยอ้อม (Indirect methods) เป็นการวัดสมบัติทางไฟฟ้าของเมล็ดพืชด้วยอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เช่น วัดค่าความจุไฟฟ้า การวัดความชื้นโดยทางอ้อมมีจุดเด่น เช่น ง่าย รวดเร็ว สะดวก และทำได้บ่อย จุดด้อยคือ ค่าที่ได้จากการวัดเป็นค่าโดยประมาณการ การวัดโดยอ้อมสามารถวัดได้หลายวิธีเช่นกัน ได้แก่ การวัดความต้านทานไฟฟ้า ความจุไฟฟ้าและความชื้นสัมพัทธ์ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2562ข)

สี (Color)

สีเป็นสมบัติเชิงแสงที่นำมาใช้บรรยายลักษณะภายนอกของวัตถุได้ง่ายที่สุดแบบหนึ่ง ผลผลิตกันต่าง ๆ ที่ผลิตออกมาเพื่อการอุปโภค บริโภคต่างใช้สีเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว หรือเพื่อดึงดูดความสนใจของผู้บริโภค การบรรยายลักษณะของสีหรือการวัดค่าสีจึงมีบทบาทสำคัญในงานควบคุมคุณภาพสินค้าในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามมาตรฐานการบรรยายลักษณะของสีอาจแตกต่างกันไปตามประสบการณ์ของผู้บรรยาย หรือตามลักษณะของแสงตกกระทบ ฯลฯ ดังนั้นจึงมีการกำหนดมาตรฐานการวัดค่าสีขึ้นเป็นมาตรฐานสากลเพื่อสะดวกในการอ้างอิงสำหรับการบรรยายลักษณะของสี เครื่องมือที่ใช้วัดสีเรียกว่าเครื่อง Spectrophotometer ที่สามารถวัดสีของวัตถุออกมาเป็นตัวเลขได้ ซึ่งจะวัดปริมาณการสะท้อนแสงของวัตถุเทียบกับมาตรฐานอ้างอิงที่เป็น Reflectance curve วัตถุที่มีสีแตกต่างกันจะมี Reflectance curve ต่างกัน วัตถุที่มีสีต่างกันเมื่อสะท้อนแสงของสีนั้นออกมาก็จะมีความยาวคลื่นต่างกันโดยที่ สีน้ำเงิน มีความยาวคลื่นที่ 430-460 นาโนเมตร สีเขียว มีความยาวคลื่นที่ 500-580 นาโนเมตร และสีแดง มีความยาวคลื่นที่ 620-780 นาโนเมตร

1. การวิเคราะห์สีระบบ CIE L* a* b* (CIE LAB)

ระบบ CIE L*a*b* เป็นวิธีการวัดสีที่ใช้ลักษณะของ color space โดยกำหนดให้ L* เป็นค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 100

แกน a* ที่เป็น + สีจะเป็นไปในทิศทางสีแดง

แกน a* ที่เป็น - สีจะเป็นไปในทิศทางสีเขียว

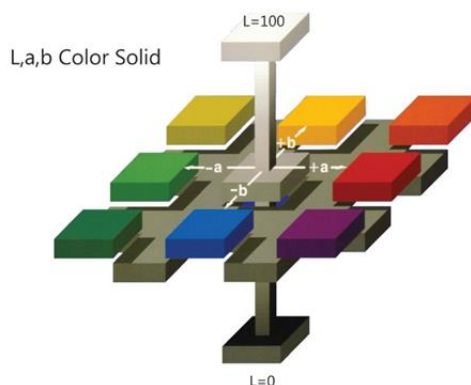
แกน b* ที่เป็น + สีจะเป็นไปในทิศทางสีเหลือง

แกน b* ที่เป็น - สีจะเป็นไปในทิศทางสีน้ำเงิน

และในการหาค่าความแตกต่างของสีที่เป็นตัวเลขนั้น จะพบว่าจุดจุดหนึ่งใน Space นั้น เป็น L^*_1, a^*_1, b^*_1 และเมื่อสีมีการเปลี่ยนเฉดสีไปจะได้อีกจุดใน Space เป็น L^*_2, a^*_2, b^*_2 ซึ่ง 2 จุดนี้จะมีระยะห่างกันใน Space เท่าไร ก็จะเป็นตัวบ่งบอกถึงความแตกต่างของสี แสดงดังสมการที่ 2 และภาพที่ 13 (ฝ่ายสารสนเทศและการจัดการองค์ความรู้, 2556)

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2} \quad (2)$$

โดยที่ ΔE คือค่าความแตกต่างของสี



ภาพที่ 13 ระบบสี CIELAB

ที่มา: HunterLab (2020)

การวิเคราะห์ขนาดอนุภาค

การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคโดยใช้ตะแกรงมาตรฐานเป็นวิธีการที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ทำซ้ำได้ และมีค่าใช้จ่ายในการทดสอบไม่แพง การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคสามารถวัดอนุภาคที่มีขนาดตั้งแต่ 5 ไมโครเมตร ถึง 125 มิลลิเมตร ด้วยการร่อนผ่านช่องตะแกรง โดยช่องตะแกรงทำจากลวดมาสานกันเป็นช่องและความกว้างของตะแกรงมีหน่วยเป็นเมช (Mesh) ซึ่งหมายถึงจำนวนช่องของตะแกรงในความยาว 1 นิ้ว ยกตัวอย่างเช่น ตะแกรงขนาด 40 เมช (เบอร์ 40) ในความยาว 1 นิ้ว จะมีช่องตะแกรง 40 ช่อง การแยกขนาดอนุภาคจะดำเนินการโดยนำตัวอย่างวางบนตะแกรงที่มีช่องตะแกรงขนาดต่างๆ ซึ่งสามารถจัดเรียงตะแกรงตามลำดับที่ต้องการ จากนั้นตะแกรงจะสั่นสะเทือนทำให้ตัวอย่างลอดผ่านช่องตะแกรง ปริมาณตัวอย่างที่ค้างอยู่บนตะแกรงแต่ละอันจะใช้ในการคำนวณการกระจายขนาดอนุภาคของตัวอย่าง (พิมพ์เพื่อคุณและนิธิยา, 2563; Dishman, 2006)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Liu et al. (2008) ได้ศึกษาองค์ประกอบหน่วยย่อยและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไอโซเลทที่สกัดจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ถูกเก็บรักษาภายใต้สภาวะและช่วงเวลาที่ต่างกัน โดยโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลทถูกสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม โดยนำถั่วเหลืองผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับ pH เป็น 8 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 นอร์มอล กวนผสมที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000g เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการตกตะกอนด้วยการปรับ pH ให้เป็น 4.5 โดยใช้ไฮโดรคลอริก เข้มข้น 2 นอร์มอล จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000g เป็นเวลา 20 นาที นำตะกอนที่ได้มาละลายในน้ำและทำให้เป็นกลางโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 นอร์มอล จากนั้นสารสกัดโปรตีนถูกทำแห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

สิรินดา และคณะ (2554) ได้ศึกษาการสกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันแล้ว เพื่อทดแทนนมผงขาดมันเนยในไอศกรีมไขมันต่ำ การสกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลืองจะทำได้โดยนำกากถั่วเหลืองมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร แล้วปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 8 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที นำสารละลายที่ได้มาปรับ pH ให้ได้ 4.5 ซึ่งเป็น pH ที่จุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลือง ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง นำตะกอนที่ได้มาละลายให้ค่า pH มีค่าเท่ากับ 7 จากนั้นจึงทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

Yu et al. (2015) ได้ศึกษาการสกัดโพลีฟีนอลและโปรตีนจากลำต้นและใบของผักกาดก้านขาวโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะเปรียบเทียบกับวิธีการดั้งเดิม (การบด) ผลการศึกษาพบว่าการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 0.8 5 และ 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร สามารถสกัดโปรตีนและโพลีฟีนอลจากก้านและใบของผักกาดก้านขาวได้ปริมาณมากกว่าการใช้การสกัดด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม โดยการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะที่ความเข้มสนามไฟฟ้าที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร สามารถสกัดโพลีฟีนอลและโปรตีนได้มากที่สุดถึงร้อยละ 91 และ 80 ตามลำดับ เนื่องจากการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูพรุนซึ่งช่วยให้เร่งกระบวนการสกัดของสารประกอบภายในเซลล์ นอกจากนี้โพลีฟีนอลและโปรตีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะสูงขึ้น

Parniakov et al. (2015) ได้ศึกษาการสกัดสารสี โพรตีน คาร์โบไฮเดรต สารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย โดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ เปรียบเทียบกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิก ผลการศึกษาพบว่าการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะสามารถแยกโปรตีนบริสุทธิ์บางชนิด ซึ่งแตกต่างจากโปรตีนที่สกัดได้จากการใช้คลื่นอัลตราโซนิก

Redondo et al. (2018) ได้ศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช เพื่อลดการใช้พลังงานและหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด ผลการศึกษาพบว่าการสกัดสารสำคัญโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะสามารถทดแทนการสกัดสารสำคัญโดยใช้วิธีการแบบดั้งเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมากและใช้เวลาในการสกัดนาน

เวสารัช และคณะ (2561) ได้ศึกษาการประยุกต์ใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์เพื่อสกัดสารจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* TISTR8580 ที่ความเข้มของสนามไฟฟ้าเท่ากับ 5 กิโลโวลต์ ต่อเซนติเมตร ความถี่ 2 เฮิร์ตซ์ และแปรผันจำนวนพัลส์ที่ 1,500 2,500 3,500 และ 4,500 พัลส์ โดยมีน้ำกลั่นเป็นตัวกลางกระแสไฟฟ้า ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้จำนวนพัลส์ในการสกัดเพิ่มขึ้น อุณหภูมิและค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น โดยที่จำนวนพัลส์เท่ากับ 2,500 พัลส์ สามารถสกัดคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนทั้งหมดได้มากที่สุดเท่ากับ 23.19 ± 1.47 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 144.48 ± 1.41 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

วิชมณี และคณะ (2560) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาการทำแห้งด้วยลมร้อนต่อคุณภาพทางเคมีกายภาพของเห็ดเข็มทองแห้งที่ผลิตจากส่วนที่ไม่นิยมบริโภค โดยสภาวะการทำแห้งด้วยลมร้อนที่ศึกษาแปรระดับอุณหภูมิ (40-70 องศาเซลเซียส) และเวลา (180-300 นาที) ผลการศึกษาพบว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 285 นาที มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากปริมาณสารสำคัญสูงสุด (โปรตีน กาบา สารประกอบฟีนอลิก และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ) เนื่องจากการทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ใช้ระยะเวลาในการทำแห้งนานขึ้น ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่การทำแห้งที่อุณหภูมิสูงโปรตีนจะเกิดการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

วัลลี และคณะ (2562) ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการทำแห้งต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของเปลือกมะม่วงแห้ง โดยการแปรระดับอุณหภูมิในการทำแห้งที่อุณหภูมิ 55 60 และ 65 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าเปลือกมะม่วงที่อบอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีปริมาณไขมัน โปรตีน ความชื้น เถ้า และคลอโรฟิลล์มากที่สุด

Tkacz et al. (2020) ได้ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งและชนิดของวัตถุดิบอาหาร ต่อคุณสมบัติทางกายภาพ ส่วนประกอบทางเคมี และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของ ผงซีบัตเตอร์น โดยการศึกษาผลของวิธีการทำแห้ง 3 วิธี ได้แก่ การทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการทำแห้งแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 70 และ 90 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์มากที่สุด

Li et al. (2017) ได้ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งและตัวแปรที่มีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของผงชะเอมเทศ ในการทดลองจะใช้สารสกัดชะเอมเทศปริมาณ 100 กรัม เกล็ดบนแผ่นพลาสติกขนาด 20x10 ตารางเซนติเมตร หนา 3.9 มิลลิเมตร จากนั้นทำการ ทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน -95 กิโลปาสคาล ผลการศึกษาพบว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟลาโวนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส

Blaise et al. (2017) ได้ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อคุณสมบัติทางเคมี กายภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไอโซเลทจากพืชตระกูลถั่ว ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วฝักยาว และถั่วพรี โดยสภาวะการทำแห้ง 3 อุณหภูมิ คือ 130 170 และ 200 องศาเซลเซียส พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณโปรตีนของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการ ทำแห้งที่อุณหภูมิ 130 170 และ 200 องศาเซลเซียส แต่ผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการ ทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการ ทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 130 และ 200 องศาเซลเซียส

John et al. (2018) ได้ศึกษาคุณสมบัติทางรีโอโลยีและการกระจายขนาดอนุภาคของโปรตีน จากถั่วเหลืองที่ได้รับผลกระทบจากวิธีการทำแห้ง โดยสภาวะการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 170 180 และ 190 องศาเซลเซียส พบว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการ ทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส มีขนาดอนุภาคเล็กและมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคใกล้เคียงกันมากกว่า ผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการ ทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 170 และ 190 องศาเซลเซียส ซึ่งการที่ ผงโปรตีนมีขนาดเล็กนำไปสู่การมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดีของผงโปรตีน

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

ถั่วเหลือง พันธุ์เชียงใหม่ 60

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Binder รุ่น FD115 ประเทศเยอรมนี
2. เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ยี่ห้อ Memmert รุ่น VO200 ประเทศเยอรมนี
3. เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ยี่ห้อ Buchi รุ่น B-290 ประเทศจีน
4. เครื่องเขย่าตะแกรง ยี่ห้อ Retsch รุ่น AS200 basic ประเทศเยอรมนี
5. เครื่องปั่นละเอียด ยี่ห้อ Tefal รุ่น Blendforce ประเทศฝรั่งเศส
6. เครื่องชั่ง ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BSA3202S-CW ประเทศเยอรมนี
7. เครื่องวัดสี ยี่ห้อ HunterLab รุ่น MiniScan XE plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เครื่องวัดค่า a_w ยี่ห้อ AquaLab รุ่น 3TE ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ Thermo scientific รุ่น Genesys30 ประเทศจีน
10. เครื่องวัดค่า pH ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น FP20 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
11. เครื่องวิเคราะห์ความชื้นด้วยรังสีอินฟราเรด ยี่ห้อ AND รุ่น MX-50 ประเทศญี่ปุ่น
12. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ ยี่ห้อ Gemmy รุ่น PLC-012E ประเทศไต้หวัน
13. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งพื้น ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5C Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
14. เครื่องกวนสารละลาย ยี่ห้อ IKA รุ่น C-MAG HS 7 ประเทศเยอรมนี
15. เครื่องผสมสารละลาย ยี่ห้อ Uzusio รุ่น VTX-3000L ประเทศญี่ปุ่น
16. เครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ยี่ห้อ Ohaus รุ่น ST3100M-B ประเทศสหรัฐอเมริกา
17. เครื่องวัดกำลังไฟฟ้า ยี่ห้อ HiDANCE ประเทศจีน
18. ออโต้ปิเปต (Auto pipette) ยี่ห้อ Nichiryo รุ่น NLE-1000 ประเทศญี่ปุ่น
19. เทอร์โมมิเตอร์แบบแท่งแก้ว ยี่ห้อ SK Sato รุ่น T-0053 ประเทศไต้หวัน
20. ถาดสแตนเลส ขนาด 36×27×7 ลูกบาศก์เซนติเมตร ยี่ห้อ GOGO ประเทศจีน
21. ชุดอุปกรณ์ SDS-PAGE ยี่ห้อ bio rad รุ่น Mini-PROTEAN System ประเทศสหรัฐอเมริกา

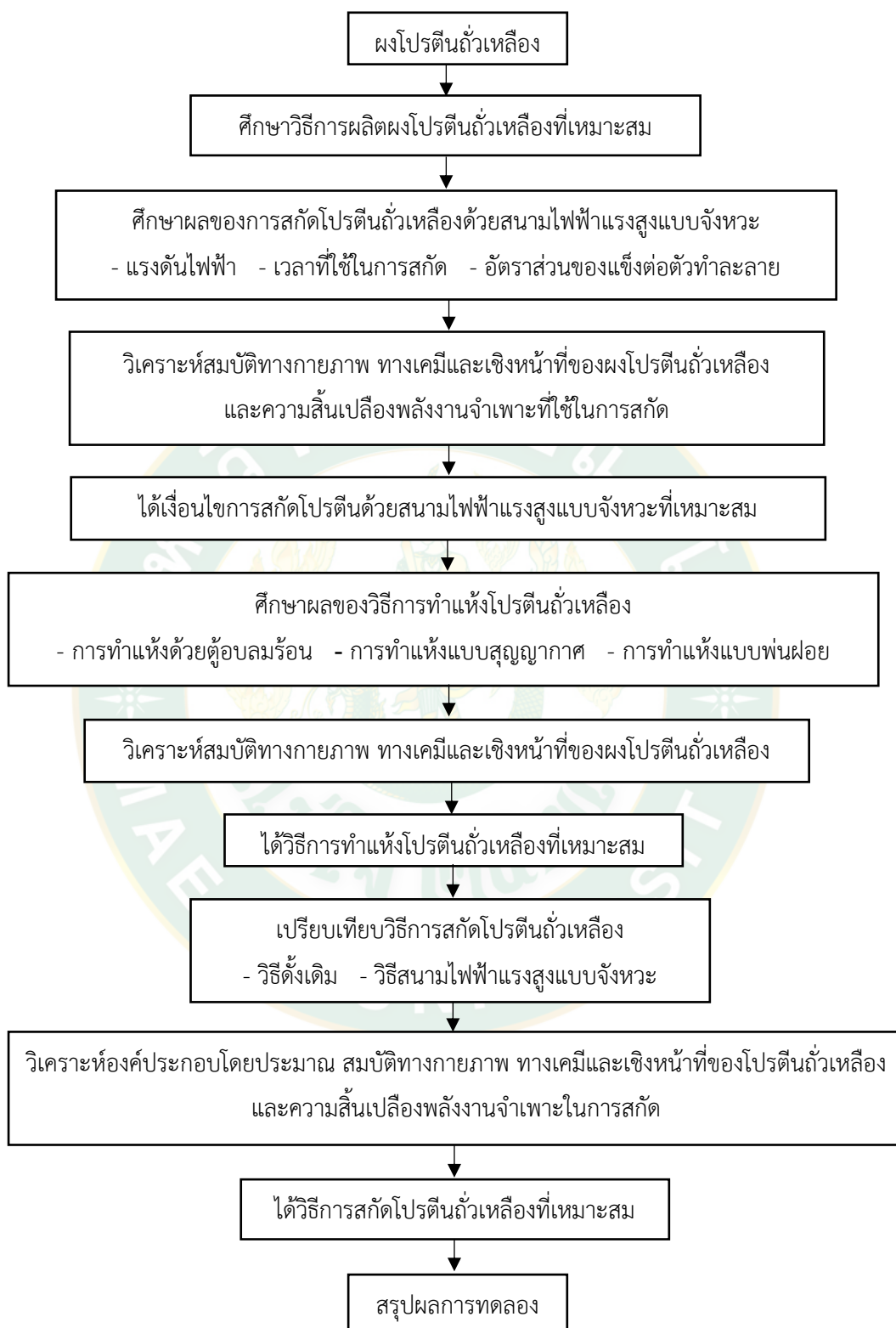
สารเคมี

1. Sodium hydroxide บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี
2. Hydrochloric acid บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
3. Bovine serum albumin บริษัท Himedia ประเทศอินเดีย
4. Bradford reagent บริษัท Himedia ประเทศอินเดีย
5. Methanol บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
6. SFX FASTCAST 12% บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. Tetramethylethylenediamine (TEMED) บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. Ammonium persulfate (APS) บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. Laemmli sample buffer บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. 2-Mercaptoethanol บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. 10x Tris, Glycine, SDS Buffer บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
12. Precision plus proteinTM all blue standards บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา
13. Coomassie brilliant blue R250 staining solution บริษัท Bio-Rad ประเทศสหรัฐอเมริกา

แผนการดำเนินงานวิจัยโดยรวม

การดำเนินงานวิจัยเพื่อศึกษากระบวนการผลิตผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองที่เหมาะสม แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ ในขั้นตอนแรกทำการศึกษาผลของการสกัดด้วย สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะต่อปริมาณและคุณภาพของโปรตีนที่สกัดได้ โดยพิจารณาจากสมบัติ ทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ดีที่สุด รวมถึงความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ใน การสกัดที่น้อยที่สุด จากนั้นนำสารละลายโปรตีนที่สกัดภายใต้เงื่อนไขการสกัดที่เหมาะสมซึ่งได้จาก การศึกษาในขั้นตอนแรก มาใช้ในศึกษาขั้นตอนที่สองคือ การศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพ ผงโปรตีน โดยพิจารณาจากสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ดีที่สุด และในส่วน ขั้นตอนที่สามทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนและผ่านการทำแห้งด้วยวิธีที่เหมาะสมซึ่งได้จาก การศึกษาในขั้นตอนที่สอง ต่อคุณภาพผงโปรตีน โดยพิจารณาจากสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและ เชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ดีที่สุด รวมถึงความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดที่น้อยที่สุด ซึ่งการสกัดโปรตีนด้วยวิธีสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะจะสกัดตามเงื่อนไขการสกัดที่เหมาะสมซึ่งได้ จากการศึกษาในขั้นตอนแรก โดยแผนการดำเนินงานวิจัยโดยรวมแสดงดังภาพที่ 14





ภาพที่ 14 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยโดยรวม

วิธีการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1

ศึกษาผลของการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ

ต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

การดำเนินงานวิจัยเพื่อศึกษาผลของการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งแสดงดังภาพที่ 15 โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ ในขั้นตอนแรกทำการศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดต่อเวลาการสกัด เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนของแรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับ จากนั้นทำการศึกษาในขั้นตอนที่สองคือ การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่เวลาการสกัดที่เหมาะสมต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน เพื่อหาแรงดันไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน จากนั้นทำการศึกษาในขั้นตอนที่สามคือ การศึกษาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน เพื่อหาอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดต่อเวลาการสกัด

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 500 มิลลิลิตร เทลงในห้องสกัดและให้แรงดันไฟฟ้าที่ 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการสกัดทุกเวลา 30 นาที มาวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์และค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างด้วยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำ เมื่อการสกัดเสร็จสิ้นนำสารละลายโปรตีนมากรองด้วยผ้าขาวบางและนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนของแรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับ

2. การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่เวลาการสกัดที่เหมาะสมต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 500 มิลลิลิตร เทลงในห้องสกัดและให้แรงดันไฟฟ้าแก่สารละลายตามเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนของแรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับ ซึ่งได้จากการศึกษาในขั้นตอนแรก พร้อมทำการวัดพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า เมื่อการสกัดเสร็จสิ้นนำสารละลายโปรตีนมากรองด้วยผ้าขาวบางและนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เพื่อรอกการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน เพื่อหาแรงดันไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน

3. การศึกษาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:5 1:10 1:15 และ 1:20 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 500 มิลลิลิตร เทลงในห้องสกัดแล้วให้แรงดันไฟฟ้าแก่สารละลายตามเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน ซึ่งได้จากการศึกษาในขั้นตอนที่หนึ่งและสอง เมื่อการสกัดเสร็จสิ้นนำสารละลายโปรตีนมากรองด้วยผ้าขาวบางและนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอกการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน เพื่อหาอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน





ภาพที่ 15 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1

วิธีการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2

ศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีน

การดำเนินงานวิจัยเพื่อศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีน จะทำแห้งสารละลายโปรตีนที่สกัดภายใต้เงื่อนไขการสกัดที่เหมาะสมซึ่งได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 แสดงดังภาพที่ 16 โดยศึกษาการทำแห้ง 3 วิธีคือ การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบสุญญากาศ และการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งทุกวิธีจะต้องมีปริมาณความชื้นสุดท้ายและค่า a_w น้อยกว่าร้อยละ 10 ฐานแห้ง และ 0.6 ตามลำดับ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2558) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน

การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ดัดแปลงตามวิธีการของ วิลลี และคณะ (2562); วิชมนิ และคณะ (2560) นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนแก้วเหลืองปริมาณ 400 มิลลิลิตร เทลงบนถาดสแตนเลส จากนั้นนำไปทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดด้วยที่บดสารเซรามิกและนำมาร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 40 และเก็บรักษาตัวอย่างผงโปรตีนไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรอการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนต่อไป

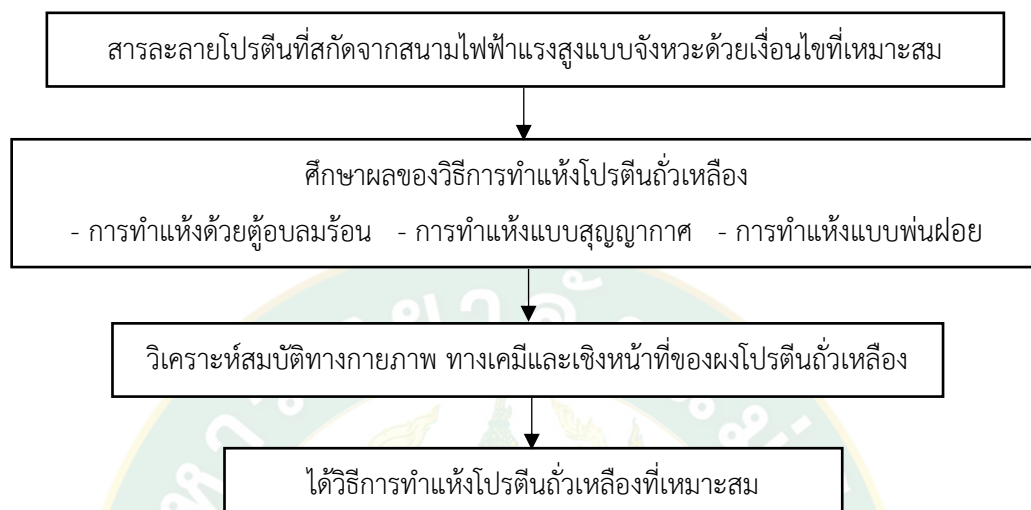
2. การทำแห้งแบบสุญญากาศ

การทำแห้งแบบสุญญากาศ ดัดแปลงตามวิธีการของ Li et al. (2017) นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนแก้วเหลืองปริมาณ 400 มิลลิลิตร เทลงบนถาดสแตนเลส จากนั้นนำไปทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งสุญญากาศ ที่ 150 มิลลิบาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดด้วยที่บดสารเซรามิกและนำมาร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 40 และเก็บรักษาตัวอย่างผงโปรตีนไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรอการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนต่อไป

3. การทำแห้งแบบพ่นฝอย

การทำแห้งแบบพ่นฝอย ดัดแปลงตามวิธีการของ John et al. (2018) นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนแก้วเหลืองไปทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่อุณหภูมิความร้อนขาเข้า 180 องศาเซลเซียส อัตราการป้อนตัวอย่าง 250 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง และเก็บรักษาตัวอย่างผงโปรตีน

ไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรอการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนต่อไป



ภาพที่ 16 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2

วิธีการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3

เปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

การดำเนินงานวิจัยเพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน แสดงดังภาพที่ 17 โดยศึกษาการสกัด 2 วิธีคือ การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและการสกัดด้วยสแนมไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

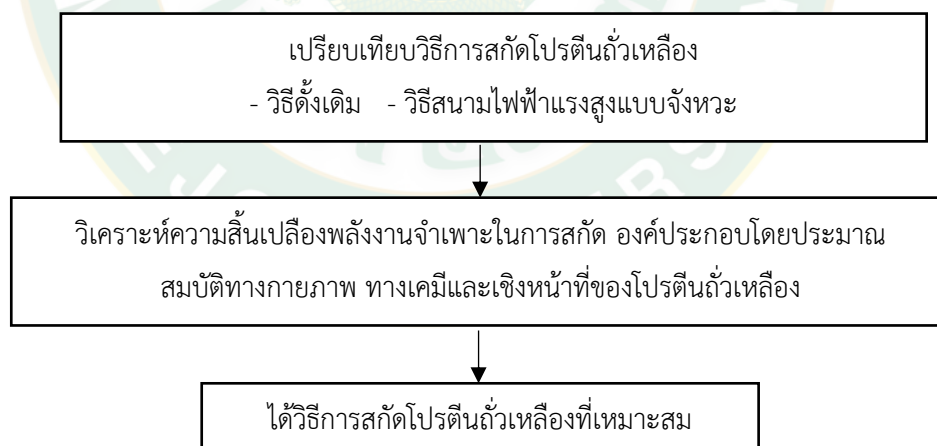
1. การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

การสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม ดัดแปลงตามวิธีการของ Liu et al. (2008) นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน ซึ่งได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 มาปรับค่า pH ด้วยเครื่องวัด pH ให้มีค่าเท่ากับ 8 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล และกวนผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตั้งพื้นที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 4.5 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ซึ่งเป็นค่า pH ที่จุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีน ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำตะกอนที่ได้

มาละลายน้ำและปรับค่า pH ให้มีค่าเท่ากับ 7 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ซึ่งในระหว่างการสกัดจะทำการวัดพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า เมื่อได้สารละลายโปรตีนสกัดนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอกการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมซึ่งได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

2. การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะจะดำเนินการภายใต้เงื่อนไขการสกัดที่เหมาะสมซึ่งได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 โดยนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนปริมาณ 500 มิลลิลิตร เติลงในห้องสกัดแล้วให้แรงดันไฟฟ้าและเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนแก่สารละลาย ซึ่งในระหว่างการสกัดจะทำการวัดพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า เมื่อการสกัดเสร็จสิ้นนำสารละลายโปรตีนมากรองด้วยผ้าขาวบางและนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอกการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมซึ่งได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 ก่อนนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน



ภาพที่ 17 แผนภาพการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3

การเตรียมตัวอย่างแก้วเหลือง

นำแก้วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ล้างน้ำให้สะอาด นำมาแช่ในน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำแก้วเหลืองที่ผ่านการแช่มาล้างน้ำอีกครั้ง แล้วจึงนำแก้วเหลืองพักไว้ให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำแก้วเหลืองที่ผ่านการแช่มาปั่นผสมกับน้ำกลั่น จนละเอียด

ระบบสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

1. แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูง

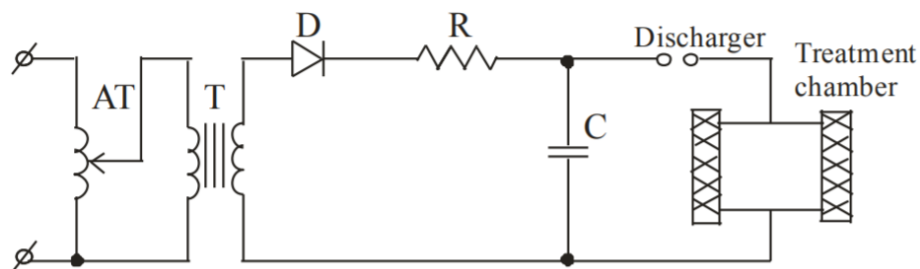
ทำหน้าที่สร้างแรงดันไฟฟ้าสูง เพื่อจ่ายให้กับขั้วอิเล็กโทรดภายในห้องสกัด ภายในวงจรประกอบด้วย แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงกระแสตรง (High voltage power supply) ไดโอดควบคุมการไหลของกระแสไฟฟ้าให้ไปในทิศทางเดียวกัน (Diode) ตัวต้านทานไฟฟ้าที่ควบคุมการอัดประจุไฟฟ้า (Charging resistor) และคาปาซิเตอร์สำหรับสะสมพลังงาน (Energy storage capacitor)

2. ระบบควบคุม

การควบคุมค่าแรงดันไฟฟ้าทำได้โดยอุปกรณ์ลัดวงจรผ่านช่องว่าง (Spark gap) และใช้เครื่องปรับแรงดันไฟฟ้าแบบใช้มือหมุนแกนปรับ ปรับค่าแรงดันไฟฟ้าเพื่อเพิ่มความถี่ตามที่ต้องการ โดยในงานวิจัยนี้ควบคุมความถี่ที่ 2 เฮิรตซ์

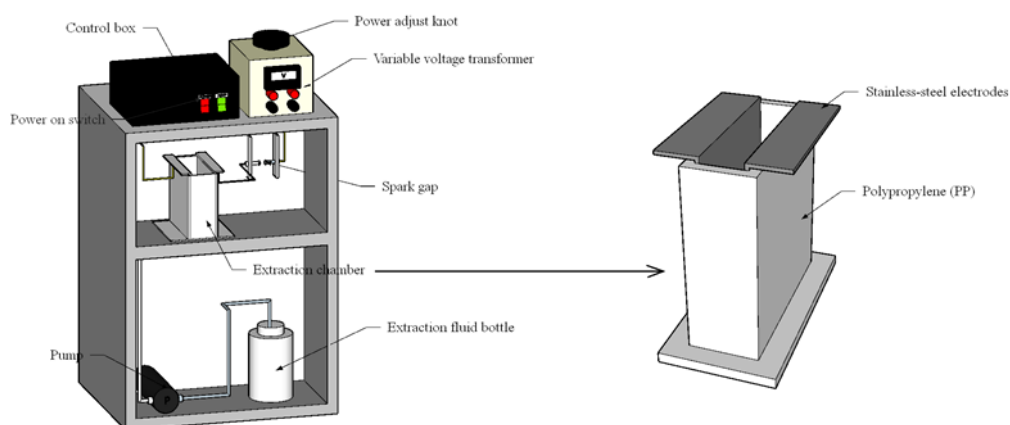
3. ห้องสกัด

เป็นส่วนที่มีการส่งผ่านแรงดันไฟฟ้าสูงแบบจิ้งหะไปยังอาหารเหลว โดยห้องสกัดมีลักษณะเป็นทรงสี่เหลี่ยม ขนาด 550 มิลลิเมตร ทำจากวัสดุโพลีโพรพิลีน (Polypropylene, PP) ภายในห้องสกัดประกอบด้วยขั้วอิเล็กโทรด (Electrode) สองขั้ว ทำจากวัสดุสแตนเลส ระยะห่างระหว่างอิเล็กโทรด 3 เซนติเมตร โดยขั้วหนึ่งต่อเข้ากับแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงแบบจิ้งหะ และอีกขั้วหนึ่งต่อเข้ากับขั้วกราวด์ของระบบ เมื่ออิเล็กโทรดภายในห้องสกัดได้รับแรงดันไฟฟ้าที่เหมาะสมจะทำให้เกิดสนามไฟฟ้าขึ้นระหว่างขั้วอิเล็กโทรด (Nickoloff, 1995)



ภาพที่ 18 วงจรระบบสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหวะ

ที่มา: Gachovska et al. (2009)



ภาพที่ 19 ส่วนประกอบเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหวะ

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay ดัดแปลงตามวิธีการของ Bradford (1976) นำตัวอย่าง 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปกวนผสมเป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน จากนั้นเตรียม Reagent blank โดยใช้ น้ำกลั่น แทนตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วหรือสารละลายมาตรฐาน 180 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ที่มี Bradford reagent อยู่ 2,820 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

ตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่ควรเกิน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณของโปรตีนรวมทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานโปรตีน (BSA) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง แสดงในภาคผนวก ข

2. การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนที่เก็บได้ไปวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ดัดแปลงตามวิธีการของ สำนักอนุรักษ์และตรวจสอบมาตรฐานหม่อนไหม (2556) โดยนำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับสาร SDS ร้อยละ 10 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาปรับปริมาณโปรตีนเป็น 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนนำไปแยกโปรตีนด้วย polyacrylamide ร้อยละ 12 และ stacking gel ร้อยละ 4 โดยใช้ความต่างศักย์ 30 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 45 นาที ด้วยชุดอุปกรณ์ SDS-PAGE apparatus แล้วนำเจลย้อมด้วยสี Coomassie blue R-250 แสดงในภาคผนวก ค

3. ร้อยละผลผลิต

การวิเคราะห์ร้อยละผลผลิตของโปรตีนที่ผลิตได้ ดัดแปลงตามวิธีการของ อังคณา และคณะ (2563) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3

$$Y = \frac{W_p}{W_s} \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ	Y	คือ ผลผลิต (ร้อยละ)
	W_p	คือ น้ำหนักผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดและการทำแห้ง (กรัม)
	W_s	คือ น้ำหนักถั่วเหลืองที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

4. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหวะ

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เยื่อใยและเถ้าในผงโปรตีน ดัดแปลงตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2012) วิธีการที่ 925.10, 991.20, By difference, 945.18, 978.10 และ 923.03 ตามลำดับ แสดงในภาคผนวก จ

5. การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย

วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย ดัดแปลงตามวิธีการของ Yousf et al. (2017) นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปกวนผสมด้วยเครื่องกวนสารเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสเทลงในถ้วยอะลูมิเนียม ทำการอบระเหยน้ำส่วนเกินออกด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการชั่งน้ำหนักหลังการทำแห้ง พร้อมคำนวณค่าร้อยละความสามารถในการละลายของโปรตีน (Water solubility index, WSI) จากสมการที่ 4

$$WSI = \frac{W_1}{W_d} \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ	WSI	คือ ความสามารถในการละลายของโปรตีน (ร้อยละ)
	W_1	คือ น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลาย (กรัม)
	W_d	คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

6. การวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ

วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำดัดแปลงตามวิธีการของ Naowakul et al. (2013) นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ทำการชั่งน้ำหนักของตะกอนที่ได้ พร้อมคำนวณค่าร้อยละความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน (Water holding capacity, WHC) จากสมการที่ 5

$$WHC = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (5)$$

เมื่อ	WHC	คือ ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)
	W_s	คือ น้ำหนักตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง (กรัม)
	W_d	คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

7. การวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและคงตัวของฟอง

วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองดัดแปลงตามวิธีการของ Chareemuy et al. (2020) นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วทำการวัดปริมาตรก่อนปั่น (V_1) จากนั้นนำไปปั่นผสมโดยใช้เครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทของผสมใส่กระบอกตวงขนาดปริมาตร 250 มิลลิลิตร อย่างช้า ๆ และวัดปริมาตรทั้งหมดรวมฟองที่เกิดขึ้น (V_2) คำนวณเป็นร้อยละความสามารถในการเกิดฟอง (Foaming capacity, FC) ดังสมการที่ 6 จากนั้นตั้งของผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนวัดปริมาตรของฟองที่เหลือ (V_3) ต่อปริมาตรก่อนปั่น คำนวณเป็นร้อยละความคงตัวของฟอง (Foaming stability, FS) ดังสมการที่ 7

$$FC = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100 \quad (6)$$

$$FS = \frac{V_3}{V_1} \times 100 \quad (7)$$

เมื่อ	FC	คือ ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ)
	FS	คือ ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)
	V_1	คือ ปริมาตรรวมก่อนปั่น (มิลลิลิตร)
	V_2	คือ ปริมาตรรวมหลังปั่น (มิลลิลิตร)
	V_3	คือ ปริมาตรรวมที่เหลือ (มิลลิลิตร)

8. การคำนวณค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์

ค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์จากการให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะ สามารถคำนวณได้จากการวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) ของตัวอย่างก่อนและหลังการให้สนามไฟฟ้า ดังสมการที่ 8 หากค่า $Z = 0$ แสดงว่า เยื่อหุ้มเซลล์ไม่มีความเสียหาย แต่หากค่า Z ใกล้เคียง 1 แสดงว่า เยื่อหุ้มเซลล์มีความเสียหายมาก และหากค่า $Z = 1$ แสดงว่า เยื่อหุ้มเซลล์มีความเสียหายอย่างสิ้นเชิง (Loginova et al., 2011)

$$Z = \frac{(\sigma - \sigma_i)}{(\sigma_d - \sigma_i)} \quad 0 \leq Z \leq 1 \quad (8)$$

เมื่อ σ คือ ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างที่วัดได้ (ซีเมนส์ต่อเซนติเมตร)
 ตัวอย่าง i คือ ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างที่ไม่ผ่านสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ
 d คือ ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างที่ถูกทำลายเยื่อหุ้มเซลล์อย่างสมบูรณ์

9. การวิเคราะห์ค่า a_w

การวิเคราะห์ค่า a_w จะใช้เครื่องวัด a_w ซึ่งแสดงค่า a_w ออกมาเป็นตัวเลขที่ไม่มีหน่วย มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 โดยผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ได้ในแต่ละการทดลองใส่ลงในภาชนะ 3 กรัม และนำใส่ลงในเครื่อง เมื่อเครื่องทำการหาค่า a_w เสร็จ จะแสดงผลบนหน้าจอเป็นค่าอุณหภูมิที่ใช้ และค่า a_w โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

10. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นจะใช้เครื่องวิเคราะห์ความชื้นด้วยรังสีอินฟราเรด โดยผงโปรตีนถั่วเหลืองในแต่ละสภาวะจำนวน 2 กรัม จะถูกนำไปวิเคราะห์ โดยเครื่องจะใช้เวลาในการวัดค่าความชื้นภายใน 10 นาที จากนั้นเครื่องจะแสดงผลบนหน้าจอพร้อมบันทึกค่า โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

11. การวิเคราะห์ค่าสี

การวิเคราะห์คุณภาพด้านสีของผงโปรตีนถั่วเหลืองจะใช้เครื่องวัดสี การวิเคราะห์สีจะวิเคราะห์ด้วยระบบ CIE โดยการวิเคราะห์วัดสีในเทอมของค่าความสว่าง (L^*) โดย $+L^*$ แสดงถึงสีขาว และ $-L^*$ แสดงถึงสีดำ ค่าสีแดงหรือสีเขียว (a^*) โดย $+a^*$ แสดงถึงสีแดง และ $-a^*$ แสดงถึงสีเขียว และค่าสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน (b^*) โดย $+b^*$ แสดงถึงสีเหลือง และ $-b^*$ แสดงถึงสีน้ำเงิน โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

12. การวัดขนาดอนุภาค

ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบสุญญากาศและการทำแห้งแบบพ่นฝอย จะถูกวัดขนาดโดยใช้เครื่องเขย่าตะแกรง ตะแกรงเบอร์ 60 (250 ไมโครเมตร) และเบอร์ 80 (178 ไมโครเมตร) ดัดแปลงตามวิธีการของ Hu et al. (2010) นำผงโปรตีนถั่วเหลือง 30 กรัมใส่ลงในตะแกรงเบอร์ 60 และเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปคัดขนาดด้วยตะแกรงเบอร์ 80 ด้วยวิธีการเดียวกัน จะได้ขนาดอนุภาคผงโปรตีนที่แตกต่างกันสามขนาด ได้แก่ อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า 250 ไมโครเมตร อนุภาคที่มีขนาดระหว่าง 250 ไมโครเมตร ถึง 178 ไมโครเมตร และอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 178 ไมโครเมตร โดยร้อยละขนาดอนุภาค คำนวณจากสมการที่ 9

$$P_s = \frac{W_c}{W_{total}} \times 100 \quad (9)$$

เมื่อ P_s คือ ร้อยละขนาดอนุภาค
 W_c คือ น้ำหนักผงโปรตีนค้างบนตะแกรงร้อน (กรัม)
 W_{total} คือ น้ำหนักผงโปรตีนทั้งหมด (กรัม)

ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด (SEC)

การวิเคราะห์ค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ เป็นการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างปริมาณพลังงานที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากวัตถุดิบ ดัดแปลงตามวิธีการของ Polikovskiy et al. (2016) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 10 โดยพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะจะวัดจากเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า และพลังงานไฟฟ้าที่ใช้การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมจะวัดจากเครื่องวัดค่า pH และเครื่องกวนสารละลายด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า ในขณะที่เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งพื้นจะคำนวณตามวิธีการของ Al-Mofleh et al. (2008) ซึ่งได้ข้อมูลจาก Sorvall products (2014) แสดงในภาคผนวก ง

$$E_p = \frac{E_t}{C_p \cdot m_{PEF}} \quad (10)$$

เมื่อ	E_p	คือ พลังงานจำเพาะใช้ในการสกัดโปรตีน (กิโลวัตต์-ชั่วโมงต่อกิโลกรัม)
	E_t	คือ พลังงานทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัด (กิโลวัตต์-ชั่วโมง)
	C_p	คือ ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลาย (กิโลกรัมต่อมิลลิลิตร)
	m_{PEF}	คือ ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองที่ได้ จะนำมาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยผลการทดลองที่ได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 และ 2 จะเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ซึ่งพิจารณาค่าที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และผลการทดลองที่ได้จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3 จะเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Paired-samples t test ซึ่งพิจารณาค่าที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 17.0 (Statistical package for the social sciences)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 :

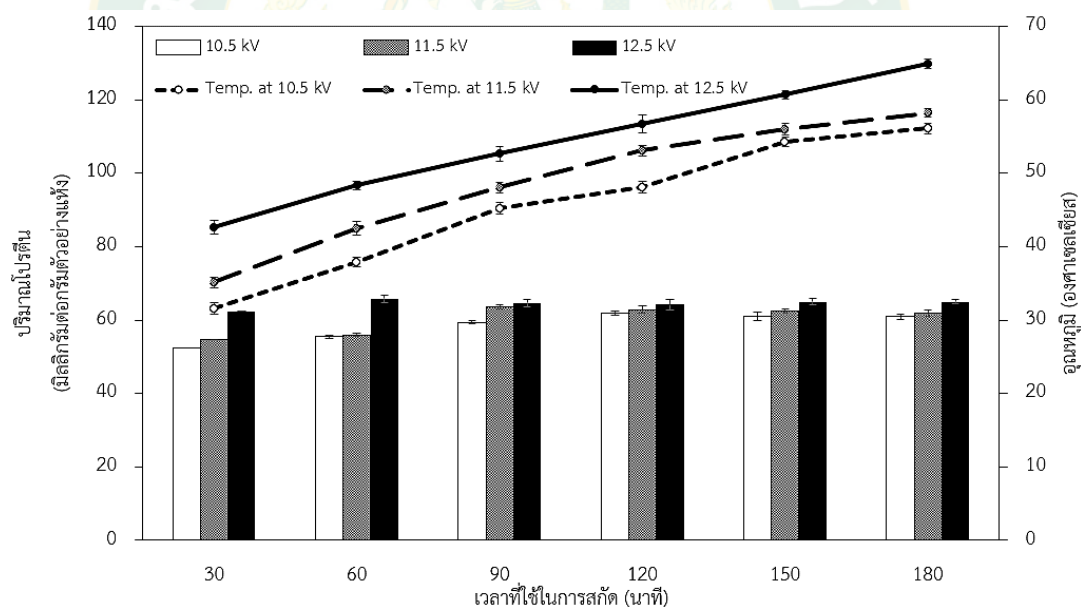
ผลการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะ

1. ผลศึกษาปริมาณโปรตีนและอุณหภูมิของสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะ

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนระหว่างสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะเพื่อใช้พิจารณาหาเวลาการสกัดที่ได้โปรตีนปริมาณมากที่สุด แสดงดังภาพที่ 20 พบว่าเมื่อเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณมากขึ้นและเมื่อถึงเวลาเข้าสู่สมดุลของการสกัดปริมาณโปรตีนจะมีค่าคงที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีสาเหตุเนื่องจากในระหว่างที่ไฟฟ้าผ่านเข้าไปในตัวอย่างทำให้เกิดความต่างศักย์ทางไฟฟ้าระหว่างภายในและภายนอกของเซลล์พืชทำให้เกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และเนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนคงรูปได้ด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตมีสมบัติเป็นไดโพลโมเมนต์ไฟฟ้า (Electric dipole moment) จึงทำให้เมื่อให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแก่สารละลายตัวอย่าง โปรตีนที่ยึดเหนี่ยวกันด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตจะเคลื่อนที่ไปตามทิศทางของสนามไฟฟ้า ส่งผลให้โปรตีนถ่ายเทออกมาภายนอกเซลล์ (Della Valle et al., 2019) และเกิดการสะสมของปริมาณโปรตีนในสารละลายมากขึ้น จนกระทั่งปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในเซลล์ไม่สามารถถ่ายเทออกมาจากเซลล์ปริมาณโปรตีนในสารละลายจึงมีค่าคงที่ โดยเวลาการสกัดโปรตีนที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ คือ 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ ใช้เวลาการสกัดสั้นกว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์ เนื่องจากเกิดรูพรุนของเซลล์พืชในระหว่างการสกัดมาก จึงทำให้การถ่ายเทโปรตีนออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น (Goettel et al., 2013; Gómez-Maqueo et al., 2019)

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะจากภาพที่ 20 พบว่าเมื่อเวลาการสกัดนานขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิของตัวอย่างในระหว่างการสกัดเพิ่มสูงขึ้น โดยเป็นผลมาจากการเกิดความร้อนแบบโอห์มมิก (Ohmic heating) ซึ่งเป็นกระบวนการทางความร้อนที่เกิดจากการปล่อยกระแสไฟฟ้าไหลผ่านอาหาร และเกิดการต้านทานการไหลของ

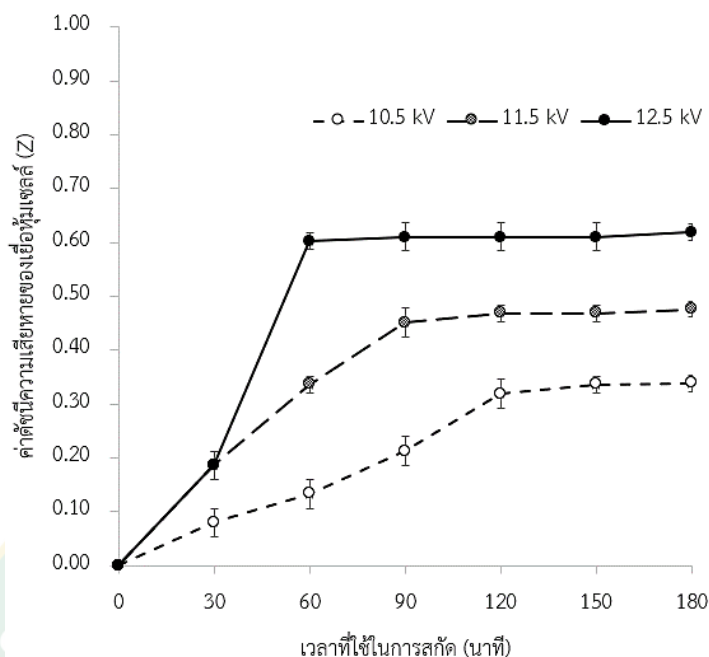
กระแสไฟฟ้าในอาหารจนเกิดเป็นความร้อน (Hosain et al., 2011) โดยอุณหภูมิของสารละลายที่สกัดด้วยแรงดันไฟฟ้า 10.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 120 นาที 11.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 90 นาที และ 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที คือ 48.10 ± 0.82 48.07 ± 0.65 และ 48.33 ± 0.61 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่โปรตีนชนิดไกลซีนและเบต้าคอนไกลซีนยังไม่เกิดการเสียสภาพ (อุณหภูมิต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส) (Liu et al., 2004) และที่เวลาการสกัดเดียวกัน สารละลายที่ผ่านการสกัดที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ มีอุณหภูมิสูงกว่าสารละลายที่ผ่านการสกัดที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์ เนื่องจากการสกัดที่แรงดันไฟฟ้าสูงขึ้นจะกระตุ้นการเคลื่อนที่ของไอออนและเกิดการเสียดสีระหว่างโมเลกุลมากขึ้น จึงมีอัตราการเกิดความร้อนสูงและรวดเร็ว (สิรินาถ และคณะ, 2564; He et al., 2017) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Lebovka et al. (2005) รายงานว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นในระหว่างการสกัด ทำให้ผนังเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและอ่อนตัวเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตที่สกัดได้



ภาพที่ 20 ปริมาณโปรตีน (แท่ง) และอุณหภูมิ (เส้น) ของสารละลาย
ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ

2. ผลศึกษาค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

ผลการศึกษาค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับ แสดงในภาพที่ 21 พบว่าค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับมีค่ามากกว่า 0 จึงแสดงให้เห็นว่าสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะสามารถทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอย่างเกิดรูพรุนในระหว่างการสกัดได้ โดยค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์สูงสุดของการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ คือ 0.32 0.45 และ 0.60 ที่เวลาการสกัด 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีค่าดัชนีความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้เคียง 1 จึงแสดงให้เห็นว่าที่สภาวะนี้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายมากที่สุด เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดทำให้ไอออนภายในเซลล์สามารถเคลื่อนที่ออกนอกเซลล์ได้มาก ไอออนที่ออกมานี้มีผลทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (เวสารัช และคณะ, 2561) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Goettel et al. (2013); Gómez-Maqueo et al. (2019); Lebovka et al. (2004) ที่รายงานว่า การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้าสูงขึ้น ทำให้เกิดรูพรุนของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งช่วยในการถ่ายเทโปรตีนออกมาจากเซลล์ได้ง่าย



ภาพที่ 21 ค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

3. ผลศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต เวลาที่ใช้ในการสกัดและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆตามเวลาการสกัดที่เหมาะสม แสดงในตารางที่ 7 พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูง เนื่องจากการให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะด้วยแรงดันไฟฟ้าที่สูงขึ้น ทำให้เกิดความต่างศักย์ทางไฟฟ้าระหว่างภายในและภายนอกของเซลล์พืชจนเกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เป็นจำนวนมากขึ้น (Redondo et al., 2018) โปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์และมีโครงสร้างเป็นไดโพลโมเมนต์ไฟฟ้า (Electric dipole moment) ยึดเหนี่ยวกันด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตจึงเคลื่อนที่ไปตามทิศทางของสนามไฟฟ้ามากขึ้น ส่งผลให้โปรตีนถ่ายเทออกมาข้างนอกเซลล์เป็นปริมาณมาก (Della Valle et al., 2019) ทำให้สามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณมากกว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์ นอกจากนี้ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ แสดงในตารางที่ 8 พบว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ มีความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดโปรตีนน้อย

เนื่องจากสามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณมากและใช้เวลาในการสกัดสั้นกว่าการสกัดด้วย สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์

ตารางที่ 7 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต เวลาที่ใช้ในการสกัดและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

แรงดันไฟฟ้า (กิโลโวลต์)	เวลาที่ใช้ ในการสกัด (นาทีก)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อ กรัมตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต	ความสิ้นเปลือง พลังงานจำเพาะ (กิโลวัตต์-ชั่วโมง ต่อกิโลกรัม)
10.5	120	61.81 ^b ±1.18	53.33 ^b ±0.66	391.47 ^a ±8.51
11.5	90	63.66 ^b ±0.92	54.55 ^a ±0.40	260.93 ^b ±4.86
12.5	60	65.83 ^a ±1.04	54.92 ^a ±0.42	149.85 ^c ±5.19

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

สมบัติเชิงหน้าที่ของตัวอย่างโปรตีนล้วนเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆตามเวลาการสกัดที่เหมาะสม แสดงในตารางที่ 8 พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีความสามารถในการละลาย กำลังการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงที่สุด เนื่องจากการให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะด้วยแรงดันไฟฟ้าที่สูงขึ้นแก่โปรตีน ทำให้เปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิของโปรตีน เกิดรวมตัวของโมเลกุลโปรตีนขนาดเล็กด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต โปรตีนจึงมีความสามารถในการละลายที่ดี (Fitzpatrick, 2021; Wu et al., 2016; Zhang et al., 2017) เมื่อค่าความสามารถในการละลายน้ำสูงจะส่งผลให้มีความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงเช่นกัน เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดีจะสามารถแพร่กระจายไปยังผิวหน้าระหว่างอากาศกับน้ำ (Air-water interface) ได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางที่เก็บกักอากาศไว้ได้ดี (ณฐมล และคณะ, 2556; นิธิยา, 2544) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Ma et al. (2019) ยังรายงานว่าสารอิมัลซิไฟเออร์ที่มีแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการละลายและความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์มีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่

ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนมีค่าลดลง เนื่องจากน้ำจะสามารถแทรกตัวอยู่ภายในโครงสร้างโมเลกุลโปรตีนขนาดใหญ่ด้วยแรงแคพิลลารีได้ดีกว่าโมเลกุลโปรตีนขนาดเล็ก (Chen et al., 2017)

ตารางที่ 8 ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

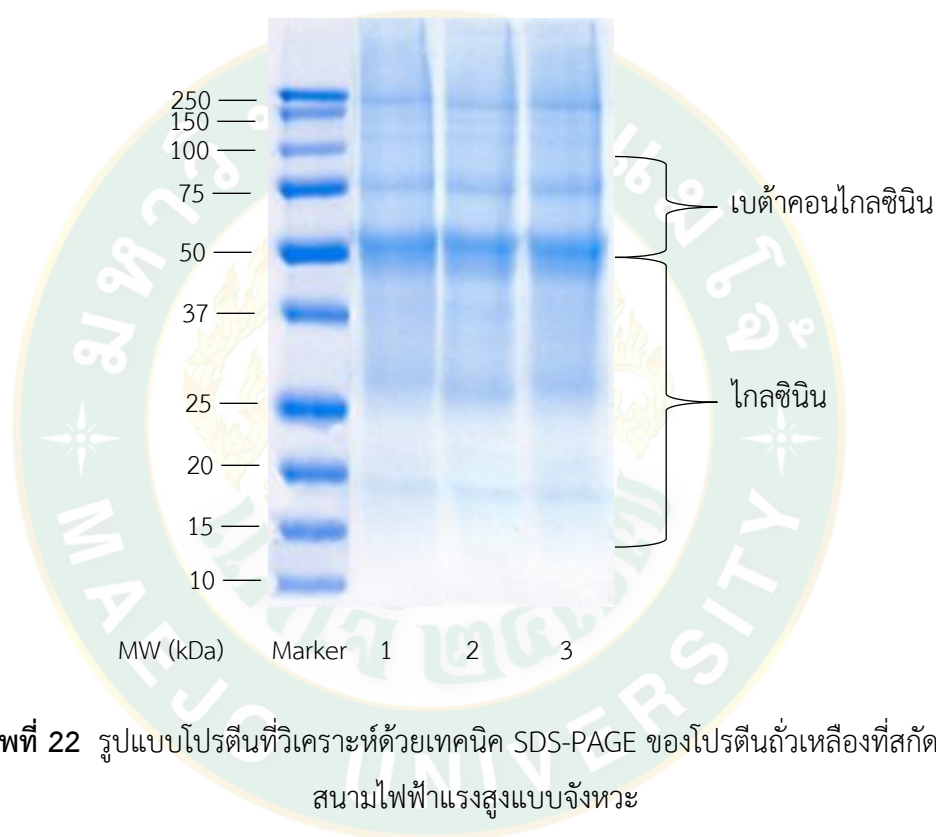
แรงดันไฟฟ้า (กิโลโวลต์)	เวลา การสกัด (นาที)	ความสามารถ ในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัว ของฟอง (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการอุ้มน้ำ (กรัมน้ำต่อกรัม ตัวอย่างแห้ง)
10.5	120	33.33 ^b ±1.26	7.84 ^b ±1.96	1.31 ^b ±1.13	1.33 ^a ±0.04
11.5	90	34.64 ^b ±1.96	10.46 ^{ab} ±1.13	3.92 ^{ab} ±1.96	1.30 ^{ab} ±0.04
12.5	60	39.13 ^a ±2.17	12.42 ^a ±1.13	5.23 ^a ±1.13	1.26 ^b ±0.02

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

5. ผลศึกษารูปแบบโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดโดยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะด้วยเทคนิค SDS-PAGE

เมื่อพิจารณารูปแบบโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆตามเวลาการสกัดที่เหมาะสมเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Marker) ด้วยเทคนิค SDS-PAGE เพื่อศึกษาโปรตีนชนิดไกลซิซิน (11S) และ เบต้าคอนไกลซิซิน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในถั่วเหลืองและเป็นโปรตีนชนิดที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (นักสิทธิ์, 2563; บังอร, 2561) จากภาพที่ 22 พบว่าแถบโปรตีนของทุกตัวอย่างอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนชนิดไกลซิซินและเบต้าคอนไกลซิซิน และเมื่อพิจารณาความเข้มของแถบโปรตีนที่สามารถแสดงถึงปริมาณของโปรตีนพบว่า ทุกเลนของตัวอย่างมีความเข้มของแถบโปรตีนตรงตำแหน่งเบต้าคอนไกลซิซินมากกว่าตำแหน่งโปรตีนไกลซิซิน แต่อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละเลนของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยแสดงดังตารางที่ 9 ซึ่งพบว่าความเข้มของแถบโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซิซินของตัวอย่างที่ผ่านสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ (เลน 3) มีมากที่สุด และตัวอย่างที่ผ่านสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 11.5 และ 10.5 กิโลโวลต์ (เลน 2 และ 1) มีความเข้มรองลงมา ในขณะที่ความเข้มของแถบโปรตีนในกลุ่มไกลซิซินของตัวอย่างในเลน 1 ถึง 3 ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจะพบว่าตัวอย่างในเลน 3 มีปริมาณโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซิซิน

ซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลให้มีค่าการละลาย การเกิดฟองและคงตัวของฟองที่ดีและมีปริมาณโปรตีนรวม (เบต้าคอนไกลูซินรวมกับไกลูซิน) มากกว่าตัวอย่างเลน 1 และ 2 เนื่องจากตัวอย่างเลน 3 ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้าสูงกว่าตัวอย่างเลน 1 และ 2 ทำให้เกิดรูปรุณส่วนเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้โปรตีนถูกถ่ายโอนมวลสารมายังนอกเซลล์มากขึ้น และโปรตีนที่ได้มีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและคงตัวของฟองสูง (Dehez et al., 2014; Redondo et al., 2018)



ภาพที่ 22 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ

- โดยที่
- (1) ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่ 10.5 กิโลโวลต์
 - (2) ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่ 11.5 กิโลโวลต์
 - (3) ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่ 12.5 กิโลโวลต์

ตารางที่ 9 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's

น้ำหนักโมเลกุล (กิโลดาลตัน)	ชนิดโปรตีน	ความเข้มข้นของแถบโปรตีน		
		เลน 1	เลน 2	เลน 3
14.4-22	ไกลซีนิน (11S)	+	+	+
22-26		+	+	+
26-34		++	++	++
34-44		++	++	++
44-49		+++	+++	++++
49-55	เบต้าคอนไกลซีนิน (7S)	++++	++++	+++++
55-67		++	++	++
67-73		++	++	++
73-82		++	++	+++
82-91		++	++	++

หมายเหตุ + คือ น้อยที่สุด ++ คือ น้อย +++ คือ ปานกลาง ++++ คือ มาก +++++ คือ มากที่สุด
ที่มา: ดัดแปลงจาก Liu et al. (2007)

เมื่อพิจารณาผลของแรงดันไฟฟ้าและเวลาในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะจะเห็นได้ว่า โปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนต่อไป

6. ผลศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนที่แตกต่างกันแสดงในตารางที่ 10 พบว่าการสกัดโปรตีนถั่วเหลืองในอัตราส่วน 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร ให้ปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตมากที่สุด เนื่องจากการเพิ่มปริมาณตัวทำละลายส่งผลให้ความเข้มข้นของสารรอบอนุภาคตัวอย่างลดลง ทำให้โปรตีนภายในเซลล์ถ่ายเทออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น ในขณะที่การเพิ่มปริมาณตัวทำละลายในการสกัดมากเกินไป จะส่งผลให้สกัดโปรตีนได้ปริมาณลดลง เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะจะอาศัยการเคลื่อนที่ของไอออนเพื่อให้เกิดการเสียดสีกันระหว่างโมเลกุล จนเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาด

เป็นรูปพูน ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลายจึงเป็นการลดโอกาสการชนหรือเสียดสีกันของโมเลกุล (He et al., 2017) และเมื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่าสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ต่างกันนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ He et al. (2018) รายงานว่ากำลังอัลตราโซนิกและเวลาที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนงาขี้ม่อน ในขณะที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อร้อยละผลผลิตแต่ไม่มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนงาขี้ม่อน

ตารางที่ 10 ปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต
1:5	66.65 ^c ±0.38	55.44 ^b ±0.84
1:10	65.68 ^c ±0.44	55.77 ^b ±1.04
1:15	74.28 ^a ±1.01	60.67 ^a ±1.51
1:20	72.42 ^b ±0.34	57.70 ^b ±1.77

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

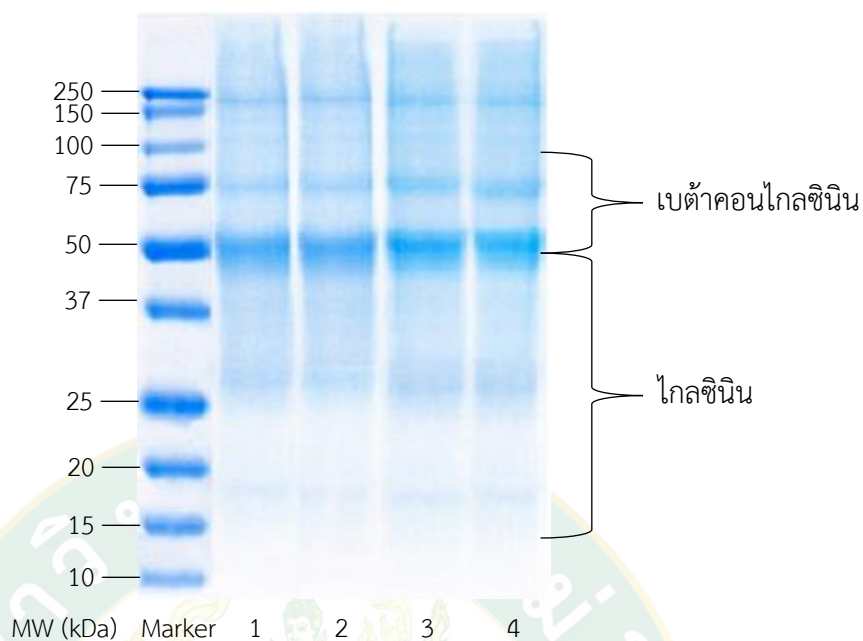
ตารางที่ 11 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	ความสามารถ ในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถใน การเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัว ของฟอง (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการอุ้มน้ำ (กรัม น้ำต่อ กรัมตัวอย่างแห้ง)
1:5	42.94 ^{ns} ±1.05	13.07 ^{ns} ±1.50	4.58 ^{ns} ±1.14	1.29 ^{ns} ±0.01
1:10	42.44 ^{ns} ±1.38	12.75 ^{ns} ±0.98	5.23 ^{ns} ±1.13	1.28 ^{ns} ±0.02
1:15	43.84 ^{ns} ±0.72	13.73 ^{ns} ±1.96	6.54 ^{ns} ±1.14	1.27 ^{ns} ±0.01
1:20	43.94 ^{ns} ±1.99	13.40 ^{ns} ±1.50	5.88 ^{ns} ±1.96	1.29 ^{ns} ±0.01

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร ns ในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

7. ผลศึกษารูปแบบโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค SDS-PAGE

เมื่อพิจารณารูปแบบโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Marker) ด้วยเทคนิค SDS-PAGE เพื่อศึกษาโปรตีนชนิดไกลซีนิน (11S) และ เบต้าคอนไกลซีนิน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในถั่วเหลืองและเป็นโปรตีนชนิดที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (นักสิทธิ์, 2563; บังอร, 2561) จากภาพที่ 23 พบว่าแถบโปรตีนของทุกตัวอย่างอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนชนิดไกลซีนินและเบต้าคอนไกลซีนิน และเมื่อพิจารณาความเข้มของแถบโปรตีนที่สามารถแสดงถึงปริมาณของโปรตีนพบว่าทุกเลนของตัวอย่างมีความเข้มของแถบโปรตีนตรงตำแหน่งเบต้าคอนไกลซีนินมากกว่าตำแหน่งโปรตีนไกลซีนิน แต่อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละเลนของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยแสดงดังตารางที่ 12 ซึ่งพบว่าความเข้มของแถบโปรตีนกลุ่มไกลซีนินและเบต้าคอนไกลซีนินของตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วน 1:15 และ 1:20 โดยมวลต่อปริมาตร (เลน 3 และ 4) มีมากที่สุด และตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วน 1:5 และ 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร (เลน 1 และ 2) มีความเข้มรองลงมา ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างในเลน 3 และ 4 มีปริมาณโปรตีนรวม (เบต้าคอนไกลซีนินรวมกับไกลซีนิน) มากกว่าตัวอย่างเลน 1 และ 2 ในขณะที่สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจากตัวอย่างเลน 1 และ 2 มีความเข้มของแถบโปรตีนกลุ่มไกลซีนินและเบต้าคอนไกลซีนินน้อยกว่าตัวอย่างเลน 3 และ 4 จึงทำให้อัตราส่วนของไกลซีนินต่อเบต้าคอนไกลซีนินของตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yao et al. (1988) รายงานว่าสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของเบต้าคอนไกลซีนินต่อไกลซีนิน



ภาพที่ 23 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

- โดยที่
- (1) ตัวอย่างสกัดในอัตราส่วน 1:5 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
 - (2) ตัวอย่างสกัดในอัตราส่วน 1:10 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
 - (3) ตัวอย่างสกัดในอัตราส่วน 1:15 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
 - (4) ตัวอย่างสกัดในอัตราส่วน 1:20 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร

ตารางที่ 12 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's

น้ำหนักรวม โมเลกุล (กิโลดาลตัน)	ชนิดโปรตีน	ความเข้มของแถบโปรตีน				
		เลน 1	เลน 2	เลน 3	เลน 4	
14.4-22	ไกลซีนิน (11S)	+	+	++	++	
22-26		+	+	+	+	
26-34		++	++	+++	+++	
34-44		++	++	++	++	
44-49		+++	+++	+++	+++	
49-55		เบต้าคอนไกลซีนิน	++++	++++	+++++	+++++
55-67		(7S)	++	++	++	++
67-73			++	++	++	++
73-82			++	++	+++	+++
82-91		++	++	+++	+++	

หมายเหตุ + คือ น้อยที่สุด ++ คือ น้อย +++ คือ ปานกลาง ++++ คือ มาก +++++ คือ มากที่สุด
ที่มา: ดัดแปลงจาก Liu et al. (2007)

เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนด้วย
สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะจะเห็นว่า โปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะใน
อัตราส่วน 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร ที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที เป็นสภาวะ
การสกัดที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ

จากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 ทำการศึกษาผลของการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรกทำการศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าต่อเวลาที่ใช้ในการสกัดโดยพิจารณาจากปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ พบว่าเวลาการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ให้ปริมาณโปรตีนมากที่สุดของแรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ คือ 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ จึงนำสภาวะการสกัดดังกล่าวมาทำการทดลองในขั้นตอนที่สองคือ ศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่เวลาการสกัดที่เหมาะสมต่อความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งพบว่าเวลาการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที เป็นสภาวะการสกัดที่มีความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดน้อย และโปรตีนที่ผ่านการสกัดมีปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูง แต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ นอกจากนี้ผลของรูปแบบโปรตีนซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ยังแสดงให้เห็นว่า โปรตีนที่สกัดได้ที่สภาวะนี้มีโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลูซินิน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนกลุ่มที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่มากที่สุด การสกัดที่สภาวะนี้จึงเหมาะสมในการนำไปทดลองในขั้นตอนที่สาม คือ ศึกษาผลของอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:5 1:10 1:15 และ 1:20 โดยมวลต่อปริมาตร ต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน พบว่าการสกัดโปรตีนในอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร มีปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูง แต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ ดังนั้นผลการศึกษาในการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 จึงสามารถสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะคือ การใช้แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร สารละลายโปรตีนที่ผ่านการสกัดในสภาวะนี้จึงเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีน

ผลการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 :
ผลศึกษาสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง
ที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

1. ผลศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะและผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ แสดงในตารางที่ 13 พบว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีปริมาณโปรตีนมากและค่า a_w เป็นไปตามมาตรฐานอาหารอบแห้ง แต่มีร้อยละผลผลิตและความชื้นไม่แตกต่างกับผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศนานกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย โปรตีนจึงลดลงจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนบางชนิดในระหว่างการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดของกรดอะมิโนบางชนิดในระหว่างการทำแห้งแบบสุญญากาศ (ชาลีดา, 2555; วิชมนิ และคณะ, 2560; สุนทรี, 2550) ซึ่งหากตัวอย่างโปรตีนอยู่ในสถานะอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาสั้น (McGee, 2007) จะทำให้เร่งการเกิดปฏิกิริยาและเกิดการลดลงของโปรตีนในปริมาณที่มากกว่าการอยู่ในสถานะอุณหภูมิสูงมากแต่ใช้เวลานาน โดยผลการศึกษาที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Park et al. (2018) ที่รายงานว่าการทำแห้งเต้าเจี้ยวด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีปริมาณโปรตีนมากกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 และ 9 ชั่วโมง ตามลำดับ และ Krittalak et al. (2018) รายงานว่าปริมาณโปรตีนสกัดจากเห็ดหอมหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิเข้า 150-170 องศาเซลเซียส และหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ภูมิใจ และธนิต (2557) ยังรายงานว่าการทำแห้งเนื้อหมูปดแผ่นด้วยเทคนิคสุญญากาศร่วมกับรังสีอินฟราเรดไกลที่ความดันของห้องอบแห้ง 10 กิโลปาสคาล และควบคุมอุณหภูมิเหนือผลิตภัณฑ์ 3 เซนติเมตร ที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 และ 36 นาที เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดในระหว่างการทำแห้ง และในส่วนของผลของปริมาณความชื้นและค่า a_w นั้น

พบว่า ตัวอย่างในทุกสภาวะการทดลองมีปริมาณความชื้นและค่า a_w เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานอาหารแห้งที่กำหนดให้ความชื้นและค่า a_w ไม่เกินร้อยละ 10 ฐานแห้ง และ 0.6 ตามลำดับ

ตารางที่ 13 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการทำให้แห้ง	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อ กรัมตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ค่า a_w
ลมร้อน	74.28 ^b ±1.01	60.67 ^{ns} ±1.51	5.55 ^b ±0.33	0.31 ^b ±0.01
สุญญากาศ	76.20 ^b ±1.13	61.00 ^{ns} ±0.99	5.78 ^{ab} ±0.08	0.35 ^a ±0.01
พ่นฝอย	79.50 ^a ±1.90	59.59 ^{ns} ±0.58	5.98 ^a ±0.11	0.34 ^a ±0.01

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร ns ในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

2. ผลศึกษาค่าสีและขนาดอนุภาคของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ

ผลศึกษาค่าสีของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ แสดงในตารางที่ 14 พบว่าการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้สีของตัวอย่างมีค่าความสว่าง (L^*) มาก แต่ค่าความเป็นสีแดง ($+a^*$) และค่าความเป็นสีเหลือง ($+b^*$) น้อยกว่าการทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างกรดอะมิโนในโปรตีนกับหมู่คาร์บอนิลในน้ำตาลที่มีอยู่ตามธรรมชาติในถั่วเหลืองโดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และผลที่ได้จากการทำปฏิกิริยานี้เป็นสารประกอบที่ให้สีน้ำตาลคือ เมลานอยดิน (นิธิยา, 2544; อรพิน, 2548) นอกจากนี้ Verma et al. (2019) รายงานว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเกิดได้เร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ถ้าผลิตภัณฑ์อยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงมากในเวลาสั้น กลับส่งผลให้ปฏิกิริยาสีน้ำตาลเกิดขึ้นได้น้อยกว่า ดังนั้นการทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศซึ่งใช้เวลานานกว่าการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยจึงส่งผลให้สีของตัวอย่างคล้ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hu et al. (2010) รายงานว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีสีคล้ำกว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส อัตราการป้อนตัวอย่าง 300 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ 14 ค่าสีของผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการทำแห้ง	สี		
	L^*	a^*	b^*
ลมร้อน	69.11 ^b ±0.71	4.93 ^a ±0.09	24.41 ^a ±0.36
สุญญากาศ	68.30 ^b ±0.39	5.15 ^a ±0.23	25.27 ^a ±0.95
พ่นฝอย	80.37 ^a ±1.64	0.81 ^b ±0.32	14.60 ^b ±0.86

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาผลขนาดอนุภาคของผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ แสดงในตารางที่ 15 พบว่าขนาดอนุภาคของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีขนาดอนุภาคเล็ก และมีช่วงการกระจายขนาดอนุภาคที่แคบกว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศ เนื่องจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยนั้น สารละลายตัวอย่างจะไหลผ่านตัวทำละอองเพื่อทำให้สารละลายแตกตัวเป็นละอองฝอย ส่งผลให้ขนาดของอนุภาคมีขนาดเล็ก มีความสม่ำเสมอ และมีพื้นผิวสัมผัสของอนุภาคเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 15 ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการทำแห้ง	ขนาดอนุภาค (ร้อยละ)		
	ใหญ่กว่า 250 μm	ระหว่าง 250 – 178 μm	เล็กกว่า 178 μm
ลมร้อน	41.03 ^{ns} ±1.16	27.91 ^b ±0.98	30.17 ^b ±2.18
สุญญากาศ	41.93 ^{ns} ±1.10	27.60 ^b ±1.83	30.07 ^b ±2.15
พ่นฝอย	N.D.	43.95 ^a ±0.81	55.09 ^a ±0.73

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และค่าเฉลี่ยตามตัวอักษร ns ในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และ N.D. หมายถึง ตรวจไม่พบ (Not Detected)

3. ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ แสดงในตารางที่ 16 พบว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความสามารถในการละลาย กำลังการเกิดฟองและคงตัวของฟองสูง แต่ความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีอนุภาคขนาดเล็กและมีความสม่ำเสมอ จึงส่งผลให้อนุภาคผงโปรตีนมีพื้นที่ผิวสัมผัสมาก ความสามารถในการละลายจึงมีค่าสูงกว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนและแบบสุญญากาศ (Cepeda et al., 1998) และเมื่อผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความสามารถในการละลายสูง ก็ส่งผลให้มีความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงเช่นกัน เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดีจะสามารถแพร่กระจายไปยังผิวหน้าระหว่างอากาศกับน้ำได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางที่เก็บกักอากาศไว้ได้ดี (ณฐมล และคณะ, 2556; นิธิยา, 2544) นอกจากนี้ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ เนื่องจากความสามารถในการอุ้มน้ำมีความสัมพันธ์แบบผกผันต่อความสามารถในการละลาย (Chen et al., 2017)

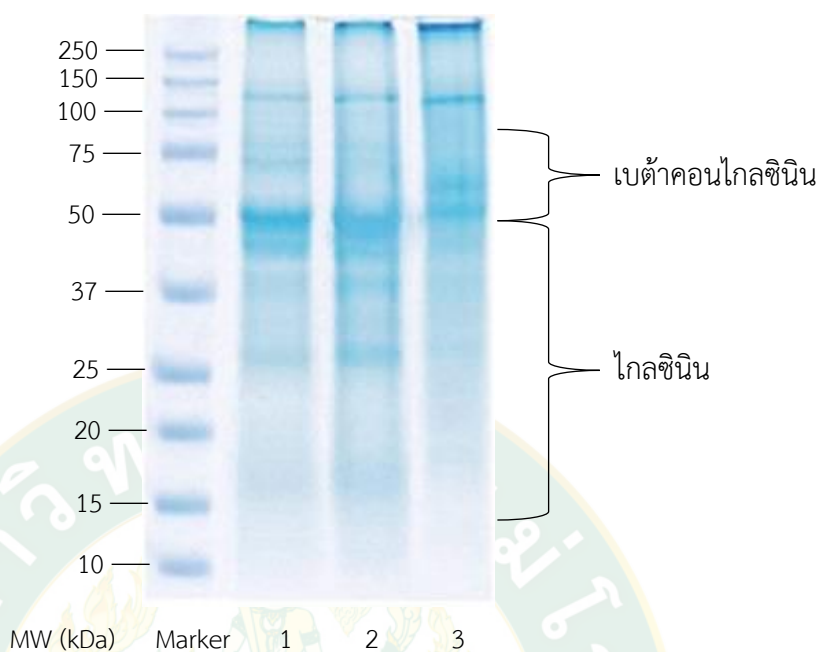
ตารางที่ 16 สมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการ ทำแห้ง	ความสามารถ ในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถใน การเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัว ของฟอง (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการอุ้มน้ำ (กรัมต่อ กรัมตัวอย่างแห้ง)
ลมร้อน	43.84 ^c ±0.72	13.73 ^b ±1.96	6.54 ^b ±1.13	1.26 ^a ±0.02
สุญญากาศ	47.83 ^b ±2.17	15.69 ^b ±1.95	7.84 ^b ±1.96	1.23 ^a ±0.04
พ่นฝอย	53.62 ^a ±2.51	22.22 ^a ±1.14	15.03 ^a ±1.14	1.15 ^b ±0.01

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4. ผลศึกษารูปแบบโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการต่างๆด้วยเทคนิค SDS-PAGE

เมื่อพิจารณาารูปแบบโปรตีนของผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการต่างๆเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Marker) ด้วยเทคนิค SDS-PAGE เพื่อศึกษาโปรตีนชนิดไกลซีน (11S) และเบต้าคอนไกลซีน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในถั่วเหลืองและเป็นโปรตีนชนิดที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (นักสิทธิ์, 2563; บังอร, 2561) จากภาพที่ 24 พบว่าแถบโปรตีนของทุกตัวอย่างอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนชนิดไกลซีนและเบต้าคอนไกลซีนแต่อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละเลนของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยแสดงดังตารางที่ 17 ซึ่งพบว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย (เลน 3) มีโปรตีนชนิดเบต้าคอนไกลซีนมากที่สุดซึ่งโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซีนเป็นโปรตีนที่ส่งผลให้มีความสามารถในการละลาย การเกิดฟองและคงตัวของฟองที่ดี เนื่องจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งแม้ว่าจะใช้อุณหภูมิสูงแต่ตัวอย่างโดนความร้อนในระยะเวลานั้นๆ โปรตีนจึงไม่เกิดการสลายตัวและการเสียสภาพ (Krittalak et al., 2018; Liu et al., 2004) ในขณะที่ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบสุญญากาศ (เลน 2) เกิดการสลายตัวของโปรตีนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากตัวอย่างสัมผัสกับความร้อนเป็นเวลานาน แต่ในระบบการทำแห้งแบบสุญญากาศมีออกซิเจนในปริมาณน้อยจึงลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนได้ (ชาลีตา, 2555; วิชมนิ และคณะ, 2560) ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากความเข้มของแถบโปรตีนชนิดเบต้าคอนไกลซีนซีดจางลง เมื่อเทียบกับตัวอย่างในเลนที่ 3 และในส่วนของผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (เลน 1) เกิดการสลายตัวของโปรตีนโมเลกุลขนาดเล็กจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากตัวอย่างสัมผัสกับความร้อนเป็นเวลานาน (วิชมนิ และคณะ, 2560) ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากความเข้มของแถบโปรตีนชนิดเบต้าคอนไกลซีนซีดจางลง เมื่อเทียบกับตัวอย่างในเลนที่ 2 และ 3 และมีความเข้มของแถบโปรตีนชนิดไกลซีนซีดจางลง เมื่อเทียบกับตัวอย่างในเลนที่ 2



ภาพที่ 24 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างๆ

- โดยที่ (1) ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน
 (2) ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบสุญญากาศ
 (3) ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ตารางที่ 17 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's

น้ำหนักโมเลกุล (กิโลดาลตัน)	ชนิดโปรตีน	ความเข้มข้นของแถบโปรตีน		
		เลน 1	เลน 2	เลน 3
14.4-22	ไกลซีนิน (11S)	+	++	+
22-26		+	+	+
26-34		++	+++	++
34-44		++	+++	++
44-49		+++	+++	+++
49-55	เบต้าคอนไกลซีนิน (7S)	+++	++++	++++
55-67		++	++	++++
67-73		+	+	+++
73-82		+	+	+++
82-91		+	+	+++

หมายเหตุ + คือ น้อยที่สุด ++ คือ น้อย +++ คือ ปานกลาง ++++ คือ มาก
ที่มา: ดัดแปลงจาก Liu et al. (2007)

ในการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 จะเป็นการนำโปรตีนที่สกัดในสภาวะการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่เหมาะสมจากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 มาศึกษาผลของวิธีการทำแห้งได้แก่ การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบสุญญากาศและการทำแห้งแบบพ่นฝอย ต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของผงโปรตีน พบว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการที่ส่งผลให้ผงโปรตีนที่ได้มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงสุด ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนมีความสม่ำเสมอและขนาดเล็กที่สุด และมีค่าสี ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองดีที่สุดในขณะที่ความสามารถในการอุ้มน้ำมีค่าต่ำที่สุด โดยที่มีความชื้นและค่า a_w เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อบแห้ง และมีโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) อยู่มากที่สุด ดังนั้นผลการศึกษาในการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 จึงสามารถสรุปได้ว่า วิธีการทำแห้งโปรตีนที่เหมาะสมคือ การทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งวิธีนี้จึงเหมาะสมต่อการนำไปทำแห้งโปรตีนที่ผ่านการสกัด เพื่อศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน

ผลการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3 :

ผลศึกษาสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ และผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

1. ผลศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต เวลาการสกัดและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ ในการสกัดของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ และผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงในตารางที่ 18 พบว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะมีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะทำให้เกิดการเร่งกระบวนการถ่ายโอนมวลสาร โดยการสร้างรูพรุนแก่เยื่อหุ้มเซลล์ (Redondo et al., 2018) โปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์และมีโครงสร้างเป็นไดโพลโมเมนต์ไฟฟ้า (Electric dipole moment) ยึดเหนี่ยวกันด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต จึงเคลื่อนที่ไปตามทิศทางของสนามไฟฟ้ามากขึ้น ส่งผลให้โปรตีนถ่ายเทออกมาภายนอกเซลล์เป็นปริมาณมาก (Della Valle et al., 2019) ทำให้ปริมาณโปรตีนของการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม และการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิมเกิดจากการสูญเสียโปรตีนบางส่วนในขั้นตอนการสกัด เช่น การสูญเสียโปรตีนที่ละลายได้ในกรดในขั้นตอนการปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 เพื่อตกตะกอนโปรตีน นอกจากนี้ร้อยละผลผลิตของโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณ น้อย นั้น เกิดจากประสิทธิภาพในการตกตะกอนโปรตีน จากงานวิจัยของ Chew et al. (2003) ทำการศึกษาการสกัดโปรตีนจากถั่วลันเตาด้วยวิธีดั้งเดิม พบว่าการสกัดโปรตีนจากถั่วลันเตาด้วยสภาวะต่าง (pH 8-9) สามารถทำละลายโปรตีนได้ร้อยละ 87 แต่การสกัดแยกโปรตีนด้วยวิธีตกตะกอน ณ จุดไอโซอิเล็กทริก (pH 4.5) สามารถตกตะกอนโปรตีนได้เพียงร้อยละ 59 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในสารละลาย (ลีนา, 2556) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดโปรตีนด้วยวิธีต่างๆ พบว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะมีความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดน้อยกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะสามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณมาก ใช้เวลาการสกัดสั้นลงถึง 2 ชั่วโมงและใช้เครื่องมือในการสกัดน้อยกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

ตารางที่ 18 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดโปรตีน ด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

วิธีการสกัด	เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัม ตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต	ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ (กิโลวัตต์-ชั่วโมง ต่อ กิโลกรัม)
ดั้งเดิม	180	68.39 ^b ±1.30	53.51 ^b ±1.35	342.13 ^a ±13.09
PEF	60	79.50 ^a ±1.90	59.59 ^a ±0.58	122.93 ^b ±4.95

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงในตารางที่ 19 พบว่าโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะมีความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูง แต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิมเป็นวิธีการใช้สารเคมีทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพโดยเกิดการคลายตัวและเผยส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิก (Freitas et al., 2011) ทำให้โปรตีนรวมตัวกันด้วยแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกระหว่างโมเลกุลโปรตีน (Bühler et al., 2020) ซึ่งเมื่อโปรตีนดังกล่าวอยู่ในสถานะที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ส่วนของกรดอะมิโนที่มีขั้วจะสัมผัสกับน้ำ ในขณะที่กรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วจะขดตัวเข้าหากันจนเกิดแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกยึดเหนี่ยวกันไว้ (Lins & Bresseur, 1995) ความสามารถในการละลายจึงลดลงเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของหมู่ไฮโดรโฟบิก (Hu et al., 2010) ในขณะที่การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพและคลายตัวเพียงเล็กน้อย (Fernandez-Diaz et al., 2000) แต่ในระหว่างการให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะแก่โปรตีน ทำให้เปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิของโปรตีน เกิดรวมตัวของโมเลกุลโปรตีนขนาดเล็กด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต โปรตีนจึงมีความสามารถในการละลายที่ดี (Fitzpatrick, 2021; Wu et al., 2016; Zhang et al., 2017) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Ma et al. (2019) ยังรายงานว่าสารอิมัลซิไฟเออร์ที่มีแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการละลายและความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์มีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนมีค่าลดลง เนื่องจากน้ำจะสามารถ

แทรกตัวอยู่ภายในโครงสร้างโมเลกุลโปรตีนขนาดใหญ่ด้วยแรงแคพิลลารีได้ดีกว่าโมเลกุลโปรตีนขนาดเล็ก (Chen et al., 2017) จึงทำให้โปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะจึงมีความสามารถในการละลายสูงกว่าแต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

ตารางที่ 19 ผลศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

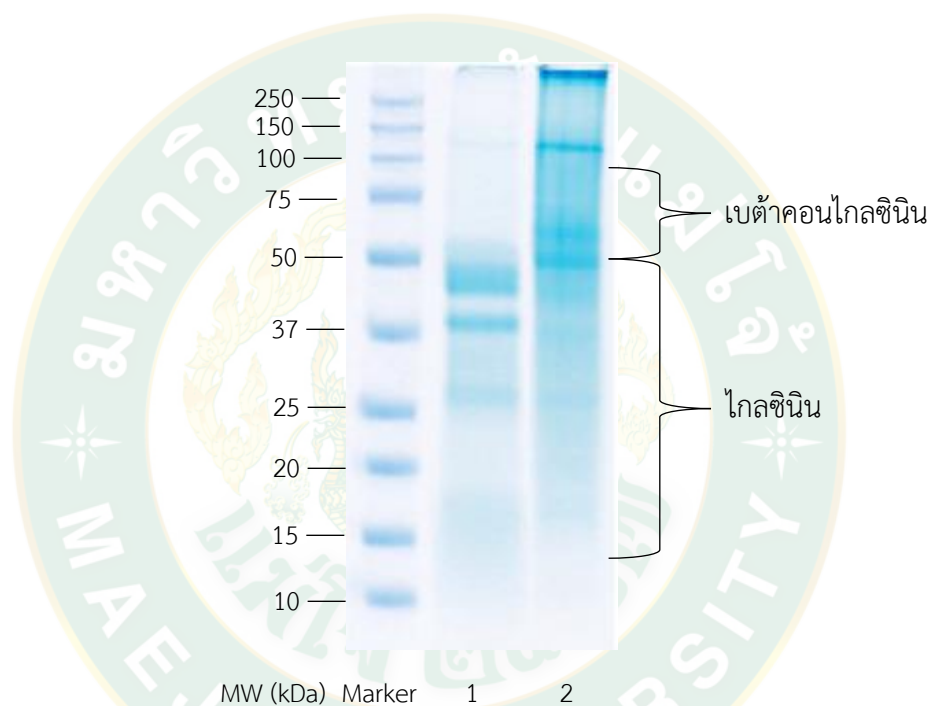
วิธี	ความสามารถในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)	ความสามารถในการอุ้มน้ำ (กรัม/น้ำต่อกรัมตัวอย่างแห้ง)
ดั้งเดิม	45.65 ^b ±2.17	19.61 ^b ±1.96	9.80 ^b ±1.96	1.34 ^a ±0.02
PEF	53.62 ^a ±2.51	22.22 ^a ±1.13	15.03 ^a ±1.13	1.15 ^b ±0.01

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

3. ผลศึกษารูปแบบโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยด้วยเทคนิค SDS-PAGE

เมื่อพิจารณารูปแบบโปรตีนของผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Marker) ด้วยเทคนิค SDS-PAGE เพื่อศึกษาโปรตีนชนิดไกลซีนิน (11S) และ เบต้าคอนไกลซีนิน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในถั่วเหลืองและเป็นโปรตีนชนิดที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (นักสิทธิ์, 2563; บังอร, 2561) จากภาพที่ 25 พบว่าแถบโปรตีนของทุกตัวอย่างอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนชนิดไกลซีนินและเบต้าคอนไกลซีนิน และเมื่อพิจารณาความเข้มของแถบโปรตีนที่สามารถแสดงถึงปริมาณของโปรตีนพบว่าทุกเลนของตัวอย่างมีความเข้มของแถบโปรตีนตรงตำแหน่งเบต้าคอนไกลซีนินมากกว่าตำแหน่งโปรตีนไกลซีนิน แต่อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละเลนของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยแสดงดังตารางที่ 20 ซึ่งพบว่าความเข้มของแถบโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซีนินของผงโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย (เลน 2) มีมากที่สุด และผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย (เลน 1) มีความเข้มรองลงมา ในขณะที่ความเข้มของแถบโปรตีนในกลุ่มไกลซีนินของตัวอย่างในเลน 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจะพบว่า ตัวอย่างในเลน 2

มีปริมาณโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซินิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลให้มีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองที่ดีและมีปริมาณโปรตีนรวม (เบต้าคอนไกลซินิน ร่วมกับไกลซินิน) มากกว่าตัวอย่างเลน 1 เนื่องจากตัวอย่างเลน 1 ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ทำให้เกิดการเสียสภาพและสลายตัวของโปรตีนจากสารเคมีที่ใช้ในการสกัดเป็นระยะเวลานาน (ณัฐมล และคณะ, 2556) ซึ่งพิจารณาได้จากความเข้มของแถบโปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 55 และ 73 kDa น้อยลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างเลนที่ 2



ภาพที่ 25 รูปแบบโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลือง ที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

- โดยที่
- (1) ตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม
 - (2) ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

ตารางที่ 20 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's

น้ำหนักรวม โมเลกุล (กิโลดาลตัน)	ชนิดโปรตีน	ความเข้มของแถบโปรตีน	
		เลน 1	เลน 2
14.4-22	ไกลซีนิน (11S)	+	+
22-26		+	++
26-34		++	++
34-44		++++	+++
44-49		++++	++++
49-55	เบต้าคอนไกลซีนิน (7S)	++	+++++
55-67		+	+++++
67-73		+	++++
73-82		+	+++
82-91		+	+++

หมายเหตุ + คือ น้อยที่สุด ++ คือ น้อย +++ คือ ปานกลาง ++++ คือ มาก +++++ คือ มากที่สุด
ที่มา: ดัดแปลงจาก Liu et al. (2007)

4. ผลศึกษาองค์ประกอบโดยประมาณ (proximate composition) ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีต่างๆและการทำแห้งแบบพ่นฝอย

4.1 ความชื้น (Moisture content)

ผลการศึกษาปริมาณความชื้นของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีปริมาณความชื้นร้อยละ 3.19 และ 4.12 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานอาหารแห้งที่กำหนดให้ความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ฐานแห้ง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2558)

4.2 โปรตีนรวม (Crude protein, CP)

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนรวมของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและการทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงในตารางที่ 21 พบว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมเนื่องจากเกิดการเร่งกระบวนการถ่ายโอนมวลสาร โดยการสร้างรูพรุนแก่เยื่อหุ้มเซลล์

(Redondo et al., 2018) นอกจากนี้โปรตีนยังมีโครงสร้างเป็นไดโพลโมเมนต์ไฟฟ้า (Electric dipole moment) ด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต จึงทำให้เมื่อให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแก่สารละลาย ตัวอย่าง โปรตีนที่ยึดเหนี่ยวกันด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตจึงเคลื่อนที่ไปตามทิศทางของสนามไฟฟ้า ส่งผลให้โปรตีนถ่ายเทออกมาภายนอกเซลล์ได้มากขึ้น (Della Valle et al., 2019) จึงทำให้สกัดโปรตีนได้ปริมาณมาก ในขณะที่ปริมาณโปรตีนของผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมมีการลบกักับปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนร้อยละ 7 เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ AOAC (2012) เป็นการใช่วิธี kjeldahl ในการหาปริมาณโปรตีนในอาหาร โดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งไนโตรเจนที่วัดได้ทั้งหมดอาจไม่ใช่ไนโตรเจนที่มาจากโปรตีนในอาหาร เนื่องจากไนโตรเจนสามารถพบได้ในสารประกอบอื่นๆได้ ซึ่งเรียกว่า สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non-protein nitrogen; NPN) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bhatti et al. (1973) ที่รายงานว่า การสกัดโปรตีนจากเมล็ดพืชน้ำมันโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ร่วมกับไตรคลอโรอะซิติก มีปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนร้อยละ 5-7 ของไนโตรเจนที่พบในอาหารทั้งหมด นอกจากนี้ Periago et al. (1996) ยังรายงานว่า การสกัดโปรตีนจากถั่ว 6 ชนิด โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไตรคลอโรอะซิติกและเอทานอลร่วมกับไตรคลอโรอะซิติกมีปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในผงโปรตีนมากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลเพียงอย่างเดียว จึงแสดงให้เห็นว่าปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยวิธี kjeldahl ของโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมจะต้องลบกักับปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนร้อยละ 5-7 ของไนโตรเจนที่พบในตัวอย่างทั้งหมด

4.3 คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (Nitrogen free extract, NFE)

ผลการศึกษ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงในตารางที่ 21 พบว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะเป็นการสกัดสารสำคัญทั้งหมดของวัตถุดิบภายใต้สภาวะเดียวกัน ทำให้เกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตระหว่างคาร์โบไฮเดรตกับโปรตีน (Baptista et al., 1995) และเคลื่อนที่ไปตามทิศทางของสนามไฟฟ้า ส่งผลให้คาร์โบไฮเดรตถ่ายเทออกมาภายนอกเซลล์ได้มากขึ้น (Della Valle et al., 2019) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yongguang et al. (2006) ที่รายงานว่า การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกบด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะใช้เวลาในการสกัดสั้น มีประสิทธิภาพสูงและประหยัดพลังงานเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมที่มีการใช้ต่างและเอนไซม์ เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะมีร้อยละผลผลิตสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ซึ่งคาร์โบไฮเดรตที่พบในถั่วเหลือง คือ คาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดดี คือมีองค์ประกอบของสารชนิดอื่นๆ เช่น ไขมัน โปรตีน และเส้นใยอาหารประกอบอยู่ในโมเลกุล

โดยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนเป็นคาร์โบไฮเดรตที่แตกตัวยากและให้พลังงานสูงในขณะที่ให้แคลอรีน้อย ทำให้กระบวนการย่อยสลายเป็นน้ำตาลของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนเกิดขึ้นช้า ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ ทำให้มีพลังงานต่อเนื่อง จึงมีความอึดและอยู่ท้องได้นาน นอกจากนี้เส้นใยอาหารยังช่วยส่งเสริมระบบย่อยอาหารและขับถ่าย (มัลลิกา และคณะ, 2559)

4.4 ไขมัน (Ether extract, EE)

ผลการศึกษาปริมาณไขมันของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงในตารางที่ 21 พบว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะมีปริมาณไขมันต่ำกว่าโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะทำให้เกิดการถ่ายโอนมวลสารจากความเข้มข้นมากไปยังความเข้มข้นน้อยผ่านรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Redondo et al., 2018) ในขณะที่การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมมีการใช้สารละลายต่างในการสกัด ทำให้ปริมาณไขมันในผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากไขมันสามารถละลายได้ดีในสารละลายต่าง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lawrence et al. (1982) ที่ทำการศึกษากการสกัดโปรตีนจากเศษสัตว์ปีกโดยใช้กรดต่างร่วมกับการแยกทางกล พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น ทั้งในตะกอนและส่วนเหนือตะกอนซึ่งเกิดจากปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นในกระบวนการสกัดโปรตีนด้วยกรดต่าง ซึ่งไขมันที่พบในถั่วเหลืองส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไม่อิ่มตัวร้อยละ 15 และ 85 ตามลำดับ โดยไขมันที่ดีและมีประโยชน์ต่อการบริโภค คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งประกอบไปด้วย Linoleic acid, Linolenic acid และ Oleic acid นอกจากนี้ยังพบ Lecithin ซึ่งเป็นไขมันที่ช่วยในกระบวนการดูดซึมไขมันเข้าสู่ร่างกาย (พอฤทัย, 2556)

4.5 เถ้า (Ash) และเยื่อใย (Crude fiber, CF)

ผลการศึกษาปริมาณเถ้าและเยื่อใยของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย แสดงในตารางที่ 21 พบว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะและวิธีดั้งเดิมมีปริมาณเถ้าและเยื่อใยต่ำ เนื่องจากการสกัดโปรตีนถั่วเหลืองมีการกรองและปั่นเหวี่ยงแยกส่วนของกากหยาบถั่วเหลือง ซึ่งเป็นส่วนที่มีเถ้าและเยื่อใยเป็นองค์ประกอบหลักออกไป จึงทำให้องค์ประกอบอื่นๆในผงโปรตีนมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น (เกษมศรี, 2545)

ตารางที่ 21 องค์ประกอบโดยประมาณของถั่วเหลืองและผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่างๆและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย

องค์ประกอบ (ร้อยละ น้ำหนักฐานแห้ง)	ผงโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ด้วยวิธีดั้งเดิม	ผงโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ
ความชื้น	3.19 ^b ±0.01	4.12 ^a ±0.01
เถ้า	4.92 ^a ±0.24	4.33 ^b ±0.02
โปรตีน	56.45 ^a ±0.29	49.80 ^b ±0.19
ไขมัน	20.23 ^a ±0.22	16.25 ^b ±0.05
คาร์โบไฮเดรต	18.67 ^b ±0.50	29.61 ^a ±0.16
เยื่อใย	1.72 ^a ±0.02	1.59 ^b ±0.02

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิมและวิธีสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ ต่อองค์ประกอบโดยประมาณ สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน และความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด โดยโปรตีนที่ผ่านการสกัดทั้งสองวิธีจะผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อเป็นผงโปรตีน ซึ่งเป็นวิธีการทำแห้งโปรตีนที่เหมาะสมจากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 2 พบว่าผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่สภาวะการสกัดที่เหมาะสมจากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 1 มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงโดยที่มีโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) มากกว่า จึงทำให้โปรตีนมีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูง แต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดต่ำกว่าผงโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม และเมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบโดยประมาณของผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดทั้งสองวิธีพบว่าผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะมีปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตสูงกว่า ในขณะที่มีปริมาณไขมัน เถ้าและเยื่อใยต่ำกว่าผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม แต่ผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจากการดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3 ไม่สามารถนำไปใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนเข้มข้นในเชิงพาณิชย์ได้เนื่องจากผงโปรตีนที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีนเพียงร้อยละ 49.80 ซึ่งเป็นปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่าโปรตีนเข้มข้นในเชิงพาณิชย์ที่มีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 70 ขึ้นไป เนื่องจากการผลิตผงโปรตีนใน

การดำเนินงานวิจัยย่อยที่ 3 ไม่มีการสกัดคาร์โบไฮเดรตและไขมันออกก่อนทำการสกัดโปรตีน จึงทำให้โปรตีนที่ผลิตได้ไม่มีความบริสุทธิ์และเข้มข้นพอที่จะนำไปใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนเข้มข้นในเชิงพาณิชย์ได้

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร และผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นกระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองผงขงติ่ม โดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนสูง ไขมันต่ำ นอกจากนี้ผงโปรตีนยังสามารถละลายน้ำได้ง่าย มีการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูง ซึ่งช่วยให้เครื่องติ่มมีเนื้อสัมผัสและรสชาติที่ดี

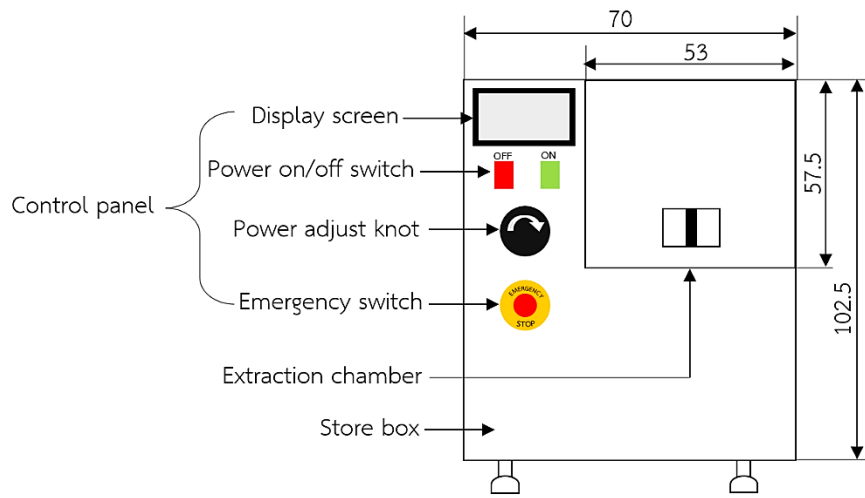


แนวคิดการขยายกำลังการผลิตของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

ในงานวิจัยนี้สกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ โดยใช้เครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะขนาด 550 มิลลิลิตร ซึ่งเหมาะสำหรับการทดสอบระดับห้องปฏิบัติการ แต่มีข้อเสียคือ กำลังการผลิตน้อย ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการขยายกำลังการผลิตของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะเป็น 2,500 มิลลิลิตร (เพิ่มขึ้น 5 เท่า) เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการทดสอบระดับห้องปฏิบัติการและอุตสาหกรรมขนาดเล็ก โดยตารางที่ 22 แสดงเงื่อนไขของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่พัฒนาขึ้น และภาพที่ 26 แสดงลักษณะโครงสร้างของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่พัฒนาขึ้น โดยมีลักษณะโครงสร้างต้นแบบจากเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะของบริษัท ไดอิล็กทริก เทคโนโลยี จำกัด ในขณะที่หลักการทำงานและระบบภายในจะคล้ายกับเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ใช้ในงานวิจัย โดยส่วนฐานล่าง (Store box) ใช้สำหรับเก็บอุปกรณ์จ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงและระบบควบคุมแรงดันไฟฟ้า ประกอบด้วย แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงกระแสตรง (High voltage power supply) คาปาซิเตอร์สำหรับสะสมพลังงาน (Energy storage capacitor) ไดโอดควบคุมการไหลของกระแสไฟฟ้าให้ไปในทิศทางเดียวกัน (Diode) อุปกรณ์ลัดวงจรผ่านช่องว่าง (Spark gap) และเครื่องปรับแรงดันไฟฟ้า ส่วนห้องสกัด (Extraction chamber) เป็นทรงสี่เหลี่ยมขนาด 3x21x40 ตารางเซนติเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าห้องสกัดแบบเดิมที่มีขนาด 3x13x14.5 ตารางเซนติเมตร และส่วนแผงควบคุม (Control panel) ประกอบด้วยปุ่มกดเปิด/ปิดเครื่อง ปุ่มหมุนปรับระดับแรงดันไฟฟ้า/ปรับความถี่จ่ายไฟฟ้า ปุ่มกดฉุกเฉิน และจอแสดงระดับแรงดันไฟฟ้า

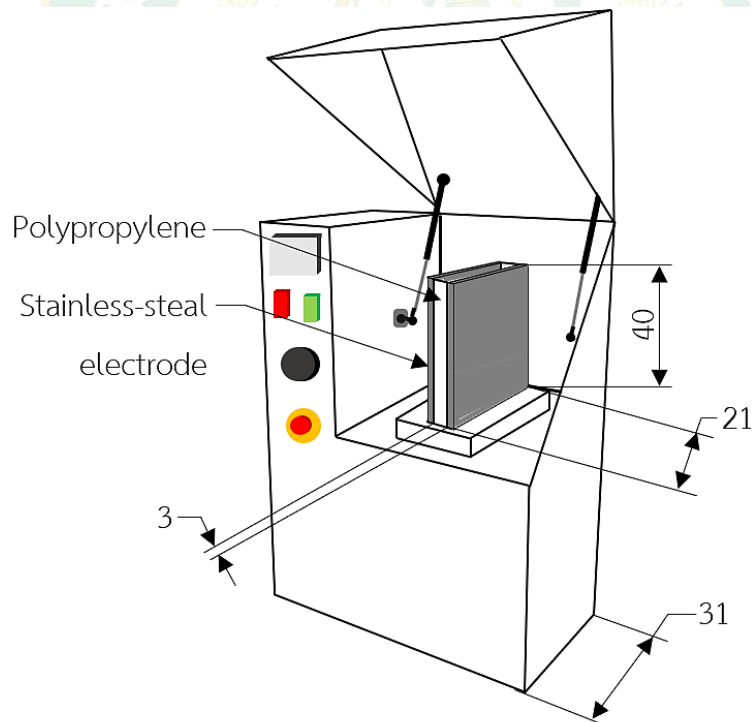
ตารางที่ 22 เงื่อนไขของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะที่พัฒนาขึ้น

คุณลักษณะ	รายละเอียด
ลักษณะไฟฟ้าแรงดันสูง	0 – 16 kVdc, pulse 1 μ s
ชนิดแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูง	Variable voltage transformer
ลักษณะสัญญาณไฟฟ้า	Exponential decay
ระบบควบคุมไฟฟ้าแรงดันสูง	Spark gap
ลักษณะห้องสกัด	ทรงสี่เหลี่ยม
วัสดุห้องสกัด	พลาสติกโพลีโพรพิลีน (Polypropylene, PP)
วัสดุอิเล็กทรอนิกส์	สแตนเลส 304
ความเข้มของสนามไฟฟ้าในห้องสกัด	3.6 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร (แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์)
ระยะห่างระหว่างอิเล็กทรอนิกส์	3 เซนติเมตร
ความถี่สัญญาณไฟฟ้าในการสกัด	2 เฮิรตซ์



หน่วย: เซนติเมตร

(ก) ลักษณะโดยรวม



หน่วย: เซนติเมตร

(ข) ลักษณะโครงสร้างของห้องสกัด

ภาพที่ 26 ลักษณะโครงสร้างของเครื่องสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. กระบวนการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ อัตราส่วน 1:15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 60 นาที เป็นกระบวนการที่ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนดีที่สุด โดยโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีน 74.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ร้อยละผลผลิต 60.67 มีความสามารถในการละลาย กำลังการเกิดฟองและคงตัวของฟอง ร้อยละ 43.84 13.73 และ 6.54 ตามลำดับ นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนยังพบว่ามีโปรตีนกลุ่มไกลซิโน (11S) และเบต้าคอนไกลซิโน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อยู่มากที่สุด ในขณะที่มีค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดน้อยที่สุด คือ 149.9 กิโลวัตต์-ชั่วโมงต่อกิโลกรัม

2. กระบวนการผลิตโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยวิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นกระบวนการที่ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนดีที่สุด โดยผงโปรตีนที่ได้มีปริมาณโปรตีน 79.60 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ร้อยละผลผลิต 59.59 มีความสามารถในการละลาย กำลังการเกิดฟองและคงตัวของฟอง ร้อยละ 53.62 22.22 และ 15.03 ตามลำดับ มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 250 ไมโครเมตรและมีความสม่ำเสมอ และมีค่า L^* a^* และ b^* อยู่ที่ 80.37 0.81 และ 14.60 ตามลำดับ โดยที่มีค่าความชื้นและค่า a_w อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อบแห้งคือต่ำกว่าร้อยละ 10 และ 0.6 นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนยังพบว่ามีโปรตีนกลุ่มไกลซิโน (11S) และเบต้าคอนไกลซิโน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อยู่มากที่สุด

3. ผงโปรตีนถั่วเหลืองสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่เหมาะสมและผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นผงโปรตีนที่มีค่าสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ดีกว่า โดยที่มีปริมาณโปรตีน 79.60 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งหรือโปรตีนร้อยละ 49.80 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 29.61 ไขมันร้อยละ 16.25 ร้อยละผลผลิต 59.59 มีความสามารถในการละลาย กำลังการเกิดฟองและคงตัวของฟอง ร้อยละ 53.62 22.22 และ 15.03 ตามลำดับ นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนยังพบว่ามีโปรตีนกลุ่มไกลซิโน (11S) และเบต้าคอนไกลซิโน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อยู่มากที่สุด ในขณะที่มีค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัด คือ 122.93 กิโลวัตต์-ชั่วโมงต่อกิโลกรัม ซึ่งน้อยกว่าผงโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ดังนั้นกระบวนการนี้จึงเหมาะสมสำหรับการผลิตผงโปรตีนถั่วเหลืองเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีนชนิดผงขงดื่ม

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาและออกแบบระบบการสกัดสารสำคัญในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะ เพื่อให้เหมาะสมต่อการทำงานระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็กและขนาดกลาง โดยศึกษาปัจจัยดังต่อไปนี้ ชนิดแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูง ลักษณะสัญญาณไฟฟ้า ระบบควบคุมไฟฟ้าแรงดันสูง ลักษณะห้องสกัด วัสดุห้องสกัด วัสดุอิเล็กทรอนิกส์ ความเข้มของสนามไฟฟ้าในห้องสกัด ระยะห่างระหว่างอิเล็กโทรด และความถี่สัญญาณไฟฟ้าในการสกัด
2. ควรศึกษาการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะภายใต้สภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน
3. ควรศึกษาและพัฒนากระบวนการผลิตโปรตีนให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น เพื่อนำกระบวนการผลิตไปประยุกต์ใช้ได้จริงในเชิงพาณิชย์
4. ควรศึกษาการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะที่แรงดันไฟฟ้า 30 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร เวลาการสกัด 288 ไมโครวินาที ความกว้างของสัญญาณไฟฟ้า 2 ไมโครวินาที ความถี่ 500 ครั้งต่อวินาที ตามวิธีการของ Li et al. (2007)

บรรณานุกรม

- เกษมศรี พงษ์เสรี. 2545. การสกัดสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากข้าวฟ่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2547. การอนุรักษ์พลังงานในระบบอื่นๆ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www2.dede.go.th/bhrd/old/Download/file_handbook/Pre_Heat/pre_heat_10.pdf. (18 กรกฎาคม 2563).
- กษมา ซารีโคตร. 2559. หลักการวิเคราะห์อาหาร. อุดรธานี: คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.
- ขจีรัตน์ ธรินทร์มย์. 2548. ผลของส่วนผสมต่อโครงสร้างทางกายภาพและพันธะเคมีของเนื้อเทียมโปรตีนถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- คณิต วิจิตพันธ์. 2557. การหาปริมาณโปรตีนจากสารตัวอย่าง. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://qsds.go.th/newqsds/file_upload/2014-07-04-6.pdf. (20 มิถุนายน 2562).
- ชัยวัฒน์ วามวรรธน์. 2556. กรดอะมิโนและโปรตีน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://biochem.flas.kps.ku.ac.th/01402312/01402312lab04aminoprotein1156.pdf>. (28 สิงหาคม 2562).
- ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล. 2555. เทคโนโลยีการทำแห้งแบบผสมผสาน : การนำมาใช้เพื่อถนอมผลิตภัณฑ์อาหารที่ไวต่อความร้อน. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 35(2), 269-283.
- ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2544. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ (SCIENTIFIC INSTRUMENTS). พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น: หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.
- ณัฐมล จินดาพรรณ, สุจิตรา ศรีเงินยวง และ ชญานิน แดงพรม. 2556. อิทธิพลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายและการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 9(1), 52-62.
- ณัฐรีพร จันทพันธ์. 2549. การผลิตน้ำบิวผงโดยวิธีอบแห้งแบบพ่นฝอย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ทรงสมร สุวรรณชื่น, ศีรารวรรณ สุริยะลังกา และ ศิราณี ยืนยาว. 2560. ถั่วเหลือง ข้อมูลเพื่อการวางแผนสินค้าเกษตรจังหวัดสุโขทัย. สุโขทัย: สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดสุโขทัย.

- ธนจันทร์ มหาวนิช, ประสิทธิ์ศักดิ์ สมบูรณ์ศักดิ์ และ ศุภชาญ ตั้งวิริยศิริกุล. 2550. ผลของชนิดและความเข้มข้นของเกลือที่มีต่อสมบัติของเจลชอย โพรตีนไอโซเลท. *วารสารอาหาร*, 37(2), 191-199.
- นักสิทธิ์ ปัญญาใหญ่. 2563. โพรตีนจากพืช: คุณค่าโภชนาการ โครงสร้าง คุณสมบัติเชิงหน้าที่ และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. *วารสารการเกษตรราชภัฏ*, 19(1), 61-69.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2544. **หลักการแปรรูปอาหารเบื้องต้น**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- นิพัฒน์ ลิ้มสงวน. 2554. เทคโนโลยีใหม่ในการแปรรูปและถนอมอาหาร ตอนที่ 1. *วารสารอาหาร*, 41(3), 232-237.
- บังอร ประจันบาล. 2561. การเปรียบเทียบแบบแผนโปรตีนจากสารสกัดเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะและการเพาะงอก. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 49(4), 131-134.
- ประทีป ตุ่มทอง และ มงคล साแก้ว. 2559. เครื่องอบแห้งด้วยลมร้อน. น. 384-388. ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติ "ราชมงคลสุนทรวิชาการ ครั้งที่ 8"**. 22-23 ธันวาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์. สุนทร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์
- ฝ่ายสารสนเทศและการจัดการองค์ความรู้ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2556. สี (Color). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://cms2.swu.ac.th/Portals/155/ภาควิชาคหกรรมศาสตร์/เอกสารอ้างอิง/HOM_55_7.2_2.3.pdf. (20 กุมภาพันธ์ 2562).
- พอลุทัย ช้างบุญมี. 2556. **อิทธิพลของกระบวนการงอกและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิดไอเซชันต่อคุณภาพของถั่วเหลืองเริ่มงอก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- พิชัย สราญรมย์. 2528. **ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับถั่วเหลืองสำหรับการศึกษาระดับปริญญา**. พิมพ์ครั้งที่ 2. จันทบุรี: วิทยาลัยรำไพพรรณี.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์. 2559. **Proximate analysis / การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสาร**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0455/proximate-analysis-การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสาร>. (8 กุมภาพันธ์ 2564).
- _____. 2562ก. **Isoelectric point / จุดไอโซอิเล็กทริก**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1287/isoelectric-point-จุดไอโซอิเล็กทริก>. (20 มิถุนายน 2562).
- _____. 2562ข. **Moisture content/ความชื้น**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0830/moisture-content-ความชื้น>. (21 สิงหาคม 2562).

- _____. 2562ค. **Soybean/ถั่วเหลือง**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1359/soybean-ถั่วเหลือง>. (20 มิถุนายน 2562).
- _____. 2563. **Sieve analysis**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1303/sieve-analysis>. (1 กุมภาพันธ์ 2564).
- ภูมิใจ สอาดโฉม และ ธนิต สวัสดิ์เสวี. 2557. การอบแห้งเนื้อหมูปดแผ่นด้วยเทคนิคสุญญากาศร่วมกับ รังสีอินฟราเรดไกล. **วารสารวิชาการคณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏ ลำปาง**, 7(1), 83-97.
- มัลลิกา อู่อินทร์, รุ่งฤดี ชนุดหอม และ สุรภัญญา ไฉยงค์. 2559. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารอิมมูนา**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.agro.cmu.ac.th/agro60/school/fst/601499/research_exercise_journal/file_upload/551310051.pdf. (7 กรกฎาคม 2564).
- รัตนา จินดาพรรณ. 2548. ฟองในอาหาร (Food Foams). **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม**, 1(1), 12-16.
- ลีนา หง่าฟา. 2556. **องค์ประกอบทางเคมี สมบัติเชิงหน้าที่ และการออกฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนไฮโดรไลสได้จากถั่วเหลือง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. 2557. **การวัดการดูดกลืนแสงของสารด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี**. กรุงเทพมหานคร: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระนคร.
- วัลลี ภาคพจน์, ลลิตา ศิริพัฒนานนท์, นวพร ลากส่งผล และ อินทิรา ลิจันทร์พร. 2562. อิทธิพลของ อุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของเปลือกมะม่วงฝง. น. 662-672. ใน **การประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20**. 15 มีนาคม 2562 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วิษณีย์ ยืนยงพุทธกาล, กุลยา ลีรุ่งเรืองรัตน์, ปณิดา ชัยปิ่น และ ต่อลาภ ศรีเมือง. 2560. ผลของ อุณหภูมิและเวลาทำแห้งด้วยลมร้อนต่อคุณภาพของเห็ดเข็มทองฝงที่ผลิตจากส่วนที่ไม่นิยมบริโภค. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์**, 25(6), 1001-1014.
- วิทยา อินทร์สอน และ ไพโรจน์ ด้วงนคร. 2559. **แนวคิดของการเพิ่มผลผลิต**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา

http://www.thailandindustry.com/onlinemag/view2.php?id=461§ion=4&issue_s=24. (6 มกราคม 2564).

เวสารัช จรเจริญ, พานิช อินต๊ะ และ สุปัญญา จิตตพันธ์. 2561. การประยุกต์ใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ เพื่อสกัดสารจาก *Chlorella vulgaris* TISTR8580. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 23(3), 1253-1267.

ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว. 2545. Water Activity กับการควบคุมอายุการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์อาหาร. *วารสารจารย์พา*, 9(68), 48-51.

ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่. 2530. ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/fc/chiangmai/?page_id=178. (14 ตุลาคม 2562).

สมหมาย ปะติตั้งโช. 2556. กรดอะมิโนและโปรตีน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://dspace.bru.ac.th/xmlui/bitstream/handle/123456789/6970/บทที่%205%20กรดอะมิโนและโปรตีน.pdf?sequence=8&isAllowed=y>. (8 กุมภาพันธ์ 2564).

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2558. ถั่วเหลืองผงขงตี๋ม. (มผช.688/2558). กรุงเทพฯ: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

สำนักอนุรักษ์และตรวจสอบมาตรฐานหม่อนไหม. 2556. การเก็บตัวอย่างหม่อนไหมและการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://qsds.go.th/ocs/file_upload/2013-07-08-2356.pdf. (1 ตุลาคม 2562).

สิรินดา กุสุมภ์, ณัฐฐา มณีศิลาสันต์ และ วรสิทธิ์ หวังอนุตตร. 2554. การทดแทนนมผงขาดมันเนย ด้วยโปรตีนถั่วเหลืองสกัดในไอศกรีมไขมันต่ำ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*, 19(1), 48-59.

สิรินดา ชูประจง, นวล บินหะยีนีย และ มาตินา น้อยทับทิม. 2564. สภาวะที่เหมาะสมของ กระบวนการโอท้อมิคต่อส้มแขกแช่ต้ม. *วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์*, 13(3), 262-275.

สุนทรี สมแสง. 2550. การเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของลีนจี (พันธุ์กวางเจา) ที่ถนอมด้วยความดัน สูงยิ่งและความร้อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุพิรดา ธนสีลังกูร. 2558. Gel electrophoresis of protein. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.gibthai.com/service/note_detail/20. (20 มิถุนายน 2562).

อรพิน ชัยประสพ. 2548. การถนอมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

อังคณา เชื้อเจ็ดตน, ชลิกกร ไกลถิ่น, อินทิรา ทาคำ, วีรณัฐ คฤหานนท์ และ พรอนันต์ บุญก่อน. 2563. การสกัดเพคตินจากเปลือกถั่วลิสงเหลือทิ้งด้วยอัลตราโซนิกช่วยสกัดและนำไปใช้ประโยชน์ในการทำแยม. *วารสารวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง*, 5(1), 21-35.

- อาทิตย์ ยาอุทมิ และพิสิษฐ์ วิมลธนสิทธิ์. 2560. การออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์สกัดสารเคมีจากพืชแบบพกพา. น. 223-231. ใน **การประชุมวิชาการ ประจำปี 2560**. 7-8 ธันวาคม 2560 ณ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- Al-Mofleh, A., Taib, S., Salah, W. & Azizan, M. 2008. Importance of Energy Efficiency: From the Perspective of Electrical Equipments. pp. 144-150. In **International Conference on Science & Technology: Applications in Industry & Education (2008)**. Penang: Universiti Teknologi MARA Pulau Pinang.
- Angersbach, A., Heinz, V. & Knorr, D. 1999. Electrophysiological model of intact and processed plant tissues: cell disintegration criteria. **Biotechnology Progress**, 15(4), 753-762.
- AOAC. 2012. **Official methods of analysis**. Virginia: Arlington.
- Baptista, A., Brautaset, T., Drabløs, F., Martel, P., Valla, S. & Petersen, S. B. 1995. Electrostatic studies of carbohydrate active enzymes. In S.B. Petersen, B. Svensson & S. Pedersen (Eds). **Progress in Biotechnology** (pp. 181-204). Amsterdam: Elsevier.
- Bhatty, R. S., Sosulski, F. W. & Wu, K. K. 1973. Protein and nonprotein nitrogen contents of some oilseeds and peas. **Canadian Journal of Plant Science**, 53(3), 651-657.
- Blaise, K., Nicolas, N. Y., Clémence, B. & Richard, K. 2017. Influence of spray-drying temperature on physicochemical and functional properties of protein isolates of three leguminous plants (*Canavalia ensiformis*, *Vigna unguiculata* and *Glycine max*) from Cameroon. **Cogent Chemistry**, 3(1), 1388140.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, 72(1-2), 248-254.
- Bühler, J. M., Dekkers, B. L., Bruins, M. E. & Van Der Goot, A. J. 2020. Modifying faba bean protein concentrate using dry heat to increase water holding capacity. **Foods**, 9(8), 1077.
- Cepeda, E., Villaran, M. C. & Aranguiz, N. 1998. Functional properties of faba bean (*Vicia faba*) protein flour dried by spray drying and freeze drying. **Journal of Food Engineering**, 36(3), 303-310.

- Chareemuy, W., Tangduangdee, C. & Viriyarattanasak, C. 2020. Dehulling Effectiveness and Properties of Full-fat Soy Flour as Affected by Thermal Treatments. **Agricultural Science Journal**, 49(1), 96–112.
- Chen, X., Li, Y., Zhou, R., Liu, D., Xu, X. & Zhou, G. 2017. Water-soluble myofibrillar proteins prepared by high-pressure homogenisation: a comparison study on the composition and functionality. **International Journal of Food Science Technology**, 52(11), 2334-2342.
- Chew, P. G., Casey, A. J. & Johnson, S. K. 2003. Protein quality and physico-functionality of Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* cv. Gungurru) protein concentrates prepared by isoelectric precipitation or ultrafiltration. **Food Chemistry**, 83(4), 575-583.
- Dehez, F., Delemotte, L., Kramar, P., Miklavcic, D. & Tarek, M. 2014. Evidence of conducting hydrophobic nanopores across membranes in response to an electric field. **The Journal of Physical Chemistry C**, 118(13), 6752-6757.
- Della Valle, E., Marracino, P., Pakhomova, O., Liberti, M. & Apollonio, F. 2019. Nanosecond pulsed electric signals can affect electrostatic environment of proteins below the threshold of conformational effects: The case study of SOD1 with a molecular simulation study. **PloS one**, 14(8), e0221685.
- Fernandez-Diaz, M. D., Barsotti, L., Dumay, E. & Cheftel, J. C. 2000. Effects of pulsed electric fields on ovalbumin solutions and dialyzed egg white. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 48(6), 2332-2339.
- Fitzpatrick, SE. 2021. **Aerogels synthesised from Canola seed meal protein: Processing-structure-property relationships**. Doctoral Dissertation. University of Canterbury.
- Freitas, I. R., Gautério, G. V., Rios, D. G. & Prentice, C. 2011. Functionality of protein isolates from argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) residue obtained using pH shift processing. **Journal of Food Science Engineering**, 1(5), 374.
- Gachovska, T. K., Adedeji, A. A. & Ngadi, M. O. 2009. Influence of pulsed electric field energy on the damage degree in alfalfa tissue. **Journal of food engineering**, 95(4), 558-563.

- Goettel, M., Eing, C., Gusbeth, C., Straessner, R. & Frey, W. 2013. Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae. **Algal Research**, 2(4), 401-408.
- Gómez-Maqueo, A., García-Cayuela, T., Welte-Chanes, J. & Cano, M. P. 2019. Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of prickly pear fruits by high hydrostatic pressure: A chemical and microstructural approach **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 54, 132-142.
- He, D., Zhang, Z., Li, H., Xia, Y., Li, X. & Chen, T. 2018. Optimizing functional properties of perilla protein isolate using the response surface methodology. **Food Science and Technology**, 38(2), 348-355.
- He, G., Yin, Y., Yan, X. & Wang, Y. 2017. Application of pulsed electric field for treatment of fish and seafood. In D. Miklavcic (Eds.). **Handbook of electroporation** (pp. 2637-2655). New York: Springer.
- Hosain, D., Hosainpour, A., Farzad, N. & Mohammad-Hadi, K. 2011. Ohmic Processing: Temperature Dependent Electrical Conductivities of Lemon Juice. **Modern Applied Science**, 5(1), 209-216.
- Hu, X., Cheng, Y., Fan, J., Lu, Z., Yamaki, K. & Li, L. 2010. Effects of drying method on physicochemical and functional properties of soy protein isolates. **Journal of food processing preservation**, 34(3), 520-540.
- Hudthagosol, C. & Techavichian, M. 2020. Protein: Essential Nutrient for Human Body. **Journal of Nutrition Association of Thailand**, 55(1), 82-94.
- HunterLab. 2020. **HunterLab**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://www.hunterlab.com/blog/>. (10 October 2020).
- Jiamyangyuen, S., Srijesdaruk, V. & Harper, W. J. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. **Songklanakarinn Journal of Science and Technology**, 27(1), 55-64.
- John, H., Mansuri, S. M., Giri, S. K. & Sinha, L. K. 2018. Rheological properties and particle size distribution of soy protein isolate as affected by drying methods. **Nutrition Food Science International Journal**, 7(5), 1-9.
- Kantakapun, K. 2017. **UV-Vis Spectrophotometer**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://chem.eng.psu.ac.th/new_chem/upload/labtool/UV-

[Vis%20Spectrometer.pdf](#). (5 July 2021).

- Krittalak, P., Panida, B., Supaporn, L., Nowwapan, N., Takunrat, T. & Ubolwanna, S. 2018. Effect of Drying Process on the Physicochemical Properties and Biological Activities of Enzymatic Protein Hydrolysate from Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*). **Chiang Mai of Science**, 45(2), 762-773.
- Lawrence, R. A., Jelen, P. & Fedec, P. 1982. Pilot plant extraction of protein from mechanically separated poultry residues. **Canadian Institute of Food Science Technology Journal**, 15(4), 325-328.
- Lebovka, N. I., Praporscic, I., Ghnimi, S. & Vorobiev, E. 2005. Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. **Journal of food engineering**, 69(2), 177-184.
- Lebovka, N. I., Praporscic, I. & Vorobiev, E. 2004. Combined treatment of apples by pulsed electric fields and by heating at moderate temperature. **Journal of Food Engineering**, 65(2), 211-217.
- Lebovka, N. & Vorobiev, E. (2016). Techniques to detect electroporation in food tissues. In D. Miklavcic (Ed.). **Handbook of Electroporation** (pp. 1467-1488). New York: Springer.
- Li, Y, Chen, Z & Mo, H. 2007. Effects of pulsed electric fields on physicochemical properties of soybean protein isolates. **LWT-Food Science Technology**, 40(7), 1167-1175.
- Li, Y., Li, Y., Li, H., Qi, Y., Wu, Z. & Yang, M. 2017. Comparative study of microwave-vacuum and vacuum drying on the physicochemical properties and antioxidant capacity of licorice extract powder. **Powder technology**, 320, 540-545.
- Lins, L. & Brasseur, R. 1995. The hydrophobic effect in protein folding. **The FASEB journal**, 9(7), 535-540.
- Liu, C., Wang, X., Ma, H., Zhang, Z., Gao, W. & Xiao, L. 2008. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. **Food chemistry**, 111(1), 29-37.
- Liu, S., Zhou, R., Tian, S. & Gai, J. 2007. A study on subunit groups of soybean protein extracts under SDS-PAGE. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 84(9), 793-801.

- Liu, Z., Chang, S. K. C., Li, L. & Tatsumi, E. 2004. Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. **Food Research International**, 37(8), 815-822.
- McGee, H. 2007. **On food and cooking: the science and lore of the kitchen**. New York: Simon and Schuster.
- Naowakul, B., Wirjantoro, T. I. & Phianmongkhon, A. 2013. Effects of speed and time of wet milling on properties of dietary fiber powder from pomelo's albedo. **Food and Applied Bioscience Journal**, 1(1), 34-48.
- Nickoloff, J. A. 1995. **Plant cell electroporation and electrofusion protocols**. Berlin: Springer Science & Business Media.
- Nishinari, K., Fang, Y., Guo, S. & Phillips, G. O. 2014. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. **Food hydrocolloids**, 39(1), 301-318.
- Palamutcu, S. 2015. Energy footprints in the textile industry. In S. S. Muthu (Ed.). **Handbook of Life Cycle Assessment (LCA) of Textiles and Clothing** (pp. 31-61). Cambridge: Elsevier.
- Park, S. M., Oh, J. , Kim, J. E. & Kim, J. 2018. Effect of Drying Conditions on Nutritional Quality and In Vitro Antioxidant Activity of Traditional Doenjang. **Preventive Nutrition and Food Science**, 23(2), 144-151.
- Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N. & Vorobiev, E. 2015. Pulsed electric field and pH assisted selective extraction of intracellular components from microalgae *Nannochloropsis*. **Algal Research**, 8, 128-134.
- Periago, M. J., Ros, G., Martínez, C. & Rincón, F. 1996. Variations of non-protein nitrogen in six Spanish legumes according to the extraction method used. **Food research international**, 29(5-6), 489-494.
- Polikovskiy, M., Fernand, F., Sack, M., Frey, W., Müller, G. & Golberg, A. 2016. Towards marine biorefineries: Selective proteins extractions from marine macroalgae *Ulva* with pulsed electric fields. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, 37, 194-200.
- Prabhu, M. S., Levkov, K., Livney, Y. D., Israel, A. & Golberg, A. 2019. High-voltage pulsed electric field preprocessing enhances extraction of starch, proteins, and

- ash from marine macroalgae *Ulva ohnoi*. **ACS Sustainable Chemistry Engineering**, 7(20), 17453-17463.
- Redondo, D., Venturini, M. E., Luengo, E., Raso, J. & Arias, E. 2018. Pulsed electric fields as a green technology for the extraction of bioactive compounds from thinned peach by-products. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, 45, 335-343.
- Rezaee, K., Noghabi, M. S., Behzad, K. & Maskooki, A. 2019. Effect of Moderate Pulsed Electric Field Treatment on Viscoelastic Properties of Sugar Beet. **Food Science Technology Research**, 25(2), 157-166.
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S. N. & Bawa, A. S. 2008. Functional and edible uses of soy protein products. **Comprehensive reviews in food science food safety**, 7(1), 14-28.
- Sorvall Products. 2014. **B-2 SORVALL**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://btiscience.org/wp-content/uploads/2014/04/Sorvall-rotors_tubes.pdf. (23 July 2021).
- Tkacz, K., Wojdyło, A., Michalska-Ciechanowska, A., Turkiewicz, I. P., Lech, K. & Nowicka, P. 2020. Influence Carrier Agents, Drying Methods, Storage Time on Physico-Chemical Properties and Bioactive Potential of Encapsulated Sea Buckthorn Juice Powders. **Molecules**, 25(17), 3801.
- Verma, V., Singh, Z. & Yadav, N. 2019. Maillard Reaction and Effect of Various Factor on the Formation of Maillard Products: and Its Impact on Processed Food Products. **Research Trends in Food Technology Nutrition**, 7(5), 63-90.
- Vorobiev, E. & Lebovka, N. 2008. **Electrotechnologies for extraction from food plants and biomaterials**. New York: Springer.
- Wilde, P. J. & Clark, D. C. 1996. Foam formation and stability. **Methods of testing protein functionality**, 1, 110-152.
- Wolf, W. J., Cowan, J. C. & Wolff, H. 2009. Soybeans as a food source. **CRC Critical Reviews in Food Technology**, 2(1), 81-158.
- Wu, L., Zhao, W., Yang, R., Yan, W. & Sun, Q. 2016. Aggregation of egg white proteins with pulsed electric fields and thermal processes. **Journal of the Science of Food Agriculture**, 96(10), 3334-3341.

- Yao, J. J., Wei, L. S. & Steinberg, M. P. 1988. Water-imbibing capacity and rheological properties of isolated soy proteins. **Journal of Food Science**, 53(2), 464-467.
- Yongguang, Y., Yuzhu, H. & Yong, H. 2006. Pulsed electric field extraction of polysaccharide from *Rana temporaria chensinensis* David. **International journal of pharmaceutics**, 312(1-2), 33-36.
- Yousf, N., Nazir, F., Salim, R., Ahsan, H. & Sirwal, A. 2017. Water solubility index and water absorption index of extruded product from rice and carrot blend. **Journal of pharmacognosy phytochemistry**, 6(6), 2165-2168.
- Yu, X., Bals, O., Grimi, N. & Vorobiev, E. 2015. Polyphenol and Protein Extraction from Rapeseed Stems and Leaves Assisted by Pulsed Electric Fields. **Industrial Crops and Products**, 74, 309-318.
- Zhang, L., Wang, L., Jiang, W. & Qian, J. 2017. Effect of pulsed electric field on functional and structural properties of canola protein by pretreating seeds to elevate oil yield. **LWT - Food Science and Technology**, 84, 73-81.

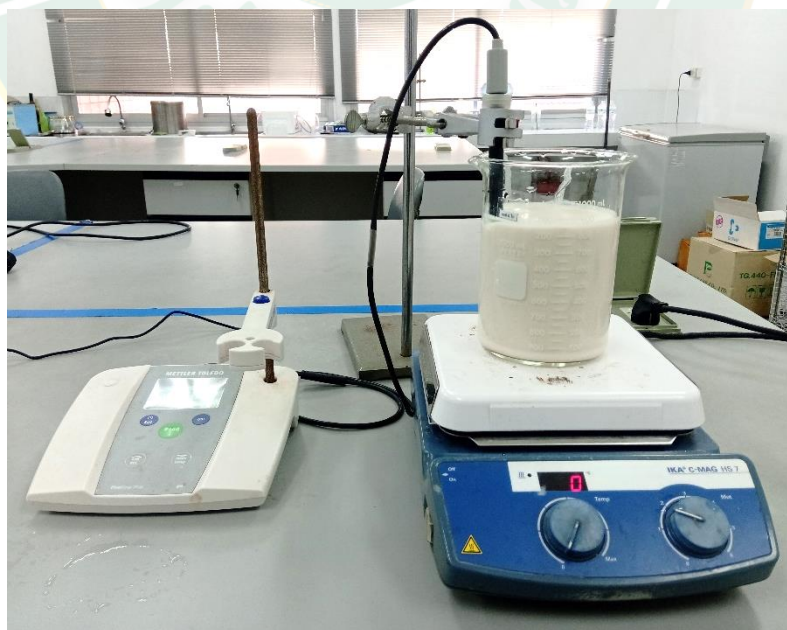


ภาคผนวก





ภาพผนวกที่ 1 การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจั้งหะ



ภาพผนวกที่ 2 การสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม



ภาพผนวกที่ 3 การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน



ภาพผนวกที่ 4 การทำแห้งแบบสุญญากาศ



ภาพผนวกที่ 5 การทำแห้งแบบพ่นฝอย



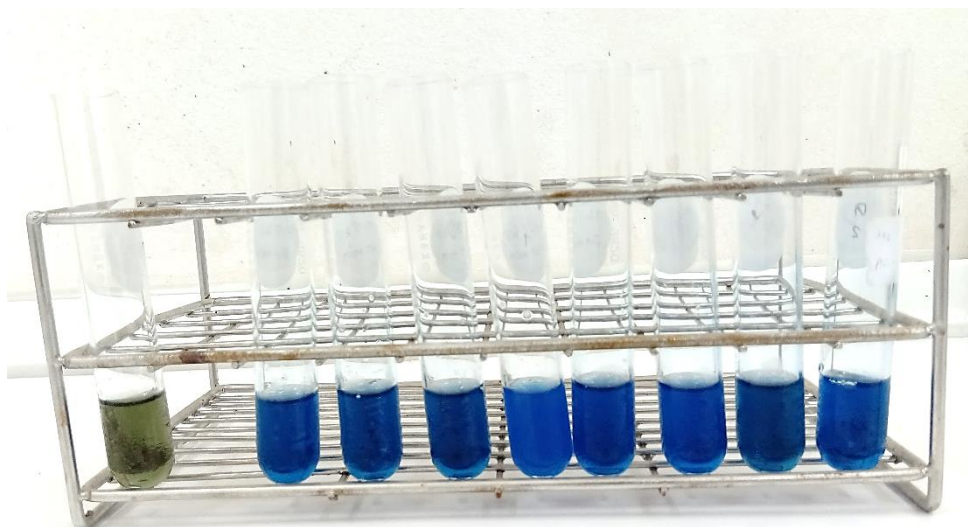
(1)

(2)

(3)

ภาพผนวกที่ 6 ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี

- โดยที่
- (1) ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน
 - (2) ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบสุญญากาศ
 - (3) ผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย



ภาพผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน



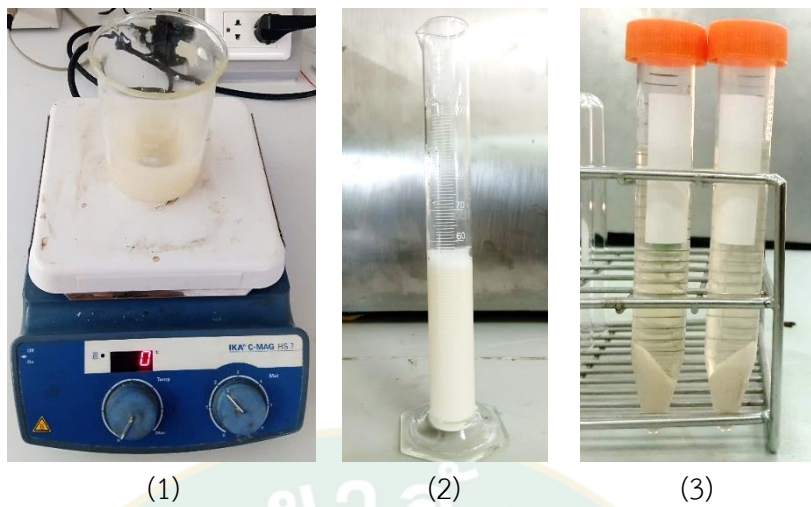
ภาพผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาค



ภาพผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น



ภาพผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ค่า a_w



ภาพผนวกที่ 11 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีน

- โดยที่
- (1) การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย
 - (2) การวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง
 - (3) การวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ



ภาพผนวกที่ 12 การวัดพลังงานไฟฟ้าเพื่อนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์พลังงานจำเพาะ



ภาคผนวก ข

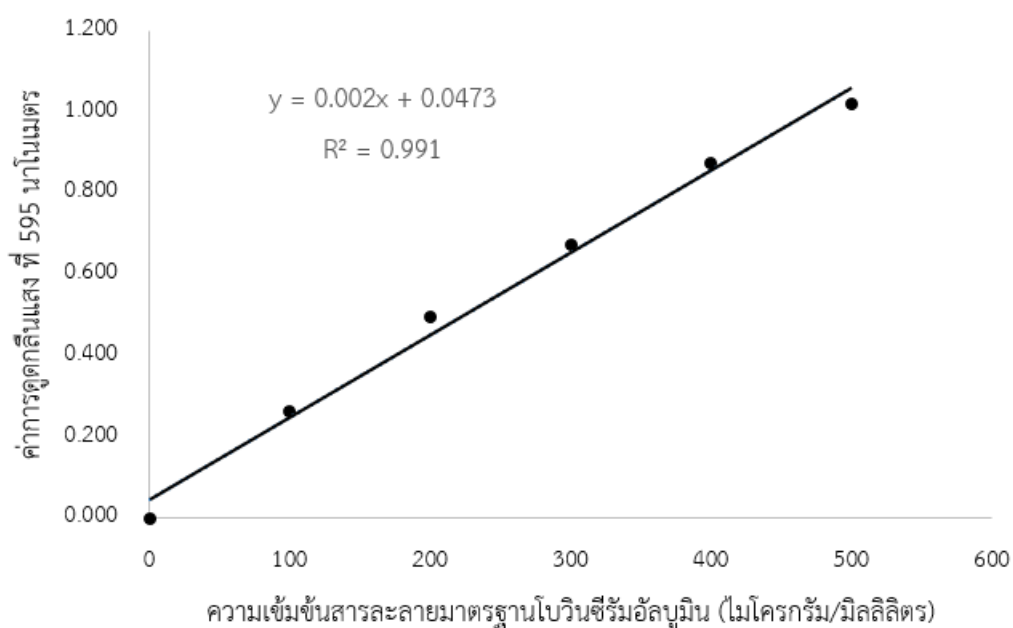
กราฟมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA)

ตารางผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโบรินซีรัมอัลบูมิน (BSA)

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานโบรินซีรัมอัลบูมิน ($\mu\text{g/ml}$)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน โบรินซีรัมอัลบูมิน ความเข้มข้น 10 mg/ml	น้ำกลั่น (μl)
100	5	495
200	10	490
400	20	480
600	30	470
900	45	455
1,200	60	440
1,500	75	425

ตารางผนวกที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโบรินซีรัมอัลบูมิน (BSA)

ความเข้มข้นสารละลายโบรินซีรัมอัลบูมิน ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร)
0	0.004
100	0.265
200	0.496
300	0.672
400	0.872
500	1.019



ภาพผนวกที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน

การคำนวณปริมาณโปรตีนของสารตัวอย่าง

สมการของกราฟมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน คือ

$$y = 0.002x + 0.0473 \quad (11)$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

x = ปริมาณโปรตีน ($\mu\text{g/ml}$)

สารตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลือง ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ 0.651 ทำ Dilution 2 เท่า

ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเท่ากับ 1.302

$$y = 0.002x + 0.0473$$

$$0.651 = 0.002x + 0.0473$$

$$x = \frac{(1.302 - 0.0473)}{0.002} \times 2$$

$$x = 603.7 \mu\text{g/ml}$$

การคำนวณปริมาณโปรตีนของสารตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง)

สารสกัดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มีโปรตีน 603.7 $\mu\text{g/ml}$

สารสกัดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มีโปรตีน 0.604 mg/ml

จากการวิเคราะห์ นำผงตัวอย่าง 0.458 กรัม น้ำหนักแห้ง มาผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และวัดการดูดกลืนแสงได้ปริมาณโปรตีน 0.604 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น	ผงตัวอย่าง	0.458 g	มีปริมาณโปรตีน	0.604 mg/ml
	ละลายกับน้ำกลั่น	50 ml	จึงมีปริมาณโปรตีน	$\frac{50 \text{ ml} \times 0.604 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}}{0.458 \text{ g}}$
				= 65.93 mg/g _{dry sample}





ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

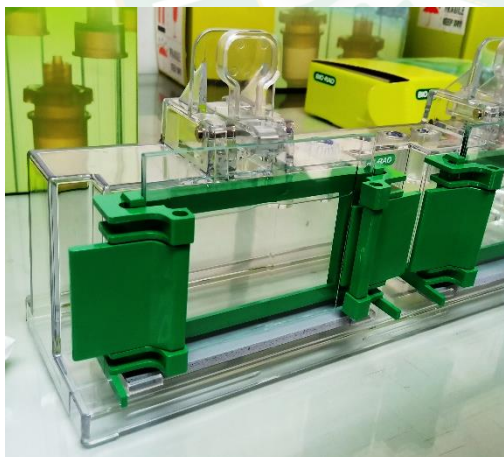
การเตรียมชุดอุปกรณ์และเตรียมเจลสำหรับการทำ SDS-PAGE

การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนจะใช้ชุดอุปกรณ์ SDS-PAGE apparatus



ภาพผนวกที่ 14 ชุดอุปกรณ์สำหรับการทำ SDS-PAGE

นำกระจกของชุดอุปกรณ์สำหรับ Electrophoresis มาเช็ดทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70 แล้วประกบกระจกสองแผ่นเข้าด้วยกันประกอบเข้ากับตัวยึด หลังจากนั้นเตรียมส่วน Separating gel ที่มี Acrylamide เข้มข้นร้อยละ 12 ผสมให้เข้ากัน



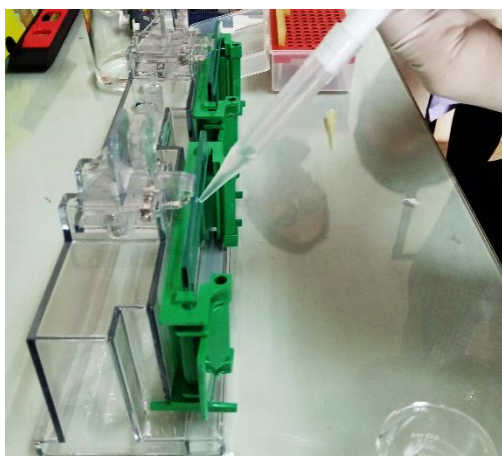
การประกอบกระจกเข้ากับตัวยึด



การเตรียมส่วน Separating gel

ภาพผนวกที่ 15 การเตรียมชุดอุปกรณ์และเตรียมเจลสำหรับการทำ SDS-PAGE

จากนั้นนำสารละลายเจลที่เตรียมได้ไปเปิดลงในช่องว่างระหว่างกระจก โดยเทให้ส่วนผสมสูง 4/5 ของความสูงแผ่นกระจก แล้วเททับด้วยน้ำ Deionized จนถึงขอบบนของแผ่นกระจก รอให้เจลแข็งตัวจะสังเกตเห็นรอยต่อระหว่างเนื้อเจลกับน้ำ Deionized ที่เททับไว้ จึงรินน้ำส่วนบนทิ้ง ชับน้ำส่วนที่เหลือให้แห้ง



การเปิดสารละลายลงชุดอุปกรณ์



เททับด้วยน้ำ Deionized

ภาพผนวกที่ 16 การเซตเจลชั้น Separating gel

เตรียมส่วน Stacking gel ความเข้มข้นร้อยละ 5 ผสมให้เข้ากัน แล้วกรอกลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกทับส่วน Separating gel ที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ใส่ Comb ลงไปในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกโดยแทรกเข้าไปในส่วนของ Stacking gel ทันทีก่อนที่เจลจะแข็งตัว ทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัว



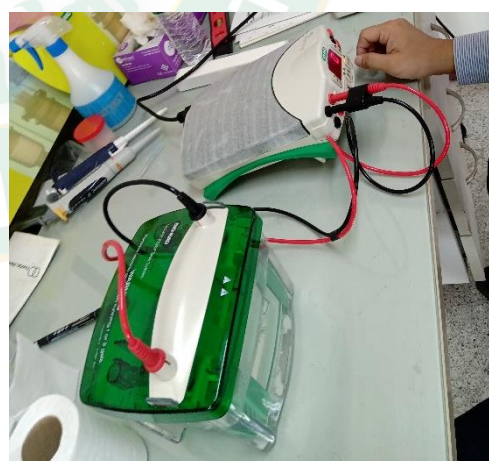
ภาพผนวกที่ 17 การเซตเจลชั้น Stacking gel

นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ Sample buffer ปริมาณ 1 มิลลิลิตร นำไปต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือด 1 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างโปรตีน เสียสภาพ แล้วนำไปแช่น้ำแข็ง ก่อนจะนำไปทดสอบ



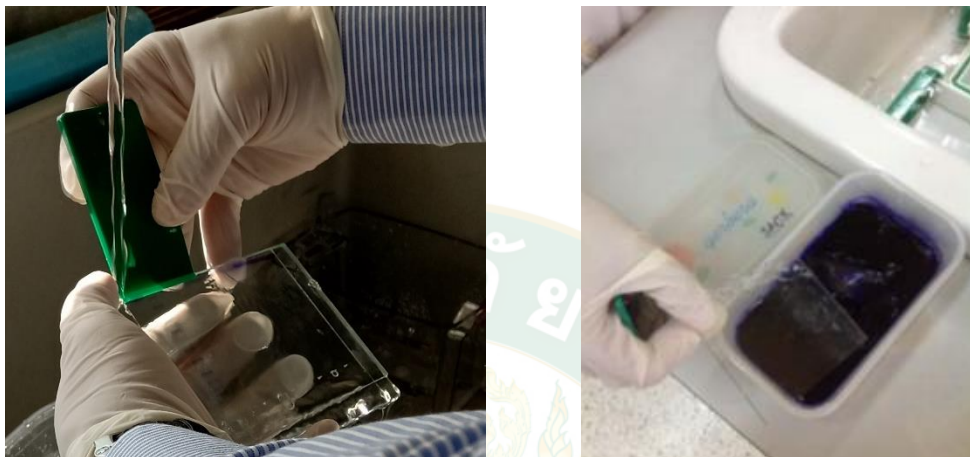
ภาพผนวกที่ 18 การต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดเพื่อให้โปรตีนเสียสภาพ

นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองที่เตรียมไว้ปริมาณ 18 ไมโครลิตร มาหยอดลงใน แต่ละช่องของเจล และประกอบเข้ากับชุดอุปกรณ์สำหรับการรันเจล เปิดสวิตซ์ให้เครื่องทำงาน ปรับค่าความต่างศักย์เป็น 30 มิลลิแอมป์



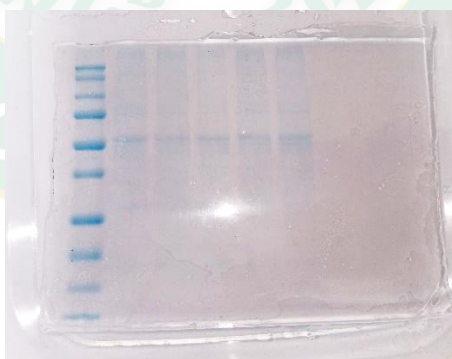
ภาพผนวกที่ 19 การหยอดตัวอย่างโปรตีนและประกอบเข้าชุดอุปกรณ์รันเจล

เมื่อตัวอย่างเคลื่อนที่มาถึงขอบล่างของแผ่นกระดาษ (ใช้เวลาประมาณ 60 นาที) ปิดสวิตช์ ถอด Power supply ออกและยกแผ่นกระดาษออก ทำการแกะแผ่นกระดาษที่ประกบอยู่ อย่างระมัดระวัง และนำมาข้อมด้วยสี Bromophenol blue นาน 1 คืน



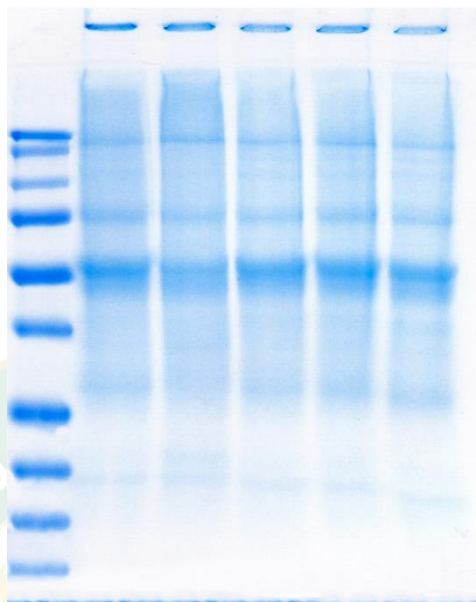
ภาพผนวกที่ 20 การแกะแผ่นกระดาษและข้อมด้วยสี Bromophenol blue

เขย่าแผ่นเจลในน้ำยา De-stained buffer และล้างสีข้อมออกจากแผ่นเจลด้วยบัฟเฟอร์ ดังกล่าว จนกว่าจะปรากฏแถบโปรตีนโดยส่วนอื่นๆของแผ่นเจลจะใส



ภาพผนวกที่ 21 การเขย่าเจลและล้างสีข้อมออกจากแผ่นเจล

ทำการบันทึกภาพแผ่นเจลด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล เพื่อนำไปศึกษาารูปแบบโปรตีนที่ได้



ภาพผนวกที่ 22 ตัวอย่างแผ่นเจลที่ได้จากการวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE



ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ความเสี่ยงพลังงานจำเพาะในการสกัด

การคำนวณกำลังมอเตอร์ไฟฟ้าของเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งพื้น หัวปั่นเหวี่ยง รุ่น SLA-1000

สมการจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพลังงานไฟฟ้าและความเร็วรอบของมอเตอร์ไฟฟ้า (Al-Mofleh et al., 2008) คือ

$$P_2 = P_1 \times \left(\frac{rpm_2}{rpm_1} \right)^3 \quad (12)$$

เมื่อ P_1 = กำลังมอเตอร์ไฟฟ้าสูงสุด (1.86 kW)
 P_2 = กำลังมอเตอร์ไฟฟ้าที่ใช้จริง (kW)
 rpm_1 = ความเร็วรอบสูงสุด (16,500 rpm)
 rpm_2 = ความเร็วรอบที่ใช้จริง (6,000 rpm)

ที่มา: Sorvall Products (2014)

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad P_2 &= 1.86 \text{ kW} \times \left(\frac{6,000 \text{ rpm}}{16,500 \text{ rpm}} \right)^3 \\ &= 0.089 \text{ kW} \end{aligned}$$

กำลังมอเตอร์ไฟฟ้าที่ใช้จริงมีค่าเท่ากับ 0.089 kW

การคำนวณพลังงานไฟฟ้าของเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งพื้น

พลังงานไฟฟ้า = กำลังมอเตอร์ไฟฟ้า 0.089 kW x เวลาปั่นเหวี่ยงรวม 0.583 h (35 min)
 = 0.052 kWh

การคำนวณพลังงานไฟฟ้ารวม

พลังงานไฟฟ้าของเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งพื้น 0.052 kWh (ได้จากการคำนวณ)
 พลังงานไฟฟ้าของเครื่องวัด pH 0.001 kWh (ได้จากเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า)
 พลังงานไฟฟ้าของเครื่องกวนสารละลาย 0.034 kWh (ได้จากเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า)
 พลังงานไฟฟ้ารวม = 0.052+0.001+0.034 = 0.087 kWh

การคำนวณความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 10 ตามวิธีการของ Polikovskiy et al. (2016)

$$E_p = \frac{E_t}{C_p \cdot m_{PEF}} \quad (10)$$

เมื่อ E_p คือ พลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีน (kWh/kg)
 E_t คือ พลังงานทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัด (0.087 kWh)
 C_p คือ ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลาย (0.647 mg/ml)
 m_{PEF} คือ ปริมาณของสารละลาย (400 ml)

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น } E_p &= \frac{0.087 \text{ kWh}}{0.647 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 400 \text{ ml}} \\ &= 0.00033617 \frac{\text{kWh}}{\text{mg}} \times 1,000,000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \\ &= 336.17 \frac{\text{kWh}}{\text{kg}} \end{aligned}$$

ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีน 1 กิโลกรัม คือ 336.17 kWh/kg



ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2012, 925.10)

1. อุปกรณ์

- 1.1 ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
- 1.2 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 1.3 ถ้วยอะลูมิเนียม (Aluminium can) สำหรับหาความชื้น
- 1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. วิธีการวิเคราะห์

2.1 อบอุ่นสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2.2 ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

2.3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง

2.4 นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น จนอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมทั้งตัวอย่าง จากนั้นกลับไปเข้าตู้อบและอบซ้ำ จนได้ผลต่างจากน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

2.5 ปริมาณความชื้นสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 13

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(a-b) \times 100}{a} \quad (13)$$

โดยที่ a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

b = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 2012, 991.20)

1. อุปกรณ์

- 1.1 ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.2 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- 1.3 ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 1.4 บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
- 1.5 ชุดย่อยโปรตีน ประกอบด้วย เตาย่อย (Heater) และเครื่องจับไอกรด (Scrubber)
- 1.6 ชุดกลั่นโปรตีน Kjeltech system distilling unit

2. สารเคมี

- 2.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
- 2.2 สารเร่งปฏิกิริยา ซึ่งเป็นสารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_2) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 1:10
- 2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 (โดยน้ำหนัก)
- 2.4 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนัก)
- 2.5 สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (โดยน้ำหนัก) เตรียมโดยตวงกรดเกลือเข้มข้นปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ เติมน้ำกลั่นลงไปจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ได้เป็นสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จากนั้นหาความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายกรดเกลือ โดยชั่งโซเดียมเทตราโบเรต (Borax: $\text{Na}_2\text{B}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.4 กรัม (สำหรับความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล) ใส่ลงในฟลาสก์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วไตเตรตกับสารละลายกรดเกลือที่ต้องการหาความเข้มข้นมาตรฐาน สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงที่จุดยุติ คำนวณความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายกรดเกลือที่ได้จากสมการที่ 14

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายเกลือ (นอร์มอล)} = \frac{\text{น้ำหนักของโซเดียมเทตราโบเรต (กรัม)}}{\text{ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรต (มล.)} \times 0.1907} \quad (14)$$

(กรัมสมมูลของโซเดียมเทตราโบเรต = 190.72)

2.6 อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมทิลเรด เมทิลีนบลู และโบรโมครีซอลกรีน

2.6.1 ชั่งเมทิลเรด 0.125 กรัม และเมทิลีนบลู 0.082 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.6.2 ชั่งโบรโมครีซอลกรีน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2.6.3 ผสมสารละลายจากข้อ 2.6.1 และ 2.6.2 ในอัตราส่วน 5:1

3. วิธีการวิเคราะห์

3.1 ขั้นตอนการย่อย

3.1.1 ชั่งน้ำหนัก (ของแข็ง) ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5-1.0 กรัม (ตัวอย่างของเหลวใช้ปริมาตร 1-10 มิลลิลิตร) ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน ทำ blank โดยใช้ น้ำกลั่นแทนที่ตัวอย่าง

3.1.2 เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม

3.1.3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3.1.4 วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบ ขวดใส่ต่างที่มีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 500-600 มิลลิลิตร และเครื่องจับไอกรดให้เรียบร้อย

3.1.5 เปิดเครื่องจับไอกรดและเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิที่ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ย่อยจนได้สารละลายใส ปล่อยให้ทิ้งไว้ให้เย็นลง

3.2 ขั้นตอนการกลั่น

3.2.1 เปิดสวิตช์ชุดกลั่นโปรตีนและน้ำหล่อเย็น

3.2.2 กลั่นล้างเครื่องด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

3.2.3 นำขวดย่อยโปรตีนต่อเข้ากับชุดกลั่นโปรตีน เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3.2.4 นำขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีการเติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์ไปรองรับของเหลวที่กลั่นออกมา โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลาย

3.2.5 กลั่นโดยใช้เวลาประมาณ 4 นาที

3.2.6 ไตรเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้นร้อยละ 1 สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

3.2.7 ปริมาณไนโตรเจนและโปรตีนสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 15 และ 16

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(a-b) \times N \times 1.4007}{W} \quad (15)$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(a-b) \times N \times 1.4007 \times F}{W} \quad (16)$$

- โดยที่ a = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
 b = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
 N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มอล)
 W = น้ำหนักของตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)
 F = แฟกเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณโปรตีนสำหรับอาหารชนิดต่างๆ

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า โดยวิธี Direct method (AOAC, 2012, 923.03)

1. อุปกรณ์

- 1.1 เตาเผา (Muffle furnace)
- 1.2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)
- 1.3 เตาไฟฟ้า (Hot plate)
- 1.4 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. วิธีการวิเคราะห์

2.1 เมาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทช์เตาเผา รอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิในเตาเผาตกลง แล้วจึงนำถ้วยกระเบื้องเคลือบออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง จึงทำการชั่งน้ำหนัก

2.2 เมาถ้วยกระเบื้องเคลือบอีกครั้งเป็นเวลา 30 นาที และทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

2.3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วนำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1 และ 2.2

2.4 ปริมาณเถ้าสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 17

$$\frac{\text{ปริมาณเอ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)}}{=} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)}} \quad (17)$$

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน โดยวิธี Solvent extraction (AOAC, 2012, 945.18)

1. อุปกรณ์

- 1.1 อุปกรณ์ชุดสกัดไขมันประกอบด้วยขวดกลมสำหรับใส่สารตัวทำละลาย ได้แก่ ซอคเลต (Soxlet) อุปกรณ์ควบแน่น (Condenser) และเตาให้ความร้อน (Heating mantle)
- 1.2 หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
- 1.3 ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
- 1.4 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.6 สำลี

2. สารเคมี

- 2.1 ปีโตรเลียมอีเทอร์

3. วิธีการวิเคราะห์

- 3.1 ออบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ขนาด 250 มิลลิลิตร ในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักชั่งจนได้น้ำหนักที่คงที่
- 3.2 ชั่งตัวอย่างบนกระดาษรองที่ทราบน้ำหนัก ถ้าตัวอย่างที่ใช้เป็นอาหารที่มีไขมันมากใช้ 1-2 กรัม ถ้าเป็นชนิดที่มีไขมันน้อยใช้ 3-5 กรัม ห่อให้มีดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับตัวอย่าง
- 3.3 นำหลอดใส่ตัวอย่างลงในซอคเลต
- 3.4 เติมสารตัวทำละลายปีโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน
- 3.5 ประกอบเข้ากับชุดสกัดไขมันพร้อมกับเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิตช์ให้ความร้อน
- 3.6 ใช้เวลาในการสกัดไขมันประมาณ 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
- 3.7 เมื่อสกัดจนครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจากซอคเลตลงในขวดกลมจนหมด

3.8 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3.9 นำขวดกลมไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักซ้ำจนได้น้ำหนักที่คงที่

3.10 ปริมาณไขมันสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 18

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (18)$$

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย โดยวิธี Solvent extraction (AOAC, 2012, 978.10)

1. อุปกรณ์

- 1.1 เตาเผา (Muffle furnace)
- 1.2 เตาไฟฟ้า (Hot plate)
- 1.3 ปีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร
- 1.4 ขวดแก้วกลมขนาด 500 มิลลิลิตร
- 1.5 กรวยบุชเนอร์
- 1.6 กระจกทรงเบอร์ 541
- 1.7 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 1.8 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. สารเคมี

2.1 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.255 โมลาร์) เตรียมโดยตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 14.17 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นแล้วถ่ายใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร พร้อมปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.313 โมลาร์) เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 12.375 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วถ่ายใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร พร้อมปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

3. วิธีการวิเคราะห์

- 3.1 ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมัน 1 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร
- 3.2 ตวงสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 จำนวน 200 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวง ใส่บีกเกอร์ที่มีตัวอย่างอยู่ นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดแก้วกลมขนาด 500 มิลลิลิตร บรรจุน้ำกลั่น เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที
- 3.3 กรองด้วยกรวยบุชเนอร์ที่มีกระดาษกรอง (ที่ผ่านการอบให้แห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน) โดยใช้แรงสุญญากาศผ่านขวดแก้วสำหรับกรองดูด
- 3.4 ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำร้อน แล้วเทลงในกรวยบุชเนอร์
- 3.5 ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด แล้วเทกากกลับใส่ในบีกเกอร์ใบเดิม
- 3.6 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 จำนวน 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดแก้วกลมขนาด 500 มิลลิลิตร บรรจุน้ำกลั่น เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที
- 3.7 กรองด้วยกรวยบุชเนอร์ที่มีกระดาษกรอง (ที่ผ่านการอบให้แห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน) โดยใช้แรงสุญญากาศผ่านขวดแก้วสำหรับกรองดูด
- 3.8 ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำร้อน แล้วเทลงในกรวยบุชเนอร์
- 3.9 ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนจนหมดต่าง แล้วเทกากกลับใส่ในบีกเกอร์ใบเดิม
- 3.10 นำกากล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 15-20 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง
- 3.11 นำกากวางลงบนกระดาษกรอง ซึ่งผ่านการอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส และชั่งน้ำหนักจนทราบน้ำหนักที่แน่นอน
- 3.12 นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่
- 3.13 จากนั้นนำกากไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วทำการชั่งน้ำหนักที่ได้
- 3.14 ปริมาณเยื่อใยสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 19

$$\text{ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักเยื่อใยหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (19)$$

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดย By difference (AOAC, 2012)

1. วิธีการคำนวณ

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 20

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} &= 100 - (\text{ร้อยละของความชื้น} + \text{ร้อยละของโปรตีน} + \\ &(\text{ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง}) \quad \text{ร้อยละของไขมัน} + \text{ร้อยละของเถ้า} + \text{ร้อยละของเยื่อใย}) \end{aligned} \quad (20)$$





ภาคผนวก จ

บทความวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่





FSB-08	Production and Characterization of Bio-Calcium from Hybrid Catfish (<i>Pangasianodon gigas</i>×<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) Bone <i>Niwet J. et al.</i>	173
LEM-01	Application of Geographic Information System for Temporary Disaster Evacuation Center and Analysis of survival bag distribution <i>Patanapong Pongtanee and Takuro Inohae</i>	181
MEE-01	Design and Build of a Gasohol Turbo Jet Engine from a Used Turbocharger <i>Pongpisit Suwunnasopha et al.</i>	187
MEE-02	Effective thermal conductivity of sintered wick of miniature heat pipes: influences of internal evaporation and condensation <i>Nampon Sangpab et al.</i>	194
MEE-03	Mathematical Model of Sintered-Grooved Wick Heat Pipe with Multiple Heat Sources <i>Wanchai Pileug et al.</i>	201
MEE-04	Modified Single-lap-Joint Testing for Adhesive Test of Reproduced Kriab Mirrors <i>Thawatchai Ounjaijom et al.</i>	207
MEE-05	Thermal Performance of multi-heat source and multi-heat sink Closed-Loop Pulsating Heat Pipe Fins <i>Pichakorn Kaewown et al.</i>	213
MEE-06	Variation temperature of Rotating Closed-Loop Pulsating Heat Pipes <i>Chinphat Patanathabutr et al.</i>	221
MEE-07	Experimental Study of the Performance of an Evacuated Glass Tube Solar Collector with Closed-loop Pulsating Heat Pipe <i>Methida Siritan et al.</i>	227
MEE-08	Effect of Pitch on Porosity of Twisted Fiber Bundle Wick in Mixing Two Size of Fiber's diameter <i>Jetsadaporn Simsiriwong et al.</i>	233
MEE-09	Maximum Heat Flux and Normal Operating Range of Closed-Loop Pulsating Heat Pipe with Water-Ethanol-Blended Working Fluid <i>Niti Kammuang-Lue et al.</i>	240
MEE-10	Improvement on the Design and Testing of Vibratory Mill <i>Surapin Promdan and Pracha Yeunyongkul</i>	247
MEE-11	Photovoltaic Efficiency Improvement Method by Water Mist Cooling <i>Kanchit Rongchai et al.</i>	253
MEE-12	The Unbalanced Helical Antenna with Circular Polarization for a Handheld UHF RFID Reader <i>Kittima Lertsakwimarn and Chuwong Phongcharoenpanich</i>	260
MEE-13	Application of Pulsed Electric Field for Extraction of Soy Protein <i>Kanyawee Kanthamoon et al.</i>	264

Application of Pulsed Electric Field for Extraction of Soy Protein

Kanyawee Kanthamoon¹, Jaturapatr Varith¹, Kanjana Narkprasom¹
and Yardfon Tanongkankit^{1*}

¹ Faculty of Engineering and Agro-industry, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

*Corresponding Author: E-mail: yardfon@hotmail.com, +66-9-1698-9993

Abstract

Pulse electric field (PEF) technique is introduced to soy protein extraction for enhancing extraction efficiency. The aims of this research were to determine the effects of different PEF voltages of 10.5, 11.5 and 12.5 kV on protein content, solubility, foaming properties and water holding capacity of soy protein. Comparison of protein yield and properties extracted by PEF and conventional methods was also investigated. The results showed the during PEF extraction protein content first increased and reached the highest values, then gradually decreased for all voltages. The increase in PEF voltage raised the protein content, solubility, foaming capacity and foaming stability whereas lowered water holding capacity of the soy protein extract. It was also found that the PEF extraction condition at the voltage of 12.5 kV for 60 min was suggested since it exhibited the highest value of the protein content, water solubility index, foaming capacity and foaming stability of 37.68±1.26%, 65±1.04 mg/g_{dry sample}, 12.42±1.13% and 1.05±0.01%, respectively. Furthermore, it was observed that PEF extraction exhibited higher protein content, solubility, foaming capacity and foaming stability than that by conventional method with shorter processing time.

Keywords: Extraction; Functional properties; Soy protein; Pulsed Electric Field

1. Introduction

Plant-based protein is an alternative protein for vegan and people who suffer from lactose tolerance because it is inexpensive, contains no lactose and possesses good functional properties. Soybeans are one of important raw materials for plant-based protein products as they are a good source of protein especially essential amino acid, lactose-free material and available in market [1]. Protein extraction from soybeans is typically performed by chemical solvent extraction method. The extraction procedure includes grinding soybeans with water, following by adding alkali and acid solution for dissolving and precipitating protein. Although this method is simple and requires low operation cost, it takes a long processing time and use chemical solution that may not

be safe for environment and consumers. Therefore, finding a new technique to improve extraction efficiency and be environmental friendly is a challenge.

Pulsed electric field (PEF) is a non-thermal technique involving application of high-voltage pulses with a very short period to food placed between two electrodes. This generates a potential difference between the electrodes inducing the pore formation on plant cells and subsequently facilitating the leaching out of substances into the solvent. Many previous works revealed that PEF has a potential for extraction of phytonutrients. For example, Kantar et al. [2] stated that PEF treatment on orange peels at electric field strength of 10 kV/cm increased the extraction yield of polyphenols up to 22 mg GAE/g DM. Redondo et al. [3] also reported that

PEF-assisted extraction of bioactive compounds from thinned peach fruits using water as a solvent had better extraction efficiency than conventional extraction methods which required dried products, large amounts of organic solvents and long extraction times.

Despite several studies on the applications of the PEF for extracting various compounds, the information of PEF extraction from soybean is still limited. Moreover, the content and properties of protein extracted by PEF depends on different factors such as voltages, number and duration of electric pulses [4]. Thus, the effects of different PEF voltages of 10.5, 11.5 and 12.5 kV on protein content, solubility, foaming properties and water holding capacity of soy protein was determined. Comparison of protein yield and properties extracted by PEF and conventional methods was also investigated.

2. Material and methods

2.1 Sample preparation

Soybeans obtained from a local market were soaked for 6 hours and then placed on a screen to get rid out of excess water before blending with distilled water at a ratio of 1:10 w/v until smooth.

2.2 Conventional extraction

The conventional extraction of protein was performed using an acid and alkaline solution method [5]

Briefly, the pH value of the prepared sample was adjusted to 9 with 1 N NaOH and stirred at room temperature using a magnetic stirrer (C-MAG HS 7, IKA, Germany) for 2 h before centrifugation at 3,500xg for 15 min. The supernatant was then collected and its pH value was adjusted to 4.5 with 1 N HCl. The solution was centrifuged at 3,500xg for 20 min. After that, the sediment was kept and neutralized with 1 N NaOH before hot air drying.

2.3 Pulsed Electric Field (PEF) extraction

The PEF treatment used in this study was shown in Fig. 1. A 550 ml treatment chamber consists of two stainless steel electrodes placed in parallel with gap between electrodes of 3 cm. The treatment chamber was connected to the voltage transformer that converts the primary voltage from power supply to desire voltages and a frequency of 3 kHz. For PEF extraction, the prepared sample of 500 ml was load into the treatment chamber at different voltages of 10.5, 11.5 and 12.5 V. At each time interval of PEF extraction, the sample was collected to determine protein content and temperature of suspension using a digital thermometer type K. The protein content obtained were used for selection an optimal extraction time at each different PEF voltages before hot air drying.

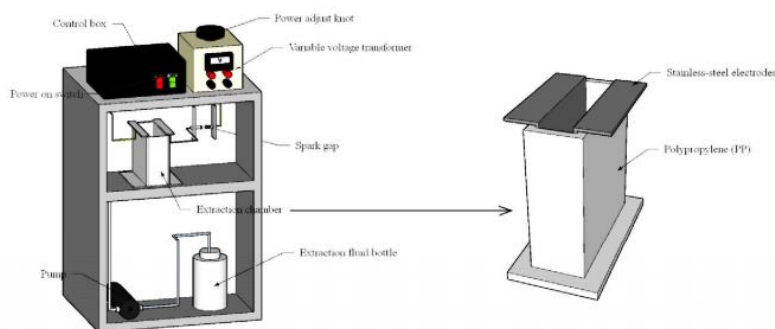


Fig. 1 Pulsed electric field apparatus

2.4 Determination of protein content

The protein content was performed using the Bradford assay method described by Bradford. [6]. One g of the dried soy protein was blended with 100 ml of distilled water for 60 min using a magnetic stirrer (C-MAG HS 7, IKA, Germany). The suspension was centrifuged at 4,000 rpm for 20 min (PLC-012E, Gemmy, Taiwan) and the supernatant was then collected. After that, 180 μ l of the supernatant was placed in a test tube and mixed with 2,820 μ l of Bradford reagent. The mixture was left at room temperature for 30 min before measurement of its absorbance with a spectrophotometer at 595 nm against a water blank. Protein content was calculated by the standard curve of BSA standard protein and the results were expressed in mg/g dry sample.

2.5 Hot air drying

The extracted solution was poured into a stainless-steel tray with size of 20x30x6 cm and then was dried using a hot air dryer (FD 115, Binder, Germany) at 65 °C for 6 h to reach the final moisture content less than 10% d.b. The dried sample was kept for determination of protein content and properties.

2.6 Water solubility index (WSI)

The WSI was determined using the method described by Yousf et al. [7] with some modifications. One g of the dried soy protein was suspended in 100 ml of distilled water using a magnetic stirrer for 60 min and then centrifuged at 4,000 rpm for 20 min. The supernatant was poured into a moisture can and dried using a hot air dryer (FD 115, Binder, Germany) at 105 °C for 24 hours. After the drying, the dissolved solid was weighed and WSI was calculated using Eq. (1)

$$\%WSI = \frac{W_i}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

where W_i is weight of dissolved solid in supernatant (g), W_d weight of dry sample (g)

2.7 Water holding capacity (WHC)

The water holding capacity was determined according to the earlier study of Naowakul et al. [8]. One g of the dried sample was mixed with 20 ml of distilled water in a test tube and left at room

temperature for 20 min. The mixture solution was then centrifuged at 3,000 rpm for 30 min. The supernatant was discarded and the sediment weight was measured. Water holding capacity was calculated by following Eq. (2)

$$WHC = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (2)$$

where W_s is weight of sediment after centrifugation (g), W_d is weight of dry sample (g)

2.8 Foaming properties

One g of the dried sample was blended with 100 ml of distilled water using a magnetic stirrer at the highest speed 5 min. The mixture solution was slowly poured into a 250 ml cylinder. Foaming capacity (FC) was expressed as a percentage of the increased volume of each sample and calculated as follows Eq. (3) according to the method of Chareemuy et al. [9].

$$\%FC = \frac{V_g}{V_1} \times 100 \quad (3)$$

where V_g is the total volume after blending (ml), V_1 is the mixture solution volume prior to blending (ml)

Foaming Stability (FS) was the volume measured after leaving the samples at room temperature for 2 h which was then expressed as a percentage ratio of the initial volume and calculated as follows Eq. (4) according to the method of Chareemuy et al. [9].

$$\%FS = \frac{V_2}{V_1} \times 100 \quad (4)$$

where V_2 is the total volume after 30 min (ml)

2.9 Statistical Analysis

All experiments were carried out in triplicate. Mean values along with standard deviations were reported. The data were analyzed by the Duncan test. The significance level was defined as $p < 0.05$. The computer software used in this study were SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA).

3. Results and discussion

3.1 Effect of PEF voltages on protein content

Protein contents and temperature of the suspension after PEF extraction at different voltages are illustrated in Fig. 2. It was observed that an increase in the protein content when longer extraction time before reaching the highest value occurred at extraction time of 120, 90 and 60 min for 10.5, 11.5 and 12.5 kV, respectively. After that, further increase in extraction time gave no significant protein content. This is possibly due to the fact that when application of electric field to the suspension resulting the difference potential across plant cell induced formation of pores inside the cell membrane, the leakage of protein from plant cell into the liquid medium occurred [10]. Therefore, the accumulation of protein content increased when extraction time was longer. However, the protein content was stable at the end of extraction period since no more protein could be released from plant cell.

The results also showed that the temperature of suspension increased with prolong extraction time. Higher voltages provided higher temperature of suspension. This might be due to ohmic heating effect that is a thermal process generated by the passage of electrical current through the extract system [11]. The highest temperature of suspension was up to 48, 52 and 60°C at voltages of 10.5, 11.5 and 12.5 kV, respectively. This indicates that there was no protein denaturation during PEF extraction

since protein denaturation temperature of soy beans is above 70°C [12].

Moreover, the results showed that the higher PEF voltage resulted in the shorter extraction time reaching the highest protein content. This is because higher voltage provides larger difference in electric potential between the interior and the exterior of plant cell that subsequently led to greater cell rupture. When higher cell destruction caused an increase in cell membrane permeability, more intracellular content released from food matrix into extracellular medium with shorter extraction time occurred [13]. Likewise, Goettel et al. [14] reported that PEF extraction of intercellular valuables from microalgae with a higher electric field strength (from 23 to 43 kV/cm) resulted in a higher degree of cell permeabilization leading to an increase in biomass concentration.

Based on the earlier results, the maximum protein contents and extraction times for reaching the maximum protein content at different PEF conditions were summarized in Table 1. The protein content and extraction time for conventional extraction method were also presented. It is evidenced that PEF extraction provided higher protein content with shorter extraction time. Since PEF caused the acceleration of mass exchange processes in food materials by damage of the cell membrane, the extraction efficiency of PEF was better than that of the convention extraction [3].

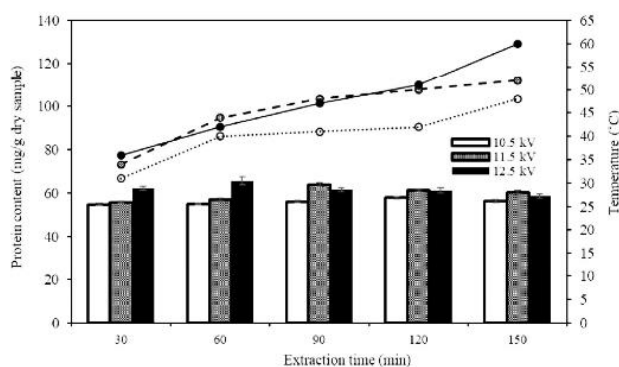


Fig. 2 Protein contents (bar) and temperature of suspension (line) after PEF extraction at different voltages and time

Table 1 The maximum protein contents and extraction times for reaching the maximum protein content using different PEF conditions and conventional extraction

Extraction method	Protein content (mg/g _{dry sample})	Extraction time (min)
Conventional	57.92±1.27 ^c	180
PEF 10.5 kV	61.81±1.18 ^{bc}	120
PEF 11.5 kV	63.66±0.98 ^{ab}	90
PEF 12.5 kV	65.63±1.04 ^a	60

Same letters in the same column indicate that the values are not significantly different ($p > 0.05$).

3.2 Functional properties of soy protein

The water solubility index, foaming properties and water holding capacity reflected the interaction between water and protein, which was related to conformational characteristics, amino acid composition, and hydrophilic and hydrophobic balance of protein [15]. Table 2 presented functional properties including WSI, FC, FS and WHC of protein extracted by PEF at different voltages and conventional method. It was obvious that protein extracted by PEF had higher WSI, FC and FS but lower WHC value than that by conventional method.

Previous study of Naowakul et al. [8] reported that conventional extraction method involving chemical substances resulted in losses of soluble dietary fiber causing lower WSI and higher WHC. The results also showed that increase in voltages provided higher WSI, FC and FS. Dehez et al. [16] reported that the membrane was permeabilized through the formation of conducting hydrophilic pores leading to increase in water solubility, foaming capacity and foaming stability. Thus, higher voltage causing more membrane permeability was applied, greater WSI, FC and FS were obtained.

4. Conclusions

In summary, PEF extraction at 12.5 kV for 60 min was recommended for protein extraction since it exhibited the higher protein content and better functional properties including water solubility index, foaming capacity and foaming stability but lower water holding capacity than PEF extraction at 10.5 kV and 11.5 kV and conventional extraction method.

5. Acknowledgments

The authors express their sincere appreciation to Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University for supporting the laboratory equipment.

6. References

- [1] Preece, K.E., Hooshyar, N. and Zuidam, N.J. (2017). Whole soybean protein extraction processes: A review, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Vol.43, pp. 163 - 172.
- [2] Kantar, S.E., Boussetta, N., Lebovka, N., Foucart, F., Rajha, H.N., Maroun, R.G., Louka, N. and Vorobiev, E. (2018). Pulsed electric field treatment of citrus fruits: Improvement of juice and polyphenols extraction, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Vol.46, pp. 153-161.

Table 2 Water solubility index (WSI), foaming properties (FC and FS) and water holding capacity (WHC) of protein extracted by PEF and conventional method

Extraction method	WSI (%)	WHC (g water/g dry sample)	FC (%)	FS (%)
Conventional	29.71±1.26 ^c	3.75±0.07 ^a	5.88±1.96 ^c	1.00±0.00 ^b
PEF 10.5 kV	32.61±2.17 ^{bc}	1.33±0.05 ^{ab}	7.84±1.96 ^{bc}	1.01±0.01 ^b
PEF 11.5 kV	34.78±2.17 ^{ab}	1.30±0.04 ^b	10.46±1.13 ^{ab}	1.04±0.02 ^a
PEF 12.5 kV	37.68±1.26 ^a	1.23±0.07 ^c	12.42±1.13 ^a	1.05±0.01 ^a

Same letters in the same column indicate that the values are not significantly different ($p > 0.05$).

- [3] Redondo, D., Venturini, M.E., Luengo, E., Rasod, J. and Arias, E. (2018). Pulsed electric fields as a green technology for the extraction of bioactive compounds from thinned peach by-products, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Vol.45, pp. 335 - 343.
- [4] Martinez, J.M., Delso, C., Álvarez, I. and Raso, J. (2019). Pulsed electric field permeabilization and extraction of phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*, *Algal Research*, Vol.37, pp. 51 - 56.
- [5] Liu, C., Wang, X., Ma, H., Zhang, Z., Gao, W. and Xiao, L. (2008). Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions, *Food Chemistry*, Vol.111, pp. 29 - 37.
- [6] Bradford Marion, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, *Analytical Biochemistry*, Vol.72, pp. 248 - 254.
- [7] Yousf, N., Nazir, F., Salim, R., Ahsan, H. and Sirwal, A. (2017). Water solubility index and water absorption index of extruded product from rice and carrot blend, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, Vol.6(6), pp. 2165 - 2168.
- [8] Naowakul, B., Wirjantoro, T.I. and Phianmongkhol, A. (2013). Effects of speed and time of wet milling on properties of dietary fiber powder from pomelo's albedo, *Food and Applied Bioscience Journal*, Vol.1, pp. 34 - 48.
- [9] Chareemuy, W., Tangduangdee, C. and Viriyarattanasak, C. (2018). Dehulling Effectiveness and Properties of Full-fat Soy Flour as Affected by Thermal Treatments, *Agricultural Science Journal*, Vol.48, pp. 96 - 112.
- [10] Gómez-Maqueo, A., García-Cayuela, T., Weltri-Chanes, J. and Pilar Cano, M. (2019). Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of prickly pear fruits by high hydrostatic pressure: A chemical and microstructural approach, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Vol.54, pp. 132 - 142.
- [11] Darvishi, H., Adel, H., Farzad, N., Mohammad, H.K. and Hosain, T. (2011). Ohmic Processing: Temperature Dependent Electrical Conductivities of Lemon Juice, *Modern Applied Science*, Vol.5, pp. 209 - 216.
- [12] Liu, Z.S., Chang, K.C., Li, L.T. and Tatsumi, E. (2004). Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties, *Food Research International*, Vol.37, pp. 815 - 822.
- [13] Vorobiev, E. and Lebovka, N.I. (2012). Enhancing Extraction Processes in the Food Industry, Taylor and Francis Group, Abingdon.
- [14] Goettel, M., Eing, C., Gusbeth, C., Straessner, R. and Frey, W. (2013). Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae, *Algal Research*, Vol.2, pp. 401 - 408.
- [15] Liu, Y., Ma, X.Y., Liu, L.N., Xie Y.P., Ke, Y.J., Cai, Z.J. and Wu, G.J. (2019). Ultrasonic-assisted extraction and functional properties of wampee seed protein, *Food Science and Technology*, Vol.39, pp. 324 - 331.
- [16] Dehez, F., Delemotte, L., Kramar, P., Miklavcic, D. and Tarek, M. (2014). Evidence of Conducting Hydrophobic Nanopores Across Membranes in Response to an Electric Field, *The Journal of Physical Chemistry C*, Vol.118, pp. 6752 - 6757.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

กัญญาวิทย์ คันทะมุล

เกิดเมื่อ

28 สิงหาคม 2538

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2561 ปริญญาตรี คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

พ.ศ. 2557 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสองแคววิทยาคม เชียงใหม่

