



ผลของวิธีการสกัดและทำแห้งต่อสมบัติของโปรตีนผงจากถั่วเหลือง

Effects of Extraction and Drying Methods on Properties of Protein Powder from Soybean

กัญญาวีร์ย์ คันทะมูล,ธีระพล เสนพันธ์, กาญจนา นาคประสม และ หยาดฝน ทนงการกิจ*

Kanyawee Kanthamoon, Theeraphol Senphan, Kanjana Narkprasom and Yardfon Tanongkankit*

คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University

Received : 6 July 2021

Revised : 26 November 2021

Accepted : 15 December 2021

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการผลิตผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง ต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ร้อยละผลผลิต สมบัติทางกายภาพได้แก่ ความชื้น ค่าสี ค่า a_w และขนาดอนุภาคของผงโปรตีน สมบัติเชิงหน้าที่ได้แก่ ความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง รวมทั้งแบบแผนของโปรตีนซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE โดยกระบวนการที่ใช้ในการศึกษามีขั้นตอนหลัก 2 ขั้นตอนคือ ในขั้นตอนแรกเป็นวิธีการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมซึ่งใช้สารเคมีและวิธีการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะเพื่อทำให้โปรตีนตกตะกอน และในขั้นตอนที่สองคือการทำแห้งด้วยการใช้ตู้อบลมร้อนและเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยผลการศึกษาพบว่า การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะเป็นเวลา 60 นาที ร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้ผงโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงสุด ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนมีความสม่ำเสมอและขนาดเล็กที่สุด และมีค่าสี ความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองที่ดีที่สุด โดยที่ความชื้นและค่า a_w เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อบแห้ง นอกจากนี้ผลของแบบแผนโปรตีนยังแสดงให้เห็นว่ามีโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) อยู่ในผงโปรตีนมากที่สุด

คำสำคัญ : การสกัด; การทำแห้ง; แบบแผนโปรตีน ; สมบัติเชิงหน้าที่; สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ



Abstract

Effects of processing methods for production of extracted protein powder from soybean on protein content, percentage of yield, physical properties which were moisture content, color, a_w , particle size and functional properties which were water solubility, foaming capacity and foaming stability and protein profile determined by SDS-PAGE technique were conducted in this study. The production process used in the study consisted of 2 main steps. The first step was extraction, which was performed by a traditional extraction method using chemical substance and a pulse electric field extraction (PEF) method for protein precipitation. The second step was drying, which was performed using hot air-drying oven and spray dryer. The results showed that the production process of PEF for 60 min following by spray drying led to 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, foaming capacity and foaming capacity. 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.

Keywords : extraction; drying; protein profile; functional properties; pulsed electric field

บทนำ

ในปัจจุบันมีการนำผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองซึ่งเป็นโปรตีนทางเลือกเพื่อทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์มาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มบำรุงสุขภาพมากขึ้น เนื่องจากมีราคาถูก ปริมาณโปรตีนสูงและมีการดออะมิโนที่จำเป็นอยู่ถึง 9 ชนิด (Nishianri *et al.*, 2014; Hudthagosol & Techavichian, 2020) นอกจากนี้ยังมีการใช้ประโยชน์จากผงโปรตีนสกัดเพื่อปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส รสชาติและคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น ขนมปัง (Jiamyangyuen *et al.*, 2005) แยม เส้นพาสต้า ไอศกรีมและคุกกี้ (Singh *et al.*, 2008) เนื่องจากโปรตีนมีสมบัติเชิงหน้าที่ (Functional properties) เช่น การเกิดเจล การช่วยให้เกิดอิมัลชัน และการเกิดฟอง ซึ่งจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารประเภท เบเกอรี่และมาร์ชเมลโล มีลักษณะปรากฏที่เบา ฟูนและมีรูพรุน และช่วยให้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีม โยเกิร์ตมีความคงตัวไม่แยกชั้น (Chindapan *et al.*, 2013) โดยสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดและโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งในถั่วเหลืองจะมีโปรตีนกลุ่มไกลบูลินที่เป็นชนิดไกลซินิน (11S) และ เบต้าคอนไกลซินิน (7S) อยู่สูง ซึ่งโปรตีนสองชนิดนี้มีความสามารถในการละลายในสารละลายได้ดี (Prajaban, 2018; Panyoyai, 2020)

กระบวนการผลิตผงโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองโดยทั่วไปจะมีขั้นตอนหลักอยู่ 2 ขั้นตอนคือ การสกัดโปรตีนและการทำแห้ง โดยในกระบวนการสกัดโปรตีนจะทำได้โดยการทำให้โปรตีนตกตะกอนด้วยการปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เท่ากับจุดไอโซอิเล็กทริกของกรดอะมิโนด้วยสารละลายกรด ซึ่งจะส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพและตกตะกอน เมื่อพิจารณากระบวนการสกัดโปรตีนด้วยวิธีนี้จะเห็นได้ว่าจะต้องมีการใช้สารเคมีซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหากเกิดการตกค้างในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังใช้เวลาการสกัดค่อนข้างนาน ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะเพื่อปรับปรุงกระบวนการสกัดโปรตีนแทนการใช้สารเคมีและช่วยลดเวลาในการสกัดลง ซึ่งการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะนี้เป็นเทคนิคการให้กระแสไฟฟ้าที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูงที่มีลักษณะเป็นจันทะ (Pulse) แก่อาหารเหลวหรือของแข็งที่มีน้ำเป็นตัวกลางโดยผ่านขั้วอิเล็กโทรดในช่วงเวลาสั้น จึงส่งผลให้เกิดรูพรุนบนเซลล์อาหารและทำให้โปรตีนถ่ายเทออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น เวลาที่ใช้สกัดจึงลดลง (Limsangouan, 2011) จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำเทคนิคการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะในการสกัดโปรตีนจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ซึ่งผลการทดลองพบว่าการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 30.5 kV/cm เป็นเวลา 40 นาทีส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นร้อยละ 25 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบเดิม (Goettel *et al.*, 2013) นอกจากนี้งานวิจัยของ Prabhu *et al.* (2019) พบว่า การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะช่วยในการสกัดโปรตีนจากสาหร่ายขนาดใหญ่ (Macroalgae) ที่ 1 kV/cm ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นถึง 4 เท่า ถึงแม้ว่างานวิจัยที่ผ่านมาจะมีการศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนอย่างแพร่หลาย แต่ผลการศึกษากการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนนั้นยังมีอยู่อย่างจำกัด

ในส่วนของกระบวนการทำแห้งโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนซึ่งมีต้นทุนในผลิตที่ค่อนข้างต่ำแต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถแห้งได้หากสภาพอากาศไม่เอื้ออำนวย และต้องใช้พื้นที่ในการทำแห้งมากและใช้เวลานาน (Toomthong & Sakkaew, 2016) และอีกวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจ คือ



การทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งเป็นวิธีการที่ทำโดยการพ่นอาหารเหลวให้เป็นละอองขนาดเล็กเข้าไปให้ห้องทำแห้งที่มีอากาศร้อน อุณหภูมิสูงไหลผ่าน จึงทำให้น้ำที่อยู่ในละอองของเหลวเกิดการระเหยอย่างรวดเร็วจนได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของผงแห้ง ซึ่งวิธีการนี้มีอัตราการผลิตสูงและสามารถผลิตเป็นแบบต่อเนื่องและใช้เวลาที่ใช้ในการทำแห้งสั้นมาก แต่วิธีนี้ต้องใช้อุณหภูมิ ในการทำแห้งที่สูงมาก (มากกว่า 100°C) ซึ่งอาจส่งผลให้ปริมาณโปรตีนและสมบัติกายภาพ เคมีและเชิงหน้าที่ของโปรตีน เปลี่ยนแปลงไป (Chantapun, 2006) ดังนั้นในการผลิตผงโปรตีนถั่วเหลืองเพื่อให้ได้ทั้งปริมาณและสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดีจำเป็น จะต้องศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการสกัด และวิธีการทำแห้ง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการสกัดด้วย สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะและวิธีการทำแห้งโปรตีนจากถั่วเหลืองต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ร้อยละของผลผลิต สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความชื้น ค่า a_w และค่าสี และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างถั่วเหลือง

นำถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 แบบเมล็ด ที่ผ่านการคัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดไม่ต่ำกว่า 4.8 มิลลิเมตร มาคัดแยกสิ่งแปลกปลอม เมล็ดเสียและเมล็ดแตกออก จากนั้นนำถั่วเหลืองมาล้างน้ำและแช่น้ำสะอาดในอัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำถั่วเหลืองพักไว้ให้สะเด็ดน้ำ และบั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร จนละเอียด

การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยวิธีดั้งเดิม

การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ดัดแปลงตามวิธีการของ Liu *et al.* (2008) นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 8 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล และกวนผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วย เครื่องหมุนเหวี่ยง (ยี่ห้อ Gemmy รุ่น PLC-012E) ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 4.5 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ซึ่งเป็น pH ที่จุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลือง ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำตะกอนที่ได้มาละลายน้ำและปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ก่อนนำไปทำแห้ง

การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ

การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ โดยนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ 500 มิลลิลิตร ใส่ลงในห้องสกัด และทำการสกัดโดยใช้ความเข้มสนามไฟฟ้าเท่ากับ 3.6 kV/cm ความถี่ 2 เฮิร์ตซ์ จากนั้นนำตัวอย่างสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดทุกเวลา 30 นาที มาวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบแท่งแก้วได้ปรอทก่อนกรองด้วย ฟ้าขาวบาง และเก็บส่วนสารละลายไปวิเคราะห์โปรตีนเพื่อหาเวลาที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสม หลังจากนั้นทำการสกัดโปรตีนตามเวลาที่เหมาะสมแล้วเก็บสารละลายโปรตีนไปทำแห้ง



การทำแห้ง

การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน โดยนำตัวอย่างสกัดโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้ 400 มิลลิลิตร เทลงบนภาตสแตนเลส ขนาด $20 \times 29 \times 6 \text{ cm}^3$ จากนั้นนำไปทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115) ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 240 นาที เพื่อให้ความชื้นสุดท้ายและค่า a_w ของตัวอย่างเหลือน้อยกว่าร้อยละ 10 ฐานแห้ง และ 0.6 ตามลำดับ (Vishwanathan *et al.*, 2011; Thai Industrial Standards Institute, 2015; Pakpot *et al.*, 2019) จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดด้วยที่บดสารเคมี และนำมาร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 40 และเก็บตัวอย่างไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การทำแห้งแบบพ่นฝอย ดัดแปลงตามวิธีการของ John *et al.* (2018) นำตัวอย่างสารละลายโปรตีนถั่วเหลือง ความเข้มข้น 4°Brix ไปทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (ยี่ห้อ Buchi รุ่น B-290) ที่อุณหภูมิความร้อนขาเข้า 180°C อัตราการป้อนตัวอย่าง 250 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง โดยทำแห้งโปรตีนถั่วเหลืองจนเหลือความชื้นสุดท้ายและค่า a_w ของตัวอย่างเหลือน้อยกว่าร้อยละ 10 ฐานแห้ง และ 0.6 ตามลำดับ (Thai Industrial Standards Institute, 2015) และเก็บตัวอย่างไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay ดัดแปลงตามวิธีการของ Bradford (1976) นำตัวอย่าง 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปกวนผสมเป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงนำไปหมუნเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยง (ยี่ห้อ Gemmy รุ่น PLC-012E) ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน จากนั้นเตรียม Reagent blank โดยใช้ น้ำกลั่นแทนตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วหรือสารละลายมาตรฐาน 180 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ที่มี Bradford reagent อยู่ 2,820 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่ควรเกิน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (ยี่ห้อ Thermo scientific รุ่น Genesys30) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร คำนวณปริมาณของโปรตีนจากกราฟมาตรฐานโปรตีน (BSA)

ร้อยละผลผลิต

ร้อยละผลผลิต คือ น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการสกัดและการทำแห้งแล้วมาเทียบกับน้ำหนักวัตถุดิบที่นำเข้ามาผลิต น้ำหนักผลผลิตสำหรับการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหหวะและวิธีดั้งเดิม สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 1

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = (\text{น้ำหนักผงโปรตีนถั่วเหลือง/น้ำหนักถั่วเหลือง}) \times 100 \quad (1)$$

การวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

นำตัวอย่างผงโปรตีนไปวิเคราะห์แบบแผนของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE ดัดแปลงตามวิธีการของ The Queen Sirikit Department of Sericulture (2013) นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับ SDS ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร นำไปต้มที่ 100°C เป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงนำไปหมუნเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยง



(ยี่ห้อ Gemmy รุ่น PLC-012E) ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาปรับปริมาณโปรตีนเป็น 16 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิกรัม ก่อนนำไปแยกโปรตีนด้วย polyacrylamide gel ความเข้มข้นร้อยละ 12 และ stacking gel ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยใช้ความต่างศักย์ 30 มิลลิแอมป์ เป็นเวลา 45 นาที ด้วยชุดอุปกรณ์ SDS-PAGE apparatus (ยี่ห้อ bio rad รุ่น Mini-PROTEAN System) แล้วนำเจลย้อมด้วยสี Coomassie blue R-250

การวิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของผงโปรตีน

วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำ ดัดแปลงตามวิธีการของ Yousf *et al.* (2017) นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิกรัม นำไปกวนผสมด้วยเครื่องกวนสาร (ยี่ห้อ IKA รุ่น C-MAG HS 7) เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (ยี่ห้อ Gemmy รุ่น PLC-012E) ที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเก็บส่วนใสเทลงในถ้วยอะลูมิเนียม ทำการอบระเหยน้ำส่วนเกินออกด้วยตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115) ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการชั่งน้ำหนักหลังการทำแห้ง พร้อมคำนวณค่าร้อยละความสามารถในการละลายน้ำของผงโปรตีน (Water Solubility Index, WSI) จากสมการที่ 2

$$\text{ร้อยละความสามารถในการละลายน้ำ} = (\text{น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลายน้ำ} / \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}) \times 100 \quad (2)$$

การวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง

วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง ดัดแปลงตามวิธีการของ Chareemuy *et al.* (2020) นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิกรัม แล้วทำการวัดปริมาตรก่อนปั่น (V_1) จากนั้นนำไปปั่นผสมโดยใช้เครื่องปั่น (ยี่ห้อ Tefal รุ่น Blendforce) ที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทของผสมใส่กระบอกตวงขนาดปริมาตร 250 มิลลิกรัม อย่างช้า ๆ และวัดปริมาตรทั้งหมดรวมฟองที่เกิดขึ้น (V_2) คำนวณเป็นร้อยละความสามารถในการเกิดฟอง (Foaming capacity, FC) ดังสมการที่ 3 จากนั้นตั้งของผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง ก่อนวัดปริมาตรของฟองที่เหลือ (V_3) ต่อปริมาตรก่อนปั่น คำนวณเป็นร้อยละความคงตัวของฟอง (Foaming stability, FS) ดังสมการที่ 4

$$\text{ร้อยละความสามารถในการเกิดฟอง} = [(V_2 - V_1) / V_1] \times 100 \quad (3)$$

$$\text{ร้อยละความคงตัวของฟอง} = (V_3 / V_1) \times 100 \quad (4)$$

การวิเคราะห์ความชื้น

การวิเคราะห์ความชื้นของผงโปรตีนถั่วเหลืองจะใช้เครื่องวิเคราะห์ความชื้นด้วยรังสีอินฟราเรด (ยี่ห้อ AND รุ่น MX-50) โดยเปิดเครื่องแล้วกดปุ่ม Tare จากนั้นนำผงโปรตีนถั่วเหลืองในแต่ละการทดลองใส่ลงในถาดอะลูมิเนียม 5 กรัม



ทำการปิดฝาเครื่องพร้อมกดปุ่มเริ่มทำงาน เมื่อเครื่องทำการหาปริมาณความชื้นจนถึงค่าคงที่จะแสดงผลบนหน้าจอเป็นร้อยละความชื้นฐานแห้ง โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี

การวิเคราะห์ค่า a_w จะใช้เครื่องวัดวอเตอร์แอกทิวิตี (ยี่ห้อ AQUA lab รุ่น 3TE) โดยเปิดเครื่องและอุ่นเครื่องเป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที จากนั้นนำผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ได้ในแต่ละการทดลองใส่ลงในภาชนะ 3 กรัม และนำไปใส่ลงในเครื่อง เมื่อเครื่องทำการหาค่า a_w เสร็จ จะแสดงผลบนหน้าจอเป็นค่าอุณหภูมิที่ใช้และค่า a_w โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

การวิเคราะห์ค่าสี

การวิเคราะห์คุณภาพด้านสีของผงโปรตีนถั่วเหลืองจะใช้เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ Hunterlab รุ่น MiniScan XE plus) การวิเคราะห์สีจะวิเคราะห์ด้วยระบบ CIE โดยวัดสีในเทอมของค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง-สีเขียว (a^*) และค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

การวัดขนาดอนุภาค

ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้ง จะถูกวัดขนาดโดยใช้เครื่องเขย่าตะแกรง (ยี่ห้อ Retsch รุ่น AS200 basic) เบอร์ 60 (250 ไมโครเมตร) และเบอร์ 80 (178 ไมโครเมตร) ดัดแปลงตามวิธีการของ Hu *et al.* (2010) นำผงโปรตีนถั่วเหลือง 30 กรัมใส่ลงในตะแกรงเบอร์ 60 และเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปคัดขนาดด้วยตะแกรงเบอร์ 80 ด้วยวิธีการเดียวกัน เมื่อได้ขนาดอนุภาคผงโปรตีนที่แตกต่างกันสามขนาด ได้แก่ อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า 250 ไมโครเมตร อนุภาคที่มีขนาดระหว่าง 250 ไมโครเมตร ถึง 178 ไมโครเมตร และอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 178 ไมโครเมตร โดยขนาดอนุภาคคำนวณจากสมการที่ 5

$$\text{ร้อยละขนาดอนุภาค} = (\text{น้ำหนักผงโปรตีนค้างบนตะแกรงร้อน} / \text{น้ำหนักผงโปรตีนทั้งหมด}) \times 100 \quad (5)$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองที่ได้จากการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ซึ่งพิจารณาค่าที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

ปริมาณโปรตีนและอุณหภูมิของสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะเพื่อใช้ในการพิจารณาหาเวลาการสกัดที่เหมาะสมแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่า เมื่อเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณมากขึ้นจนถึงเวลา 60 นาที จากนั้นปริมาณโปรตีนจะมีค่าคงที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เวลา

การสกัดนานขึ้น ส่งผลให้อุณหภูมิของสารละลายโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง เวลาที่เหมาะสมในการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะเท่ากับ 60 นาที ซึ่งจะใช้เป็นสภาวะในการสกัดโปรตีนเพื่อนำไปทำแห้งต่อไป

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้และอุณหภูมิสารละลายระหว่างการสกัดที่เวลาต่างๆ

วิธีการสกัด	เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	อุณหภูมิสารละลาย (°C)
PEF	0	-	26.33±0.58 ^a
	30	0.648±0.01 ^b	42.67±0.95 ^c
	60	0.683±0.01 ^c	48.33±0.61 ^d
	90	0.682±0.02 ^c	52.67±1.01 ^e
	120	0.684±0.02 ^c	56.67±1.21 ^f
ดั้งเดิม	180	0.603±0.01 ^a	33.33±1.03 ^b

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการศึกษาระบบการผลิตต่อสมบัติของโปรตีน

ตารางที่ 2 แสดงผลปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต ความชื้นและค่า a_w ของผงโปรตีนที่ผลิตจากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ เมื่อพิจารณาผลของกระบวนการสกัด ผลการศึกษาพบว่า การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะส่งผลให้ผงโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตมากกว่าการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของการทำแห้งพบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีปริมาณโปรตีนและค่า a_w มากกว่าแต่มีร้อยละผลผลิตแตกต่างกับตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยที่ความชื้นของตัวอย่างทุกสภาวะการทดลองมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต ความชื้นและค่า a_w ของผงโปรตีนที่ผลิตจากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	วิธีการทำแห้ง	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต	ความชื้น (ร้อยละ ฐานแห้ง)	ค่า a_w
ดั้งเดิม	ลมร้อน	65.57 ^a ±1.22	54.34 ^a ±1.13	5.78 ^{ns} ±0.11	0.32 ^a ±0.01
	พ่นฝอย	68.39 ^b ±1.30	53.51 ^a ±1.35	5.85 ^{ns} ±0.13	0.35 ^b ±0.01
PEF	ลมร้อน	74.28 ^c ±1.01	60.67 ^b ±1.51	5.82 ^{ns} ±0.16	0.32 ^a ±0.01
	พ่นฝอย	79.50 ^d ±1.90	59.59 ^b ±0.58	5.89 ^{ns} ±0.11	0.34 ^b ±0.01

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



เมื่อพิจารณาค่าสีของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตจากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ ซึ่งแสดงในตารางที่ 3 พบว่าวิธีการสกัดไม่ส่งผลต่อค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเป็นสีแดง ($+a^*$) และค่าความเป็นสีเหลือง ($+b^*$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้ค่าความสว่าง (L^*) มากกว่า แต่ค่าความเป็นสีแดง ($+a^*$) และค่าความเป็นสีเหลือง ($+b^*$) น้อยกว่าการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3 ค่าสีของผงโปรตีนที่ผลิตจากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	วิธีการทำแห้ง	ค่าสี		
		L^*	a^*	b^*
ดั้งเดิม	ลมร้อน	68.73 ^a ±0.39	5.15 ^b ±0.23	25.27 ^b ±0.95
	พ่นฝอย	79.75 ^b ±2.26	0.87 ^a ±0.38	13.26 ^a ±1.40
PEF	ลมร้อน	69.11 ^a ±0.71	4.93 ^b ±0.09	24.41 ^b ±0.36
	พ่นฝอย	80.37 ^b ±1.64	0.81 ^a ±0.32	14.60 ^a ±0.86

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตจากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ แสดงในตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาผลของกระบวนการสกัด ผลการศึกษาพบว่า การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะส่งผลให้ตัวอย่างมีค่าความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงกว่าการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของการทำแห้งพบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาถึงกระบวนการผลิตผงโปรตีนทั้งหมดจะเห็นได้ว่า ผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ดีที่สุด

ตารางที่ 4 สมบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนที่ผลิตจากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	วิธีการทำแห้ง	ความสามารถใน	ความสามารถใน	ความคงตัวของฟอง
		การละลายน้ำ (ร้อยละ)	การเกิดฟอง (ร้อยละ)	(ร้อยละ)
ดั้งเดิม	ลมร้อน	35.13±1.25 ^a	6.52±1.97 ^a	4.26±1.13 ^a
	พ่นฝอย	47.10±1.26 ^c	18.95±1.13 ^c	9.80±1.96 ^b
PEF	ลมร้อน	43.84±0.72 ^b	13.73±1.95 ^b	6.54±1.13 ^a
	พ่นฝอย	53.62±2.51 ^d	22.22±1.14 ^d	15.03±1.14 ^c

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

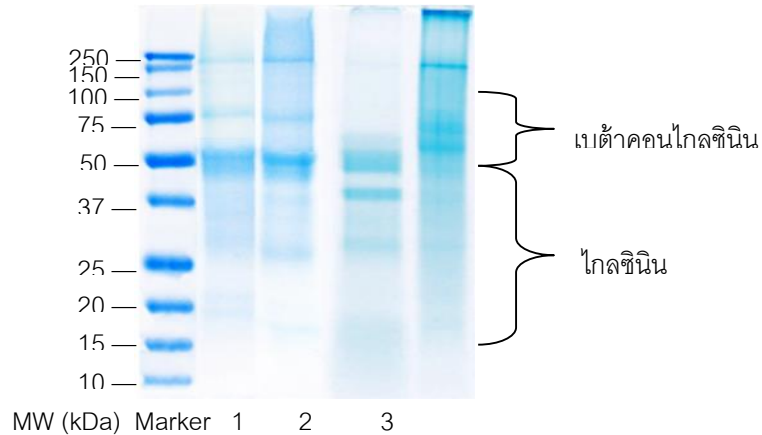
ตารางที่ 5 แสดงผลของขนาดอนุภาคของผงโปรตีนซึ่งพบว่า ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าและมีช่วงการกระจายขนาดอนุภาคที่แคบกว่าผงโปรตีนที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนร่วมกับการอบ

ตารางที่ 5 ขนาดอนุภาคของผงโปรตีนที่ผลิตจากกระบวนการต่างๆ

วิธีการสกัด	วิธีการทำแห้ง	ขนาดอนุภาค (ร้อยละ)		
		ใหญ่กว่า 250 ไมโครเมตร	ระหว่าง 250–178 ไมโครเมตร	เล็กกว่า 178 ไมโครเมตร
ดั้งเดิม	ลมร้อน	41.53±1.10 ^a	27.67±1.70 ^a	30.60±1.51 ^a
	พ่นฝอย	N.D.	44.20±0.72 ^b	54.60±1.20 ^b
PEF	ลมร้อน	41.03±1.16 ^a	27.91±0.98 ^a	30.17±2.18 ^a
	พ่นฝอย	N.D.	43.95±0.81 ^b	55.09±0.73 ^b

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ N.D. หมายถึง ตรวจไม่พบ (Not Detected)

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนของผงโปรตีนตัวอย่างเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Marker) ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ซึ่งแสดงในภาพที่ 1 พบว่าแบบแผนของโปรตีนเลนที่ 1 ถึง 4 มีลักษณะเหมือนกันคือ ปรากฏแถบโปรตีนตรงตำแหน่งในช่วงมวลโมเลกุล 14.4-49 kDa ซึ่งเป็นตำแหน่งของโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และตรงตำแหน่งในช่วงมวลโมเลกุล 49-91 kDa ซึ่งเป็นตำแหน่งของโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความเข้มของแถบโปรตีนที่สามารถแสดงถึงปริมาณของโปรตีนพบว่า ทุกเลนของตัวอย่างมีความเข้มของแถบโปรตีนตรงตำแหน่งเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) มากกว่าตำแหน่งโปรตีนไกลซีนิน (11S) แต่อย่างไรก็ตาม ความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละเลนของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยแสดงดังตารางที่ 6 ซึ่งพบว่า ความเข้มของแถบโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซีนินของตัวอย่างในเลนที่ 4 มีมากที่สุด รองลงมาเป็นตัวอย่างเป็นเลนที่ 2 เลนที่ 1 และตัวอย่างในเลน 3 มีความเข้มน้อยที่สุด ในขณะที่ความเข้มของแถบโปรตีนในกลุ่มไกลซีนินของตัวอย่างในเลนที่ 3 มีมากที่สุด รองลงมาเป็นตัวอย่างเป็นเลนที่ 4 เลนที่ 1 และเลนที่ 2 มีความเข้มน้อยที่สุด ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจะพบว่า ตัวอย่างผงโปรตีนในเลนที่ 4 มีปริมาณโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซีนินซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลให้มีค่าความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองที่ดี และมีปริมาณโปรตีนรวม (เบต้าคอนไกลซีนินรวมกับไกลซีนิน) มากที่สุด



ภาพที่ 1 แบบแผนโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการต่างๆ โดยที่ Marker คือ โปรตีนมาตรฐาน

- (1) คือ ตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมร่วมกับการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน
- (2) คือ ตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วย PEF ร่วมกับการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน
- (3) คือ ตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอย
- (4) คือ ตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วย PEF ร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ตารางที่ 6 การจำแนกกลุ่มย่อยของโปรตีนถั่วเหลืองตาม Fonte's และ Sathe's (Liu *et al.*, 2007)

มวลโมเลกุล (kDa)	ชนิดโปรตีน	ความเข้มของแถบโปรตีน			
		เลน 1	เลน 2	เลน 3	เลน 4
14.4-22	ไกลูทินิน (11S)	+	+	++	++
22-26		+	+	++	++
26-34		++	++	++	++
34-44		++	++	++++	+++
44-49		+++	+++	+++	++++
49-55	เบต้าคอนไกลูทินิน (7S)	++++	+++++	++++	++++
55-67		++	++	++	+++++
67-73		+	++	+	+++++
73-82		+	++	+	++++
82-91		+	++	+	+++

หมายเหตุ : + คือ น้อยที่สุด ++ คือ น้อย +++ คือ ปานกลาง ++++ คือ มาก +++++ คือ มากที่สุด

วิจารณ์ผลการวิจัย

ผลศึกษาปริมาณโปรตีนและอุณหภูมิของสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

จากผลการทดลองซึ่งพบว่า เมื่อใช้เวลาการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จะมีค่าสูงขึ้นจากนั้นจะมีค่าคงที่เมื่อถึงเวลาการสกัดที่ 60 นาที โดยมีสาเหตุเนื่องจากในระหว่างที่สนามไฟฟ้าผ่านเข้าไปในตัวอย่งจะทำให้เกิดความต่างศักย์ทางไฟฟ้าระหว่างภายในและภายนอกของเซลล์พืช จึงทำให้เกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้โปรตีนไกลบูลินที่อยู่ภายในเซลล์พืชถ่ายเทออกมาอยู่ในสารละลาย ดังนั้นเมื่อเวลาการสกัดนานขึ้นจึงเกิดการสะสมของปริมาณโปรตีนในสารละลายมากขึ้นจนกระทั่งปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ภายในเซลล์พืชไม่สามารถถ่ายเทออกมาจากเซลล์พืชได้ ปริมาณโปรตีนในสารละลายจึงมีค่าคงที่ นอกจากนี้การเกิดรูพรุนของเซลล์พืชในระหว่างการสกัด ช่วยให้การถ่ายเทโปรตีนออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้นยังส่งผลให้เวลาในการสกัดโปรตีนสั้นลงเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยดั้งเดิม (Goettel *et al.*, 2013; Gómez-Maqueo *et al.*, 2019)

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะพบว่า เวลาที่ใช้ในการสกัดนานขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิของสารละลายโปรตีนสกัดเพิ่มสูงขึ้น โดยเป็นผลมาจากการเกิดความร้อนแบบโอห์มมิก (Ohmic heating) ซึ่งเป็นกระบวนการทางความร้อนที่เกิดจากการปล่อยกระแสไฟฟ้าไหลผ่านเข้าสู่อาหาร (Darvishi *et al.*, 2011) โดยอุณหภูมิสูงสุดของตัวอย่างในระหว่างการสกัดมีค่าเท่ากับ $56.67 \pm 1.21^{\circ}\text{C}$ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่โปรตีนชนิดไกลซินินและเบต้าคอนไกลซินินที่มีอยู่มากในถั่วเหลืองยังไม่เกิดการเสียสภาพ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Liu *et al.* (2004) ที่รายงานว่า โปรตีนสองชนิดนี้จะเกิดการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติที่อุณหภูมิสูงกว่า 70°C เป็นเวลา 5 นาที

ผลศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพผงโปรตีนถั่วเหลือง

ผลการศึกษาจากตารางที่ 2 พบว่า การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะส่งผลให้สารละลายที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงกว่าการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากเหตุผลดังที่กล่าวไปข้างต้นคือ การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะทำให้เกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์พืชทำให้โปรตีนสามารถถ่ายเทออกมาข้างนอกเซลล์ได้ง่ายขึ้น และเมื่อพิจารณาถึงผลของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณโปรตีนพบว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนในตัวอย่างมากกว่าแต่มีร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างจากการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน เนื่องจากว่าเวลาที่ใช้ในการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนนานกว่าแบบพ่นฝอย การลดลงของปริมาณโปรตีนในระหว่างการทำแห้งนั้นเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนบางชนิด เช่น เมไทโอนีน ซีสเทอีน ไลซีน และฮีสทีดีน (Yuenyongputtakal *et al.*, 2017) โดยออกซิเจนที่อยู่ในรูปแบบของอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species) ซึ่งสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติหรือเกิดจากปฏิกิริยาอื่น ๆ ซึ่งมีความร้อนและแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะจับกับพันธะด้านข้างของกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบไฮดรอกซีเลตหรือคาร์บอกซีเลต จึงทำให้โปรตีนมีปริมาณลดลง (Hellwig, 2020) ดังนั้นหากตัวอย่างอยู่ในสภาวะอุณหภูมิที่สูงพอให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาเป็นระยะเวลานาน จึงทำให้เกิดการลดลงของโปรตีนในปริมาณที่มากกว่าการอยู่ในสภาวะอุณหภูมิที่สูงพอให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาเป็นระยะเวลานาน

การศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Park *et al.* (2018) ที่รายงานว่า การทำแห้งเต้าเจี้ยวด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และที่ 100 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แต่มีปริมาณโปรตีนมากกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 60°C และ 80°C เป็นเวลา 15 และ 9 ชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้ Krittalak *et al.* (2018) ยังรายงานว่า ปริมาณโปรตีนสกัดจากเห็ดหอมหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิขาเข้า 150-170°C และหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) และในส่วนของผลของความชื้นและค่า a_w นั้นพบว่า ตัวอย่างในทุกสภาวะการทดลองมีค่าความชื้นและ a_w เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานอาหารแห้งที่กำหนดให้ความชื้นและค่า a_w ไม่เกินร้อยละ 10 ฐานแห้ง และ 0.6 ตามลำดับ

จากตารางที่ 3 ซึ่งพบว่าวิธีการทำแห้งต่างกัน ส่งผลต่อค่า L^* a^* และ b^* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยผงโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าความสว่าง (L^*) มากกว่า แต่ค่าความเป็นสีแดง ($+a^*$) และค่าความเป็นสีเหลือง ($+b^*$) น้อยกว่าการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างกรดอะมิโนในโปรตีนกับหมู่คาร์บอนิลในน้ำตาลที่มีอยู่ตามธรรมชาติในถั่วเหลืองโดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และผลที่ได้จากการทำปฏิกิริยานี้เป็นสารประกอบที่ให้สีน้ำตาลคือ เมลานอยดิน (Rattanapanone, 2001; Chaiprasop, 2005) นอกจากนี้ Verma *et al.* (2019) รายงานว่า อัตราการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเกิดได้เร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ถ้าผลิตภัณฑ์อยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงมากในเวลานั้น กลับส่งผลให้ปฏิกิริยาสีน้ำตาลเกิดขึ้นได้น้อยกว่า ดังนั้นการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนซึ่งใช้เวลานานกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยจึงส่งผลให้สีของตัวอย่างคล้ำกว่า

ในส่วนผลการศึกษามบัติเชิงหน้าที่ของผงโปรตีนซึ่งแสดงตารางที่ 4 พบว่า การสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้ตัวอย่างมีค่าความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองสูงที่สุด เนื่องจากการสกัดโปรตีนด้วยวิธีดั้งเดิมเป็นวิธีการที่ใช้สารเคมีในการปรับค่า pH ให้อยู่ในสภาวะกรดและด่าง ซึ่งทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ โดยเกิดการแตกตัวบางส่วนของไอออนหมู่คาร์บอกซิลและซัลฟ์ไฮดริล ซึ่งเป็นโครงสร้างโมเลกุลของกรดอะมิโน ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของสายพอลิเพปไทด์ และเผยส่วนที่เป็นหมู่ไฮโดรโฟบิก (Freitas *et al.*, 2011; Nikbakht Nasrabadi *et al.*, 2021; Lokuruka, 2011) ในขณะที่ Fernández-Díaz *et al.* (2000) รายงานว่าการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะที่ความเข้มของสนามไฟฟ้า 27-33 kV/cm ส่งผลให้โปรตีนอัลบูมินเกิดการเสียสภาพและคลายตัวเพียงเล็กน้อย ดังนั้นโปรตีนที่สกัดด้วยการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจันทะจึงมีค่าความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม นอกจากนี้ขนาดอนุภาคของโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีขนาดเล็กกว่าการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนซึ่งสามารถพิจารณาได้จากตารางที่ 5 จึงส่งผลให้พื้นที่ผิวสัมผัสของอนุภาคโปรตีนมีมากกว่าค่าความสามารถในการละลายน้ำจึงมีค่าสูงกว่า โดยสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Cepeda *et al.* (1998) ที่รายงานว่า ค่าความสามารถในการละลายน้ำของผงถั่วปากอ้าที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยสูงกว่าผงถั่วปากอ้าที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเนื่องจากเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาคมีขนาดเล็กกว่าและมีความสม่ำเสมอมากกว่า และเมื่อโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าความสามารถในการละลายน้ำสูง ก็จะมีผลให้มีความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงเช่นกัน เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดีจะสามารถแพร่กระจายไปยังผิวหน้าระหว่างอากาศ



กับน้ำ (Air-water interface) ได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางที่เก็บกักอากาศไว้ได้ดี (Rattanapanone, 2001; Chindapan *et al.*, 2013)

ผลศึกษาแบบแผนโปรตีนถั่วเหลืองด้วยเทคนิค SDS-PAGE

จากผลการศึกษาแบบแผนของผงโปรตีนที่ผ่านกระบวนการผลิตด้วยวิธีต่างๆ ด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่า แถบโปรตีนของทุกตัวอย่างอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนโกลบูลินชนิดไกลซีนิน (14.4-49 kDa) และเบต้าคอนไกลซีนิน (49-91 kDa) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในถั่วเหลืองและเป็นชนิดที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Prajnban, 2018; Panyoyai, 2020) แต่อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละเลนของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการผลิตส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและแบบแผนของโปรตีน โดยผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอย (เลนที่ 4) มีโปรตีนรวม (ชนิดไกลซีนินรวมกับเบต้าคอนไกลซีนิน) และโปรตีนชนิดเบต้าคอนไกลซีนินมากที่สุด โดยมีสาเหตุเนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้สารเคมีและมีอุณหภูมิในการสกัดที่ไม่สูงมาก (48.33°C) ร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งแม้ว่าจะใช้อุณหภูมิสูงแต่ตัวอย่างโดนความร้อนในระยะเวลาสั้น โปรตีนจึงไม่เกิดการสลายตัว (Degradation) และการเสียสภาพ (Denature) (Liu *et al.*, 2004; Krittalak *et al.*, 2018) ในขณะที่ตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอย (เลนที่ 3) เกิดการเสียสภาพของโปรตีนโดยโปรตีนที่มีขนาดใหญ่เกิดการเสียสภาพเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กลงเนื่องจากสารเคมีที่ใช้ในการสกัด (Chindapan *et al.*, 2013) โดยสามารถพิจารณาได้จากแถบโปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 67-91 kDa จางลงและแถบโปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 14.4-55 kDa ยังคงมีสีเข้ม และตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะร่วมกับการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (เลนที่ 2) นั้นเกิดการสลายตัวของโปรตีนโมเลกุลขนาดเล็กจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากตัวอย่างสัมผัสกับความร้อนเป็นเวลานาน ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากความเข้มของแถบโปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 14.4-34 kDa ซีดจางลง และในส่วนของตัวอย่างผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมร่วมกับการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (เลนที่ 1) นั้นเกิดทั้งการเสียสภาพและการสลายตัวของโปรตีนจากสารเคมีที่ใช้ในการสกัดและการสัมผัสความร้อนเป็นระยะเวลาสั้น ซึ่งพิจารณาได้จากความเข้มของแถบโปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 14.4-34 kDa ที่จางลงเช่นเดียวกับตัวอย่างในเลนที่ 2 และมีความเข้มของแถบโปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 67-91 kDa น้อยลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างในเลนที่ 2 และ 4

สรุปผลการวิจัย

กระบวนการผลิตผงโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยวิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นกระบวนการที่ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีน สมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนดีที่สุดในที่ผลิตได้มีปริมาณโปรตีน 79.50 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ร้อยละผลผลิต 59.59 มีความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง ร้อยละ 53.62 ร้อยละ 22.22 และร้อยละ 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 ฐานแห้ง และ 0.6 นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนยังพบว่ามีโปรตีนกลุ่มไกลซีนิน (11S) และเบต้าคอนไกลซีนิน (7S) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่อยู่มากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) : NRCT5-RRI63013-M29 และขอขอบพระคุณ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และบริษัท ไดอิล็กทริค เทคโนโลยี จำกัด สำหรับการสนับสนุนทุนการวิจัย สถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- 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.
- Cepeda, E., Villaran, M., & 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.
- Chaiprasop, O. (2005). *Food preservation*. Bangkok: Ramkhamhaeng University. (in Thai)
- Chantapun, N. (2006). *Production of Japanese apricot juice powder by spray drying*. Retrieved May 6, 2020, from http://webpac.library.mju.ac.th:8080/mm/fulltext/thesis/2549/Natareeporn_Chantapun/ณัฐรีพร%20จันทพันธ์.pdf (in Thai)
- 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. (in Thai)
- Chindapan, N., Sringernyuang, S., & Dangprom, C. (2013). Influence of pH and Temperature on Solubility and Foaming Properties of Mung Bean Protein Concentrate. *Journal of Food Technology*, 9(1), 52-62. (in Thai)



- 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*, 5(1), 209 - 216.
- Fernández-Díaz, 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 and Food Chemistry*, 48(6), 2332-2339.
- 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 and Engineering*, 5(1), 374-378.
- 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., Welti-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*, 54(1), 132 - 142.
- Hudthagosol, C., & Techavichian, M. (2020). Protein: Essential Nutrient for Human Body. *Journal of Nutrition Association of Thailand*, 55(1), 82-94. (in Thai)
- Hu, X. Z., Cheng, Y. Q., Fan, J. F., Lu, Z. H., Yamaki, K., & Li, L. T. (2010). Effects of drying method on physicochemical and functional properties of soy protein isolates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(3), 520-540.
- Jiamyangyuen, S., Srijesdaruk, V. and James Harper, W. (2005). Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. *Songklanakarinn Journal Science and Technology*, 27(1), 57–64.
- 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.



- 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 Journal of Science*, 45(2), 762-773.
- Limsangouan, N. (2011). Neo Technology in Food Processing & Preservation Phases1. *Food Journal*, 41(3), 232-237. (in Thai)
- 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*, 37(1), 815 - 822.
- 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, 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.
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, 106789.
- Nishinari, K., Fang, Y., Guo, S., & Phillips, O. (2014). Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloids*, 39(1), 301-318.
- Pakpot, W., Siriwattananon, L., Lapsongphon, N., & Lichanporn, I. (2019). Influence of Temperature and Time Drying on Physical and Chemical Quality of Mango Peel Power. In *Proceeding National Graduate Research Conference*. (pp. 662-672). Thailand: Khon Kaen University. (in Thai)
- Panyoyai, N. (2020). Plant-based Proteins: Nutrition, Structure, Functionality, and Applications in Food Industry. *Rajabhat Agriculture Journal*, 19(1), 61-69. (in Thai)



- Park, S.M., Oh, J., Kim, J.E., & Kim, J-S. (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.
- 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(1), 17453-17463.
- Prajanban, B. (2018). Comparison of Protein Patterns from the Extracts of Dry Mature Seeds and Germinating Seeds of Soybean (*Glycine max* L.). *Agricultural Science Journal*, 4(Suppl.), 131-134. (in Thai)
- Rattanapanone, N. (2001). *Food processing*. Bangkok: Odeonstore. (in Thai)
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S.N., & Bawa, A.S. (2008). Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 14-28.
- Thai Industrial Standards Institute. (2015). *Instant Soybean*. Retrieved December 25, 2019, from [http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0688_58\(ถั่วเหลืองผงขงต้ม\).pdf](http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0688_58(ถั่วเหลืองผงขงต้ม).pdf) (in Thai)
- The Queen Sirikit Department of Sericulture. (2013). *Molecular Analysis*. Retrieved July 23, 2019, from <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/joacmu/article/download/246327/168434> (in Thai)
- Toomthong, P., & Sakkaew, M. (2016). Hot Air Drying Machine. In *Proceeding Rajamangala Surin National Conference*. (pp. 384-388). Thailand: Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus. (in Thai)
- 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. In P. Sharma. (Eds.), *Research Trends in Food Technology and Nutrition*. (pp. 63-90). New Delhi: AkiNik Publications.



- Vishwanathan, K. H., Singh, V., & Subramanian, R. (2011). Influence of particle size on protein extractability from soybean and okara. *Journal of Food Engineering*, 120(3), 240-246.
- Wu, W., Lin, Q., Hua, Y., Wu, Y., Liang, Y., Fu, X., & Xiao, H. (2013). Study on Mechanism of Soy Protein Oxidation Induced by Lipid Peroxidation Products. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5(1), 46–53.
- 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.
- Yuenyongputtakal, W., Limroongreungrat, K., Chaipan, P., & Srimuang, T. (2017). Effect of Hot Air Drying Temperature and Time on Qualities of Enoki Mushroom (*Flammulina velutipes*) Powder Produced from Uncommonly Consumed Part. *Thai Journal of Science and Technology*, 25(6), 1001-1014. (in Thai)
- Zhang, X., Lu, P., Xue, W., Wu, D., Wen, C., & Zhou, Y. (2017). An evaluation of heat on protein oxidation of soy protein isolate or soy protein isolate mixed with soybean oil in vitro and its consequences on redox status of broilers at early age. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(8), 1135–1142.