# บทที่ 5

# วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียว

จากการนำถั่วเขียวมาทำความสะอาดแยกกรวด หิน ดิน ทรายออก บดให้ละเอียดด้วยเครื่องโม่หิน ( Stone mill ) และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 70 เมช ส่วนที่ผ่านตะแกรงเรียกว่าแป้งถั่วเขียว นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี แสดงผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าแป้งถั่วเขียวมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีอยู่ถึงร้อยละ 59.27 ถั่วเขียวจึงเป็นวัตถุดิบสำคัญในอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้น รองลงมาคือ โปรตีนร้อยละ 21.20 หรือร้อยละ 24.31 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นส่วนที่มีคุณค่าทางอาหารมากกว่า แต่ปัจจุบันโปรตีนถั่วเขียวกลับกลายเป็นผลพลอยได้ จากการผลิตวุ้นเส้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าของโปรตีนถั่วเขียว โดยการทดลองผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเขียว โดยการย่อยสลายอย่างจำกัดด้วยเอนไซม์โบรมีเลน เพื่อปรับปรุงสมบัติการเกิดฟอง เนื่องจากตามปกติโปรตีนถั่วเขียวมีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลสูง รูปร่างของโปรตีนถั่วเขียวไม่แน่นอนมีทั้งที่เป็นร่างแหเดี่ยวหรือเรียงเป็นชั้น อาจเกาะกันเป็นก้อนที่แน่นอน หรือเรียงเป็นสายที่เกาะกันแน่น ( วุฒิชัย นาครักษา, 2526 ) ซึ่งลักษณะดังกล่าวส่งผลให้สมบัติการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวต่ำกว่าโปรตีนจากไข่ขาว

เมื่อนำแป้งถั่วเขียวที่ได้ มาสกัดโปรตีนตามวิธีของ Thompson (1977) โดยนำแป้งถั่วเขียวที่เตรียมได้ มาละลายในน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อน้ำกลั่น 1:15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 1N NaOH ที่ pH 9 กวนนาน 20 นาที จากนั้นนำมาเหวี่ยงแยกตะกอนออกด้วยความเร็วรอบ 3500 รอบ/นาที นาน 15 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาปรับ pH เป็น 4.48-4.50 ด้วยสารละลายของ 1N HCl และนำไปเหวี่ยงแยกด้วยความเร็วรอบ 3500 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บส่วนตะกอนที่ได้นำมาล้างด้วยน้ำกลั่น ด้วยอัตราส่วนตะกอนโปรตีนสกัดต่อน้ำกลั่น 1:15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จำนวน 2 รอบ โดยใช้ความเร็วรอบและเวลาในการเหวี่ยงแยกตะกอนเท่าเดิม ส่วนของตะกอนที่ได้นำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความชื้น พบว่าตะกอนโปรตีนถั่วเขียวที่สกัดได้มีความชื้นประมาณ 80 $\pm$ 2 % จากนั้นนำไปละลายซ้ำ ให้มีความ

เข้มข้น 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับp H 7.0 ก่อนนำไปทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนถั่วเขียวสกัด ดังตารางที่ 4.2 พบว่ามีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 72.60 หรือร้อยละ 79.25 โดยน้ำหนักแห้ง และพบว่าโปรตีนถั่วเขียวสกัดมีปริมาณไขมันร้อยละ 11.31 ซึ่งสูงกว่าที่มีอยู่ในแป้งถั่วเขียว ทั้งนี้อาจเป็นผลจาก Pigments ที่ละลายได้ในไขมัน ซึ่งพบว่าการละลายของ Pigments ที่ให้สีนี้จะแปรตาม pH ดังรายงานของ Thompson (1977) ซึ่งพบว่าโปรตีนถั่วเขียวสกัดที่ Isoelectric form (pH 4) จะมีสีครีมออกเหลืองมากกว่าโปรตีนถั่วเขียวสกัดที่ Neutralized form (pH 7) ส่วน Mungbean flour มีสีสว่างมากที่สุด เมื่อพิจารณาโปรตีนถั่วเขียวที่สกัดได้ในงานวิจัย พบว่ามีสีค่อนข้างเหลืองมากกว่าแป้งถั่วเขียวมาก จึงสันนิษฐานว่าผลของไขมันในโปรตีนถั่วเขียวสกัดที่สูงขึ้นมากกว่าในแป้งถั่วเขียวนี้ เนื่องจากมี Pigments อยู่สูงนั่นเองนอกจากนี้ปริมาณเถ้าในโปรตีนถั่วเขียวสกัดซึ่งมีอยู่ร้อยละ 4.70 พบว่าสูงกว่าในแป้งถั่วเขียวอยู่เล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าโปรตีนถั่วเขียวสกัดมีปริมาณของแร่ธาตุอยู่สูงกว่าแป้งถั่วเขียว เนื่องจากเป็นการสกัดด้วยสารละลายด่าง NaOH และตกตะกอนโปรตีนด้วยสารละลายของกรด HCl เมื่อ Neutralized ส่งผลทำให้เกิดเกลือ NaCl ขึ้นบางส่วน ดังนั้นโปรตีนที่สกัดได้จึงมีปริมาณเถ้าสูงกว่าแป้งถั่วเขียว และมีความชื้นต่ำกว่าโดยมีอยู่ร้อยละ 8.39 เนื่องจากเป็นการทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีอยู่เพียง ร้อยละ 3.00

5.2 <u>การหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเขียวสกัดโดยการย่อยสลายอย่างจำกัดด้วยโบรมีเลน</u>

5.2.1. ผลของความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนถั่วเขียวสกัดต่อค่ากำลังการเกิดฟอง

จากการทดลองแปรความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนถั่วเขียวสกัดร้อยละ 1-7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับ pH 7.0 วิเคราะห์ค่ากำลังการเกิดฟอง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.3

พบว่าค่ากำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัดที่เพิ่มขึ้นในช่วงในร้อยละ 1-6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

การเพิ่มขึ้นของค่ากำลังการเกิดฟองเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัดเพิ่มขึ้นนั้น สามารถอธิบายได้ว่าเป็นผลมาจากการลดลงของแรงตึงผิว (Surface tension) และการเพิ่มขึ้นของ Bulk viscosity ซึ่งเป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริม ให้เกิดการดูดซับได้อย่างรวดเร็วที่ผิวหน้าระหว่างอากาศกับน้ำของโมเลกุลโปรตีน (Kitabatake and Doi, 1988) ส่วนการลดลงของค่ากำลังการเกิดฟองเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัดสูงกว่าร้อยละ 6 นั้นเป็นผลมาจากความสามารถในการละลายที่ลดลงของโปรตีน หรือการเพิ่มขึ้นของส่วนที่ไม่ละลาย (Insoluble material )

5.2.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์โบรมีเลนในการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวสกัด

โบรมีเลนจัดอยู่ในกลุ่มเอนไซม์ที่มีหมู่ซัลไฟดริล ในบริเวณเร่ง เช่นเดียวกับปาเปน จากมะละกอและฟิซิน จากมะเดื่อ โดยโบรมีเลน 1 โมเลกุลจะมี disulfide bridge 5 ตำแหน่ง และมีหมู่ซัลไฟดริล 1 กลุ่ม ทั้งหมดนี้ล้วนอยู่ในกลุ่มที่มีความจำเป็นต่อการทำงานของบริเวณเร่ง ในการเร่งปฏิกิริยาของโบรมีเลน ( Murachi and Yasui, 1965 ) โบรมีเลนสามารถย่อยพันธะเปปไทด์ เอไมด์ และเอสเทอร์ ของกรดอะมิโนและเปปไทด์ชนิดอื่นได้ดี ตัวอย่างเช่น benzoyl - L- arginine ethyl ester ( BAEE ) และbenzyl-L-arginine amide ( BAA ) ( Yamamoto, 1975 )

โบรมีเลนสามารถย่อยสับสเตรทจำพวกโพลีเปปไทด์ได้ดีคล้ายกับปาเปนและฟิซิน ต่างกันที่ โบรมีเลนจะมีความจำเพาะในการย่อยพันธะที่เชื่อมระหว่างกรดอะมิโนอาร์จีนีน-อะลานีน และ อะละนีน - กรดกลูตามิค แต่ไม่สามารถย่อยพันธะที่เชื่อมระหว่าง Arg - Arg และ ไลซีน-ไทโรซีน และย่อยสลายตัวเองได้ดีที่ p H 4.6 ( Murachi and Neurath, 1960 )

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์โบรมีเลนนั้นมีจุดประสงค์เพื่อ หาสภาวะที่เอนไซม์โบรมีเลนมีแอคติวิตีสูงสุดเมื่อมีโปรตีนถั่วเขียวสกัดเป็นสับสเตรท เนื่องจากในการทดลองได้จำลองระบบการย่อยสลายขึ้นมา มิได้ย่อยสลายใน Reactor ที่สามารถควบคุมสภาวะได้คงที่นานหลายๆชั่วโมง ดังนั้นเราจึงจำเป็นต้องจำกัดเวลาในการย่อยให้สั้นลง และวัดระดับการย่อยสลาย หรือปริมาณของผลผลิตที่ได้ เพื่อลดข้อผิดพลาดในการควบคุมสภาวะดังกล่าว

ก. ผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่อแอคติวิตีของโบรมีเลน

โดยทั่วไปเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาต่างกัน ที่ระดับ pH ต่างกัน การเปลี่ยนแปลง pH จะมีผลต่อการแตกตัวของหมู่ Prototropic ( Prototropic group ) ที่อยู่บริเวณเร่ง

( Active site )ของเอนไซม์ มีผลให้เกิดการเปลี่ยนโครงรูปสามมิติซึ่งจะมีผลไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับสับสเตรท และในกรณีที่ pH ต่ำหรือสูงมากจะทำให้โครงสร้างตติยภูมิของโปรตีนถูกทำลายไป ทำให้เอนไซม์ถูกยับยั้งอย่างถาวร เนื่องจากการเสียสภาพธรรมชาติ ดังนั้น แผนภูมิระหว่างแอคติวิตีกับ pH (pH profile) จึงมักเป็นรูประฆังคว่ำ โดยมี pH ช่วงหนึ่งที่เอนไซม์มีแอคติวิตีสูงสุด ซึ่งเรียกว่า Optimum p H (ปราณี อ่านเปรื่อง,2535) ดังผลการทดลอง

จากการทดลองควบคุมความเข้มข้นของสับสเตรทคงที่ร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แปรค่า pH 5.0, 6.0, 7.0 และ 8.0 เติมเอนไซม์โบรมีเลนเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/100มิลลิกรัมของโปรตีนสกัด ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทเท่ากับ 1/200 เท่า ควบคุมอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 40 $^{0}$C และเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 นาที จากภาพที่ 4.4 พบว่าแผนภูมิระหว่างแอคติวิตีของโบรมีเลนกับค่า pH เป็นรูประฆังคว่ำ โดยพบว่า pH ในช่วง 6.0-6.5 โบรมีเลนมีแอคติวิตีสูงสุด ช่วงดังกล่าวจึงเรียกว่า pH optimum แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดังตารางที่ 4.5 จะพบว่าที่ pH 6.0 โบรมีเลนมีแอคติวิตีสูงสุด ดังนั้นในการวิจัยขั้นต่อไป คือการหา Temperature profile จะกำหนดให้ pH คงที่ที่ 6.0

ข.ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์โบรมีเลน ( Temperature profile )

ปฏิกิริยาโดยทั่วไปนั้นจะให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ แต่สำหรับการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์นั้นมีขีดจำกัด อุณหภูมิที่ทำให้เอนไซม์มีแอคติวิตีสูงสุดเรียกว่า Optimum temperature ถ้าเพิ่มอุณหภูมิสูงกว่านี้จะทำให้อัตราเร็วปฏิกิริยาลดลง เนื่องจากความร้อนไปทำลายสภาพธรรมชาติของเอนไซม์จนไม่สามารถทำงานได้เหมือนเดิม (ปราณี อ่านเปรื่อง,2535) ดังเช่นผลการทดลอง ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์โบรมีเลน โดยกำหนดให้อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรท คงที่ 1/200 เท่า โดยเตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเขียวสกัดเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอนไซม์เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัมของโปรตีนสกัด pH 6.0 แปรอุณหภูมิในการย่อยสลายในช่วง 35-75 $^{0}$C เวลาในการทำปฏิกิริยา 30 นาที ยับยั้งปฏิกิริยา 90 $^{0}$ C นาน 10 นาที ทำให้เย็นและวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย แสดงผลดังตารางที่ 4.6 และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าโบรมีเลนมีแอคติวิตีสูงสุดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้เมื่อนำผลการทดลองจากตารางที่ 4.6 มาแสดงเป็นกราฟภาพที่ 4.5 ซึ่งแสดงผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของโบรมีเลน (Temperature profile) พบว่าโบรมีเลนมีแอคติวิตีสูงสุดในช่วงอุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกสภาวะในการย่อยสลายที่

อุณหภูมิ 60 $^{0}$C เนื่องจากเมื่อพิจารณาจากกราฟ โบรมีเลนมีแอคติวิตีไม่แตกต่างกับที่อุณหภูมิ 65 $^{0}$C แต่ในการทดลองการควบคุมอุณหภูมิต่ำให้คงที่ สามารถทำได้ง่ายกว่าอุณหภูมิสูง เพราะที่อุณหภูมิสูงน้ำจะมีอัตราการระเหยสูงกว่า ทำให้ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ได้ยากกว่า

ค. ผลของอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีนถั่วเขียวสกัด ต่อแอคติวิตีของโบรมีเลน

จากการทดลองกำหนดให้ปริมาณสับสเตรท ( โปรตีนถั่วเขียวสกัด ) มากพอและคงที่ตลอดการทดลอง โดยเตรียมโปรตีนถั่วเขียวสกัดเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แปรการเติมเอนไซม์เข้มข้น 0.00-2.00 มิลลิกรัม/100มิลลิกรัม ของโปรตีนสกัด ควบคุมอุณหภูมิ 60 $^{0}$C pH 6.0 เวลาในการทำปฏิกิริยา (Reaction time) คงที่ 30 นาทียับยั้งปฏิกิริยาด้วยความร้อน 90 $^{0}$C นาน 10 นาที วัดระดับการย่อยสลาย ( ร้อยละ ) แสดงผลดังตารางที่ 4.7 และกราฟภาพที่ 4.6

พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีของโบรมีเลนกับอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทเป็นลักษณะของกราฟโพลาโบลาคว่ำเสี้ยว โดยความชันของกราฟ มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงกว่า 1.25 มิลลิกรัม/100มิลลิกรัม ของโปรตีนสกัด หรืออัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทสูงกว่า 1/80 เท่า เนื่องจากผลผลิตของปฏิกิริยามีแนวโน้มคงที่ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจะกำหนดอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทคงที่ 1/80 เท่า แปรเวลาในการย่อยสลายต่ำกว่า 30 นาที

5.2.3 ผลการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายและปริมาณ Nitrogen Solubility ต่อเวลาในการย่อยสลาย

เนื่องจากโปรตีนสามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ ซึ่งมีผลในการเพิ่มคุณสมบัติด้านการละลาย ( Solubility ) แต่ทั้งนี้การปรับปรุงสมบัติของโปรตีน ดังเช่นการปรับปรุงสมบัติด้านการเกิดฟอง ( Foaming properties ) จำเป็นต้องจำกัดการย่อยสลายโปรตีน ( Limited hydrolysis ) วิธีที่นิยมกันมากในการจำกัดการย่อยสลาย คือ การควบคุมระดับการย่อย โดยการหยุดปฏิกิริยาตามเวลาที่ต้องการ วิธีนี้จะทำให้ได้โพลีเปปไทด์ขนาดต่างๆ กัน ตั้งแต่ขนาดเท่าโปรตีนเริ่มต้นจนถึงเปปไทด์ขนาดเล็กที่สุดที่เป็นไปได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความจำเพาะของเอนไซม์แต่ละชนิดต่อวัตถุดิบที่ใช้เป็นสับสเตรทและอัตราการย่อยสลายพันธะเปปไทด์( Vojdani and Whitaker,1994)

ดังนั้น จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลาย และปริมาณ Nitrogen solubility ต่อเวลาในการย่อยสลาย โดยการย่อยสลายสารละลายโปรตีนถั่วเขียวสกัดเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ด้วยเอนไซม์โบรมีเลนเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัม/100มิลลิกรัม ของโปรตีนสกัด (E/S 1/80 เท่า) ที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 60 $^{0}$C แปรเวลาในการย่อยสลายเป็น 0, 2, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยอุณหภูมิ 90 $^{0}$C นาน 10 นาที ทำให้เย็น วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายและปริมาณ Nitrogen solubility แสดงผลดังตารางที่ 4.8-4.9 และภาพที่ 4.7-4.9

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าเวลาในการย่อยสลายมีผลต่อระดับการย่อยสลายและปริมาณ Nitrogen solubility อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จากภาพที่ 4.7 พบว่าระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตามเวลาในการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นทุกๆ 5 นาที แต่หลังจาก 20 นาที อัตราการเพิ่มขึ้นของระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้อันเนื่องมาจากการเหลือน้อยลงของสับสเตรทหรือการยับยั้งของ end-product (carp และคณะ , 1997)

ส่วนในภาพที่ 4.8 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Nitrogen solubility กับเวลาในการย่อยสลาย พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายกับเวลาในการย่อยสลาย

และที่น่าสนใจ คือ Nitrogen solubility ของโปรตีนถั่วเขียวสกัดที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับระดับการย่อยสลายเป็นอย่างมาก พิจารณาได้จากภาพที่ 4.9 ซึ่งความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นเชิงเส้น มี $r^2$= 0.987 เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์เป็นการกำจัดพันธะข้ามเชื่อมของโปรตีน ( protein crosslinkages ) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการละลาย และยังเป็นการลดน้ำหนักโมเลกุล ทำให้เกิดเปปไทด์สายสั้นๆ นอกจากนี้เป็นการเพิ่มจำนวน Ionizable groups อีกด้วย ส่งผลทำให้โปรตีนละลายได้ง่ายขึ้น สุดท้ายทำให้เกิดการเปิดออกของ Hydrophobic group ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลถึงสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนเป็นอย่างยิ่ง ( Panyam and Kilara,1996. )

เนื่องจากกลไกการเกิดฟองของโปรตีน ประกอบด้วยสามขั้นตอน คือ อันดับแรก โปรตีนที่ละลายได้จะสามารถเกิดการแพร่กระจาย ( diffusion ) ไปยังผิวหน้าระหว่างอากาศกับน้ำ (air-water interface) เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น แรงตึงผิวลดลง อันดับต่อมาโปรตีนจะเกิดการคลายตัว (unfolding) ที่ผิวหน้า มีการเปลี่ยนรูปร่างและจัดเรียงตัวให้หมู่ไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic groups) ชี้ไปยัง aqueous และหมู่ไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic groups) ชี้เข้าหา air phase สุดท้ายจึงเกิดปฏิกิริยาระหว่างโพลีเปปไทด์เพื่อสร้างเป็นฟิล์ม ที่แข็งแรง อุ้มอากาศเอาไว้ (Wilde and Clark,1996)

ดังนั้นการปรับปรุงสมบัติการเกิดฟองของโปรตีน จึงไม่สามารถคำนึงถึงสมบัติด้านการละลายเพียงด้านเดียว จากกลไกการเกิดฟอง ทำให้เข้าใจว่าสมบัติการเกิดฟองที่ดีเกี่ยวข้องกับสมบัติ

ด้านโมเลกุลของโปรตีนเป็นอย่างมาก โดยพบว่าความสมดุลที่เหมาะสมระหว่าง Hydrophobic groups กับ Hydrophilic groups และการละลายของโปรตีนจะเป็นตัวกำหนดสมบัติการเกิดฟองของโปรตีน ( Hayakaya and Nakai ,1985 )

ดังนั้นในการผลิตสารให้ฟอง จำเป็นต้องศึกษาในข้อ 3.2.4

5.2.4 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเขียวสกัดโดยการย่อยสลายอย่างจำกัดด้วยเอนไซม์โบรมีเลน

โดยการผลิตสารให้ฟอง ตามสภาวะที่เลือกได้จากการทดลองข้างต้น คือกำหนดให้ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 1.25 มิลลิกรัม/100มิลลิกรัม ของโปรตีนสกัด (สารละลายโปรตีนถั่วเขียวสกัดเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ย่อยสลายที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 60 $^{o}$C แปรเวลาในการย่อยสลาย 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที ตามลำดับ หยุดปฏิกิริยาด้วยอุณหภูมิ 90 $^{o}$C นาน 10นาที ทำให้เย็น จากนั้นเหวี่ยงแยกโปรตีนที่เสียสภาพออกด้วยความเร็วรอบ 3,500 รอบ/นาที นาน 15 นาที และทำให้เข้มข้น 10 $^{o}$Brix สุดท้ายนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ประเมินสมบัติของสารให้ฟองได้ผลดังต่อไปนี้

<u>ผลการประเมินสมบัติของสารให้ฟองผง</u>

ก. ค่ากำลังการเกิดฟอง

จากตารางที่ 4.10 และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าเวลาในการย่อยสลายมีอิทธิพลต่อค่ากำลังการเกิดฟองอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจะสังเกตเห็นว่าเมื่อเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นในช่วง 0-20 นาที ค่ากำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าที่เวลาในการย่อยสลาย 20 และ 15 นาที ให้ค่ากำลังการเกิดฟองสูงสุด รองลงมาคือที่ 10 นาที 5 นาที และ 0 นาที ตามลำดับ ส่วนที่ 25 นาที พบว่าค่ากำลังการเกิดฟองกลับมีค่าต่ำกว่า ที่ 10 นาที แต่ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ การเพิ่มขึ้นของค่ากำลังการเกิดฟอง ในช่วงเวลาในการย่อย 0-20 นาที นั้นพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนมีขนาดเล็กลง มี Flexibility เพิ่มขึ้น และเกิดการเปิดออกของหมู่ไฮโดรโฟบิกภายในโมเลกุลโปรตีนเพิ่มขึ้น จึงสามารถเกิดการแพร่และดูดซับที่ผิวหน้าระหว่างน้ำกับอากาศได้อย่างรวดเร็ว (Were et al.,1997) ส่วนการลด

ลงเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นถึง 19.59 หรือที่เวลาในการย่อย 25 นาที นั้นอาจเป็นผลมาจาก การย่อยสลายที่มากเกินไป จะส่งผลให้เกิดการเสียสมดุลระหว่างหมู่ไฮโดรฟิลิก กับไฮโดรโฟบิก ของโมเลกุลโปรตีน ทำให้ลดการดูดซับที่ระหว่างผิวหน้า ( Zayas, 1997)

ข.Drip Loss (%) ตรงข้ามกับค่า Foam stability

จากผลการทดลองในภาพที่ 4.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย % Drip loss ของสารให้ฟองผงซึ่งผ่านการย่อยสลายที่เวลา 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที เทียบกับ Control ทุกๆ 1 นาที เมื่อพิจารณาจากความชันของกราฟ พบว่า ตัวอย่างที่ย่อยสลายด้วยเวลา 15 นาที ให้ค่า Drip Loss ต่ำสุด ความคงตัวของฟองสูงสุด รองลงมาคือตัวอย่างที่ย่อยด้วยเวลา 10 นาที ถัดมาคือตัวอย่างที่ย่อยด้วยเวลา 5, 20, และ 25 นาที ตามลำดับ

โดยทั่วไปการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์อย่างจำกัด จะส่งผลให้ค่ากำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้น แต่ความคงตัวของฟองมักจะด้อยลง( Panyam and Kilara, 1996) แต่จากการทดลองในงานวิจัยนี้ กลับพบว่าที่เวลาในการย่อยสลาย 5 และ 10 นาที นั้นมีความคงตัวของฟองด้อยกว่าที่ 15 นาที ผลดังกล่าวอาจมีอิทธิพลมาจาก Process treatment ในช่วงการทำให้เข้มข้นที่ อุณหภูมิ $60^{0}$ C ซึ่งโปรตีนถูกย่อยสลายด้วยระดับการย่อยสลายที่ต่ำกว่า จึงทนต่อการเสียสภาพได้ต่ำกว่า ซึ่งส่งผลให้ เมื่อทำแห้งแล้ว ตัวอย่างจึงมีการละลายต่ำกว่า มีโปรตีนที่เสียสภาพแขวงลอยอยู่บางส่วน กลายเป็น solid particles ที่ไม่ละลาย เนื่องจาก Zayas (1997) ได้กล่าวว่าฟองสามารถถูกยับยั้งจากสารที่ไม่สามารถละลายน้ำได้( Water-insoluble substances ) เพราะสารดังกล่าวทำให้เกิดการฉีกขาดของฟิลม์โปรตีนที่ฟองอากาศ (air bubbles) ทำให้อัตรา Drainage สูงกว่าปกติ ซึ่งสังเกตได้ว่าที่เวลาในการย่อยสลาย 5 นาที มีความคงตัวของฟองด้อยกว่าที่เวลาในการย่อยสลาย 10 นาที เช่นเดียวกัน

จากการพิจารณาค่ากำลังการเกิดฟองและ เปอร์เซ็นต์ Drip Loss ร่วมกัน พบว่าสามารถเลือกสภาวะในการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเขียวสกัดโดยการย่อยสลายอย่างจำกัดด้วยเอนไซม์โบรมีเลน ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 17.44 เวลาในการย่อยสลาย 15 นาที

ค. ผลการศึกษา Nitrogen solubility ที่ p H4.5 ของสารให้ฟองผงที่ย่อยสลายด้วยระดับการย่อยสลายต่างๆ

จากการหาปริมาณ Nitrogen solubility ที่ pH 4.5 ของสารให้ฟองผงที่ระดับการย่อยสลายต่างๆ เทียบกับตัวอย่างควบคุมที่เวลา 0 นาที และโปรตีนถั่วเขียวสกัดทำแห้งแบบแช่เหยือกแข็งเช่นเดียวกัน

จากผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ดังตารางที่ 4.12-4.13 พบว่าปริมาณ Nitrogen solubility ที่ pH 4.5 ของตัวอย่างทั้งหมด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อหาค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan 's new multiple range test พบว่าเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นตามเวลาในการย่อยสลาย ปริมาณ Nitrogen solubility ที่ pH4.5 ของตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยมีปริมาณสูงกว่าร้อยละ 80 เทียบกับโปรตีนถั่วเขียวสกัด ซึ่งสามารถละลายได้เพียงร้อยละ 2.98 เนื่องจาก pH 4.5 เป็นค่าความเป็นกรด-ด่างที่โปรตีนถั่วเขียวสกัดธรรมชาติละลายได้ต่ำสุดหรือเป็นจุด Isoelectric point หรือ pI ซึ่งโปรตีนมีประจุรวมเป็นศูนย์ เกิดการเพิ่มขึ้นของ Attractive force ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ส่งผลให้โมเลกุลของโปรตีนเข้ามาอยู่ใกล้กันและรวมตัวกันตกตะกอน ทำให้ความสามารถในการละลายต่ำลง (Zayas,1997) ส่วนตัวอย่างที่ผ่านการทรีทด้วยเอนไซม์ 0 นาที มีปริมาณ Nitrogen solubility pH 4.5 เฉลี่ยร้อยละ 33.59 ซึ่งสูงกว่าการละลายของโปรตีนถั่วเขียวสกัด ซึ่งบ่งบอกได้ว่าโปรตีนได้ถูกตัดแปลงไปแล้ว โดยอาจเป็นผลมาจากความร้อนหรือเอนไซม์ ทั้งนี้การทรีทด้วยเอนไซม์ 0 นาที มีระดับการย่อยสลายร้อยละ 2.75 และ % Nitrogen solubility 24.43 (ตารางที่ 4.8) แสดงว่าอาจมีโปรตีนบางส่วนถูกย่อยสลายไปบ้างแล้ว หรือมิฉะนั้นอาจเป็นผลจากความร้อน ซึ่งสามารถส่งผลทำให้โมเลกุลโปรตีนเกิดการเปลี่ยนรูปร่าง เกิดการคลายตัว (unfold) และเปิดออกของ Hydrophobic groups ได้เช่นกัน (Were et al.,1997) แต่โดยทั่วไปความร้อนมีผลทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ โดยพบว่าการให้ความร้อนต่ำๆ สามารถเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีนได้ (Zayas,1997) ส่วนการละลายที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่าง ที่ผ่านการทรีทด้วยโบรมีเลนนั้น เนื่องจากโบรมีเลนจะเข้าไปทำลาย Protein crosslinkages และลดน้ำหนักโมเลกุล เพิ่ม Ionizable group ทำให้โปรตีนสามารถละลายได้เพิ่มขึ้นในช่วง pH ที่กว้าง นอกจากนี้ยังทนต่อการเสียสภาพได้เพิ่มขึ้นด้วย (Were et al.,1997) ข้อดีของสารให้ฟองในข้อนี้นั้น คือ สามารถละลายได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด จึงสามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดได้โดยโปรตีนไม่ตกตะกอน

ง.Nitrogen solubility p H 7.0

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณ Nitrogen solubility ที่ pH 7.0 ของตัวอย่างทั้งหมด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย สารให้ฟองผงที่ย่อยสลายด้วยเวลา 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที สามารถละลายได้สูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 7.0 ทั้งนี้สมบัติด้านการละลายของโปรตีน เปลี่ยนแปลงตามความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย โดยจะละลายได้เพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของสารละลายออกห่างจาก Isoelectic pH ของโปรตีน นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างควบคุมสามารถละลายได้ต่ำกว่าโปรตีนถั่วเขียวสกัดอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพบางส่วน สูญเสียสมบัติด้านการละลาย (Were et al.,1997)

5.3 <u>ผลการศึกษาหาเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต</u>

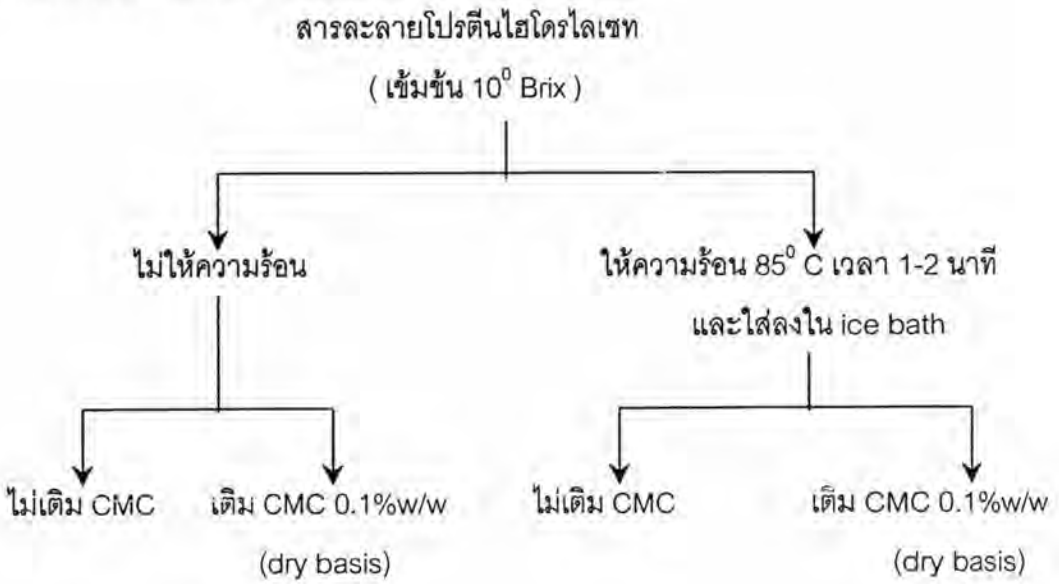
จากการทดลองหาเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต โดยการแปรความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนถั่วเขียวสกัดเป็นร้อยละ 2, 4, 6, 8, 10, 12 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ย่อยสลายด้วยเอนไซม์เข้มข้น 1.25 mg/100mg ของโปรตีนสกัด ควบคุม pH 6.0 อุณหภูมิ 60 $^{0}$C เวลาในการย่อยสลาย 15 นาที จากนั้นยับยั้งปฏิกิริยา 90 $^{0}$C นาน 10 นาที ทำให้เย็นลงถึง 25 $^{0}$C และเหวี่ยงแยกด้วยความเร็วรอบ 3,500 รอบ/นาที นาน 15 นาที นำส่วนใสไปทำให้เข้มข้น 10 $^{0}$Brix ที่อุณหภูมิ 60 $^{0}$C สุดท้ายทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแห้งที่ผลิตได้ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต

จากผลการทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ดังตารางที่ 4.16 และ4.17 พบว่าความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัด มีอิทธิพลต่อร้อยละของผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละของผลผลิต พบว่าที่ความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัดร้อยละ4 และ 6 ให้ร้อยละของผลผลิตสูงสุด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ( $p \geq 0.05$ ) รองลงมาคือ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัดสูงกว่าร้อยละ 6 ส่งผลให้ร้อยละของผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรทได้ยากขึ้น เพราะความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเขียวสกัดสูงขึ้น ส่งผลให้ความหนืดเพิ่มขึ้น

5.4 <u>การศึกษาการเติม Carboxymethylcellulose ( CMC ) เพื่อเป็น stabilizer หรือเป็น co-drying ในกระบวนการทำแห้งแบบแซ่เยือกแข็งในการผลิตสารให้ฟอง</u>

5.4.1. ผลการศึกษาอิทธิพลของการเติม CMC ร่วมกับการให้ความร้อนต่อสมบัติของสารให้ฟองผง

จากการศึกษาอิทธิพลของการเติม CMC ร่วมกับการให้ความร้อนต่อสมบัติของสารให้ฟองผงโดยทำการทดลองตามแผนภาพต่อไปนี้




จากผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ แสดงในตารางที่ 4.18 และ 4.19 พบว่าการเติม CMC 0.1 % ร่วมกับการให้ความร้อน 85 °C 1-2 นาที แก่โปรตีนไฮโดรไลเซท ก่อนทำแห้งแบบแซ่เยือกแข็ง มีผลทำให้ความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$) และพบว่าการให้ความร้อน 85 ° C 1-2 นาที โดยไม่เติม CMC ก็มีส่วนทำให้ความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม( ไม่ให้ความร้อนและไม่เติม CMC ) แต่ทั้งนี้ยังคงด้อยกว่าตัวอย่างที่ ไม่มีการให้ความร้อน แต่เติม CMC

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.18 แสดงค่ากำลังการเกิดฟองของตัวอย่าง พบว่าการให้ความร้อน 85 °C 1-2 นาที ร่วมกับการเติม CMC 0.1 % ยังคงให้ค่ากำลังการเกิดฟองไม่แตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$) กับตัวอย่างควบคุม ( ไม่ให้ความร้อนและไม่เติม CMC ) แต่พบว่าตัวอย่างที่ให้ความ

ร้อน 85 $^{0}$C 1-2 นาที โดยไม่เติม CMC นั้นมีค่ากำลังการเกิดฟองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณา ความคงตัวของฟอง ประกอบกับค่ากำลังการเกิดฟอง สรุปได้ว่าการให้ความร้อน 85 $^{0}$C 1-2 นาที ร่วมกับการเติม CMC 0.1% สามารถปรับปรุงความคงตัวของฟอง โดยยังคงรักษาค่ากำลังการเกิดฟองได้เทียบเท่า หรือสูงกว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องจาก CMC เป็น ionic gum ดังนั้นการให้ความร้อนแก่ สารละลายของโปรตีนก่อนการเติม CMC จะเป็นการกระตุ้นให้เกิด CMC-protein complex ซึ่งพันธะดังกล่าวเป็นพันธะที่เกิดขึ้นแล้วไม่ผันกลับ และยังคงสามารถละลายได้ดี (Whistler and other, 1993) จึงช่วยส่งเสริมการเกิดฟอง ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวจะไม่เกิดขึ้นระหว่างโปรตีนและ nonionic gums ชนิดอื่นๆ ส่วนการให้ความร้อนแก่โปรตีนไฮโดรไลเซทโดยไม่มีการเติม CMC พบว่าช่วยให้ความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้น เนื่องจากความร้อนจะไปกระตุ้นให้เกิด protein-protein interaction (Zayas,1997) และเพิ่มความหนืดให้กับสารละลายโปรตีน แต่ตัวอย่างที่ได้มีค่ากำลังการเกิดฟองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เพราะว่าความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพ ส่งผลให้การละลายลดลง

5.4.2. ผลการศึกษาหาปริมาณการเติม CMC ที่เหมาะสม

จากการทดลองเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้น 10 $^{0}$Brix ( ผลิตตามภาพที่ 3.1 ) โดยควบคุม pH 6.0 อุณหภูมิ 60 $^{0}$C อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรทเท่ากับ 1/80 เท่า (เอนไซม์เข้มข้น 1.25 mg/mg ของโปรตีนสกัด) และเวลาในการย่อยสลาย 15 นาที จากนั้นแปรปริมาณการเติม CMC ลงในโปรตีนไฮโดรไลเซทเป็น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 กรัม/100กรัม ของโปรตีนไฮโดรไลเซท ( dry basis ) ร่วมกับการให้ความร้อน 85 $^{0}$C 1-2 นาที ก่อนนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่ากำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองโดยหาค่า % Drip loss เทียบกับไข่ขาวผง แสดงผลการทดลองดังตารางที่ 4.22 - 4.25 พบว่าการเติม CMC ร้อยละ 0.1, 0.2 และ0.3 ให้ค่ากำลังการเกิดฟองเทียบเท่ากับไข่ขาวผงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และพบการเติม CMC ร้อยละ 0.4 และ0.5 ส่งผลให้ค่ากำลังการเกิดฟองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเกิดปัญหาในการกระจายตัวของ CMC ในสารละลายโปรตีน ไม่สม่ำเสมอเพราะความหนืดของสารละลาย CMC สูงขึ้น

ส่วนความคงตัวของฟองซึ่งแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ Drip loss ดังตารางที่ 4.24 พบว่าการเติม CMC ร้อยละ 0.2 และ 0.3 ตัวอย่างที่ได้ให้ค่าความคงตัวของฟองสูงกว่าไข่ขาวผงอย่างมีนัยสำคัญ

($p \leq 0.05$) ภายในเวลา 15 นาทีแรกของการหาเปอร์เซ็นต์ Drip loss แต่หลังจาก 15 นาที ความคงตัวของฟองด้อยกว่าไข่ขาวผงอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) แต่ยังคงสูงกว่าตัวอย่างที่ เติม CMC ร้อยละ 0.1, 0.4, 0.5 และตัวอย่างควบคุม เนื่องจากฟองของโปรตีนจากไข่ขาวมีลักษณะพิเศษที่สามารถเกิด beating คือการเกิด coagulation และแข็งตัวของโปรตีนบางส่วน ทำให้ฟองคงตัว ( Mine. Y, 1995 ) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวไม่เกิดขึ้นในโปรตีนพืชทุกชนิด

และเมื่อพิจารณาค่ากำลังการเกิดฟอง ประกอบกับความคงตัวของฟอง จะพบว่าการเติม CMC ร้อยละ 0.2 และ 0.3 สามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดฟองได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่เพื่อความประหยัดในการผลิต ดังนั้นในการทดลองขั้นนี้ จึงเลือกเติม CMC ร้อยละ 0.2 ร่วมกับการให้ความร้อน $85^{0}$ C เวลา 1-2 นาที ก่อนนำใส่ลงใน ice bath

5.5 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้ฟองผง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้ฟองผงที่ผลิตได้เทียบกับไข่ขาวผง พบว่าสารให้ฟองผงมีโปรตีนร้อยละ 76.17 หรือ 82.28 โดยน้ำหนักแห้ง ไขมันร้อยละ 0.10 เถ้าร้อยละ 7.46 ความชื้นร้อยละ 7.42 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 8.85 โดยพบว่าสารให้ฟองผงที่ผลิตได้มีโปรตีนสูงกว่าไข่ขาวผงทางการค้าซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 64.30 โดยน้ำหนักแห้ง และมีความชื้นร้อยละ 2.92 ในการทดลองในขั้นตอนนี้มิได้ศึกษาหาปริมาณเกลือ แต่เราสามารถประเมินปริมาณเกลือที่มีอยู่ในสารให้ฟองผงนี้ ได้จากปริมาณร้อยละของเถ้าที่เป็นองค์ประกอบ เนื่องจากเถ้าจะประกอบด้วยส่วนของเกลือแร่ต่างๆ ดังนั้นสารให้ฟองผงที่ผลิตได้นี้น่าจะมีเกลืออยู่ไม่เกินร้อยละ 7.46 ซึ่งจะเห็นว่าสูงกว่าในโปรตีนถั่วเขียวเริ่มต้น เพราะขณะย่อยสลาย พบว่ามีการลดลงของ pH เรื่อยๆแต่ในกระบวนการผลิตเราได้ควบคุมให้ pH คงที่ตลอดขณะย่อยสลาย ดังนั้นปริมาณเกลือในตัวอย่างน่าจะเพิ่มขึ้นตามเวลาในการย่อย

5.6 ผลการใช้สารให้ฟองผงในแองเจิลฟูดเค้ก

ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการใช้สารให้ฟอง ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 82.28 dry basis แทนไข่ขาวผงซึ่งมีโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 62.38 dry basis โดยทดลองใช้สารให้ฟองเติมในแองเจิลฟูดเค้กในปริมาณร้อยละ 2.07, 1.67, 1.27 และ 0.87 โดยน้ำหนัก เปรียบเทียบกับสูตรควบคุมที่ใช้ไข่ขาวผงร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ประเมินผลโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี การขึ้นฟู

การยุบตัว ความแน่นเนื้อ และความชอบด้านกลิ่น ของแองเจิลฟูดเค้ก ใช้แบบทดสอบชนิด Multiple Comparison Test ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 12 คน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan 's New Multiple Range Test แสดงผลการทดลองและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบดังตารางที่ 4.27-4.36

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณสารให้ฟองที่ใช้ มีผลต่อคะแนนการเปรียบเทียบด้านสีของแองเจิลฟูดเค้กอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนเฉลี่ยด้านสี พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองร้อยละ 2.07 และ 1.67 โดยน้ำหนักมีสีเข้มมากที่สุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองร้อยละ 1.27 โดยมีสีเข้มกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อยถึงปานกลาง ส่วน ผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองร้อยละ 0.87 ให้สีอ่อนมากที่สุด ซึ่งมีสีใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมมากที่สุดแต่อ่อนกว่าสีของตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย เนื่องจากหมู่คาร์บอนิล ( Carbonyl group ) ของโปรตีนสามารถรวมตัวกับน้ำตาลเกิดปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารสีน้ำตาลเมื่อมีความร้อนได้ (สุคนธ์ ชื่นงาม,2539) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนในปริมาณสูงกว่าจึงมีสีเข้มกว่าดังผลการทดลอง โดยผลิตภัณฑ์ที่มีสีใกล้เคียงตัวอย่างควบคุมมากที่สุด คือผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองร้อยละ 0.87

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณสารให้ฟองที่ใช้ มีผลต่อคะแนนการเปรียบเทียบด้านการขึ้นฟูของแองเจิลฟูดเค้กอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนเฉลี่ยด้านการขึ้นฟู พบว่าระดับการขึ้นฟูของผลิตภัณฑ์แปรตามปริมาณการเติมสารให้ฟอง การเติมสารให้ฟองร้อยละ 2.07, 1.67 และ 1.27 โดยน้ำหนัก พบว่าผลิตภัณฑ์ขึ้นฟูมากกว่าตัวอย่างควบคุม ส่วน ผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองปริมาณร้อยละ 0.87 โดยน้ำหนัก มีการขึ้นฟูน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมในระดับปานกลาง เนื่องจากกำลังการเกิดฟองของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.3

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณสารให้ฟองที่ใช้ มีผลต่อคะแนนการเปรียบเทียบด้านการยุบตัวของแองเจิลฟูดเค้กอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนเฉลี่ยด้านการยุบตัวของแองเจิลฟูดเค้ก พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองในปริมาณร้อยละ 2.07 โดยน้ำหนัก มีการยุบตัวมากที่สุด รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองในปริมาณร้อยละ 1.67, 1.27 และ 0.87 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่มีการขึ้นฟูสูง จะมีการยุบตัวมากตามไปด้วย เนื่อง

จากกำลังการเกิดฟองของโปรตีน จะแปรผกผันกับความคงตัวของฟอง ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีการขึ้นฟูสูง จึงมีการยุบตัวมาก เพราะมีความคงตัวของฟองต่ำ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณสารให้ฟองที่ใช้ มีผลต่อคะแนนการเปรียบเทียบด้านความแน่นเนื้อของแองเจิลฟูดเค้กอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนเฉลี่ยด้านความแน่นเนื้อของแองเจิลฟูดเค้ก พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารให้ฟองในปริมาณต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 0.87 โดยน้ำหนัก มีความแน่นเนื้อสูงสุด โดยมีความแน่นเนื้อน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย ถึงปานกลาง ซึ่งใกล้เคียงกับความแน่นเนื้อของตัวอย่างควบคุมมากที่สุด โดยพบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีการขึ้นฟูสูงจะมีความแน่นเนื้อต่ำ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าปริมาณสารให้ฟองที่ใช้ มีผลต่อคะแนนการเปรียบเทียบด้านกลิ่นของแองเจิลฟูดเค้กอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p \geq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารให้ฟองกับตัวอย่างควบคุม พบว่าผู้ทดสอบชอบกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารให้ฟองมากกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย เนื่องจากตัวอย่างควบคุมซึ่งใช้ไข่ขาวผงเป็นสารให้ฟองนั้น จะมีกลิ่นคาวของไข่ซึ่งผู้ทดสอบไม่ค่อยยอมรับ

จากผลการทดลองดังภาพที่ 4.13 และคะแนนทางด้านประสาทสัมผัส สังเกตเห็นว่าตัวอย่างที่มีการเติมสารให้ฟองในปริมาณสูง คือ ในระดับร้อยละ 1.67 และ 2.07 มีการขึ้นฟูสูงแต่ตัวอย่างดังกล่าวก็มีการยุบตัวมากตามปริมาณของสารให้ฟองที่เติม เนื่องจากการเติมสารให้ฟองมากเกินไป ทำให้เค้กพองฟูเร็ว ส่งผลให้โครงสร้างของเค้กถูกทำลายขณะอบ เมื่อนำออกจากเตาอบโครงสร้างที่ไม่แข็งแรงก็จะยุบตัวลงเป็นร่อง (จิตธนา แจ่มเมฆ และ อรอนงค์ นัยวิกุล, 2541) ดังนั้นตัวอย่างที่เติมสารให้ฟองร้อยละ 1.27 โดยน้ำหนัก เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากตัวอย่างมีการขึ้นฟูสูงกว่าตัวอย่างควบคุมปานกลาง และมีการยุบตัวเล็กน้อย ส่วนตัวอย่างที่เติมสารให้ฟองร้อยละ 0.87 โดยน้ำหนัก พบว่าไม่มีการยุบตัว เนื่องจากตัวอย่างไม่ขึ้นฟู อาจเป็นผลจากตัวอย่างมีความเข้มข้นของโปรตีนต่ำเกินไป ส่งผลทำให้ความสามารถในการเก็บอากาศต่ำในระหว่างการตีให้ขึ้นฟู