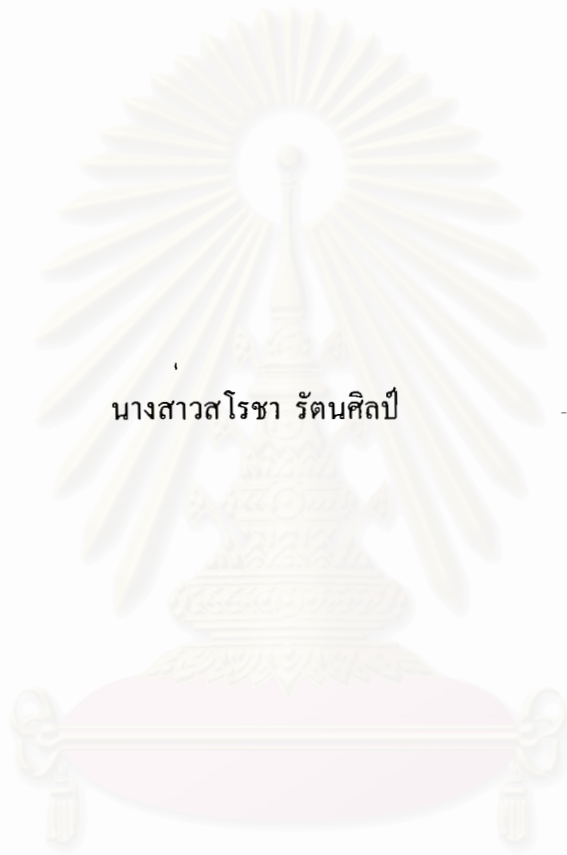


การนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวโดยกระบวนการแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว



นางสาวสโรชา รัตนศิลป์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-17-6267-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PROTEIN RECOVERY FROM MUNG BEAN FLOUR WASHING WATER BY SINGLE ICE CRYSTAL
FREEZE-CONCENTRATION.

Miss Sarocha Rattanasin



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6267-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งข้าวโดยกระบวนการแช่เยือกแข็ง
แบบผลึกเดี่ยว

โดย

นางสาวสโรชา รัตนศิลป์

ภาควิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร


อาจารย์ที่ปรึกษา

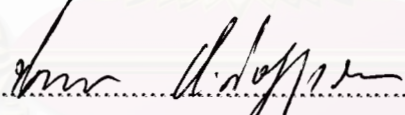
อาจารย์ ดร. ชิตพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ

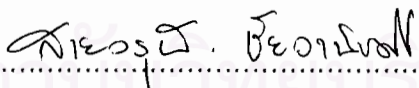
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

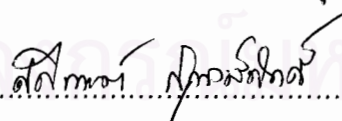

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลหาสงคราม)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร. ชิตพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ศศิกันต์ กุ้งษ์ศักดิ์)

สโรชา รัตนศิลป์ : การนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวโดยกระบวนการแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว (PROTEIN RECOVERY FROM MUNG BEAN FLOUR WASHING WATER BY SINGLE ICE CRYSTAL FREEZE-CONCENTRATION) อ. ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ, 63 หน้า.
ISBN 974-17-6267-4.

ในงานวิจัยนี้มีแนวคิดที่จะนำวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวมาประยุกต์ใช้กับการนำกลับโปรตีนในน้ำล้างแป้งถั่วเขียว โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ของแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง และความเร็วรอบใบกวน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแยกเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นตามความเข้มข้นโปรตีนที่สูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 6.5 ± 1.0 และ 14.0 ± 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แปรอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็งและความเร็วรอบใบกวนเป็น 3 ระดับ (0.5, 1.0 และ 2.0 เซนติเมตรต่อชั่วโมง และ 200, 500 และ 800 รอบต่อนาที ตามลำดับ) ในขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีน 19.0 ± 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แปรอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งและความเร็วรอบใบกวนเป็น 2 ระดับ (0.5 และ 1.0 เซนติเมตรต่อชั่วโมง และ 500 และ 800 รอบต่อนาที ตามลำดับ) พบว่าเมื่อสารละลายโปรตีนมีความเข้มข้น 6.5 ± 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง 0.5 และ 1.0 เซนติเมตรต่อชั่วโมง และความเร็วรอบใบกวน 500 และ 800 รอบต่อนาที ให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกต่ำสุด คืออัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง 0.5 เซนติเมตรต่อชั่วโมง และความเร็วรอบใบกวน 500 และ 800 รอบต่อนาที โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีน 19.0 ± 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งที่น้อยที่สุด 0.5 เซนติเมตรต่อชั่วโมง และความเร็วรอบใบกวนมากที่สุดคือ 800 รอบต่อนาที ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกต่ำสุด นอกจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแยกกับความเข้มข้นของสารละลายที่ได้จากการทดลองในแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวสามารถใช้ทำนายการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนที่ได้จากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้น และจากการศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียวจากสารละลายแบบจำลองเริ่มต้นและสารละลายเข้มข้นได้แก่ การดูดซับน้ำและน้ำมัน ค่า emulsifying activity index และการละลายของโปรตีน พบว่าโปรตีนจากสารละลายแบบจำลองและสารละลายเข้มข้นมีค่าการดูดซับน้ำ ค่า emulsifying activity index และการละลายที่ค่าความเป็นกรดต่าง 4.5, 7.0 และ 9.0 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ค่าการดูดซับน้ำมันของสารละลายเข้มข้นพบว่ามีค่ามากกว่าสารละลายแบบจำลอง ซึ่งเมื่อศึกษาการดูดซับน้ำมันของโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้นทั้งก่อนและหลังทำเข้มข้นด้วยวิธีนี้ พบว่าสารละลายเข้มข้นที่ผ่านการทำเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็งมีการดูดซับน้ำมันมากกว่าสารละลายเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อนิสิต.....สโรชา รัตนศิลป์.....
สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2547.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4472440823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : FREEZE CONCENTRATION / MUNG BEAN / PROTEIN RECOVERY

SAROCHA RATTANASIN : PROTEIN RECOVERY FROM MUNG BEAN FLOUR WASHING WATER BY SINGLE ICE CRYSTAL FREEZE-CONCENTRATION.

THESIS ADVISOR : CHIDPHONG PRADISTSUWANA, Ph.D., 63 pp.

ISBN 974-17-6267-4.

This research aimed at studying the factors affecting the effective partition constant (K) of modeled mung bean flour washing water. The factors investigated were the concentration of protein solution (6.5 ± 1.0 , 14.0 ± 1.0 and 19.0 ± 1.0 mg/ml), the rate of the progress of ice front (0.5, 1.0 and 2.0 cm/hr), and the stirring rate (200, 500 and 800 rpm). Moreover, the relationship between the K value and the concentration of protein solution obtained from this modeled solution was used to predict the changes in protein concentration of actual mung bean flour washing water from the vermicelli industry. At the protein concentrations of 6.5 ± 1.0 and 14.0 ± 1.0 mg/ml, the rate of the progress of ice front and the stirring rate were investigated in all 3 levels. However, at the protein concentration of 19.0 ± 1.0 mg/ml, the rate of the progress of ice front and the stirring rate were varied in only 2 levels (i.e., 0.5 and 1.0 cm/hr, and 500 and 800 rpm, respectively). At the conditions where the protein concentration was 6.5 ± 1.0 mg/ml, the rates of the progress of ice front were 0.5 and 1.0 cm/hr, and the stirring rates were 500 and 800 rpm, the K values were nearly zero. The lowest K value was obtained when the rate of the progress of ice front was 0.5 cm/hr, and the stirring rates were 500 and 800 rpm, at the protein concentration of 14.0 ± 1.0 mg/ml. At protein concentration of 19.0 ± 1.0 mg/ml, the lowest K value could be obtained when using the lowest rate of the progress of ice front (0.5 cm/hr) in combination with the highest stirring rate (800 rpm). The linear relationship between the K value and the protein concentration obtained from the modeled solution could reasonably predict the concentration changes of waste protein solution from the vermicelli industry. Furthermore, this study also investigated the functional properties of mung bean protein from the modeled solution and of the resulting concentrated solution after being treated at the progress rate of ice front of 0.5 cm/hr and the stirring rate of 800 rpm. It was found that the solubility, the water adsorption value, and the emulsion activity index of mung bean protein from the modeled solution and those of the resulting concentrated solution were not significantly different ($p > 0.05$). On the other hand, the oil adsorption value of the resulting concentrated protein was significantly higher than that of the protein of the original modeled solution ($p \leq 0.05$).

Department... Food Technology...

Field of Study... Food Technology...

Academic year... 2004...

Student's signature... *Sarocho Rattanasin*

Advisor's signature... *Chidphon Pradistsuwana*

Co-advisor's signature... *Chidphon Pradistsuwana*

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ชิตพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดระยะเวลาของการปฏิบัติงานวิจัยนี้ จนทำให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลหาสงคราม ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ และอาจารย์ ดร. ศศิกานต์ กุ้พงษ์ศักดิ์ ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และเสนอแนวทางแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน ที่กรุณาจัดหาทุนวิจัยจากชุดโครงการสำรวจเพื่อประเมินผลและวางแผนการวิจัยเพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตร – อุตสาหกรรมอาหาร งบประมาณแผ่นดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2544-2545

ขอขอบพระคุณ ชุดโครงการสำรวจเพื่อประเมินผลและวางแผนการวิจัยเพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตร – อุตสาหกรรมอาหาร งบประมาณแผ่นดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2544-2545 และทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบพระคุณ บริษัท ไทยฮา จำกัด (มหาชน) สำหรับตัวอย่างน้ำล้างแป้งถั่วเขียว และทุนอุดหนุนการวิจัย

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่และบุคลากรภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านสารเคมี อุปกรณ์และครุภัณฑ์ต่าง ๆ ตลอดงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนด้านทุนทรัพย์ ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ พี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อนๆ ทุกคนสำหรับความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์.....	ฐ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วารสารปริทัศน์.....	2
2.1 โพรตีนถั่วเขียว.....	2
2.2 การทำเข้มข้น.....	5
2.3 สมบัติด้านต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว.....	11
2.4 การเสียดสภาพของโปรตีน.....	12
3 วิธีการทดลอง.....	14
3.1 การเตรียมแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว.....	14
3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลาย.....	14
3.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นต่อเวลา.....	14
3.2.2 ศึกษาความสัมพันธ์การแยกเฉลี่ย (K) ที่หาจากความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาตร(V_L)และความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ (C_L).....	17
3.3 ศึกษาความสัมพันธ์การแยก(K) ของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว โดยวิธีแซ่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว.....	17
3.4 การทำนายความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นในการนำกลับโปรตีน จากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้ความสัมพันธ์ ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) กับความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) ที่ได้จากแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว.....	18
3.5 ศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีน.....	18
3.5.1 การละลายของโปรตีน.....	18
3.5.2 การดูดซับน้ำและน้ำมัน.....	19

3.5.3 การวิเคราะห์ค่า emulsifying activity index.....	19
4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	21
4.1 แบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว.....	21
4.2 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายที่ได้.....	23
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นต่อเวลา.....	23
4.2.2 ค่าสัมประสิทธิ์การแยกเฉลี่ย (K) ที่หาจากความสัมพันธ์ระหว่าง V_L และ C_L	26
4.3 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) ของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว โดยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว.....	34
4.3.1 อิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) และความเร็วรอบใบกวน (Nr) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K).....	34
4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย(C_L) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์ การแยก (K).....	37
4.4 การทำนายความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นในการนำกลับโปรตีนจาก น้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) กับความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) ที่ได้จาก แบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว.....	41
4.5 ศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว.....	48
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	51
รายการอ้างอิง.....	53
ภาคผนวก.....	55
ภาคผนวก ก.....	56
ภาคผนวก ข.....	57
ภาคผนวก ค.....	58
ภาคผนวก ง.....	60
ภาคผนวก จ.....	62
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	63

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 Essential amino acid profile of mung bean, hen's egg protein and the FAO/WHO (1985) amino acid reference profile for human consumption.....	1
4.1 องค์ประกอบของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว.....	21
4.2 ปริมาณกรดอะมิโนในสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบระเหิด.....	22
4.3 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เฉลี่ยที่ได้จากความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/N_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$	32
4.4 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อสารละลายเข้มข้น 6.5 ± 1 mg/ml.....	34
4.5 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อสารละลายเข้มข้น 14 ± 1 mg/ml.....	35
4.6 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อสารละลายเข้มข้น 19 ± 1 mg/ml.....	35
4.7 สมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว.....	48
4.8 สัดส่วนของกรดอะมิโนต่อกรดอะมิโนทั้งหมดที่พบในสารละลายแบบจำลอง และสารละลายโปรตีนเข้มข้นจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียว.....	49

สารบัญญภาพ

ญ

ภาพประกอบ	หน้า
2.1	กระบวนการผลิตวุ้นเส้น.....4
2.2	Concentration polarization ของการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว...10
3.1	ชุดอุปกรณ์การทำเข้มข้นแบบ single ice crystal freeze-concentration..... 15
4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลาย เข้มข้น (C_L) และผลึกน้ำแข็ง (C_S) เมื่อ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm.....24
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลาย เข้มข้น (C_L) และผลึกน้ำแข็ง (C_S) เมื่อ $u = 1.0$ cm/hr และ $Nr = 500$ rpm.....24
4.3	ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในสภาวะอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 800 rpm เป็นเวลา 16 ชั่วโมง..... 25
4.4	ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในสภาวะอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm เป็นเวลา 7.4 ชั่วโมง.....25
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนปริมาตรสารละลายที่ได้ (V_0/V_L) และอัตราเข้มข้น ($C_{L,sam}/C_0$) เมื่อความเร็วรอบใบกวน 200 rpm.....27
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนปริมาตรสารละลายที่ได้ (V_0/V_L) และอัตราเข้มข้น (C_L/C_0) เมื่ออัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง 2.0 cm/hr.....27
4.7	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิด ผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 200 rpm.....28
4.8	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิด ผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 200 rpm.....28
4.9	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิด ผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 200 rpm.....29
4.10	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิด ผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm.....29
4.11	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิด ผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm.....30
4.12	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิด ผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm.....30

4.13	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/N_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm.....	31
4.14	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/N_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm.....	31
4.15	ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/N_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm	32
4.16	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm.....	33
4.17	อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 500 rpm	33
4.18	อิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง (u) และความเร็รรอบใบกวน (Nr) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สารละลายเข้มข้น 14 ± 1 mg/ml.....	36
4.19	อิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง (u) และความเร็รรอบใบกวน (Nr) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สารละลายเข้มข้น 19 ± 1 mg/ml.....	37
4.20	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ($C_{L,cal}$) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่อ $u = 0.5$ cm/hr.....	38
4.21	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ($C_{L,cal}$) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่อ $u = 1.0$ cm/hr.....	38
4.22	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ($C_{L,cal}$) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่อ $u = 2.0$ cm/hr.....	39
4.23	การเปลี่ยนแปลงความหนาของชั้นสารละลายที่มีความแตกต่างของความเข้มข้น (boundary layer; δ) เมื่อเพิ่มกระแสเฉือนบริเวณผิวระหว่างหน้า (interface)	40
4.24	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) กับค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) ที่สภาวะ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm.....	44
4.25	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) กับค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) ที่สภาวะ $u = 1.0$ cm/hr และ $Nr = 500$ rpm.....	44
4.26	การเปรียบเทียบระหว่างปริมาตร (V_L) และความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ (C_L) ที่ทำนายจากสมการกับค่าจากการทดลอง เมื่อ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm...	45

- 4.27 การเปรียบเทียบระหว่างปริมาตร (V_L) และความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ (C_L)
 ที่ทำนายจากสมการกับค่าจากการทดลอง เมื่อ $u = 1.0$ cm/hr และ $Nr = 500$ rpm....45
- 4.28 เปรียบเทียบเปรียบเทียบค่า C_L ที่ได้จากการทดลอง (Observed values) และ
 ค่า C_L จากสมการของสารละลายแบบจำลอง (Predicated values) ที่สภาวะ
 อัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) 0.5 cm/hr และอัตราเร็วใบกวน (Nr) 800 rpm.....46
- 4.29 เปรียบเทียบเปรียบเทียบค่า C_L ที่ได้จากการทดลอง (Observed values) และ
 ค่า C_L จากสมการของสารละลายแบบจำลอง (Predicated values) ที่สภาวะ
 อัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) 1.0 cm/hr และอัตราเร็วใบกวน (Nr) 500 rpm.....46



คำอธิบายสัญลักษณ์

δ	=	boundary layer
ϕ	=	oil volume fraction
C_f	=	สัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวถูกละลายในสารละลายเริ่มต้น
C_i	=	สัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวถูกละลายในน้ำแข็งที่แยกได้
C_p	=	สัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวถูกละลายในสารละลายเข้มข้น
C_L	=	ความเข้มข้นของสารละลายที่ใด ๆ
$C_{L,cat}$	=	ความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นจากการคำนวณ ณ จุดกึ่งกลางน้ำแข็ง
$C_{L,sam}$	=	ความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นจากการเก็บตัวอย่าง
C_0	=	ความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้นการทดลอง
C_s	=	ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในน้ำแข็ง
d	=	ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางภายในในกระบอก
D	=	diffusivity
k	=	สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสาร
K_0	=	intrinsic partition constant
K	=	ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (effective partition constant)
Nr	=	ความเร็วรอบใบกวน
u	=	อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง
V_0	=	ปริมาตรของสารละลายเริ่มต้นการทดลอง
V_L	=	ปริมาตรของสารละลายเข้มข้นที่ได้
W_i	=	อัตราส่วนการแยกน้ำแข็งออกจากสารละลายเริ่มต้น

บทที่ 1

บทนำ

ถั่วเขียวเป็นพืชตระกูลถั่ว (Legume) ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะโปรตีนมีประมาณร้อยละ 20-26 โดยน้ำหนักเปียก นิยมใช้เป็นอาหารบริโภคโดยตรงและใช้เป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น แป้งถั่วเขียว วุ้นเส้น โดยการแปรรูปดังกล่าวจะต้องใช้น้ำปริมาณมากเป็นตัวชะล้างโปรตีนออกไป เพื่อให้แป้งบริสุทธิ์และได้วุ้นเส้นที่มีลักษณะใสและเหนียว ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลผลิตถั่วเขียวภายในประเทศในแต่ละปีพบว่าร้อยละ 50 ถูกใช้ในอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้นซึ่งนิยมเตรียมแป้งถั่วเขียวภายในโรงงานเอง ดังนั้นจะมีโปรตีนถั่วเขียวที่สูญเสียไปกับน้ำทิ้งในโรงงานเหล่านี้ในปริมาณมาก จึงควรนำกลับโปรตีนเหล่านี้เพื่อใช้ประโยชน์จากผลผลิตทางการเกษตรให้คุ้มค่า ซึ่งปัจจุบันการนำกลับโปรตีนนี้จะใช้สารเคมีและความร้อนทำให้โปรตีนที่ได้เสียสภาพ จึงควรพัฒนาวิธีการนำกลับโปรตีนเพื่อให้ได้โปรตีนที่มีคุณภาพสูงขึ้น

การทำเข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งนี้เป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิต่ำและไม่ใช้สารเคมี จึงคาดว่า การนำกลับโปรตีนด้วยวิธีนี้จะได้โปรตีนที่ไม่เสียสภาพและมีสมบัติที่ดีสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้ นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังสูญเสียกลิ่นรสและคุณค่าทางโภชนาการต่ำ และสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเคมีหรือการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำเข้มข้นได้ การทำเข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งแบบดั้งเดิม (suspension freeze concentration) เป็นวิธีที่ก่อให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กๆ กระจายในสารละลาย ซึ่งวิธีนี้ต้องมีขั้นตอนการแยกผลึกน้ำแข็งออกจากสารละลายเข้มข้นทำให้มีการสูญเสียตัวถูกละลายที่แทรกตัวอยู่ตามช่องว่างของน้ำแข็งเป็นปริมาณมาก ปัจจุบันได้มีวิธีที่จะขจัดข้อด้อยดังกล่าวโดยการพยายามทำให้ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นเป็นผลึกเดี่ยว เรียกว่าการทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว (single ice crystal freeze-concentration)

ดังนั้นในการวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีการแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวในการนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียว โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อสัมประสิทธิ์การแยกของแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย อัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง และความเร็วรอบใบกวน แล้วเลือกสภาวะที่ทำให้ประสิทธิภาพการนำกลับโปรตีนสูงที่สุด เพื่อศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนจากสารละลายเริ่มต้นและสารละลายเข้มข้นอีกด้วย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 โปรตีนถั่วเขียว

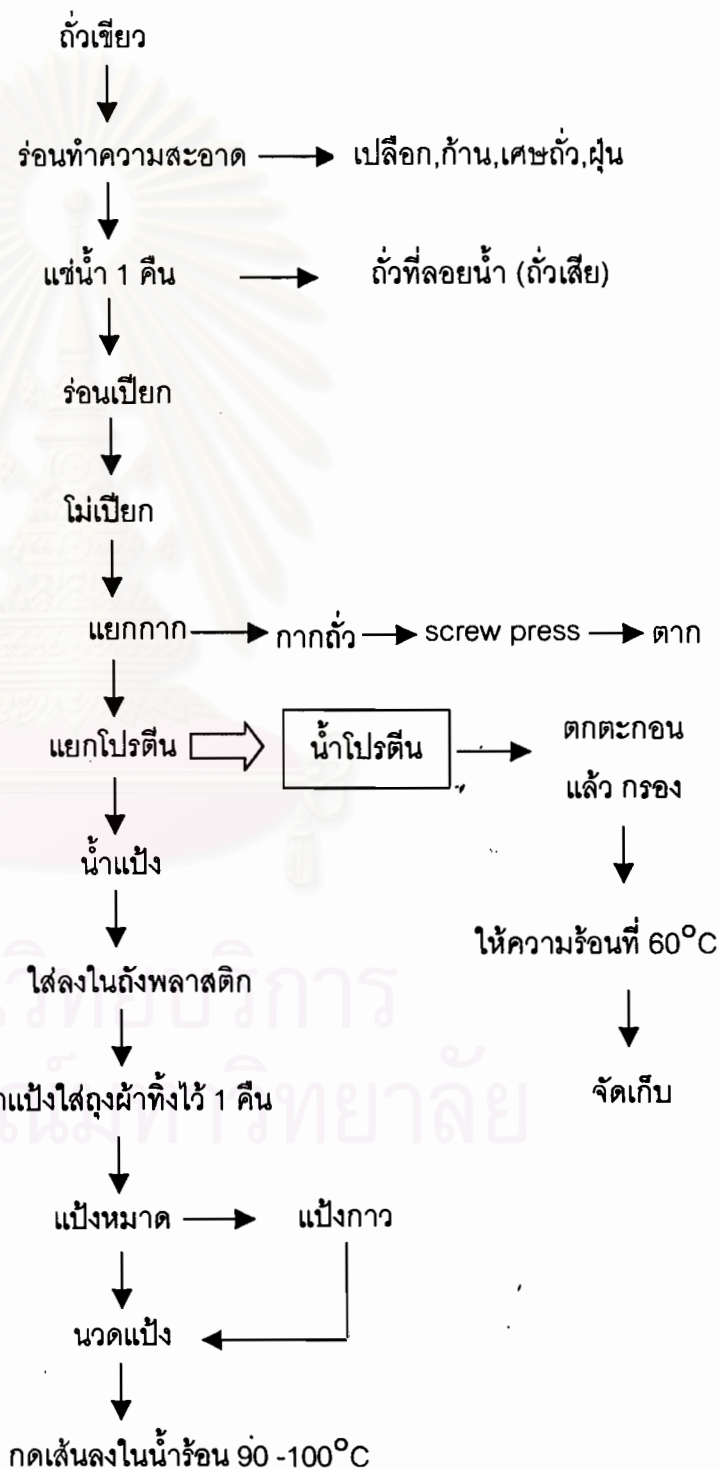
ถั่วเขียว (mung bean หรือ green gram) เป็นพืชตระกูลถั่ว มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Vigna radiata* (L.) Wilczek เป็นแหล่งโปรตีนในพืชที่สำคัญคือมีโปรตีนประมาณร้อยละ 23 โดยน้ำหนักเปียก ซึ่งโปรตีนส่วนใหญ่เป็นชนิด globulin ที่ละลายในสารละลายเกลือเจือจาง และ albumin ที่ละลายในน้ำ โดยโมเลกุลของโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ประกอบด้วยกรดอะมิโนต่างๆ ซึ่งจากตารางที่ 2.1 พบว่าถั่วเขียวมีกรดอะมิโนที่จำเป็นในมนุษย์ครบทั้ง 9 ชนิด และมีปริมาณเพียงพอสำหรับผู้ใหญ่ โดยกรดอะมิโนที่พบมากคือ lysine และพวก aromatic amino acid ได้แก่ phenylalanine และ tyrosine ซึ่งมีปริมาณมากกว่าในไข่ไก่ แต่เมื่อพิจารณาถึงเด็กอายุระหว่าง 2-5 ปี ถั่วเขียวจัดเป็นอาหารโปรตีนที่ขาด tryptophan และพวก sulphur-containing amino acid ได้แก่ methionine และcystine

ตารางที่ 2.1 Essential amino acid profile of mung bean, hen's egg protein and the FAO/WHO (1985) amino acid reference profile for human consumption

Amino acid (% of protein)	Mungbean	Hen's egg	Ref. Profile	
			Child (2-5 years)	Adult
Histidine	3.2	3.2	1.9	1.6
Isoleucine	4.6	4.9	2.8	1.3
Leucine	7.4	8.1	6.6	1.9
Lysine	7.7	6.5	5.8	1.6
Methionine+Cystine	1.6	2.3	2.5	1.7
Phenylalanine+Tyrosine	9.3	8.6	6.3	1.9
Threonine	3.4	3.4	3.4	0.9
Tryptophan	0.8	1.1	1.1	0.5
Valine	5.2	4.4	3.5	1.3

ที่มา; Khalil และ Khan (1995)

แต่อย่างไรก็ตามในการแปรรูปถั่วเขียวเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ถั่วเส้น สลิม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเด่นคือใสและเหนียวนั้น จำเป็นต้องมีการล้างโปรตีนออก ดังเช่นกระบวนการผลิตถั่วเส้นในภาพที่ 2.1 ซึ่งเห็นได้ว่าโปรตีนดังกล่าวจะถูกชะล้างไปกับน้ำทิ้งในปริมาณมาก





ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตดูลเส้น

ที่ผ่านมาได้มีการนำกลับโปรตีนส่วนนี้โดยการอบแห้ง แล้วนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ แต่ปัจจุบันได้มีการพยายามนำกลับโปรตีนดังกล่าวเพื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น เช่น

อรสา สุริยาพันธ์ (2531) ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนถั่วเขียวเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมดูลเส้นมาใช้เป็นวัตถุดิบร่วมกับกากถั่วเหลืองในการผลิตน้ำชอสปรุงรส โดยพบว่าสามารถผสมโปรตีนถั่วเขียวที่ย่อยด้วยกรดแทนกากถั่วเหลืองในปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตร โดยไม่ทำให้คุณภาพด้านประสาทสัมผัสต่ำลง และหลังจากปรุงแต่งรสชาติด้วยน้ำตาลทรายและผงชูรสพบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วงขอบเล็กน้อยถึงปานกลาง เนื่องจากโปรตีนถั่วเขียวย่อยด้วยกรดที่เตรียมได้มีกลิ่นเค็มและคาว (คล้ายน้ำปลา)

ละวาดอร เปล่งวิทยา และ จุฑามาศ แก้วประเสริฐ (2537) ศึกษาถึงสัดส่วนของการนำโปรตีนถั่วเขียวที่สกัดได้ และโปรตีนถั่วเขียวที่เหลือจากการผลิตดูลเส้น มาใช้เสริมโปรตีนในผลิตภัณฑ์ประเภทข้าวเกรียบกึ่งสำเร็จรูป พบว่าข้าวเกรียบเสริมโปรตีนถั่วเขียว 4% ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบมากที่สุด นอกจากนี้โปรตีนจากทั้งสองแหล่งยังช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสและความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้นอีกด้วย

ปริญญา ศิริกุลชยานนท์ (2544) ศึกษาการผลิตสารทดแทนไขมันสำหรับอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำจากโปรตีนถั่วเขียว พบว่าโปรตีนถั่วเขียวจากน้ำทิ้งของโรงงานผลิตแป้งถั่วเขียวที่

ไม่ตัดแปรทางเคมีโดยวิธี succinylation เหมาะสมในการผลิตสารทดแทนไขมันมากที่สุด คือให้อุณหภูมิขนาด 0.1- 3 ไมครอนที่มีรูปร่างเป็นวงกลมในส่วนซังเหลวในปริมาณ 94.66% ของอนุภาคทั้งหมด นอกจากนี้ยังเสนอให้พัฒนากระบวนการแยกโปรตีนออกจากน้ำทิ้งของโรงงานด้วยวิธีการอื่น เช่น freeze concentration และ ultrafiltration เพื่อรักษาสภาพและสมบัติของโปรตีนในการนำกลับไปใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ

ดังนั้นการนำกลับโปรตีนโดยการอบแห้ง ซึ่งใช้ความร้อนสูงทำให้โปรตีนเสียสภาพ จึงเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมอีกต่อไป เนื่องจากทำให้โปรตีนเสียสภาพและสมบัติต่างๆ เปลี่ยนแปลงไป

2.2 การทำเข้มข้น (concentration) (สมบัติ ขอทวีวัฒนา, 2535)

วิธีการทำเข้มข้นที่ใช้อุณหภูมิต่ำที่อาจในการนำกลับโปรตีนมีอยู่ 3 วิธี ได้แก่ การระเหยระบบสุญญากาศ (vacuum evaporation) การทำเข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane concentration) และการทำเข้มข้นโดยการแช่เยือกแข็ง (freeze concentration)

1. การระเหยระบบสุญญากาศ (vacuum evaporation)

เป็นวิธีที่กำจัดน้ำออกโดยการทำให้น้ำกลายเป็นไอ ซึ่งน้ำที่กำจัดออกไปเป็นส่วนน้ำอิสระ (free water) ที่มีอยู่ในของเหลวเท่านั้น โดยไม่ทำให้เกิดการสูญเสียสารประกอบอื่นที่ละลายน้ำได้ (soluble solid) การระเหยระบบสุญญากาศนี้ถึงแม้จะมีราคาต้นทุนสูง สามารถกำจัดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการออก และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นสูง แต่ยังเป็นวิธีที่ต้องใช้ความร้อน

2. การทำเข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane concentration)

เป็นกระบวนการแยกน้ำออกโดยอาศัยการซึมผ่านแผ่นเยื่อบางๆ (membrane) ซึ่งสามารถแยกน้ำออก หรือการทำเข้มข้นโดยไม่ต้องใช้ความร้อน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงสถานะ มี 3 วิธี คือ

2.1 ออสโมซิส (osmosis) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเมื่อมีสารละลายสองชนิดที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แต่มีตัวทำละลาย (solvent) เหมือนกัน ซึ่งน้ำจะถูกแยกออกโดยซึมผ่านแผ่นเยื่อเลือกผ่านที่เป็น semipermeable membrane จากสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงกว่า โดยที่ความเข้มข้นของ osmotic agent ต้องมากพอที่จะทำให้ความดันออสโมติกของสารละลายสูงกว่าความดันออสโมติกของสารละลายที่ต้องการทำเข้มข้น

2.2 รีเวอร์สออสโมซิส (reverse osmosis) เป็นกระบวนการที่มีการไหลตรงข้ามกับออสโมซิส คือ น้ำจะเคลื่อนที่จากสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงไปยังด้านที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า โดยใช้แรงดันที่มากกว่าความดันออสโมติก

2.3 อุลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) เป็นกระบวนการที่ใช้ความดันเพื่อทำให้ตัวทำละลายและโมเลกุลของตัวถูกละลายขนาดเล็กเคลื่อนที่ผ่านแผ่นเมมเบรน ซึ่งสะสมเป็น permeate ส่วนโมเลกุลของตัวถูกละลายที่มีขนาดใหญ่กว่าจะไม่ผ่านแผ่นเมมเบรน แต่สะสมอยู่ในส่วนของสารละลายเข้มข้น ซึ่งแผ่นเมมเบรนของอุลตราฟิลเตรชันจะมีรูขนาดใหญ่กว่ารีเวอร์สออสโมซิส

การทำเข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรนเป็นวิธีที่ง่ายต่อการจัดการ ประหยัดพลังงาน และสามารถรักษากลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ แต่มีปัญหาเรื่องอุปกรณ์มีราคาแพง การอุดตันหรือรั่วไหลของเมมเบรน และถ้าเลือกเมมเบรนไม่เหมาะสมอาจทำให้สูญเสียกลิ่นรสได้ด้วย นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของความเข้มข้นที่ต่ำ

3. การทำเข้มข้นโดยการแช่เยือกแข็ง (freeze concentration)

การทำเข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งนี้เป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิต่ำและไม่ใช้สารเคมี ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและกลิ่นรสน้อย และสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเคมีหรือการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำเข้มข้นได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกกระบวนการทำเข้มข้นโดยการแช่เยือกแข็ง (freeze concentration) ในการนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียว

การทำเข้มข้นโดยการแช่เยือกแข็ง (Freeze concentration)

การทำให้สารละลายเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็งสามารถทำได้โดยการลดอุณหภูมิของสารละลายลงให้ต่ำกว่าหรือเท่ากับจุดเยือกแข็งของน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายของอาหารเหลว เพื่อให้ น้ำเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งภายในสารละลาย เป็นผลให้ความเข้มข้นของสารละลายในระบบสูงขึ้นเมื่อแยกผลึกน้ำแข็งออก Muller (1967) และ Deshpande Bolin และ Salunlike (1982) ได้แสดงอัตราความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้ขึ้นกับปริมาณน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิต ดังสมการที่ (2.1)

$$W_i = (C_p - C_f) / (C_p - C_i) \quad \dots(2.1)$$

เมื่อ W_i คือ อัตราส่วนการแยกน้ำแข็งออกจากสารละลายเริ่มต้น

C_p คือ สัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวถูกละลายในสารละลายเข้มข้น (น้ำหนักของแข็งต่อน้ำหนักสารละลายเข้มข้น)

C_i คือ สัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวถูกละลายในน้ำแข็งที่แยกได้ (น้ำหนักของแข็งต่อน้ำหนักน้ำแข็ง)

C_f คือ สัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวถูกละลายในสารละลายเริ่มต้น (น้ำหนักของแข็งต่อน้ำหนักสารละลายเริ่มต้น)

ในกรณีที่น้ำแข็งที่แยกได้มีความบริสุทธิ์สูงมากหรือไม่มีการสูญเสียเนื้อของแข็งไปกับน้ำแข็ง ($C_i = 0$) จะได้ดังนี้

$$W_i = 1 - (C_f/C_p) \quad \dots (2.2)$$

การทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งมี 2 แบบ

คือ กระบวนการแช่เยือกแข็งแบบผลึกแขวนลอย (suspension freeze concentration) และแบบผลึกเดี่ยว (single ice crystal freeze-concentration)

1. การทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกแขวนลอย(suspension freeze concentration)

เป็นวิธีแบบดั้งเดิม ประกอบด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ การแช่เยือกแข็งเพื่อสร้างผลึกน้ำแข็ง (ice nucleation) การบ่มให้ผลึกน้ำแข็งขยายใหญ่ขึ้น (recrystallization) และการแยกผลึกน้ำแข็ง (ice crystals separation) เทคนิคที่สำคัญสำหรับวิธีการนี้คือ การทำให้ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อให้แยกผลึกน้ำแข็งออกจากสารละลายได้ง่ายขึ้น ซึ่งสามารถทำได้โดยการควบคุมอุณหภูมิการแช่เยือกแข็งไม่ให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของน้ำ เพื่อไม่ให้เกิดภาวะ supercooling ซึ่งทำให้ผลึกน้ำแข็งไม่ขยายขนาดหรือไม่เกิดการพอกสะสมของผลึกน้ำแข็ง ที่ภาวะ supercooling นี้จะก่อให้เกิดการสร้างผลึกน้ำแข็งเล็ก ๆ ขึ้นใหม่แทน (Muller, 1967) การแยกผลึกน้ำแข็งเล็ก ๆ ที่กระจายอยู่ในสารละลายที่ชั้นหนืดจากอุณหภูมิที่ลดลงและความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น จะทำได้ยากและทำให้สูญเสียเนื้อของแข็งไปกับน้ำแข็ง เป็นเหตุให้การทำให้เข้มข้นมีผลผลิตค่อนข้างต่ำ (Ramteke et al., 1993) ซึ่งการแยกผลึกน้ำแข็งอาจทำได้โดย filter press, wash column หรือ centrifuge เป็นต้น ฉะนั้นวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการแยกของการแช่เยือกแข็งแบบผลึกแขวนลอยคือ การสร้างผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่ ทำให้สามารถลดพื้นที่ผิวของผลึกน้ำแข็งที่ solid จะมาแทรกตัวอยู่

2. การทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว (single ice crystal freeze-concentration)

หลักการของวิธีทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว ทำได้โดยการลดอุณหภูมิของระบบลงอย่างช้าๆ หรือ ลดอัตราการหล่อเย็น (cooling rate) ของระบบ ทำให้เกิดการแยกเฟสของน้ำแข็งกับสารละลายโดยเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่เพียงผลึกเดียวเท่านั้นในระบบ (Liu, Miyawaki และ Nakamura; 1997) ดังนั้นจึงเป็นการลดกระบวนการที่ยุงยากซับซ้อนในขั้นตอนการแยกน้ำแข็งออกจากสารละลายเข้มข้น ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในระบบการทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกแขวนลอย

ดังนั้นในการวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีการแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวในการนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแปรงถั่วเขียว

กลไกการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว

กลไกที่เกิดขึ้น คือการกำจัดโมเลกุลของตัวถูกละลายออกจากบริเวณผิวหน้าของน้ำแข็ง หรือบริเวณผิวระหว่างหน้าของผลึกน้ำแข็งกับสารละลาย (ice front หรือ interface) ซึ่งผิวระหว่างหน้าดังกล่าวจะขยายตัวหรือมีการเคลื่อนตำแหน่งอยู่ตลอดเวลาอย่างต่อเนื่อง ซึ่ง Miyawaki, Liu และ Nakamura (1998) ได้แสดงสัมประสิทธิ์การแยกโดยใช้ค่า effective partition constant (K) ดังนียบตามสมการที่ 2.3

$$K = C_s / C_L \quad \dots (2.3)$$

เมื่อ C_s คือ ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในส่วนน้ำแข็ง (mg/ml)

C_L คือ ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในส่วนสารละลาย (mg/ml)

ถ้าให้สารละลายมีความเข้มข้น C_L และปริมาตรสารละลาย (V_L ในหน่วย ml) เมื่อมีการสร้างน้ำแข็งด้วยปริมาตรเท่ากับ $-dV_L$ ปริมาตรสารละลายจะเหลือเท่ากับ $V_L + dV_L$ และความเข้มข้นเฉลี่ยของสารละลายเหนือผิวน้ำแข็งเท่ากับ $C_L + dC_L$ สมดุลมวลสารของระบบดังกล่าวแสดงได้ดังสมการที่ (2.4)

$$C_L V_L = -C_s dV_L + (C_L + dC_L)(V_L + dV_L) \quad \dots (2.4)$$

แทนค่าสมการ (2.3) ในสมการที่ (2.4) โดยให้ dV_L และ dC_L น้อยมาก จะได้ดังนี้

$$(dC_L / C_L) / (dV_L / V_L) = K - 1 \quad \dots (2.5)$$

อินทิเกรตสมการที่ (5) จะได้ดังนี้

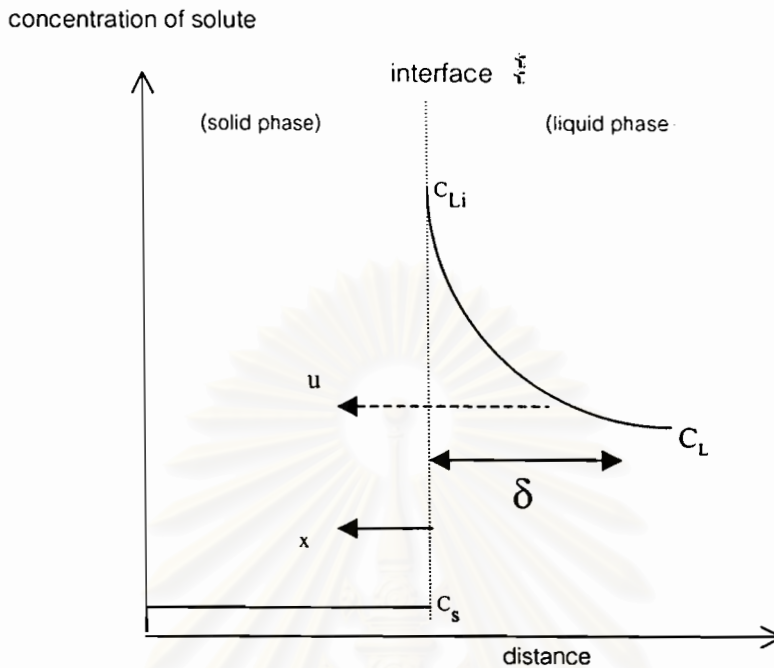
$$(1-K)\log(V_L/V_0) = \log(C_0/C_L) \quad \dots(2.6)$$

เมื่อ C_0 คือ ความเข้มข้นสารละลายเริ่มต้นก่อนการทำให้เข้มข้น (mg/ml)

V_0 คือ ปริมาตรสารละลายเริ่มต้นก่อนการทำให้เข้มข้น (m^3)

Liu, Miyawaki และ Nakamura (1997) ได้ทดลองใช้วิธีการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวกับแบบจำลองของสารละลายกลูโคส, สารละลาย blue dextran และสารละลายผสมของกลูโคสและ blue dextran พบว่าสารละลายกลูโคสและ/หรือ blue dextran ในส่วนน้ำแข็ง มีความเข้มข้นน้อยมากและไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดการทำให้เข้มข้น ขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายของสารทั้ง 2 ชนิดในส่วนของสารละลายเพิ่มมากขึ้นตลอดการทดลอง กล่าวคือ การทำให้เข้มข้นด้วยวิธีนี้สามารถแยกน้ำแข็งออกจากระบบได้บริสุทธิ์มาก หรือสามารถลดการสูญเสียตัวถูกละลายซึ่งปนเปื้อนไปกับผลึกน้ำแข็งที่แยกออกได้ นอกจากนี้ในการทดลองดังกล่าวข้างต้นได้ศึกษาผลของอัตราเร็วการกวน (stirring speed) ที่ผิวหน้าผลึกน้ำแข็งหรือผิวระหว่างหน้าของผลึกน้ำแข็งกับสารละลาย และอัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของผิวหน้าผลึกน้ำแข็ง (moving speed) ต่อประสิทธิภาพการทำให้เข้มข้น พบว่าการเปลี่ยนแปลง stirring speed และ moving speed มีผลอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพการทำให้เข้มข้น กล่าวคือ ระบบที่มี stirring speed สูง และ moving speed ต่ำ จะทำให้ประสิทธิภาพการทำให้เข้มข้นดีขึ้น

Miyawaki, Liu และ Nakamura (1998) ได้นำหลักการของ concentration polarization มาใช้ในการอธิบายผลของภาวะการทดลองได้แก่ stirring speed และ moving speed ต่อประสิทธิภาพการทำให้เข้มข้น กล่าวคือ เมื่อมีการแยกเฟสระหว่างน้ำแข็งและสารละลายทำให้เกิดชั้นขอบเขตของความเข้มข้นที่เหนือผิวหน้าผลึกน้ำแข็ง และเกิดการแพร่หรือการถ่ายโอนมวลตัวถูกละลายจากบริเวณผิวหน้าน้ำแข็งไปสู่ส่วนสารละลายในทิศทางตรงข้ามผิวระหว่างหน้าออกไป ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 Concentration polarization ของการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีเซเยอิก
แข็งแบบผลึกเดี่ยว

ที่มา: Miyawaki, Liu และ Nakamura (1998)

จากภาพที่ 2.2 ผิวหน้าผลึกน้ำแข็งเคลื่อนตัวในทิศทางเข้าสู่ liquid phase ด้วยความเร็ว (u ในหน่วย m/s) จึงให้มีฟลักซ์ของตัวถูกละลาย (solute flux) เท่ากับ uC_s จากเฟสของของเหลวสู่เฟสของของแข็ง ถ้ากำหนดให้ x มีทิศทางเช่นเดียวกับทิศทางการขยายตัวของชั้นผิวหน้าผลึกน้ำแข็งสู่เฟสของเหลว ดังนั้นสมการมวลสารของตัวถูกละลายในระบบแสดงได้ดังสมการที่ (2.7)

$$-D(dC/dx) + uC = uC_s \quad \dots (2.7)$$

เมื่อ C คือ ความเข้มข้นตัวถูกละลายในชั้นขอบเขตของของเหลว (kg/m^3)

C_s คือ ความเข้มข้นตัวถูกละลายเมื่อ $x = 0$ ในเฟสของของแข็ง (kg/m^3)

D คือ สัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลาย (m^2/s)

ที่สภาวะขอบเขตกำหนดให้ $C = C_{Li}$ ที่ $x = 0$ ในเฟสของเหลว $\dots (2.8)$

$C = C_L$ ที่ $x = -\delta$ $\dots (2.9)$

เมื่อ δ คือ ความหนาของชั้นของเหลวที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (boundary layer)

จากข้อกำหนดตามสมการ (2.8) และ (2.9) ดังนั้น เมื่ออินทิเกรตสมการที่ (2.7) แล้วจะได้ดังนี้

$$\ln[(C_{Li}-C_s)/(C_L-C_s)] = u\delta/D \quad \dots (2.10)$$

ค่า intrinsic partition constant (K_o) สามารถหาได้ดังนี้

$$K_o = C_s / C_{Li} \quad \dots (2.11)$$

ดังนั้น เมื่อแทนค่าสมการที่ (2.10) และ (2.11) ในสมการที่ (2.3) แล้วได้ผลดังนี้

$$K = K_o / [K_o + (1-K_o)\exp(-u/k)] \quad \dots (2.12)$$

$$k = D/\delta \quad \dots (2.13)$$

เมื่อ k คือ สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสาร (mass transfer coefficient) ในชั้นขอบเขต

สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารของกระบวนการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว จะมีความสัมพันธ์กับ stirring speed (Nr) ในรูป power law ดังสมการนี้

$$k = aNr^b \quad \dots (2.14)$$

เมื่อ a และ b คือ ค่าคงที่ที่ได้จากการทดลอง

ดังนั้นสมการที่ (2.12) และ (2.14) จึงสามารถใช้อธิบายผลของภาวะการทดลองได้แก่ stirring speed และ moving speed ของกระบวนการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว

2.3 สมบัติด้านต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว

การวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว เช่น ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน การเรียงตัวของกรดอะมิโนบนสายพอลิเพปไทด์ ต่างแสดงถึงศักยภาพในการนำโปรตีนถั่วเขียวไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร คุณสมบัติเหล่านี้ยังส่งผลถึงคุณสมบัติอื่นๆ ที่สำคัญในการผลิต เช่น การละลาย การดูดซับน้ำและน้ำมัน การเกิดโฟมและการเกิดอิมัลชันของโปรตีนถั่วเขียวอีกด้วย

งานวิจัยนี้ศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว เพื่อศึกษาสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปของโปรตีนถั่วเขียวในกระบวนการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว โดยสมบัติต่างๆ ที่ศึกษามีดังนี้

- การละลายของโปรตีน คือ ปริมาณของโปรตีนทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง ซึ่งสามารถถูกสกัดโดยน้ำหรือสารละลายเกลือในสภาวะที่กำหนด (specified condition) ซึ่งขึ้นกับคุณสมบัติของโปรตีน และสภาวะที่ในการสกัด ซึ่งการละลายของโปรตีนนี้เป็นสมบัติที่มีความสำคัญในอันดับแรก เนื่องจากมีอิทธิพลต่อสมบัติอื่นๆ ของโปรตีน เช่น การเกิดโฟมและการเกิดอิมัลชัน (Vojdani,1996)
- การดูดซับน้ำ (water adsorption) ความสามารถในการจับกับน้ำ(hydration capacity) ของโปรตีน ขึ้นกับส่วนประกอบของกรดอะมิโน(amino acid composition) โดยถ้าโมเลกุลของกรดอะมิโนมีหมู่โพลาร์มาก จะทำให้ความสามารถในการจับกับน้ำดี (Damodaran and Paraf,1997)
- การดูดซับน้ำมัน (oil adsorption) เป็นผลจากพันธะเคมีประเภทไม่มีขั้วในโครงสร้างของโปรตีน โปรตีนที่มีพันธะชนิดนี้ในปริมาณมาก จะสามารถดูดซับน้ำมันได้ดี
- Emulsion activity index เนื่องจากโปรตีนเป็นโพลีเมอร์ของกรดอะมิโน ซึ่งมี hydrophilic side chain โดยลักษณะที่เป็น amphipathic ของหมู่ side chain นี้จะทำให้โปรตีนเกิดการ adsorption ที่บริเวณ interface ซึ่งทำให้โปรตีนมีคุณสมบัติเป็น emulsifier ได้

2.4 การเสถียรภาพของโปรตีน (นิธิยา รัตนานนท์, 2545)

โปรตีนที่พบภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์เรียกว่า โปรตีนธรรมชาติ (native protein หรือ intact protein) คือ เป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเองตามธรรมชาติ และมีโมเลกุลขนาดใหญ่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่เปลี่ยนไปจากธรรมชาติ ดังนั้นจึงใช้สมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปในการที่บ่งว่ามีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากธรรมชาติ ซึ่งเรียกกระบวนการที่ทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงไปนี้ว่า การเสถียรภาพธรรมชาติ (denaturation) ซึ่งอาจทำให้กลับคืนเหมือนเดิมได้ (reversible denaturation) หรือคืนกลับเหมือนเดิมไม่ได้ (irreversible denaturation)

การเสถียรภาพธรรมชาติเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโมเลกุลโปรตีน โดยไม่ทำลายพันธะโคเวเลนต์ หรือพันธะเปปไทด์ภายในโมเลกุลของโปรตีน แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ตติยภูมิ (tertiary structure) และ

จตุรภูมิ (quaternary structure) (Boye and Harwalkar, 1997) ซึ่งโปรตีนแต่ละชนิดจะเกิดการเสียสภาพที่ภาวะแตกต่างกัน เมื่อโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติจะทำให้เกิดการสูญเสีย biological activity และมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทั้งทางเคมี ทางกายภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน เช่น การละลาย การเกิดโฟมและเจล และความสามารถของเอนไซม์ในการเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้เริ่มจากการเตรียมสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว เพราะมีปัญหาในการเก็บรักษาน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่ดีของพวกจุลินทรีย์ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ง่ายและมีความแปรปรวนของโปรตีนสูง จากนั้นใช้สารละลายแบบจำลองที่เตรียมขึ้นนี้เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพการนำกลับโปรตีนโดยวิธีแซ่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวในสภาวะต่างๆ เพื่อหาสภาวะที่ทำให้ประสิทธิภาพการนำกลับสูงสุด แล้วใช้สภาวะนี้ศึกษาถึงประสิทธิภาพการนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวในโรงงานอุตสาหกรรม จากนั้นเก็บสารละลายโปรตีนเริ่มต้นและโปรตีนเข้มข้นที่ได้ของแบบจำลองด้วยวิธี freeze dry เพื่อใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบสมบัติต่างๆ ของโปรตีนดังกล่าวต่อไป

3.1 การเตรียมแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว

นำถั่วเขียวซีกไม่มีเปลือกมาไม่แห้ง แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 75 mesh จากนั้นผสมน้ำในอัตราส่วน 1: 10 โดยน้ำหนัก ซึ่งสัดส่วนนี้เป็นค่าที่ได้จากการแปรค่าสัดส่วนระหว่างน้ำต่อถั่วบด ที่ 1:5, 1:8, 1:10 และ 1:20 โดยน้ำหนัก แล้วพบว่า เป็นค่าสัดส่วนที่น้อยที่สุดที่ให้ค่าความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่มากที่สุด(ภาคผนวก ก) จากนั้นกวนโดยใช้ magnetic stirrer นาน 15 นาที ก่อนนำไป centrifuge ที่ 6000xg นาน 15 นาที (Thermo IEC Multi RF) แล้วนำส่วนใสที่ได้ใช้เป็น stock solution ในการเตรียมแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งปริมาณโปรตีนวิเคราะห์โดยวิธี UV absorption (Kalckar,1947) แสดงไว้ในภาคผนวก ข จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบได้แก่ dietary fiber, ash, moisture, fat, protein และ carbohydrate ตามวิธีของ AOAC(1995)

3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลาย

3.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นต่อเวลา

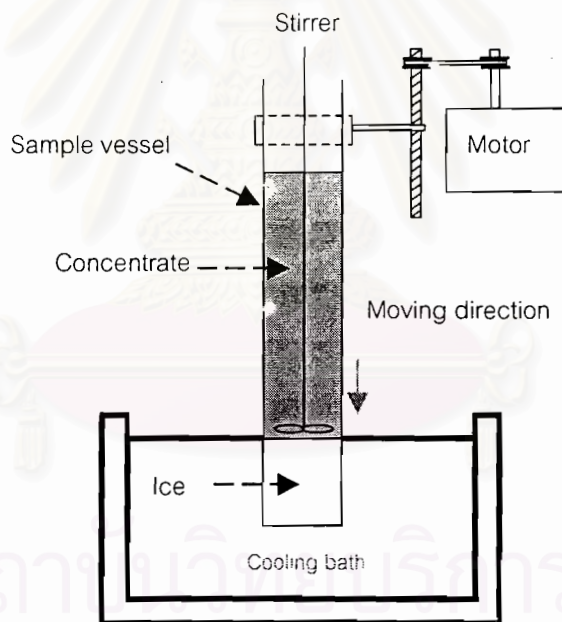
ชุดอุปกรณ์การทำเข้มข้นแบบ Single Ice Crystal Freeze-Concentration ประกอบด้วยชิ้นส่วนที่สำคัญคือ

1) Sample vessel สำหรับบรรจุสารละลายตัวอย่างที่ทำด้วย acrylic ทรงกระบอกหนา 0.3 cm มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.9 cm สูง 19.75 cm ด้านล่างเป็นแผ่น stainless เพื่อให้ความร้อนถ่ายโอนเพียงด้านเดียว

2) Cooling bath (Thermo Haake C41P) ซึ่งภายในบรรจุสารหล่อเย็น (ethylene glycol : น้ำ ประมาณ 1: 2 โดยปริมาตร) ที่ถูกควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของสารละลายตัวอย่าง เพื่อดึงความร้อนจากสารละลายภายใน sample vessel

3) Motor สำหรับขับให้ sample vessel เคลื่อนที่ลงตามอัตราเร็วที่กำหนด

4) Stirrer ซึ่งด้านล่างมีใบกวนติดอยู่โดยสามารถปรับความเร็วรอบใบกวนได้



ภาพที่ 3.1 ชุดอุปกรณ์การทำเข้มข้นแบบ single ice crystal freeze - concentration

การทดลองจะเริ่มจากใส่น้ำกลั่น 3 ml ลงใน sample vessel ที่จุ่มอยู่ใน cooling bath ที่ควบคุมอุณหภูมิของสารหล่อเย็นที่ให้อัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งใกล้เคียงกับอัตราเร็วของการจุ่ม sample vessel (ซึ่งการตั้งอุณหภูมิของ cooling bath ต้องอาศัยข้อมูลจากการทดลองปิดลองถูกที่กระทำก่อนหน้านี้ เนื่องจากปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการถ่ายโอนความร้อนในการทดลองนี้มีหลายปัจจัย ได้แก่ ความเร็วรอบใบกวน ความเข้มข้นของสารละลาย และอุณหภูมิสภาวะแวดล้อม จึง

ไม่สามารถกำหนดอุณหภูมิที่แน่นอนของสารหล่อเย็นใน cooling bath ได้ พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง -18 ถึง -21°C) น้ำกลั่นจะแข็งตัวจนเกิดเป็นชั้น ice lining บนผิวของ stainless จากนั้นเทสารละลายโปรตีนแก้วเขียวปริมาตร 200 ml ซึ่งถูกหล่อเย็นจนมีอุณหภูมิ 0°C ลงไป พร้อมทั้งปรับความเร็วรอบใบกวน (Nr) และอัตราเร็วการจุ่ม sample vessel ระหว่างนี้ผลึกน้ำแข็งจะค่อยๆ ก่อตัวสะสมสูงขึ้นจากชั้น ice lining ดังนั้นสารละลายด้านบนจะเข้มข้นขึ้นเรื่อยๆ ระหว่างทำการทดลองจะเก็บตัวอย่างสารละลายเข้มข้นเป็นช่วงๆตลอดการทดลอง แต่เนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างน้ำแข็งระหว่างการทดลองเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนได้ ดังนั้นเมื่อเสร็จการทดลองจะนำก้อนผลึกน้ำแข็งมาตัดแบ่งเป็นส่วนๆตามแนวขวาง แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่อยู่ในน้ำแข็งเหล่านั้น ในการกำหนดตำแหน่งความสูงของชั้นน้ำแข็งจากผิว stainless กระทำโดยการกำหนดจุดกึ่งกลางตามแนวตั้งของก้อนน้ำแข็งที่นำออกจาก sample vessel ในทันที เพื่อให้เป็นจุดอ้างอิงในการกำหนดตำแหน่งของชั้นน้ำแข็ง โดยจุดกึ่งกลางดังกล่าวนี้ถือเป็นจุดกึ่งกลางของความสูงของน้ำแข็งทั้งก้อนที่เกิดขึ้นจริง ซึ่งความสูงของน้ำแข็งทั้งก้อนที่เกิดขึ้นจริงนี้หาได้จากผลต่างระหว่างปริมาตรของสารละลายเริ่มต้นและปริมาตรสุดท้ายของสารละลายเข้มข้นหารด้วยพื้นที่หน้าตัดของ sample vessel แล้วคูณด้วยสัดส่วนการขยายปริมาตรเมื่อน้ำเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็ง(1.085) ที่ไม่เลือกใช้การวัดจากปลายด้านใดด้านหนึ่งของผลึกน้ำแข็ง เนื่องจากระหว่างการนำผลึกน้ำแข็งออกจาก sample vessel ผิวผลึกน้ำแข็งจะมีการละลายอยู่ตลอดเวลาทำให้ปลายทั้งสองด้านไม่เหมาะที่จะเป็นจุดอ้างอิงในการตัดน้ำแข็ง ในการตัดน้ำแข็งจะตัดน้ำแข็งในช่วงเริ่มต้นที่การทดลองยังไม่อยู่ในสภาวะคงตัวออกก่อนประมาณ 0.7-0.9 cm แล้วจึงแบ่งน้ำแข็งส่วนที่เหลือออกเป็นส่วนเท่าๆ กัน การตัดน้ำแข็งจะใช้มีดที่ได้รับการลนไฟจนร้อนจัดกดตัดแบ่งน้ำแข็งตามตำแหน่งที่ต้องการจนขาด จากนั้นนำสารละลายโปรตีนเริ่มต้นและสารละลายเข้มข้น พร้อมกับน้ำแข็งที่ละลายแล้วไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี UV absorption (Kalckar,1947)

โดยในการทดลอง 3.2.1 นี้ ใช้สารละลายแบบจำลองที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 13 ± 1 mg/ml ในสภาวะการทดลองที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง 0.5 cm/hr ความเร็วรอบใบกวน 800 rpm ทำเข้มข้นเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และสภาวะการทดลองที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง 1.0 cm/hr ความเร็วรอบใบกวน 500 rpm ทำเข้มข้นเป็นเวลา 7.4 ชั่วโมง น้ำแข็งที่ได้หลังจากตัดน้ำแข็งในช่วงแรกออกแล้วจะถูกแบ่งออกเป็น 5 ส่วนเท่าๆ กัน

3.2.2 ศึกษาความสัมพันธ์การแยกเฉลี่ย (K) ที่หาจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตร (V_L) และความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ (C_L)

ทำเข้มข้นเช่นเดียวกับวิธีการทดลองที่ 3.2.1 แต่สารละลายเริ่มต้นที่ใช้มีความเข้มข้น 13 ± 1 mg/ml สภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) 3 ระดับ ที่ 0.5, 1.0 และ 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน (Nr) 3 ระดับ ที่ 200, 500 และ 800 rpm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3 ศึกษาความสัมพันธ์การแยก (K) ของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งข้าวเหนียวโดยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดียว

ทำเข้มข้นเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1 โดยใช้สารละลายโปรตีนที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 5 ± 1 mg/ml (ได้จากการเจือจาง stock solution ที่เตรียมตามวิธีทดลองที่ 3.1) และสารละลายโปรตีนที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 13 ± 1 mg/ml (stock solution) ปรับอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง 3 ระดับคือ 0.5, 1.0 และ 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 3 ระดับคือ 200, 500 และ 800 rpm ทำการทดลองจนได้ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนเป็น 6.5 ± 1 และ 14 ± 1 mg/ml ตามลำดับ วัดค่าความเข้มข้นโปรตีนของสารละลายที่ได้ และของผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นทั้งก่อนมาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) วางแผนการทดลองแบบ factorial ขนาด 3×3 ทดลอง 3 ซ้ำ นอกจากนี้ทำการทดลองที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโปรตีน 13 ± 1 mg/ml (stock solution) ปรับอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) 2 ระดับ คือ 0.5 และ 1 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน (Nr) 2 ระดับ คือ 500 และ 800 rpm ทำการทดลองจนได้ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนเป็น 19 ± 1 mg/ml แบ่งผลึกน้ำแข็งที่ได้ออกเป็น 2 หรือ 3 ส่วน ขึ้นกับความเหมาะสมของความสูงของก้อนน้ำแข็ง ซึ่งจะทำได้ชั้นผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในขณะที่ได้สารละลายโปรตีนมีความเข้มข้นเป็น 19 ± 1 mg/ml วัดค่าความเข้มข้นโปรตีนของสารละลายที่ได้ และของชั้นผลึกน้ำแข็งที่ตัดมาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) วางแผนการทดลองแบบ factorial ขนาด 2×2 ทดลอง 4 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ในการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การแยก ($K = C_S / C_L$) ซึ่งเป็นค่าแสดงความสามารถในการแยกเฟสของตัวถูกละลายของระบบที่เวลาเดียวกัน ดังนั้นค่า K จะต้องเป็นค่าที่ได้จากค่า C_L ณ เวลาที่ผลึกน้ำแข็งมีความเข้มข้นเป็น C_S แต่ในการทดลองเพื่อหาค่าความเข้มข้นโปรตีนของสารละลายที่ได้ C_L ที่มีต่อค่า C_S ที่เป็นค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นตัวถูกละลายในชั้นน้ำแข็งนั้นๆ ที่จะนำมาในการคำนวณหาค่า K จะใช้ค่า $C_{L,cal}$ ที่คำนวณจากสมการมวล ณ เวลาที่การทดลองดำเนินถึงจุด

กึ่งกลางของน้ำแข็งตามแสดงไว้ในภาคผนวก ค โดยที่ค่า $C_{L,cal}$ ที่คำนวณได้ จะถูกตรวจสอบความเที่ยงตรงโดยนำไปเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของสารละลายที่อ่านได้จากกราฟการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายที่เก็บตัวอย่างได้ ($C_{L,sam}$) ต่อเวลาที่เวลาเดียวกันกับเวลาที่ใช้คำนวณหาค่า $C_{L,cal}$ (เวลาที่การทดลองดำเนินถึงจุดกึ่งกลางของน้ำแข็ง) ถ้าค่าทั้งสองมีค่าไม่แตกต่างกันกว่า $\pm 10\%$ จึงจะนำไปใช้ในการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแยก ($K = C_s/C_L$)

3.4 การทำนายความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นในการนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแบ่งแก้วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) กับความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) ที่ได้จากแบบจำลองน้ำล้างแบ่งแก้วเขียว

ทำเข้มข้นเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1 แต่ใช้สารละลายโปรตีนเป็นน้ำล้างแบ่งแก้วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 5 ± 1 mg/ml มาทำเข้มข้นที่สภาวะอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr ความเร็วรอบใบกวนเป็น 800 rpm และที่สภาวะอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง 1.0 cm/hr ความเร็วรอบใบกวน 500 rpm โดยระหว่างการทดลองจะเก็บตัวอย่างสารละลายเข้มข้นที่เวลาต่างๆ นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี UV absorption (Kalckar, 1947) เมื่อเสร็จการทดลองจะวัดปริมาตรของสารละลายที่ได้ เพื่อให้คำนวณอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจริง จากอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจริงและเวลาที่เก็บตัวอย่างจะสามารถนำมาคำนวณปริมาตรของสารละลายเข้มข้น ณ เวลาที่เก็บตัวอย่างได้ (V_L) ค่าการเปลี่ยนแปลง C_L ต่อ V_L ที่ได้จากการทดลองนี้จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับค่า C_L ที่ได้จากการทำนายโดยใช้ความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์การแยก (K) กับความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) ที่ได้จากแบบจำลองน้ำล้างแบ่งแก้วเขียว

3.5 ศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีน

3.5.1 การละลายของโปรตีน

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีนในเชิงการละลายของไนโตรเจน (nitrogen solubility) โดยมีวิธีดังนี้ เตรียมสารละลายโปรตีน 1% (w/v) แล้วปรับ pH ที่ระดับต่างๆ ด้วย 1N HCl และ 1N NaOH (Ajax, Auburn, N.S.W., Australia) แล้วกวนด้วย magnetic stirrer นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมา centrifuge ที่ 6000xg นาน 30 นาที (Thermo IEC Multi RF) นำส่วนของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl แล้วคำนวณตามสมการที่ 3.1 (Vojdani, 1996) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 6

ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

$$\text{NSI} = \frac{\% \text{ Water Soluble Nitrogen}}{\% \text{ Total Nitrogen}} \times 100 \quad \dots(3.1)$$

เมื่อ NSI = Nitrogen Solubility Index

3.5.2 การดูดซับน้ำและน้ำมัน (water and oil adsorption)

ผสมโปรตีนถั่วเขียวกับน้ำ หรือน้ำมัน (น้ำมันถั่วเหลืองตราอรุณ บริษัทน้ำมันพืชไทย จำกัด) ในอัตราส่วน 0.5 : 10 โดยน้ำหนัก เพื่อวิเคราะห์หาการดูดซับน้ำและน้ำมัน ตามลำดับ แล้วผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไป centrifuge ที่ 10,000xg เป็นเวลา 30 นาที (Thermo IEC Multi RF) จากนั้นนำส่วนใสมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำหรือน้ำมันที่ถูกดูดซับโดยโปรตีน (Sathe and Salunkhe, 1981) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 6 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.5.3 การวิเคราะห์ค่า emulsifying activity index

เตรียมสารละลายโปรตีน 1% (w/v) ใน 0.1M phosphate buffer pH 7 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$; Ajax, Auburn, N.S.W., Australia) แล้วหาความหนาแน่น จากนั้นผสมสารละลายนี้กับน้ำมัน (น้ำมันถั่วเหลืองตราอรุณ บริษัทน้ำมันพืชไทย จำกัด) ในอัตราส่วน 30 :10 โดยปริมาตร แล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย homogenizer (ystral[®]) ที่ความเร็ว 22,000 rpm นาน 2 นาที จากนั้นนำอิมัลชันนี้ไปหาน้ำหนักแห้ง โดยอบที่อุณหภูมิ 105°C เพื่อคำนวณหา oil volume fraction (ϕ) ตามสมการที่ 3.2 พร้อมทั้งเจือจางอิมัลชันด้วย 0.1% (w/v) sodium dodecyl sulfate (Ajax, Auburn, N.S.W., Australia) เป็น 250 เท่า แล้วนำสารละลายเจือจางนี้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm. คำนวณค่าความขุ่นของสารละลาย (turbidity) และค่า EAI ตามสมการที่ 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ (Pearce and Kinsella, 1978) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 6 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

$$\phi = \frac{W_o - (E \times W_i)}{W_o + W_i[(1 + E)(d_o/d_m) - E]} \quad \dots(3.2)$$

เมื่อ ϕ = oil volume fraction (cm^3/g dry protein)

d_o = ความหนาแน่นของน้ำมัน (g/ml)
 d_m = ความหนาแน่นของสารละลายโปรตีนในบัฟเฟอร์ (g/ml)
 E = ความเข้มข้นของตัวถูกละลาย (มวลของตัวถูกละลายต่อมวลของตัวทำละลาย)

W_i = น้ำหนักที่หายไปของอิมัลชันหลังอบแห้งต่อน้ำหนักก่อนอบแห้ง (-)

W_d = น้ำหนักแห้งของอิมัลชันต่อน้ำหนักอิมัลชัน (-)

$$T = \frac{2.303A}{I} \quad \dots(3.3)$$

$$EAI = \frac{2T}{\phi C} \quad \dots(3.4)$$

เมื่อ

T = *turbidity*

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

I = ความกว้างของคิวเวต (cm)

C = ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนในบัฟเฟอร์ (g dry protein/cm³)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1. แบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว

เมื่อนำ stock solution ของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่เตรียมตามวิธีทดลองที่ 3.1 ไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี UV Absorption (Kalckar, 1947) พบว่ามีความเข้มข้นโปรตีน 13.085 ± 1.023 mg/ml และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบตามวิธี (AOAC, 1995) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว

องค์ประกอบ	ร้อยละ
Moisture	97.0
Protein(Kjeldahl;N x 6.25)	1.77
Carbohydrate	0.86
Ash	0.33
Fat	0.04
Dietary fiber	น้อยกว่า 0.01

จากตารางที่ 4.1 พบว่า ในสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักคือ 59 % โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งในการแปรรูปถั่วเขียวเป็นแป้งจำเป็นต้องล้างโปรตีนส่วนนี้ออกจนได้แป้งที่มีปริมาณโปรตีน (N x 6.25) ไม่เกินร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักแห้ง (มอก, 948; 2533) นอกจากนี้เมื่อนำสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวมาทำแห้งด้วยวิธี freeze dry ซึ่งมีปริมาณโปรตีน (crude protein) 58.75% มาวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนด้วยวิธี Ion-exchange chromatograph ตามมาตรฐานของ Draft International Standard ISO/DIS 13903 ได้ผลดังตารางที่

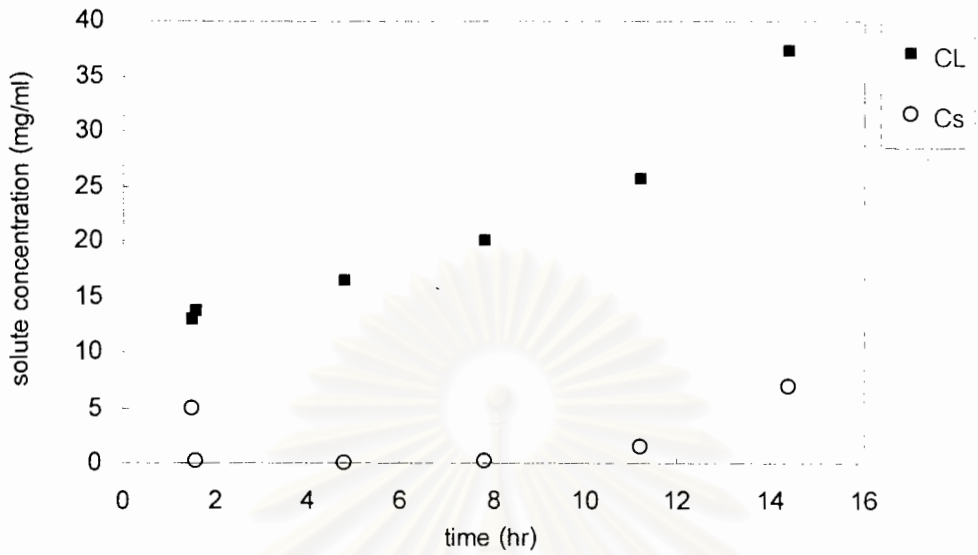
ตารางที่ 4.2 ปริมาณกรดอะมิโนในสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว
ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบระเหิด

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณ (g/100g)
Cystine	0.49
Methionine	0.71
Aspartic acid	6.60
Threonine	1.78
Serine	2.95
Glutamic acid	10.46
Glycine	2.02
Alanine	2.37
Valine	2.87
Isoleucine	2.35
Leucine	4.52
Tyrosine	1.86
Phenylalanine	3.52
Histidine	1.72
Lysine	3.97
Arginine	4.05
Proline	2.37

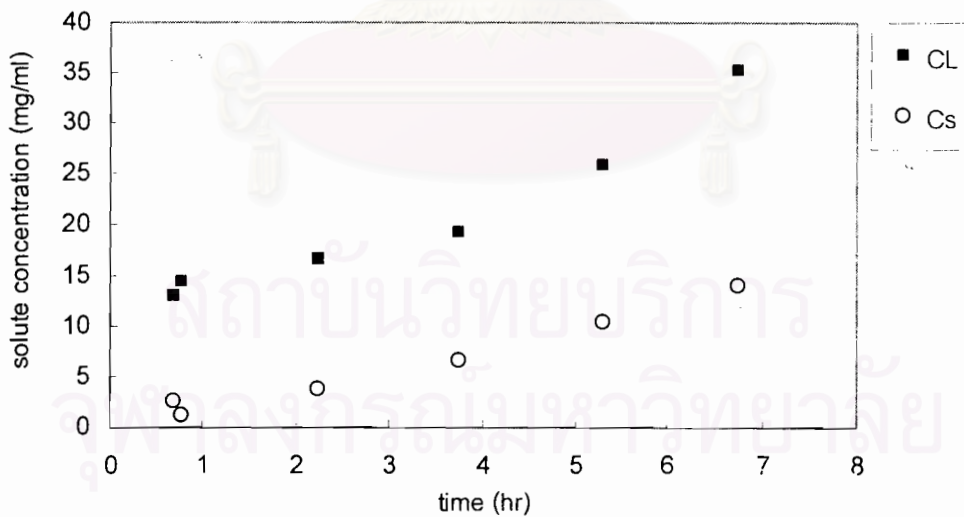
4.2 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายที่ได้

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นต่อเวลา

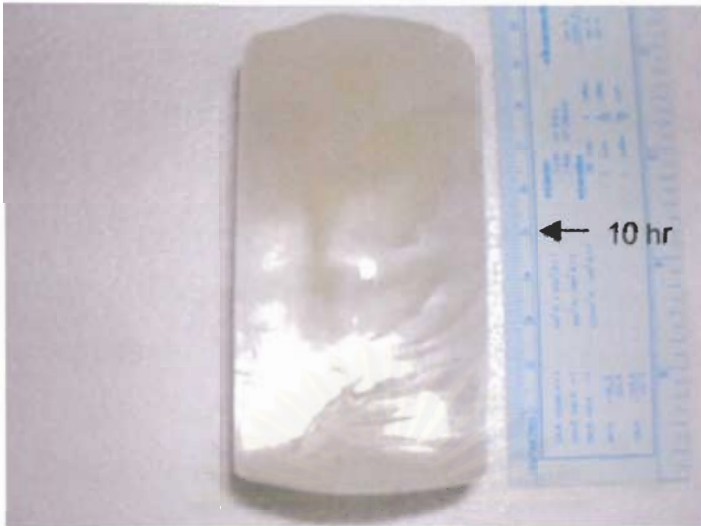
จากภาพที่ 4.1 และ 4.2 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการทำเข้มข้นกับความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายเข้มข้นที่คำนวณได้ ($C_{L,cal}$) และความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำแข็ง (C_S) ที่อัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง (u) และอัตราเร็วใบกวน (Nr) ต่างกัน เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเริ่มต้นเป็น 13 ± 1 mg/ml พบว่าที่สภาวะ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm (ภาพที่ 4.1) เมื่อระยะเวลาในการทำเข้มข้นนานขึ้นทำให้สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นสูง แต่ความเข้มข้นของโปรตีนในผลึกน้ำแข็งจะมีค่าต่ำและเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วง 10 ชั่วโมงแรก (ซึ่งเห็นได้ชัดเจนจากภาพถ่ายผลึกน้ำแข็งที่ได้ดังภาพที่ 4.3) แต่หลังจากนั้นค่าความเข้มข้นของโปรตีนในผลึกน้ำแข็งจะเปลี่ยนแปลงโดยมีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้มีการสูญเสียตัวถูกละลาย (โปรตีน) ไปกับผลึกน้ำแข็งอย่างมาก ในกรณีของสภาวะที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเพิ่มขึ้นเป็น $u = 1.0$ cm/hr และอัตราเร็วใบกวนลดลงเป็น $Nr = 500$ rpm ดังแสดงในภาพที่ 4.2 พบว่าที่สภาวะนี้สามารถทำให้สารละลายเข้มข้นสูงขึ้นได้ แต่ผลึกน้ำแข็งจะปนเปื้อนด้วยโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ตลอดการทดลองเห็นได้จากภาพที่ 4.4 แต่เมื่อพิจารณาช่วงเริ่มต้นการทดลองในภาพที่ 4.1 และ 4.2 ซึ่งมีลักษณะของผลึกน้ำแข็งดังภาพที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ พบว่าผลึกน้ำแข็งในช่วงแรกมีความเข้มข้นของตัวถูกละลาย (โปรตีน) ในปริมาณมาก เนื่องจากเป็นช่วงที่การทดลองยังไม่เข้าสู่สภาวะคงตัวคือสารละลายยังไม่ได้ถูกกวนด้วยใบกวน และผลึกน้ำแข็งเกิดขึ้นด้วยอัตราที่เร็วกว่าสภาวะที่ใช้ในการทดลอง และอุณหภูมิที่มีความแตกต่างสูงระหว่างอุณหภูมิของสารละลายโปรตีนกับอุณหภูมิของผิว stainless ทำให้เกิดการถ่ายโอนความร้อนออกอย่างรวดเร็ว มีอัตราการเกิดน้ำแข็งสูง ดังนั้นในการทดลองจึงตัดน้ำแข็งที่สกปรกในช่วงแรกออกก่อน จึงคำนวณค่าที่สภาวะเริ่มต้นใหม่ดังแสดงในภาคผนวก ง แล้วศึกษาความสัมพันธ์การแยกที่เกิดขึ้นในน้ำแข็งขั้นต่อไป



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายเข้มข้น (C_L) และผลึกน้ำแข็ง (C_S) เมื่อ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายเข้มข้น (C_L) และผลึกน้ำแข็ง (C_S) เมื่อ $u = 1.0$ cm/hr และ $Nr = 500$ rpm



ภาพที่ 4.3 ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในสภาวะอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 800 rpm เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

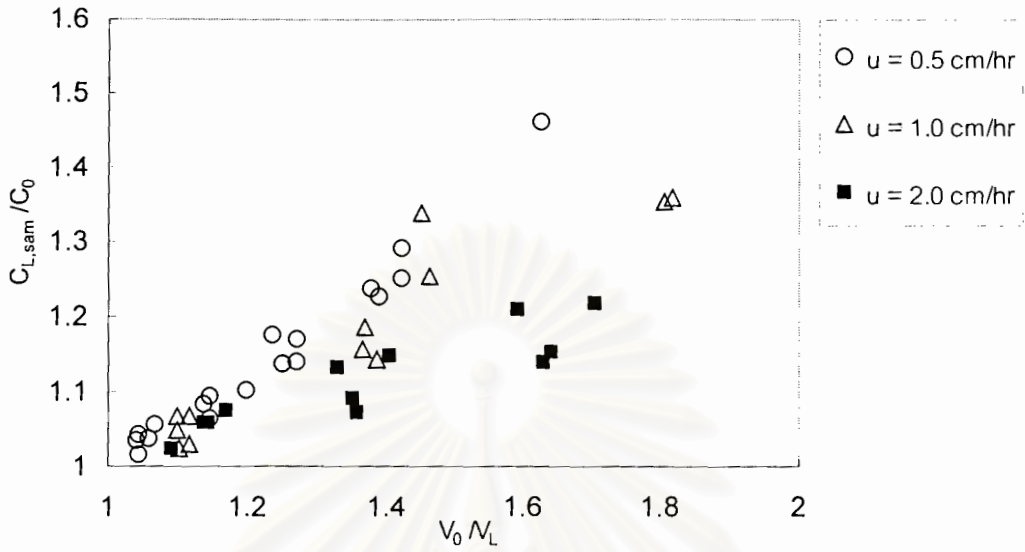


ภาพที่ 4.4 ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในสภาวะอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm เป็นเวลา 7.4 ชั่วโมง

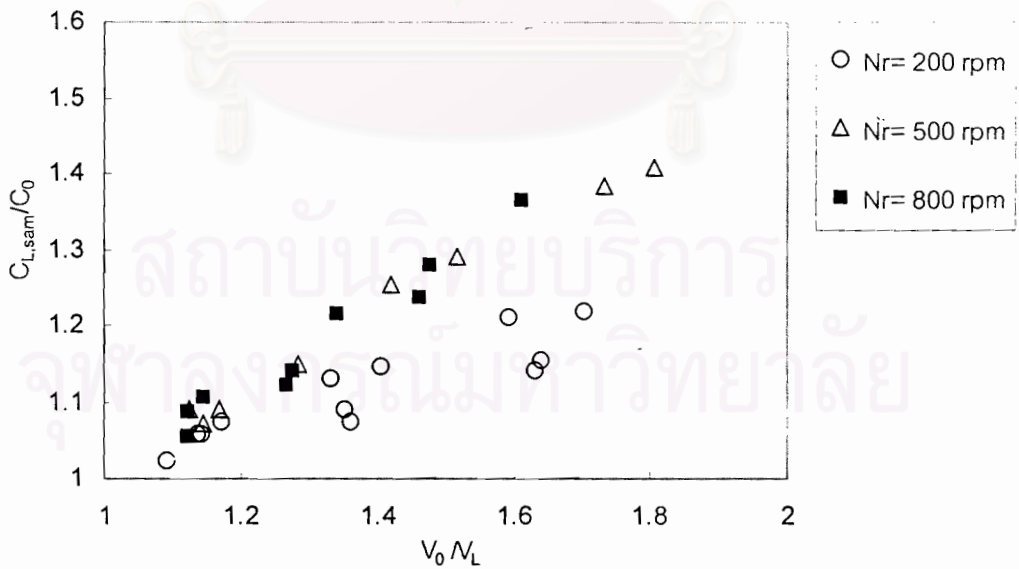
4.2.2 ค่าสัมประสิทธิ์การแยกเฉลี่ย (K) ที่หาจากความสัมพันธ์ระหว่าง V_L และ C_L

เมื่อนำผลการทดลองที่สภาวะต่างๆ ที่ความเข้มข้นโปรตีนเริ่มต้น 13 ± 1 mg/ml มา plot ระหว่าง V_0/V_L กับ $C_{L,sam}/C_0$ (อัตราเข้มข้น) พบว่าทั้งสภาวะที่ความเร็วรอบใบกวนคงที่ (200 rpm) แปรค่าอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็งดังภาพที่ 4.5 และสภาวะอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็งคงที่ (2.0 cm/hr) แปรค่าความเร็วรอบใบกวนดังภาพที่ 4.6 จะได้ว่าที่ปริมาตรของสารละลายเข้มข้นเท่ากัน สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นต่างกัน ดังนั้นสภาวะในการทดลองมีผลต่อความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ในที่นี้คือความเร็วรอบใบกวน และอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง

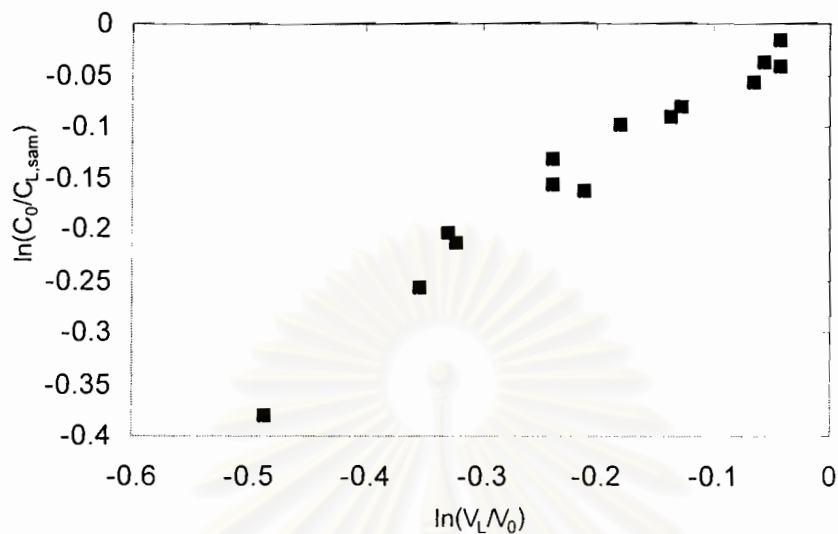
เมื่อนำค่า V_L และ C_L มาเขียนกราฟในรูป $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ พบว่าได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงดังสมการที่ 2.6 จากรูปที่ 4.7 ถึง 4.15 ซึ่งสามารถหาค่าสัมประสิทธิ์การแยกได้จากความชันของกราฟดังกล่าว (slope = $1 - K$) ดังที่ Miyawaki และคณะได้เสนอไว้ในปี ค.ศ. 1998 จากการทดลองจะได้ค่า K ที่สภาวะต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งค่า K ที่ได้นี้เป็นค่าเฉลี่ยโดยมีค่าคงที่ตลอดในช่วงความเข้มข้นของสารละลายจาก 13 ± 1 จนถึง 19 ± 1 mg/ml และเป็นค่าเฉลี่ยที่รวมค่า K ที่มีค่าสูงในช่วงต้นที่การทดลองยังไม่เข้าสู่สภาวะคงตัวอยู่ด้วย ซึ่งค่า K ซึ่งคำนวณจาก C_0/C_L ในช่วงต้นนี้มีค่ามากกว่าช่วงถัดไปอยู่ถึงประมาณ 56.0 และ 2.4 เท่าตามลำดับ แต่ในช่วงที่การทดลองอยู่ในสภาวะคงตัวแล้ว ซึ่งแสดงดังภาพที่ 4.16 และ 4.17 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่า K เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารละลายที่สูงขึ้น (C_L) ดังนั้นการที่จะใช้ค่า K เฉลี่ยตลอดการทดลองที่ได้จากความชันของกราฟดังกล่าวจึงไม่น่าจะเหมาะสมในการใช้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการทำเข้มข้น จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่าการทำงานเข้มข้นโดยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวสามารถทำเข้มข้นสารละลายโปรตีนในน้ำล้างแบ่งแก้วเขียวได้ โดยอัตราการผลิตน้ำแข็ง (u) และความปั่นป่วนที่บริเวณผลึกน้ำแข็ง (ในที่นี้คือ ปัจจัย Nr) และความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียตัวถูกละลายโปรตีนไปกับน้ำแข็ง ซึ่งกล่าวได้ว่าเป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการแยกของระบบ



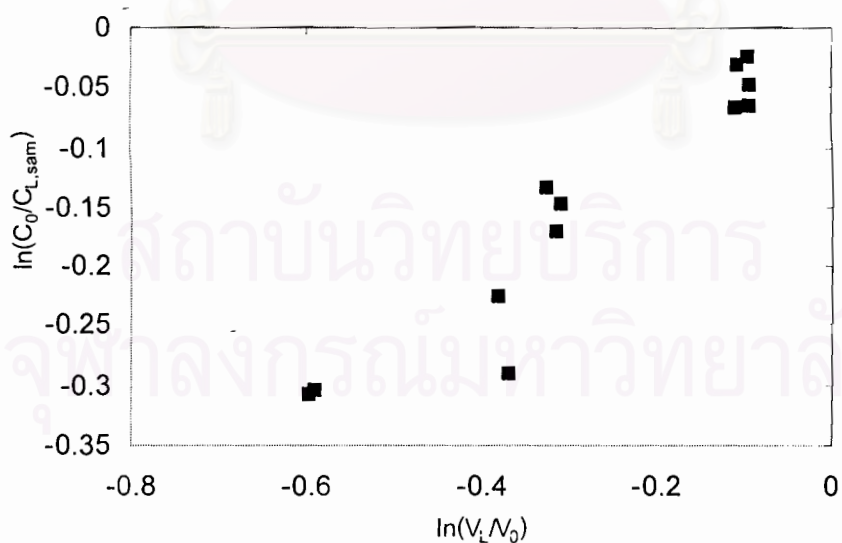
ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนปริมาตรสารละลายที่ได้ ($V_0 N_L$) และอัตราเข้มข้น ($C_{L,sam}/C_0$) เมื่ออัตราเร็วใบกวนคงที่ 200 rpm



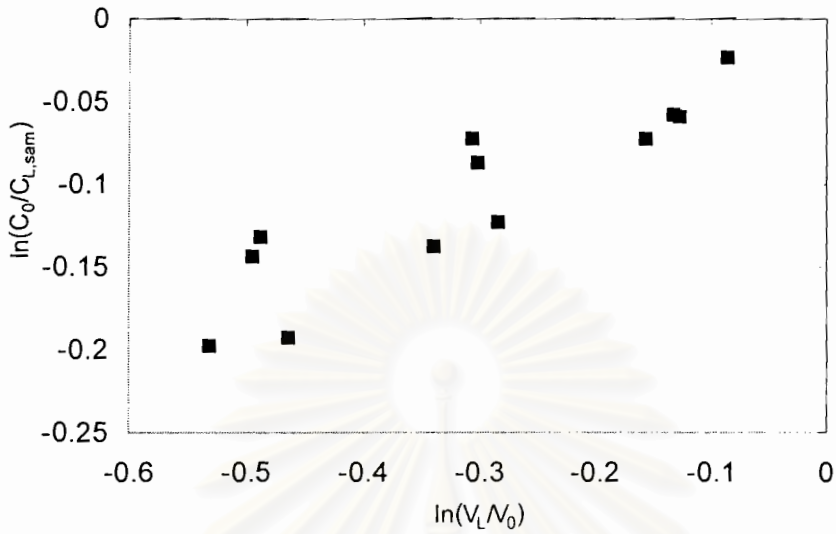
ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนปริมาตรสารละลายที่ได้ ($V_0 N_L$) และอัตราเข้มข้น ($C_{L,sam}/C_0$) เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr



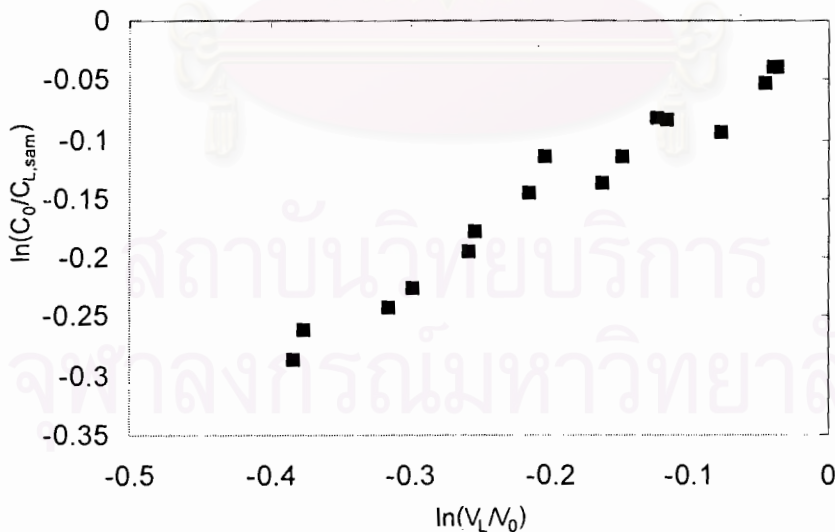
ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็วยกวน 200 rpm



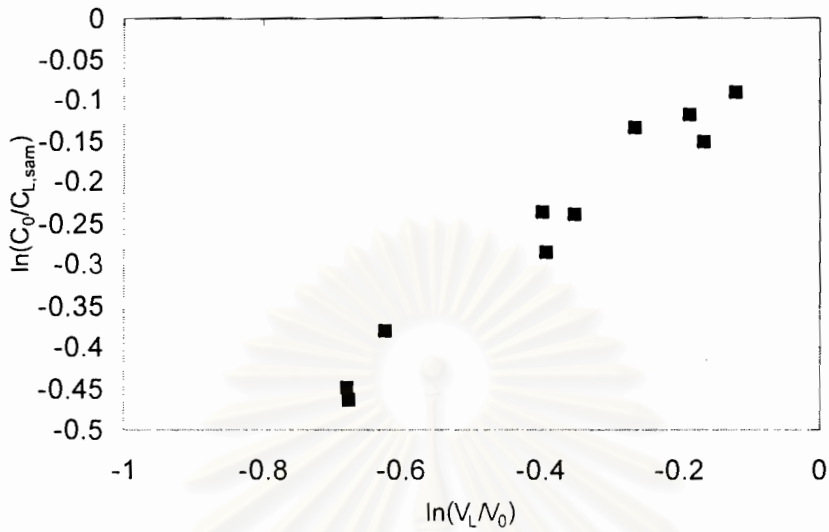
ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็วยกวน 200 rpm



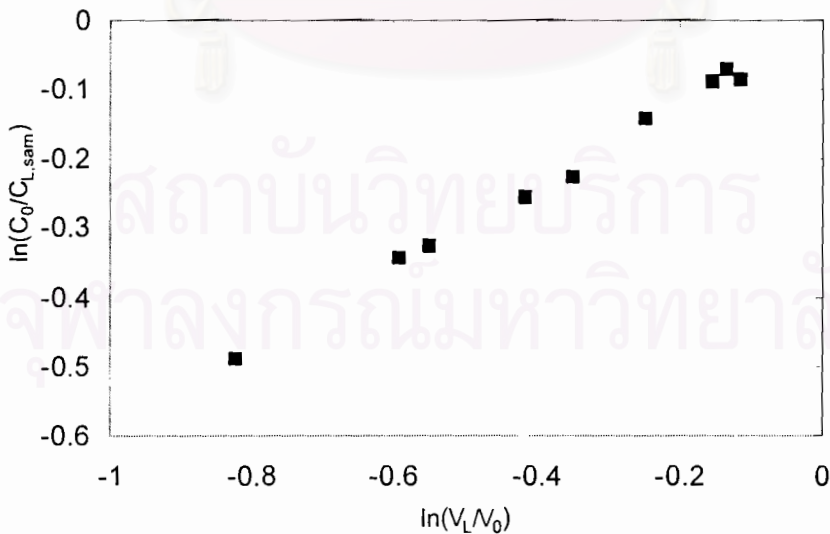
ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 200 rpm



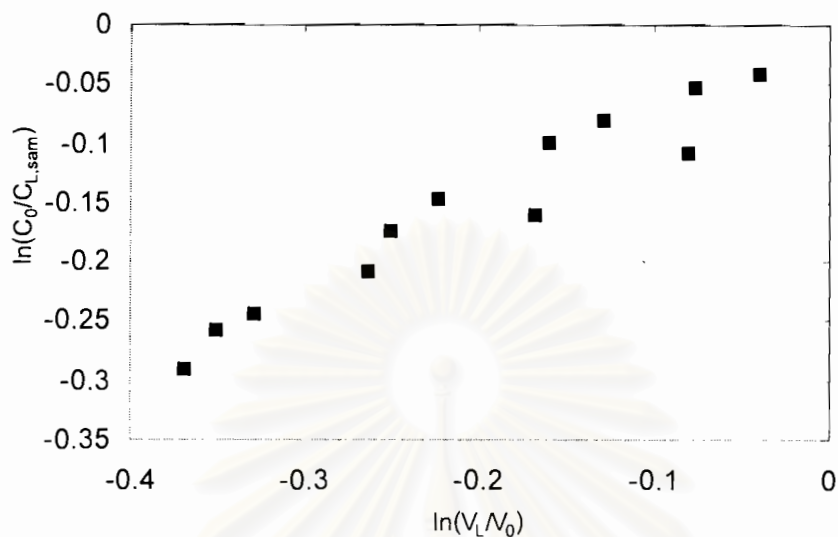
ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm



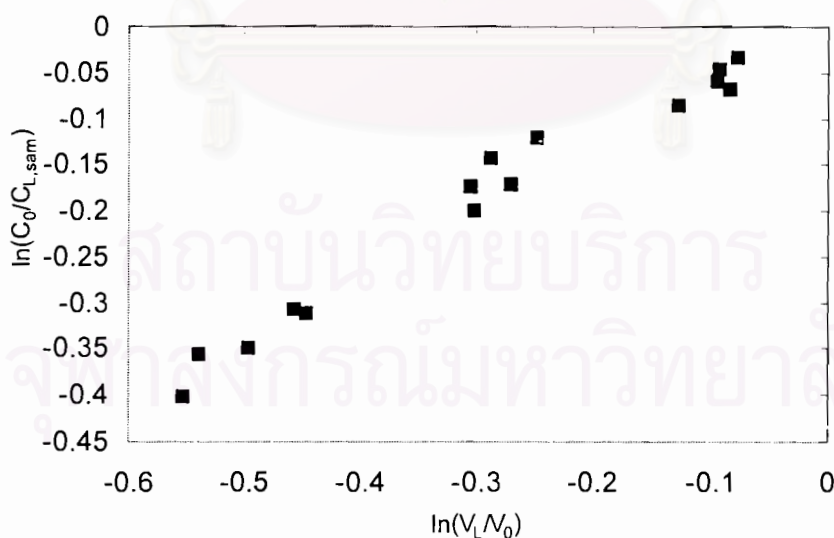
ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm



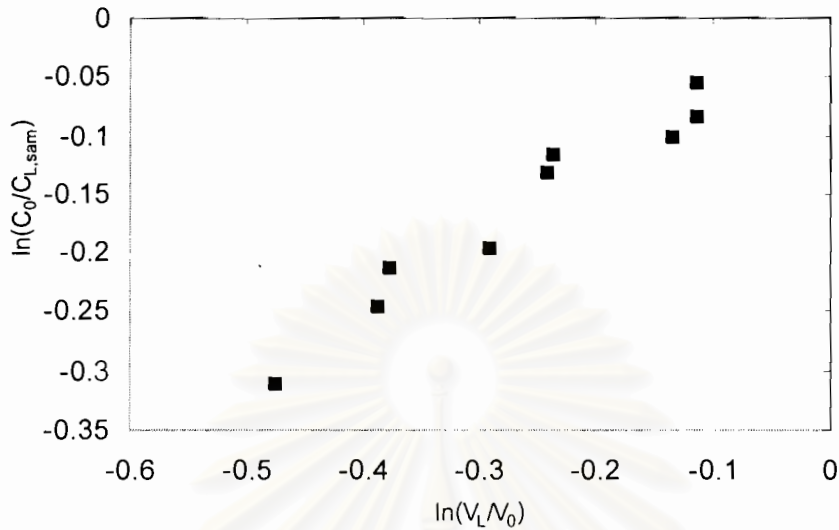
ภาพที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 500 rpm



ภาพที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm



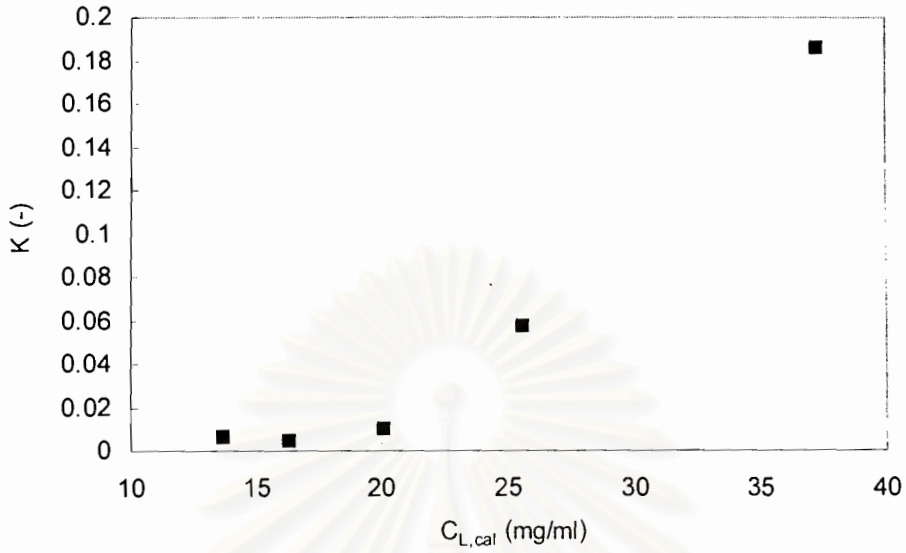
ภาพที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/V_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm



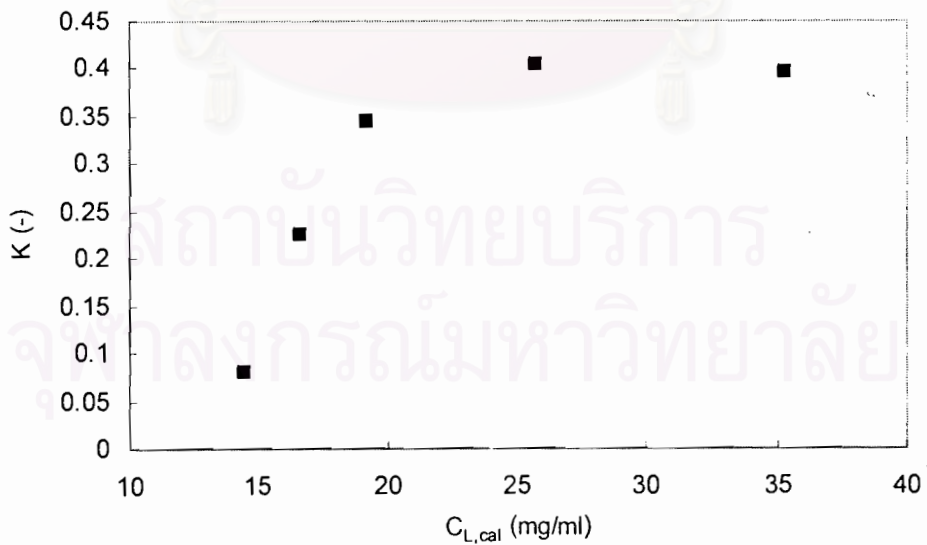
ภาพที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/N_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$ เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 2.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน 800 rpm

ตารางที่ 4.3 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เฉลี่ยที่ได้จากความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(V_L/N_0)$ กับ $\ln(C_0/C_{L,sam})$

อัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง (u) (cm/hr)	ความเร็วรอบใบกวน (Nr) (rpm)	ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เฉลี่ย
0.5	200	0.304
	500	0.268
	800	0.248
1.0	200	0.461
	500	0.343
	800	0.337
2.0	200	0.658
	500	0.406
	800	0.384



ภาพที่ 4.16 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 800 rpm



ภาพที่ 4.17 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 1.0 cm/hr และความเร็รรอบใบกวน 500 rpm

4.3 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ของสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งข้าวโดยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว

4.3.1 อิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) และความเร็วรอบใบกวน (Nr) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K)

เมื่อศึกษาปัจจัยของอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) ความเร็วรอบใบกวน (Nr) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ในการทำเข้มข้นสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งข้าวที่มีปริมาณโปรตีน 6.5 ± 1 , 14 ± 1 mg/ml และ 19 ± 1 mg/ml ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.4, 4.5 และ 4.6 ตามลำดับ ที่สภาวะสารละลายมีปริมาณโปรตีน 6.5 ± 1 mg/ml (ตารางที่ 4.3) เมื่ออัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งต่ำคือ 0.5 และ 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวนที่สูง คือ 500 และ 800 rpm พบว่าผลึกน้ำแข็งมีปริมาณโปรตีนน้อยมากจนไม่สามารถวัดโดยวิธี UV absorption ($A_{280} < 0.10$) ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เข้าใกล้ศูนย์ในงานวิจัยนี้ให้ค่า K ดังกล่าวเท่ากับ 0 อย่างไรก็ตามพบว่าที่อัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งเร็วที่สุด คือ $u = 2.0$ cm/hr สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ได้ในทุกๆ ความเร็วรอบใบกวน โดยค่า K จะเพิ่มขึ้น เมื่อความเร็วรอบใบกวนมีค่าน้อยลงและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.4 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อสารละลายเข้มข้น 6.5 ± 1 mg/ml

u (cm/hr)	Nr (rpm)	K (-)
0.5	200	0 ^a
	500	0 ^a
	800	0 ^a
1.0	200	0.017 ± 0.004^b
	500	0 ^a
	800	0 ^a
2.0	200	0.331 ± 0.072^e
	500	0.182 ± 0.011^d
	800	0.036 ± 0.005^c

a, b, c, d, e ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวแนวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อสารละลายเข้มข้น
 14 ± 1 mg/ml

u (cm/hr)	Nr (rpm)	K (-)
0.5	200	0.070 ± 0.000^c
	500	0.014 ± 0.004^a
	800	0.002 ± 0.000^a
1.0	200	0.391 ± 0.053^e
	500	0.122 ± 0.003^d
	800	0.032 ± 0.003^{ab}
2.0	200	0.529 ± 0.031^f
	500	0.428 ± 0.016^e
	800	0.067 ± 0.003^{bc}

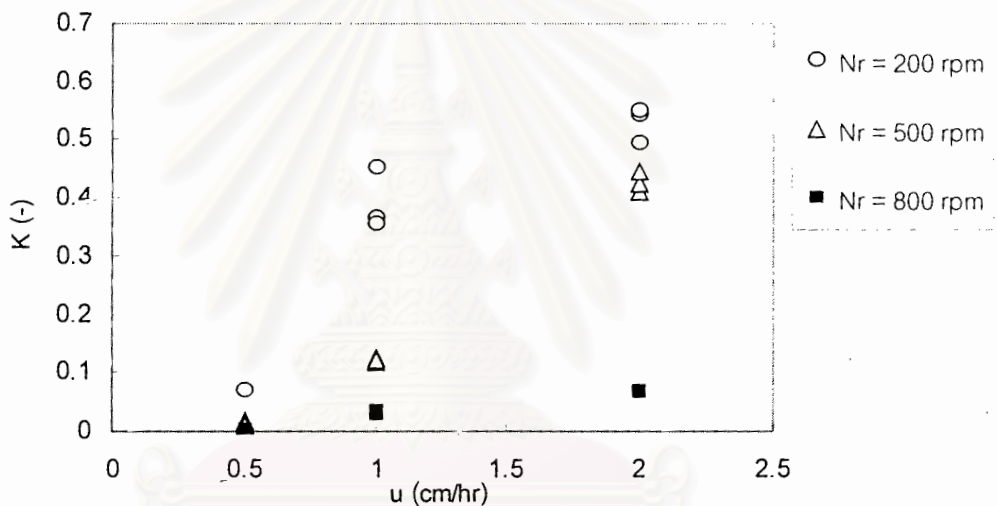
a, b, c, d, e, f ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวแนวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สภาวะต่างๆ เมื่อสารละลายเข้มข้น
 19 ± 1 mg/ml

u (cm/hr)	Nr (rpm)	K (-)
0.5	500	0.056 ± 0.017^b
	800	0.006 ± 0.001^a
1.0	500	0.177 ± 0.005^d
	800	0.100 ± 0.003^c

a, b, c, d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวแนวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

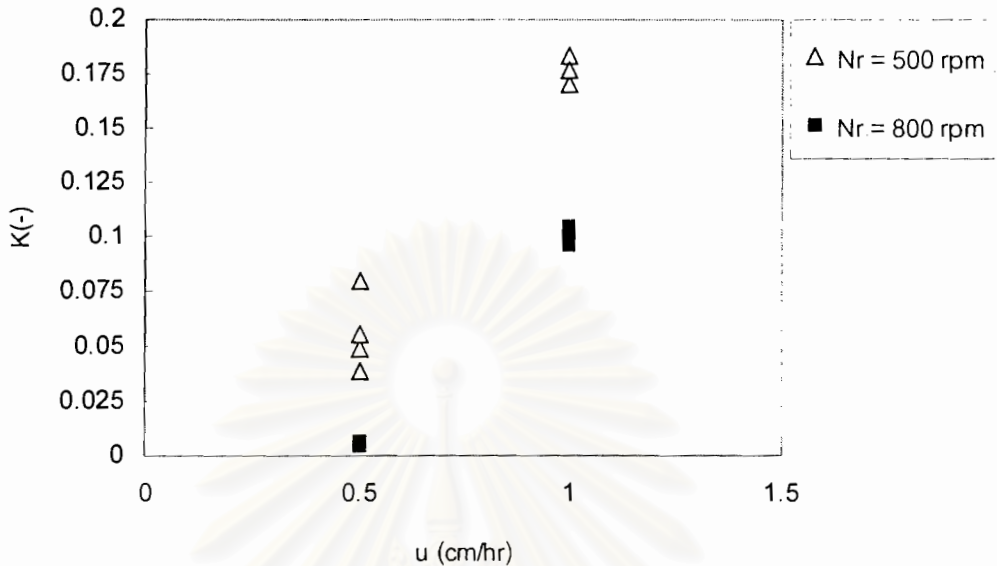
เมื่อนำค่าสัมประสิทธิ์การแยกที่ได้จากการทดลองที่สภาวะต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 14 ± 1 mg/ml มาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าอิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) และความเร็วยกวน (Nr) มีปฏิสัมพันธ์กัน และจากตารางที่ 4.5 สภาวะที่ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกต่ำสุด หรือมีประสิทธิผลการแยกสูงสุด คือ $u = 0.5$ cm/hr โดยมี Nr = 500 และ 800 rpm ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาจากภาพที่ 4.18 ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแยกและอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งที่มีต่อค่าความเร็วยกวนคงที่ใดๆ พบว่าถ้าอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) ต่ำลงและความเร็วยกวน (Nr) ที่สูงขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) มีค่าลดลง



ภาพที่ 4.18 อิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) และความเร็วยกวน (Nr)

ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สารละลายเข้มข้น 14 ± 1 mg/ml

สำหรับที่ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 19 ± 1 mg/ml เนื่องจากไม่สามารถเตรียมแบบจำลองน้ำล้างแป้งด้วยวิธีทดลอง 3.1 ที่มีความเข้มข้นเกินกว่า 13 mg/ml ได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้การต่อน้ำแข็งดังอธิบายไว้ในวิธีการทดลองที่ 3.2.1 เพื่อได้ค่า C_s ใกล้เคียงกับ C_s ที่เกิดขึ้นในขณะที่สารละลายมีความเข้มข้น 19 ± 1 mg/ml แต่เพื่อให้ได้ความเข้มข้นนี้จะต้องทำการทดลองต่อเนื่องเป็นเวลานาน ดังนั้นจึงเลือกแปรอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 2 ระดับคือ 0.5 และ 1.0 cm/hr และความเร็วยกวนเป็น 2 ระดับ เป็น 500 และ 800 rpm เท่านั้น จากตารางที่ 4.6 พบว่าสภาวะที่ให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ต่ำที่สุด แตกต่างจากสภาวะอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คืออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็วยกวน 800 rpm ซึ่งสามารถเห็นได้ชัดเจนจากภาพที่ 4.19

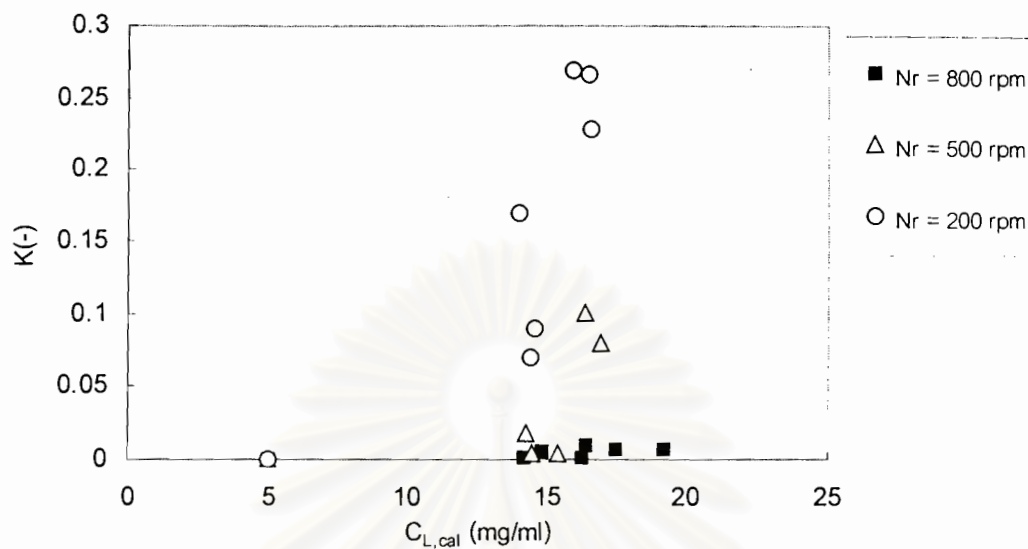


ภาพที่ 4.19 อิทธิพลของอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง (u) และความเร็วรอบใบกวน (Nr) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ที่สารละลายเข้มข้น 19 ± 1 mg/ml

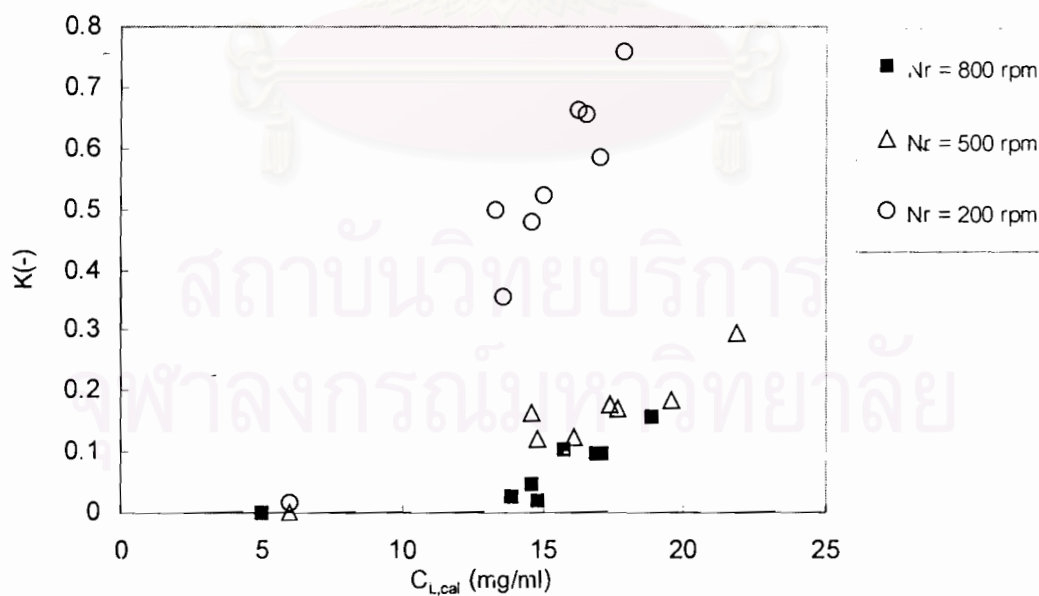
ผลของปัจจัยอัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งและความเร็วรอบใบกวนที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยกของการทำเข้มข้นสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งข้าวที่ได้จากการทดลองนี้ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Liu และคณะ (1997, 1999) ที่ศึกษาการทำเข้มข้นสารละลายกลูโคส บลูเด็กซ์ไทรน และน้ำมะเขือเทศด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว ที่พบว่าเมื่ออัตราเร็วการเกิดน้ำแข็งต่ำและความเร็วรอบใบกวนที่สูง จะทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกต่ำ

4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) ที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K)

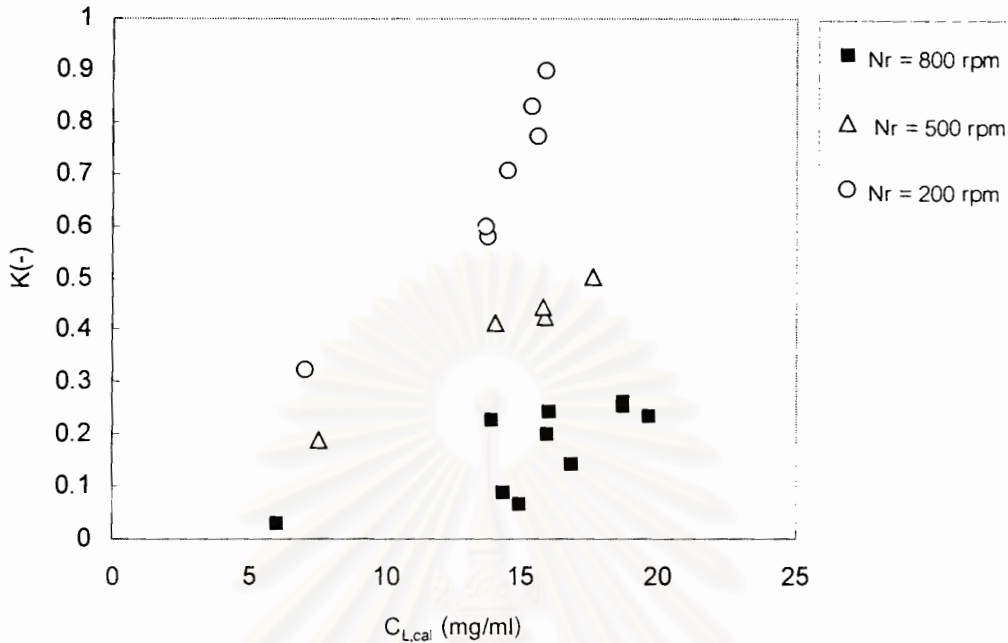
การทำเข้มข้นที่สภาวะอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง และความเร็วรอบใบกวนต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.20 ถึง 4.22 พบว่าที่สภาวะการทดลองคงที่ เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) สูงขึ้น



ภาพที่ 4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ($C_{L,cal}$) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่อ $u = 0.5$ cm/hr



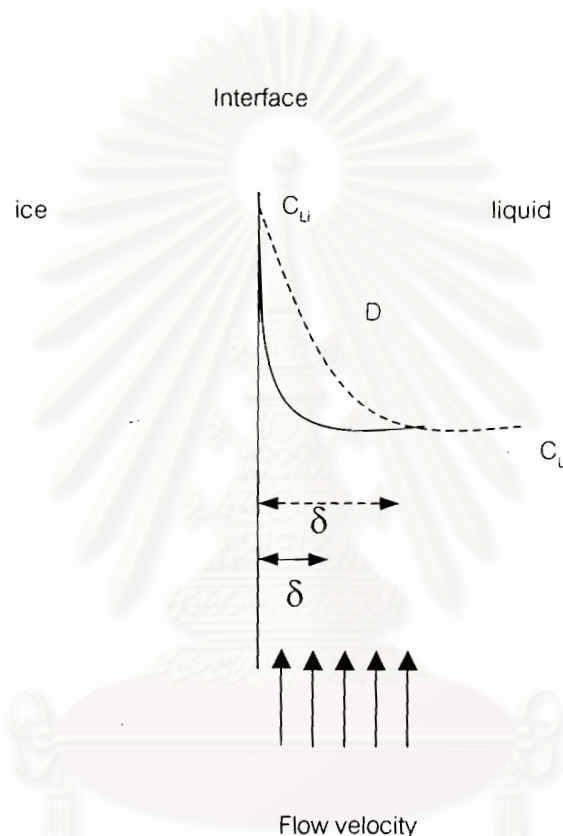
ภาพที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ($C_{L,cal}$) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่อ $u = 1.0$ cm/hr



ภาพที่ 4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ($C_{L,cal}$) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) เมื่อ $u = 2.0$ cm/hr

จากผลการทดลองข้างต้นที่อาจสรุปได้ว่าความเข้มข้นของสารละลาย อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง และความเร็วยกวนมีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยกที่ได้ กล่าวคือเมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งมีค่าสูงขึ้น (ต่ำลง) ค่าสัมประสิทธิ์การแยกจะสูงขึ้น (ต่ำลง) และความเร็วยกวนสูงขึ้น (ต่ำลง) ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกต่ำลง (สูงขึ้น) สามารถอธิบายโดยใช้แบบจำลอง concentration polarization ที่ Miyawaki, Liu และ Nakamura (1998) เสนอดังภาพที่ 2.2 ซึ่งเป็นแบบจำลองที่มีสมมติฐานให้ mass flux ของตัวถูกละลายที่เข้าไปในน้ำแข็ง (uC_s) เท่ากับผลต่างของ mass flux ที่ถูกถ่ายโอนออกจาก interface $D(C_L - C_L)/\delta$ กับ mass flux ที่เคลื่อนที่เข้ามา interface เนื่องมาจากการขยายตัวของน้ำแข็ง (uC_L) ดังนั้นเมื่อผลึกน้ำแข็งมีอัตราเกิดสูงขึ้น (u สูงขึ้น) จะทำให้ mass flux ของตัวถูกละลายที่เคลื่อนที่เข้าสู่ interface สูงขึ้น ในขณะที่ mass flux ของตัวถูกละลายที่ออกจาก interface คือ $D(C_L - C_L)/\delta$ มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นมวลของตัวถูกละลาย จึงถูกจับอยู่ในชั้นน้ำแข็งสูงขึ้นส่งผลให้ค่า K สูงขึ้น และความเข้มข้นของสารละลายที่สูงขึ้น ทำให้สารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า D ของตัวถูกละลายลดลง และ mass flux $D(C_L - C_L)/\delta$ ต่ำลง ในขณะที่เดียวกัน mass flux ที่เคลื่อนที่เข้ามา interface (uC_L) สูงขึ้น ทำให้ mass flux uC_s ในผลึกน้ำแข็งสูงขึ้น ส่วนในกรณีที่ความเร็วยกวนมีค่าสูงขึ้น จะทำให้ความหนาของชั้นที่มีความแตกต่างกันของ

ความเข้มข้น (δ) ลดลง ส่งผลให้ mass flux ที่ถูกถ่ายโอนออกจาก interface $D(C_U - C_L)/\delta$ มีค่าสูงขึ้น หรืออีกนัยหนึ่งทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวล (mass transfer coefficient; $k = D/\delta$) ของตัวถูกละลายจากบริเวณ interface ไปสู่ bulk solution มีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ mass flux uC_L คงที่ จึงทำให้ mass flux ของตัวถูกละลายที่เข้าไปในน้ำแข็ง (uC_S) ต่ำลง ส่งผลให้ค่า K ต่ำลงซึ่งแสดงดังภาพที่ 4.23



ภาพที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงความหนาของชั้นสารละลายที่มีความแตกต่างของความเข้มข้น (boundary layer; δ) เมื่อเพิ่มกระแสเฉือนบริเวณผิวระหว่างหน้า (interface)

จากผลการทดลองข้างต้น เพื่อให้ได้การนำกลับโปรตีนที่มีการสูญเสียไปกับชั้นน้ำแข็งต่ำที่สุด จึงเลือกใช้สภาวะอัตราการเกิดน้ำแข็งเป็น 0.5 cm/hr และความเร็วยรอบใบกวน 800 rpm ในการนำกลับโปรตีนของสารละลายแบบจำลองที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 13 ± 1 mg/ml จนได้สารละลายเข้มข้น 18 ± 1 mg/ml นำสารละลายเข้มข้นที่ได้และสารละลายแบบจำลองไปทำแห้งด้วยวิธี freeze dry (เครื่อง Heto Dry winner) ที่ความดันน้อยกว่า 0.5 atm และอุณหภูมิต่ำกว่า -40 °C เพื่อนำโปรตีนแห้งที่ได้ไปเปรียบเทียบสมบัติต่างๆ ในข้อ 4.5

4.4 การทำนายความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นในการนำกลับโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) กับความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) ที่ได้จากแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว

จากสมดุลมวลสารของระบบที่แสดงได้ดังสมการที่ 2.4 ถ้า K มีค่าคงที่ตลอดความเข้มข้นดังเช่น Miyawaki, Liu และ Nakamura (1998) ได้เสนอความสัมพันธ์ระหว่าง C_L กับ V_L จะเป็นไปตามสมการที่ 2.6 กล่าวคือความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(C_0/C_L)$ กับ $\ln(V_L/V_0)$ เป็นเส้นตรง แต่ในกรณีที่ค่า K ไม่คงที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารละลายดังเช่นการทดลองนี้ สมการที่ 2.4 สามารถเขียนได้ดังสมการที่ 4.1

$$-\int_0^{V_L} \frac{dV}{V} = \int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L - C_s} \quad \dots(4.1)$$

ดังนั้นถ้าทราบความสัมพันธ์ระหว่าง C_s กับ C_L สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่าง C_L กับ V_L ได้ เช่น

1. ความสัมพันธ์ระหว่าง K กับ C_L อยู่ในรูป $K = aC_L$ สมการที่ 4.1 สามารถเขียนได้ดังสมการที่ 4.2

$$-\int_0^{V_L} \frac{dV}{V} = \int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L(1-aC_L)} \quad \dots(4.2)$$

$$\ln\left(\frac{V_0}{V_L}\right) = \ln\left|\frac{C_L(1-aC_0)}{C_0(1-aC_L)}\right| \quad \dots(4.3)$$

ดังนั้น

$$V_L = \frac{V_0 C_0}{(1-aC_0)} \frac{1}{C_L} - \frac{aC_0 V_0}{(1-aC_0)} \quad \dots(4.4)$$

2. ความสัมพันธ์ระหว่าง K กับ C_L อยู่ในรูป $K = aC_L^n$ สมการที่ 4.1 สามารถเขียนได้ดังสมการที่ 4.5

$$-\int_0^{C_L} \frac{dV}{V} = \int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L(1-aC_L^n)} \quad \dots(4.5)$$

$$\ln\left(\frac{V_0}{V_L}\right) = \ln\left|\frac{C_L}{C_0}\right| - \frac{1}{n} \ln\left|\frac{aC_L^n - 1}{aC_0^n - 1}\right| \quad \dots(4.6)$$

ดังนั้น

$$V_L = V_0 C_0 \left| \frac{aC_L^n - 1}{aC_0^n - 1} \right|^{1/n} \quad \dots(4.7)$$

3. ความสัมพันธ์ระหว่าง K กับ C_L อยู่ในรูป $K = aC_L + b$ สมการที่ 4.1 สามารถเขียนได้ดังสมการที่ 4.8

$$-\int_0^{C_L} \frac{dV}{V} = \int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L}; \quad C_L \leq -\frac{b}{a} \quad \dots(4.8)$$

$$-\int_0^{C_L} \frac{dV}{V} = -\int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L(aC_L + b - 1)}; \quad C_L > -\frac{b}{a} \quad \dots(4.9)$$

$$\ln\left|\frac{V_0}{V_L}\right| = \ln\left|\frac{C_L}{C_0}\right|; \quad C_L \leq -\frac{b}{a} \quad \dots(4.10)$$

$$\ln\left|\frac{V_0}{V_L}\right| = -\frac{1}{(b-1)} \ln\left|\frac{C_L}{C_0}\right| + \frac{1}{(b-1)} \ln\left|\frac{aC_L + b - 1}{aC_0 + b - 1}\right|; \quad C_L \leq -\frac{b}{a} \quad (4.11)$$

ดังนั้น

$$V_L = V_0 C_0 \frac{1}{C_L}; \quad C_L \leq -\frac{b}{a} \quad \dots(4.12)$$

$$V_L = V_0 \left| \frac{C_L(aC_0 + b - 1)}{C_0(aC_L + b - 1)} \right|^{\frac{1}{(b-1)}}; \quad C_L > -\frac{b}{a} \quad \dots(4.13)$$

นอกจากนี้ ถ้าความสัมพันธ์ระหว่าง K กับ C_L ไม่อยู่ในรูปที่ซึ่งไม่อยู่ในรูปสมการทางคณิตศาสตร์ที่สามารถแก้สมการที่ 4.1 ได้ง่าย เราสามารถใช้การหาพื้นที่ใต้รูปประหว่ง $1/(C_L - C_S)$ และ C_L แล้วแทนพจน์ด้านซ้ายมือของสมการที่ 4.1 จะหาความสัมพันธ์ระหว่าง V_L และ C_L ได้ (ภาคผนวก จ)

จากผลการทดลอง 4.3 เลือกสภาวะอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง 0.5 cm/hr และความเร็วใบกวน 800 rpm กับอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง 1.0 cm/hr และความเร็วใบกวน 500 rpm มาใช้ในการทำเข้มข้นสารละลายน้ำล้างแป้งถั่วเขียวจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้น พบว่า เมื่อให้ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (C_L) และค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ของทั้งสองสภาวะแสดงได้ด้วยเส้นตรงตามสมการดังภาพที่ 4.24 และ 4.25

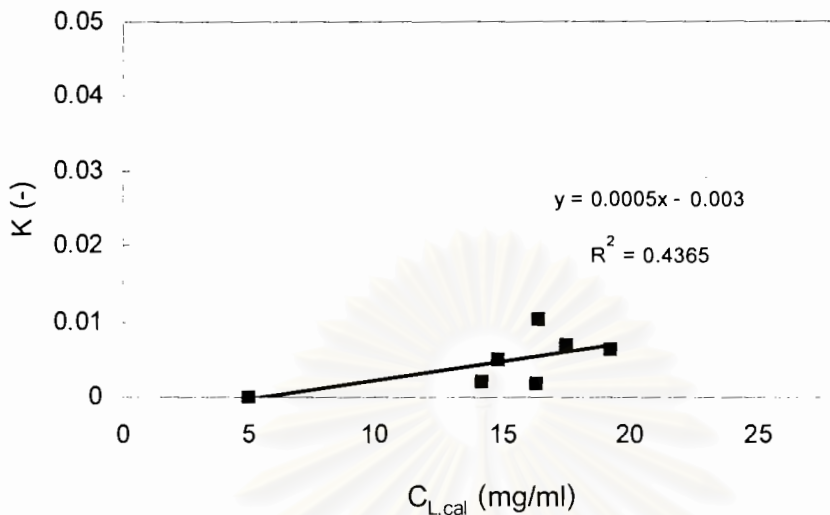
สภาวะที่ $u = 0.5$ cm/hr, $N_r = 800$ rpm

$$K = 0.0005C_L - 0.003 \quad C_L > 5 \text{ mg/ml}; \quad R^2 = 0.437$$

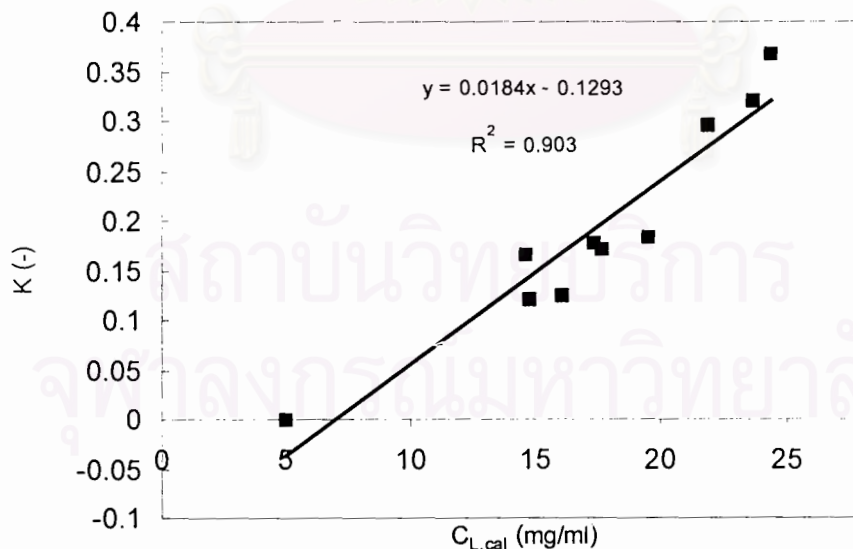
สภาวะที่ $u = 1.0$ cm/hr, $N_r = 500$ rpm

$$K = 0.0184C_L - 0.1293 \quad C_L > 5 \text{ mg/ml}; \quad R^2 = 0.903$$

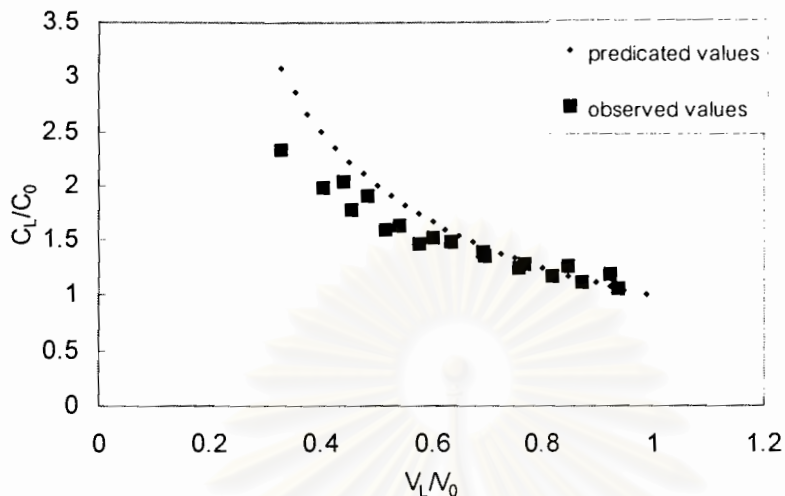
ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (C_L) กับปริมาตร (V_L) ของสารละลาย จะเป็นไปตามสมการที่ 4.12 ดังแสดงด้วยสัญลักษณ์ในภาพที่ 4.26 และ 4.27 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงไปต่อ V_L ที่ได้จากการทดลองพบว่าใกล้เคียงในระดับที่พอยอมรับได้ทั้งสองกรณี เมื่อนำค่า C_L ที่ได้จากการทำนาย ($C_{L, \text{predicated}}$) ไป plot เปรียบเทียบกับค่า C_L ที่ได้จากการทดลองจริง ($C_{L, \text{observed}}$) ที่ค่า V_L เดียวกัน ดังภาพที่ 4.28 และ 4.29 พบว่าค่าความเข้มข้นของสารละลายที่ได้จากการทำนายและค่าจากการทดลองจริงทั้งสองสภาวะมีค่าแตกต่างกันไม่เกิน $\pm 25\%$ โดยค่าความเข้มข้นของสารละลายจากการทดลองจริงมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากช่วงต้นของการทดลองที่สภาวะยังไม่อยู่ในสภาวะคงตัว ปริมาณของตัวถูกละลาย (โปรตีน) ถูกจับอยู่ในผลึกน้ำแข็งจำนวนมาก ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายจริงจึงต่ำกว่าค่าที่ทำนายได้ แสดงให้เห็นว่าในกรณีของการทำเข้มข้นสารละลายโปรตีนในน้ำล้างแป้งถั่วเขียว สามารถใช้ความสัมพันธ์ระหว่าง K และ C_L ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากแบบจำลองมาทำนายความเข้มข้นของสารละลายจริงได้



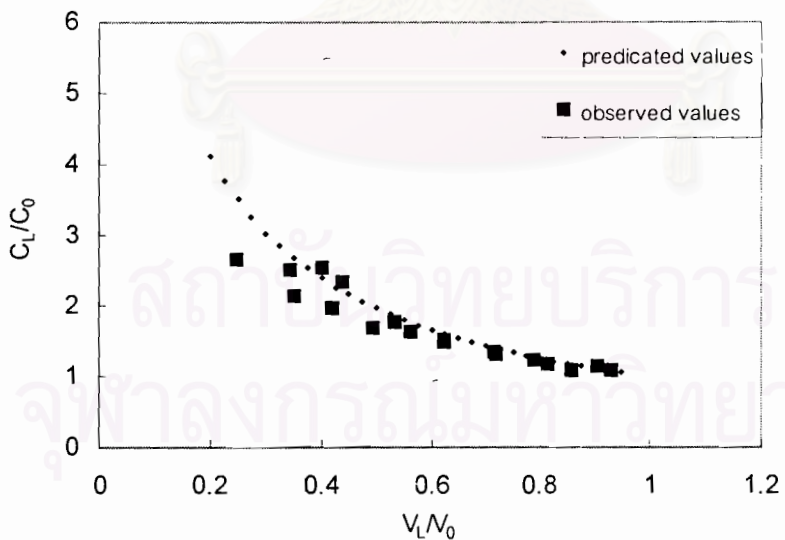
ภาพที่ 4.24 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) กับค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) ที่สภาวะ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm



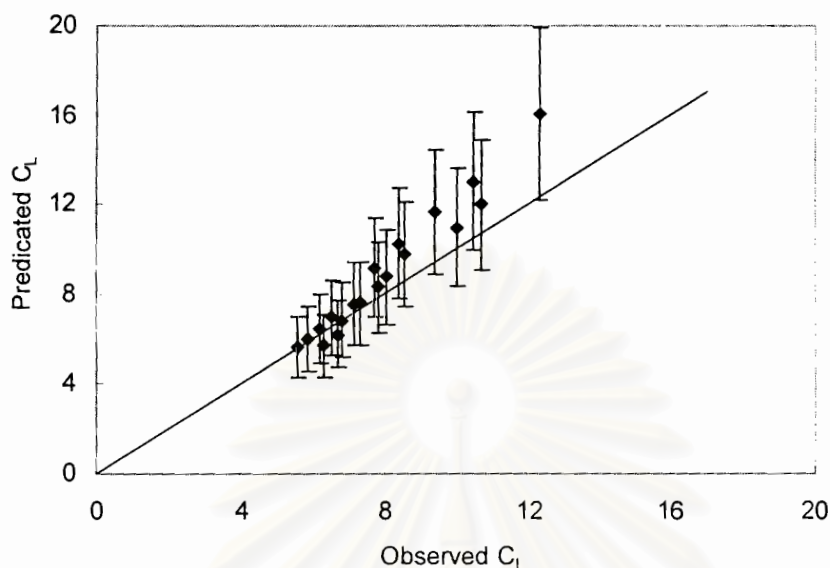
ภาพที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) กับค่าสัมประสิทธิ์การแยก(K) ที่สภาวะ $u = 1.0$ cm/hr และ $Nr = 500$ rpm



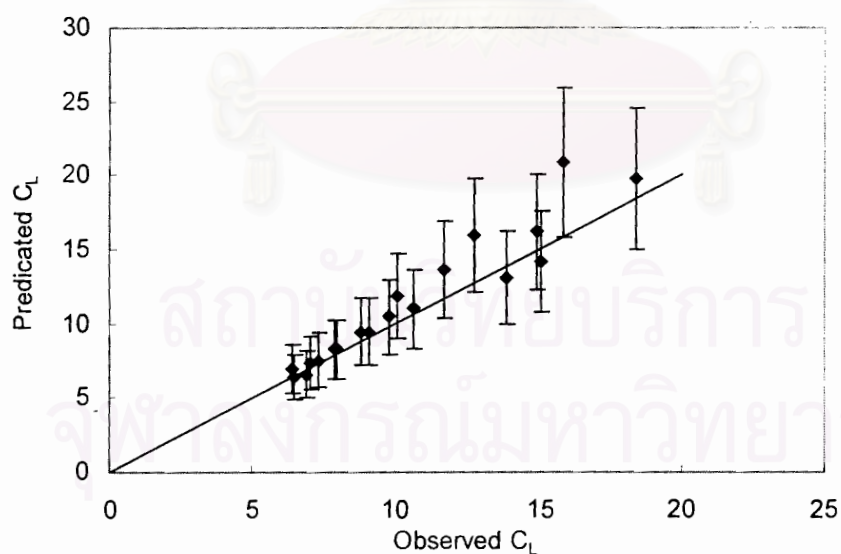
ภาพที่ 4.26 การเปรียบเทียบระหว่างปริมาตร (V_L) และความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ (C_L) ที่ทำนายจากสมการกับค่าจากการทดลอง เมื่อ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm



ภาพที่ 4.27 การเปรียบเทียบระหว่างปริมาตร (V_L) และความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ (C_L) ที่ทำนายจากสมการกับค่าจากการทดลอง เมื่อ $u = 1.0$ cm/hr และ $Nr = 500$ rpm



ภาพที่ 4.28 เปรียบเทียบเปรียบเทียบค่า C_L ที่ได้จากการทดลอง (Observed values) และค่า C_L จากสมการของสารละลายแบบจำลอง (Predicated values) ที่สภาวะอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) 0.5 cm/hr และอัตราเร็วใบกวน (Nr) 800 rpm



ภาพที่ 4.29 เปรียบเทียบเปรียบเทียบค่า C_L ที่ได้จากการทดลอง (Observed values) และค่า C_L จากสมการของสารละลายแบบจำลอง (Predicated values) ที่สภาวะอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) 1.0 cm/hr และอัตราเร็วใบกวน (Nr) 500 rpm

ดังนั้นจะนำความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,cal}$) กับค่าสัมประสิทธิ์การแยก (K) ในการทำเข้มข้นโดยกระบวนการแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวที่สภาวะต่างๆ มาประยุกต์ใช้ในการทำเข้มข้นสารละลายในระบบอื่น เช่น การทำนายและคำนวณความเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลฟรุกโตสในน้ำอองุ่นเข้มข้น เป็นต้น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5 ศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว

เมื่อนำ stock solution ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 13 ± 1 mg/ml มานำกลับโปรตีนที่สภาวะอัตราเร็วการเกิดน้ำแข็ง (u) 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน(Nr) 800 rpm จนได้สารละลายเข้มข้น 18 mg/ml แล้วเก็บตัวอย่างแบบจำลองและสารละลายเข้มข้นที่ได้ด้วยวิธี freeze dry เพื่อนำมาศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว ได้แก่ การละลายของโปรตีนในเชิงการละลายของไนโตรเจน (nitrogen solubility index) การดูดซับน้ำและน้ำมัน (water and oil adsorption) และวิเคราะห์ค่า emulsifying activity index ดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าโปรตีนจากสารละลายแบบจำลองและสารละลายเข้มข้น มีค่าการดูดซับน้ำ ค่า emulsifying activity index และการละลายที่ค่าความเป็นกรดต่าง 4.5 7.0 และ 9.0 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ค่าการดูดซับน้ำมันของสารละลายเข้มข้นพบว่ามีค่ามากกว่าสารละลายแบบจำลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จึงทำการศึกษาการดูดซับน้ำมันของโปรตีนจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียว ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตวุ้นเส้นทั้งก่อนและหลังการทำเข้มข้นด้วยวิธีนี้ที่สภาวะเดียวกันคือ $u = 0.5$ cm/hr และ $Nr = 800$ rpm แล้วเก็บตัวอย่างด้วยวิธี freeze dry พบว่าโปรตีนเข้มข้นมีค่าการดูดซับน้ำมันเป็น 1.79 ± 0.19 g/g protein ซึ่งมากกว่าโปรตีนเริ่มต้นที่มีค่าเป็น 1.38 ± 0.18 g/g protein อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.7 สมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเขียว

สมบัติต่างๆ	แหล่งของโปรตีน	
	สารละลายแบบจำลอง	สารละลายเข้มข้น
Nitrogen solubility index (%)		
pH 4.5 ^{ns}	25.72 ± 2.42	26.37 ± 2.64
pH 7.0 ^{ns}	95.68 ± 3.07	94.95 ± 3.74
pH 9.0 ^{ns}	95.95 ± 3.31	98.31 ± 1.66
Water adsorption (g/g-protein) ^{ns}	-	-
Oil adsorption (g/g-protein)	8.32 ± 0.19^a	8.76 ± 0.24^b
Emulsifying activity index($\text{cm}^3/\text{g-protein}$) ^{ns}	444 ± 25	438 ± 18

- ละลายหมด

ns ไม่มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวแนวนอนเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อนำผงโปรตีนแบบจำลองและสารละลายเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาสมบัติต่างๆ ของโปรตีนมาวิเคราะห์ปริมาณ total amino acid ได้ผลดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 สัดส่วนของกรดอะมิโนต่อกรดอะมิโนทั้งหมดที่พบในสารละลายแบบจำลองและสารละลายโปรตีนเข้มข้นจากน้ำล้างแป้งถั่วเขียว

ชนิดของกรดอะมิโน	สัดส่วนของกรดอะมิโนต่อกรดอะมิโนทั้งหมด	
	สารละลายแบบจำลอง	สารละลายโปรตีนเข้มข้น
Cystine	0.009	0.008
Methionine	0.013	0.013
Aspartic acid	0.121	0.121
Threonine	0.033	0.033
Serine	0.054	0.053
Glutamic acid	0.192	0.195
Glycine	0.037	0.037
Alanine	0.043	0.043
Valine	0.053	0.053
Isoleucine	0.043	0.044
Leucine	0.083	0.083
Tyrosine	0.034	0.030
Phenylalanine	0.064	0.064
Histidine	0.031	0.031
Lysine	0.073	0.072
Arginine	0.074	0.075
Proline	0.043	0.045

เนื่องจากการดูดซับน้ำมันเป็นผลจากพันธะเคมีประเภทไม่มีขั้ว (non-ionic bonding) ในโครงสร้างของโปรตีน โปรตีนที่มีพันธะชนิดนี้ในปริมาณมากจะสามารถดูดซับน้ำมันได้ดี นอกจากนี้ยังเป็นผลจากการที่น้ำมันถูกกักเก็บไว้ในเมตริกซ์ของโปรตีนด้วย แต่เมื่อพิจารณา

สัดส่วนองค์ประกอบของกรดอะมิโนในแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวและสารละลายเข้มข้นที่ได้พบว่าสัดส่วนไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังจากการทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดียว ดังนั้นสมบัติในการดูดซับน้ำมันของโปรตีนที่ผ่านการทำเข้มข้นด้วยวิธีนี้มีค่าเพิ่มขึ้น จึงอาจเป็นผลเนื่องจากแรงกลในระหว่างการทำเข้มข้น (ในที่นี้คือความเร็วรอบใบกวน) จะทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติไปบางส่วน ซึ่งโปรตีนที่เสียสภาพธรรมชาตินี้จะคลายตัวออกเป็นสายยาว ทำให้ไขมันถูกกักเก็บไว้ในเมตริกซ์ของโปรตีนได้มากขึ้น (Barbut, 1996)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. กระบวนการแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวสามารถทำเข้มข้นโปรตีนจากสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว
2. ปัจจัยที่ผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก (partition constant) ระหว่างเฟสทั้งสอง (น้ำแข็งและของเหลวเข้มข้น) ได้แก่ อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง ความเร็วรอบใบกวน และความเข้มข้นของสารละลาย โดยที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็งที่ต่ำ ความเร็วรอบใบกวนที่สูง และความเข้มข้นของสารละลายต่ำ จะให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกที่ต่ำ หรือมีการสูญเสียตัวถูกละลายต่ำ
3. จากขอบเขตของสภาวะที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ในช่วงความเข้มข้น 6.5 ± 1 ถึง 19 ± 1 mg/ml พบว่าสภาวะที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง 0.5 cm/h และความเร็วรอบใบกวน 800 rpm ให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกต่ำที่สุด
4. การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายน้ำล้างแป้งถั่วเขียวจากโรงงานอุตสาหกรรม สามารถทำนายได้โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแยก กับความเข้มข้นของสารละลายที่ได้จากสารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียว
5. สัดส่วนขององค์ประกอบกรดอะมิโนที่มีอยู่ในสารละลายแบบจำลองก่อนและหลังผ่านการทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยวไม่แตกต่างกัน
6. สารละลายแบบจำลองน้ำล้างแป้งถั่วเขียวที่ผ่านกระบวนการทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว พบว่าสมบัติด้านการละลายของไนโตรเจน การดูดซับน้ำ และค่า emulsifying activity index ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่สารละลายเข้มข้นมีการดูดซับน้ำมันมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. การวิจัยกระบวนการผลิตเพื่อลดระยะเวลาในการทำเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว โดยการเพิ่มพื้นที่การถ่ายโอนความร้อน
2. ศึกษาตัวแปรเพิ่มเติม เช่น ผลของความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างสารละลายเข้มข้นกับสารหล่อเย็นที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก เป็นต้น
3. ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสมบัติของโปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการทำเข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบผลึกเดี่ยว เช่น การเกิดโฟม และการวิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity เป็นต้น
4. ศึกษาคุณสมบัติในด้านการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ในการผลิต edible film สารทดแทนไขมัน และใช้เป็น emulsifier เป็นต้น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- นิธิยา รัตนูปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พรีนติ้ง เฮ้าส์.
- ปริญญา ศิริกุลชยานนท์. 2544. การผลิตสารทดแทนไขมันสำหรับอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำจากโปรตีนถั่วเขียววิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ละวาดอร เปล่งวิทยา และจุฑามาศ แก้วประเสริฐ. 2537. การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารโดยใช้โปรตีนจากถั่วเขียว. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปริญญาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแป้งถั่วเขียว (มอก. 948). กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.
- สมบัติ ขอทวีพัฒนา. 2535. การพัฒนากรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเหลว. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรสา สุริยาพันธ์. 2531. การใช้โปรตีนถั่วเขียวเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมวุ้นเส้นในการผลิตน้ำขอสปรุงรส วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- AOAC. 1995. AOAC Official Method of Analysis. 16th ed. Washington D.C.
- Barbut, S. 1996. Determining water and fat holding. In G.M. Hall (Ed.), Method of Testing Protein Functionality, pp. 213. London: Blackie Academic & Professional.
- Boye, J.I. and Harwalkar, V.R. 1997. Thermal denaturation and coagulation of proteins. In S. Damodaran(Ed.), Food Protein and Their Application, pp. 25-56. Marcel Dekker.
- Damodaran, S. and Paraf, A. 1997. Food Protein and Their Application, pp.12-14. Marcel Dekker.
- Deshpande, S.S., Bolin, H.R. and Salunkhe, D.K. 1982, May. Freeze concentration of fruit juice. Food Tech. 68-78.

- Kalckar, H.M. 1947. *J. Biol. Chem.* 167:461. cited in Layne, 1957. In Z. E. Sikorski(Ed.), 2001. Chemical and Functional Properties of Food Proteins, pp. 76-77. U.S.A.: Technomic Publishing.
- Khalil, I.A. and Khan, S. 1995. Protein quality of Asian beans and their wild progenitor, *Vigna sublobata*(Roxb). Food Chem. 52:327-330.
- Liu, L., Miyawaki, O., and Nakamura, K. 1997. Progressive freeze-concentration of model liquid food. Food Sci. Technol. Intern. Tokyo. 3(4):348-352.
- Liu, L., Miyawaki, O., and Hayakawa, K. 1999. Progressive freeze-concentration of tomato juice. Food Sci. Technol. Res. 5(1):108-112.
- Miyawaki, O., Liu, L., and Nakamura, K. 1998. Effective partition constant of solute between ice and liquid phases in progressive freeze-concentration. J. Food Sci. 63 (4):756-758.
- Muller, J.G. 1967. Freeze concentration of food liquids: Theory, practice, and economics. Food Technol. 21(1):49-61.
- Pearce, K.N. and Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. J. Agric. Food Chem. 26:716-723.
- Poehlman, J. M. 1991. The Mungbean. Colorado: Westview Press.
- Ramteke, R.S., Singh, N.I., Rekha, M.N., and Eipeson, W.E. 1993. Methods for concentration of fruit juices: A critical evaluation. J. Food Sci. Technol. 30(6):391-402.
- Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K. 1981. Functional properties of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: Emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. J. Food Sci. 46:71-74, 81.
- Vojdani, F. 1996. Solubility. In G.M. Hall (Ed.), Method of Testing Protein Functionality, pp. 11-60. London: Blackie Academic & Professional.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การแปรอัตราส่วนของถั่วเขียวบดกับน้ำในการเตรียมแบบจำลอง
น้ำล้างแป้งถั่วเขียว

อัตราส่วนถั่วเขียวบด : น้ำ	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (mg/ml)
1:5	13.690 ± 1.452
1:7	13.748 ± 0.921
1:10	13.085 ± 1.023
1:20	8.041 ± 1.067

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี ultraviolet absorption

เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ง่ายและรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ในเชิงเปรียบเทียบที่มีสารตัวอย่างจำนวนมากและมีความเข้มข้นต่ำ ซึ่งเป็นวิธีที่วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและสายเปปไทด์ที่ประกอบด้วย aromatic amino acid ได้แก่ phenylalanine, tyrosine, tryptophan และ histidine ซึ่งดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่นในช่วง 260-280 nm. อย่างไรก็ตามที่ความยาวคลื่นในช่วงนี้พวก nucleic acid ก็สามารถดูดกลืนแสงได้ดีเช่นกัน แต่จะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm. ได้ดีกว่าที่ 280 nm. ซึ่งตรงข้ามกับโปรตีนที่ดูดกลืนแสงได้มากกว่าที่ 280 nm. ดังนั้นวิธีนี้จึงใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 และ 260 nm. แล้วคำนวณตามสมการของ Kalckar(1947)

$$Pc \text{ (mg/ml)} = 1.45D_{280} - 0.74D_{260}$$

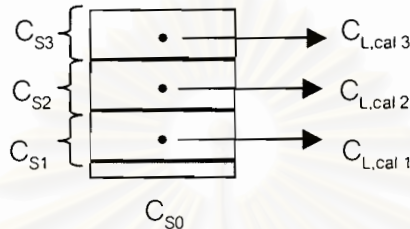
โดย Pc คือ ความเข้มข้นของโปรตีน

D_{280} และ D_{260} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 และ 260 nm. ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นที่คำนวณจากสมมูลมวล ณ จุดกึ่งกลางของ
ของน้ำแข็งแต่ละชั้นที่แบ่ง



$$C_{L,cal 1} = \frac{V_0 C_0 - \left\{ \left[\left(\frac{H_1 - H_0}{2 \times 1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S1} \right\} - \left\{ \left[\left(\frac{H_0}{1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S0} \right\}}{V_0 - \left[\left(H_0 + \frac{H_1 - H_0}{2} \right) \left(\frac{\pi d^2}{1.085 \times 4} \right) \right]}$$

$$C_{L,cal 2} = \frac{V_0 C_0 - \left\{ \left[\left(\frac{H_2 - H_1}{2 \times 1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S2} \right\} - \left\{ \left[\left(\frac{H_1 - H_0}{1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S1} \right\} - \left\{ \left[\left(\frac{H_0}{1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S0} \right\}}{V_0 - \left[\left(H_1 + \frac{H_2 - H_1}{2} \right) \left(\frac{\pi d^2}{1.085 \times 4} \right) \right]}$$

$$C_{L,cal 3} = \frac{V_0 C_0 - \left\{ \left[\left(\frac{H_3 - H_2}{2 \times 1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S3} \right\} - \left\{ \left[\left(\frac{H_2 - H_1}{1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S2} \right\} - \left\{ \left[\left(\frac{H_1 - H_0}{1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S1} \right\} - \left\{ \left[\left(\frac{H_0}{1.085} \right) \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \right] \times C_{S0} \right\}}{V_0 - \left[\left(H_2 + \frac{H_3 - H_2}{2} \right) \left(\frac{\pi d^2}{1.085 \times 4} \right) \right]}$$

เมื่อ d = ความยาวของเส้นผ่านจุดศูนย์กลางภายในกระบอก (cm)

C_{Si} = ความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำแข็งชั้นที่ i โดยที่ $i = 0, 1, 2, 3, \dots$

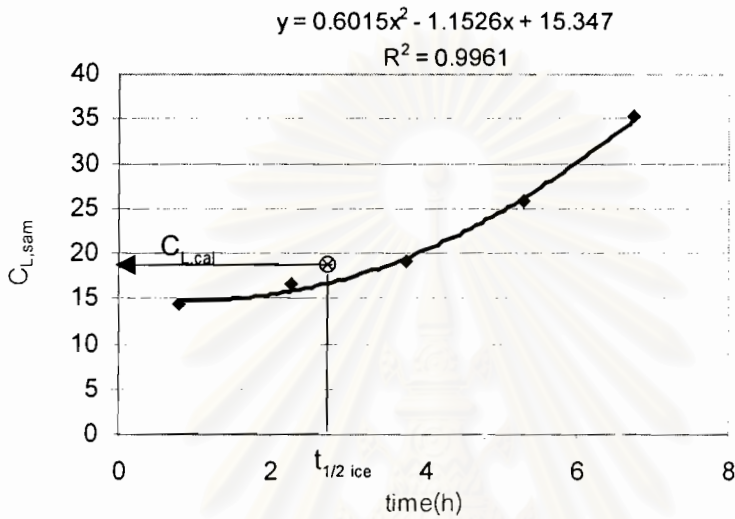
$C_{L,cal i}$ = ความเข้มข้นของสารละลายที่คำนวณได้ ณ จุดกึ่งกลางน้ำแข็งชั้นที่ $i = 0, 1, 2, 3, \dots$

V_0 = ปริมาตรของสารละลายเริ่มต้นการทดลอง

C_0 = ความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้นการทดลอง

H_i = ความสูงของน้ำแข็งชั้นที่ i

นำค่า $C_{L,cal}$ ที่คำนวณได้จากสมการมวล ณ จุดกึ่งกลางน้ำแข็ง มาเปรียบเทียบกับค่าที่อ่านได้จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย ($C_{L,sam}$) และเวลาที่เก็บตัวอย่าง (ดังแสดงตัวอย่างในกราฟด้านล่าง) ถ้า $C_{L,cal}$ มีค่าไม่แตกต่างกันกว่า $\pm 10\%$ จาก $C_{L,sam}$ ที่เวลาเดียวกันจึงใช้ $C_{L,cal}$ เป็นค่า C_L ที่ใช้ในการคำนวณหาค่า K



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

เปรียบเทียบผลการทดลองในช่วงก่อนและหลังเข้าสู่สภาวะคงตัว

สภาวะที่การทดลองยังไม่เข้าสู่สภาวะคงตัว

เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง (u) เป็น 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน(Nr) 800 rpm โดยมีปริมาตรเริ่มต้น(V_0) 200 ml ความเข้มข้นเริ่มต้น(C_0) 12.98 mg/ml

ครั้งที่/ส่วนที่	t_{sam} (hr)	$C_{L'sam}$ (mg/ml)	C_s (mg/ml)	$C_{L,cal}$ (mg/ml)
1	1.5	12.98	4.99	13.28
2	1.6	13.64	0.09	14.21
3	4.8	16.31	0.08	16.38
4	7.8	20.03	0.20	20.26
5	11.2	25.58	1.48	25.12
6	14.4	37.19	6.92	36.75

เมื่ออัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง(u) เป็น 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน(Nr) 500 rpm โดยมีปริมาตรเริ่มต้น(V_0) 200 ml ความเข้มข้นเริ่มต้น(C_0) 13.01 mg/ml

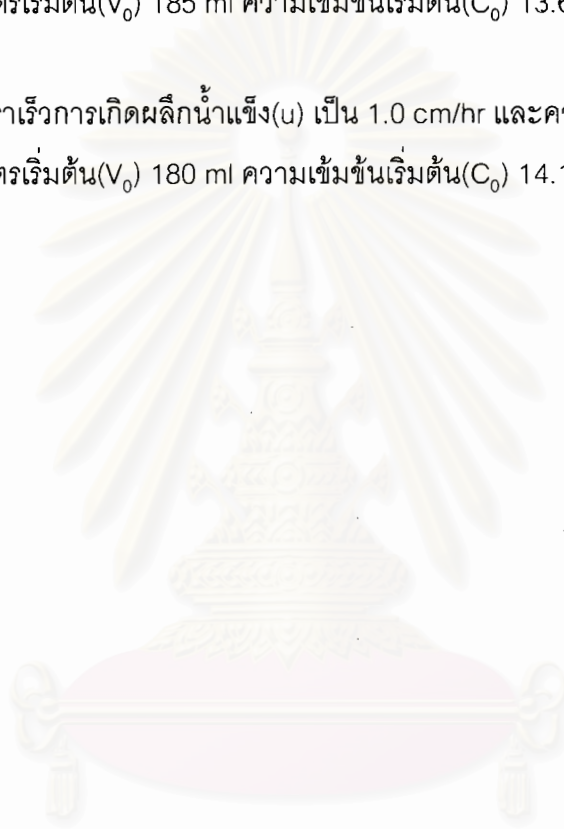
ครั้งที่/ส่วนที่	t_{sam} (hr)	$C_{L'sam}$ (mg/ml)	C_s (mg/ml)	$C_{L,cal}$ (mg/ml)
1	0.70	13.01	2.54	13.56
2	0.78	14.46	1.17	14.74
3	2.25	16.61	3.75	16.73
4	3.75	19.17	6.64	20.32
5	5.3	25.74	10.46	24.42
6	6.8	35.22	13.96	36.71

สภาวะที่การทดลองยังเข้าสู่สภาวะคงตัวแล้ว

เมื่อตัดน้ำแข็งในช่วงแรกที่ระบบยังไม่อยู่ในสภาวะคงตัวออก จะได้ผลการทดลองใหม่ดังนี้

- สภาวะที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง(u) เป็น 0.5 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน(N_r) 800 rpm โดยมีปริมาตรเริ่มต้น(V_0) 185 ml ความเข้มข้นเริ่มต้น(C_0) 13.61 mg/ml

- สภาวะที่อัตราเร็วการเกิดผลึกน้ำแข็ง(u) เป็น 1.0 cm/hr และความเร็วรอบใบกวน(N_r) 500 rpm โดยมีปริมาตรเริ่มต้น(V_0) 180 ml ความเข้มข้นเริ่มต้น(C_0) 14.18 mg/ml



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

การหาความสัมพันธ์ระหว่าง V_L กับ C_L เมื่อความสัมพันธ์ระหว่าง K กับ C_L ไม่อยู่ในรูปที่ไม่สามารถแก้สมการทางคณิตศาสตร์ได้

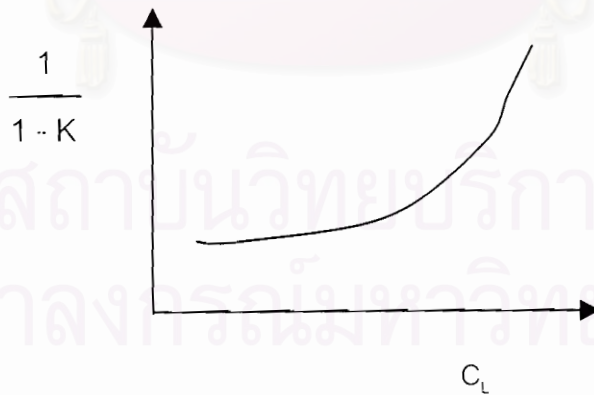
เมื่อทราบความสัมพันธ์ระหว่าง K กับ C_L จะสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่าง C_L กับ V_L ได้ จากสมการที่ 4.1

$$-\int_0^{C_L} \frac{dV}{V} = \int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L - C_s} \quad \dots(4.1)$$

ให้ $K = C_s/C_L$ จะได้

$$-\int_0^{C_L} \frac{dV}{V} = \int_0^{C_L} \frac{dC_L}{C_L(1-K)}$$

ดังนั้นสามารถใช้การหาพื้นที่ใต้รูปของกราฟระหว่าง C_L กับ $1/(1-K)$ แทนการการอินทิเกรตพจน์ด้านขวาของสมการได้



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสโรชา รัตนศิลป์ เกิดวันที่ 8 มิถุนายน พ.ศ. 2521 เกิดที่จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตจากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตจากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2544



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย