อิทธิพลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายและการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น
Influence of pH and Temperature on Solubility and Foaming Properties of Mung Bean Protein Concentrate

ณฐมล จินดาพรรณ[1,*] สุจิตรา ศรีเงินยวง และ ชญานิน แดงพรม
Nathamol Chindapan[1,*] Suchittra Sringernyuang and Chayanin Dangprom

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายและการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น โดยการดัดแปรสมบัติของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 4, 6 และ 8 จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรแล้วที่สภาวะต่างๆ ข้างต้นรวมทั้งตัวอย่างควบคุมของ pH ต่างๆ ที่ไม่ให้ความร้อน จะถูกนำไปวิเคราะห์สมบัติการละลาย กำลังการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มขึ้นของ pH และอุณหภูมิที่ใช้ในการดัดแปรส่งผล ทำให้สมบัติการละลายและกำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่มี pH 4 ซึ่งถูกกวนผสมนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง มีสมบัติการละลายและกำลังการเกิดฟองต่ำที่สุด และพบว่าสมบัติการละลายและกำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อถูกดัดแปรขณะที่มี pH 8 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ในขณะที่ความคงตัวของฟองจะเพิ่มขึ้นเมื่อโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นถูกดัดแปรในสภาวะที่เป็นด่าง pH 8 ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ: การดัดแปรโปรตีน, การละลาย, สมบัติการเกิดฟอง, ถั่วเขียว, โปรตีนเข้มข้น

ABSTRACT

This research was to investigate the effect of pH and temperature on solubility and foaming properties of mung bean protein concentrate. Mung bean protein concentrate having concentration of 6 % (w/v) was modified by adjusting pH of 4, 6 and 8 with heating at 70, 80 and 90 °C for 30 minute. Consequently, all samples of modified mung bean protein concentrate including control samples having various pH as mentioned above without heating were evaluated for solubility, foam capacity and foam stability, respectively. The result showed that an increase in pH and temperature led to a significant increase in the solubility and foam capacity of the mung bean protein concentrate ($p<0.05$). In addition, mung bean protein concentrate having pH of 4 and stirred at room temperature for 30 minutes had the lowest solubility and foam capacity. However, these properties would be increased to maximum, when mung bean protein concentrate was modified at pH of 8 with heating at 90 °C for 30 minutes. In terms of foam stability, it was found that it would be improved when mung bean protein concentrate was modified at pH of 8 with heating at temperature not less than 70 °C.

Keywords: Protein modification, Solubility, Foaming properties, Mung bean, Protein concentrate

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

บทนำ

ถั่วเขียว (Mung bean, Green gram) เป็นพืชตระกูลถั่ว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiate* (L.) *Wilezek* เมล็ดประกอบด้วยโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 24.24 ความชื้นร้อยละ 8.10 ไขมันร้อยละ 1.12 เถ้าร้อยละ 3.92 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 62.84 โดยน้ำหนัก [1] ถั่วเขียวที่ผลิตได้ในประเทศไทยนอกจากใช้เพื่อการบริโภคโดยตรงแล้ว ยังนำมาสกัดสตาร์ชเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์วุ้นเส้น ซึ่งจะได้โปรตีนถั่วเขียวเป็นผลพลอยได้รวมอยู่ในน้ำทิ้งของกระบวนการผลิต ปัจจุบันโรงงานจะทำการตกตะกอนโปรตีนถั่วเขียวออกจากน้ำทิ้งโดยใช้กรดร่วมกับไอน้ำและนำมาอบแห้งขายเป็นอาหารสัตว์ในราคาถูก

โปรตีนถั่วเขียวเป็นโปรตีนประเภทกลอบูลาร์โปรตีน (globular protein) ที่ประกอบด้วยกลอบูลิน (globulins) ประมาณร้อยละ 70 และอัลบูมิน (albumins) ร้อยละ 15-20 โดยประมาณ ส่วนที่เหลือคือกลูเตลิน (glutelins) [2] นอกจากโปรตีนเหล่านี้จะประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการของกรดอะมิโนหลากหลายชนิดแล้ว [3, 4] ยังให้สมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การเกิดเจล การช่วยให้เกิดอิมัลชัน ความสามารถในการอุ้มน้ำ รวมทั้งมีสมบัติการเกิดฟอง [3-6] ที่นับว่ามีความสำคัญมากต่อการผลิตอาหารชนิดที่ต้องการลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัสที่เบาและมีรูพรุน เช่น ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ครีมแต่งหน้า มาชเมลโล เป็นต้น

โปรตีนจัดเป็นสารให้ฟองชนิดหนึ่งที่มีกลไกการเกิดฟองเฉพาะตัว โดยจะเริ่มจากโปรตีนที่สามารถละลายได้ในเฟสน้ำ (aqueous phase) จะเกิดการแพร่ (diffusion) ไปยังผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับน้ำ (air - water interface) และจะพยายามแทรกตัว (penetration) ที่ระหว่างผิวสัมผัสนั้นอย่างรวดเร็ว ในขั้นตอนนี้ทำให้แรงตึงผิวลดลง ในขณะเดียวกันโปรตีนจะเกิดการคลายตัว (unfolding) และจัดเรียงตัวใหม่ (reorganization) โดยหันหมู่ไฮโดรฟิลิก (hydrophilic groups) เข้าหาเฟสของน้ำ และหันหมู่ไฮโดรโฟบิก (hydrophobic groups) เข้าหาเฟสของอากาศ ในที่สุดจะเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interactions) กลายเป็นฟิล์มห่อหุ้มอากาศไว้ภายใน [7, 8] อย่างไรก็ตามความสามารถในการเกิดฟองที่ดีจะแตกต่างกันตามชนิดของโปรตีน ซึ่งโปรตีนจากพืชส่วนใหญ่จะให้สมบัติการเกิดฟองที่ด้อยกว่าโปรตีนจากไข่ขาว เนื่องจากไข่ขาวประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดอยู่รวมกันและเป็นโปรตีนที่มีความยืดหยุ่น (flexiblity) สูง เมื่อโปรตีนไข่ขาวถูกตีให้กระจายจะคลายตัวพร้อมกับจัดเรียงตัวใหม่เพื่อห่อหุ้มอากาศไว้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้โปรตีนไข่ขาวยังมีลักษณะพิเศษตรงที่โปรตีนที่เสียสภาพแล้วจะสามารถรวมตัวกันตกตะกอนทำให้ฟองที่เกิดขึ้นเกิดการตั้งยอด ลักษณะเช่นนี้จะช่วยเพิ่มความคงตัวของฟองแตกต่างจากฟองของโปรตีนชนิดอื่นๆ [8, 9]

อย่างไรก็ตามอาหารเจไม่สามารถใช้ไข่ขาวในส่วนประกอบได้ ประกอบกับแนวคิดของการเพิ่มมูลค่าโปรตีนถั่วเขียวซึ่งเป็นผลพลอยได้จากโรงงานผลิตวุ้นเส้น ทำให้มีความพยายามที่จะปรับปรุงสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวโดยใช้วิธีต่างๆ เช่น การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยใช้เอนไซม์ จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับการย่อยส่งผลทำให้โปรตีนถั่วเขียวมีค่ากำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับสมบัติการละลายที่เพิ่มขึ้น แต่ผลของระดับการย่อยที่เพิ่มขึ้นกลับทำให้ความคงตัวของฟองลดลง [10] นอกจากนี้ยังพบว่าการดัดแปรโปรตีนถั่วเขียวโดยใช้กรดอะซิติกช่วยทำให้โปรตีนถั่วเขียวมีค่ากำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้นแต่ฟองที่ได้มีความคงตัวต่ำเช่นเดิม [11]

นอกจากวิธีการทางเคมีและเอนไซม์แล้วการดัดแปรสมบัติของโปรตีนยังรวมถึงการใช้ความร้อนและการปรับ pH อีกด้วย ซึ่งเป็นที่นิยมอย่างมากสำหรับการดัดแปรสมบัติต่างๆ ของโปรตีนถั่วเหลือง แต่ยังไม่มีการนำมาใช้ดัดแปรสมบัติของโปรตีนถั่วเขียว โดยเฉพาะการศึกษาผลร่วมของตัวแปรทั้งสองที่มีต่อสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาอิทธิพลของ pH และความร้อนที่มีต่อสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งเตรียมได้จากแป้งถั่วเขียว ทั้งในด้านของกำลังการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง รวมทั้งศึกษาผลของตัวแปรทั้งสองที่มีต่อสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นด้วย เนื่องจากการละลายเป็นสมบัติหนึ่งที่มีความสัมพันธ์อย่างยิ่งต่อการสร้างฟองของโปรตีน ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากโปรตีนถั่วเขียวต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบ

เมล็ดถั่วเขียว (ตราเกษตร) ซึ่งผลิตและจำหน่ายโดย บริษัท ไทยฮา จำกัด (มหาชน) ถูกนำมาบดให้ละเอียด

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

โดยใช้เครื่องโม่หิน (T.C. Motor, Thailand) แป้งที่ได้จะถูกนำไปร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 80 เมช โดยใช้เครื่องคัดขนาดอนุภาคของแข็ง (Retsch, VS 1000, Haan, Germany) และจัดเก็บในภาชนะที่สะอาดและปิดสนิท จากนั้นสุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใยหยาบ [12] และคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรทโดยการคำนวณ (by difference)

2. การสกัดโปรตีนถั่วเขียว (ดัดแปลงจากวิธีการของ Thompson, 1977)

นำแป้งถั่วเขียวที่ได้มาผสมกับน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วนแป้งถั่วเขียวต่อน้ำกลั่น 1 : 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปรับ pH ให้เป็น 9 โดยใช้ 1 M Na_2CO_3 กวนผสมนาน 20 นาที จากนั้นนำไปแยกตะกอนออกโดยใช้เครื่องเซนตริฟิวส์ (ALC, Model PK 131 R, Milan, Italy) ที่ 4,080 X g (9000 รอบ/นาที) เป็นเวลา 5 นาที โดยใช้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทสารละลายส่วนใสลงในบีกเกอร์และนำไปปรับ pH เป็น 4.5 โดยใช้ 1 M HCl จะได้สารละลายแขวนลอยสีขาวนวล นำไปเหวี่ยงแยกอีกครั้งที่ 4,080 X g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนนี้เก็บส่วนของตะกอนไว้ ซึ่งจะเรียกส่วนนี้ว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น บันทึกน้ำหนักและสุ่มบางส่วนไปหาปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีน [12] หาค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ และคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (น้ำหนักแห้ง) ต่อ 100 กรัมของแป้งถั่วเขียว

3. การศึกษาสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

เตรียมโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3, 4, 4.5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ กวนผสมนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกโดยใช้เครื่องเซนตริฟิวส์ (ALC, Model PK 131 R, Milan, Italy) ที่ 4,080 X g (9,000 รอบ/นาที) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แยกส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธี Biuret [13] ดังนี้

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Biuret: ปิเปตสารละลายตัวอย่างลงในหลอดทดลอง 2 หลอดๆ ละ 5 มิลลิลิตร และเติม KCl - phosphate buffer หลอดละ 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม reagent A ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 1 และเติม reagent B ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 2 เขย่าให้เข้ากันอย่างดี ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำตัวอย่างทั้ง 2 หลอด ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu, Model UV-1601, Kyoto, Japan) ที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\text{Absorbance}_{545\ nm} = (OD_A - \text{Blank}_A) - (OD_B - \text{Blank}_B)$$

เมื่อ OD_A และ OD_B คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่มี reagent A และ B ตามลำดับ ขณะที่ Blank_A และ Blank_B คือค่าการดูดกลืนแสงของ KCl-phosphate buffer ที่มี reagent A และ B ตามลำดับ จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายตัวอย่างจากสมการต่อไปนี้

$$\text{ความเข้มข้นของโปรตีน (mg/mL)} = \text{Absorbance}_{545\ nm}/\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}$$

เมื่อความชันของกราฟมาตรฐาน คือ ความชันของกราฟซึ่งพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโบไวน์ซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin) ซึ่งมีความเข้มข้นระหว่าง 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร ($\text{Absorbance}_{545\ nm}$) และ Reagent A ถูกเตรียมจากการผสมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH ปริมาณ 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร) กลีเซอรีน (glycerin ปริมาณ 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร) และสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ปริมาณ 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร) เข้าด้วยกันให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ขณะที่ Reagent B ถูกเตรียมจากการผสมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH ปริมาณ 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร) และกลีเซอรีน (glycerin ปริมาณ 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร) เข้าด้วยกันให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. การศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

เตรียมโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปรับ pH ของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 4, 6 และ 8 โดยใช้ 0.5 M HCl และ 0.5 M Na_2CO_3 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นแต่ละ

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

ตัวอย่างจะถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาปรับปริมาตรของสารละลายให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร อีกครั้ง และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรแล้วที่สภาวะต่างๆ ข้างต้นไปวิเคราะห์สมบัติการละลาย (solubility) ดังต่อไปนี้

โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรสมบัติแล้วที่สภาวะต่างๆ ข้างต้นจะถูกเจือจางให้มีความเข้มข้น ร้อยละ 1 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4, 6 และ 8 ตามลำดับ กวนผสมนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกโดยใช้เครื่องเซนตริฟิวซ์ (ALC, Model PK 131 R, Milan, Italy) ที่ความเร็ว 9,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แยกส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธี Biuret [13] เช่นเดียวกับข้างต้น

5. การศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการเกิดฟอง (foaming properties) ของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

เตรียมโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปรับ pH ของสารละลายเป็น 4, 6 และ 8 โดยใช้ 0.5 M HCl และ 0.5 M Na_2CO_3 ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นแต่ละตัวอย่างจะถูกนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบตามเวลาจึงปรับปริมาตรอีกครั้งให้เป็น 100 มิลลิลิตร และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรสมบัติแล้วที่สภาวะต่างๆ ข้างต้นจะถูกนำไปวิเคราะห์กำลังการเกิดฟอง (foam capacity) และความคงตัวของฟอง (foam stability) โดยดัดแปลงมาจาก Coffmann และ Garcia (1977) ดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์กำลังการเกิดฟอง (foam capacity): สารละลายโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรสมบัติแล้วซึ่งมีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ถูกเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเทสารละลายทั้งหมดลงในโถของเครื่องผสม (Kenwood major, KM600) ตีให้ขึ้นฟองโดยใช้หัวตะกร้อโดยใช้เบอร์ 6 เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นเทส่วนผสมทั้งหมดลงในกระบอกตวง บันทึกปริมาตรของฟองรวมทันทีและคำนวณหากำลังการเกิดฟองจากสูตรต่อไปนี้

$$\text{กำลังการเกิดฟอง (ร้อยละ)} = \frac{(\text{ปริมาตรฟองหลังตี} - \text{ปริมาตรของเหลวก่อนตี})}{\text{ปริมาตรของเหลวก่อนตี}} \times 100$$

การวิเคราะห์ความคงตัวของฟอง (foam stability): ฟองที่ได้จากการหาค่ากำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งถูกดัดแปรที่สภาวะต่างๆ จะถูกตักลงในกรวยกรองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ใช้ไม้พายปาดทำให้ได้ผิวหน้าของฟองเรียบเสมอกัน ชั่งน้ำหนักฟองเริ่มต้น จากนั้นรองรับกรวยกรองด้วยกระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร และบันทึกน้ำหนักของของเหลวที่หยดลงในกระบอกตวงทุกๆ 5 นาที เป็นเวลา 30 นาที คำนวณหาร้อยละของของเหลวที่แยกออกมาจากฟอง (drip loss, %) ดังนี้

$$\text{\% drip loss} = \frac{\text{น้ำหนักของของเหลวที่หยดลงในกระบอกตวง}}{\text{น้ำหนักฟองเริ่มต้น}} \times 100$$

6. การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายและกำลังเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ถูกดัดแปรสมบัติ โดยการวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial in Completely Randomized Design จากการทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.0

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. องค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียวและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

จากการนำถั่วเขียวมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องโม่หิน และร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 80 เมช จะได้แป้งถั่วเขียวซึ่งประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 23.4 โดยน้ำหนักเปียก และองค์ประกอบอื่นๆ แสดงใน Table 1 เมื่อนำแป้งถั่วเขียวที่เตรียมได้ข้างต้นมาสกัดโปรตีนตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Thomson (1977) จะได้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mung bean protein concentrate) ร้อยละ 18.3 ± 0.13 โดยน้ำหนักแห้งของแป้งถั่วเขียว โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นมีสีครีมค่อนข้างเหลือง ประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 84.5 ± 2.3

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

และประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 83 ± 2.4 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Chindapan และ Anprung (2001) ที่ได้รายงานว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่สกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Thompson (1977) ประกอบด้วยโปรตีน ร้อยละ 79 ± 1.3 โดยน้ำหนักแห้ง [10]

Table 1 Proximate analysis of mung bean flour and mung bean protein concentrate

Chemical composition	Average ± SD	
	Mung bean flour	Mung bean protein concentrate
Moisture	8.30 ±0.18	84.5 ± 2.3
Ash	3.10 ±0.02	
Protein	23.42 ± 1.10	83.83[2] ± 2.43
Fat	1.17 ± 0.85	
Fiber	0.57± 0.01	
Carbohydrate	63.44[1]	

[1] calculated from by difference method

[2] dry weight basis

2. สมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

Figure 1 แสดงผลของ pH (3, 4, 4.5, 5, 6, 7 และ 8) ที่มีต่อสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่เตรียมได้จากการทดลองนี้ขณะที่ยังไม่ถูกดัดแปรสมบัติ พบว่ารูปแบบการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นมีลักษณะเป็น U-shape โดยมีค่าการละลายต่ำสุดอยู่ในช่วง pH 4-4.5 เพราะในสภาวะนี้โปรตีนมีประจุบวกและลบเท่ากันทำให้ผลรวมของประจุเป็นศูนย์เป็นจุดที่เรียกว่า isoelectric point (pI) นอกจากนี้พบว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นจะมีค่าการละลายเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็น 8 และเมื่อ pH ลดลงจาก 4 เป็น 3 ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Thompson (1977) และ Coffmann และคณะ (1977) แม้ว่าการทดลองนี้ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตในกระบวนการสกัดโปรตีนแทนการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก็ตาม

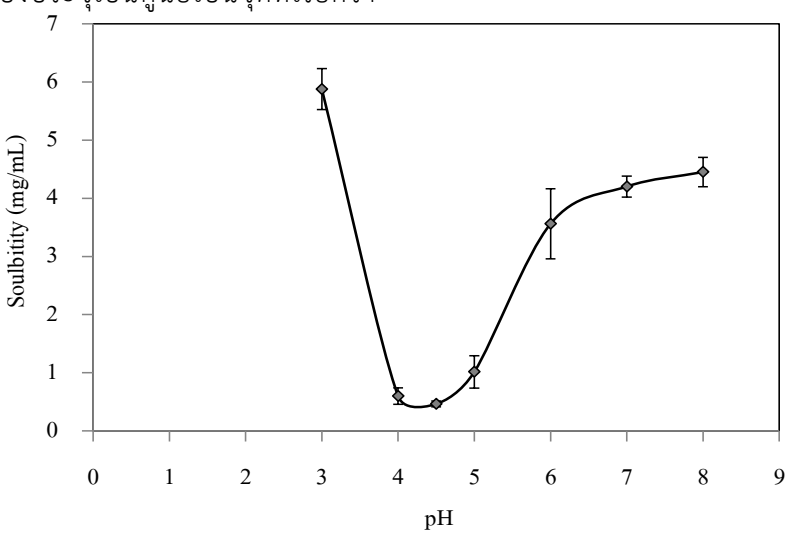

Figure 1 Effect of pH on solubility (mg/mL) of mung bean protein concentrate

3. อิทธิพลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

Table 2 แสดงผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นหลังจาก ถูกดัดแปรสมบัติขณะที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการปรับ pH เป็น 4, 6 และ 8 และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากผลวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปฏิกิริยาสัมพันธ์

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

ระหว่างระดับ pH และอุณหภูมิมีผลต่อสมบัติการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการเพิ่มขึ้นของ pH และอุณหภูมิที่ใช้ในการดัดแปรส่งผลทำให้ค่าการละลายของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เนื่องจากเมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ pH 6 การเพิ่มอุณหภูมิเป็น 90 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าการละลายเพิ่มขึ้นจาก 2.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไปเป็น 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ pH 8 การเพิ่มอุณหภูมิเป็น 90 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าการละลายเพิ่มขึ้นจาก 4.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 5.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเพิ่มขึ้นในอัตราที่มากกว่า เนื่องจากภายใต้สภาวะที่เป็นด่างนอกจากประจุรวมของโปรตีนจะมีค่าเป็นลบทำให้เกิดแรงผลักของประจุ (electrostatic repulsive forces) ระหว่างอนุภาคโปรตีนแล้ว [15] สภาวะที่เป็นด่างยังทำให้พันธะไฮโดรเจนในโมเลกุลของโปรตีนเกิดการแตกออกจากกันเป็นสาเหตุทำให้โครงสร้างธรรมชาติของโปรตีนเปลี่ยนรูปร่างและทำให้หมู่เปปไทด์ (peptide groups) และสายโซ่แขนง (side chains) ซึ่งเดิมอยู่ภายในโครงสร้างของโปรตีนถูกเปิดออกมาทำปฏิกิริยากับน้ำซึ่งเป็นสารมีขั้วได้เพิ่มขึ้น [16,17] ในขณะที่ผลของความร้อนอาจ ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆ เช่น ทำให้เกิดการแตกออกของพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) ที่เชื่อมระหว่างโพลีเมอร์กับโพลีเมอร์ของโปรตีน หรืออาจทำให้เกิดการแตกออกของพันธะที่เชื่อมระหว่างหน่วยย่อยๆ (subunits) ของโพลีเมอร์ของโปรตีน [16-18] ในกรณีนี้อาจทำให้ได้โมโนเมอร์ (monomers) หรือโอลิโกเมอร์ (oligomers) ที่มีขนาดเล็กลงและมีความยืดหยุ่น (flexibility) สูงขึ้นซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น

Table 2 Effect of pH and temperature on solubility (mg/mL) of modified mung bean protein concentrate

Temperature (°C)	pH		
	4	6	8
Ambient	$0.32^{l} \pm 0.04$	$2.67^{h} \pm 0.05$	$4.06^{d} \pm 0.14$
70	$0.43^{k} \pm 0.04$	$2.99^{g} \pm 0.12$	$4.20^{c} \pm 0.21$
80	$0.60^{j} \pm 0.10$	$3.06^{f} \pm 0.28$	$4.77^{b} \pm 0.07$
90	$0.73^{i} \pm 0.09$	$3.12^{e} \pm 0.05$	$5.16^{a} \pm 0.18$

Means in the table with different superscripts are significantly different ($p<0.05$)

นอกจากนี้พบว่าการเพิ่มขึ้นของ pH มีอิทธิพลต่อการละลายมากกว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรที่ pH 8 ทุกอุณหภูมิจะให้ค่าการละลายสูงกว่าทุกตัวอย่างที่ดัดแปรที่ pH 6 และ 4 และในลักษณะเดียวกันโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ดัดแปรที่ pH 6 ทุกตัวอย่างจะให้ค่าการละลายสูงกว่าทุกตัวอย่างที่ถูกดัดแปรที่ pH 4 เนื่องจาก pH 4 เป็นจุดที่เข้าใกล้ isoelectric point ดัง Figure 1 ทำให้ประจุรวมของโปรตีนเท่ากับศูนย์การละลายที่ pH นี้จึงมีค่าต่ำที่สุด และเมื่อ pH ของสารละลายโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้แรงผลักของประจุ (electrostatic repulsive forces) ระหว่างอนุภาคโปรตีนมีความสำคัญเพิ่มขึ้น [15]

4. อิทธิพลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อกำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

Table 3 แสดงผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อกำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นหลังจากถูกดัดแปรสมบัติในขณะที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการปรับ pH เป็น 4, 6 และ 8 ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากผลวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างระดับ pH และอุณหภูมิมีผลต่อกำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการเพิ่มขึ้นของ pH และอุณหภูมิที่ใช้ในการดัดแปรส่งผลทำให้กำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เนื่องจากเมื่อเพิ่ม pH ของสารละลายโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นจาก pH 4 เป็น pH 8 โดยไม่มีการให้ความร้อน พบว่ากำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้น 1.6 เท่า (จากร้อยละ 95 เป็นร้อยละ 147.5) ขณะที่มีการให้ความร้อนร่วมด้วยที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ทำให้กำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้น 1.7 และ 2.0 เท่า ตามลำดับ และเมื่อให้ความร้อนสูงถึง 90 องศาเซลเซียส มีผลทำให้กำลังการเกิดฟองของโปรตีนถั่ว

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

เขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 2.7 เท่า (จาก ร้อยละ 206 เป็นร้อยละ 560) จะเห็นว่าการเพิ่มของกำลังการเกิดฟองมีอัตราที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และสัมพันธ์กับการละลายดัง Table 2 เนื่องจากสภาวะที่เป็นด่างมากขึ้นทำให้โปรตีนละลายได้สูงขึ้น และสามารถทำให้โปรตีนโมเลกุลคลายตัวเกิดการเปิดออกของหมู่ซัลไฟดริล (sulfhydryl group) และหมู่ไฮโดรโฟบิก (hydrophobic group) บางส่วน โปรตีนโมเลกุลจึงสามารถดูดซับที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับน้ำได้อย่างรวดเร็ว [17, 19] เมื่อให้ความร้อนร่วมด้วยยิ่งทำให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเกิดโมโนเมอร์หรือโอลิโกเมอร์ที่มีขนาดเล็กลงเพราะความร้อนไม่เพียงทำให้โมเลกุลโปรตีนคลายตัวเท่านั้น แต่สามารถทำลายพันธะที่เชื่อมระหว่างหน่วยย่อยๆ ของโมเลกุลโปรตีน ส่งผลให้มีจำนวนของหมู่ซัลไฟดริลอิสระ (free sulfhydryl group) และหมู่ไฮโดรโฟบิก (hydrophobic group) บนผิวของโมเลกุลโปรตีนเพิ่มมากขึ้น [17, 20] จึงสามารถดูดซับที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศกับน้ำได้อย่างรวดเร็วมากขึ้นอีก

Table 3 Effect of pH and temperature on foaming capacity (%) of modified mung bean protein concentrate

Temperature (°C)	pH		
	4	6	8
Ambient	$95.0^{g} \pm 7.1$	$130.0^{f} \pm 14.0$	$147.5^{f} \pm 15.0$
70	$207.0^{e} \pm 5.9$	$209.0^{e} \pm 13.0$	$358.0^{c} \pm 8.4$
80	$186.5^{e} \pm 12.4$	$310.0^{d} \pm .15.5$	$389.0^{b} \pm 15.4$
90	$206.0^{e} \pm 8.6$	$330.0^{d} \pm 21.0$	$560.0^{a} \pm 23.0$

Means in the table with different superscripts are significantly different ($p<0.05$)

5. ผลการศึกษาอิทธิพลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อความคงตัวของฟองจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

Figure 2-8 แสดงผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ drip loss ของฟองที่ได้จากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น หลังจากถูกดัดแปรสมบัติขณะที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการปรับ pH เป็น 4, 6 และ 8 ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90องศาเซลเซียส นาน 30 นาที โดยที่ Figure 2-5 แสดงผลของ pH ที่มีต่อความคงตัวของฟองจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งดัดแปรที่อุณหภูมิต่าง ขณะที่ Figure 6-8 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อความคงตัวของฟองจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งดัดแปรที่ pH ต่างๆ

จากผลการทดลองพบว่าระดับ pH และอุณหภูมิมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ drip loss หรือความคงตัวของฟองจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ (ค่า drip loss ที่ต่ำแสดงถึงความคงตัวของฟองที่สูง) พบว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งถูกดัดแปรที่อุณหภูมิห้องร่วมกับการปรับ pH เป็น 4, 6 และ 8 มีความคงตัวของฟองไม่ต่างกัน (Figure 2) แม้ว่าจะมีรายงานว่าการปรับ pH ให้เป็นด่างจะทำให้ฟองโปรตีนมีความคงตัวเพิ่มขึ้นก็ตาม [19] แต่เมื่อให้ความร้อนร่วมด้วยตั้งแต่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสขึ้นไปทำให้สารละลายโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ปรับ pH เป็น 8 มีความคงตัวของฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Figure 3-5) อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของ surface hydrophobicity [19] และการเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interactions) ของฟิล์มโปรตีนในโครงสร้างของฟอง [9] อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณา Figure 8 พบว่าฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งดัดแปรที่ pH 8 โดยใช้อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้พบว่าฟองที่ได้จากโปรตีนถั่วเขียวดัดแปรที่ pH 4 มีความคงตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้นตามลำดับ (Figure 6) และเมื่อให้ความร้อนสูงถึง 90 องศาเซลเซียส ทำให้ฟองที่ได้มีความคงตัวสูงกว่าการดัดแปรโปรตีนที่ pH 6 (Figure 5) เนื่องจากที่ pH เท่ากับ 4 เข้าใกล้ isoelectric point ของโปรตีนถั่วเขียว (Figure 1) ส่งผลทำให้แรงผลักของประจุระหว่างโปรตีนมีค่าต่ำสุด อีกทั้งมีรายงานว่า surface hydrophobicity ที่จุดนี้มีค่าสูงด้วยเมื่อเทียบกับ pH เป็นกลาง [21] ด้วยทำให้ฟองโปรตีนที่สภาวะนี้มีความคงตัวสูง [9]

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

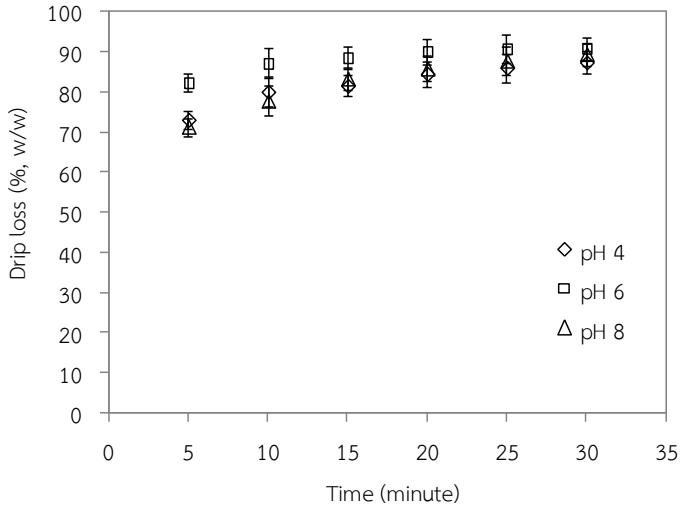

Figure 2 Effect of pH (4, 6 and 8) at ambient temperature on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

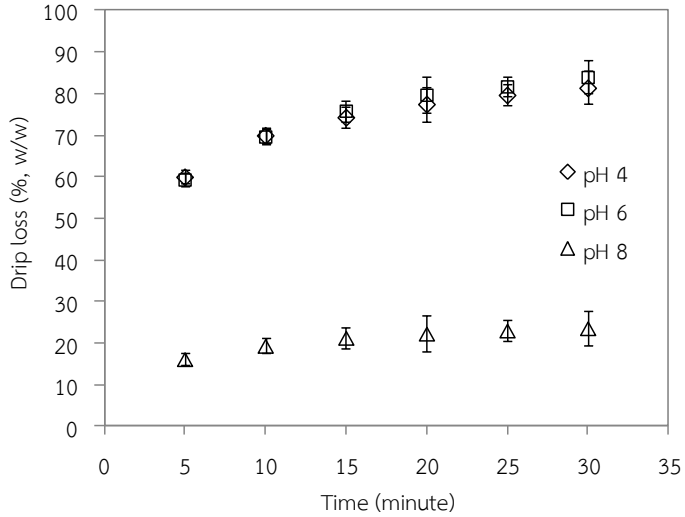

Figure 3 Effect of pH (4, 6 and 8) with heating at 70 °C on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

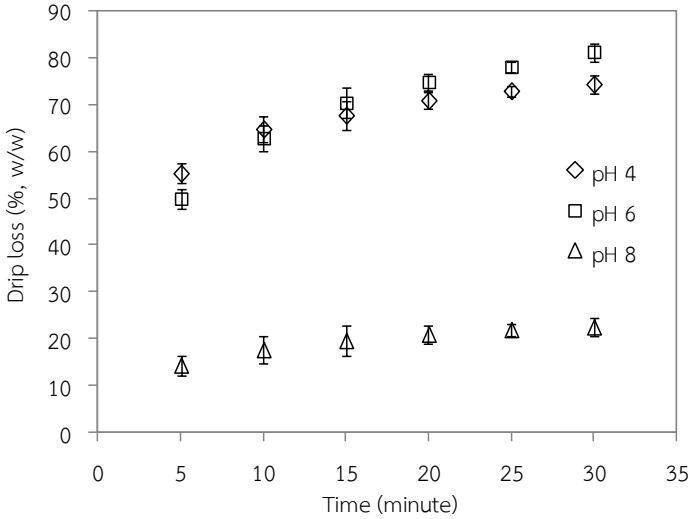

Figure 4 Effect of pH (4, 6 and 8) with heating at 80 °C on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

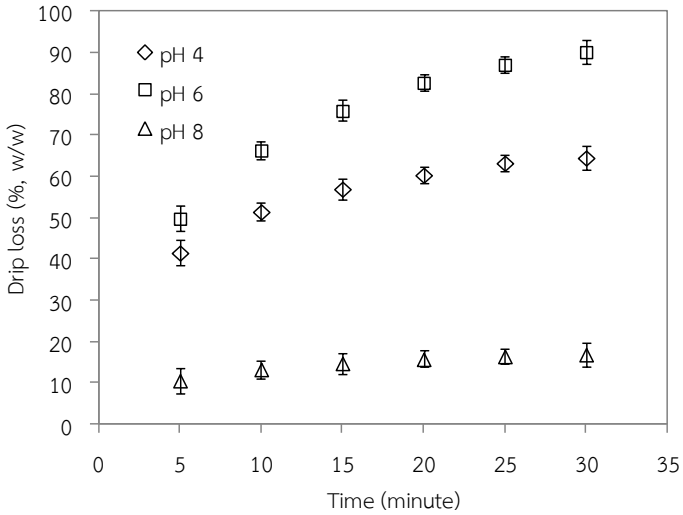

Figure 5 Effect of pH (4, 6 and 8) with heating at 90 °C on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

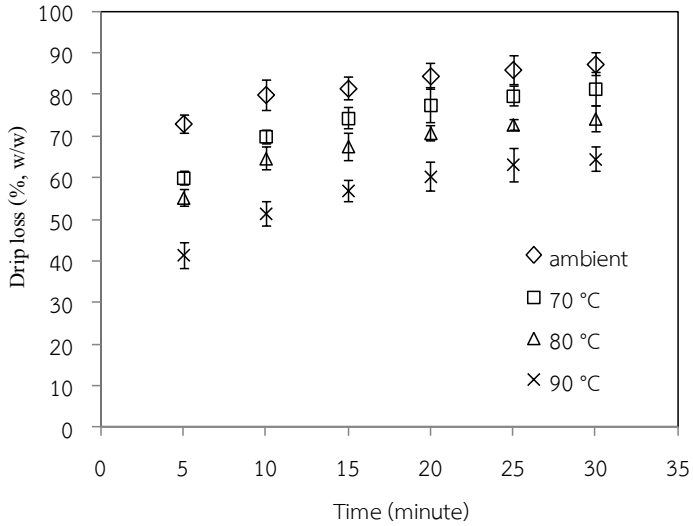

Figure 6 Effect of temperature (ambient, 70, 80 and 90) at pH 4 on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

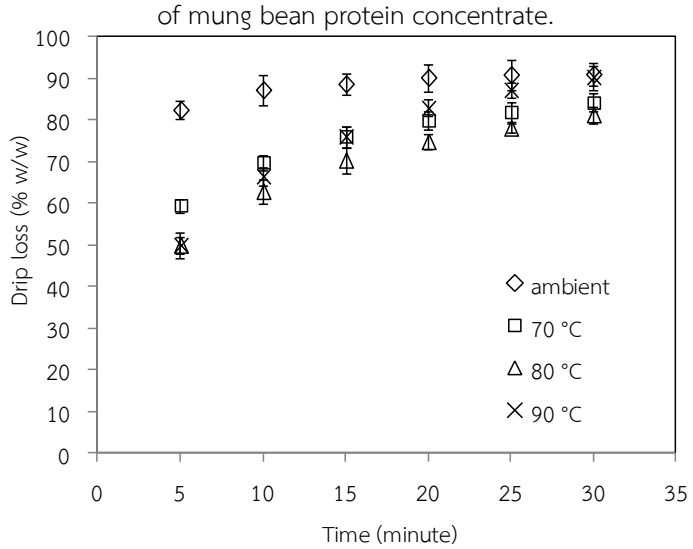

Figure 7 Effect of temperature (ambient, 70, 80 and 90) at pH 6 on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

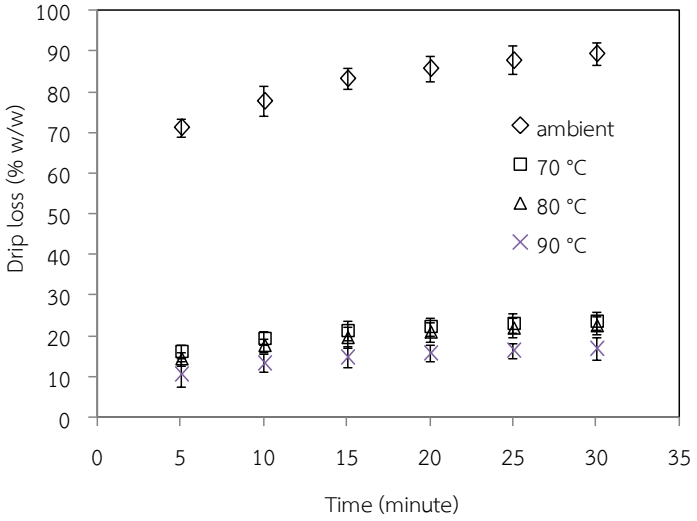

Figure 8 Effect of temperature (ambient, 70, 80 and 90) at pH 8 on foam stability (drip loss, % w/w) of mung bean protein concentrate.

สรุปผล

จากการศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมบัติการละลาย กำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น พบว่าการเพิ่มระดับของ pH และอุณหภูมิทำให้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นดัดแปรมีสมบัติการละลายและกำลังการเกิดฟองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าสมบัติการละลายและการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นดัดแปรจะมีค่าสูงสุดที่ pH 8 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าการเพิ่มขึ้นของกำลังการเกิดฟองเป็นผลมาจากการละลายที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นซึ่งมี pH เท่ากับ 4, 6 และ 8 ที่อุณหภูมิห้องมีความคงตัวของฟองต่ำและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อให้ความร้อนตั้งแต่ 70 องศาเซลเซียสขึ้นไปสามารถเพิ่มความคงตัวของฟองได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นมี pH 8 ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ปรับปรุงสมบัติการละลาย กำลังการเกิดฟอง และความคงตัวของฟอง คือ pH 8 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที อย่างไรก็ตามการใช้ความร้อนสูงร่วมกับด่างเป็นเวลานานกว่า 30 นาที อาจทำให้โปรตีนเสียสภาพแบบไม่ผันกลับได้ เนื่องจากการคลายตัวของโมโนเมอร์อันเป็นสาเหตุให้เกิดการรวมตัวกันและตกตะกอน

เอกสารอ้างอิง

[1] วุฒิชัย นาครักษา. 2526. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์ของพันธ์ถั่วเขียวที่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพ.

[2] 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. Journal of Food Science. 46: 71–81.

[3] Coffmann, C.W. and Garciaj, V.V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. International Journal of Food Science & Technology. 12: 473-484.

[4] Thomson, L.U. (1977). Preparation and Evaluationof Mung Bean Protein Isolates. Journal of Food Science. 42: 202-206.

[5] Akaerue, B.I. and Onwuka, G.I. (2010). Evaluation of the yield, protein content and functional properties of mungbean [Vigna radiata (L.) Wilczek] protein isolates as affected by processing. Pakistan Journal of Nutrition, 9: 728-735.

[6] Shaheen, S., Harun, N., Khan, F., Hussain, R.A., Ramzan, S., Rani, S., Khalid, Z., Ahmad, M. and Zafar, M. (2012). Comparative nutritional analysis between Vigna radiate

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok

and Vigna mungo of Pakistan. African Journal of Biotechnology. 11: 6694-6702.

[7] Wilde, P.J. and Clark, D.C. (1996). Foam formation and stability. In: G.M. Hall, (ed). Methods of testing protein functionality. London: Blackle Academic & Professional. pp. 110-115.

[8] Chindapan, R. (2004). Food Foam. Journal of Food Technology, Siam University. 1: 12-1.

[9] Zayas, J.E. (1997). Foaming properties of protein. Springer-verlag Berlin Heidelberg. New york.

[10] Chindapan, R. and Anprung, P. (2001). Production of foaming agent from mung bean protein by enzyme. Food. 31: 105-118.

[11] Wongpratheep, N., Pukruspan, T., Chaiseri, S. and Chonhenchob, V. (2005). Effect of chemical reagents on functional properties of mungbean protein products. Kasetsart Journal: Natural Science. 39: 109-118.

[12] AOAC. (1995). “Official Methods of Analysis of AOAC International”, 16th ed, Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.

[13] Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biureto reaction. Journal of Biological Chemistry. 177: 751-766.

[14] รัตนา จินดาพรรณ จิรนาถ บุญคงและ จีรศักดิ์ แก้วเกิด. (2547). การผลิตฟิล์มจากโปรตีนถั่วเขียว. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 1: 45-52.

[15] Pelegrine, D.H.G. and Gasparetto C.A. (2005). Whey proteins solubility as function of temperature and pH. LWT - Food Science and Technology. 38: 77–80.

[16] Manchester, K. (1996). Denaturation of Proteins-60 Years On. Biochemical Education. 24: 213-214.

[17] Fachin, L. and Walkíria H.V. (2005). Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration. International Dairy Journal. 15: 325–332.

[18] Shimada, K., and Cheftel. (1988). Determination of sulfhydryl groups and disulfide bond in heat- induced gels of soy protein isolate. Journal Agricultural and Food Chemistry. 36: 147-153.

[19] Delia A.S. and Jorge R.W. (2002). Comparative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins. Food Research International. 35:511–518.

[20] Tang, C-H, Ma, C-Y. (2009). Heat-induced modifications in the functional and structural properties of vicilin-rich protein isolate from kidney (*Phaseolus vulgaris* L.) bean. Food Chemistry. 115: 859–866.

[21] Sara, E.M.O. and Jorge, R.W. (2002). Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. Food Research International. 35: 511–518.

rchindapan@gmail.com

*อาจารย์ประจำ ดร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Dr., Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok