

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ในผลิตภัณฑ์ขนมหวานที่ต้องการให้มีเนื้อสัมผัสเบาและมีรูพรุนนั้น มีการใช้สารเป็นตัวช่วยให้มีฟองอากาศเกิดขึ้นในระหว่างที่มีการผลิต และสารให้ฟองประเภทโปรตีนเป็นกลุ่มหนึ่งที่มีสมบัติดังกล่าวนี้ (Carlin, 1970) กระบวนการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนจากถั่วเหลืองจะทำให้สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนต่อลักษณะการเกิดฟองที่มีปริมาตรสูงและคงตัวดี โดยอาศัยรายละเอียดของข้อมูลดังต่อไปนี้ เป็นแนวทางในการศึกษาและทำความเข้าใจต่อสมบัติการให้ฟองของโปรตีนจากถั่วเหลือง

สารให้ฟอง

สารให้ฟองเรียกชื่อได้หลายแบบเช่น whipping agent (Carlin,1970) aerating agent (Minefie, 1989) หรือ foaming agent (Damodaran, 1996) สารให้ฟองมีบทบาทในการเป็นสารลดแรงตึงผิวของของเหลวซึ่งเป็นส่วนผสมที่สำคัญ เมื่อแรงตึงผิวของของเหลวลดลงจะช่วยให้ของเหลวขยายตัวออกได้ดี เกิดเป็นฟิล์มบางล้อมรอบฟองอากาศที่ให้แก่ผลิตภัณฑ์ระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งฟองอากาศในอาหารเกิดขึ้นได้โดยการตีเอาอากาศเข้าไปในส่วนผสม หรือจากวิธีการอื่นๆ เช่น การเขย่า การพ่นอากาศ

สารให้ฟองสามารถแบ่งตามองค์ประกอบได้ 2 ชนิดคือ

1. สารให้ฟองประเภทไขมัน

ใช้ในอาหารประเภทเบเกอรี่ โดยเลือกใช้ไขมันที่ผ่านกระบวนการทำให้อิ่มตัว ซึ่งทำให้ได้ลักษณะฟองอากาศในผลิตภัณฑ์ที่เป็นครีมอ่อนนุ่ม ไขมันที่ใช้เป็นไขมันจากเมล็ดถั่ว ไขมันจากถั่วเหลือง ไขมันจากมะพร้าว ไขมันจากเมล็ดฝ้าย หรือจากส่วนผสมของไขมันเหล่านี้ ไขมันประเภทที่มีปริมาณโมโนกลีเซอไรด์มากพอ เช่น shortening นิยมใช้ผลิตเบเกอรี่และขนมหวาน และ shorteningมักช่วยให้ไขมันประเภทอื่นเก็บฟองอากาศไว้ได้มากขึ้น นอกจากนี้สามารถใช้ไขมันจากเนยได้เช่นกัน แต่ในการใช้ในอุตสาหกรรมจะเกิดปัญหาจากการหลอมเหลวง่าย เนื่องจากเนยมีจุดหลอมเหลวต่ำ และกักเก็บฟองอากาศไว้ในปริมาตรค่อนข้างต่ำ (Carlin,1970)

2. สารให้ฟองประเภทโปรตีน

สารให้ฟองประเภทโปรตีนมักใช้ในอาหารประเภทที่ประกอบด้วยน้ำตาลหรือน้ำเชื่อม ในที่นี้โปรตีนซึ่งจะละลายในตัวทำละลายทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวและกักเก็บอากาศให้คงอยู่ได้ โปรตีนที่สามารถทำหน้าที่ได้เช่นนี้คือ เจลาติน โปรตีนจากไข่ขาว โปรตีนจากนม โปรตีนจากถั่วเหลือง ถ้าปราศจากโปรตีนเหล่านี้อนุภาคของอากาศจะรวมตัวกันและยุบลง ฟองอากาศที่เกิดขึ้นจะไม่คงตัวดังตัวอย่างเช่น ฟองสบู่ ฟองเบียร์ เป็นต้น สารให้ฟองประเภทโปรตีนนิยมใช้แพร่หลายในอุตสาหกรรมมากที่สุด ไม่จำกัดเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารเท่านั้น(Pratf, 1970)

โปรตีนที่ใช้เป็นสารให้ฟองทางการค้า (Jackson, 1993)มีดังนี้

2.1 โปรตีนจากไข่ขาว (egg albumen)

โปรตีนจากไข่ขาว เป็นสารให้ฟองที่นิยมใช้กันมากที่สุด ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปผงสามารถละลายน้ำได้ง่าย ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโปรตีนไข่ขาวจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสฟูนุ่ม ไข่ขาวผงเริ่มผลิตในประเทศจีน โดยหมักไข่ขาวเพื่อให้ยีสต์ใช้น้ำตาลไป จนได้สารละลายใส นำไข่ขาวไปตากให้แห้งในถาด แล้วจึงนำไปบดให้ละเอียดเป็นชั้นตอนสุดท้าย ต่อมาไข่ขาวผงสามารถผลิตโดยการนำไข่ขาวไปทำแห้งแบบพ่นกระจาย ซึ่งจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสดี สามารถละลายน้ำได้ดี และเก็บรักษาได้นาน นอกจากนี้อาจผลิตโดยวิธีการตีให้ไข่ขาวเป็นฟอง และอบแห้งจะได้โปรตีนไข่ขาวที่มี สี รส และการละลายน้ำที่ดีเช่นกัน

2.2 เจลาติน

เจลาตินเป็นโปรตีนที่ผลิตจากกระบวนการย่อยสลายเนื้อเยื่อคอลลาเจน ซึ่งพบในเนื้อเยื่อบางส่วนของสัตว์เช่น กระดูก หนัง และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เจลาตินเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปผงมีความสามารถในการละลายน้ำสูง สารละลายเจลาตินที่ได้สามารถทำให้เกิดฟองได้ดี ส่วนใหญ่เจลาตินถูกนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมมาชเมลโล ซึ่งมีลักษณะเนื้อสัมผัสนุ่มยืดหยุ่น เมื่อละลายเจลาตินในน้ำเชื่อมจะทำให้เกิดฟองอากาศที่คงตัวดีกว่าการละลายเจลาตินด้วยน้ำ และพบว่าเจลาตินสามารถทำให้เกิดฟองได้สูงสุดเมื่อ สารละลายมีน้ำตาลอยู่ร้อยละ 30 ถึง 45

2.3 โปรตีนจากนม

โปรตีนนมคือเคซีน เมื่อนำเคซีนมาเข้ากระบวนการย่อยสลาย และนำผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้มาทำแห้ง พบว่าสมบัติของฟองจากโปรตีนนมเหมือนสมบัติของโปรตีนไข่ขาว นอกจากนี้โปรตีนนมตามธรรมชาติโดยทั่วไปสามารถทำให้เกิดฟองได้เช่น นมผงปราศจากไขมัน (skimmed milk) สามารถทำให้เกิดฟองได้ปริมาณสูง แต่ไม่คงตัว และอาจเติมเจลาตินผสมลงไปเพื่อช่วยให้ฟองคงตัวขึ้น เช่นในการทำบาววาเรียนครีม (Bavarian cream)

ส่วนน้ำนมระเหยน้ำ (evaporated milk) ที่เย็นจัดก็สามารถทำให้เกิดโฟมได้เช่นกัน แต่ไม่สามารถทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวได้นาน นอกจากทำให้เย็นจัดเช่นไอศกรีม หรืออาจเติมสารช่วยคงตัว (stabilizer) เช่น กัม (gum) หรือสารที่ทำให้เกิดเจลลงไปด้วย

2.4. โพรตีนจากถั่วเหลือง

การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง แล้วมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์และผ่านกระบวนการทำให้แห้ง โพรตีนจากถั่วเหลืองจะมีสมบัติการทำให้เกิดฟองเทียบเท่ากับโปรตีนไข่ขาว สามารถใช้ทดแทนไข่ขาวได้ดี ข้อดีของโปรตีนถั่วเหลืองคือ มีความสามารถละลายน้ำสูง ทำให้เกิดฟองได้เร็วกว่าและใช้ในปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับโปรตีนไข่ขาว ฟองอากาศที่เกิดขึ้นทนทานต่ออุณหภูมิสูง และโปรตีนถั่วเหลืองยังมีความคงตัวต่อไขมันในอาหาร ซึ่งอาหารบางประเภทมีไขมันเป็นส่วนผสมส่วนหนึ่งเช่น ชอกโกแลต และไขมันนั้นอาจส่งผลให้ฟองอากาศมีปริมาตรลดลงหรือยุบตัวลง

อาหารฟอง

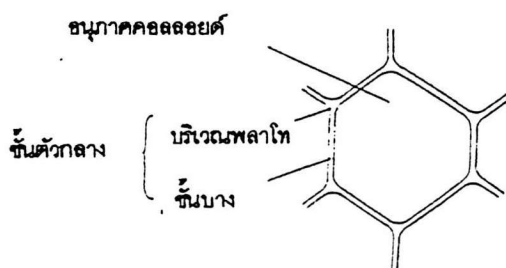
อาหารฟองเป็นระบบคอลลอยด์ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยก๊าซหรืออากาศผสมกระจายตัวอยู่ในช่องเหลวที่มีความหนืดสูง ฟองอากาศเล็กๆจะถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มบางๆของช่องเหลว การทำให้เกิดฟองคือ การทำให้ก๊าซหรืออากาศสามารถกระจายตัวเป็นฟองเล็กๆอยู่ในช่องเหลว ซึ่งฟองอากาศจะไม่เกิดขึ้นถ้าไม่มีสารที่ช่วยลดแรงตึงผิวอยู่ด้วย ในที่นี้โปรตีนจะทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวซึ่งโปรตีนจะละลายในตัวทำละลายและกักเก็บอากาศให้คงอยู่ได้ ในระบบคอลลอยด์สามารถแบ่งออกได้เป็นสองส่วนคือ

1. ส่วนที่เป็นอนุภาคคอลลอยด์ (colloidal particle) ซึ่งแพร่กระจายตัว (dispersed) หรือแขวนลอย อยู่ในตัวกลาง เรียกว่าชั้นที่กระจายอย่างไม่ต่อเนื่อง (discontinuous dispersed phase) หรือไมเซลล์ (micelles) หรือเรียกสั้นๆว่าชั้นที่กระจาย (dispersed phase) ซึ่งในระบบของฟองคือ ก๊าซ

2. ส่วนที่เป็นตัวกลางให้อนุภาคคอลลอยด์กระจายตัวอยู่ได้เรียกว่าตัวกลางที่มีการกระจายอนุภาค (continuous dispersion medium) หรือช่องเหลวระหว่างไมเซลล์ (intermicellar liquid) หรือเรียกสั้นๆว่าตัวกลาง (dispersion medium) ในระบบของฟองคือ ช่องเหลวที่เป็นตัวทำละลาย (Halling, 1981)

เมื่อฟองมีปริมาตรเพิ่มมากขึ้นจะเกิดเป็นฟองอากาศที่มีรูปร่างเหลี่ยมที่มีระนาบแต่ลดด้านเป็นผิวเรียบ โดยมีชั้นของเหลวบางเชื่อมต่อกันเรียกว่าชั้นบาง (lamellae) กันฟองอากาศที่

ติดกันแยกออกจากกันอยู่คนละด้าน จุดที่ชั้นบาง 3 แห่งเชื่อมต่อกันเรียกว่าบริเวณพลาโท (Plateau borders) ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของฟอง(ดัดแปลงจาก Halling, 1981)

ฟองแบ่งออกได้เป็นสองชนิดคือ

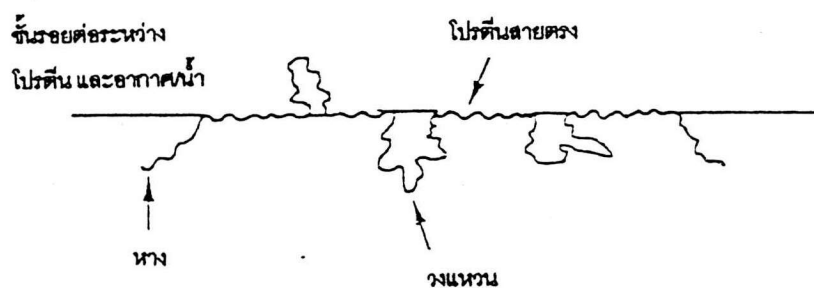
1. ฟองชั่วคราวหรือฟองไม่คงตัว (unstable foam) เป็นฟองที่เกิดขึ้นแล้วไม่คงตัว ได้แก่ ฟองที่เกิดจากสารละลายของกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การเติมสารช่วยลดแรงตึงผิว (surface-active agent) จะช่วยให้ฟองคงตัวได้นานขึ้น
2. ฟองถาวรหรือฟองคงตัว (metastable foam) เป็นฟองที่เกิดขึ้นแล้วมีความคงตัว ได้แก่ ฟองที่เกิดขึ้นจากสารละลายโปรตีนเป็นส่วนใหญ่

กลไกการเกิดอาหารฟองของโปรตีน

โปรตีนสามารถทำให้เกิดฟองอากาศที่คงตัวอยู่ได้โดยการสร้างฟิล์มบางของของเหลว ชั้นที่ ชั้นระหว่างผิว (interface) ของอนุภาคการและของเหลวตัวกลางตั้งชั้นต่อเนื่องไปนี้ (Damodaran, 1996)

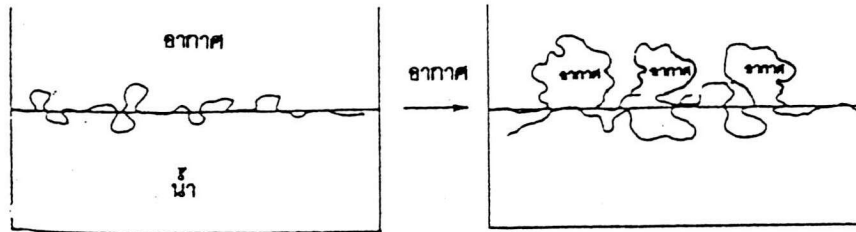
1. เมื่อให้อากาศลงไปแก่อาหาร จะเกิดฟองอากาศจำนวนมากขึ้นโดยฟองอากาศแต่ละฟองจะมีชั้นของเหลวล้อมรอบทำให้เกิดชั้นระหว่างผิวอากาศและน้ำขึ้น (รูปที่ 2.1)
2. โปรตีนเคลื่อนตัวมาสู่ชั้นระหว่างผิวโดยการแพร่กระจาย และถูกดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิว โปรตีนจะคลายตัว (unfold) เป็นสายยาวของกรดอะมิโนที่ชั้นระหว่างผิว รูปที่ 2.2

แสดงองค์ประกอบ 3 ส่วนของสายโพลีเปปไทด์ที่ชั้นระหว่างผิวคือ วงแหวน (loop), โปรตีนสายตรงยาว (train) และ ปลายหรือหาง (tail) โปรตีนจะหันแหล่งวงแหวน และหาง เข้าสู่แต่ละชั้น



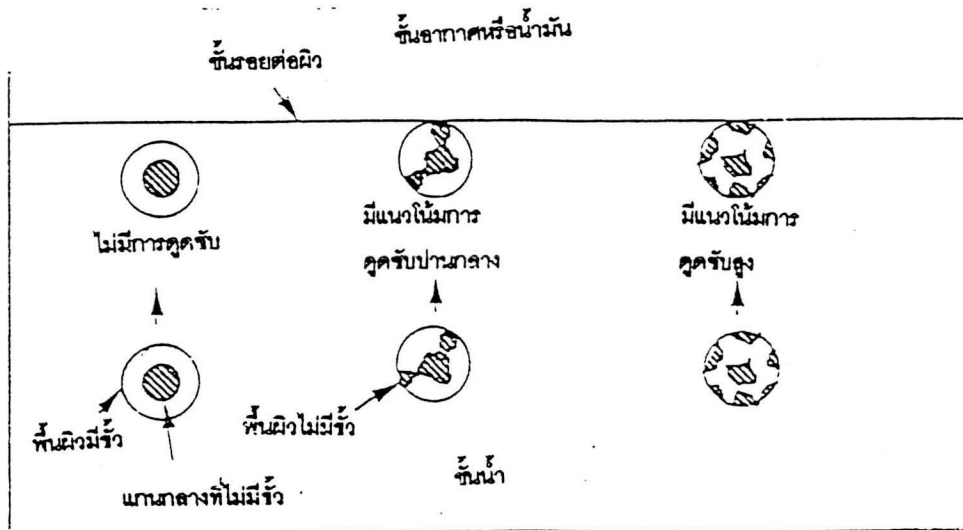
รูปที่ 2.2 การเกิดโปรตีนที่ชั้นระหว่างผิวอากาศ และ น้ำ (ดัดแปลงจาก Wong, 1989)

เมื่อให้อากาศแก่สารละลายอย่างต่อเนื่อง จะเกิดฟองอากาศที่ล้อมรอบด้วย ฟิล์มของเหลวที่มีโมเลกุลของโปรตีนดูดซับติดอยู่ที่ชั้นระหว่างผิว โดยโมเลกุลโปรตีนจะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) โดยเกิดการคลายรูป เพื่อลดพลังงานอิสระลง โปรตีนจะดึงพลังงานจากของเหลว ทำให้แรงตึงผิวของของเหลวลดลง ดังนั้นของเหลวจึงสามารถขยายตัว เกิดเป็นฟิล์มหรือชั้นบาง ขึ้นมาล้อมรอบฟองอากาศเอาไว้ โปรตีนมีการจัดเรียงตัวโดยการหันเหเอาหุ่มอะมิโนไม่มีขั้ว (hydrophobic) เข้าสู่ชั้นอากาศ และหันเหเอาหุ่มอะมิโนมีขั้ว (hydrophilic) เข้าสู่ชั้นน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การเกิดฟองอากาศ (ดัดแปลงจาก Wong, 1989)

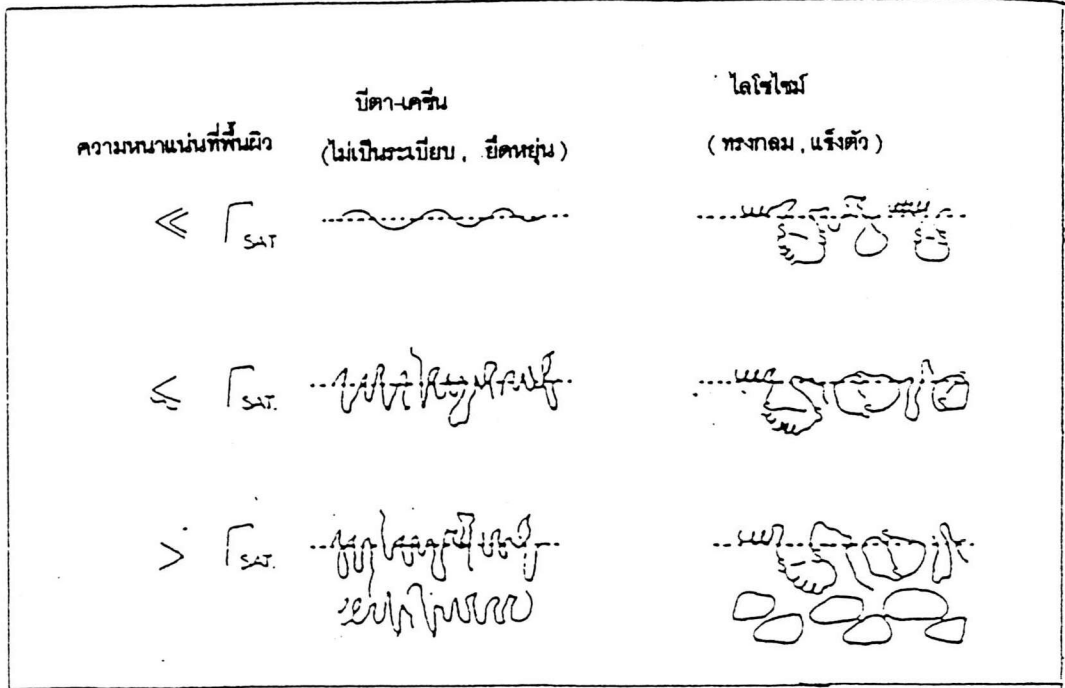
ความเร็วที่โปรตีนจะถูกดูดซับอยู่ตรงชั้นระหว่างผิว อากาศ - ของเหลว ขึ้นกับรูปแบบการกระจายตัว ของหมู่มีขั้วและไม่มีขั้วที่มีอยู่ในโปรตีนนั้น ถ้าพื้นผิวของโปรตีนนั้นมีหมู่มีขั้วมาก และมีหมู่ไม่มีขั้วน้อย การดูดซับที่ชั้นระหว่างผิวจะเกิดขึ้นน้อย เพราะโปรตีนจะมีพลังงานอิสระเมื่ออยู่ในชั้นสารละลายต่ำกว่าเมื่อถูกดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวอากาศของเหลว หากทำให้หมู่ไม่มีขั้วเพิ่มขึ้นการดูดซับที่ชั้นระหว่างผิวจะเพิ่มขึ้นตาม ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 บทบาทของหมู่ไม่มีขั้วต่อการถูกดูดซับของโปรตีนที่พื้นผิวระหว่างชั้นอากาศ-ของเหลว (ดัดแปลงจาก Damodaran, 1996)

นอกจากนี้พบว่า โมเลกุลโปรตีนที่โครงสร้างพับตัวเป็นทรงกลม (globular) เช่น

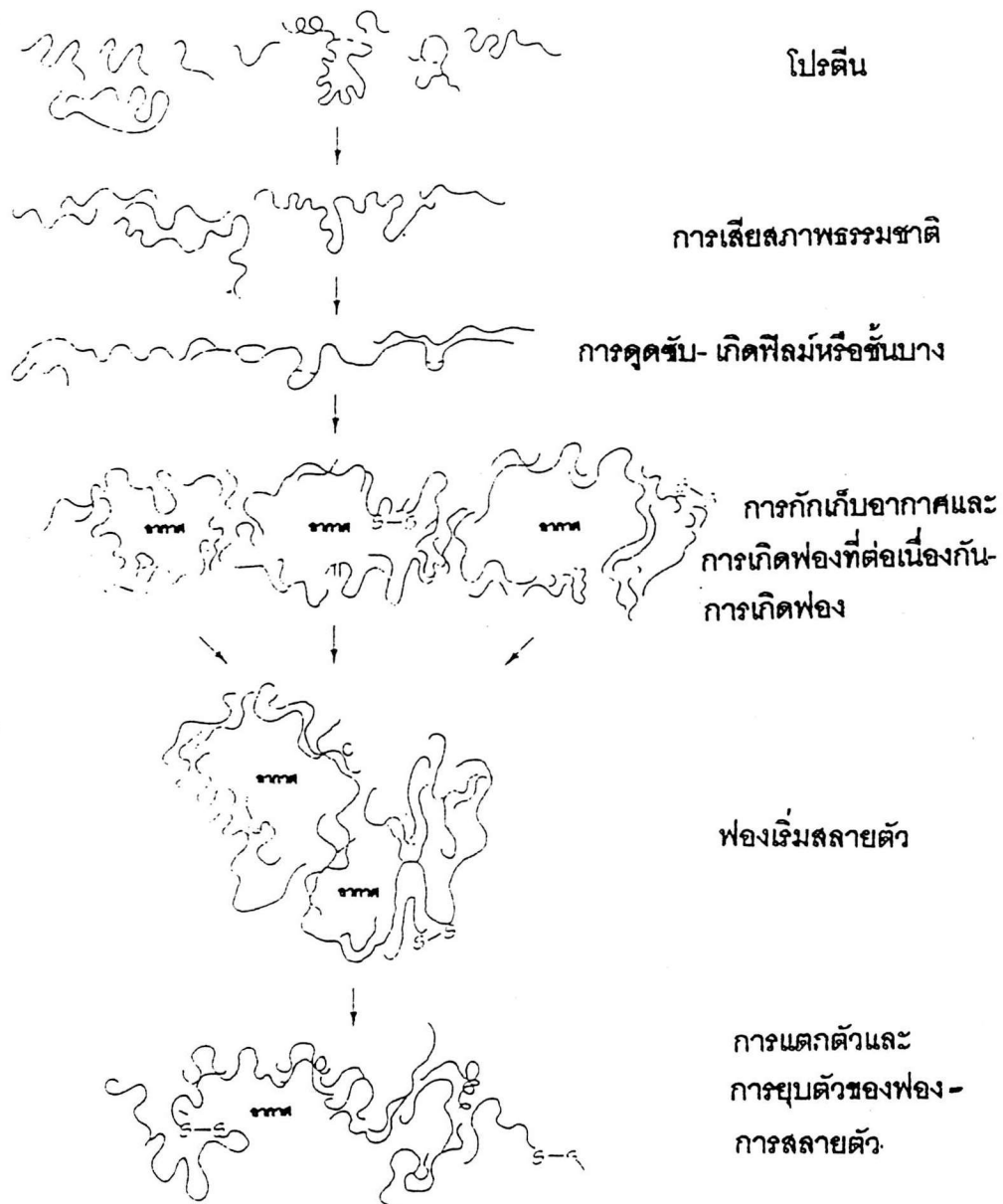
ไลโซไซม์ (lysozyme) ส่วนมากจะกระจายตัวอยู่ในชั้นสารละลาย มีเพียงส่วนน้อยจะดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิว ส่วนโมเลกุลที่โครงสร้างยืดหยุ่น เช่นโปรตีนที่มีโครงสร้างแบบเกลียวอิสระ (random coil) ในเคซีน จะดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวได้ดีกว่า ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างฟิล์มโปรตีนของเคซีน และ ไลโซไซม์ที่ถูกดูดซับที่ชั้นระหว่างผิวอากาศ-น้ำ (ดัดแปลงจาก Phillips, 1981)

3. เกิดปฏิกิริยาภายในโมเลกุล โดยโมเลกุลโปรตีนที่เสถียรภาพธรรมชาติเกิดการรวมตัวกัน โดยการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน เช่นปฏิกิริยาการเชื่อมขวางระหว่างสายโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide-sulhydryl) ขึ้นในโปรตีน (Phillips, 1981) ซึ่งจะเพิ่มความหนืดให้กับชั้น lamellae ทำให้ฟองที่ได้มีความคงตัว

ลำดับการเกิดฟองอากาศและการยุบตัวของฟองที่เกิดขึ้นของฟองอาหาร แสดงดัง รูปที่



รูปที่ 2.6 ลำดับการเกิดฟอง (ดัดแปลงจาก Bowers, 1992)

ลักษณะสำคัญของโปรตีนที่เป็นสารให้ฟอง

ลักษณะสำคัญของโปรตีนที่เป็นสารให้ฟองมีดังนี้ (Damodaran, 1996)

1. สามารถละลายในของเหลวที่เป็นตัวทำละลายในสารละลาย
2. สามารถยึดเกาะอยู่ชั้นระหว่างผิว อากาศ-น้ำได้ดี
3. มีโครงสร้างที่สามารถคลายตัวและเรียงตัวที่ชั้นระหว่างผิว อากาศ-น้ำได้ดี
4. สามารถยึดเกาะโมเลกุลข้างเคียง เกิดฟิล์มที่ยืดหยุ่นและแข็งแรงเพียงพอต่อการต้านการยุบตัวของฟองอากาศ

วิธีการตรวจวัดความสามารถในการเกิดอาหารฟอง

วิธีการตรวจวัดการเกิดอาหารฟองทำได้โดยการวัดการขยายตัวของฟอง(foam expansion) และความคงตัวของฟอง โดย

$$\text{foam expansion} = \frac{\text{ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้น}}{\text{ปริมาตรของเหลว}} \times 100$$

ในงานวิจัยนี้ใช้หลักการวัดการขยายตัวของฟองดังที่กล่าวไว้เช่นเดียวกัน โดยรายละเอียดในวิธีการตรวจวัดอธิบายดังภาคผนวก ค.

ส่วนความคงตัวของฟองซึ่งหมายถึงความสามารถของโปรตีนในการคงตัวของฟองอากาศที่อยู่ภายในด้านทานต่อแรงโน้มถ่วงของโลก และแรงกล (mechanical stresses) ความคงตัวของฟองมักแสดงเป็นเวลาของเหลวไหลออกมาจนมีปริมาตรลดลงครึ่งหนึ่งของปริมาตรเริ่มต้น หรือวัดเป็นเวลาปริมาตรลดลงเป็นครึ่งหนึ่ง (Damodaran, 1996)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฟองและความคงตัวของฟอง

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดและความคงตัวของฟองมีหลายปัจจัย (Damodaran, 1996) ได้แก่

1. pH

โปรตีนจะทำให้เกิดฟองที่มีความคงตัวสูงสุดที่จุดที่ pH ไม่มีแรงผลักระหว่างประจุ (isoelectric point) ทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนสร้างฟิล์มที่มีความแข็งแรง แต่ฟองที่ได้จะมีปริมาตรของฟองอากาศต่ำ เพราะโปรตีนจะมีการละลายที่จุดดังกล่าวนี้ต่ำ ทำให้ความเข้มข้นของโปรตีนที่จะถูกดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวอากาศ-น้ำต่ำส่งผลให้ฟองที่ได้มีปริมาตรต่ำด้วย

2. เกลือ

ชนิดของเกลือและลักษณะการละลายของโปรตีนในสารละลายเกลือนั้นมีผลต่อลักษณะการเกิดฟอง พบว่าโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นทรงกลม เช่น bovine serum albumen, ไข่แดง (egg albumen), กลูเตน (gluten), โปรตีนถั่วเหลือง จะเกิดฟองที่มีความคงตัวดีขึ้นถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ที่โปรตีนเหล่านี้ละลายอยู่ เนื่องจากประจุของเกลือทำให้ประจุทั้งหมดเป็นกลางแต่ในทางกลับกันโปรตีนบางพวกเช่นโปรตีนเวย์ (whey protein) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายโซเดียมคลอไรด์ การเกิดฟองและความคงตัวของฟองจะลดลง เนื่องจากโปรตีน β - lactoglobulin ใน โปรตีนเวย์ ตกตะกอนได้ด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ โปรตีนที่ตก

ตะกอนโดยเกลือ (salting out) ในสารละลายเกลือนั้นจะทำให้เกิดฟองได้เพิ่มขึ้น ส่วนโปรตีนที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ (salting in) พบว่าทำให้เกิดฟองลดลง ประจุบวกของธาตุวาเลนซี 2 เช่น Ca^{2+} , Mg^{2+} จะช่วยให้เกิดฟองอากาศได้เพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้น 0.02 - 0.4 M. เพราะโมเลกุลโปรตีนเกิดพันธะเชื่อมขวางช่วยให้ฟิล์มที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะ viscoelastic มากขึ้น

3. น้ำตาล

การเติมน้ำตาลซูโครส, แลกโตสหรือน้ำตาลชนิดอื่นๆในสารละลายมักทำให้เกิดฟองอากาศลดลง เนื่องจากน้ำตาลจะทำให้โมเลกุลโปรตีนคลายรูปยากขึ้นและยึดเกาะที่ชั้นระหว่างผิวยากขึ้นด้วย แต่น้ำตาลจะทำให้ฟองอากาศคงตัวได้ดีขึ้น เนื่องจากน้ำตาลจะเพิ่มความหนืดของโปรตีน ทำให้ของเหลวจากส่วนชั้นบาง มีอัตราการไหลออกลดลง

4. ไขมัน

ไขมันเช่น ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) เมื่อความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 0.5 จะทำให้ฟองอากาศที่เกิดจากโปรตีนมีปริมาตรลดลง เนื่องจากไขมันสามารถยึดเกาะที่ชั้นรอยต่อระหว่างผิวอากาศ-น้ำได้ดีกว่าโปรตีน ทำให้การยึดเกาะของโปรตีนลดลง แต่ฟิล์มที่ได้จากไขมันนั้นขาดความยืดหยุ่นและแรงดึงดูระหว่างอนุภาค ทำให้ฟองอากาศขยายตัวอย่างรวดเร็วและยุบตัวลงระหว่างที่มีการตีให้อากาศ ดังนั้นสารให้ฟองประเภทโปรตีนที่ไม่มีไขมันเจือปนอยู่จึงทำให้เกิดฟองดีกว่าเมื่อมีไขมันผสมอยู่

5. ความเข้มข้นของโปรตีน

เมื่อโปรตีนมีความเข้มข้นสูงฟองที่ได้จะมีความคงตัวเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มของเหลวที่ล้อมรอบฟองอากาศมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นทำให้คงตัวอยู่ได้นานขึ้น ส่วนปริมาตรของฟองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนปริมาตรของฟองอากาศจะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดคงที่ โปรตีนเช่นไซขาวอัลบูมิน เกิดฟองอากาศปริมาตรสูงสุดที่ความเข้มข้นโปรตีนร้อยละ 1 ส่วนโปรตีนพวกโปรตีนเวย์ (whey protein isolate) และโปรตีนถั่วเหลือง (soy conglycinin) เกิดฟองอากาศปริมาตรสูงสุดที่ความเข้มข้นโปรตีนร้อยละ 2-5 โปรตีนส่วนใหญ่พบว่าทำให้เกิดปริมาตรฟองสูงสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2-8 และมีความเข้มข้นโปรตีนที่ยึดเกาะอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวโดยประมาณร้อยละ 2-3 มก./ตร.ม. การทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติบางส่วนก่อนการให้อากาศแก่สารละลายทำให้เกิดฟองอากาศเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่น การให้ความร้อนแก่ โปรตีนเวย์ ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 1 นาที จะเพิ่มปริมาตรของฟองอากาศ แต่หากให้ความร้อนจนโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติมากเกินไป เช่น ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 5 นาที ปริมาตรของฟองอากาศกลับลดลง สาเหตุมาจาก

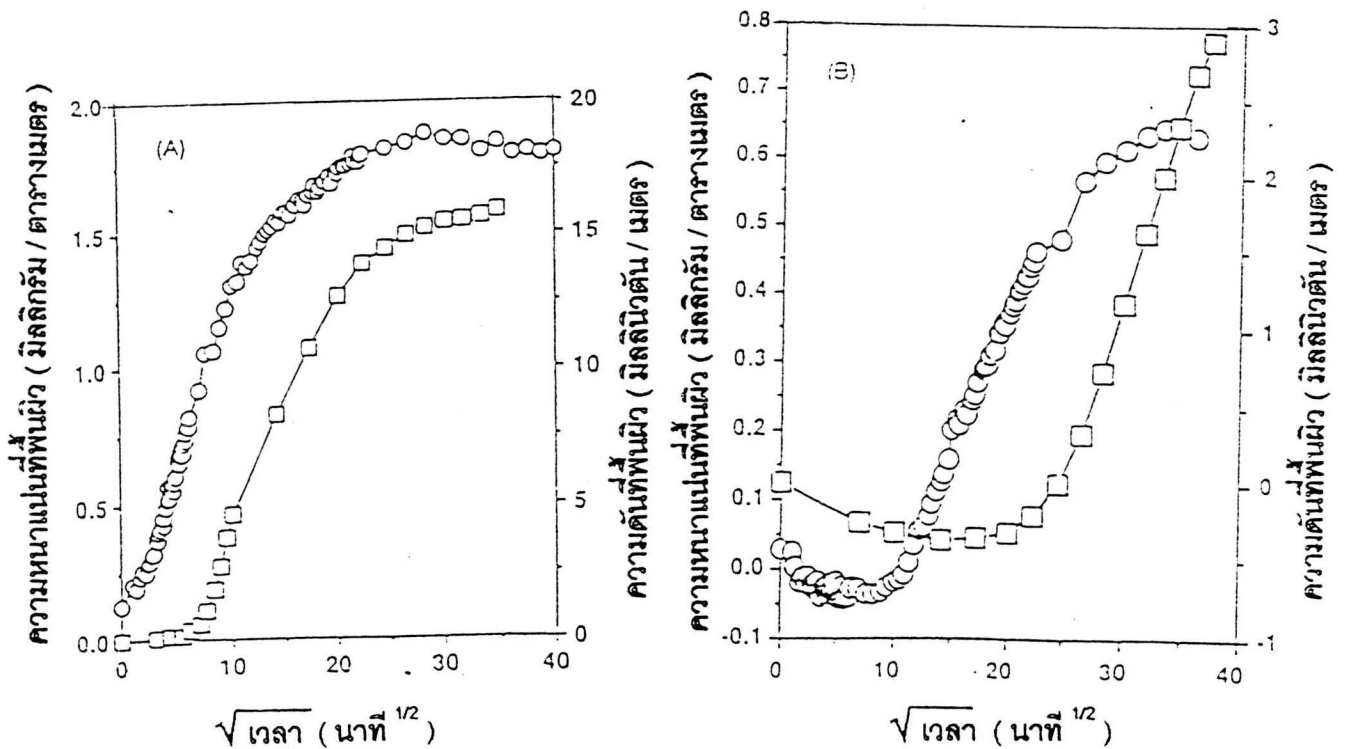
โปรตีนเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันโดยการเกิดปฏิกิริยาไดซัลไฟด์-ซัลไฮดริลในสายโพลีเมอร์มาก
เกินไป และโครงสร้างโปรตีนที่ชั้นระหว่างผิวอากาศ-น้ำลดลง

6. การให้อากาศแก่สารละลาย

การตีให้เกิดฟองอากาศแก่สารละลายนานเกินไป ทำให้เกิดแรงเฉือน (shear) สูง ปริมาตรของฟองอากาศที่เกิดขึ้นต่ำ เนื่องจากโปรตีนเกิดการรวมตัวและตกตะกอนเสียก่อนการเคลื่อนตัวไปยังตะกาะที่ชั้นระหว่างผิวอากาศ-น้ำ

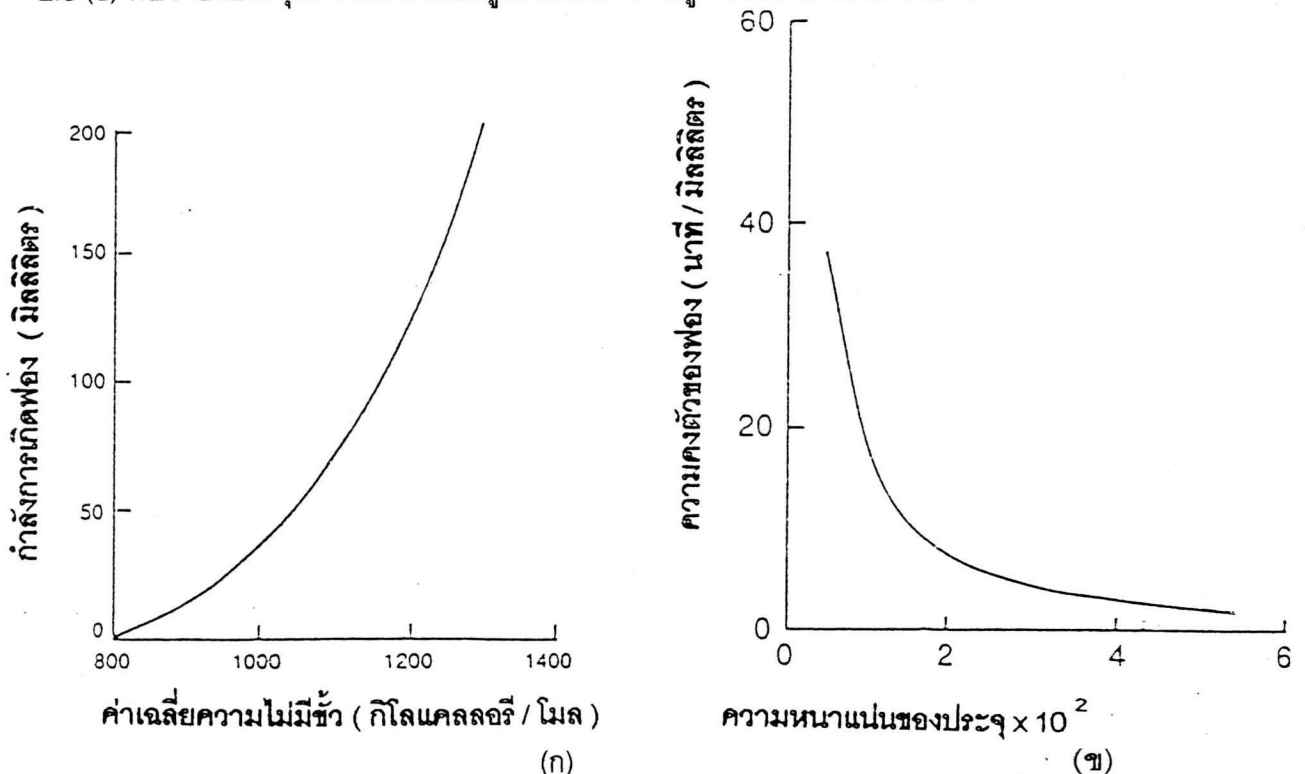
7. ลักษณะของโมเลกุล

จากการศึกษาพบว่า บีตา-เคซีน (β -casein) ซึ่งเป็นโมเลกุลโปรตีนประเภทเกลียวอิสระจะเกิดการดูดซับที่ชั้นระหว่างผิว และจัดเรียงตัวหันเหอาหุ้มมีซัวเข้าสู่ชั้นของเหลว หันเหอาหุ้มไม่มีซัวเข้าสู่ชั้นอากาศได้ดี แต่โปรตีนประเภทไลโซไซม์ที่มีโครงสร้างทรงกลม ขดตัวแน่นมีโมเลกุลที่เชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์เกิดการคลายรูปและยึดเกาะที่ชั้นระหว่างผิวได้น้อยมากดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ความหนาแน่นของโปรตีน (O) และความดันที่ผิว (□) เมื่อเวลาการดูดซับที่ชั้นระหว่างผิวของ บีตา-เคซีน (A) และ ไลโซไซม์จากไรซิว (B) เพิ่มขึ้น เมื่อใช้สารละลายโปรตีน 1.5 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร (ดัดแปลงภาพจาก Damodaran, 1996)

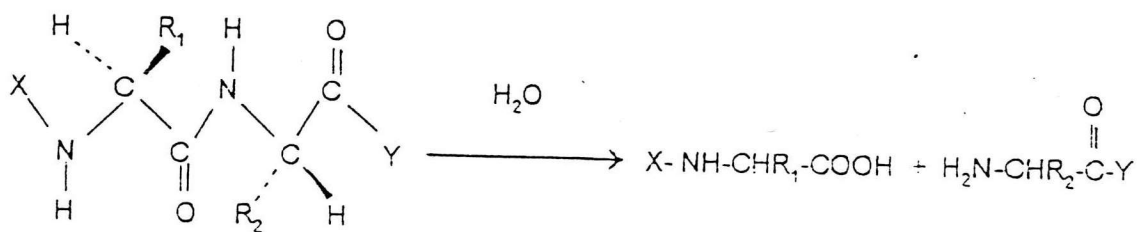
นอกจากความยืดหยุ่นของโมเลกุลแล้ว ลักษณะไม่มีขั้วก็สำคัญต่อการเกิดฟองเช่นกัน รูปที่ 2.8 (ก) แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของกำลังการเกิดฟอง (foaming power) กับค่าเฉลี่ยของลักษณะไม่มีขั้ว มีลักษณะแปรผันตรงต่อกันพบว่า โปรตีนที่ทำให้เกิดฟองอากาศในปริมาณที่สูงไม่จำเป็นต้องมีความคงตัวสูงเสมอไป ตัวอย่างเช่น เคซีน ทำให้เกิดฟองอากาศปริมาณสูงมากแต่มีความคงตัวต่ำ ขณะที่ไลโซไซม์ ทำให้เกิดฟองอากาศปริมาณที่ต่ำแต่มีความคงตัวสูง เห็นได้ชัดว่าการเกิดฟองที่มีปริมาตรสูงและฟองที่คงตัวสูง จะเกิดจากโมเลกุลโปรตีนต่างประเภทกัน โดยการที่เกิดฟองที่มีปริมาตรสูงขึ้นกับ อัตราการดูดซับของโปรตีนที่ชั้นระหว่างผิว ความยืดหยุ่นของโปรตีน และลักษณะไม่มีขั้ว แต่ความคงตัวของฟองขึ้นกับลักษณะทางการไหลของฟิล์มโปรตีน ความหนาของฟิล์มโปรตีน และการเกิดปฏิกิริยาภายในโมเลกุล โปรตีนที่คลายรูปบางส่วนและมีบางส่วนไม่คลายรูป มักจะทำให้เกิดฟองที่มีความคงตัวสูงกว่า เพราะสามารถสร้างฟิล์มโปรตีนที่มีความหนาแน่นกว่าโปรตีนที่ขดตัวเต็มที่ ดังนั้นโปรตีนที่จะสร้างฟองที่มีปริมาตรสูงและคงตัวดีควรมีความสมดุลระหว่างโมเลกุลที่ยืดหยุ่นและไม่ยืดหยุ่น นอกจากนี้สมบัติด้านความคงตัวของฟอง จะแสดงความสัมพันธ์แปรผกผันกันกับความหนาแน่นของประจุของโปรตีนที่มีอยู่ ดังแสดงในรูปที่ 2.8 (ข) พบว่ายิ่งประจุมีความหนาแน่นสูงยิ่งขัดขวางการดูดซับของโปรตีนที่ชั้นระหว่างผิว



รูปที่ 2.8 ความสัมพันธ์ระหว่างกำลังการเกิดฟองกับค่าเฉลี่ยความไม่มีขั้ว (HP_{ave}) (ก) และ ความคงตัวของฟองกับความหนาแน่นของประจุ (ข) ของโปรตีนที่ทำให้เกิดฟองนั้น (ดัดแปลงจาก Damodaran, 1996)

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์เพื่อทำเป็นสารให้ฟองประเภทโปรตีน

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์เพื่อทำเป็นสารให้ฟองประเภทโปรตีนที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรมโดยทั่วไปมีข้อดีคือ มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาสูงมากเมื่อเทียบกับปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสับสเตรทสูงมากและสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น นอกจากนี้เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้ภาวะไม่รุนแรง การใช้เอนไซม์ปรับปรุงคุณสมบัติของโปรตีนโดยการตัดพันธะเปปไทด์ ด้วยโปรติเอสดังแสดงในตารางที่ 2.1 มีลักษณะปฏิกิริยาดังนี้คือ สลายพันธะเปปไทด์ (C-NH) ด้วยน้ำ ดังปฏิกิริยารวม รูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์โดยโปรติเอส

ตารางที่ 2.1 เอนไซม์โปรติเอสและความจำเพาะต่อการตัดสายพันธะเปปไทด์ (ดัดแปลงจาก Arai and Fujimaki, 1991)

EC number	Enzyme	Preferential Cleavage
3.4.21	Serine proteinase	
3.4.21.1	Chymotrypsin	Try- , Trp- , Phe- , Leu-
3.4.21.4	Trypsin	Arg- , Lys-
3.4.21.14	Subtilisins	No clear specificity
	<i>Aspergillus</i> Alkaline proteinase	No clear specificity
	<i>Tritirachium</i> Alkaline proteinase (proteinase K)	At the carboxyl of the aromatic or hydrophobic amino-acid residues
	<i>Pseumonase</i> serine proteinase	No clear specificity
	<u>Thermophilic Streptomyces</u>	<u>Non-polar sequences</u>
	<u>serine proteinase</u>	Pro-
3.4.21.26	Prolyl endopeptidase	Arg- , Val-
3.4.21.31	Plasminogen activator	At the carboxyl of Gly- , Ala- , Val- , Leu-
3.4.21.36	Pancreatic elastase	
3.4.22	Cysteine proteinase	Resembling papain
3.4.22.1	Cathepsin B	<u>Ary- , Lys- ,Phe- , Xaa-</u>
3.4.22.2	<u>Papain</u>	Lys- , Ala- , Tyr- , Gly- , Asn- , Leu- , Val-
3.4.22.3	Ficin	Lys- , Ala- , Tyr- , Gly-
3.4.22.4	Bromelain	Close to papain
3.4.22.6	Chymopapain	Arg- , pro-
3.4.22.8	Clostripain	Close to papain
3.4.22.14	Actinidin	No clear specificity
3.4.22.15	Cathepsin L	No clear specificity , act also as an aminopeptidase
3.4.22.16	Cathepsin H	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

EC number	Enzyme	Preferential Cleavage
3.4.22.17	Calpain (CANP)	Especially for muscle protein
3.4.22.18	Prolyl endopeptidase	Pro-
3.4.23	Aspartic proteinase	
3.4.23.1	Pepsin	Phe-, Leu-
3.4.23.4	Chymosin	Phe105-Met106 in <i>K</i> - casein
3.4.23.5	Cathepsin D	Similar to pepsin
3.4.23.6	<i>Aspergillus oryzae</i> aspartic proteinase	No clear specificity
	<i>Aspergillus saitoi</i> aspartic proteinase	No clear specificity
	<i>Rhizopus</i> aspartic proteinase	No clear specificity
	<i>Mucor pusillus</i> aspartic proteinase	Milk clotting
	<i>Saccharomyces</i> aspartic proteinase	No clear specificity
	<i>Physarium</i> aspartic proteinase	Milk clotting
3.4.23.15	Rennin	Leu-leu in angiotensinogen
3.4.24	Metalloproteinase	
3.4.24.3	<i>Clostridium histolyticum</i> collagenase	-Gly-Pro-Xaa-Pro-
3.4.24.4	<i>Bacillus subtilis</i> neutral proteinase	At the bond adjacent to a hydrophobic amino acid residues
	<i>Streptococcus thermophilus</i> intracellular proteinase	-Leu , -Phe , -Tyr , -Ala
	<i>Streptomyces griseus</i> neutral proteinase	At the bond adjacent to a hydrophobic amino acid residues

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

EC number	Enzyme	Preferential Cleavage
3.4.24.4	<i>Penicillium roqueforti</i> neutral proteinase	At the bond adjacent to a hydrophobic amino acid residues

โปรติเอสจัดแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มตามกลไกการทำงาน (ปราณี อำนวยพร, 2535)

1. serine proteases
2. sulfhydryl protease
3. metal-containing protease
4. acid proteases

serine proteases เป็นเอนไซม์ที่ทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ของอนุมูลเซรีล (seryl residue) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ อีกนัยหนึ่งคือมีอนุมูลเซรีลอยู่ที่บริเวณเร่ง มีหมู่ imidazole อยู่ที่บริเวณเร่ง เอนไซม์กลุ่มนี้ทั่วไปจะมีความจำเพาะต่อลำดับกรดอะมิโนเป็น R₁ เอนไซม์ทั้งหมดเป็นพวก alkaline proteases และ endopeptidases เอนไซม์ในกลุ่มนี้ที่เลือกใช้ในการทดลองนี้คือ Alcalase[®] และ Protin AC 10[®] โดย Alcalase[®] เป็นเอนไซม์จากเชื้อ *Bacillus licheniformis* เอนไซม์นี้มีลักษณะเป็นโพลีเปปไทด์สายเดี่ยวที่มีกรดอะมิโน 274 ตัว และไม่มีซิสไธดหรือ ซิสเตอีน ดังนั้นจึงไม่มีพันธะไดซัลไฟด์ บริเวณเร่งประกอบด้วยกรดอะมิโน เซรีน 221 ฮิสติดีน 64 และแอสปาร์เตท 32 มีความจำเพาะต่อลำดับกรดอะมิโนสูงมากนัก ส่วน Protin AC 10[®] เป็น alkaline protease จาก *Bacillus subtilis* ที่ไฮโดรไลสพันธะเปปไทด์ โดยเฉพาะพันธะเปปไทด์ที่ถัดจากกรดอะมิโน อะลานีน เชนิลอะลานีน ไทโรซีน ทริปโตเฟน และ ลูซีน (ปกครอง จิโรจน์กุลกิจ, 2532)

sulfhydryl proteases (-SH group) เป็นเอนไซม์กลุ่มที่ถูกยับยั้งโดยสารที่เรียกว่า sulfhydryl reagent หรือ sulfhydryl group (-SH) หรืออีกนัยหนึ่งมี -SH ในบริเวณเร่ง จึงเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า sulfhydryl protease เอนไซม์กลุ่มนี้เป็นพวก neutral proteases และ endopeptidases เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ที่เลือกใช้ในการทดลองนี้คือ Papain (EC 3.4.22.2) มี

ลักษณะเป็นโพลีเปปไทด์สายเดี่ยว ประกอบด้วยกรดอะมิโน 212 กรดอะมิโน ที่บริเวณเร่งมีอนุมูล Cys, His, Asp และตัดพันธะสัลไฟด์ที่ Arg , Lys

acid proteases เป็นโปรติเอสที่มีช่วงปฏิกิริยาการย่อยสลายอยู่ในช่วง pH กรด (pH<7) มีหมู่คาร์บอกซิลมากกว่า 1 หมู่อยู่ในบริเวณเร่ง ซึ่ง acid protease ที่เลือกใช้ในการทดลองนี้ได้แก่ Pepsin (EC 3.4.23.1) ซึ่งมีความจำเพาะต่ออนุมูลกรดอะมิโน Phe , Leu , Tyr, Tryp

โปรติเอสที่นิยมใช้ย่อยโปรตีนคือ pepsin, trypsin, chymotrypsin, papain และ thermolysin (Damodaran, 1996) พบว่า การใช้เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่ำย่อยสลาย เช่น papain หากทำการย่อยสลายในระดับที่มากเกินไปจะได้สารเปปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำในระดับที่มีกรดอะมิโน 2 - 4 ตัว มักทำให้สมบัติโปรตีนด้านการเกิด เจล , อิมัลชัน , ฟอง หายไปซึ่งจะมีประโยชน์กับอาหารเหลวประเภท ชูป ซอส มากกว่า และการย่อยสลายในระดับที่จำกัด (limited hydrolysis) โดยใช้เอนไซม์ที่จำเพาะต่อการตัดสายเปปไทด์ เช่น trypsin, chymotrypsin จะทำให้เกิดฟอง และ อิมัลชันดีขึ้น เนื่องจากหมู่ไม่มีขั้วที่แต่เดิมอยู่ภายในโมเลกุลถูกตัดสายให้ออกมาอยู่ภายนอกมากขึ้น แต่หมู่อะมิโนไม่มีขั้วมักจะมีรสขม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ระดับการย่อยสลาย องค์ประกอบของหมู่อะมิโน และชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ เช่น ถ้าหมู่อะมิโนไม่มีขั้วมีมากกว่า 5.85 (กิโลจูล / โมล) จะให้รสขม แต่ถ้าหากมี น้อยกว่า 5.43 (กิโลจูล / โมล) จะไม่ขม หรือถ้าหากย่อยโปรตีนประเภทเจลาติน จะพบว่าขมน้อยกว่าย่อยโปรตีนประเภทเคซีน หรือโปรตีนในถั่วเหลือง หรือหากใช้เอนไซม์ที่จำเพาะต่อการตัดที่หมู่อะมิโนไม่มีขั้วจะขมน้อยกว่าเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกว้างการใช้เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนสามารถช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณสมบัติการไหลของโปรตีนให้ดีขึ้นได้ (Arai and Fujimaki, 1991) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลให้โปรตีนมีลักษณะที่หลากหลาย สำหรับกรณงานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลือง โดยการย่อยสลายพันธะเปปไทด์เพื่อเปลี่ยนสมบัติทางด้านผิวซึ่งเป็นหนึ่งในสมบัติพื้นฐานของโปรตีนดังแสดงในตารางที่ 2.2 โดยเฉพาะการแสดงบทบาทของโปรตีนในฐานะสารให้ฟอง(foaming agent) ซึ่งมักจะแสดงบทบาทเป็นสารช่วยการกระจาย (emulsifier)ควบคู่กันไปด้วย

ตารางที่ 2.2 ลักษณะของโปรตีนตามคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณสมบัติการไหล (ดัดแปลงจาก Kinsella, 1979)

สมบัติพื้นฐาน	ลักษณะการทำงาน
การจับตัวกับน้ำ (Hydration)	การละลายในน้ำ, การกระจายตัวในน้ำ, การเป็ยที่อนุภาค, การดูดซับน้ำ, การอุ้มน้ำ, การพองตัว, ความชื้นเหน็ด
สมบัติด้านผิว (Surface property)	การเกิดอิมัลชัน, ความคงตัวต่ออิมัลชัน, การเกิดฟอง, การเกิดฟิล์มของโปรตีน / ไขมัน
สมบัติการไหล (Rheological property)	ความยืดหยุ่น, ความเหน็ด, การยึดเกาะกัน, การยึดติดกัน, การรวมตัวกัน, ความเหนียว, การเกิดเจล, การเกิดโค, การเกิดเนื้อสัมผัส

โปรตีนจากถั่วเหลือง

โปรตีนถั่วเหลืองมีอยู่ในกากถั่วเหลืองสูงถึงร้อยละ 45 (เล็ก เสตะสุนทร, 2520) แต่กากถั่วเหลืองอันเป็นผลพลอยได้ของอุตสาหกรรมน้ำมันพืชในประเทศ ส่วนใหญ่นำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ ทั้งที่โปรตีนในถั่วเหลืองนั้นสามารถนำไปประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ในอุตสาหกรรมอาหารได้ การนำโปรตีนถั่วเหลืองไปผลิตสารให้ฟองจัดเป็นแนวทางหนึ่งในการศึกษาการใช้ประโยชน์ในแง่ที่ต่างจากเดิม อีกทั้งยังเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของโปรตีนจากถั่วเหลืองให้มากขึ้น โปรตีนถั่วเหลืองถูกสะสมอยู่ในเซลล์ของเนื้อถั่วเหลืองที่เรียกว่า Protein bodies ซึ่งส่วนใหญ่มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-8 ไมครอน และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200,000 - 600,000 โมเลกุลของโปรตีนเหล่านี้สามารถจับตัวกันเป็นโมเลกุลของโปรตีนขนาดใหญ่ได้ด้วยการเชื่อมกันของพันธะไดซัลไฟด์ โปรตีนส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ชื่อว่าโกลบูลิน (globulin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยโปรตีนหน่วยย่อยคือ 2S, 7S, 11S และ 15S ซึ่งเป็นชื่อที่เรียกตามลักษณะการตกตะกอนโดยการเหวี่ยงแยกที่ความเร็วต่างๆ ของโปรตีนโดยมีปริมาณและชนิดของโปรตีนดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณและชนิดของโปรตีนโดยการใช้อัลตราเซนตริฟิวก์ (ultracentrifuge) แยกจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ ละลายน้ำได้ (ดัดแปลงจาก Wolf, 1975)

Fraction	% ของทั้งหมด	ชนิดของโปรตีน	น้ำหนักโมเลกุล
2S	22	Trypsin inhibitors Cytochrome C	8,000 - 21,500 12,000
7S	37	Hemagglutinins Lipoxygenases B- Amylase 7S-Globulin	110,000 102,000 61,700 180,000 - 210,000
11S	30	11S-Globulin	350,000
15S	11	-	600,000

แต่โปรตีนจากถั่วเหลืองในสภาพธรรมชาติทำให้เกิดฟองค่อนข้างต่ำ เพราะเป็นโครงสร้างของโปรตีนที่จับตัวกันแน่นมีขนาดใหญ่ ด้านทานต่อการถูกดูดซับและคลายตัวที่ชั้นรอยต่อของอากาศและน้ำ จึงทำให้เกิดฟิล์มโปรตีนที่ชั้นรอยต่อไม่ดีพอ (Phillips, 1981) German, Oneill และ Kinsella (1985) พบว่าโปรตีนถั่วเหลืองมีโครงสร้างที่ทำให้เกิดฟองที่ดีแต่ถูกบดบังด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ที่เชื่อมระหว่างสายโปรตีน การใช้เอนไซม์ย่อยสลายพันธะเหล่านี้ จะทำให้โปรตีนคลายตัวแบบเกลียวอิสระที่ชั้นรอยต่อและเกิดฟองได้ดีขึ้น สารให้ฟองที่มาจากโปรตีนถั่วเหลืองจึงมักทำจากการใช้โปรติเอสปรับปรุงโครงสร้างของโปรตีน ให้อยู่ในลักษณะเกลียวอิสระ (Minifie, 1989)

ตัวอย่างงานวิจัยที่นำเอนไซม์ปรับปรุงสมบัติการเกิดฟองของโปรตีนถั่วเหลือง ได้มีรายงานไว้พอจะยกมากล่าวไว้พอสังเขปเพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบและชี้แนะสำหรับงานวิจัยนี้ดังต่อไปนี้

Campbell , Shih และ Marshall (1992) ย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองไฮโซเลตด้วย Kinase ที่อุณหภูมิ 30° C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าการเกิดฟองของโปรตีนที่ถูกย่อยสลายเพิ่มขึ้นจากเดิมร้อยละ 23

Bemadi, Pilosof และ Bamolomai (1991) ได้ศึกษาการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้นด้วยโปรติเอสจาก *Bacillus subtilis* และ *Aspergillus oryzae* ในระดับการย่อยสลายอย่างจำกัดจนถึงระดับการย่อยสลายร้อยละ 10 - 12 ซึ่งทำให้เกิดฟองที่สูงและคงตัวที่สุด

Adler-Nissen (1986) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้นในอัตราจำกัด โดยใช้อัลคาไลด์โปรติเอส คือ Alcalase[®] ที่อุณหภูมิ 50 ° C pH 8 ที่ระดับการย่อยสลายร้อยละ 3-5 โปรตีนจะเกิดฟองสูงชันและมีความคงตัวดี และเมื่อย่อยสลายถึงระดับการย่อยสลายร้อยละ 5 ความคงตัวของฟองจะเริ่มลดลง

Boyce (1986) ผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนที่สกัดจากกากถั่วเหลือง โดยการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ เรนเนทจากจุลินทรีย์ (microbial rennet) จาก *Mucor miehei* ในช่วง pH 3.6-6.5 ย่อยสลายถึงระดับร้อยละ 1.2 ยับยั้งเอนไซม์ด้วยความร้อน จากนั้นจึงปรับ pH เป็น 6.5 ทำแห้งด้วยลมร้อน พบว่าได้ปริมาตรของฟองที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 206 และฟองที่ได้คงตัวอยู่ที่ปริมาตรนี้ถึง 4 ชั่วโมง

Bobalik และ Taranto (1980) ย่อยสลายแป้งถั่วเหลืองปราศจากไขมันด้วย Papain ที่อุณหภูมิ 50 ° C เป็นเวลา 5 - 30 นาที พบว่าทุกช่วงเวลากการย่อยสลายทำให้เกิดฟองสูงชันร้อยละ 250 จากปริมาตรเดิม แต่ฟองที่ได้มีความคงตัวต่ำ

Adler-Nissen และ Olsen (1979) ศึกษาอิทธิพลของความยาวสายเปปไทด์ต่อการเกิดรสชาติและสมบัติการทำงานของโปรตีนถั่วเหลือง โดยการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองไฮโซเลตด้วยเอนไซม์ และระดับการย่อยสลาย พบว่าสมบัติการเกิดฟองสูงชัน

Gunther (1979) ศึกษาการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองไฮโซเลตด้วยเปปซินความเข้มข้น 0.4 % ถึง 0.5 % ภายใต้ pH 2.0 - 4.5 เหวี่ยงแยกโปรตีนที่ถูกย่อยสลายออกมา ทำให้เข้มข้นและปรับ pH ทำแห้งด้วยลมร้อนได้สารให้ฟองที่เกิดฟองสูงกว่าสารให้ฟองจากไซซาว

Sawada Kajikawa และ Kotani (1977) นำโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองย่อยสลายด้วย pepsin , papain และโปรติเอสจากจุลินทรีย์ *Trametes sanguinea* , *Trametes cinnabarine* เป็นเวลา 3 - 5 นาทีหลังจากยับยั้งปฏิกิริยาแล้วปรับ pH 5 - 7 แล้วทำแห้งด้วยวิธีพ่นกระจายพบว่าการเกิดฟองสูงชันมาก

Sair และ Rathman (1950) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองไฮโซเลตด้วย Pepsin ที่ pH 2 อุณหภูมิการย่อยสลาย 37 ° C - 43 ° C จน pH เพิ่มขึ้นเป็น 5.0 เมื่อยับยั้งปฏิกิริยาแล้วโปรตีนที่ได้เกิดฟองสูงชัน และนำไปใช้เป็นสารให้ฟองในขนมอบ เมอะแรงส์

งานวิจัยนี้ได้พิจารณาหาภาวะการผลิตสารให้ฟองด้วย การวางแผนและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยหาความสัมพันธ์ของตัวแปรที่ศึกษากับค่าตอบสนองที่สนใจ เพื่อหาภาวะการผลิตที่เหมาะสม (respond -surface methodology ; RSM) โดยการใช้ multiple regression analysis เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและค่าตอบสนองในรูปของสมการทางคณิตศาสตร์ และสมการที่สร้างขึ้นนี้สามารถนำมาสร้างกราฟ 3 มิติหรือ 2 มิติ ซึ่งมีประโยชน์ในการอธิบายผลหรือผลรวมของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง และความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา ซึ่งมีหลักการโดยสรุปดังที่จะได้กล่าวต่อไป

Response - surface methodology

Response - surface methodology มีขั้นตอนดังนี้

1 การกำหนดตัวแปรอิสระ (independent variable) และผลตอบสนอง (response)

ตัวแปรอิสระที่ถูกกำหนดขึ้นควรจะมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์หรือต่อกระบวนการผลิต ตัวแปรอิสระอาจเป็นส่วนผสม เช่น ปริมาณเกลือ ปริมาณน้ำตาล หรือภาวะที่ใช้ในการผลิต เช่น ระดับอุณหภูมิ เวลา เป็นต้น นอกจากนี้จะต้องกำหนดค่าตอบสนองที่ต้องการวัด ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าตัวแปรต่างๆที่ศึกษา เช่น ในการผลิตแอมให้มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยกำหนดตัวแปรอิสระ คือ ปริมาณเกลือ และน้ำตาล ซึ่งเป็นส่วนผสมในการผลิตแอม ค่าตอบสนองที่ต้องการวัด คือ คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์แอม โดยเลือกภาวะของตัวแปร คือ ปริมาณเกลือและปริมาณน้ำตาลที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคะแนนความชอบรวมสูงที่สุด (Henika, 1982 ; Mason, Gunst, and Hess, 1989)

2. การกำหนดแบบแผนการทดลองที่เหมาะสม

แบบแผนการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิธี RSM โดยทั่วไปจะใช้ fractional factorial design แต่ในการใช้การทดลองแบบนี้มีข้อจำกัดคือ ถ้าเป็นการทดลองแบบ two-level factorial ผลการทดลองแบบนี้จะนำมาสร้างได้เฉพาะสมการกำลังหนึ่งเท่านั้น โดยไม่มีเทอมที่เป็นผลรวมระหว่างตัวแปรใดๆ Gacula และ Singh (1984) เสนอว่าการทดลองแบบ Box-Behnken design , Central composite design และ Rotatable design สามารถใช้ทำนายผลการทดลองที่มีจำนวนทดลองไม่มากเกินไป เช่นการศึกษา 3 ตัวแปรแต่ละตัวแปรมี 3 ระดับได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเลือกแบบการทดลองแบบใดแบบหนึ่งให้เหมาะสม จะเป็นการลดเวลาและประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการทดลอง (Henika, 1982 ; Mason, Gunst and Hess, 1989)

2.3 วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

นำข้อมูลของค่าตอบสนองที่ได้จากการทดลอง ด้วยแบบแผนการทดลองที่เหมาะสมมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรอิสระที่ศึกษา โดยวิธี multiple regression ในรูปของสมการกำลังสอง รูปแบบของสมการที่นิยมใช้ส่วนใหญ่คือ สมการโพลีโนเมียลกำลังสองซึ่งมีรูปแบบโดยทั่วไปดังนี้

$$Y = B_0 + \sum B_i X_i + \sum B_{i,i+1} X_i X_{i+1} + \sum B_{ii} X_i^2$$

เมื่อ Y	คือค่าตอบสนองที่เกิดจากการแปรค่าตัวแปร X
B_0	คือค่าคงที่
$\sum B_i X_i$	คือเทอมที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวแปรอิสระ X
$\sum B_{i,i+1} X_i X_{i+1}$	คือเทอมที่แสดงถึงอิทธิพลร่วมของตัวแปรอิสระ 2 ตัวแปร X_i, X_{i+1}
$\sum B_{ii} X_i^2$	คือเทอมที่แสดงถึงอิทธิพลของกำลังสองของตัวแปรอิสระ

เนื่องจากสามารถอธิบายผลของตัวแปรอิสระที่มีค่าตอบสนอง (linear effect) ผลของความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระที่มีค่าตอบสนอง (Interaction) และผลร่วมของตัวแปรอิสระที่มีต่อค่าตอบสนองได้ จากสมการดังกล่าวเมื่อได้ตัวแปรที่มีผลต่อค่าตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญแล้วจะสามารถสร้างกราฟ contour plot จะมีลักษณะเป็นอนุกรมของเส้นตรงหรือเส้นโค้ง ซึ่งแสดงภาวะตัวแปรที่ให้ค่าการตอบสนองคงที่ มีหลายรูปแบบขึ้นกับความสัมพันธ์ระหว่างค่าตัวแปรอิสระและค่าตอบสนอง ดังนั้นจาก contour plot ที่ได้ ทำให้สามารถเลือกภาวะของตัวแปรที่ให้ค่าการตอบสนองที่เหมาะสม (optimum point) หรือตามที่ต้องการได้

การใช้ประโยชน์จากสารให้ฟอง

สารให้ฟองโดยทั่วไปมักใช้ในอุตสาหกรรมผลิตขนมหวานหลายอย่าง เช่นผลิตภัณฑ์เบเกอรี่, ครีมแต่งหน้าอาหาร, เมอะแรงส์, ลูกกวาดชิฟฟอน, มาชเมลโล (Townsend and Nakai, 1983) การนำสารให้ฟองไปทำผลิตภัณฑ์ขนมหวานประเภทต่างๆ ต้องมีการผสมกับส่วน

ผสมซึ่งเป็นสูตรเฉพาะตัวของขนมหวานแต่ละประเภทนั้น อาทิเช่น น้ำตาล เนย ช็อกโกแลต ผงโกโก้ เป็นต้น เนื่องจากงานวิจัยนี้มีการทดสอบทำผลิตภัณฑ์ จึงเลือกทำขนมหวานประเภทเมอะแรงส์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดลองการเกิดฟองและทดสอบการยอมรับด้านรสชาติของผู้บริโภค

เมอะแรงส์เป็นผลิตภัณฑ์ขนมหวานที่มีส่วนผสมไม่มาก ทำให้การเตรียมและการทำผลิตภัณฑ์ไม่ยุ่งยาก โดยสูตรพื้นฐานของเมอะแรงส์ประกอบไปด้วย โปรตีนในสารให้ฟอง ซึ่งโดยทั่วไปมักใช้โปรตีนจากไข่ขาว น้ำ และน้ำตาล ขั้นตอนที่สำคัญต่อการทำเมอะแรงส์ คือ การตีให้อากาศแก่ส่วนผสมซึ่งทำให้เมอะแรงส์มีลักษณะเนื้อสัมผัสเบาเป็นรูพรุนจากนั้นจึงนำไปอบ (Kuchler and Stine , 1974) เมอะแรงส์ที่ดีควรมีเนื้อเนียน มีรูพรุน จากโพรงอากาศภายใน ซึ่งไม่เล็กหรือใหญ่เกินไปและมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ เมื่อกัดลงไปจะกรอบ่วนละลายได้ง่ายในปาก (Pomeroy , 1978) ลักษณะปรากฏของเมอะแรงส์แสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 เมอะแรงส์ที่เตรียมจากโปรตีนไข่ขาว

สำหรับงานวิจัยนี้ใช้สารให้ฟองจากโปรตีนจากถั่วเหลือง มาทดลองใช้โดยแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เมอะแรงส์ เพื่อเป็นตัวอย่งทดลองประสิทธิภาพการใช้งานขั้นต้นเท่านั้น ดังรายละเอียดงานวิจัยที่จะนำเสนอในบทต่อไป