ผลการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์และเคมีต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผง

EFFECT OF ENZYMATIC AND CHEMICAL MODIFICATION ON FUNCTIONALITIES OF EGG WHITE POWDER

สุนิษา ปั้นสุข

SUNISA PANSOOK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AI-M-053-035

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์และเคมีต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผง

EFFECT OF ENZYMATIC AND CHEMICAL MODIFICATION ON FUNCTIONALITIES OF EGG WHITE POWDER

สุนิษา ปั้นสุข
SUNISA PANSOOK

วน.
ส 419 ส
2552

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 95054
วัน,เดือน,ปี 20 พ.ค. 2552

.b 12021391x
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2552
KMITL-2009-AI-M-053-035

EFFECT OF ENZYMATIC AND CHEMICAL MODIFICATION ON FUNCTIONALITIES OF EGG WHITE POWDER

SUNISA PANSOOK

A THESIS SUBMITTED IN PATIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
FACULTY OF AGRO-INDUSTRY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2009

KMITL-2009-AI-M-053-035

COPYRIGHT 2009
FACULTY OF AGRO-INDUSTRY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์และเคมีต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผง

EFFECT OF ENZYMATIC AND CHEMICAL MODIFICATION ON FUNCTIONALITIES OF EGG WHITE POWDER

ชื่อนักศึกษา นางสาวสุนิษา ปั้นสุข

รหัสประจำตัว 49068503

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. ยุพร พืชกมุทร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.ยุพร พืชกมุทร	
รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม	
รศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์	
ผศ.ดร.น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 6 มีนาคม 2552 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้องสัมมนา D213 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 16 **เดือน** มีนาคม **พ.ศ.** 2552

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์และเคมีต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผง
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสุนิษา ปั้นสุข
รหัสประจำตัว	49068503
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
พ.ศ.	2552
อาจารณ์ที่ปรึกษา	ดร. ยุพร พืชกมุทร

บทคัดย่อ

การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin, BSA) พบว่า BSA มีค่าความสามารถในการละลาย ค่า surface hydrophobicity ค่าความสามารถในการเกิดโฟม ค่าความคงตัวของโฟม และค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากกว่าไข่ขาวผงและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ส่วนโปรตีนถั่วเหลืองสกัด มีสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าไข่ขาวผงและ BSA ในขณะที่ไข่ขาวผงมีค่าความสามารถในการละลายและค่าความสามารถการเกิดโฟมมากกว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ในกรณีของการดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าเมื่อไข่ขาวผงถูกดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระดับการย่อย 21-30% ผลการวิเคราะห์หน่วยย่อยของไข่ขาวผงด้วยอิเล็กโตรโฟรีซีส (SDS-PAGE) พบว่า ส่วนของโปรตีนโคนัลบูมินและโอวัลบูมินจางหายไปแต่จะพบแถบโปรตีนขนาด 27 kDa เกิดขึ้นที่ส่วนล่างของแผ่นเจล ไข่ขาวที่ผ่านการย่อยมีค่าความสามรถในการละลาย ค่า surface hydrophobicity ความสามารถในการเกิดโฟม และสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความคงตัวของโฟมและค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลง

ส่วนการดัดแปรไข่ขาวผงด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน พบว่าผลการวิเคราะห์หน่วยย่อยของไข่ขาวผงด้วยอิเล็กโตรโฟรีซีส (SDS-PAGE) แถบของโปรตีนไม่มีการเปลี่ยนแปลง และไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันจะมีค่าความสามรถในการละลาย ค่า Surface hydrophobicity ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและค่าความคงตัวของโฟมและความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น ส่วนค่าความสามารถในการเกิดโฟม และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง

Thesis Title	Effect of enzymatic and chemical modification on functionalities of egg white powder
Student	Miss Sunisa Pansook
Student ID.	49068503
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2009
Thesis Advisor	DR. Yuporn Puechkamut

Abstract

The functionalities of egg white powder (EWP), soy protein isolate (SPI) and bovine serum albumins (BSA) were comparatively studied. Result showed that solubility, surface hydrophobicity, foam activity, foam stability and emulsion activity of BSA were higher than those of EWP and SPI, while antioxidant capacity of SPI was higher than others. However, solubility and foam activity of EWP were higher than those of SPI.

The functionalities of EWP hydrolyzed by papain with hydrolysis degree of 21-30% were evaluated. SDS-PAGE showed that conalbumin and ovalbumin subunits of native EWP were disappered. While the sunbunit of 27 kDa were observed at the bottom of the gel. Protein solubility, surface hydrophobicity, foam activity and antioxidant capacity of EWP hydrolysate were significantly increased compare to those of the native EWP, while foam stability and emulsion activity of EWP hydrolysate were decreased.

For chemical modification, succinic anthydride was added into EWP solution at 50% w/v. The succinylation time were 0, 5, 15, 30, 45 and 60 min. It was found that the succinylation did not affect the protein subunit as determined by SDS-PAGE. Protein solubility, surface hydrophobicity, foam stability and emulsion activity of the modified EWP were significantly increased. The hydrogen peroxide scavenging of chemical modified EWP was clearly increased when compared to those of the unmodified protein. While foam activity and scavenging activity against ABTS of the modified EWP were decreased.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร. ยุพร พืชกมุทร ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้ความรู้ ข้อคิดเห็น คำแนะนำและคำปรึกษาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อข้าพเจ้าในการทำงานวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ ผศ.ดร. น้ำทิพย์ วงษ์ประทีป ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์และกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมแก่ข้าพเจ้าทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ช่วยประสิทธิประศาสตร์วิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาในการศึกษาจนกระทั่งข้าพเจ้ามีโอกาสประสบความสำเร็จ รวมทั้งขอของคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกให้แก่ข้าพเจ้าในการปฏิบัติงานวิจัยและเจ้าหน้าที่ธุรการในงานเอกสารต่างๆ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่น้อง รวมทั้งเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือให้กำลังใจในการทำงานวิจัยให้ลุล่วงไปด้วยดี คุณค่าและประโยชน์อันพึงมาจากงานวิจัยฉบับนี้ข้าพเจ้าขอมอบแด่คณาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

สุนิษา ปั้นสุข

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... II

กิตติกรรมประกาศ..... III

สารบัญ..... IV

สารบัญตาราง..... V

สารบัญภาพ..... VI

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 ไข่ขาว..... 3

2.2 โปรตีนไข่ขาว..... 3

2.3 ไข่ขาวผง..... 5

2.4 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร..... 5

2.4.1 การทำให้เกิดเจล..... 5

2.4.2 การทำให้เกิดโฟม..... 6

2.4.3 การทำให้เกิดอิมัลชัน..... 7

2.4.4 สมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน..... 7

2.4.5 Surface hydrophobicity..... 8

2.5 การปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน..... 9

2.5.1 การดัดแปรโปรตีนด้วยเอนไซม์ (Enzymatic Modification)..... 9

2.5.1.1 การดัดแปรโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โปรติเอส..... 9

2.5.1.2 การดัดแปรโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์ทรานซ์กลูตามิเนส..... 12

2.5.1.3 การดัดแปรโปรตีนโดยใช้เอนไซม์เปปทิโดกลูตามิเนส..... 13

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5.2 การดัดแปรโปรตีนโดยไม่ใช้เอนไซม์ (Non-enzymatic Modification)...14
2.5.2.1 การดัดแปรด้วยวิธีทางเคมี..... 14

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 17
3.1 วัตถุดิบ..... 17
3.2 อุปกรณ์ในการดัดแปรโปรตีน..... 18
3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์..... 18
3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง..... 19
3.5 วิธีการทดลอง..... 19
3.5.1 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีน
ถั่วเหลืองสกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน..... 19
3.5.2 การดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน..... 21
3.5.3 การดัดแปรไข่ขาวผงโดยวิธีการซัคซินิลเลชัน..... 21

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 23
4.1 สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัด
และโบวินซีรัมอัลบูมิน..... 23
4.2 ผลการดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน..... 27
4.2.1 ระดับการย่อย..... 27
4.2.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร
ด้วยเอนไซม์ปาเปนด้วยวิธี SDS-PAGE..... 28
4.2.3 สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน.... 29
4.3 การดัดแปรไข่ขาวผงด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน..... 35
4.3.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร
ด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันโดยใช้ SDS-PAGE..... 35
4.3.2 สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร
ด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน..... 36

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 43

5.1 สรุปผลการทดลอง 43

5.2 ข้อเสนอแนะ 44

บรรณานุกรม 45

ภาคผนวก 50

ก การทดสอบสมบัติของโปรตีน 51

ข ผลการทดลอง 62

ประวัติผู้เขียน 71

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงองค์ประกอบและคุณลักษณะของโปรตีนไข่ขาว..... 5

4.1 ความสามารถในการลาลายของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด
และโบวินซีรัมอัลบูมิน..... 23

4.2 ค่า surface hydrophobicity ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด
และโบวินซีรัมอัลบูมิน..... 24

4.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด
และโบวินซีรัมอัลบูมิน..... 25

4.4 การเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลือง
สกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน..... 25

4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด
โบวินซีรัมอัลบูมิน และวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 26

4.6 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด
โบวินซีรัมอัลบูมิน และวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 27

4.7 ระดับการย่อยสลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนใน
ระยะเวลาต่างๆ..... 28

4.8 ความสามารถในการลาลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วย
เอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 30

4.9 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วย
เอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 31

4.10 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร
ด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 32

4.11 การเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่าน
การดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 33

4.12 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร
ด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 34

4.13 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ของไข่ขาวผงที่ผ่าน
การดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 35

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.14 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 37

4.15 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 38

4.16 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 39

4.17 การเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 40

4.18 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 41

4.19 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 42

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ปฏิกิริยาทรานซ์กลูตามิเนส 13

2.2 ปฏิกิริยาระหว่าง กรดอะซิติกแอนไฮไดรด์ และซัคซินิคแอนไฮไดรด์ กับหมู่ ε - อะมิโนของไลซีน 14

2.3 ปฏิกิริยาระหว่างสารฟอสฟอรัสออกซีคลอไรด์กับหมู่ไฮดรอกซิลของเซอรีน และทรีโอนีน 15

4.1 SDS-PAGE patterns ของไข่ขาวผงและไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ปาเปนเป็นระยะเวลา 5 15 30 45 และ 60 นาที 29

4.2 SDS-PAGE patterns ของไข่ขาวผงและไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการ ซัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา 5 15 30 45 และ 60 นาที 36

ก1 ขั้นตอนการตรวจวัดระดับการย่อยสลายเอนไซม์ 52

ก2 ขั้นตอนการหาความสามารถในการละลาย 53

ก3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีน 54

ก4 ขั้นตอนการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีน 55

ก5 ขันตอนการวิเคราะห์สมบัติการเกิดฟองโปรตีน 56

ก6 ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ ABTS 57

ก7 ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 57

ก8 ขั้นตอนการหาเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์โปรตีน 58

ข1 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ 63

ข2 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระยะเวลาต่างๆ 63

ข3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระยะเวลาต่างๆ 64

ข4 ความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระยะเวลาต่างๆ 64

ข5 ความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระยะเวลาต่างๆ 65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ข6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ..... 65
ข7 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลาต่างๆ..... 66
ข8 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 67
ข9 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 67
ข10 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 68
ข11 ความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 68
ข12 ผลการทดสอบความคงตัวโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 69
ข13 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 69
ข14 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ..... 70

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไข่ไก่เป็นอาหารที่นิยมผู้บริโภคกันอย่างกว้างขวางเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและหาได้ง่าย ไข่ขาวถือได้ว่าเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง และมีไขมันน้อย โปรตีนในไข่ขาวเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์ มีกรดอะมิโนครบทุกชนิดตามที่ร่างกายต้องการ นอกจากจะนำมาบริโภคโดยตรงแล้ว ไข่ขาวสามารถนำมาแปรรูปเป็นไข่ขาวผงได้ ซึ่งช่วยให้เก็บไว้ได้นาน สะดวกในการเก็บ พื้นที่เก็บน้อย และสะดวกในการขนส่ง โดยไข่ขาวผงจะมีปริมาณโปรตีนมากกว่า 80 เปอร์เซนต์ (Li-chan และคณะ, 1995) และนิยมใช้เป็นส่วนผสมสำหรับผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ ได้แก่ ขนมหวาน พุดดิ้ง (pudding) ผลิตภัณฑ์เนื้อ เต้าหู้ และซูริมิ เนื่องจากไข่ขาวมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่เฉพาะคือ มีสมบัติในการเกิดเจล (gelling) สมบัติในการเกิดโฟม (foaming) และสมบัติการเกิดอิมัลชัน ซึ่งสมบัติเหล่านี้เกิดจากโปรตีนที่เรียกว่า อัลบูมิน (albumen) ชนิดของโปรตีนในไข่ขาวมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน คือ โอวัลบูมิน (ovalbumin) โคนัลบูมิน (conalbumin) โอโวมิวคอยด์ (ovomucoid) โอโวมิวซิน (ovomucin) ไลโซไซม์ (lysozyme) โอโวโกลบูลิน (ovoglobulin) และ อะวิดิน (avidin) โอวัลบูมินเป็นโปรตีนหลักมีอยู่ถึง 54 เปอร์เซนต์ ของไข่ขาวทั้งหมด โปรตีนไข่ขาวทุกชนิดเป็นไกลโคโปรตีนยกเว้นไลโซไซม์ แต่ละชนิดจะมีหน้าที่ที่แตกต่างกัน (Zabik, 1992)

ในการผลิตไข่ขาวผงนั้น สมบัติเชิงหน้าที่จะเปลี่ยนไปโดยความร้อน สารเคมีและแรงกลจากกระบวนการผลิต ส่งผลต่อการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร (Mine, 1995) การดัดแปรโครงสร้างและขนาดโมเลกุล หรือการเพิ่มความเป็นประจุของโปรตีน เป็นกระบวนการที่ช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ให้เหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ (Sakanaka และคณะ, 2004) Marianne และคณะ, 2008 รายงานว่าการดัดแปรโอวัลมิวซิน (ovomucin) ซึ่งเป็นโปรตีนในไข่ขาวด้วยเอนไซม์กลุ่ม โปรติเอสสามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดโฟม ส่วน Ma และ Holme, 1982 ได้ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนอัลบูมินที่ถูกดัดแปรโดยใช้วิธีทางเคมี พบว่าสามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดอิมัลชันให้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่กล่าวว่า โปรตีนและเปปไทด์ เช่น โปรตีนเวย์ โปรตีนถั่วเหลือง สามารถใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ (Wu และ Brewer 1994; McCarthy และคณะ, 2001) สารต้านออกซิเดชัน คือ สารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้ ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโบวินซีรัมอัลบูมิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความบริสุทธิ์สูง มีสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี และโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ซึ่งเป็นโปรตีนทางการค้าที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ได้จากการดัดแปรด้วยวิธีทางเอนไซม์และเคมี และศึกษาความ

เป็นไปได้ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของไข่ขาวผงที่ได้จากการดัดแปร โดยการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน

1.2.2 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์

1.2.3 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยกระบวนการทางเคมี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ ความสามารถในการละลาย ค่า surface hydrophobicity ค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟม ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยการวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน และนำไข่ขาวผงมาดัดแปรด้วยเอนไซม์และเคมี พร้อมทั้งศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณสมบัติไข่ขาวผงเพื่อให้เกิดประโยชน์ในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

1.4.2 ทำให้ทราบถึงวิธีที่เหมาะสมในการดัดแปรไข่ขาวผง

1.4.3 เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไข่ขาวผง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไข่ขาว

ไข่ไก่ 1 ฟองมีน้ำหนักประมาณ 50-60 กรัม มีส่วนประกอบสำคัญ คือ เปลือกไข่ ไข่ขาว และไข่แดงในอัตราส่วน 11:62:27

ไข่ขาวมีโปรตีนเป็นสารอาหารหลัก ไข่ขาวแยกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเหลว อีกส่วนข้นติดอยู่กับไข่แดงและมีปริมาณมากกว่าส่วนเหลวประมาณ 4 เท่า ไข่ขาวในไข่ 1 ฟองจะมีน้ำหนักประมาณ 30-35 กรัม ขึ้นอยู่กับขนาดของไข่ ไข่ขาวมีน้ำเป็นส่วนประกอบหลักประมาณ 88 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 9.7-12 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 1 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 0.68 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไขมันในไข่ขาวมีปริมาณน้อยมาก (Watkin, 1995)

2.2 โปรตีนไข่ขาว

ไข่ขาวเป็นระบบโปรตีนที่ประกอบด้วยเส้นใยโอโวมิวซิน อยู่ในสารละลายเอเควียสของโกลบูลาร์โปรตีนหลายชนิด ส่วนประกอบของโปรตีนในชั้นไข่ขาวใสและไข่ขาวข้น ต่างกันเฉพาะที่ปริมาณของโอโวมิวซิน (รัชนี, 2532) ไข่ขาวมีปริมาณโปรตีนอยู่ 9.7-12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนอัลบูมิน หลายชนิดคือ

โอวัลบูมิน (ovalbumin) เป็นโปรตีนหลักชนิดฟอสโฟไกลโคโปรตีน (phophoglycoprotein)ที่มีอยู่มากที่สุดถึง 54 เปอร์เซ็นต์ ของไข่ขาวทั้งหมด โปรตีนโอวัลบูมินจะประกอบด้วย 3 ส่วน (fraction) หลัก คือ A1, A2 และ A3 ในแต่ละส่วนจะมีหมู่ฟอสฟอรัส (phosphorus group) เป็นองค์ประกอบที่แตกต่างกัน A1 มีหมู่ฟอสเฟส 2 หมู่ต่อโมเลกุล A2 มี 1 หมู่ ส่วน A3 ไม่มีเลย อัตราส่วนสัมพัทธ์ขององค์ประกอบของ A1, A2 และ A3 คือประมาณ 85:12:3 โมเลกุลของโอวัลบูมินประกอบด้วยหมู่ซัลไฟดริล 4 หมู่ และหมู่ไดซัลไฟด์ 2หมู่ โอวัลบูมินมีน้ำหนักโมเลกุล 44.5 กิโลดาลตัน ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 3.5 เปอร์เซ็นต์ (Powrie และ Nakai, 1985: Zabik, 1992: Mine, 1995)

คอนอัลบูมิน (conalbumin) หรือ โอโวทรานเฟอริน (ovotranferin) เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) คอนอัลบูมินไม่มีฟอสฟอรัสหรือหมู่ซัลไฟดริลในโมเลกุลแต่มีเฮกโซส (hexose) 0.8เปอร์เซ็นต์ และเฮกโซซามีน (hexosamine) 1.4 เปอร์เซ็นต์ โคนันบูมินมีประมาณ 13 เปอร์เซ็นต์ ของไข่ขาว มีน้ำหนักโมเลกุล 60 ถึง 95 กิโลดาลตัน คอนอัลบูมินสามารถจับกับไอออนของโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (protein-metal complex) ที่เสียสภาพทางธรรมชาติ ได้เมื่อได้ความร้อน

ความดัน และโปรติโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzyme) (Vadehra และ Nath, 1973: Zabik, 1992)

โอโวมิวคอยด์ (ovomucoid) เป็นเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) มีประมาณ 11 เปอร์เซ็นต์ ของไข่ขาว มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ 20-25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบไปด้วย ดี-กาแลกโตส (D-galactose) 1.0-1.5 เปอร์เซ็นต์ ดี-แมนโนส (D-mannose) 4.3-4.7 เปอร์เซ็นต์ 2-อะมิโน-2-ดีออกซิกลูโคส (2-amono-2-deoxyglucose) 12.5-15.4 เปอร์เซ็นต์ กรดไซอาลิก (sialic acid) 0.4-4 เปอร์เซ็นต์ และเฮกโซส 6-9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแต่ละตัวจะติดกับโพลีเปปไทด์โดยทางแอสพาราจินิลเรซิดิล (asparaginyl residye) โพลีเปปไทด์ซึ่งมีพันธะไดซัลไฟด์ 8 พันธะ ประกอบด้วยโซ่โพลิเปปไทด์ที่มีโครงสร้างรูปเฮลิกซ์ (helical structure) 22 เปอร์เซ็นต์ (รัชนี, 2532) โอโวมิวคอยด์เป็นโปรตีนที่ทนความร้อน สามารถเสียสภาพธรรมชาติในสารละลายกรด และมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (Inhibis trypsin) (Stadelman และ Coterril 1973) โอโวมิวคอยด์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 26,100-28,300 ดาลตัน

โอโวมิวซิน (ovomucin) เป็นไกลโคซัลไฟโปรตีน (glycosulphyprotein) ซึ่งทำให้ไข่ขาวมีลักษณะเป็นเจล และมีความหนืด โปรตีนนี้ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในสารละลายเกลือเจือจางที่พีเอช 7 หรือมากกว่า ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตของไกลโคโปรตีนที่ทำให้บริสุทธิแล้วมีปริมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเฮกโซซามีน 10-12 เปอร์เซ็นต์ เฮกซน 15 เปอร์เซ็นต์ และกรดไซอาลิก 2.6-8 เปอร์เซ็นต์ โอโวมิวซินมีประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ของไข่ขาว โอโวมิวซินจะแตกต่างจากโปรตีนอื่นๆ เนื่องจากมีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่มาก และประกอบด้วยซัลเฟตเอสเทอร์ (sulphate esther) และมีกรดอะมิโนซิสทีน (cystine) เป็นจำนวนมาก (Stadelman และ Coterril, 1973) โอโวมิวซินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5.5-8.3 เมกะดาลตัน

ไลโซไซม์ (lysozyme) เป็นเอนไซม์ที่สามารถทำลายผนังเซลล์แบคทีเรีย เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) โครงสร้างเป็นพอลิเปปไทด์สายเดี่ยว (single polypeptide) มีกรดอะมิโน 129 residue ประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ 4 พันธะ แต่ไม่มีหมู่ –SH อิสระบนแต่ละโมเลกุลของโพลีเปปไทด์ ไลโซไซม์มีประมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของไข่ขาว มีน้ำหนักโมเลกุล 14,000-14,600 ดาลตัน ไลโซไซม์จะจับกลุ่มอยู่กับโปรตันโอโวโกลบูลิน (Ovoglobulin) ซึ่งให้ไลโซไซม์เป็นโครงสร้าง G1 (Stadelman และ Coterril, 1973)

โอโวโกลบูลิน (Ovoglobulin) G2 และ G3 มีประมาณ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนไข่ขาว มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000-45,000 ดาลตัน โอโวโกลบูลินมีองค์ประกอบของ เฮกโซส 3.2-3.7 เปอร์เซ็นต์ และ เฮกโซซามีน 2.4-2.5 เปอร์เซ็นต์ (Vadehra และ Nath, 1973)

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบและคุณลักษณะของโปรตีนไข่ขาว

Protein	% of albumen protein	Characteristics
Ovalbumin	54	Phophoglycoprotein
Ovotransferrin (Conalbumin)	12	Binds metallic ions
Ovomucoid	11	Inhibits trypsin
Ovomucin	3.5	glycosulphyprotein, viscous
Lysozyme	3.4	Lyes protein
Globulins	8.0	
Ovoinhibitor	1.5	Inhibits serine proteases
Ovoglycoprotein	1.0	Sialoprotein
Ovoflavoprotein	0.8	Binds riboflavin
Ovomacroglobulin	0.5	Strongly antigenic
Cystatin	0.05	Inhibits thiol proteases
Avidin	0.05	Binds biotin

ที่มา: Li-Chan และคณะ, 1995

2.3 ไข่ขาวผง

การทำไข่ขาวผงนับเป็นการถนอมอาหารวิธีหนึ่งช่วยให้เก็บได้นานไม่ให้บูดหรือเน่าเสียเร็ว สะดวกในการเก็บ พื้นที่เก็บน้อย และสะดวกในการขนส่ง โดยสมบัติเชิงหน้าที่ที่ใช้ของไข่ขาวผงไข่ขางผงใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ขนมหวาน ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อ เต้าหู้และซูริมิ

2.4 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร

2.4.1 การทำให้เกิดเจล

อาหารหลายชนิดมีลักษณะเป็นเจล โปรตีนสามารถทำหน้าที่เช่นนี้ได้อย่างดี อาหารที่เกิดเจลมีอยู่หลายชนิดมาก เช่น เต้าหู้ เต้าฮวย โยเกิร์ต ไส้กรอก ลูกชิ้น หมูยอ ฯลฯ อาหารเหล่านี้มีลักษณะเป็นเจล โครงสร้างจะอุ้มน้ำได้ดี อาหารที่เกิดเจลจากโปรตีนต้องได้รับความร้อนก่อน ความร้อนจะทำให้โมเลกุลเกิดการเปลี่ยนสภาพซึ่งการแปรสภาพของโปรตีนแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน

คือในระยะแรกโมเลกุลโปรตีนยืดตัวออกโดยพันธะที่อยู่ในสภาพธรรมชาติแตกออกบางส่วน ต่อมาโมเลกุลเหล่านั้นจะเข้ามามีพันธะกันโดยจับกันใน 3 ทิศทาง ขั้นแรกจะใช้เวลาเพียงสั้นๆ การใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้โมเลกุลยืดออกได้มาก เมื่ออุณหภูมิลดลงโมเลกุลที่ยืดตัวออกจะจับกันอย่างช้าๆ โดยใช้พันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก หรือพันธะไฮโดรโฟบิก

Yang และ (1995) ได้รายงานว่าการเสียสภาพธรรมชาติของอัลบูมินจะเกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 79-84 องศาเซลเซียส การค่อยๆเพิ่มของอุณหภูมิในช่วงนี้โปรตีนจะเกิดการเชื่อมข้ามกับโมเลกุลของน้ำและเพิ่มพันธะเชื่อมข้ามในโครงสร้างของเจล

สันตกิจ และ อัมพวัน (2549) ได้ศึกษาอิทธิพลของแป้งมันสำปะหลังดัดแปรและไข่ขาวผงต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลาที่ผลิตจากซูริมิปลาตาหวาน พบว่า ผลของไข่ขาวผงในลูกชิ้นปลาสามารถปรับปรุงคุณภาพเจล การเติมไข่ขาวผงที่ระดับสูงขึ้น 0-3 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักซูริมิ มีผลทำให้ค่าความแข็งสูงที่สุดเมื่อใช้ปริมาณไข่ขาวผงร้อยละ 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วมีแนวโน้มลดลง ส่วนค่าความเกาะติดและค่าความยืดหยุ่นมีแนวโน้มสูงขึ้น

2.4.2 การทำให้เกิดโฟม

อาหารหลายชนิดต้องการให้มีลักษณะเนื้อที่ฟูและเบา ทำให้ต้องผสมโฟมลงไปหรือตีให้เกิดฟอง เช่น แองเจลเค้ก สปันจ์ เมอร์แรง ฟัดจ์ ฯลฯ โดยปกติโฟมในอาหารเป็นฟองอากาศที่ถูกหุ้มด้วยของเหลวที่มีสารช่วยเกาะติดละลายอยู่ สารช่วยเกาะติดจะทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวของเหลวให้ต่ำลง โปรตีนหลายชนิดทำหน้าเป็นสารช่วยเกาะติดได้ดีและยืดออกได้มาก เมื่อเกิดการให้อากาศกับสารละลายโปรตีน ทำให้เกิดการดูดซับและกระจายตัวอยู่ระหว่างผิวสัมผัสของขั้นอากาศและน้ำ จากนั้นโปรตีนเกิดการคลายตัวที่ผิวสัมผัส โปรตีนจะหันส่วนที่มีขั้วจับกับน้ำ และส่วนที่ไม่มีขั้วหันเข้าสู่อากาศ เกิดการจับกันเป็นฟิล์มบางห่อหุ้มอากาศไว้

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโฟมของโปรตีน เช่น แหล่งของโปรตีน วิธีการเตรียม องค์ประกอบของโปรตีน การละลาย ความเข้มข้น พีเอช อุณหภูมิ น้ำตาล และไขมันทำให้การศึกษาการเกิดโฟมของโปรตีนมีปัญหามาก (Kinsella, 1976)

การตีโฟมไข่ขาวจะทำได้ช้าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่จะตีโฟมได้ดีขึ้นที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิต่ำโปรตีนละลายน้ำได้น้อยและมีความตึงผิวสูง น้ำตาลทำให้โปรตีนตกตะกอนช้าลง ทำให้เกิดโฟมได้น้อยลง แต่ทำให้โปรตีนกระจายตัวบนผิวอากาศอย่างสม่ำเสมอ โฟมที่ได้จะเนียนและอยู่ตัวดี กรดจะช่วยให้ไข่ขาวเกิดโฟมได้มากขึ้นและโฟมที่อยู่ตัวดีถ้าพีเอชของไข่ประมาณ 6.0 (ณรงค์, 2538)

2.4.3 การทำให้เกิดอิมัลชัน

ผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดที่มีโปรตีนเป็นส่วนผสมและอยู่ในลักษณะอิมัลชัน เช่น มายองเนส ไส้กรอก หมูยอ วิบปิ้งครีม เป็นต้น อาหารเหล่านี้ใช้โปรตีนเป็นอิมัลซิไฟเออร์ การเกิดอิมัลชันเป็นผลมาจากการดูดซับโมเลกุลโปรตีนไว้บนผิวของหยดไขมัน กรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วจะทำให้โปรตีนสามารถเกาะตัวอยู่บนผิวของเม็ดน้ำมันได้ โดยกรดอะมิโนชนิดนี้จะแทรกตัวเข้าไปอยู่บนผิวของเม็ดน้ำมัน และหันส่วนที่มีขั้วออกสัมผัสน้ำ ฉะนั้นโปรตีนที่มีส่วนของกรดอะมิโนไม่มีขั้วสูงจะทำให้หยดน้ำมันดูดซับได้มาก อิมัลชันจึงเกิดได้ดี อย่างไรก็ตามโปรตีนที่จะทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ได้ดีจะต้องละลายได้ดีด้วย

ไข่ขาวมีข้อจำกัดในการใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารบางชนิดเช่น ผลิตภัณฑ์อิมัลชันเหลว คือ ความสามารถในการเกิดเจลเมื่อรับความร้อนแม้ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ดังนั้นในกระบวนการผลิตอิมัลชันเหลว จึงไม่นิยมใช้ไข่ขาวแต่นิยมใช้โปรตีนนมมากกว่า เช่น เคซีน เป็นอิมัลซิไฟเออร์มากกว่า ในขณะที่ผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ต้องการคุณสมบัติการเกิดเจล การเกิดโฟม และการเกิดอิมัลชัน เช่น เค้ก ไอศกรีม สามารถใช้ประโยชน์จากไข่ขาวได้ (ปาริฉัตร, 2545)

2.4.4 สมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน หมายถึง สารประกอบใดๆ เมื่อใช้ในปริมาณเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะมีสมบัติการยับยั้งหรือชะลอการเกิดออกซิเดชัน

ระบบแอนติออกซิแดนท์สามารถแบ่งออกได้เป็น กลุ่มของเอนไซม์ ได้แก่ คาตาเลส (catalase) ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) และ กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เป็นต้น กลุ่มของสารและโปรตีนบางชนิดได้แก่ กลูตาไทโอน (glutathione) ยูเรต (urate) ยูบิควินนอล (ubiquinol) อัลบูมิน (albumen) ทรานเนิร์ริน (tranerrin) เป็นต้น และกลุ่มของสารอาหารบางชนิดได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี และสารแคโรทีนอยด์ เป็นต้น (Niki และคณะ 1995)

มีการศึกษาพบว่าโปรตีนโคนัลบูมิน (Conalbumin) สามารถเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ในเนื้อตูกี้บด (Frening และคณะ, 1980) และการเคลือบอกไก่ด้วยไข่ขาวสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในระหว่างการเก็บได้ (Armitage และคณะ, 2002)

โดยปกติโมเลกุลทั่วไปจะมีอิเล็กตรอนอยู่รอบนอกเป็นจำนวนคู่ ซึ่งทำให้โมเลกุลนั้นๆ คงตัว ในกรณีที่มีการสูญเสียอิเล็กตรอน หรือรับอิเล็กตรอนเพิ่มเข้ามาทำให้อิเล็กตรอนเป็นจำนวนคี่ โมเลกุลเหล่านี้จะไม่คงตัว มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ และอยู่ได้อย่างอิสระ จึงเรียกว่า อนุมูลอิสระ (free radical) อนุมูลเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ได้หลายรูปแบบอย่าง เช่น อนุมูลอิสระ 2 ตัวพบกัน จะรวมอิเล็กตรอนเดี่ยวของแต่ละอนุมูลเข้าด้วยกันทำให้

เป็นโมเลกุลที่คงตัวได้ ในขณะเดียวกันอนุมูลอิสระอาจทำปฏิกิริยากับอนุมูลหรือโมเลกุลที่คงตัวได้หลากหลายแบบ เช่น ส่งอิเล็กตรอนเดี่ยวให้ หรือรับอิเล็กตรอนเพิ่มเข้ามาหรือรวมตัวกัน ซึ่งไม่ว่าจะเป็นแบบใดก็ตาม ผลที่ได้รับก็คือ อนุมูลที่คงตัวเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาดังกล่าวนี้จะเกิดต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ส่วนมากแล้วจะพบอนุมูลออกซิเจนอิสระเป็นส่วนใหญ่ ตัวอย่างของอนุมูลออกซิเจนได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion, $^{\cdot}O_2^-$), อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $^{\cdot}OH$), อนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical, $ROO^{\cdot}$) มีออกซิเจนบางตัวที่มีความไวต่อปฏิกิริยาสูง และก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาลูกโซ่ในร่างกายได้ ตัวอย่างของโมเลกุลเหล่านี้คือ โมเลกุลของออกซิเจนพลังงานสูง (singlet oxygen, $^1O_2$) และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) (เอมอร, 2538) นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของสารที่เรียกว่า อนุพันธ์ของไนโตรเนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive nitrogen species, RNS) ที่สำคัญ ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, $NO^{\cdot}$) และเปอร์ออกซีไนไตร (peroxinite, $ONOO^{\cdot}$) (วัลยาและพัชรี, 2542)

2.4.5 Surface hydrophobicity

ในโมเลกุลของโปรตีนทั่วไปจะมีส่วนของไฮโดรโฟบิค (hydrophobic) อยู่ภายใน เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสภาพแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อโปรตีน จะทำให้โครงสร้างเกิดการคลายตัว ส่วนของไฮโดรโฟบิค จะถูกปล่อยออกมา เป็นผลให้ค่า surface hydrophobicity เพิ่มมากขึ้น การเพิ่มขึ้นของส่วนไฮโดรโฟบิค จะช่วยให้การจับกับน้ำมันเพิ่มขึ้น ซึ่งค่า surface hydrophobic ของสายเปปไทด์ที่ผ่านการย่อยสลายมีความสำคัญต่อการเพิ่มสมบัติที่ผิวหน้าของโปรตีนและยังส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ประการอื่นด้วย

การวิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปจะใช้วิธี probe spectrofluorometry นิยมทำการวิเคราะห์โดยใช้ anionic prob ของ aromatic sulfonic acid เช่น amphiphilic 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate (ANS) หรือใช้ dimeric form bis-ANS นอกจากนี้มีการใช้สารกลุ่มอื่น ได้แก่ *cis*-parinaric acid (CPA) และ *trans*-parinaric acid ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างโปรตีนและเนื้อเยื่อ ข้อจำกัดในการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้คือระดับความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิหรือการเติมสารที่ทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติไป การวิเคราะห์โดยใช้ ANS ช่วงความเป็นกรดด่างที่ไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์คือ pH 2-8 ส่วนการใช้ CPA ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจะต้องมีระดับความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 5 ซึ่งเป็นข้อจำกัดของตัวอย่างที่ไม่สามารถละลายได้ที่ระดับความเป็นกรดด่างต่ำกว่าพีเอช 5 (Nakai และ Modler, 1996)

2.5 การปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

โปรตีนมีความสามารถในการละลายที่พีเอชเป็นกลางได้น้อย จึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุงคุณสมบัติของโปรตีน ซึ่งทำได้หลายวิธี ได้แก่

2.5.1 การดัดแปรโปรตีนด้วยเอนไซม์ (Enzymatic modification)

ในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้เอนไซม์ในการดัดแปรโปรตีนมากกว่าการใช้สารเคมี เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดจะให้ผลในการย่อยสลายที่แตกต่างกันและมีความจำเพาะต่อสับเสรตสูง สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรง และไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการ เอนไซม์ที่ใช้ในการดัดแปรสภาพโปรตีนมีหลายประเภท ขึ้นกับการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด โดยส่วนใหญ่นิยมใช้เอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีน ส่วนเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น ทรานซ์กลูตามีเนส (transglutaminase) โปรตีนไคเนส (protein kinase) และเปปติโดกลูตามิเนส(peptido-glutaminase) ได้มีการนำมาใช้ แต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร (ปราณี, 2547)

2.5.1.1 การดัดแปรโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์นกลุ่มนี้มีสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในโปรตีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง โมเลกุลที่ผ่านการย่อยสลายจะมีขนาดและน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน ขึ้นกับระดับการย่อย ความจำเพาะของเอนไซม์และสภาวะอุณหภูมิ เวลาที่เหมาะสมในการเข้าทำปฏิกิริยา

เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนแบ่งออกได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ

1) Exopeptidase เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายโปรตีน

2) Enopeptidase เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระแบบสุ่ม (random) ภายในสายโปรตีน ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่

ทริปซิน (tripsin) เป็นเอนไซม์โปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของ L-amino acid โดยเร่งปฏิกิริยาการตัดพันธะระหว่างคาร์บอนกับอะตอมของสารอื่น โดยจะย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน อาร์จินีน หรือไลซีนเกาะอยู่ จากการศึกษางานวิจัยของ Chan และ Ma (1999) พบว่าเมื่อทำการย่อยสลายโปรตีนโอคาราด้วยเอนไซม์ทริปซินจะทำให้โปรตีนมีขนาดเล็กลงและมีประจุเพิ่มมากขึ้น ทำให้สามารละลายน้ำและดูดซับน้ำได้ดี ช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการเกิดฟองและอิมัลชันได้ดี

เปปซิน (pepsin) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดโปรติเอส มีช่วงพีเอชของการทำปฏิกิริยาย่อยสลายที่เหมาะสมระหว่างพีเอช 8-4 มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโน เช่น ฟีนิลอาร์ลานีน ไทโรซีน และทริปโตรแฟน เอนไซม์เปปซินเหมาะในการนำมาย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลืองเพื่อผลิตเป็น

สารให้โฟมเนื่องจากลักษณะโครงสร้างของโปรตีนถั่วเหลืองจับตัวกันแน่น มีขนาดใหญ่ทำให้เกิดโฟมได้ต่ำ (ปราณี, 2547)

Hattori และคณะ (1998) ศึกษาสมบัติการต้านออกซิชันของอีลาสตินเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยอีลาสตินด้วยเอนไซม์เปปซินและกรดไฮโดรคลอริก (HCl) พบว่า อีลาสตินที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินและกรด HCl มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีกว่าตัวควบคุม และเมื่อใส่กรดซิตริก ในปริมาณ 0.02 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับอีลาสติกที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์และกรด จะทำให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อนำอีลาสตินที่ผ่านการย่อยด้วยกรด HCl มาทำการศึกษาต่อ พบว่าเปปไทด์ของอีลาสตินที่มีขนาด 1000 ดาลตัน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดีกว่า α - tocopherol

ปาริฉัตร และ ปราณี (2541) ทำการย่อยสลายโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเพื่อผลิตเป็นสารให้เกิดโฟมสำหรับทดลองกับผลิตภัณฑ์เมอแรงส์ พบว่าการใช้เอนไซม์เปปซินที่พีเอช 2 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ระดับการย่อยสลาย 4.5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่ากำลังการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมเพิ่มขึ้น

ปาเปน (papan) เป็นเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากมะละกอ มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายสับเสรตที่มี L-arginine, L-lysinen และ L-citrulline

โบมิเลน (bromilain) เป็นเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากสับปะรด ลักษณะการทำงานมีความจำเพาะต่อสับสเตรตคล้ายคลึงกับปาเปน

Grunden และคณะ (1974) ได้ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนอัลบูมิน (albumen) จากไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยโปรติโอไลติกเอนไซม์ (papian, ficin, protease, bromilin, และ trypsin) เป็นเวลา 18 ชั่วโมงที่ 34 องศาเซลเซียส พบว่า อัลบูมินที่ถูกดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนจะทำให้ปริมาตรของเค้กเพิ่มขึ้น 3.9 เปอร์เซ็นต์ โดยทั่วไปอัลบูมินที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์จะทำให้ปริมาตรของเค้กเพิ่มขึ้น 6-16 เปอร์เซ็นต์ แต่ความคงทน (stability) ของฟองจะน้อยกว่าโปรตีนที่ไม่ผ่านการย่อย

Lee และคณะ Chen (2001) ได้ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผง ในเค้ก พบว่า ไข่ขาวที่ดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน จะมีความสามารถในการเกิดโฟมได้สูง ทำให้ปริมาตรของเค้กเพิ่มขึ้นมากกว่าเค้กที่ใช้ไข่ขาวที่ไม่มีการใช้เอนไซม์ในการดัดแปร แต่ถึงอย่างไรการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนนี้จะทำให้ความแข็งแรงของเจลลดลง

Scilingo และคณะ (2002) ศึกษาสมบัติของโปรตีนสกัดจาก Amaranth ที่ทำการดัดแปรโดยใช้เอนไซม์คูเบอร์บิตาและปาเปน พบว่า โปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนและยับยั้งโดยการแช่แข็ง ให้ค่าการละลายเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกับการย่อยด้วยเอนไซม์คูเบอร์บิตา ส่วนโปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนและทำการยับยั้งปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนจะให้การ

ละลายสูงกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์คูเบอร์บิตา การเลือกใช้เอนไซม์ปาเปนปรับปรุงคุณสมบัติของโปรตีนจาก Amaranth จึงเหมาะกับใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องมีการให้ความร้อนเพื่อยังคงค่าการละลายที่ดีอยู่

พรชนัน (2548) ศึกษาการดัดแปรโปรตีนโอคาราที่ถูกดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าโปรตีนโอคารามีความสามารถในการละลายดีขึ้น ค่า surface hydrophobicity ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงขึ้น

อัลคาเลส (alcalase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มอัลคาเลสโปรติเอส ผลิตจาก *Baccillus lichenifomis* มีช่วงพีเอชของการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมระหว่างพีเอช 7-11 บริเวณเร่งของเอนไซม์ประกอบด้วยกรดอะมิโนเซรีน ฮิสติดีน และแอสปสร์เตท เอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อสับเสตรทค่อนข้างกว้าง แต่นิยมบริเวณหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนไม่มีขั้วเป็นหลัก (Adler-Nissen, 1986)

Park และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากไข่แดงที่ไม่มีเลซิตินโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการดัดแปร พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีขนาด 5 กิโลดาลตัน มีความสามารถในการยับยั้งออโตออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกได้มากกว่า α - tocopherol และผู้วิจัยยังสามารถระบุสายเปปไทด์ 2 สายที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในโปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีขนาด 5 กิโลดาลตัน โดยใช้ HPLC สายที่ 1 คือ Lue-Met-Ser-Tyr-Met-Trp-Ser-Thr-Ser-Met สายที่ 2 คือ Lue-Glu-Lue-His-Lys-Leu-Arg-Ser-Ser-His-Trp-Phe-Ser-Arg-Arg โดยพบว่าเปปไทด์สายที่ 2 มีประสิทธิภาพในในการต้านออกซิเดชันในวิธีไทโอบาบิทูริค (TBA) มากกว่า α - tocopherol ถึง 61เปอร์เซ็นต์

Whish และคณะ (2003) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสและทรานกลูตามิเนส สามารถปรับปรุงสมบัติการละลายของโปรตีนได้ โดยการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองด้วยอัลคาเลสที่ระดับการย่อย 2 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนที่ได้มีค่าการละลายเพิ่มขึ้นในช่วงพีเอช 3.0-5.0 ส่วนพีเอช 6.0-8.0 ค่าการละลายต่ำลง ส่วนการดัดแปรโปรตีนโดยอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างเอนไซม์อัลคาเลส และทรานซ์กลูตามิเนส จะช่วยให้ค่าการละลายในช่วงพีเอช 2.0-5.0 เพิ่มขึ้น

พรชนัน (2548) ศึกษาการดัดแปรโปรตีนโอคาราที่ถูกดัดแปรด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า โปรตีนโอคารามีความสามารถในการละลายดีขึ้น แต่ไม่ส่งผลในการเปลี่ยนแปลงค่า Surface hydrophobicity ความสามารถในการเกิดฟองสูงขึ้น ส่วนความคงตัวของฟองและความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลง

Zhu และคณะ (2006) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากจมูกข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากจมูกข้าวสาลีที่มีขนาดโมเลกุลต่ำกว่า 1500 ดาลตัน มีความสามรถในการยับยั้งปฏิกิริยาออโต

ออกซิเดชัน ของไขมันได้ดีใกล้เคียงกับ α- tocopheral และที่ 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากจมูกข้าวสาลีจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเท่ากับ BHT (butylated hydroxytolurne)

นิวเทรส (neutrase) เป็นนิวทรัลโปรติเอสที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* ทำการย่อยสลายโปรตีนจากพืชและสัตว์ให้เป็นสายเปปไทด์สั้นๆหรือกรดอะมิโน นิวเทรสเป็นเอนไซม์โปรติเอสที่มีไอออนของโลหะร่วมในปฏิกิริยา อยู่ในลักษณะของโคแฟกเตอร์ มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาในช่วงพีเอช 5.5-7.5 และอุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส เอนไซม์นิวเทรสสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติในการอุ้มน้ำและความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนที่ผลิตจากปลาแซลมอนให้สูงขึ้นได้ (Sathivel และ Bechtel, 2004)

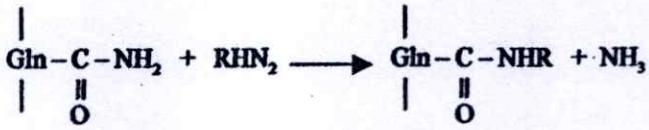
Sakanaka และคณะ (2004) ได้ทำการย่อยโปรตีนไข่แดงด้วยเอนไซม์โปรติเอสไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยโปรตีนไข่แดงที่มีขนาดโมเลกุลต่ำกว่า 1000 ดาลตัน และได้นำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากไข่แดงไปทดสอบหาสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก และพบว่าที่ 0.025 เปอร์เซ็น ของโปรตีนไฮโดรไลเซตมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกได้ดีกว่าตัวควบคุม ต่อมาผู้วิจัยได้นำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากไข่แดงเป็นส่วนผสมในคุกกี้เปรียบเทียบกับโปรตีนไข่แดงและกรดอะมิโนผสม เพื่อหาค่าเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในคุกกี้ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน พบว่าคุกกี้ที่ผสมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากไข่แดงมีค่าเปอร์ออกไซด์ ต่ำกว่าคุกกี้ที่ผสมด้วยโปรตีนไข่แดงและกรดอะมิโนผสม

2.5.1.2 การดัดแปรโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์ทรานซ์กลูตามิเนส

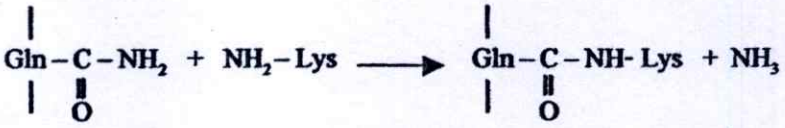
ทรานซ์กลูตามิเนส (transglutaminase, TGase) **มีสมบัติในการเชื่อมพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีน** ในสภาวะที่มีหมู่เอมีน TGase จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ตำแหน่งเอมีนของสายโพลิเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของหมู่เอซิลจาก γ-caboxyamide ของกลูตามีนในโปรตีนกับหมู่เอมีน (RNH_2) เกิดเป็นโปรตีนรูปใหม่ซึ่งมีสายยาวขึ้น แสดงดังภาพที่ 2.1 ในสภาวะที่ไม่มีหมู่เอมีน จะเกิดปฏิกิริยาแยกหมู่เอมีน (deamidation) โดยเกิดการไฮโดรไลซิสของหมู่แกมมาคาร์บอกซิล (γ-caboxyamide group) ของกลูตามีนซึ่งมี TGase เป็นตัวเร่งหมู่แอมโมเนียหลุดออกมาได้เป็นกรดกลูตามิก ส่วนกรณีที่ปฏิกิริยามีหมู่เอมีนเป็น NH_2-Lys (อนุมูลอิสระของไลซีน) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะได้โปรตีนสายยาวเชื่อมระหว่างกลูตามีนและไลซีน เรียกว่าปฏิกิริยาเชื่อมข้าม (crosslinking) ทำให้ได้โปรตีนสายใหม่ที่มีสมบัติบางอย่างเปลี่ยนแปลงไป เช่น โปรตีนที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำดีขึ้น ยืดหยุ่นมากขึ้น ทนต่อการตกตะกอนด้วยความร้อน (ปราณี, 2547) ลักษณะดังกล่าวส่งผลที่ดีต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยได้มีการทดลองนำโปรตีนจากนมและถั่วเหลืองที่ผ่านการดัดแปรโดยใช้ TGase มาเป็นส่วนผสมในการผลิตไส้

กรอกจากเนื้อไก่เพื่อลดการใช้ฟอสเฟต พบว่าโปรตีนที่ผ่านปฏิกิริยาเชื่อมข้าม ทนความร้อนได้ดี เพิ่มความเสถียรของโฟม ซึ่งส่งผลต่อการเกิดเจลที่เข็งแรง และมีสมบัติการเกิดอิมัลชันที่ดีสามารถนำไปใช้เป็นส่วยผสมเพื่อเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกได้ (Muguruma และคณะ, 2002)

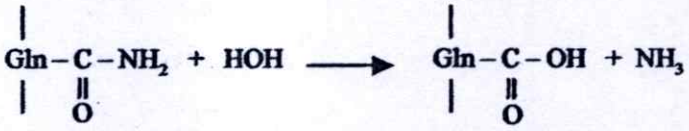
1) Acyl-transfer reaction



2) Crosslinking reaction



3) Demidation



ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาทรานซ์กลูตามิเนส (1) ปฏิกิริยาย้ายหมู่เอซิล (2) ปฏิกิริยาเชื่อมขวาง (3) ปฏิกิริยาแยกหมู่เอมีน

ที่มา: Motoki and Seguro (1998)

2.5.1.3 การดัดแปรโปรตีนโดยใช้เอนไซม์เปปทิโดกลูตามิเนส

เปปทิโดกลูตามิเนส (Peptidoglutaminase, Pgase) เร่งปฏิกิริยาในการย่อยสลายกลูตามีนออกจากสายโพลิเปปไทด์ที่ตำแหน่งเอมีน การทำงานของเอนไซม์สามารถย่อยได้ตั้งแต่โปรตีนที่มีโมเลกุลขนากใหญ่ เช่น โปรตีนไข่ขาว จนถึงโมเลกุลขนาดเล็กของโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการ deamidation แล้ว ในการทำปฏิกิริยาควรใช้เอนไซม์โปรติเอสย่อยโปรตีนในระดับหนึ่งก่อนที่จะมีการใช้ Pgase จะช่วยในการย่อยสลายกลูตามีนได้มากขึ้น (Hudson, 1992)

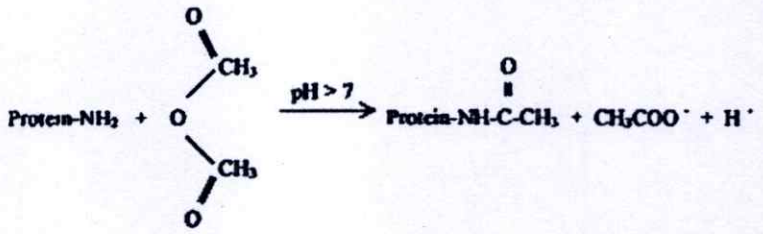
2.5.2 การดัดแปรโปรตีนโดยไม่ใช้เอนไซม์ (Non-enzymatic modification)

2.5.2.1 การดัดแปรด้วยวิธีทางเคมี

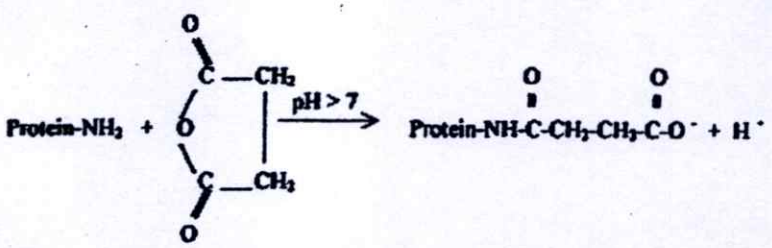
การดัดแปรด้วยวิธีทางเคมีสามารถทำได้อย่างรวดเร็วแต่ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบางอย่างค่อนข้างรุนแรง ซึ่งอาจมีผลต่อคุณภาพของโปรตีนและคุณค่าสารอาหารบางอย่างได้ การดัดแปรโปรตีนด้วยวิธีทางเคมีสามารถทำได้หลายวิธีอย่างเช่น

เอซิลเลชัน (acylation) เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารประกอบแอซิดแอนไฮไดร์ (acid anhydride) เข้าแทนที่หมู่ ε- อะมิโนที่มีประจุบวกของไลซีนด้วยกลุ่มที่มีประจุเป็นกลางของอะซิทิล (acetyl) เรียกว่ากระบวนการอะซิทิลเลชัน (acetylation) หรือการใช้สารประกอบซัคซินิคแอนไฮไดรด์ (succinic anhydride) เข้าแทนที่หมู่ ε- อะมิโนที่มีประจุบวกของไลซีนด้วยกลุ่มที่มีประจุลบของซัคซินิล (succinyl) เรียกว่ากระบวนการซัคซินิลเลชัน (succinylation) ซึ่งส่งผลให้โปรตีนมีประจุลบมากขึ้น เกิดแรงผลักระหว่างหมู่คาร์บอคซิลในโมเลกุลของโปรตีน มีผลให้การเกาะตัวกันของโปรตีนลดน้อยลง การละลายจึงเพิ่มมากขึ้น (Damodaran, 1996)

1) Acylation with acetic acid



2) Succinylation with succinic acid



ภาพที่ 2.2 ปฏิกิริยาระหว่าง กรดอะซิติกแอนไฮไดรด์ และซัคซินิคแอนไฮไดรด์กับหมู่ ε - อะมิโนของไลซีน

ที่มา: El-Adawy (2000)

Ma และ Holme (1982) ได้ทำการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนอัลบูมินที่ถูกดัดแปรโดยใช้ซัคซินิคแอนไฮไดรด์ (succinic anhydride) และ 1-ethyl-3(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide พบว่าสารเคมีทั้งสองเป็นสาเหตุให้เกิดการย้ายประจุ มีเกิดการตรึงผิวหน้าของโปรตีนเพิ่มขึ้นโดยวิธีซัคซินิลเลชัน การซัคซินิลเลชันจะปรับปรุงคุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน แต่ทำให้การเกิดโฟมลดน้อยลง

Gruener และ Lawhon (1997) ศึกษากระบวนการซัคซินิลเลชันและอะซิทิลเลชันโปรตีน conola พบว่าการเพิ่มระดับของซัคซินิลเลชัน มีผลต่อการสลายตัวของโครงสร้างโปรตีนโดยที่ระดับ 62 เปอร์เซ็นต์ซัคซินิลเลชัน จะเกิดการย่อยสลายของ 12S globulin อย่างสมบูรณ์เป็นเหตุให้จุดไอโซอิเลคตริคลดลง และเมื่อเพิ่มระดับการซัคซินิลเลชัน มีผลทำให้ค่า aromatic hydrophobicity ลดลงจาก 97.5 เหลือเพียง 58.1 เปอร์เซ็นต์

El- Adawy (2000) ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเขียว (Mung bean protein) ที่ผ่านกระบวนการซัคซินิลเลชันและอะซิทิลเลชัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารแตกต่างกัน พบว่าโปรตีนที่ผ่านกระบวนการซัคซินิลเลชัน มีความสามารถในการละลายน้ำและละลายในเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์ เพิ่มขึ้น ส่วนกระบวนการอะซิทิลเลชัน ช่วยปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำแต่ละลายใน ได้ลดลง ส่วนความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันมีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของอะซิติกแอนไฮไดรด์ และซัคซินิกแอนไฮไดรด์ ที่สัดส่วน 1 กรัมสารต่อกรัมโปรตีน จะให้ค่าการเกิดฟองเพิ่มขึ้น

ฟอสโฟลิเลชัน (phosphorylation) เกิดจากการที่สารฟอสฟอรัสออกซีคลอไรด์ (phosphorus oxychloride; $POCl_3$) เข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของเซอรีนและทรีโอนีน หรือหมู่ ε- อะมิโนของไลซีน ทำให้โปรตีนมีประจุเพิ่มขึ้น มีผลต่อการปรับปรุงสมบัติด้านการละลาย การเกิดฟองและการเกิดอิมัลชันของโปรตีน ซึ่งในการศึกษาในงานวิจัยของ Matheis (1991) ใช้ $POCl_3$ ในการดัดแปรสมบัติของยีสต์โปรตีน

$$\text{Protein} - OH + POCl_3 \longrightarrow \text{protein} - O - PO_3^{-2} + 3HCl$$

$$\text{Protein} - NH_2 + POCl_3 \longrightarrow \text{protein} - NH_2 - PO_3^{-2} + 3HCl$$

ภาพที่ 2.3 ปฏิกิริยาระหว่างสารฟอสฟอรัสออกซีคลอไรด์กับหมู่ไฮดรอกซิลของเซอรีนและทรีโอนีน

ที่มา: Matheis (1991)

พบว่า การดัดแปรจะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการละลายของโปรตีน แต่สมบัติในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันมีค่าสูงขึ้น นอกจากนี้การเกิดฟอสโฟริเลชัน ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนสูงๆจะส่งผลให้เกิดกระบวนการโพลิเมอไรเซชัน ทำให้โปรตีนมีความเป็นประจุเพิ่มขึ้น (Damodaran, 1996)

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ไข่ขาวผง จากบริษัท ผลิตผลอุตสาหกรรมการเกษตรกรุงเทพ จำกัด(มหาชน)

3.1.2 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด จากบริษัท ABBRA จำกัด

3.1.3 โบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin, BSA) จากบริษัท MERCK จำกัด

3.1.4 เอนไซม์ปาเปน (EC 3.4.22.2) (3.0 units/mg solid) จากบริษัท SIGMA-ALDRICH จำกัด

3.1.5 Succinic anhydride จากบริษัท SIGMA-ALDRICH Inc. จำกัด

3.1.6 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

- Acrylamide ($CH_2CHCONH_2$)
- Ammonium Persulfate ($(NH_4)_2S_2O_8$)
- 8-anilino-1-naphthalene sulfonic acid (ANS)
- Ascorbic acid
- 2,2 – Azino – bis (3 – ethylbenzoline – 6- sulfonic) (ABTS)
- Bromophenol Blue ($C_{19}H_{10}Br_4O_5S$)
- Coomassie Brilliant Blue
- Copper (II) Sulfate ($CuSO_4.5H_2O$)
- Disodium Hydrogen Phosphate (Na_2HPO_4)
- Ethyl alcohol (CH_3CH_2OH)
- Glycerol ($C_3H_8O_3$)
- Glycine ($C_2H_5NO_2$)
- Hydrochoric acid
- 2 -Mercaptoethanol (2ME)
- Methanol (CH_3OH)
- N,N - Metheylene - bis (arylamide) ($C_7H_{10}N_2O_2$)
- N,N,N,N – Tetramethyl etheylenediamine (TEMED) ($C_6H_{16}N_2$)
- Potassium Sulfate (K_2SO_4)
- Sodium Chloride (NaCl)
- Sodium Dihydrogen Phosphate ($NaH_2PO_4.H_2O$)

95054

- Sodium Dodesyl Sulfate (SDS)
- Trichloroacetic acid (TCA)

3.2 อุปกรณ์ในการดัดแปรโปรตีน

- Multistirrer
- Water Bath
- ถุง Dialysis
- เครื่องชั่งละเอียด
- เครื่องแก้ว

3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.3.1 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีน

- Centrifuge — Centrifon T-42 Konton Instruments
- Spectrophotometer — Spectro 22, LaboMed, Inc., USA
- Quartz cuvetter
- Magnetic stirrer
- เครื่องชั่งละเอียด
- เครื่องแก้ว

3.3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน

- Ultrasonic — Sinic Vibar Cell VC 750, Sonic&Materials
- Spectrophotometer — Spectro 22, LaboMed, Inc., USA
- Quartz cuvetter
- เครื่องแก้ว

3.3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม

- Homogenizer — Ultra-Turrax, Jank&Kunkel, IKA Work
- Homogenizer prob — S25N 10 G IKA-Dispersing Tool
- เครื่องชั่งละเอียด
- เครื่องแก้ว

3.3.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ค่า Surface hydrophobicity

- Centrifuge — Centrifon T-42 Konton Instruments
- Spectrophotometer — Spectro 22, LaboMed, Inc., USA

- Rectanguartz cell
- Vortex mixer VM – 300 Gemmy industrial Corp.
- Magnetic stirrer
- เครื่องแก้ว

3.3.5 อุปกรณ์ในการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE

- Elctrophoresis set Amersham pharmacia biotech, Sweden
- Micrppipette P1000 pipetman Gilson Medical Electronic
- เครื่องชั่งละเอียด
- เครื่องแก้ว

3.3.6 อุปกรณ์ในการทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชัน

- Spectrophotometer Spectro 22, LaboMed, Inc., USA
- Quartz cuvetter
- เครื่องชั่งละเอียด
- เครื่องแก้ว

3.4 สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน

3.5.1.1 การทดสอบความสามารถในการละลาย

ทดสอบความสามารถในการละลายตามวิธีของ Voutsinas และคณะ (1983) โดยเตรียมตัวอย่างไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัดและ โบวินซีรัมอัลบูมิน ความเข้มข้น 0.1เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใน สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 7.4 คนให้เข้ากัน 5 นาที หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 20,000 รอบต่อนาที แล้วเก็บส่วนใสนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

3.5.1.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชัน

ทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชันตามวิธีของ Hill (1996) โดยเตรียมตัวอย่างไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรั่มอัลบูมิน ความเข้มข้น 0.5%เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อ

ปริมาตร) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ 100 มิลลิลิตร พีเอช 7.4 ปิเปตสารละลายโปรตีน 2.8 มิลลิลิตร ผสมน้ำมันถั่วเหลือง 1.2 มิลลิลิตร นำไป Ultrasonic 2 นาที แล้วเก็บตัวอย่างอิมัลชันที่ก้นหลอดทันที 1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วย 0.1เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ของ SDS สัดส่วน 1:100 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวเคลื่อน 500 นาโนเมตร

3.5.1.3 การทดสอบความสามารถในการเกิดโฟม

การทดสอบความสามารถในการเกิดโฟมตามวิธีของ Phillip (1987) โดยเตรียมตัวอย่างไข่ขาวผง,โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรั่มอัลบูมิน 1เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 7.4 นำสารละลายโปรตีน 30 มิลลิลิตร ใส่หลอด centrifuge polycarbonate แล้วนำไป Homogenaize ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที จากนั้นวัดความสูงของโฟมโปรตีน (เซนติเมตร) ที่เกิดขึ้นจากการตีโฟม และบันทึกความสูงของโฟมเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 และ 30 นาที นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ความคงตัวของโฟม

3.5.1.4 การทดสอบค่า Surface hydrophobicity

ทดสอบค่า Surface hydrophobicity ตามวิธีของ Voutsinas และคณะ (1983) โดยเตรียมตัวอย่างไข่ขาวผง,โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรั่มอัลบูมิน ความเข้มข้น 0.1เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 9 คนให้เข้ากัน 5 นาที หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 20,000 รอบต่อนาที 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้โปรตีนละลายอย่างสมบูรณ์ เจือจางโปรตีนให้มีช่วงความเข้มข้น 0.001-0.05 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำโปรตีนในแต่ละช่วงความเข้มข้นมา 6 มิลลิลิตร ผสมกับ 30 ไมโครลิตร ANS วัดค่า Fluorescence intensity ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร (excitation) และ 420 นาโนเมตร (emission)

ค่า Surface hydrophobicity หาได้จากค่าความชันของกราฟระหว่างค่า Fluorescence intensity กับความเข้มข้นของโปรตีน ความชันของกราฟที่สูงแสดงว่าโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทำให้ส่วนไฮโดรโฟบิคที่อยู่ภายในโมเลกุลออกมาพื้นผิวมากขึ้น

3.5.1.5 การทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชัน

1) ทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ตามวิธีของ Yu (2004) โดยนำสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เติมแมงกานีสไดออกไซด์มากเกินพอ ผสมสารละลายโปรตีน 3 มิลลิลิตร กับการละลาย ABTS 300 ไมโครลิตร จับเวลา 6 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

% oxidation = [ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง/ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม] x 100

% inhibition = [1-(ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง/ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม)] x 100

2) ทดสอบความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ตามวิธีของ Yen และ Lee (1996) โดยเตรียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ ใน

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 7.4 แล้วผสมกับตัวอย่าง 4 มิลลิลิตร เขย่า 10 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร

Antioxidant activity

$$= \frac{\text{(ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 96 ชม./ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 0 ชม.)}}{\text{(ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ 96 ชม./ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ 0 ชม.)}}$$

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan, New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.5.2 การดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน

การย่อยไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน ตามวิธีของ Scilingo และคณะ (2002) โดยละลายตัวอย่างในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 8.5 จากนั้นเติมเอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้น 0.25 กรัมเอนไซม์ต่อไข่ขาวผง 100 กรัม กวนผสมที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 5 15 30 45 60 นาที เมื่อครบเวลานำไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง 5 นาที เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จากนั้นตกตะกอนโปรตีนที่พีเอช 4.5 แยกส่วนของเหลวด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำตะกอนที่ได้ไปทำให้เป็นกลางโดยปรับพีเอช เป็น 7.0 แล้วนำไปทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freez dry) จากนั้นนำไข่ขาวผงที่ผ่านการการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมาหาองค์ประกอบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE โดยวิธีของ Laemmli (1970) ตรวจวัดระดับการย่อยสลายโปรตีน (degree of hydrolysis) ตามวิธีของ Kim และ Rhee (1989)

นำไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยที่เวลาต่างๆ ไปทดสอบความสามารถในการละลาย การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม ค่า Surface hydrophobicity และสมบัติต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 3.5.1.1 ถึง 3.5.1.5 ตามลำดับ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.5.3 การดัดแปรไข่ขาวผงโดยวิธีการซัคซินิลเลชัน

ทำการดัดแปรไข่ขาวผงด้วยกรดซัคซินิคแอนไฮไดรด์ ตามวิธีของ El-Adawy (2000) โดยเติมกรดซัคซินิคแอนไฮไดรด์ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ลงในสารละลาย กวนผสมให้เข้ากันปรับพีเอชของสารละลายเป็น 8.0 และควบคุมให้คงที่ตลอดการทำปฏิกิริยา วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาต่างกัน 6 ระดับคือ 0 5 15 30 45 60 นาที และนำมาผ่านกระบวนการไดอะไลซีส (dialysis) ด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตกตะกอนโปรตีนที่

พีเอช 4.5 แยกส่วนของเหลวด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำตะกอนที่ได้ไปทำให้เป็นกลางโดยปรับพีเอช เป็น 7.0 แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freez dry) จากนั้นนำไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดซัคซินิคแอนไฮไดร์ มาหาองค์ประกอบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE โดยวิธีของ Laemmli (1970)

นำไข่ขาวผงที่ผ่านการซัคซินิลเลชันที่เวลาต่างๆ ไปทดสอบความสามารถในการละลาย การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม ค่า Surface hydrophobicity และสมบัติต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 3.5.1.1 ถึง 3.5.1.5 ตามลำดับ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน

4.1.1 ความสามารถในการละลาย

จากการทดสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA) พบว่า ความสามารถในการละลายของโปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$) โดยที่โบวินซีรัมอัลบูมินมีความสามารถในการละลายมากที่สุด รองลงมาคือไข่ขาวผง และโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุด แสดงดังตารางที่ 4.1 อาจเนื่องมาจาก BSA นั้นมีความบริสุทธิ์สูงและมีขนาดเล็ก มีมวลโมเลกุลน้อยกว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและไข่ขาวผง ส่วนไข่ขาวผงถึงแม้จะมีปริมาณของโปรตีนค่อนข้างสูงคือประมาณ 80-90เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ยังมีองค์ประกอบอื่นๆเช่น เถ้าหรือคาร์โบไฮเดรตอีกประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สามารถละลายได้น้อยกว่า ส่วนถั่วเหลืองสกัดมีความสามารถในการละลายน้อยกว่าโปรตีนชนิดอื่นที่ศึกษา อาจเนื่องมาจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าไข่ขาว โดยขนาดใหญ่สุดของโปรตีนถั่วเหลืองมีขนาดมากกว่า 400 kDa และโปรตีนถั่วเหลืองมีการขดตัวกันแน่น (Bacon และคณะ, 1990) จึงทำให้โปรตีนถั่วเหลืองมีความสามารถในการละลายน้อยกว่าไข่ขาวผง

ตารางที่ 4.1 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรัมอัลบูม

Sample	Solubility (%)
ไข่ขาวผง	69.85 ± 0.9^{b}
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	30.93 ± 0.6^{a}
โบวินซีรัมอัลบูมิน	98.03 ± 0.7^{c}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.2 ค่า surface hydrophobicity

จากการทดสอบค่า surface hydrophobicity ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัดและ BSA แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่า ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$) โดยที่โบวินซีรัมอัลบูมินมีค่า surface

hydrophobicity มากที่สุด รองลงมาคือโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและไข่ขาวผง โดยโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีค่า surface hydrophobicity ไม่แตกต่างกัน เนื่องจาก BSA นั้นมีความสามารถในการละลายสูง โมเลกุลของโปรตีนสามารถคลายตัวออกมาได้ง่าย จึงเผยหมู่ของไฮโดรโฟบิคภายในโมเลกุลของโปรตีนออกที่ผิวได้มาก เมื่อไปทดสอบค่า surface hydrophobicity จึงมีค่าสูง ส่วนไข่ขาวผงกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีค่าความสามารถในการละลายที่น้อยกว่า เนื่องจากมีโมเลกุลที่ใหญ่และมีการขดตัวที่แน่นกว่า การคลายตัวจึงน้อยกว่า หมู่ของไฮโดรโฟบิคจึงยังคงอยู่ด้านในโมเลกุลของโปรตีน ทำให้ค่า surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงกับโปรตีนถั่วเหลืองมีค่าที่น้อยกว่า BSA

ตารางที่ 4.2 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรัมอัลบูมิน

Sample	Surface hydrophobicity
ไข่ขาวผง	366.32 ± 2.5^{a}
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	372.52 ± 3.4^{a}
โบวินซีรัมอัลบูมิน	1678.30 ± 24.5^{b}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัดและ BSA แสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่า ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$) โดยที่โบวินซีรัมอัลบูมินมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากที่สุด รองลงมาคือโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและไข่ขาวผง โดยโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันไม่แตกต่างกัน ซึ่งผลการทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชันนี้สอดคล้องกับการทดสอบค่า surface hydrophobicity จะเห็นว่า BSA มีค่า surface hydrophobicity สูงที่สุด แสดงว่าหมู่ของไฮโดรโฟบิคของ BSA ถูกเผยออกมามาก ซึ่งการที่โปรตีนมีหมู่ไฮโดรโฟบิคที่สูง จะสามารถจับกับน้ำมันได้ดี (Achouri และคณะ, 1998) ทำให้ BSA มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากกว่าไข่ขาวผงและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรัมอัลบูมิน

Sample	Emulsion Activity
ไข่ขาวผง	2.80 ± 0.1^{a}
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	2.86 ± 0.06^{a}
โบวินซีรัมอัลบูมิน	3.28 ± 0.09^{b}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.4 ความสามารถในการเกิดโฟมและความสามารถในการคงตัวของโฟม

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัดและ BSA แสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่า ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$) โดยที่โบวินซีรัมอัลบูมินมีความสามารถในการเกิดโฟมมากที่สุด รองลงมาคือไข่ขาวผง และโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุด และการทดสอบความสามารถในการคงตัวของโฟมพบว่า BSA ให้โฟมที่มีความคงตัวมากที่สุด การเกิดโฟมของโปรตีนจะขึ้นกับค่า surface activity โปรตีนที่เป็นสารให้ฟองที่ดีต้องทำให้รอยต่อระหว่างอากาศกับของเหลวมีเสถียรภาพได้อย่างต่อเนื่องในระหว่างการเกิดโฟม สามารถคลายตัวและดูดซับได้เร็วที่ชั้นรอยต่อ (Fennema, 1985) เนื่องจาก BSA มีความสามารถในการละลายดีกว่า ทำให้โครงสร้างคลายตัวมีความยืดหยุ่นกว่าและสามารถจัดเรียงเข้าสู่ชั้นรอยต่อของน้ำและอากาศได้ดี จึงทำให้มีความสามารถในการเกิดโฟมสูง ในขณะที่โปรตีนถั่วเหลืองสกัด มีขนาดใหญ่โครงสร้างอัดตัวกันแน่น ความสามารถที่จะเคลื่อนตัวมาที่ชั้นรอยต่อระหว่างอากาศกับของเหลวเพื่อสร้างฟิล์มบางๆ ล้อมรอบฟองอากาศทำได้ยากกว่า

ตารางที่ 4.4 การเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรัมอัลบูมิน

Sample	Foaming Activity	Foaming Stability (%)	
		10 min	30 min
ไข่ขาวผง	2.27 ± 0.05^{b}	86.92 ± 4.6^{ab}	80.14 ± 2.2^{a}
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	1.50 ± 0.05^{a}	84.44 ± 3.8^{a}	78.88 ± 1.9^{a}
โบวินซีรัมอัลบูมิน	2.56 ± 0.05^{c}	92.62 ± 2.6^{b}	87.00 ± 1.3^{b}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.5 สมบัติการต้านออกซิเดชัน

4.1.5.1 สมบัติการในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS

การวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด BSA และวิตามินซี แสดงผลดังตารางที่ 4.5 ในการทดลองใช้ความเข้มข้นของตัวอย่าง 3 ระดับ คือ 0.1 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัด มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากที่สุด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ BSA ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากว่าไข่ขาวผงที่ความเข้มข้นของโปรตีน 0.5 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อเทียบกับวิตามินซีพบว่า วิตามินซีมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีถึง 100เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวิตามินซีจาก 0.1เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินคงที่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhu และคณะ (2006) วิตามินซีที่ความเข้มข้น 0.1-2 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากและระดับในการต้านอนุมูลอิสระคงที่

องค์ประกอบหลักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด คือ 11S โกลบูลิน ซึ่งประกอบด้วยหกหน่วยย่อยของ Acid และ Basic Subunit (Bacon และคณะ,1990) ทำให้ 11S โกลบูลินมีประจุที่มาจากหน่วยย่อยทั้งหก สารที่ประกอบด้วยโมเลกุลที่ให้ประจุสูง มีแนวโน้มในการจับกับอนุมูลอิสระได้ดี (Hu และคณะ, 2003) จึงอาจทำให้โปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากกว่าไข่ขาวผงและ BSA

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โบวินซีรัมอัลบูมิน และวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Sample	ABTS radical scavenging (%)		
	0.1%	0.3%	0.5%
ไข่ขาวผง	2.19 ± 0.5^{aA}	6.21 ± 0.7^{aB}	9.06 ± 0.9^{aC}
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	4.73 ± 0.4^{bA}	12.37 ± 0.4^{bB}	18.32 ± 0.7^{cC}
โบวินซีรัมอัลบูมิน	2.69 ± 0.08^{aA}	7.02 ± 0.1^{aB}	11.34 ± 0.2^{bC}
วิตามินซี	100	100	100

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.5.2 สมบัติในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

ผลการวิเคราะห์สมบัติในการทำลายโฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด BSA และวิตามินซี แสดงผลดังตารางที่ 4.6 ในการทดลองใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.05 0.07 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเช่นเดียวกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ไข่ขาวผงมีความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ น้อยกว่าตัวอย่างอื่น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 0.07 และ 0.1% มีความสามารถน้อยกว่า BSA และโปรตีนถั่วเหลืองสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากไข่ขาวผงมีองค์ประกอบของโปรตีนประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบส่วนใหญ่ที่เหลือเป็นคาร์โบไฮเดรต ส่วนที่มีประจุที่เป็น active site ที่จับกับอนุมูลอิสระลดลง (Li-chan และคณะ, 1995) จึงทำให้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่า BSA และโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โบวินซีรัมอัลบูมิน และวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Sample	Hydrogen peroxide scavenging (%)		
	0.05%	0.07%	0.1%
ไข่ขาวผง	5.13 ± 1.2^{aA}	5.32 ± 0.2^{aA}	11.45 ± 0.4^{aB}
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	6.22 ± 0.4^{aA}	8.12 ± 0.2^{bB}	15.76 ± 0.8^{cC}
โบวินซีรัมอัลบูมิน	8.45 ± 1.2^{bA}	9.34 ± 0.5^{bA}	12.81 ± 0.6^{bC}
วิตามินซี	100	100	100

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2 ผลการดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน

4.2.1 ระดับการย่อย

ผลการศึกษาระดับการย่อยสลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน โดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อไข่ขาวผง 100 กรัม ระยะเวลาในการย่อยแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 5 15 30 45 และ 60 นาที ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.7 พบว่าระดับการย่อยสลายของไข่ขาวโดยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลา 5 นาทีและ 60 นาที มีระดับการย่อยเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 45 นาที ไปเป็น 60 นาที ระดับการย่อยไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการทดลองเบื้องต้น การเพิ่มระยะเวลาการย่อยให้มากกว่า 60นาที ไม่ได้ทำให้อัตราการย่อยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากข้อจำกัดของการย่อยสลายของ

เอนไซม์ปาเปน ระดับการย่อยสลายโปรตีนของกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสขึ้นอยู่กับความจำเพาะของเอนไซม์กับสับสเตรทที่เข้าทำปฏิกิริยา จำนวนพันธะเปปไทด์ที่เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้โดยมีเวลา ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิเป็นปัจจัยเสริม (Hudson, 1992) หรือการที่เอนไซม์มีข้อจำกัดในการย่อยอาจเนื่องมาจากไข่ขาวผงเป็นโปรตีนที่มีการเชื่อมต่อกับคาร์โบไฮเดรต (glycolprotein) ซึ่งคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้อาจบดบังบริเวณที่เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยา (active site) จึงทำให้เอนไซม์ทำงานได้ไม่สมบูรณ์

ตารางที่ 4.7 ระดับการย่อยสลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนในระยะเวลาต่างๆ

Sample	Degree of hydrolysis (%)
PME 5 min	21.41 ± 2.4^{a}
PME 15 min	23.19 ± 1.3^{ab}
PME 30 min	26.07 ± 2.2^{bc}
PME 45 min	27.20 ± 2.3^{cd}
PME 60 min	30.86 ± 1.5^{d}

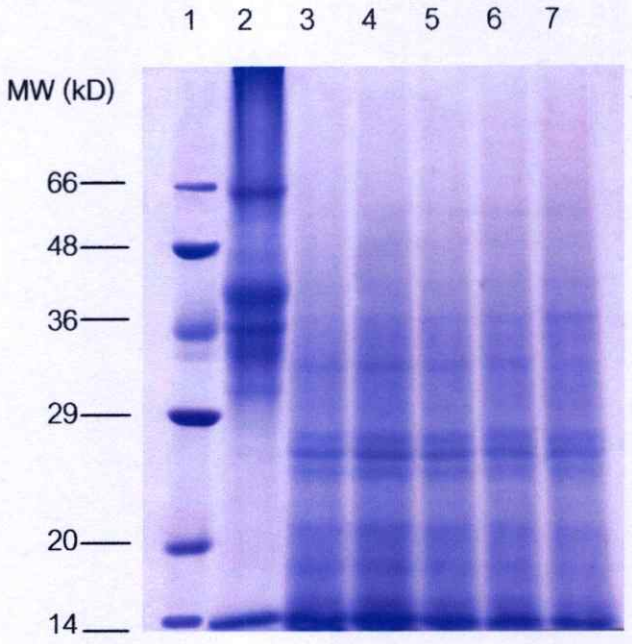
^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

4.2.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนด้วยวิธี SDS-PAGE

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระยะเวลา 0 5 15 30 45 และ 60 นาที ด้วยวิธี SDS-PAGE แสดงดังภาพที่ 4.1 โดยเปรียบเทียบองค์ประกอบของโปรตีนกับโปรตีนมาตรฐาน (Standard Weight Marker) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนพบว่า ส่วนของโปรตีนคอนอัลบูมินขนาด 66 kDa และโอวัลบูมินขนาด 44 kDa จางหายไป แต่จะพบแถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 27 และ 20 kDa เกิดขึ้นที่ส่วนล่างของแผ่นเจล และแถบโปรตีนขนาด 14 kDa ชัดเจนขึ้น เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนเข้าไปย่อยองค์ประกอบของโปรตีนให้มีขนาดเล็กลง ทำให้มีน้ำหนักโมเลกุลลดลง และเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 5 นาที ไปเป็น 60 นาที พบว่าแถบที่มีขนาดโมเลกุลน้อยกว่า 20 kDa รวมทั้งแถบที่มีขนาด 14 kDa จางลง อย่างไรก็ตามแถบที่มีขนาด 27 kDa ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ถึงแม้ระยะเวลาการย่อยจะเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ปาเปนไม่สามารถเข้าไปย่อย หน่วยย่อยของไข่ขาวผงที่มีขนาดโมเลกุล 27 kDa ซึ่งสอดคล้องกับ

ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย ถึงแม้ระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นมากกว่า 60 นาที แต่ระดับการย่อยสลายไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 4.1 SDS-PAGE patterns ของไข่ขาวผงและไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน เป็นระยะเวลา 5 15 30 45 และ 60 นาที

1 Standard Weight Marker

2 ไข่ขาวผง

3 ไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนเป็นระยะเวลา 5 นาที

4 ไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนเป็นระยะเวลา 15 นาที

5 ไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนเป็นระยะเวลา 30 นาที

6 ไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนเป็นระยะเวลา 45 นาที

7 ไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนเป็นระยะเวลา 60 นาที

4.2.3 สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน

4.2.3.1 ความสามารถในการละลาย

จากผลการทดสอบความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อไข่ขาวผง 100 กรัม ระยะเวลาในการย่อยแตกต่างกัน 6 ระดับคือ 0 5 15 30 45 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.8 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน มีความสามารถในการละลายสูงกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการย่อยอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และมีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 5 นาทีไปเป็น 15 นาที เอนไซม์สามารถย่อยพันธะเปปไทด์ภายในโมเลกุล ทำให้จำนวนของสายเปปไทด์เพิ่มมากขึ้นประจุบริเวณปรายสายเปปไทด์จึงเพิ่มขึ้นด้วย หรือการย่อยอาจไปทำให้โปรตีนที่ขดตัวอยู่เกิดการคลายตัว ประจุที่อยู่ภายในก้อนโปรตีนจึงคลายตัวออกมา ด้วยเหตุนี้จึงทำให้โปรตีนมีประจุสุทธิเพิ่มขึ้น โปรตีนจึงสามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น (Wu และคณะ, 1998) ส่งผลให้โปรตีนมีความสามารถในการละลายดีขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาการย่อยสลายเพิ่มจาก 30 นาทีไปเป็น 60 นาที ความสามารถในการละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.8 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Solubility (%)
Egg white powder	69.85 ± 0.9^{a}
PME 5 min	74.78 ± 1.4^{b}
PME 15 min	83.90 ± 1.9^{c}
PME 30 min	83.69 ± 0.5^{c}
PME 45 min	83.15 ± 0.6^{c}
PME 60 min	83.62 ± 1.6^{c}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

4.2.3.2 ค่า Surface hydrophobicity

จากการทดสอบค่า surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมีค่า surface hydrophobicity สูงกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการย่อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากโปรตีนก้อนกลม (globular protein) ที่ผ่านการย่อยจะเกิดการคลายตัว ทำให้หมู่ไฮโดรโฟบิค ที่อยู่ภายในออกมาที่ผิวเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่าของ surface hydrophobicity เพิ่มสูงขึ้น แต่ในสภาวะที่ทำการทดลองการเพิ่มเวลาการย่อยไม่ทำให้ค่า surface hydrophobicity เปลี่ยนแปลง สันนิษฐานว่า เมื่อเพิ่มเวลาการย่อยจาก 5 นาทีไปเป็น 60 นาที (แถบที่ 3 ถึง 7 ดังภาพที่4.1) มีเพียงหน่วยย่อยที่มีขนาดโมเลกุล 20 kDa และที่มีขนาดเล็กกว่า สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ในขณะที่หน่วยย่อยอื่นไม่มีการเปลี่ยนเปลง หน่วยย่อยที่เอนไซม์ปาเปนสามารถทำลายพันธะเปปไทด์ได้ อาจไม่เพียงพอที่ทำให้โครงสร้างของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปร เปิดออก

ให้หมู่ไฮโดรโฟบิคออกมาที่ผิวเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่า surface hydrophobicity ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.9 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Surface hydrophobicity
Egg white powder	369.00 ± 13.2^{a}
PME 5 min	376.84 ± 9.3^{b}
PME 15 min	376.33 ± 6.4^{b}
PME 30 min	375.18 ± 6.1^{b}
PME 45 min	377.30 ± 11.6^{b}
PME 60 min	378.05 ± 9.4^{b}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

4.2.3.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ระยะเวลาในการย่อยแตกต่างกัน 6 ระดับคือ 0 5 15 30 45 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.10 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ถึงแม้การย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนทำให้ค่า surface hydrophobicity สูงขึ้น แต่การทำลายพันธะเปปไทด์ทำให้ขนาดของสายเปปไทด์สั้นลง ส่งผลให้การเกิดฟิล์มโปรตีนรอบๆ หยดไขมันบางลง ความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลง และความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลงเมื่อระยะเวลาในการย่อยจาก 5 นาที เป็น 60 นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.10 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Emulsion Activity
Egg white powder	2.80 ± 0.2^{d}
PME 5 min	2.52 ± 0.1^{c}
PME 15 min	2.50 ± 0.1^{b}
PME 30 min	2.46 ± 0.05^{bc}
PME 45 min	2.37 ± 0.03^{ab}
PME 60 min	2.27 ± 0.02^{a}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

4.2.3.4 ความสามารถในการเกิดโฟมและความสามารถในการคงตัวของโฟม

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ระยะเวลาในการย่อยแตกต่างกัน 6 ระดับคือ 0 5 15 30 45 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.11 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมีความสามารถในการเกิดโฟมเพิ่มขึ้น และเมื่อระยะเวลาในการย่อยจาก 5 นาที เป็น 60 นาที ความสามารถในการการเกิดฟองจะเพิ่มอีกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อทดสอบความคงตัวของโฟม พบว่าไข่ขาวผงที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมีความสามารถในการคงตัวของโฟมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากโปรตีนที่ผ่านการย่อยจะมีโครงสร้างที่ยืดหยุ่นและดูดซับอยู่ที่ชั้นระหว่างผิวอากาศและน้ำได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้เกิดโฟมได้ง่ายกว่าโปรตีนที่มีลักษณะก้อนกลม ถึงแม้ว่าโปรตีนที่ผ่านการย่อยจะมีการคลายตัวและยืนหยุ่นที่ดี แต่เมื่อโปรตีนถูกตัดให้มีขนาดเล็กลง โมเลกุลของโปรตีนสายสั้นอาจทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีนรอบฟองอากาศลดลง อีกทั้งประจุจำนวนมากที่เกิดจากการย่อยอาจจะลดการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับอากาศขัดขวางการเกิด elastic film ระหว่างชั้นอากาศกับของเหลวทำให้ความคงตัวของโฟมลดลง (Chan และ Ma, 1999)

ซึ่งไข่ขาวผงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ต่างๆที่เปลี่ยนแปลงไปในทิศทางที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Grunden และคณะ (1974) ที่ได้ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนอัลบูมิน (albumen) จากไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่า ปริมาตรของโฟมเพิ่มขึ้น Lee และคณะ Chen (2001) ได้ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงในเค้ก พบว่า ไข่ขาวที่ดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน จะมีความสามารถในการเกิดโฟมได้สูง

Scilingo และคณะ (2002) ศึกษาสมบัติของโปรตีนสกัดจาก Amaranth ที่ทำการดัดแปรโดยใช้เอนไซม์ปาเปน พบว่า โปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน ให้ค่าการละลายเพิ่มสูงขึ้น และพรชนัน (2548) ศึกษาการดัดแปรโปรตีนโอคาราที่ถูกดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่า โปรตีนโอคารามีความสามารถในการละลายดีขึ้น ค่า Surface hydrophobicity ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดฟองสูงขึ้น

ตารางที่ 4.11 สมบัติการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Foaming Activity	Foaming Stability (%)	
		10 min	30 min
Egg white powder	2.26 ± 0.05^{a}	92.62 ± 2.6^{e}	80.13 ± 2.2^{d}
PME 5 min	2.56 ± 0.05^{b}	83.12 ± 2.0^{d}	64.30 ± 2.4^{c}
PME 15 min	2.51 ± 0.02^{b}	71.50 ± 3.2^{a}	66.22 ± 2.0^{c}
PME 30 min	2.71 ± 0.02^{c}	79.13 ± 1.2^{cd}	60.72 ± 2.9^{b}
PME 45 min	2.98 ± 0.02^{d}	76.54 ± 1.4^{bc}	56.42 ± 0.4^{a}
PME 60 min	3.08 ± 0.02^{e}	72.98 ± 2.2^{ab}	55.13 ± 0.5^{a}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

4.2.3.5 สมบัติการต้านออกซิเดชัน

1) สมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS

ผลการวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ด้วยวิธี ABTS free radical scavenging ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อไข่ขาวผง 100 กรัม ระยะเวลาในการย่อยแตกต่างกัน 6 ระดับคือ 0 5 15 30 45 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.12 ในการทดลองใช้ความเข้มข้นไข่ขาวผง 3 ระดับ คือ 0.1 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรจาก 0.1เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากโปรตีนที่ถูกย่อยมีขนาดเล็กลง ความสามารถในการละลายเพิ่มมากขึ้น โปรตีนมีประจุ

เพิ่มมากขึ้น รวมถึงการย่อยอาจทำให้มีสายเปปไทด์ที่มีโครงสร้างส่งเสริมให้มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี (Pena-Ramos และ Xiong, 2001)

ตารางที่ 4.12 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	ABTS radical scavenging (%)		
	0.1%	0.3%	0.5%
Egg white powder	2.18 ± 0.5^{aA}	6.20 ± 0.7^{aB}	9.05 ± 0.9^{aC}
PME 5 min	3.92 ± 0.2^{bA}	10.89 ± 0.5^{bcB}	15.27 ± 1.7^{bC}
PME 15 min	4.02 ± 0.2^{bA}	10.64 ± 1.0^{bcB}	15.17 ± 1.1^{bC}
PME 30 min	4.02 ± 0.1^{bA}	10.12 ± 0.9^{bcB}	16.03 ± 0.5^{bC}
PME 45 min	3.96 ± 0.1^{bA}	10.04 ± 0.5^{bB}	15.57 ± 0.1^{bC}
PME 60 min	4.89 ± 1.2^{bA}	11.50 ± 0.4^{cB}	16.73 ± 1.1^{bC}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

2) สมบัติในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

ผลการวิเคราะห์สมบัติในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ระยะเวลาในการย่อยแตกต่างกัน 6 ระดับคือ 0 5 15 30 45 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.13 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน มีความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สูงกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อระยะเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นทำให้ความสามรถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อความเข้มข้นของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรเพิ่มขึ้นจาก 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 0.1เปอร์เซ็นต์ พบว่าความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก การย่อยสลายของโปรตีน ทำให้ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น และเพิ่มปริมาณสายเปปไทด์ขนาดเล็กและประจุสุทธิ จึงทำให้ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น (Sakanaka และคณะ, 2004)

ตารางที่ 4.13 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Hydrogen peroxide scavenging (%)		
	0.05%	0.07%	0.1%
Egg white powder	5.12 ± 1.2^{aA}	5.32 ± 0.2^{aA}	11.45 ± 0.4^{bB}
PME 5 min	6.00 ± 0.4^{aA}	6.66 ± 0.3^{bB}	9.49 ± 0.1^{aC}
PME 15 min	5.13 ± 0.4^{abA}	7.71 ± 0.5^{cB}	11.83 ± 0.1^{bC}
PME 30 min	6.08 ± 0.3^{abA}	7.16 ± 0.2^{bcB}	11.90 ± 0.2^{bC}
PME 45 min	6.21 ± 0.4^{abA}	7.25 ± 0.3^{bcB}	13.25 ± 0.6^{cC}
PME 60 min	6.67 ± 0.2^{bA}	7.32 ± 0.7^{bcB}	14.72 ± 0.3^{dB}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

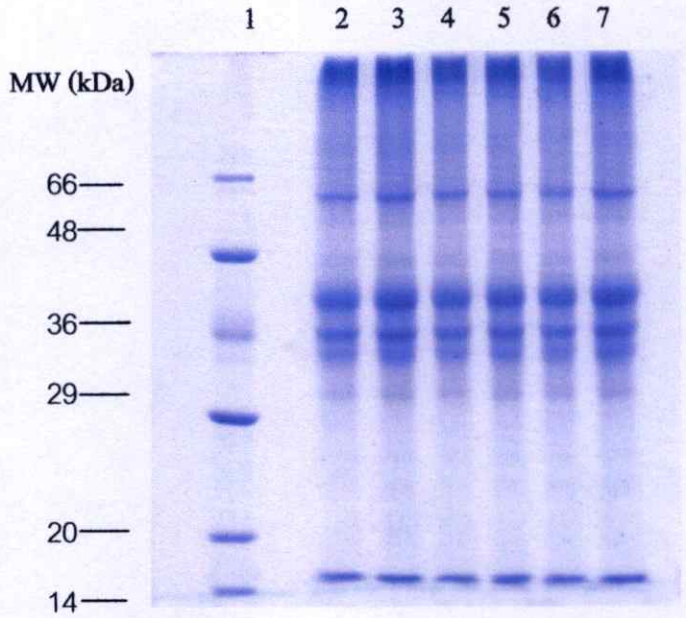
^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

PME = Papain modified egg white powder

4.3 การดัดแปรไข่ขาวผงด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน

4.3.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันโดยใช้ SDS-PAGE

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน ด้วยกรดซัคซินิคแอนไฮไดรด์ ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 0 5 15 30 45 และ 60 นาที ด้วยวิธี SDS-PAGE แสดงดังภาพที่ 4.2 โดยเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (Standard Weight Marker) พบว่าองค์ประกอบของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรไม่มีความแตกต่างไปจากไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปร เนื่องจากวิธีการซัคซินิลเลชันเป็นการแทนที่หมู่อะมิโนของไลซีนด้วยประจุลบของซัคซินิค อาจไม่ได้ทำให้โครงสร้างของหน่วยย่อยของโปรตีนเปลี่ยนแปลง จึงทำให้ SDS-PAGE ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันไม่แตกต่างจากไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสุภาวดี (2550) ซึ่งดัดแปรโปรตีนถั่วเหลืองสกัดด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน พบว่า องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ผ่านการดัดแปรไม่มีความแตกต่างไปจากไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปร



ภาพที่ 4.2 SDS-PAGE patterns **ของไข่ขาวผงและไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการชัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา** 5 15 30 45 **และ** 60 **นาที**

1 Standard Weight Marker

2 **ไข่ขาวผง**

3 **ไข่ขาวผงที่ผ่านกระบวนการชัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา** 5 **นาที**

4 **ไข่ขาวผงที่ผ่านกระบวนการชัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา** 15 **นาที**

5 **ไข่ขาวผงที่ผ่านกระบวนการชัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา** 30 **นาที**

6 **ไข่ขาวผงที่ผ่านกระบวนการชัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา** 45 **นาที**

7 **ไข่ขาวผงที่ผ่านกระบวนการชัคซินิลเลชันเป็นระยะเวลา** 60 **นาที**

4.3.2 สมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการชัคซินิลเลชัน

4.3.2.1 ความสามารถในการละลาย

จากผลการทดสอบความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการชัคซินิลเลชัน ระยะเวลา 0 5 15 30 45 และ 60 นาที พบว่าความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยกรดชัคซินิคแอนไฮไดรน์ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และมีแนวโน้มละลายได้มากขึ้นเมื่อระดับชัคซินิลเลชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากวิธีการชัคซินิลเลชันจะเป็นการแทนที่หมู่อะมิโนที่มีประจุบวกของไลซีนด้วยกลุ่มที่มีประจุลบของชัคซินิค ทำให้โปรตีนมีประจุเพิ่มขึ้น สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้ความสามารถในการละลายที่เพิ่มขึ้น อาจมีสาเหตุมาจากโครงสร้างของไข่ขาวผงเปลี่ยนแปลง การเปลี่ยนแปลงของ

โครงสร้างเป็นผลมาจากผลรวมของประจุเพิ่มขึ้นเหนี่ยวนำให้เกิด electrostatic repulsion ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลที่เพิ่มเข้าไปและหมู่คาร์บอคซิลที่อยู่ในโมเลกุลเดิม เป็นผลให้สายเปปไทด์เกิดการคลายตัว เพิ่มการเกิดปฏิกิริยาร่วมระหว่างโปรตีนกับน้ำได้ดีขึ้น (Achouri และคณะ, 1998)

ตารางที่ 4.14 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Solubility (%)
Egg white powder	68.37 ± 0.3^{a}
SME 5 min	85.40 ± 2.0^{b}
SME 15 min	87.43 ± 1.1^{b}
SME 30 min	90.63 ± 0.9^{c}
SME 45 min	91.73 ± 1.1^{c}
SME 60 min	94.15 ± 0.8^{d}

[abc] ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

SME = Succinylation modified egg white powder

4.3.2.2 ค่า Surface hydrophobicity

ผลการทดสอบค่า surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านวิธีการซัคซินิลเลชันมีค่า surface hydrophobicity สูงกว่าไข่ขาวที่ไม่ผ่านการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อระยะเวลาในการซัคซินิลเลชันเพิ่มจาก 5 ไปเป็น 60 นาทีทำให้ค่า surface hydrophobicity เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและคลายตัว ทำให้หมู่ไฮโดรโฟบิกที่อยู่ภายในโมเลกุลออกมาที่ผิว จึงทำให้ค่า surface hydrophobicity เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.15 ค่า surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Surface hydrophobicity
Egg white powder	366.96 ± 7.7^{a}
SME 5 min	388.07 ± 6.9^{b}
SME 15 min	394.79 ± 4.2^{bc}
SME 30 min	397.06 ± 3.2^{bcd}
SME 45 min	403.75 ± 2.4^{cd}
SME 60 min	407.29 ± 7.2^{c}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

SME = Succinylation modified egg white powder

4.3.2.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน แสดงดังตารางที่ 4.16 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันเป็นเวลา 30 นาทีและ 45 นาที มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงกว่าโปรตีนที่ไม่ผ่านกระบวนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่สูงขึ้นอาจเนื่องมาจาก โครงสร้างของโปรตีนที่ผ่านการซัคซินิลเลชันเกิดการคลายตัวให้ส่วนของหมู่ไฮโดรโฟบิคมีจำนวนมากขึ้น ทำให้มีหมู่จับกับน้ำมันได้มากขึ้น นอกจากนี้ค่าการละลายที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้โปรตีนเกิดการกระจายตัวบริเวณผิวระหว่างน้ำกับน้ำมันได้ง่ายขึ้น ส่งผลดีต่อการเกิดอิมัลชันของโปรตีน (Achouri และคณะ, 1998) อย่างไรก็ตามถ้าระยะเวลาในการซัคซินิลเลชันน้อย (5 นาที) หรือมากเกินไป (60 นาที) ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรไม่แตกต่างจากไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปร นอกจากหมู่ไฮโดรโฟบิก ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนยังขึ้นกับปัจจัยอื่น เช่น การมีประจุสุทธิที่มาก จะส่งผลให้ปฏิกิริยาร่วมระหว่างโปรตีนกับน้ำได้ดีมาก เป็นผลให้โปรตีนดูดซับอยู่ที่ชั้นรอบหยดไขมันได้น้อยลง ความสามารถในการเกิดอิมัลชันจึงลดลง

ตารางที่ 4.16 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Emulsion Activity
Egg white powder	2.75 ± 0.02^{a}
SME 5 min	2.72 ± 0.05^{a}
SME 15 min	2.84 ± 0.01^{a}
SME 30 min	2.98 ± 0.05^{b}
SME 45 min	3.20 ± 0.1^{c}
SME 60 min	2.85 ± 0.1^{ab}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

SME = Succinylation modified egg white powder

4.3.2.4 ความสามารถในการเกิดโฟมและความสามารถในการคงตัวของโฟม

ผลการทดสอบความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน แสดงดังตารางที่ 4.17 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันมีความสามารถในการเกิดโฟมต่ำกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ผลการทดสอบการคงตัวของโฟมพบว่า ไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีซัคซินิลเลชันให้โฟมที่คงตัวมากกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากปริมาณซัคซินิล (succinyl) ในปฏิกิริยาช่วยให้โปรตีนเกิดการฟอร์มเป็น multilayer cohesieve film บริเวณพื้นผิว ยึดเกาะที่ชั้นระหว่างอากาสและน้ำได้ดี ซึ่งจะขัดขวางการรวมตัวกันของฟองอากาศช่วยให้โฟมมีความคงตัวมากขึ้น (Lawal, 2005) ความคงตัวของโฟมที่เพิ่มขึ้นให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของพรชนัน (2548) ซึ่งทำการศึกษาในโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และ El-Adaway (2000) ซึ่งทำการศึกษาในโปรตีนถั่วเขียว ในขณะที่ Sheen (1991) พบว่าการดัดแปรโปรตีนสกัดจากใบยาสูบด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความคงตัวของโฟมโปรตีน

ตารางที่ 4.17 สมบัติการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Foaming Activity	Foaming Stability (%)	
		10 min	30 min
Egg white powder	2.23 ± 0.02^{c}	91.80 ± 1.2^{a}	88.08 ± 2.4^{a}
SME 5 min	1.96 ± 0.02^{b}	96.62 ± 1.4^{c}	93.23 ± 1.4^{b}
SME 15 min	2.00 ± 0.05^{b}	94.18 ± 1.3^{b}	91.68 ± 1.2^{b}
SME 30 min	2.00 ± 0.05^{b}	96.85 ± 1.3^{c}	93.30 ± 1.4^{b}
SME 45 min	1.75 ± 0.02^{a}	97.19 ± 0.04^{c}	93.46 ± 1.5^{b}
SME 60 min	1.81 ± 0.02^{a}	97.24 ± 0.04^{c}	93.56 ± 1.6^{b}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

SME = Succinylation modified egg white powder

4.3.2.5 สมบัติการต้านออกซิเดชัน

1) สมบัติการในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS

ผลการวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ด้วยวิธี ABTS free radical scavenging ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน ด้วยกรดซัคซินิคแอนไฮไดรด์ ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 0 5 15 30 45 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.18 ในการทดลองใช้ความเข้มข้นไข่ขาวผง 3 ระดับ คือ 0.1 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และระยะเวลาในการซัคซินิลเลชันที่เพิ่มขึ้นทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก วิธีการซัคซินิลเลชันเป็นวิธีการเพิ่มประจุลบให้กับโปรตีน และถ้าโปรตีนมีประจุสุทธิมากเกินไป อาจทำให้โปรตีนเป็นสารช่วยส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (prooxidant) ทำให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง (Pena-Ramos และ Xiong, 2001) สอดคล้องกับงานวิจัยของสุภาวดี (2550) พบว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง ถ้าเวลาที่ใช้ในการซัคซินิลเลชันเพิ่มขึ้น ถึงแม้ความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นก็ตาม

ตารางที่ 4.18 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	ABTS radical scavenging (%)		
	0.1%	0.3%	0.5%
Egg white powder	2.94 ± 0.08^{cA}	8.37 ± 0.5^{dB}	12.68 ± 0.5^{dC}
SME 5 min	1.93 ± 0.08^{bcA}	6.20 ± 0.2^{bB}	10.25 ± 0.3^{bC}
SME 15 min	2.33 ± 0.3^{cA}	6.90 ± 0.5^{cB}	11.00 ± 0.08^{cC}
SME 30 min	1.47 ± 0.08^{aA}	5.37 ± 0.2^{aB}	10.14 ± 0.2^{bC}
SME 45 min	1.57 ± 0.2^{abA}	5.07 ± 0.2^{aB}	8.67 ± 0.1^{aC}
SME 60 min	1.82 ± 0.4^{abA}	5.07 ± 0.08^{aB}	9.03 ± 0.08^{aC}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

SME = Succinylation modified egg white powder

2) ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ผลการวิเคราะห์สมบัติในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน แสดงดังตารางที่ 4.19 พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน มีความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สูงกว่าไข่ขาวผงที่ไม่ผ่านการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาในการซัคซินิลเลชันเพิ่มขึ้นจาก 5 นาที เป็น 10 หรือ 45นาที พบว่าความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 0.07 เปอร์เซ็นต์ และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน ให้ผลการทดลองที่ไม่สอดคล้องกับสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS ซึ่งพบว่ามีค่าลดลงเมื่อไข่ขาวผลถูกดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน (ตารางที่ 4.18) สารที่มีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หมายถึงสารที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (antiradical properties) สมบัติการต้านปฏิกิริยาไลโปเปอร์ออกซิเดนท์ (antilipoperoxidant properties) สมบัติการกำจัดออกซิเจน (antioxygen properties) หรือสมบัติการจับไอออนของโลหะ (chelating properties) โดยสารนั้นอาจมีสมบัติข้อใดข้อหนึ่งหรือหลายข้อ ไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน อาจมีสมบัติการกำจัดออกซิเจน ในขณะที่อาจไม่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS น้อยลง

ตารางที่ 4.19 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

Sample	Hydrogen peroxide scavenging (%)		
	0.05%	0.07%	0.1%
Egg white powder	5.13 ± 1.2^{aA}	5.31 ± 0.2^{aA}	11.45 ± 0.4^{aB}
SME 5 min	8.03 ± 0.3^{cdA}	10.00 ± 0.1^{cdB}	13.42 ± 0.4^{cC}
SME 15 min	7.79 ± 0.4^{cA}	10.09 ± 0.2^{cdB}	12.67 ± 0.2^{bC}
SME 30 min	6.57 ± 0.2^{bA}	10.61 ± 0.5^{cB}	12.25 ± 0.1^{bC}
SME 45 min	8.68 ± 0.2^{cdA}	10.00 ± 0.1^{cdB}	12.34 ± 0.3^{bC}
SME 60 min	8.96 ± 0.6^{dA}	9.63 ± 0.8^{bA}	11.59 ± 0.3^{aB}

^{abc} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ABC} ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

SME = Succinylation modified egg white powder

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงในสภาพธรรมชาติ (native form) พบว่ามีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำกว่า BSA และโปรตีนถั่วเหลืองสกัด มีเพียงสมบัติการเกิดโฟมที่ดีกว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัด เมื่อนำมาดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน และวิธีการซัคซินิลเลชัน พบว่า ความสามารถในการละลายสูงขึ้น โดยเฉพาะวิธีการซัคซินิลเลชัน การทำให้โมเลกุลโปรตีนมีขนาดเล็กลงโดยเอนไซม์ปาเปน ทำให้ไข่ขาวผงเกิดโฟมได้ดีขึ้น แต่โฟมที่เกิดขึ้นมีความสามารถในการคงตัวลดลง ในขณะที่การเพิ่มประจุลบของกรดซัคซินิคแอนไฮไดรน์ ทำให้ไข่ขาวเกิดโฟมได้น้อยลง แต่โฟมที่เกิดขึ้นมีความคงตัวดีขึ้น การดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน และการใช้วิธีซัคซินิลเลชันมีผลต่อสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไข่ขาวผง พบว่าการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนทำให้สมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงขึ้น ในขณะที่การดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน พบว่า ไข่ขาวผงมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง แต่มีสมบัติการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้เอนไซม์ปาเปน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1.การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และโบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin, BSA) พบว่า BSA มีค่าความสามารถในการละลาย ค่า surface hydrophobicity ค่าความสามารถในการเกิดโฟม ค่าความคงตัวของโฟม และค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันมากกว่าไข่ขาวผงและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ส่วนโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันมากกว่าไข่ขาวและ BSA ในขณะไข่ขาวผงมีค่าความสามารถในการละลายและค่าความสามารถการเกิดโฟมมากกว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

2. การดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปน จากการวิเคราห์ด้วย SDS-PAGE พบว่าส่วนของโปรตีนคอนอัลบูมินและโอวัลบูมินจางหายไปแต่จะพบแถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 27 kDa ซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่เอนไซม์ปาเปนไม่สามารถย่อยได้

3. การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าไข่ขาวที่ผ่านการย่อยจะมีค่าความสามารถในการละลาย ค่า surface hydrophobicity ค่าความสามารถในการเกิดโฟม และสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความคงตัวของโฟมและค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลง

4. การดัดแปรไข่ขาวผงด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันไม่ได้ทำให้หน่วยย่อยที่วิเคราะห์โดย SDS-PAGE เปลี่ยนแปลง

5. ผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชัน พบว่าไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรมีค่าความสามารถในการละลาย ค่า surface hydrophobicity ความคงตัวของโฟม และสมบัติการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดโฟม และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง

เมื่อเปรียบเทียบการดัดแปรไข่ขาวผงด้วยเอนไซม์ปาเปนและวิธีซัคซินิลเลชัน พบว่าการดัดแปรด้วยวิธีซัคซินิลเลชันทำให้ไข่ขางผงมีความสามารถในการละลาย มีความคงตัวของโฟม และความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงมากกว่าการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน อย่างไรก็ตามการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปน ทำให้สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการเกิดโฟมมากกว่าการดัดแปรด้วยวิธีทางเคมี

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรนำไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อทดสอบประสิทธิภาพและการใช้งานได้จริง เพื่อสามารถเลือกนำมาปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายตรงตามความต้องการ

2. การใช้เอนไซม์หรือเคมีเพียงชนิดเดียวในการดัดแปรไข่ขาวผง อาจจสามารถทำให้สมบัติของไข่ขาวดีขึ้นในระดับหนึ่ง แต่อาจมีข้อจำกัดในการใช้งาน ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาวิธีการดัดแปรอื่นๆ ควบคู่ไปด้วยเพื่อให้สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

บรรณานุกรม

พรชนัน เที่ยวทั่ว. 2548. การปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนโอคาราโดยกระบวนการทางเอนไซม์และเคมี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. **องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ฟอร์แมทพริ้นติ้ง.

ปาริฉัตร ทัพภะสุต และปราณี อ่านเปรื่อง. 2541. สมบัติของสารเกิดฟองผงจากโปรตีนถั่วเหลืองและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร. **วารสารอาหาร**. 28 : 42-53.

ปาริฉัตร หงส์ประภาส. 2545. **เคมีกายภาพทางอาหาร คอลลอยด์ อิมัลชันและเจล.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รัชนี ตัณฑะพานิชกุล 2532. **เคมีอาหาร.** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อักษรไทย.

วัลยา เนาวรัตน์ และพัชรี บุญศิริ. 2542 โปรออกซิแดนท์ : อีกโฉมหน้าของแอนติออกซิแดนท์. **วารสารวิทยาศาสตร์.** 53 : 196-198

สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์ และอัมพวัน ตั้นสกุล. 2549. ผลของปริมาณแป้งมันสำปะหลังและไข่ขาวผงต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลา.: **วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ.** 29:17-36.

สุภาวดี ทรัพย์สิริไพบูรย์. 2550. ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีทางเอ็นไซม์และวิธีทางเคมี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

Achouri, A., Zhang, W. and Shiying, X. 1998. Enzymatic hydrolysis of soy protein isolate and effect of succinylation on the functional properties of resulting protein hydrolysates. **Food Res. Intl.** 31(9): 617- 623.

Adler-Nissen, J. 1986. Enzymatic hydrolysis of food protein. New York: Elsevier Publishing. pp. 77- 363.

Armitage D.B., Hettiarachchy N.S. and Monsoor M.A. 2002. Natural antioxidants as component of an egg albumen film in the reduction of lipid oxidation in cooked and uncooked poultry. **J. Food Sci.** 67(2) :631-634.

Bacon. J.R., Norl, R. and Lambert, N. 1990. **Soybean Protein.** [online]. Available Source: http://www.Class.fst.ohio-stae.edu./Soy.htm/2008/11/10.

Chan, W.M. and Ma, C.Y. 1999. Modification of proteins form soymilk residue (okara) by trypsin. **Food chem.** 77 : 171-176.

Damodaran, S. 1996. amino acid, peptides and proteins. *In* **Food chemistry.** Fennema, O.R. (ed.). NewYork: Marcel Dekker INC. pp 380.

Davis P.J. and Williams, S.C. 1998. Protein modification by thermal processing. **Allergy.** 53: 102-105.

El-Adawy, T.A. 2000. Functional properties and nutritional quality of actylated and succinylated mung bean protein isolate. **Food Chem.** 70 : 83-91.

Fennema, O.R. 1985. **Food Chemistry**, 2 nd (ed). New york: Marcel Dekker, Inc.

Froning, G.W., Ragan, L.F. and Niemann, L. 1986. Conalbumin as an antioxidant in turkey meat. **Poultry Sci.** Abstracts 65 (Supplement 1): 45.

Grunener, L. and Lawhon, J.T. 1997. Effects of acetylation and succinylation on the physicochemical properties of the canola 12S globulin. Part I. **Food Chem.** 60: 357.

Grunden, L.P., Vadeher, D.V. and Baker, R.C. 1974. Effect of proteolytic enzymes on the functionality of chicken egg albumen. **J.Food Sci.** 39: 841-843.

Hattori, M. Tsukamoto, K.Y., Kumagai, H. Feng, Y. and Takahashi, K. 1998. Antioxidative activity of soluble elastin peptides. **J. Agric. Food Chem.** 46 : 2167-2170.

Hill, S.E. 1996. Emulsion. *In* **Method of testing protein functionality.** Hall, G.M.(ed.) London: Chapman&Hall.

Hu.M., McClements, D.J., and Deck, E.A. 2003. lipid oxidant in corn oil-in-water Emulsion stabilized by casine, whey protein isolate and soy protein isolate. **J. Agric. Food Chem.** 51:1967-1700

Hudson, B.J.F. 1992. **Modification of food protein by enzymatic method.** London: E AS.

Kim, K.S. and Rhee, J.S. 1989. Effcts of acylation on physicochemical properties of 11S soy protein. **J.Food Sci.** 13: 187-199.

Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of protein in food. Surver Crit. **Rev. Food Sci. Nutr.** 7: 219-280

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacterophage T_4. **Nature.** 227: 680-685.

Lee, W.C. and Chen, T.C. 2002. Functional characteristics of egg white solids obtained from papain treated albumen. **J. Food Eng.** 51 : 263-266.

Li-Chan, E.C.Y., Powrie, W.D. and Nakai, S. 1995. The chemistry of egg and egg product . pp. 150-176. *In* **Egg science and technology. Stadelman W.J. and Cotterill O.J. (Eds.).** 4th (ed.) New York: The Haworth Press, Inc.

Ma, C.Y. and Holme, J. 1982. Effect of chemical modifications on some physicochemical properties and heat coagulation of egg albumen. **J Food Sci.** 47(5) : 1454-1459.

Marianne, M., Caroline, N. and Jen, H. 2008. Enzymatic hydrolysis of ovomucin and effect on foaming properties. **Food Res. Intl.** 41: 522-531.

Matheis, G. 1991. Phosphorylation of food proteins with phosphorus oxychloride improvement of functional and nutritional properties **Food Chem.** 39: 13-26.

McCarthy. T.L., Keery, J.K., Lynch, P.B. and Buckley. D.J. 2001. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compare with synthetics antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. **Meat Sci.** 58: 45-52.

Mine, Y. 1995. Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. **Trends Food Sci.** 6: 225–232.

Muguruma, M., tsuruoka, K., Katayama, K., Erwato, Y., Kawahara, S., Yamauchi, M., Sathe., S.K., and Soeda, T. 2003. Soybean and milk proteins modified by transglutaminase improves chicken sausage texture even at reduced levels of phosphate. **Meat Sci.** 63: 170-177.

Motoki, M. and Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its ued for food processing. **Trends Food Sci.** 9: 204-210.

Nakai, S. and Modler, H.W. 1996. **Food protein-Properties and Characterization.** New York.

Negbenebor, C.A. and Chen, T.C. 1985. Effect of albumen on TBA values of cornminuted poultry meat. **J. Food Sci.** 50(1) : 270-271.

Niki, E., Noguchi, N., Tsuchihashi, H. and Gotoh, N. 1995. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotein. **American J. Clinical Nutr.** 62: 1322S-1326S.

Park, P.J. Jung, W.K., Nam, K.S., Shahidi, F. and Kim, S.K. 2001. Purification and characterization of antioxidative peptide form protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. **J. Am. Oil Chem. Soe.** 78: 651-656.

Pena-Ramos, E.A. and Xiong, Y.L. 2001. Antioxidative of whey protein hydrolysates in a liposomal System. **J. Dairy Sci.** 84: 2557-2583.

Phillips, L.G., Haque, Z. and Kinsella, J.E. 1987. A Method for the Measurement of Foam Formation and Stability. **J.Food Sci.** 52(4) : 1074-1077.

Powrie, W.D. and Nakai, S. 1985. Characteristics of edible and fluids of animal origin: egg. *In* **Food chemistry**. Fennema, O. (ed.). New York: Marcel Dekker. p.829-855.

Sakanaka, S., Tachibana, Y., Lshihara, N., and Junejia, L.R. 2004. Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. **Food Chem.** 86 : 99-103.

Sathivel, S. and Bechtel, P.J. 2004. Properties of protein hydrolysates rom pink salmon heads. [online]. Availble: http://www.cazv.cz/2004/2003/potrl_02/karamac. 2008/11/10.

Scilingo, A.A., Ortiz. E.N. and Anon, M.C. 2002. Amaranth protein isolates modification by hydrolytic and thermal treatments. Relationship between structure and solubility. **Food Res. Intl.** 35: 855- 862.

Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J. 1973. **Egg science and technology**. Westport: Avi Publishing. p. 314.

Subsiripaboon, S. and Puechkamut, Y. 2007. Antioxidation capacities of papain modified soy protein Isolate. pp. 349-350 *In* **ICIST: Biological Diversity, Food and Agricultural Technology** held at KMITL, Bangkok, Thailand, 26-27 April 2007.

Vadehra, D.V. and Nath, K.R. 1973. "Eggs as a source of protein." **Food Technol.** 4 : 193-308.

Valerie L., Romain J., Abdellah A., Jack L. and Franc N. 2007. Egg white drying: Influence of industrial processing steps on protein structure and functionalities. **J. Food Eng.** 83 : 404–413.

Voutsinas, L.P., Cheung, E. and Nakai, S. 1983. Relationships of hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatural proteins. **J.Food Sci.** 48(1) :26-32.

Watkins, B.A., 1995. The nutritive value of the egg. *In* **Egg Science and Tecnology.** W.J. Stadelman and O.J. Cotterill. (ed.). New York: The Haworth Press Inc.

Walsh, D.J., Cleary, D., McCarthy, E., Murphy, S. and FitzGerald, R.J. 2003. Modification of the nitrogen solubility properties of soy protein isolate following proteolysis and transglutaminase cross-linking. **Food Res. Intl.** 36 : 677-683.

Wu, W. U., Hettiarachchy, N.S. and Qi, M. 1998. Hydrophobic, solubility, and emulsifying properties of soy protein prepared by papain modification and ultrafiltration. **J. AM. Oil Chem. Soe.** 75(7): 845-850.

Yang, S.C., Baldwin, RE., Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J. 1995. Functional properties of eggs in foods. *In:* **Egg Science and Tecnology**. 4th.(ed.). Binghamton: Food Products Press, Haworth Press. p.405-463.

Yen, G.C. and Lee, C.A. 1996. Antioxidant activity of extracts from molds. **J. Food Prot.** 59: 1327–1330.

Yoshinori M. 1995. Recent advance in the understanding of egg white protein functionality. **Trends Food Sci.** 6 : 225-231.

Yu, L., Zhou, K. and Parry, J. 2005. Antioxidant properties of coldpressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. **Food Chem.** 91: 723–729.

Zabik, M. 1992. Egg and egg product *In* **J. Food theory and applications.** J. Bowers 2nd (ed). New york: Macmillan Publishing Co. p. 359-424.

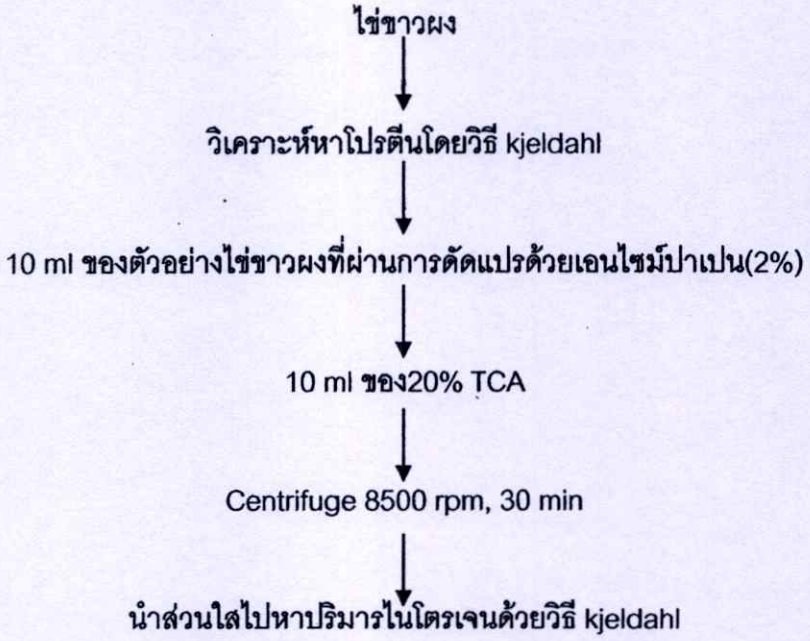
Zhu, K., Zhou, H. and Qian, H. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates WHGH prepared white alcalase. **Process Biochem.** 41 : 1296-1302.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การทดสอบสมบัติของโปรตีน

การทดสอบสมบัติของโปรตีน

1. ระดับการย่อยสลายของเอนไซม์ (Degree of hydrolysis) (Voutsinas และคณะ, 1983)

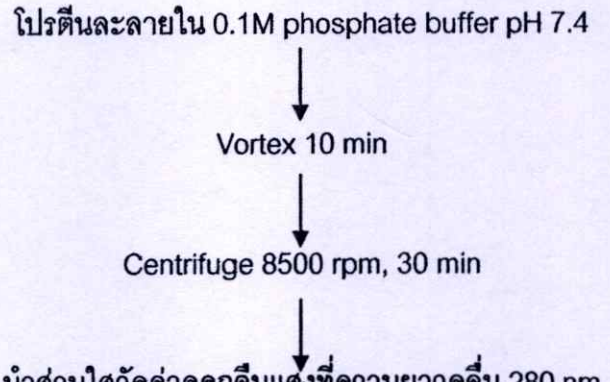


ภาพที่ ก1 ขั้นตอนการตรวจวัดระดับการย่อยสลายเอนไซม์

นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ % DH (degree of hydrolysis) ด้วยสมการ

$$\% DH = \frac{\text{ส่วนใสของสารละลาย} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของไข่ขาวผง}}$$

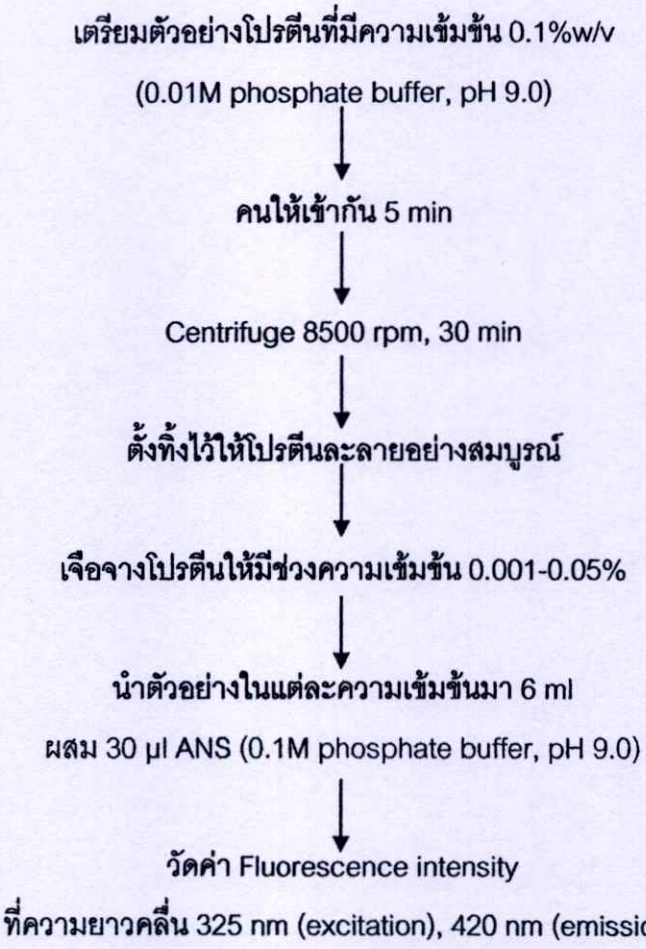
2. ความสามารถในการละลาย



ภาพที่ ก2 ขั้นตอนการหาความสามารถในการละลาย

$$\text{ความสามารถในการละลาย} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงหลัง Centrifuge X 100}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงก่อน Centrifuge}}$$

3. การทดสอบค่า surface hydrophobicity ของโปรตีน (Voutsinas และคณะ, 1983)



ภาพที่ ก3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ค่า surface hydrophobicity ของโปรตีน

หมายเหตุ: ค่าที่วัดได้จะแสดงในรูปความชันของกราฟระหว่างค่า fluorescence intensity กับความเข้มข้นของโปรตีน ค่าความชันที่สูงแสดงว่าโปรตีนมีหมู่ hydrophobic บริเวณผิวที่สามารถจับกับ fluorescence probe ได้ดี

4. การทดสอบความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Hill, 1996)

เตรียมไข่ขาวผงที่ความเข้มข้น 0.5% w/v

(ใน 0.01M phosphaste buffer, pH 7.4)

↓

เตรียมสารละลายโปรตีนสกัด 2.8 ml ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง 1.2 ml

↓

Ultrasonic 2 min

↓

เก็บตัวอย่างที่ก้นหลอด 1 ml

↓

เจือจางด้วย 0.1%SDS สัดส่วน 1:100

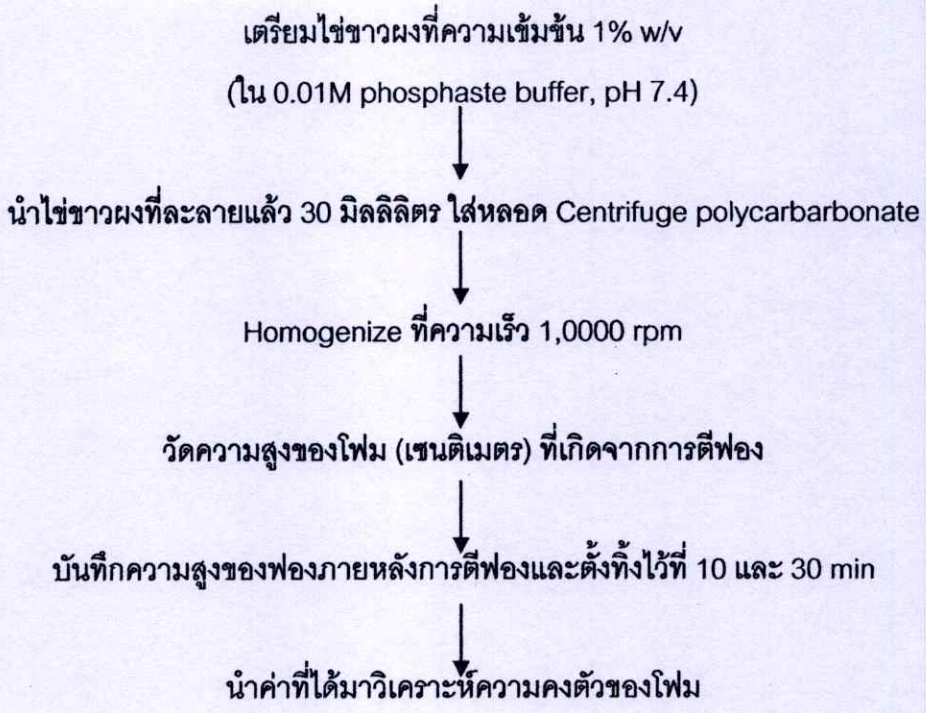
↓

วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 500 nm

ภาพที่ ก4 ขั้นตอนการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีน

หมายเหตุ: ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงแสดงว่าโปรตีนมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันดี

5. การทดสอบสมบัติการเกิดโฟมของโปรตีน (Phillip และคณะ, 1987)



ภาพที่ ก5 ขั้นตอนการวิเคราะห์สมบัติการเกิดฟองโปรตีน

หมายหตุ:

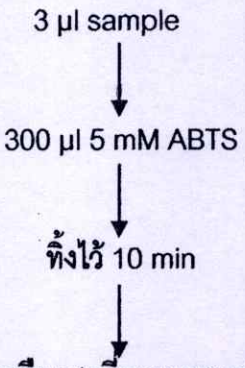
ความสามารถในการเกิดโฟม = ความสูงของโฟมโปรตีน (เซนติเมตร)

$$\text{ความคงตัวของฟอง} = \frac{\text{ความสูงของโฟมโปรตีน (เซนติเมตร) ที่ตั้งทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ} \times 100}{\text{ความสูงของโปรตีน (เซนติเมตร) เริ่มต้น}}$$

6. ทดสอบสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS ด้วยวิธี ABTS free radical scavenging ตามวิธีของ Yu และคณะ (2004)

1. เตรียมสารละลาย ABTS โดยโดยนำสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 5 mM เติมแมงกานีสไดออกไซด์มากเกินพอ คน 30 min แล้วนำไป Centrifuge

ขั้นตอนการทำปฏิกิริยา



ภาพที่ ก6 ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ ABTS

7. ทดสอบความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ตามวิธีของ Yen และ Lee (1996)

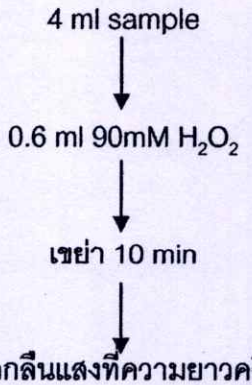
1. H_2O_2 ความเข้มข้น 90 mM

ปิเปต H_2O_2 ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ มา 0.92 ml ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 M แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml

2. 0.1M Phosphate buffer pH 7.4

3. เตรียมโปรตีน 0.05 0.07 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนการทำปฏิกิริยา



ภาพที่ ก7 ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

8. การศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE

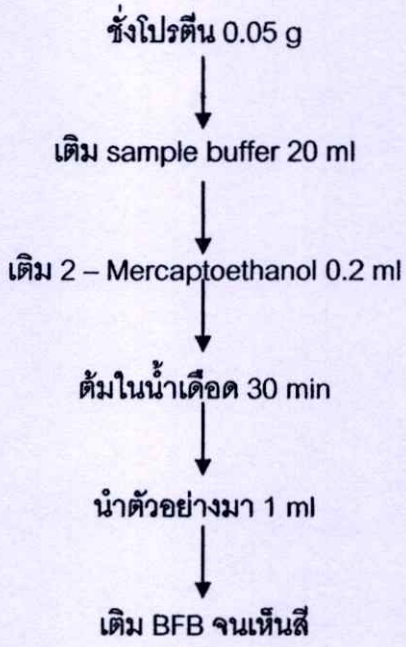
การแยก subunit ของไข่ขาวผงเปรียบเทียบกับไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอไซม์ และใช้ Standard Weight Marker เป็นตัวเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลแต่ละ subunit

สารเคมีที่ใช้เตรียม SDS-PAGE

A solution	
Acrylamide ($CH_2CHCONH_2$)	29.2 g
N,N - Metheylene - bis (arylamide)	0.8 g
Adjust with distilled water to	100 ml
B solution	
1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)	18.17 g
0.4% SDS	0.4 g
Adjust with distilled water to	100 ml
C solution	
0.5 M Tris-HCl	6.06 g
0.4% SDS	0.4 g
Adjust with distilled water to	100 ml
D solution	
10% Ammonium Persulfate	0.5g
Water	5ml
E solution Electrophoresis buffur pH 8.4	
0.025 M Tris-HCl	3g
0.192 M glycine	14.4g
0.1% SDS (1%w/v)	1g
Adjust with distilled water to	100 ml
BFB color	
Bromophenol blue	1mg
Grycerol	100 µl
Water	900 µl

Sample buffer	
Tris	7.57g
SDS	20.0g
Glycerol	100 ml
Adjust with distilled water to	500 ml

<u>วิธีเตรียมตัวอย่าง</u>



ภาพที่ ก8 ขั้นตอนการหาเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์โปรตีน

<u>เตรียมเจล</u>

Separating Gel (12.5%)	
A sol^{n}	7.5 ml
B sol^{n}	4.5 ml
Distilled H_2O	6.0 ml
D sol^{n}	0.07 ml
TEMED	0.01 ml

Stacking Gel	
A sol^{n}	0.9 ml
B sol^{n}	1.5 ml
Distilled H2O	3.6 ml
D sol^{n}	0.018 ml
TEMED	0.006 ml

ขั้นตอนการเตรียมเจล

1. เตรียมสารละลาย separating gel เทลงระหว่างแผ่นแก้วของชุด electrophoresis จากนั้นค่อยๆ เ ติมน้ำกลั่นคลุมผิวหน้าเจลจนทิ้งไว้ให้แข็งตัว
2. เตรียมสารลาย stacking gel
3. เทน้ำออกจากผิวหน้าเจลที่แข็งตัวแล้ว rinse ผิวหน้าเจลด้วย stacking gel ครั้งหนึ่ง จากนั้นเทส่วน stacking gel จนเต็ม เสียบ comb พักไว้ให้เจลแข็งตัว
4. ดึง comb ออก ล้างส่วน stacking gel ด้วยน้ำกลั่นแล้วล้างด้วย electrophoresis buffer

การทำ Electrophoresis

1. ต่อชุด electrophoresis เข้าด้วยกัน เติม electrophoresis buffer ที่เตรียมไว้
2. ใช้ micro syring ดูดสารลละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร เติมในช่องของ stacking gel
3. ต่อส่วนของ chamber เข้ากับส่วนจ่ายกระแสไฟฟ้า ทำการ run gel
4. ปิดส่วนจ่ายกระแสไฟฟ้าเมื่อเห็นสีของ bromophenol blue เคลื่อนที่ถึงส่วนล่างของเจล
5. นำแผ่นเจลออกจากกระจก ทำการย้อมสีแผ่นเจล

การย้อมสีแผ่นเจล

Staining solution	
Coomassie brilliant blue	2 g
Methanol	500 ml
$H^{2}O$	430 ml
Acetic acid	70 ml

Destaining solution	
Methanol	200 ml
Acetic acid	70 ml
H_2O	730 ml

ขั้นตอนการย้อมสีเจล

1. นำแผ่นเจลออกจากแผ่นกระจก วางลงในภาชนะที่มี staining solution อบ40 นาที
2. เมื่อครบเวลาเท staining solution ออก ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปแช่ใน destaining solution จนแผ่นเจลใสเห็นแถบชัดเจน
3. เท destaining solution ทิ้ง ล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่นแล้วนำแผ่นเจลไปอบแห้ง

การอบเจล

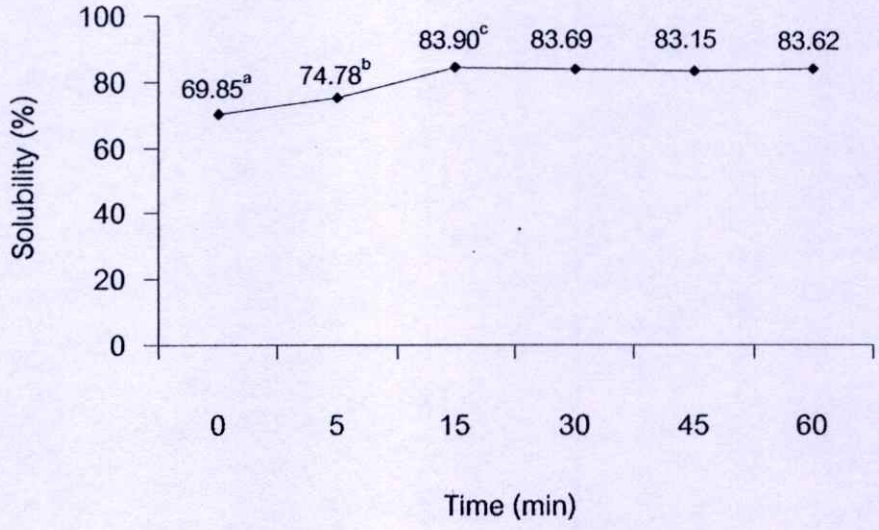
1. แช่แผ่นเจลในสารละลายที่มี alcohol 30 เปอร์เซ็นต์ และ glycerol 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
2. ล้างเจลด้วยน้ำกลั่นแช่เย็นที่มีส่วนผสมของ glycerol 1เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง
3. การอบเจลใช้แผ่น cellophane 2 แผ่น แช่ในน้ำกลั่นแช่เย็นจนแผ่น cellophane อิ่มตัว นำ แผ่น cellophone แผ่นแรกวางบนฐาน เติมน้ำกลั่น 5-10 มิลลิลิตร ไล่อากาศออกให้หมด
5. นำแผ่น cellophone อีกแผ่นวางทับ
6. นำกรอบสดึงมาครอบ ล็อคกรอบให้เป็นมุมฉาก
7. ยกกรอบออกจากฐานพลิกด้านล่างขึ้นด้านบนแล้วนำเครื่องอบเจล อบประมาณ 1-2 ชั่วโมงจนเจลแห้งแล้วจึงนำออกจากกรอบ

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

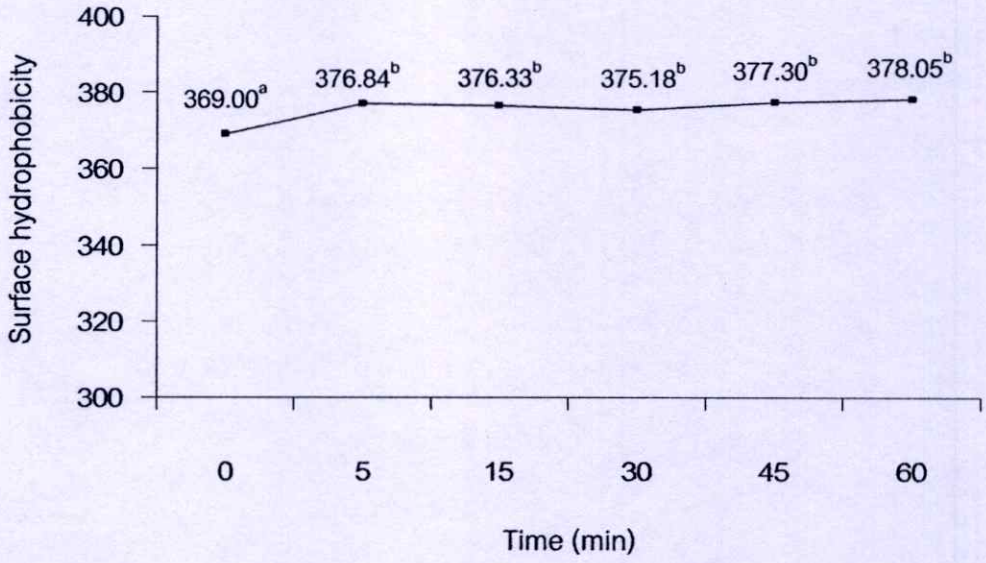
1. ผลของการทดสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่าง ๆ

1.1 ความสามารถในการละลาย



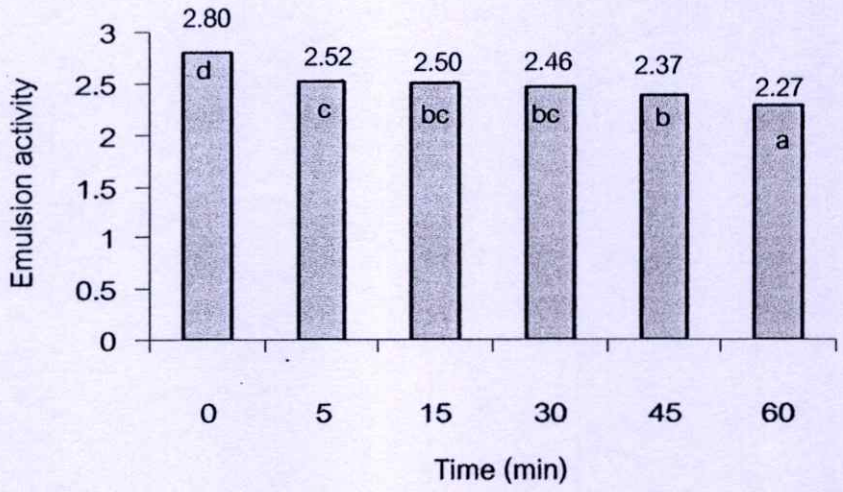
ภาพที่ ข1 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

1.2 ค่า Surface hydrophobicity



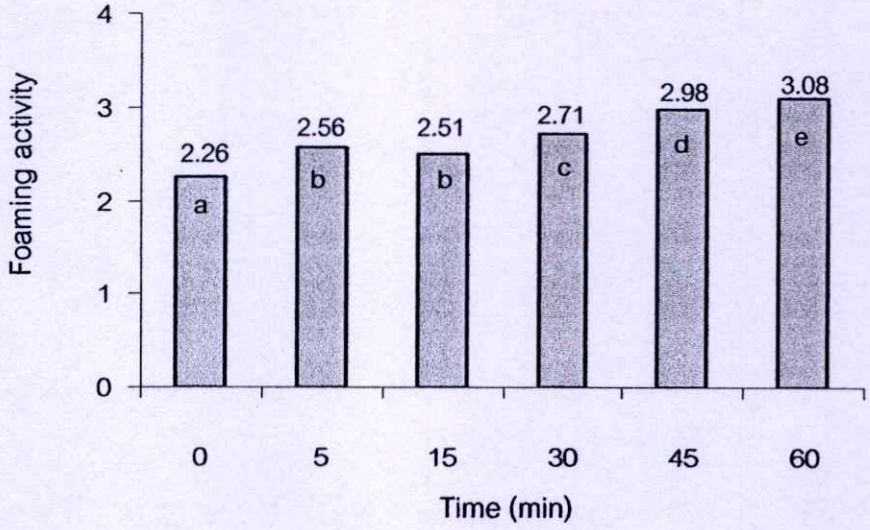
ภาพที่ ข2 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

1.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน



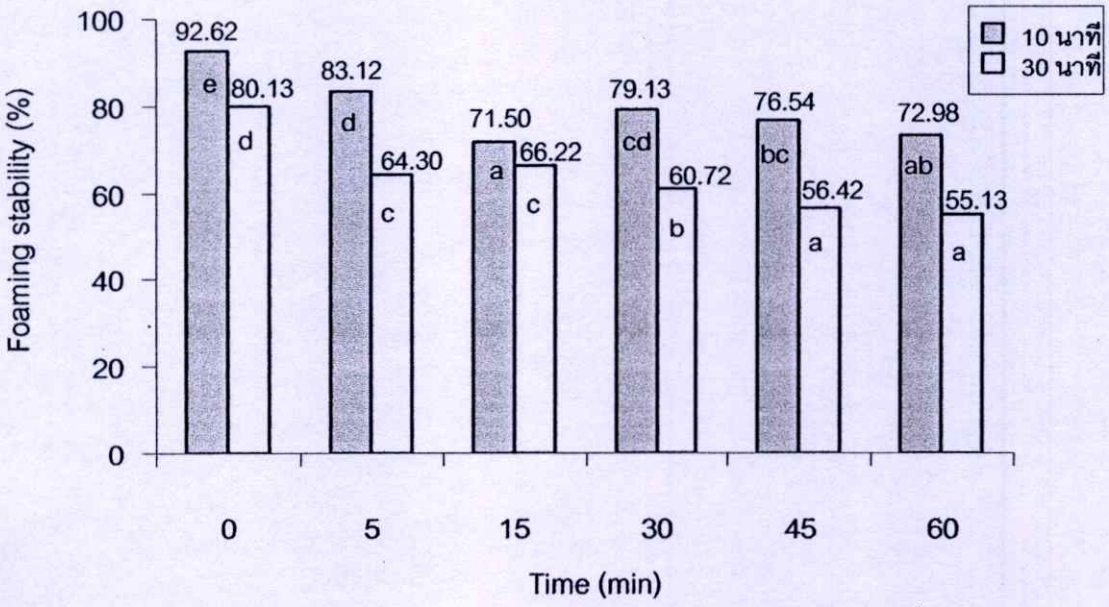
ภาพที่ ข3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

1.4 ความสามารถในการเกิดโฟม



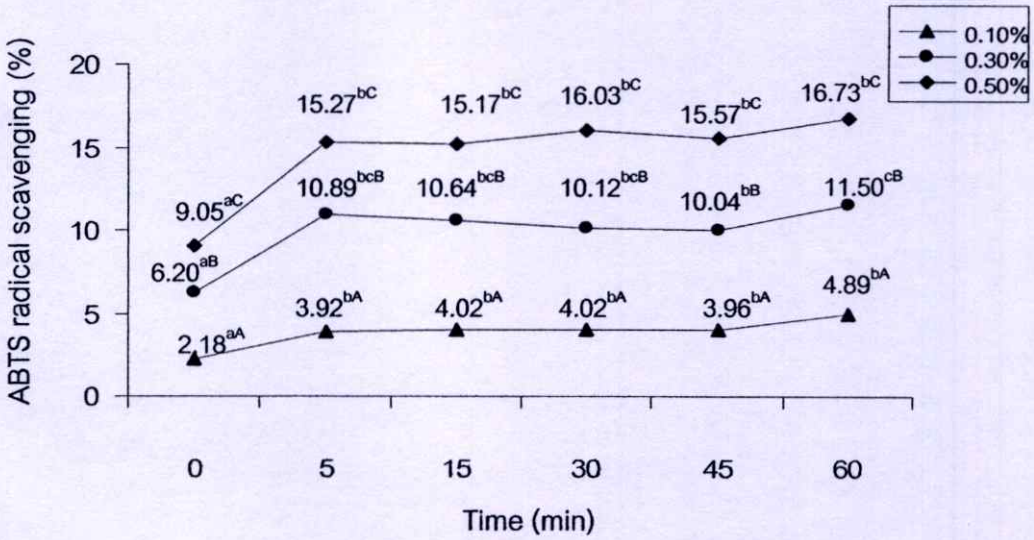
ภาพที่ ข4 ความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

1.5 ความคงตัวโฟม



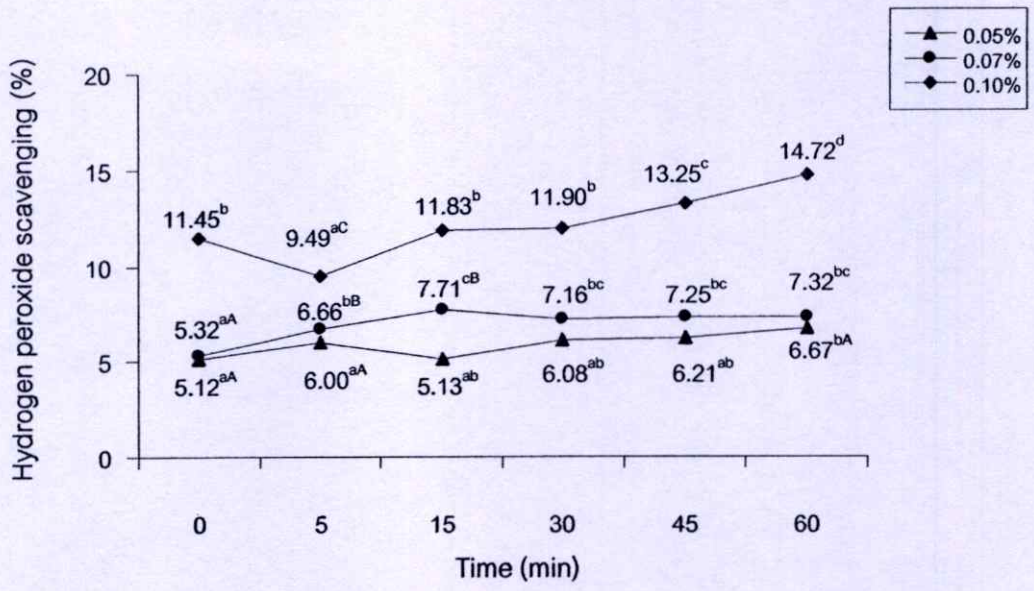
ภาพที่ ข5 ความคงตัวของโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

1.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS



ภาพที่ ข6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ระยะเวลาต่างๆ

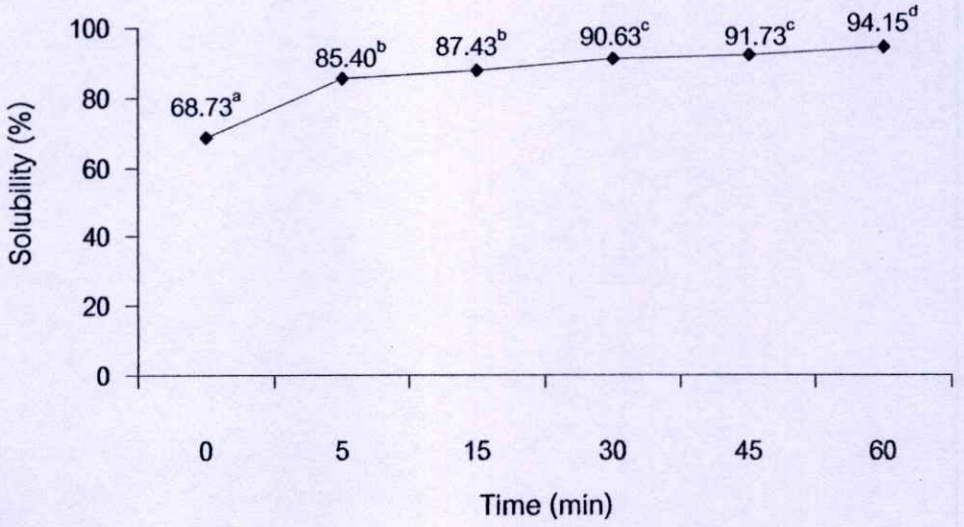
1.7 สมบัติในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)



ภาพที่ ข7 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลาต่างๆ

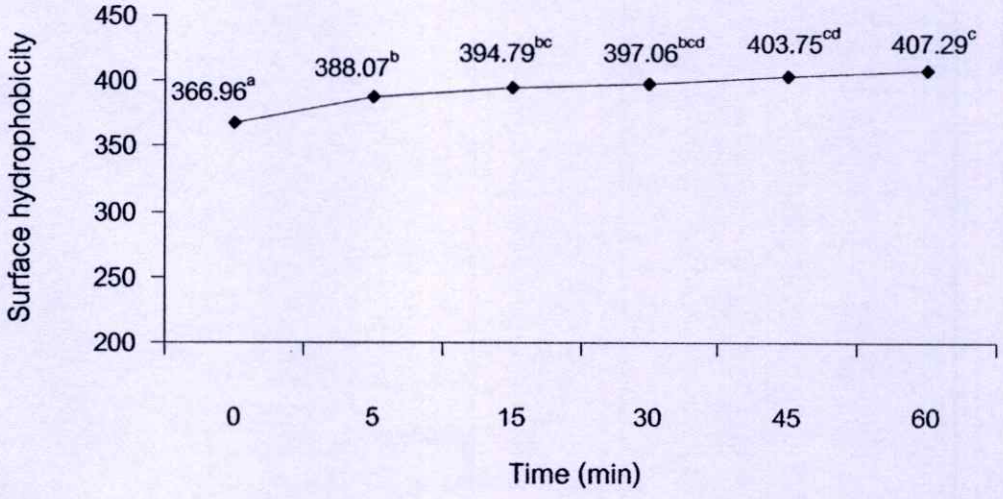
2. ผลของการทดสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.1 ความสามารถในการละลาย



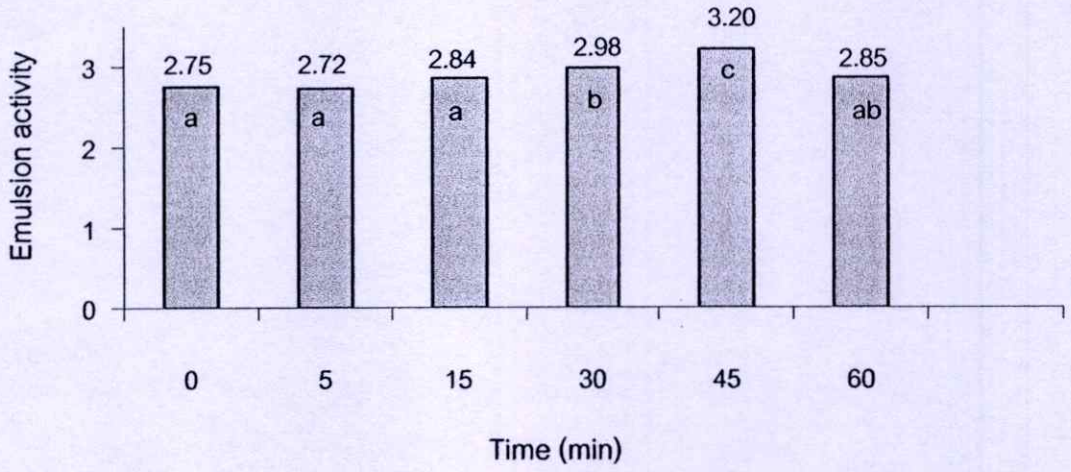
ภาพที่ ข8 ความสามารถในการละลายของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.2 ค่า Surface hydrophobicity



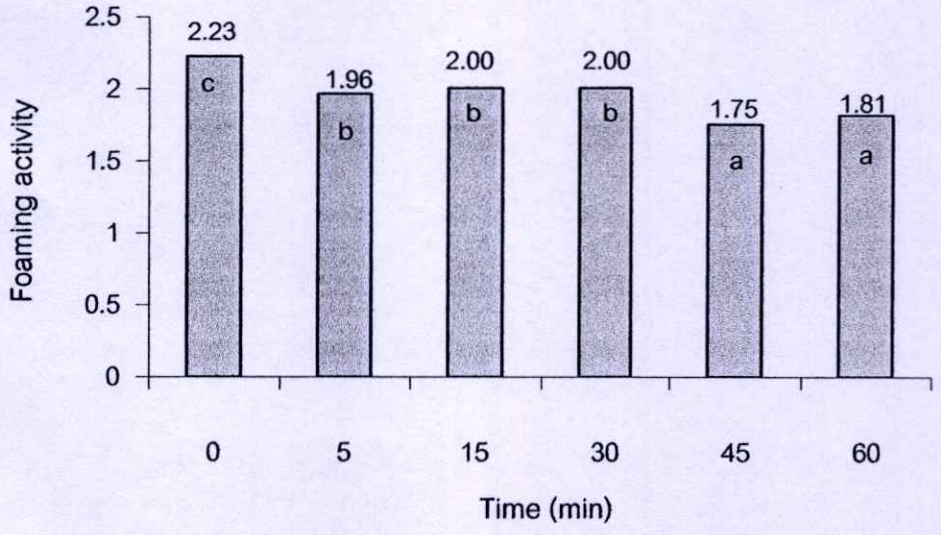
ภาพที่ ข9 ค่า Surface hydrophobicity ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน



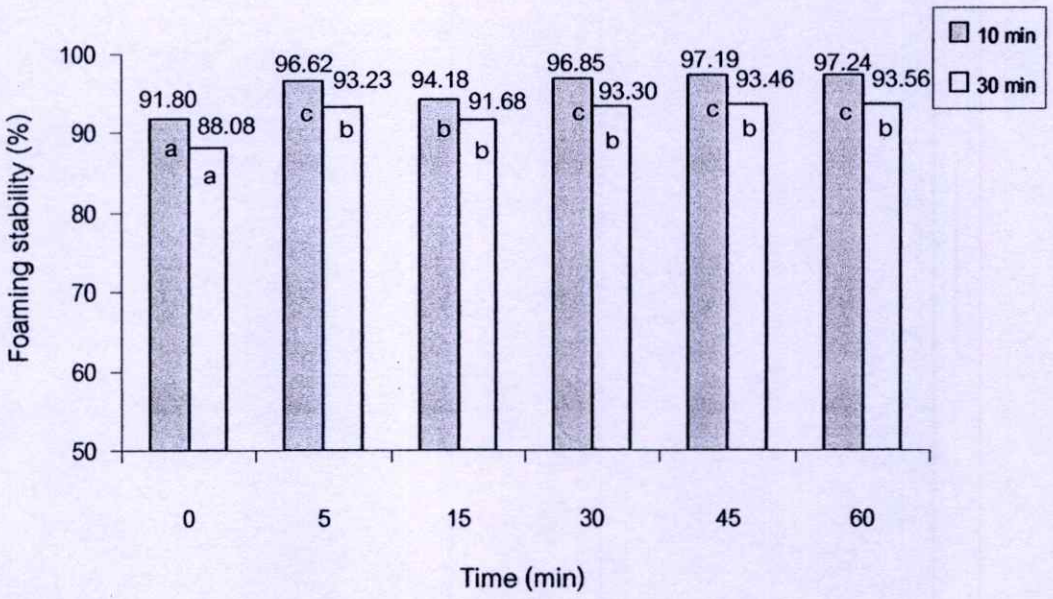
ภาพที่ ข10 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.4 ความสามารถในการเกิดโฟม



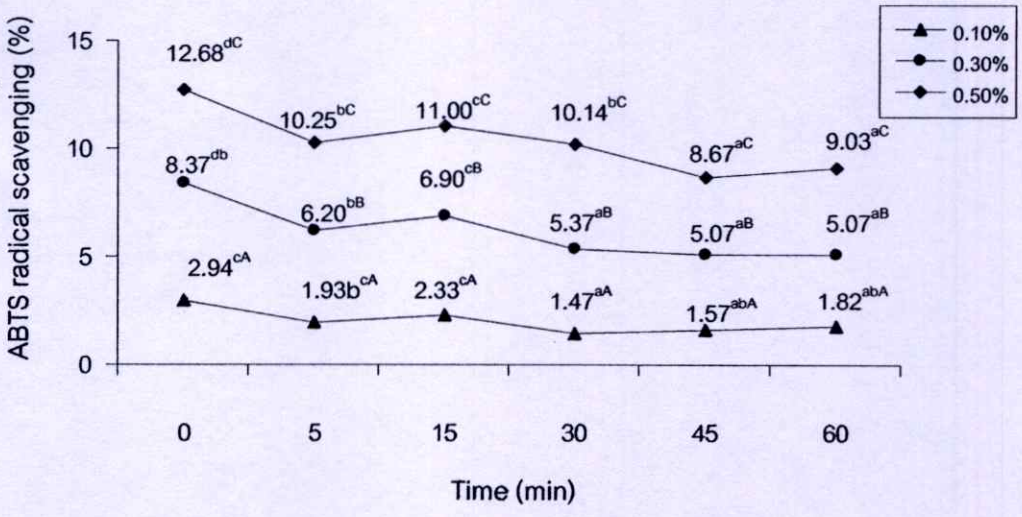
ภาพที่ ข11 ความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.5 ความคงตัวโฟม



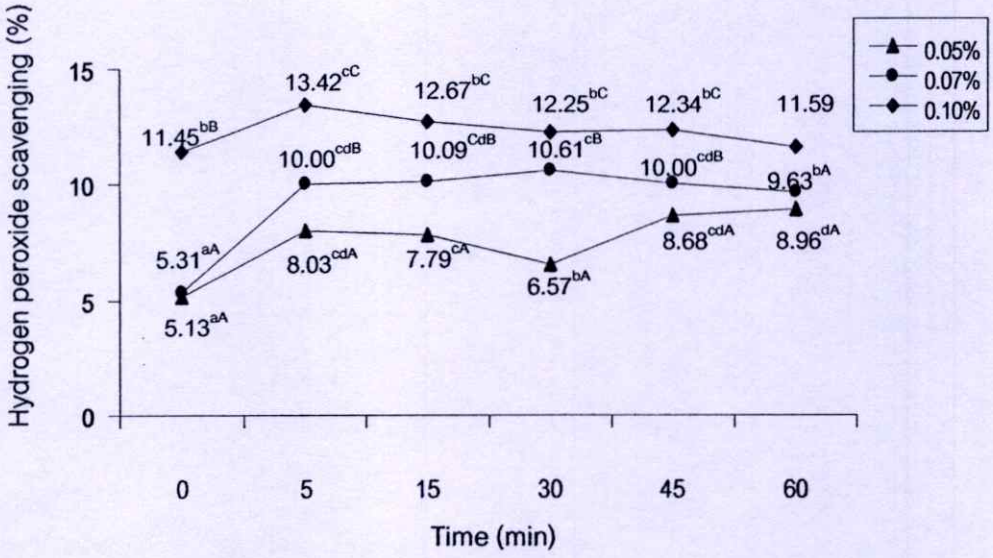
ภาพที่ ข12 ผลการทดสอบความคงตัวโฟมของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS



ภาพที่ ข13 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการซัคซินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

2.7 สมบัติในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)



ภาพที่ ข14 ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไข่ขาวผงที่ผ่านการดัดแปรด้วยวิธีการชัคชินิลเลชันที่ระยะเวลาต่างๆ

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุนิษา ปั้นสุข เกิดวันที่ 25 กรกฎาคม พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ในปีการศึกษา 2548 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ปีการศึกษา 2549 และสำเร็จการศึกษาในปี 2552