

บทความวิจัย (Research Article)

การหาสภาวะการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะ

กัญญาวิทย์ คันทะมูล¹, หยาดฝน ทนงการกิจ^{1*} และ ปริญญ คงกระพันธ์²

Optimization of protein extraction condition from soybean using pulse electric field

Kanyawee Kanthamoon¹, Yardfon Tanongkankit^{1*} and Parin Khongkrapan²¹ Faculty of Engineering and Agro-industry, Maejo University, Chiang Mai, 50290² School of Renewable Energy, Maejo University, Chiang Mai, 50290

* Corresponding author: yardfon@mju.ac.th

Naresuan Phayao J. 2022;15(3): 73-86.

Received; 8 October 2021; Revised: 21 November 2022; Accepted: 27 December 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วนคือ ในส่วนแรกทำการหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดที่แรงดันไฟฟ้า 10.5, 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ โดยพิจารณาจากเวลาที่มีปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์สูงสุด จากนั้นทำการศึกษาในส่วนที่สองคือ การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าต่อปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตของโปรตีน รูปแบบของโปรตีนและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรวมทั้งความสัมพันธ์พลังงานจำเพาะในการสกัด เพื่อหาแรงดันไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน จากนั้นทำการศึกษาในส่วนสุดท้ายคือ การศึกษาผลของอัตราส่วนของถั่วเหลืองต่อน้ำที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตของโปรตีน รูปแบบของโปรตีนและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเพื่อหาอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน โดยผลการศึกษาพบว่าการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะด้วยแรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำ เท่ากับ 1:15 โดยมีมวลต่อปริมาตร เป็นสภาวะการสกัดที่เหมาะสม เนื่องจากส่งผลให้มีค่าปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนดีที่สุด โดยมีรูปแบบโปรตีนเป็นกลุ่มเบต้าคอนโกลูซินิน (7S) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่มากที่สุด

คำสำคัญ: ถั่วเหลือง, โปรตีน, แรงดันไฟฟ้า, ความสัมพันธ์พลังงานจำเพาะ, สมบัติเชิงหน้าที่

¹ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290² วิทยาลัยพลังงานทดแทน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

Abstract

The objective of this research was to determine protein extraction condition from soybean using pulse electric field. The study was divided into 3 parts. In the first part, the optimal extraction time at 10.5, 11.5 and 12.5 kV based on the highest protein content, percentage of yield and electrical conductivity disintegration index was determined. The second part, the effects of different voltages on protein content, percentage of yield, protein profile, functional properties and specific energy consumption were investigated. The final part, the effects of different soybean-to-water ratios on protein content, percentage of yield, protein profile and functional properties were performed. The results showed that extraction protein from soybean using pulse electric field at voltage of 12.5 kV for 60 min with soybean-to-water ratio of 1:15 w/v were suggested to be the optimum condition by considering the highest values of protein content, percentage of yield and functional properties. Protein profile also was revealed that beta-conglycinin (7S) protein affecting on functional properties were mostly found.

Keywords: Soybean, Protein, Voltage, Specific energy consumption, Functional properties

บทนำ

โปรตีนจากพืช เช่น โปรตีนจากเมล็ดพืชตระกูลถั่วและโปรตีนจากเมล็ดพืชน้ำมัน มักถูกใช้เป็นโปรตีนทางเลือกเพื่อทดแทนโปรตีนจากสัตว์เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีราคาถูก มีปริมาณโปรตีนสูงและมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี ดังนั้นในปัจจุบันนี้จึงได้มีการนำเอาพืชโปรตีนสูง เช่น ถั่วเหลือง มาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนสำหรับผู้แพ้นมวัวและรับประทานมังสวิรัต นอกจากนี้โปรตีนที่สกัดได้ยังนิยมนำไปเติมผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดเช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ อาหารขบเคี้ยว และเครื่องดื่ม เพื่อปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส รสชาติและคุณค่าทางโภชนาการให้สูงขึ้น แต่เนื่องจากประเทศไทยไม่ได้มีการผลิตโปรตีนเข้มข้นในรูปเชิงการค้ามากนัก ดังนั้นโปรตีนส่วนใหญ่ที่ใช้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศส่งผลให้เกิดการขาดดุลทางการค้า ด้วยเหตุนี้เองการศึกษาการสกัดโปรตีนเพื่อนำมาใช้ประโยชน์และลดการนำเข้าจากต่างประเทศจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

โดยทั่วไปกระบวนการสกัดโปรตีนจะเริ่มจากการนำเอาวัตถุดิบผสมน้ำและปั่นให้ละเอียด จากนั้นทำการปรับ pH ให้ได้ประมาณ 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ กวนผสมที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงแยกน้ำเก็บไว้ จากนั้นทำ

การปรับ pH อีกครั้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกจนได้ค่าประมาณ 4.5 และนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อเร่งการตกตะกอนของโปรตีน นำตะกอนโปรตีนที่ได้มาละลายน้ำและปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นนำสารละลายโปรตีนที่ได้ไปทำแห้งหรือกระบวนการอื่นๆ ต่อไป จากกระบวนการที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า ในการผลิตโปรตีนจะต้องมีการใช้สารเคมีซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ในกระบวนการผลิตยังใช้เวลาที่ค่อนข้างนาน ดังนั้นจึงมีแนวคิดที่จะนำเอาเทคโนโลยีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะมาช่วยในการสกัดโปรตีน การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะเป็นเทคนิคการให้กระแสไฟฟ้าที่มีความเข้มข้นของสนามไฟฟ้าสูงที่มีลักษณะเป็นจังหวะแก่อาหารโดยผ่านขั้วอิเล็กโทรดในช่วงเวลาสั้น ส่งผลให้เกิดรูพรุนบนเซลล์ของพืชเพื่อช่วยทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญจากพืชเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้การสกัดด้วยวิธีนี้จะไม่ใช้สารเคมี แต่ใช้เพียงน้ำเป็นตัวกลางเพื่อให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านและใช้เป็นสารละลายในการสกัด [1] ดังนั้นจึงนับว่าเป็นเทคโนโลยีการสกัดสะอาดและใช้เวลาในการสกัดที่สั้นและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้แสดงการนำสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะมาใช้ในการสกัดสารต่างๆ จากพืชและสัตว์ เช่น Yu และคณะ [1] รายงานว่า การใช้สนามไฟฟ้าแบบจลหะช่วยสกัดโปรตีนและ

โพลีฟีนอลจากก้านและใบของ rapeseed มีปริมาณมากกว่าการใช้การสกัดด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม และ Lopez และคณะ [2] สกัด Betaine จากหัวบีทรูทสีแดง ด้วยสนามไฟฟ้าแบบจางหะ พบว่าที่ความเข้มข้นของสนามไฟฟ้า 6 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ช่วงเวลาของพัลส์ที่ 150 ไมโครวินาที ได้ปริมาณ Betaine มากที่สุด คือ 1,025 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักสด และ นอกจากนี้ Ghosh และคณะ [3] ใช้สนามไฟฟ้าแบบจางหะสกัดโปรตีนจากเนื้อไก่ ซึ่งผลการศึกษพบว่าการใช้สนามไฟฟ้าแบบจางหะสามารถสกัดโปรตีนจากเนื้อไก่ได้ปริมาณเท่ากับ 78 ± 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อพิจารณาจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ายังไม่มีการศึกษาการใช้สนามไฟฟ้าในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองมากนัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงจะทำการศึกษาลักษณะการใช้ในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจางหะ ซึ่งผลจากการวิจัยนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับการขยายขนาดการผลิตในระดับอุตสาหกรรมสำหรับผู้ประกอบการต่อไปในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

นำถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 แขนในน้ำสะอาดที่อัตราส่วน 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่มาล้างน้ำอีกครั้ง พักไว้ให้สะเด็ดน้ำ

การศึกษาหาเวลาการสกัดในแต่ละแรงดันไฟฟ้า

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาปั่นด้วยเครื่องปั่น (Tefal, Blendforce, France) โดยใช้อัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำ 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร จนละเอียด จากนั้นเทสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในห้องสกัดและดำเนินการสกัดโปรตีนที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการสกัดทุก 30 นาที เป็นเวลา 180 นาที มาวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ (SK Sato, T-0053, Taiwan) และค่าการนำไฟฟ้าด้วยเครื่องวัดการนำไฟฟ้า (Ohaus, ST3100M-B, USA) ก่อนนำไปกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอากากถั่วเหลืองออก และทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Binder, FD115,

Germany) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 40 และเก็บไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาปั่นด้วยเครื่องปั่น (Tefal, Blendforce, France) โดยใช้อัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำ 1:10 โดยมวลต่อปริมาตร จนละเอียด จากนั้นเทสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในห้องสกัดและดำเนินการสกัดที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ ตามเวลาที่เหมาะสม พร้อมทำการวัดพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า (HiDANCE, China) จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปกรองด้วยผ้าขาวบางและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Binder, FD115, Germany) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 40 และเก็บไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนและรูปแบบโปรตีน

การศึกษาผลของอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่ใช้ในการสกัด

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่ 1:5 1:10 1:15 และ 1:20 โดยมวลต่อปริมาตร มาปั่นด้วยเครื่องปั่น (Tefal, Blendforce, France) จนละเอียด จากนั้นเทสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในห้องสกัดและดำเนินการสกัดที่แรงดันไฟฟ้าและเวลาที่เหมาะสม เมื่อการสกัดเสร็จสิ้น นำสารละลายโปรตีนมากรองด้วยผ้าขาวบางและและทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Binder, FD115, Germany) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 40 และเก็บไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนและรูปแบบโปรตีน

ความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์

ค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (Electrical conductivity disintegration index, Z) คำนวณได้จาก

$$Z = \frac{(\sigma - \sigma_i)}{(\sigma_d - \sigma_i)} \quad 0 \leq Z \leq 1 \quad (1)$$

เมื่อ σ คือ ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่าง (ซีเมนส์ต่อเซนติเมตร)
 i คือ ตัวอย่างที่ไม่ผ่านสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ
 d คือ ตัวอย่างที่ถูกทำลายเซลล์อย่างสมบูรณ์ด้วยวิธีโฮโมจิไนซ์

การวัดค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างก่อนและหลังการสกัดด้วยสนามไฟฟ้า [4] ด้วยสมการที่ 1

ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay [5] โดยนำตัวอย่าง 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปกวนผสมเป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Gemmy, PLC-012E, Taiwan) ที่ 4,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน จากนั้นเตรียม Reagent blank โดยใช้ น้ำกลั่น แทนตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจางแล้วหรือสารละลายมาตรฐาน 180 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ที่มี Bradford reagent อยู่ 2,820

ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่ควรเกิน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Thermo scientific, Genesys 30, China) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณของโปรตีนรวมทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานโปรตีน (BSA) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง

ร้อยละผลผลิต

ทำการชั่งน้ำหนักแก้วเหลืองที่ใช้ในการสกัด และน้ำหนักผงโปรตีนที่ได้จากการสกัดและการทำแห้ง แล้วคำนวณค่าร้อยละผลผลิตจากสมการที่ 2

$$Y = \frac{W_p}{W_s} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ Y คือ ผลผลิต (ร้อยละ)
 W_p คือ น้ำหนักผงโปรตีนที่ผ่านการสกัดและการทำแห้ง (กรัม)
 W_s คือ น้ำหนักแก้วเหลืองที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

ความสามารถในการละลาย

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายตามวิธีของ Yousf และคณะ [6] โดยนำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปกวนผสมด้วยเครื่องกวนสาร (IKA, C-MAG HS 7, Germany) เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่น

เหวี่ยง (Gemmy, PLC-012E, Taiwan) ที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสเทลงในถ้วยอะลูมิเนียม ทำการอบระเหยน้ำส่วนเกินออกด้วยตู้อบลมร้อน (Binder, FD115, Germany) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการชั่งน้ำหนักหลังการทำแห้ง คำนวณค่าร้อยละความสามารถในการละลายของโปรตีนจากสมการที่ 3

$$WSI = \frac{W_l}{W_d} \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ WSI คือ ความสามารถในการละลายของโปรตีน (ร้อยละ)
 W_l คือ น้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลาย (กรัม)
 W_d คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

ความสามารถในการอุ้มน้ำ

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำตามวิธีของ Naowakul และคณะ [7] โดยนำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็น

เวลา 20 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Gemmy, PLC-012E, Taiwan) ที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ทำการชั่งน้ำหนักของตะกอนที่ได้ คำนวณค่าร้อยละความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน จากสมการที่ 4

$$WHC = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (4)$$

เมื่อ WHC คือ ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)
 W_s คือ น้ำหนักตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง (กรัม)
 W_d คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

ความสามารถในการเกิดฟองและคงตัวของฟอง

วิเคราะห์ความสามารถในการเกิดฟองและคงตัวของฟอง ตามวิธีของ Chareemuy และคณะ [8] โดยนำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วทำการวัดปริมาตรก่อนปั่น (V_1) จากนั้นนำไปปั่นผสมโดยใช้เครื่องปั่น (Tefal, Blendforce, France) ที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทของผสม

ใส่กระบอกตวงขนาดปริมาตร 250 มิลลิลิตร อย่างช้า ๆ และวัดปริมาตรทั้งหมดรวมฟองที่เกิดขึ้น (V_2) คำนวณเป็นค่าร้อยละความสามารถในการเกิดฟองด้วยสมการที่ 5 จากนั้นตั้งของผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนวัดปริมาตรของฟองที่เหลือ (V_3) ต่อปริมาตรก่อนปั่น คำนวณเป็นร้อยละความคงตัวของฟองจากสมการที่ 6

$$FC = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100 \quad (5)$$

$$FS = \frac{V_3}{V_1} \times 100 \quad (6)$$

เมื่อ FC คือ ความสามารถในการเกิดฟอง (ร้อยละ)
 FS คือ ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)
 V_1 คือ ปริมาตรรวมก่อนปั่น (มิลลิลิตร)
 V_2 คือ ปริมาตรรวมหลังปั่น (มิลลิลิตร)
 V_3 คือ ปริมาตรรวมที่เหลือ (มิลลิลิตร)

รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

นำผงโปรตีน 1 กรัม ผสมกับสาร SDS ร้อยละ 10 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Gemmy, PLC-012E, Taiwan) ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาปรับปริมาณโปรตีนเป็น 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนนำไปแยกโปรตีนด้วย polyacrylamide ร้อยละ 12 และ stacking gel ร้อยละ 4

โดยใช้ความต่างศักย์ 30 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 45 นาที ด้วยชุดอุปกรณ์ SDS-PAGE apparatus แล้วนำเจลย้อมด้วยสี Coomassie blue R-250

ความเปลี่ยนแปลงพลังงานจำเพาะในการสกัด

วิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงพลังงานจำเพาะตามวิธีของ Polikovskiy และคณะ [9] โดยวัดพลังงานที่ใช้ในการสกัดในแต่ละสภาวะการทดลองด้วยเครื่องวัดกำลังไฟฟ้า (HiDANCE, China) จากนั้นนำค่าที่ได้มาทำการคำนวณดังสมการที่ 7

$$E_p = \frac{E_t}{C_p \cdot m_{PEF}} \quad (7)$$

เมื่อ E_p คือ พลังงานไฟฟ้าใช้ในการสกัดโปรตีน 1 กิโลกรัม (กิโลวัตต์-ชั่วโมงต่อกิโลกรัม)
 E_t คือ พลังงานทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัด (กิโลวัตต์-ชั่วโมง)
 C_p คือ ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลาย (กิโลกรัมต่อมิลลิลิตร)
 m_{PEF} คือ ปริมาตรของสารละลาย (มิลลิลิตร)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี ANOVA ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 17.0 (SPSS Inc., USA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ผลการทดลองแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษา

การศึกษาหาเวลาการสกัดในแต่ละแรงดันไฟฟ้า

รูป 1 แสดงผลการศึกษาปริมาณโปรตีนและอุณหภูมิของสารละลายตัวอย่างในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆ โดยผลการศึกษาพบว่า ในช่วงแรกของการสกัด เมื่อเวลาการสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ก็มีปริมาณมากขึ้นจนมีค่าประมาณ 61.81-65.83 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง จากนั้นปริมาณโปรตีนจะมีค่าคงที่ โดยการสกัดด้วยแรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ ปริมาณโปรตีนจะมีค่าคงที่ที่เวลา 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนด้วยแรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ คือ 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะจะเห็นได้ว่า ในระหว่างการสกัดอุณหภูมิของสารละลายจะเพิ่มสูงขึ้นตามเวลาการสกัด และการใช้แรงดันไฟฟ้าสูงขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิในสารละลายสูงมากขึ้นด้วย โดยอุณหภูมิสารละลายที่สกัดด้วยแรงดันไฟฟ้า 10.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 120 นาที 11.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 120 นาที และ 12.5 กิโลโวลต์ เป็น

เวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 48.10 ± 0.82 48.07 ± 0.65 และ 48.33 ± 0.61 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

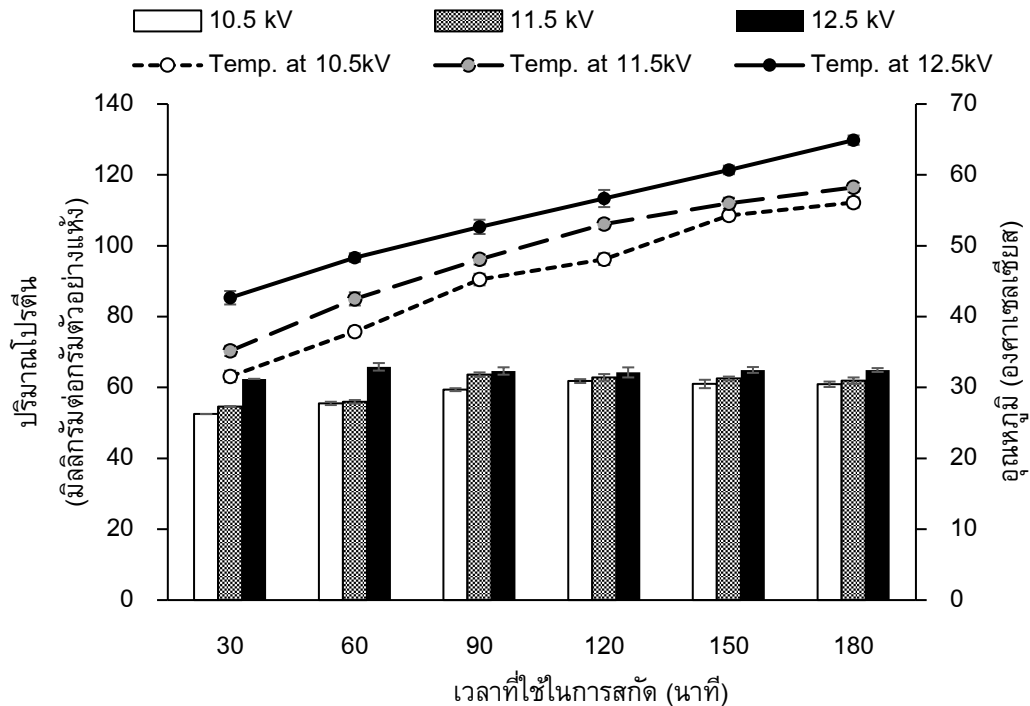
ในส่วนผลการศึกษาค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่แรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับ แสดงในรูป 2 พบว่าค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่แรงดันไฟฟ้าแต่ละระดับมีค่ามากกว่า 0 จึงแสดงให้เห็นว่าสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะสามารถทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอย่างเกิดรูพรุนในระหว่างการสกัดได้ โดยค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์สูงสุดของการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 11.5 และ 12.5 กิโลโวลต์ คือ 0.32 0.45 และ 0.60 ที่เวลาการสกัด 120 90 และ 60 นาที ตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้เคียง 1 จึงแสดงให้เห็นว่าที่สภาวะนี้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายมากที่สุด นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่ 12.5 kV เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีค่าเท่ากับ 62.43 ± 1.07 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้งที่เวลาการสกัด 30 นาที และ มีค่าเท่ากับ 65.83 ± 1.04 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ที่เวลาการสกัด 60 นาที ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เวลา 60 นาทีที่มีค่ามากกว่าที่เวลา 30 นาที

การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด

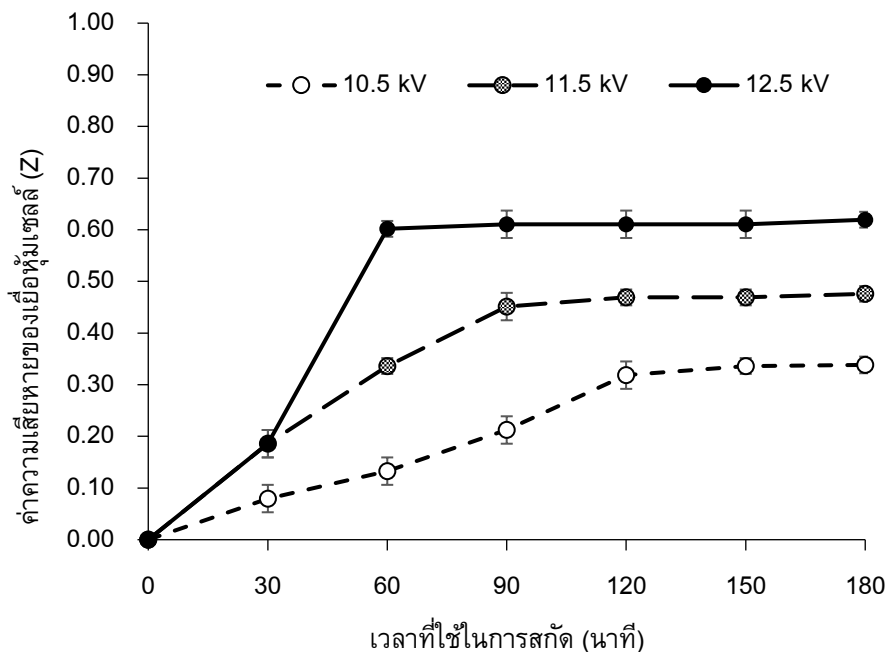
ผลการศึกษาปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิตและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจลหะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆ ตามเวลาการสกัดที่เหมาะสม

แสดงในตาราง 1 ซึ่งพบว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงที่สุดแต่มีค่าความสิ้นเปลืองพลังงาน

จำเพาะในการสกัดโปรตีนน้อยที่สุด เนื่องจากสภาวะนี้สามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณมากและใช้เวลาในการสกัดสั้นกว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์



รูป 1 ปริมาณโปรตีน (แท่ง) และอุณหภูมิ (เส้น) ของสารละลายในระหว่างการสกัด



รูป 2 ค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะ

ตาราง 1 ปริมาณโปรตีน ร้อยละผลผลิต เวลาการสกัดและความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะที่สกัดด้วยแรงดันไฟฟ้าแตกต่างกัน

แรงดันไฟฟ้า (กิโลโวลต์)	เวลา การสกัด (นาที)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อ กรัมตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต	ความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ (กิโลวัตต์-ชั่วโมง ต่อกิโลกรัม)
10.5	120	61.81 ^b ±1.18	53.33 ^b ±0.66	391.47 ^a ±8.51
11.5	90	63.66 ^b ±0.92	54.55 ^a ±0.40	260.93 ^b ±4.86
12.5	60	65.83 ^a ±1.04	54.92 ^a ±0.42	149.85 ^c ±5.19

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ในส่วนผลการศึกษสมบัติเชิงหน้าที่ของตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆ ตามเวลาการสกัดที่เหมาะสม แสดงในตาราง 2 ซึ่งพบว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูง

แบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงที่สุดแต่มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำที่สุด

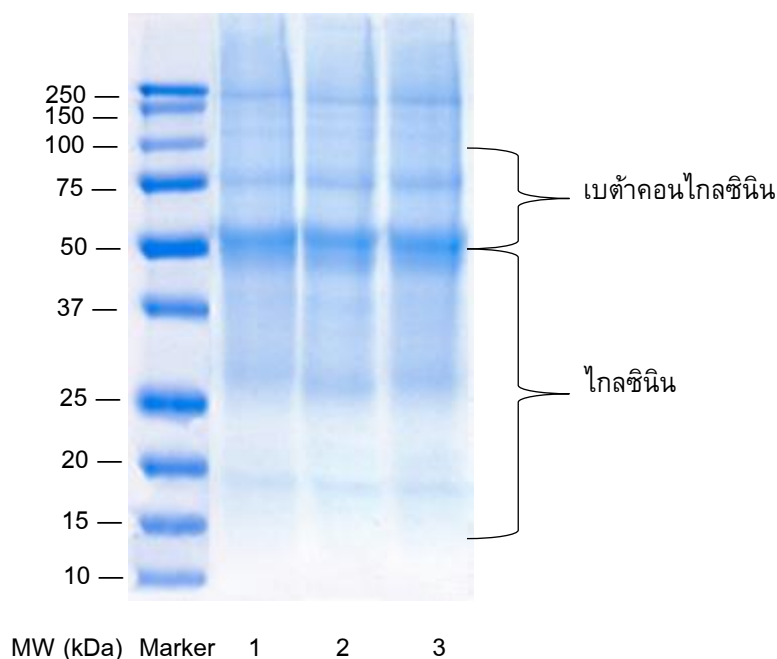
ตาราง 2 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะด้วยแรงดันไฟฟ้าที่แตกต่างกัน

แรงดันไฟฟ้า (กิโลโวลต์)	เวลา การสกัด (นาที)	ความสามารถ ในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการอุ้มน้ำ (กรัมน้ำต่อกรัม ตัวอย่างแห้ง)
10.5	120	33.33 ^b ±1.26	7.84 ^b ±1.96	1.31 ^b ±1.13	1.33 ^a ±0.04
11.5	90	34.64 ^b ±1.96	10.46 ^{ab} ±1.13	3.92 ^{ab} ±1.96	1.30 ^{ab} ±0.04
12.5	60	39.13 ^a ±2.17	12.42 ^a ±1.13	5.23 ^a ±1.13	1.26 ^b ±0.02

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

รูป 3 แสดงรูปแบบโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้าระดับต่างๆ เทียบกับ Marker พบว่า ทุกตัวอย่างปรากฏแถบโปรตีนอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนชนิดไกลซินิน (11S) และเบต้าคอนไกลซินิน (7S) และเมื่อพิจารณาความเข้มของโปรตีนที่สามารถแสดงถึงปริมาณของโปรตีนพบว่า ทุกแถบของตัวอย่างมีความเข้มของโปรตีนตรงตำแหน่งเบต้าคอนไกลซินิน

นั้นมากกว่าตำแหน่งโปรตีนไกลซินิน แต่อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละแถบของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยความเข้มของโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลซินินของตัวอย่างที่ผ่านสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ (แถบที่ 3) มีมากที่สุด ในขณะที่ความเข้มของโปรตีนในกลุ่มไกลซินินของตัวอย่างในแถบที่ 1 ถึง 3 ไม่มีความแตกต่างกัน



รูป 3 รูปแบบโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะด้วยแรงดันไฟฟ้าที่แตกต่างกัน โดยที่ (1) คือ ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ 10.5 กิโลโวลต์ (2) คือ ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ 11.5 กิโลโวลต์ (3) คือ ตัวอย่างที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะที่ 12.5 กิโลโวลต์

การศึกษาผลของอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่ใช้ในการสกัด

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตของโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนที่แตกต่างกันแสดงในตาราง 3 พบว่าปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตมีค่ามากขึ้น

เมื่อเพิ่มอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่สูงขึ้น แต่จะมีค่าลดลงเมื่ออัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำสูงกว่า 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร และเมื่อพิจารณาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ต่างกันนั้น พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่เหมาะสมในการสกัดจึงเท่ากับ 1:15

ตาราง 3 ปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง)	ร้อยละผลผลิต
1:5	66.65 ^c ±0.38	55.44 ^b ±0.84
1:10	65.68 ^c ±0.44	55.77 ^b ±1.04
1:15	74.28 ^a ±1.01	60.67 ^a ±1.51
1:20	72.42 ^b ±0.34	57.70 ^b ±1.77

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

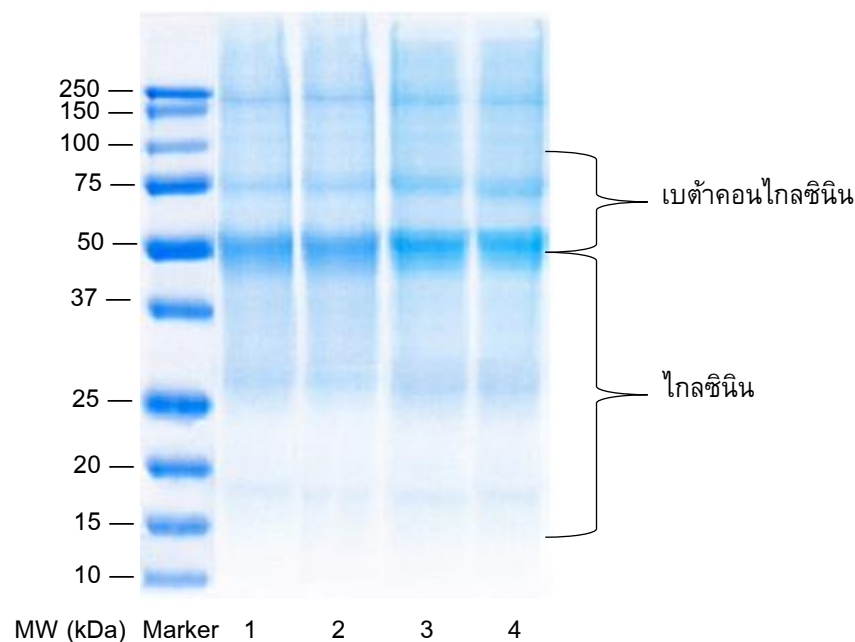
ในส่วนผลการศึกษาสสมบัติเชิงหน้าที่ของตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนที่แตกต่างกันแสดงในตาราง 4

พบว่าสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนที่แตกต่างกันนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตาราง 4 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน (ร้อยละโดยมวล ต่อปริมาตร)	ความสามารถ ในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถใน การเกิดฟอง (ร้อยละ)	ความคงตัวของฟอง (ร้อยละ)	ความสามารถ ในการอุ้มน้ำ (กรัมน้ำต่อ กรัมตัวอย่างแห้ง)
1:5	42.94 ^{ns} ±1.05	13.07 ^{ns} ±1.50	4.58 ^{ns} ±1.14	1.29 ^{ns} ±0.01
1:10	42.44 ^{ns} ±1.38	12.75 ^{ns} ±0.98	5.23 ^{ns} ±1.13	1.28 ^{ns} ±0.02
1:15	43.84 ^{ns} ±0.72	13.73 ^{ns} ±1.96	6.54 ^{ns} ±1.14	1.27 ^{ns} ±0.01
1:20	43.94 ^{ns} ±1.99	13.40 ^{ns} ±1.50	5.88 ^{ns} ±1.96	1.29 ^{ns} ±0.01

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูป 4 รูปแบบโปรตีนที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจิ้งหะในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่แตกต่างกัน

- โดยที่ (1) คือ ตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วน 1:5 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
 (2) คือ ตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วน 1:10 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
 (3) คือ ตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วน 1:15 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
 (4) คือ ตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วน 1:20 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร

เมื่อพิจารณารูปแบบโปรตีนตัวเหลืองที่สกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ ในอัตราส่วนตัวเหลืองต่อน้ำที่แตกต่างกันเทียบกับ Marker แสดงดังรูป 4 พบว่าแถบโปรตีนของทุกตัวอย่างอยู่ตรงตำแหน่งมวลโมเลกุลของโปรตีนชนิดไกลซินินและเบต้าคอนไกลซินิน และเมื่อพิจารณาความเข้มของแถบโปรตีนที่สามารถแสดงถึงปริมาณของโปรตีนพบว่า ความเข้มของแถบโปรตีนในแต่ละแถบของตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกัน โดยความเข้มของแถบโปรตีนกลุ่มไกลซินินและเบต้าคอนไกลซินินของตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วนตัวเหลืองต่อน้ำ 1:15 และ 1:20 โดยมีมวลต่อปริมาตร (แถบที่ 3 และ 4) มีมากกว่าตัวอย่างที่สกัดในอัตราส่วนตัวเหลืองต่อน้ำ 1:5 และ 1:10 โดยมีมวลต่อปริมาตร (แถบที่ 1 และ 2)

วิจารณ์

การศึกษาหาเวลาการสกัดในแต่ละแรงดันไฟฟ้า

จากผลการศึกษาที่พบว่า เมื่อเวลาการสกัดนานขึ้นปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีปริมาณมากขึ้น จนถึงเวลาเข้าสู่สมดุลของการสกัดปริมาณโปรตีนจะมีค่าคงที่นั้นมิสาเหตุจาก การเกิดความต่างศักย์ทางไฟฟ้าระหว่างภายในและภายนอกของเซลล์พืชในระหว่างที่ไฟฟ้าผ่านเข้าไปในตัวอย่าง ทำให้เกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ [10] และเนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนมีไดโพลโมเมนต์ไฟฟ้า (Electric dipole moment) จึงทำให้เมื่อให้สนามไฟฟ้าแรงสูงแก่สารละลายตัวอย่าง แรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตของโปรตีนจะจับตัวและเคลื่อนที่ไปตามทิศทางของสนามไฟฟ้า [11] และถ่ายเทออกมาอยู่ในสารละลาย ทำให้เกิดการสะสมของปริมาณโปรตีนในสารละลายมากขึ้น จนกระทั่งปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในเซลล์หมดหรือไม่สามารถถ่ายเทออกมาจากเซลล์ ปริมาณโปรตีนในสารละลายจึงมีค่าคงที่

ในส่วนผลการศึกษาที่พบว่า การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ ใช้เวลาการสกัดสั้นกว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์ นั้นเกิดจากความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในระหว่างการสกัดดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น โดยหากเพิ่ม

แรงดันไฟฟ้าสูงขึ้นก็ส่งผลให้ความต่างศักย์ทางไฟฟ้าระหว่างภายในและภายนอกของเซลล์พืชยิ่งมากขึ้น ทำให้รูพรุนของเซลล์พืชในระหว่างการสกัดก็มีมากขึ้น จึงทำให้การถ่ายเทโปรตีนออกมาจากเซลล์ได้เร็วขึ้นเวลาที่ใช้จึงน้อยลง โดยสามารถพิจารณาได้จากค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (Z) ที่แสดงให้เห็นว่าการใช้แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ ส่งผลให้มีค่า Z สูงที่สุด โดยผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Goettel และคณะ [10] ที่รายงานว่า การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้าสูงขึ้น ทำให้เกิดรูพรุนของเซลล์พืชในระหว่างการสกัดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งช่วยในการถ่ายเทโปรตีนออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ผลการศึกษาอุณหภูมิสารละลายในระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่พบว่า เมื่อเวลาการสกัดนานขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิของตัวอย่างในระหว่างการสกัดเพิ่มสูงขึ้น โดยเป็นผลมาจากการเกิดความร้อนแบบโอห์มมิก ซึ่งเป็นกระบวนการทางความร้อนที่เกิดจากการปล่อยกระแสไฟฟ้าไหลผ่านอาหารและเกิดการต้านทานการไหลของกระแสไฟฟ้าในอาหารจนเกิดเป็นความร้อน [12] แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาอุณหภูมิสารละลายที่สภาวะ 10.5 กิโลโวลต์ เวลา 120 นาที 11.5 กิโลโวลต์ เวลา 120 นาที และ 12.5 กิโลโวลต์ เวลา 60 นาที นั้นอยู่ในช่วง 48 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่ทำให้โปรตีนในตัวอย่างเกิดการเสียสภาพจากความร้อน เนื่องจากมีรายงานของ Liu และคณะ [13] ที่แสดงว่าโปรตีนในตัวอย่าง จะเกิดการเสียสภาพเมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

การศึกษาผลของแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด

จากผลการศึกษาที่พบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตสูงที่สุด โดยที่มีความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะในการสกัดโปรตีนน้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการเร่งกระบวนการถ่ายเทมวลสาร จากการเกิดรูพรุน

จำนวนมากบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ [14] ทำให้สามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณมากกว่าการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่ 10.5 และ 11.5 กิโลโวลต์

ในส่วนผลการศึกษาที่พบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาทีมีความสามารถในการละลาย กำลังการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงที่สุด เนื่องจากเกิดรูพรุนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เป็นจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Dehez และคณะ [15] ที่รายงานว่าการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะจะเกิดรูพรุนบนเยื่อหุ้มเซลล์ตรงบริเวณที่เป็นหมู่ไฮโดรฟิลิก จึงทำให้ความสามารถในการละลายมีค่าสูงขึ้นและเมื่อค่าความสามารถในการละลายน้ำสูงจะส่งผลให้มีความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองสูงขึ้นเช่นกัน เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดีจะสามารถแพร่กระจายไปยังผิวน้ำระหว่างอากาศกับน้ำ (Air-water interface) ได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางที่เก็บกักอากาศไว้ได้ดีและส่งผลให้ค่าความสามารถในการอมน้ำต่ำ เนื่องจากมีการลดลงของหมู่ไฮโดรโฟบิก [16,17] และยังสอดคล้องกับผลการศึกษาแบบโปรตีนที่พบว่า การสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะที่แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที มีโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลูซินซึ่งเป็นโปรตีนที่ส่งผลให้มีความสามารถในการละลาย ความสามารถในการเกิดฟองและความคงตัวของฟองที่ดีอยู่มากที่สุด นอกจากนี้ หากพิจารณาชนิดโปรตีนที่มีอยู่ในถั่วเหลืองตามธรรมชาติ นั้นจะมีกลุ่มของไกลซินีนอยู่มากกว่ากลุ่มคอนไกลูซิน แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะสามารถส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและแบบแผนของโปรตีน โดยโปรตีนกลุ่มไกลซินีนมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.4-55 kDa ซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดเล็กกว่าโปรตีนกลุ่มคอนไกลูซินที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 67-91 kDa จึงสามารถเกิดการสลายตัวและสูญเสียโครงสร้างได้ง่ายกว่าโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu และคณะ [18] ที่รายงานว่า

กระบวนการทำเต้าหู้จากถั่วเหลืองส่งผลให้มีโปรตีนกลุ่มเบต้าคอนไกลูซินมากกว่าโปรตีนกลุ่มไกลซินีน

การศึกษาผลของอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำที่ใช้ในการสกัด

จากผลการศึกษาที่พบว่า การสกัดโปรตีนถั่วเหลืองในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำ 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร มีปริมาณโปรตีนและร้อยละผลผลิตมากที่สุด เนื่องจากการเพิ่มปริมาณตัวทำละลายส่งผลให้ความเข้มข้นของสารรอบอนุภาคตัวอย่างลดลง ทำให้โปรตีนภายในเซลล์ถ่ายเทออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้น ในขณะที่การเพิ่มปริมาณตัวทำละลายในการสกัดมากเกินไปจะส่งผลให้สกัดโปรตีนได้ปริมาณลดลง เนื่องจากการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะจะอาศัยการเคลื่อนที่ของไอออนเพื่อให้เกิดการเสียดสีกันระหว่างโมเลกุล จนเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาดเป็นรูพรุน ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลายจึงเป็นการลดโอกาสการชนหรือเสียดสีกันของโมเลกุล [19] ในส่วนของผลการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่พบว่าการใช้อัตราส่วนของถั่วเหลืองต่อตัวน้ำที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อค่าสมบัติเชิงหน้าที่อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ He และคณะ [20] ซึ่งรายงานว่าอัตราส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อร้อยละผลผลิตแต่ไม่มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนงาซีมอน

เมื่อพิจารณาผลการศึกษาทั้งหมดแล้วจะเห็นได้ว่า การใช้แรงดันไฟฟ้า 12.5 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ในอัตราส่วนถั่วเหลืองต่อน้ำ เท่ากับ 1:15 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยสนามไฟฟ้าแรงสูงแบบจังหวะ โดยมีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เท่ากับ 74.28 ± 1.01 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งมีความสูงกว่การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วยวิธีการใช้สารเคมีถึงร้อยละ 28.25 [21]

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.): NRCT5-RR163013-M29 และขอขอบพระคุณ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และบริษัท ไดโอเล็กทริก เทคโนโลยี จำกัด สำหรับการสนับสนุนทุนการวิจัย สถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Yu X, Gouyo T, Grimi N, Bals O, Vorobiev E. Pulsed electric field pretreatment of rapeseed green biomass (stems) to enhance pressing and extractives recovery. *Bioresour Technol.* 2016;199:194-201.
2. Lopez N, Puertolas E, Condon S, Raso J. Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *J Food Eng.* 2009;90:60-66.
3. Ghosh S, Gillis A, Sheviriyov J, Levkov K. Towards waste meat biorefinery: Extraction of proteins from waste chicken meat with non-thermal pulsed electric fields and mechanical pressing. *J Clean Prod.* 2018;208: 220-231.
4. Loginova K V, Lebovka N I, Vorobiev E. Pulsed electric field assisted aqueous extraction of colorants from red beet. *J Food Eng.* 2011;106:127-133.
5. Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72(1-2):248-254.
6. Yousf N, Nazir F, Salim R, Ahsan H, Sirwal A. Water solubility index and water absorption index of extruded product from rice and carrot blend. *J Pharmacog Phytochem.* 2017;6(6): 2165-2168.
7. Naowakul B, Wirjantoro T, Phianmongkhon A. Effects of speed and time of wet milling on properties of dietary fiber powder from pomelo's albedo. *Food App Biosci J.* 2013;1 (1):34-48.
8. Chareemuy W, Tangduangdee C, Viriyarattanasak C. Dehulling effectiveness and properties of full-fat soy flour as affected by thermal treatments. *J Agric Sci.* 2020;49 (1):96-112.
9. Polikovskiy M, Fernand F, Sack M, Frey W, Müller G, Golberg A. Towards marine biorefineries: Selective proteins extractions from marine macroalgae *Ulva* with pulsed electric fields. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2016;37:194-200.
10. Goettel M, Eing C, Gusbeth C, Straessner R, Frey W. Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae. *Algal Res.* 2013;2(4):401-408.
11. Valle E D, Marracino P, Pakhomova O, Libert M, Apollonio F. Nanosecond pulsed electric signals can affect electrostatic environment of proteins below the threshold of conformational effects: The case study of SOD1 with a molecular simulation study. *PLoS One.* 2019;14(8):e0221685.
12. Hosain D, Hosainpour A, Farzad N, Mohammad-Hadi K. Ohmic processing: temperature dependent electrical conductivities of lemon juice. *Modern App Sci.* 2011;5(1):209-216.
13. Liu Z, Chang SKC, Li L, Tatsumi E. Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. *Food Res Inter.* 2004;37 (8):815-822.

14. Redondo D, Venturini M E, Luengo E, Raso J, Arias E. Pulsed electric fields as a green technology for the extraction of bioactive compounds from thinned peach by-products. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2018;45:335-343.
15. Dehez F, Delemotte L, Kramar P, Miklavcic D, Tarek M. Evidence of conducting hydrophobic nanopores across membranes in response to an electric field. *J Physic Chem C*. 2014;118(13):6752-6757.
16. Chindapan R. Food foams. *J Food Technol*, Siam University. 2005;1(1):12-16.
17. Rattanapanone N. Basic principles of food processing, 1st ed. Bangkok: Odeon Store; 2001. 148 p.
18. Xu Y, Wang Z, Qi B, Ran A, Guo Z, Jiang L. Effect of oxidation on quality of Chiba tofu produced by soy isolate protein when subjected to storage. *Foods*. 2020; 9(12):1877.
19. He G, Yin Y, Yan X, Wang Y. Application of pulsed electric field for treatment of fish and seafood. In: Miklavcic D, editor. *Handbook of electroporation*, 1st ed. Zug: Springer International Publishing AG. 2017. p. 2637-2655.
20. He D, Zhang Z, Li H, Xia Y, Li X, Chen T. Optimizing functional properties of perilla protein isolate using the response surface methodology. *Food Sci Technol*. 2018;38(2): 348-355.
21. Kanthamoon K, Varith J, Narkprasom K, Tanongkankit Y. Application of pulsed electric field for extraction of soy protein. *Proceeding of the 12th International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being (STISW XII)*; 2020 Jun 26-28; Phetchaburi, Thailand. Silpakorn University; 2020.