บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วเหลือง (Soybean)

2.1.1 ลักษณะทางวิทยาศาสตร์และแหล่งปลูก

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glysine max*. (L.) Merr. มีแหล่งกำเนิดในแถบเอเชียตอนใต้ ต่อมาแพร่กระจายไปยังทวีปต่างๆ เช่น ยุโรปและอเมริกา ในปัจจุบันสหรัฐอเมริกาเป็นผู้ผลิตถั่วเหลืองรายใหญ่ที่สุดในโลกโดยมีผลผลิตกว่า 60% ของตลาดโลกและเป็นผลผลิตทางการเกษตรอันดับต้นๆรองจากข้าวโพดและข้าวสาลี (คมสันและวารี, 2542) สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกถั่วเหลืองในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำปางและแพร่ ภาคกลางตอนเหนือ ได้แก่ จังหวัดสุโขทัย เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ลพบุรีและสระบุรี และภาคอีสานบางส่วน ได้แก่ จังหวัดเลยและนครราชสีมา (สมชาย, 2524)

2.1.2 ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง (Chemical composition)

ถั่วเหลืองมีส่วนประกอบทางเคมีโดยเฉลี่ย ได้แก่ โปรตีน 40% คาร์โบไฮเดรต 35% ไขมัน 20% และเถ้า 5%โดยน้ำหนักแห้ง (Macrae et al., 1993) ทั้งนี้ผันแปรตามปัจจัยต่างๆ เช่น สายพันธุ์ สภาวะแวดล้อม ฤดูกาล และสภาพภูมิประเทศ เป็นต้น (Liu, 1997)

2.1.2.1 โปรตีน (Protein)

ถั่วเหลืองจัดเป็นแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูกและให้แคลอรีแก่ร่างกายในปริมาณที่เพียงพอ โดยถั่วเหลืองเมล็ดแห้งมีโปรตีนอยู่ประมาณ 38-44% ในขณะที่ถั่วโดยทั่วไปมีโปรตีนประมาณ 20-30% (Snyder and Kwon,1987) แต่ถั่วเหลืองมีกรดอะมิโนเมทไธโอนิน (Methionine) และซิสเตอีน (Cysteine)ในปริมาณที่ต่ำ ถึงแม้จะมีไลซีน (Lysine) สูงกว่าถั่วชนิดอื่นๆก็ตาม

โปรตีนในถั่วเหลืองสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มย่อย (Fraction) หลังจากแยกโดยใช้ Ultracentrifuge ได้แก่ 2 S, 7 S, 11 S และ 15 S ซึ่งค่า S หมายถึง Svedburg unit และตัวเลขที่มีค่ามากแสดงว่ามีน้ำหนักโมเลกุลมาก (Macrae et al., 1993) แสดงดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 กลุ่มของโปรตีนในถั่วเหลือง

กลุ่มของโปรตีน (Fraction)	ปริมาณโปรตีน (%)	Components	มวลโมเลกุล (Da)
2 S	22	Trypsin inhibitors	8,000-21,500
		Cytochrome C	12,000
7 S	37	Hemagglutinin	110,000
		Lipoxygenase	102,000
		β-amylase	61,700
		7 S globulin	180,000-210,000
11 S	31	11 S globulin	350,000
15 S	11	-	600,000

ที่มา: Wolf (1970)

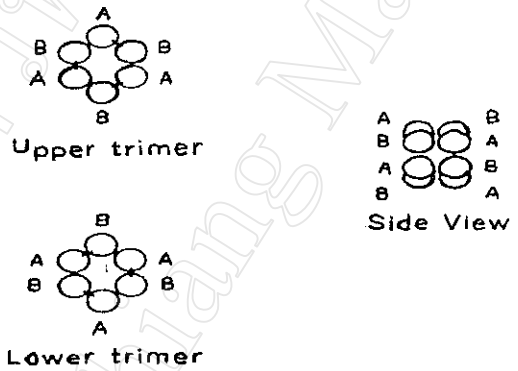
โปรตีนส่วนใหญ่ของถั่วเหลืองพบใน 7 S และ 11 S fraction และ 80% มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 100,000 Da ยกเว้นใน 2 S fraction มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำโดยประกอบด้วย Cytochrome C Bowman-Brick Inhibitor (น้ำหนักโมเลกุล 8,000 Da) และ Kunitz Trypsin Inhibitor (น้ำหนักโมเลกุล 21,500 Da) (Macrae et al., 1993) สำหรับใน 7 S fraction จะมี 7 S globulin สูงถึง 50% หรือคิดเป็น 18% ของปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองทั้งหมด นอกนั้นเป็น β-amylase Hemagglutinin และ Lipoxygenase ส่วนใน 11 S และ 15 S fraction เป็นโปรตีนที่บริสุทธิ์ โดยที่ 11 S fraction มีเฉพาะ 11 S glycinin เช่นเดียวกับใน 15 S fraction ที่เป็นไดเมอร์ (Dimer) ของ Glycinin พวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

โปรตีนถั่วเหลืองที่สำคัญ ได้แก่

2.1.2.1.1 Glycinin (11 S fraction)

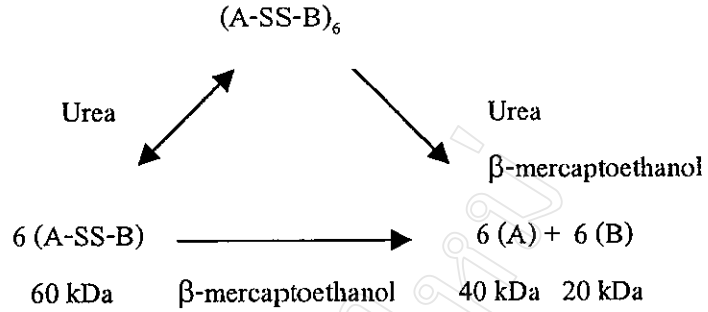
Glycinin มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 302,000-375,000 Da ขึ้นกับวิธีการที่ใช้ มีค่า Isoelectric point เท่ากับ 4.64 ปกติมีปริมาณ 25-35% ของโปรตีนถั่วเหลืองทั้งหมดหรือคิดเป็น 40% ของโปรตีนโกลบูลินทั้งหมด (Liu, 1997)

จากการศึกษาด้วย Electron microscopy และ X-ray light scattering พบว่าโครงสร้างจตุรภูมิ (Quaternary structure) ของ Glycinin ประกอบด้วย 12 หน่วยย่อย (subunits) โดยที่ 6 หน่วยย่อยเป็นประเภทแอซิดิคเปปไตด์ (Acidic peptide) แต่ละหน่วยย่อยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 34-44 kDa และอีก 6 หน่วยย่อยเป็นประเภทเบซิดิคเปปไตด์ (Basidic peptide) แต่ละหน่วยย่อยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20 kDa Glycinin มีการเรียงตัวเป็นรูปหกเหลี่ยม (Hexagon) สองอันวางซ้อนทับกันและตรงกลางกลวงเป็นรูปทรงกระบอก โดยในแต่ละชั้นพบคู่ของแอซิดิคเปปไตด์และเบซิดิคเปปไตด์เชื่อมต่อกันทั้งหมด 3 คู่ (Badley et al., 1975) ดังภาพ 2.1



ภาพ 2.1 โครงสร้างจตุรภูมิของ Glycinin
ที่มา: Snyder and Kwon (1987)

ทั้งนี้แอซิดิคเปปไตด์ (A) และเบซิดิคเปปไตด์ (B) จะเชื่อมกันอย่างถาวรโดยพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) และพันธะไฮโดรเจนกลายเป็น Intermediary subunits เช่น A-S-S-B ทำให้โครงสร้างของ Glycinin สามารถแตกตัวออกได้เมื่อใช้ยูเรีย กรดแก่ เบสแก่หรือความร้อนร่วมกับ Disulfide reducing agent เช่น β-mercaptoethanol แสดงดังภาพ 2.2



ภาพ 2.2 กลไกการแตกตัวออกของ Glycinin

ที่มา: Liu (1997)

Intermediary subunits ที่เกิดขึ้นพบว่ามี 5 ชนิดหลัก ได้แก่ $A_{1a}B_2$ $A_{1b}B_{1b}$ A_2B_{1a} A_3B_4 และ $A_5A_4B_2$ ซึ่งแบ่งตามสมบัติทางกายภาพได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยกลุ่มที่ 1 มีมวลโมเลกุล 58 kDa มีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนินสูง ส่วนกลุ่มที่ 2 มีขนาดใหญ่กว่า คือมีน้ำหนักโมเลกุล 62-69 kDa มีปริมาณเมทไธโอนินต่ำกว่า แสดงดังตาราง 2.2

ตาราง 2.2 สมบัติทางกายภาพของ Intermediary subunits ของ Glycinin

กลุ่ม	โครงสร้างของหน่วยย่อย (Subunit structure)	มวลโมเลกุล (kDa)	จำนวนเมทไธโอนิน
1	$A_{1a}B_2$	58	5-6
1	$A_{1b}B_{1b}$	58	5-6
1	A_2B_{1a}	58	7-8
2	A_3B_4	62	3
2	$A_5A_4B_2$	69	3

ที่มา: Liu (1997)

โครงสร้างปฐมภูมิ (Primary structure) ของ Glycinin เป็นสายโพลีเปปไตด์ โดยที่แอซิดิคเปปไตด์มีกรดอะมิโนจำนวน 278 ตัวและเบซิดิคเปปไตด์มีกรดอะมิโน 180 ตัว สำหรับโครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) เมื่อตรวจสอบโดยใช้ Fourier transform infrared (FTIR) พบว่าประกอบด้วยโครงสร้างแบบเกลียวอัลฟ่า (α-helix) 24% แบบแผ่นเบต้าชีท

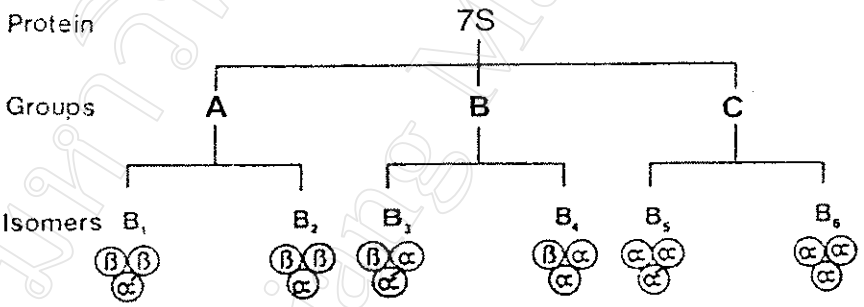
(β-sheet) 30% แบบเทิร์น (Turns) 31% และโครงสร้างที่ไม่เป็นระเบียบ (Unordered forms) 12% (Abbott et al.,1996) แต่โครงสร้างตติยภูมิ (Tertiary structure) ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

2.1.2.1.2 Conglycinin

(1) β-conglycinin

β-conglycinin เป็นโปรตีนโกลบูลิน (7 S globulin) ที่สำคัญในกลุ่ม 7 S fraction ทั้งนี้ β-conglycinin อาจอยู่ในรูปของโมโนเมอร์ (7 S form) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 150-175 kDa หรืออาจอยู่ในรูปไดเมอร์ (9 S form) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 370 kDa

เมื่ออยู่ใน 7 S form จะมีโครงสร้างจตุรภูมิ (Quaternary structure) เป็น trimer ที่ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย ได้แก่ α α′ และ β จัดเรียงตัวกันเป็นวงกลม ทั้งนี้หน่วยย่อยต่างๆ เมื่อรวมตัวกันสามารถทำให้เกิดเป็นไอโซเมอร์ที่มีสมบัติแตกต่างกันได้ 6 แบบ (B_1-B_6) ดังภาพ 2.3



ภาพ 2.3 ไอโซเมอร์ 6 แบบของ 7 S form

ที่มา: Nakai and Modler (1996)

ทั้งนี้ไอโซเมอร์ทั้ง 6 แบบแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามปริมาณ β-subunit ที่เป็นองค์ประกอบ คือ กลุ่ม A (B_1 และ B_2) มี β-subunit 2 หน่วยต่อโมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 141 kDa ส่วนกลุ่ม B (B_3 และ B_4) มี β-subunit 1 หน่วยโดยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 156 kDa และกลุ่ม C (B_5 และ B_6) ไม่มี β-subunit มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 171 kDa (Thanh and Shibasaki, 1976b) แสดงดังตาราง 2.3 นอกจากนี้ยังพบไอโซเมอร์ในรูป β_0-conglycinin หรือ β_3-conglycinin ซึ่งประกอบด้วย β-subunit ทั้งหมด มีกรดอะมิโนด้าน

ปลาย N เป็นลิวซีน (Leucine) น้ำหนักโมเลกุลรวมประมาณ 137 kDa มีค่า Isoelectric point ประมาณ 5.66-6.00 (Sykes and Gayler, 1981)

ตาราง 2.3 สมบัติทาง Physicochemical ของ β-conglycinin component

ลักษณะเฉพาะ	7 S (monomer)	9 S (dimer)	7 S Isomer			
			กลุ่ม A	กลุ่ม B	กลุ่ม C	β_3
น้ำหนักโมเลกุล (kDa)						
-From sedimentation stokes radius	175					137
-From sedimentation diffusion	150	370				
-From subunit size			141	156	171	
กรดอะมิโนด้านปลาย N	Val,Leu	Val,Leu	Val(1), Leu(2)	Val(2) Leu(1)	Val(3) -	- Leu(3)
คาร์โบไฮเดรต	Mannose Glucosamine					

ที่มา: Nakai and Modler (1996)

สำหรับหน่วยย่อยทั้ง 3 ชนิด คือ α α′ และ β มักอยู่ในรูปของไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) โดยมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 4-5% จับกับกรดแอสพาร์ติค (Aspartic) ทางด้านปลาย N ของโมเลกุล กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบเป็นพวกกลูตาเมต (Glutamate) หรือกลูตามีน (Glutamine) แอสพาร์เตค (Aspartate) หรือแอสพาร์ราจีน (Asparagine) ลิวซีน (Leucine) และอาร์จีนีน (Arginine) โดยที่ α, α′-subunit จะมีกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบคล้ายกันมาก คือ ไม่มีซิสเตอีน (Cysteine) มีเมทไธโอนิน (Methionine) ในปริมาณที่น้อย ส่วน β-subunit จะไม่มีเมทไธโอนิน ส่วนโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส (Mannose) 39 หน่วย และกลูโคซามีน (Glucosamine) 12 หน่วยต่อโมลของโปรตีน (Koshiyama, 1969) ดังตาราง 2.4

β-conglycinin จะอยู่ในรูป 9 S form เมื่อมีการเปลี่ยน Ionic strength จาก 0.5 เป็น 0.1 หรือมีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 4.8-11.0 ซึ่งโครงสร้างของ 9 S form เป็น Hexamer ที่เกิดจาก

การรวมตัวกันของ Trimer กลายเป็นวงกลมวางซ้อนกัน 2 ชั้นซึ่งคล้ายคลึงกับ Glycinin (Thanh and Shibasaki, 1976b)

ตาราง 2.4 สมบัติทาง Physicochemical ของหน่วยย่อยต่างๆใน β-conglycinin

ลักษณะเฉพาะ	Subunits		
	α	α′	β
Isoelectric point (pI)	4.90	5.18	5.66-6.00
คาร์โบไฮเดรต (โมล)			
-แมนโนส (Mannose) %	3.88	3.81	2.46
-กลูโคซามีน (Glucosamine) %	1.27	1.22	0.84
น้ำหนักโมเลกุล (kDa)			
-Gel filtration	57	57	42
-Urea/acetate (10% acrylamide gel)	68	68	42
-SDS (10% acrylamide gel)	59	58	44
-Urea/SDS (9% acrylamide gel)	57	58	46

ที่มา: Nakai and Modler (1996)

(2) γ-conglycinin

γ-conglycinin เป็น 7 S globulin ชนิดหนึ่ง มีค่า Isoelectric point เท่ากับ 5.80 ภายในโมเลกุลประกอบด้วยหน่วยย่อยทั้งหมด 9 หน่วย โดยมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ 5.49% และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 102-104 kDa (Koshiyama and Fukushima, 1976b) ซึ่งใกล้เคียงกับ Hemagglutinin และ Lipoxygenase สำหรับกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของ γ-conglycinin นั้นจะคล้ายคลึงกับ β-conglycinin คือ มีกรดอะมิโนแอซิดิค (Acidic amino acid) และไลซีน (Lysine) ในปริมาณมากและยังคล้ายคลึงกับ Glycinin คือ มีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบต่ำ

(3) α-conglycinin (2 S globulin)

α-conglycinin เป็นโปรตีนในกลุ่ม 2 S fraction เมื่อแยกโดยใช้ Electrophoresis พบว่ามีการเคลื่อนที่เหมือนกับ Kunitz trypsin inhibitor (Catimpoolas and Ekenstam, 1969) ทำให้การบอกถึงกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบและกรดอะมิโนด้านปลาย N ทำได้ยาก เนื่องจากไม่สามารถแยก Trypsin inhibitors และ α-conglycinin ออกจากกันได้ดี (Wolf, 1978)

2.1.2.2 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates)

ในถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 1 ใน 3 หรือคิดเป็น 35% ของน้ำหนักเมล็ดแห้ง มักใช้เป็นอาหารสัตว์ เนื่องจากไม่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมเหมือนโปรตีนและน้ำมัน สามารถแบ่งคาร์โบไฮเดรตออกได้เป็น 2 ประเภทดังนี้

2.1.2.2.1 คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ในน้ำ (Soluble carbohydrates)

ในถั่วเหลืองที่อ่อน (Green and immature) มีน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharide) เป็นจำนวนมาก เช่น น้ำตาลกลูโคส (Glucose) กาแลกโตส (Galactose) แต่จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไดแซคคาไรด์ (Disaccharide) และโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) เมื่อถั่วเหลืองแก่ขึ้น ซึ่งมีรวมกันประมาณ 10% ได้แก่ น้ำตาลซูโครส (Sucrose) ประมาณ 5% สตาคีโอส (Stachyose) ประมาณ 4 % และแรฟฟิโนส (Raffinose) ประมาณ 1% ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สภาพการปลูก ความแก่อ่อนของเมล็ดรวมถึงวิธีการวิเคราะห์ (Snyder and Kwon, 1987)

ในแง่คุณค่าทางโภชนาการพบว่าร่างกายสามารถนำน้ำตาลในถั่วเหลืองไปใช้ประโยชน์ได้น้อยโดยเฉพาะน้ำตาลสตาคีโอสและแรฟฟิโนสที่ร่างกายคนเราไม่สามารถย่อยได้ เพราะขาดเอนไซม์ α-galactosidase แต่จะถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์ธรรมชาติในลำไส้ (Intestinal flora) ผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน ไนโตรเจนและมีเธนออกมาซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดแก๊สในทางเดินอาหารขึ้น (Flatulence) (Liu, 1997)

2.1.2.2.2 คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายในน้ำ (Insoluble carbohydrates)

ในถั่วเหลืองคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายในน้ำส่วนมากเป็นจำพวกเซลลูโลส (Cellulose) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูงและมักรวมอยู่ในส่วนของผนังเซลและแทรกในระหว่างเซลต่างๆ ประกอบด้วยเพคติน (Pectin) 30% เซลลูโลส (Cellulose) 20% และเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) 50% ส่วนแป้งพบในปริมาณเล็กน้อย (น้อยกว่า 1%) ดังนั้นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายในน้ำจึงเป็นส่วนเดียวกับพวกเส้นใยอาหารที่กินได้ (Dietary fiber) มักจะพบในเปลือกหุ้ม (Hulls) มากกว่าในใบเลี้ยง (Cotyledon) (Smith and Circle, 1978)

เมื่อบริโภคถั่วเหลืองต้องใช้เวลาต้มนานกว่าถั่วชนิดอื่นๆเพื่อให้เพคตินละลาย ทำให้เซลต่างๆแยกตัวง่ายจนมีเนื้อสัมผัสนิ่มเหมาะสมต่อการบริโภค ในขณะที่ถั่วชนิดอื่นๆจะมีแป้งเป็นองค์ประกอบสูงจึงสามารถต้มในเวลาสั้นเพียงแค่มีผลต่อการเกิดเจลาติไนซ์เพื่อทำให้เมล็ดอ่อนตัวลง (Kikuchi et al., 1971)

2.1.2.3 ไขมัน (Lipid)

ไขมันจากถั่วเหลืองประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) 96% กรดไขมันอิสระ (Free fatty acids) 0.5% สารที่ซาพอนิไฟด์ไม่ได้ (Unsaponifiable matters) 1.6% และฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) 2% ฟอสโฟลิปิดเป็นพวก Phosphatidylcholine 25% Phosphatidylethanolamine 22% และ Phosphatidylinositol 14% นอกจากนี้ยังมี Phosphatidic acid และ Phosphatidylserine ในปริมาณเล็กน้อย (Macrae et al., 1993) ซึ่งฟอสโฟลิปิดเหล่านี้สามารถสกัดไปใช้ประโยชน์ในอาหารอื่นได้ เช่น ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในการทำขนมปัง ลูกกวาด ไอศกรีม และชอทเทนนิ่ง เป็นต้น (สมชาย, 2524) ส่วนสารที่ซาพอนิไฟด์ไม่ได้เป็นพวกไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) สเตอรอล (Sterol) และโทโคเฟอรอล (Tocopherol)

น้ำมันถั่วเหลืองมีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) ประมาณ 80% โดยมีกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid; C18:2) 52.4% กรดโอเลอิก (Oleic acid; C18:1) 21.1% และกรดลิโนเลนิก (Linolenic acid; C18:3) 7.1% ส่วนกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids) ที่พบมากได้แก่ กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid; C16) 11.6% และกรดสเตียริก (Stearic acid; C18) 2.5%

2.1.2.4 ส่วนประกอบอื่นๆ

2.1.2.4.1 แร่ธาตุ (Minerals)

ถั่วเหลืองเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยเกลือแร่และวิตามินต่างๆ โดยเฉพาะแร่ธาตุจำพวกโปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ แคลเซียม คลอไรด์และโซเดียม โดยเฉลี่ยมีปริมาณ 0.2-2.1% ส่วนแร่ธาตุที่มีปริมาณน้อย เช่น ทองแดง แมงกานีส สังกะสี เหล็ก และซิลิกอน โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.01-140 ppm แสดงดังตาราง 2.5 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สภาพภูมิประเทศและฤดูกาลที่ปลูก แร่ธาตุส่วนมากรวมอยู่กับโปรตีน แต่แคลเซียม แมกนีเซียมและฟอสฟอรัสมักถูกสกัดออกมาพร้อมกับฟอสโฟลิปิดจึงรวมกันอยู่ในน้ำมันเช่นเดียวกับเหล็กและทองแดง (Liu, 1997)

ตาราง 2.5 แร่ธาตุต่างๆในถั่วเหลืองทั้งเมล็ด

แร่ธาตุ	ปริมาณโดยเฉลี่ย
โปแตสเซียม (K)	1.70%
ฟอสฟอรัส (P)	0.70%
ซัลเฟอร์ (S)	0.20%
โซเดียม (Na)	0.20%
แคลเซียม (Ca)	0.30%
แมกนีเซียม (Mg)	0.30%
คลอไรด์ (Cl)	0.02%
เหล็ก (Fe)	137 ppm
สังกะสี (Zn)	52 ppm
ทองแดง (Cu)	20 ppm
แมงกานีส (Mn)	38 ppm
ซิลิกอน (Si)	140 ppm

ที่มา: Snyder and Kwon (1993)

2.1.2.4.2 วิตามิน (Vitamins)

ในถั่วเหลืองอุดมด้วยวิตามินทั้งที่ละลายได้ในน้ำและในไขมัน วิตามินที่ละลายได้ในน้ำ เช่น วิตามินบี 1 (Thiamine) วิตามินบี 2 (Riboflavin) ไนอะซิน (Niacin) กรดแพนโธทีนิก (Pantothenic acid) และกรดโฟลิก (Folic acid) ส่วนวิตามินซี (Ascorbic acid) พบในถั่วที่ยังอ่อนหรือกำลังงอก แต่จะหายไปเมื่อเมล็ดถั่วแก่ขึ้น ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำระหว่างการผลิต เช่น เต้าหู้ ทำให้เกิดการสูญเสียวิตามินที่ละลายในน้ำไปจำนวนหนึ่ง

สำหรับวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอและอี แต่ไม่พบวิตามินดีและเคเลย โดยวิตามินเอพบในรูปของ provitamin β-carotene ในถั่วที่กำลังงอกหรือยังอ่อนอยู่เช่นเดียวกับวิตามินซี ส่วนวิตามินอีมีทั้งที่อยู่ในรูป α- β- δ- และ τ-tocopherols โดยมีปริมาณต่อน้ำหนักแห้ง 10.9-28.4, 150-191 และ 24.6-72.5 μg/g ตามลำดับ (Liu, 1997)

2.1.2.4.3 ไอโซฟลาโวน (Isoflavones)

Isoflavones เป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นวงแหวน Benzyl 2 วงเชื่อมต่อกันด้วยคาร์บอน 3 ตัวซึ่งอาจเชื่อมต่อกันเป็นวงแหวน Pyran หรือไม่ก็ได้ โครงสร้างแบบง่ายๆ คือ C6-C3-C6 (Liu, 1997) Isoflavones พบในพืชบางสกุลเท่านั้น และในถั่วเหลืองจะมีปริมาณมากที่สุด คือ ประมาณ 3 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (Kudou et al., 1991)

Isoflavones ในถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมี 3 ชนิดและแต่ละชนิดมี 4 รูป รวมเป็น 12 ไอโซเมอร์ ดังนี้ (Protein Technologies International, No date)

(1) รูปที่ไม่มีน้ำตาล (aglycon) ได้แก่ Daidzein Genistein และ Glycitein

(2) รูป β-glucoside มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบได้แก่ Daidzin Genistin และ Glycitin

(3) รูป acetylglucoside ได้แก่ Acetyldaidzin Acetylgenistin และ Acetylglycitin

(4) รูป malonylglucoside ได้แก่ Malonyldaidzin Malonylgenistin และ Malonylglycitin

ในขั้นตอนต่างๆของการผลิตผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองจะมีผลต่อปริมาณของ Isoflavones ที่คงเหลืออยู่ เช่น ความร้อนที่ใช้ในการผลิตเทมเป้ทำให้สูญเสีย Isoflavones ไป 49% การแช่ในน้ำและตกตะกอนในระหว่างการผลิตเต้าหู้ทำให้สูญเสียไป 44% และ 12% ตามลำดับ ส่วนกระบวนการสกัดด้วยด่างในการผลิต Soy protein isolate เกิดการสูญเสียไป 53% แต่ในกระบวนการหมัก การกำจัดไขมันและการแยกเปลือกออกไม่มีผลต่อปริมาณของ Isoflavones นอกจากนี้ยังส่งผลต่อปริมาณไอโซเมอร์แต่ละชนิดด้วย เช่น การผลิตนมถั่วเหลืองและเต้าหู้ที่ให้ความร้อนถึง 100°ซ พบ Isoflavones ในรูป β-glucoside เป็นส่วนใหญ่ เนื่องจาก malonylglucoside ซึ่งไม่ทนต่อความร้อนเกิดเปลี่ยนไปอยู่ในรูป β-glucoside แทน (Wang and Murphy, 1996)

ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า Isoflavones มีผลยับยั้งการเจริญในหนูทดลองและขัดขวางเมตาบอลิซึมของเกลือแร่ ต่อมาพบว่า Isoflavones เกี่ยวข้องกับการรับรสเปรี้ยว ขม และ/หรือเฝื่อนภายหลังการบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (Kudou et al., 1991) ดังนั้นจึงพยายามกำจัด Isoflavones ออกจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง แต่ในช่วงหลายปีที่ผ่านมามีหลักฐานที่แสดงว่า Isoflavones ในถั่วเหลืองมีคุณสมบัติเป็น Antioxidant, Antifungal (Fleury et al., 1992) และ Anticarcinogens (Verdeal et al., 1980) ช่วยป้องกันโรคต่างๆได้ เช่น Genistein isoflavone จะลดการทำงานของ Oestrogen โดยทำการแย่งจับกับ Oestrogen receptor ในร่างกายหรือทำหน้าที่เป็น Anti-oestrogen นั่นเอง ซึ่งการมี Oestrogen ในกระแสเลือดสูงเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนโดยเฉพาะมะเร็งทรวงอก นอกจากนี้ Genistein ยังสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่ม Protein tyrosine kinases ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญและกิจกรรมของเซลและมีผลต่อการเพิ่มของเซลมะเร็ง ดังนั้น Genistein จึงช่วยป้องกันโรคมะเร็งได้ (Messina. 1995)

2.1.3 คุณค่าทางโภชนาการ (Nutrition value)

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเพราะมีโปรตีนปริมาณมาก สามารถทดแทนโปรตีนเนื้อสัตว์ได้ จึงเป็นที่นิยมในผู้บริโภคมังสวิรัติและแมคโครไบโอติก อย่างไรก็ตามโปรตีนจากถั่วเหลืองยังมีคุณภาพไม่สมบูรณ์ คือ ขาดกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบแต่มีไลซีนสูง ถ้ารับประทานข้าวหรือธัญพืชและอาหารอื่นๆร่วมกับผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองจะทำให้ได้รับคุณภาพและปริมาณโปรตีนที่ดีขึ้น (สมชาย, 2524) ในการประเมินคุณภาพของ

โปรตีนจากแหล่งต่างๆโดยวิธี Chemical score, Biological value (BV), Net protein utilization (NPU) และ Protein efficiency ratio (PER) พบว่าคุณภาพของโปรตีนถั่วเหลืองมีค่าอยู่ระหว่างโปรตีนจากสัตว์และโปรตีนจากธัญพืช ดังตาราง 2.6

ถั่วเหลืองยังเป็นอาหารที่อุดมด้วยแร่ธาตุต่างๆ โดยเฉพาะโปแตสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็กและแคลเซียม ซึ่งร่างกายของคนเราต้องการโปแตสเซียมในการเสริมสร้างกล้ามเนื้อต่างๆ และทำให้กล้ามเนื้อแข็งแรง ฟอสฟอรัสช่วยในการบำรุงประสาทและสมอง เหล็กมีความสำคัญในการบำรุงโลหิต ส่วนแคลเซียมช่วยในการเจริญของกระดูก แม้ว่าถั่วเหลืองมีออกซาเลต (Oxalate) และไฟเตท (Phytate) เป็นตัวยับยั้งการดูดซึมแคลเซียมแต่ก็พบว่าแคลเซียมในถั่วเหลืองถูกดูดซึมได้ดีพอๆกับในนม ในแง่ของวิตามินถั่วเหลืองอุดมด้วยวิตามินเอ บีหนึ่ง บีสอง โดยเฉพาะบีสองมีมากกว่าพืชชนิดอื่นมาก ถั่วเหลืองสดหรือถั่วแระจะมีวิตามินเอและบีส่วนวิตามินซีมีอยู่บ้าง สำหรับถั่วเหลืองเมล็ดแก่และแห้งไม่พบวิตามินซีอยู่และยังมีวิตามินเอน้อย แต่มีวิตามินบีมากกว่าถั่วเหลืองสดถึง 3 เท่า ส่วนพวกน้ำมันถั่วเหลืองมีวิตามินเอ ซี และเป็นแหล่งของวิตามินอีอีกด้วย

ตาราง 2.6 ค่า PER, NPU, BV, Chemical score และกรดอะมิโนที่มีจำนวนน้อยในโปรตีนบางชนิด

ชนิดของโปรตีน	PER	NPU	BV	Chemical score	กรดอะมิโนที่มีจำนวนน้อย (Limiting amino acid)
โปรตีนไข่	3.8	91-94	87-97	100	ไม่มี
เนื้อวัว	3.2	71-76	76	80	กรดอะมิโนที่มีกำมะถัน
โปรตีนนมวัว	2.5	86	85-90	60	กรดอะมิโนที่มีกำมะถัน
เนื้อปลาแซลมอน	-	71	72	75	ทริปโตแฟน
โปรตีนถั่วเหลือง	0.7-1.8	48-61	58-69	69	กรดอะมิโนที่มีกำมะถัน
โปรตีนข้าวโพด	1.2	49-55	60	55	ไลซีน
โปรตีนข้าวสาลี	1.0	52	52	57	ไลซีน
โปรตีนข้าวจ้าว	1.9	70	75	57	ไลซีน
โปรตีนถั่ว	1.7	43-54	56	70	กรดอะมิโนที่มีกำมะถัน

ที่มา : Snyder and Kwon (1987)

ถั่วเหลืองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกรดลิโนเลอิกสูง ซึ่งมีผลช่วยลดระดับ Low -density lipoprotein cholesterol (LDL) และ Total cholesterol ได้ (Messina, 1995) ในถั่วเหลืองไม่พบคลอเรสเตอรอล (Cholesterol) แต่มีสารเลซิทิน (Lecithin) ในปริมาณสูง ซึ่งสารดังกล่าวใช้เสริมสร้างประสาท เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มสมองและเซลประสาท บำรุงต่อมไร้ท่อต่างๆ ถั่วเหลืองไม่มีแป้งอยู่เลย จึงเป็นอาหารที่เหมาะสำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน

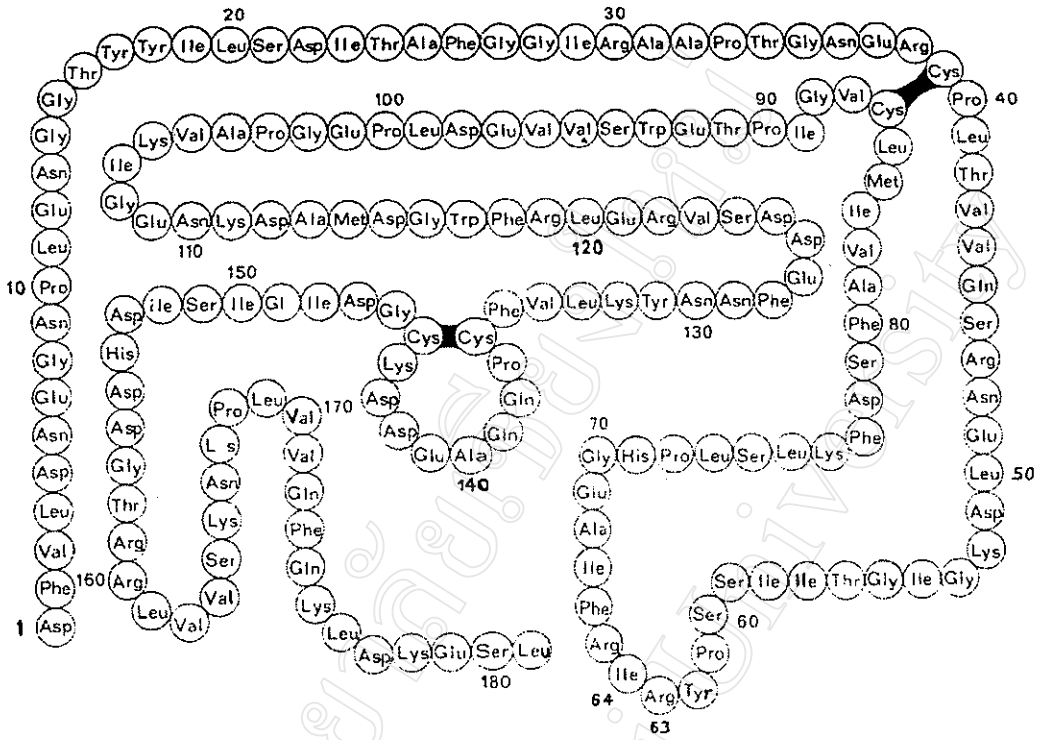
แม้ว่าถั่วเหลืองเป็นอาหารที่ให้ทั้งโปรตีนและพลังงาน แต่ก็มีข้อเสียอยู่บ้าง คือ ถั่วเหลืองดิบหรือถั่วที่ได้รับความร้อนไม่เพียงพอจะมีสารที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญ ลดการดูดซึมของไขมัน ลดเมตาโบไลส์เพื่อให้ได้พลังงานออกมา อีกทั้งเป็นสาเหตุของการโตของตับอ่อน แต่ก็สามารถแก้ไขโดยใช้วิธีการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารเข้าช่วย ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงคุณภาพของถั่วเหลืองในแง่กลิ่นถั่วที่ติดอยู่ การหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ชนิดต่างๆ และการละลายของโปรตีนเพื่อให้เกิดประโยชน์ในการดูดซึมเข้าไปในร่างกาย (สมชาย, 2524)

2.1.4 สารพิษในถั่วเหลือง (Antinutrients in soybeans)

2.1.4.1 สารยับยั้งการทำงานของน้ำย่อยโปรตีน (Protease Inhibitors)

ถั่วเหลืองดิบมีสารยับยั้งการทำงานของน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะน้ำย่อยโปรตีน ได้แก่ ทริปซิน (Trypsin) และไคโมทริปซิน (Chymotrypsin) ทำให้ลดการย่อยโปรตีนลงและทำให้ร่างกายได้รับกรดอะมิโนลดน้อยลงด้วย สารดังกล่าวแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ Kunitz trypsin inhibitor (TI) และ Bowman-Brik (BB) inhibitor (Macrae et al., 1993)

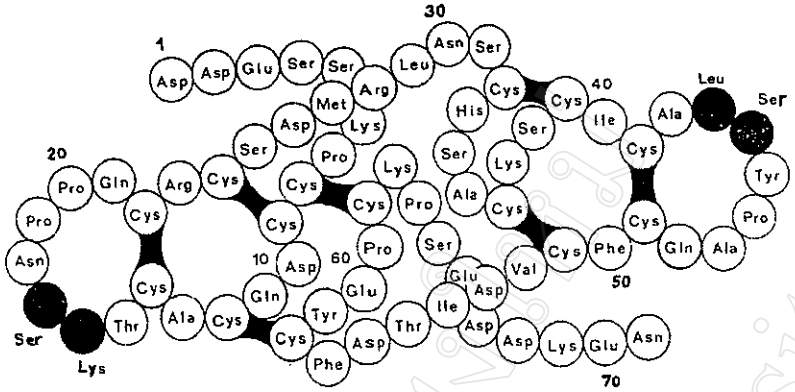
Kunitz trypsin inhibitor แยกออกจากถั่วหลืองโดยสกัดด้วยน้ำแล้วตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20-25 kDa โครงสร้างปฐมภูมิ (Primary structure) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 181 ตัวและมีพันธะไดซัลไฟด์ 2 แห่ง ดังภาพ 2.4 ส่วนโครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) มีลักษณะเป็น α-helix สารชนิดนี้รวมกับเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin) โดยมีบริเวณเร่ง (Active site) เป็นกรดอะมิโน 2 ชนิด คือ อาร์จีนีน (Arginine) และไอโซลิวซีน (Isoleucine) ในตำแหน่งที่ 63 และ 64 ตามลำดับ (Koide et al., 1973)



ภาพ 2.4 การเรียงลำดับของกรดอะมิโนใน Kunitz trypsin inhibitor

ที่มา: Snyder and Kwon (1987)

Bowman-Brik inhibitor สามารถสกัดโดยใช้สารละลายแอลกอฮอล์ 60% แล้วตกตะกอนด้วยอะซีโตน มีโครงสร้างปฐมภูมิ (Primary structure) เป็นสายโพลีเปปไตด์เดี่ยวประกอบด้วยกรดอะมิโน 71 ตัว มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8 kDa และมีพันธะไดซัลไฟด์ 7 แห่ง (Odani and Ikenaka, 1973) ดังภาพ 2.5 ส่วนโครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) อยู่ในรูปแบบแผ่นเบต้าชีท (β-sheet) 61% แบบเบต้าเทิร์น (β-turns) 1% และโครงสร้างที่ไม่เป็นระเบียบ (Unordered forms) 38% ไม่พบโครงสร้างแบบเกลียวอัลฟา (α-helix) สารยับยั้งชนิดนี้มีอันตรกิริยา (Interaction) กับเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin) และไคโมทริปซิน (Chymotrypsin) โดยการรวมตัวกับทริปซินมีบริเวณเร่ง (Active site) ตรงกับกรดอะมิโนไลซีน (Lysine) และเซอรีน (Serine) ที่ตำแหน่ง 16 และ 17 ตามลำดับ ส่วนการรวมตัวกับไคโมทริปซินมีบริเวณเร่งตรงกับกรดอะมิโนลิวซีน (Leucine) และเซอรีน (Serine) ที่ตำแหน่ง 44 และ 45 ตามลำดับ



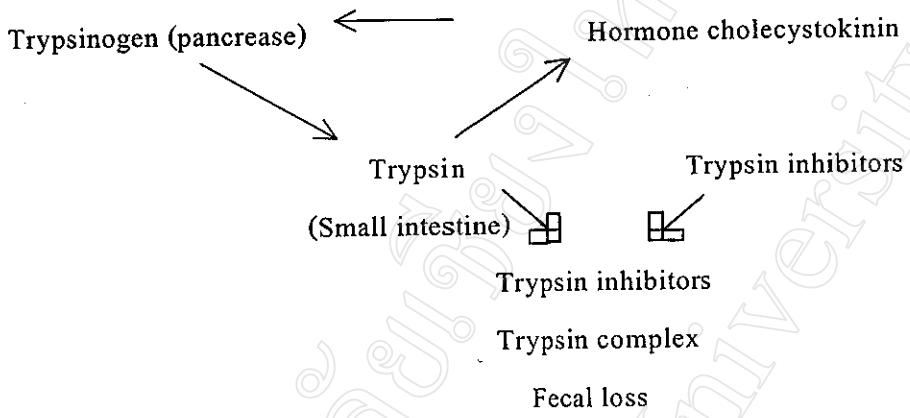
ภาพ 2.5 การเรียงลำดับของกรดอะมิโนใน Bowman-Brik inhibitor

ที่มา: Snyder and Kwon (1987)

สารยับยั้งการทำงานของน้ำย่อยโปรตีนเหล่านี้ จากข้อมูลการทดลองในสัตว์เชื่อว่ามีผลยับยั้งการเจริญ (Growth inhibition) โดยเกี่ยวข้องกับ Pancreatic hypertrophy, Hyperplasia และทำให้เกิดเนื้องอกขึ้น (Liener, 1994) โดยเฉพาะในสัตว์ทดลองที่อายุน้อยและมีขนาดเล็ก เช่น ลูกไก่ หนู เป็นต้น Green and Lyman (1972) ทดลองในหนูพบว่าการหลั่งน้ำย่อยของตับอ่อนถูกควบคุมโดยกลไกแบบ Negative feedback คือ เมื่อน้ำย่อยทริปซินและ/หรือไคโมทริปซินในลำไส้เล็กมีปริมาณเพียงพอจะมีการส่งสัญญาณไปยังตับอ่อนไม่ให้ผลิตน้ำย่อยในรูปทริปซิโนเจน (Trypsinogen) หรือไคโมทริปซิโนเจน (Chymotrypsinogen) ออกมา แต่ถ้าระดับน้ำย่อยเกิดขาดแคลนก็จะกระตุ้นให้ตับอ่อนผลิตน้ำย่อยออกมา ทั้งนี้มีฮอร์โมน Cholecystokinin (CCK) คอยติดตามระดับน้ำย่อยและเป็นตัวส่งสัญญาณไปยังตับอ่อน แสดงดังภาพ 2.6 ในกรณีที่มี Trypsin inhibitors จะเกิดการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับทริปซินทำให้ทริปซินไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ตับอ่อนจำเป็นต้องหลั่งน้ำย่อยออกมามากขึ้นและเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิด Pancreatic hypertrophy ขึ้น

ส่วนผลกระทบต่อคนยังเป็นที่โต้เถียงกันอยู่ เนื่องจากให้ผลที่แตกต่างจากสัตว์ทดลอง แม้ว่า Trypsin Inhibitors จะทำให้ตับอ่อนหลั่งน้ำย่อยออกมาเพิ่มขึ้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน Cholecystokinin แสดงว่ากลไกการควบคุมการหลั่งน้ำย่อยในคนและสัตว์แตกต่างกัน หรือแม้ว่ารูปแบบการยับยั้งจะคล้ายคลึงกันแต่ผลอาจแตกต่างกัน (Reseland et al., 1996) นอกจากนี้จากข้อมูลศึกษาทางการแพทย์พบว่าสารยับยั้งการทำงานของน้ำย่อยโปรตีนในถั่วเหลือง

มีคุณสมบัติเป็น Cancer chemopreventive agent ทั้งในระบบร่ากายที่มีชีวิต (*in vivo*) และในสิ่งแวดล้อมที่ทำเทียมขึ้น (*in vitro*) (Kennedy, 1993) โดยมีผลต่อสารที่ทำให้เกิดมะเร็งได้หลายชนิดและมีประสิทธิภาพดีที่ปริมาณต่ำๆมาก ซึ่งแตกต่างจาก Cancer chemopreventive agent ตัวอื่นๆ แม้ว่ากลไกการป้องกันมะเร็งยังไม่แจ้งชัดก็ตาม



ภาพ 2.6 กลไกการควบคุมย้อนกลับของทริปซินและการขัดขวางโดย Trypsin Inhibitors ในหนู
ที่มา: Snyder and Kwon (1987)

อย่างไรก็ตามกิจกรรมของสารชนิดนี้ (ประมาณ 90% หรือมากกว่า) ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน โดยถั่วเหลืองต้องได้รับความร้อนสูงในเวลาหนึ่ง เช่น อบด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°ซ นาน 5-10 นาทีหรือที่อุณหภูมิ 93 °ซ นาน 35-40 นาทีหรือต้มในน้ำเดือดนาน 15-20 นาที (สมชาย, 2524) ทั้งนี้กิจกรรมของเอนไซม์ที่คงเหลืออยู่นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่ามาจาก Bowman-Brik inhibitor เนื่องจากโครงสร้างมีความแข็งแรงและทนต่อความร้อนได้ดี

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำลาย Trypsin inhibitors นอกเหนือจากอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนแล้ว คือ สภาพความชื้นของถั่วเหลือง โดยพบว่าถั่วเหลืองที่มีความชื้น 20% ต้องใช้ไอน้ำที่ความดันบรรยากาศ (100°ซ) เป็นเวลา 15-20 นาทีเพื่อยับยั้งกิจกรรมของ Trypsin inhibitors แต่ถั่วเหลืองที่แช่น้ำไว้ค้างคืนจนมีความชื้นประมาณ 60% ใช้การต้มในน้ำเดือดเพียง 5 นาที อีกทั้งยังขึ้นกับขนาดอนุภาค โดยถั่วเหลืองทั้งเมล็ดใช้ไอน้ำที่ความดันบรรยากาศนาน 20 นาทีและยับยั้งกิจกรรมของ Trypsin inhibitors ได้เพียงบางส่วน ส่วนถั่วเหลืองในรูป Flakes ใช้เวลา 15 นาทีและยับยั้งได้ถึง 95% (Del Valle, 1981) นอกจากการใช้ความร้อนจากไอน้ำและต้มในน้ำเดือดแล้วยังมีวิธีการลดกิจกรรม/ทำลาย Trypsin

2.1.4.2 Hemagglutinins (Lectin)

Hemagglutinins เป็นสารพวกไกลโคโปรตีนอยู่ในส่วน 7 S fraction มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 120 kDa โมเลกุลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันระหว่างหน่วยย่อยที่เหมือนกัน 4 หน่วยโดยแต่ละหน่วยย่อยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 kDa และยังมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบประมาณ 5% โดยหนึ่งโมลประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส (Mannose) 37 ตัวและ N-acetyl-D-glucosamine 5 ตัว (Lotan et al., 1974)

สารตัวนี้พบในพืชเมล็ดโดยเฉพาะถั่วเมล็ด แต่ก็พบในส่วนอื่นๆของพืชด้วย เช่น ราก ใบและเปลือก Hemagglutinins ทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของเม็ดเลือดแดงแล้วเกิดพิษขึ้น ทั้งนี้เกิดจากปฏิกิริยาที่เจาะจงระหว่าง Hemagglutinins กับคาร์โบไฮเดรตซึ่งมักอยู่บนผิวของเซลเมมเบรน (Cell membrane) ดังนั้นจึงช่วยเชื่อมเซลเข้าด้วยกันได้ นำไปสู่การจับกันเป็นก้อน (Macrae et al., 1993)

ข้อมูลทดลองในสัตว์พบว่า Hemagglutinins เกี่ยวข้องกับการลดระดับอินซูลิน (Insulin) ในเลือด ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส (Protease) และไดแซคคาริเดส (Disaccharidase) ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้เซลตับและไตเสื่อมลง ขัดขวางการดูดซึมธาตุเหล็กและไขมันจากอาหาร ตลอดจนมีผลยับยั้งการเจริญ (Liener, 1994) ซึ่งสารชนิดนี้ละลายในน้ำจึงมักปนอยู่ในนมถั่วเหลือง แต่จะถูกทำลายได้ด้วยน้ำย่อยเปปซิน (Pepsin) และสภาพความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหาร (สมชาย, 2524) ส่วนการป้องกันทำได้ง่ายมาก โดยใช้ความร้อนโดยเฉพาะประเภทที่เป็นไอน้ำหรือมีความชื้นสามารถทำลายได้ดีแต่จะทนต่อความร้อนแห้งได้ดี

2.1.4.3 ไฟเตท (Phytates)

กรดไฟติค (Phytic acid) เป็นอนุพันธ์ของ Inositol (Cyclohexanehexol) มักอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนร่วมกับแคลเซียมหรือแมกนีเซียมหรือโปแตสเซียม โดยเรียกว่า Phytate หรือ Phytin (Liu, 1997) ทั้งนี้ไฟเตทจัดเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีความสำคัญในเมล็ดพืช เนื่องจากเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่ใช้ในการงอกของเมล็ด ในถั่วเหลืองมีกรดไฟติคอยู่ประมาณ 1.0-1.47% คิดเป็น 51.4-51.7% ของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในเมล็ด สำหรับ

ในผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเหลืองมีปริมาณไฟเตทแตกต่างกันไป เช่น Soy meal มีประมาณ 1.42% ส่วน Flakes มีประมาณ 1.52% เท่ากับใน Soy protein isolate เป็นต้น (Maga, 1982)

ไฟเตทมีผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดของร่างกายเช่น แคลเซียม เหล็ก สังกะสี แมกนีเซียม เป็นต้น เนื่องจากเมื่อกรดไฟติครวมตัวกับแร่ธาตุเหล่านี้จะกลายเป็นเกลือที่ไม่ละลายในน้ำและไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Beddows, 1987) นอกจากนี้ไฟเตทยังสามารถทำปฏิกิริยากับประจุลบบนโมเลกุลของโปรตีนในสภาวะด่างผ่านทางแคลเซียมและแมกนีซียม หรือทำปฏิกิริยากับประจุบวกของโปรตีนโดยตรงที่ค่าพีเอช (pH) ต่ำกว่า Isoelectric point ซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารรวมถึงมีผลต่อค่า Isoelectric point สมบัติในการละลายน้ำและ Functional properties ของโปรตีนถั่วเหลืองเองด้วย (Chen and Morr, 1985)

ไฟเตททนต่อความร้อนซึ่งการใช้ไอน้ำหรือต้มให้ความร้อนนาน 20 นาทีทำให้ไฟเตทมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อย แต่การแช่ถั่วเหลืองในน้ำก่อนต้มทำให้ไฟเตทแยกออกมาจากโปรตีนและถูกสกัดออกมาได้ในปริมาณมาก โดยเฉพาะการเพิ่มอุณหภูมิน้ำที่ใช้แช่ถั่วเหลืองให้สูง Beleia et al. (1993) พบว่าการแช่ถั่วเหลืองในน้ำอุณหภูมิ 50 $^{\circ}$ซ นาน 16 ชั่วโมงสามารถลดไฟเตทได้สูงสุดถึง 36.1% เนื่องจากความร้อนช่วยทำลายเซลเมมเบรนทำให้เกิดการรั่วของไฟเตทออกมาในน้ำ นอกจากนี้การปล่อยให้ถั่วเหลืองงอกจะมีเอนไซม์ไฟเตส (Phytase) ผลิตออกมาหรือเอนไซม์ไฟเตสที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* ที่ใช้ในการผลิตเทมเป้ (Tempeh) ก็ช่วยลดปริมาณของไฟเตทลงได้

2.1.4.4 Saponins

Saponins เป็นสารประกอบระหว่าง Triterpenoid aglycone หรือ Sapogenins กับน้ำตาล (glycosides) ซึ่งน้ำตาลที่พบส่วนมากได้แก่ น้ำตาลไซโลส (Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) กลูโคส (Glucose) กาแลกโตส (Galactose) แรมโนส (Rhamnose) และกรดกลูคูโรนิค (Glucuronic acid) โดยที่ Sapogenins 1 ตัวจะรวมกับน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์โดยเฉลี่ย 3 ตัว สำหรับ Saponins ที่แยกได้จากถั่วเหลืองมี 5 ชนิด ได้แก่ Soyasapogenol A Soyasapogenol B Soyasapogenol C Soyasapogenol D และ Soyasapogenol E

Saponins เป็นโมเลกุลที่มีขั้ว (Polar) และจัดเป็น Strong surfactants สามารถย่อย (Lyse) เซลเม็ดเลือดแดงได้ ทนต่อความร้อนได้ดี อย่างไรก็ตามปริมาณของ Saponins ที่มีในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (โดยเฉลี่ย 0.5% ของน้ำหนักแห้ง) ไม่ก่อให้เกิดผลร้ายในแง่ของปัญหาทางโภชนาการอย่างเด่นชัด (Brik, 1969)

2.1.5 การใช้ประโยชน์จากถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองให้ผลผลิตพื้นฐาน 2 อย่างที่สำคัญ คือ น้ำมันและผลผลิตโปรตีน

2.1.5.1 น้ำมันถั่วเหลือง (Soy oil)

นอกเหนือจากความต้องการถั่วเหลืองเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์แล้ว การสกัดน้ำมันเพื่อใช้ปรุงอาหารก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการขยายตัวของการผลิตถั่วเหลืองของโลก (Beddows, 1987) ซึ่งการสกัดน้ำมันถั่วเหลืองสามารถทำได้โดยใช้วิธีการสกัดด้วยสารอินทรีย์และผ่านกระบวนการกลั่นจนได้น้ำมันถั่วเหลืองที่บริสุทธิ์ นอกเหนือจากการใช้ปรุงอาหารแล้วยังใช้ในการทำผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น เนยเทียม เนยขาว น้ำมันสลัด มายองเนส เป็นต้น รวมถึงใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมสีวานิชเคลือบผิวและผลิตภัณฑ์ยางด้วย

2.1.5.2 ผลผลิตโปรตีน (Soy proteins)

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่ลงทุนต่ำแต่ให้ผลผลิตที่สูง นอกเหนือจากการนำถั่วเหลืองมาใช้ทั้งเมล็ดแล้วยังมีการนำมาสกัดเป็นแป้งและโปรตีนในรูป Soy protein concentrate และ Soy protein isolate ผลผลิตโปรตีนเหล่านี้สามารถใช้เป็นส่วนผสมในอาหารได้โดยอาจใช้ในปริมาณที่เล็กน้อยเพื่อจุดประสงค์บางอย่าง เช่น เป็นตัวอุ้มน้ำ จับกับไขมัน ปรับปรุงอายุการเก็บรักษาและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์หลายชนิด ทำให้เกิดเจล เป็นต้น (Tuley, 1996) ดังนั้นถั่วเหลืองจึงเริ่มเป็นที่สนใจของทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคมากขึ้น ส่วนมากนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทเนื้อและเบเกอรี่

2.1.5.2.1 แป้งถั่วเหลือง (Soy flour)

แป้งถั่วเหลืองเป็นผลผลิตที่ได้จากการนำเนื้อถั่วไปบดให้ละเอียด ทั้งนี้ในขั้นตอนการผลิตบางขั้นตอนจำเป็นต้องใช้ความร้อน เช่น การอบด้วยความร้อนเพื่อเอาเปลือกออกหรือการบด เป็นต้น ความร้อนมีผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ กลิ่น สี คุณค่าทางโภชนาการและการละลายตัวของโปรตีน โดยทั่วไปแป้งถั่วเหลืองต้องมีความละเอียดที่สามารถผ่านตะแกรงที่มีขนาด 100 mesh (จำนวนของเส้นลวดต่อความยาวหนึ่งนิ้ว) ขึ้นไปได้ แต่ถ้าไม่ผ่านตะแกรงดังกล่าวจะเรียกว่า Soy grit ซึ่งมีอยู่หลายขนาด คือ อนุภาคแบบหยาบ อนุภาคแบบปานกลางและอนุภาคแบบละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 10-20, 20-40 และ 40-80 mesh ตามลำดับ

แป้งถั่วเหลืองมีสีเหลืองนวล มีรสเหมือนถั่วเหลืองคั่ว มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นและจับกับไขมันได้ดี นำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง ในกรณีทำขนมหวานช่วยให้ไขมันกระจายตัวและทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งอยู่เสมอ ใช้ทำอาหารเด็กอ่อนและอาหารเสริมโปรตีนหรือใช้ในการทำผลิตภัณฑ์จากเนื้อ โดยผสมกับเนื้อบดหรือใช้แป้งถั่วเหลือง 100 % ผสมกับนมและไข่ใช้แทนเนื้อและปลาในอาหารได้ นอกจากนี้ยังใช้เติมลงในมักกะโรนี เส้นบะหมี่หรือก๋วยเตี๋ยวและในซุปต่างๆเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนการให้สูงขึ้น (สมชาย, 2524)

2.1.5.2.2 Soy protein concentrate

Soy protein concentrate เป็นรูปแบบของโปรตีนจากถั่วเหลืองที่เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันออกจากถั่วเหลือง คือ Defatted soy flakes ซึ่งจะนำมาผ่านกระบวนการกำจัดส่วนของน้ำตาลและเกลือแร่ออก เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีน ช่วยแก้ปัญหาการเกิดก๊าซในกระเพาะอาหาร (Flatulence) อีกทั้งช่วยปรับปรุงรสชาติได้ (Tuley, 1996) ประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 70% (Macrae et al., 1993) สามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภทตามวิธีที่ใช้ในการสกัด คือ Alcohol washed concentrate และ Acid washed concentrate

(1) Alcohol washed concentrate เป็นการสกัดด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 60-80% ในน้ำซึ่งโปรตีนส่วนมากไม่ละลาย แต่น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์จะละลายและถูกแยกออกมา

(2) Acid washed concentrate เริ่มจากนำ Defatted meal ที่แยกเอาตัวทำละลายออกแล้ว โดยใช้ Vacuum process มาปรับความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดจนมีค่าพีเอชถึง 4.5 ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอนและแยกเอาคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ออกไป ส่วนที่เป็นตะกอนทำให้แห้งหรืออาจทำให้เป็นกลางก่อนทำให้แห้ง (Snyder and Kwon., 1993)

จุดประสงค์ในการทำ Soy protein concentrate เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ให้สูงขึ้น สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนในมาร์การีน ไอศกรีม ช็อกโกแลตและเค้กได้ ทั้งยังช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ด้วย

Soy protein concentrate ไม่ละลายน้ำแต่สามารถกระจายตัวได้เมื่อบดเป็นผงละเอียด ใช้ปรับปรุงรสชาติของเครื่องดื่มประเภทละลายได้ทันที ในอาหารประเภทเนื้อก็สามารถใช้ Soy protein concentrate ได้ เช่น ในแฮมเบอร์เกอร์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบต่ำลงและช่วยประหยัดวัตถุดิบได้ แต่ก็ทำให้เกิดการหดตัวของผลิตภัณฑ์ (Tuley, 1996)

2.1.5.2.3 Soy protein isolate

Soy protein isolate เป็นรูปแบบของโปรตีนจากถั่วเหลืองอีกชนิดหนึ่งที่นิยมผลิตกัน มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 90% (Macrae et al., 1993) ได้จากการสกัดโปรตีนที่ละลายได้จาก Defatted meal ซึ่งต้องแยกเอาตัวทำละลายออกโดยใช้ Vacuum process ก่อนเพื่อคงความสามารถในการละลายของโปรตีนไว้ ส่วนการสกัดโปรตีนใช้สารละลายด่างเจือจาง (ค่าพีเอช 9) ที่อุณหภูมิ 50-55°ซ แล้วแยกเอาส่วนของของแข็งซึ่งเป็นพวกโปรตีนที่ไม่ละลายและคาร์โบไฮเดรตออกไปโดยใช้เครื่องเหวี่ยงและร่อนผ่านตะแกรง ส่วนโปรตีนที่ละลายได้จะปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.5 เพื่อทำให้โปรตีนตกตะกอน แยกส่วนเวย์จากถั่วเหลืองออกไปและล้างส่วนที่เป็นตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ ขั้นตอนสุดท้ายคือทำให้แห้งโดยอาจใช้ Spray dried หรืออาจทำให้เป็นกลางก่อนทำให้แห้ง (Snyder and Kwon, 1993)

ทั้งนี้โปรตีนจะยังคงอยู่ในสภาพธรรมชาติ (Native) มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความร้อนที่ใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งความร้อนยังมีผลต่อ Functionality อื่นๆ เช่น การละลาย อย่างไรก็ตาม Soy protein isolate ยังคงมีสมบัติในการดูดน้ำและรวมตัวกับไขมันดี จึงมีการใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อต่างๆ

Soy protein isolate มีบทบาทสำคัญในทางอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) แทน Caseinate โดย Soy protein isolate จะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ Caseinate และมีข้อได้เปรียบตรงที่ทนต่อการให้ความร้อนได้ดี แต่คุณสมบัติในการเกิดเจลเพื่อให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีเนื้อสัมผัสแน่นจะด้อยกว่า มีการใช้ Soy protein isolate แทนที่ Caseinateในนมสำหรับทารกที่มีอาการแพ้นมวัว แต่การใช้ประโยชน์ในเครื่องดื่มต่างๆ ยังมีข้อจำกัด เนื่องจากถ้าความเป็นกรด-ด่างต่ำโปรตีนถั่วเหลืองจะเกาะตัวกันได้

2.1.6 ผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลือง (Soybean food)

ถั่วเหลืองสามารถทำผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด กระบวนการผลิตยังช่วยลดหรือกำจัดลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ได้ เช่น กลิ่นถั่วหรือการเกิดแก๊สในทางเดินอาหารภายหลังการรับประทาน (Flatulence) ดังนั้นถั่วเหลืองจึงเหมาะสมที่ใช้ทำผลิตภัณฑ์อาหารให้มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีราคาถูก ผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองแบ่งออกได้ดังนี้

2.1.6.1 ผลิตภัณฑ์อาหารแบบไม่หมัก (Non-fermented soybean food)

2.1.6.1.1 นมถั่วเหลือง (Soymilk)

วิธีการทำนมถั่วเหลืองแบบ Traditional เริ่มจากการนำถั่วเหลืองมาล้างน้ำให้สะอาด แช่น้ำทิ้งไว้ค้างคืน จากนั้นจึงนำถั่วเหลืองมาบดกับน้ำโดยใช้โม่หิน ส่วนที่บดได้นำมาสกัดด้วยน้ำกรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนของแข็งที่ไม่ละลายออก แล้วนำของเหลวมาต้มให้เดือด (Macrae et al., 1993) นมถั่วเหลืองที่ได้มีคุณค่าทางโภชนาการสูงแต่ก็มีกลิ่นถั่วอยู่มาก ถ้าทำเป็นอุตสาหกรรมจะเติมน้ำมันพืชลงไปด้วยเพื่อปรับอัตราส่วนของโปรตีนและไขมันให้ใกล้เคียงกับนมมารดา รวมถึงมีการเติมวิตามินและเกลือแร่ต่างๆลงไป ส่วนปัญหาจากการมีกลิ่นถั่วของนมสามารถแก้ไขให้ลดน้อยลงได้ เช่น การเติมกลิ่นวานิลลา ช็อกโกแลต เป็นต้น

2.1.6.1.2 เต้าหู้ (Tofu or bean curd)

เต้าหู้ได้จากการตกตะกอนโปรตีนนมถั่วเหลือง มีสีครีมขาว เนื้อสัมผัสมีตั้งแต่อ่อนนุ่มและผิวราบเรียบจนถึงลักษณะแข็งและผิวไม่ราบเรียบ มีโปรตีนสูง สามารถใช้แทนเนื้อสัตว์ต่างๆ โดยจะคงรูปร่างไว้ได้แม้ทำการทอดหรือต้ม เมื่อเต้าหู้ยังสดอยู่จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีรสแต่เมื่อนำมาปรุงรสแล้วจะอร่อยมากเพราะดูดซับเครื่องปรุงรสได้ดี ส่วนประกอบโดยทั่วไปมีน้ำ 88% โปรตีน 6% ไขมัน 3.5% คาร์โบไฮเดรต 1.5% และเกลือแร่ 1% การทำเต้าหู้จะมี 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ เตรียมนมถั่วเหลืองและตกตะกอนโปรตีน แสดงดังภาพ 2.7

ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด (Whole soybean)

↓

แช่น้ำ ทิ้งไว้ค้างคืน (Soaking)

↓

บดถั่วจนละเอียดในอัตราส่วนน้ำต่อถั่วเหลืองเป็น 10 ต่อ 1 (Grinding)

↓

กรองด้วยผ้าขาวบาง แยกเอากากออกไป (Sieving)

↓

นำนมถั่วเหลืองมาต้มจนเดือด (Heating)

↓

ทำให้เย็นจนมีอุณหภูมิ 80-85 °ซ (Cooling)

↓

เติมตัวตกตะกอน (Addition)

↓

เทใส่ผ้าขาวบางที่วางอยู่ในแบบพิมพ์ (Molding) และกดให้น้ำออก (Pressing)

ภาพ 2.7 วิธีการเตรียมเต้าหู้

ที่มา: Beddows (1987)

2.1.6.2 ผลิตภัณฑ์อาหารแบบหมัก (Fermented soybean food)

(1) เทมเป้ (Tempeh)

เทมเป้เป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมมากของชาวอินโดนีเซีย ทำจากการหมักวัตถุดิบ (นิยมใช้ถั่วเหลือง) ด้วยเชื้อราสกุล *Rhizopus* อัดให้แน่นในจานแบน ปิดฝา วางไว้ที่อุณหภูมิ 32 °ซ นาน 18–24 ชั่วโมง (Macrae et al.,1993) เชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมวัตถุดิบอย่างหนาแน่นและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของถั่วเหลืองทั้งในแง่กลิ่นและรส ลักษณะเนื้อสัมผัสดีและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น โปรตีนมีคุณภาพสูง เป็นแหล่งของวิตามินบี 12 เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสชาติถั่ว (Nutty taste) และแทบจะไม่มีกลิ่นถั่ว รับประทานโดยการต้มหรือทอดในน้ำมัน (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

(2) เต้าเจี้ยว (Soybean-miso)

เต้าเจี้ยวเป็นอาหารหมักประเภท Semi-solid fermented food มักใช้เป็นเครื่องปรุงรส ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยวเริ่มจากต้มถั่วเหลืองให้สุก ผสมเข้ากับข้าวหรือถั่วเหลืองที่ได้รับการเพาะด้วยเชื้อ *Aspergillus oryzae* ไว้แล้ว คลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักทิ้งไว้ เมื่อเชื้อราเจริญแล้วนำไปใส่ไห เติมน้ำเกลือลงไป บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 °ซ เป็นเวลาหลายเดือน (Macrae et al., 1993) ในช่วงของการหมักจะอาศัยการทำงานของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคและเชื้อยีสต์ มีการผลิตกรดอินทรีย์และเอสเทอร์ เอทานอลและกรดไขมันอิสระออกมาทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติของเต้าเจี้ยวดี โดยเฉพาะมีกลิ่นคล้ายเนื้อ (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

(3) ซูฟู (Sufu)

ซูฟูเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากการหมักชิ้นเต้าหู้ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ นิยมบริโภคในจีน จึงเรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า Chinese cheese ในการเตรียมซูฟูประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ การเตรียมเต้าหู้ การเลี้ยงเชื้อราและการแช่น้ำเกลือ ในช่วงการเตรียมเต้าหู้จะเติมแคลเซียมหรือแมกนีเซียมซัลเฟตลงไปในนมถั่วเหลืองเพื่อทำการตกตะกอนโปรตีน แล้วนำลิ่มนมไปกดด้วยน้ำหนักเพื่อแยกน้ำออกและได้ก้อนเต้าหู้ที่มีความชื้นต่ำกว่าเต้าหู้ที่ใช้บริโภค ต่อมาช่วงของการเลี้ยงเชื้อราจะถ่ายสปอร์เชื้อ *Actinomucor elegans* ลงบนผิวของเต้าหู้ บ่มให้เกิดการหมักที่ 20 °ซ เป็นเวลา

3-7 วัน จนได้ชิ้นเต้าหู้ที่มีเส้นใยสีขาวของเชื้อราเจริญทั่ว ขั้นตอนสุดท้าย คือ ช่วงการแช่น้ำเกลือซึ่งประกอบด้วยเกลือแกงและไวน์ขาว ทำการแช่และบ่มนาน 40-60 วัน

ซูฟูมักนิยมบริโภคโดยตรงหรือนำไปทำอาหารกับผักหรือเนื้อสัตว์ ในบางประเทศแถบยุโรปนิยมใช้ซูฟูซึ่งมีลักษณะ Cream cheese type และมีกลิ่นที่ไม่รุนแรงสำหรับการทาบนขนมแคร็กเกอร์ (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

ที่กล่าวมานี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแบบหมัก นอกจากนั้นยังมี ถั่วเน่า (Thua-Nao) ฮามานัตโต (Hamanatto) นัตโต (Natto) เป็นต้น ซึ่งผลิตกันในประเทศต่างๆ และมีลักษณะที่จำเพาะ

2.2 ไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids)

ไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids) หรือไฮโดรฟิลิคคอลลอยด์ (Hydrophilic colloids) หมายถึง สารประเภทโพลีแซคคาไรด์กัม (Polysaccharide gums) ซึ่งเป็นโพลีเมอร์ที่มีสายยาว และมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ในโมเลกุลอาจประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ชนิดเดียวกันทั้งหมด เป็นโฮโมโพลีแซคคาไรด์ (Homopolysaccharide) เช่น เดกซ์แตรน (Dextran) และฟอสโฟแมนแนน (Phosphomannan) หรือประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์หลายชนิดเป็นเฮเตอร์โรโพลีแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharide) เช่น กัมอะราบิค (Gum arabic) กัมแกตติ (Gum ghatti) และกัมคารายา (Gum karaya) เป็นต้น

คำว่ากัม (Gums) เป็นภาษาอียิปต์ หมายถึงสารที่มีลักษณะเหนียว (Sticky substance) ดังนั้นเมื่อกัมละลายหรือกระจายตัวอยู่ในน้ำ จะทำให้สารละลายเพิ่มความหนืดหรือมีลักษณะเป็นเจล ในอุตสาหกรรมอาหารได้นำกัมไปใช้ประโยชน์เป็นสารเพิ่มความคงตัว (Stabilizer) สารเพิ่มความหนืด (Thickening) อิมัลซิไฟอิงเอเจนต์ (Emulsifying agent) สารที่ทำให้เกิดเจล (Gelling agent) Suspending agent Film-forming agent Encapsulating agent และหน้าที่อื่นๆ ในผลิตภัณฑ์อาหาร (นิธิยา, 2543) หน้าที่ดังกล่าวช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีขึ้น เช่น ลักษณะเนื้อ ลักษณะปรากฏและอายุการวางขาย ซึ่งขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างและคุณสมบัติของไฮโดรคอลลอยด์ โมเลกุล ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีรูปร่างและลักษณะเนื้อผันแปรแตกต่างกันได้มากมาย นอกจากนั้น

ไฮโดรคอลลอยด์บางชนิดเมื่อนำไปผสมกับอีกชนิดหนึ่งจะเกิดปฏิกิริยาทำให้มีคุณสมบัติและหน้าที่เปลี่ยนไปจากเดิมได้

2.2.1 คาร์ราจีแนน (Carrageenan)

คาร์ราจีแนน เป็นโพลีแซคคาไรด์ซัลเฟตที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง (Red Seaweed) คือ *Chondrus crispus Eucheuma* species และ *Gigartina* species โดยใช้น้ำร้อนภายใต้สภาวะด่างอ่อนๆแล้วผ่านขั้นตอนทำแห้งหรือตกตะกอน คาร์ราจีแนนแบ่งออกเป็น 3 ชนิดใหญ่ๆ ได้แก่ แคปป้า (Kappa) ไอโอต้า (Iota) และแลมด้า (Lambda) สาหร่ายทะเลส่วนใหญ่มีคาร์ราจีแนนอย่างน้อย 2-3 ชนิดผสมกันอยู่ (Nussinovitch, 1997)

คาร์ราจีแนนทั้ง 3 ชนิดมีองค์ประกอบเป็นน้ำตาลกาแลกโตส (D-galactose) ที่ถูกเอสเตอริไฟด์ด้วยกรดซัลฟูริคที่ตำแหน่งและระดับต่างๆกัน ทำให้มีสมบัติในการละลายและเกิดเจลแตกต่างกัน แคปป้า-คาร์ราจีแนนมีโครงสร้างหลักเป็นโพลีเมอร์สายยาวของ D-galactose-4-sulphate ที่เชื่อมต่อกันด้วย (1⟶3)-α-D-glycosidic linkages คือ คาร์บอนอะตอมตัวที่หนึ่งของน้ำตาลกาแลกโตสตัวแรกเชื่อมกับคาร์บอนตัวที่สามของน้ำตาลกาแลกโตสตัวที่สอง และ D-galactose-4-sulphate ยังอาจเชื่อมต่อกับ 3,6-anhydro-D-galactose ด้วย (1⟶4)-β-D-glycosidic linkages และมีบางส่วนที่เป็น D-galactose-6-sulphate เชื่อมกับ D-galactose-4-sulphate แทน 3,6-anhydro-D-galactose ด้วย (1⟶4)-β-D-glycosidic linkages ซึ่งแคปป้า-คาร์ราจีแนนมีความไวต่อโปแตสเซียมและสามารถแยกตกตะกอนออกจากคาร์ราจีแนนชนิดอื่นได้โดยใช้โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ส่วนไอโอต้า-คาร์ราจีแนนในโมเลกุลประกอบด้วย D-galactose-4-sulphate เชื่อมต่อกันด้วย (1⟶3)-α-D-glycosidic linkages และเชื่อมต่อกับ 3,6-anhydro-D-galactose-2-sulfate ด้วย (1⟶4)-β-D-glycosidic linkages ไอโอต้า-คาร์ราจีแนนมีความไวต่อแคลเซียมสกัดได้จาก *Eucheuma spinosum* สำหรับโครงสร้างของแลมด้า–คาร์ราจีแนนประกอบด้วย D-galactose-2-sulphate เชื่อมต่อกันด้วย (1⟶3)-α-D-glycosidic linkages และเชื่อมต่อกับ D-galactose-2,6-disulphate ด้วย (1⟶4)-β-D-glycosidic linkages แลมด้า-คาร์ราจีแนนไม่ไวต่อโปแตสเซียม (Fennema, 1996)

สมบัติของคาร์ราจีแนนขึ้นอยู่กับประจุลบของหมู่ซัลเฟตที่อยู่ในโมเลกุลเป็นสำคัญและยังแตกต่างกันในแต่ละชนิดของคาร์ราจีแนนด้วย ทำให้มีคุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยากับ

โปรตีนโดยช่วยเพิ่มความคงตัวและความเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถใช้ประโยชน์กับอาหารที่มีน้ำนมเป็นส่วนผสมหรือในอาหารเนื้อได้ดี (CEAMSA, 1999-2000)

คาร์ราจีแนนละลายได้ดีและมีความคงตัวที่พีเอชสูงกว่า 7 ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7 ความคงตัวจะลดลงโดยเฉพาะเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้น คาร์ราจีแนนแต่ละชนิดมีสมบัติในการเกิดเจลแตกต่างกัน สำหรับแคปป้า-และไอโอต้า-คาร์ราจีแนนเกิด Thermo-reversible gel ได้เมื่อมีโปแตสเซียมและแคลเซียมอิออน ตามลำดับ โดยมีกลไกการเกิดเป็น Double-helix carrageenan polymers (Fennema, 1996)

แคปป้า-และไอโอต้า-คาร์ราจีแนน ไม่ละลายในน้ำเย็นยกเว้นที่เป็นเกลือโซเดียมแต่ละลายได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 70°ซ คาร์ราจีแนนที่อยู่ในรูปสารละลายในน้ำมีโครงสร้างเป็น Random coil เมื่อทำให้เย็นลงจะเกิดเป็นตาข่ายโพลิเมอร์ 3 มิติ (Three-dimensional polymer) แต่ละสายของโพลิเมอร์รวมตัวกันเข้ามาใกล้และเกิด Junction point เมื่อปล่อยให้เย็นตัวลงอีกมีการเกาะตัวกันของ Junction point มากขึ้นทำให้เกิดการแข็งตัวของเจล ทั้งนี้แคปป้า-คาร์ราจีแนนเกิดเจลที่เปราะและแตกง่ายและมี Syneresis ส่วนไอโอต้า-คาร์ราจีแนนเกิดเจลที่มีความยืดหยุ่นและไม่เกิด Syneresis สำหรับแลมด้า-คาร์ราจีแนนละลายได้ในน้ำเย็นและมีสมบัติไม่เกิดเป็นเจล (Non-gelling) การผสมคาร์ราจีแนนชนิดแคปป้ากับไอโอต้าเข้าด้วยกันทำให้มีสมบัติในการเกิดเจลดีขึ้น เจลที่ได้มีความยืดหยุ่นและเกิด Syneresis น้อยลง ในทางการค้าได้มีการผสมคาร์ราจีแนนทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน ทำให้มีสมบัติการเป็น Gelling agent ดีขึ้น (Nussinovitch, 1997)

การเติมโลหะอิออนมีผลต่อการเกิดเจล เช่น แคปป้า-คาร์ราจีแนน เมื่อเติมโปแตสเซียมอิออนทำให้ได้เจลที่มีความยืดหยุ่น (Elastic gel) แต่ถ้าเติมแคลเซียมอิออนจะได้เจลที่มีเนื้อแข็ง (Rigid gel) ซึ่งตรงกันข้ามกับไอโอต้า-คาร์ราจีแนนเมื่อเติมแคลเซียมอิออนจะทำให้ได้เจลที่มีความยืดหยุ่น (นิธิยา, 2543)

การใช้โลคัสต์บีนกัม (Locust bean gum) ผสมกับแคปป้า-คาร์ราจีแนนจะช่วยเสริมความแข็งแรงของเจลให้เพิ่มขึ้น เปลี่ยนเนื้อเจลจากที่เปราะและแตกง่ายเป็นเจลที่ยืดหยุ่นดีขึ้นและลดการเกิด Syneresis อัตราส่วนที่เหมาะสมของแคปป้า-คาร์ราจีแนนต่อโลคัสต์บีนกัม คือ 2 ต่อ 1 ได้เจลที่มีความแข็งแรงสูงที่สุดและอัตราส่วน 1 ต่อ 4 ทำให้เกิด Syneresis น้อยที่สุด ในการนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารต้องทำให้ทั้งคาร์ราจีแนนและโลคัสต์บีนกัมละลายหมดเสียก่อน

จะเกิดเจล ส่วนการผสมไอโอต้า-คาร์ราจีแนนกับโลคัสต์บีนกัมไม่มีผลต่อความแข็งแรงของเจล แต่มีผลต่ออุณหภูมิที่เกิดเป็นเจลและความหนืดของเจล เพราะเจลจากไอโอต้า-คาร์ราจีแนนเกิดที่อุณหภูมิต่ำและมี Thixotropic flow ถ้าผสมโลคัสต์บีนกัม 1 ส่วนกับไอโอต้า-คาร์ราจีแนน 10 ส่วนช่วยให้เกิดเจลที่อุณหภูมิสูงขึ้นและเจลที่ได้มีสมบัติเป็น Pseudoplastic (นิธิยา, 2543)

การใช้คาร์ราจีแนนในนมและผลิตภัณฑ์นม เมื่อใช้ในปริมาณ 0.01-0.05% ช่วยเพิ่มความคงตัวและเมื่อใช้ในปริมาณ 0.5-1% จะให้เจลที่ดี (Igoe and Hui, 1996) สำหรับการใช้คาร์ราจีแนนใน Hard cheese ช่วยเพิ่มปริมาณเนยแข็งที่ผลิตได้ (Yield) โดยปรับปรุงการตกตะกอนของ Whey protein ในเนยแข็งเทียม (Imitation cheese) ใช้แคปป้า-คาร์ราจีแนน 2.5% ช่วยในการรวมตัวของส่วนผสมต่างๆรวมถึงปรับปรุงสมบัติด้าน Sliceability และ Shreddability ส่วนใน Cottage cheese เมื่อใช้คาร์ราจีแนนกับโลคัสต์บีนกัมช่วยป้องกันการแยกตัวและให้ความคงตัวแก่ผลิตภัณฑ์ (Nussinovitch, 1997)

2.2.2 โลคัสต์บีนกัม (Locust bean gum)

โลคัสต์บีนกัม ได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดจากต้น Carob หรือ Locust bean (*Ceratonia siliqua*) ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วชนิดหนึ่ง เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่สูงประมาณ 10-15 เมตร มีเมล็ดอยู่ในฝักประมาณ 10 เมล็ดต่อฝัก โครงสร้างหลักของโมเลกุลเป็นโพลีเมอร์สายยาวของโพลีแมนแนนประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนสต่อกันด้วย (1→4)-β-D-glycosidic linkages และมีแขนงแยกเป็นน้ำตาลกาแลกโตสโมเลกุลเดี่ยวต่อกันด้วย (1→6)-β-D-glycosidic linkages โมเลกุลของโลคัสต์บีนกัมมีอัตราส่วนของน้ำตาลแมนโนสต่อกาแลกโตสเป็น 4 ต่อ 1 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 310 kDa โลคัสต์บีนกัมไม่แตกตัวเป็นอิออน (Nonionic) ทนต่อความเป็นกรด-ด่างในช่วงพีเอช 3.5-11.0 ให้ความหนืดสูงสุดในช่วงพีเอช 7-9 สามารถตกตะกอนจากสารละลายได้ด้วยกรดแทนนิคและตะกั่วอะซิเตด (Nussinovitch, 1997)

โลคัสต์บีนกัมเป็นผงสีขาวค่อนข้างเหลือง เกือบจะไม่มีกลิ่น ไม่ละลายในน้ำเย็นต้องใช้ความร้อนช่วยในการละลาย ละลายได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 82 °ซ (Igoe and Hui, 1996) ปัจจุบันได้พัฒนาให้โลคัสต์บีนกัมมีสมบัติพองตัวได้ในน้ำเย็นและนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์นม

โลคัสต์บีนกัมไม่สามารถเกิดเจลได้ต้องผสมกับแซนแธนกัม (Xanthan gum) จึงเกิดเจลได้และเมื่อรวมกับแคปป้า-คาร์ราจีแนนจะเพิ่มความแข็งแรงแก่เจล ทำให้ลักษณะเนื้อเปลี่ยนแปลงไปและลดการเกิด Syneresis ของเจล หน้าที่หลักของโลคัสต์บีนกัม คือ เพิ่มความหนืดและความคงตัวให้แก่อิมัลชั่นและช่วยยับยั้งการเกิด Syneresis ผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดใช้โลคัสต์บีนกัม ได้แก่ อาหารกระป๋อง ซอส ขนมหวาน เครื่องดื่ม เนยแข็ง ไอศกรีมและผลิตภัณฑ์เนื้อ ในเนยแข็งโลคัสต์บีนกัมช่วยเร่งให้ตกตะกอนเร็วขึ้นและทำให้ได้เนื้อตะกอนของโปรตีนนมเพิ่มมากขึ้นประมาณ 10% (นิธิยา, 2543) ตามปกติโลคัสต์บีนกัมมักใช้ร่วมกับกัมชนิดอื่นๆ เช่น คาร์ราจีแนน (Carrageenan) แซนแธนกัม (Xanthan gum) กัวร์กัม (Guar gum) และ Carboxymethylcellulose โดยใช้ในปริมาณ 0.05-0.25% (Fennema, 1996)

2.3 เชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค (Lactic acid bacteria)

2.3.1 ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค

สำหรับกลุ่มของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram-positive) ไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming) รูปร่างกลมหรือเป็นท่อน (Coccobacilli or rods) ไม่เคลื่อนที่และให้ผลของ Catalase test เป็น negative ทนทานต่อกรด สามารถหมักน้ำตาลและผลิตกรดออกมาได้ ซึ่งส่วนใหญ่จะสร้างกรดแลกติค (Lactic acid) ในบางครั้งจะสร้างกรดที่ระเหยได้และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียกลุ่มนี้ประกอบด้วยสกุลต่างๆ ดังนี้ คือ *Streptococcus Enterococcus Lactococcus Lactobacillus Leuconostoc* และ *Pediococcus* ความแตกต่างระหว่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค แสดงดังตาราง 2.7 (Hui, 1991)

แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย (วราวุฒิ, 2538) ได้แก่

(1) Homofermentative lactic acid bacteria เป็นพวกที่สร้างกรดแลกติคเพียงอย่างเดียวจากการหมักน้ำตาล เช่น *S. thermophilus S. lactis* และ *S. cremoris*

(2) Heterofermentative lactic acid bacteria เป็นพวกที่สามารถสร้างกรดแลกติค กรดแอซิติค เอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ตาราง 2.7 ความแตกต่างระหว่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคในสกุลต่างๆ

ความแตกต่าง	*Leuconostoc*	*Lactobacillus*		*Streptococcus* *Enterococcus* *Lactococcus*	*Pediococcus*
		Hetero-fermentative	Homo-fermentative		
โครงสร้าง (Morphology)	ทรงกลมหรือท่อนแต่ค่อนข้างกลม	ท่อนกลมยาว (ท่อนแต่ค่อนข้างกลม)	ท่อนกลมยาว (ท่อนแต่ค่อนข้างกลม)	ทรงกลม (ท่อนแต่ค่อนข้างกลม)	ทรงกลม
การแบ่งเซล	1 ระนาบ	1 ระนาบ	1 ระนาบ	1 ระนาบ	2 ระนาบ
การเจริญใน Litmus milk	- หรือเล็กน้อย	-	- หรือเล็กน้อย	ดี	- หรือเล็กน้อย
การผลิตแก๊สจากกลูโคส	+	+	-	-	-
การไฮโดรไลซ์อาร์จีนีน	-	- หรือเล็กน้อย	-	- หรือเล็กน้อย	- หรือเล็กน้อย
ที่อยู่อาศัย -พืช(Plant) -สัตว์(Animal)	 + -	 + +	 + +	 บางสายพันธุ์ +	 + -

ที่มา: Macrae et al. (1993)

2.3.1.1 Genus Streptococcus

ทุกสายพันธุ์ของแบคทีเรียในสกุลนี้เป็นแบคทีเรียพวกแกรมบวก มีรูปร่างทรงกลม (Sphere) หรือไข่ (Oval) เซลเรียงตัวเหมือนลูกโซ่หรืออยู่กันเป็นคู่ (Chains or pairs) ไม่สร้างสปอร์และมักไม่เคลื่อนที่ ถูกจัดอยู่ในพวกที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (Facultative anaerobes) ต้องการสารอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อน ส่วนมากสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar หรือมีน้ำตาลกลูโคสและซูโครสอยู่ พบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในลำไส้ของคนและสัตว์ พืชบางชนิด อาหารสัตว์ น้ำลายและอุจจาระ ตลอดจนในอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในโรงงานนม เป็นต้น แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อวงการอาหาร โดยใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์บางชนิด แต่บางครั้งก็ก่อให้เกิดโรคขึ้นได้ (Macrae et al., 1993)

Streptococcus thermophilus

เซลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.7-1.0 ไมครอน มีรูปร่างทรงกลมหรือไข่ จัดเรียงตัวเป็นคู่ๆหรือเรียงตัวเป็นลูกโซ่ จัดเป็น Thermophilic bacteria เจริญที่อุณหภูมิ 40-45 °ซ ไม่เจริญที่ 15°ซ และเจริญได้ดีที่สุดที่ 37°ซ สามารถผลิตกรดได้จากน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส แมนโนส แลกโตสและซูโครส (Hardie, 1986)

2.3.1.2 Genus Lactobacillus

เป็นแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ (Hui, 1991) มีรูปร่างเป็นท่อนกลมยาว หรือเป็นท่อนแต่ค่อนข้างกลม (Cocobacilli) มีความต้องการสารอาหารพวกสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน เกลือ อนุพันธ์ของกรดนิวคลีอิก วิตามิน และเปปไตด์ จัดอยู่ในพวกที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (Facultative anaerobes) และไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Anaerobes) ทั้งนี้จะมีเมตาบอลิซึมแบบการหมัก (Fermentative) สามารถผลิตกรดแลกติค ออกมาเป็นผลพลอยได้

แบคทีเรียในสกุลนี้มีอย่างน้อย 44 สายพันธุ์ ส่วนมากพบอยู่ในพืชบางชนิด อาหารหมัก หรืออาหารที่เน่าเสีย ตามลำไส้ของคนและสัตว์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

(1) Betabacteria เป็นพวก Heterofermentative

(2) Thermobacteria เป็นพวก Homofermentative

(3)Streptobacteria เป็นพวก Homofermentative โดยมีความแตกต่างจากพวก Thermobacteria ในแง่ของช่วงอุณหภูมิที่เชื้อเจริญ ความสามารถในการหมักน้ำตาลไรโบส (Ribose) และการผลิตกรดจากกลูโคเนต (Gluconate) (Macrae et al., 1993)

Lactobacillus fermentum

เซลมีรูปร่างเป็นแท่งยาว (Rod shaped) มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-0.9 ไมครอน ส่วนมากอยู่เป็นเซลเดียวหรือเรียงตัวกันเป็นคู่ พบทั่วไปตามร่างกายของคน เช่น ทางเดิน

อุจจาระ ปาก เป็นต้น นอกจากนี้สามารถแยกได้จากผลิตภัณฑ์นม โค ปุ๋ยและอาหารหมักจากธัญพืช (Hammes and Vogel, 1995)

2.3.1.3 Genus Lactococcus

แบคทีเรียในสกุลนี้เป็นหัวเชื้อที่สำคัญในอุตสาหกรรมนมหมัก ครีมเปรี้ยว เนยแข็ง สายพันธุ์ที่รู้จักกันดี คือ *L. lactis* ssp. *cremoris* และ *L. lactis* ssp. *lactis* เซลมีรูปร่างเป็นทรงกลมหรือไข่ มักเรียงตัวลูกโซ่หรืออยู่กันเป็นคู่ ในอดีตถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *Streptococci* (Macrae et al.,1993)

2.3.1.4 Genus Enterococcus

แบคทีเรียในสกุลนี้มักอาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์และแยกได้จากพืช นมและผลิตภัณฑ์นม บทบาทในอุตสาหกรรมอาหารยังไม่แน่ชัด แต่เป็นตัวบ่งชี้ (Indicator) หรือแสดงคุณภาพของอาหารว่ามีการปนเปื้อนมากน้อยเท่าไร มีความทนทานต่อเกลือ ความร้อน และความเป็นกรด-ด่างได้ดี จึงสามารถเพิ่มจำนวนได้ดีในอาหารหมักดอง (Macrae et al., 1993)

2.3.1.5 Genus Pediococcus

แบคทีเรียในสกุลนี้จะผลิตกรดแลกติคเป็นจำนวนมากและเป็นหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตเนื้อหมัก (Curing Meat) (Hui, 1991) เซลมีรูปร่างเป็นทรงกลม มักพบอยู่กันเป็นคู่หรือรูปสี่เหลี่ยม แต่ไม่พบที่เรียงตัวเป็นลูกโซ่ (Macrae et al.,1993)

2.3.1.6 Genus Leuconostoc

แบคทีเรียสกุลนี้เป็นพวก Heterofermentative ที่มีรูปร่างกลม (Cocci) หรือเป็นท่อนแต่ค่อนข้างกลม (Coccobacilli) พบได้ในพืชและอาจพบในนมและผลิตภัณฑ์นม (Macrae et al., 1993) เมื่อมีน้ำตาลสามารถผลิตก๊าซได้ดี เช่นเดียวกับการทำให้เกิดเมือก แม้ว่าจะทำให้อาหารเน่าเสีย แต่ก็มีความสำคัญในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นม เนื่องจากผลิตสารที่ให้กลิ่นหอม (Aroma) (Hui, 1991)

2.3.2 การเจริญของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคในนมถั่วเหลือง

เนื่องจากนมถั่วเหลืองมีปริมาณความชื้นสูง ค่าความเป็นกรด-ด่างเกือบเป็นกลาง มีสารประกอบไนโตรเจน ไขมัน น้ำตาล วิตามินและเกลือแร่จำนวนมาก จึงมีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด สำหรับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคในนมถั่วเหลืองนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

2.3.2.1 การให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลือง (Heat treatment)

การให้ความร้อนแก่นมเป็นปัจจัยหนึ่งทางกระบวนการผลิตที่มีความสำคัญต่อความสามารถในการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค มีรายงานว่านมถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน หัวเชื้อแบคทีเรียเกือบทุกชนิดจะมีกิจกรรมที่ดี ถ้าให้ความร้อนถึง 60°ซ จะเป็นการเพิ่มการผลิตกรดจากเชื้อสายพันธุ์ *Streptococcus* และ *Leuconostoc* แต่ลดการผลิตกรดของ *Lactobacillus* ส่วนความร้อนมากกว่า 60 °ซ ขึ้นไปจะลดความเหมาะสมของนมถั่วเหลืองในการเป็นสับสเตรต (Substrate) โดยการให้ความร้อนที่ 80°ซ เป็นเวลา 1-60 นาทีหรือที่ 100°ซ เป็นเวลาสั้นๆ ทำให้เกิดกรดน้อยลง เพราะมีความเข้มข้นของ Sulphydryls และ/หรือ Toxic volatile sulphides สูงขึ้น แต่การให้ความร้อนที่ 100 °ซ นาน 20 นาทีหรือ 120°ซ นาน 10 นาที สามารถปรับปรุงคุณภาพของนมถั่วเหลืองได้ โดยกำจัด Sulphides และลดความเข้มข้นของ Sulphydryls ในระบบ (Angeles and Marth, 1971)

มีการยืนยันว่าหัวเชื้อที่ใช้ในโยเกิร์ตหรือเนยแข็งสามารถเจริญได้ดีในนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองที่ไม่ต้มมากกว่าถั่วเหลืองที่ต้มแล้ว (Kothari, 1973) และความร้อนที่ 65 °ซ ขึ้นไปสามารถยับยั้งประสิทธิภาพในการผลิตกรดของเชื้อ *Streptococcus* และ *Lactobacillus* (Kothari, 1975) เนื่องจากความร้อนมีผลต่อการทำลาย Growth factor หรือผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามในแง่ของรสและคุณค่าทางโภชนาการ การให้ความร้อนยังเป็นสิ่งที่จำเป็นเพราะช่วยยับยั้งกิจกรรมของ Lipoxidase ทำลาย Trypsin inhibitors และ Hemagglutinins ในถั่วเหลืองดิบได้ แม้ว่าจะมีการสูญเสียซับสเตรตไปบ้างจากความร้อน แต่ก็สามารถแก้ไขได้โดยเติมทดแทนลงไปภายหลัง เช่น การเติมน้ำตาลบางชนิด

2.3.2.2 สารอาหารบางชนิด (Certain additives)

การเติมสารอาหารบางชนิดลงในนมถั่วเหลืองก็มีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดของเชื้อแบคทีเรีย เช่น ถ้าเติม Peptone 1% หรือ Casitone 1% เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนจะเพิ่มปริมาณกรดที่ผลิตจากเชื้อ *S. thermophilus, L. pentosus* และ *Leuconostoc* species ส่วนการเติมกรดซิตริค (Citric acid) หรือซิเตรต (Citrate) อาจช่วยเพิ่มกลิ่นหอมแก่ผลิตภัณฑ์นมหมักและปรับปรุงการผลิตกรด อย่างไรก็ตามการเติมสารอาหารบางชนิดอาจมีผลยับยั้งกิจกรรมของหัวเชื้อที่ใช้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารอาหาร ปริมาณที่ใช้ และสายพันธุ์ของเชื้อ (Patel et al., 1980)

2.3.2.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ (The presence of fermentable carbohydrates)

ตามปกติเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคสามารถใช้น้ำตาลแลกโตส กาแลกโตส กลูโคส ฟรุกโตสและมอลโตส เพื่อให้เกิดการหมักได้ดี ในขณะที่ถั่วเหลืองมีน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) และโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) เป็นส่วนมากและบางขั้นตอนในการผลิต เช่น การแช่ถั่วเหลือง การต้ม ทำให้สับสเตรตลดลงด้วย และแม้ว่าน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ เช่น สตาคีโอส (Stachyose) และแรฟฟิโนส (Raffinose) จะถูกแบคทีเรียบางชนิดนำไปใช้ได้ โดยเฉพาะพวก *Lactobacillus* แต่ความสามารถในการใช้น้ำตาลเพื่อการเจริญยังไม่เพียงพอสำหรับเชื้อแบคทีเรียส่วนมาก ดังนั้นการเติมน้ำตาลในรูปแบบใดรูปแบบหนึ่งแก่หัวเชื้อจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น ซึ่งน้ำตาลแลกโตสและกลูโคสมีการใช้มากกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ โดยพิจารณาจากหัวเชื้อที่ใช้เพื่อให้เกิดกรดมากที่สุด เช่น ถ้าเติมแลกโตส 1% ทำให้ *S. lactis, S. cremoris, S. diacetilactis* ผลิตกรดดีขึ้นแต่ไม่มีผลต่อ *S. thermophilus* และเชื้อ *Lactobacillus* หลายสายพันธุ์ (Angeles and Marth, 1971) ซึ่งการเติมน้ำตาลแลกโตสมักใช้นมผงขาดมันเนย (Skim milk) หรือหางนมทั้งแบบที่เป็นของเหลวหรือของแข็ง ทั้งนี้ยังช่วยเพิ่มวิตามินอีกด้วย พบว่า เมื่อใช้กลูโคส 1% สามารถช่วยเพิ่มปริมาณกรดที่ผลิตจาก *S. lactis, S. cremoris, L. casei, S. diacetilactis* แต่มีผลน้อยใน *L. helvelticus, Leuconostoc cremoris* และ *Leuconostoc mesenteroides* และไม่มีผลต่อ *S. thermophilus* และ *Lactobacillus* บางสายพันธุ์ ตามปกติกลูโคสจะใช้ในปริมาณ 1% เช่นเดียวกับแลกโตส แต่อาจใช้กลูโคสมากขึ้น เช่น 2.5% ในเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* หรือ 4% ใน *L. acidophilus* สำหรับน้ำตาลชนิดอื่นๆ เช่นซูโครส จะมีการใช้อย่างจำกัด โดยพบว่าถ้าเติมซูโครส 1% มีผลดีต่อเชื้อ *Streptococcus* และ *Lactobacillus* เพียงเล็กน้อยและมีผลยับยั้ง

S. thermophilus แต่เมื่อใช้ในปริมาณ 2% ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของ *L. acidophilus, S. thermophilus, L.plantarum* และ *L. cellociocis* ส่วนการเติมน้ำตาลกาแลกโตส ฟรุกโตสและแมนโนสนั้นให้ผลไม่ดีเหมือนการใช้กลูโคสหรือแลกโตส (Mital et al., 1974)

2.3.2.4 ปัจจัยทางการผลิตอื่นๆ (Processing parameters)

สำหรับปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคในนมถั่วเหลือง ได้แก่

(1) สายพันธุ์ถั่วเหลือง

(2) ชนิดของเชื้อ

(3) วิธีเตรียมนมถั่วเหลือง ถั่วเหลืองที่แช่น้ำค้างคืนแล้วบดด้วยน้ำร้อนจะทำให้เชื้อสายพันธุ์ *Streptococcus* และ *Lactobacillus* เจริญได้ดีกว่าถั่วเหลืองที่กำจัดไขมันออกด้วยเอทานอล 95% และคลอโรฟอร์ม ส่วนวิธีเตรียมนมที่เหมาะสม คือ แช่ถั่วเหลืองทิ้งไว้ 6-12 ชั่วโมง แล้วบดด้วยน้ำร้อนในอัตราส่วนน้ำต่อถั่วเหลืองเป็น 5 ต่อ 1 นาน 7 นาที (Kothari, 1973)

(4) ปริมาณของแข็งของนมถั่วเหลือง (Total Soid) พบว่า *S. lactis, S. cremoris, S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* สามารถตกตะกอนโปรตีนของนมถั่วเหลืองซึ่งบดถั่วเหลืองกับน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 มากกว่าที่อัตราส่วนอื่นๆ (Kothari, 1975)

สำหรับสภาวะการหมัก (Culturing conditions) ของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคในนมถั่วเหลือง ได้แก่ อัตราการถ่ายเชื้อ (Inoculum rate) อุณหภูมิการหมัก (Incubation temperature) และเวลาในการหมัก (Incubation time) โดยทั่วไปใช้สภาวะเดียวกับของนมวัว คือ อัตราการถ่ายเชื้อเกือบทุกชนิดใช้ 1% แต่บางสายพันธุ์อาจใช้อัตรา 2.5% 3% หรือ 5% ส่วนเวลาในการหมักแตกต่างกันออกไป ที่นิยมกันมากคือ 16-18 ชั่วโมงหรือ 24 ชั่วโมง สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน (Patel et al., 1980) ดังนี้

(1) ที่อุณหภูมิ 24-28 °ซ เหมาะสมต่อเชื้อ *L. plantarum*

(2) ที่อุณหภูมิ 30 °ซ เหมาะสมต่อเชื้อพวก Mesophilic streptococci, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. pentosus* และ *L. brevis*

(3) ที่อุณหภูมิ 37 °ซ หรือ 40°ซ เหมาะสมต่อเชื้อ *S. thermophilus* และเชื้อสายพันธุ์ *Lactobacillus* เกือบทั้งหมด

(4) ที่อุณหภูมิ 45°ซ เหมาะสมต่อเชื้อ *S. thermophilus*

2.4 เนยแข็งและกระบวนการผลิต (Cheese and Cheese making)

2.4.1 ชนิดของเนยแข็ง (Classification of cheeses)

เนยแข็งหรือ Cheese เป็นผลิตภัณฑ์จากการตกตะกอนของนม ครีม (Cream) หางเนยเหลว (Butter milk) หรือส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ โปรตีนเคเซอีน (Casein) ไขมันนม (Milk Fat) แร่ธาตุและความชื้น (นรินทร์, 2531) เนยแข็งมีรูปแบบต่างๆกันมากมายกว่า 400-1,000 ชนิดทั่วโลกเกิดจากการดัดแปลงกระบวนการผลิตพื้นฐานบางอย่างรวมทั้งการใช้วัตถุดิบที่แตกต่างกัน (Beckett, 1995)

เนยแข็งสามารถจำแนกตามกลุ่มออกได้หลายวิธี (นิธิยา, 2539) ดังนี้

1.จำแนกตามปริมาณความชื้นในเนยแข็ง (Moisture content) แบ่งออกได้ดังนี้

(1.1) Soft cheese มีความชื้นสูงประมาณ 45-80 % แบ่งย่อยออกได้เป็น 2 พวก คือ

ก. เนยแข็งสด (Fresh) เช่น Cottage cheese และ Cream cheese

ข.เนยแข็งชนิดบ่ม (Ripened) โดยปล่อยให้ผิวนอกปกคลุมด้วยเชื้อรา เช่น Camembert

(1.2) Semi-hard cheese มีความชื้นประมาณ 30-45% แบ่งตามวิธีการบ่มได้ดังนี้

ก. ทำให้เกิดการบ่มด้วยแบคทีเรีย เช่น Munster

ข. ทำให้เกิดการบ่มด้วยแบคทีเรียและเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิว เช่น Limburger

ค. ทำให้เกิดการบ่มด้วยราสีน้ำเงิน เช่น Blue cheese

(1.3) Hard cheese มีความชื้นประมาณ 30-40% จำแนกตามขบวนการบ่มได้ 2 ชนิด คือ
ก.ทำให้เกิดการบ่มด้วยแบคทีเรียและไม่ทำให้เกิดตา (without eyes) เช่น Cheddar
ข.ทำให้เกิดการบ่มด้วยแบคทีเรียและมีตา (with eyes) เช่น Gouda

(1.4) Very hard cheese เป็นกลุ่มของเนยแข็งที่มีความชื้นค่อนข้างต่ำ เกิดจากการบ่มด้วยแบคทีเรีย เช่น Romano, Parmesan

2. จำแนกตามชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการบ่ม (Microorganism used for ripening) แบ่งออกได้ดังนี้

(2.1) เนยแข็งสด เป็นเนยแข็งที่ไม่ผ่านการบ่ม

(2.2) การบ่มโดยใช้เชื้อรา

(2.3) การบ่มโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ฉาบบนผิวนอกของเนยแข็ง

(2.4) การบ่มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย ส่วนใหญ่ใช้แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค

3. จำแนกตามลักษณะเนื้อของเนยแข็ง (Cheese texture) แบ่งได้ดังนี้

(3.1) เนยแข็งที่มีลักษณะเนื้อมีตา (Round-eyed cheese) ตาเกิดจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มาจากกระบวนการหมักสะสมอยู่ในก้อนเนยแข็ง

(3.2) เนยแข็งที่มีลักษณะเนื้อหยาบ (Granular cheese) มีก๊าซเกิดจากการหมักเพียงเล็กน้อยและแทรกตัวอยู่ในเนื้อเนยแข็ง

(3.3) เนยแข็งที่มีลักษณะเนื้อแน่น (Closed-textured cheese) โดยทำการหมักก่อนอัดเข้าไปในแม่พิมพ์

4. จำแนกตามวิธีตกตะกอน (Coagulation method) แบ่งได้ดังนี้

(4.1) เนยแข็งที่ตกตะกอนโดยใช้กรดและเอนไซม์เรนเนตร่วมกัน เรียกว่า Acid rennet cheese

(4.2) เนยแข็งที่ตกตะกอนโดยใช้กรดอย่างเดียว เรียกว่า Acid cheese

2.4.2 หลักการพื้นฐานของการผลิตเนยแข็ง

ขั้นตอนการผลิตเนยแข็งเริ่มต้นด้วยการนำนมมาปรับมาตรฐานของส่วนประกอบ (Milk standardization) เนื่องจากมีผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะไขมันและเคเซอีน (Casein) ควรมีปริมาณตามที่กำหนด จากนั้นจึงนำนมมาพาสเจอร์ไรส์ (Pasteurization) เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่อาจไปรบกวนกลไกการตกตะกอนและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ความร้อนที่แตกต่างกันมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Lipase) และโปรตีเอส (Protease) ต่างกัน ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติและเนื้อสัมผัสแตกต่างกันด้วย

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมีของนมส่วนใหญ่เกิดขึ้นในขั้นตอนการตกตะกอนโปรตีน (Coagulation) ซึ่งอาจใช้เอนไซม์เรนเนต (Rennet) ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ทั้งนี้เอนไซม์เรนเนตจะเปลี่ยนแคปป้า-เคเซอีน (kappa-casein) เป็นพารา-เคเซอีน (para-casein) โดย Hydrophilic peptide ถูกแยกจาก Casein micelles ทำให้มี Hydrophobicity เพิ่มขึ้นและเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Casein micelles กลายเป็นโครงร่างแหโปรตีน (Protein network) จากนั้นพารา-เคเซอีนจะตกตะกอน โดยมีแคลเซียมอิออนช่วยให้โปรตีนรวมตัวกันดีขึ้นและได้ตะกอนที่แน่นขึ้น นอกจากนี้อาจตกตะกอนโดยใช้เชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค ซึ่งใช้น้ำตาลแลกโตสเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลกติค เมื่อปล่อยนมตั้งทิ้งไว้กรดที่เกิดขึ้นทำให้ความเป็นกรด-ด่างของนมลดลงเรื่อยๆหรืออาจตกตะกอนโปรตีนได้โดยเติมกรดลงไปโดยตรง จนกระทั่งเมื่อความเป็นกรด-ด่างมีค่าประมาณ 4.6 ซึ่งเท่ากับค่า Isoelectric point ของเคเซอีนจะเกิดเจลขึ้น (นรินทร์, 2531)

เมื่อตกตะกอนถึงจุดที่มีลักษณะแน่นซึ่งยังมีส่วนที่เป็นของเหลวด้วย ดังนั้นเพื่อที่จะเพิ่มสัดส่วนปริมาณของแข็งต่อของเหลวให้สูงขึ้น จึงมีขั้นตอนตัดลิ่มนม (Cutting) ซึ่งช่วยเพิ่มพื้นที่ในการปล่อยเวย์ของลิ่มนมให้มากขึ้น ปัจจัยสำคัญต่อปริมาณเวย์ที่แยกออกมา คือ ส่วนประกอบของนม ความเป็นกรด-ด่างของเวย์ อุณหภูมิที่ใช้ ระยะเวลาและความเร็วในการกวน

หลังจากนั้นนำลิ่มนมมาทำให้เป็นรูปร่างต่างๆกันในแม่พิมพ์ (Molding) โดยอัดหรือกด (Pressing)ให้ลิ่มนมเกาะกันแน่นที่ความดันต่างๆกันขึ้นอยู่กับประเภทของเนยแข็ง การอัดทำให้โครงสร้างแข็งตัวมากขึ้นและช่วยไล่เวย์ออก สำหรับการเติมเกลือ (Salting) อาจทำก่อนหรือหลังจากอัดให้เป็นรูปร่างขึ้นกับชนิดของเนยแข็ง (Beckett, 1995)

ก้อนเนยแข็งที่อัดใส่พิมพ์แล้วจะถูกนำมาเก็บไว้ในห้องบ่ม เพื่อให้เกิดขบวนการบ่ม (Ripening) โดยมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพเกิดขึ้นกับส่วนประกอบของเนยแข็ง เช่น ความชื้นลดลงและเกิดสารประกอบที่ให้กลิ่นและรส เป็นต้น ในการบ่มอาจใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ร่วมด้วย เช่นแบคทีเรียและรา ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์จะเจริญและใช้สารประกอบต่างๆในเนยแข็งเป็นแหล่งอาหาร บางชนิดช่วยให้เกิดฟองอากาศและกรดอินทรีย์ขึ้น สำหรับระยะเวลาที่ใช้บ่มแตกต่างกันตามชนิดของเนยแข็ง โดยทั่วไปถ้าเป็น Soft cheese ใช้เวลาบ่มสั้น ในขณะที่การบ่มเป็นเวลานาน 1 ปีขึ้นไปช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและเพิ่มรสชาติของเนยแข็ง นอกจากนี้อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ขณะบ่มจะขึ้นอยู่กับชนิดของเนยแข็งเช่นกัน โดยที่ความชื้นสัมพัทธ์สูงช่วยในการเจริญของจุลินทรีย์บริเวณผิวของเนยแข็ง ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ต่ำจำเป็นสำหรับ Hard cheese เกือบทุกชนิด (Beckett, 1995)

การผลิตเนยแข็งจากนมถั่วเหลือง ได้มีผู้ทำการศึกษาไว้หลายคน ดังนี้

Kenkyusho (1965) ศึกษาการผลิตเนยแข็งจากนมถั่วเหลือง ซึ่งนมถั่วเหลืองที่ใช้มีการเติมเคเซอีน (Casein) น้ำตาลกลูโคส (Glucose) ไขมันเนย (Butter Fat) และน้ำมันพืชลงไป แล้วใช้เชื้อ *S. faecalis* สารสกัดเรนเนต (Rennet extract) และแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ในการตกตะกอนโปรตีน จากนั้นจึงนำลิ่มนมที่ได้มาผ่านขั้นตอนของการทำเนยแข็งโดยทั่วไป

Hang and Jackson (1967a) ศึกษาการผลิตเนยแข็งจากนมถั่วเหลือง โดยใช้ *S. thermophilus* เป็นหัวเชื้อเพื่อตกตะกอนโปรตีนเปรียบเทียบกับการใช้แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4$) และกรดอะซิติค พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความแตกต่างกันในด้านเปอร์เซ็นต์ของการตกตะกอนโปรตีน ความแข็ง (Hardness) และปริมาณความชื้น ซึ่งการใช้เชื้อจุลินทรีย์ให้ผลที่น่าพอใจมากที่สุด โดยผลิตภัณฑ์มีปริมาณความชื้นน้อยกว่าการใช้เกลือและกรด มีลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏดีกว่า แม้ว่ามีเปอร์เซ็นต์ของการตกตะกอนโปรตีนน้อยกว่าการใช้กรดเติมลงไป ต่อมา Hang and Jackson (1967b) ได้ศึกษาการใช้หัวเชื้อ *S. thermophilus* ร่วมกับสารสกัดเรนเนต (Rennet extract) และนมผงขาดมันเนย (Skimmilk) พบว่าสามารถลดเวลาในการตกตะกอนโปรตีนและลดเวลารวมที่ต้องใช้ในการผลิตลงได้ 40 นาที นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงรสชาติของเนยแข็งภายหลังการบ่มที่ 20 °ซ นาน 63 วัน เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของโปรตีนถั่วเหลืองและเคเซอีน (Casein) ช่วยให้เกิดกลิ่นและรสดีขึ้น ส่วนการใช้สารสกัดเรนเนตร่วมกับการใช้หัวเชื้อแลกติด พบว่าไม่ได้ช่วยลดเวลาการตกตะกอนโปรตีนแต่ช่วยปรับปรุงรสชาติและลักษณะปรากฏของเนยแข็ง

ในระหว่างการบ่มทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะอ่อนนุ่ม (Soften) มีความยืดหยุ่น (Elastic) น้อยลง และเพิ่มรสชาติเล็กน้อย

Obara (1968) ศึกษาการผลิตเนยแข็งจากนมถั่วเหลืองโดยไม่ใช้กระบวนการทำเนยแข็งเหมือนกับที่ใช้กับนมโคทั่วไป เริ่มจากตกตะกอนนมด้วยแคลเซียมซัลเฟต 0.35 N ที่อุณหภูมิ 70°ซ นำลิ่มนมที่ได้มากำจัดเวย์ออกแล้วผสมกับหัวเชื้อแบคทีเรีย (*S. cremoris* และ *S. lactis* ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1) เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้น 0.394 % และเกลือ จากนั้นนำลิ่มนมมาอัดในแบบพิมพ์ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 17.5°ซ (63.4°ฟ) เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ พบว่าเนยแข็งมีเนื้อเนียนมาก (Smooth texture) และมีรสชาติดี โดยมีความชื้น 54% โปรตีน 24% และไขมัน 15% ส่วนคุณค่าทางโภชนาการมีค่า Protein efficiency ratio และ Biological value เป็น 2.7 และ 63 ตามลำดับ

Schroder and Jackson (1971) ผลิตเนยแข็งจากนมถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อ *S. thermophilus* และบ่มผิวนอกของเนยแข็งด้วย *Rhizopus oligosporus* และ *Penicillium camemberti* พบว่าการบ่มด้วยเชื้อราช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัส แต่ผลิตภัณฑ์เกิดรสขม

Lundstedt and Lo (1973) รายงานว่า เต้าหู้ที่เติมน้ำมันเนย (Milk fat) และนมปราศจากไขมัน (Nonfat milk) แล้วเพาะด้วยเชื้อ *S. diacetilactis* และราสีน้ำเงิน *Penicillium roqueforti* บ่มเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัสเหมือน Blue cheese มาก

Ebine (1976) ศึกษาการผลิตเนยแข็งจากเต้าหู้ โดยถ่ายสปอร์ของเชื้อราที่ใช้ใน Camembert cheese ลงบนผิวของเต้าหู้ ทิ้งให้เกิดการหมักที่ 24°ซ นาน 40 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มในห้องเย็นนาน 2 สัปดาห์เพื่อให้เอนไซม์ทำการย่อยสลายส่วนประกอบต่างๆ ในการผลิตไม่จำเป็นต้องใช้เกลือ แต่สิ่งสำคัญ คือ เต้าหู้ต้องมีความชื้นต่ำและใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์เพื่อช่วยให้ไขมันรวมตัวกันหรือไม่แยกชั้นกัน

Fuke and Matsuoka (1977) ศึกษาการใช้แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคเพื่อตกตะกอนโปรตีนนมถั่วเหลืองและบ่มด้วยเชื้อรา *Penicillium caseicolum* พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสชาติอ่อน เนื้อเนียน แต่อายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น

Shurtleff and Aoyagi (1979) รายงานว่าได้มีการพัฒนากระบวนการผลิต Cheese spread จากนมถั่วเหลือง โดยใช้น้ำมันมะพร้าว (และ/หรือน้ำมันเนย) ที่โฮโมจีไนซ์แล้วเติมลงในนมถั่วเหลืองที่ร้อน ตกตะกอนส่วนผสมด้วยเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) หรือแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) แล้วกำจัดเวย์ออกไป เมื่อลิ่มนมมีอุณหภูมิลดลงถึง 55 °ซ เติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *S. cremoris* หรือ *S. lactis* หรือเอนไซม์ย่อยโปรตีนร่วมกับเรนเนต เคเซอีนและน้ำตาลแลกโตส (หรือมอลโตส) เพื่อช่วยในการเจริญของหัวเชื้อ จากนั้นอัดลิ่มนมที่ได้จนกระทั่งมีปริมาณความชื้นไม่เกิน 65% แล้วนำมาแช่น้ำเกลือที่อุณหภูมิ 10°ซ นาน 10 ชั่วโมง ขั้นตอนสุดท้าย คือ บ่มผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 17°ซ เป็นเวลา 21 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอัตราส่วนของโปรตีนต่อไขมันเป็น 2 ต่อ 1 และมีรสชาติเหมือนเนยแข็งชนิดเชดด้า (Cheddar cheese)

El-Ella (1980) ศึกษาการผลิต Hard cheese จากนมถั่วเหลือง โดยใช้ *S. lactis* เป็นหัวเชื้อ และเติมแคลเซียมแลกเตค (Calcium lactate) เพื่อช่วยในการตกตะกอนโปรตีน ลิ่มนมที่ได้นำมาอัดให้แน่นและเติมน้ำเกลือ จากนั้นนำไปบ่ม พบว่าผลิตภัณฑ์มีกลิ่นเนยแข็งเกิดขึ้นภายในเวลา 3 เดือน ของการบ่ม ส่วนลักษณะเนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ รสชาติและสีของผลิตภัณฑ์ด้อยกว่าเนยแข็งที่ผลิตจากการผสมกันระหว่างนมโคและนมถั่วเหลืองและถ้าเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของนมโคให้มากขึ้น ทำให้การยอมรับเพิ่มขึ้น ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Kim et al. (1995) ผลิต Mozzarella cheese ชนิดไขมันต่ำ โดยผสมนมถั่วเหลือง 15% นมโค 85% และเติมกรดแลกติค ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีการยอมรับสูง

Fuke and Matsuoka (1984) ได้ใช้หัวเชื้อแลกติคในการตกตะกอนโปรตีนและศึกษาการสลายตัวของโปรตีนในช่วงระยะเวลาการบ่ม พบว่าการสลายตัวของโปรตีนเป็นไปอย่างช้าๆ ต่อมาจึงได้ทำการศึกษาผลของหัวเชื้อแลกติคผสม (*S. thermophilus* และ *S. lactis* ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1) ร่วมกับ Bromelain ซึ่งทำหน้าที่เป็นทั้งตัวตกตะกอนโปรตีนและเป็นเอนไซม์ที่จะช่วยปรับปรุงรสชาติของผลิตภัณฑ์ โดยทำการเติมเอนไซม์ลงในนมถั่วเหลืองหลังกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียผ่านไปนาน 90-120 นาที พบว่าการเติมเอนไซม์ Bromelain ช่วยเพิ่มรสชาติแก่ผลิตภัณฑ์เพราะทำให้เกิดการสลายตัวของโปรตีนที่สูงขึ้นในระหว่างการบ่มนาน 60 วัน แต่การเติมเอนไซม์ Bromelain ทำให้เปอร์เซ็นต์ของแข็งและโปรตีนตกตะกอนน้อยลง

Chumchuere (1998) พบว่าการใช้หัวเชื้อผสมระหว่าง *L. fermentum* และ *S. thermophilus* ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยปริมาตรทำให้มีการเจริญและการผลิตกรดแลกติคในนมถั่วเหลืองที่

น่าพอใจมากที่สุด สำหรับการผลิตเนยแข็งสามารถใช้กระบวนการผลิตแบบเดียวกับที่ใช้กับนมโคได้ โดยเริ่มต้นจากการนำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid) 12% มาผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลานาน 30 นาที ปล่อยให้นมเย็นลงถึง 37 °ซ แล้วเติมหัวเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5% ของน้ำนมลงไป ทิ้งให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิ 37 °ซ จนกระทั่งความเป็นกรด-ด่างมีค่าประมาณ 4.0-4.6 มีลิ่มนมเกิดขึ้น จึงตัดลิ่มนมและเพิ่มความร้อนเป็น 70 °ซ 45-60 นาที ทำการแยกเวย์ออกและทิ้งลิ่มนมที่ได้ไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 °ซ จากนั้นจึงอัดที่ความดัน 600 กิโลปาสคาล (kPa) ทิ้งไว้ค้างคืน เนยแข็งที่ได้มีลักษณะกึ่งแข็ง (Semi-hard) มีเนื้อแน่น (Closed texture) มีรสชาติค่อนข้างเปรี้ยว มีสีที่ยอมรับ แต่ก็มีรสเฝื่อนและมีกลิ่นถั่ว

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University