บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วเหลือง (Soybean)

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L) *Merr* เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล *Leguminosae*, subfamily *papilionoideae* มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Soybean เป็นพืชตระกูลถั่วที่รู้จักกันเป็นอย่างดี โดยเฉพาะเป็นพืชดั้งเดิมในทวีปเอเชีย ซึ่งมีการปลูกครั้งแรกที่ประเทศจีนจากนั้นได้มีการแพร่กระจายพันธุ์ไปยังประเทศใกล้เคียง เช่น ประเทศญี่ปุ่น ไทย อินเดีย เป็นต้น ประชาชนในภูมิภาคนี้ได้นำถั่วเหลืองมาใช้บริโภคและนำมาเป็นส่วนผสมที่สำคัญของอาหารพื้นเมืองนานาชนิด แหล่งเพาะถั่วเหลืองที่สำคัญของประเทศไทยส่วนใหญ่นิยมปลูกในแถบภาคเหนือ และภาคกลางตอนบน ลักษณะของต้นถั่วเหลืองเป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 1 - 2 เมตร ลำต้นสี่เหลี่ยมปกคลุมด้วยขนสีเทาขาว ใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ ประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ รูปร่างคล้ายรูปไข่ปลายแหลม ค่อนข้างหนา ผิวมันทั้งด้านบนและด้านล่าง ดอกเป็นช่อสีขาวหรือม่วงแดง ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 25 - 30 วัน สามารถขึ้นได้ดีในสภาพดินร่วนซุยระบายน้ำดี (คณะกรรมการกำหนดมาตรการและจัดทำเอกสารอนุรักษ์ดินและน้ำ, 2541) เก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 90 - 100 วัน และกิ่งในฝักประกอบเมล็ดจำนวน 3 - 5 เมล็ดมีลักษณะกลมรี ผิวสีเหลืองมัน ตาเมล็ดค่อนข้างเล็กมีสีน้ำตาลอ่อน (โครงการสมุนไพรกับสาธารณสุขมูลฐาน โดยความช่วยเหลือขององค์การยูนิเซฟ, 2529)

2.1.1 สายพันธุ์ของถั่วเหลือง

ปัจจุบันการปลูกถั่วเหลืองในประเทศไทย ได้มีการปรับปรุงพันธุ์โดยกรมวิชาการเกษตร เพื่อให้ได้พันธุ์ถั่วเหลืองซึ่งมีลักษณะที่เหมาะสมต่อภูมิประเทศและภูมิอากาศของไทย มีความทนทานต่อโรคและให้ผลผลิตสูง โดยทั่วไปถั่วเหลืองนิยมปลูกทั้งหมดมี 10 พันธุ์ คือ พันธุ์ สจ.4 สจ.5 สุโขทัย 1 สุโขทัย 2 สุโขทัย 3 นครสวรรค์ 1 เชียงใหม่ 60 เชียงใหม่ 2 เชียงใหม่ 3 และเชียงใหม่ 4 (อภิพรรณ, 2546; ห้องสมุดความรู้การเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะของถั่วเหลืองที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์

พันธุ์ สจ. 2 ลักษณะของลำต้นไม่มีการทอดยอด ต้นไม่ล้มง่าย เจริญเติบโตเร็ว และให้ผลผลิตสูงในปลายฤดูฝนและฤดูแล้ง ฝักไม่แตกง่าย ลักษณะของตาเมล็ดมีสีน้ำตาลแดง สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 95 วันแต่เป็นพันธุ์ที่ไม่สามารถต้านทานต่อโรคราสนิม

พันธุ์ สจ. 4 เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่า พันธุ์ สจ.2 คุณภาพของเมล็ดดี ตาเมล็ดมีสีน้ำตาลอ่อนเป็นลักษณะซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด ปลูกได้ผลดีทั้งฤดูแล้งและฤดูฝน ต้านทานต่อโรคราสนิม สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 99 วัน

พันธุ์ สจ. 5 เป็นพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการของตลาดเนื่องจากมีลักษณะของตาเมล็ดเป็นสีน้ำตาลอ่อน สามารถทนทานต่อโรคราสนิม และโรคใบด่างดีกว่า พันธุ์ สจ. 4 .ให้ผลผลิตในฤดูแล้งสูงกว่าพันธุ์ สจ. 4 แต่ในฤดูฝนให้ผลผลิตได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่อมีอายุ 98 วัน

พันธุ์ เชียงใหม่ 60 ทนทานต่อโรคราสนิมได้ดีกว่า สจ. 4 และ สจ. 5 เป็นพันธุ์ที่มีกิ่งน้อยแต่ให้จำนวนฝักมาก สามารถเพิ่มจำนวนต้นต่อไร่ได้มาก และให้ผลผลิตในปริมาณสูง มีการตอบสนองต่อปุ๋ยได้ดีกว่า พันธุ์ สจ. 5 ปลูกได้ทั้งฤดูแล้งและฤดูฝนโดยให้ผลผลิตใกล้เคียงกับ พันธุ์ สจ.4 และพันธุ์ สจ. 5 สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 97 วัน

พันธุ์ นครสวรรค์ 1 เป็นพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีอายุสั้นประมาณ 75 วัน เมล็ดโตกว่าทุกพันธุ์ที่กล่าวมาข้างต้น ตาเมล็ดสีเหลืองอ่อน ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด แต่ต้องหลีกเลี่ยงการปลูกในแหล่งที่มีโรคราสนิมราน้ำค้างและแอนแทรกโนส นิยมปลูกในฤดูฝน ในเขตภาคกลาง โดยมักจะทำการปลูกก่อน หรือตามหลังพืชไร่อื่นๆ แต่สามารถปลูกได้ทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง

พันธุ์ สุโขทัย 1 เป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกในภาคเหนือตอนล่าง เช่น สุโขทัย กำแพงเพชร เป็นต้น ให้ผลผลิตสูงเมื่อปลูกในฤดูฝน สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 96 วัน ตาเมล็ดสีเหลืองฟางข้าว เป็นพันธุ์ที่เกิดโรคเมล็ดสีม่วงค่อนข้างมากกว่าพันธุ์อื่นๆ แต่มีคุณลักษณะต้านทานต่อโรคใบด่างและใบจุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและมีราคาถูก โดยมี โปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 38 น้ำมันร้อยละ 18 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 25 เนื่องจากในถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทั้ง 10 ชนิด เช่นเดียวกับเนื้อสัตว์ (ตารางที่ 2.1) จึงทำให้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญและมีคุณภาพดีเมื่อเปรียบเทียบกับธัญพืชอื่นๆ โดยเฉพาะผู้ที่ไม่บริโภคเนื้อสัตว์ (อภิพรรณ, 2528) จากการสำรวจและการวิจัยข้อมูลทางสุขภาพและการแพทย์พบว่าการบริโภคถั่วเหลือง รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดความทุกข์ทรมาน และเสียชีวิตในประชากรโลก เช่นโรคกระดูกพรุน โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และอาการวัยทองของสตรีวัยหมดประจำเดือน เป็นต้น คุณประโยชน์ดังกล่าวได้จากสารอาหารสำคัญที่มีอยู่ในถั่วเหลือง รวมทั้งในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

ตารางที่ 2.1 กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดถั่วเหลือง ในแป้งถั่วเหลือง ในอาหารข้น (Concentrate) และในส่วนที่แยกออกเป็นอิสระ (Isolates) เมื่อเทียบกับปริมาณที่องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) กำหนดเป็นมาตรฐานของอาหารที่มีคุณภาพดี (กรัมต่อ 100 กรัม โปรตีน)

กรดอะมิโน	มาตรฐาน FAO	ถั่วเหลือง			
		เมล็ด	แป้ง	อาหารข้น	แยกออกเป็นอิสระ
Cystine	4.2	1.3	1.6	1.6	1.3
Isoleusine	4.2	4.5	4.7	4.8	4.9
Leusine	4.8	7.8	7.9	7.8	7.8
Lysine	4.2	6.4	6.3	6.3	6.4
Methionine	2.2	1.3	1.4	1.4	1.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดถั่วเหลือง ในแป้งถั่วเหลือง ในอาหารข้น (Concentrate) และในส่วนที่แยกออกเป็นอิสระ (Isolates) เมื่อเทียบกับปริมาณที่องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) กำหนดเป็นมาตรฐานของอาหารที่มีคุณภาพดี (กรัมต่อ 100 กรัม โปรตีน)

กรดอะมิโน	มาตรฐาน FAO	ถั่วเหลือง			
		เมล็ด	แป้ง	อาหารข้น	แยกออกเป็นอิสระ
Phenylalanine	2.8	4.9	5.3	5.2	5.4
Threonine	2.8	3.9	3.9	4.2	3.6
Tryptophan	1.4	1.3	1.3	1.5	1.4
Tyrosine	2.8	3.1	3.8	3.9	4.3
Valine	4.2	4.8	5.1	4.9	4.7

ที่มา : Weingartner, (1987)

สารสำคัญในถั่วเหลือง

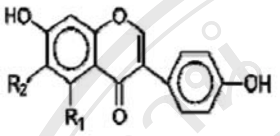
จุลธาตุ (Micronutrient) (Messina, 1999)

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่อุดมไปด้วยแร่ธาตุ (Minerals) เช่น ธาตุเหล็ก สังกะสี แคลเซียม และ โฟเลต พบว่าถั่วเหลืองหนึ่งหน่วยบริโภคจะมีปริมาณโฟเลตสูงกว่าครึ่งหนึ่งของปริมาณที่ต้องการต่อวัน การได้รับโฟเลตจากการบริโภคถั่วเหลืองจะช่วยลดความเสี่ยงต่อความบกพร่องของระบบประสาทได้ แม้ว่าถั่วเหลืองจะประกอบไปด้วยแร่ธาตุสูงแต่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ เนื่องจากในถั่วเหลืองประกอบด้วยสารซึ่งยับยั้งการดูดซึมแร่ธาตุ เช่น กรดไฟติก และกรดออกซาลิก เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

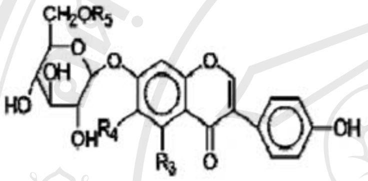
สารไอโซฟลาโวน (Isoflavones) หรือ ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogens)

Aglycones



R_1	R_2	Compound
H	H	Daidzein
OH	H	Genistein
H	OCH_3	Glycitein

Glucosides



R_3	R_4	R_5	Compound
H	H	H	Daidzin
OH	H	H	Genistin
H	OCH_3	H	Glycitin
H	H	$COCH_3$	Acetyldaigzin
OH	H	$COCH_3$	Acetylgenistin
H	OCH_3	$COCH_3$	Acetyglycitin
H	H	$COCH_2COOH$	Malonyldaidzin
OH	H	$COCH_2COOH$	Malonylgenistin
H	OCH_3	$COCH_2COOH$	Malonylglycitin

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของไอโซฟลาโวน

ที่มา Liggins *et al.* (1998)

ไอโซฟลาโวนเป็นสารอินทรีย์จำพวก Flavonoids พบได้ในพืชหลายชนิดโดยเฉพาะในถั่วเหลืองและอาหารที่ประกอบด้วยถั่วเหลือง เป็นสารที่มีโครงสร้างและบทบาทคล้ายเอสโตรเจนซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศหญิง มีผลในการลดอาการร้อนวูบวาบ เนื่องจากภาวะหมดประจำเดือน และมีคุณสมบัติในการช่วยป้องกันโรคมะเร็งบางชนิด โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคกระดูกพรุน (Murphy *et al.*, 2002 ; Messina, 1999) สารไอโซฟลาโวน ในถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์มีโครงสร้างทางเคมีหลายรูปแบบโดยมีโครงสร้างหลักแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ Glucosides และ Aglycones ปริมาณและชนิดของไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของถั่วเหลือง กระบวนการผลิต การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโครงสร้างชนิด Aglycones โดยเฉพาะ Genistein และ Daidzein สามารถถูกดูดซึมผ่านทางระบบทางเดินอาหารได้อย่างรวดเร็ว และมีปริมาณของสารในร่างกายมากกว่าในโครงสร้าง Glucosides (Setchelle, 2000) ทำให้มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาไอโซฟลาโวนทั้งสองชนิดอย่างกว้างขวางเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์ และเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม จากการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองพบว่าในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักจะมีองค์ประกอบของไอโซฟลาโวนชนิด Aglycone ในปริมาณมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งการบริโภคถั่วเหลืองหมักได้รับความนิยมในกลุ่มผู้บริโภคในแถบเอเชียจึงมีความกังวลในกลุ่มของนักวิชาการว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักเป็นปริมาณมากอาจส่งผลทำให้ร่างกายได้รับปริมาณของไอโซฟลาโวนเกินขนาดหรือส่งผลข้างเคียงต่อร่างกายอย่างใด ทำให้มีการศึกษาถึงความปลอดภัยในการบริโภคไอโซฟลาโวน ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองในผู้หญิงที่อยู่ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ 28 คนที่ได้รับไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones ที่ความเข้มข้น 45 มิลลิกรัม ต่อวัน เป็นเวลา 14 วันติดต่อกันโดยการรับประทานโปรตีนถั่วเหลืองไม่พบว่ามีผลข้างเคียงอย่างมีนัยสำคัญ (Hargreaves *et al*., 1999) นอกจากนี้พบว่าในผู้ที่หายจากการป่วยด้วยโรคมะเร็งเต้านมจำนวน 177 คน ที่มีการบริโภคไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองชนิดเม็ดที่มีความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม ต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่าไม่มีผลข้างเคียงต่อการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อและเนื้อเยื่อบริเวณต่อมน้ำนมแต่อย่างใด (Quella *et al*., 2000) จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มีไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองจึงมีคุณประโยชน์และปลอดภัยต่อผู้บริโภคทุกประเภทที่สามารถบริโภคถั่วเหลืองได้

ปริมาณของไอโซฟลาโวนและชนิดของไอโซฟลาโวนจากผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

ปริมาณไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตอาหาร และสภาวะการเก็บรักษา ดังการทดลองของ Davies *et al.*(1998) พบว่า โปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลืองที่มีอายุการเก็บรักษานาน จะส่งผลให้เกิดการสูญเสียปริมาณของเจนิสทิอินมากขึ้นตามเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Lee *et al.* (2003) ได้มีการศึกษาปริมาณไอโซฟลาโวนในตัวอย่างถั่วเหลืองทั้งหมด 15 สายพันธุ์ซึ่งทำการเก็บรักษาในช่วงเวลา 1-3 ปี พบว่าปริมาณไอโซฟลาโวนรวมมีปริมาณลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อทำการศึกษาปริมาณของไอโซฟลาโวนแต่ละชนิด พบว่า ปริมาณของ O-Malonyldaidzin และ O-Malonylgenistin ลดลงมากในระหว่างการเก็บ และสำหรับปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง คือ กระบวนการผลิตนั้นจะส่งผลให้ในแต่ละผลิตภัณฑ์มีปริมาณ และชนิดของไอโซฟลาโวนแตกต่างกันไป ดังการศึกษาของ Wang and Murphy (1996) พบว่า การแช่และการให้ความร้อนแก่ถั่วเหลืองในกระบวนการทำเทมเป้ ทำให้เกิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การสูญเสียไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไปร้อยละ 12 และ 49 ตามลำดับ ในขณะที่การตกตะกอนโปรตีนในกระบวนการทำเต้าหู ทำให้เกิดการสูญเสียไอโซฟลาโวนไป ร้อยละ 44 และการสกัดโปรตีนด้วยด่างในกระบวนการผลิตโปรตีนไอโซเลท ทำให้เกิดการสูญเสียไป ร้อยละ 53

โดยที่ปริมาณ O-Malonyldaidzin และ O-Malonylgenistin ก็จะลดลงในกระบวนการแช่และกระบวนการต้มในการผลิตเทมเป้ น้ำนมถั่วเหลือง ในทางกลับกันกระบวนการให้ความร้อนจะทำให้เกิดไอโซฟลาโวนชนิด Acetyldaidzin และ Acetylgenistin ขึ้น และไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones โดยเฉพาะ ไดซิอิน (Daidzein) และเจนิสทิอิน (Genistein) จะพบได้มากในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น เทมเป้ มิโซ เป็นต้น

สารทำลายคุณค่าทางโภชนาการ (antinutritional factors)

เป็นที่ทราบกันดีว่าถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่มีโปรตีนสูง แต่เมื่อมีการนำถั่วเหลืองดิบไปใช้เลี้ยงสัตว์พบว่าสัตว์เหล่านั้นมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำมาก ซึ่งจากการตรวจสอบสาเหตุดังกล่าวพบว่าในถั่วเหลืองดิบประกอบไปด้วยสารที่ทำลายคุณค่าทางโภชนาการซึ่งได้แก่

1. สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin inhibitor)

สารนี้พบได้ในถั่วเหลืองทุกสายพันธุ์ (Singh *et al*., 1969) ในถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์จะมีสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่แตกต่างกันโดยสารดังกล่าวจะไปทำลายปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยจะไปรวมตัวกับเอนไซม์ทริปซินทำให้ปริมาณของทริปซินอิสระในลำไส้ต่ำลง ส่งผลให้มีการผลิตฮอร์โมนจากลำไส้ไปกระตุ้นให้ตับอ่อนผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น ถ้าบริโภคถั่วเหลืองดิบเป็นปริมาณมากตับอ่อนก็จะมีการหลั่งเอนไซม์ออกมามากส่งผลทำให้ตับอ่อนเกิดการอักเสบและขยายตัวใหญ่ขึ้น (Leiner, 1996 ; Kim *et al*.,1982 ; Gertler *et al*., 1967)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เฮมาแอคกลูทินินส์ (Hemagglutinins)

เป็นสารจำพวก ไกลโคโปรตีนโมเลกุลใหญ่ สารชนิดนี้จะไปทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของเม็ดเลือดแดงแต่จะถูกทำลายได้อย่างรวดเร็วโดยน้ำย่อยเปปซิน หรือความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (Smith *et al*.,1972)

3. ซาโปรนิน (Sapronin)

เป็นสารจำพวก Complex glycosides ของ Triterpenoid alcohol สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น Cholinaseterase และ Chymotrypsin แต่เป็นการยับยั้งที่ไม่เจาะจงทำให้โปรตีนต่างๆ จะไม่ถูกย่อยและดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก หลังจากมีการศึกษาเพิ่มเติมโดย Messina and Barnes (1991) พบว่า ซาโปรนินจากถั่วเหลืองมีคุณประโยชน์ในการช่วยลดปริมาณ Cholesterol ในเลือด และ มีผลในการต่อต้านการเกิดมะเร็งได้

4. กรดไฟติก (Phytic acid)

กรด ไฟติก หรือ Inositol hexakisphosphate เป็นสารที่สามารถยับยั้งการดูดซึม แร่ธาตุในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะการดูดซึมสังกะสีเข้าสู่ร่างกาย ปริมาณของกรดไฟติกในถั่วเหลืองจะมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์ กระบวนการหมักเป็นกระบวนการที่ดีที่สุดซึ่งสามารถลดปริมาณของไฟเตทในธัญพืชได้ เนื่องจากกรดไฟติกมีคุณสมบัติทนความร้อนได้สูง ทำให้กระบวนการให้ความร้อนต่อถั่วเหลืองเช่นการต้ม การนึ่งถั่วเหลืองไม่ส่งผลต่อปริมาณไฟเตท

ผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลือง

เป็นเวลามากกว่า 2000 ปีแล้วที่ประชากรทั่วทั้งเอเชียได้มีการนำถั่วเหลืองมาใช้เพื่อการบริโภคและผลิตออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลาย เช่น เต้าหู้ น้ำนมถั่วเหลือง ซอสถั่วเหลืองปรุงรส เทมเป้ มิโซ เต้าหู้ยี้ ถั่วเน่า และ Natto เป็นต้น อาหารเหล่านี้ไม่เพียงทำให้เกิดรสชาติที่แปลกใหม่ให้กับเมนูของแต่ละประเทศ ที่น่าสนใจสำหรับผลิตภัณฑ์เหล่านี้กล่าวคือมีรายงานการวิจัยต่างๆ ว่าการบริโภคอาหารที่มีถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเรื้อรัง อาทิโรคมะเร็ง โรคหัวใจ เป็นต้น ในประเทศไทยได้ให้ความสำคัญต่อการบริโภคถั่วเหลืองมาตั้งแต่โบราณทำให้คนไทยมีการสั่งสมความรู้และภูมิปัญญาที่สืบทอดกันมาจนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าจากถั่วเหลืองซึ่งเป็นอาหารและใช้เป็นเครื่องปรุงที่สำคัญในการเพิ่มรสชาติให้กับอาหารพื้นเมืองของไทย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถั่วเน่า (Thua nao)

ถั่วเน่าเป็นอาหารหมักจากถั่วเหลืองซึ่งเป็นที่นิยมสำหรับชาวบ้านในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยโดยมีการใช้เป็นเครื่องปรุงที่สำคัญและส่วนใหญ่ใช้เป็นส่วนประกอบของซุป และเครื่องแกงต่างๆในอาหารพื้นเมือง เช่น แกงแค เครื่องแกงน้ำเงี้ยว จอผักกาด เป็นต้น (ปิติและอารี, 2550) เพื่อเพิ่มรสชาติให้อาหารมีรสกลมกล่อมมากขึ้น และอาจนำมาทำเป็นอาหารคาวโดยการนำถั่วเน่ามาห่อกับใบตองแล้วนำไปนึ่งหรือปิ้งแล้วรับประทานพร้อมข้าวเหนียว และยังใช้แทนกะปิ น้ำปลา ปลาร้าในอาหารมังสวิรัติ (บริษัท แสงแดด มีเดีย กรุ๊ป จำกัด, 2550)

วิธีการผลิตและการบริโภคถั่วเน่ามีความแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น ซึ่งโดยทั่วไปแล้วนิยมผลิตถั่วเน่าเป็น 2 ลักษณะ คือ ลักษณะที่เป็นแบบเปียกและถั่วเน่าแบบแห้ง ซึ่งมีขั้นตอนการผลิตแบบพื้นบ้านดังนี้ โดยเริ่มจากการนำถั่วเหลืองที่ผ่านการคัดเลือกแล้วมาล้างทำความสะอาด นำไปแช่น้ำทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นซาวน้ำทิ้งและต้มถั่วเหลืองดังกล่าวในน้ำเดือดประมาณ 3-4 ชั่วโมง นำมาสะเด็ดน้ำและบรรจุลงในกระติ๊บ กระบุง หรือเข่งที่รองด้วยใบตองจึงทับด้วยใบตองอีกชั้นเพื่อลดการสูญเสียความชื้นและการปนเปื้อนจากเชื้อที่ไม่พึงประสงค์ แล้วหมักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน จะได้ถั่วเน่าที่มีกลิ่นและรสชาติที่พอดี (ภาณุวรรณ, 2551) ถั่วเน่าที่ผ่านขั้นตอนนี้จะมีลักษณะปรากฏที่สามารถมองเห็นเป็นเมล็ดถั่วเหลืองอย่างชัดเจนเรียกถั่วเน่าที่ได้ว่า ถั่วเน่าซา ซึ่งนิยมนำไปผัดกับผักต่างๆ แต่ถ้ามีการนำถั่วเน่าซาไปตำให้ละเอียดโดยอาจใส่น้ำลงไปเล็กน้อยจะได้ถั่วเน่าแบบเปียกมีสีเหลืองลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันเรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่าถั่วเน่าเมอะ นิยมนำมาปรุงรสชาติด้วย เกลือและพริก เป็นต้น หรืออาจนำมาใช้แทนกะปิในเครื่องแกงต่างๆ ในอาหารมังสวิรัติ เนื่องจากถั่วเน่าเมอะมีข้อจำกัดในด้านอายุการเก็บรักษาที่ค่อนข้างสั้นจึงมีการนำไปแปรรูปเป็นถั่วเน่าแผ่นชนิดแห้งและนิยมทำเป็นแผ่นกลมๆ มีสีน้ำตาลซึ่งเป็นการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าให้นานขึ้น ถั่วเน่าแผ่นชนิดแห้งนี้จะเรียกว่า ถั่วเน่าแข็บ ซึ่งนอกจากจะใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารแล้วยังสามารถนำมารับประทานเป็นของขบเคี้ยวได้โดยการนำไปปิ้งให้เหลืองกรอบพร้อมรับประทาน (ศรีจันทรัตน์, 2551) นอกจากถั่วเน่าจะเป็นส่วนประกอบซึ่งสร้างความเป็นเอกลักษณ์ในอาหารพื้นเมืองของภาคเหนือที่สำคัญแล้วยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเป็นอาหารที่ให้พลังงานและอุดมไปด้วยโปรตีน เส้นใยอาหาร วิตามิน รวมทั้งแร่ธาตุที่สำคัญต่อร่างกายหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเน่า (คำนวณได้จากอาหารส่วนที่กินได้ 100 กรัม)

สารอาหาร (Nutrients)	ถั่วเน่าเปียก (Wet fermented Soybean)	ถั่วเน่าแห้ง (Dried fermented Soybean)
พลังงาน (แคลอรี่)	152.0	388.0
ความชื้น (ร้อยละ)	61.8	12.0
โปรตีน (กรัม)	17.9	43.9
ไขมัน (กรัม)	6.6	17.6
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	5.3	13.5
เส้นใย (กรัม)	3.8	8.4
เถ้า (กรัม)	4.6	4.6
แคลเซียม (กรัม)	198.0	292.0
ฟอสฟอรัส (กรัม)	223.0	5.0
เหล็ก (กรัม)	6.1	21.0
วิตามิน		
- เอ (I.U.)	328.00	283.00
- บีหนึ่ง (มิลลิกรัม)	0.04	0.06
- บีสอง (มิลลิกรัม)	0.45	0.73
- ไนอะซิน (มิลลิกรัม)	1.60	1.50

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2527)

นัตโต (Natto)

เป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักจากประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีการผลิตทั้งแบบครัวเรือนและแบบอุตสาหกรรม ในการผลิตแบบครัวเรือน จะนำเมล็ดถั่วเหลืองมาแช่น้ำไว้ 1 คืน จึงนำมาต้มให้เมล็ดถั่วนิ่ม จากนั้นจึงนำมาห่อด้วยฟางข้าว และนำไปเก็บในบริเวณที่อุ่นนาน 2-5 วัน สำหรับการผลิตในระบบอุตสาหกรรมจะมีการผลิตด้วยหัวเชื้อบริสุทธิ์ โดย Dr. Shin Sawamura ซึ่งเป็นคนแรกที่ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus subtilis* var. natto มาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น (Kato 1985) เมื่อทำการหมักครบเวลาที่กำหนด จะได้เป็นถั่วเหลืองหมักที่มีสารเหนียวเมือกเคลือบเมล็ดถั่ว รสชาติของนัตโตขึ้นกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณ Diacyl คือ Tetra-methyl pyrazine และกรดอะมิโนที่เป็นผลมาจากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ของเชื้อ (Kousuge *et al*., 1962) ปัจจุบันมีการนำประโยชน์ของนัตโต มาประยุกต์ใช้ เช่น สามารถลดปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดได้จึงมีการนำมาใช้ในการผลิตเป็นสาร Anti-hangover agent (Sumi *et al*., 1995) ในขณะที่คุณสมบัติของ เจนิสทิอินในนัตโตออกฤทธิ์เป็นไฟโตเอสโตรเจนจึงมีการนำมาผลิตเป็นอาหารเสริม (Fukutake *et al*., 1996)

คินีมา (Kinema)

คินีมา เป็นถั่วเหลืองหมักจากประเทศเนปาล และประเทศอินเดีย มีลักษณะและกลิ่นรสคล้ายนัตโตแต่มีเมือกเหนียวและยืดน้อยกว่า กระบวนการผลิตแบบครัวเรือน มีการแช่ถั่วเหลืองไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปต้ม จากนั้นนำไปตำหยาบๆ และมีการเติมผงขี้เถ้าลงไปปริมาณเล็กน้อยและนำไปบรรจุใส่ในตระกร้า หมักไว้ 12 ชั่วโมง เมื่อได้คินีมาสดก็จะนำไปทำให้แห้งด้วยการนำไปตากแดดเป็นเวลา 2-3 วัน

ดาวาดาวา (Dawadawa) หรือ อิรู(Iru)

ดาวาดาวา เป็นถั่วเหลืองหมักที่มีการผลิตในทวีปแอฟริกาโดยเฉพาะ ประเทศไนจีเรีย ใช้เป็นเครื่องปรุงรสอาหาร มีโปรตีนสูงมีกลิ่นแอมโมเนียรุนแรงมาก นิยมนำมาปั้นเป็นลูกกลม และนำมาตากแดด Ogabadu และ Okagbue (1988) ได้ทำการศึกษาโดยใช้เชื้อผสม ระหว่าง *Bacillus subtilis และ Bacillus pumilus* พบว่าผลิตภัณฑ์จะมีสีน้ำตาลเข้มหลังจากหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และมีค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นจาก 5.5 เป็น 8.6

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักถั่วเหลือง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในการหมักส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกรัมบวก รูปแท่ง มีการสร้าง Endospore (คนึงกานต์ และอัญชลี, 2543) ซึ่ง Endospore เป็นโครงสร้างที่เกิดขึ้นเมื่อแบคทีเรียในกลุ่มนี้อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเช่น ในสภาวะที่ขาดแคลนอาหาร ความแห้งแล้ง ความร้อนสูง เป็นต้น อีกทั้งเอนโดสปอร์มีความทนทานต่อรังสี และสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ปกติ โครงสร้างชนิดนี้มีชีวิตรอดได้เนื่องจากเป็นโครงสร้างที่ปราศจากการสร้างกลไกเมตาบอลิซึม หรือ Cryptobiosis แต่เมื่อโครงสร้างดังกล่าวไปตกอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีความ

เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ เอนโดสปอร์จะถูกกระตุ้นและจะงอกออกมากลายเป็นเซลล์ของเชื้อปกติ (Vegetative cell) ดำรงชีวิตต่อไปตามวงจรการเจริญเติบโตปกติ

Bacillus subtilis เป็นสายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ไม่ได้รับการพิจารณาเป็นเชื้อก่อโรคของมนุษย์ อีกทั้งยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพอีกด้วย จัดอยู่ใน Super Kingdom *Prokaryota*, Kingdom *Eubacteria*, Family *Bacillaceae*, Genus *Bacillus* รูปร่างลักษณะทั่วไป เป็นเซลล์รูปแท่งเรียงตัวกันแบบเดี่ยว หรือบางครั้งอาจต่อกันเป็นเส้นสาย และมีขนาด 0.6 - 0.7 x 2.0 - 3.0 μm (ศุภยางค์, 2547) มีเอนโดสปอร์รูปไข่ อยู่กลางเซลล์หรือค่อนไปทางปลายเซลล์ ส่วนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีลักษณะกลม ขอบไม่เรียบ ผิวหน้าทึบแสง ผิวหน้าอาจจะย่น สีครีมหรือสีน้ำตาล แต่ถ้าในจานอาหารที่มีความชื้นมากจะทำให้โคโลนีแผ่ลามมาก ส่วนเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสร้อยละ 10 เป็นองค์ประกอบ โคโลนีจะมีลักษณะหนาสีน้ำตาล ส่วนการเจริญบนอาหารเหลว เชื้อจะอยู่บนผิวหน้าอาหาร มีความขุ่นเล็กน้อยถึงไม่มีความขุ่น เป็น Aerobic หรือ Facultative anaerobic bacteria สร้าง Catalase ติดสีกรัมบวก เจริญได้ใน pH 5.5 - 8.5 สร้าง Hydrolytic enzyme ที่สลาย Polysaccharide, Nucleic acid และ Lipid โดยใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอน และโดยมีออกซิเจนเป็นตัวรับ อิเล็คตรอน บทบาทสำคัญของเชื้อตัวนี้ในการหมักคือ การปล่อยเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีน (นงนุช, 2547) ทำให้ถั่วเน่ามีลักษณะทั้งในด้านกลิ่นรส เนื้อสัมผัสเฉพาะตัว

ในกระบวนการหมักถั่วเหลืองด้วยวิธีดั้งเดิมตามภูมิปัญญาของไทย (ถั่วเน่า) นั้นพบว่าผลิตภัณฑ์เกิดจากการการหมักโดยเชื้อหลากหลายสายพันธุ์ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนตามธรรมชาติ เมื่อทำการคัดแยกและการจำแนกจากตัวอย่างถั่วเหลืองหมักพื้นบ้านของไทยพบว่าในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการหมัก จะมีปริมาณและชนิดของเชื้อแตกต่างกัน โดยสามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* spp. เป็นเชื้อซึ่งมีจำนวนประชากรสูงที่สุด และถือว่าเป็นเชื้อที่มีบทบาทในการหมักได้ในทุกช่วงเวลาที่ทำการหมัก (ตารางที่ 2.3) นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียแลกติกหลังจากทำการหมักไปแล้ว 24 ชั่วโมง (Leejeerajumnean *et al*., 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.3 เชื้อ *Bacillus* spp ที่ตรวจพบในถั่วเหลืองหมักพื้นบ้านของไทย

เวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สายพันธุ์เชื้อที่พบ
ถั่วเน่าที่ 0 ชั่วโมง	*B. subtilis*, *B. megaterium*
ถั่วเน่าที่ 0 ชั่วโมง	*B. subtilis*, *B. megaterium*
ถั่วเน่าที่ 0 ชั่วโมง	*B. subtilis*, *B. megaterium*
ถั่วเน่าที่ 0 ชั่วโมง	*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*
ถั่วเน่าที่เสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้ว	*B. subtilis*, *B. megaterium*

ที่มา : Leejeerajumnean *et al*., (2000)

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมัก

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ *Bacillus* spp. ซึ่งจะมีการสร้างเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีนในถั่วเหลือง ให้โมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงจนกระทั่งได้เป็นกรดอะมิโน จากนั้นแบคทีเรียจะใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน และแหล่งพลังงานโดยปฏิกิริยา Deamination โดยจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา (Macko and Estep, 1984) ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของถั่วเหลืองสูงขึ้น สภาวะที่เป็นด่างส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในถั่วเหลืองไม่สามารถเจริญได้ (Steinkraus, 1992)

ปริมาณของกรดอะมิโนในระหว่างการหมักจะสูงขึ้น เนื่องจากมีการปลดปล่อยกรดอะมิโนออกมานอกเซลล์ของเชื้อที่ทำการหมักถั่วเหลือง ชนิดของกรดอะมิโนที่ปลดปล่อยออกมาจากผลิตภัณฑ์นัตโต ได้แก่ กรดกลูตามิค แวลีน และอะลานีนโดยจะมีปริมาณสูงขึ้นจากถั่วเหลืองก่อนการหมัก (Sakurai, 1960)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารระเหยได้ง่ายในถั่วเหลืองหมักซึ่งพบในนัตโตประกอบด้วย 3-Hydroxybutanone butanedione, 2,3-Butanediol acetic acid, propanoic acid, 2-Methyl-propanoic acid, 2-Methyl-butanoic acid, 3-Methyl- butanoic acid และ Pyrazines (Kanno *et al*., 1982) สำหรับในถั่วเน่าจะมีสารระเหยง่ายมากกว่าในนัตโตโดยมีการพบสารประกอบจำพวก Aldehydes aliphatic acid ester

และสารประกอบจำพวกกำมะถัน เป็นสารระเหยง่ายเฉพาะในถั่วเน่าทำให้มีกลิ่นรสคล้ายกลิ่นเนื้อ ในขณะที่นัตโตมีกลิ่นคล้ายผลไม้ออกมาจากผลิตภัณฑ์ (Leerajumnean *et al*., 2001)

การหมักถั่วเหลืองจะเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง โดยในระหว่างการหมักจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งถั่วเหลืองที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูงจะมีปริมาณค่าความเป็นกรดด่างสูงไปด้วย เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่าจะส่งผลให้เชื้อเกิดปฏิกิริยา Deamination ขึ้นมาก เกิดการย่อยโปรตีนเป็นกรดอะมิโนทำให้ปลดปล่อยแอมโมเนียซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างอ่อน ในปริมาณสูงทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้น (Visessanguan, 2004)

ไอโซฟลาโวน ชนิด Glucosides เป็นชนิดที่พบได้ในเมล็ดถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการหมักโดยคิดเป็น ร้อยละ 80 ถึง 95 ของปริมาณไอโซฟลาโวนทั้งหมด แต่เมื่อทำการหมักพบว่าปริมาณของ Glucosides จะลดลง และเกิดไอโซเมอร์ชนิด Aglycones เพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 2.4) โดยพบว่า ไดซิอินและเจนิสทิอิน เป็นไอโซเมอร์ที่พบในปริมาณที่สูง เป็นสัดส่วนหลักของปริมาณ Aglycones ทั้งหมด (Anderson and Wolf, 1995)

ตารางที่ 2.4 ปริมาณไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

Product	Daidzein family (μg/g)			Genistein family (μg/g)			Glycitein family (μg/g)			Reference
	DEN	DIN	MDN	GEN	GIN	MGN	GLEN	GLIN	MGLN	
Soybean	ND	1294	2510	ND	966	2755	ND	206	200	Kudou *et al.* (1991)
Miso	138.5	81	ND	210	162	ND	19	6	ND	Klump *et al.* (2001)
Tempeh	137	2	255	193	65	164	24	14	ND	Wang and Murphy (1994)
Soy milk	18	410	690	19	710	871	10	65	39	Song *et al.* (1998)
Tofu	46	25	159	52	84	108	8	12	ND	Wang and Murphy (1994)

ที่มา : Shimoni (2004) และ Wang and Murphy (1994)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved