บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ถั่วเหลือง (Soybean)

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารมานาน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merrill เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล Leguminosae มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออก บริเวณประเทศจีนตอนกลางและเหนือ (พิชัย สราญรมย์, 2527)

ลักษณะโครงสร้าง องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางอาหารของถั่วเหลือง

เมล็ดถั่วเหลืองมีรูปร่างกลม หรือกลมรี หรือแบน แล้วแต่พันธุ์ มีน้ำหนัก 10-20 กรัม ต่อเมล็ดถั่วเหลือง 100 เมล็ด เมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยเปลือก (hull) 8% ใบเลี้ยง (cotyledon) 90% และยอดอ่อน (หรือต้นอ่อน hypocotyl) 2% เปลือกมีสีเหลืองจนถึงสีเหลืองนวล สีของเปลือกตลอดจนการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีขึ้นอยู่กับพันธุ์ของถั่วเหลือง สิ่งแวดล้อมและดินที่ใช้เพาะปลูก (สมชาย ประภาวัต, 2534 ข)

องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลือง ประกอบด้วยโปรตีน 43.9% ไขมัน 21.0% เถ้า 4.9% เส้นใย 5.2% คาร์โบไฮเดรต 30% (น้ำหนักแห้ง) (สมชาย จอมดวง, 2528)

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของส่วนที่รับประทานได้

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ
ความชื้น, %	10.00
ไขมัน, %	18.94
โปรตีน, %	36.00
คาร์โบไฮเดรต, %	25.88
เส้นใย, %	4.87
เถ้า, %	4.31
พลังงาน (แคลอรี่/100 กรัม)	418.00

ที่มา : ผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สมชาย ประภาวัต, 2534 ข)

จากตารางจะเห็นได้ว่า สารอาหารหลักที่สำคัญของถั่วเหลือง คือ โปรตีน

1. โปรตีนในถั่วเหลือง (Soybean Proteins)

ส่วนที่สะสมโปรตีน เรียกว่า Protein bodies หรือ Aleurone grains อยู่ในใบเลี้ยง (cotyledon) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-20 ไมครอน แต่ส่วนใหญ่จะมีขนาด 5-8 ไมครอน ประมาณ 60-70% ของโปรตีนทั้งหมดอยู่ใน Protein bodies โปรตีนส่วนใหญ่ใน Protein bodies เป็น globulin ซึ่งสามารถแยกออกมาใช้ได้ นอกจากนี้ ยังมีโปรตีนที่เรียกว่า Trypsin inhibitors เป็นสารที่ยับยั้งการใช้ประโยชน์จากโปรตีนอยู่ใน cytoplasm ของเซลล์มากกว่าใน Protein bodies (Wolf, 1978)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยา

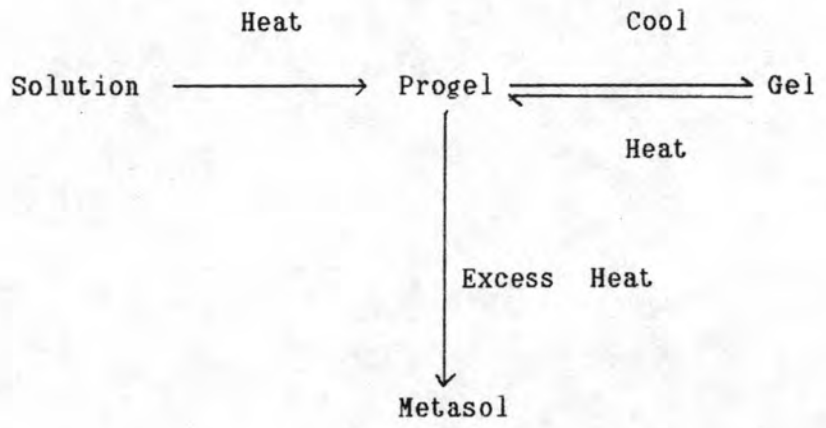
เนื่องจากโปรตีนในถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็น globulin ซึ่งจะมีสมบัติไม่ละลายน้ำที่มี pH ประมาณ 4.2-4.6 ซึ่งเป็น Isoelectric points แต่ถ้าเพิ่มปริมาณกรดหรือด่างลงไปทำให้ pH เปลี่ยนเลย Isoelectric region โปรตีนจะละลายเพิ่มขึ้น สมบัตินี้จึงใช้ในการเตรียมโปรตีนสกัดที่เรียกว่า Protein Isolate ได้ (พิชัย สราญรมย์, 2527)

การสูญเสียสมบัติทางธรรมชาติ (Denaturation)ของโปรตีนในถั่วเหลืองอาจเกิดจากสาเหตุต่างๆดังนี้

1. การสูญเสียสมบัติทางธรรมชาติเนื่องจากความร้อน(Heat denaturation) เมื่อนำถั่วเหลืองมาผ่านความร้อน สภาพธรรมชาติของโปรตีนจะเปลี่ยนไป ทำให้สมบัติของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป เช่น การละลายของโปรตีน เป็นต้น โปรตีนละลายในน้ำได้มากที่สุดเมื่ออุณหภูมิประมาณ 60-75°C ที่ pH 6.5-6.7 (Smith และ Circle,1978) สมบัติของโปรตีนนี้นำมาใช้ในขั้นตอนการผลิตโปรตีนไอโซเลต และโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่วเหลืองได้

นอกจากนี้ การให้ความร้อนกับสารละลายของโปรตีนถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้นสูงประมาณ 7% จะทำให้มีค่าของความหนืด (viscosity)เพิ่มขึ้น และทำให้เกิดเจล(gel)ได้ ซึ่งการให้ความร้อนนี้ใช้เพียง 10-30 นาที ที่อุณหภูมิ 70°-100°C แต่ถ้าให้ความร้อนสูงขึ้นเป็น 125°C เจลจะเปลี่ยนสภาพเป็นสารละลายได้อีก หรืออาจจะใช้สารบางชนิดเพิ่มการละลาย เช่น cysteine, sodium sulfite จะช่วยลดความหนืดและป้องกันการเกิดเจลได้ ทั้งนี้การเกิดเป็นเจลของโปรตีน เกิดจากการเชื่อมกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วย disulfide bonds และ sulfhydryl-disulfide interchange รวมทั้ง intramolecular disulfide bonding ซึ่งจะช่วยให้เกิดการอยู่ตัวของprotein network (Wolf,1978)

คุณสมบัติในการเปลี่ยนสภาพของโปรตีนเป็นเจลอันเนื่องมาจากความร้อน อาจแสดงเป็น แผนภาพได้ดังนี้



รูปที่2.1 แผนภาพแสดงลักษณะการเปลี่ยนสภาพของโปรตีนถั่วเหลืองอันเนื่องมาจากความร้อน (ที่มา: Wolf, 1978)

ในการให้ความร้อน เพื่อให้เกิดเจลของโปรตีนประเภท acid precipitated globulins พบว่า ความร้อนจะทำให้ solution เปลี่ยนสภาพโดยไปเป็น progel ซึ่งเมื่อเย็นลงก็จะกลายเป็นเจล เจลที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนสภาพเป็น progelได้ โดยการให้ความร้อนใหม่ หากให้ความร้อนไปเรื่อยๆ ความหนืดจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่ให้จนกระทั่งถึงจุดสูงสุด เมื่อถึงจุดนี้แล้วความหนืดก็จะเริ่มลดลง เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น metasol ที่เปลี่ยนกลับเป็น progelไม่ได้ (Wolf, 1978)

2. การสูญเสียสมบัติทางธรรมชาติของโปรตีนเนื่องจากกรดและด่าง เช่น ทำให้โปรตีนประเภท globulinsในถั่วเหลืองมีสมบัติทางธรรมชาติเปลี่ยนสภาพไป(denature) คือถ้าค่าของ pHสูง เช่น pH 12 โครงสร้างโมเลกุลย่อยของ globulin ถูกเปลี่ยนไปและจะไม่กลับมาเหมือนเดิมเมื่อปรับภาวะของpHให้เป็นกลาง และถ้าค่าของpH ต่ำลงก็จะทำให้เกิดการแตกตัวของ quaternary structure เป็น subunits และไม่สามารถกลับเหมือนเดิมได้เช่นกัน (Wolf, 1978)

นอกจากนี้ Smith และ Circle (1978) พบว่าค่าการกระจายของไนโตรเจนในน้ำสูงสุดประมาณ 96 % เมื่อใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ pH 12.2 หรือเมื่อใช้กรดไฮโดรคลอริก 85% ที่ pH 1.4 แต่ค่าการกระจายของไนโตรเจนจะต่ำที่สุดประมาณ 8% เมื่อใช้กรดออกซาลิกที่ pH 4.2 การสูญเสียสมบัติทางธรรมชาติของโปรตีนจากกรดและด่างดังกล่าวนำมาใช้ในขั้นตอนการผลิตโปรตีนไอโซเลต และโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่วเหลืองในงานวิจัยได้

3. การสูญเสียสมบัติทางธรรมชาติของโปรตีน เนื่องจากตัวทำละลายต่างๆ เช่น methanol, ethanol, isopropanol, butanol และ acetone เป็นต้น จะทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติสมบูรณ์ภายในประมาณ 5 นาที (Wolf, 1978)

การนำเอาถั่วเหลืองมาเป็นอาหาร มักเกี่ยวกับการนำเอาโปรตีนในถั่วเหลืองมาใช้ จึงมีการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองซึ่งมีหลายวิธีดังนี้

1. การใช้วิธีตกตะกอนที่จุด Isoelectric pH โปรตีนในถั่วเหลืองละลายในน้ำที่มีภาวะเป็นกลางและด่อนไปทางด่าง แต่จะตกตะกอนที่pH 4.2 จุดนี้เรียกว่าIsoelectric pH ส่วนใหญ่โปรตีนที่ตกตะกอนออกมาเป็น globulins ซึ่งจะตกตะกอนออกมาประมาณ 90% ของที่มีอยู่ ส่วนอีก 10% ยังอยู่ในรูปที่ละลายน้ำ (Wolf, 1978)

2. การแยกโดยใช้อนุมูลโลหะ (Metal cations) อนุมูลโลหะที่นิยมใช้กันทั่วไป คือ แคลเซียม และแมกนีเซียม จากการทดลองพบว่า การใช้แคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.0175 นอร์มัล จะสามารถตกตะกอนโปรตีนออกจากสารละลายโปรตีนได้ถึง 80% (Wolf,1978)

3. การใช้ความเย็นในการแยกโปรตีน (Cryoprecipitation) มีขั้นตอน คือ สกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 25-40°C ใช้อัตราส่วนของน้ำไม่มากนัก แล้วเอาสารละลายโปรตีนนี้ไปทำให้เย็นลงถึง 0°C โปรตีนจะตกตะกอนออกมา นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงที่อุณหภูมิต่ำ จะได้โปรตีนแยกออกมาประมาณ 70-88% ถ้าปรับภาวะของสารละลายให้มี pH 5.4 ก่อนทำให้เย็นจะได้โปรตีนออกมามากขึ้น (Wolf,1978)

แฟคเตอร์ที่ใช้คูณกับค่าไนโตรเจนเพื่อคิดปริมาณของโปรตีน (Nitrogen conversion factor) เป็นข้อตกลงจากสมาคมต่างๆ ตั้งแต่เริ่มแรกในการคิดเป็นปริมาณของโปรตีนในถั่วเหลืองจะใช้ค่า 6.25 เป็นแฟคเตอร์ (Smith and Circle,1978)

สารไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non-protein nitrogen) จากการวิเคราะห์ของนักวิจัยหลายท่าน เช่น Wolf(1978) กล่าวว่ามีสารไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนอยู่ในถั่วเหลืองเล็กน้อย ได้แก่ เบบไทด์ และกรดอะมิโน เกิดจากการสังเคราะห์เป็นโปรตีนที่ไม่สมบูรณ์ หรือเกิดจากการสลายตัวของโปรตีน ปริมาณสารเหล่านี้ไม่ขึ้นกับพันธุ์ถั่ว แต่จะเปลี่ยนแปลงตามขั้นตอนการปลูกถั่ว ภาวะอากาศและการเก็บเมล็ดถั่ว (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

โปรตีนจากถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ราคาถูกกว่าโปรตีนจากสัตว์หลายเท่า ผลิตได้เร็วกว่าและเสียค่าใช้จ่ายน้อย แม้จะมีกรดอะมิโน methionine และcystine ซึ่งเป็น sulfured amino acid อยู่น้อย แต่ก็มีกรดอะมิโน lysine สูง ถ้ามีการเสริมโปรตีนของถั่วเหลืองด้วยกรดอะมิโน methionine หรือรับประทานถั่วเหลืองร่วมกับธัญพืชและอาหารอื่นๆ เช่น งา เนื้อสัตว์ นม ซึ่งเป็นอาหารที่มี sulfured amino acid อยู่สูง ก็จะทำให้คุณภาพโปรตีนของถั่วเหลืองมีความสมบูรณ์มากขึ้น

2. <u>ไขมันในถั่วเหลือง</u> (Soybean Oil)

ไขมันในถั่วเหลืองมีประมาณ 17-20% ปริมาณและส่วนประกอบของไขมันถั่วเหลืองเป็นผลมาจากพันธุ์ถั่วเหลือง และสภาพแวดล้อมช่วงของการสะสมไขมันในเมล็ดน้ำมันถั่วเหลืองมีความสำคัญมากต่อโภชนาการของมนุษย์ มีคุณภาพสูงกว่าน้ำมันที่ได้จากสัตว์ และสูงกว่าน้ำมันเนย (สมชาย ประภาวัต,2534ข)

3. <u>คาร์โบไฮเดรตของถั่วเหลือง</u> (Soybean Carbohydrates)

ถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 34% ส่วนใหญ่เป็นพวก galactans, pentosans และ hemicellulose ซึ่งร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย ถั่วเหลืองแตกต่างจากพวก legumes อื่นๆตรงที่มีแป้ง (starch) น้อยมากหรือไม่มีเลย ซึ่งทำให้ถั่วเหลืองเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับคนที่เป็นโรคเบาหวานอย่างยิ่ง ส่วนน้ำตาลอิสระ (Free sugar) ซึ่งละลายในน้ำ ได้แก่ sucrose, raffinose และ stachyose มีอยู่ในปริมาณน้อย (สมชาย ประภาวัต,2534ข) บางคนเมื่อบริโภคถั่วเหลืองแล้วจะมีอาการท้องอืด ก็เชื่อว่าเกิดจากน้ำตาลที่มีโครงสร้างซับซ้อน (complex sugars) เช่น raffinose และ stachyose (Cater และคณะ, 1978)

4. วิตามินและแร่ธาตุในถั่วเหลือง (Vitamins and Minerals)

วิตามินในถั่วเหลืองมีอยู่ในปริมาณมากยกเว้นวิตามินซี วิตามินที่มีอยู่มากได้แก่ B_1, B_2, Niacin, D, E และK วิตามินB_2พบมากกว่าในพืชอื่นๆ และมีมากเกินความต้องการต่อวันในผู้ใหญ่อีกด้วย นอกจากวิตามินแล้ว ถั่วเหลืองยังประกอบไปด้วย ไบโอติน(Biotin) โคลิน (Choline) และอินซิตอล(Inositol)ซึ่งทำหน้าที่คล้ายวิตามิน(วิเชียร ลีลาวัชรมาศ,2534)

สำหรับเกลือแร่ต่างๆ ถั่วเหลืองอุดมสมบูรณ์ไปด้วยแคลเซียม (Calcium) ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เหล็ก (Iron) และโปแตสเซียม (Potassium) แคลเซียมเป็นธาตุที่สำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งในการเจริญเติบโตของกระดูกในร่างกาย ส่วนโปแตสเซียมเสริมสร้างกล้ามเนื้อต่างๆ และทำให้กล้ามเนื้อแข็งแรง ธาตุฟอสฟอรัสช่วยในการบำรุงประสาทและสมอง และธาตุเหล็กสำคัญในการบำรุงโลหิต (สมชาย ประภาวัต, 2534 ข)

กลิ่นถั่วและรสขม

กลิ่นถั่วเหลืองสามารถขจัดได้โดยการใช้ความร้อนจากไอน้ำหรือต้มให้เดือด ผลการทดลองทำแป้งถั่วเหลือง พบว่ากลิ่นถั่วลดลงเมื่อใช้ความร้อนในขั้นตอนการทำแป้งถั่วเหลืองเช่น อบไอน้ำ 20 นาที หรือใช้กระแสลมร้อนจัดตากแห้งถั่วเหลืองในระยะเวลาสั้นๆ นอกจากกลิ่นถั่วลดลงแล้วยังพบว่ารสขมลดลงด้วย

บางกรรมวิธีอาจใช้สารเคมี คือ สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 0.1% อุณหภูมิ 70°C แช่เมล็ดถั่วเหลือง 10-15 นาที จะช่วยเรื่องการแยกสีและลดสารที่ทำให้เกิดรสขมในถั่วเหลืองได้หมด (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

การใช้ประโยชน์จากถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองใช้บริโภคเป็นอาหารโดยนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่

- ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการหมัก เช่น น้ำนมถั่วเหลือง น้ำมันถั่วเหลือง Soy protein concentrate, Soy protein isolate เป็นต้น นอกจากนี้ในต่างประเทศ มีการนำ

ถั่วเหลืองไปทำผลิตภัณฑ์อาหารอีกหลายรูปแบบ เช่น มักกะโรนี เป็นต้น (Smith and Circle, 1978)

- ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมัก เช่น เต้าหู้ยี้ เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว เป็นต้น (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

นอกจากนี้ยังมีการนำมาทำโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วย โปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นถูกผลิตขึ้นมาเพื่อความมุ่งหมาย 2 ประการ คือ เพื่อใช้เป็นสารสำหรับทำหน้าที่เฉพาะอย่าง (functional ingredients) เช่น เป็น whipping agents เป็นต้น และเพื่อใช้เป็นสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ(nutritional ingredients)ในอาหาร (Ericksen,1989)

<u>กากถั่วเหลือง</u>

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากอุตสาหกรรมทำน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิต 3 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นที่หนึ่ง การเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ ทำความสะอาด คัดเมล็ดถั่วที่ดีไว้ ผ่าซีกเมล็ดถั่ว คัดเปลือกออก อบถั่วให้นิ่ม แล้วทำเป็นแผ่นบาง ขั้นที่สอง การสกัดน้ำมันดิบ ตัวทำละลายส่วนใหญ่ใช้ n-hexane, cyclohexane หรือheptane สกัดน้ำมันออกโดยเครื่องจักร แล้วแยก gum ออกจากน้ำมัน ส่วนกากถั่วเหลืองที่ได้ออกมาในขั้นตอนนี้ ได้มีการนำไปแยกเอาตัวทำละลาย คือ n-hexane หรือตัวทำละลายอื่นออก ทำให้แห้งและบดเป็นผงละเอียด ขั้นตอนที่สาม คือ การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ ในกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันมีโปรตีนสูงเกือบ 50% จึงนับว่าเป็นแหล่งของอาหารโปรตีนที่ดีมากอันหนึ่ง (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

<u>ถั่วเขียว</u> (Mungbean, Green gram)

เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiata (L.)* Wilezek เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ประเภทล้มลุกอยู่ในตระกูล Leguminosae กำเนิดในประเทศอินเดีย ต่อมาจึงได้ปลูกกันแพร่หลายในประเทศต่างๆ เป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ดีในดินแทบทุกชนิดและต้องการน้ำน้อย สามารถปลูกได้ในสภาพอากาศต่างๆกัน อายุเพียง 65

วันก็เก็บเกี่ยวได้

ถั่วเขียวใช้ทำอาหารต่างๆ ส่วนใหญ่อยู่ในระดับครัวเรือน ผลิตภัณฑ์ที่ทำในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ แป้งถั่วเขียว หรือแป้งซ่าหริ่ม (Mungbean starch) และวุ้นเส้น (Vermicelli) โปรตีนสกัดจากถั่วเขียวซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการทำแป้งถั่วเขียวและวุ้นเส้น ใช้ในการทำอาหารโปรตีนสูงราคาถูก เช่น ทำโปรตีนเกษตร หรือเนื้อเทียม นอกจากนี้ ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ กากถั่วเขียวที่ได้จากอุตสาหกรรมนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำ (Black gram) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna mungo* (L.) Hepper ใช้ในการทำถั่วงอก

ถั่วเขียวแบ่งออกเป็น 4 ชนิด ขึ้นกับรูปร่างลักษณะของเมล็ด คือ

1. ถั่วเขียวธรรมดาหรือถั่วเขียวเมล็ดด้าน นิยมใช้ทำถั่วงอก วุ้นเส้นและส่งจำหน่ายต่างประเทศ

2. ถั่วทองหรือถั่วเขียวสีทอง มีเมล็ดเหลืองหรือสีทองเนื้อข้างในเป็นสีเหลือง นิยมใช้ทำขนม

3. ถั่วเขียวมันเมล็ดใหญ่ เมล็ดเป็นมัน และมีขนาดโตกว่าพันธุ์อื่น ส่งจำหน่ายต่างประเทศ

4. ถั่วเขียวผิวดำ เมล็ดสีดำ ใช้เพาะถั่วงอก ซึ่งจะอวบอ้วนขาวน่ารับประทาน และคงความสดใสได้นานกว่าถั่วเขียวธรรมดา (สมชาย ประภาวัต, 2534 ก)

ถั่วเขียวที่ใช้ในประเทศ เกือบทั้งหมดเป็นถั่วเขียวธรรมดา และถั่วเขียวผิวมัน (กิตติพงษ์ ห่วงรักษ์, 2529) ปริมาณการใช้ถั่วเขียวในประเทศประมาณร้อยละ 80 ของผลผลิตทั้งหมด ส่วนหนึ่งใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมทำวุ้นเส้น ทำแป้งซ่าหริ่ม อีกส่วนหนึ่งใช้เพาะถั่วงอกและเป็นอาหารโดยตรง (วุฒิชัย นาครักษา, 2526)

ลักษณะโครงสร้าง องค์ประกอบทางเคมี และคุณค่าทางอาหารของถั่วเขียว

เมล็ดถั่วเขียวมีรูปร่างค่อนข้างกลม คล้ายรูปไต ขนาด 2.5 x 5.3 x 3-4 มิลลิเมตร มีสีเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นสีเขียว หรือสีอื่นตามลักษณะประจำพันธุ์ (วุฒิชัย นาครักษา, 2526)

โครงสร้างของเมล็ดถั่วเขียว เช่นเดียวกับเมล็ดพืชตระกูลถั่วอื่น ๆ มีองค์ประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ เปลือกนอก (hull) ใบเลี้ยง (cotyledon) และต้นอ่อน (hypocotyl)

องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และแร่ธาตุ มีผู้วิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีหลายท่าน จึงได้ผลแตกต่างกันไปดังนี้

Wolf (1977) ได้รายงานว่า ถั่วเขียวมีโปรตีน 21.7% ไขมัน 1.2% เถ้า 4.2% เส้นใย 2.0% และคาร์โบไฮเดรต 62.4%

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียวเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของส่วนที่รับประทานได้

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ
ความชื้น %	6.10
โปรตีน %	24.39
ไขมัน %	1.22
เถ้า %	3.57
เส้นใย %	4.49
คาร์โบไฮเดรต %	60.23
แป้ง (starch) %	48.64
พลังงาน, แคลอรี่ต่อ 100 กรัม	349.00

ที่มา : ผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สมชาย ประภาวัต, 2534 ก)

จะเห็นได้ว่าถั่วเขียวมีส่วนประกอบต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในด้านโภชนาการ เช่น คาร์โบไฮเดรท โปรตีน ซึ่งสามารถนำมาทำผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆได้มากมาย ได้แก่

- แป้งถั่วเขียวแบบดิบ (Raw mungbean flour) นำไปผลิตอาหารพร้อมบริโภค

ได้แก่ ข้าวเกรียบ ขนมต่างๆ น้ำพริกเผา เป็นต้น

- แป้งถั่วเขียวแบบสุก (Cooked mungbean flour) นำไปเติมลงในซุปต่างๆ

- แป้งถั่วเขียว (Mungbean starch) ใช้ในอุตสาหกรรมทำวุ้นเส้น แป้งชาหริ่ม เป็นต้น (สมชาย ประภาวัต, 2534 ก)

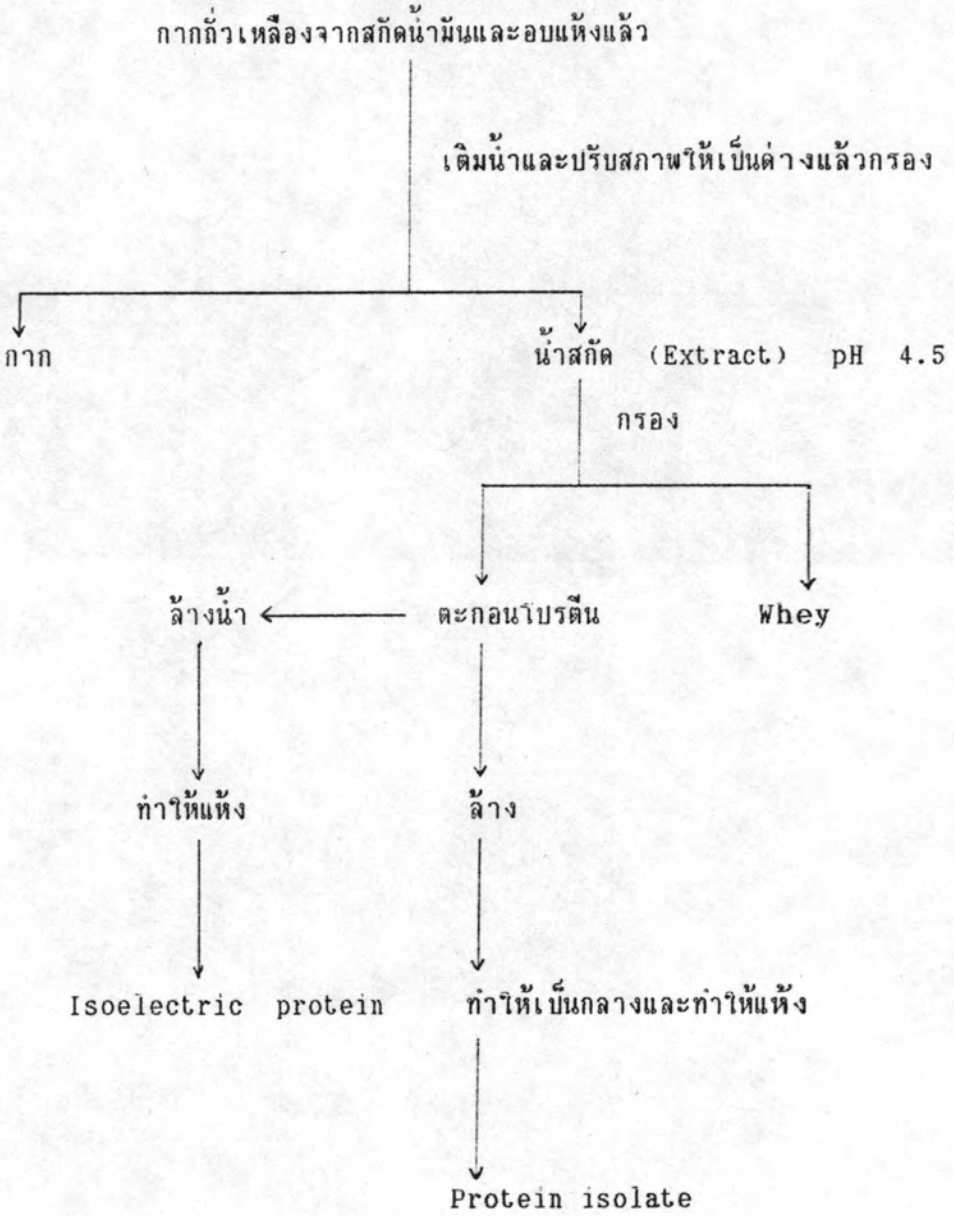
อะฟลาทอกซิน (Aflatoxins)

เป็นสารพิษที่พบได้ในอาหารประเภทถั่วถ้าไม่มีการเก็บในสภาพที่ดีพอ เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* นอกจากเชื้อราชนิดนี้ เชื้อราอื่นๆบางชนิดก็สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ เช่น *A.parasiticus* และ *A.tamarii* เป็นต้น สารพิษนี้เป็นสาเหตุของโรคที่เกี่ยวกับตับ ทนทานต่อความร้อนในการหุงต้มธรรมดา และจากการทดลองแม้แต่รังสีแกมมาก็ไม่สามารถทำลายได้ แต่อาจถูกสกัดออกได้ด้วยสารบางชนิด เช่น hexane, acetone เป็นต้น ซึ่งไม่อนุญาตให้มีในอาหาร ดังนั้นวิธีการที่ดีที่สุด คือ การป้องกันไม่ให้มีเชื้อราในอาหาร (ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต, 2525) อะฟลาทอกซินในอาหารถูกกำหนดให้มีได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่างวุ้นเส้น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, มอก.444-2525)

โปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลือง (Soy protein isolate)

การทำโปรตีนไอโซเลตเป็นการทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ โดยการสกัดพวกโพลีแซคคาไรด์ซึ่งไม่ละลายในน้ำ และน้ำตาลที่ละลายในน้ำ รวมทั้งสารประกอบที่มีจำนวนน้อยอื่นๆออก ขั้นตอนการผลิตเริ่มจากการใช้แป้งถั่วเหลืองที่ไม่มีไขมันและมีค่าของการละลายโปรตีนสูง หรือกากถั่วเหลืองจากสกัดน้ำมันแล้วมาเติมน้ำ ปรับภาวะให้เป็นด่างเล็กน้อย(pH 7-9) ด้วยด่างที่เจือจาง โดยรักษาอุณหภูมิที่ 50-55°C จากนั้นนำมาผ่านการแยกส่วนที่ไม่ละลายออกไปโดยการกรอง (ส่วนที่เป็นกากจะได้แก่สารพวกโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำและโปรตีนบางส่วน) จากนั้นนำเอาส่วนที่เป็น filtrate มาปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 4.5 (Isoelectric region)ด้วยกรด โปรตีนส่วนใหญ่จะตกตะกอน กรองเอาตะกอนและล้างตะกอนด้วยน้ำ ถ้าเอาไปอบแห้งเลยในช่วงนี้จะได้เป็นIsoelectric protein แต่ถ้านำเอาตะกอนที่ล้างแล้วไปละลายน้ำ และปรับ

สภาพให้เป็นกลางก่อน แล้วจึงนำไปทำให้แห้งโดยการทำแห้งจะได้ Soy protein isolate ที่ละลายน้ำได้ดีกว่าและง่ายต่อการรวมตัวในอาหาร ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แผนผังแสดงขั้นตอนการทำโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลือง

(ที่มา: Cater และคณะ, 1978)

โปรตีนไอโซเลตที่ผ่านขั้นตอนดังกล่าว มักจะอยู่ในรูปแบบของโซเดียมเป็นส่วนใหญ่ อาจมีบ้างที่อยู่ในรูปของโปแตสเซียม หรือแคลเซียม

ส่วนประกอบของโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองที่มีขายในท้องตลาดโดยทั่วไป

โปรตีน	92-94%
ความชื้น	4-7%
เส้นใย	0.1-0.2%
เถ้า	2-3.8%
Nitrogen soluble index (NSI)	85-95
pH (1:10 aqueous dispersion)	6.8-7.1

(มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

สมชาย จอมดวง (2528) สกัดโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลืองโดยใช้ความร้อนช่วยในการสกัด คือ กากถั่วเหลือง 300 กรัม เติมน้ำเย็นตัวทำละลาย 1:30 (300 กรัม : 9 ลิตร) ปรับ pH 12.0 อุณหภูมิ 70°C กวนด้วยพายไม้ 15 นาที กรองแยกสารละลายโปรตีน นำสารละลายที่ได้ปรับ pH 4.5 ด้วยกรดเกลือ(6 นอร์มัล) กรองแยกตะกอน นำตะกอนโปรตีนที่ได้ละลายน้ำ 3 ลิตร ปรับให้เป็นกลาง (pH 7.0) ปั่นในเครื่องปั่นผสม กรองอีกครั้งหนึ่ง แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่อง spray dryer จะได้โปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลือง

โปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลือง นำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารได้หลายรูปแบบ เช่น อาหารเนื้อ ไส้กรอก เนื้อเทียมชนิดต่างๆ ทำขนม เครื่องดื่ม อาหารและเครื่องดื่มจำกัดแคลอรี่ เป็นต้น โปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการมาก และถ้ามีการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนให้เหมาะสมก็จะทำให้มีคุณค่าสูงขึ้น

<u>โปรตีนไอโซเลตจากถั่วเขียว</u>

โปรตีนจากถั่วเขียวมีสมบัติการละลายในน้ำได้น้อยที่สุดที่ pH 4.5 (Shehata และ Thannoun, 1981) สมบัตินี้จึงนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนไอโซเลต ซึ่งใช้หลักการและวิธีเดียวกันกับถั่วเหลือง ปริมาณโปรตีนที่ได้อาจจะมีความแตกต่างกันบ้าง (สมชาย จอมดวง, 2528)

การย่อยสลายโปรตีน (Protein hydrolysis)

โปรตีนเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปบไทด์ โปรตีนเป็นสารอาหารที่สำคัญ เมื่อนำไปย่อยจะมีการเปลี่ยนลักษณะไป เช่น คุณค่าทางโภชนาการ สมบัติทางกายภาพ นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตซึ่งเกิดจากการย่อยสลายโปรตีน จะมีกรดอะมิโนอิสระเกิดมากขึ้น

ซอสปรุงรส (soy sauce) เป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตชนิดแรกของโลก ผลิตจากถั่วเหลืองและข้าวสาลี กลิ่นรสพื้นฐานของโปรตีนไฮโดรไลเซต คือ กลิ่นรสของเนื้อสัตว์ (meat flavour) ไฮโดรไลเซตของโปรตีนแต่ละชนิดจะให้กลิ่นรสที่แตกต่างกันไป (Dave และคณะ, 1991)

การย่อยสลายโปรตีน มี 3 วิธี คือ

1. การย่อยสลายโปรตีนด้วยกรด กรดที่ใช้มักเป็น hydrochloric acid หรือ sulfuric acid ปฏิกิริยาที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนอย่างสมบูรณ์(complete hydrolysis) จะใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูง เมื่อย่อยสลายแล้วจะต้องทำให้เป็นกลาง ได้โปรตีนไฮโดรไลเซต จากนั้นนำไปทำให้เข้มข้นขึ้นจนเป็น paste หรือนำไปทำแห้ง (Dave และคณะ, 1991) การย่อยสลายด้วยกรดมีค่าใช้จ่ายต่ำ

2. การย่อยสลายโปรตีนด้วยด่าง ด่างที่นิยมใช้ ได้แก่ sodium hydroxide potassium hydroxide และ barium hydroxide ภาวะที่ใช้โดยทั่วไป คือ ใช้ด่างเข้มข้น 4-5 M. ที่ 100°C 4-8 ชั่วโมง การย่อยสลายด้วยด่างแม้ tryptophan ถูกทำลายน้อย แต่กรดอะมิโนบางชนิดอาจเกิดracemization ซึ่งเป็นการเปลี่ยนจาก L-form ไปเป็น D-form ที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ได้ และทำให้เกิดกลิ่นรสไม่ดี (Hill, 1965) การย่อยสลายด้วยด่างจึงไม่ได้รับความนิยม

3. การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ ใช้ proteolytic enzyme เช่น trypsin, papain, proteinase (จากราและแบคทีเรีย) เป็นต้น เอนไซม์จะย่อยสลายโปรตีนได้เปบไทด์และกรดอะมิโน ความยาวของสายเปบไทด์ หรือการตัดพันธะขึ้นกับระดับของการย่อยสลาย ภาวะการย่อยสลาย ชนิด ความเข้มข้น และ activity ของเอนไซม์ และขึ้นกับชนิดโปรตีนที่ย่อยสลายด้วย ไฮโดรไลเซตจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะมีเกลือต่ำ และมี

water soluble nitrogen อยู่สูง (Dave และคณะ, 1991) การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ให้อัตราการย่อยสลายค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับการใช้กรดและด่าง

การย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีรสขมเกิดขึ้น (Matoba and Hata, 1972) รสขมที่เกิดมีส่วนเกี่ยวข้องกับกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic acid) ได้แก่ L-phenylalanine, L-tyrosine, L-tryptophan, L-valine, L-leucine, และ L-isoleucine เปปไทด์ส่วนมากที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบอยู่จะให้รสขม รสขมของเปปไทด์เกิดขึ้นเนื่องจาก side chain ของกรดอะมิโนที่ไม่ละลายในน้ำ ตัวอย่างของเปปไทด์ที่ให้รสขม ได้แก่ Gly-Leu, Leu-Phe, Leu-Lys และ Arg-Leu เป็นต้น (Fujimaki และคณะ, 1970)

เนื่องจากรสขมที่เกิดขึ้น เป็นปัญหาในการนำไฮโดรเซตไปใช้ในอาหาร จึงได้มีผู้เสนอวิธีการปรับปรุงแก้ไขรสขมของไฮโดรไลเซตที่ได้ หลายวิธีด้วยกัน สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

3.1 <u>การปิดบังรส</u> (Masking)

การปิดบังรสขมที่เกิดขึ้น โดยการเติมสารบางชนิดลงไป เช่น organic acids, polyphosphate, cyclodextrin, และ glycine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีรสหวานเป็นต้น (Cowan, 1983)

3.2 <u>การขจัดรสขมออกไป</u> (Removal)

อาจทำได้หลายวิธี เช่น solvent extraction ด้วยbutanol เป็นต้น แต่วิธีเหล่านี้มีราคาแพง และอาจก่อให้เกิดสารประกอบที่อาจเป็นพิษในอาหารได้ ซึ่งไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ การขจัดรสขมอาจใช้ carbon treatment และเครื่องกรองใยแก้ว (glass fiber filters)ได้ การใช้carbon treatment ยังช่วยขจัดสีด้วย เปปไทด์ที่มีรสขมอาจทำให้ขมน้อยลงได้โดยใช้ acid precipitation ที่ pH 4.5 การใช้กรดนอกจากเพื่อหยุดปฏิกิริยาของprotease ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ใช้ในการผลิตhighly soluble soy hydrolysate ยังมีประโยชน์ที่ช่วยลดรสขมลงด้วย (Cowan, 1983)

3.3 <u>การป้องกันไม่ให้เกิดรสขม</u> (Prevention)

การป้องกันหรือหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดรสขมขึ้น หรือให้เกิดน้อยที่สุด ทำได้โดยการควบคุมปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน และการเลือกปฏิบัติการที่เหมาะสม ตัวอย่างเช่น

การใช้เวลาในการย่อยสลายสั้นลง การเลือกความจำเพาะ(specificity) ของprotease ที่จะใช้เพื่อให้เกิด hydrophobic peptides น้อยที่สุด เป็นต้น

การแก้ปัญหาเรื่องรสขมอาจใช้หลายวิธีร่วมกันก็ได้ (Cowan, 1983; Kilara, 1985; Ericksen, 1989; Dave และคณะ, 1991)

ระดับของการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis หรือ DH)

ระดับการย่อยสลายเป็นดัชนีที่แสดงปริมาณการย่อยสลายของโปรตีน อาจหาได้โดยการวัดปริมาณโปรตีนที่เหลือหลังการย่อยสลาย หรือวัดปริมาณกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้น เมื่อโปรตีนถูกย่อยสลาย โปรตีนที่มีอยู่ก่อนการย่อยจะลดลง เพราะถูกเปลี่ยนเป็นโพลีเปปไทด์ และกรดอะมิโน

การวิเคราะห์หาโปรตีนที่จะนำมาคำนวณ DH มีหลายวิธี เช่น Kjeldahl, Folin-Lowry colour development, Coomassie blue binding เป็นต้น การคำนวณค่า DH หาได้โดยวิธีวัดปริมาณโปรตีนดังนี้

$$DH = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลาย}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด}} \times 100$$

(ปริมาณโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลาย= ปริมาณโปรตีนทั้งหมด-ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่)

DH นี้มีประโยชน์ในการควบคุมปฏิกิริยาการย่อยสลายของโปรตีน (Stauffer,1989)

เอนไซม์โปรติเอส (Protease)

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายโปรตีน ซึ่งจะไปย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้ได้สารเปปไทด์สายสั้น หรือกรดอะมิโน

โปรติโอไลติกเอนไซม์ (Proteolytic enzymes) มีแหล่งที่มาหลายทาง มีความแตกต่างกันทั้งด้านความจำเพาะ ความเป็นกรดและด่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (Cowan, 1983) เอนไซม์โปรติเอสอาจแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามกลไกของการทำงาน

(ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

1. The serine proteaseเป็น alkali protease มีความเป็นกรดและด่างเหมาะสมที่สุด (optimum pH activity) เมื่ออยู่ในช่วงpH 7.0-11.0 เอนไซม์กลุ่มนี้ได้จากตับอ่อนหรือจากจุลินทรีย์ เช่น trypsin,elastase เป็นต้น

2. The sulfhydryl proteases (-SH group) เป็นneutral protease มีความเป็นกรดและด่างเหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ที่ pH 6.0-7.5 เอนไซม์กลุ่มนี้สกัดได้จากพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์บางชนิด เช่น papain, bromelain, *Streptococcus* protease (*Streptococcus* peptidase A) เป็นต้น

3. The metal-containing proteasesเป็นโปรติเอสที่มีอิออนของโลหะรวมอยู่ในโมเลกุลของเอนไซม์ หรือร่วมในปฏิกิริยาการย่อยสลาย เป็นพวก neutral protease ปฏิกิริยาความเป็นกรดและด่างเหมาะสมที่สุดที่ pH 6.5-7.5 เช่น Carnosinase ต้องการ Zn^{++} เป็นต้น

4. The acid proteases ทำปฏิกิริยาย่อยสลายในช่วง pH ของกรด(pH <7.0) ปฏิกิริยาความเป็นกรดและด่างเหมาะสมที่สุดอยู่ในช่วง pH 2.0-4.0 เช่น pepsin, rennin เป็นต้น

ในการใช้เอนไซม์โปรติเอสเพื่อนำมาย่อยสลายโปรตีนมีหลักการเลือก คือ

ลักษณะหรือความจำเพาะของเอนไซม์ (enzyme specificity) ทั้งนี้เพื่อให้ตรงกับวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้โดยทำการย่อยสลายที่ pH ที่เหมาะสมที่สุดที่เอนไซม์ทำงาน อุณหภูมิที่เหมาะที่สุดที่เอนไซม์เร่งปฏิกิริยา ถ้าเอนไซม์นั้นทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงมาก เวลาหยุดปฏิกิริยาอาจจะต้องใช้ความเย็นเข้าช่วย ซึ่งทำให้หมดเปลืองค่าใช้จ่ายและยุ่งยาก นอกจากนี้ปัจจัยเรื่องราคาและการหาได้ง่ายยังมีผลต่อการเลือกใช้อีกด้วย

ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต สิ่งที่ต้องการ คือ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่ำ (broad specificity) โดยมีเป้าหมายเพื่อให้ได้เปบไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ กับกรดอะมิโนอิสระโดยไม่เกิดรสขม

สำหรับ native globular proteins จะถูกย่อยสลายได้ยาก ต้องทำให้เปลี่ยนจากสภาพธรรมชาติเสียก่อน(denaturation) เช่น ใช้ความร้อน หรือสารบางอย่าง เป็นต้น โปรตีนที่เสียสภาพจากธรรมชาติแล้วจะถูกย่อยสลายได้ง่ายขึ้น (Cowan,1983; Kilara,1985)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ที่จะใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเอนไซม์ที่ผลิตโดยบริษัท Novo Industri A/S Copenhagen, Denmark เอนไซม์ Neutrase® ผลิตจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เป็นเอนไซม์ neutral protease มี Zn^{++} อยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 4,500 และเป็น endopeptidase อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายอยู่ในช่วง 45-55°C รูปแบบของเอนไซม์มีทั้งที่เป็นของเหลว (activity 0.5 unit/g) และผง (activity 1.5 unit/g) (Novo Industri A/S, 1990) มีการใช้ประโยชน์ในด้าน baking, brewing, protein hydrolysis และเครื่องหนัง (Petersen, 1981; Cowan, 1983; Novo Industri A/S, 1990)

การนำโปรตีนไฮโดรไลเซตไปใช้ประโยชน์

โปรตีนไฮโดรไลเซตถูกผลิตขึ้นมาเพื่อเป็น functional ingredients และเพื่อเป็น nutritional ingredients และยังใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารด้วย ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตโดยทั่วไปจึงมี 3 รูปแบบ คือ

1. Nutritional ingredients (Ericksen,1989)

แบ่งได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

1.1 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซต เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการโดยทั่วไป มีการผลิต soy protein hydrolysate เพื่อใช้เติมลงใน acidic soft drink ซึ่งต้องมีการควบคุมอัตราการย่อยสลายโปรตีน และยับยั้งปฏิกิริยาตามสภาวะที่กำหนดไว้ หรือดูจาก degree of hydrolysis ก่อนที่รสขมจะเกิดขึ้น และมีการใช้ในน้ำผลไม้ และอาหารอื่น ๆ เช่น แยม marmalade เป็นต้น

1.2 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตทางการแพทย์ ใช้กับผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับการย่อยและการดูดซึม

1.3 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตสำหรับผู้ที่มีอาการแพ้โปรตีน

2. Functional ingredients

การย่อยสลายโปรตีน จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติในด้านต่างๆของโปรตีน เช่น water solubility, water dispersibility, emulsification capacity,

whipping expansion, foam stability และ viscosity ทั้งนี้ขึ้นกับระดับการย่อยสลายด้วย เช่น การย่อยสลายที่มี degree of hydrolysis ต่ำ จะช่วยปรับปรุง emulsification property เป็นต้น สำหรับการใช้ในอาหารโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีการใช้เป็น whipping agent (Ericksen, 1989; Arai, และ Fujimaki, 1991)

3. การใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารมี 2 แบบ คือ สารให้กลิ่นรส(flavour donor) ใช้ใส่ในอาหารเพื่อให้มีกลิ่นรสตามต้องการเช่น ใส่ในขนมขบเคี้ยว ซุปผง ซุปบรรจุกระป๋องและซอสพริก อีกแบบหนึ่ง คือ สารเสริมกลิ่นรส(flavour enhancer) ใช้เพื่อเพิ่มกลิ่นรสของอาหารที่มีกลิ่นรสอยู่แล้วให้มีกลิ่นรสมากขึ้น เช่น ใช้ในครีมซุป ผลิตภัณฑ์จากปลา ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักในน้ำเกลือและไส้กรอก (อาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล, 2535)

สำหรับการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตในด้าน Nutritional ingredients เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในอาหารทั่วไปนั้น การใช้ในเครื่องดื่มเป็นรูปแบบที่ง่ายต่อการบริโภค โปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายมาแล้ว ร่างกายจะย่อย ดูดซึม และนำไปใช้ได้เร็วกว่าพวกโปรตีนที่ไม่ได้ผ่านการย่อยสลาย ดังนั้นโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลาย จึงเหมาะที่จะเป็นอาหารเสริมสุขภาพให้กับผู้ป่วยที่เป็นโรค ผู้ที่บาดเจ็บ ผู้ป่วยที่ผ่านการผ่าตัด และผู้ที่มีปัญหาในการย่อยอาหาร เนื่องจากตับอักเสบ ขาดน้ำย่อย หรือเป็นโรคของทางเดินน้ำดี (กุลวดี ภูมิสวัสดิ์, 2534) นอกจากนี้ยังเหมาะที่จะเป็นอาหารเสริมสุขภาพให้กับบุคคลทั่วไป

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากพืชเพื่อใช้ในเครื่องดื่ม

ในการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากพืช เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในเครื่องดื่ม ส่วนใหญ่จะศึกษาโปรตีนที่ได้จากถั่วเหลือง การศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายโปรตีนในพืชชนิดอื่นก็มีบ้าง เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี เป็นต้น

Sugimoto, Van Buren และ Robinson (1971) ได้ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองที่มีรสอ่อน เพื่อนำไปผลิตเครื่องดื่มที่มีกลิ่นและรสคล้ายน้ำมะนาว โดยนำโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองที่เป็นกลางในรูปโซเดียม มีชื่อทางการค้าว่า "Promine D" มีองค์ประกอบ คือ ความชื้น 5.13%, crude protein (Kjeldahl N x

6.25) 92.7%, dispersible protein (เป็นเปอร์เซ็นต์ของ crude protein) 82.5% formal nitrogen 0.523% และ total carbohydrate 2.83% (เป็น glucose) มาผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ acid protease ที่เตรียมจาก *Trametes sanguinea* โดยย่อยที่ pH 2.5 และ 3.5 ตามลำดับ และใช้น้ำมะนาวเข้มข้นซึ่งมีpHเท่ากับ 2.4 มาปรับ pH ให้เป็นกรด การย่อยสลายทำโดยนำ suspension ของ Promine D 5% (W/V) มา autoclave ที่ 121°C นาน 4 นาที เพื่อdenatureโปรตีน แล้วทำให้เย็น ผสมกับสารละลายเอนไซม์ตามปริมาณที่กำหนดให้เข้ากันดี ปรับpHเป็น 3.3-3.5 ด้วยน้ำมะนาวเข้มข้น(pH2.4) ให้ความร้อน 50°C นาน 8-10 ชั่วโมง เขย่าตลอดเวลา แช่ในน้ำเดือด 5 นาที เพื่อหยุดการย่อยสลาย นำไปปั่นแยกกากที่ไม่ละลายออกจากสารละลายส่วนใส ซึ่งมี solubilized nitrogen อยู่ 88-90% จากการทำ gel filtration ของไฮโดรไลเซตส่วนที่ละลายได้ พบว่าส่วนใหญ่เป็นpeptidesที่มีขนาดใหญ่จึงไม่ทำให้เกิดรสขมและรสชาติคล้ายเนื้อ หากไม่รวมรสน้ำมะนาวเข้มข้นที่เติมลงไป ไฮโดรไลเซตที่ได้จะมีรสอ่อน(bland taste) การย่อยสลายมีผลให้ความหนืดลดลง เมื่อนำไฮโดรไลเซตเจือจางจนมีโปรตีน 2% จะได้ของเหลวใสสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นรสใกล้เคียงกับน้ำมะนาว เมื่อเติมน้ำตาลลงไปจะทำให้รสดีขึ้น และเป็นเครื่องดื่มที่มีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่าน้ำมะนาวธรรมดา

Noe และ Faith (1973) ได้ใช้วิธี double enzyme method ในการย่อยสลายโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองและโปรตีนเข้มข้นจากปลา โดยใช้เอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ Solutase ที่เตรียมจากแบคทีเรียพวก *Bacillus subtilis* ซึ่งจะช่วยให้การกระจายตัวของโปรตีนไอโซเลตในน้ำดีขึ้น ไม่ตกตะกอนนอนก้น และใช้เอนไซม์ Hydrolase ที่เตรียมจากเชื้อรา *Aspergillus orysae* ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลือง ใช้อย่างละ 0.1 g ใส่ลงใน suspension ของโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลือง 6 g/น้ำ 200 ml ที่ปรับ pH ให้เป็น 6.2 ด้วยกรดแลคติกเจือจาง แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40°Cเขย่าด้วยความเร็ว 275 รอบต่อนาทีนาน 16 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยกสารละลายไฮโดรไลเซตออกมาด้วยกระดาษกรอง Whatman No.42

ไฮโดรไลเซตที่ได้นั้นใช้ประโยชน์ได้โดยนำสารละลายไฮโดรไลเซต 50 g มาเติมน้ำตาล 10 g และสีผสมอาหาร 0.1 g ผสมให้เข้ากัน จะได้เครื่องดื่มที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และเมื่ออัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงไป ก็จะได้ nutritional carbonated drink

นอกจากนี้ไฮโดรไลเซตที่ได้ยังใช้เติมใน citrus juices หรือในอาหารชนิดอื่นได้ด้วย เช่น breakfast cereal ซุป อาหารเด็ก ขนมปัง มักกะโรนี เป็นต้น

Pour-el และSwenson (1973) ได้ย่อยสลายโปรตีนสกัดจากแป้งถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์พวก acid fungal proteinase 0.03% โดยน้ำหนักที่ pH 3.5 (ปรับpH ด้วย 6N hydrochloric acid และphosphoric acid เข้มข้น) เป็นเวลา 2 วัน อุณหภูมิ 40°C พยายามควบคุมให้pHอยู่ในช่วง 2.7-4.0 โดยใช้phosphoric acid เข้มข้น เมื่อครบกำหนดนำไปทำให้เย็นที่ 15°C ปั่นแยกส่วนของเหลวมาทำเป็นผงด้วยวิธี freeze drying

เมื่อลองเติมผงไฮโดรไลเซตที่ได้ลงในน้ำและปรับ pH เป็น 4.75 โปรตีนจะเกิดการละลายที่ค่อนข้างสมบูรณ์ และเมื่อมีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในของเหลวสูงถึง 20% โดยน้ำหนัก ของเหลวใสที่ได้จะเกิดฟอง ถ้าในระหว่างการย่อยสลายปล่อยให้pH ขึ้นไปสูงถึง 4.75 จะมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสชาติไม่ดี และการละลายไม่สมบูรณ์ เนื่องจากมีprotein-salts เกิดขึ้น และต้องใช้กรดปริมาณมากในการลด pH ให้ต่ำลง โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้นี้เรียกว่า Permanently Soluble Protein (P.S.P.) นำไปผสมใน carbonated และ non-carbonated acidic beverage

Yokotsuka และคณะ (1975) ผลิตเครื่องดื่มที่เป็นกรด (acidic beverage) ที่มีเปปไทด์คิดเป็นปริมาณโปรตีน 1-4% จากกากถั่วเหลืองพร่องไขมัน เอนไซม์ที่ใช้สำหรับการย่อยสลาย คือ acid protease ที่ผลิตจากจุลินทรีย์โดยเฉพาะพวก black *Aspergilli*จะได้ผลดี เอนไซม์ที่ดีอีกอย่างหนึ่ง คือ acid protease ที่เตรียมจาก *Penicillium duponti* ATCC 20186

ขั้นตอนการผลิต นำกากถั่วเหลืองพร่องไขมันผสมกับน้ำหรือแอลกอฮอล์เจือจาง 5-10 ส่วนโดยปริมาตร ให้ความร้อนหรือนึ่งด้วยไอน้ำ (steam cooking) เพื่อ denature โปรตีนเป็นเวลานาน 30-60 นาที หลังจากนั้นทำการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ acid protease pH 2.5-6.0 ใช้ช่วงอุณหภูมิห้องจนถึงอุณหภูมิ 90°C ตามสภาวะต่างๆที่กำหนดเอาไว้ พบว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ 3-10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40-70°C ช่วงอุณหภูมิที่สูงจะเหมาะกับ acid protease ที่ผลิตจาก *Penicillium duponti* ATCC 20186 จากนั้นหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลาย ก่อนที่อัตราส่วนของ formal-state nitrogen (most of amino acids and ammonium nitrogen) ต่อ total nitrogenจะถึง 20% แยกส่วนใสจากของผสมที่ผ่านการ

ย่อยสลายแล้วออกมาซึ่งปราศจากรสขม และเติมส่วนผสมต่างๆ เช่น น้ำ กลิ่นรส ผลไม้ สาร ให้ความหวาน กรดอินทรีย์และสารให้สีตามสูตรที่ระบุไว้รวม 17 สูตร จะได้เครื่องดื่มที่เป็นกรดที่มีส่วนผสมแตกต่างกันออกไป โดยมีเปปไทด์ละลายอยู่ในmedia ที่มี pH ต่ำกว่า 6.0 โดยไม่มีการจับตัวเป็นก้อนและตกตะกอนลงมา

Adler-Nissen (1978)ได้เตรียมpolypeptidesจาก soy protein isolate และ soy protein concentrate เพื่อใช้เป็น additive เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสภาพเป็นกรดและมีโปรตีนต่ำ ซึ่งได้แก่ เครื่องดื่ม(เช่น carbonated soft drinks), marmalade และแยม โดยนำ suspension ของ soy protein isolateและ soy protein concentrateที่มีโปรตีนอยู่ประมาณ 8% มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์Alcalase® 0.2% ที่pH 8 อุณหภูมิ 50°C ปรับpHให้คงที่ด้วย sodium hydroxide เมื่อย่อยสลายไปจนมี Degree of hydrolysis อยู่ในช่วง 8-15% เติม citric acid ลงไปเพื่อหยุดปฏิกิริยา ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วกรอง หรือปั่นแยกสารละลาย polypeptide ออกมา เติม activated carbon powder และตั้งทิ้งไว้ 30 นาที กรองแยกออกไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะใสและไม่มีรสขม ละลายน้ำง่าย อาจเติม sorbic acid ลงไป เพื่อเป็น preservative protein hydrolysate ที่ได้ นำมาทำเป็นเครื่องดื่ม โดยเติมน้ำลงไปให้มีปริมาณ protein hydrolysate 3% และเติมน้ำตาลซูโครส 9-10% อาจเติมสารให้กลิ่นรสลงไป ถ้าหากไม่ใช้ sorbic acid เป็น preservative ก็ใช้วิธีพาสเจอร์ไรซ์เครื่องดื่มที่เตรียมได้ และเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ (ในตู้เย็น) จะเก็บได้หลายสัปดาห์ โดยไม่มีการตกตะกอนและไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ แต่มีการเปลี่ยนแปลงของสีเล็กน้อยเนื่องจากเกิด Maillard reaction

Olsen และ Adler-Nissen (1979) ได้นำ white flake soya (defatted soy flour) มาสกัดเอาโปรตีนเข้มข้น (protein concentrate) ที่ isoelectric point ขั้นตอนในการสกัดเริ่มจากล้าง white flake soyaด้วยน้ำที่ปรับ pH เป็น 4.5 ด้วย hydrocholoric acid อัตราส่วนระหว่าง ของเหลว:ของแข็ง เป็น 10:1 ล้างด้วยน้ำ 4 ครั้ง ส่วนที่เหลืออยู่หลังการล้าง คือ โปรตีนเข้มข้น นำโปรตีนเข้มข้นที่สกัดได้มาย่อยสลาย โดยเติมน้ำลงไป และเพิ่มอุณหภูมิเป็น 55°C ใช้ NaOH ปรับpH ให้เป็น 8 แล้วนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Alcalase® 0.6 L ที่อุณหภูมิ 50-55°C นาน 3 ชั่วโมง ใช้ pH ต่ำในการยับยั้งปฏิกิริยา โดยเติม malic acid ให้ pH เป็น 4.2 แล้วปั่นแยก จะได้สารละลายโปรตีน

ไฮโดรไลเซต นำมากรองและผ่าน carbon treatment ที่ 50°C นาน 30 นาที ปริมาณของ activated carbon ที่เติมลงไป คือ 0.1% w/v จากนั้นนำไปกรองอีกครั้งเพื่อแยก activated carbon ออกไป โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้อาจนำมาระเหยให้เข้มข้นขึ้น หรือทำแห้งด้วย spray dryer

การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้นำมาผสมใน soft drinkให้มีปริมาณโปรตีน 2-3% จะไม่มีรสขมเกิดขึ้น หรือผสมในอาหารที่มีpHต่ำ และยังใช้ใน cured meat, whole meat product หรือใช้ใน dietetic foods โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้นี้ อาจเรียกว่า Isoelectric-Soluble Soy Protein Hydrolysate (ISSPH)

Petersen (1981) ได้กล่าวถึงการผลิตและการใช้ Isoelectric-Soluble Soy Protein Hydrolysate (ISSPH) ใน soft drink สำหรับการผลิต ISSPH นั้นมีขั้นตอนเช่นเดียวกับที่ได้กล่าวมาแล้ว ส่วนการใช้ ISSPH ใน soft drink ทำโดยผสม ISSPH ปริมาณ 6% กับน้ำผลไม้ต่อไปนี้ชนิดใดชนิดหนึ่ง ได้แก่ น้ำกล้วยปริมาณ 47%, น้ำฝรั่งเข้มข้นปริมาณ 33% หรือผสมกับน้ำมะม่วงเข้มข้นปริมาณ 40% โดยเครื่องดื่มที่ผสมกับน้ำฝรั่งจะเติมน้ำตาลลงไปด้วย 6% ส่วนเครื่องดื่มที่ผสมกับน้ำมะม่วงจะเติมน้ำตาลลงไป 2.6% เครื่องดื่มที่ได้จะมีปริมาณโปรตีนอยู่ 4% เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสในเรื่องรสชาติ โดยผู้ชิมที่ได้รับการฝึก พบว่าเครื่องดื่มที่ผสมน้ำมะม่วงได้รับการยอมรับมากกว่าอีก2 ตัวอย่าง เครื่องดื่มที่ผสมน้ำกล้วยและน้ำฝรั่งมีรสแปลกปลอม เนื่องจากมีกลิ่นรสถั่วเหลือง และกลิ่นรสแปลกปลอมอื่นๆอยู่มากกว่าเครื่องดื่มที่ผสมน้ำมะม่วง

Conrad (1983) ได้ใช้เอนไซม์หลายชนิด เพื่อย่อยสลายคาร์โบไฮเดรทและโปรตีนในการทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ จากการย่อยสลายพวกธัญพืชทั้งเมล็ด ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต และข้าวเจ้า เอนไซม์ที่ใช้ เช่น Neutrase®, HT Proteolytic, BANL 120 (เป็นพวก amylase เป็นต้น) นำเมล็ดธัญพืชมาบดให้แตกออก เติมเอนไซม์ลงไปตามสูตร ซึ่งมีทั้งหมด 22 สูตร แล้วแต่จะต้องการผลิตภัณฑ์รูปแบบใด หลักการคือ ใช้ proteolytic enzyme ย่อยสลายโปรตีนที่ไม่ละลายให้ละลายได้ในน้ำ ต่อไปใช้เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรทให้ได้แป้งที่ละลายน้ำได้เป็น mono และ disacchasides แยกส่วนสารละลายออกมาทำแห้ง, กึ่งแห้ง, หรือทำให้เป็นของเหลวเข้มข้น นอกจากนี้ยังได้ส่วนที่เป็นรำข้าวออกมาด้วย ผลิตภัณฑ์ที่ได้ใช้เป็นสารให้ความหวานเพื่อเติมในขนมปัง เครื่องดื่ม

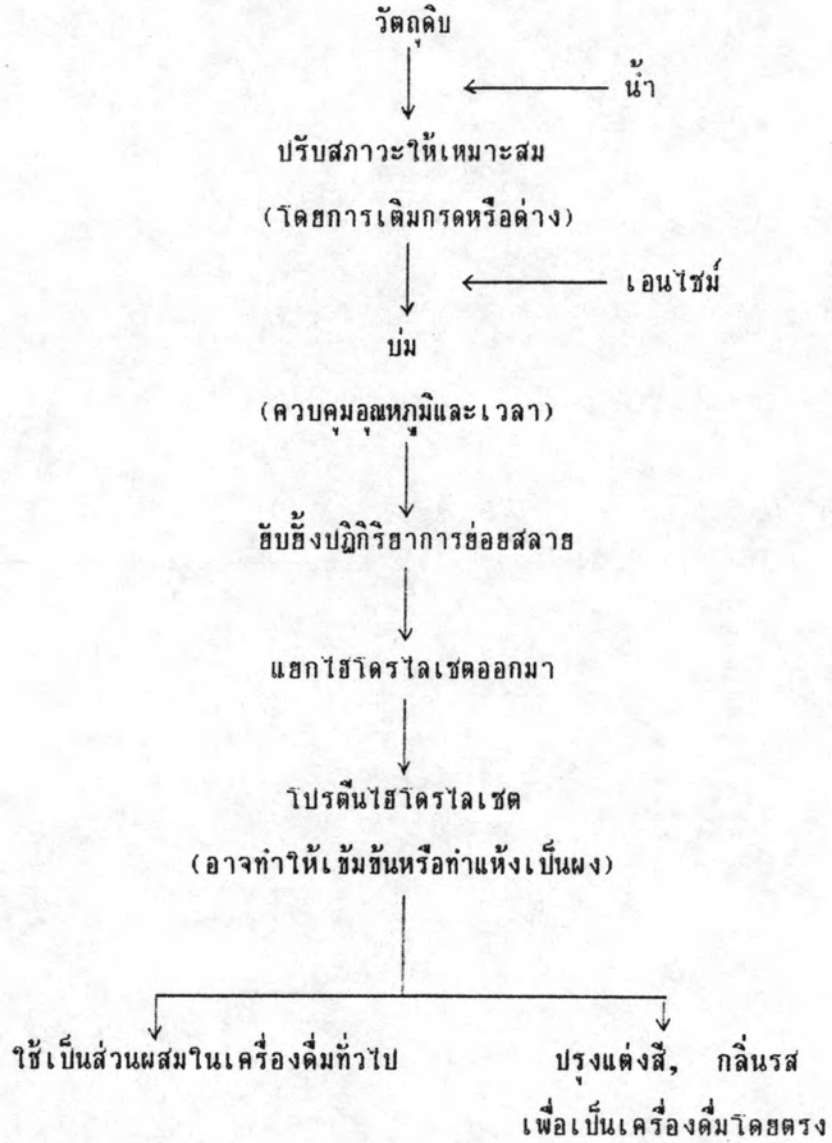
ผลิตภัณฑ์อาหารเช้า (breakfast cereal product) ส่วนที่เป็นรำข้าวใช้เติมในอาหารเพื่อสุขภาพสำหรับการทำงานของลำไส้ให้เป็นปกติ

Sugisawa และคณะ (1987) ได้ใช้เอนไซม์ในการแก้ปัญหาการตกตะกอนของโปรตีนใน bean soup drink (เป็น aqueous solution ของ soybean protein) ที่มีการเติมแคลเซียมลงไป เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้มีแคลเซียมใกล้เคียงกับที่มีในนม โดยใช้เอนไซม์พวก endopeptidase ดังต่อไปนี้ Bromelain (SIGMA), Pronase (Kaken Seiyaku Co., Ltd.) และ Protease "Amano" A (Amano Pharmaceutical Co., Ltd.) ชนิดใดชนิดหนึ่งใส่ลงใน bean soup drink เพื่อย่อยสลายโปรตีนใน bean soup drink ที่ผ่านการ denatured ด้วยความร้อนหรือด่างมาแล้ว ใช้ความร้อนยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ แล้วเติมเกลือแคลเซียมลงไป เช่น calcium chloride, calcium lactate และมีการเติมน้ำตาล อาจมีการเติมเกลือหรือน้ำมันพืชลงไปด้วย จะได้เครื่องดื่มที่มีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับนมและย่อยง่ายกว่า

นอกจากนี้ยังมีข้อมูลที่น่าสนใจ เกี่ยวกับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากพืชอีกข้อมูลหนึ่ง คือ Ericksen และคณะ(1992) ได้ใช้เอนไซม์อย่างน้อย 2 ชนิด ได้แก่ Alcalase® และ Neutrase® มาย่อยสลายโปรตีนถั่วเหลือง งา pea, rape seed และ faba bean มีการใช้ ultrafiltraion ในกระบวนการผลิต เพื่อช่วยให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีกรดอะมิโนอยู่มากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำเป็นผงแห้งด้วยวิธี spray-drying

สรุปขั้นตอนการผลิต Soy protein hydrolysate และการนำมาใช้เป็นเครื่องดื่ม

จากที่ได้กล่าวมา การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจะมีขั้นตอนหลักที่เหมือนกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แผนภาพสรุปขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นเครื่องดื่ม

จากรูปที่ 2.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต Soy protein hydrolysate ส่วนใหญ่มักเป็น soy protein concentrate และ soy protein isolate นอกจากนี้ ก็มีการใช้ defatted soy flour และ defatted soy meal เป็นวัตถุดิบในการผลิตด้วย การปรับภาวะให้เหมาะสมโดยการเติมกรดหรือด่าง จะขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ ไฮโดรไลเซตที่แยกได้อาจนำมาผ่าน carbon treatment อีกครั้งหนึ่ง