บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ถั่วเหลือง (Soybean)

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L) *Merr* เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล *Leguminosae*, subfamily *papilionoideae* มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Soybean เป็นพืชตระกูลถั่วที่เป็นที่รู้จักกันเป็นอย่างดี โดยเฉพาะเป็นพืชดั้งเดิมในทวีปเอเชีย มีการปลูกครั้งแรกที่ประเทศจีนจากนั้นได้มีการแพร่กระจายพันธุ์ไปยังประเทศใกล้เคียง เช่น ประเทศญี่ปุ่น ไทย และอินเดีย เป็นต้น ประชาชนในภูมิภาคนี้ได้นำถั่วเหลืองมาใช้บริโภคและนำมาเป็นส่วนผสมที่สำคัญของอาหารพื้นเมืองนานาชนิด แหล่งเพาะปลูกถั่วเหลืองที่สำคัญของประเทศไทยส่วนใหญ่นิยมปลูกในแถบภาคเหนือ และภาคกลางตอนบน ลักษณะของต้นถั่วเหลืองเป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 1 - 2 เมตร ลำต้นสี่เหลี่ยมปกคลุมด้วยขนสีเทาขาว ใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ ประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ รูปร่างคล้ายรูปไข่ ปลายแหลม ค่อนข้างหนา ผิวมันทั้งด้านบนและด้านล่าง ดอกเป็นช่อสีขาวหรือม่วงแดง ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 25 - 30 วัน สามารถขึ้นได้ดีในสภาพดินร่วนซุยระบายน้ำดี (คณะกรรมการกำหนดมาตรการและจัดทำเอกสารอนุรักษ์ดินและน้ำ, 2541) เก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 90 - 100 วัน และ กิ่งในฝักประกอบเมล็ดจำนวน 3 - 5 เมล็ดมีลักษณะกลมรี ผิวสีเหลืองมัน ตาเมล็ดค่อนข้างเล็กมีสีน้ำตาลอ่อน (โครงการสมุนไพรกับสาธารณสุขมูลฐาน โดยความช่วยเหลือขององค์การยูนิเซฟ, 2529)

สายพันธุ์ของถั่วเหลือง

ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้มีการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะเหมาะสมต่อภูมิประเทศและภูมิอากาศของประเทศไทย รวมทั้งทนทานต่อโรคและให้ผลผลิตสูง โดยทั่วไปมีพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความนิยมในการปลูกทั้งสิ้น 10 พันธุ์ คือ พันธุ์ สจ.2 สจ.4 สจ.5 สุโขทัย 1 สุโขทัย 2 สุโขทัย 3 นครสวรรค์ 1 เชียงใหม่ 60 เชียงใหม่ 2 เชียงใหม่ 3 และ เชียงใหม่ 4 (อภิพรรณ, 2546; ห้องสมุดความรู้การเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553)

ลักษณะของถั่วเหลืองที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์

พันธุ์ สจ.2 ลักษณะของลำต้นไม่มีการทอดยอด ต้นไม่ล้มง่าย เจริญเติบโตเร็ว และให้ผลผลิตสูงในปลายฤดูฝนและฤดูแล้ง ฝักไม่แตกง่าย ลักษณะของตาเมล็ดมีสีน้ำตาลแดง (โดยทั่วไป

เกษตรกรจะเรียกว่าพันธุ์ตาแดง) สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 95 วัน แต่เป็นพันธุ์ที่ไม่สามารถต้านทานต่อโรคราสนิม

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 เป็นพันธุ์ที่มีกิ่งน้อย แต่ให้จำนวนฝักมาก สามารถเพิ่มจำนวนต้นต่อไร่ได้มาก และให้ผลผลิตในปริมาณสูง มีการตอบสนองต่อปุ๋ยได้ดีกว่าพันธุ์ สจ.5 ปลูกได้ทั้งฤดูแล้งและฤดูฝนโดยให้ผลผลิตใกล้เคียงกับ พันธุ์ สจ.4 และพันธุ์ สจ.5 สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 97 วัน

พันธุ์เชียงใหม่ 1 เป็นพันธุ์ที่คัดมาจากพันธุ์ที่นำเข้ามาจากไต้หวัน โดยเน้นการคัดเลือกต้นที่ฝักใหญ่ ซึ่งลักษณะประจำพันธุ์คือ ดอกและโคนต้นอ่อนมีสีม่วง ขนที่ฝักสีขาว ฝักสีเขียวเข้ม ฝักแก่สีน้ำตาลอ่อน เมล็ดแห้งสีเหลือง ขั้วเมล็ดสีน้ำตาลอ่อน เมล็ดค่อนข้างกลม ใบกว้าง ทรงต้นไม่ทอดยอด อายุถึงออกดอกหลังจากงอก 33 วัน อายุเก็บเกี่ยวฝักสดหลังจากงอก 75 วัน และสามารถปลูกได้ทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง แต่จะให้ผลผลิตสูงสุดในช่วงฤดูฝน

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

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

คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและมีราคาถูก โดยมี โปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 38 น้ำมันร้อยละ 18 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 25 เนื่องจากในถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทั้ง 10 ชนิด เช่นเดียวกับเนื้อสัตว์ (ตารางที่ 2.1) จึงทำให้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญและมีคุณภาพดีเมื่อเปรียบเทียบกับธัญพืชอื่นๆ โดยเฉพาะผู้ที่ไม่บริโภค

เนื้อสัตว์ (อภิพรรณ, 2528) จากการสำรวจและการวิจัยข้อมูลทางสุขภาพและการแพทย์พบว่า การบริโภคถั่วเหลือง รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดความทุกข์ทรมาน และเสียชีวิตในประชากรโลก เช่น โรคกระดูกพรุน โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และอาการวัยทองของสตรีวัยหมดประจำเดือน เป็นต้น คุณประโยชน์ดังกล่าวได้จากสารอาหารสำคัญที่มีอยู่ในถั่วเหลือง รวมทั้งในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

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

Amino acid	FAO Standard	Soybean			
		Seed	Flour	Concentrate	Isolated
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
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)

ผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลือง

เป็นเวลามากกว่า 2000 ปีแล้วที่ประชากรทั่วทั้งเอเชียได้มีการนำถั่วเหลืองมาใช้เพื่อการบริโภคและผลิตออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลาย เช่น เต้าหู้ น้ำนมถั่วเหลือง ซอสถั่วเหลืองปรุงรส เทมเป้ มิโซ เต้าหู้ยี้ ถั่วเน่า และนัตโต เป็นต้น อาหารเหล่านี้ไม่เพียงทำให้เกิดรสชาติ ที่แปลกใหม่ให้กับเมนูของแต่ละประเทศ ที่น่าสนใจสำหรับผลิตภัณฑ์เหล่านี้กล่าวคือ มี

รายงานการวิจัยต่างๆ ว่าการบริโภคอาหารที่มีถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเรื้อรัง อาทิ โรคมะเร็ง โรคหัวใจ เป็นต้น ในประเทศไทยได้ให้ความสำคัญต่อการบริโภค ถั่วเหลืองมาตั้งแต่โบราณทำให้คนไทยมีการสั่งสมความรู้และภูมิปัญญาที่สืบทอดกันมาจนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าจากถั่วเหลืองซึ่งเป็นอาหารและใช้เป็นเครื่องปรุงที่สำคัญในการเพิ่มรสชาติให้กับอาหารพื้นเมืองของไทย

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 โดยเริ่มจากการนำถั่วเหลืองที่ผ่านการคัดเลือกแล้วมาล้างทำความสะอาดนำไปแช่น้ำทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นซาวน้ำทิ้งและต้มถั่วเหลืองดังกล่าวในน้ำเดือดประมาณ 3-4 ชั่วโมง นำมาสะเด็ดน้ำและบรรจุลงในกระติ๊บ กระบุง หรือเข่งที่รองด้วยใบตองแล้วจึงทับด้วยใบตองอีกชั้นเพื่อลดการสูญเสียความชื้นและการปนเปื้อนจากเชื้อที่ไม่พึงประสงค์ แล้วหมักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน จะได้ถั่วเน่าที่มีกลิ่นและรสชาติที่พอดี (ภาณุวรรณ, 2551) ถั่วเน่าที่ผ่านขั้นตอนนี้จะมีลักษณะปรากฏที่สามารถมองเห็นเป็นเมล็ดถั่วเหลืองอย่างชัดเจนเรียกถั่วเน่าที่ได้ว่า ถั่วเน่าซา ซึ่งนิยมนำไปผัดกับผักต่างๆ แต่ถ้ามีการนำถั่วเน่าซาไปตำให้ละเอียดโดยอาจใส่น้ำลงไปเล็กน้อยจะได้ถั่วเน่าแบบเปียกมีสีเหลืองลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันเรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า ถั่วเน่าเมอะ นิยมนำมาปรุงรสชาติด้วย เกลือและพริก เป็นต้น หรืออาจนำมาใช้แทนกะปิในเครื่องแกงต่างๆ ในอาหารมังสวิรัติ เนื่องจากถั่วเน่าเมอะมีข้อจำกัดในด้านอายุการเก็บรักษาที่ค่อนข้างสั้นจึงมีการนำไปแปรรูปเป็นถั่วเน่าแผ่นชนิดแห้งและนิยมทำเป็นแผ่นกลมๆ มีสีน้ำตาลซึ่งเป็นการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าให้นานขึ้น ถั่วเน่าแผ่นชนิดแห้งนี้จะเรียกว่า ถั่วเน่าแข็บ ซึ่งนอกจากจะใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารแล้วยังสามารถนำมารับประทานเป็นของขบเคี้ยวได้โดยการนำไปปิ้งให้เหลืองกรอบพร้อมรับประทาน (ศรีจันทรัตน์, 2551) นอกจากถั่วเน่าจะเป็นส่วนประกอบซึ่งสร้างความเป็นเอกลักษณ์ในอาหารพื้นเมืองของภาคเหนือที่สำคัญแล้วยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทาง

โภชนาการสูงโดยเป็นอาหารที่ให้พลังงานและอุดมไปด้วยโปรตีน เส้นใยอาหาร วิตามิน รวมทั้งแร่ธาตุที่สำคัญต่อร่างกายหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเน่า (คำนวณได้จากอาหารส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม)

สารอาหาร (Nutrients)	ถั่วเน่าเปียก (Wet Fermented Soybean)	ถั่วเน่าแห้ง (Dried Fermented Soybean)
พลังงาน (แคลอรี)	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 จากนั้นจึงนำมาห่อด้วยใบตอง และนำไปเก็บในบริเวณที่อุ่นนาน 2-5 วัน สำหรับการผลิตในระบบอุตสาหกรรมจะมีการผลิตด้วยหัวเชื้อบริสุทธิ์ โดย Dr. Shin Sawamura ซึ่งเป็นคนแรกที่ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus subtilis* var. natto มาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น (Kato, 1985) เมื่อทำการหมักครบเวลาที่กำหนด จะได้เป็นถั่วเหลืองหมักที่มีสารเหนียวเมือกเคลือบเมล็ดถั่ว รสชาติของนัตโตขึ้นกับปริมาณ Diacyl คือ Tetra-methyl pyrazine และกรดอะมิโนที่เป็นผลมาจากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ของเชื้อ (Kousuge *et al.* 1962) ปัจจุบันมีการนำประโยชน์ของนัตโต มาประยุกต์ใช้ เช่น

สามารถลดปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดได้จึงมีการนำมาใช้ในการผลิตเป็นสาร Anti-hangover agent (Sumi *et al.* 1995) ในขณะที่คุณสมบัติของ Genistein ในนัตโตออกฤทธิ์เป็น ไฟโตเอสโตรเจนจึงมีการนำมาผลิตเป็นอาหารเสริม (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 and Okagbue (1988) ได้ทำการศึกษาโดยใช้เชื้อผสม ระหว่าง *Bacillus subtilis และ Bacillus pumilus* พบว่าผลิตภัณฑ์จะมีสีน้ำตาลเข้มหลังจากหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และมีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจาก 5.5 เป็น 8.6

สารสำคัญในถั่วเหลืองหมัก

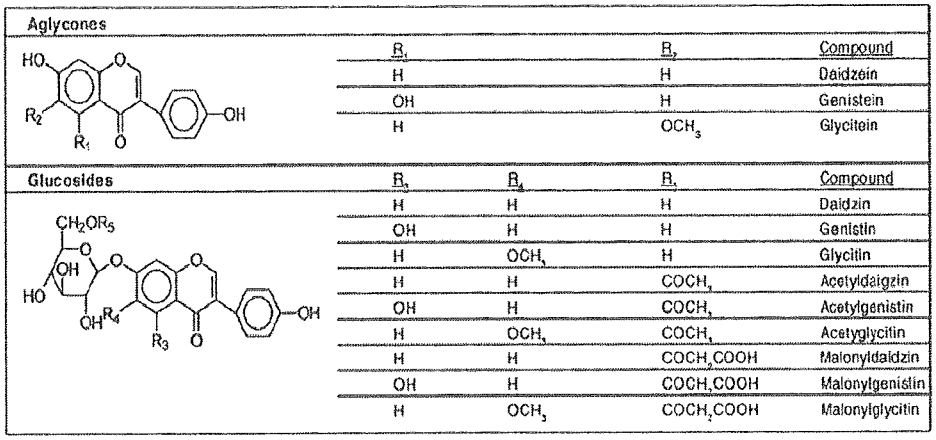
1. **จุลธาตุ (Micronutrient)**

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่อุดมไปด้วยแร่ธาตุ (Minerals) เช่น ธาตุเหล็ก สังกะสี และแคลเซียม และวิตามินโฟเลต พบว่าถั่วเหลืองหนึ่งหน่วยบริโภคจะมีปริมาณโฟเลตสูงกว่าครึ่งหนึ่งของปริมาณที่ต้องการต่อวัน การได้รับโฟเลตจากการบริโภคถั่วเหลืองจะช่วยลดความเสี่ยงต่อความบกพร่องของระบบประสาทได้ แม้ว่าถั่วเหลืองจะประกอบไปด้วยแร่ธาตุสูงแต่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ เนื่องจากในถั่วเหลืองประกอบด้วยสารซึ่งยับยั้งการดูดซึมแร่ธาตุ เช่น กรดไฟติก และกรดออกซาลิก เป็นต้น (Messina, 1999)

2. **สารไอโซฟลาโวน (Isoflavones) หรือ ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogens)**

ไอโซฟลาโวนเป็นสารอินทรีย์จำพวก Flavonoids พบได้ในพืชหลายชนิดโดยเฉพาะในถั่วเหลืองและอาหารที่ประกอบด้วยถั่วเหลือง เป็นสารที่มีโครงสร้างและบทบาทคล้ายเอสโตรเจน ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศหญิง มีผลในการลดอาการร้อนวูบวาบ เนื่องจากภาวะหมดประจำเดือน และมีคุณสมบัติในการช่วยป้องกันโรคมะเร็งบางชนิด โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคกระดูกพรุน

(Murphy *et al.* 2002 ; Messina, 1999) สารไอโซฟลาโวน ในถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์มีโครงสร้างทางเคมีหลายรูปแบบโดยมีโครงสร้างหลักแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ Glucosides และ Aglycones (ภาพที่ 2.1) ปริมาณและชนิดของไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของถั่วเหลือง กระบวนการผลิต การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโครงสร้างชนิด Aglycones โดยเฉพาะ Genistein และ Daidzein สามารถถูกดูดซึมผ่านทางระบบทางเดินอาหารได้อย่างรวดเร็ว และมีปริมาณของสารในร่างกายมากกว่าในโครงสร้าง Glucosides (Setchelle, 2000) ทำให้มีการศึกษาไอโซฟลาโวนทั้งสองชนิดอย่างกว้างขวางเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์ และเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม จากการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองพบว่า ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักจะมีองค์ประกอบของไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones ในปริมาณมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งการบริโภคถั่วเหลืองหมักได้รับความนิยมในกลุ่มผู้บริโภคในแถบเอเชียจึงมีความกังวลในกลุ่มของนักวิชาการว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักเป็นปริมาณมากอาจส่งผลทำให้ร่างกายได้รับปริมาณของไอโซฟลาโวนเกินขนาดหรือส่งผลข้างเคียงต่อร่างกาย จึงมีการศึกษาถึงความปลอดภัยในการบริโภคไอโซฟลาโวน ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองในผู้หญิงที่อยู่ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ 28 คน ที่ได้รับไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones ที่ความเข้มข้น 45 มิลลิกรัม ต่อวัน เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน โดยการรับประทานโปรตีนถั่วเหลืองไม่พบว่ามีผลข้างเคียงอย่างมีนัยสำคัญ (Hargreaves *et al.* 1999) นอกจากนี้พบว่าในผู้ที่หายจากการป่วยด้วยโรคมะเร็งเต้านมจำนวน 177 คน ที่มีการบริโภคไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองชนิดเม็ดที่มีความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม ต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ไม่มีผลข้างเคียงต่อการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อและเนื้อเยื่อบริเวณต่อมน้ำนมแต่อย่างใด (Quella *et al.* 2000) จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มีไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองจึงมีคุณประโยชน์และปลอดภัยต่อผู้บริโภคทุกประเภทที่สามารถบริโภคถั่วเหลืองได้



Aglycones

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

Glucosides

R_2	R_3	R_4	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	$COCH_3$	Acetylglycitin
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)

ปริมาณไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตอาหาร และสภาวะการเก็บรักษา ดังการทดลองของ Davies *et al.* (1998) พบว่า โปรตีนไอโซเลทจากถั่วเหลืองที่มีอายุการเก็บรักษานาน จะส่งผลให้เกิดการสูญเสียปริมาณของ Genistein มากขึ้นตามเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Lee *et al.* (2003) ได้มีการศึกษาปริมาณไอโซฟลาโวนในตัวอย่างถั่วเหลืองทั้งหมด 15 สายพันธุ์ซึ่งทำการเก็บรักษาในช่วงเวลา 1-3 ปี พบว่าปริมาณไอโซฟลาโวนรวมมีปริมาณลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อทำการศึกษาปริมาณของไอโซฟลาโวนแต่ละชนิด พบว่าปริมาณของ *o*-Malonyldaidzin และ *o*-Malonylgenistin ลดลงมากในระหว่างการเก็บ และสำหรับปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง คือ กระบวนการผลิตนั้นจะส่งผลให้ในแต่ละผลิตภัณฑ์มีปริมาณ และชนิดของไอโซฟลาโวนแตกต่างกันไป ดังการศึกษาของ Wang and Murphy (1996) พบว่า การแช่และการให้ความร้อนแก่ถั่วเหลืองในกระบวนการทำเทมเป้ ทำให้เกิดการสูญเสียไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไปร้อยละ 12 และ 49 ตามลำดับ ในขณะที่การตกตะกอนโปรตีนในกระบวนการทำเต้าหู้ ทำให้เกิดการสูญเสียไอโซฟลาโวนไปร้อยละ 44 และการสกัดโปรตีนด้วยด่างในกระบวนการผลิตโปรตีนไอโซเลท ทำให้เกิดการสูญเสียไป ร้อยละ 53ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ ปัทมา (2553) ทำการศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองหมัก พบว่า การนึ่งถั่วเหลืองหมักที่ช่วงอุณหภูมิ 96-126 องศาเซลเซียส ณ ช่วงเวลา 12-33 นาที และการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50-74 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-27 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อปริมาณไอโซฟลาโวน

โดยที่ปริมาณ *o*-Malonyldaidzin และ *o*-Malonylgenistin ก็จะลดลงในกระบวนการแช่และกระบวนการต้มในการผลิตเทมเป้ น้ำนมถั่วเหลือง ในทางกลับกันกระบวนการให้ความร้อนจะ

ทำให้เกิดไอโซฟลาโวนชนิด Acetyldaidzin และ Acetylgenistin ขึ้น และไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones โดยเฉพาะ Daidzein และ Genistein จะพบได้มากในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น เทมเป้ มิโซ เป็นต้น

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักถั่วเหลือง

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในการหมักส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกรัมบวก รูปแท่ง มีการสร้างเอนโดสปอร์ (คนึงกานต์ และอัญชลี, 2543) ซึ่ง เอนโดสปอร์ เป็นโครงสร้างที่เกิดขึ้นเมื่อแบคทีเรียในกลุ่มนี้อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ เช่น ในสภาวะที่ขาดแคลนอาหาร ความแห้งแล้ง ความร้อนสูง เป็นต้น อีกทั้งเอนโดสปอร์มีความทนทานต่อรังสี และสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ปกติ โครงสร้างชนิดนี้มีชีวิตรอดได้เนื่องจากเป็นโครงสร้างที่ปราศจากการสร้างกลไกเมตาบอลิซึม หรือ Cryptobiosis แต่เมื่อโครงสร้างดังกล่าวไปตกอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ เอนโดสปอร์จะถูกกระตุ้นและจะงอกเป็นเซลล์ปกติ (Vegetative cell) ดำรงชีวิตต่อไปตามวงจรการเจริญเติบโตปกติ

Bacillus subtilis เป็นสายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ไม่เป็นเชื้อก่อโรคของมนุษย์ อีกทั้งยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพอีกด้วย จัดอยู่ใน Super Kingdom *Prokaryota*, Kingdom *Eubacteria*, Family *Bacillaceae*, Genus *Bacillus* รูปร่างลักษณะทั่วไป เป็นเซลล์รูปแท่งเรียงตัวกันแบบเดี่ยว หรือบางครั้งอาจต่อกันเป็นเส้นสาย และมีขนาด 0.6 - 0.7 x 2.0 - 3.0ไมโครเมตร (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 เจริญได้ในค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 5.5-8.5 สร้าง Hydrolytic enzyme ที่สลาย Polysaccharide, Nucleic acid และ Lipid โดยใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอน และมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็คตรอน บทบาทสำคัญของเชื้อตัวนี้ในการหมักคือ การปล่อยเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีน (นงนุช, 2547) ทำให้ถั่วเน่ามีลักษณะทั้งในด้านกลิ่นรส เนื้อสัมผัสเฉพาะตัว

ในกระบวนการหมักถั่วเหลืองด้วยวิธีดั้งเดิมตามภูมิปัญญาของไทย (ถั่วเน่า) นั้นพบว่าผลิตภัณฑ์เกิดจากการการหมักโดยเชื้อหลากหลายสายพันธุ์ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนตามธรรมชาติ เมื่อทำการคัดแยกและการจำแนกจากตัวอย่างถั่วเหลืองหมักพื้นบ้านของไทยพบว่าในแต่ละ

ช่วงเวลาที่ทำการหมัก จะมีปริมาณและชนิดของเชื้อแตกต่างกัน โดยสามารถตรวจพบแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* spp. เป็นเชื้อซึ่งมีจำนวนประชากรสูงที่สุด และถือว่าเป็นเชื้อที่มีบทบาทในการหมักได้ในทุกช่วงเวลา (ตารางที่ 2.3) นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียแลกติกหลังจากทำการหมักไปแล้ว 24 ชั่วโมง (Leejeerajumnean *et al.* 2000)

ตารางที่ 2.3 เชื้อ *Bacillus* spp. ที่ตรวจพบในถั่วเหลืองหมักพื้นบ้านของไทย

Fermentation time (Hours)	Strain
0	*B. subtilis*, *B. megaterium*
24	*B. subtilis*, *B. megaterium*
48	*B. subtilis*, *B. megaterium*
72	*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*
Final product	*B. subtilis*, *B. megaterium*

ที่มา : Leejeerajumnean *et al.* (2000)

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมัก

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ *Bacillus* spp. ซึ่งจะมีการสร้างเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองให้โมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงจนกระทั่งได้เป็นกรดอะมิโน จากนั้นแบคทีเรียจะใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน และแหล่งพลังงานโดยปฏิกิริยา Deamination โดยจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา (Macko and Estep, 1984) ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของถั่วเหลืองสูงขึ้น สภาวะที่เป็นด่างส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในถั่วเหลืองไม่สามารถเจริญได้ (Steinkraus, 1992)

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

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 และสารประกอบจำพวกกำมะถันเป็นสารระเหยง่ายเฉพาะในถั่วเน่า ทำให้มีกลิ่นรสคล้ายกลิ่นเนื้อในขณะที่นัตโตมีกลิ่นคล้ายผลไม้ออกมาจากผลิตภัณฑ์ (Leerajumnean *et al.* 2001)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

การหมักถั่วเหลืองจะเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยในระหว่างการหมักจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งถั่วเหลืองที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูงจะมีปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่างสูงไปด้วย เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่าจะส่งผลให้เชื้อเกิดปฏิกิริยา Deamination ขึ้นมาก เกิดการย่อยโปรตีนเป็นกรดอะมิโนทำให้ปลดปล่อยแอมโมเนียซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างอ่อน ในปริมาณสูงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น (Visessanguan, 2004)

ไอโซฟลาโวน ชนิด Glucosides เป็นชนิดที่พบได้ในเมล็ดถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จาก ถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการหมักโดยคิดเป็นร้อยละ 80-95 ของปริมาณไอโซฟลาโวนทั้งหมด แต่เมื่อทำการหมักพบว่า ปริมาณของ Glucosides จะลดลง และเกิดไอโซเมอร์ชนิด Aglycones เพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 2.4) เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ผลิตเอนไซม์ β-glucosidase ในการช่วยย่อยสลายพันธะ β-glucosidic ในโครงสร้างของไอโซฟลาโวนชนิด Glucosides ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones โดยพบว่า Daidzein และ Genistein เป็นไอโซเมอร์ที่พบในปริมาณที่สูง และเป็นสัดส่วนหลักของปริมาณ 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)

หมายเหตุ: DEN = Daidzein DIN = Daidzin MDN = Malonyldaidzin
GEN = Genistein GIN = Genistin MGN = Malonylgenistin
GLEN = Glycitein GLIN = Glycitin MGLIN = Malonylglycitin
ND = Not detected

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

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 16 มิ.ย. 2556
เลขทะเบียน 214886
เลขเรียกหนังสือ

จมูกถั่วเหลือง

ไอโซฟลาโวนถูกพบในถั่วเหลืองและในผลิตภัณฑ์ของถั่วเหลือง โดยเกือบทั้งหมดของไอโซฟลาโวนที่พบในถั่วเหลืองจะอยู่ในจมูกถั่วเหลือง และก็มีบ้างในส่วนต่างๆ เช่น เปลือกและเนื้อถั่วเหลือง (Nahas *et al.* 2003) โดยจมูกถั่วเหลืองมีประมาณร้อยละ 2 ของถั่วทั้งเมล็ด ซึ่งในปัจจุบันมีการนำจมูกถั่วเหลืองไปแปรรูปในอาหาร เช่น คุกกี้ และยังทำเป็นแคปซูลในรูปแบบอาหารเสริม (Bae *et al.* 2005) จากการศึกษาของ Song *et al.* (1998) พบว่า จมูกถั่ว 60 กรัม มีปริมาณไอโซฟลาโวนรวม 1,392 มิลลิกรัม โดยแยกเป็น Daidzein 672 มิลลิกรัม Genistein 185 มิลลิกรัม และ Glycitein 534 มิลลิกรัม

Dalais *et al.* (1998) ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไฟโตเอสโตรเจนจากจมูกถั่วเหลืองโดยแบ่งกลุ่มผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่มักมีอาการร้อนวูบวาบ (Hot flushes) เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกให้ได้รับจมูกถั่วเหลือง และอีกกลุ่มไม่ได้รับจมูกถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม) พบว่า กลุ่มที่ได้รับจมูกถั่วเหลืองมีอาการร้อนวูบวาบ (Hot flushes) หายไปร้อยละ 44 แต่ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอาการร้อนวูบวาบ (Hot flushes) หายไปแค่ร้อยละ 10 เท่านั้น สอดคล้องกับ Han *et al.* (2002) รายงานว่า ของผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่ได้รับไอโซฟลาโวนชนิดแคปซูลปริมาณ 100 มิลลิกรัมประจำทุกวัน มีอาการร้อนวูบวาบ (Hot flushes) ลดลงภายในเวลา 4 เดือน

ตารางที่ 2.5 ปริมาณไอโซฟลาโวนจากจมูกถั่วเหลือง

Isoflavone	**Yield (%)**
Daidzin	29.2
Glycitin	25.1
Acetyl daidzin	15.0
Acetyl glycitin	12.0
Genistin	8.8
Acetyl genistin	4.7
Daidzein	4.0
Genistein	1.2

ที่มา : Roger (2005)

จมูกถั่วเหลืองหมัก

คุณสมบัติทางเคมีของจมูกถั่วเหลืองระหว่างการหมักโดยการชักนำจากเชื้อแบคทีเรีย แลกติก (Pyo *et al.* 2005) และเปลี่ยนโครงสร้างของไอโซฟลาโวนจากชนิด Glucosides ให้เป็นชนิด Aglycones โดยกระบวนการของเอนไซม์ (Tsangalis *et al.* 2002) เช่นเดียวกับการทดลองของ Hubert *et al.* (2007) ศึกษาเกี่ยวกับการหมักจมูกถั่วเหลืองจากเชื้อแบคทีเรียแลกติก พบว่าการหมักจมูกถั่วเหลืองทำให้โครงสร้างของ ไอโซฟลาโวนชนิด Glucosides ลดลง และชนิด Aglycones เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นถึง 48 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามจมูกถั่วเหลืองหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำจากจมูกถั่วเหลืองโดยมากแล้วจะมีรสขมและฝาด (Okubo *et al.* 1992)

หลังจากการหมักจมูกถั่วเหลืองแล้วพบว่าปริมาณไอโซฟลาโวนชนิด Aglycones มีทั้งหมด ร้อยละ 62.7-75.3 ของปริมาณไอโซฟลาโวนทั้งหมดและปริมาณไอโซฟลาโวนชนิด Malonyl, acetyl และ *B*- glucoside ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีเท่ากับร้อยละ 22, 15 และ 2 ตามลำดับ (Hubert *et al.* 2007)

การสกัดไอโซฟลาโวน

Sang-Moon *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาการสกัดไอโซฟลาโวนจากจมูกถั่ว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ปริมาณ ร้อยละ 80 ของปริมาณถั่วทั้งหมด พบว่าไอโซฟลาโวนที่ได้จะมีมากที่สุดเมื่อทำการสกัดที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และยังมีการศึกษาของผ่องศรี และคณะ (2544) ได้ทำการสกัดไอโซฟลาโวนจากกากถั่วเหลืองด้วยเอทานอล พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดไอโซฟลาโวนมากที่สุดคือ ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 64 ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 110 นาที ซึ่งจะให้ปริมาณไอโซฟลาโวนรวม 62.23 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยยังพบว่า ปริมาณสารมีพิษเช่นโลหะหนักและอัลฟาทอกซินบี 1 อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งขัดแย้งกับ Gustavo *et al.* (2006) ที่ทำการศึกษา ตัวทำละลายต่างกัน คือ เมทานอล เอทานอล และ อะซิโตไนไตรล์ ในการสกัดไอโซฟลาโวนจากแคปซูลจมูกถั่วเหลือง พบว่าเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 และ อะซิโตไนไตรล์ ความเข้มข้นร้อยละ 60 ให้ปริมาณไอโซฟลาโวนรวมมากที่สุด และจากรายงานของ Patricia *et al.* (2002) ที่ได้ทำการศึกษาตัวทำละลายในการสกัดไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลือง โดยใช้อะซิโตไนไตรล์ อะซิโตน เอทานอล และ เมทานอล เป็นตัวทำละลาย พบว่า อะซิโตไนไตรล์ เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดไอโซฟลาโวนจากผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลือง

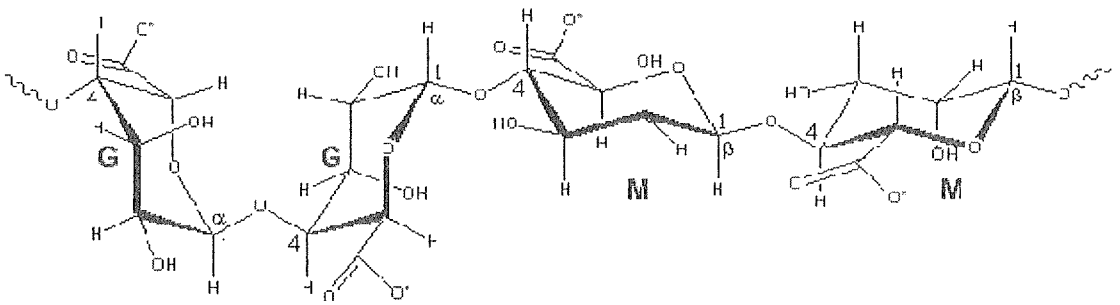
การผลิตไอโซฟลาโวนแบบผง

การผลิตไอโซฟลาโวนแบบผง มีกระบวนการที่เกี่ยวข้อง 2 กระบวนการได้แก่ การเติมสารช่วยยึดเกาะ (Binding agent) เพื่อเพิ่มสัดส่วนของแข็ง และการทำให้แห้ง (Drying)

1. การเติมสารช่วยยึดเกาะ (Binding agent)

การเติมสารช่วยยึดเกาะมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มส่วนของแข็งในผลิตภัณฑ์ และในการทดลองนี้เลือกใช้โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) เป็นสารช่วยยึดเกาะเนื่องจากมีรายงานการวิจัยของ Kao and Chen (2007) ได้รายงานว่า การใช้โซเดียมอัลจิเนต ร้อยละ 1 ในการทำแห้งแบบเยือกแข็งจะทำให้ได้ปริมาณไอโซฟลาโวนผงมากกว่าการทำแห้งด้วยตู้อบสุญญากาศ และเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย

ซึ่งโซเดียมอัลจิเนต คือ โพลีเมอร์ธรรมชาติชนิดหนึ่งที่ได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล Laminalia ผลิตได้โดยทำการสกัดกรดอัลจินิกออกจากสาหร่ายสีน้ำตาล และทำการสะเทินด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต โซเดียมอัลจิเนตมีส่วนประกอบหลักเป็นเกลือโซเดียมของกรดอัลจินิกซึ่งเป็นกรดโพลียูโรนิก (polyuronic) ประกอบด้วย α-l-gluronate และ β-D-manuronate ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของอัลจิเนต

(ที่มา http://openwetware.org/wiki/IGEM:IMPERIAL/2009/Encapsulation/Phase2/Alginate_Properties **)**

โดยลักษณะภายนอกเป็นผงสีขาวถึงเหลืองน้ำตาล ไม่มีกลิ่นและรสชาติ เมื่อละลายน้ำจะให้ประจุลบภายในโมเลกุล สารละลายโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 1 ในน้ำจะมี ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.2 โดยโซเดียมอัลจิเนตจะไม่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 5 อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม ส่วนผสมของเอทานอลและน้ำ (เอทานอลมากกว่าร้อยละ 30) ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ และสารละลายกรดในน้ำที่มี ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่า 3 ซึ่งจะละลายอย่างช้าๆในน้ำ โซเดียมอัลจิเนตไม่เข้ากันกับอนุพันธ์ของ acridine, crystal violet, phenylmercunic acetate และ nitrate, calcium salt, heavy metals โดยสารอิเลคโตรไลท์ที่มีความเข้มข้นต่ำจะทำให้ความหนืดของ

โซเดียมอัลจิเนตเพิ่มขึ้น ส่วนอิเลคโตรไลท์ที่มีความเข้มข้นสูงทำให้เกิด salting out ของโซเดียมอัลจิเนต สารละลายโซเดียมอัลจิเนต ในน้ำมีความหนืดแตกต่างกันขึ้นกับเกรดของวัตถุดิบ ความเข้มข้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิหรือการมีไอออนของโลหะอยู่ในระบบความหนืดจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง มากกว่า 10 โดยทั่วไปความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต ร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีความหนืดอยู่ในช่วง 20-400 มิลลิปาสคาล สารละลายในน้ำจะคงตัวมากที่สุดเมื่ออยู่ใน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 4-10 และเมื่อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 3 จะทำให้เกิดการตกตะกอนได้ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 2 ปีจะมีความหนืดลดลงร้อยละ 60-80 ของค่าความหนืดตั้งต้น สารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ข้นหนืดเรียกว่ามิวซิเลจ (mucilage) ซึ่งสามารถเตรียมมิวซิเลจได้โดยการนำโซเดียมอัลจิเนตมาละลายในน้ำแต่ห้ามนำมาละลายทันทีเพราะจะจับกันเป็นก้อน วิธีป้องกันให้เติมสารช่วยกระจายโซเดียมอัลจิเนต ได้แก่ แอลกอฮอล์ กลีเซอรอล หรือโพรไพลีนไกลคอล อย่างใดอย่างหนึ่งในปริมาณร้อยละ 2-4 หรือใช้เครื่องมือกวนน้ำแล้วโปรยโซเดียมอัลจิเนตทีละน้อย การให้ความร้อนเล็กน้อยจะช่วยให้เป็นมิวซิเลจเร็วขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิเกิน 70 องศาเซลเซียส โซเดียมอัลจิเนตจะเสียคุณลักษณะเดิมและความหนืดลดลงด้วย มิวซิเลจของโซเดียมอัลจิเนต จะมีความหนืดมากที่สุดหลังการเตรียมประมาณ 1 ชั่วโมง จนถึง 24 ชั่วโมงความหนืดจะลดลงจนคงที่ โดยความหนืดจะมากที่สุดที่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7 และความหนืดจะลดลงเมื่อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4 และ 10

และข้อดีของโซเดียมอัลจิเนต คือสามารถเข้ากันได้ดีกับสิ่งมีชีวิต สลายตัวได้โดยกระบวนการทางชีวภาพในสิ่งมีชีวิต มีคุณสมบัติยึดติด และไม่เป็นพิษต่อร่างกาย (Smidrod and Skjak, 1990) ซึ่งปัจจุบันองค์การอนามัยโลกยังไม่ได้กำหนดค่าปริมาณการบริโภคโซเดียมอัลจิเนตที่แน่นอน ต่อวัน ดังนั้นโซเดียมอัลจิเนต จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในระบบนำส่งยารูปแบบต่างๆ ร่วมกับไคโตซานในทางเภสัชกรรม

2. การทำแห้ง (Drying)

ในปัจจุบันกระบวนการการทำแห้งมีหลายวิธี เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) การทำแห้งในตู้อบสุญญากาศ (Vacuum drying) และการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying) เป็นต้น แต่ในการวิจัยนี้เลือกการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความคงตัวสูงและยังคงรักษาคุณค่าทางอาหารไว้ได้เป็นอย่างดี

เทคโนโลยีการทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นการรักษาสภาพของสารที่เปียกหรือสารละลายในน้ำโดยผลิตภัณฑ์จะผ่านกระบวนการทำเยือกแข็ง และอยู่ในบรรยากาศที่มีความชื้นต่ำ เกิดสภาวะ

น้ำแข็งระเหิดซึ่งเป็นการเปลี่ยนจากสภาวะของแข็งเป็นสภาวะก๊าซ โดยไม่มีการละลาย และหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และจากเอนไซม์ ซึ่งมักจะรวมกับวิธีการทำแห้งโดยวิธีอื่น มีการทำให้มีความชื้นต่ำ และเป็นการดูดบรรยากาศออกไปเพื่อให้มีสภาวะเป็นสุญญากาศ

การทำแห้งแบบเยือกแข็งนิยมใช้กับผลิตภัณฑ์ประเภท Biological substances หรือผลิตภัณฑ์ยาบางชนิด ซึ่งผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ไม่สามารถทนต่อความร้อนสูง ที่ใช้กันในวิธีทำแห้งแบบทั่ว ๆ ไปได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยการทำแห้งแบบเยือกแข็งนั้นมีคุณสมบัติของสารที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด สามารถคงตัวอยู่ได้นาน ณ อุณหภูมิห้อง และข้อดีที่สำคัญคือสามารถนำกลับมาละลายน้ำ (Reconstitute) ได้ดี

กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถเกิดขึ้นใน 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้ (วิไล, 2546)

ขั้นตอนการแช่แข็ง (Freeze stage) คือการทำให้น้ำในผลิตภัณฑ์แข็งตัวโดยการนำผลิตภัณฑ์มาแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของสารละลายในผลิตภัณฑ์นั้น จนทำให้องค์ประกอบทุกอย่างที่สามารถแข็งตัวได้ในผลิตภัณฑ์เกิดการแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

ขั้นตอนการระเหิด (Primary drying stage) การระเหิดส่วนของสารละลายที่แข็งตัวออกจากผลิตภัณฑ์โดยการลดความดันรอบๆชิ้นผลิตภัณฑ์ให้ต่ำลงจนน้ำแข็งเกิดการระเหิดกลายเป็นไออย่างต่อเนื่อง

ขั้นตอนการระเหย (Secondary drying stage) คือการระเหยเอาสารละลายเข้มข้นที่ไม่แข็งตัวในผลิตภัณฑ์ออก ซึ่งต้องมีการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย

จากหลักการดังกล่าวสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งได้ โดยนำผลิตภัณฑ์มาแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของสารละลายในผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ไปไว้ในสภาวะที่มีความดันต่ำ น้ำแข็งในเนื้อผลิตภัณฑ์จะเกิดการระเหิดอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งน้ำที่เป็นน้ำแข็งถูกถ่ายเทออกไป ทำให้ผลิตภัณฑ์แห้ง การระเหิดของน้ำแข็ง จะต้องใช้ความร้อนจำนวนหนึ่งที่เรียกว่า ความร้อนในการระเหิด (Heat of sublimation) น้ำในผลิตภัณฑ์จะระเหิดออกไปโดยไม่กลายเป็นของเหลวทำให้การเคลื่อนที่ของสารละลายต่างๆในผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นได้น้อย โครงสร้างของผลิตภัณฑ์จะยังคงรูปเดิมโดยไม่มีการหดตัว การที่อุณหภูมิต่ำ ความดันต่ำร่วมกับการที่ไม่มีน้ำที่เป็นของเหลวและออกซิเจนจะทำให้เกิดรูพรุนเริ่มต้นและรูพรุนนั้นจะมีความคงที่ในตัวผลิตภัณฑ์นั้นๆ ระหว่างการทำแห้ง (Fellow, 2000) ซึ่งปัจจัยต่างๆเหล่านี้จะช่วยลดการเสียสภาพเนื่องจากความร้อนและการใช้สารเคมี รวมทั้งยังสามารถเก็บรักษากลิ่น สี รสชาติและคุณค่าทางอาหารได้ดี

ข้อดีของเทคโนโลยีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

1. ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดี เนื่องจากการแช่แข็งทำให้ปฏิกิริยาทางเคมีเกิดช้าลง และกระบวนการเกิดภายใต้สุญญากาศ ทำให้ไม่มีออกซิเจน ที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมทั้งกระบวนการใช้อุณหภูมิที่ต่ำมาก ทำให้ปฏิกิริยาของเอนไซม์และแบคทีเรียไม่สามารถเกิดได้ โดยต่างจากการทำให้แห้งโดยวิธีอื่น ซึ่งทำให้เกิดอุณหภูมิที่สูง ออกซิเจน การระเหย และน้ำ ทำให้เกิดการสลายตัว และสูญเสียสารประกอบสำคัญ

2. รักษาสภาวะของผลิตภัณฑ์ให้คงสภาพเดิม ในส่วนของ สี รูปร่าง ขนาด รส พื้นผิว และสารสำคัญใน ยา สมุนไพร และอาหาร

3. ลดความเสี่ยงของ การปนเปื้อนจากแบคทีเรีย โดย ส่วนมากพบในสมุนไพร ซึ่งกระบวนการการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จะได้ผลิตภัณฑ์ที่สะอาดกว่าการทำให้แห้งในสภาวะปกติ

4. ทำให้น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ลดลงร้อยละ 70 -90 โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาตร ทำให้ประหยัด และสะดวกในการขนส่งผลิตภัณฑ์

5. สามารถนำมาใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น ยาจำพวกเปปไทด์ หรือ โปรตีน โดยจะเสื่อมสลายจากความร้อน หรือเมื่ออยู่ในรูปสารละลายในน้ำ จึงใช้วิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งทำให้อยู่ในรูปผงแห้งซึ่งมีความคงตัวที่ดีกว่า

ดังนั้นการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งจึงเป็นกระบวนการทำให้แห้งที่ดีมากสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีความไวต่อความร้อน อย่างไรก็ตามเนื่องจากต้นทุนในการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งค่อนข้างสูง ดังนั้นการนำกระบวนการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งนี้ไปประยุกต์ใช้จะถูกจำกัดในผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง ได้แก่ ยาผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ และอาหารที่มีคุณภาพ (Song et al. 2005)

ข้อเสียของเทคโนโลยีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Schwartzberg, 2009)

1. การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีราคาสูงกว่าการทำแห้งแบบอื่น
2. ผลิตภัณฑ์จะถูกแปรสภาพโดยการแช่แข็งก่อนที่จะทำแห้ง
3. ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีแนวโน้มที่จะดูดความชื้นเร็วนอกจากจะเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำ
4. ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีคุณสมบัติค่อนข้างเปราะ
5. ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมักจะมีสีซีดลงภายหลังการเก็บรักษา