บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 1

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 1 ดังตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญและให้ผลสอดคล้องกับการรายงานของ Lim และคณะ (1990) พบว่าถั่วเหลืองมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า อยู่ในช่วงร้อยละ 6.6-11.0, 36.9-45.1, 14.5-19.1, 32.5-39.4, และ 5.0-5.8 ตามลำดับ และการศึกษาของประเทืองศรี สินชัยศรี และ วิมลศรี เทวผลิน (2523) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองที่สำคัญ คือ ความชื้นร้อยละ 6.92 โปรตีนร้อยละ 42.58 ไขมันร้อยละ 20.07 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 25.00 เส้นใยร้อยละ 1.31 และเถ้าร้อยละ 4.12 Shih และคณะ (2002) กล่าวว่าปริมาณโปรตีน ไขมันและเถ้าของถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้งอยู่ในช่วง 40.64-45.70, 21.28-21.76 และ 4.72-4.88 ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองที่แตกต่างกันมีผลมาจากสถานที่เพาะปลูก และฤดูกาล (Liu, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าถั่วเหลืองที่มีปริมาณโปรตีนสูงจะสามารถผลิตเต้าหู้ที่มีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นตามไปด้วย (Wang *et al*., 1983; Lim *et al*., 1990; Schaefer and Love, 1992; Cai *et al*., 1997) Wilson และคณะ (1988 อ้างโดย Liu, 1997) พบว่าความแตกต่างของอัตราส่วนระหว่างโปรตีน 11S (ไกลซินิน) และ 7S (เบต้า-คอนไกลซินิน) ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัสของเต้าหู้ โดย Murphy และ Resurreccion (1984) พบว่า สภาวะแวดล้อมในการเพาะปลูกจะส่งผลกระทบต่อปริมาณโปรตีน 11S และ 7S สูงกว่าสายพันธุ์ของถั่วเหลือง Aziadekey และคณะ (2002) พบว่าลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) ของถั่วเหลืองจะได้รับผลกระทบจากสภาวะแวดล้อมในการปลูกซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะทางเนื้อสัมผัสของเต้าหู้ได้

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 1 และน้ำนมถั่วเหลือง

Chemical composition of soybean Chiang-Mai 1 cultivar and soymilk.

Composition	content (%wet basis)*	
	soybean	soymilk
moisture	7.90±0.03	82.41±0.81
protein	43.24±0.34	7.85±0.53
ash	4.81±0.03	1.04±0.17
lipid	18.65±0.10	3.36±0.28
carbohydrate	23.24±0.18	5.27±0.43

*Mean±SD from triplicate determinations.

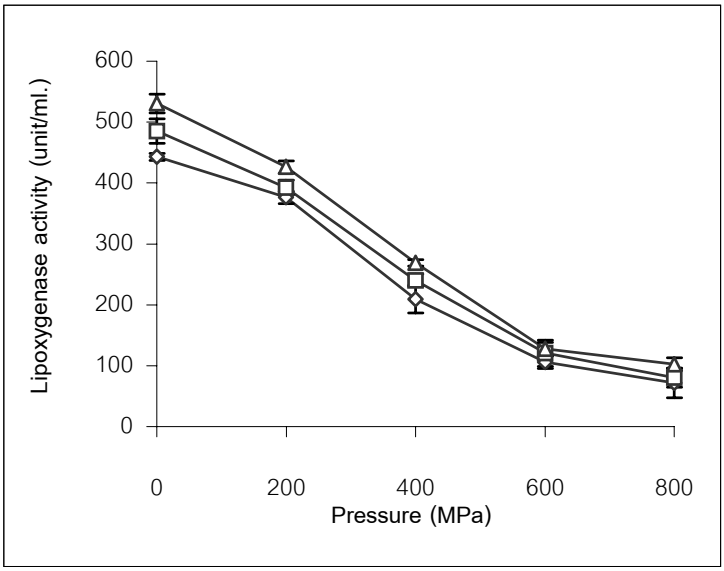
จากการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองตามภาพที่ 5 ในบทที่ 2 พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองมีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณร้อยละ 17 โดยมีปริมาณโปรตีนและไขมันร้อยละ 7.85±0.53 และ 3.36±0.28 โดยน้ำหนักเปียก ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาของ Lim และคณะ (1990) และ Shih และคณะ (2002) พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองมีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ต่อปริมาณโปรตีนและผลผลิต (yield) ของเต้าหู้ Shen และคณะ (1991) ได้ผลิตน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณร้อยละ 9.47 จากถั่วเหลืองสายพันธ์ต่างๆ พบว่าปริมาณโปรตีนและไขมันของน้ำนมถั่วเหลืองอยู่ในช่วง 4.79-5.67 และ 1.42-1.989 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนมถั่วเหลืองมีค่าประมาณ 6.62±0.07 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนมถั่วเหลืองจากการทดลองของ Shen และคณะ (1991) คืออยู่ในช่วง 6.49-6.57 นอกจากนี้ Lim และคณะ (1990) กล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างมีผลต่อความสามารถในการตกตะกอนและค่าความเข้มประจุ (ionic strength) โดยค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับตกตะกอนโปรตีน 7S และ 11S ซึ่งเป็นโปรตีนส่วนใหญ่ของโปรตีนถั่วเหลืองจะอยู่ในช่วง 6.2-6.4 (Liu, 1997) นอกจากนี้ Khatib และคณะ (2002) พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณโปรตีน ความหนืด และค่าความเป็นกรดด่างจะสามารถผลิตเป็นเต้าหู้ที่มีปริมาณโปรตีน ผลผลิต และความสามารถในการอุ้มน้ำของเต้าหู้สูงขึ้นด้วย

2. ผลของความดัน หรือความร้อนร่วมกับความดันต่อองค์ประกอบและคุณสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง

- การใช้ความดันหรือความร้อนร่วมกับความดัน มีผลต่อองค์ประกอบและคุณสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง ดังนี้

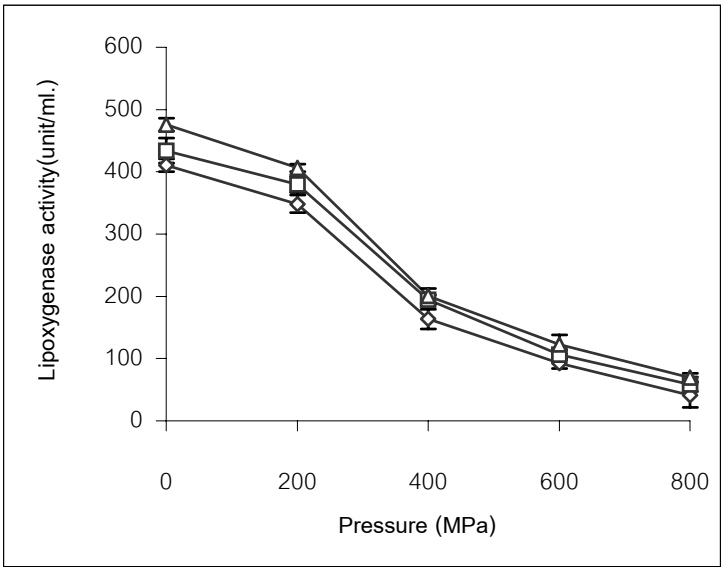
1.1 กิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซิจิเนส

ผลของความดันสูงหรือความดันสูงร่วมกับความร้อนต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสแสดงดังในภาพที่ 7 และ 8 ตามลำดับ พบว่าชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดทุกระดับความเข้มข้นทั้งที่ได้รับและไม่ได้รับความร้อนมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสลดลงเมื่อได้รับความดันสูงกว่า 200 เมกกะปาสคาล ($p<0.05$) และกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในน้ำนมถั่วเหลืองชุดที่ได้รับความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (ภาพที่ 8) มีค่าน้อยกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้รับความร้อน (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดระดับต่างๆ (ร้อยละ -◇- 10, -□- 12, -Δ-14) และผ่านการให้ความดันช่วง 200-800 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที

Lipoxygenase activity of soy milk with different total solid content (-◇- 10%, -□- 12%, -Δ- 14%) pressurized at 200-800 MPa. for 30 min.



ภาพที่ 8 กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสของชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดระดับต่างๆ (ร้อยละ -◇- 10, -□- 12, -Δ-14) ได้รับความร้อน (70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) และความดันช่วง 200-800 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที

Lipoxygenase activity of soy milk with different total solid content (-◇- 10%, -□- 12%, -Δ- 14%) heated (70°C for 30 min) and pressurized at 200-800 MPa. for 30 min.

Tangwongchai และคณะ (2000) พบว่าความดันสูงระดับ 600 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ทำให้เอนไซม์ไลพอกซิจิเนสจากถั่วเหลืองทางการค้าปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่ความเป็นกรดด่าง 8 มีกิจกรรมลดลงร้อยละ 90 และยับยั้งเอนไซม์ในสารละลายทริสบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเป็นกรดด่างระหว่าง 6-9 โดยที่ระดับความดันดังกล่าวหรือการให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ส่งผลทำให้เอนไซม์สูญเสียสภาพแบบไม่ผันกลับ โดยเกิดจากการรวมตัวของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาด้วย Differential scanning calorimetry (DSC) ซึ่งพบว่าที่ความดันระดับ 500 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ทำให้ค่า calorimetric enthalpy (ΔH) ของเอนไซม์ลดลงร้อยละ 40 เนื่องจากความดันมีผลทำให้สูญเสียโครงสร้างโปรตีนระดับทุติยภูมิและตติยภูมิ ซึ่งการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติหรือการคลายตัวส่งผลโดยตรงต่อการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ Ludikhuyze และคณะ (1998)

ศึกษารูปแบบทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้อธิบายการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในถั่วเหลือง โดยการใช้ความดันสูงร่วมกับความร้อน พบว่า การใช้ความร้อนร่วมกับความดันสูงจะช่วยส่งเสริมการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนส และการผ่านความดันสูงหลายครั้ง (multicycle treatment) ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสลดลงได้มากกว่าผ่านการให้ความดันเพียงครั้งเดียว (single-cycle treatment) โดย Indrawati และคณะ (2000) พบว่าเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในถั่วเขียว (green bean) สามารถทนต่อความดันได้ต่ำกว่าในน้ำถั่วเขียว (green bean juice) เช่นเดียวกันกับเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในถั่วลันเตา (green pea) (Indrawati *et al*., 2001) จากรายงานของ Seyderhelm และคณะ (1996) กล่าวว่าเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้รับความดัน 600 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิห้องสามารถถูกยับยั้งกิจกรรมลงอย่างเห็นได้ชัด และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส ที่ความดันระดับเดียวกัน ทำให้เอนไซม์ไลพอกซิจิเนสในสารละลายทริสบัฟเฟอร์ถูกยับยั้งกิจกรรมอย่างสมบูรณ์ ขณะที่จากผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ได้รับความร้อน 70 องศาเซลเซียส 30 นาที พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสอยู่อาจเนื่องมาจากในระบบของอาหารมีองค์ประกอบที่สามารถป้องกันผลของความดันสูงและความร้อน เช่นน้ำตาลซูโครสสามารถป้องกันเอนไซม์เพคตินเอสเทอเรส (pectinesterase) จากความดันได้

2.2 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส

จากตารางที่ 5 แสดงค่าคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส รสขม ความฝาด และความหยาบของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมด สภาวะการให้ความร้อน และระดับความดันไม่มีผลต่อกลิ่นรสถั่ว แต่มีผลเล็กน้อยต่อความฝาด ความขม และความหยาบ เต้าหู้อ่อนทุกชุดการทดลองมีค่ากลิ่นรสถั่ว ความฝาด และความขมสูงกว่าเต้าหู้อ่อนทางการค้า อาจมีสาเหตุมาจากกระบวนการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองที่แตกต่างกันระหว่างเต้าหู้อ่อนทางการค้ากับเต้าหู้อ่อนที่ใช้ในการทดลอง โดยการเตรียมเต้าหู้อ่อนทางการค้ามักจะใช้อุณหภูมิสูง (100 องศาเซลเซียส) ในขั้นตอนการแช่ถั่วและการบด (Nelson *et al.,* 1977 อ้างโดย Priepke *et al.,* 1980) ขณะที่ความหยาบมีค่าต่ำกว่าเต้าหู้อ่อนทางการค้า Arai และคณะ (1996 อ้างโดย Kwok and Niranjan, 1995) พบว่าแป้งถั่วเหลืองพร่องไขมันประกอบด้วยกรดฟีโนลิกที่มีสารประกอบไอโซฟลาโวน (isoflavone) เป็นองค์ประกอบหลักซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความขมและความฝาด (bitter and astringen after-taste) สารประกอบไอโซฟลาโวนประกอบด้วยองค์ประกอบหลักๆ คือ สารประกอบกลูโคไซด์ (glucoside) ร้อยละ 99 ส่วนที่เหลือเป็นสารประกอบ

อะกลูโตน (aglutone) โดยสารประกอบกลูโคไซด์ที่มีอยู่ในถั่วเหลือง คือ สารไดอะซิน (daidzin) และจีนิสทิน (genistin) (Naim *et al.,* 1974 อ้างโดย Kwok and Niranjan, 1995) Kajiyama และคณะ (1995) ศึกษารสขมในน้ำนมถั่วเหลืองเกิดจากสารประกอบซาโปนิน (saponin) ซึ่งจากการวิเคราะห์โดยวิธี Thin layer chromatography (TLC) พบว่าหลังจากให้ความดันปริมาณซาโปนินอิสระลดลงอย่างมาก เนื่องจากสารประกอบซาโปนินถูกกักไว้ในบริเวณไฮโดรโฟบิก (hydrophobic region) ที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเหลืองที่สูญเสียสภาพตามธรรมชาติจากความดันสูง ทำให้สารประกอบซาโปนินไม่อยู่ในรูปอิสระอีกต่อไป จากรายงานของ Ludikhuyze และคณะ (1998) พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเมื่อได้รับความดันสูงกว่า 100 เมกกะปาสคาล ทำให้สารที่ก่อให้เกิดกลิ่นรสถั่ว คือ เอ็น-เฮกซานาล และสารประกอบที่ให้กลิ่นรสทั้งหมด (total flavor component) รวมทั้งเอ็น-เฮกซานอลลดลงโดยที่ความดันสูงกว่า 300 เมกกะปาสคาล จะลดลงอย่างมากเนื่องจากผลของความดันสูงทำให้สารที่ให้กลิ่นรสเหล่านี้จะยึดติดแน่นกับโปรตีนถั่วเหลืองด้วยพันธะไฮโดรโฟบิก ทำให้ไม่สามารถเกิดเป็นกลิ่นรสที่ไม่ต้องการออกมาได้ แต่จากการทดลองจะเห็นว่าค่ากลิ่นรสถั่วยังมีค่าสูงแม้ว่าผ่านการให้ความดันสูงถึง 800 เมกกะปาสคาล ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ความดันหรือความร้อนในสภาวะดังกล่าวยังไม่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสอย่างสมบูรณ์ (ดังภาพที่ 7 และ 8) ทำให้เอนไซม์สามารถทำปฏิกิริยากับไขมันในน้ำนมถั่วเหลือง (ปริมาณร้อยละ 3.36 ดังตารางที่ 4) ส่งผลให้เกิดสารประกอบที่ให้กลิ่นรสถั่ว โดย Kajiyama และคณะ (1995) พบว่าองค์ประกอบหลักของกลิ่นรสถั่วในน้ำนมถั่วเหลืองประกอบด้วยสารประกอบที่ระเหยได้ คือ n-hexanol, n-hexanal และ n-heptanol ซึ่งเกิดจากการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ไลพอกซิจิเนส กิจกรรมของเอนไซม์มีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาของกรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ไม่อิ่มตัวที่ประกอบด้วยหน่วยซิส, ซิส เพนตะ-1,4-ไดอีน (cis, cis penta-1,4 – diene, -CH=CH-CH_2-CH=CH-) ได้เป็นสารประกอบพวกคาร์บอนิล ซึ่งเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น อะซิทาลดีไฮด์ อะซิโตน เอ็น-เฮ็กซานอล (n-hexanol) รวมทั้ง กรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acid) เอมีน แอลกอฮอล์ ฟูราน (furans) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกลิ่นถั่ว (beany odor) ในถั่วเหลือง (Sessa and Rackis, 1997) โดยองค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสในน้ำนมถั่วเหลืองประกอบด้วย hexanal ปริมาณร้อยละ 25 ขององค์ประกอบสารให้กลิ่นรสที่ได้จากน้ำนมถั่วเหลือง ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ hexanol, 2-hexanal, ethyl vinyl ketone และ 2-pentyl-furan ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะเป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นหญ้า (grassy odor) และกลิ่นถั่ว (beany odor) (Wilkens and Lin, 1970 อ้างโดย Wolf, 1975) นอกจากนี้ Arai และคณะ (1970 อ้างโดย Wolf, 1975) และ Gremli (1974 อ้างโดย Wolf, 1975) พบว่าในโปรตีนถั่วเหลืองประกอบด้วยสาร

ประกอบที่ระเหยได้ คือ เฮกซานาล สารประกอบอัลดีไฮด์ และคีโตน นอกจากนี้ในโปรตีนถั่วเหลืองที่สูญเสียสภาพทางธรรมชาติจะพบสารประกอบเฮกซานาลและเฮกซานอล

ตารางที่ 5 คะแนนคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของเต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12 และ 14 ผ่านหรือไม่ผ่านความร้อน (70 องศาเซลเซียส, 30 นาที) แล้วให้ความดันระดับต่างๆ (600 และ 800 เมกกะปาสคาล, 30 นาที)
Sensory scores of soft tofus containing different total solid contents (12, 14%) with and with out heating (70 °C, 30 min) prior to pressurization (600 and 800 MPa, 30 min).

total solid (%)	thermal condition	pressure levels (MPa)	beany flavor	bitterness	astringent	coarse
12	heat	800	6.71^{b}	6.36^{c}	6.66^{b}	1.49^{a}
14	heat	600	5.71^{b}	5.90^{bc}	6.03^{b}	2.19^{ab}
14	non heat	800	5.22^{b}	5.85^{b}	5.31^{b}	2.72^{ab}
14	heat	800	5.11^{b}	4.45^{b}	4.87^{b}	2.72^{ab}
commercial tofu			1.55^{a}	0.93^{a}	1.52^{a}	3.33^{b}

Values with different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

2.3 คุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส

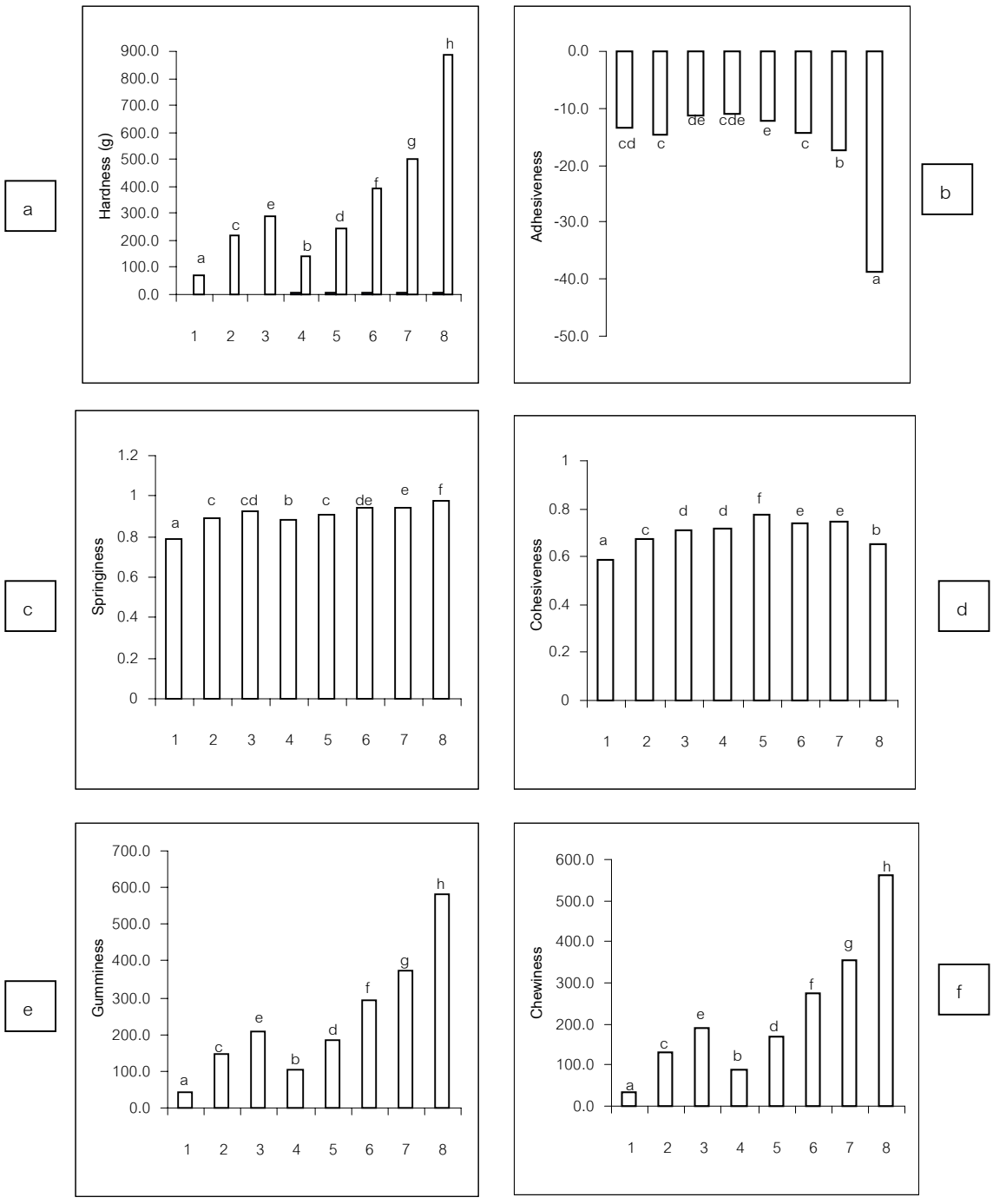
จากการทดลองพบว่ามีตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่ไม่สามารถเกิดเป็นเคิร์ดที่คงรูปร่างได้ ได้แก่น้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 10 ทุกชุดการทดลอง น้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12 ในชุดการทดลองไม่ผ่านความร้อน และให้ความดันต่ำกว่า 800 เมกกะปาสคาล และชุดการทดลองที่ผ่านความร้อน ที่ความดันระดับต่ำกว่า 600 เมกกะปาสคาล รวมทั้งน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ชุดที่ผ่านและไม่ผ่านความร้อน ความดันต่ำกว่า 600 เมกกะปาสคาล การใช้ความดันสูงเหนี่ยวนำให้เกิดเจลโปรตีนถั่วเหลืองจะต้องมีความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 20 โดยที่ความเข้มข้นต่ำกว่าจะไม่สามารถเกิด

เจลที่คงรูปได้ (Okamoto *et al*., 1990) ส่วนการเกิดเจลโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความร้อนโดยทั่วไปจะต้องมีความเข้มข้นของโปรตีนถั่วเหลืองตั้งแต่ร้อยละ 10 สำหรับโปรตีน 7S ร้อยละ 8 และสำหรับโปรตีน 11S ร้อยละ 3.75 (Nakamura *et al*., 1986, Utsumi and Mori, 1986 อ้างโดย Molina *et al*., 2002) นอกจากนี้ Molina และ Ledward (2003) รายงานว่าการใช้ความดันร่วมกับความร้อนสามารถทำให้เกิดเจลโปรตีนถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่ำ (ร้อยละ 12 ที่ความเป็นกรดด่าง 6.8) โดยเมื่อให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และให้ความดันในช่วง 300-700 เมกกะปาสคาล นาน 15 นาที จะทำให้โปรตีน 11S เกิดเจลที่คงรูปได้เพียงชนิดเดียว ขณะที่เมื่อให้ความดันก่อนการให้ความร้อนจะทำให้โปรตีน 7S 11S และโปรตีนถั่วเข้มข้นเกิดเป็นเจลได้ ดังนั้นตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลองนี้มีปริมาณของแข็งต่ำกล่าวคือ ที่ระดับร้อยละ 10 จะมีปริมาณโปรตีนประมาณร้อยละ 4.6 จึงมีความเข้มข้นของโปรตีนไม่เพียงพอกับการเกิดเจลที่คงรูปร่างได้ นอกจากนี้ Kajiyama และคณะ (1995) รายงานว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่มีโปรตีนร้อยละ 5 จะเปลี่ยนจากของเหลวเป็นโซลหลังจากให้ความดัน 500 เมกกะปาสคาล เป็นเวลานาน 30 นาทีขึ้นไป ในการเกิดเจลโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความดันสูงเกิดจากโปรตีน 7S และ 11S ซึ่งเป็นโปรตีนหลักของถั่วเหลือง (ประมาณร้อยละ 65-80 ของน้ำหนักเมล็ดแห้ง) มีความคงทนต่อความดันสูงแตกต่างกัน โดยโปรตีน 7S สามารถเสียสภาพเมื่อได้รับความดันสูงกว่า 200 เมกกะปาสคาล เป็นเวลา 15 นาที (Molina *et al*., 2001) ขณะที่โปรตีน 11S จะเสียสภาพเมื่อให้ความดันสูงกว่า 400 เมกกะปาสคาล นาน 15 นาที ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีน 7S เป็นไตรเมอร์ (trimer) หน่วยย่อยจับตัวกันด้วยพันธะไฮโดรโฟบิกซึ่งมีความว่องไวต่อความดันสูง ส่วนโปรตีน 11S ประกอบด้วย 2 เฮกซะเมอร์ (12 หน่วยย่อย) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ทำให้ต้องใช้ความดันสูงเพียงพอ (มากกว่า 400 เมกกะปาสคาล) จึงจะสามารถรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ นำไปสู่การเสียสภาพของโปรตีน (Molina *et al*., 2002) ดังนั้นการใช้ความดันระดับต่ำ (200-400 เมกกะปาสคาล) มีผลทำให้โปรตีน 7S เสียสภาพเพียงอย่างเดียว จึงไม่สามารถเหนี่ยวนำให้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้นต่ำเกิดเป็นเจลได้

จากภาพที่ 9 พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความดันและปริมาณของแข็งทั้งหมดค่าความแข็ง (hardness) ค่าความยืดหยุ่น (springness) ค่าความยึดเกาะ (cohesiveness) ค่าความหยุ่นตัว (gumminess) และ ค่าคงทนต่อการบดเคี้ยว (chewiness) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ขณะที่ค่าการยึดติด (adhesiveness) มีค่าเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าลักษณะเนื้อสัมผัสเกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีนสูงเพียงพอต่อการนำไปสู่การสร้างโครงข่ายร่างแห 3 มิติ (Apichartsrangkoom, 1998) ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับรายงานของ Molina และคณะ

(2002) พบว่าเมื่อความดันเพิ่มขึ้น (300-700 เมกกะปาสคาล, 15 นาที) จะส่งผลให้ค่าความแข็งของเจลโปรตีน 7S 11S และโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้นสูงขึ้นขณะที่มีผลเล็กน้อยต่อค่าความยืดหยุ่นและค่าความยึดเกาะ

ชุดการทดลองที่ได้รับความร้อน (70 องศาเซลเซียส, 30 นาที) แล้วให้ความดันจะมีค่าของคุณลักษณะเนื้อสัมผัสสูงกว่าชุดที่ได้รับความดันเพียงอย่างเดียว เนื่องจากความดันสูงและความร้อนส่งเสริมให้เกิดการรวมตัวอย่างหนาแน่นของโครงสร้างโปรตีน (Apichartsrangkoon, 1998) และให้ผลเช่นเดียวกันกับรายงานของ Molina และ Ledward (2003) พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที ก่อนให้ความดันสูง (300-700 เมกกะปาสคาล, 15 นาที) ทำให้เจลโปรตีน 11S มีความแข็งสูงกว่าการให้ความดันหรือความร้อนเพียงอย่างเดียว ขณะที่โปรตีน 7S และโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้นไม่สามารถเกิดเจลที่คงรูปร่างได้ นอกจากนี้ทุกชุดการทดลองมีค่าความแข็ง ค่าการยึดติด ค่าความยืดหยุ่น และค่าคงทนต่อการบดเคี้ยว ต่ำกว่าเต้าหู้อ่อนทางการค้า ขณะที่ตัวอย่างที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 และให้ความดันที่ 600-800 เมกกะปาสคาล มีค่าความยึดเกาะสูงกว่าเต้าหู้อ่อนทางการค้า แสดงให้เห็นว่าเจลของเต้าหู้ที่เหนี่ยวนำด้วยความดันสูงมีความสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างก่อนการแตกสลายของโครงสร้างเจลได้ดีกว่าเต้าหู้ที่ผลิตโดยความร้อนและชุดการทดลองที่มีคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับเต้าหู้อ่อนทางการค้ามากที่สุดคือ ชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ผ่านความร้อนแล้วให้ความดันที่ 800 เมกกะปาสคาล



ภาพที่ 9 ค่าคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส [ความแข็ง (a); ความยึดติด (b); ความยืดหยุ่น (c); ความยึดเกาะ (d); ความหยุ่นตัว (e); ความคงทนต่อการบดเคี้ยว (f)] ของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ดังนี้ 12%TS/nonheat/800MPa (1); 12%TS/heat/600MPa (2); 12%TS/heat/800MPa (3); 14%TS/nonheat/600MPa (4); 14%TS/nonheat/800MPa (5); 14%TS/heat/600MPa (6); 14%TS/heat/800MPa (7); เต้าหู้อ่อนทางการค้า (8) ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 3 ระดับ (ร้อยละ 10, 12, 14) ผ่านการให้และไม่ให้ความร้อน แล้วให้ความดันระดับต่างๆ

Texture Profile Analysis [hardness (a); adhesiveness (b); springiness (c); cohesiveness (d); gumminess (e); chewiness (f)] of soft tofu with various treatments [12%TS/nonheat/800MPa (1); 12%TS/heat/600MPa (2); 12%TS/heat/800MPa (3); 14%TS/nonheat/600MPa (4); 14%TS/nonheat/800MPa (5); 4%TS/heat/600MPa (6); 14%TS/heat/800MPa (7); commercial tofu. (8)] made of various total solid (10, 12, 14%), with and without heating prior to pressurization. Bars with different letters are significantly different ($p<0.05$).

2.4 ค่าสี

การตรวจสอบค่าสีใช้ระบบ CIE L* a* b* โดยที่ค่า L* แสดงถึง ความสว่าง (lightness) ค่า a* แสดงค่าสี (hue) บนแกนสีระหว่างสีเขียว (-) กับสีแดง (+) และค่า b* แสดงค่าสีบนแกนสีระหว่างสีน้ำเงิน (-) กับสีเหลือง (+) (Khatib *et al*., 2001) จากผลการทดลอง พบว่า ค่า L* ลดลง ส่วนค่า a* และ b* เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น และชุดการทดลองที่ผ่านความร้อนจะมีค่า L* ต่ำขณะที่ค่า a* และ b* มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านความร้อน ($p<0.05$) และเมื่อความดันเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า L*เพิ่มส่วนค่า a* และ b* ลดลง ($p<0.05$) ดังตารางที่ 6 ความร้อนมีผลต่อการลดค่า L* และเพิ่มค่า a* และ b* เนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard) ที่เกิดขึ้นในน้ำนมถั่วเหลือง (Mauron, 1981; Narayan *et al.,* 1988)

Van Buren และคณะ (1964) ศึกษาระดับของการเกิดสีน้ำตาลในน้ำนมถั่วเหลือง เพื่อเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพในการประมาณการเสื่อมสลายของโปรตีน (protein damage) ในน้ำนมถั่วเหลือง ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 93 และ 121 องศาเซลเซียส ช่วงเวลาต่างๆกัน และน้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย (soymilk spray-dried) ที่อุณหภูมิต่างๆกัน พบว่าค่า Hunter L มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มเวลาการให้ความร้อน แสดงให้เห็นว่าความร้อนทำให้เกิดสีน้ำตาลในน้ำนมถั่วเหลือง เช่นเดียวกันการศึกษาของ Johnson และคณะ (1981) ซึ่งศึกษาผลของการให้ความร้อนแบบพ่นไอน้ำโดยตรง (direct steam-infusion) ต่อการเกิดสีน้ำตาลโดยปฏิกิริยาทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิช่วง 99-154 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 6.7 และ 9.5 พบว่า การเกิดสีน้ำตาลที่ค่าความเป็นกรดด่าง 9.5 เกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.7 และเมื่ออุณหภูมิในกระบวนการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น มีผลให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลสูงขึ้นด้วย Okamoto และคณะ (1990) ศึกษาการใช้ความดันสูงระดับ 101.33 ถึง 709.28 เมกกะปาสคาล กับสารแขวนลอยโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าเจลโปรตีนถั่วเหลืองที่เกิดจากการได้รับความดันสูงมีลักษณะเป็นมันวาว (glossy) เนื่องจากการสูญเสียสภาพตามธรรมชาติของโปรตีนโดยความดันสูง ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่

ของโมเลกุลน้ำรอบหมู่อะมิโน ส่งผลให้เจลมีความมันวาวและความโปร่งแสง (transparency) สูง เมื่อเปรียบเทียบกับเจลที่เกิดจากความร้อนซึ่งเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดทำให้เกิดเจลที่มีสีเข้มกว่า

ตารางที่ 6 ผลค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็ง 3 ระดับ (ร้อยละ 10, 12, 14) ได้รับหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วให้ความดันระดับต่างๆ

Colorimetric values of soy milk with different various total solid content (10, 12, 14%), with or without heating prior to pressurization.

total solid	pressure level	L*		a*		b*	
(%)	(MPa)	heat	non heat	heat	non heat	heat	non heat
10	0.1	88.47^{g}	88.31^{a}	-1.86^{de}	-2.06^{e}	19.20^{h}	19.00^{h}
	200	88.53^{h}	89.00^{ab}	-2.19^{c}	-2.19^{d}	19.13^{gh}	18.24^{f}
	400	88.55^{h}	89.31^{ab}	-2.35^{b}	-2.33^{c}	19.01^{g}	17.47^{d}
	600	89.66^{k}	89.72^{ab}	-2.42^{ab}	-2.55^{b}	17.73^{d}	17.08^{c}
	800	89.85^{l}	92.70^{b}	-2.43^{a}	-2.73^{a}	17.05^{b}	16.72^{b}
12	0.1	87.74^{e}	88.46^{a}	-1.53^{gh}	-1.90^{f}	21.10^{k}	19.78^{j}
	200	87.62^{d}	88.70^{ab}	-1.90^{d}	-1.95^{e}	20.33^{j}	19.33^{i}
	400	88.19^{f}	89.67^{ab}	-1.91^{d}	-2.01^{e}	19.74^{i}	18.62^{g}
	600	89.50^{j}	89.91^{ab}	-1.91^{d}	-2.02^{e}	18.00^{e}	18.05^{e}
	800	89.84^{l}	90.27^{ab}	-1.92^{d}	-2.02^{f}	17.41^{c}	17.98^{e}
14	0.1	86.82^{a}	87.82^{a}	-1.47^{i}	-1.49^{j}	21.22^{k}	21.10^{k}
	200	87.42^{c}	87.92^{a}	-1.60^{g}	-1.55^{i}	21.42^{l}	19.83^{j}
	400	87.46^{c}	88.28^{a}	-1.78^{f}	-1.60^{h}	20.23^{j}	19.34^{i}
	600	89.18^{i}	89.60^{ab}	-1.82^{ef}	-1.84^{g}	18.41^{f}	18.28^{f}
	800	89.53^{j}	89.73^{ab}	-1.82^{ef}	-1.92^{f}	18.11^{e}	18.01^{e}
commercial tofu		87.15^{b}	87.15^{a}	0.68^{j}	0.68^{k}	15.09^{a}	15.09^{a}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

2.5 การละลายของโปรตีน

จากตารางที่ 7 แสดงค่าการละลายของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริกเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ (S1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริกเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลายยูเรียเข้มข้น 8 โมลาร์ (S2) สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริกเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลายเบต้าเมอร์แคปโตเอทานอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (S3) โดยสารละลายยูเรียมักจะใช้ในการละลายและคลาย (unfold) สายโซ่ของโปรตีน โดยทำให้พันธะไฮโดรโฟบิกและไฮโดรเจนไม่คงตัว ส่วนสารละลายที่มีสารเบต้าเมอร์แคปโตเอทานอลจะสลายพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนที่รวมตัวกัน (aggregate) (Utsumi and Kinsella, 1985a) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากันและได้รับความดันสูงระดับเดียวกัน ค่าการละลายของชุดการทดลองที่ได้รับความดันสูงเพียงอย่างเดียวและชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนตามด้วยความดันสูงมีค่าการละลายของ S3 สูงที่สุด ซึ่งแสดงว่าตัวอย่างมีการยึดเกาะกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์เป็นส่วนใหญ่ รองลงมาเป็นพันธะไฮโดรโฟบิก แต่อย่างไรก็ตามชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนและความดันมีสัดส่วนของพันธะไดซัลไฟด์สูงกว่าชุดการทดลองที่ให้ความดันเพียงอย่างเดียว ส่งผลให้เจลที่ได้มีค่าความแข็งสูงกว่า (ดังภาพที่ 9) ซึ่งมีพันธะไฮโดรโฟบิกเป็นพันธะหลักในโครงสร้างเจล จากรายงานของ Molina และ Leward (2003) พบว่าเจลโปรตีนที่เกิดจากการได้รับความร้อนจะมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์และไฮโดรโฟบิกและเมื่อให้ความดันสูงกับเจลดังกล่าว พันธะไฮโดรโฟบิกจะเกิดการแตกสลายแต่พันธะไดซัลไฟด์ยังคงอยู่ จากนั้นเมื่อปลดปล่อยความดันให้ลดลงจะเกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นก่อนที่พันธะไฮโดรโฟบิกจะกลับมาสร้างพันธะกันอีกครั้ง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของพันธะไฮโดรเจนและพันธะไฮโดรโฟบิกภายในเจลส่งผลให้เกิดคุณลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกับเจลอื่นๆ Molina และคณะ (2002) พบว่าโปรตีน 7S 11S และโปรตีนถั่วเหลือง (SPI) เมื่อได้รับความดันสูงที่สภาวะความเป็นกรดด่างเป็นกลาง จะเกิดการคลายตัว รวมตัวกันและตกตะกอนกลายเป็นเจลโปรตีนที่มีอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุล (molecular interaction) แตกต่างกัน โปรตีน 7S จะคลายตัวได้ง่ายเมื่อได้รับความดันสูง การสูญเสียสภาพทางธรรมชาตินี้นำไปสู่การเกิดเจลโปรตีนที่มีโครงสร้างยึดติดกันด้วยพันธะที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนซ์ ความดันสูงสามารถทำให้โปรตีน 11S สูญเสียสภาพทางธรรมชาติที่ความดันระดับสูงกว่า 400 เมกกะปาสคาล โดยระดับการสูญเสียสภาพจะมากขึ้นเมื่อความดันเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าพันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญในเจลที่เกิดจากความดันสูงซึ่งในโปรตีน 11S มีปริมาณพันธะไดซัลไฟด์อยู่สูงเท่ากับ 26.62$\pm$0.16 ไมโครโมลาร์ต่อกรัม (Yao *et al.*, 1990 อ้างโดย Molina *et*

al., 2002) จากผลการทดลองดังกล่าวเป็นไปได้ว่าโครงสร้างเจลโปรตีน 11S ที่เกิดจากความดันสูงเกิดจากการเปลี่ยนแปลงระหว่างหมู่ซัลฟ์ไฮดริลและพันธะไดซัลไฟด์ (SH/SS interchange) โดยหมู่ซัลฟ์ไฮดริลจะเปิดออกสู่ภายนอกสายโพลีเปปไทด์ในระหว่างการให้ความดันสูง กลายเป็นพันธะไดซัลไฟด์ที่ช่วยทำให้โครงข่ายร่างแหของเจลโปรตีนแข็งแรง เช่นเดียวกับ Kajiyama และคณะ (1995) ซึ่งพบว่าโปรตีนถั่วเหลืองสามารถแยกตัวออกจากกันได้เมื่อได้รับความดันสูง โดยการแยกตัวของโปรตีนส่งผลทำให้เกิดหมู่ซัลฟ์ไฮดริลอิสระเพิ่มขึ้น และบางส่วนของโปรตีนเกิดการแลกเปลี่ยนระหว่างหมู่ซัลฟ์ไฮดริลและพันธะไดซัลไฟด์หรือเกิดการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ขึ้นมาใหม่โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกลายเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น เป็นสาเหตุให้ให้น้ำนมถั่วเหลืองสามารถเปลี่ยนสถานะกลายเป็นโซลได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีน แต่อย่างไรก็ตาม Kajiyama และคณะ (1995) ยังรายงานอีกว่าพันธะไดซัลไฟด์ไม่ได้เป็นพันธะหลักในการเกิดเจลเนื่องจากความดันสูง การที่ความดันสูงขึ้นทำให้โปรตีนถั่วเหลืองเกิดการแยกตัวส่งผลให้ไฮโดรโฟบิกซิตี้เพิ่มสูงขึ้นและสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นพันธะหลักของการเกิดเจลโปรตีนที่แข็งแรงจากความดันสูง และสารตกตะกอนโปรตีนจะช่วยส่งเสริมความแข็งแรงของเจลที่ความเข้มข้นของน้ำนมถั่วเหลืองระดับต่ำ

ตารางที่ 7 ค่าการละลายด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็ง 3 ระดับ (ร้อยละ 10, 12, 14) ได้รับหรือไม่ได้รับความร้อน แล้วให้ความดันระดับต่างๆ

Solubility of protein in soy milk with different various total solid contents (10, 12, 14 %), with or without heating prior to pressurization.

total solid content (%)	pressure (MPa)	Solubility (%)					
		heat+pressure			pressure		
		S1*	S2*	S3*	S1*	S2*	S3*
10	0.1	7.27^{k}	20.08^{a}	24.79^{e}	11.78^{j}	21.59^{a}	11.73^{a}
	200	3.96^{a}	27.48^{e}	23.22^{a}	4.15^{a}	21.71^{b}	15.27^{b}
	400	4.62^{b}	28.09^{f}	23.49^{b}	4.80^{b}	22.15^{c}	15.61^{c}
	600	5.44^{d}	28.44^{g}	24.51^{d}	5.39^{d}	22.29^{d}	16.11^{d}
	800	5.70^{f}	30.01^{h}	25.02^{g}	5.84^{e}	22.68^{g}	16.34^{e}
12	0.1	7.41^{l}	21.42^{b}	26.04^{j}	13.00^{kb}	22.35^{e}	22.06^{m}
	200	4.65^{b}	30.55^{l}	24.30^{c}	4.22^{a}	23.75^{h}	17.27^{f}
	400	4.84^{c}	31.22^{j}	24.91^{f}	4.95^{c}	24.78^{l}	17.28^{f}
	600	5.57^{e}	31.46^{k}	25.37^{h}	5.36^{d}	25.53^{j}	17.49^{g}
	800	6.12^{h}	33.08^{l}	25.69^{i}	6.04^{f}	26.81^{l}	17.90^{h}
14	0.1	8.15^{m}	21.75^{c}	27.53^{l}	13.12^{k}	22.46^{f}	22.30^{n}
	200	5.74^{f}	34.71^{m}	26.63^{k}	5.88^{e}	31.67^{m}	18.50^{l}
	400	5.98^{g}	36.80^{n}	27.75^{m}	6.11^{f}	33.19^{n}	18.96^{j}
	600	6.31^{l}	37.10^{o}	28.17^{n}	6.48^{h}	33.42^{o}	19.20^{k}
	800	6.75^{j}	37.95^{p}	28.46^{o}	6.61^{l}	33.65^{p}	19.43^{l}
commercial tofu		6.26^{i}	25.69^{d}	32.58^{p}	6.26^{g}	25.69^{k}	35.58^{o}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

*S1 = Tris-HCl buffer 30 mM. pH 8.0

*S2 = S1+8 M. urea.

*S3 = S1+0.2 M. 2-mercaptoethanol.

3. ผลของความดันหรือความร้อนร่วมกับชนิดสารตกตะกอนโปรตีนต่อคุณสมบัติของเต้าหู้อ่อน

- ผลของความดันหรือความร้อนร่วมกับการเติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ ต่อคุณสมบัติ ของน้ำนมถั่วเหลือง ดังนี้

3.1 คุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส

จากการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่เติมสารตกตะกอนชนิดต่างๆ แล้วผ่านความร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ไม่เกิดเจลที่คงรูปร่างทุกระดับปริมาณของแข็งทั้งหมด Saio (1979) กล่าวว่าการให้ความร้อนที่ไม่เพียงพอจะทำให้น้ำนมถั่วเหลืองเกิดลักษณะเป็นของไหลคล้ายเจล (paste like gel) เนื่องจากโปรตีนถั่วเหลืองไม่เกิดการแตกตัวเป็นหน่วยย่อย (sub unit) อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นการที่จะเกิดเจลได้โปรตีนถั่วเหลืองจะต้องสูญเสียสภาพทางธรรมชาติเสียก่อน จากการทดลองของ Jacoba และคณะ (2002) พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพ (denaturation temperature, Tp) ของโปรตีน 7S คือ 68 องศาเซลเซียส และโปรตีน 11S คือ 88 องศาเซลเซียส ส่วน Molina และคณะ (2001) พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้โปรตีน 7S และ 11S เกิดการสูญเสียสภาพ เท่ากับ 78.4 องศาเซลเซียส และ 96.9 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แม้ว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองที่ 70 องศาเซลเซียส จะอยู่ในช่วงของการสูญเสียสภาพของโปรตีน 7S ก็ตาม แต่ความเข้มข้นของโปรตีน 7S สำหรับเจลที่เกิดจากความร้อน (heat-induced gel) จะต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 8 (Molina *et al*., 2002) ดังนั้นปริมาณโปรตีนในตัวอย่างที่ทำการทดลองมีปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 8 จึงไม่สามารถเกิดเป็นเจลได้ด้วยความร้อนและเมื่อพิจารณาค่าของคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของเต้าหู้อ่อนทุกชุดการทดลอง พบว่ามีความแตกต่างกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า (ชุดควบคุม) ($p<0.05$) ยกเว้นค่าความยืดเกาะ ชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 และเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนมีค่าของลักษณะด้านเนื้อสัมผัส คือ ค่าความยืดหยุ่น ค่าความยืดเกาะ ค่าคงทนต่อการบดเคี้ยวและค่าความหยุ่นตัวใกล้เคียงกับชุดตัวอย่างทางการค้า โดยสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนเมื่อละลายในน้ำจะให้ประจุโปรตรอนออกมา โปรตีนถั่วเหลืองที่เกิดการสูญเสียสภาพตามธรรมชาติจะมีประจุเป็นลบ จากนั้นเมื่อประจุทั้ง 2 รวมตัวกันทำให้ประจุสุทธิของโมเลกุลโปรตีนมีค่าเท่ากับศูนย์ มีผลทำให้พันธะไฮโดรโฟบิกของโปรตีนเด่นขึ้นมาและนำไปสู่การตกตะกอนโปรตีน (Liu, 1997) ดังที่กล่าวมาแล้วว่าที่ระดับความดันต่ำ (200-400 เมกกะปาสคาล) เป็นระดับที่มีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีน 7S ขณะที่โปรตีน 11S มีการเปลี่ยนแปลงบางส่วน การคลายตัวของโปรตีนถั่วเหลืองบางส่วนทำให้หมู่ที่ทำหน้าที่ได้แก่ หมู่ซัลฟ์ไฮดริลและหมู่ไฮโดรโฟบิกถูกผลักออกมาจากสายโซ่เปปไทด์และสามารถเกิด

ปฏิกิริยาสัมพันธ์กับสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน นำไปสู่การรวมตัวกันและการสร้างโครงข่ายร่างแหของโปรตีนถั่วเหลือง ผลการทดลองที่ได้พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ค่าความแข็ง ค่าความยืดหยุ่น ค่าความหยุ่นตัว และค่าคงทนต่อการบดเคี้ยว (รูปที่10) มีค่าเพิ่มขึ้น อีกทั้งสารตกตะกอนโปรตีนที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณลักษณะดังกล่าวแตกต่างกัน เมื่อเรียงลำดับสารตกตะกอนที่มีผลต่อค่าคุณลักษณะดังกล่าวจากมากไปหาน้อย ดังนี้ แคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมซัลเฟตผสมกับกลูโคโนเดลต้าแลคโตน กลูโคโนเดลต้าแลคโตน และแมกนีเซียมคลอไรด์ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับรายงานของ Hou และคณะ (1997) ศึกษาผลของสารตกตะกอน 2 ชนิด คือ แคลเซียมซัลเฟต และ สารไนการิดัดแปลง (modified nigari) พบว่าเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยสารแคลเซียมซัลเฟตมีค่าความแข็งมากกว่าเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยสารไนการิดัดแปลง (modified nigari) ค่าความแข็งของเต้าหู้อ่อนที่ตกตะกอนโปรตีนด้วยสารตกตะกอนโปรตีนชนิดเดียวกันจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) Lim และคณะ (1990) ได้นำถั่วเหลือง 9 สายพันธุ์มาศึกษาถึงลักษณะของเมล็ดและน้ำนมถั่วเหลืองต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยสารแคลเซียมซัลเฟตพบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับค่าความแข็งของเต้าหู้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shen และคณะ (1991) พบว่าค่าความแข็งของเต้าหู้อ่อน (packed tofu) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองสูงขึ้น

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 และเติมสารแคลเซียมซัลเฟตมีค่าความแข็งสูงที่สุดในระหว่างชุดการทดลองทั้งหมด Saio และคณะ (1979) พบว่าสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนสามารถที่จะแพร่กระจายอยู่ในน้ำนมถั่วเหลืองได้ดีกว่าสารแคลเซียมซัลเฟต โดยมีค่าความแข็งและค่าความยึดเกาะภายในเนื้อเต้าหู้ต่ำกว่า แต่ค่าความเปราะ (fragile) จะสูงกว่าเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยสารแคลเซียมซัลเฟต เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายของโครงสร้างจุลภาค (SEM) พบว่าโครงข่ายร่างแหของเต้าหู้ที่ตกตะกอนโปรตีนด้วยสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนประกอบขึ้นจากการรวมตัวกันของอนุภาคที่มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อน (flocculent aggregates) ขณะที่โครงสร้างของเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยแคลเซียมซัลเฟตมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ เชื่อมต่อกันด้วยโครงข่ายที่แข็งแรง (tight flame) และพบว่าพันธะไดซัลไฟด์มีทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลเต้าหู้ด้วยสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน ขณะที่การเกิดเจลเต้าหู้ด้วยสารประกอบแคลเซียม นอกจากจะเกิดพันธะไดซัลไฟด์แล้ว ยังมีบทบาทของแรงที่เกิดจากแคลเซียม (Ca-bridge) อีกด้วย ส่วนค่าความยึดเกาะ (cohesiveness) ของเต้าหู้อ่อนทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่าความยึดเกาะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อ

ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองมีค่าสูงขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Aziadekey และคณะ (2001) พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับค่าความยึดเกาะ ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) และปริมาณผลผลิตของเต้าหู้อ่อน (Lim *et al.*, 1990) นอกจากนี้ Wang และ Hesseltine (1982) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าความยึดเกาะของเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยสารตกตะกอน 4 ชนิด คือ แคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต และแมกนีเซียมคลอไรด์ ซึ่งอาจเป็นเพราะค่าความยึดเกาะเป็นคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสตามธรรมชาติของโปรตีนในเต้าหู้

ภาพที่ 10 ผลของสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ และความดันต่อค่าคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส [ความแข็ง (a); ความยึดติด (b); ความยืดหยุ่น (c); ความยึดเกาะ (d); ความหยุ่นตัว (e); ความคงทนต่อการบดเคี้ยว (f)] ของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ [10%TS/$MgCl_4$ (1); 10%TS/GDL (2); 10%TS/GDL+$CaSO_4$ (3); 10%TS/ $CaSO_4$ (4); 12%TS/ $MgCl_4$ (5); 12%TS/GDL (6); 12%TS/GDL+ $CaSO_4$ (7); 12%TS/ $CaSO_4$ (8); 14%TS/ $MgCl_4$ (9); 14%TS/GDL (10); 14%TS/GDL+ $CaSO_4$ (11); 14%TS/ $CaSO_4$ (12); เต้าหู้อ่อนทางการค้า (13)]

Effect of coagulants types and pressure treatments on textural characteristics [hardness (a); adhesiveness (b); springiness (c); cohesiveness (d); gumminess (e); chewiness (f)] of soft tofu with various treatments [10%TS/$MgCl_4$ (1); 10%TS/GDL (2); 10%TS/GDL+$CaSO_4$ (3); 10%TS/ $CaSO_4$ (4); 12%TS/ $MgCl_4$ (5); 12%TS/GDL (6); 12%TS/GDL+ $CaSO_4$ (7); 12%TS/ $CaSO_4$ (8);14%TS/ $MgCl_4$ (9); 14%TS/GDL (10); 14%TS/GDL+ $CaSO_4$ (11); 14%TS/ $CaSO_4$ (12); commercial tofu (13).]

Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$).

3.2 คุณสมบัติการละลายของโปรตีน

จากตารางที่ 8 แสดงค่าการละลายของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 3 ระดับ เติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ แล้วผ่านความร้อนหรือความดัน พบว่าค่าการละลายของทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ($p<0.05$) ค่าการละลายของชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนมีค่าการละลายของ S3 สูงที่สุดรองลงมาคือ S2 และ S1 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าพันธะไดซัลไฟด์มีบทบาทสำคัญในการช่วยให้โครงสร้างของเจลเต้าหู้ที่ได้รับความร้อนคงรูปร่างอยู่ได้ (Wolf and Cowan, 1971; Utsumi and Kinsella, 1985a; Utsumi and Kinsella, 1985b) เต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่ให้ความดันมีค่าการละลายเรียงตามลำดับจากสูงไปต่ำดังนี้ S2 S3 และ S1 ตามลำดับ ทำให้ทราบว่าพันธะไฮโดรโฟบิกและพันธะไฮโดรเจนเป็นพันธะหลักในโครงสร้างเจลที่ผ่านการให้ความดันสูงรวมทั้งพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งผลที่ได้ตรงกับรายงานของ Kajiyama และคณะ (1995) กล่าวว่าความดันสูงก่อให้เกิดการแยกตัวของโปรตีนถั่วเหลือง ส่งผลให้เกิดไฮโดรโฟบิกซิตี้เพิ่มมากขึ้น ทำให้พันธะไฮโดรโฟบิกเป็นพันธะหลักในโครงสร้างเจล ซึ่งสอดคล้องกับผลของลักษณะเนื้อสัมผัส (ภาพที่ 10) เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2 ที่พบว่าเจลเต้าหู้อ่อนที่ผ่านการให้ความดันและความร้อนจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสแข็งกว่าเจลเต้าหู้อ่อนที่ผ่านความดันเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 8 ค่าการละลายของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 3 ระดับ (ร้อยละ 10, 12, 14) เติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ แล้วให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือ ความดัน 400 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที

The solubility of protein in different soy milks with different total solid contents (10, 12, 14%) and different coagulants subjected to either heat at 70 °C for 30 min or pressure at 400 MPa for 30 min.

Total Solid (%)	Coagulant	Solubility (%)					
		Heat			Pressure		
		*S1	*S2	*S3	*S1	*S2	*S3
10	$MgCl_2$	5.18^{a}	15.84^{a}	22.30^{a}	6.96^{b}	27.25^{b}	18.35^{a}
	GDL+ $CaSO_4$	10.04^{cde}	31.08^{e}	43.14^{f}	9.52^{f}	51.37^{h}	20.11^{b}
	GDL	9.22^{c}	26.60^{d}	39.62^{e}	7.59^{d}	39.69^{e}	26.01^{d}
	$CaSO_4$	10.18^{de}	38.41^{h}	45.77^{h}	10.09^{g}	56.35^{k}	30.00^{ef}
12	$MgCl_2$	6.51^{b}	16.79^{b}	24.02^{b}	7.51^{c}	27.74^{c}	20.87^{bc}
	GDL+ $CaSO_4$	16.00^{g}	36.30^{g}	46.89^{l}	11.73^{j}	53.12^{i}	30.57^{f}
	GDL	9.47^{cd}	36.12^{f}	43.31^{g}	8.41^{e}	44.27^{f}	29.51^{e}
	$CaSO_4$	19.93^{h}	47.12^{l}	56.14^{l}	14.34^{l}	60.44^{l}	40.03^{l}
14	$MgCl_2$	9.14^{c}	41.35^{l}	30.95^{c}	10.26^{h}	28.77^{d}	21.45^{c}
	GDL+ $CaSO_4$	20.80^{l}	42.86^{k}	50.41^{k}	13.12^{k}	54.22^{j}	43.63^{j}
	GDL	13.11^{f}	42.25^{j}	47.23^{j}	10.73^{l}	48.25^{g}	36.29^{h}
	$CaSO_4$	10.73^{e}	48.37^{m}	58.41^{m}	20.05^{m}	66.46^{m}	46.95^{k}
commercial tofu		6.26^{b}	25.69^{c}	32.58^{d}	6.26^{a}	25.69^{a}	32.58^{g}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

*S1 = Tris-HCl buffer 30 mM. pH 8.0

*S2 = S1+8 M. urea.

*S3 = S1+0.2 M. 2-mercaptoethanol.

3.3 คุณสมบัติค่าสี

จากตารางที่ 9 และ 10 แสดงค่าสีของชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 10 12 และ 14 ได้รับความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และชุดการทดลองที่ได้รับความดันสูงระดับ 400 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที ตามลำดับ พบว่าที่ปริมาณของแข็งระดับเดียวกัน ค่า L* a* และ b* ของชุดการทดลองที่เติมสารตกตะกอนโปรตีนต่างชนิดกันมีค่าแตกต่างกัน ($p<0.05$) จากการทดลองของ Tsai และคณะ (1981) เกี่ยวกับปริมาณผลผลิตและคุณลักษณะด้านคุณภาพของเต้าหู้ที่ใช้สารตกตะกอนโปรตีน 5 ชนิด ได้แก่ แคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมอะซิเตท แคลเซียมกลูโคเนต แคลเซียมคลอไรด์ และกลูโคโนเดลต้าแลคโตน พบว่าสารตกตะกอนโปรตีนมีผลต่อค่าสี แม้ว่าผู้ทดสอบชิมจะไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเต้าหู้ที่เตรียมจากสารตกตะกอนโปรตีนต่างชนิดกันก็ตาม นอกจากนี้ Lu และคณะ (1980) ได้ใช้สารตกตะกอนโปรตีน 9 ชนิด คือ แคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมอะซิเตท แคลเซียมฟอสเฟต แคลเซียมกลูโคเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมแลคเตท และกลูโคโนเดลต้าแลคโตนในการผลิตเต้าหู้ พบว่าเต้าหู้ที่ผลิตจากกรดอะซิติกมีค่า L* สูง และ ค่า a* และ b* ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นเล็กน้อย เมื่อพิจารณาชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นพบว่าค่า L* มีค่าลดลง ส่วนค่า a* และ b* มีค่าเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองมีผลกระทบต่อค่าสีของเต้าหู้เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมถั่วเหลืองปริมาณต่างกัน (Johnson *et al.,* 1981)

เมื่อเปรียบเทียบค่า L* a* และ b* ระหว่างชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนและความดัน พบว่า ค่า L* ของชุดการทดลองที่ได้รับความดันมีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับความร้อน ส่วนค่า a* และ b* ของชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนมีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับความดันเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดในน้ำนมถั่วเหลืองเมื่อได้รับความร้อน (Kwok and Nirinjan, 1995; Hou and Chang, 1998) และผลของความดันสูงที่ทำให้เจลของโปรตีนถั่วเหลืองมีลักษณะเป็นมันวาวและโปร่งแสง (Okamoto *et al*., 1990) ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

ตารางที่ 9 ค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ 10 12 และ14) เติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ แล้วให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส, 30 นาที

Colorimetric values of soymilk with different total solid content (10, 12, 14%) added with various coagulants then heated at 70 ^{0}C, 30 min.

total solid (%)	coagulants	L*	a*	b*
10	Ca_2SO_4	87.96^{k}	-0.14^{a}	19.81^{d}
	GDL	87.77^{i}	-0.05^{bc}	18.76^{b}
	GDL+Ca_2SO_4	87.85^{j}	-0.14^{a}	18.84^{c}
	$MgCl_2$	87.62^{g}	-0.10^{ab}	19.91^{e}
12	Ca_2SO_4	87.66^{h}	0.00^{c}	21.09^{g}
	GDL	87.41^{e}	0.09^{de}	20.43^{f}
	GDL+Ca_2SO_4	87.54^{f}	-0.01^{ef}	20.38^{f}
	$MgCl_2$	87.34^{d}	0.03^{cd}	21.10^{g}
14	Ca_2SO_4	87.40^{e}	0.15^{ef}	21.53^{i}
	GDL	86.98^{a}	0.22^{f}	21.32^{h}
	GDL+Ca_2SO_4	87.14^{c}	0.21^{f}	21.36^{h}
	$MgCl_2$	87.10^{b}	0.15^{e}	21.70^{j}
commercial tofu		87.15^{c}	0.68^{g}	15.09^{a}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

ตารางที่ 10 ค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ 10 12 และ14) เติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ แล้วให้ความดัน 400 เมกกะปาสคาล 30 นาที

Colorimetric values of soymilk with different total solid content (10, 12, 14%) added with various coagulants then pressurized at 400 MPa, 30 min.

total solid (%)	coagulants	L*	a*	b*
10	Ca_2SO_4	89.38^{l}	-0.51^{ab}	18.03^{b}
	GDL	88.65^{g}	-0.38^{d}	19.33^{f}
	GDL+Ca_2SO_4	88.75^{h}	-0.54^{a}	19.59^{h}
	$MgCl_2$	88.80^{i}	-0.50^{ab}	19.30^{f}
12	Ca_2SO_4	89.13^{j}	-0.42^{cd}	18.64^{d}
	GDL	88.22^{c}	-0.25^{e}	19.67^{i}
	GDL+Ca_2SO_4	88.56^{e}	-0.36^{d}	19.79^{j}
	$MgCl_2$	88.61^{f}	-0.41^{cd}	19.50^{g}
14	Ca_2SO_4	89.21^{k}	-0.46^{bc}	18.35^{c}
	GDL	87.99^{b}	-0.13^{f}	20.26^{l}
	GDL+Ca_2SO_4	88.44^{d}	-0.29^{e}	19.84^{k}
	$MgCl_2$	88.65^{g}	-0.37^{d}	19.23^{e}
commercial tofu		87.15^{a}	0.68^{g}	15.09^{a}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

3.4 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 11 แสดงค่าของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 3 ระดับ ผ่านความดันสูงระดับ 400 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที ส่วนชุดการทดลองที่ผ่านความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ไม่สามารถเกิดเป็นเคิร์ดที่คงรูปร่างได้ จากตารางที่ 11 พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นทำให้กลิ่นรสถั่ว (beany flavor) ความขม (bitter) ความฝาด (astringent) และความหยาบมีค่าสูงขึ้น การเติมสารตกตะกอน

โปรตีนที่ต่างชนิดกันไม่มีผลต่อกลิ่นรสและความขม แต่มีผลเล็กน้อยต่อความฝาด โดยเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เติมสารแคลเซียมซัลเฟตจะให้ความฝาดสูงที่สุด เต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนมีค่าของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสถั่ว ความขม และความฝาดต่ำสุดในทุกระดับของปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยค่าความขมและความฝาดของชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนมีแนวโน้มต่ำสุดเนื่องจาก สารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนจะไปยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition) กับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β-glucosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีผลทำให้สารประกอบไดอะซีนและจีนิสทีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นในระหว่างขั้นตอนการแช่ถั่วเหลือง (Chien and Snyder, 1983) ส่วนคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความหยาบ (coarse) พบว่าชุดการทดลองที่เติมสารแมกนีเซียมคลอไรด์มีค่าต่ำสุด ส่วนค่าสูงสุดจะพบได้ในเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เติมสารแคลเซียมซัลเฟตและไม่พบความแตกต่างด้านความหยาบระหว่างชุดการทดลองที่เติมสารแคลเซียมซัลเฟต สารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน และชุดการทดลองที่เติมสารแคลเซียมซัลเฟตผสมกับสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนในทุกระดับของปริมาณของแข็งทั้งหมด ซึ่ง Saio (1979) รายงานว่าเต้าหู้ที่เติมสารแคลเซียมซัลเฟตมีลักษณะโครงสร้างคล้ายฟองน้ำที่หนาแน่น (tight frame) และมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แข็งเมื่อบดเคี้ยวในปาก เต้าหู้ส่วนที่แตกออกจะมีลักษณะแข็งทำให้เกิดความรู้สึกหยาบภายในปากต่างกับเต้าหู้ที่ตกตะกอนด้วยสารแมกนีเซียมคลอไรด์ ซึ่งมีลักษณะอ่อนเมื่อบดเคี้ยวในปากเต้าหู้จะเละทำให้รู้สึกเนียนภายในปาก และชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน สารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนผสมกับสารแคลเซียมซัลเฟต และสารแคลเซียมซัลเฟต มีค่าความหยาบใกล้เคียงกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า

จากการทดลองที่ได้จึงเลือกน้ำนมถั่วเหลืองชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 และเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนสำหรับการทดลองในข้อต่อไป

ตารางที่ 11 ค่าของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่างกัน 3 ระดับ (ร้อยละ 10, 12, 14) และเติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดต่างๆ แล้วให้ความดัน 400 เมกกะปาสคาล 30 นาที

Sensory scores of soft tofus with different total solid contents (10, 12, 14%), added with various coagulants, then pressurized at 400 MPa, 30 min.

total solid (%)	coagulants	beany flavor	bitter	astringent	coarse
10	$MgCl_2$	3.36^{bc}	2.32^{bcd}	2.15^{b}	0.29^{a}
	GDL	3.25^{b}	2.18^{b}	2.21^{bc}	2.21^{ab}
	GDL+$CaSO_4$	3.35^{bc}	2.24^{bc}	2.22^{bc}	2.47^{abc}
	$CaSO_4$	3.37^{bc}	2.31^{bcd}	2.45^{cd}	3.50^{abc}
12	$MgCl_2$	3.43^{bc}	2.62^{def}	2.47^{cd}	2.07^{ab}
	GDL	3.34^{bc}	2.42^{bcde}	2.42^{bcd}	2.42^{ab}
	GDL+$CaSO_4$	3.35^{bc}	2.56^{cdef}	2.62^{de}	3.47^{abc}
	$CaSO_4$	3.37^{bc}	2.64^{def}	2.76^{ef}	3.79^{bc}
14	$MgCl_2$	3.50^{bc}	2.78^{f}	3.12^{g}	3.22^{abc}
	GDL	3.45^{bc}	2.73^{ef}	2.94^{fg}	5.25^{bc}
	GDL+$CaSO_4$	3.52^{bc}	2.81^{f}	2.92^{fg}	5.22^{bc}
	$CaSO_4$	3.68^{c}	2.88^{f}	3.05^{g}	5.78^{c}
commercial tofu		0.52^{a}	0.31^{a}	0.55^{a}	5.29^{bc}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

4. ผลของความเข้มข้นของสารตกตะกอนโปรตีนร่วมกับความดันต่อคุณสมบัติของเต้าหู้อ่อน

การทดลองในขั้นตอนนี้แบ่งน้ำนมถั่วเหลืองชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ

4.1 นำน้ำนมถั่วเหลืองมาเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน 3 ระดับความเข้มข้น คือ ร้อยละ 0.1 0.2 0.3 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง แล้วให้ความดันที่ระดับต่างๆ กัน 3 ระดับ คือ 200 400 และ 600 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

4.2 นำน้ำนมถั่วเหลืองมาให้ความดันที่ระดับ 200 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ก่อนการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน 3 ระดับความเข้มข้นเช่นเดียวกับข้อ 4.1

จากนั้นแบ่งน้ำนมถั่วเหลืองของแต่ละชุดการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที อีกส่วนไม่ผ่านการให้ความร้อน ได้ผลการตรวจสอบคุณภาพดังนี้

- คุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส

จากการทดลองข้อ 4.1 พบว่ามีบางชุดการทดลองที่ไม่สามารถเกิดเป็นเจลที่คงรูปร่างได้ทำให้ไม่สามารถวัดค่าของคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสได้ ได้แก่ ชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง ความดันระดับ 200 เมกกะปาสคาล ทั้งที่ได้รับและไม่ได้รับความร้อน ชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณร้อยละ 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง ผ่านความดัน 200 เมกกะปาสคาล แต่ไม่ได้รับความร้อน ส่วนข้อ 4.2 ชุดการทดลองที่ไม่สามารถเกิดเป็นเจลที่คงรูปร่างได้ คือ ชุดการทดลองที่ไม่ผ่านความร้อนทั้งหมด และชุดที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง จะเห็นว่าน้ำนมถั่วเหลืองสามารถเกิดเจลที่ความดันต่ำได้ หากมีการเติมสารตกตะกอนโปรตีนในระดับที่เข้มข้นเหมาะสม ซึ่งจากการทดลองสามารถใช้ความดันตั้งแต่ 400 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที ร่วมกับการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนสามารถเกิดเจลที่คงตัวได้

จากรูปที่ 11 พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความดันหรือปริมาณสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนที่เติม จะทำให้ค่าความแข็ง ค่าความคงทนต่อการบดเคี้ยวและค่าความหยุ่นตัวมีค่าสูงขึ้น ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนจะมีค่าทั้งสามสูงกว่าชุดที่ไม่ได้รับความร้อน ($p<0.05$) เนื่องจากปริมาณของโปรตรอนจำนวนมากจากสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนที่ใส่เพิ่มเข้าไปในแต่ละชุดการทดลองรวมตัวกับโปรตีนถั่วที่เกิดการสูญเสียสภาพซึ่งมีประจุเป็นลบ ทำให้เกิดการรวมตัวกันอย่าง

แน่นหนา ดังจะเห็นได้จากค่าความแข็งที่สูงขึ้นของชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนเพิ่มมากขึ้น

Dumoulin และคณะ (1998) พบว่าค่าความแข็งของเจลโปรตีนถั่วเหลืองที่ผ่านความดันสูงมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความดัน เนื่องจากความดันสูงสามารถส่งผลกระทบต่อระบบของโปรตีนได้โดยการทำให้เกิดการแยกตัวของโมเลกุลและทำให้เกิดการคลายตัวของสายโซ่โพลีเปปไทด์ (Cioni and Strambini, 1997 อ้างโดย Apichartsrangkoon, 1997) จากงานวิจัยของ Sun และ Breene (1991) ซึ่งศึกษาผลของความเข้มข้นของสารตกตะกอนโปรตีน คือแคลเซียมซัลเฟตต่อปริมาณและคุณภาพของเต้าหู้ที่ผลิตจากถั่วเหลือง 5 สายพันธุ์ที่ปลูกในรัฐ Minnesota พบว่าแคลเซียมซัลเฟตความเข้มข้นสูงจะเพิ่มการสร้างพันธะ (bridging) ทำให้เกิดการรวมตัวของโครงสร้างโปรตีนที่แน่นขึ้น ชุดการทดลองที่ผ่านความร้อนภายหลังได้รับความดันสูงจะมีค่าความแข็งสูงกว่า ($p<0.05$) ชุดการทดลองที่ไม่ได้รับความร้อน Okamoto และคณะ (1989) พบว่า เจลที่เกิดจากการให้ความดันจะมีลักษณะอ่อนนุ่มกว่าเจลที่เกิดจากการได้รับความร้อน

ชุดการทดลองข้อ 4.1 และ 4.2 ที่ได้รับสภาวะในการทดลองเหมือนกัน พบว่าค่าความแข็งใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการเติมสารตกตะกอนก่อนหรือหลังการให้ความดันสูงมีผลเพียงเล็กน้อยต่อค่าทางเนื้อสัมผัสทั้ง 2 ค่า ของเจลเต้าหู้อ่อน

เมื่อพิจารณาค่าความยึดติดพบว่าระหว่างชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณเท่ากันค่าความยึดติดมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความดันสูง Molina และ Ledward (2003) รายงานว่าเมื่อให้ความดันสูงแล้วตามด้วยความร้อนระดับ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เจลที่ได้มีค่าความยึดติดเพิ่มขึ้นเมื่อความดันเพิ่มสูงขึ้น ชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนจะมีค่าความยึดติดสูงกว่าชุดที่ไม่ได้รับความร้อน ($p<0.05$) และชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณมากขึ้นจะทำให้มีค่าความยึดติดสูงขึ้น นอกจากนี้ค่าความยืดหยุ่นและค่าความยึดเกาะระหว่างชุดการทดลองทั้งหมดมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ($p<0.05$)

ภาพที่ 11 ผลของความเข้มข้นของสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน ความดัน และความร้อนต่อค่าคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส [ความแข็ง (a); ความยึดติด (b); ความยืดหยุ่น (c); ความยึดเกาะ (d); ความหยุ่นตัว (e); ความคงทนต่อการบดเคี้ยว (f)] ของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ [0.1%GDL/400MPa/NH (1); 0.1%GDL/600MPa/NH(2); 0.1%GDL/400MPa/H(3); 0.1%GDL/600MPa/H(4); 0.2%GDL/400MPa/NH(5); 0.2%GDL/600MPa/NH (6); 200MPa/0.2%GDL/H(7); 0.2%GDL/200MPa/H(8); 0.2%GDL/400MPa/H(9); 0.2%GDL/600MPa/H

(10); 0.3%GDL/400MPa/NH(11); 0.3%GDL/600MPa/NH(12); 200MPa/0.3%GDL/H(13); 0.3%GDL/200MPa/H(14); 0.3%GDL/400MPa/H(15); 0.3%GDL/600MPa/H(16); เต้าหู้อ่อนทางการค้า (17)]

Effect of GDL concentrations, pressure and heat treatments on texture characteristics [hardness (a); adhesiveness (b); springiness (c); cohesiveness (d); gumminess (e); chewiness (f)] of soft tofu with various treatments [0.1%GDL/400MPa/NH (1); 0.1%GDL/600MPa/NH(2); 0.1%GDL/400MPa/H (3); 0.1%GDL/600MPa/H(4); 0.2%GDL/400MPa/NH(5); 0.2%GDL/600MPa/NH(6); 200MPa/0.2%GDL/H(7); 0.2%GDL/200MPa/H(8); 0.2%GDL/400MPa/H(9); 0.2%GDL/600MPa/H (10); 0.3%GDL/400MPa/NH(11); 0.3%GDL/600MPa/NH(12); 200MPa/0.3%GDL/H(13); 0.3%GDL/200MPa/H(14); 0.3%GDL/400MPa/H(15); 0.3%GDL/600MPa/H(16); commercial tofu (17)]

Bars with different letters are significantly different ($p<0.05$).

- คุณสมบัติค่าสี

จากตารางที่ 12 แสดงค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ14 เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณต่างๆ แล้วให้ความดันสูง 3 ระดับ จากนั้นผ่านและไม่ผ่านความร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าชุดการทดลองที่มีปริมาณสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนเท่ากันและได้รับความดันสูงระดับเดียวกัน แล้วผ่านความร้อนจะมีค่า L* ต่ำกว่า แต่ค่า a* และ b* สูงกว่า ($p<0.05$) ชุดการทดลองที่ไม่ผ่านความร้อน เนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดดังที่กล่าวแล้วข้างต้น ส่วนชุดการทดลองที่มีปริมาณสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณเท่ากันเมื่อได้รับความดันเพิ่มขึ้นค่า L* จะเพิ่มสูงขึ้น ส่วนค่า a* และ b* จะลดลง ($p<0.05$) เนื่องจากภายหลังปลดปล่อยความดันลงเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลของน้ำรอบกรดอะมิโน ทำให้เกิดลักษณะเป็นเงามัน (glossy) และโปร่งแสง (transparent) (Palou *et al.,* 1999) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนพบว่า การเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนสูงขึ้น จะมีค่า L* ต่ำลง ส่วนค่า a* และ b* สูงขึ้น โดย Liu (1997) พบว่าการเติมสารตกตะกอนโปรตีนในปริมาณสูงทำให้เต้าหู้มีสีเหลืองอ่อน (yellowish color) และน้ำนมถั่วเหลืองทุกชุดการทดลองมีความแตกต่าง ($p<0.05$) ของค่า L* a* และ b* กับชุดควบคุม

Tsai และคณะ (1981) ศึกษาการผลิตเต้าหู้โดยใช้สารตกตะกอนโปรตีน 9 ชนิด คือ แคลเซียมซัลเฟต (reagent grade) แคลเซียมกลูโคเนต แคลเซียมคลอไรด์ กลูโคโนเดลต้าแลคโตน แคลเซียมซัลเฟต (precipitated gypsum) รวมทั้งไนการิ (bittern) พบว่าสารตกตะกอนโปรตีนมีผลต่อค่าสีของเต้าหู้ โดยค่า L, a และ b มีความแตกต่างเล็กน้อยระหว่างชนิดของสารตกตะกอนโปรตีน แต่ผู้ทดสอบชิมไม่สามารถรู้สึกถึงความแตกต่างนี้ได้

ตารางที่ 12 ค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน ความเข้มข้นระดับต่างๆ แล้วให้ความดันสูง ผ่านหรือไม่ผ่านความร้อน

Colorimetric values of soy milk (14% total solid) added with various GDL concentrations and subjected to pressure, with and without subsequent heating

coagulant concentrations (%w/v)	pressure (MPa)	thermal condition	L*	a*	b*
0.1	200	heat	88.27^{h}	-0.01^{gh}	18.56^{g}
		not heat	89.02^{p}	-0.09^{f}	18.34^{d}
	400	heat	88.34^{l}	-0.11^{f}	18.54^{g}
		not heat	89.01^{p}	-0.18^{cd}	18.18^{c}
	600	heat	88.92^{o}	-0.21^{c}	18.15^{c}
		not heat	88.47^{l}	-0.33^{a}	18.07^{b}
0.2	200	heat	88.10^{d}	0.04^{i}	18.92^{i}
		not heat	88.75^{n}	0.01^{hi}	18.47^{f}
	400	heat	88.24^{g}	-0.03^{g}	18.82^{h}
		not heat	88.66^{m}	-0.15^{de}	19.15^{k}
	600	heat	88.39^{k}	-0.12^{ef}	18.54^{g}
		not heat	88.37^{j}	-0.26^{b}	18.14^{c}
0.3	200	heat	88.00^{b}	0.11^{j}	19.70^{m}
		not heat	88.14^{e}	0.02^{hi}	18.43^{e}
	400	heat	88.06^{c}	0.08^{j}	19.31^{l}
		not heat	88.27^{h}	-0.03^{g}	19.06^{j}
	600	heat	88.21^{f}	0.03^{hi}	18.93^{i}
		not heat	88.49^{l}	-0.09^{f}	18.83^{h}
commercial tofu			87.15^{a}	0.68^{k}	15.09^{a}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

จากตารางที่ 13 แสดงค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ14ให้ความดันสูงระดับ 200 เมกกะปาสคาล จากนั้นเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณต่างๆ แล้วนำมาผ่านหรือไม่ผ่านความร้อน พบว่าสำหรับชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนหลังจากให้ความดันสูงจะมีค่า L* ต่ำกว่า แต่ค่า a* และ b* สูงกว่า ชุดการทดลองที่ได้รับความดันเพียงอย่างเดียว เมื่อเพิ่มปริมาณสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนพบว่า L* มีแนวโน้มลดลง ส่วนค่า a* และ b* เพิ่มสูงขึ้น ($p<0.05$) เช่นเดียวกับการทดลองแรกน้ำนมถั่วเหลืองทุกชุดการทดลองมีค่า L* และ b* สูงกว่า แต่ค่า a* ต่ำกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$)

ตารางที่ 13 ค่าสีของน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ 14) ได้รับความดันสูงระดับ 200 เมกกะปาสคาล ก่อนการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณต่างๆ แล้วนำมาผ่านหรือไม่ผ่านความร้อน (70 องศาเซลเซียส, 30 นาที)

Colorimetric values of soy milk (14% total solid) pressurized at 200 MPa, 30 min prior to GDL addition, with or without subsequent heating (70 ^{o}C, 30 min)

coagulant concentrations (w/v)	thermal condition	L*	a*	b*
0.1	heat	88.58^{d}	0.01^{a}	17.73^{c}
	not heat	89.63^{f}	-0.06^{a}	17.22^{b}
0.2	heat	88.40^{c}	0.07^{a}	18.56^{e}
	not heat	89.18^{e}	-0.05^{a}	18.07^{d}
0.3	heat	88.20^{b}	0.11^{a}	18.93^{g}
	not heat	89.15^{e}	-0.02^{a}	18.78^{f}
commercial tofu		87.15^{a}	0.68^{b}	15.09^{a}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

- คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน 3 ระดับ แล้วให้ความดันสูง 3 ระดับ จากนั้นผ่านหรือไม่ผ่านความร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที โดยจะไม่ตรวจสอบชุดการทดลองไม่สามารถเกิดเป็นเจลที่คงรูปร่างหรือเจลที่มีค่าความแข็งต่ำมาก (ประมาณ 100 กรัม) ได้ผลดังตารางที่ 14 พบว่ามีความแตกต่างของคุณลักษณะด้านกลิ่นรสถั่ว ความขม ความฝาด และความหยาบระหว่างชุดการทดลองกับชุดควบคุม ($p<0.05$) เต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณร้อยละ 0.3 ผ่านความดันสูง 600 เมกกะปาสคาล และผ่านความร้อนมีค่าของคุณลักษณะด้านกลิ่นรสถั่ว ความขม และความฝาดต่ำที่สุด ($p<0.05$) ส่วนชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนปริมาณร้อยละ 0.1 ผ่านความดันสูง 400 เมกกะปาสคาล แต่ไม่ผ่านความร้อนมีค่าความหยาบต่ำที่สุด ($p<0.05$) และเมื่อความเข้มข้นของสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนเพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ค่าความหยาบมากขึ้นเช่นเดียวกัน คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสถั่ว ความขม และความฝาดมีค่าลดลงเมื่อได้รับความดันเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) นอกจากนี้การให้ความร้อนร่วมกับความดันส่งผลให้ค่าดังกล่าวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความดันเพียงอย่างเดียวเนื่องจากความดันสูงและความร้อนสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดกลิ่นรสถั่ว ความขม และความฝาด (Wilkens *et al*., 1967; Morales-Blancas *et al*., 2002; Ludikhuyze *et al*., 1998) Sun และ Breen (1991) รายงานว่าการเติมสารแคลเซียมซัลเฟตในปริมาณมากเกินพอ ทำให้เกิดพันธะ (bridging) จำนวนมาก ส่งผลให้โครงข่ายร่างแหของเจลโปรตีนเกิดการรวมตัวกัน (compaction) อย่างแน่นหนา ทำให้เกิดการสูญเสียโปรตีนเวย์ ส่วนเคิร์ทที่ได้มีลักษณะเนื้อสัมผัสหยาบขึ้นมีค่าความแข็งและค่าความสามารถในการแตกหัก (fracturability) สูงขึ้นด้วย

ตารางที่ 14 ค่าของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด ร้อยละ 14 เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนความเข้มข้นระดับต่างๆ (ร้อยละ 0.1, 0.2, 0.3) แล้วให้ความดันสูง (400, 600 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที) จากนั้นผ่านหรือไม่ผ่านความร้อน

Sensorial values of soft tofus with 14% total solid content added with different GDL concentrations (0.1, 0.2, 0.3%) and subjected to high pressure (400, 600 MPa for 30 min) with or with out subsequent heating.

GDL concentration (%W/V)	pressure (MPa)	thermal condition	beany flavor	bitter	astringent	coarse
0.1	400	heat	3.797^{ef}	3.850^{h}	3.325^{f}	1.025^{b}
		not heat	5.032^{g}	5.250^{j}	4.250^{g}	0.540^{a}
	600	heat	3.724^{def}	3.155^{g}	3.275^{f}	3.225^{e}
		not heat	4.069^{f}	5.135^{j}	2.945^{e}	2.010^{c}
0.2	400	heat	3.635^{def}	2.295^{g}	2.805^{de}	3.225^{e}
		not heat	4.841^{g}	4.425^{i}	2.780^{de}	2.445^{d}
	600	heat	3.077^{c}	2.400^{e}	2.550^{d}	3.625^{f}
		not heat	3.557^{de}	2.670^{f}	2.805^{de}	2.585^{d}
0.3	400	heat	2.887^{bc}	1.855^{bc}	1.890^{bc}	3.460^{ef}
		not heat	3.258^{cd}	2.955^{de}	2.125^{c}	3.455^{ef}
	600	heat	2.801^{b}	1.770^{b}	1.790^{b}	5.150^{h}
		not heat	3.302^{cd}	2.075^{cd}	1.995^{bc}	4.065^{g}
commercial tofu			1.845^{a}	0.000^{a}	0.210^{a}	3.310^{e}

All values are the means from triplicate determinations.

Different letters in the same column indicate the significant differences ($p<0.05$).

5. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาคของเต้าหู้อ่อนโดย Scanning Electron Microscope (SEM)

โดยแบ่งกลุ่มชุดการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม เพื่อศึกษาถึงผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ คือ ความดัน สารตกตะกอน และความร้อนต่อโครงสร้างจุลภาคของเต้าหู้อ่อน

กลุ่มที่ 1 คัดเลือกชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ที่เหมาะสมจากข้อ 3 จำนวน 3 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 ให้ความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล (ภาพที่ 12a) ชุดการทดลองที่ 2 ให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ก่อนได้รับความดันสูงระดับ 800 เมกกะปาสคาล (ภาพที่ 12b) และชุดการทดลองสุดท้ายได้รับความดัน 800 เมกกะปาสคาล ก่อนที่จะผ่านความร้อน (ภาพที่ 12c) เพื่อตรวจสอบผลของความดันสูงและความร้อนร่วมกับความดันสูงต่อโครงสร้างโปรตีนของเต้าหู้อ่อน พบว่าโครงสร้างโปรตีนของชุดการทดลองที่ได้รับความดันสูงอย่างเดียว (ภาพที่ 12a) มีลักษณะเป็นโครงข่ายร่างแหของโกลบูลาโปรตีนเชื่อมต่อกันอย่างหลวมๆ ซึ่งสังเกตได้จากช่องว่างภายในโครงสร้างของโปรตีน แต่เมื่อโปรตีนได้รับความดันและความร้อน (ภาพที่ 12b และ 12c) ทำให้เกิดการรวมตัวกันอย่างหนาแน่นของโกลบูลาโปรตีน ซึ่งจะส่งผลต่อค่าความแข็งของเจล ดังจะเห็นได้จากภาพที่ 9 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนก่อนความดันสูง (ภาพที่ 12b) กับชุดการทดลองที่ได้รับความดันสูงตามด้วยความร้อน (ภาพที่ 12c) พบว่ารูปแบบการรวมตัวกันของโปรตีนถั่วเหลืองมีลักษณะใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการให้ความดันสูงก่อนหรือหลังการให้ความร้อนไม่ได้ส่งผลกระทบอย่างชัดเจนต่อลักษณะการรวมตัวกันของโปรตีนถั่วเหลืองในโครงสร้างเจลเต้าหู้อ่อน และความร้อนส่งผลกระทบต่อโปรตีนถั่วเหลืองเหนือกว่าความดันสูง ดังจะเห็นได้จากการที่ให้ความร้อนก่อนหรือหลังความดันสูง โครงสร้างของเจลที่ได้มีลักษณะการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนไม่เหมือนกับเจลที่เกิดจากการได้รับความดันสูงซึ่งมีลักษณะเป็นโครงข่ายร่างแหดังภาพที่ 12a ขณะที่ผลการศึกษาของ Molina และ Leward (2002) กล่าวว่าการให้ความร้อน (90 องศาเซลเซียส, 15 นาที) ก่อนการให้ความดันสูง (300-700 เมกกะปาสคาล, 15 นาที) ไม่สามารถทำให้โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI) เกิดเป็นเจลที่คงรูปร่างได้ ขณะที่การให้ความดันก่อนความร้อนจะทำให้เกิดเจลที่แข็งแรง

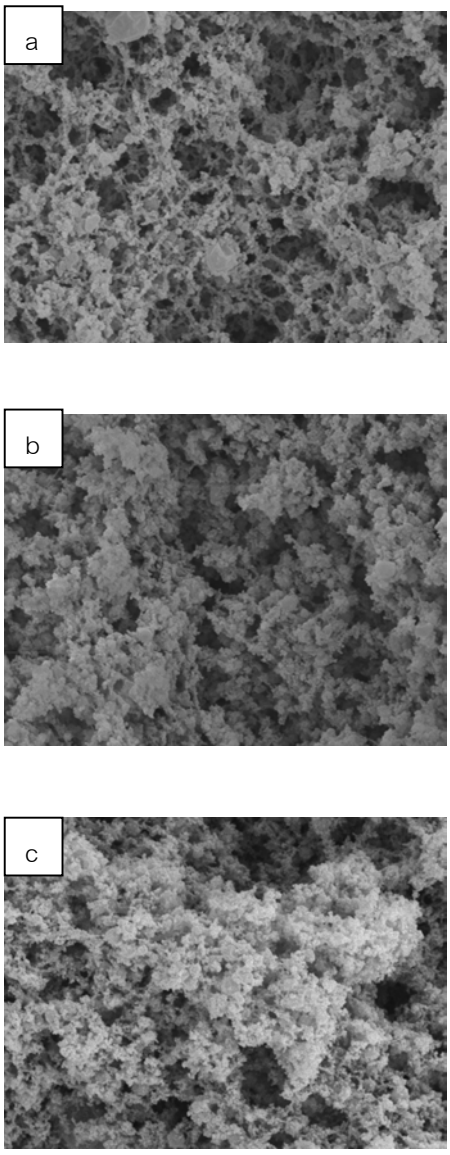
กลุ่มที่ 2 คัดเลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 4.1 จำนวน 5 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ได้รับความดัน 200 เมกกะปาสคาล แล้วให้ความร้อน (ภาพที่ 13a) ชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ผ่านความดันระดับ 600 เมกกะปาสคาล ได้รับและไม่ได้รับความร้อน (ภาพที่ 13b และ 13c) และสุด

ท้ายชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ผ่านความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล ได้รับและไม่ได้รับความร้อน (ภาพที่ 13d และ 13e) เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า (ชุดควบคุม) (ภาพที่ 13f) และชุดการทดลองที่ผลิตเลียนแบบเต้าหู้อ่อนทางการค้าที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 และเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 (ภาพที่ 13g) พบว่าเมื่อความดันเพิ่มขึ้นลักษณะของเส้นใยในโครงข่ายร่างแหของโปรตีนมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อความดันเพิ่มเป็น 600 หรือ 800 เมกกะปาสคาล (ภาพที่ 13c และ ภาพที่ 13e) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่ได้รับความดันระดับเดียวกันพบว่าชุดการทดลองที่ได้รับความร้อนมีลักษณะของโครงข่ายร่างแหที่แน่นและใกล้ชิดกันมากกว่าโครงข่ายร่างแหของชุดการทดลองที่ไม่ได้รับความร้อน (ภาพที่ 13b และ ภาพที่ 13c) และพบว่าชุดการทดลองที่ได้รับความดันสูงโดยเฉพาะที่ความดันระดับ 600 และ 800 เมกกะปาสคาล ทั้งที่ได้รับและไม่ได้รับความร้อน จะมีเส้นใยของโครงข่ายร่างแหที่มีขนาดใหญ่กว่าชุดที่ไม่มีการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน (ภาพที่ 12) และโครงข่ายร่างแหของทั้งชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ผลิตเลียนแบบเต้าหู้อ่อนทางการค้ามีลักษณะคล้ายกับชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 และผ่านความดันสูงที่ 800 เมกกะปาสคาล 30 นาที เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 13a) จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่าที่ความดันสูงตั้งแต่ 600 เมกกะปาสคาล, 30 นาที ทำให้โปรตีนถั่วเหลืองทั้ง 11S และ 7S สูญเสียสภาพอย่างสมบูรณ์ (Molina *et al.*, 2002) และส่งผลให้สารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนทำให้เกิดการรวมตัวกันของสายโพลีเปปไทด์กลายเป็นสายโพลีเปปไทด์ที่มีขนาดใหญ่และรวมตัวกันเป็นกลุ่มของสายโพลีเปปไทด์ที่แน่นขึ้นในสภาวะที่มีความดัน ขณะที่การให้ความดันระดับต่ำ (200 เมกกะปาสคาล 30 นาที) ซึ่งเป็นระดับความดันที่ไม่มีผลต่อการเสียสภาพของโปรตีน 11S แต่มีผลต่อ 7S จะไม่เกิดการรวมตัวของสายโพลีเปปไทด์และให้ลักษณะโครงสร้างคล้ายคลึงกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า (ภาพที่ 13a) เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 13a 13b และ 13d จะเห็นว่าเจลที่ได้มีความแข็งแรงสูงขึ้นด้วยดังจะเห็นได้จากค่าความแข็งของเจลในรูปที่ 16

กลุ่มที่ 3 คัดเลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 4.1 คือ ชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ได้รับความดัน 200 เมกกะปาสคาล และได้รับความร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (ภาพที่ 14a) เปรียบเทียบกับชุดการทดลองข้อ 4.2 ที่ได้รับความดัน 200 เมกกะปาส คาล ก่อนการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 และได้รับความร้อนเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 14b) พบว่า เต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน แล้วให้ความดันก่อนความร้อน (ภาพที่ 14a) มีโครงสร้างของโปรตีนเป็นแบบโครงข่ายร่างแหที่แน่น

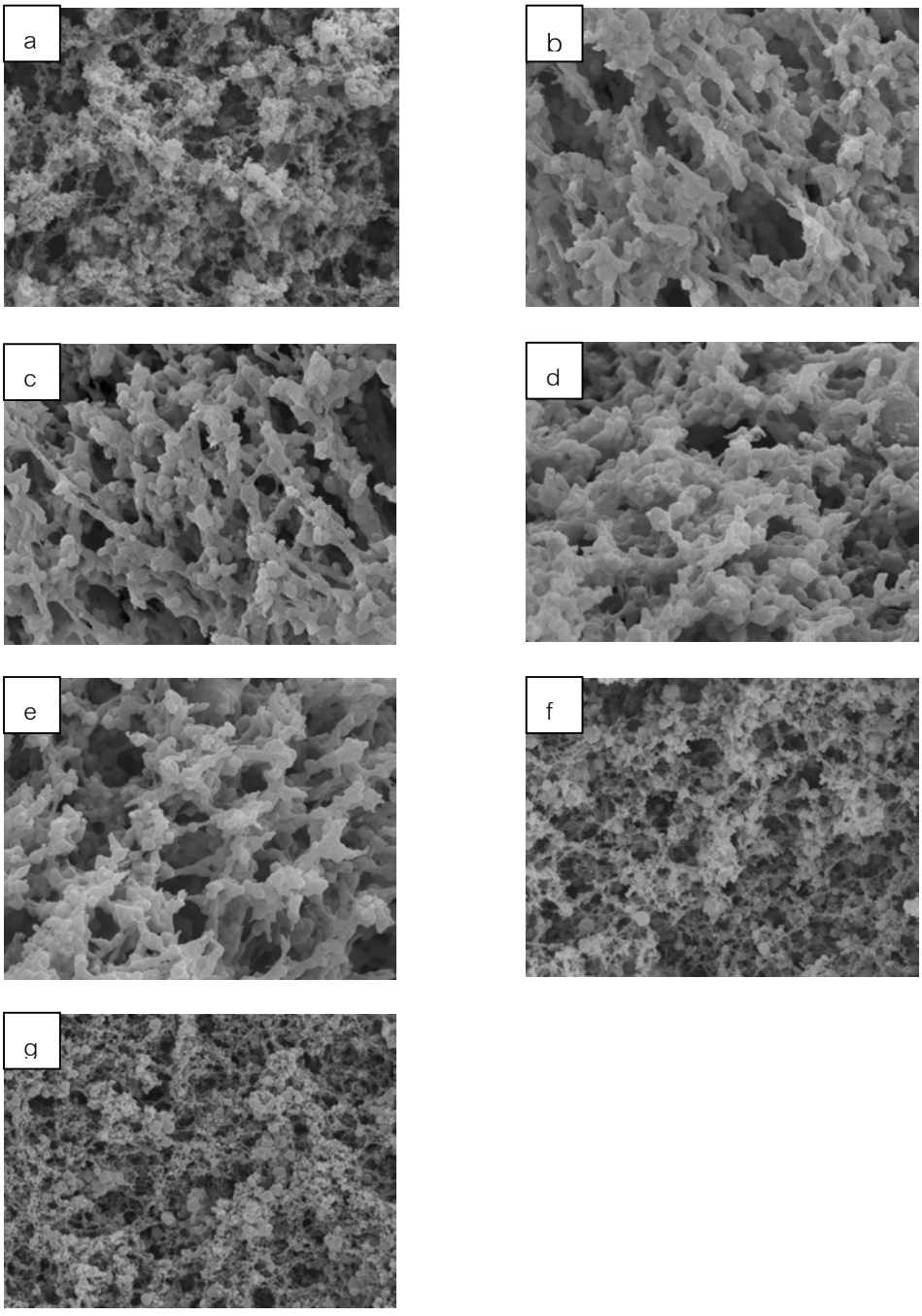
หนา กว่าเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองจากข้อ 3 ที่ไม่ได้เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน และได้รับความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาลเพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 12a) เต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนตามด้วยความดันสูงและความร้อนตามลำดับ (ภาพที่ 14a) มีลักษณะโครงสร้างที่เกิดจากการรวมตัวกันของโปรตีนถั่วเหลืองเป็นโครงข่ายร่างแห แสดงให้เห็นว่า การให้ความดันกับน้ำนมถั่วเหลืองในขณะที่มีสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนละลายอยู่จะทำให้โปรตีนถั่วเหลืองเกิดการสูญเสียสภาพและรวมตัวกันสร้างเป็นโครงข่ายร่างแหขึ้นมา จากนั้นเมื่อให้ความร้อนกับโปรตีนดังกล่าวทำให้โครงข่ายร่างแหที่รวมตัวกันอยู่เกิดการหดตัวกลายเป็นโครงข่ายร่างแหที่มีความหนาแน่นขึ้น ในทางกลับกันเมื่อโปรตีนได้รับความดันระดับ 200 เมกกะปาสคาล (ภาพที่ 14b) ทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัวหรือสูญเสียสภาพบางส่วน จากนั้นเมื่อเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนแล้วนำไปให้ความร้อนทำให้โปรตีนที่เกิดการคลายตัวอยู่ กลับไปรวมตัวกันเกิดลักษณะเป็นก้อนของโปรตีนถั่วเหลืองที่แน่นและแข็งแรงกว่าชุดการทดลองในภาพที่ 14a เนื่องจากผลของความร้อนต่อโปรตีน โดยเมื่อเปรียบเทียบกับผลของค่าความแข็งจากภาพที่ 11 พบว่าชุดการทดลองที่ได้รับความดัน 200 เมกกะปาสคาล ก่อนการเติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 และความร้อนมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนตามด้วยความดันสูงและความร้อนเล็กน้อย ($p<0.05$)

Saio (1979) รายงานว่าอนุภาคขนาดใหญ่ของโปรตีนที่เกิดจากการรวมตัวกัน (aggregation) ภายในโครงสร้างเจลจะส่งผลให้เต้าหู้มีค่าความแข็งมาก เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธะไดซัลไฟด์และซัลฟ์ไฮดริลในโปรตีน 11S ที่เกิดขึ้นระหว่างการให้ความร้อน ซึ่งถ้าหากมีปริมาณของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลอิสระมากก็จะทำให้เกิดการรวมตัวกันได้เป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ภายในโครงสร้างโปรตีน นอกจากนี้ความหนาแน่นของโครงข่ายร่างแหของเต้าหู้ยังสัมพันธ์กับค่าความแข็งอีกด้วย และเมื่อตกตะกอนโปรตีนด้วยสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน พบว่าเต้าหู้อ่อนที่ผลิตจากโปรตีน 11S มีความแข็งสูงกว่าและมีขนาดของอนุภาคโปรตีนใหญ่กว่าเต้าหู้อ่อนที่ผลิตจากโปรตีน 7S อย่างชัดเจน



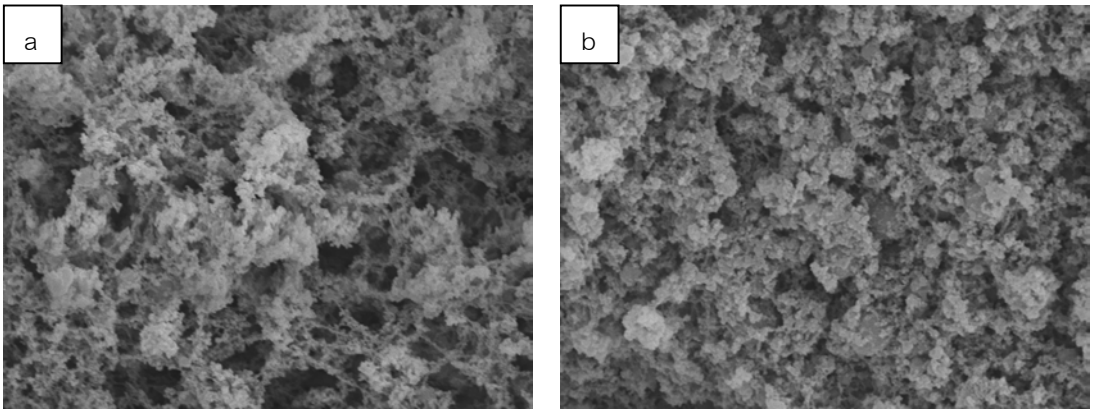
ภาพที่ 12 โครงสร้างทางจุลภาค (10000×) ของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ได้แก่ เต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 แล้วให้ความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล 30 นาที (a); เต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส, 30 นาที แล้ว ผ่านความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล 30 นาที (b); เต้าหู้อ่อนที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ผ่านความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล 30 นาที แล้วให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส, 30 นาที (c)

Microstructure (10000×) of soft tofus prepared by different conditions : soymilk pressurized at 800 MPa., 30 min. (a); soymilk heated at 70 ^{o}C, 30 min. then pressurized at 800 MPa 30 min.(b); and soymilk pressurized at 800 MPa 30 min. then heated at 70 ^{o}C, 30 min.(c)



ภาพที่ 13 โครงสร้างทางจุลภาค (10000×) ของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ได้แก่ เต้าหู้อ่อนที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ผ่านความดันระดับ 200 (a), 600 (b) และ 800 (d) เมกกะปาสคาล 30 นาที ให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส 30 นาที; เต้าหู้อ่อนที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ผ่านความดันระดับ 600 (c) และ 800 (e) เมกกะปาสคาล 30 นาที; เต้าหู้อ่อนทางการค้า (f); เต้าหู้อ่อนเลียนแบบทางการค้า (g)

Microstructure (10000×) of soft tofus prepared by different conditions : soymilk added with 0.3 % GDL, then pressurized at 200 (a), 600 (b) and 800 (d) MPa. for 30 min. followed by heating at 70 °C, 30 min; and soymilk added with 0.3 % GDL pressurized at 600 (c) and 800 (e) MPa. 30 min.; commercial soft tofu (f); imitated commercial soft tofu. (g)



ภาพที่ 14 โครงสร้างทางจุลภาค (10000×) ของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ได้แก่ เต้าหู้อ่อนที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 ผ่านความดันระดับ 200 เมกกะปาสคาล 30 นาที แล้วให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส, 30 นาที (a); เต้าหู้อ่อนที่ผ่านความดันระดับ 200 เมกกะปาสคาล 30 นาที เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 จากนั้นให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส, 30 นาที (b)

Microstructure (10000×) of soft tofu prepared by different conditions : soymilk added with 0.3 % GDL pressurized at 200 MPa. 30 min. then heated at 70 ^{o}C, 30 min.(a); and soymilk pressurized at 200 MPa. 30 min. prior to adding 0.3% GDL, then heated at 70 ^{o}C, 30 min. (b)

6. ผลการศึกษาอายุการเก็บของเต้าหู้อ่อน

จากการคัดเลือกเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองข้อ 3 และ 4.1 คือ ชุดการทดลองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ให้ความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล จากนั้นผ่านความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที และชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 แล้วให้ความดันระดับ 600 เมกกะปาสคาล มาเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน ได้ผลดังนี้

- การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์

จากตารางที่ 15 พบว่าวันที่ 0 และ 3 จุลินทรีย์ของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีจำนวนต่ำกว่า 10 CFU/g.tofu ช่วงวันที่ 6-15 พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นโดยชุดการทดลองที่เติมสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 0.3 แล้วผ่านความดันระดับ 600 เมกกะปาสคาล (0.3%GDL/600 MPa) มีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ ชุดการทดลองเลียนแบบ และชุดการทดลองที่ให้ความดันระดับ 800 เมกกะปาสคาล จากนั้นผ่านความร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30

นาที (800 MPa /heat) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนร่วมกับความดันสูงมีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาได้น้อยกว่าการใช้ความร้อน (ชุดเลียนแบบทางการค้า) หรือการใช้ความดันเพียงอย่างเดียว (0.3%GDL/600 MPa) ดังนั้นการใช้ความร้อนร่วมกับความดันจะช่วยเร่งอัตราการยับยั้งจุลินทรีย์ (Farkas and Hoover, 1999) การทำให้อุณหภูมิของอาหารสูงขึ้นหรือต่ำกว่าอุณหภูมิห้องในระหว่างการให้ความดันสูง สามารถเพิ่มอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยอุณหภูมิช่วง 45-50 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งจุลินทรีย์พวกที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (spoilage microbes) และพวกที่ทำให้เกิดโรค (pathogens) นอกจากนี้อุณหภูมิ 90-110 องศาเซลเซียส ร่วมกับความดันสูง 500-700 เมกกะปาสคาล สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ เช่น *C. botulinum* ได้ (Farkas and Hoover, 1999) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในเต้าหู้ทางการค้าพบว่าจุลินทรีย์ชนิดหลักๆ ที่พบ ได้แก่ Lactic acid bacteria, Enteric bacteria, *Pseudomonas species, Lactobacillus spp.* และ *Serratia liquefaciens* ซึ่งปนเปื้อนมาจากหลายๆ แหล่ง ได้แก่ ถั่วเหลือง น้ำล้าง สารตกตะกอน และภาชนะบรรจุเป็นต้น (Fouad and Hegeman, 1993) Tuitemwong และ Fung (1991) ศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ (microbial flora present) จำนวนเซลล์และค่าความเป็นกรดด่างของเต้าหู้จากร้านขายของชำ ในระหว่างการเก็บรักษานาน 30 วัน พบว่าการเสื่อมเสียของเต้าหู้อ่อนขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางกายภาพของเต้าหู้และจำนวน จุลินทรีย์เริ่มต้น โดยจุลินทรีย์ที่พบมาก ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวกพวก *Streptococcus sp., Pediococcus sp.* และ *Lactobacillus sp.* ส่วนแกรมลบได้แก่ *Pseudomonas putida, P. aeruginosa, Enterobacter agglomerans* และ *E. cloacae* Prestamo และคณะ (2000) ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาเต้าหู้ด้วยความดันสูง โดยนำเต้าหู้ทางการค้ามาให้ความดันสูงระดับ 400 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 5 30 และ 45 นาที พบว่า ที่เวลา 5 นาที จำนวนจุลินทรีย์ลดลง 0.31 log unit และ ที่เวลา 30 นาที ลดลง 1.56 log unit และเมื่อเพิ่มเวลาเป็น 45 นาที จำนวนจุลินทรีย์ลดลง 2.38 log unit แสดงให้เห็นว่าความดันสูงระดับ 400 เมกกะปาสคาล สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ แต่จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับช่วงเวลาในการให้ความดัน ซึ่งจุลินทรีย์ในเต้าหู้ส่วนใหญ่เป็นอยู่ในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ได้แก่ *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter intermedius, Hafnia alvei, Escherichia coli, Salmonella arizonae* กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Chryseomonas luteola, Flavobacterium meningosepticum, Pseudomonas aureofaciens* และกลุ่มแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus, Bacillus subtilis*

ตารางที่ 15 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน

Total plate count of soft tofu during storage at 10 ^{o}C for 15 days.

storage time (day)	Total Plate count (CFU/g.tofu)		
	0.3%GDL/600MPa	immitated soft tofu	800 MPa /heat
0	<10	<10	<10
3	<10	<10	<10
6	$3.16x10^{2\ a,A}$	$1.00x10^{2\ a,A}$	$1.99x10^{1\ a,A}$
9	$1.99x10^{3\ b,B}$	$3.98x10^{2\ ab,A}$	$3.16x10^{2\ b,A}$
12	$3.16x10^{4\ c,C}$	$5.01x10^{3\ ab,B}$	$7.94x10^{2\ c,A}$
15	$7.94x10^{4\ d,B}$	$3.16x10^{4\ b,B}$	$6.31x10^{3\ d,A}$

All values are the means from triplicate determinations.

The first and the second letters in the same column and the same row show significant differences among storage time and treatments, respectively ($p<0.05$).

- การตรวจสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัส

ตารางที่ 16 แสดงค่าทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ขณะเก็บรักษานาน 15 วัน พบว่า ค่าของคุณลักษณะด้านกลิ่นรสผิดปกติของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีค่าต่ำมาก แต่เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าค่ากลิ่นรสผิดปกติมีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 17) และชุดการทดลองที่มีค่าต่ำสุดคือ ชุดเลียนแบบ ชุด 14/800 MPa /heat และ 0.3%GDL/600 MPa มีค่าสูงขึ้นตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสของเต้าหู้ระหว่างการเก็บรักษาอาจจะเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ โดย Champagne และคณะ (1991) พบว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไม่พึงประสงค์ในเต้าหู้ คือ แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Serratia liquefaciens, Serratia sp., E. coli, Enterobacter sp., Klebsiella ozonae* เช่นเดียวกับรายงานของ Champagne และ Lange (1990 อ้างโดย วรวุฒิ โกยสมบัติ, 2536) กล่าวว่าแบคทีเรียสกุล *Enterobacteriaceae* สามารถผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนที่มีความสำคัญต่อการเกิดก๊าซที่ไม่พึงประสงค์ ซึ่งทำให้เกิดการบวมของภาชนะบรรจุและกลิ่นรสผิดปกติในเต้าหู้ นอกจากนี้อาจจะเป็นผลของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากปฏิกิริยา

ออกซิเดชั่นของสารให้กลิ่นรสรวมทั้งองค์ประกอบที่เป็นไขมันในเต้าหู้ ส่งผลทำให้กลิ่นรสผิดปกติมีค่าสูงขึ้น ส่วนคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสพบว่าชุดการทดลองที่มีค่าของคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสสูงที่สุด คือ ชุดเลียนแบบ รองลงมาคือ ชุด 0.3%GDL/600 MPa และ 14/800 MPa /heat ตามลำดับ และมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อย ($p<0.05$) ของทั้ง 3 ชุดการทดลองเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้น

ตารางที่ 16 ค่าทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสผิดปกติและเนื้อสัมผัสของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน

Sensorial values of off-flavor and texture of soft tofus during storage at 10 °C for 15 days.

Storage time (days)	off flavor			texture		
	800 MPa /heat	0.3%GDL/600 MPa	imitated commercial tofu	800 MPa /heat	0.3%GDL/600 MPa	imitated commercial tofu
0	$0.11^{a,B}$	$0.14^{a,B}$	$0.02^{a,A}$	$6.14^{c,A}$	$7.95^{f,A}$	$12.00^{d,B}$
3	$0.12^{a,B}$	$0.19^{b,C}$	$0.08^{a,A}$	$5.10^{b,A}$	$7.24^{e,B}$	$10.06^{c,C}$
6	$0.23^{b,B}$	$0.85^{c,C}$	$0.15^{ab,A}$	$5.01^{b,A}$	$7.15^{d,B}$	$9.37^{bc,C}$
9	$0.48^{c,B}$	$0.86^{c,C}$	$0.17^{ab,A}$	$4.96^{b,A}$	$6.68^{c,B}$	$9.20^{bc,C}$
12	$0.83^{d,B}$	$0.92^{d,C}$	$0.30^{b,A}$	$4.25^{a,A}$	$6.58^{b,B}$	$8.39^{b,C}$
15	$1.07^{e,B}$	$1.46^{e,C}$	$1.02^{c,A}$	$4.10^{a,A}$	$5.52^{a,AB}$	$6.25^{a,B}$

All values are the means from triplicate determinations.

The first and the second letters in the same column and the same row show significant differences among storage time and treatments, respectively ($p<0.05$).

ตารางที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ขณะเก็บรักษานาน 15 วัน พบว่า ค่าเฉลี่ยการยอมรับด้านกลิ่นรส เนื้อสัมผัสและการยอมรับรวมมีค่าลดลงเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ($p<0.05$) ขณะที่การยอมรับด้านลักษณะปรากฏมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งผลการทดสอบจะสอดคล้องกับการทดสอบด้านกลิ่นรสผิดปกติและเนื้อสัมผัสดังตารางที่ 16 ซึ่งพบว่าค่ากลิ่นรสผิดปกติที่เพิ่มขึ้นและค่าเนื้อสัมผัสที่ลดลงส่งผลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์ ภายหลังจากเก็บรักษาตัวอย่างไว้ครบ 15 วัน ผู้ทดสอบไม่ยอมรับเล็กน้อยสำหรับตัวอย่างเต้าหู้ 800 MPa/heat ขณะที่ตัวอย่าง 0.3%GDL/600MPa มีการยอมรับอยู่ในระดับเฉยๆ ส่วนตัวอย่างชุดเลียนแบบเต้าหู้อ่อนทางการค้าได้รับการยอมรับในระดับปานกลาง

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบรวมของเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองต่างๆ ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส, 15 วัน

Mean acceptability scores of appearance, flavor, texture and overall acceptance of soft tofus during storage at 10 °C, 15 days.

Storage time (days)	treatment	Mean scores			
		appearance	flavor	texture	overall acceptance
0	0.3%GDL/600 MPa	8.63^{b,B}	7.38^{b,F}	7.79^{b,F}	7.39^{b,B}
	800 MPa/heat	7.71^{a,C}	6.16^{a,F}	7.49^{a,F}	6.98^{a,F}
	imitated commercial tofu	8.85^{c,B}	8.95^{c,F}	8.88^{c,F}	8.85^{c,F}
3	0.3%GDL/600 MPa	7.55^{b,AB}	6.82^{b,E}	7.66^{b,E}	7.34^{b,B}
	800 MPa/heat	7.11^{a,BC}	5.79^{a,E}	6.67^{a,E}	6.95^{a,E}
	imitated commercial tofu	8.22^{c,AB}	8.47^{c,E}	8.30^{c,E}	8.60^{c,E}
6	0.3%GDL/600 MPa	7.00^{b,A}	6.67^{b,D}	7.16^{b,D}	7.00^{b,B}
	800 MPa/heat	6.92^{a,BC}	5.40^{a,D}	6.05^{a,D}	5.94^{a,D}
	imitated commercial tofu	8.01^{c,AB}	7.71^{c,D}	7.73^{c,D}	8.27^{c,D}
9	0.3%GDL/600 MPa	6.67^{b,A}	6.37^{b,BC}	6.87^{b,BC}	6.44^{b,AB}
	800 MPa/heat	6.10^{a,AB}	5.02^{a,C}	5.96^{a,C}	5.27^{a,C}
	imitated commercial tofu	7.87^{c,AB}	7.02^{c,C}	7.48^{c,C}	7.67^{c,C}
12	0.3%GDL/600 MPa	6.53^{b,A}	6.33^{b,B}	6.71^{b,B}	6.32^{b,AB}
	800 MPa/heat	6.00^{a,AB}	4.82^{a,B}	5.74^{a,B}	5.22^{a,B}
	imitated commercial tofu	7.06^{c,A}	7.01^{c,B}	7.28^{c,B}	7.42^{c,B}
15	0.3%GDL/600 MPa	6.47^{b,A}	4.81^{b,A}	5.58^{b,A}	5.09^{b,A}
	800 MPa/heat	5.08^{a,A}	4.76^{a,A}	4.01^{a,A}	4.77^{a,A}
	imitated commercial tofu	7.00^{c,A}	6.38^{c,A}	7.25^{c,A}	7.37^{c,A}

All values are the means from triplicate determination.

The first and the second letters in the same column show significant differences among treatment in the same day and storage time of the same treatments, respectively ($p<0.05$).