อันตรกริยาระหว่างกลิ่นรสและโปรตีน (Flavor-Protein Interactions)

อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์*
Inthawoot Suppavorasatit*

บทนำ

กลิ่นรสในอาหาร (flavor) ถือเป็นสิ่งสำคัญที่แสดงถึงคุณภาพของอาหาร และยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผู้บริโภคตัดสินใจเลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารนั้น โดยปริมาณของกลิ่นรสในอาหารที่ผู้บริโภครับรู้ได้ขณะรับประทานได้รับอิทธิพลมาจากอันตรกริยา (interaction) ระหว่างสารให้กลิ่นรสและส่วนประกอบภายในอาหารนั้น เช่น ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน เป็นต้น โดยปัจจุบัน ความต้องการอาหารประเภทที่มีไขมัน และน้ำตาลสูงลดลง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้บริโภคที่สนใจดูแลสุขภาพ ความต้องการบริโภคอาหารประเภทที่มีโปรตีนสูงจึงเพิ่มขึ้นเพื่อเป็นทางเลือกให้กับกลุ่มผู้บริโภคดังกล่าว [1] อย่างไรก็ตาม โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบในอาหารสามารถเกิดอันตรกริยากับสารให้กลิ่นรส และส่งผลให้ปริมาณกลิ่นรสที่ผู้บริโภคสามารถรับรู้ได้ขณะบริโภคลดลงหรือเปลี่ยนไปได้ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนเป็นได้ทั้งปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ (reversible) และผันกลับไม่ได้ (irreversible) ในบทความฉบับนี้ จะกล่าวถึงการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนในอาหารทั้งที่อยู่ในรูปความชื้นต่ำ (solid state) และอาหารที่เป็นของเหลว (liquid state) และเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการเกิดอันตรกริยา ซึ่งรวมถึงการใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาเชิงเปรียบเทียบกับผลการตรวจสอบโดยการใช้เครื่องมือ เปรียบเทียบการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนชนิดต่างๆ

การเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีน

ในอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ มักมีกลิ่นรสเฉพาะตัวของโปรตีนชนิดนั้นๆ เช่น เนื้อสัตว์ นม และไข่ กลิ่นรสเฉพาะตัวดังกล่าวเกิดจากปริมาณ และชนิดของกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ที่แตกต่างกันในอาหารชนิดนั้นๆ สำหรับในส่วนตัวของโปรตีนเองนั้น ไม่มีกลิ่นรสมากนัก แต่โปรตีนมีอิทธิพลต่อการรับรู้กลิ่นรสของอาหารขณะรับประทาน โดยโปรตีนสามารถเกิดอันตรกริยาหรืออาจเรียกว่าเกิดการจับกัน (binding) กับสารให้กลิ่นรสทั้งที่พึงประสงค์ (desirable flavor) และไม่พึงประสงค์ (undesirable flavor หรือ off-flavor) ได้ ซึ่งการเกิดการจับกันนี้ ทำให้กลิ่นรสโดยรวม (flavor profile) ของอาหารเปลี่ยนแปลงไป และอาจทำให้ผู้ผลิตอาหารประเภทโปรตีนสูงมีปัญหาในการเลือกชนิด และปริมาณของสารให้กลิ่นรสที่จะเติมลงไปในอาหารนั้นๆ เนื่องจากไม่สามารถคาดเดาปริมาณที่เหมาะสมที่จะเติมลงไปให้พอดีได้ [2-3] นมปรุงแต่งกลิ่นรส ถือเป็นตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่เกิดปัญหาจากการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสที่เติมลงไปและโปรตีนในนม โดยปัญหาดังกล่าวเกิดขึ้นเมื่อมีการเติมสารให้กลิ่นรสลงในนมแล้ว สารให้กลิ่นรสนั้นจะจับหรือทำปฏิกิริยากับโปรตีนในนม ทำให้ไม่หลงเหลือสารให้กลิ่นรสอิสระ (free flavor compound) ในระบบ กลิ่นของสารให้กลิ่นรสนั้นๆ จึงจางลง หรือหายไป ซึ่งปัญหาที่เกิดขึ้นนี้อุตสาหกรรมอาหารส่วนใหญ่แก้ไขโดยการเติมสารให้กลิ่นรสลงไปในอาหารนั้นๆ จนเกินพอ เพื่อให้มีสารให้กลิ่นรสอิสระเหลือรอดจากการเกิดอันตรกริยากับโปรตีนในอาหาร ผู้บริโภคจึงจะรับรู้ถึงกลิ่นรสที่เติมลงไปในอาหารชนิดนั้นได้

การจับกันของสารให้กลิ่นรสและโปรตีนนั้น สามารถเกิดขึ้นขณะโปรตีนจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้าง 3 มิติ (three-dimensional structure) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของโปรตีนในระดับใดก็ตามที่ส่งผลต่อโครงสร้าง 3 มิติ ก็จะส่งผลต่อสมบัติการจับกันของสารให้กลิ่นรสและโปรตีนด้วยเช่นเดียวกัน [4] การเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนภายในโครงสร้างของโปรตีน หรือแม้แต่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตัวกรดอะมิโนเอง มีผลอย่างยิ่งยวดต่ออันตรกริยาของสารให้กลิ่นรสและโปรตีน โดยการศึกษาเกี่ยวกับการจับกันของสารให้กลิ่นรสและโปรตีนส่วนมาก จะศึกษาลงลึกถึงระดับโครงสร้างโมเลกุลของสารให้กลิ่นรสและโปรตีนว่าจับกันในลักษณะใด แต่การเปรียบเทียบผลของการศึกษาดังกล่าวทำได้ยาก รวมถึงนำผลของการศึกษามาเชื่อมโยงกันได้น้อย เนื่องจากมีความแตกต่างกันหลายด้าน เช่น ชนิดของโปรตีน และสารให้กลิ่นรส สภาวะที่ใช้ในการศึกษา [5]

Inthawoot.s@chula.ac.th
*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

โดยทั่วไป ชนิดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนขึ้นอยู่กับธรรมชาติของโปรตีน และสารให้กลิ่นรส ซึ่งสามารถเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ (ปฏิกิริยาทางเคมีกายภาพ; physicochemical) และผันกลับไม่ได้ (ปฏิกิริยาทางเคมี; chemical) [3, 5] ปฏิกิริยาแบบผันกลับได้นั้น เกิดจากการที่โปรตีนกับสารให้กลิ่นรสจับกันด้วยพันธะที่ไม่แข็งแรงมาก เช่นพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) พันธะไฮโดรโฟบิค (hydrophobic interaction) และพันธะไอออนิค (ionic bond) เป็นต้น ส่วนปฏิกิริยาแบบผันกลับไม่ได้ เกิดเนื่องจากการที่สารให้กลิ่นรสที่ในโครงสร้างประกอบด้วยหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group) เช่นอัลดีไฮด์ (aldehyde) และคีโตน (ketone) สามารถสร้างพันธะโควาเวนต์ (covalent bond) กับหมู่เอมีน (amide side chain) ในโมเลกุลของโปรตีนหรือสามารถเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าเกิดชิฟฟ์เบส (Schiff-bases) [5-9] ดังแสดงใน Figure 1 [10] ซึ่งหากเกิดปฏิกิริยาแบบผันกลับไม่ได้ระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนในอาหารชนิดใดแล้ว จะทำให้เกิดปัญหากลิ่นรสของสารให้กลิ่นรสที่เติมลงไปจางลง (flavor fade) หรืออาจเกิดเนื่องจากสารให้กลิ่นรสเหล่านี้ไม่ถูกปลดปล่อยออกมาให้ผู้บริโภครับรู้ได้ขณะรับประทาน การศึกษาให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว จะช่วยให้เข้าใจถึงปัญหาและสามารถแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นได้ไม่ว่าจะเป็นอาหารที่อยู่ในรูปความชื้นต่ำหรืออาหารที่เป็นของเหลว [9]

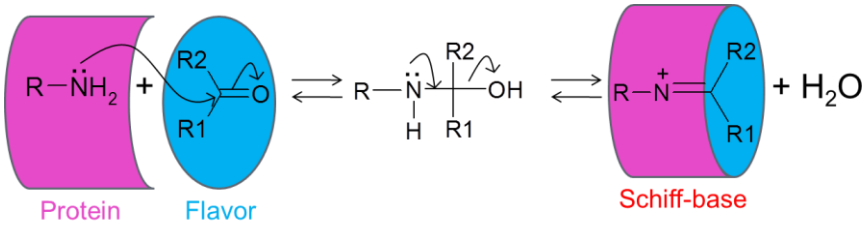

Figure 1 Schematic diagram represents the formation of Schiff-base from amide side chain of protein and carbonyl group of flavor compounds, adapted from [10]

การเกิดอันตรกริยาในอาหารที่มีความชื้นต่ำ

โปรตีนถือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญชนิดหนึ่งในอาหารที่มีความชื้นต่ำหลายชนิด เช่นผลิตภัณฑ์ขนมอบและ ธัญพืชอัดแท่ง (cereal bar) เป็นต้น ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนในอาหารที่มีความชื้นต่ำจึงถือว่ามีความสำคัญ เนื่องจากอาหารที่มีความชื้นต่ำมักจะมีอายุการเก็บที่ยาวนาน ซึ่งการเกิดอันตรกริยาที่เกิดขึ้นนี้ แม้ว่าจะเกิดได้ช้า แต่ถ้าต้องเก็บเป็นเวลานานก็จะทำให้อาหารชนิดนั้นๆ เกิดการเสื่อมเสีย และไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้ โดยสารให้กลิ่นรส (ไม่ว่าเป็นชนิดที่ให้กลิ่นพึงประสงค์ หรือไม่พึงประสงค์ก็ตาม) สามารถแทรกซึมเข้าไปในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความชื้นต่ำได้โดยเกิดจากกระบวนการดูดซับ (adsorption process) สารให้กลิ่นโดยโปรตีนในอาหารซึ่งทำให้กลิ่นที่ถูกดูดซับไว้มีความเจือจางลงนั่นเอง [11]

ค่าความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (relative humidity, RH) ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่ออายุการเก็บของอาหารที่มีความชื้นต่ำ โดยเมื่อความชื้นแพร่เข้าไปในตัวอาหารจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติการกักเก็บ (retention) และการปลดปล่อย (release) สารให้กลิ่นรสในระบบของอาหารนั้นๆ [12] ดังนั้น การที่จะช่วยควบคุมและรักษาให้อาหารที่มีความชื้นต่ำมีกลิ่นรสที่พึงประสงค์ตลอดอายุการเก็บรักษา จะต้องควบคุมสภาวะในการเก็บให้ดีด้วยเช่นกัน

การศึกษาการดูดซับสารให้กลิ่นโดยโปรตีนในอาหารที่มีความชื้นต่ำนั้น ส่วนใหญ่จะใช้อุณหพลศาสตร์ (thermodynamics) เป็นเครื่องมือในการอธิบาย โดย Aspelund และ Wilson [2] อธิบายการดูดซับสารให้กลิ่นรสไม่พึงประสงค์ต่างๆ โดยโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลือง (soy protein isolate, SPI) ว่าสารให้กลิ่นรสกลุ่มที่เป็นไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) จับกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองด้วยพันธะที่มีแรงปฏิกิริยาต่ำที่สุด ในขณะที่สารกลุ่มแอลกอฮอล์ (alcohol) จับกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองด้วยพันธะที่แข็งแรงที่สุด เมื่อเทียบกับสารกลุ่มอื่นๆ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน และเมทธิลเอสเทอร์ (methyl ester) ซึ่งจะเห็นได้ว่า หมู่ฟังก์ชัน (functional group) ของสารให้กลิ่น

Inthawoot.s@chula.ac.th
*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

รสมีอิทธิพลโดยตรงต่อการจับกับโปรตีนในสภาวะที่มีความชื้นต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าพลังงานที่ใช้ในการขับเคลื่อนปฏิกิริยาการดูดซับนี้ คือเอนทาลปี (enthalpy of adsorption) โดยแรงในการจับกันของโปรตีนและสารให้กลิ่นรสในสภาวะที่มีความชื้นต่ำนี้เกิดจากพันธะไฮโดรเจน และแรงวานเดอร์วาลส์ (van der Waals forces) [2, 13]

กลุ่มวิจัยของ Cadwallader และคณะ [14-16] ศึกษาปฏิกิริยาการจับกันระหว่างสารให้กลิ่นรสและ SPI โดยใช้เทคนิคอินเวิร์สแก๊สโครมาโทกราฟี (inverse gas chromatography, IGC) ในสภาวะควบคุมค่า RH พบว่าเมื่อค่า RH เพิ่มขึ้น แรงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารให้กลิ่นรส (1-hexanol และ hexanal) และ SPI มีค่าลดลง เนื่องจากโมเลกุลของน้ำแย่งโมเลกุลของสารให้กลิ่นรสจับกับที่บริเวณพื้นผิวของโมเลกุลของ SPI นอกจากนี้ยังพบว่าสารให้กลิ่นรสที่ไม่มีขั้ว (non-polar flavor compound) เช่นกลุ่มไฮโดรคาร์บอน จับกับโมเลกุลโปรตีนด้วยพันธะที่ไม่เจาะจง (non-specific) เช่นแรงวานเดอร์วาลส์ ส่วนสารให้กลิ่นรสที่มีขั้วมากขึ้น (เอสเทอร์ อัลดีไฮด์ คีโตน และแอลกอฮอล์) จะจับกับโมเลกุลโปรตีนด้วยพันธะทั้งที่เจาะจง (specific) เช่นพันธะไฮโดรเจน และแรงไดโพล (dipole force) และไม่เจาะจง ซึ่งผลที่ได้มานี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ Aspelund และ Wilson รายงานไว้ [2]

การเกิดอันตรกริยาในอาหารที่เป็นของเหลว

การเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสในอาหารที่มีโปรตีนสูงและอยู่ในสภาวะของเหลว เป็นที่สนใจศึกษาในหมู่นักวิจัยเป็นจำนวนมาก เนื่องจากอาหารประเภทนี้ เช่นนมสด นมเปรี้ยว และนมถั่วเหลือง มีความสามารถจับกับสารให้กลิ่นรสทั้งที่เป็นสารให้กลิ่นรสที่พึงประสงค์และไม่พึงประสงค์ หากจับกับสารให้กลิ่นรสไม่พึงประสงค์ เช่นนมสดดูดกลืนกลิ่นพลาสติกเอาไว้ จะทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับในตัวผลิตภัณฑ์ได้ หรือนมถั่วเหลืองดูดซับกลิ่นถั่วเอาไว้ในช่วงแรก หากบริโภคในช่วงนี้อาจจะไม่ได้รับกลิ่นถั่วที่แรง แต่หากเก็บไว้อีกระยะเวลาหนึ่ง กลิ่นถั่วนี้จะถูกปลดปล่อยออกมา และทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นถั่วแรงขึ้น ซึ่งถือเป็นกลิ่นรสไม่พึงประสงค์สำหรับผู้บริโภคบางกลุ่ม เช่นชาวยุโรปและชาวอเมริกัน [17]

การศึกษาการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนในสภาวะของเหลว มีทั้งการศึกษาเฉพาะการเกิดอันตรกริยาในโปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่ง เช่นโปรตีนจากถั่วเหลือง [17-18] และโปรตีนจากนม [5, 19-20] หรือศึกษาเปรียบเทียบการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสชนิดใดชนิดหนึ่งกับโปรตีนหลายชนิด [21-22] ตัวอย่างเช่น เมื่อเปรียบความแรงของพันธะระหว่างสารให้กลิ่นรสวานิลลา (วานิลลิน, vanillin) กับโปรตีนจากถั่วเหลืองและจากนม ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate, SPI) เคซีน (casein) และโปรตีนเวย์ (whey protein) ด้วยเทคนิค equilibrium dialysis พบว่าวานิลลินจับกับโปรตีนเวย์ด้วยพันธะที่แรงที่สุดเทียบกับโปรตีนอีก 2 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่า พลังงานที่ใช้ในการขับเคลื่อนปฏิกิริยาการจับกันของวานิลลิน และโปรตีนจากนมคือ enthalpy of binding ซึ่งอาจเกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมู่คาร์บอนิล และหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ในโมเลกุลของวานิลลินกับโมเลกุลของโปรตีนนม ในขณะที่พลังงานที่ใช้ในการขับเคลื่อนปฏิกิริยาการจับกันของวานิลลินกับโปรตีนจากถั่วเหลืองคือเอนโทรปี (entropy of binding) [22] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Suppavorasatit และ Cadwallader [17] ที่ศึกษาการจับกันของวานิลลิน และโปรตีนถั่วเหลืองสกัดด้วยเทคนิคไมโครฟิลเทรชัน (microfiltration) รายงานเช่นเดียวกันว่าพลังงานที่ใช้ในการขับเคลื่อนปฏิกิริยาการจับกันของวานิลลินกับโปรตีนจากถั่วเหลืองคือเอนโทรปี และหากปรับโครงสร้างของโปรตีนด้วยวิธีดีแอมิเดชัน (deamidation) จะทำให้พลังงานในการขับเคลื่อนปฏิกิริยาเปลี่ยนจากเอนโทรปี เป็นขับเคลื่อนด้วยเอนทาลปี นอกจากนี้การรบกวนโครงสร้าง เช่นการให้ความร้อนเพื่อให้โครงสร้างโปรตีนเกิดการเสียสภาพ (protein denaturation) ส่งผลถึงการจับกับสารให้กลิ่นรสเช่นเดียวกัน [21] จะเห็นได้ว่าการจัดเรียงตัวของโครงสร้างโปรตีน (protein conformation) ที่แตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นชนิดของโปรตีนที่ต่างกัน การปรับโครงสร้างของโปรตีน หรือแม้กระทั่งการทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ ก็ส่งผลถึงกลไกการจับกับสารให้กลิ่นรส และพลังงานที่ใช้ในการขับเคลื่อนการจับกับสารให้กลิ่นรสได้

เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีน

การศึกษาการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนในระดับโมเลกุล (molecular study) สามารถทำได้หลากหลายรูปแบบไม่ว่าจะใช้เครื่องมือในการ

Inthawoot.s@chula.ac.th
*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

ตรวจสอบ หรือใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัส [5] การใช้เทคนิคในการตรวจสอบการเกิดอันตรกริยาโดยใช้เครื่องมือเป็นที่นิยมกันมายาวนาน แต่ผลการตรวจสอบที่ได้มานั้นไม่สามารถอธิบายได้ถึงการรับรู้กลิ่นรสเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารเข้าไปแล้ว ด้วยเหตุนี้ การใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัสเข้ามาร่วมในการตรวจสอบ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อที่จะเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจสอบโดยใช้เครื่องมือเข้ากับการรับรู้ของผู้บริโภคเข้าด้วยกัน [23]

เทคนิคดั้งเดิม (conventional techniques)

เทคนิคหลักที่นิยมใช้ในการศึกษาอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนนั้น มี 2 เทคนิคหลักคือ การใช้หลักการ static headspace และ equilibrium dialysis โดยทั้งสองเทคนิคนี้ทำที่ภาวะสมดุล (equilibrium) คือให้สารให้กลิ่นรสซึ่งเป็นสารระเหยระเหยออกมาอยู่ในชั้นอากาศเหนืออาหารจนอยู่ในภาวะสมดุล (ภายในภาชนะปิดสนิท) หรือละลายอยู่ในอาหารซึ่งอยู่ในรูปของเหลวจนอยู่ในภาวะสมดุลเช่นเดียวกัน จากนั้นจึงนำสารให้กลิ่นรสภายในอาหารโปรตีนสูงเหล่านั้นมาศึกษาต่อโดยใช้เครื่องมือต่อไป [5]

เทคนิค static headspace สามารถใช้ได้กับอาหารหลากหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นอาหารที่มีความชื้นต่ำหรืออยู่ในลักษณะของเหลว ซึ่งหลักการที่ใช้คือการวัดปริมาณสารให้กลิ่นที่ระเหยออกมาจากตัวอย่างอาหาร จนเข้าสู่ภาวะสมดุล คือไม่มีการระเหยของสารให้กลิ่นรสออกมาจากอาหารนั้น หรือไม่มีการแพร่ของสารให้กลิ่นรสเข้าไปในตัวอาหารแล้ว (เข้าสู่ภาวะสมดุล) จากนั้นดึงตัวสารให้กลิ่นรสที่อยู่ในรูปของแก๊สเหนืออาหารออกมาวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณโดยเทคนิคแก๊สสเปคโทรเมทรี (gas spectrometry, GC) โดยเปรียบเทียบกับชนิดและปริมาณแก๊สเหนือตัวอย่างควบคุม (control sample) ซึ่งอาจจะประกอบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (buffer) และสารให้กลิ่นรสที่ต้องการศึกษาเท่านั้น [23-25] ในการศึกษาด้วยเทคนิค static headspace นี้ นอกจากจะดึงเอาส่วนของแก๊สเหนือตัวอย่างอาหารมาศึกษาโดยตรงแล้ว ยังสามารถเลือกใช้เทคนิคอื่นเข้ามาผสมผสานร่วมด้วยเช่นใช้เทคนิค solid-phase microextraction หรือ SPME โดยใช้ไฟเบอร์ซึ่งเคลือบด้วยสารพอลิเมอร์ (polymer) ชนิดที่สามารถดูดซับสารระเหยได้ ดูดซับสารให้กลิ่นที่ระเหยในชั้นอากาศเหนืออาหารมาศึกษา จากนั้นนำไฟเบอร์ไปปลดปล่อย (desorb) สารให้กลิ่นที่ระเหยได้ในเครื่อง GC ต่อไป [19, 27-28]

เทคนิค equilibrium dialysis เป็นการใช้เยื่อเลือกผ่านที่มีขนาดรูผ่านจำกัดเป็นตัวคัดแยกสารที่มีขนาดแตกต่างกันออกจากกัน โดยเทคนิคนี้ใช้ศึกษาอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนที่อยู่ในรูปของเหลวเท่านั้น วิธีการศึกษาทำโดยนำสารให้กลิ่นรสที่ต้องการศึกษาใส่ลงไปในสารละลายโปรตีน (หรืออาหารโปรตีนสูงที่อยู่ในสถานะของเหลว) จากนั้นนำไปใส่ไว้ในภาชนะที่มีการแบ่งส่วนไว้ด้วยเยื่อเลือกผ่าน โดยใส่ตัวอย่างที่ต้องการศึกษาไว้ด้านหนึ่ง อีกด้านหนึ่งบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งเป็นสารละลายชนิดเดียวกับที่ใช้ละลายโปรตีน ระหว่างนี้จะมีการเคลื่อนที่ของสารที่มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กกว่ารูเปิดบนเยื่อเลือกผ่าน ผ่านเข้า-ออกเยื่อเลือกผ่านตลอดเวลา จนเมื่อเข้าสู่ภาวะสมดุล คือไม่มีการเคลื่อนที่ของสารผ่านเข้าออก จึงนำสารละลายฝั่งที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์มาศึกษาต่อว่ามีสารให้กลิ่นรสผ่านเข้ามาในส่วนนี้ปริมาณมากน้อยเพียงใด เนื่องจากมีความเชื่อว่าหากสารให้กลิ่นรส ซึ่งตามปกติจะมีโมเลกุลเล็กกว่าเยื่อเลือกผ่านจับกับโปรตีนในอาหาร จะทำให้เกิดสารประกอบซึ่งมีขนาดใหญ่กว่ารูเปิดบนเยื่อเลือกผ่านนั้น และไม่สามารถเคลื่อนผ่านได้ ซึ่งในทางตรงกันข้าม หากสารให้กลิ่นรสไม่จับกับโปรตีน หรืออยู่ในรูปสารให้กลิ่นรสอิสระ (free flavor compound) จะสามารถเคลื่อนที่ผ่านรูเปิดได้ ทำให้รู้ว่าสารให้กลิ่นรสชนิดนั้นๆ เกิดปฏิริยากับโปรตีนชนิดที่เลือกมาศึกษาได้อย่างไร โดยสามารถนำสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีสารให้กลิ่นรสละลายอยู่ไปสกัดด้วยตัวทำละลาย แล้วนำไปตรวจสอบชนิดและปริมาณด้วยเครื่อง GC ต่อไป [5, 24] ซึ่งการใช้หลักการของ equilibrium dialysis นี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิคอื่นได้เช่นใช้เทคนิค microfiltration ร่วมด้วย โดยสามารถใช้ไมโครฟิลเตอร์ (micro filter) ที่มีขนาดรูเปิดตามต้องการเป็นตัวกรองสารที่มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กกว่าขนาดของรูเปิดจะไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปได้ ไม่ว่าจะใช้แรงเหวี่ยงจากการปั่นหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็วสูงก็ตาม โดยตัวอย่างวิธีการใช้เทคนิค microfiltration ในการศึกษาอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนแสดงใน Figure 2 [17]

Inthawoot.s@chula.ac.th
*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

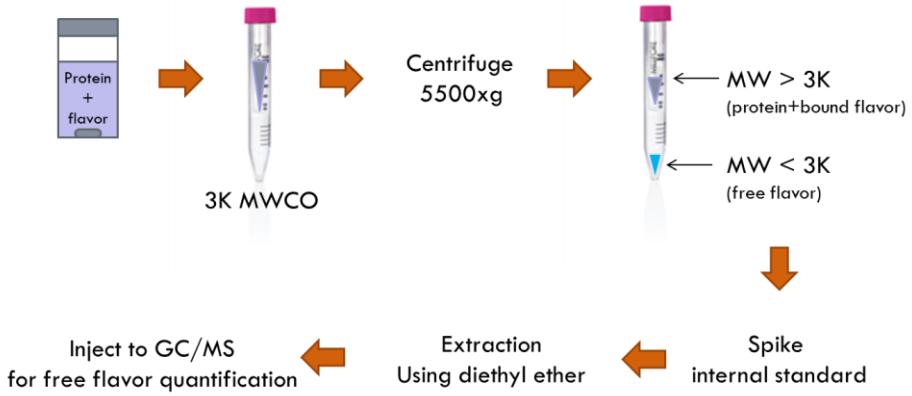

Figure 2 Flow diagram for isolation and quantification of free flavor compounds [17]

เทคนิคอินเวิร์สแก๊สโครมาโทกราฟี (inverse gas chromatography, IGC)

เทคนิคนี้ แต่เดิมใช้ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของพื้นผิวของของแข็งโดยใช้หลักการศึกษาการดูดซับแก๊สบนพื้นผิวของของแข็งดังกล่าวด้วยวิธีโครมาโทกราฟี การใช้ IGC ในการศึกษาการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนจึงเหมาะสมสำหรับศึกษาอาหารในสภาวะความชื้นต่ำ หรือศึกษาในโปรตีนที่เป็นผงแห้ง ซึ่งการใช้ IGC ศึกษาการเกิดอันตรกริยานั้น ทำได้โดยบรรจุผงโปรตีนหรืออาหารที่มีความชื้นต่ำ (บดเป็นผงและร่อนให้มีขนาดอนุภาคเท่ากันแล้ว) ที่ต้องการศึกษาลงในคอลัมน์ที่ทำจากแท่งแก้วกลวงซึ่งผ่านการลดความเป็นขั้วลงแล้ว (deactivated glass tube) จากนั้นนำไปประกอบในเครื่อง GC แทนคอลัมน์ที่ใช้โดยปกติ แล้วศึกษาการเกิดอันตรกริยากับสารให้กลิ่นรสโดยฉีดสารให้กลิ่นรสที่รู้ชนิดและปริมาณแน่นอนลงไปในเครื่อง GC ตามปกติ สารให้กลิ่นรสต่างชนิดกันจะเคลื่อนที่ผ่านโปรตีนหรืออาหารที่มีความชื้นต่ำนั้นๆ ด้วยความเร็วที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับอัตราการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีน เมื่อสารให้กลิ่นรสเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์เข้าสู่เครื่องตรวจจับ (detector) ก็จะทราบเวลา (retention time) ที่สารให้กลิ่นรสแต่ละชนิดเดินทางผ่านโปรตีนหรืออาหารความชื้นต่ำนั้นๆ ซึ่งสามารถนำมาคำนวณและใช้อธิบายการเกิดอันตรกริยาได้ด้วยอุณหพลศาสตร์ [14-16, 29]

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

การทดสอบทางประสาทสัมผัสสามารถใช้เชื่อมโยงข้อมูลที่ได้จากการศึกษาโดยการใช้เครื่องมือในการตรวจวัดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีน ในการศึกษาโดยใช้เครื่องมือนั้นส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาในรูปแบบของโมเดลที่สร้างขึ้นมาเลียนแบบอาหาร ซึ่งไม่สามารถอธิบายถึงผลกระทบของการจับกันของสารให้กลิ่นรสและโปรตีนในระบบของอาหารที่แท้จริงได้ นอกจากนี้การทดสอบทางประสาทสัมผัสยังใช้ในการปรับปรุงสูตรอาหารที่ผลิตออกมาให้ได้รับความพึงพอใจสูงสุดจากผู้บริโภคได้อีกด้วย [5, 30-31] แต่อย่างไรก็ตามการใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัสให้ได้ประสิทธิภาพ และมีความแม่นยำสูงสุด จะต้องใช้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ผ่านการฝึกฝนมาอย่างดีจนมีความเชี่ยวชาญในอาหารที่ทดสอบ ซึ่งการฝึกฝนนั้นต้องใช้งบประมาณสูงและเวลานานมาก [5]

วิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ใช้กันมากในการศึกษาเกี่ยวกับกลิ่นรสในอาหารคือการดม (sniffing) ซึ่งถือเป็นการประเมินผลของกลิ่นในอาหาร (odor) โดยเป็นการวัดความแรงของกลิ่น (intensity) ที่ได้รับจากกลิ่นรสที่ระเหยออกมาจากอาหารและอิ่มตัวอยู่บริเวณเหนือพื้นผิวของอาหารชนิดนั้นๆ Zhou และคณะ [30] ศึกษาผลของการจับกันระหว่างสารให้กลิ่นรสเนย (diacetyl และ butyric acid) และโปรตีนในแครกเกอร์เสริมโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยเปรียบเทียบผลที่ได้จากการใช้ IGC และการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยการดม และพบว่าเมื่อเสริมโปรตีนจากถั่วเหลืองลงในแครกเกอร์ ทำให้ผู้บริโภครับรู้กลิ่นรสเนยในผลิตภัณฑ์โดยการดมได้ลดลง ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดสอบโดยใช้เครื่องมือ นอกจากนี้ Suppavorasatit และคณะ [31] ใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบผลของการปรับปรุงโครงสร้างของโปรตีนต่อสมบัติการจับกันกับวานิลลิน และ

Inthawoot.s@chula.ac.th
*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

มอลทอล (maltol) ซึ่งพบว่าผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส (ด้วยการดม) ให้ผลสอดคล้องกับการตรวจสอบอันตรกริยาระหว่างวานิลลิน และมอลทอลกับโปรตีนในนมถั่วเหลืองเช่นเดียวกัน [17] โดยพบว่าสารให้กลิ่นรสทั้งวานิลลา และมอลทอล ที่เติมลงในนมถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับปรุงโครงสร้างของโปรตีนโดยวิธีดีแอมิเดชันเพื่อให้ผู้บริโภคสามารถรับรู้กลิ่นได้ (odor detection threshold) นั้น มีปริมาณน้อยกว่าปริมาณสารให้กลิ่นรสที่เติมลงในนมถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงโครงสร้างของโปรตีน

นอกจากการทดสอบอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนจะใช้เทคนิคและวิธีการที่กล่าวไว้ข้างต้นแล้วยังมีการใช้เทคนิคอื่นๆ เพื่อช่วยอธิบายกลไกการเกิดอันตรกริยาได้ชัดเจนยิ่งขึ้น เช่น การใช้เทคนิคสเปคโทรสโคปี (spectroscopy) ซึ่งสามารถให้ข้อมูลเพิ่มเติมด้านโครงสร้างของสารประกอบที่เกิดขึ้นหลังทำปฏิกิริยาได้ การทราบโครงสร้างของสารประกอบที่เกิดขึ้นนี้ สามารถใช้ในการคาดเดาลักษณะของพันธะที่เกิดขึ้นหลังจากเกิดอันตรกริยาได้เช่นเดียวกัน เทคนิคทางสเปคโทรสโคปีที่ใช้กันมาก คือ fluorescence spectroscopy, nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy และ Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy เป็นต้น [32]

การเปรียบเทียบการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนชนิดต่างๆ

ในการที่จะเปรียบเทียบการเกิดอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนชนิดต่างๆ จะต้องมีตัวแปร (parameter) ที่ใช้ในการเปรียบเทียบอันตรกริยาดังกล่าว ซึ่งตัวแปรที่ใช้เปรียบเทียบส่วนใหญ่ประกอบด้วย จำนวนของพื้นที่ที่โปรตีนจับกับสารให้กลิ่นรส (number of binding site, n) ค่าคงที่ของการจับกัน (binding constant, K) และค่าพลังงานต่างๆ ที่คำนวณได้ด้วยกระบวนการทางอุณหพลศาสตร์ ซึ่งได้แก่ค่าพลังงานอิสระที่ใช้ในการจับกัน (free energy of binding, ΔG) ค่าเอนทาลปีของการจับกัน (enthalpy of binding, ΔH) และค่าเอนโทรปีของการจับกัน (entropy of binding, ΔS) เป็นต้น [24, 32] โดยจำนวนพื้นที่ที่โปรตีนจับกับสารให้กลิ่นรส และค่าคงที่การจับกันสามารถหาได้จากการพลอตกราฟ ชนิดใดชนิดหนึ่งระหว่าง Scatchard plot และ Klotz plot ซึ่งรายละเอียดของการพลอตแสดงใน Table 1 [32] เมื่อค่า υ คือจำนวนโมลของสารให้กลิ่นรสที่ถูกจับต่อจำนวนโมลของโปรตีนทั้งหมด ค่า [L] คือความเข้มข้นของสารให้กลิ่นรส

Table 1 Equations and parameters commonly used in flavor-protein interaction studies [32]

Equation	Plot	Binding constant (*K*)	Number of binding sites (*n*)
Scatchard plot			
$\frac{\upsilon}{[L]} = Kn - K\upsilon$	$\frac{\upsilon}{[L]}$ vs υ	Slope = *-K*	y-intercept = *nK*
Klotz plot			
$\frac{1}{\upsilon} = \frac{1}{n} + \frac{1}{Kn[L]}$	$\frac{1}{\upsilon}$ vs $\frac{1}{[L]}$	Slope = $\frac{1}{Kn}$	y-intercept = $\frac{1}{n}$

Table 2 แสดงค่าตัวแปรที่เกิดจากการอันตรกริยาระหว่างสารให้กลิ่นรสบางชนิดซึ่งเป็นสารในกลุ่มอัลดีไฮด์และคีโตนกับโปรตีนชนิดต่างๆ จะเห็นได้ว่าค่าตัวแปรต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นค่า n, K หรือ ΔG มีค่าหลากหลาย อาจจะใกล้เคียงกันหรือแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ในการศึกษา ชนิดของโปรตีน ชนิดของสารให้กลิ่นรส หรือแม้แต่สภาวะในการทดลอง การเปรียบเทียบส่วนใหญ่ จึงเป็นการเปรียบเทียบกันแบบเป็นแนวโน้มแทนที่จะเป็นการเปรียบเทียบอย่างเฉพาะเจาะจงกับสารให้กลิ่นรสชนิดหนึ่งที่ทำปฏิกิริยากับโปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่งไปเลย เวลาที่เราจะเปรียบเทียบค่าต่างๆ นั้น จึงต้องพิจารณาหลายๆ ปัจจัยประกอบไปพร้อมๆ กัน เช่น หากต้องการเปรียบเทียบการเกิดอันตรกริยาของสารให้กลิ่นรสชนิดต่างๆ ต่อโปรตีน การเปรียบเทียบนั้น จะต้องทำโดยการกำหนดชนิดของโปรตีนไว้ แล้วเปรียบเทียบเฉพาะชนิดของกลิ่นรส ซึ่งจะต้องเปรียบเทียบเฉพาะกับที่มีสภาวะการทดลองใกล้เคียงกันด้วยเท่านั้น [32]

Inthawoot.s@chula.ac.th
*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

Table 2 Binding parameters for selected flavor compounds (aldehydes and ketones) with various food proteins, adapted from [9]

Protein [a]	Flavor compound	n [b]	K [b]	ΔG [b]	Tech.[c]	T (K)	Ref [d]
SPI	2-Heptanone	4	110	-2781	1	298	[32]
	2-Octanone	4	310	-3395	1	298	[32]
	2-Nonanone	4	930	-4045	1	298	[32]
	5-Nonanone	4	541	-3725	1	298	[32]
	Hexanal	-	-	-825	2	363	[2]
	Hexanal	-	-	-1386	2	313	[14]
	Nonanal	4	1094	-4141	1	298	[32]
	Vanillin	3.18	683.5	-3696	1	285	[22]
	Vanillin	0.48	$1.86x10^6$	-8540	1	298	[17]
	Maltol	3.27	$9.25x10^5$	-8130	1	298	[17]
Casein	Vanillin	0.66	352.66	-3322	1	285	[22]
WPI	2-Nonanone	1.1	370		4	-	[20]
	Vanillin	0.67	1713.04	-4217	1	285	[22]
WPC	Heptanone	0.24	$4x10^7$	-	3	310	[34]
	Octanone	0.21	$4.5x10^7$	-	3	310	[34]
	2-Nonanone	8	130	-	4	-	[20]
	Benzaldehyde	0.2	$3.7x10^7$	-	3	310	[34]
β-lacto-	2-Heptanone	-	150	-2980	1	-	[35]
globulin	2-Octanone	-	480	-3660	1	-	[35]
	2-Nonanone	-	2440	-4620	1	-	[35]
	2-Nonanone	1.1	2700	-	4	-	[20]
	2-Nonanone	0.2	$5.3x10^7$	-	3	310	[34]
	Benzaldehyde	1	$6.3x10^6$	-	5	358	[36]
	Vanillin	1	17000	-	6	-	[37]

[a] SPI = soy protein isolate, WPI = whey protein isolate, WPC = whey protein concentrate, BSA = bovine serum albumin

[b] n = number of binding sites, *K* = binding constant (M^{-1}), ΔG = free energy (cal/mol).

[c] Applied technique, 1 = equilibrium dialysis, 2 = IGC, 3 = headspace analysis, 4 = headspace-SPME, 5 = fluorescence spectroscopy, 6 = UV-VIS spectroscopy.

[d] references

บทสรุป

อาหารที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักสามารถเกิดอันตรกริยากับสารให้กลิ่นรสทั้งที่พึงประสงค์และไม่พึงประสงค์ ซึ่งการเกิดการจับกันของสารให้กลิ่นรสและโปรตีนนี้อาจจะก่อให้เกิดผลดี หรือผลเสียตามมากับตัวผลิตภัณฑ์ก็เป็นได้ ทั้งนี้การศึกษาว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบได้ และมีกลไกการเกิดอย่างไร จะช่วยให้ผู้ผลิตอาหารประเภทที่มีโปรตีนสูงทั้งแบบที่อยู่ในรูปอาหารความชื้นต่ำหรือเป็นของเหลว ให้สามารถเข้าใจและสามารถนำไปปรับปรุงสูตรการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะของกลิ่นรสตามต้องการได้ ซึ่งการเรียนรู้เกี่ยวกับการจับกันระหว่างสารให้กลิ่นรสและโปรตีนนี้ ถือเป็นประโยชน์ต่อวงการอาหาร เพราะนอกจากจะเอื้อประโยชน์ให้กับผู้ผลิตแล้ว ยังส่งผลถึงผู้บริโภคทั้งในด้านรสชาติ กลิ่นรส และความปลอดภัยของอาหาร โดยเฉพาะกรณีที่จะต้องเติมแต่ง

Inthawoot.s@chula.ac.th

*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

สารให้กลิ่นรสลงไปมากจนเกินไป ซึ่งอาจส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคก็เป็นได้

เอกสารอ้างอิง

[1] Guichard, E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. Food Reviews International. 18: 49-70.

[2] Aspelund, T. G. and Wilson, L. A. (1983). Adsorption of off-flavor compounds onto soy protein: A thermodynamic study. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 31: 539-545.

[3] Preininger, M. (2006). Interactions of flavor components in foods. In A. G. Gaonkar (ed.). Ingredient Interactions Effects on Food Quality (2nd ed.). pp 477-542. Florida: CRC Press.

[4] Plug, H. and Haring, P. (1993). The role of ingredient-flavour interactions in the development of fat-free foods. Trends in Food Science and Technology. 4: 150-152.

[5] Kühn, J., Considine, T. and Singh, H. (2006). Interactions of milk proteins and volatile flavor compounds: implications in the development of protein foods. Journal of Food Science. 71: R72-R80.

[6] Damodaran, S. (1996). Amino acids, peptides, and proteins. In O. R. Fennema (ed.). Food Chemistry (3rd ed.). pp 321-429. Florida: CRC Press.

[7] Mottram, D. S., Szauman-Szumski, C. and Dodson, A. (1996). Interaction of thiol and disulfide flavor compounds with food components. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44: 2349-2351.

[8] Meynier, A., Rampon, V., Dalgalarrondo, M. and Genot, C. (2004). Hexanal and t-2-hexanal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution. International Dairy Journal. 14: 681-690.

[9] Suppavorasatit, I. (2012). Deamidation of soy protein by protein-glutaminase: Process evaluation and effect of deamidation on protein functional properties and flavor-protein interactions. Ph.D. dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, U.S.A.

[10] Stryer, L. (1981). Biochemistry (2nd ed.). New York: W. H. Freeman and Company.

[11] Hau, M. Y. M., Gray, D. A. and Taylor, A. J. (1998). Binding of volatiles to extruded starch at low water contents. Flavour and Fragrance Journal. 13: 77-84.

[12] Kinsella, J. E. (1989). Flavor perception and binding to food components. In D. Min and T. Smouse (eds.). Flavor Chemistry of Lipid Foods. pp 376-403. Illinois: American Oil Chemists' Society.

[13] Wilson, L. A. (1985). Flavor binding and the removal of flavors from soybean protein. In R. Shibles (ed.). World Soybean Research Conference III: Proceedings. pp 158-165. Colorado: Westview Press, Inc.

[14] Zhou, Q. and Cadwallader, K. R. (2004). Inverse gas chromatographic method for measurement of interactions

Inthawoot.s@chula.ac.th

*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

between soy protein isolate and selected flavor compounds under controlled relative humidity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 6271-6277.

[15] Zhou, Q. and Cadwallader, K. R. (2006). Effect of flavor compound chemical structure and environmental relative humidity on the binding of volatile flavor compounds to dehydrated soy protein isolates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 1838-1843.

[16] Zhou, Q. and Cadwallader, K. R. (2008). Measurement of flavor-soy protein interactions in low-moisture solid food systems by inverse gas chromatography. In H. Tamura, S. E. Ebeler, K. Kubota and G. R. Takeoka (eds.). Food Flavor: Chemistry, Sensory Evaluation, and Biological Activity. pp 45-54. Washington, DC: American Chemical Society.

[17] Suppavorasatit, I. and Cadwallader, K. R. (2012). Effect of enzymatic deamidation of soy protein by protein-glutaminase on the flavor-binding properties of the protein under aqueous conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60: 7817-7823.

[18] Zhou, A., Boatright, W. L., Johnson, L. A. and Reuber, M. (2002). Binding properties of 2-pentyl pyridine to soy protein as measured by solid phase microextraction. Journal of Food Science. 67: 142-145.

[19] Kühn, J., Considine, T. and Singh, H. (2008). Binding of flavor compounds and whey protein isolate as affected by heat and high pressure treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 10218-10224.

[20] Kühn, J., Zhu, X.-Q., Considine, T. and Singh, H. (2007). Binding of 2-nonanone and milk proteins in aqueous model systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 3599-3604.

[21] Gkionakis, G. A., Taylor, K. D. A., Ahmad, J. and Heliopoulos, G. (2007). The binding of the flavour of lactones by soya protein, amino acids and casein. International Journal of Food Science and Technology. 42: 165-174.

[22] Li, Z., Grün, I. U. and Fernando, L. N. (2000). Interaction of vanillin with soy and dairy proteins in aqueous model systems: a thermodynamic study. Journal of Food Science. 65: 997-1001.

[23] Reineccius, G. (2006). Quality control. In Flavor Chemistry and Technology (2nd ed.). pp 433-465. Florida: CRC Press.

[24] O'Neill, T. E. (1996). Flavor binding by food proteins: an overview. In K. Danner (ed.). ACS symposium series, American Chemical Society: Flavor-Food Interactions. pp 59-74. Washington: American Chemical Society.

[25] O'Keefe, S. F., Resurreccion, A. P., Wilson, L. A. and Murphy, P. A. (1991). Temperature effect on binding of volatile flavor compounds to soy protein in aqueous model systems. Journal of Food Science. 56: 802-806.

[26] O'Keefe, S. F., Wilson, L. A., Resurreccion, A. P. and Murphy, P. A. (1991).

Inthawoot.s@chula.ac.th

*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

Determination of the binding of hexanal to soy glycinin and β-conglycinin in an aqueous model system using headspace technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 39: 1022-1028.

[27] Gianelli, M. P., Flores, M. and Toldrá, F. (2005). Interaction of soluble peptides and proteins from skeletal muscle with volatile compounds in model systems as affected by curing agents. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 1670-1677.

[28] Jung, D. –M. and Ebeler, S. E. (2003). Headspace solid-phase microextraction method for the study of the volatility of selected flavor compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 200-205.

[29] Lozano, P. R. (2009). Investigation of single and competitive binding of volatile flavor compounds by soy proteins in low-moisture soy systems. Ph.D. dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, U.S.A.

[30] Zhou, Q., Lee, S.-Y. and Cadwallader, K. R. (2006). Inverse gas chromatographic evaluation of the influence of soy protein on the binding of selected butter flavor compounds in a wheat soda cracker system. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 5516-5520.

[31] Suppavorasatit, I., Lee, S. -Y. and Cadwallader, K. R. (2013). Effect of Enzymatic Protein Deamidation on Protein Solubility and Flavor Binding Properties in Soymilk. Journal of Food Science. 78(1): C1-C7.

[32] Suppavorasatit, I. and Cadwallader, K. R. (2010). Flavor-soy protein interactions. In K. R. Cadwallader and S. K. C. Chang (eds.). Chemistry, texture, and flavor of soy. pp. 339-359. American Chemical Society. Washington, DC.

[33] Damodaran, S. and Kinsella, J. E. (1981). Interaction of carbonyls with soy protein: Thermodynamic effects. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 29: 1249-1253.

[34] Liu, X., Powers, J. R., Swanson, B. G., Hill, H. H. and Clark, S. (2005). High hydrostatic pressure affects flavor-binding properties of whey protein concentrate. Journal of Food Science. 70: C581-C585.

[35] Schutte, L. and van den Ouweland, G. A. M. (1979). Flavor problems in the application of soy protein materials. Journal of the American Oil Chemists Society. 56: 289-290.

[36] Marin, I. and Relkin, P. (2000). Interaction properties of β-lactoglobulin and benzaldehyde and effect on foaming properties of β-lactoglobulin. Food Chemistry. 71: 401-406.

[37] Mikheeva, L. M., Grinberg, N. V., Grinberg, V. Ya. and Tolstoguzov, V. B. (1998). Effect of thermal denaturation on vanillin binding to some food proteins. Nahrung-Food. 42: 185-186.

Inthawoot.s@chula.ac.th

*อาจารย์ประจำ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

*Lecturer, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok