ผลของการงอกต่อการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ

นายศตวรรษ หาดอ้าน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effect of germination on increasing bioactive compounds in soy-adzuki milk product

Mr. Sattawat Hatan

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2020
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการงอกต่อการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ
โดย	นายศตวรรษ หาดอ้าน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดริษ กวักเพฑูรย์)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

.... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศานต์ เศรษฐชัยมงคล)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรภา คงเป็นสุข)

.... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิษฐิดา จันทราพรชัย)

ศตวรรษ หาดอ้าน : ผลของการงอกต่อการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ. (Effect of germination on increasing bioactive compounds in soy-adzuki milk product) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของภาวะเครียดต่อการงอกและการเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเพาะงอก และคัดเลือกน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้น ผลการวิจัยพบว่าระยะเวลาในการงอกส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีภายในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เช่น ปริมาณโปรตีนหยาบเพิ่มขึ้น ปริมาณไขมันหยาบลดลง และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเมล็ดเพิ่มขึ้น โดยระยะเวลาที่ดีที่สุดในการเพาะงอกถั่วเหลือง คือ 36 ชั่วโมง และถั่วอะซูกิ 30 ชั่วโมง ผลการให้ความเครียดเกลือจากการปรับสภาพถั่วอะซูกิก่อนเพาะงอก 30 ชั่วโมง ด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และความเครียดกรดจากการปรับสภาพถั่วอะซูกิก่อนเพาะงอกด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 52 มิลลิโมลาร์ ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วอะซูกิเพาะงอกชุดควบคุม แต่ไม่ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และการพัฒนาสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้งหมด 8 สูตร ด้วย mixture design ที่ได้จากการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองด้วยถั่วอะซูกิ และการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก พบว่าการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิ (อัตราส่วนร้อยละ 10-20) และการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก ส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำนมถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผสมน้ำนมถั่วอะซูกิ โดยการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองด้วยน้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 (อัตราส่วนผสมน้ำนมถั่วเหลือง:น้ำนมถั่วอะซูกิ:น้ำตาล คือ 75:20:5) และการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก ด้วยอัตราส่วนผสมน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก:น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก:น้ำตาล คือ 75:20:5 ส่งผลให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP สูงที่สุด เมื่อเทียบกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิในกลุ่มเดียวกัน และจากการเปรียบเทียบน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกสูตรที่มีอัตราส่วนผสม 75:20:5 (สูตรที่ 4) กับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 8) ในหน่วยบริโภคอ้างอิง 200 มิลลิลิตร พบว่าน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก สูตรที่ 8 มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP และคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ กลิ่นรสและรสชาติ เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต	
ปีการศึกษา	2563	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	

6072103523 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORD: germinated soybean, germinated adzuki bean, soy-adzuki milk, bioactive compound, antioxidant activity

Sattawat Hatan : Effect of germination on increasing bioactive compounds in soy-adzuki milk product. Advisor: Asst. Prof. KIATTISAK DUANGMAL, Ph.D.

This research aimed to investigate the effect of stress conditions on germination and increasing bioactive compound in germinated beans and to select soy-adzuki milk product containing high bioactive compounds and high antioxidant activities. The results showed that germination period caused a significant change in chemical compositions ($p \leq 0.05$), such as increasing crude protein content with decreasing crude fat content and increasing bioactive compounds. Germination time at 36 hr and 30 hr were the best period for soybean and adzuki bean germination, respectively. Compared to the control, the pretreatment with 50 mM sodium chloride (salinity stress) and 52 mM citric acid (acidity stress) before germination significantly increased the total phenolic content ($p \leq 0.05$). However, sodium chloride and citric acid pretreatment showed no significant increases in antioxidant activities ($p > 0.05$). The development of 8 formulas soymilk product using a mixture design, soy milk was partially substituted by adzuki milk (formula 2-4) using non-germinated soymilk (formula 1) as a control and soy-adzuki milk was substituted by germinated soy-adzuki milk (formula 5-8). The increasing adzuki milk ratio (10-20 percent) and the germinated bean milk replacement of non-germinated milk significantly led to increasing total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activities via DPPH radical scavenging assay and FRAP assay, compared to the control (formula 1) ($p \leq 0.05$). A product with adzuki bean milk replacement of soybean milk, at a ratio of 20 percent—formula 4 (soymilk: adzuki milk: sugar—75:20:5), as well as a product with germinated bean milk replacement of non-germinated bean milk at a ratio of germinated soymilk: germinated adzuki milk: sugar (75:20:5), significantly showed the highest total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activities with DPPH radical scavenging assay and FRAP assay in non-germinated soy-adzuki milk and germinated soy-adzuki milk product. Compared to non-germinated soy-adzuki milk (formula 4) in 200 ml serving size (75:20:5 mixed ratio), germinated soy-adzuki milk (formula 8) showed significantly higher bioactive compounds, antioxidant activity (FRAP assay) and sensory evaluation score in terms of flavor and taste ($p \leq 0.05$).

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study:	Food Technology	Student's Signature ....
Academic Year:	2020	Advisor's Signature ....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านมาตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดริษ กวักเพฑูรย์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรภา คงเป็นสุข อาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิษฐิดา จันทราพรชัย ที่กรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณาชี้แนะแนวทาง และให้คำปรึกษาในการปรับปรุง ตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ตลอดงานวิจัย และขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ระดับปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกคน สำหรับกำลังใจ และความช่วยเหลือที่มีให้ตลอดการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณครอบครัว สำหรับความรัก ความห่วงใย และกำลังใจที่ให้มาโดยตลอด รวมทั้งให้การสนับสนุนและส่งเสริมให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการศึกษาตลอดมา

ศตวรรษ หาดอ้าน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... ง

กิตติกรรมประกาศ .... จ

สารบัญ .... ฉ

สารบัญตาราง .... ฌ

สารบัญรูป .... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ 3

2.1 ข้อมูลถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิ 3

2.1.1 ข้อมูลทั่วไป 3

2.1.2 โปรตีนและไขมัน 5

2.1.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 8

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกในพืชตระกูลถั่ว 11

2.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเมล็ด 11

2.2.2 ปัจจัยสำคัญในการงอกเมล็ด 12

2.2.3 ผลของการงอกต่อคุณค่าทางโภชนการในพืชตระกูลถั่ว 13

2.2.4 ผลของการงอกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 14

2.3.1 ผลของความเค็มต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช 18

2.3 ภาวะเครียดและผลของความเครียดต่อการงอก 19

2.3.2 ผลของความเป็นกรดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช 19

2.3.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะงอก 20

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.4 น้ำนมถั่วเหลือง 23

2.4.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลือง 24

2.5 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง 25

บทที่ 3 อุปกรณ์ ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย 27

3.1 อุปกรณ์ 27

3.2 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย 30

3.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเพาะงอก 30

3.2.2 ศึกษาการงอก การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด 31

3.2.3 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก 33

3.2.4 ลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ 37

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 41

4.1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเพาะงอก 41

4.2 การงอกเมล็ด การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด 44

4.3 ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก.. 51

4.4 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก 59

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 66

5.1 สรุปผลการทดลอง 66

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5.2 ข้อเสนอแนะ 68
บรรณานุกรม........ 69
ภาคผนวก........ 84
ภาคผนวก ก 85
ภาคผนวก ข 101
ภาคผนวก ค 102
ภาคผนวก ง........ 115
ประวัติผู้เขียน........ 118

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ระดับความเค็มขงดินตามค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินอิ่มตัวต่อการตอบสนองของพืช 18

ตารางที่ 3.1 สูตรการผสมน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก 35

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลืองเพาะงอกและถั่วอะซูกิเพาะงอกที่เวลา 0-36 ชั่วโมง 43

ตารางที่ 4.2 อัตราการงอกเมล็ดของถั่วอะซูกิ ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ และสารละลายกรดซิตริก 44

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนและไขมันในน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้นและน้ำนมถั่วอะซูกิเริ่มต้น 52

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 1-4) และน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 5-8).... 57

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 1-4) และน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 5-8) 58

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกและไม่เพาะงอก 61

ตารางที่ 4.7 คุณค่าทางโภชนาการของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกและสูตรไม่เพาะงอก หน่วยบริโภคอ้างอิง 200 มิลลิลิตร 61

ตารางที่ 4.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกและสูตรไม่เพาะงอก ปริมาตรอ้างอิง 200 มิลลิลิตร 63

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบความชอบ แบบจัดลำดับ (ranking test) ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก 64

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบการยอมรับ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก 65

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง 3

รูปที่ 2.2 ภาพตัดตามขวางของถั่วอะซูกิ โดย C คือใบเลี้ยง, F คือ fissure, H คือ hilum, SC คือเปลือกหุ้มเมล็ด 4

รูปที่ 2.3 ภาพตัดตามขวางบริเวณเปลือกหุ้มเมล็ดของถั่วอะซูกิ โดย PL คือเนื้อเยื่อพาลิเสด, PR คือเนื้อเยื่อพาเรงคิมา 5

รูปที่ 2.4 ภาพถ่ายเมล็ดถั่วแบบตัดขวางด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด 6

รูปที่ 2.5 โครงสร้างสามมิติของ β-conglycinin 6

รูปที่ 2.6 โครงสร้างสามมิติของ glycinin 7

รูปที่ 2.7 Dendogram ลำดับกรดอะมิโนของ 7S โกลบูลินของถั่วอะซูกิและถั่วชนิดอื่น 7

รูปที่ 2.8 โครงสร้างเคมีของ ไอโซฟลาโวน ชนิด aglycones 9

รูปที่ 2.9 รูปแบบโครงสร้างเคมีของ ไอโซฟลาโวน ชนิด glycosides 9

รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก 15

รูปที่ 2.11 แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผนังเซลล์เมื่ออยู่ในสภาวะความเป็นกรดต่ำ...... 20

รูปที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด...... 47

รูปที่ 4.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย 49

รูปที่ 4.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย 51

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

เครื่องดื่มน้ำนมถั่วเหลือง (soy milk) เป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองหรือส่วนหนึ่งส่วนใดจากถั่วเหลือง มีลักษณะเหลวเป็นเนื้อเดียวกัน อาจผสมวัตถุอื่นที่มีคุณค่าทางอาหารด้วยหรือไม่ก็ได้ มีโปรตีนร้อยละโดยน้ำหนักไม่น้อยกว่า 2 มีไขมันร้อยละโดยน้ำหนักไม่น้อยกว่า 1 มีกลิ่นรสตามลักษณะของน้ำนมถั่วเหลือง ไม่มีวัตถุกันเสีย ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 198 (2544) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) เป็นแหล่งโปรตีนที่สามารถบริโภคได้ทั้งผู้บริโภคเนื้อสัตว์และมังสวิรัติ ในถั่วเมล็ดแห้งมีโปรตีนประมาณร้อยละ 35 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงกว่าเนื้อสัตว์ต่างๆ ประมาณ 2 เท่า (นิธิยา รัตนาปนนท์ และ วิบูรณ์ รัตนาปนนท์, 2560) จากรายงานของ USDA พบว่าในถั่วเหลืองระยะสมบูรณ์ (mature seed) ที่ไม่ผ่านกระบวนการใดๆ มีกรดอะมิโนจำเป็นชนิด ลิวซีน (leucine) และไลซีน (lysine) สูง แต่กรดอะมิโนจำเป็นชนิดเมไทโอนีน (methionine) ต่ำ นอกจากนี้ในถั่วเหลืองยังมีสารที่ไม่ให้คุณค่าทางอาหารแต่มีประโยชน์ต่อร่างกายนั่นคือไอโซฟลาโวน (isoflavone) เป็นกลุ่มของสารประเภทฟลาโวนอยด์ (flavonoids) Prakash et al. (2007) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณไอโซฟลาโวน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging จากถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ มีค่า 6.4-81.7 mg GAE/g (db.), 3.5-44.6 mg QE/g (db). และร้อยละ 7.5-74.7 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ดีการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองเพื่อพัฒนาน้ำนมถั่วเหลืองสูตรใหม่ ด้วยน้ำนมจากธัญพืชที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชีย ได้แก่ ถั่วอะซูกิ (*Vigna angularis*) ซึ่งถูกกล่าวถึงว่าเป็น “weight loss bean” ที่ให้พลังงานและมีไขมันต่ำ (Kitano-Okada et al., 2012; Kramer et al., 2012) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นถั่วเมล็ดแห้งที่มีโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุสูง ไขมันส่วนใหญ่เป็นไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น linoleic (18:2n-6) ร้อยละ 31.9-32.7 และ alfa-linolenic (18:3n-3) ร้อยละ 25.4-26.8 ซึ่งเป็นไขมันไม่อิ่มตัวที่ร่างกายต้องการ และอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีประโยชน์ในการต้านออกซิเดชัน โดยการพัฒนาสูตรการผลิตและการคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมจาก mixture design เป็นการออกแบบการทดลองเพื่อหาอัตราส่วนปริมาณที่เหมาะสมของส่วนประกอบผลิตภัณฑ์ที่มี 2 ปัจจัยขึ้นไป โดยผลรวมจะเท่ากับ 1.0 เมื่ออัตราส่วนปริมาณของ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ปัจจัยหนึ่งถูกเปลี่ยนแปลงไปจะส่งผลต่ออัตราส่วนปริมาณของปัจจัยทั้งหมด ซึ่งสูตรส่วนผสมที่ได้มีการกระจายของอัตราส่วนอย่างเหมาะสมและครอบคลุม (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2555)

นอกจากนี้ยังมีการแปรรูปถั่วด้วยวิธีการทางธรรมชาติอีกอย่างหนึ่ง ได้แก่ การงอกเมล็ดของถั่ว ในระยะแรกของกระบวนการงอกเมล็ดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเมล็ด เช่น เกิดการสลายตัวของโปรตีนเป็นโพลีเพปไทด์ โอลิโกเพปไทด์ กรดอะมิโน เกิดการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ มอโนแซ็กคาไรด์ และเกิดการสลายตัวของไขมันเป็นกรดไขมัน ซึ่งกระบวนการดังกล่าวส่งผลต่อการลดลงของสารอาหารในเมล็ดที่กำลังงอก และการงอกเมล็ดส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของสารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพได้แก่ วิตามิน กรดอะมิโน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Gan et al. 2017) ในขณะเดียวกันการให้ความเครียด ชนิด abiotic stress เช่น ความเครียดเกลือ (salinity stress) แก่ถั่วเพาะงอกส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกภายในเมล็ด (Koodkaew, 2019)

ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของภาวะเครียดต่อการงอกและการเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเพาะงอก และเพื่อคัดเลือกสูตรน้ำนมถั่วเหลืองผสมถั่วอะซูกิเพาะงอกที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

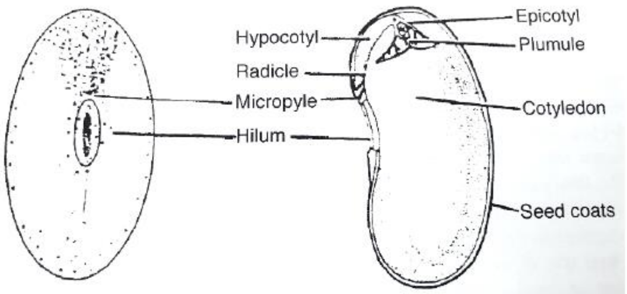
บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ข้อมูลถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิ

2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

ถั่วเหลือง (soybean) ถูกจัดอนุกรมวิธานอยู่ในพืชตระกูลถั่ว (Fabaceae, Leguminosaea) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merr. เป็นพืชไร่ที่ปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยมีผลผลิตในปี 2562 อยู่ที่ 41,165 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) ลักษณะเมล็ดมีสีเขียว เมื่อสุกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง น้ำตาล เมล็ดถั่วเหลืองอาจมีสีเหลือง สีเขียว สีน้ำตาล หรือสีดำก็ได้ เมล็ดมีลักษณะกลมรี เมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ (1) เปลือกหุ้มเมล็ด (Seed coat) (2) ต้นอ่อน (embryo) หรือ (embryonic axis) ต้นอ่อนของถั่วเหลืองประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ epicotyl, hypocotyl และ radicle (รูปที่ 2.1) โดยส่วน radicle เป็นส่วนที่เจริญเติบโตไปเป็นราก hypocotyl จะยืดออกเมื่อเมล็ดงอก ทำหน้าที่ชูใบเลี้ยงขึ้นเหนือผิวดิน epicotyl จะพัฒนากลายเป็นส่วนแรกของลำต้น (3) เนื้อเยื่อสะสมอาหาร (storage tissue หรือ supporting axis) ได้แก่ ใบเลี้ยง (cotyledon) ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหารและผลิตเอนไซม์ให้แก่ต้นอ่อน (อภิพรรณ พุกภัคดี, 2546)

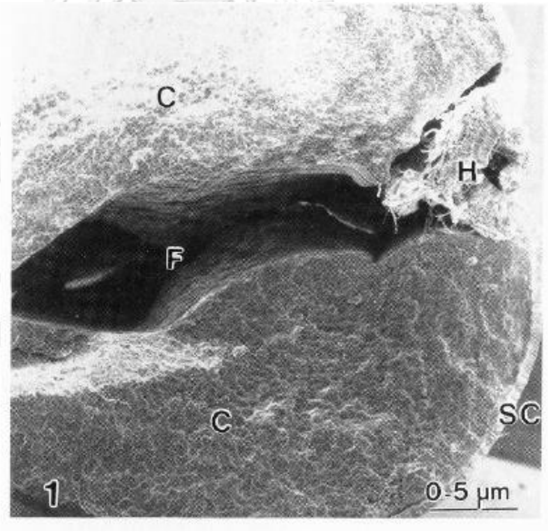
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง

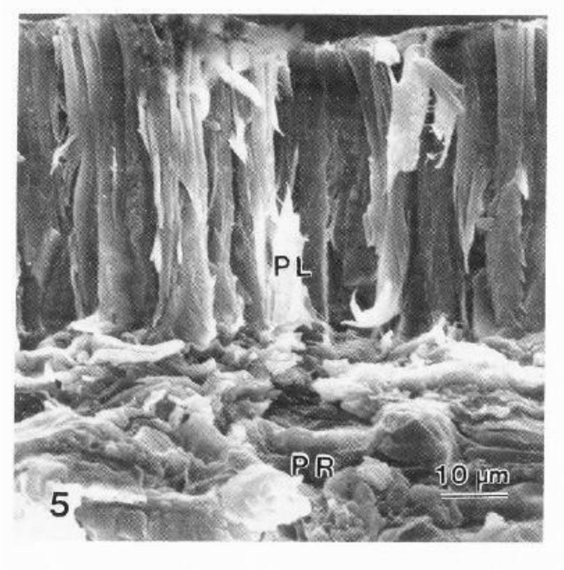
ที่มา: Liu (1997)

ถั่วอะซูกิ (adzuki bean) ถูกจัดอนุกรมวิธานอยู่ในพืชตระกูลถั่ว (Fabaceae, Leguminosaea) เช่นเดียวกับถั่วเหลือง ถั่วอะซูกิมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna angularis* เป็นพืชไร่ที่มีแหล่งปลูกทางภาคเหนือของประเทศไทย โดยมีผลผลิตในปี 2562 อยู่ที่ 199.8 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562) ลักษณะเมล็ดกลมรี มีสีแดงเข้ม ส่วนประกอบภายในเมล็ดเหมือนพืชตระกูลถั่วโดยถั่วไป ประกอบด้วยเปลือกหุ้มเมล็ด ใบเลี้ยง และต้นอ่อน โดยเปลือกหุ้มเมล็ดจะอยู่ชั้นนอกสุด มีความหนาประมาณ 40-60 ไมโครเมตร ทำหน้าเป็นโครงสร้างปกป้องใบเลี้ยงและต้นอ่อน มีโครงสร้าง 3 ชั้น ได้แก่ชั้นคิวติเคิล (cuticle layer) ชั้นพาลิเสด (palisade) และชั้นพาเรงคิมา (parenchyma) เปลือกหุ้มเมล็ดมีส่วนสำคัญคือไฮลัม (hilum) (รูปที่ 2.2 และ 2.3) ซึ่งเป็นบริเวณหลักที่มีดูดซึมน้ำเข้าสู่เมล็ด (Yoisif, Kato and Deeth, 2007) การงอกของถั่วอะซูกิเป็นแบบ hypogeal germination คือเมื่อเมล็ดงอก ใบเลี้ยง (cotyledon) ยังคงอยู่ติดใต้ดินจะโผล่ใบแรก 2 ใบขึ้นเหนือดิน ใบเลี้ยงและใบจริงคู่แรก (primary leaves) จะจัดเรียงตัวแบบตรงข้าม (Lumpkin and McMlary, 1994)



รูปที่ 2.2 ภาพตัดตามขวางของถั่วอะซูกิ โดย C คือใบเลี้ยง, F คือ fissure, H คือ hilum, SC คือเปลือกหุ้มเมล็ด

ที่มา: Chilukuri and Swanson (1991)



รูปที่ 2.3 ภาพตัดตามขวางบริเวณเปลือกหุ้มเมล็ดของถั่วอะซูกิ โดย PL คือเนื้อเยื่อพาลิเสด, PR คือเนื้อเยื่อพาเรงคิมา

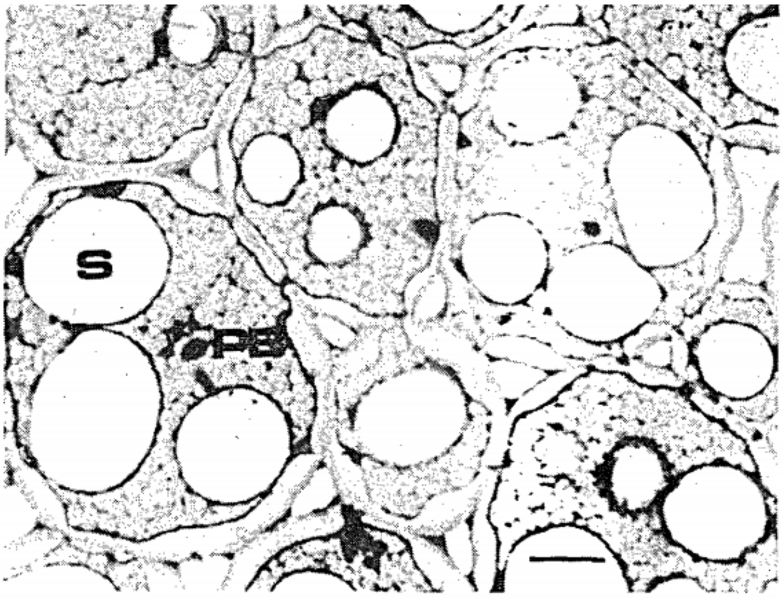
ที่มา: Chilukuri and Swanson (1991)

2.1.2 โปรตีนและไขมัน

โปรตีนที่พบในเมล็ดพืชตระกูลถั่วสะสมอยู่ในรูปโปรตีนบอดี (protein bodies) ที่บริเวณใบเลี้ยง (รูปที่ 2.4) มีทั้งโปรตีนกลุ่มโกลบูลิน อัลบูมิน และกลูเทลิน แต่โปรตีนส่วนใหญ่ที่พบเป็นโกลบูลิน ในตระกูลเลกูมิน (legumin) และ วิซิลิน (vicillin) ในถั่วเหลืองมีองค์ประกอบหลักคือโปรตีนประมาณร้อยละ 40 และไขมันร้อยละ 20 (Singh, 2009) ประมาณร้อยละ 90 ของโปรตีนที่สะสมในถั่วเหลืองคือ β-conglycinin (ตระกูล vicilin หรือ 7S) ขนาด 150-200 kDa (รูปที่ 2.5) ภายในโครงสร้างมี 3 subunits ขนาดประมาณ 72 68 และ 52 kDa และโปรตีนชนิด glycinin (ตระกูล legumin หรือ 11S) ขนาด 300-380 kDa (Fukushima et al., 2011) (รูปที่ 2.6) มีโมเลกุลขนาดใหญ่ประกอบด้วย 6 subunits ภายในโครงสร้างโปรตีนประกอบด้วยโพลีเพปไทด์ 12 ชนิด (Murphy, 2011)

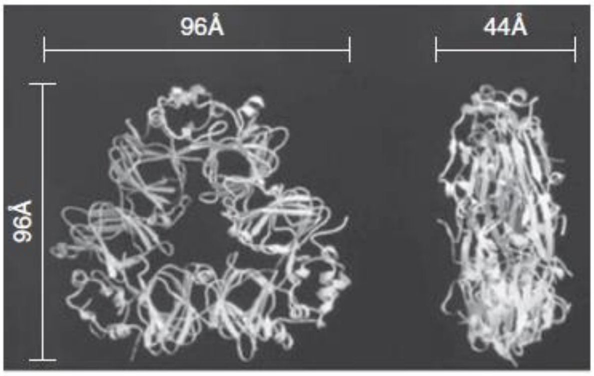
ถั่วอะซูกิมีปริมาณโปรตีนประมาณร้อยละ 25 โปรตีนที่พบในถั่วอะซูกิมีประมาณร้อยละ 80 คือ 7S โกลบูลิน ในโครงสร้างประกอบด้วย 2 subunits ที่มีขนาด 55 kDa และ 35 kDa และโปรตีนประมาณร้อยละ 20 คือ 11S โกลบูลิน (Barac et al., 2015) และจากรูปที่ 2.7 แสดงความ

ใกล้เคียงของลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 7S โกลบูลินของถั่วอะซูกิกับถั่วชนิดอื่น จากความสัมพันธ์พบว่าลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 7S โกลบูลินของถั่วอะซูกิใกล้เคียงกับถั่วเขียวมากที่สุด

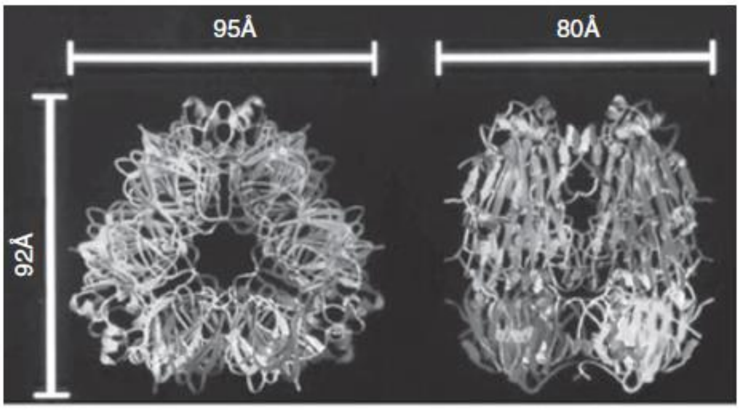


รูปที่ 2.4 ภาพถ่ายเมล็ดถั่วแบบตัดขวางด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
โดย PB คือ โปรตีนบอดี และ S คือ สตาร์ชแกรนูล
ที่มา: Sathe et al. (1984)

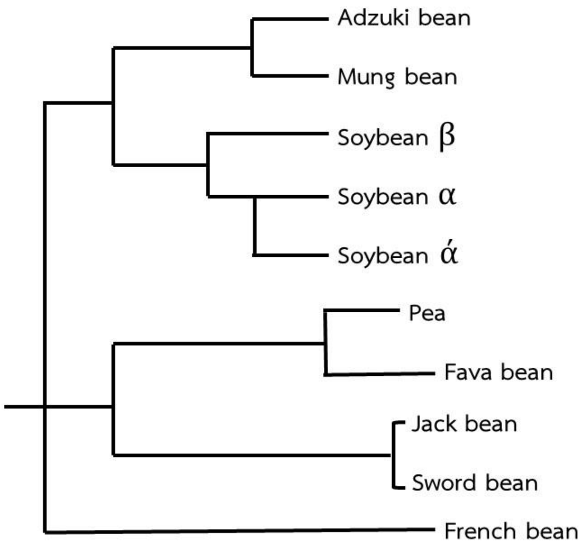
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 2.5 โครงสร้างสามมิติของ β-conglycinin
ที่มา : Maruyama et al. (1999)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างสามมิติของ glycinin
ที่มา : Maruyama et al. (1999)



รูปที่ 2.7 Dendogram ลำดับกรดอะมิโนของ 7S โกลบูลินของถั่วอะซูกิและถั่วชนิดอื่น
ที่มา: ดัดแปลงจาก Fukuda et al. (2007)

ไขมันในถั่วเหลืองถูกสะสมไว้ในส่วนของใบเลี้ยงภายในเมล็ด ในรูปเม็ดไขมัน (oil bodies) หรืออาจเรียกว่า spherosomes, oleosomes หรือ ลิพิดบอดี (lipid body) กรดไขมันหลักที่พบในถั่วเหลืองคือ palmitic (16:0), stearic (18:0), oleic (18:1), linoleic (18:2), and linolenic (18:3) และกรดไขมันรองที่พบคือ arachidic (20:0) and behenic (22:0) ซึ่งกรดไขมันส่วนใหญ่จะเชื่อมอยู่กับโมเลกุลของกลีเซอไรด์ในรูปโมโนเอซิลกลีเซอไรด์, ไดเอซิลกลีเซอไรด์ และไตรเอซิลกลีเซอไรด์ และมีปริมาณกรดไขมันอิสระ (กรดไขมันที่ไม่ได้เชื่อมอยู่กับโมเลกุลอื่น) น้อยกว่าร้อยละ 1 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมดภายในเมล็ดสมบูรณ์ (Gerde and White, 2008)

ไขมันในถั่วอะซูกิ องค์ประกอบของไขมันในถั่วอะซูกิมีดังนี้ ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ร้อยละ 74.3, ไตรเอซิลกลีเซอร์รอล ร้อยละ 13.5, ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbons) ร้อยละ 4.6, steryl esters ร้อยละ 4.0, ไดเอซิลกลีเซอไรด์ ร้อยละ 2.1, โมโนเอซิลกลีเซอไรด์ ร้อยละ 1.0 และ กรดไขมันอิสระ (free fatty acids) ร้อยละ 0.5 โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบในถั่วอะซูกิได้แก่ linoleic (18:2n-6) และกรดไขมันอิ่มตัวได้แก่ palmitic (16:0) และ stearic (18:0) (Yoshida et al., 2009)

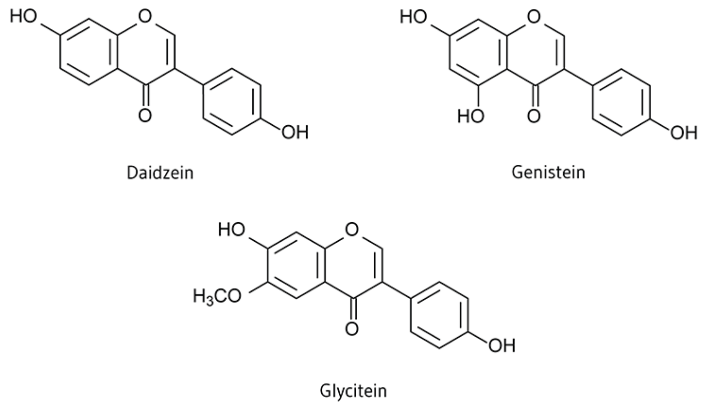
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.1.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

เมล็ดธัญพืชมีความหลากหลายของสารประกอบฟีนอลิก เช่น benzoic acid, cinnamic acid, anthocyanidins, quinones, และฟลาโวนอยด์ (Tsao, 2010) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ferulic acid และ diferulates พบได้ในเมล็ดธัญพืช แต่ไม่พบในผักและผลไม้ (Adom and Liu, 2002) สารประกอบฟีนอลิกในธัญพืชมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งความแตกต่างของสารประกอบฟีนอลิกมีผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

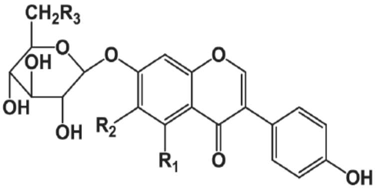
ถั่วเหลืองมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญได้แก่ ไอโซฟลาโวน (isoflavones) (Mazur et al., 1998) มี 12 ชนิดแบ่งเป็น aglycone (daizein, genistein และ glycitein) แสดงดังรูปที่ 2.8 และชนิด glucosides (daidzin, genistin, glycitin; 6"-0-acetyldaidzin, -genistin, -glycitin; 6"-0-malonyl-daidzin, genistin, glycitin) (Wang and Murphy, 1994) แสดงดังรูปที่ 2.9 Lee et al. (2011) วิจัยเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ ระหว่างถั่วเหลืองและถั่วเขียว พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโว

นอยด์ในถั่วเหลืองมีค่า 1.13 GAE/g และ 0.41 CAE/g ตามลำดับ ในขณะที่ถั่วเขียวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ 2.03 GAE/g และ 1.49 GAE/g โดยค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ของถั่วเขียวที่สูงกว่าในถั่วเหลืองให้ผลในทิศทางเดียวกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิก DPPH radical scavenging, ATBS radical scavenging และ FRAP



รูปที่ 2.8 โครงสร้างเคมีของ ไอโซฟลาโวน ชนิด aglycones

ที่มา : Wang and Murphy (1994)



Name	R_1	R_2	R_3
Daidzin	H	H	H
Acetydaidzin	H	H	$COCH_3$
Malonyldaidzin	H	H	$COCH_2COOH$
Genistin	OH	H	H
Acetylgenistin	OH	H	$COCH_3$
Malonylgenistin	OH	H	$COCH_2COOH$
Glycitin	H	OCH_3	H
Acetylglycitin	H	OCH_3	$COCH_3$
Malonylglycitin	H	OCH_3	$COCH_2COOH$

รูปที่ 2.9 รูปแบบโครงสร้างเคมีของ ไอโซฟลาโวน ชนิด glycosides

ที่มา : Wang and Murphy (1994)

ถั่วอะซูกิมีสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญคือ proanthocyanidins เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีโครงสร้างเป็น ฟลาวานอล (flavanol) เชื่อมต่อกันตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้น ซึ่งมีลักษณะการเชื่อม 2 ประเภทคือ 1) B-type structure เป็นการเชื่อมต่อของ monomer 2 หน่อย ด้วยพันธะระหว่าง carbon-carbon (C—C) โดยเชื่อมระหว่างตำแหน่งที่ 8 ของโมเลกุลท้ายกับตำแหน่งที่ 4 ของโมเลกุลเชื่อมต่อ (C_4—C_8) หรืออาจเชื่อมระหว่างตำแหน่งที่ 6 ของโมเลกุลหนึ่งกับตำแหน่งที่ 4 ของอีกโมเลกุลหนึ่ง (C_4—C_6) 2) A-type structure ซึ่งพบได้น้อยกว่า B-type structure โดยหน่วยย่อย flavanol เชื่อมกันด้วยันธะอีเธอร์ ต่อกับ (C—O—C) ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของโมเลกุลหนึ่งกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 ของอีกโมเลกุลหนึ่ง (C_2—O—C_7) หรืออาจเกิดพันธะ (C_2—O—C_5) ร่วมกับ B-type structure (Fu et al., 2015) ซึ่ง proanthocyanidins เป็นสารที่มีประโยชน์หลายประการ เช่น มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน cardioprotective, neuroprotective, Immunomodulation, lipid lowering and anti-obesity, antidiabetic, anticancer, antimicrobial (Rauf et al., 2019) และจากงานวิจัยของ Liu et al. (2017) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดถั่วอะซูกิช่วยส่งเสริมการทำงานของกระบวนการสลายไขมัน ส่งผลต่อการลดลงของน้ำหนักตัว ลดการสะสมของเนื้อเยื่อไขมัน ลดระดับไตรกลีเซอไรด์ ลดระดับคอเรสเตอรอล และระดับไขมันในตับในหนูทดลองได้

Gohara et al. (2016) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ระหว่างถั่วอะซูกิ *Vigna angularis* var. angularis กับ *Vigna angularis* var. niponensis พบว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วย Folin-Ciocalteu assay ของ *Vigna angularis* var. angularis (81.87±4.39 mg GAE /100g) สูงกว่า *Vigna angularis* var. niponensis (59.94±1.57 mg GAE /100g) แต่ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในถั่วอะซูกิ *Vigna angularis* var. Niponensis (9.03±0.70 QE /100g) สูงกว่า *Vigna angularis* var. Angularis (7.21±0.83 QE /100g) ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical-scavenging ให้ผล EC_{50} values (mg /mL) ของ *Vigna angularis* var. angularis และ *Vigna angularis* var. niponensis เท่ากับ 148.83±4.83 และ 243.41±3.01 ตามลำดับ

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกในพืชตระกูลถั่ว

การงอกของเมล็ด (seed germination) หมายถึงกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของเมล็ด โดยเมล็ดที่มีความชื้นเหมาะสม เกิดการแทงตัวของรากอ่อน (radicle) พ้นเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) ซึ่งกระบวนการงอกเมล็ดส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเมล็ด ดังนี้

2.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเมล็ด

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเมล็ด เกิดขึ้นใน 3 ระยะของกระบวนการงอก ได้แก่ ระยะที่ 1 ระยะเริ่มทำงาน ระยะที่ 2 การสังเคราะห์เอนไซม์ ระยะที่ 3 การย่อยและการลำเลียงอาหาร (นันทิยา วรรธนะภูติ, 2553)

2.2.1.1 ระยะเริ่มทำงาน (activation) ของกระบวนการงอกเมล็ด

- การดูดน้ำของเมล็ด (imbibition)

ในระยะนี้เมล็ดจะดูดน้ำจากสภาวะแวดล้อมเข้าสู่เมล็ดทำให้ความชื้นภายในเมล็ดเพิ่มขึ้น ปกติภายในเมล็ดแห้งมีความชื้นอยู่น้อย มีความชื้นประมาณร้อยละ 10 เมื่อเมล็ดได้รับน้ำจากภายนอกมากเพียงพอจนทำให้มีความชื้นภายในเมล็ด ประมาณร้อยละ 30-60 จึงจะเกิดการงอก เนื่องจากน้ำทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนตัว และช่วยกระตุ้นปฏิกิริยาชีวเคมีต่างๆ ภายในเมล็ด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- การสังเคราะห์เอนไซม์ (synthesis of enzymes)

เมื่อเมล็ดดูดน้ำการทำงานของเอนไซม์ต่างๆจะไวขึ้นภายในเวลาไม่กี่ชั่วโมง โดยความไวของเอนไซม์ที่เกิดขึ้น มาจากเอนไซม์ 2 ส่วน ส่วนแรกเกิดจากเอนไซม์ทีมีอยู่เดิมระหว่างการพัฒนาตัวอ่อน และอีกส่วนมาจากเอนไซม์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่เมื่อเริ่มมีการงอก เช่น โปรตีเอส (Shutov and Vaintraub, 1987) และไลเปส (Paques and Macedo, 2006)

- การยืดตัวของเซลล์และการงอกของราก (cell elongation and emergence of the radical)

ปลายรากของเมล็ดที่ยื่นออกมาเกิดจากเซลล์การแบ่งและการยืดขยายของเซลล์ โดยการงอกของรากอาจเกิดขึ้นภายใน 2-3 ชั่วโมง หรือ 2-3 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเมล็ด โดยรากของเมล็ดพืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเหลืองจะงอกภายใน 24 ชั่วโมง (Kering and Zhang, 2015) ถั่วอะซูกิจะงอกภายใน 27 ชั่วโมง (Duangmal and Sangsukiam, 2015) ถั่วลันเตาและถั่วปากอ้าจะงอกภายใน 24 ชั่วโมง (Setia et al., 2019)

2.2.1.2 การย่อยและการลำเลียงอาหาร (digestion and translocation)

อาหารที่ถูกสะสมไว้ในเอนโดสเปิร์มและใบเลี้ยงจะถูกย่อยให้กลายเป็นสารโมเลกุลเล็ก ได้แก่ ไขมันถูกย่อยเป็นกรดไขมัน โปรตีนถูกย่อยเป็นโพลีเพปไทด์ และคาร์โบไฮเดรตถูกย่อยเป็นน้ำตาล แล้วจะเคลื่อนย้ายไปที่จุดเจริญส่วนต่างๆของตัวอ่อน ในขณะเดียวกันเซลล์ทั้งระบบจะถูกกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ควบคุมการเจริญเติบโต ฮอร์โมน และกรดนิวคลิอิก

2.2.1.3 การเจริญเติบโตของต้นกล้า (seedling growth)

โครงสร้างของต้นกล้ามีการขยายใหญ่ขึ้น มีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายยอดและปลายราก โครงสร้างต้นกล้าประกอบด้วยแกนต้น (axis) ใบเลี้ยง ลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) และราก ส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหารของเมล็ดจะหมดหน้าที่ในกระบวนการ เมทาบอลิซึม แต่ยังมีใบเลี้ยงที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสง

Chulalongkorn University

2.2.2 ปัจจัยสำคัญในการงอกเมล็ด

ปัจจัยสำคัญในการงอกของเมล็ดมี 4 ปัจจัย ได้แก่ น้ำ ออกซิเจน อุณหภูมิและแสง

2.2.2.1 น้ำ โดยทั่วไปเมล็ดต้องการความชื้นร้อยละ 30-50 ถึงจะงอก น้ำส่งผลให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนตัว และช่วยกระตุ้นปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆ ภายในเมล็ด ได้แก่ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส การสร้างเอนไซม์ และฮอร์โมน โดยความชื้นภายในเมล็ดที่เหมาะสมต่อการงอกเมล็ดของพืชตระกูลถั่วอยู่ที่ร้อยละ 50 (Hunter and Erickson, 1952)

2.2.2.2 ออกซิเจน เมล็ดที่กำลังงอกมีอัตราการหายใจสูง ต้องการออกซิเจนในการหายใจเพื่อให้ได้พลังงานไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ โดยในพืชตระกูลถั่วต้องการออกซิเจนอย่างน้อยร้อยละ 14-17 ในการงอกเมล็ด (Tamate et al., 2016)

2.2.2.3 อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกเมล็ดจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พืชเขตหนาวมักชอบอุณหภูมิต่ำ ส่วนพืชเขตร้อนต้องการอุณหภูมิค่อนข้างสูงในการงอก เช่นถั่วเหลืองจะงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2548)

2.2.2.4 แสง โดยปกติในสภาวะแวดล้อมอื่นๆที่เหมาะสม เมล็ดจะสามารถงอกได้ทั้งในที่มืดและที่มีแสง โดยการมีแสงหรือไม่มีแสงในระหว่างกระบวนการงอก ไม่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดพืชตระกูลถั่ว แต่จะส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเมื่อเมล็ดเจริญเติบโตเป็นต้นกล้า (Lee et al., 2007)

2.2.3 ผลของการงอกต่อคุณค่าทางโภชนการในพืชตระกูลถั่ว

ต้นอ่อนเมล็ดธัญพืชเช่น ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.), ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) และถั่วอัลฟาฟ่า (*Medicago sativa*) ที่มีอายุ 5-7 วัน เหมาะสมต่อการบริโภคในรูปแบบของผัก (Silva et al., 2013) ในระหว่างการเพาะงอกจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเมล็ด เช่น เกิดการสลายตัวของโปรตีนเป็นโพลีเพปไทด์ โอลิโกเพปไทด์ และกรดอะมิโน เกิดการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ มอโนแซ็กคาไรด์ และเกิดการสลายตัวของไขมันเป็นกรดไขมัน ซึ่งกระบวนการดังกล่าวส่งผลต่อการลดลงของสารอาหารในเมล็ดที่กำลังงอกในระยะที่ 2 (หลังจากการดูดน้ำของเมล็ด)

Shi, Nam and Ma (2010) ศึกษาผลของการงอกต่อองประกอบทางเคมีในถั่วเหลือง (*Glycine max*) ระยะเวลาในการเพาะงอก 7 วัน ในสภาวะมืดและที่สภาวะให้แสง พบว่าปริมาณโปรตีนหยาบเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 42.4 เป็นร้อยละ 46.0 ปริมาณน้ำตาลลดลงจากร้อยละ 19.9 เป็นร้อยละ 14.0 ปริมาณไขมันหยาบลดลงจากร้อยละ 20 เป็นร้อยละ 15 เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองไม่เพาะงอก ซึ่งการลดลงของไขมันและคาร์โบไฮเดรตในระหว่างกระบวนการเพาะงอก เกิดจากสลายตัวของไขมันและคาร์โบไฮเดรตเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน (Bau et al., 1997) ผลจากการเพาะงอกต่อปริมาณแร่ธาตุในถั่วเหลืองพบว่า ทองแดง (Cu) โพแทสเซียม (K) แมกนิเซียม (Mg)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แคลเซียม (Ca) และแมงกานีส (Mn) ไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สังกะสี (Zn) เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะงอกโดยมีปริมาณ 52.8 และ 59 μg/g ในวันที่ 7 ของการเพาะในสภาวะมืดและสภาวะให้แสงตามลำดับ

Li et al. (2014) ศึกษาผลของการงอกต่อองค์ประกอบทางเคมีในถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) ระยะเวลาในการเพาะ 5 วัน พบว่าปริมาณไขมันในใบเลี้ยงและต้นอ่อนลดลง 2 และ 3 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับวันที่ 1 ของการเพาะ ปริมาณน้ำตาลที่ละลายได้ในน้ำในส่วนของใบเลี้ยง (total soluble sugar) ลดลงร้อยละ 25 ในวันที่ 3 และลดลงร้อยละ 50 ในวันที่ 5 ของการเพาะ เมื่อเทียบกับวันที่ 1 ของการเพาะ แต่ปริมาณน้ำตาลที่ละลายได้ในน้ำในส่วนของต้นอ่อนเพิ่มสูงขึ้นจาก 8.90 g/100 g db. ในวันที่ 1 ของการเพาะ เป็น 25.7 g/100 g db. ในวันที่ 5 ของการเพาะ ทั้งนี้เกิดจากน้ำตาลกลูโคสจากเซลลูโลส (cellulose) ที่เพิ่มขึ้น ปริมาณแร่ธาตุได้แก่ เหล็ก (Fe) แคลเซียม (Ca) และ แมกนิเซียม (Mg) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการงอกและลดลงหลังจากวันที่ 3 ของการเพาะงอก

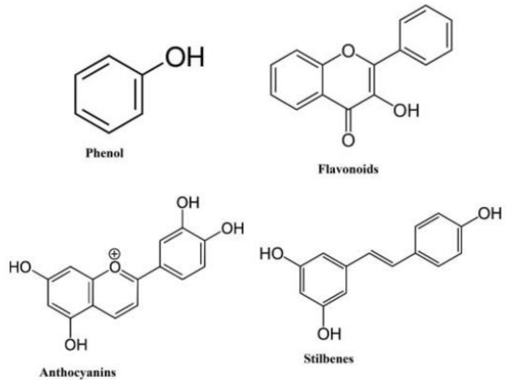
Duangmal and Sangsukiam (2015) ศึกษาผลของการงอกระยะสั้น 0-36 ชั่วโมง ต่อโปรตีนและข้อมูลกรดอะมิโนในถั่วเขียวและถั่วอะซูกิ พบว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่เวลา 27 และ 36 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับถั่วอะซูกิไม่เพาะงอก แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างกระบวนการเพาะงอกถั่วเขียว ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในถั่วอะซูกิเกิดจากการเพิ่มขึ้นของ protein nitrogen ในระหว่างกระบวนการงอก ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (total amino acid content) ในถั่วอะซูกิและถั่วเขียวเพาะงอก 27 ชั่วโมงเพิ่มขึ้นร้อยละ 164 และร้อยละ 66 ตามลำดับ และพบการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนเมไทโอนินในถั่วทั้งสองชนิดระหว่างกระบวนการงอกที่ 27 ชั่วโมง โดย Benelle and Londei (2009) ให้เหตุผลว่าการเพิ่มขึ้นของเมไทโอนิน อาจเกิดจากลำดับของ mRNA รหัส AUG เป็น initiation codon ในการสังเคราะห์โปรตีน และรหัส AUG เป็นรหัสจำเพาะของกรดอะมิโนเมไทโอนิน

2.2.4 ผลของการงอกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น วิตามิน และสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ที่พืชสังเคราะห์ขึ้น โดยเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดมีความแตกต่างของสารพฤกษเคมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

และหน้าที่ทางชีวภาพ (biological functions) เช่น ต้านออกซิเดชัน (antioxidation) ต้านเบาหวาน (antidiabetic) และต้านผลกระทบจากเนื้องอก (antitumor effects) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น วิตามิน และสารประกอบฟีนอลิก เกิดการเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเมล็ดอยู่ในระยะงอก (Gan et al., 2016) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พบได้ในพืช ลักษณะโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หน่วย (รูปที่ 2.10) โดยสารประกอบฟีนอลิกถูกสังเคราะห์ภายใน intracellular endoplasmic reticulum จากนั้นจะถูกเก็บในเซลล์ของพืชแบ่งเป็น 2 รูปแบบ คือรูปแบบอิสระ (soluble phenolics) จะถูกเก็บไว้ใน แวคิวโอล (vacuoles) และรูปแบบที่ยึดเหนี่ยวอยู่กับสารประกอบอื่น (bound phenolic) เกิดจากเคลื่อนย้ายสารประกอบฟีนอลิกรูปแบบอิสระไปไว้ที่ผนังเซลล์ และเกิดจากการเชื่อมต่อกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับเซลลูโลสด้วยพันธะไกลโคซิดิก และโปรตีนด้วยพันธะเอสเธอร์ (Agati et al., 2012)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา : Souza et al. (2018)

Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos (2010) เปรียบเทียบผลของการเพาะงอกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเมล็ดพันธุ์ 13 ชนิด โดยเปรียบเทียบระหว่างเมล็ดดิบ เมล็ดหลังแช่น้ำ และเมล็ดหลังเพาะงอกครบ 7 วัน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดเพาะงอกมากกว่าในถั่วแช่น้ำ และมากกว่าในถั่วดิบ โดยปริมาณสารประกอบฟี

นอลิกทั้งหมดในเมล็ดเพาะงอกสูงกว่าในเมล็ดดิบดังนี้ ถั่วเขียว (ร้อยละ 2010) ถั่วปากอ้า (ร้อยละ 586) เมล็ดข้าวสาลี (ร้อยละ 535) เมล็ดฟีนูกรีก (ร้อยละ 530) เมล็ดมัสตาร์ด (ร้อยละ 435) ถั่วอัลฟาฟ่า (ร้อยละ 409) เมล็ดทานตะวัน (ร้อยละ 271) ถั่วเหลือง (ร้อยละ 201) เมล็ดบรอกโคลี (ร้อยละ 186) ถั่วเลนทิล (ร้อยละ 185) เมล็ดแรดิช (ร้อยละ 63) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกถูกสังเคราะห์ขึ้นในระหว่างกระบวนการงอกเมล็ด และผลจาการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay พบว่าในเมล็ดเพาะงอกที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการเพาะงอกดังนี้ ถั่วเขียว (ร้อยละ 1928) ถั่วอัลฟาฟ่า (ร้อยละ 943) ถั่วปากอ้า (ร้อยละ 919) เมล็ดฟีนูกรีก (ร้อยละ 681) เมล็ดมัสตาร์ด (ร้อยละ 566) เมล็ดข้าวสาลี (ร้อยละ 433) เมล็ดบรอกโคลี (ร้อยละ 290) เมล็ดทานตะวัน (ร้อยละ 261) ถั่วเหลือง (ร้อยละ 175) เมล็ดแรดิช (ร้อยละ 117)

Wongsiri, Ohshima and Duangmal (2015) ศึกษาผลของการเพาะถั่วเขียวระยะสั้น (0-24 ชั่วโมง) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วเขียวเพาะงอกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามระยะเวลาในการเพาะ โดยการเพาะงอกถั่วเขียวที่ 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ซึ่งสูงขึ้นประมาณ 4 เท่าเมื่อเทียบกับถั่วเขียวไม่เพาะงอก และจากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และเทคนิค FRAP พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้งสองวิธีสูงขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะ และมีค่าสูงสุดที่การเพาะงอก 24 ชั่วโมง ซึ่งการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการงอกเมล็ด

Chulalongkorn University

Huang and Xu (2014) ศึกษาผลของการเพาะถั่วเหลืองและถั่วเขียวระยะเวลา 0-5 วัน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วเหลืองและถั่วเขียวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อผ่านกระบวนการงอก โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วเหลืองเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 1 ของการเพาะ (มีปริมาณสูงขึ้น ร้อยละ 73.9) เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองไม่เพาะงอก และมีแนวโน้มคงที่หลังจากวันที่ 4 ของการเพาะ ในถั่วเขียวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้นในวันที่ 1 ของการเพาะ (มีปริมาณสูงขึ้น ร้อยละ 103.7) เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเขียวไม่เพาะงอก และมีแนวโน้มคงที่ในวันที่ 4 ของการเพาะ ผลการเพาะงอกถั่วเหลืองและถั่วเขียวต่อปริมาณวิตามินซี (L-ascorbic acid) พบว่าในถั่วเขียวและถั่วเหลืองไม่เพาะงอกไม่มีวิตามินซีในเมล็ดถั่ว แต่การเพาะงอกส่งผลให้

ปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นในถั่วเขียวเพาะงอกในวันที่ 1 และมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการงอก ถั่วเหลืองเพาะงอกมีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นในวันที่ 1 ของการเพาะ และมีปริมาณคงที่ในวันที่ 2 และ 3 ของการเพาะ จากนั้นปริมาณวิตามินซี มีแนวโน้มลดลงในวันที่ 4 ของการเพาะ และการงอกเมล็ดส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay ในถั่วเหลืองและถั่วเขียวเพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหนึ่งในเหตุผลของการเพิ่มขึ้นนี้ อาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณวิตามินซีในระหว่างกระบวนการเพาะงอก

Wang et al. (2015) วิเคราะห์ถั่วเหลืองเพาะงอก 5 วัน ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิห้อง 20 องศาเซลเซียส โดยให้น้ำทุก 12 ชั่วโมง พบว่าปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) และโทโคฟีรอลทั้งหมด (total tocopherols) เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและเพิ่มขึ้น 7 และ 1.6 เท่าจากเมล็ดแห้งเริ่มต้น และส่งผลต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ค่าการวิเคราะห์ peroxyl radical capacity เพิ่มขึ้นจาก 145.73±19.32 μmol ascorbic acid equiv./100 g d.w. เป็น 311.01±49.01 μmol ascorbic acid equiv./100 g d.w. และจากงานวิจัยเพาะถั่วเขียว (*Vigna radiate*) 6 วัน ในสภาวะมืด 20 องศาเซลเซียส และให้น้ำทุก 12 ชั่วโมง แยกส่วนประกอบของถั่วเขียวงอกในการวิเคราะห์ 6 ส่วน ได้แก่ เปลือกหุ้มเมล็ด, euphylla, ใบเลี้ยง, epicotyl, hypocotyl และ ราก พบว่า ส่วน euphylla มีวิตามินซีสูงสุด (72.31±0.62 mg/100 g f.w.) ซึ่งสูงกว่าใน epicotyl 3 เท่า และ ใบเลี้ยง 5 เท่า ส่วนเปลือกหุ้มเมล็ดมีสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดคือ 568.4±8.8 mg GAE/100g f.w. (Wang et al., 2017)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Uchegbu and Amulu (2015) ศึกษาผลของการเพาะ African yam bean (*Sphenos tylis stenocarpa*) ระยะเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในถั่วเพาะงอกสูงกว่าในถั่วไม่เพาะงอกร้อยละ 29 และร้อยละ 14 ตามลำดับ ซึ่งผลการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay และ Ferric reducing oxidant power assay (FRAP) ที่ให้ผลฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นร้อยละ 56 และร้อยละ 2 ตามลำดับ

2.3.1 ผลของความเค็มต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช

ดินเค็ม (saline soil) คือดินที่มีปริมาณเกลือที่ละลายน้ำได้ดี (soluble salt) สูงจนส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตของพืช ซึ่งเกลือในดินเป็น คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต ซัลเฟต ไนเตรต และคลอไรด์ ของโลหะพวกแมกนีเซียม แคลเซียม และโซเดียม เกลือส่วนใหญ่เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืช ยกเว้นเกลือโซเดียมซึ่งพบมากในพื้นที่ดินเค็มบริเวณชายฝั่งทะเล โดยดินที่มีความเค็มเล็กน้อย (slightly saline) มีผลให้พืชที่อ่อนแอต่อความเค็ม เช่น ถั่วเหลือง มีการเจริญเติบโตลดลง (ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์, 2559) ความเค็มของดินสามารถจำแนกได้ตามค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินอิ่มตัวในน้ำ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ระดับความเค็มของดินตามค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินอิ่มตัวต่อการตอบสนองของพืช

ระดับความเค็มของดิน	ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินอิ่มตัว (EC_e) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (dS/m)	การตอบสนองของพืช
ดินไม่เค็ม (non-saline)	0-2	ไม่มีผลกระทบของเกลือต่อพืช
ดินเค็มเล็กน้อย (slightly saline)	2-4	พืชที่อ่อนแอต่อความเค็มมีการเจริญเติบโตลดลง
ดินเค็มปานกลาง (moderately saline)	4-8	พืชที่อ่อนแอต่อความเค็มมีการเจริญเติบโตน้อยมาก
ดินเค็มมาก (highly saline)	8-16	เฉพาะพืชทนเค็มเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตได้
ดินเค็มจัดมาก (extremely saline)	>16	เฉพาะพืชทนเค็มมากเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตได้

ที่มา: สมศรี อรุณินท์ (2539)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลจากการได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) มากเกินไปส่งผลให้พืชเกิดกลไก 3 ขั้นตอน ดังนี้ (1) เกิด ion toxicity จากการที่มี Na^+ และ Cl^- ใน cytoplasm มากเกินไป (2) Na^+ บางส่วนจะถูกจัดเก็บที่ vacuoles เพื่อรักษาสมดุลการเข้าออกของน้ำภายในเซลล์ (3) ความเข้มข้นของ Na^+ และ Cl^- ในเซลล์ที่มากเกินไปส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ reactive oxygen species ดังนั้นภายในเซลล์พืชจึงเร่งการเกิด ROS-scavenging mechanism เพื่อสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่น วิตามินซี กลูตาไธโอน (glutathione) วิตามินอี (tocopherols) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) และ สารประกอบฟีนอลิก ไปยับยั้งการทำงานของ reactive oxygen species (Waskiewicz, Muzolf-Panek and Goliski, 2013) ภายในเซลล์พืชเกิดการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ 2 ระบบ คือ 1. enzymatic system ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GPx) และ glutathi one reductase (GR) 2. Non-enzymatic system ได้แก่ วิตามินซี กลูตาไธโอน โพรลีน (proline) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งการสร้างและสะสมของ Non-enzymatic antioxidants จะถูกควบคุมโดยการแสดงออกของยีนภายในเซลล์พืชภายใต้สภาวะต่างๆ (Kasote et al., 2015)

2.3 ภาวะเครียดและผลของความเครียดต่อการงอก

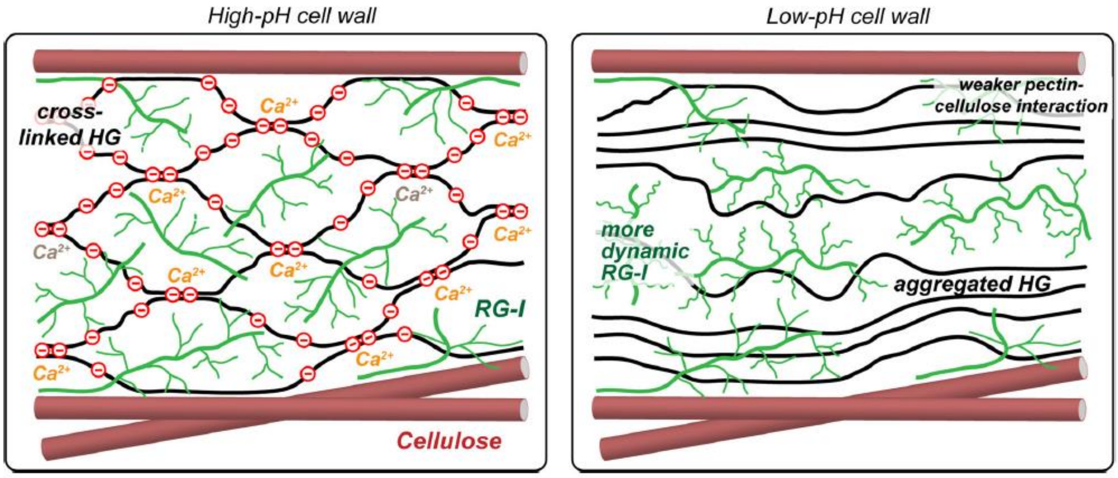
ความเครียดของพืชเกิดจากปัจจัยภายนอก ได้แก่สภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยสภาวะที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต เกี่ยวข้องกับความเครียดอันเนื่องมาจากสิ่งมีชีวิต (biotic stress) เช่น แมลงศัตรูพืช และความเครียดอันเนื่องมาจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) เช่น อุณหภูมิ น้ำ ความเค็ม แสง และสารเคมี เป็นต้น ซึ่งความเครียดที่เกิดขึ้นจะชักนำให้เกิดอนุมูลอิสระในพืช แล้วเกิดเป็น oxidative stress ซึ่งส่งผลให้เซลล์พืชได้รับความเสียหาย หยุดการเจริญเติบโต และตายในที่สุด (Riaz et al., 2019)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.3.2 ผลของความเป็นกรดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช

โดยปกติพืชสามารถเจริญเติบโตในดินที่มีค่าความเป็นกรดด่างค่อนข้างกว้าง (pH 3-9) หากปลูกพืชในดินที่มีค่าความเป็นกรดมาก (pH<5.5) หรือ ในดินที่มีค่าความเป็นด่างมาก (pH>8) จะส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของธาตุอาหาร และความเป็นพิษของไอออนภายในต้น (นวรัตน์ อุดมประเสริฐ, 2558)

ความเป็นกรด ส่งผลให้เกิด cell wall loosening ดังแสดงในรูปที่ 2.11 และจากการที่ภายในเซลล์มี H^+ มากเกินไป ส่งผลต่อเปลี่ยน hydrogen peroxide ที่ได้จากกระบวนการหายใจระดับเซลล์ เป็น active hydroxyl radical ซึ่งเป็น reactive oxygen species ดังนั้นพืชจึงต้องสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมาเพื่อยับยั้งการทำงานของ reactive oxygen species (Bestwick et al. 1997)



รูปที่ 2.11 แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผนังเซลล์เมื่ออยู่ในสภาวะความเป็นกรดต่ำ

ที่มา: Phyo, Gu and Hong (2019)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะงอก

Yuan et al. (2010) ทดลองเปรียบเทียบผลของการเพาะเมล็ดแรดิช 7 วัน ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 10, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ พบว่าอัตราการงอกเมล็ดลดลงเมื่อให้ความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในชุดการทดลองที่ให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเกิดจากความเครียดที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จะชักนำให้ phenylpropanoid pathway สังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกมากขึ้น (Giorgi et al., 2009) แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมีค่าลดลงตามระยะเวลาในการเพาะงอก ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP

Perez-Balibrea, Moreno and Garcia-Viguera (2011) ทดลองเพาะเมล็ดบร็อคโคลีด้วยการให้กรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 ไมโครโมลาร์ ระยะเวลาในการเพาะ 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณวิตามินซีในเมล็ดบร็อคโคลีเพาะงอกที่ให้กรดซาลิไซลิกทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 3 ของการเพาะ แต่วันที่ 5 ของการเพาะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณวิตามินซีในชุดการทดลองที่ให้กรดความเข้มข้น 200 และ 300 ไมโครโมลาร์ ในวันที่ 7 ของการเพาะมีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดย Jahangir et al., 2009 ให้เหตุผลว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณวิตามินซี เกิดจากการถูกกระตุ้นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลจาก D-glucose เป็น L-ascorbate ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าในวันที่ 5 ของการเพาะ ชุดการทดลองที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือชุดการทดลองที่ให้กรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 64.0±5.5 μmol sinigrin/g d.w. และ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 48.0±4.6 μmol sinigrin/g d.w.) และในวันที่ 7 ของการเพาะ ชุดการทดลองที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือชุดการทดลองที่ให้กรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 57.7±5.0 44.3±2.0 μmol sinigrin/g d.w. และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 44.3±2.0 μmol sinigrin/g d.w.) ซึ่งการให้กรดซาลิไซลิสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นและการสะสมของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Guo et al. (2014) ทดลองเพาะเมล็ดบร็อคโคลี 3 สายพันธุ์ ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 40, 80 และ 160 มิลลิโมลาร์ ระยะเวลาในการเพาะ 4 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ไม่ส่งผลต่อความยาวราก แต่ชุดการทดลองที่ให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 160 มิลลิโมลาร์ส่งผลให้ความยาวรากลดลง ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ (Scialabba and Melati, 1990) ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าที่ชุดการทดลองที่ให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณวิตามินซีและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 160

มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แต่ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณวิตามินซี ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP พบว่าชุดการทดลองที่ให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 160 มิลลิโมลาร์ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อปกป้องส่วนต่างๆของเซลล์พืชจากสภาวะเครียด โดยความเครียดเนื่องจากเกลือสามารถเร่งการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกภายในเซลล์ได้ (Petridis et al., 2012)

Mendoza-Sánchez et al. (2016) ทดลองเพาะถั่วดาเลีย (*Phaseolus vularis* L.) ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการเพาะ 3 วัน โดยให้สารละลายไคโตซาน กรดซาลิไซลิก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ด้วยความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าการให้สารละลายสารละลายไคโตซาน (ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์) กรดซาลิไซลิก (ความเข้มข้น 7 ไมโครโมลาร์) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์) ส่งผลดีต่อขนาดของราก Cavusoglu and Kabar (2010) ให้เหตุผลว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นต่ำสามารถลดการพักตัวของเมล็ด และสามารถกระตุ้นการงอกและการเจริญเติบโตของรากได้ และพบว่าการให้สารละลายสารละลายไคโตซาน (ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์) กรดซาลิไซลิก (ความเข้มข้น 7 ไมโครโมลาร์) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์) ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging โดย Pichyangkura and Chadchawan (2015) ให้เหตุผลว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต และสามารถทำให้เนื้อเยื่อเซลล์พืชเกิดบาดแผลได้ ส่งผลให้มีการสะสม reactive oxygen species ในผนังเซลล์ จึงส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ เช่น phenylalanine ammonia-lyase กระตุ้นการสังเคราะห์และสะสมสารประกอบฟีนอลิก

Falcinelli et al. (2017) ทดลองเปรียบเทียบการเพาะเมล็ดผักกาดก้านขาว (rapeseed, *Brassica napus* var *oleifera* Del.) โดยการให้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 25, 50, 100 และ 200 มิลลิโมลาร์ พบว่าการให้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีค่าความเค็มต่ำ (25 และ 50 มิลลิโมลาร์) ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดร้อยละ 20 และ 35 ตามลำดับเมื่อเทียบกับชุดควบคุม การให้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้น ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณแทนนินอย่างมีนัยสำคัญ และจากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์

ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดเพาะงอก และในเมล็ดเพาะงอกที่ให้ความเข้มข้นสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด เนื่องจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแทนนินสูง

2.4 น้ำนมถั่วเหลือง

น้ำนมถั่วเหลืองถือกำเนิดที่ประเทศจีนเมื่อประมาณ 2000 ปีก่อน โดยใช้ชื่อเรียกว่า “Doujiang” มาจากการรวมคำว่า “Dou” แปลว่า ถั่วเหลือง และคำว่า “Jiang” แปลว่า ของเหลว (Odo, 2003)

น้ำนมถั่วเหลือง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 198 (2544) หมายถึง ของเหลวที่ได้จากถั่วเหลืองหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของถั่วเหลือง และอาจผสมวัตถุอื่นที่มีคุณค่าทางอาหารด้วยหรือไม่ก็ได้ ทั้งนี้ให้หมายความรวมถึงน้ำนมถั่วเหลืองชนิดเข้มข้นที่ต้องเจือจางก่อนบริโภค และน้ำนมถั่วเหลืองชนิดแห้งที่ต้องละลายก่อนบริโภค ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้ 1) มีกลิ่นและรสตามลักษณะของน้ำนมถั่วเหลืองนั้น 2) มีลักษณะเป็นของเหลวเนื้อเดียวกัน 3) มีโปรตีนจากถั่วเหลืองไม่น้อยกว่าร้อยละ 2 ของน้ำหนัก 4) มีไขมันจากถั่วเหลืองไม่น้อยกว่าร้อยละ 1 ของน้ำหนัก 5) ไม่มีวัตถุกันเสีย 6) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค 7) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์หรือสารเป็นพิษอื่นในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ (กระทรวงสาธารณสุข, 2544)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

น้ำนมถั่วเหลือง ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ฉบับที่ 529 (2558) หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำถั่วเหลืองที่มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ *Glycine max* (L.) Merrill มาล้างให้สะอาด แช่น้ำ บดกับน้ำแล้วกรอง อาจมีการปรุงแต่งกลิ่นรสและเติมส่วนผสมอื่น เช่น น้ำตาล น้ำลูกเดือย ชาเขียว นมผง สเตบิไลเซอร์ นำไปฆ่าเชื้อโดยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ก่อนหรือหลังบรรจุ และต้องเก็บรักษาโดยการแช่เย็น

วิธีพาสเจอร์ไรซ์ หมายถึง กรรมวิธีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาที่เหมาะสมแล้วทำให้เย็นลงทันที

2.4.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลือง

ขั้นตอนการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง ตามคู่มือการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง (2557) มีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ก่อนการสกัด เป็นขั้นตอนที่นำถั่วเหลืองมาแช่น้ำ เพื่อให้โครงสร้างเซลล์ของถั่วเหลืองอ่อนตัว และขั้นตอนการบดถั่วเหลืองร่วมกับน้ำ

ขั้นตอนที่ 2 การสกัด เป็นขั้นตอนที่ต้องใช้กระบวนการกรองและการบีบอัด เพื่อแยกน้ำนมถั่วเหลืองออกจากกากถั่วเหลือง

ขั้นตอนที่ 3 หลังการสกัด เป็นขั้นตอนการปรับปริมาณโปรตีน การปรุงแต่ง การเสริมคุณค่า และการทำให้ของเหลวเป็นเดียวกัน ด้วยกระบวนการโฮโมจีไนเซชัน

ขั้นตอนที่ 4 การให้ความร้อน ด้วยกระบวนการพาสเจอไรซ์ และกระบวนการสเตอริไลซ์ระบบ UHT

ผลจากการให้ความร้อนแก่น้ำนมถั่วเหลืองนอกจากการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคได้ ยังมีอีกประการที่สำคัญคือ การทำลายสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitor) เป็นหนึ่งในสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (antinutritional factor) โดยจะเข้าไปสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน ถูกจำแนกออกเป็น 2 ชนิด ตามขนาดโมเลกุล ได้แก่ ชนิด Kunitz มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20 kDa และชนิด Bowman-Birk มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8 kDa (Gemede and Ratta, 2014) การสะสมของสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเมล็ด ในถั่วเหลืองจะสะสมไว้ในส่วนของใบเลี้ยงมากกว่าร้อยละ 90 แต่ในถั่วลูกไก่จะสะสมอยู่ในใบเลี้ยง (ประมาณร้อยละ 75) สะสมในแกนต้น (ประมาณร้อยละ 15) และสะสมอยู่ในเปลือกหุ้มเมล็ด (ประมาณร้อยละ 10) (Sreerama et al., 2010) แต่อย่างไรก็ดีสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินถูกกำจัดได้ด้วยการให้ความร้อน Aviles-Gaxiola, Chuck-Hernandez , and Saldıvar (2018) พบว่าการให้ความร้อนถั่วทั้งเมล็ด ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถกำจัดสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินได้ร้อยละ 37.8 และการให้ความร้อนแก่น้ำนมถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 93 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถกำจัดสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินได้ร้อยละ 90 (Kwok et al., 1993)

นอกจากนี้การให้ความร้อนยังส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในน้ำนมถั่วเหลือง จากงานวิจัยเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของนมถั่วเหลือง เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน 1) ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที 2) traditional direct steam injection ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที 3) ยูเอชทีแบบให้ความร้อนโดยตรงด้วยไอน้ำ 143 องศาเซลเซียส เวลา 60 วินาที 4) ยูเอชทีแบบให้ความร้อนด้วยอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน (tubular heat exchanger) 143 องศาเซลเซียส เวลา 60 วินาที 5) ยูเอชทีแบบ 2 ระดับ (120 องศาเซลเซียส เวลา 80 วินาที และ 140 องศาเซลเซียส เวลา 4 วินาที) พบว่าทุกกระบวนการมีผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 5-10 แต่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมันร้อยละ 95 (Xu et al., 2010) โดย Chen et al. (1996) ให้เหตุผลว่าการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอาจเกิดจากการปลดปล่อย active peptides ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จากโปรตีนถั่วเหลืองในระหว่างการให้ความร้อน

2.5 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นกระบวนการที่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดที่เกิดจากการคิดค้นสูตรใหม่ หรือพัฒนาสูตรให้มีลักษณะที่ดีกว่าเดิม (คณาจารย์ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์, 2555) ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันน้ำนมถั่วเหลืองถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองหลายชนิด เช่น น้ำนมถั่วเหลืองผสมงาดำ น้ำนมถั่วเหลืองผสมธัญพืช น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำนมข้าวโพด น้ำนมถั่วเหลืองผสมวุ้นมะพร้าว และน้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำนมถั่วเหลืองสีดำ เป็นต้น

Chulalongkorn University

การพัฒนาสูตรการผลิตและการคัดเลือกสูตรที่เหมาะสม โดยการออกแบบส่วนผสมเพื่อคัดเลือกสูตรทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ mixture design เป็นการออกแบบการทดลองเพื่อหาอัตราส่วนปริมาณที่เหมาะสมของส่วนประกอบผลิตภัณฑ์ เมื่อมีตั้งแต่ 2 ปัจจัยขึ้นไป โดยผลรวมจะเท่ากับ 1.0 เมื่ออัตราส่วนปริมาณของปัจจัยหนึ่งถูกเปลี่ยนแปลงไปจะส่งผลต่ออัตราส่วนปริมาณของปัจจัยทั้งหมด ซึ่งแผนการทดลองที่ได้มีการกระจายของอัตราส่วนอย่างเหมาะสมและครอบคลุม Deshande, Chinnan และ Phillips (2008) ออกแบบการทดลองโดยจำกัดอัตราส่วนผสม 3 ชนิด ได้แก่ ถั่วเหลือง (ร้อยละ 28.3-43.5) ถั่วลิสง (ร้อยละ 30.6-58.7) และ ช็อคโกแล็ตไซรัป (ร้อยละ

13.0-25.9) ได้ 6 สูตรที่เกิดจากมุมของพื้นที่ภายในแบบส่วนผสม จากนั้นคัดเลือกสูตรเหมาะสมจากสูตรที่มีค่าความหนืดต่ำ กรดอะมิโนและความคงตัว (visual stability index) สูง

Oliveira et al. (2010) คัดเลือกสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองผสมอาซาอิ โดยการแปรอัตราส่วนผสมแบบจำกัดอัตราส่วนน้ำนมถั่วเหลือง (ร้อยละ 60-75) อาซาอิ (ร้อยละ 20-35) และน้ำตาล (ร้อยละ 5-20) ได้สูตรการออกแบบส่วนผสมจาก simplex centroid design ทั้งหมด 7 สูตร คัดเลือกสูตรเหมาะสมจากการยอมรับของผู้บริโภค (9-point hedonic scale) และความความสนใจในการซื้อ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส

Getu, Tola และ Neela (2017) คัดเลือกสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาเครื่องดื่มน้ำนมถั่วเหลือง โดยการแปรอัตราส่วนผสมแบบจำกัดอัตราส่วนผสมระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง (ร้อยละ 60-100) น้ำมะม่วงเข้มข้น (ร้อยละ 0-25) และน้ำเชื่อม (ร้อยละ 0-15) โดยใช้การออกแบบการทดลอง mixture design lacttice design ได้สูตรส่วนผสมในการทดลอง 14 สูตร และคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมบัติทางเคมีกายภาพและความชอบจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่สูง

ชมภูนุช เผื่อนพิภพ และคณะ (2556) คัดเลือกสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาเครื่องดื่มผสม โดยการแปรอัตราส่วนผสมแบบจำกัดอัตราส่วนผสมระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง (ร้อยละ 50-70) น้ำผักโขม (ร้อยละ 10-20) และน้ำสับปะรด (ร้อยละ 20-30) จากการออกแบบส่วนผสมได้สูตรการทดลอง 5 สูตรที่ได้จากมุมทั้ง 4 และจุดกึ่งกลางของรูปสี่เหลี่ยม คัดเลือกสูตรเหมาะสมจากสูตรที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดี และมีคะแนนการยอมรับจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูง

บทที่ 3
อุปกรณ์ ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยประกอบด้วย วัตถุดิบ สารเคมีและเครื่องมือ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.1.1 วัตถุดิบ

ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี จังหวัดลพบุรี และถั่วอะซูกิจากบริษัท โทส (บีบราเทอร์) จำกัด กรุงเทพมหานคร ซื้อในช่วงเดือนมกราคม 2563 ถึงเดือนมีนาคม 2563 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.2 สารเคมี

ชนิด analytical grade

Acetic acid	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Aqueous ammonia	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Boric acid	(Univar, Australia)
Copper (II) sulfate pentahydrate	(Merck, Darmstadt, Germany)
Diethyl ether	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	(Sigma, Germany)
Ethanol	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Ferric chloride	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Folin-Ciocalteu phenol reagent	(Sigma, Germany)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Gallic acid	(Fluka Chemika, Switzerland)
Hydrochloric acid	(Fisher Scientific, England)
6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid (Trolox)	(Sigma, Germany)
Methanol	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Petroleum ether	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Potassium sodium tartrate	(Carlo Erba, Val de Reuil, France)
Sodium carbonate	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Sodium hydroxide	(Carlo Erba, France)
Sulphuric acid	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Trichloroacetic acid	(Carlo Erba, France)
2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)	(Sigma, Germany)
ชนิด food grade	
Citric acid	(Union Chemical 1986, Thailand)
Sodium chloride	(Thai Refined Salt, Thailand)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.1.3 เครื่องมือ

เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น ML 1602, Greifensee, Switzerland)

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น ED 224s, Bradford, Germany)

เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrer) (Steroma G, Steroglass, Perugia, Italy)

เครื่องวัดสี (Konica Minolta รุ่น CR-400, Japan)

เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง (Horiba รุ่น F-21, Kyoto, Japan)

เครื่อง rotational viscometer (Fungilab รุ่น PREAMIUM series, Barcelona, Spain)

เครื่อง Rotary Evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Tokyo, Japan)

เครื่อง Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific รุ่น 4001/4, MA, USA)

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Cubota รุ่น 6000, Tokyo, Japan)

ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Buchi, Flawil, Switzerland) ประกอบด้วย

- ชุดย่อย (Buchi รุ่น K-424, Flawil, Switzerland)
- เครื่องดักจับไอกรด (Buchi รุ่น B-414, Flawil, Switzerland)
- ชุดกลั่น (Buchi รุ่น B-324, Flawil, Switzerland)

ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น 600, Schwalbach, Germany)

อ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าตลอดเวลาแบบ orbital (Gesells chaft fur รุ่น GEL 1092, Burgwedel, Germany)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเพาะงอก

วิธีการเพาะถั่วดัดแปลงจากวิธีการของ Durr and Boiffin (1991) นำเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิวางบนทรายเปียกหนา 0.5 เซนติเมตร และกลบทับด้วยทรายเปียกหนา 0.5 เซนติเมตร (อัตราส่วนทราย : น้ำ คือ 1 kg : 150 ml) ในถาดอะลูมิเนียมขนาด 22x29 เซนติเมตร โดยถั่วเหลืองไม่ผ่านกระบวนการแช่น้ำก่อนการเพาะเนื่องจากการแช่น้ำส่งผลให้ความมีชีวิตของเมล็ดถั่วเหลืองลดลง แต่ในถั่วอะซูกิมีกระบวนการแช่น้ำก่อนเพาะ 12 ชั่วโมง เนื่องจากเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งแรงยากต่อการซึมผ่านของน้ำ เมื่อเพาะครบตามเวลาที่กำหนด (0, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง) นำไปนึ่ง 10 นาที บดละเอียดด้วยเครื่องปั่นแห้งที่ความเร็วสูงสุด 3 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีนหยาบ ปริมาณไขมันหยาบ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC) และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content, TFC) ด้วยวิธีการดังนี้

3.2.1.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2006) ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียด น้ำหนักประมาณ 2 กรัม อบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ รายละเอียดดังภาคผนวก ก.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.1.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบ (crude protein) ด้วย Kjeldahl method ตามวิธีของ AOAC (2006) ปริมาณโปรตีนหยาบ คำนวนจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด x โปรตีนแฟคเตอร์ (factor 6.25) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.2

3.2.1.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบ (crude fat) ด้วย Soxhlet extraction ตามวิธีของ AOAC (2006) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.3

3.2.1.4 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิเพาะงอกบดละเอียดถูกสกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 อัตราส่วน 1:10 (w/v) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30±1 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200

rpm นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 10 นาที สารละลายส่วนใสที่ได้จะถูกกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ก่อนวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu reagent ตามการดัดแปลงวิธีของ Waterhouse (2005) แสดงผลหน่วย mg GAE/g bean (db.) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.4 และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีของ Zhishen et al. (1999) แสดงผลหน่วย mg CAE/g bean (db.) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.5

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey’s test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS v.22 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

สภาวะที่ถูกคัดเลือกต้องส่งผลให้ถั่วเพาะงอกมีปริมาณโปรตีนหยาบสูงกว่าชุดควบคุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับชุดควบคุม และมีปริมาณไขมันหยาบเพียงพอต่อการพัฒนาสูตรน้ำนมถั่วเหลืองผสมถั่วอะซูกิ

3.2.2 ศึกษาการงอก การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด

ในการทดลองการให้ความเครียดแก่ถั่วเพาะงอกจะกระทำในระหว่างขั้นตอนการแช่น้ำ ดังนั้นจึงให้ความเครียดแก่ถั่วอะซูกิเพียงชนิดเดียว เนื่องจากการเพาะถั่วเหลืองไม่มีขั้นตอนการแช่น้ำ (การแช่น้ำส่งผลให้ความมีชีวิตของเมล็ดถั่วเหลืองลดลง) โดยความเครียดที่ถั่วอะซูกิได้รับเกิดจากการปรับสภาพด้วยสารละลาย 2 ชนิด ได้แก่ สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (Koodkaew, 2019) และสารละลายกรดซิตริกเข้มข้นร้อยละ 1 (52 มิลลิโมลาร์) (Sritongtae et al., 2017) โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของความเครียดที่ให้แก่ถั่วอะซูกิต้องส่งมีอัตราการงอกเมล็ดอย่างน้อยร้อยละ 90

3.2.2.1 วิเคราะห์อัตราการงอก และความยาวราก

ถั่วอะซูกิถูกให้ความเครียดโดยการปรับสภาพด้วยการแช่ในสารละลาย 2 ชนิด ได้แก่ 1. แช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ หรือ 2. แช่ใน

สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 52 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วนถั่ว : สารละลาย คือ 1 g : 10 ml นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำถั่วอะซูกิที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย จำนวน 100 เมล็ด ไปเพาะบนทรายเปียกหนา 0.5 เซนติเมตร และกลบทับด้วยทรายเปียกหนา 0.5 เซนติเมตร (อัตราส่วนทราย : น้ำ คือ 1 kg : 150 ml) ในถาดอะลูมิเนียมขนาด 22x29 เซนติเมตร เพาะงอกเป็นเวลา 30 ชั่วโมง จากนั้นวัดความยาวราก และคำนวณอัตราการงอกจากสูตร (AOSA, 1990) กำหนดให้ชุดการทดลองถั่วอะซูกิเพาะงอกที่แช่ด้วยน้ำเป็นชุดควบคุม

$$\text{อัตราการงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

3.2.2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ถั่วอะซูกิเพาะงอกบดละเอียดที่ได้จากการเตรียมดังวิธีการข้อ 3.2.2.1 จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะถูกนำไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีนหยาบ ปริมาณไขมันหยาบ และ TCA-soluble peptides ถั่วอะซูกิเพาะงอกบดละเอียดอีกส่วนหนึ่งจะถูกสกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 อัตราส่วน 1:10 (w/v) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30±1 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 rpm นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 10 นาที สารละลายส่วนใสที่ได้จะถูกกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC) และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content, TFC) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธีการดังนี้

- วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ดังวิธีการในข้อ 3.2.1.1

- วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบ (crude protein) ดังวิธีการในข้อ 3.2.1.2

- วิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบ (crude fat) ดังวิธีการในข้อ 3.2.1.3

- วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ดังวิธีการในข้อ 3.2.1.4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

- วิเคราะห์ฤทธิต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay รายละเอียดดังภาคผนวก ก.6 และ Ferric reducing oxidant power assay, FRAP ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.7

- วิเคราะห์ TCA-soluble peptides ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) ชั่งตัวอย่างถั่วอะซูกิบดละเอียด 3 กรัม ตามด้วยสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเย็นที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) 27 มิลลิลิตร กวนสารละลายต่อเนื่องบน stirrer นาน 2 นาที ก่อนนำไปวางในถังน้ำแข็งนาน 1 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสด้านบนมาวิเคราะห์ปริมาณเพปไทด์และกรดอะมิโนด้วยวิธี Lowry (Lowry et al., 1951) คำนวณปริมาณ TCA-soluble peptides จากกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไทโรซีน รายละเอียดดังภาคผนวก ก.8 และ ก.9 และแสดงผลหน่วย g tyrosine/ g bean (db.)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey’s test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS v.22 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

สภาวะที่ถูกคัดเลือกต้องส่งผลให้ถั่วอะซูกิเพาะงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.2.3 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก

การกำหนดช่วงการจำกัดอัตราส่วนของน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิ โดยใช้ข้อมูลการวิเคราะห์โปรตีหยาบและไขมันหยาบของน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้นและน้ำนมถั่วอะซูกิเริ่มต้น เพื่อให้ได้น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิที่มีปริมาณโปรตีนหยาบไม่ต่ำกว่าร้อยละ 2 และมีปริมาณไขมันหยาบไม่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ตามประการศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 198 (2544)

3.2.3.1 เตรียมน้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก ล้างถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง แล้วแช่น้ำด้วยอัตราส่วน 1:10 นาน 12 ชั่วโมง ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่จะถูกปั่นผสมกับน้ำ (อัตราส่วน 1:2.5) แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นนำส่วนน้ำนมที่ได้มาผสมกับน้ำตาล และน้ำนมถั่วอะซูกิ ด้วยอัตราส่วนถั่วอะซูกิต่อน้ำ 1:2 (เพื่อให้น้ำนมถั่วอะซูกิที่ได้มีปริมาณโปรตีนเพียงพอต่อการพัฒนาสูตร) ที่สกัดด้วยวิธีเดียวกัน นำไป homogenization ด้วยความเร็วรอบ 7,000 rpm นาน 1 นาที แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

สูตรการผสมที่ใช้ได้จากการออกแบบตามทฤษฎีการออกแบบส่วนผสม (mixture design) แบบจำกัดอัตราส่วน น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75-85 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 10-20 และน้ำตาลร้อยละ 5 คัดเลือกสูตรในการทดลองจากจุดมุม (vertices) 2 จุด และจุดกึ่งกลางระหว่างจุดมุม (midpoint) 1 จุด จึงได้สูตร 3 สูตรจากการออกแบบส่วนผสม และอีก 1 สูตรจากการกำหนดสูตรควบคุม (สูตรที่ไม่ผสมน้ำนมถั่วอะซูกิ) จึงมีสูตรในการทดลองสำหรับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกทั้งหมด 4 สูตร (สูตรที่ 1-4) ดังตารางที่ 3.1

3.2.3.2 เตรียมน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก นำถั่วเหลืองเพาะงอก 36 ชั่วโมง (สภาวะที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดลองข้อ 3.2.1) และถั่วอะซูกิเพาะงอก 30 ชั่วโมงที่ไม่ผ่านการให้ความเครียด (สภาวะที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดลองข้อ 3.2.2) มาผลิตเป็นน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก โดยใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและถั่วอะซูกิเพาะงอก ดังวิธีการในข้อ 3.2.3.1 ได้น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก (สูตรที่ 5) และสูตรการผสมน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก 3 สูตร (สูตรที่ 6-8) เมื่อรวมสูตรส่วนผสมจากการทดลองข้อที่ 3.2.3.1 และ 3.2.3.2 จะได้สูตรในการทดลองทั้งหมด 8 สูตร ดังตารางที่ 3.1

จากนั้นนำน้ำนมทั้ง 8 สูตรไปวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เพื่อคัดเลือกน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก เพื่อนำไปทดสอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3.1 สูตรการผสมน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก

สูตร	ชนิดของถั่วที่ใช้ในการผลิตน้ำนม	ชนิดของน้ำนมถั่ว		น้ำตาล (ร้อยละ)
		น้ำนมถั่วเหลือง (ร้อยละ)	น้ำนมถั่วอะซูกิ (ร้อยละ)	
1 (สูตรควบคุม)	ถั่วไม่เพาะงอก	95	0	5
2		85	10	5
3		80	15	5
4		75	20	5
5	ถั่วเพาะงอก	95	0	5
6		85	10	5
7		80	15	5
8		75	20	5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.3.3 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพดังนี้

นำน้ำนมทั้ง 8 สูตรมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพดังนี้

- ค่าดัชนีการแยกชั้น (creaming index) ตามวิธีของ Prieoke et al. (1980) บรรจุน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ 10 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง จากนั้นวิเคราะห์ค่าดัชนีการแยกชั้นครีมตามสูตร (Nelson, Steinberg and Wei, 1975)

$$\text{Creaming index} = \frac{H_L}{H_E} \times 100$$

โดยที่ H_L คือความสูงของชั้นซีรัม (ชั้นใสด้านล่าง) และ H_E คือความสูงของปริมาตรน้ำนมทั้งหมด

- ค่าสี L* a* b* นำตัวอย่างใส่ลงในคิวเวตสำหรับวัดค่าสี แล้ววัดค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี (Konica Minolta รุ่น CR-400, Japan) ค่าแหล่งกำเนิดแสง D65 ค่ามุมมอง 10 องศา จากนั้นคำนวณค่า chroma (C*) และ Hue angle ตามสูตรของ McGuire (1992) และ McLellan, Lind and Kime (1995)

$$\text{chroma} = \sqrt{a^{*2}+b^{*2}}$$

$$\text{Hue angle} = \text{arctangent}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \qquad \text{เมื่อ } a^*>0 \text{ และ } b^*>0$$

$$= 180^\circ+\text{arctangent}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \qquad \text{เมื่อ } a^*<0 \text{ และ } b^*>0 \text{ หรือ } b^*<0$$

$$= 360^\circ+\text{arctangent}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \qquad \text{เมื่อ } a^*>0 \text{ และ } b^*<0$$

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง นำตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร วัดด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Horiba รุ่น F-21, Kyoto, Japan)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- ค่าความหนืด นำตัวอย่างปริมาตร 100 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร วัดค่าความหนืดด้วยหัววัดเบอร์ 2 ของเครื่อง rotational viscometer (Fungilab รุ่น PREAMIUM series, Barcelona, Spain) จับเวลาการวิเคราะห์ 1 นาที

3.2.3.4 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบและปริมาณไขมันหยาบ

ปริมาณโปรตีนหยาบในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิถูกวิเคราะห์ดังข้อ 3.2.1.2 และปริมาณไขมันหยาบถูกวิเคราะห์ด้วย Roese-Gottleieb method ตามขั้นตอนของ British Stardard 2472 (1989) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.10

3.2.3.5 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สกัดน้ำนมตัวอย่างทั้ง 4 สูตรด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 อัตราส่วน 1:3 (v/v) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30±1 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 rpm นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 10 นาที สารละลายส่วนใสที่ได้ถูกกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ก่อนวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu reagent ตามการดัดแปลงวิธีของ Waterhouse (2005) แสดงผลหน่วย mg GAE/ml วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดตามวิธีของ Zhishen et al. (1999) แสดงผลหน่วย mg CAE/ml และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay และ Ferric reducing oxidant power assay, FRAP ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) แสดงผลหน่วย µmol TE/ml ตามวิธีการในข้อ 3.2.2.2

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey’s test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS v.22 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

คัดเลือกน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก 1 สูตร และคัดเลือกน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก 1 สูตร จากการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สูตรที่ผ่านการคัดเลือกต้องมีสารออกฤทธิ์ทางธรรมชาติและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงขึ้นจากสูตรน้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม (สูตรที่ 1)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.2.4 ลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ

เตรียมน้ำนมถั่วเหลือง 3 สูตร ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.2.3) ดังวิธีการในข้อ

3.2.3.1 และเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกสูตรเพาะงอก (สูตรที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.2.3) ดังวิธีการในข้อ 3.2.3.2

จากนั้นวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของน้ำนมถั่วเหลือง 2 สูตร ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิสูตรเพาะงอก ตามวิธีการในข้อ 3.2.4.1 ถึง 3.2.4.3 และวิเคราะห์การทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 3 สูตร ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิสูตรเพาะงอก ดังการทดลองข้อ 3.2.4.4

3.2.4.1 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ

ได้แก่ ค่าความคงตัว, ค่าสี, ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าความหนืด ดังวิธีการในข้อ 3.2.3.3

3.2.4.2 วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

- ปริมาณน้ำ โดยการคำนวณ หลังจากการหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) วิเคราะห์ตามวิธีของ NZS 2246 (1969) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.11

- ปริมาณโปรตีนหยาบในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิถูกวิเคราะห์ดังวิธีการในข้อ 3.2.3.4

- ปริมาณไขมันหยาบถูกวิเคราะห์ดังวิธีการในข้อ 3.2.3.4

- ปริมาณเถ้าถูกวิเคราะห์ตามขั้นตอนของ AOAC (2006) รายละเอียดดังภาคผนวก ก.12

- ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยคำนวณด้วยวิธี available carbohydrate by difference ตามวิธีของ AOAC (2006) ดังนี้

Available carbohydrate = 100 – (ปริมาณน้ำ + โปรตีนหยาบ + ไขมันหยาบ + เถ้า)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.2.4.3 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ตามวิธีการดังข้อ 3.2.3.5

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ t-test dependent ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS v.22 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

3.2.4.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบความชอบ (preference test) และการยอมรับ (acceptance test) โดยคัดเลือกผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน (untrained) จากนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่มีอายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป จำนวน 50 คน และเป็นผู้ที่บริโภคและคุ้นเคยกับน้ำนมถั่วเหลือง ผู้ทดสอบจะได้รับน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 3 สูตร ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิเพาะงอก ซึ่งทั้ง 3 สูตรและวิธีการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.4 ในการทดสอบผู้ทดสอบจะได้รับตัวอย่างครั้งละ 3 ตัวอย่าง ที่มีลำดับตัวเลขกำกับตัวอย่างละ 3 ตัว เสิร์ฟตัวอย่างด้วยภาชนะพลาสติกใสที่มีฝาปิด ภายในบรรจุตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส (Navicha et al, 2017) โดยแบ่งการทดสอบเป็น 2 ส่วน ดังนี้ (รายละเอียดแบบทดสอบดังภาคผนวก ง.)

- การเรียงลำดับความชอบของผู้บริโภค โดยใช้การจัดลำดับ (ranking test) วิเคราะห์ด้วย Friedman (เพ็ญขวัญ ชมปรีดา, 2556) กำหนดให้คะแนนลำดับความชอบที่เป็นอันดับ 1 = 3 คะแนน, อันดับ 2 = 2 คะแนน, อันดับ 3 = 1 คะแนน

- ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค โดยใช้การให้คะแนนความชอบ (hedonic scaling) สเกลความชอบ 9 ระดับ ดังนี้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 2 = ไม่ชอบมาก, 3 = ไม่ชอบปานกลาง, 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย, 5 = เฉยๆ, 6 = ชอบเล็กน้อย, 7 = ชอบปานกลาง, 8 = ชอบมาก, 9 = ชอบมากที่สุด ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบที่ได้รับจากผู้ทดสอบจะถูกแปลเป็นช่วงความชอบของผู้บริโภคต่อลักษณะปรากฏ สี รสชาติ กลิ่นรส ความข้นหนืด ความรู้สึกภายในปาก และความชอบโดยรวมของตัวอย่างน้ำนมทั้ง 3 สูตร

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey’s test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS v.22 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเพาะงอก

จากการแปรเวลาในการเพาะถั่วเหลือง และถั่วอะซูกิ เวลาในการเพาะ 0, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลอง (ตารางที่ 4.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.1 ถึง ค.2) พบว่าปริมาณความชื้นในถั่วเพาะงอกทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างกระบวนการเพาะงอก 36 ชั่วโมงเมื่อเทียบกับถั่วไม่เพาะงอก ($p \le 0.05$) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของความชื้นในระหว่างกระบวนการเพาะงอกเกี่ยวข้องกับดูดน้ำของเมล็ดระหว่างกระบวนการงอก (Stiles, 1948) Fouad and Rehab (2015) พบว่าปริมาณความชื้นในถั่วเลนทิล (*Lens culinaris* Medik.) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามระยะเวลาในการงอก โดยมีการเพิ่มขึ้นของความชื้นร้อยละ 25.42 – 39.25 และมีความชื้นสูงสุดในวันที่ 6 ของการงอก เช่นเดียวกับ Duangmal and Sangsukiam (2015) พบว่าปริมาณความชื้นในถั่วเขียวและถั่วอะซูกิเพาะงอกเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในระหว่างกระบวนการเพาะงอก 36 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบ (ตารางที่ 4.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.3 ถึง ค.4) พบว่าปริมาณโปรตีนหยาบในถั่วเหลืองเพาะงอกแตกต่างจากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$) และปริมาณโปรตีนหยาบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการงอก โดยมีปริมาณโปรตีนหยาบสูงสุดที่เวลาในการเพาะ 36 ชั่วโมงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับปริมาณโปรตีนหยาบที่ได้จากการเพาะ 30 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบในถั่วอะซูกิเพาะงอกทุกช่วงเวลามีปริมาณโปรตีนหยาบสูงกว่าถั่วอะซูกิที่ไม่ผ่านการเพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนหยาบสอดคล้องกับ Wongsiri et al. (2015) เพาะถั่วเขียวที่ 0-24 ชั่วโมง พบว่าในระหว่างกระบวนการงอกปริมาณโปรตีนหยาบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและมีแนวโน้มสูงขึ้นต่อเนื่อง ซึ่งการเพิ่มขึ้นนั้นอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของ nonprotein nitrogen เช่น กรดอะมิโน โพลีเพปไทด์ และกรดนิวคลีอิก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบ (ตารางที่ 4.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.5 ถึง ค.6) พบว่าปริมาณไขมันหยาบในถั่วเหลืองเพาะงอกมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาในการเพาะ 24, 30 และ 36 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และมีปริมาณไขมันหยาบแตกต่างจากถั่วเหลืองไม่เพาะงอก ซึ่งอาจเกิดจากการสลายตัวของไขมันเมื่อระยะเวลาการงอกเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Kajla et al. (2017) ทำการเพาะ flaxseed 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง พบว่าปริมาณไขมันหยาบ (db.) ลดลงประมาณร้อยละ 7 เมื่อผ่านการเพาะงอก เนื่องจากการงอกเมล็ดส่งผลให้ lipolytic enzyme ทำงาน ทำให้ไขมันถูกไฮโดรไลซ์กลายเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล ซึ่งถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานในการพัฒนาเอ็มบริโอ ปริมาณไขมันหยาบในถั่วอะซูกิเพาะงอกมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในระยะแรกของการงอก จากนั้นปริมาณไขมันหยาบในถั่วอะซูกิเพาะงอกมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาของการเพาะ ซึ่งผลการเพิ่มขึ้นของไขมันระหว่างกระบวนการเพาะงอกสอดคล้องกับ Echedu, Obizoba and Anyika (2009) พบว่าปริมาณไขมันหยาบใน Groundbean (*Kerstingiella geocarpa* Harms) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในเมล็ดที่ผ่านการเพาะงอก 24 ชั่วโมง และมีแนวโน้มลดลงหลังจาก 48 ชั่วโมงของการเพาะ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 4.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.7 ถึง ค.8) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วเหลืองเพาะงอกสูงกว่าถั่วเหลืองไม่เพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการเพาะที่ 36 ชั่วโมงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (เพิ่มขึ้นร้อยละ 97 จากถั่วเหลืองไม่เพาะงอก) เช่นเดียวกันกับผลการเพาะงอกถั่วอะซูกิมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับถั่วอะซูกิที่ไม่ผ่านการเพาะงอก ($p \leq 0.05$) โดยการเพาะงอกถั่วอะซูกิ 30 ชั่วโมงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (เพิ่มขึ้นร้อยละ 36 จากถั่วอะซูกิไม่เพาะงอก) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเกิดจากการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ในระหว่างกระบวนการเพาะงอก ผลการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสอดคล้องกับ Fernandez-Orozco et al. (2008) เพาะถั่วเหลืองและถั่วเขียว (*Vigna radiata* cv. emmerald) พบว่ากระบวนการงอกเมล็ดมีผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (db.) ในถั่วเหลืองและถั่วเขียวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับถั่วที่ไม่เพาะงอก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ตารางที่ 4.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.9 ถึง ค.10) พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในถั่วเหลืองเพาะงอกที่เวลา 30 และ 36 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองไม่เพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p≤0.05$) เช่นเดียวกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในถั่วอะซูกิเพาะงอกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าในถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p≤0.05$) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาในการงอก ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในระหว่างกระบวนการงอกเกิดจากการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในระหว่างการงอก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Guo et al. (2012) ที่วิจัยเพาะถั่วเขียวที่ 0-9 วัน พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการงอกและคงที่ในวันที่ 7 ของการเพาะ

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลืองเพาะงอกและถั่วอะซูกิเพาะงอกที่เวลา 0-36 ชั่วโมง

ชนิดถั่ว	เวลาในการเพาะงอก (hr)	Moisture content (%)	Crude protein (g/100g bean db.)	Crude fat (g/100g bean db.)	Total phenolic content (mg GAE/g bean db.)	Total flavonoid (mg CAE/g bean db.)
ถั่วเหลือง	0	$7.43±0.32^{a}$	$45.24±0.24^{a}$	$16.65±0.28^{d}$	$1.04±0.05^{a}$	$0.34±0.05^{a}$
	24	$55.19±0.43^{b}$	$47.23±1.06^{b}$	$15.81±0.25^{c}$	$1.96±0.09^{bc}$	$0.29±0.06^{a}$
	30	$56.08±0.36^{b}$	$49.45±0.17^{c}$	$15.11±0.12^{b}$	$1.85±0.04^{b}$	$0.60±0.08^{b}$
	36	$58.72±0.54^{b}$	$49.61±0.26^{c}$	$14.38±0.25^{a}$	$2.05±0.07^{c}$	$0.56±0.05^{b}$
ถั่วอะซูกิ	raw	$9.84±0.49^{a}$	$24.86±0.18^{b}$	$0.65±0.02^{a}$	$2.25±0.11^{c}$	$1.81±0.06^{c}$
	0	$50.65±0.71^{b}$	$23.75±0.25^{a}$	$0.64±0.02^{a}$	$1.49±0.05^{a}$	$0.74±0.08^{a}$
	24	$58.50±0.77^{c}$	$26.24±0.27^{c}$	$1.05±0.03^{d}$	$1.95±0.04^{b}$	$0.85±0.05^{ab}$
	30	$60.50±0.54^{d}$	$26.22±0.85^{c}$	$0.89±0.04^{c}$	$2.03±0.11^{b}$	$0.88±0.06^{ab}$
	36	$60.59±0.93^{d}$	$25.73±0.30^{c}$	$0.79±0.03^{b}$	$1.91±0.07^{b}$	$0.93±0.07^{b}$

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p≤0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วชนิดเดียวกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2 การงอกเมล็ด การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด

ผลการวิเคราะห์อัตราการงอกเมล็ดในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ได้รับความเครียดจากการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 52 มิลลิโมลาร์ นาน 12 ชั่วโมง โดยกำหนดให้ถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำเป็นชุดควบคุม (ตารางที่ 4.2) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.11 ถึง ค.12) พบว่าการปรับสภาพถั่วอะซูกิด้วยสารละลายเกลือและการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดส่งผลให้ถั่วอะซูกิมีอัตราการงอกไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90 แต่อัตราการงอกของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และให้ผลในทิศทางเดียวกับความยาวรากของถั่วอะซูกิเพาะงอก โดยความยาวรากลดลงร้อยละ 41.29 และลดลงร้อยละ 59.62 ในถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือและสารละลายกรดซิตริกตามลำดับ (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ค.11 ถึง ค.12) Cokkizgin (2012) พบว่าการแช่ถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L.) ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ส่งผลให้อัตราการงอกเมล็ดลดลง และอัตราการงอกมีแนวโน้มลดต่ำลงเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลายเกลือ ซึ่งเกิดจากเมล็ดได้รับความเครียดเกลือ (salinity stress) เนื่องจากการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ดลดลง และเกิดการไม่สมดุลของโซเดียมไอออน และแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ (Shokohifard et al., 1989)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.2 อัตราการงอกเมล็ดของถั่วอะซูกิ ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ และสารละลายกรดซิตริก

สารละลายปรับสภาพ	อัตราการงอก (%)	ความยาวรากเฉลี่ย (mm)
น้ำ (ชุดควบคุม)	100.00 ± 0.00^{c}	13.62 ± 0.54^{c}
50 mM NaCl	94.00 ± 2.00^{b}	7.86 ± 0.90^{b}
52 mM Citric acid	90.33 ± 1.53^{a}	5.50 ± 0.29^{a}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในถั่วอะซูกิเพาะงอก ที่มีการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 52 มิลลิโมลาร์ นาน 12 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำ (ชุดควบคุม) (รูปที่ 4.1 และตารางที่ ข.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.13) พบว่าปริมาณความชื้นในถั่วเพาะงอกสูงกว่าถั่วไม่เพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณความชื้นของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด แต่ความชื้นในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายมีปริมาณลดลง เมื่อเทียบกับถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำ ซึ่งการลดลงของปริมาณความชื้นในเมล็ดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย อาจเกิดจากเมล็ดมีความสามารถในการดูดซึมน้ำจากบริเวณโดยรอบลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสมดุลไอออนภายในเซลล์ (Bradford, 1995)

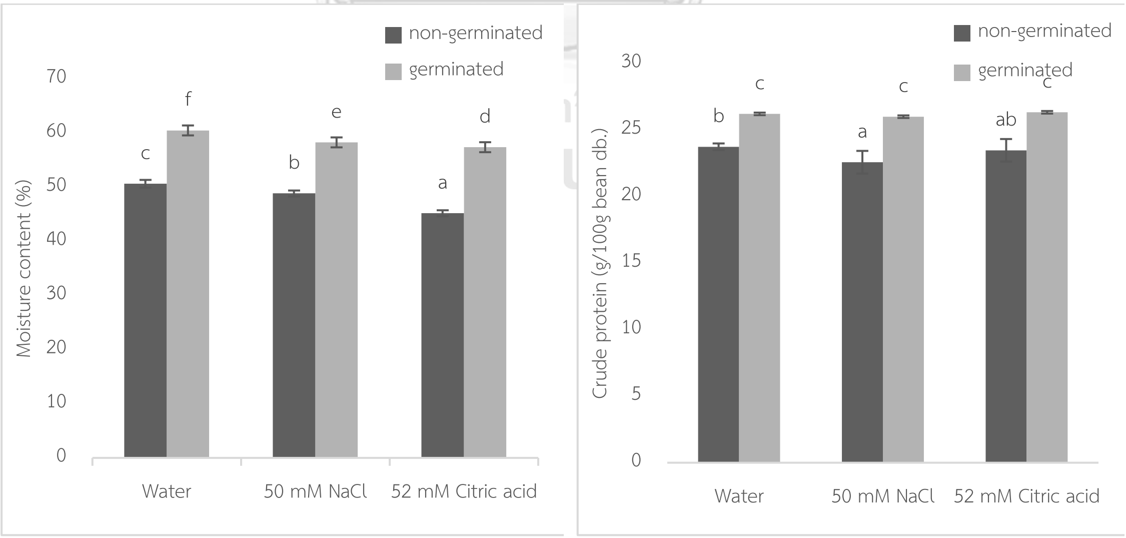
เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนหยาบ พบว่าปริมาณโปรตีนหยาบในถั่วอะซูกิเพาะงอกทุกชุดการทดลองสูงกว่าปริมาณโปรตีนหยาบในถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.14) แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนหยาบระหว่างถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำ ถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายสารละลายเกลือ และถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซิตริก อาจเกิดจากความเครียดจากกรดที่ระดับความเข้มข้น 52 มิลลิโมลาร์ และความเครียดจากเกลือที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ไม่ส่งผลต่อการสังเคราะห์ nonprotein nitrogen

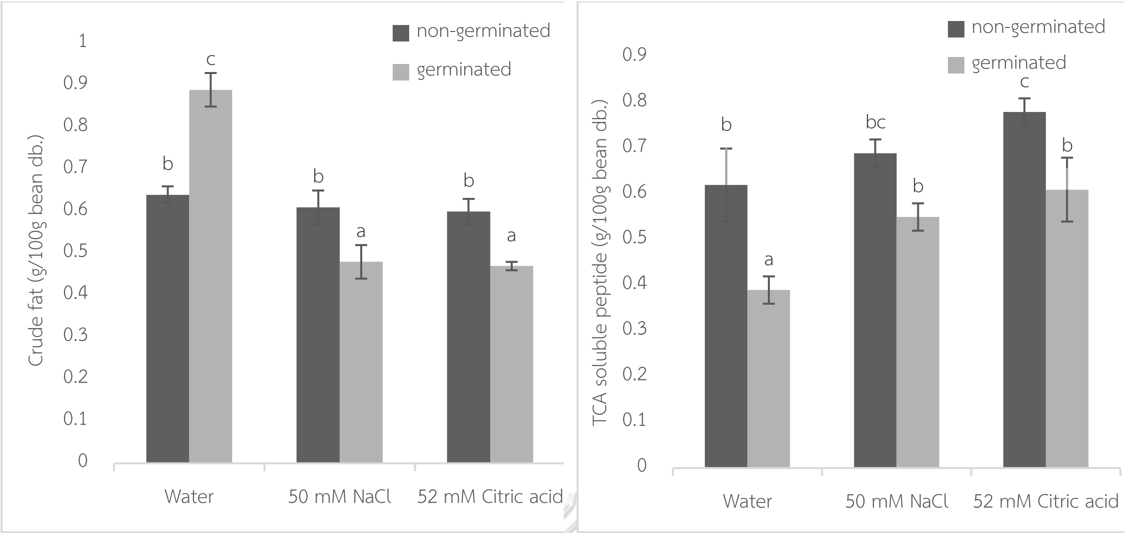
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันหยาบ พบว่าปริมาณไขมันหยาบของถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณไขมันหยาบในถั่วอะซูกิเพาะงอกชุดควบคุมสูงขึ้นหลังจากการเพาะงอก 30 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันหยาบในถั่วเพาะงอกที่ผ่านการแช่สารละลายเกลือและสารละลายกรด ซิตริก พบว่าปริมาณไขมันหยาบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.15) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยการลดลงของปริมาณไขมันลดลงร้อยละ 48.97 และลดลงร้อยละ 52.81 ในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่สารละลายเกลือและสารละลายกรดซิตริกตามลำดับ ซึ่งการลดลงของปริมาณไขมันหยาบอาจเกิดจากเมล็ดได้รับความเครียดจึงเร่งปฏิกิริยาในการสลายไขมันในการสร้างพลังงาน เพื่อให้เมล็ดสามารถงอกได้ในสภาวะเครียด การลดลงของปริมาณไขมันหยาบสอดคล้องกับ Kim et al. (2013) พบว่าการเพาะงอก

ถั่วเหลืองที่เวลา 24 ชั่วโมง ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณไขมันหยาบ จากร้อยละ 10.10 เป็น ร้อยละ 9.70

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ TCA-soluble peptide พบว่าถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกมีปริมาณ TCA-soluble peptide สูงกว่าในถั่วอะซูกิเพาะงอกทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.16) โดยถั่วอะซูกิแช่น้ำไม่เพาะงอก ถั่วอะซูกิที่ปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือไม่เพาะงอก และถั่วอะซูกิที่ปรับสภาพด้วยกรดซิตริกไม่เพาะงอกมีปริมาณ TCA-soluble peptide สูงกว่าในถั่วอะซูกิแช่น้ำเพาะงอก ถั่วอะซูกิที่ปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือเพาะงอก และถั่วอะซูกิที่ปรับสภาพด้วยกรดซิตริกเพาะงอก ร้อยละ 58.97 ร้อยละ 25.45 และร้อยละ 27.87 ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจากกรดอะมิโนและเพปไทด์ถูกใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน และเอนไซม์ เช่น ไลเปส เพื่อใช้ในระหว่างกระบวนการงอกเมล็ด การทดลองให้ผลในทิศทางเดียวกับ Sritongtae et al. (2017) พบว่าปริมาณ TCA-soluble peptide ในถั่วนิ้วนางแดง (*Vigna umbellata*) เพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำ และการปรับสภาพด้วยกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ก่อนการเพาะ มีปริมาณ TCA-soluble peptide ลดลง ร้อยละ 60 และร้อยละ 29.03 ตามลำดับ ทั้งนี้การลดลงของ TCA-soluble peptide อาจเกิดจากการลดลงของโอลิโกเพปไทด์ ในระยะแรกของกระบวนการงอก เนื่องจากโอลิโกเพปไทด์ถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีน (Bewley, 1997)





รูปที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด

ผลการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (รูปที่ 4.2 และตารางที่ ข.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.17 ถึง ค.18) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.17) แต่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วอะซูกิเพาะงอกทุกชุดการทดลอง โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในถั่วอะซูกิเพาะงอกชุดควบคุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกร้อยละ 59.06 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่มีการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกร้อยละ 70.47 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วอะซูกิเพาะงอกที่มีการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซิตริก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกร้อยละ 53.08 ในขณะเดียวกันถั่วอะซูกิเพาะงอกที่มีการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ และถั่วอะซูกิเพาะงอกที่มีการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซิตริก มีปริมาณประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าถั่วอะซูเพาะงอกชุดควบคุม ร้อยละ 25.13 และ ร้อยละ 22.17 ตามลำดับ

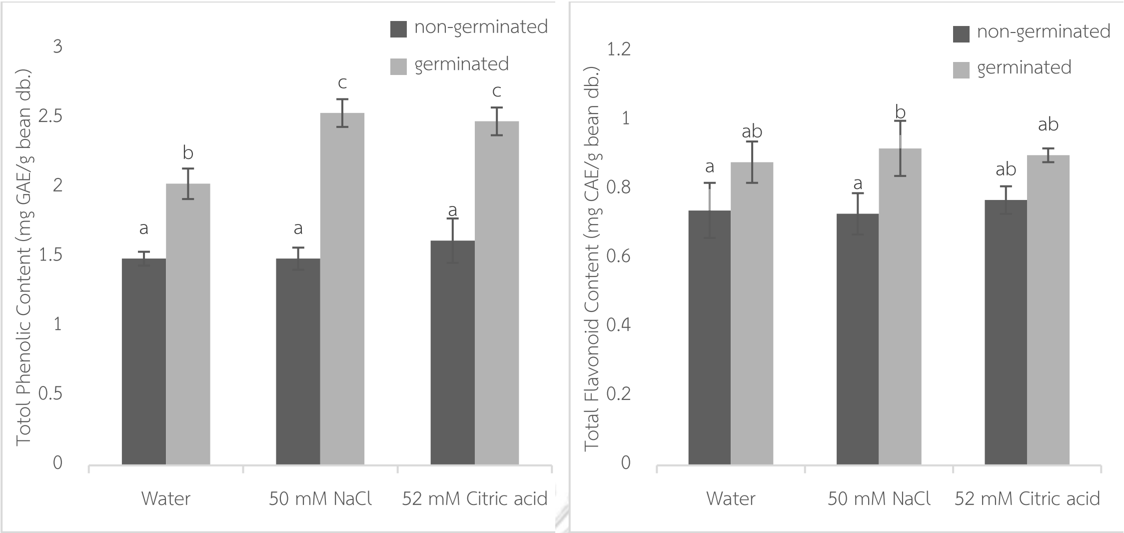
เมื่อพิจารณาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ในถั่วอะซูกิทุกชุดการทดลองที่ผ่านการเพาะงอก 30 ชั่วโมง (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.18) แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ระหว่างถั่วอะซูกิเพาะงอกชุดควบคุม กับถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย

ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอาจเกิดจากการปรับตัวของพืชเนื่องจากความเครียด เนื่องจากการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก (phenolic biosynthesis) เป็นหนึ่งในกลไกป้องกันความเครียดของพืช (Mazid, Khan and Mohammad, 2011) และจากการที่เซลล์พืชได้รับกรดส่งผลต่อการคลายตัวของผนังเซลล์ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่เชื่อมติดอยู่กับผนังเซลล์หลุดออกมาในระหว่างกระบวนการงอก (Rayle and Cleland, 1992) McCue et al. (2000) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วลันเตาที่ปรับสภาพด้วยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นร้อยละ 13.60 Yuan et al. (2010) พบว่าการเพาะเมล็ดผักกาด โดยการให้สารละลายเกลือความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น ประมาณร้อยละ 19 เมื่อเพาะระยะเวลา 3 วัน เทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ให้สารละลายเกลือ

Koodkeaw (2019) พบว่าการให้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ในถั่วเขียว (*Vigna radiata* L. cv. Kamphaeng Saen 1) เพาะงอกที่ระยะเวลา 3 วัน ส่งผลให้ปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในถั่วเขียว (*Vigna radiata* L. cv. Kamphaeng Saen 1) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับถั่วเขียวไม่เพาะงอก โดยมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ประมาณร้อยละ 11 และประมาณร้อยละ 27 ในถั่วเขียวเพาะงอกที่ให้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ซึ่งการให้สารละลายเกลือ ทำให้พืชได้รับความเครียดจากเกลือ (salt stress) ส่งผลต่อการสังเคราะห์สารทุติยภูมิในพืชให้ดีขึ้น ในทำนองเดียวกันกับ Lim et al. 2012 พบว่าการที่บัควีท (buckwheat) ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดการทดลองไม่เพาะงอก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (รูปที่ 4.3 และตารางที่ ข.1) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.19 ถึง ค.20) พบว่าถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกทุกชุดการทดลองมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เช่นเดียวกับผลฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเพาะงอกทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ซึ่งไม่สอดคล้องตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการให้ความเครียด ทั้งนี้อาจเกิดจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการงอกของถั่วอะซูกิที่ผ่านการให้ความเครียด อาจเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดที่ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำ ซึ่งฤทธิ์ต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้อาจเกิดจากระยะเวลาในการเพาะงอกที่ 30 ชั่วโมงสำหรับภาวะการให้ความเครียดก่อนการเพาะงอกนั้นไม่เพียงพอต่อการงอกเมล็ดและการสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สังเกตุจากผลการทดลองเรื่องความยาวราก แต่อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วอะซูกิเพาะงอกทุกชุดการทดลองให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าถั่วอะซูกิไม่เพาะงอก โดยถั่วอะซูกิที่ผ่านการแช่น้ำ (ชุดควบคุม) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP สูงกว่าในถั่วอะซูกิที่ผ่านการแช่น้ำแต่ไม่เพาะงอก ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงขึ้นร้อยละ 43.56 และสูงขึ้นร้อยละ 47.10 ด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP ตามลำดับ เช่นเดียวกับถั่วเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ และกรดซิตริก มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH

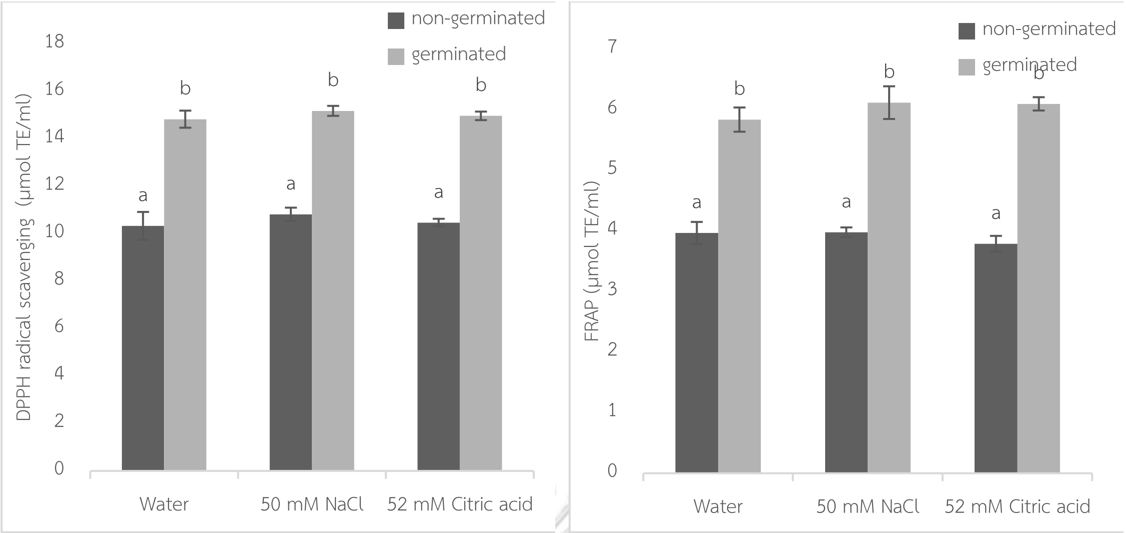
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

radical scavenging สูงกว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วอะซูกิไม่เพาะงอกที่ผ่านการแช่สารละลายเกลือและกรด ซิตริก ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงขึ้นร้อยละ 28.72 และสูงขึ้นร้อยละ 30.06 ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP สูงขึ้นร้อยละ 34.97 และสูงขึ้นร้อยละ 31.87 ตามลำดับ ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอาจเกิดจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นในชุดการทดลองของถั่วอะซูกิเพาะงอก เช่นเดียวกับ Aguilera *et al.*, (2015) พบว่าการเพาะงอกถั่วอัลฟาฟ่า (*Medicago sativa* L.) ถั่วเลนทิล (*Lens sculenta* L.) ถั่วเขียว (*Vigna radiate* L.) เมล็ดหัวหอม (*Allium cepa* L.) เมล็ดบล็อกโคลี (*Brassica oleraceae* L.) เมล็ดกะหล่ำแดง (*Brassica oleraceae capitata rubra* L.) และเมล็ดผักกาด (*Raphanus sativus japonicum* L., *Raphanus sativus rambo* L., *Raphanus sativus sinicum rosae* L.) ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากเกณฑ์การคัดเลือกภาวะในการเพาะงอกถั่วอะซูกิในข้อ 3.2.2 โดยภาวะที่ถูกคัดเลือกต้องส่งผลให้ถั่วอะซูกิเพาะงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง ดังนั้นจึงคัดเลือกภาวะควบคุม (ถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการแช่น้ำ) ในการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากชุดการทดลองที่ให้ความเครียด ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าชุดการทดลองที่ให้ความเครียด ทั้งนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอาจไม่สอดคล้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เนื่องจากฤทธิ์ต้านออกซิเดชันขึ้นกับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นสำคัญ

CHULALONGKORN UNIVERSITY

การทดลองให้ความเครียดแก่ถั่วเพาะงอกเกิดขึ้นในถั่วอะซูกิเพาะงอกเท่านั้น เนื่องจากการให้ความเครียดในการทดลองกระทำในขั้นตอนการแช่น้ำก่อนการเพาะ ซึ่งจากขั้นตอนการเพาะงอกถั่วเหลือง ตามวิธีการทดลองที่ 3.2.1 ไม่มีกระบวนการแช่น้ำในการเพาะงอกถั่วเหลือง จึงไม่สามารถให้ความเครียดเนื่องจากการปรับสภาพด้วยสารละลายแก่ถั่วเหลืองได้



รูปที่ 4.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วอะซูกิเพาะงอกที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย

4.3 ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก

น้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก ทั้งหมด 8 สูตร จากตารางที่ 3.1 เกิดจากการออกแบบส่วนผสมที่ได้ข้อมูลพื้นฐานเพื่อการกำหนดขอบเขตการจำกัดอัตราส่วนผสมของน้ำนมถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิก่อนการออกแบบส่วนผสม จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไขมันในน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้นและในน้ำนมถั่วอะซูกิเริ่มต้นดังตารางที่ 4.3 และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.21) โดยข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ถูกนำไปเป็นข้อมูลในการคำนวณขอบเขตการจำกัดอัตราส่วน เพื่อใช้ในการออกแบบส่วนผสมตามทฤษฎีการออกแบบส่วนผสม (mixture design)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนและไขมันในน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้นและน้ำนมถั่วอะซูกิเริ่มต้น

ชนิดของน้ำนม	Crude protein (g/100 g)	Crude fat (g/100 g)
น้ำนมถั่วเหลือง	4.93±0.03^{b}	1.42±0.04^{b}
น้ำนมถั่วอะซูกิ	3.95±0.15^{a}	0.15±0.03^{a}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

จากการออกแบบตามทฤษฎีการออกแบบส่วนผสม (mixture design) แบบจำกัดอัตราส่วนน้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75-85 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 10-20 และน้ำตาลร้อยละ 5 คัดเลือกสูตรในการทดลองจากจุดมุม (vertice) และจุดกึ่งกลางระหว่างจุดมุม และกำหนดสูตรควบคุม (สูตรที่ไม่ผสมน้ำนมถั่วอะซูกิ) ได้สูตรน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกในการวิเคราะห์ 3 สูตร และสูตรควบคุม 1 สูตร และจากการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกทั้ง 4 สูตร จึงได้สูตรที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมด 8 สูตรดังนี้ สูตรที่ 1 น้ำนมถั่วหลืองร้อยละ 95 น้ำตาลร้อยละ 5 (สูตรควบคุม) สูตรที่ 2 น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 85 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 10 น้ำตาลร้อยละ 5 สูตรที่ 3 น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 80 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 15 น้ำตาลร้อยละ 5 สูตรที่ 4 น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 น้ำตาลร้อยละ 5 สูตรที่ 5 น้ำนมถั่วหลืองเพาะงอกร้อยละ 95 น้ำตาลร้อยละ 5 สูตรที่ 6 น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 85 น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 10 น้ำตาลร้อยละ 5 สูตรที่ 7 น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 80 น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 15 น้ำตาลร้อยละ 5 และสูตรที่ 8 น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 20 น้ำตาลร้อยละ 5 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิ (ตารางที่ 4.4) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.22) พบว่าค่าดัชนีการแยกชั้นของทุกสูตรมีค่าเป็น 0 (ไม่เกิดการแยกชั้น) การไม่เกิดการแยกชั้นของน้ำนมในทุกสูตรเกิดจากกระบวนการโฮโมจีไนซ์ช่วยในการกระจายตัวและลดขนาดของหยดไขมัน (oil droplet) และลดการจับรวมกันของโปรตีน (protein aggregates) (Cruz et al., 2007) ในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองผสมถั่วอะซูกิ ประกอบกับผลของ globular protein และ lecithin ในถั่วเหลืองทำหน้าที่เป็น emulsifier ในระบบ oil-in-water (Lam and Nickerson, 2013; Nishinari et al., 2014) ทำให้ไม่เกิดจากแยกชั้นในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองทุกสูตรผสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก แต่ค่าความเป็นกรดด่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.23) ระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก ซึ่งความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแร่ธาตุของถั่วระหว่างกระบวนการเพาะงอก (Jiang, Cai and Xu, 2013)

ค่าความหนืดของน้ำนมถั่วทั้ง 8 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.24) ในกรณีของน้ำนมถั่วไม่เพาะงอกพบว่าการเพิ่มอัตราส่วนผสมของน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลให้ความหนืดในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกเพิ่มสูงขึ้น อาจเกิดจากปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (Total solids) เพิ่มสูงขึ้น (Oguntunde and Akintoye, 1991) ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำในน้ำนมถั่วอะซูกิอาจสูงกว่าในน้ำนมถั่วเหลือง เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงกว่าในขั้นตอนการสกัดของน้ำนมถั่วอะซูกิ จึงส่งผลให้ความหนืดในน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิแปรผันตามอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิ ผลจากการวิเคราะห์ค่าความหนืดของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกพบว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกส่งผลต่อการลดลงของค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยการลดลงของความหนืดในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่ว อะซูกิสูตรเพาะงอกอาจเกิดจากการลดลงของปริมาณไขมัน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันในอาหารระบบ oil-in-water มีผลต่อค่าความหนืด (McClements and Weiss, 2008) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกส่งผลต่อการลดลงของปริมาณไขมันในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก จึงส่งผลให้ค่าความหนืดลดผกผันกับอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกที่เพิ่มขึ้น

ค่าสี L* a* b* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ตารางที่ ค.25 ถึง ค.29) เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลให้น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิที่มีอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิเพิ่มขึ้นมี 1) ความสว่างลดลง 2) ความเข้มของสี (C*) ลดลง 3) เฉดสี (Hue angle) เปลี่ยนโทนจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงมากขึ้น ผลจากการวิเคราะห์ค่าสีในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกเป็นไปในทำนองเดียวกันกับในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก พบว่าการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกส่งผลให้ 1) ความสว่างลดลง 2) ความเข้มของสี (C*) ลดลง 3) เฉดสี (Hue angle) น้ำนมถั่วเหลืองเพาะ-

ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกยังคงอยู่ในโทนสีเหลือง แต่มีแนวโน้มเปลี่ยนโทนสีจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงมากขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนผสมน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก ซึ่งการเปลี่ยนโทนสีของน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและสูตรเพาะงอก เกิดจากในน้ำนมถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกมีแอนโทไซยานินซึ่งเป็นรงควัตถุสีแดงที่ได้จากเปลือกของถั่วอะซูกิ (Yoshida et al., 2019)

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีในน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร (ตารางที่ 4.5) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.30 ถึง ค.31) พบว่าปริมาณโปรตีนหยาบในน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณโปรตีนหยาบในน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก (สูตร 5) และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตร 6-8) มีปริมาณโปรตีนหยาบสูงกว่าน้ำนมสูตรไม่เพาะงอกทุกสูตร ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนหยาบอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของ non-protein nitrogen ในระหว่างกระบวนการงอกเมล็ด ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบในน้ำนมสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 1-4) พบว่าการเพิ่มอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลต่อการลดลงของปริมาณไขมันหยาบอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยสูตรที่มีปริมาณไขมันหยาบน้อยที่สุดคือสูตร 4 มีการลดลงของปริมาณไขมันหยาบร้อยละ 17 เมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ซึ่งการลดลงของปริมาณไขมันหยาบเกิดจากในน้ำนมถั่วอะซูกิมีปริมาณไขมันหยาบต่ำ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิจึงส่งผลให้ปริมาณไขมันหยาบในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิมีปริมาณไขมันหยาบลดลง แต่ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบของการใช้ถั่วเหลืองเพาะงอกและถั่วอะซูกิเพาะงอกในการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกด้วยอัตราส่วนผสมเดียวกัน พบว่าการใช้ถั่วเพาะงอกในการผลิตน้ำนมสูตรเพาะงอก (สูตร 5-8) ไม่ส่งผลต่อความแตกต่างของปริมาณไขมันหยาบอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำนมสูตรไม่เพาะงอก (สูตร 1-4)

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ตารางที่ 4.5) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.32 ถึง ค.33) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกทั้ง 3 สูตร (สูตร 2-4) ลดลงประมาณร้อยละ 12 จากสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรที่มีอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 10-20 และผลจากการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะ

งอก (สูตรที่ 5-8) พบว่าการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกเมื่อเทียบกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิ โดยน้ำนมสูตรที่ผสมน้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 (สูตรที่ 4) มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดร้อยละ 17 เมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเมื่อทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก (สูตรที่ 5-8) พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเมื่อเทียบกับน้ำนมสูตรควบคุมและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก โดยสูตรที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดคือสูตรที่ 8 (น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก ร้อยละ 75 : น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก ร้อยละ 20 : น้ำตาลร้อยละ 5) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก เกิดจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในระหว่างกระบวนการงอก

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP (ตารางที่ 4.5) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.34 ถึง ค.35) พบว่าผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ทั้ง 2 วิธีได้ผลในทิศทางเดียวกัน โดยการเพิ่มอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลให้น้ำนมถั่วเหลือ-ถั่วอะซูกิสูตรที่ 2-4 มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงขึ้นและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ซึ่งน้ำนมสูตรที่ 4 ที่ผสมน้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของทั้ง 2 วิธีสูงที่สุด โดยสูงขึ้นร้อยละ 17 เทียบกับสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) ด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging (มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจน เพิ่มขึ้นร้อยละ 17) และสูงขึ้นร้อยละ 25 จากสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) ด้วยเทคนิค FRAP (มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก(III) เพิ่มขึ้นร้อยละ 25) ซึ่งให้ผลในทิศทางเดียวกันเมื่อทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนม ถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอก โดยสูตรที่ 8 ที่มีการผสมด้วยอัตราส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 75 : น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 20 : น้ำตาลร้อยละ 5 ให้ฤทธิ์

ต้านออกซิเดชันสูงสุด และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging เพิ่มขึ้นร้อยละ 20 และเทคนิค FRAP เพิ่มขึ้นร้อยละ 31 เมื่อเทียบกับน้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากผลของกระบวนการเพาะงอกส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิ และจากการทดแทนน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิด้วยการใช้ถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิเพาะงอกส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของคุณลักษณะบางประการ เช่น การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ประกอบกับเกณฑ์การคัดเลือกน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก และสูตรเพาะงอก ด้วยผลจากการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยสูตรที่ผ่านการคัดเลือกต้องมีสารออกฤทธิ์ทางธรรมชาติและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง ดังนั้นน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกสูตรที่ผ่านการคัดเลือกคือสูตรที่ 4 (น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 น้ำตาลร้อยละ 5) และสูตรน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกสูตรที่ 8 (น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 20 น้ำตาลร้อยละ 5) เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนและไขมันเพียงพอ มีความหนืดที่แตกต่างจากสูตรอื่น มีปริมาณฟลาโวนอยด์ และมีมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง เมื่อเทียบกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกสูตรอื่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 1-4) และน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 5-8)

สูตร	Creaming index	pH	Viscosity (cP)	Color				
				L*	a*	b*	chroma (C*)	Hue angle
1	0.00±0.00	6.53±0.01^{a}	45.80±0.61^{a}	75.81±0.35^{e}	-1.83±0.04^{a}	12.12±0.23^{f}	12.26±0.23^{f}	98.58±0.21^{f}
2	0.00±0.00	6.60±0.04^{a}	47.13±0.35^{a}	70.11±0.51^{c}	-0.24±0.02^{e}	6.97±0.32^{c}	6.97±0.32^{c}	91.93±0.13^{c}
3	0.00±0.00	6.60±0.05^{a}	49.16±0.57^{b}	68.29±0.34^{b}	0.35±0.05^{f}	5.80±0.08^{b}	5.81±0.08^{b}	86.57±0.42^{b}
4	0.00±0.00	6.60±0.04^{a}	59.23±0.54^{c}	66.52±0.26^{a}	0.85±0.08^{g}	4.90±0.36^{a}	4.79±0.34^{a}	80.04±1.34^{a}
5	0.00±0.00	6.72±0.01^{b}	78.98±0.57^{f}	77.51±0.17^{f}	-1.86±0.02^{a}	15.06±0.05^{g}	15.19±0.05^{g}	97.03±0.07^{e}
6	0.00±0.00	6.73±0.01^{b}	72.36±0.37^{e}	74.82±0.95^{e}	-1.40±0.01^{b}	12.15±0.13^{f}	12.38±0.13^{f}	96.56±0.05^{e}
7	0.00±0.00	6.72±0.00^{b}	71.31±0.62^{e}	72.01±0.35^{d}	-1.09±0.02^{c}	10.60±0.11^{e}	10.66±0.11^{e}	95.87±0.03^{de}
8	0.00±0.00	6.71±0.01^{b}	67.36±0.81^{d}	71.54±0.22^{d}	-0.78±0.06^{d}	9.64±0.10^{d}	9.67±0.10^{d}	94.61±0.30^{d}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)
ค่าเฉลี่ย creaming index ไม่สามารถคำนวณค่าความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 1-4) และน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 5-8)

สูตร	Crude protein (g/100 g)	Crude fat (g/100 g)	Total phenolic content (mg GAE/ml)	Total flavonoid (mg CAE/ml)	DPPH (µmol TE/ml)	FRAP (µmol TE/ml)
1	4.74 ±0.09^{ab}	1.35 ±0.09^{c}	0.34 ±0.01^{bc}	0.15 ±0.00^{a}	0.63 ±0.01^{a}	0.32 ±0.01^{a}
2	4.47 ±0.06^{a}	1.28 ±0.08^{abc}	0.30 ±0.01^{a}	0.16 ±0.00^{ab}	0.73 ±0.00^{c}	0.36 ±0.01^{ab}
3	4.49 ±0.08^{a}	1.24 ±0.06^{abc}	0.30 ±0.01^{a}	0.17 ±0.00^{abc}	0.73 ±0.00^{c}	0.39 ±0.02^{bcd}
4	4.51 ±0.12^{a}	1.12 ±0.08^{a}	0.30 ±0.01^{a}	0.18 ±0.01^{bc}	0.74 ±0.00^{cd}	0.40 ±0.02^{cd}
5	4.89 ±0.23^{b}	1.33 ±0.02^{bc}	0.37 ±0.03^{d}	0.16 ±0.01^{ab}	0.69 ±0.01^{b}	0.32 ±0.01^{a}
6	4.86 ±0.37^{ab}	1.25 ±0.09^{abc}	0.37 ±0.01^{d}	0.19 ±0.00^{cd}	0.73 ±0.01^{c}	0.37 ±0.03^{bc}
7	4.96 ±0.18^{b}	1.18 ±0.07^{ab}	0.35 ±0.00^{cd}	0.20 ±0.01^{de}	0.75 ±0.04^{d}	0.41 ±0.01^{cd}
8	4.84 ±0.20^{ab}	1.10 ±0.02^{a}	0.33 ±0.01^{abc}	0.22 ±0.01^{e}	0.76 ±0.01^{d}	0.42 ±0.02^{d}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.4 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการประเมินทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก กับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก

จากการทดลองเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และการประมาณทางประสาทสัมผัสด้านความชอบและการยอมรับของผู้บริโภค เพื่อศึกษาผลของการทดแทนถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิด้วยถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิเพาะงอกในการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และคัดเลือกน้ำนมถั่วเหลืองชนิดที่ดีที่สุดระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 4) กับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 8) ที่ผ่านการคัดเลือกจากผลการทดลองข้อ 4.3

ผลจากการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ ของน้ำนมเหลือง-ถั่วอะซูกิ (น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 น้ำตาลร้อยละ 5) สูตรเพาะไม่เพาะงอกและสูตรเพาะงอก (ตารางที่ 4.6) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.36) พบว่าค่าดัชนีการแยกชั้นของทั้ง 2 สูตรมีค่าเป็น 0 หมายถึงไม่พบการแยกชั้น ค่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เกิดจากกระบวกการโฮโมจีไนซ์ช่วยในการกระจายตัวและลดขนาดของหยดไขมัน (oil droplet) และลดการจับรวมกันของโปรตีน (protein aggregates) (Cruz et al, 2007) ในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองผสมถั่วอะซูกิ และจากการที่ globular protein และ lecithin ในถั่วเหลืองทำหน้าเป็น emulsifier ในระบบ oil-in-water (Lam and Nickerson, 2013; Nishinari et al., 2014) ทำให้ไม่เกิดจากแยกชั้นในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิทั้ง 2 สูตร และผลจากการสกัดน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิทั้งสูตรเพาะงอกและไม่เพาะงอกโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 7.0 จึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิทั้ง 2 ชนิดไม่แตกต่างกัน และมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 7.0

เมื่อพิจารณาค่าความหนืดพบว่าค่าความหนืดในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิทั้ง 2 ชนิด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยค่าความหนืดของน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกสูงกว่าในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก ร้อยละ 12.07 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่าความหนืดในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก อาจเกิดจากปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำและปริมาณไขมันหยาบที่มีอยู่ในน้ำนมสูตรเพาะงอก มีปริมาณที่แตกต่างจากน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่

เพาะงอก เมื่อพิจารณาค่าสีพบว่าน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิเพาะงอกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยลักษณะของสี 1) ความสว่างเพิ่มขึ้น 2) ความเข้มของสี (C*) เพิ่มขึ้น 3) เฉดสี (Hue angle) เปลี่ยนโทนจากสีแดงเป็นสีเหลืองมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมสูตรไม่เพาะงอก และมีเฉดสีใกล้เคียงน้ำนมสูตรควบคุม (น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 95 น้ำตาล 5) อาจเกิด จากรงควัตถุสีแดงที่เปลือกของถั่วอะซูกิหลุดออกจากเมล็ดระหว่างกระบวนการงอก

จากการเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก ในหน่วยบริโภคอ้างอิง 200 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.7) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.37) พบว่าปริมาณโปรตีนหยาบ ปริมาณไขมันหยาบ และปริมาณคาร์โบไฮเดรตของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก ส่งผลให้ค่าพลังงานของน้ำนมทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามคุณค่าทางโภชนาการของน้ำนมถั่วเหลืองสูตรที่ 4 และสูตรที่ 8 มีความแตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในปริมาณเถ้า ($p \leq 0.05$) ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของปริมาณสารประกอบอนินทรีย์ในอาหาร ได้แก่ ปริมาณแร่ธาตุในอาหาร โดยพบว่ากระบวนการเพาะงอกส่งผลให้น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีปริมาณเถ้าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเกิดจากการลดลงของปริมาณสารอนินทรีย์ในระหว่างกระบวนการงอก Kaushik, Satya and Naik (2010) พบว่าถั่วเหลืองเพาะงอกมีปริมาณแร่ธาตุลดลง โดยมีการลดลงของแร่ธาตุต่างๆ ดังนี้ โพแทสเซียม (K) ลดลงร้อยละ 9 แคลเซียม (Ca) ลดลงร้อยละ 4 แมกนีเซียม (Mg) ลดลงร้อยละ 5 ฟอสฟอรัส (P) ลดลงร้อยละ 7 และเหล็ก (Fe) ลดลงร้อยละ 3 ซึ่งการลดลงของแร่ธาตุอาจเกิดจากการสูญเสียไปกับน้ำระหว่างการแช่น้ำและการเพาะงอก (Lee and Karunanaithy, 1990) และแร่ธาตุเป็นหนึ่งในของแข็งประเภทสารคงตัว (fixed solids) ซึ่งปริมาณแร่ธาตุที่ลดลงในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (total solids)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกและไม่เพาะงอก

น้ำนมสูตรที่ 4 (75:20:5)	Creaming index	pH ^{ns}	Viscosity (cP)	color				
				L*	a*	b*	Chroma (C*)	Hue angle
ถั่วไม่เพาะงอก	0.00±0.00	6.60±0.04	59.23±0.54^{a}	66.52±0.26^{a}	0.85±0.08^{b}	4.90±0.36^{a}	4.79±0.34^{a}	80.04±1.34^{a}
ถั่วเพาะงอก	0.00±0.00	6.71±0.01	67.36±0.81^{b}	71.54±0.22^{b}	-0.78±0.06^{a}	9.64±0.10^{b}	9.67±0.1^{b}	94.61±0.3^{b}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)

ns ตัวเลขที่มีอักษรในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ค่าเฉลี่ย creaming index ไม่สามารถคำนวณค่าความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4.7 คุณค่าทางโภชนาการของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกและสูตรไม่เพาะงอก หน่วยบริโภคอ้างอิง 200 มิลลิลิตร

น้ำนมสูตรที่ 4 (75:20:5)	Crude protein ^{ns} (g/200ml sample)	Crude fat ^{ns} (g/200ml sample)	Carbohydrate ^{ns} (g/200ml sample)	Total solid ^{ns} (g/200ml sample)	Ash (g/200ml sample)	Energy ^{ns} (Kcal/200ml sample)
ถั่วไม่เพาะงอก	9.21±0.22	2.21±0.15	16.63±0.47	27.90±0.26	0.84±0.03^{b}	119.32±1.34
ถั่วเพาะงอก	9.91±0.42	2.1±0.05	14.24±0.36	27.04±0.21	0.71±0.02^{a}	116.16±0.87

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)

ns ตัวเลขที่มีอักษรในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากการเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก ในหน่อยบริโภคอ้างอิง 200 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.8) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.38) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกแตกต่างจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าร้อยละ 11.86 และให้ผลเช่นเดียวกันกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่ว อะซูกิสูตรไม่เพาะงอกร้อยละ 24.40 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเกิดจากการสังเคราะห์สารทุติยภูมิในระหว่างกระบวนการงอก เช่นเดียวกับ Jiang *et al.* (2013) เปรียบเทียบน้ำนมถั่วเหลืองจากถั่วเหลืองเพาะงอก 28 ชั่วโมง กับน้ำนมถั่วเหลืองไม่เพาะงอกพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกสูงขึ้นร้อยละ 29

จากการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก ในหน่อยบริโภคอ้างอิง 200 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.8) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.38) พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging (ความสามารถในการให้ไฮโดรเจน) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ระหว่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกกับน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นสารประกอบฟีนอลิกตัวที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระต่ำ แต่ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP (ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (III)) โดยน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกร้อยละ 17.23 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP เกิดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในระหว่างกระบวนการงอก และการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในข้างต้นพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 สูตรมีความสามารถในการไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระและมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (III) แต่อย่างไรก็ดีน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีความโดดเด่นกว่าของความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (III)

ตารางที่ 4.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกและสูตรไม่เพาะงอก ปริมาตรอ้างอิง 200 มิลลิลิตร

น้ำนมสูตรที่ 4 (75:20:5)	Total phenolic content (mg GAE/200ml)	Total flavonoid (mg CAE/200ml)	DPPH ^{ns} (µmol TE/200ml)	FRAP (µmol TE/200ml)
ถั่วไม่เพาะงอก	59.61±1.03^{a}	35.45±1.47^{a}	148.60±0.85	71.16±2.86^{a}
ถั่วเพาะงอก	66.68±1.79^{b}	44.10±1.45^{b}	152.82±1.61	83.42±4.48^{b}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns ตัวเลขที่มีอักษรในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ผลจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการเรียงลำดับความชอบ (preference ranking test) ของผู้ทดสอบ 50 คน ต่อน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 3 สูตร ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 4) และน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 8) (ตารางที่ 4.9) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.39) พบว่าผู้ทดสอบ 50 คน ให้ผลรวมลำดับคะแนนความชอบแก่น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก 123 คะแนน ซึ่งได้รับความชอบเป็นอันดับที่ 1 น้ำนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม มีผลรวมลำดับคะแนนความชอบ 90 คะแนน เป็นอันดับที่ 2 และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก มีผลรวมลำดับคะแนนความชอบ 80 คะแนน เป็นอันดับที่ 3 แสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคมีความชอบในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิชนิดเพาะงอกมากกว่าน้ำนมถั่วเหลืองชนิดอื่น ซึ่งผลของอันดับความชอบสอดคล้องกับคะแนนความชอบในหลายลักษณะ เช่น กลิ่นรส และคะแนนความชอบโดยรวมจากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ผลจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการทดสอบการยอมรับ (acceptance test) โดยการให้คะแนนระดับความชอบแบบ 9-point hedonic scales ของผู้ทดสอบ 50 คน ต่อน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 3 สูตร ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลือง (สูตรที่ 1) น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 4) และน้ำนมถั่วเหลือง-อะซูกิสูตรเพาะงอก (สูตรที่ 8) (ตารางที่ 4.10) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ ค.40 ถึง ค.45) พบว่าคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏและสีของน้ำนมถั่วเหลืองมีคะแนนอยู่ในช่วงชอบปานกลาง-ชอบมาก ในขณะที่น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีระดับความชอบอยู่ที่ช่วงตอบไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ-ชอบเล็กน้อย และจากการพิจารณากลิ่นรสและรสชาติ พบว่าน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คะแนนความชอบด้านกลิ่นรสและรสชาติ อยู่ในเกณฑ์ชอบเล็กน้อย-ชอบปานกลาง ซึ่งสูงกว่าในน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกที่มีคะแนนความชอบอยู่ในช่วงบอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ-ชอบเล็กน้อย ซึ่งจากคะแนนความชอบที่ได้จากการทดสอบการยอบรับ น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกมีความโดดเด่นในลักษณะด้านกลิ่นรสและรสชาติ

ดังนั้นจึงเลือกน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก ที่มีสูตรอัตราส่วนผสมน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 20 และน้ำตาลร้อยละ 5 เป็นน้ำนมถั่วเหลืองผสมที่ดีที่สุด ในการทดลอง เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 2 มีไขมันมากกว่าร้อยละ 1 มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP สูงกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ มีผลรวมลำดับความชอบเป็นอันดับที่ 1 และมีผลการประเมินทางประสาทสัมผัสที่ดีในด้านรสชาติและกลิ่นรสต่างจากสูตรอื่นชัดเจน โดยได้รับคะแนนความชอบจากผู้ทดสอบอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อย-ชอบปานกลาง ในขณะที่สูตรอื่นได้รับคะแนนความชอบจากผู้ทดสอบอยู่ในช่วงบอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ-ชอบเล็กน้อย ซึ่งคะแนนความชอบที่เพิ่มขึ้นเกิดจากกระบวนการเพาะงอกส่งผลให้สารประกอบให้กลิ่น beany และ green ลดลง และมีสารประกอบให้กลิ่น sweet เพิ่มขึ้น (Kaczmarska et al., 2018)

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบความชอบ แบบจัดลำดับ (ranking test) ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก

	สูตรน้ำนมถั่วเหลือง		
	น้ำนมถั่วเหลือง	น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ	น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก
ผลรวมของลำดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์	90^{a}	80^{b}	123^{c}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบการยอมรับ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก

สูตร	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นรส	รสชาติ	ความข้นหนืด	ความรู้สึกในปาก	ความชอบโดยรวม
น้ำนมถั่วเหลือง	7.3 ± 1.0^{b}	7.5 ± 1.1^{b}	5.5 ± 1.7^{a}	5.9 ± 1.5^{a}	6.2 ± 1.3^{b}	6.0 ± 1.3^{ab}	6.0 ± 1.3^{b}
น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ	5.7 ± 1.4^{a}	5.4 ± 1.5^{a}	5.4 ± 1.4^{a}	5.5 ± 1.5^{a}	5.7 ± 1.4^{a}	5.6 ± 1.6^{a}	5.6 ± 1.5^{a}
น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก	6.2 ± 1.3^{a}	5.9 ± 1.4^{a}	6.7 ± 1.3^{b}	6.7 ± 1.4^{b}	6.3 ± 1.3^{b}	6.3 ± 1.4^{b}	6.8 ± 1.4^{b}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

กระบวนการเพาะงอกระยะสั้น 24-36 ชั่วโมง ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีภายในเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิ โดยส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบในถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิเพิ่มสูงขึ้น แต่ในขณะเดียวกันกระบวนการเพาะงอกส่งผลให้ปริมาณไขมันหยาบในถั่วเหลืองลดลง กระบวนการเพาะงอกส่งผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในถั่วเหลืองเพาะงอกและถั่วอะซูกิเพาะงอกมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการงอก ซึ่งระยะเวลาที่ดีที่สุดในการเพาะงอกคือ 36 ชั่วโมงสำหรับถั่วเหลือง และ 30 ชั่วโมงสำหรับถั่วอะซูกิ จึงนำไปสู่การคัดเลือกภาวะในการเพาะงอกถั่วอะซูกิที่ 30 ชั่วโมง โดยภาวะที่ศึกษาคือภาวะการเพาะถั่วอะซูกิที่ได้รับความเครียดเนื่องการปรับภาพด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และภาวะการเพาะถั่วอะซูกิที่ได้รับความเครียดเนื่องการปรับภาพด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 52 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เพาะถั่วอะซูกิโดยไม่ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือและความเครียดเนื่องจากกรด ความเครียดทั้ง 2 ชนิดส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีภายในเมล็ด โดยส่งผลให้ปริมาณความชื้นและปริมาณไขมันทั้งหมดภายในเมล็ดถั่วอะซูกิเพาะงอกลดลง แต่ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนหยาบภายในเมล็ด นอกจากนี้ความเครียดเนื่องจากการปรับสภาพถั่วอะซูกิด้วยสารละลายส่งผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging และ FRAP พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับถั่วเพาะงอกชุดควบคุม ทั้งนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นสำคัญ ดังนั้นภาวะเพาะถั่วอะซูกิที่ดีสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกคือ การเพาะงอกถั่วอะซูกิ 30 ชั่วโมง โดยไม่ได้รับความเครียด

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองด้วยการผสมน้ำนมถั่วอะซูกิ โดยการเพิ่มอัตราส่วนผสมของน้ำนมถั่วอะซูกิในสูตรน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก (สูตรที่ 2-4) และเนื่องจากการเพาะงอกในถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และการเพิ่มขึ้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จึงนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก (สูตรที่ 5) น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอก (สูตรที่ 6-8) การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิ โดยการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลให้น้ำนมถั่วเหลือง-น้ำนมถั่วอะซูกิทุกสูตรมีแนวโน้มของสีเข้าใกล้โทนสีแดงมากขึ้น แต่การเพิ่มอัตราส่วนน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณไขมันหยาบลดลง นอกจากนี้การผสมน้ำนมถั่วอะซูกิส่งผลต่อการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟลาโวนอยด์สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันนั้นแปรผันตามอัตราส่วนของน้ำนมถั่วอะซูกิที่เพิ่มขึ้นในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอกและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก

ดังนั้นการผสมน้ำนมถั่วเหลืองด้วยน้ำนมถั่วอะซูกิเพื่อให้ได้น้ำถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิที่มีคุณภาพตามมาตราฐานของน้ำนมถั่วเหลือง มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง คือ น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรไม่เพาะงอก สูตรที่ 4 ที่มีอัตราส่วนผสม น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 และน้ำตาลร้อยละ 5 และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอก สูตรที่ 8 ที่มีอัตราส่วนผสม น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกร้อยละ 20 และน้ำตาลร้อยละ 5 ซึ่งการทดแทนน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกในสูตรที่มีอัตราส่วนผสมเดียวกัน ไม่ส่งผลต่อค่าพลังงานต่อหน่วยบริโภค 200 มิลลิลิตร เนื่องจากไม่มีความแตกต่างของปริมาณโปรตีนหยาบ ปริมาณไขมันหยาบ และปริมาณคาร์โบไฮเดรตอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามการทดแทนด้วยน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอกและน้ำนมถั่วอะซูกิเพาะงอกส่งผลต่อการการลดลงของคุณค่าทางโภชนาการในแง่ของปริมาณแร่ธาตุ และส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดร้อยละ 11.86 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดร้อยละ 24.40 และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP (ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (III)) ร้อยละ 17.23 และจากการพิจารณาร่วมกับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งน้ำนมถั่ว

เหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกสูตรที่ 8 ได้รับผลรวมของลำดับความชอบเป็นอันดับที่ 1 และมีการยอมรับจากผู้ทดสอบที่โดดเด่นในด้านกลิ่นรสและรสชาติ ดังนั้นน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิสูตรเพาะงอกสูตรที่ผสมด้วยอัตราส่วน น้ำนมถั่วเหลืองร้อยละ 75 น้ำนมถั่วอะซูกิร้อยละ 20 และน้ำตาลร้อยละ 5 จึงเป็นน้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำนมถั่วอะซูกิสูตรที่ดีที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาในงานวิจัยนี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกระยะเวลาในการเพาะถั่วเหลืองและถั่วอะซูกิ เพื่อให้ได้องค์ประกอบทางเคมีตามวัตถุประสงค์ของผู้วิจัย และเป็นข้อมูลในการศึกษาผลของความเครียดต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเพาะงอก นอกจากนี้สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานให้แก่ผู้วิจัยและผู้ประกอบการ ในการพัฒนาสูตรน้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ เพื่อให้ได้คุณค่าทางโภชนาการที่ดี และพัฒนาสู่การเป็นอาหารฟังชัน ทั้งนี้ผู้ที่ต้องการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมอาจศึกษาเพิ่มเกี่ยวกับการหาระยะเวลาที่ดีที่สุดในการเพาะงอกถั่วหลังจากการให้ความเครียด และการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น เช่น ชนิดของฟลาโวนอยด์ และชนิดของ phenolic acid ระหว่างกระบวนการเพาะงอกในชุดการทดลองที่ให้ความเครียด และสำหรับนักพัฒนาผลิตภัณฑ์อาจศึกษาเพิ่มเติมในด้านอายุการเก็บรักษาในกรณีที่ต้องการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2562. รายงานสถิติทางการเกษตร กลุ่มพืชไร่ชนิดถั่วอะซูกิ. [ออนไลน์] แหล่งที่มา: https://production.doae.go.th/service /report-product-statistic/index.

นันทิยา วรรธนะภูติ. 2553. การขยายพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

เพ็ญขวัญ ชมปรีชา. 2556. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภค. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2555. การออกแบบการทดลองขั้นสูง. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่: ทรีโอ แอดเวอร์ไทซิ่งแอนด์มีเดีย.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. ชีววิทยาพืช (Plant Biology). กรุงเทพมหานคร: จามจุรีโปรดักท์.

สาธารณสุข กระทรวง. 2544. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 198 เรื่อง น้ำนมถั่วเหลืองในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงสาธารณสุข. (อัดสำเนา)

สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2562. ตารางแสดงรายละเอียดถั่วเหลือง. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/assets/portals/fileups/prcaidata/files/soybeansdit.pdf.

อภิพรรณ พุกภักดี. 2546. ถั่วเหลือง: พืชทองของไทย. กรุงเทพมหานคร: สานักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุตสาหกรรมกระทรวง. 2558. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.529. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม. (อัดสำเนา)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Adom, K.K. and Liu, R.H. 2002. Antioxidant activity of grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 6182–6187.

Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., and Tattini, M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. Plant Science. 196: 67-76.

Aguilera, Y., Herrera, T., Benítez, V., Arribas, S. M., de Pablo, A. L. L., Esteban, R. M., and Martín-Cabrejas, M. A. 2015. Estimation of scavenging capacity of melatonin and other antioxidants: Contribution and evaluation in germinated seeds.Food Chemistry. 170: 203-211.

AOAC. 2006. Official Methods of Analysis. 18th ed. The Association of Official Analytical Chemists: Washington.

Balibrea, S.P., Moreno, D.A., and Viguera, C.G. 2011. Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. Food Chemistry. 129: 35-44.

Barac, M.B., Pesic, M.B., Stanojevic, S.P., Kostic, A.Z. and Bivolarevic, V. 2015. Comparative study of the functional properties of three legume seed isolates: adzuki, pea and soybean. Journal of Food Science and Technology. 52(2): 2779-2789.

Bau, H.M., Villaume, C., Nicolas, J.P., and Mejean, L. 1997. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture. 73: 1–9.

Bestwick, C.S, Brown, I.R, Bennett, M.H.R, Mansfield, J.W. 1997. Localization of hydrogen peroxide accumulation during the hypersensitive reaction of lettuce cells to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. The Plant Cell. 9: 209–221.

Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. The Plant Cell. 9: 1055-1066.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

British Standard 2472. 1989. British Standard Methods for Chemicals analysis Determination of fat content. ISO 7328–1984.

Bradford, J.K. 1995. Water Relations in seed germination. In: Kigel, J., and Galili, G. (ed.). Seed Development and Germination. pp. 351-396. New York: Marcel Dekker Inc.

Cavusoglu, K., and Kabar, K. (2010). Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. EurAsian Journal of Biosciences. 79: 70–79.

Cevallos-Casals, B.A., and Cisneros-Zevallos, L., 2010. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. Food Chemistry. 119: 1485-1490

Chen, H. M., Muramoto, K., Yamauchi, F., and Nokihara, K. 1996. Antioxidant activities of designed peptides based on the antioxidant peptide isolated from digests of a soybean protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44: 2619–2623.

Chilukuri, A. and Swanson, B.G. 1991. Microstructure of adzuki beans (*Vigna angularis* cv. Express). Food Structure. 10(2): 131-135.

Cokkizgin, A. 2012. Salinity stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed germination. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 40(1): 177-182.

Cruz, N., Capellas, M., Herna´ndez, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., and Ferragut, V. 2007. Ultra high pressure homogenization of soymilk: microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. Food Research International. 40: 725–732.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Duangmal, K., and Sangsukiam, T. 2015. Effect of germination period on changes in mungbean and azuki bean protein and amino acid profiles. Acta Horticulturae. 1088: 563-568.

Echendu, C.A., Obizoba, I.C., and Anyika, J.U. 2009. Effects of germination on chemical composition of groundbean (*Kerstingiella geocarpa harm*) seeds. Pakistan Journal of Nutrition. 8(12): 1849-1854.

Falcinelli, B., Sileoni, V., Marconi, O., Perretti, G., Quinet, M., Lutts, S., and Benincasa, P. 2017. Germination under moderate salinity increases phenolic content and antioxidant activity in rapeseed (Brassica napus var oleifera Del.) sprouts. Molecules. 22(8): 1377-1390.

Fernandez-Orozco, R., Frias, J., Zielinski, H., Piskula, M.K., Kozlowska, H. and Vidal-Valverde, C. 2008. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. emmerald, *Glycine max* cv. jutro and *Glycine max* cv. merit. Food Chemistry. 111(3): 622-630.

Fu, C., Yang, D., Peh, W.Y.E., Lai, S., Feng, X., and Yang, H. 2015. Structure and antioxidant activities of proanthocyanidins from elephant apple (*Dillenia indica* Linn.). Journal of Food Science. 88(10): 2191-2199.

Fukuda, T., Prak, K., Fujioka, M., Maruyama, N., and Andutsumi, S. 2007. Physicochemical properties of native adzuki bean (*Vigna angularis*) 7S globulin and the molecular cloning of its cDNA isoforms. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 3667-3674.

Gan, R.Y., Lui, W.Y., Wu, K., Chan, C.L., Dai, S.H., Sui, Z.Q., and Corke, H. 2017. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: an updated review. Trends in Food Science & Technology. 59: 1-14.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Gaxiola, S.A., Chuck-Hernandez, and Saldivar, S.O.S. 2018. Inactivation method of trypsin inhibitor in legumes: a review. Journal of Food Science. 83(1): 17-29.

Gemede, H.F., and Ratta, N. 2014. Antinutritional factors in plant foods: potential health benefit and adverse effect. International Journal of Nutrition and Food Sciences. 3(4): 284-289.

Gerde, J.A. and White, P.J. 2015. Lipids . Soybeans : chemistry, production, processing, and utilization. pp. 193-227. Academic Press: Massachusetts.

Getu, R., Tola, Y.B., and Neela, S. 2017. Optimization of soy milk, mango nectar and sucrose solution mixes for a better quality soy milk-based beverage. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria 16: 379-391.

Giorgi, A., Mingozzi, M., Madeo, M., Speranza, G., and Cocucci, M. 2009. Effect of nitrogen starvation on the phenolic metabolism and antioxidant properties of yarrow (*Achillea collina Becker* ex Rchb.). Food Chemistry. 114(1): 204–211.

Gohara, A.K., Souza, A.H.P., Gomes, S.T.M., Souza, N.E., Visentainer, J.V., and Matsushita, M. 2016. Nutritional and bioactive compounds of adzuki bean cultivars using chemometric approach. Ciência e Agrotecnologia 40: 104-113.

Gujral, H.S., Angurala, M., Sharma, P., and Singh, J. 2011. Phenolic content and antioxidant activity of germinated and cooked pulses. International Journal of Food Properties. 14: 1366-1374.

Guo, L., Yang, R., Wang, Z., Guo, Q., and Gu, Z. 2014. Effect of NaCl stress on health-promoting compounds and antioxidant activity in the sprouts of three broccoli cultivars. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 65(4): 476-481.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Guo, X., Li, T., Tang, K. and Liu, R.H. 2012. Effect of germination on phytochemical profiles and antioxidant activity of mung bean sprouts (*Vigna radiata*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60: 11050-11055.

Higdon, J., Drake, V.J., Delage, B., Duncan, A.M. 2016. Soy Isoflavones [online]. Available from: https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/soy-isoflav ones.

Huang, A.H.C. 1992. Oil bodies and oleosins in seeds. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43: 177–200.

Huang, G., Cai, W., and Xu, B. 2017. Improvement in beta-carotene, vitamin B2, GABA, free amino acids and isoflavones in yellow and black soybeans upon germination. LWT-Food Science and Technology. 75: 488-496.

Hunter, J. R., and Erickson, A. E. 1952. Relation of seed germination to soil tension. Agronomy Journal. 44: 107-109.

Jahangir, M., Abdel-Farid, I. B., Kim, H. K., Choi, Y. H., and Verpoorte, R. 2009. Healthy and unhealthy plants: The effect of stress on the metabolism of Brassicaceae. Environmental and Experimental Botany. 67(1): 23–33.

Jiang, S., Cai, W., and Xu, B. 2013. Food quality improvement of soy milk made from short-time germinated soybeans. Foods. 2: 198-212.

Kaczmarska, K.T., Chandra-Hioe, M.V., Frank, D., Arcot, J. 2018. Aroma characteristics of lupin and soybean after germination and effect of fermentation on lupin aroma. Food Science and Technology. 87: 225-233.

Kajla, P., Sharma, A., and Sood, D.R. 2017. Effect of germination on proximate principles, minerals and antinutrients of flaxseeds. Asian Journal of Dairy and Food Research. 36(1): 52-57.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Kasote, D.M., Katyare, S.S., Hegde, M.V., and Bae, H. 2015. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. International Journal of Biological Sciences. 11: 982-991.

Kaushik, G., Satya, S. and Naik, S.N. 2010. Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism. 3: 39–46.

Kering, M.K., and Zhang, B. 2015. Effect of priming and seed size on germination and emergence of six food-type soybean varieties. International Journal of Agronomy. 2015: 1-6

Kim, H.Y., Hwang, I.G., Kim, T.M., Wood, K.S., Park, D.S., Kim, J.H., Kim, D.J., Lee, J., Lee, Y.R., and Jeong. H.S. 2012. Chemical and functional components in different parts of rough rice (*Oryza sativa* L.) before and after germination. Food Chemistry. 134: 228-293.

Kim, S. L., Lee, J. E., Kwon, Y. U., Kim, W. H., Jung, G. H., Kim, D. W., Lee, C. K., Lee, Y. Y., Kim, M. J., and Kim, Y. H. 2013. Introduction and nutritional evaluation of germinated soy germ. Food Chemistry. 136(2): 491-500.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Kitano-Okada, T., Ito, A., Koide, A., Nakamura, Y., Han, K.H., Shimada, K., Sasaki, K., Ohba, K., Sibayama, S., and Fukushima, M. 2012. Anti-obesity role of adzuki bean extract containing polyphenols: in Vivo and in vitro effects. Journal of the Science of Food and Agriculture. 92(13): 2644–2651.

Koodkaew, I. 2019. NaCl and glucose improve health-promoting properties in mung bean sprouts. Scientia Horticulturae. 247: 235-241

Kramer, C., Soltani, S., Robinson, D., and Swanton, C.J. 2012. Control of volunteer adzuki bean in soybean. Journal of Agricultural Science. 3(4): 501–509.

Kudou, M., Fleury, Y., Welti, D., Magnolato, D., Uchida, T., Kitamura, K., and Okubo, K. 1991. Maloyl Isoflavone Glycosides in Soybean seed. Agricultural and Biological Chemistry. 55(9): 2227-2233.

Kwok, K., Qin, W., and Tsang, J. 1993. Heat inactivation of trypsin inhibitors in soymilk at ultra-high temperatures. Journal of Food Science, 58: 859-862.

Lam, R.S., Nickerson, M.T. 2013. Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach. Food Chemistry. 141: 975–984.

Lee CK, and Karunanaithy, R. 1990. Effects of germination on the chemical composition of Glycine and Phaseolus beans. Journal of the Science of Food and Agriculture. 51: 437–445.

Lee, G. 2012. Archaeological perspectives on the origins of azuki (*Vigna angularis*). The Holocene. 23(3): 453-459.

Lee, H.J., Jeon, J.K., Kim, S.G., Kim, S.H., Chun, T. and Imm, J.Y. 2011. Comparative analyses of total phenols, flavonoids, saponins and antioxidant activity in yellow soy beans and mung beans. Journal of Food Science and Technology. 46: 2513-2519.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Lee, S.J., Ahn, J.K., Khanh, T.D., Chun, S.C., Kim, S.L., Ro, H.M., and Chung, I.M. 2007. Comparison of isoflavone concentrations in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) sprouts grown under two different light conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 9415-9421.

Li, Y.C., Qian, H., Sun, X.L., Cui, Y., Wang, Y.H., Du, Chao. and Xia, X.H. 2014. The Effects of Germination on Chemical Composition of Peanut Seed. Food Science and Technology Research. 20(4): 883-889.

Liu, K. (1997). Agronomic characteristics, production, and marketing. In Liu, K. (ed.). Soybeans: Chemistry, technology, and utilization. pp. 1-23. International Thomson Publishing: New York.

Liu, R., Zheng, Y., Cai, Z., and Xu, B. 2017. Saponins and flavonoids from adzuki bean (*Vigna angularis* l.) ameliorate high-fat diet-induced obesity in ICR mice. Frontiers in Phamacology. 1-8.

Lim, J.H., Park, K.J., Kim, B.K., Jeong, J.W., and Kim, H.J., 2012. Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. Food Chemistry. 135: 1065–1070.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193(1): 265-275.

Lumpkin, T. and McClary, C. 1994. Azuki bean: botany, production and uses. pp. 268. CAB International: Wallingford.

Mazid, M., Khan, T., and Mohammad, F. 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Biology and Medicine. 3: 232-249.

Martín-Cabrejas, M.A., Ariza, N., Esteban, R. Mollá, E., Waldron, K. and López-Andréu, F.J. 2003. Effect of germination on the carbohydrate composition of the dietary fiber of peas (*Pisum sativum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 1254-1259.

McClements, D.J., and Weiss, J. 2008. Food Emulsions, principle, practice, and techniques. 2nd ed. CRC Press: Washington.

McCue, P., Zheng, Z., Pinkham, J. L., and Shetty, K. 2000. A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments Process Biochemistry. 35: 603-613.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

McGuire, R.G. 1992. Reporting of object color measurements. Horticultural Science. 27(12): 1254-1255.

McLellan, M.R., Lind, L.R., and Kime, R.W. 1995. Hue angle determinations and statistical analysis for multiquadrant Hunter L,a,b data. Journal of Food Quality. 18: 235-240.

Mendoza-Sánchez, M., Guevara-González, R.G., Castaño-Tostado, E., Mercado-Silva, E.M., Acosta-Gallegos, J.A., Rocha-Guzmán, N.E., and Reynoso-Camacho, R. 2016. Effect of chemical stress on germination of cv Dalia bean (*Phaseolus vularis* L.) as an alternative to increase antioxidant and nutraceutical compounds in sprouts. Food Chemistry. 212: 128-137.

Murphy, P.A. 2008. Soybean Proteins. In Johnson, L.A., White, P.J., and Galloway, R. (ed). Soybeans : chemistry, production, processing, and utilization. pp. 229-267. AOCS Press: Illinois.

Navicha, W., Hua, Y., Masamba, K.G., Kong, X., and Zhang, C. 2018. Effect of soybean roasting on soymilk sensory properties. British Food Journal. 120(12): 2832-2842.

Nelson, AI., Steinberg. M.P., and Wei, L.S. 1975. Soybean beverage and process. U.S. Patent No. 3,901.978.

Nelson, AI., Steinberg, M.P., and Wei, L.S. 1976. Illinois process for preparation of soymilk. Journal of Food Science. 41(1): 57-61.

New Zealand Standard 2246. 1969. Methods for the Chemical analysis of Liquid Milk and Cream. New Zealand Government. Willington.

Nishinari, K., Fang, Y., Guo, S., and Phillips, G.O., 2014. Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification. Food Hydrocolloids. 39: 301–318.

Odo, T. 2003. Soy (soya) milk. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2nd ed. pp. 5403-5406. Academic Press: Massachusetts.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Oliveira, M.AM., Moira, M.R.L., Godoy, R.L.O., Deliza, R., and Vendramini, A.L.A. 2010. Development of an acai-soymilk beverage: characterization and consumer acceptance. Brazilian Journal of Food Technology. 13: 306-312.

Paques, F.W., and Macedo, G.A. 2006. Lipases de látex vegetais: propriedades e aplicações industriais: a review. Química Nova. 29(1): 93-99.

Pérez-Balibrea, S., Moreno, D.A., and García-Viguera, C. 2011. Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. Food Chemistry. 129(1): 35-44.

Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., and Tananaki, C. 2012. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. Environmental and Experimental Botany. 79:37-43.

Phyo, P., Gu, Y., and Hong, M., 2019. Impact of acidic pH on plant cell wall polysaccharide structure and dynamics: insights into the mechanism of acid growth in plants from solid-state NMR. Cellulose. 26: 291-304.

Pichyangkura, R., and Chadchawan, S. 2015. Biostimulant activity of chitosan in horticulture. Scientia Horticulturae. 196: 49–65.

Rauf, A., Imran, M., Abu-Izneid, T., Ul-Haq, I., Patel, S., Pan, X., Naz, S., Silva, A.S., Saeed, F., and Suleria, H.A.R. 2019. Proathocyanidins: A comprehensive review. Biomedicine and Pharmacotherapy. 116: 1-6.

Rayle, D. L., and Cleland, R. E. 1992. The Acid Growth Theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. Plant Physiology. 99: 1271-1274.

Riaz, M., Arif, M.S., Ashraf, M.A., Mahmood, R., Yasmeen, T., Shakoor, M.B., Shahzad, S.M., Ali, M., Saleem, I., Arif, M., and Fahad, S. 2019. Chapter 7 – a comprehensive review on rice responses and tolerance to salt stress.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance. pp. 133-158. Cambridge: Woodhead Publishing.

Ribeiro, G.P., Andrade, A.P.C., Daniels, J. and Seibel, N.F. 2014. Development of soy-based beverages with papaya and mango pulps. Acta Scientiarum. 36: 341-347.

Sai-Ut, S., Ketnawa, S., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S. 2009. Biochemical and functional properties of proteins from red kidney, navy and adzuki beans. Asian Journal of Food and Agro-Industry. 2(4): 493-504.

Setia, R., Dai, Z., Nickerson, M.T., Sopiwnyk, E., Malcolmson, L., and Ai, Y. 2019. Impacts of short-term germination on the chemical compositions, technological characteristics and nutritional quality of yellow pea and faba bean flours. Food Research International. 122: 263-272

Scialabba, A., and Melati, M.R. 1990. The effect of NaCl on growth and xylem differentiation of radish seedlings. Botanical Gazette. 151:516–521.

Shi, H., Nam, P.K. and Ma, Y. 2010. Comprehensive profiling of isoflavones, phytosterols, tocopherols, minerals, crude protein, lipid, and sugar during soybean (*Glycine max*) germination. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58: 4970-4976.

Shokohifard, G., Sakageim, K.H., and Matsumoto, S. 1989. Effect of amending materials on growth of radish plant in salinized soil. Journal of Plant Nutrition. 12:119-1294.

Shutov, A.D., and Vaintraub, I.A. 1987. Degradation of storage proteins in germinating seeds. Phytochemistry. 26: 1557-1566.

Silva, L.R., Pereira, M.J., Azevedo, J., Goncalves, R.F., Valentao, P., and Pinho, P.G. 2013. *Glycine max* (L.) Merr., *Vigna radiata* L. and *Medicago sativa* L. sprouts:

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

a natural source of bioactive compounds. Food Research International. 50: 167-175.

Souza, E.L., Albuquerque, T.M.R., Santos, A.S., Massa, N.M.L., and Alves, J.L.B. 2019. Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities – a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 1645-1659.

Sreerama, Y.N., Neelam, Dennis, D.A., Sashikala, V.B., and Pratape, V.M. 2010. Distribution of nutrients and antinutrients in milled fractions of chickpea and horse gram: seed coat phenolics and their distinct modes of enzyme inhibition. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58(7): 4322-4330.

Sritongtae, B., Sangsukiam, T., Morgan, M. R., and Duangmal, K. 2017. Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice bean (*Vigna umbellata*). Food Chemistry. 227: 280-288.

Stiles, I.E., 1948. Relation of Water to the Germination of Bean Seeds, Plant Physiology. 24 (3): 540-545.

Tamate, H., Nakai, R., Nakamori, Y., Esachi, M., Iwamoto, Y., Tsukada, Y., Ishikawa, D. and Fujii, T. 2016. Engineering analysis of the high-density heterotrophic cultivation of mung bean sprouts. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 88(8): 1602-1608.

Tsao, R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients. 2: 1231–1246.

Uchegbu, N.N., and Amulu, N.F. 2015. Effect of germination on proximate, available phenol and flavonoid content, and antioxidant activities of african yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). World Academy of Science, Engineering and

Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering. 9: 106-109.

Wang, H. and Murphy, P.A. 1994. Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42: 1666-1673.

Waskiewicz, A., Muzolf-Panek, M., and Golnski, P. 2013 Phenolic content changes in plants under salt stress. Ecophysiology and Responses of Plants under Salt stress. pp. 283-314. Springer: New York.

Waterhouse, A. L. 2005. Polyphenolics.InWrolstad, R. E., et al. (ed.). Handbook of Food Analytical Chemistry. pp. 461-470. Wiley Interscience: London.

Wongsiri, S., Ohshima, T., and Duangmal, K. 2015. Chemical composition, amino acid profile and antioxidant activities of germinated mung beans (*Vigna radiata*). Journal of Food Processing and Preservation. 39: 1956-1964.

Xu, B., Chang, S.K.C., Liu, Z., Yuan, S., Zou, Y., and Tan, Y. 2010. Comparative studies on the chemical and cell-based antioxidant activities and antitumor cell proliferation properties of soy milk manufactured by conventional and commercial UHT methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58: 3558-3566.

Yousif, A.M., Kato, J., and Deeth, H.C. 2007. Effect of storage on the biochemical structure and processing quality of adzuki bean (*Vigna angularis*). Food Reviews International. 23: 1-33

Yoshida, H., Tomiyama, Y., Yoshida, N., and Mizushina, Y. 2009. Characteristics of lipid components, fatty acid distributions and triacylglycerol molecular species of adzuki beans (*Vigna angularis*). Food Chemistry. 115: 1424-1429.

Yoshida, K., Nagai, N., Ichikawa, Y., Goto, M. Kazuma, K., Oyama, K., Koga, K., Hashimoto, M., Iuchi, S., Takaya, Y., and Kondo, T. 2019. Structure of two purple pigments, catechinopyranocyanidins A and B from the seed-coat of the small red bean, *Vigna angularis.* Scientific Reports. 9: 1484-1495.

Yuan, G., Wang, X., Gou, R., and Wang, Q. 2010. Effect of salt stress on phenolic compounds, glucosinolates, myrosinase and antioxidant activity in radish sprouts. Food Chemistry. 102: 1014-1019.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (moisture content) ตามวิธีของ AOAC (2006)

วิธีการทดลอง

1. นำตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 2 กรัม (ชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ลงในถาดอะลูมิเนียมที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน

2. อบตัวอย่างในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 1 องศาเซลเซียส

3. พักตัวอย่างไว้ในโถดูดความชื้นแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นทำการทดลองตามข้อ 2 และ 3 ซ้ำ จนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างคงที่

4. คำนวณค่าความชื้นโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ความชื้นของตัวอย่าง (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง (กรัม) - น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง (กรัม)}} \times 100$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ก.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบ (crude protein) ด้วย Kjeldahl’s method

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบ (crude protein) ด้วย Kjeldahl’s method ตาววิธีของ AOAC (2004)

สารเคมี

1. สารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture)

2. กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 98

3. อินดิเคเตอร์ (methyl red ผสมกับ bromocresol green)

4. กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v)

5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35

6. กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1.000 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่งลงบนกระดาษกรองเบอร์

41 ก่อนใส่ในหลอดย่อย (Kjeldahl flask)

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture) 5 กรัม

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดตัวอย่างไปย่อยในเครื่องย่อยโปรตีนจนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาลใส แล้วทิ้งหลอดตัวอย่างให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส)

4. เทกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และหยด indicator (ผสม methyl red 20 มิลลิกรัม และ bromocresol green 100 มิลลิกรัม ใน ethanol 100 มิลลิลิตร) ประมาณ 2 - 3 หยดลงไปในสารละลายบอริก แล้วนำสารผสมที่ได้มาเก็บสารที่ได้จากชุดกลั่น โดยให้ปลายท่อจากเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริกตลอดเวลา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5. นำสารละลายสีน้ำตาลใสที่ได้จากการย่อยใส่ในเครื่องกลั่นเพื่อหาปริมาณไนโตรเจน โดยตั้งค่าเครื่องที่ภาวะการใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 35 จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีดำ และตั้งเวลาในการกลั่น 6 นาที ให้ได้ปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร สารละลายกรดบอริกเปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่อสารที่ได้จากการกลั่นมีองค์ประกอบของไนโตรเจน

6 ล้างส่วนปลายท่อที่จุ่มในขวดรูปชมพู่ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับกรด

ไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (ทำ blank ทุกครั้งที่วิเคราะห์) และคำนวณหาปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักถั่ว (dry basis) หรือคำนวณหาปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักน้ำนมถั่ว (wet basis) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน, dry basis (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(B - A) \times M \times 14.007 \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน, wet basis. (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(B - A) \times M \times 14.007 \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) = ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ) x 6.25

เมื่อ A คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

M คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (โมลาร์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบ (crude fat) ด้วย Soxhlet extraction

วิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบ (crude fat) ด้วย Soxhlet extraction ตามวิธีของ AOAC (2006)

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการทดลอง

1. อบขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร ในตู้อบลมร้อนแล้วทิ้งให้เย็น ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนัก 3 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง บนกระดาษกรอง ห่อตัวอย่างให้มิดชิดแล้วใส่ลงใน thimble

3. นำ thimble ใส่ลงใน siphon arm ที่ต่อกับขวดก้นกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน จากนั้นเติมตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป แล้ววางบนเตาที่ต่อกับ condenser

4. ใช้เวลาในการสกัดไขมัน 2 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์กลั่นตัวจาก condenser ด้วยอัตรา 5-6 หยดต่อนาที

5. ระเหยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

6. นำขวดหาปริมาณไขมันมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

7. นำขวดหาปริมาณไขมันออกมาจากตู้อบลมร้อน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

8. คำนวณหาปริมาณไขมันโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.4 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ตามการดัดแปลงวิธีของ Waterhouse (2005)

สารเคมี

1.Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 2 นอร์มัล

2.โซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารสกัดปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ตามด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 7 มิลลิลิตร และสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 2 นอร์มัล ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน

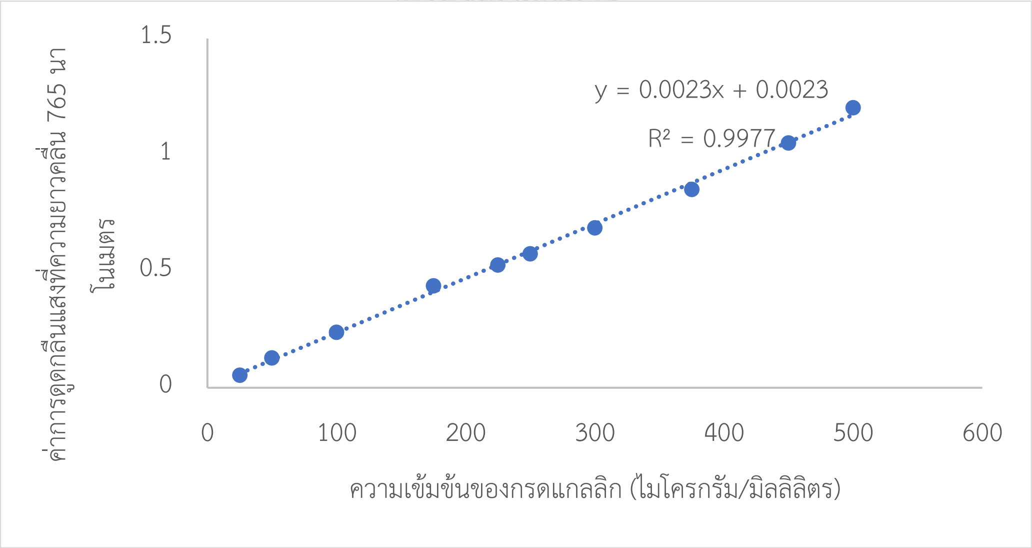
2. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรทั้งหมดให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชม.

5. นำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

6. คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (galic acid) ช่วงความเข้มข้น 25, 50, 100, 175, 225, 250, 300, 375, 450 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมถั่วเหลืองแห้ง (dry basis) แสดงดังรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ก.5 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid)

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีของ Zhishen et al. (1999)

สารเคมี

1. โซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v)
2. อะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์
4. แคทีชิน (Catechin)

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารสกัด 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ตามด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ 0.3 มิลลิลิตร

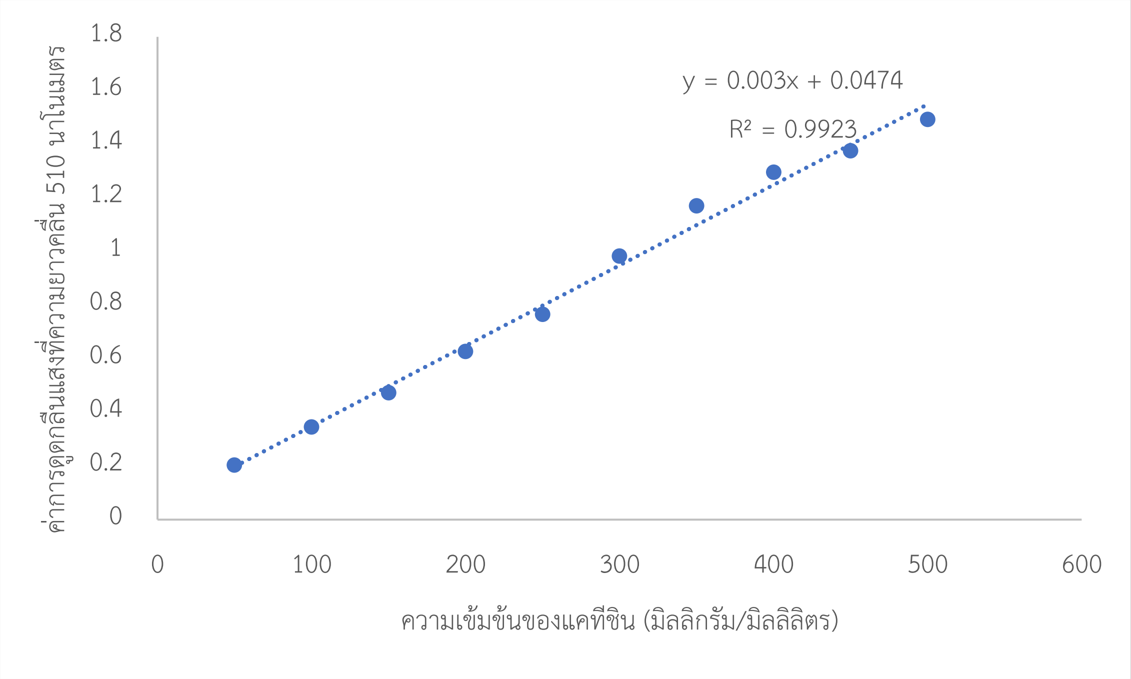
2. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

3. เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

4. ปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5. นำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร แล้วคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชิน (catechin) ช่วงความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแสดงผลปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมแคทีชินต่อกรัมถั่ว (dry basis) แสดงดังรูปที่ ก.2



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของแคทีชินที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ก.6 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วย DPPH radical scavenging assay (DPPH)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วย DPPH radical scavenging assay (DPPH) ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

สารเคมี

1. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
2. เมทานอล
3. 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid (Trolox)

เตรียมตัวอย่าง

บดถั่วอะซูกิเพาะงอกให้ละเอียด แล้วสกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 อัตราส่วน 1:10 (w/v) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30±1 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 rpm นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 10 นาที สารละลายส่วนใสที่ได้จะถูกกรองด้วย

กระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นนำสารละลายส่วนใสที่ผ่านการกรองใช้เป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย

2. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

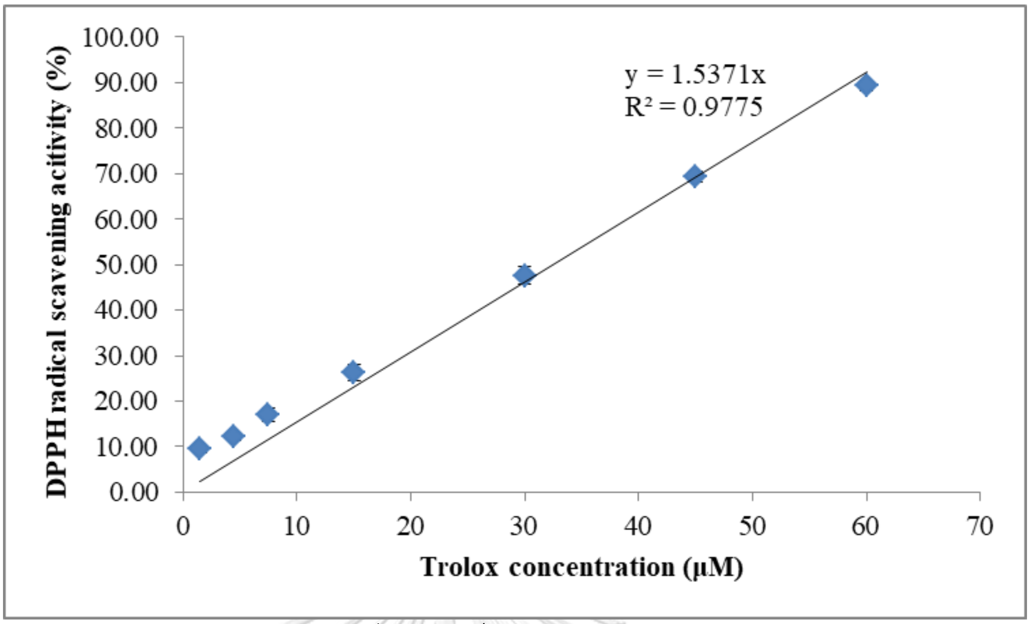
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณ DPPH radical scavenging activity (%) ดังสมการ แล้วคำนวณฤทธิ์ต้านออกซิเดชันตามสมการที่ระบุในกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่า %DPPH inhibition ดังรูปที่ ก.3

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_0 - A}{A0} \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของ Trolox ที่ใช้ในฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging assay

ก.7 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วย Ferric reducing oxidant power assay (FRAP)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วย Ferric reducing oxidant power assay (FRAP) ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารเคมี

1. กรดอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 99.8

2. โซเดียมอะซีเตต

3. เฟอริกคลอไรด์

4 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5. 2,4,6-tripyridyl-s-trirazine (TPTZ)

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 ละลายโซเดียมอะซีเตต 40.824 กรัม ในน้ำ 700 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ของสารละลายเป็น 3.6 ด้วยกรดอะซีติกเข้มข้น

ร้อยละ 99.8 แล้วปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร

2. สารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น เข้มข้น 250 มิลลิโมลาร์ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ละลาย เฟอริกคลอไรด์ 0.3244 กรัม ในน้ากลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 37 ปริมาตร 0.33 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

4. สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-trirazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (เตรียมใหม่ ทุกครั้ง) ละลาย TPTZ 0.0312 กรัม ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ เป็น 10 มิลลิลิตร

5. สารละลาย FRAP (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตต 25 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเฟอริกคลอไรด์ 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย TPTZ 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

เตรียมตัวอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

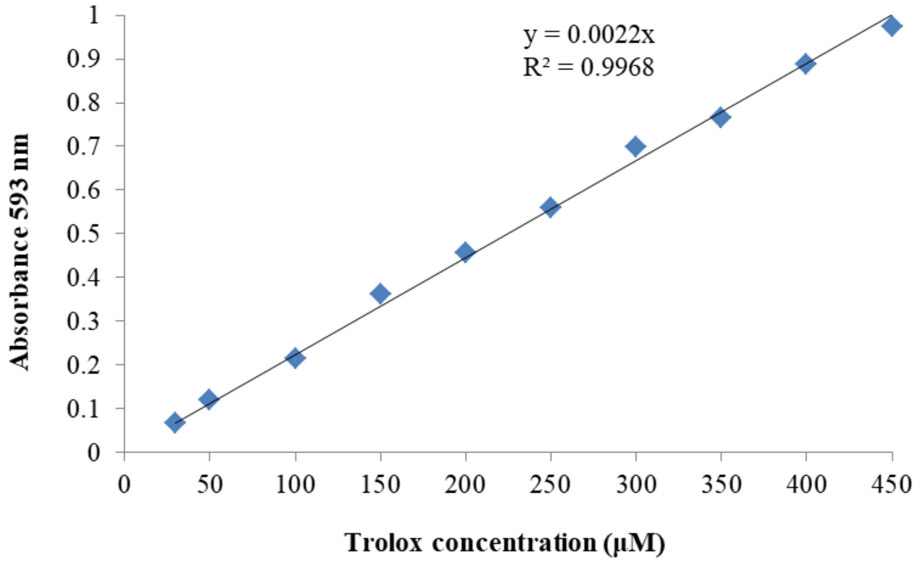
บดถั่วอะซูกิเพาะงอกให้ละเอียด แล้วสกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 อัตราส่วน 1:10 (w/v) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30±1 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 rpm นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 10 นาที สารละลายส่วนใสที่ได้จะถูกกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นนำสารละลายส่วนใสที่ผ่านการกรองใช้เป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารละลาย FRAP 1900 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

2. ปิเปตตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ตามลงไป ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย 3. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร แล้วคำนวณฤทธิ์ต้านออกซิเดชันตามสมการที่ระบุในกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังรูปที่ ก.4



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของ Trolox ที่ใช้ในฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Ferric reducing oxidant power assay (FRAP)

ก.8 วิเคราะห์ TCA-soluble peptides

วิเคราะห์ TCA-soluble peptides ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

สารเคมี

1. ไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างถั่วอะซูกิบดละเอียด 3 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเย็นที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) 27 มิลลิลิตร กวนสารละลายต่อเนื่องบน stirrer นาน 2 นาที ก่อนนำไปวางในถังน้ำแข็งนาน 1 ชั่วโมง

3. นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

4. นำสารละลายส่วนใสด้านบนมาวิเคราะห์ปริมาณเพปไทด์และกรดอะมิโนด้วยวิธี Lowry (Lowry et al., 1951)

5. คำนวณปริมาณ TCA-soluble peptides จากกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไทโรซีนความเข้มข้น 0, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ แสดงดังรูป ก.5

ข.9 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry ตามวิธีของ Lowry และคณะ (1951)

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์
2. โซเดียมคาร์บอเนต
3. โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต
4. คอปเปอร์ซัลเฟต
5. Folin-Ciocalteu reagent

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลายรีเอเจนต์ A สารละลายผสมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.1 โมลาร์ ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2 กรัม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส)

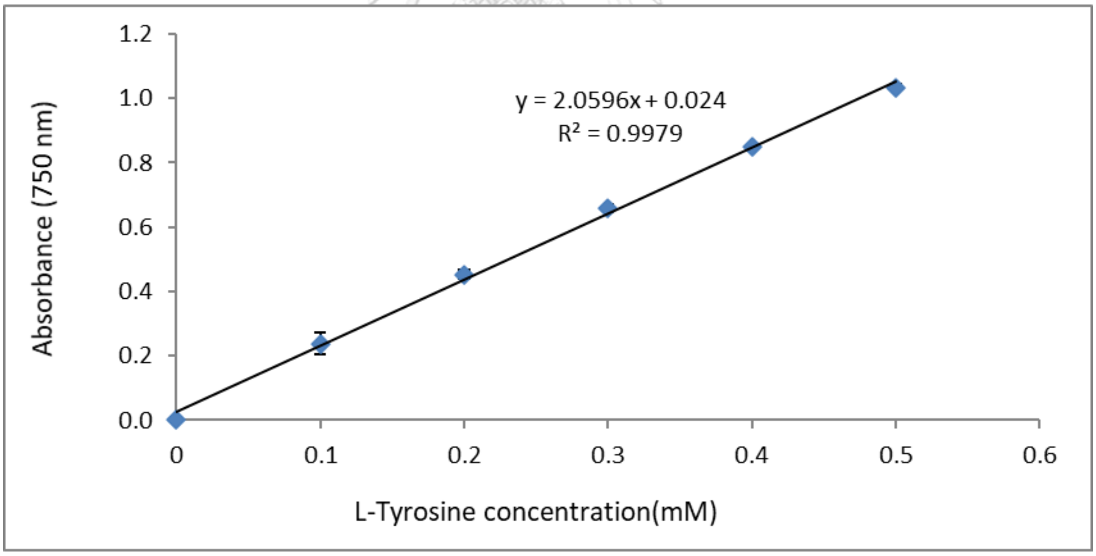
2. สารละลายรีเอเจนต์ B สารละลายผสมของคอปเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 0.5% ในสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรตเข้มข้นร้อยละ 1 ละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 1 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3. สารละลายรีเอเจนต์ C (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ผสมรีเอเจนต์ A และรีเอเจนต์ B อัตราส่วน 1:50

4. สารละลาย D (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ผสม Folin-Ciocalteu reagent กับน้ำกลั่น อัตราส่วน 1:1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากภาคผนวก ก.8 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงใน Eppendorf
2. ปิเปตสารละลาย C 1 มิลลิลิตร ลงไป ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
3. ปิเปตสารละลาย D 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
5. สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไทโรซีนความเข้มข้น 0, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ แสดงดังรูป ก.5



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของไทโรซีน (L-Tyrosine) ที่ใช้ในการคำนวณปริมาณ TCA-soluble peptides

ก.10 วิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบในน้ำนมถั่วเหลือง

วิเคราะห์ปริมาณไขมันหยาบในน้ำนมถั่วเหลือง ตามวิธีของ British Stardard 2472 (1989)

สารเคมี

1.เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95

2.ไดเอทิลอีเทอร์

3.ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการทดลอง

1. อบขวดก้นกลมด้วยตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. ปิเปตน้ำนมตัวอย่าง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงใน Mojonnier extraction tube ตามด้วยแอมโมเนีย ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3. เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4. เติมเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. เติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดให้สนิท แล้วเขย่าให้เข้ากัน นาน 1 นาที

6. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดให้สนิท แล้วเขย่าให้เข้ากัน นาน 30 วินาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

7. ตั้ง Mojonnier extraction tube ทิ้งไว้ นาน 20 นาที หลังตั้งทิ้งไว้สารผสมจะแยกชั้นอย่างชัดเจน

8. เทสารส่วนบนลงในขวดก้นกลม

9. สกัดสารผสมตัวอย่างซ้ำอีกครั้ง ตามข้อ 4-8 โดยครั้งนี้ใช้เอทานอล ในข้อ 4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

10. นำขวดก้นกลมที่บรรจุสารสกัดไประเหยไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

11. อบขวดก้นกลมด้วยตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

12. คำนวณปริมาณไขมันหยาบในตัวอย่าง ด้วยสูตร

$$\% \text{ fat (sample, w/w)} = \frac{W_2 - W_1}{W_s} \times 100$$

$$\% \text{ fat (sample, w/v)} = \frac{W_2 - W_1}{V_s} \times 100$$

$$\% \text{ error (w/v)} = \frac{W_b - W_1}{V_b} \times 100$$

$$\% \text{ fat (corrected)} = \% \text{ fat (sample)} - \% \text{ error}$$

โดยที่ W_1 คือ น้ำหนักของขวดก้นกลม

W_2 คือ น้ำหนักของขวดก้นกลม + ตัวอย่าง (หลังกระบวนการระเหยสารสกัด)

W_s คือ น้ำหนักตัวอย่าง

V_s คือ ปริมาตรตัวอย่าง

W_b คือ น้ำหนักของขวดก้นกลม + blank

V_b คือ ปริมาตร blank

ก. 11 วิเคราะห์ปริมาณของแข็ง (Total Solids)

วิเคราะห์ปริมาณ ของแข็งด้วย Gravimetric method ตามวิธีของ NZS.2246/1969

วิธีการทดลอง

1. ชั่งถ้วยอลูมิเนียมที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105±1 องศาเซลเซียส 30 นาที และตั้งทิ้งไว้ในเดซิเคเตอร์ นาน 30 นาที ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

2. ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร โดยให้ตัวอย่างกระจายปิดผิวถ้วยอะลูมิเนียม

3. นำถ้วยอะลูมิเนียมที่บรรจุตัวอย่างไปลอยทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

4. นำมาอบด้วยเครื่องอบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 102±2 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

5. ทิ้งตัวอย่างให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

6. คำนวณ ร้อยละของของแข็ง ด้วยสูตร

$$\text{ปริมาณของแข็ง (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้งหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

ก.12 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ปริมาณเถ้าตามวิธีของ AOAC (2006)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งกรูซิเบิลพร้อมฝาที่เผาและทิ้งให้เย็นแล้ว ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ในกรูซิเบิลพร้อมฝา ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3. นำกรูซิเบิลที่บรรจุตัวอย่างไปเผาบนเตาจนได้เถ้าสีดำและหมดควัน

4. นำกรูซิเบิลไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว

5. นำกรูซิเบิลออกมาจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

6. คำนวณหาปริมาณเถ้าโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{เถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

ภาคผนวก ข

ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ ข.1 ผลของการปรับสภาพก่อนเพาะงอกต่อองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและถั่วอะซูกิเพาะงอกที่เวลา 30 ชั่วโมง

การปรับสภาพ	เวลาในการเพาะงอก (hr)	Moisture content (%)	Crude protein (g/100g bean db.)	Crude fat (g/100g bean db.)	Total phenolic content (mg GAE/g bean db.)	Total flavonoid (mg CAE/g bean db.)	DPPH (µmol TE/ml)	FRAP (µmol TE/ml)	TCA-soluble peptide (g/100g bean db.)
น้ำ	0	50.65 ± 0.71^{c}	23.75 ± 0.25^{b}	0.64 ± 0.02^{b}	1.49 ± 0.05^{a}	0.74 ± 0.08^{a}	10.33 ± 0.59^{a}	3.97 ± 0.18^{a}	0.62 ± 0.08^{b}
	30	$60.50\pm0.0.54^{f}$	26.22 ± 0.85^{c}	0.89 ± 0.04^{c}	2.03 ± 0.11^{b}	0.88 ± 0.06^{ab}	14.83 ± 0.36^{b}	5.84 ± 0.20^{b}	0.39 ± 0.03^{a}
50 mM	0	48.86 ± 0.55^{b}	22.59 ± 0.31^{a}	0.61 ± 0.03^{b}	1.49 ± 0.08^{a}	0.73 ± 0.06^{a}	10.82 ± 0.28^{a}	3.98 ± 0.08^{a}	0.69 ± 0.03^{bc}
NaCl	30	58.29 ± 0.56^{e}	26.01 ± 0.66^{c}	0.48 ± 0.04^{a}	2.54 ± 0.10^{c}	0.92 ± 0.08^{b}	15.18 ± 0.21^{b}	6.12 ± 0.27^{b}	0.55 ± 0.03^{b}
52 mM	0	45.20 ± 0.56^{a}	23.48 ± 0.24^{ab}	0.60 ± 0.05^{b}	1.62 ± 0.16^{a}	0.77 ± 0.04^{ab}	10.47 ± 0.16^{a}	3.79 ± 0.13^{a}	0.78 ± 0.03^{c}
citric acid	30	57.40 ± 0.40^{d}	26.34 ± 0.64^{c}	0.47 ± 0.01^{a}	2.48 ± 0.10^{c}	0.90 ± 0.02^{ab}	14.97 ± 0.18^{b}	6.10 ± 0.11^{b}	0.61 ± 0.07^{b}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วชนิดเดียวกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วเหลืองต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	5239.349	3	1746.450	10685.461	0.000
Error	1.308	8	0.163		
Total	5240.656	11			

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วอะซูกิต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	5638.892	3	1879.631	4088.376	0.000
Error	3.678	8	0.460		
Total	5642.570	11			

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วเหลืองต่อปริมาณโปรตีน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	39.282	3	13.094	41.166	0.000
Error	2.545	8	0.318		
Total	41.827	11			

ตารางที่ ค.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วอะซูกิต่อปริมาณโปรตีน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	3.723	3	1.241	27.403	0.000
Error	0.362	8	0.045		
Total	4.086	11			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วเหลืองต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	8.465	3	2.822	52.255	0.000
Error	0.432	8	0.054		
Total	8.897	11			

ตารางที่ ค.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วอะซูกิต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	0.245	3	0.082	93.435	0.000
Error	0.007	8	0.001		
Total	0.252	11			

ตารางที่ ค.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วเหลืองต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	1.935	3	0.645	153.542	0.000
Error	0.034	8	0.004		
Total	1.968	11			

ตารางที่ ค.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วอะซูกิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	0.208	3	0.069	9.634	0.005
Error	0.058	8	0.007		
Total	0.266	11			

ตารางที่ ค.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกถั่วเหลืองต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Germination time	0.199	3	0.066	20.431	0.000
Error	0.026	8	0.003		
Total	0.225	11			

ตารางที่ ค.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาการเพาะงอกอะซูกิต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Germination time	1.922	3	.641	175.109	.000
Error	.029	8	.004		
Total	1.951	11			

ตารางที่ ค.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	142.889	2	71.444	33.842	0.001
Error	12.667	6	2.111		
Total	155.556	8			

ตารางที่ ค.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากเฉลี่ยของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	98.073	2	49.036	120.119	0.000
Error	2.449	6	0.408		
Total	100.522	8			

ตารางที่ ค.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	557.123	5	111.425	1501.904	0.000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Error	0.890	12	0.074		
Total	558.013	17			

ตารางที่ ค.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนหยาบของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	40.628	5	8.126	44.602	0.000
Error	2.186	12	0.182		
Total	42.815	17			

ตารางที่ ค.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไขมันหยาบของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	0.347	5	0.069	53.628	0.000
Error	0.016	12	0.001		
Total	0.363	17			

ตารางที่ ค.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของTCA-soluble peptide ของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	0.259	5	0.052	19.274	0.000
Error	0.032	12	0.003		
Total	0.291	17			

ตารางที่ ค.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	3.524	5	0.705	50.925	0.000
Error	0.166	12	0.014		
Total	3.690	17			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ค.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	0.113	5	0.023	5.809	0.006
Error	0.047	12	0.004		
Total	0.160	17			

ตารางที่ ค.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging ของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	81.047	5	16.209	120.189	0.000
Error	1.618	12	0.135		
Total	82.666	17			

ตารางที่ ค.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP ของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายเกลือ สารละลายกรดซิตริกและไม่ผ่านปรับสภาพด้วยสารละลาย

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
treatment	22.117	5	4.423	128.361	0.000
Error	0.414	12	0.034		
Total	22.531	17			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ค.21 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโปรตีนหยาบและไขมันหยาบในน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วอะซูกิ

SOV	N	Mean	df	Standard Deviation	t	Sig.
Crude protein (soymilk)	3	4.9300	2	0.0300	10.782	0.008
Crude protein (adzuki milk)	3	3.9500		0.0495		
Crude fat (soymilk)	3	1.4233	2	0.03512	41.898	0.001
Crude fat (adzuki milk)	3	0.1433		0.02517		

ตารางที่ ค.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่าดัชนีการแยกชั้น

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.000	7	0.000	-	-
Error	0.000	16	0.000		
Total	0.000	23			

ตารางที่ ค.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.120	7	0.017	22.165	0.00
Error	0.012	16	0.001		
Total	0.132	23			

ตารางที่ ค.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่าความหนืด

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	3523.423	7	505.346	1078.464	0.000
Error	7.468	16	0.467		
Total	3530.890	23			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ค.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่า L*

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	301.252	7	43.036	298.404	0.000
Error	2.308	16	0.144		
Total	303.560	23			

ตารางที่ ค.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่า a*

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	20.920	7	2.989	1811.229	0.000
Error	0.260	16	0.002		
Total	20.946	23			

ตารางที่ ค.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่า b*

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	261.558	7	37.365	945.261	0.000
Error	0.632	16	0.040		
Total	262.190	23			

ตารางที่ ค.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่าความเข้ม (Chroma)

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	266.058	7	38.008	996.722	0.000
Error	0.610	16	0.038		
Total	266.668	23			

ตารางที่ ค.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อค่าโทนสี (Hue angel)

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	840.972	7	120.139	556.113	0.000
Error	3.457	16	0.216		
Total	844.428	23			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ค.30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อปริมาณโปรตีนหยาบ

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.843	7	0.120	3.086	0.029
Error	0.624	16	0.039		
Total	1.467	23			

ตารางที่ ค.31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อปริมาณไขมันหยาบ

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.

Formular	0.169	7	0.024	6.306	0.001
Error	0.061	16	0.004		
Total	0.231	23			

ตารางที่ ค.32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.220	7	0.003	15.640	0.000
Error	0.003	16	0.000		
Total	0.025	23			

ตารางที่ ค.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตรต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.013	7	0.002	25.325	0.000
Error	0.001	16	0.000		
Total	0.014	23			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ค.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.036	7	0.005	81.971	0.000
Error	0.001	16	0.000		
Total	0.037	23			

ตารางที่ ค.35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสูตรน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 8 สูตร ต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิค FRAP

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formular	0.027	7	0.004	22.313	0.000

Error	0.003	16	0.000
Total	0.030	23	

ตารางที่ ค.36 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อลักษณะทางกายภาพ

SOV	N	Mean	df	Standard Deviation	t	Sig.
Creaming index (nongerminated)	3	0.0000	2	0.00000	-	-
Creaming index (germinated)	3	0.0000		0.00000		
pH (nongerminated)	3	6.6037	2	0.03729	-3.514	0.072
pH (germinated)	3	6.7067		0.01528		
Viscosity (nongerminated)	3	59.2433	2	0.60797	-9.237	0.012
Viscosity (germinated)	3	67.3567		0.93409		
L* (nongerminated)	3	66.5133	2	0.29143	-16.181	0.004
L* (germinated)	3	71.5433		0.24705		
a* (nongerminated)	3	0.8567	2	0.06658	57.350	0.000
a* (nongerminated)	3	-0.7767		0.06110		
b* (nongerminated)	3	4.8967	2	0.22942	-51.014	0.000
b* (germinated)	3	9.6367		0.09713		
Chroma (nongerminated)	3	4.9700	2	0.21794	-54.313	0.000
Chroma (germinated)	3	9.6667		0.09713		
Hue angle (nongerminated)	3	80.0367	2	1.15509	-27.416	0.001
Hue angle (nongerminated)	3	94.6067		.33606		

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ค.37 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อคุณค่าทางโภชนาการ

SOV	N	Mean	df	Standard	t	Sig.

				Deviation		
Crude protein (nongerminated)	3	9.2100	2	0.24021	-3.008	0.095
Crude protein (germinated)	3	9.9133		0.16743		
Crude fat (nongerminated)	3	2.2167	2	0.11590	0.702	0.555
Crude fat (germinated)	3	2.1733		0.02887		
Carbohydrate (nongerminated)	3	15.6333	2	0.47014	3.251	0.083
Carbohydrate (germinated)	3	14.2033		0.31214		
TSS (nongerminated)	3	27.9000	2	0.26211	3.411	0.076
TSS (germinated)	3	27.0367		0.21385		
Ash (nongerminated)	3	0.8400	2	0.01732	9.500	0.011
Ash (nongerminated)	3	0.7133		0.02082		
Energy (nongerminated)	3	119.3233	2	1.33829	3.296	0.081
Energy (germinated)	3	116.1600		0.86966		

ตารางที่ ค.38 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

SOV	N	Mean	df	Standard Deviation	t	Sig.
TPC (nongerminated)	3	67.0100	2	2.37228	-6.062	0.026
TPC (germinated)	3	35.4467		1.11289		
TFC (nongerminated)	3	44.1033	2	0.64532	-10.730	0.009
TFC (germinated)	3	148.5967		0.25027		
DPPH (nongerminated)	3	152.8200	2	1.55779	-4.047	0.056
DPPH (germinated)	3	71.1667		1.95454		
FRAP (nongerminated)	3	83.4733	2	1.33695	-6.694	0.022
FRAP (germinated)	3	67.0100		2.37228		

ตารางที่ ค.39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อลำดับความชอบของผู้บริโภค (ranking test) จำนวน 50 คน

SOV	N	Mean Rank	df	Standard Deviation	Chi-Square	Sig.
Soymilk	50	1.94	2	0.79308	18.760	0.000
Soy-Adzuki milk	50	1.60	2	0.69985		
Germinated Soy-Adzuki milk	50	2.46	2	0.73429		

* Friedman test

ตารางที่ ค.40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านลักษณะปรากฏ จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sample	63.937	2	31.969	34.090	0.000
Panelist	138.621	49	2.829	3.017	0.000
Error	91.903	98	0.938		
Total	294.461	149			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ค.41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านสี จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sample	103.792	2	51.896	42.606	0.000
Panelist	144.622	49	2.951	2.423	0.000
Error	119.368	98	1.218		
Total	367.782	149			

ตารางที่ ค.42 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านกลิ่นรส จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.

Sample	59.632	2	29.816	19.358	0.000
Panelist	166.585	49	3.400	2.207	0.000
Error	150.941	98	1.540		
Total	377.158	149			

ตารางที่ ค.43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านรสชาติ จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sample	36.194	2	18.097	12.600	0.000
Panelist	178.051	49	3.634	2.530	0.000
Error	140.753	98	1.436		
Total	354.997	149			

ตารางที่ ค.44 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านความข้นหนืด จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sample	12.095	2	6.047	7.205	0.001
Panelist	180.340	49	3.680	4.385	0.000
Error	82.252	98	0.839		
Total	274.687	149			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ค.45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านความรู้สึกในปาก จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sample	10.773	2	5.386	5.294	0.007
Panelist	190.389	49	3.885	1.018	0.000
Error	99.720	98	1.018		
Total	300.883	149			

ตารางที่ ค.46 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิและน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิเพาะงอกต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้านความชอบโดยรวม จำนวน 50 คน

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sample	33.743	2	16.871	13.820	0.000
Panelist	160.290	49	3.269	2.678	0.000
Error	119.637	147	1.221		
Total	313.570	149			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แบบทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์

น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ

ผู้ทดสอบ : ___________________________ วันที่ทดสอบ_________________

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบความชอบตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ ตามลำดับที่เสนอ ให้ครบทั้ง 3 ตัวอย่าง และให้ลำดับความชอบตามที่ท่านรู้สึก โดยให้ลำดับที่ 3=ชอบมากที่สุด และลำดับที่ 1= ชอบน้อยที่สุด

รหัสตัวอย่าง	653	351	862
ลำดับความชอบ	______	_____	_____

ข้อเสนอแนะ

____

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

แบบทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์

น้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ

ผู้ทดสอบ : ___________________________ วันที่ทดสอบ______________

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบการยอมรับตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ ตามลำดับที่เสนอ และให้คะแนนระดับความชอบที่ตรงกับใจท่านที่สุด

ระดับความชอบ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ชอบมาก
3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
5 = เฉยๆ
6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก
9 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	ระดับความชอบของตัวอย่าง		
	653	351	862
ลักษณะปรากฏ (appearance)			
สี (color)			
กลิ่นรส (flavor)			
รสชาติ (taste)			
ความข้นหนืด (thickness)			
ความรู้สึกในปาก (mouthfeel)			
ความชอบโดยรวม (overall acceptability)			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อเสนอแนะ

____

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ศตวรรษ หาดอ้าน
วัน เดือน ปี เกิด	5 สิงหาคม 2536
สถานที่เกิด	ตราด
วุฒิการศึกษา	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ที่อยู่ปัจจุบัน	111/24 ถนนราชพฤกษ์ ตำบลบางกร่าง อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัด นนทบุรี 11000
ผลงานตีพิมพ์	ศตวรรษ หาดอ้าน. และ เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2563. ผลของการงอกต่อการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในน้ำนมถั่วเหลือง-ถั่วอะซูกิ.ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตศรีราชา. ครั้งที่ 4. วันที่ 28 สิงหาคม 2563 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตศรีราชา จังหวัดชลบุรี.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University