

ผลของวิธีปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในพืชสกุล *Vigna* สามชนิด



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF COOKING METHODS ON NUTRITIONAL QUALITY AND ANTIOXIDANT
ACTIVITY IN THREE SPECIES OF *Vigna*



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 2018
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของวิธีปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในพืชสกุล <i>Vigna</i> สามชนิด
โดย	นายกิตติศักดิ์ ปานทอง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	
.....	ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร.ตรีช กวักเพชญ์)	
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย)	
.....	กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวณิช)	
.....	กรรมการ
(อาจารย์ ดร.พิมพ์พินันท์ สมทรง)	
.....	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม)	

กิตติศักดิ์ ปานทอง : ผลของวิธีปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในพืชสกุล
Vigna สามชนิด. (EFFECTS OF COOKING METHODS ON NUTRITIONAL QUALITY AND
 ANTIOXIDANT ACTIVITY IN THREE SPECIES OF *Vigna*) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.เกียรติศักดิ์
 ดวงมัลย์

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการปรุงสุกถั่วทั้งสามวิธี ได้แก่ (1) วิธีการต้มด้วย
 น้ำประปาอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนของถั่วที่ผ่านการแช่น้ำต่อปริมาณน้ำประปา 1:10 (w/v) (2)
 การนึ่งด้วยไอน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และ (3) การปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดันอุณหภูมิ 115 องศา
 เซลเซียส ความดัน 10 psi ที่อัตราส่วนของถั่วที่ผ่านการแช่น้ำต่อปริมาณน้ำประปา 1:10 (w/v) เพื่อหาวิธีที่
 สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการ และสมบัติการต้านออกซิเดชันของถั่ว และสามารถลดปริมาณสารต้านคุณค่า
 ทางโภชนาการของถั่วให้อยู่ในระดับต่ำ ผลการศึกษาพบว่าวิธีการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ
 ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ โดยส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ เถ้า ไขมัน เยื่อใยหยาบ คาร์โบไฮเดรต
 พลังงาน สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาต่อน้ำหนักบรีโกล
 100 กรัมที่เท่ากัน พบว่าวิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดันมีผลต่อการ
 เปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการมากกว่าวิธีการนึ่ง และการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้สารต้านคุณค่าทาง
 โภชนาการ (น้ำตาลราฟฟิโนส น้ำตาลสแตคิโอส และกรดไฟติก) ลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนัก
 แห้ง วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดันสามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทาง
 โภชนาการออกไปจากถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิได้มากกว่าวิธีการนึ่ง เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
 (Ferric reducing antioxidant power, DPPH radical scavenging activity และ Metal chelating activity)
 ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุก พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันลดลง
 ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง วิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ถั่วมีฤทธิ์ต้าน
 ออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric reducing antioxidant power และ Metal chelating activity ลดลงมาก
 กว่าวิธีการนึ่ง ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity ของถั่วที่
 ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีลดลงในระดับใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาการบรีโกลถั่วปรุงสุกในน้ำหนักบรีโกล 100
 กรัมที่เท่ากัน พบว่าการปรุงสุกด้วยวิธีการนึ่งเป็นวิธีที่สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการ และสมบัติการต้าน
 ออกซิเดชันของถั่วไว้ได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับการปรุงสุกวิธีอื่น นอกจากนี้วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการนึ่งยังสามารถ
 กำจัดน้ำตาลราฟฟิโนส น้ำตาลสแตคิโอส และกรดไฟติกออกไปจากถั่วได้มากกว่าร้อยละ 13 เมื่อเทียบกับถั่วดิบ
 โดยน้ำหนักแห้ง

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

5871913823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: Cooking method, Nutritional quality, Antinutritional factors, Antioxidant activity
 Kittisak Pantong : EFFECTS OF COOKING METHODS ON NUTRITIONAL QUALITY AND
 ANTIOXIDANT ACTIVITY IN THREE SPECIES OF *Vigna*. Advisor: Asst. Prof. Kiattisak
 Duangmal, Ph.D.

This research was aimed at comparing three different cooking methods: (1) boiling at 100 °C in tap water at the ratio of 1:10 (w/v), (2) steaming at 100 °C, atmospheric pressure and (3) pressure cooking at 115 °C, 10 psi, in tap water at the ratio of 1:10 (w/v) for selecting the condition that cooked beans maintained level of nutrients with high antioxidant activity and had lower level of antinutrients. The results showed that cooked mung beans nutritional composition was affected by method of cooking. Steaming had a strong impact on retaining nutrients. The change in each nutrient in black beans and azuki beans was observed in the similar pattern. All cooking methods reduced the amount of raffinose, stachyose and phytic acid in cooked mung beans comparing with raw beans on dry basis ($p \leq 0.05$). Pressure cooking was the most effective method to reduce these three antinutrients. Phytic acid was found to be the toughest antinutrient to be removed. The reduction of antinutrients in black beans and azuki beans was observed in the similar pattern. DPPH radical scavenging activity, Ferric reducing antioxidant power and Metal chelating activity in cooked mung beans was significantly reduced comparing with raw beans on dry basis. All cooked mung beans showed high antioxidant activity towards DPPH radicals. Cooked mung beans obtained from steaming method showed the highest antioxidant activity (DPPH radical scavenging activity, Ferric reducing antioxidant power and Metal chelating activity). Antioxidant activity in cooked black beans and azuki beans was observed in the similar pattern. Thus, steaming was the most effective cooking method because it could retain high level of nutrients and antioxidant activities. This method also significantly reduced raffinose, stachyose and phytic acid, compared to raw beans, more than 13% on dry basis.

Field of Study: Food Technology

Student's Signature

Academic Year: 2018

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

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

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ดริษ กวักเพฑูรย์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ ดร. พิมพ์พิณันท์ สมทรง และรองศาสตราจารย์ ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม ที่กรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณาชี้แนะแนวทาง และให้คำปรึกษาในการปรับปรุง ตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

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

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่สาว สำหรับความรัก ความเอาใจใส่ และกำลังใจที่ให้มาโดยตลอดอย่างไม่มีวันหมด รวมทั้งให้การสนับสนุนและส่งเสริมให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการศึกษาตลอดมา

กิตติศักดิ์ ปานทอง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 ถั่วเมล็ดแห้ง.....	3
2.1.1 ข้อมูลเบื้องต้นของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิ.....	3
2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิ.....	4
2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้ง	5
2.2.1 คาร์โบไฮเดรต.....	5
2.2.2 โปรตีน.....	6
2.3 สารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้ง	8
2.3.1 เลคติน.....	8
2.3.2 สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน	9
2.3.3 กรดไฟติก	9
2.3.4 α -galactosides.....	11
2.3.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้ง	12
2.4 สมบัติการต้านออกซิเดชันของถั่วเมล็ดแห้ง	13

2.4.1	อนุมูลอิสระ	13
2.4.2	สารต้านออกซิเดชัน	14
2.4.2.1	สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์	14
2.4.2.2	สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ	15
2.4.3	การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน	17
2.4.3.1	กลไกการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอม	17
2.4.3.2	กลไกการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทอิเล็กตรอน	18
2.4.4	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเมล็ดแห้ง	19
บทที่ 3	อุปกรณ์ ขั้นตอน และวิธีดำเนินงานวิจัย	22
3.1	ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย	25
3.1.1	ศึกษาภาวะในการปรงสุกที่เหมาะสมของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	25
3.1.2	ศึกษาผลของการปรงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมี และคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	26
3.1.3	ศึกษาผลของการปรงสุกต่อสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	27
3.1.4	ศึกษาผลของการปรงสุกต่อสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	30
3.1.5	ศึกษาผลของการปรงสุกต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	31
บทที่ 4	ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	34
4.1	ภาวะที่เหมาะสมในการปรงสุกถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	34
4.2	ผลของการปรงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมี และคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	42
4.2.1	องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	42
4.2.2	คุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	45
4.3	ผลของการปรงสุกต่อสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	48

4.3.1 ปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ.....	48
4.3.2 ปริมาณน้ำตาลราฟิโนส และสแตคิโอสของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	51
4.4 ผลของการปรุงสุกต่อสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ.....	53
4.4.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	53
4.4.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ.....	55
4.5 ผลของการปรุงสุกต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	56
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	62
5.1 สรุปผลการทดลอง	62
5.2 ข้อเสนอแนะ	63
บรรณานุกรม.....	64
ภาคผนวก.....	72
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์ทางเคมี.....	73
ภาคผนวก ข ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน.....	93
ประวัติผู้เขียน.....	110

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2. 1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเมล็ดแห้ง	5
ตารางที่ 2. 2 สมบัติของวชิลินและเลกูมิน	6
ตารางที่ 2. 3 ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่วเขียว ถั่วอะซูกิ และถั่วดำ	17
ตารางที่ 3. 1 ขนาดและน้ำหนักของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	25
ตารางที่ 3. 2 อัตราการผสมระหว่าง 100% Acetonitrile และ น้ำ Milli-Q ที่ใช้ในการวิเคราะห์ HPLC	29
ตารางที่ 4. 1 เวลาที่เม็ดแบ่งเกิดเจลาตินไนซ์ และเวลาที่ถั่วสุกพร้อมบริโภค	41
ตารางที่ 4. 2 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียว	43
ตารางที่ 4. 3 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วดำ	43
ตารางที่ 4. 4 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วอะซูกิ	44
ตารางที่ 4. 5 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว	45
ตารางที่ 4. 6 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วดำ	46
ตารางที่ 4. 7 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วอะซูกิ	47
ตารางที่ 4. 8 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	49
ตารางที่ 4. 9 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคีโอสของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	51
ตารางที่ 4. 10 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	53
ตารางที่ 4. 11 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	55
ตารางที่ ข. 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักเปียก	93

ตารางที่ ข. 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักแห้ง.....	93
ตารางที่ ข. 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณถั่ว โดยน้ำหนักแห้ง.....	93
ตารางที่ ข. 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง.....	93
ตารางที่ ข. 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณเยื่อไผ่หยาบ โดยน้ำหนักแห้ง.....	94
ตารางที่ ข. 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักแห้ง.....	94
ตารางที่ ข. 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักเปียก.....	94
ตารางที่ ข. 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักแห้ง.....	94
ตารางที่ ข. 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณถั่ว โดยน้ำหนักแห้ง.....	95
ตารางที่ ข. 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง.....	95
ตารางที่ ข. 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณเยื่อไผ่หยาบ โดยน้ำหนักแห้ง.....	95
ตารางที่ ข. 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักแห้ง.....	95
ตารางที่ ข. 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักเปียก.....	96
ตารางที่ ข. 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักแห้ง.....	96

ตารางที่ ข. 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักแห้ง.....	96
ตารางที่ ข. 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง.....	96
ตารางที่ ข. 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณเยื่อไผ่ โดยน้ำหนักแห้ง.....	97
ตารางที่ ข. 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักแห้ง.....	97
ตารางที่ ข. 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักเปียก.....	97
ตารางที่ ข. 20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักเปียก.....	97
ตารางที่ ข. 21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักเปียก.....	98
ตารางที่ ข. 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณ dietary fiber โดยน้ำหนักเปียก.....	98
ตารางที่ ข. 23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักเปียก.....	98
ตารางที่ ข. 24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อพลังงานทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก.....	98
ตารางที่ ข. 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักเปียก.....	99
ตารางที่ ข. 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักเปียก.....	99
ตารางที่ ข. 27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักเปียก.....	99

ตารางที่ ข. 28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณ dietary fiber โดยน้ำหนักเปียก	99
ตารางที่ ข. 29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักเปียก	100
ตารางที่ ข. 30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อพลังงานทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก	100
ตารางที่ ข. 31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักเปียก	100
ตารางที่ ข. 32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักเปียก	100
ตารางที่ ข. 33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักเปียก	101
ตารางที่ ข. 34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณ dietary fiber โดยน้ำหนักเปียก	101
ตารางที่ ข. 35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักเปียก	101
ตารางที่ ข. 36 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อพลังงานทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก	101
ตารางที่ ข. 37 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักแห้ง	102
ตารางที่ ข. 38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักแห้ง	102
ตารางที่ ข. 39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักแห้ง	102
ตารางที่ ข. 40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักเปียก	102

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2. 1 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของถั่วแบบตัดขวาง	7
รูปที่ 2. 2 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติก	10
รูปที่ 2. 3 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟเตท	10
รูปที่ 2. 4 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคีโอส	11
รูปที่ 2. 5 โครงสร้างทางเคมีของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์	15
รูปที่ 2. 6 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก	16
รูปที่ 4. 1 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแบ่งของถั่วเขียวโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสง ชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x	35
รูปที่ 4. 2 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแบ่งของถั่วดำที่ปรุงสุกด้วยวิธีการต้มโดยกล้อง จุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x	36
รูปที่ 4. 3 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแบ่งของถั่วดำที่ปรุงสุกด้วยวิธีการนึ่งโดยกล้อง จุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x	37
รูปที่ 4. 4 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแบ่งของถั่วดำที่ปรุงสุกด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดัน โดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x	38
รูปที่ 4. 5 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแบ่งของถั่วอะซูกิที่ปรุงสุกด้วยวิธีการต้มโดยกล้อง จุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x	39
รูปที่ 4. 6 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแบ่งของถั่วอะซูกิที่ปรุงสุกด้วยวิธีการนึ่งและการใช้ หม้ออัดแรงดันโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x	40
รูปที่ 4. 7 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	57
รูปที่ 4. 8 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	58

รูปที่ 4. 9	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ	60
รูปที่ ก. 1	กราฟมาตรฐานของสารละลายเพอริกไนเตรทที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติก.....	82
รูปที่ ก. 2	กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลราฟฟิโนส.....	83
รูปที่ ก. 3	กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลสแตคิโอส.....	84
รูปที่ ก. 4	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	86
รูปที่ ก. 5	กราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชินที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์	87
รูปที่ ก. 6	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย FRAP.....	89
รูปที่ ก. 7	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity.....	91
รูปที่ ก. 8	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน EDTA ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย Metal chelating activity	92

บทที่ 1

บทนำ

ถั่วเมล็ดแห้งสกุล *Vigna* จัดอยู่ในตระกูล Leguminosae ตระกูลย่อย Papilionoideae (Fabaceae) กระจายพันธุ์ในเขตร้อน เขตกึ่งร้อน และเขตอบอุ่น ตัวอย่างถั่วในสกุลนี้ เช่น ถั่วเขียว (*Vigna radiata* L. Wilczek) ถั่วดำ (*Vigna mungo* L. Hepper) ถั่วอะซูกิ (*Vigna angularis* (Willd) Ohwi and Ohashi) (Duranti, 2006) ถั่วเมล็ดแห้งสกุล *Vigna* มีคุณค่าทางโภชนาการด้านโปรตีนสูง โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 18 – 24 โดยน้ำหนักแห้ง และมีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน (Nwokolo and Smartt, 1996) นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยแร่ธาตุ วิตามิน และสารพฤกษเคมีที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน ถั่วเมล็ดแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 34 - 1,710 mg gallic acid ต่อถั่ว 100 กรัม โดยน้ำหนักแห้ง (Singh et al., 2017) ปริมาณของสารดังกล่าวมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของถั่วแต่ละสายพันธุ์ ถั่วเมล็ดแห้งมีสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ เช่น สารยับยั้งเอนไซม์ ทริปซิน เลคติน น้ำตาลราฟิโนส น้ำตาลสแตคีโอส กรดไฟติก (Khokhar and Apenten, 2003) สารต้านคุณค่าทางโภชนาการดังกล่าวส่งผลต่อการยับยั้งกระบวนการย่อย และการดูดซึมสารอาหารในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เช่น กรดไฟติกมีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมธาตุเหล็ก สังกะสี แคลเซียม แมกนีเซียม และแมงกานีสในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (Kumar et al., 2010) สารต้านคุณค่าทางโภชนาการถูกกำจัดหรือทำให้ลดลงได้เมื่อเมล็ดถั่วผ่านการปรุงอาหาร

กระบวนการแปรรูปถั่วเมล็ดแห้งมีหลายวิธี ซึ่งวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด คือ การแปรรูปโดยใช้ความร้อนชื้น ได้แก่ การต้ม นึ่ง การปรุงสุกโดยใช้แรงดัน (pressure cooking) เป็นต้น กระบวนการให้ความร้อนจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเมล็ดถั่ว การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการ (Alajaji and El-Adawy, 2006) กระบวนการให้ความร้อนสามารถกำจัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน และเลคตินออกจากถั่วได้อย่างสมบูรณ์ และทำให้กรดไฟติกมีปริมาณลดลง (Omoikhoje et al., 2009) นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงให้โปรตีนในถั่วย่อยง่ายขึ้น เนื่องจากโปรตีนเกิดการเสียสภาพจากความร้อน อย่างไรก็ตามการแปรรูปโดยใช้ความร้อน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงผ่านสองกลไกคือ เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อน และการรวมตัวของสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นในพืช จึงส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Julkunen-Tiitto, 1985)

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการปรุงสุกถั่วสามวิธี ได้แก่ วิธีการต้ม การนึ่ง และการปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดันเพื่อหาวิธีที่สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการ และสมบัติการต้านออกซิเดชันของถั่ว และสามารถลดปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วให้อยู่ในระดับต่ำ



บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ถั่วเมล็ดแห้ง

ถั่วเมล็ดแห้งที่นำมาใช้บริโภคเป็นอาหารได้มาจากพืชในตระกูล Leguminosae และอยู่ในตระกูลย่อย Papilionoideae (Fabaceae) พืชสกุลนี้ปัจจุบันพบประมาณ 700 สกุล 18,000 สปีชีส์ (France and Martina, 2006) ถั่วเมล็ดแห้งสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ (1) ชนิดที่มีโปรตีนและไขมันสูง ถั่วชนิดนี้สะสมพลังงานในรูปของไขมัน จัดเป็นพืชน้ำมัน (oil seed) ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เป็นต้น (2) ชนิดโปรตีนสูงและไขมันต่ำ ซึ่งสะสมพลังงานในรูปคาร์โบไฮเดรต เมื่อเมล็ดแก่จัดจะมีแป้งสูง ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วอะซูกิ เป็นต้น (ไชยา เฟื่องอุ่น, 2539) ในงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ถั่วดำ (*Vigna mungo*) และถั่วอะซูกิ (*Vigna angularis*)

2.1.1 ข้อมูลเบื้องต้นของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ถั่วเขียว ในอดีตถั่วเขียวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Phaseolus aureus* Roxb. ต่อมาได้มีการจัดกลุ่มใหม่โดย Wilczek R. และ Hepper ที่ทำการศึกษาสายพันธุ์ของถั่วเขียว และพบว่าถั่วเขียวมีพัฒนาการมาจากถั่วสายพันธุ์ป่าที่พบในประเทศอินเดีย (Rachie and Roberts, 1974) ซึ่งการค้นพบครั้งนี้ทำให้ถั่วเขียวมีชื่อวิทยาศาสตร์ใหม่ว่า *Vigna radiata* L. Wilczek มีชื่อสามัญคือ mung bean, green gram และในบางประเทศมีการใช้ชื่อ golden gram ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกชนิดใบเลี้ยงคู่ประเภทหนึ่ง ซึ่งเจริญได้ดีในดินแทบทุกชนิด โดยเฉพาะดินร่วนที่มีสภาพเป็นกลาง ถั่วเขียวที่นิยมปลูกในประเทศไทย คือ ถั่วเขียวผิวมัน และถั่วเขียวสีทอง เมล็ดถั่วเขียวมีรูปร่างกลม ขนาดเมล็ดค่อนข้างเล็ก มีขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร โดยเมล็ดถั่วเขียว 100 เมล็ด จะมีน้ำหนักประมาณ 1.5-4 กรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547)

ถั่วดำ ในอดีตถั่วดำมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Phaseolus mungo* L. ต่อมาได้มีการจัดกลุ่มใหม่โดย Wilczek R. และ Hepper ที่ทำการศึกษาสายพันธุ์ของถั่วดำ และพบว่าถั่วดำมีพัฒนาการมาจากถั่วสายพันธุ์ป่าที่พบในประเทศอินเดีย (Rachie and Roberts, 1974) ซึ่งการค้นพบครั้งนี้ทำให้ถั่วดำมีชื่อวิทยาศาสตร์ใหม่ว่า *Vigna mungo* L. Hepper มีชื่อสามัญคือ black bean, black gram ถั่วดำเป็นพืชล้มลุก ลำต้นตั้งตรงเป็นพุ่ม บางสายพันธุ์มีลำต้นแบบกึ่งเลื้อย ปัจจุบันใน

ประเทศไทยได้มีการกระจายการปลูกถั่วดำไปยังจังหวัดสุโขทัย พิษณุโลก กำแพงเพชร พิจิตร อุตรดิตถ์ นครสวรรค์ และลพบุรี เมล็ดถั่วดำมีลักษณะค่อนข้างเป็นทรงกระบอก มีขนาดประมาณ 10 มิลลิเมตร โดยเมล็ดถั่วดำ 100 เมล็ดจะหนักประมาณ 10-15 กรัม (นันทวรรณ สโรบล, 2547)

ถั่วอะซูกิ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna angularis* (Willd) Ohwi and Ohashi ชื่อสามัญคือ adzuki bean, azuki bean, small red bean, small bean และ atsuki เป็นพืชตระกูลถั่วที่อยู่ในสกุลเดียวกับถั่วเขียวผิวมัน และถั่วเขียวแดง นิยมปลูกในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และไต้หวัน (Motomiya and Ito, 1973) ถั่วอะซูกิพันธุ์เดิมคือ Erimo ซึ่งเป็นพันธุ์ดีที่นำมาเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่นเมื่อปี พ.ศ. 2539 โดยมูลนิธิโครงการหลวงเพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรบนที่สูงปลูกเพื่อการค้า และต่อมาได้รับการวิจัยและพัฒนาพันธุ์จากมูลนิธิโครงการหลวงในปีพ.ศ. 2541 – 2547 เป็นถั่วอะซูกิสายพันธุ์ใหม่คือ ถั่วอะซูกิพันธุ์ปางดะ ถั่วอะซูกิมีลักษณะค่อนข้างเป็นทรงรี มีขนาดประมาณ 5 มิลลิเมตร โดยทั่วไปเมล็ดถั่วอะซูกิ 100 เมล็ดจะมีน้ำหนักประมาณ 4-8 กรัม (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร, 2555)

2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

เมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิมีลักษณะโครงสร้างที่ประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกนอก (hull) ใบเลี้ยง (cotyledon) และต้นอ่อน (hypocotyl) ใบเลี้ยงเป็นส่วนที่มีมากที่สุด ในเมล็ดถั่ว คิดเป็นร้อยละ 90 ของเมล็ดถั่ว ซึ่งเป็นส่วนที่มีการสะสมของสารอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ แสดงดังตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วจะแตกต่างกันไป โดยจะผันแปรตามปัจจัยต่าง ๆ เช่น สายพันธุ์ สภาพแวดล้อม ฤดูกาล และสภาพภูมิประเทศ

ตารางที่ 2. 1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเมล็ดแห้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์	โปรตีน (% w/w, db.)	ไขมัน (% w/w, db.)	ถั่ว (% w/w, db.)	ใยอาหาร (% w/w, db.)	คาร์โบไฮเดรต (% w/w, db.)
<i>Vigna radiata</i>	22.9	1.2	3.5	4.4	61.8
<i>Vigna mungo</i>	22-24	1-2	3.2	0.9	56-60
<i>Vigna angularis</i>	19.9	0.6	4.3	7.8	64.4

ที่มา: Duke (2012)

2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้ง

2.2.1 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตจัดเป็นสารอาหารหลักที่ให้พลังงานที่มีอยู่ในถั่วเมล็ดแห้ง โดยมีปริมาณร้อยละ 60 - 70 โดยน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของถั่ว คาร์โบไฮเดรตในถั่วเมล็ดแห้งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสตาร์ช โดยจะรวมตัวกันเป็นกลุ่ม เรียกว่า เม็ดแป้ง หรือ สตาร์ชแกรนูล มีขนาด 25 - 40 ไมครอน และกระจายตัวอยู่บริเวณใบเลี้ยงของเมล็ดถั่ว ขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของถั่ว (McEwen et al., 1974)

สตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) โมเลกุลประกอบด้วย โมโนแซ็กคาไรด์เพียงชนิดเดียวคือ กลูโคส สตาร์ชประกอบด้วยพอลิเมอร์ หลักสองชนิดคืออะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกทิน (amylopectin) โครงสร้างพื้นฐานของเม็ดแป้งเมื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ (polarized light microscope) จะแสดงสมบัติของการบิตระนาบแสงโพลาไรซ์ (birefringence) ทำให้มองเห็นเม็ดแป้งในลักษณะที่เป็นรูปกากบาท (maltese cross) อย่างชัดเจน ซึ่งเกิดจากลักษณะโครงสร้างที่เป็นระเบียบในรูปผลึกของเม็ดแป้ง (Kerr, 1950)

เมื่อนำถั่วไปผ่านการปรุงสุก ความร้อนจะทำลายพันธะไฮโดรเจนภายในเม็ดแป้งที่เรียงตัวกันอย่างหนาแน่นในรูปผลึกให้คลายตัวลง ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำเข้าจับกับหมู่ไฮดรอกซิลของอะไมโลส และอะไมโลเพกทิน โดยน้ำจะสามารถเข้าไปแทรกในส่วนออสัณฐานของเม็ดแป้งได้ก่อน ส่วนผลึกของเม็ดแป้ง ทำให้เม็ดแป้งเกิดการดูดน้ำ และพองตัวแบบผันกลับได้ (Kaletunc and

Breslauer, 2003) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นน้ำจะเข้าไปในส่วนผลึกของเม็ดแป้งจากการที่แรงยึดเหนี่ยวระหว่างสายโมเลกุลอ่อนตัวลง เม็ดแป้งดูดน้ำแล้วพองตัวมากขึ้น ทำให้เกิดการพองตัวแบบผันกลับไม่ได้ สายของอะมิโลสส่วนใหญ่ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก จะแพร่ออกมานอกเม็ดแป้งที่พองตัว ทำให้เกือบทั้งหมดภายในเม็ดแป้งจะเหลือโครงสร้างของอะมิโลเพกตินเป็นส่วนใหญ่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงจนถึงจุดที่เม็ดแป้งเกิดการพองตัวสูงสุด เม็ดแป้งก็จะเกิดการแตกออก ทำให้แป้งสุก โดยเรียกกระบวนการนี้ว่า เจลาติไนซ์เซชัน (Whistler and James, 1997)

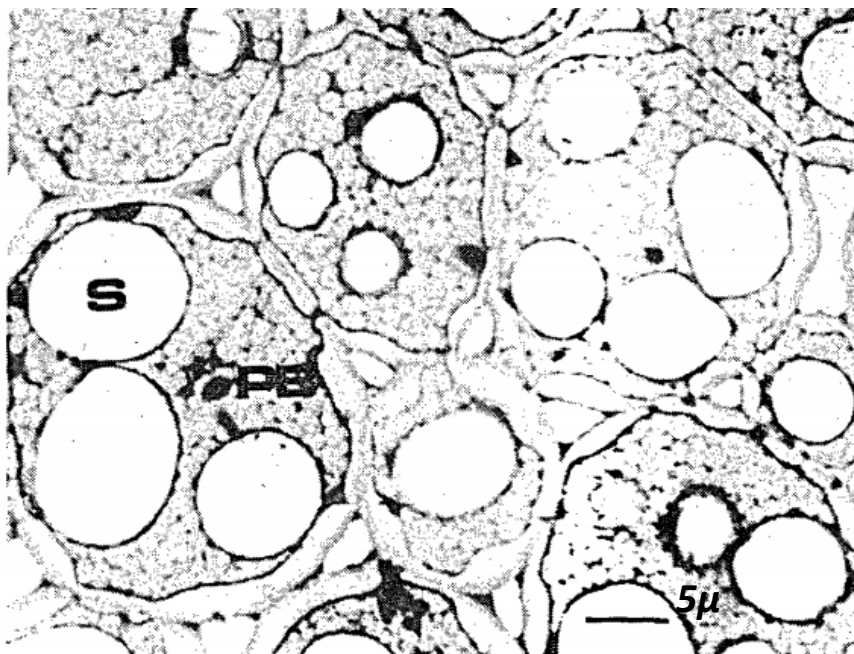
2.2.2 โปรตีน

ถั่วเมล็ดแห้งเป็นแหล่งของโปรตีนจากพืช และมีคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนสูง มีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 18 – 24 โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน (Nwokolo and Smartt, 1996) โปรตีนในถั่วเมล็ดแห้งถูกเก็บสะสมในระหว่างการเจริญของเมล็ด โดยกระจายตัวอยู่บริเวณใบเลี้ยง โปรตีนในถั่วเมล็ดแห้งรวมกันอยู่ในรูปของโปรตีนบอดี (protein bodies) ที่มีขนาด 1 – 5 ไมครอน แทรกตัวอยู่กับสตาร์ชแกรนูล (starch granules) แสดงดังรูปที่ 2.1 (Sathe et al., 1984) ปริมาณโปรตีนในโปรตีนบอดีมีประมาณร้อยละ 80±10 โปรตีนที่พบมีทั้งโปรตีนกลุ่มอัลบูมิน โกลบูลิน และกลูเทลิน แต่โปรตีนส่วนใหญ่ในโปรตีนบอดีเป็นโปรตีนในกลุ่มโกลบูลิน ซึ่งแบ่งออกเป็น เลกูมิน (legumin) หรือ 11S และ วิซิลิน (vicilin) หรือ 7S ลักษณะของโปรตีนทั้ง 2 กลุ่ม แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2. 2 สมบัติของวิซิลินและเลกูมิน

สมบัติ	วิซิลิน (7S)	เลกูมิน (11S)
ขนาดโปรตีน	200±50 kDa	300 – 400 kDa
การละลายในสารละลายเกลือ	ละลายได้มากกว่า	ละลายได้น้อย
อุณหภูมิที่ทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อน	ที่อุณหภูมิต่ำกว่า	ที่อุณหภูมิสูงกว่า
	มีเสถียรภาพต่ำกว่า	มีเสถียรภาพดีกว่า
ปริมาณไนโตรเจน และซัลเฟอร์	ต่ำกว่า	สูงกว่า

ที่มา: Pernollet and Mossé (1983)



รูปที่ 2. 1 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของถั่วแบบตัดขวาง โดย PB คือ โปรตีนบอดี และ S คือ สตาร์ชแกรนูล

ที่มา: Sathe et al. (1984)

จากการศึกษาของ Mubarak (2005) พบว่าการปรุงสุกถั่วเขียวด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง การลดลงของปริมาณโปรตีนหยาบเป็นผลมาจากเมื่อถั่วสุก สตาร์ชแกรนูลเกิดการดูดน้ำแล้วพองตัวจนแตกออก ทำให้โปรตีนที่เกาะอยู่กับสตาร์ชแกรนูลหลุดออกมา โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ และโปรตีนบางส่วนหลุดออกจากเซลล์ของเมล็ดถั่วออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก และการเสียสภาพของโปรตีนนี้ยังส่งผลให้ความสามารถในการย่อยโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นด้วย

Alajaji and El-Adawy (2006) พบว่าการต้มถั่วลูกไก่ด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที ทำให้ปริมาณโปรตีนหยาบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยัง

ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลลดลงด้วย เนื่องจากเมื่อถั่วสุก สตาร์ชแกรนูลเกิดการดูดน้ำแล้วฟองตัวจนแตกออก ทำให้โปรตีน และแร่ธาตุที่เกาะอยู่กับสตาร์ชแกรนูลหลุดออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก

Marconi et al. (2000) พบว่าการต้มถั่วลูกไก่ในน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 55 นาที ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากเมื่อถั่วสุก สตาร์ชแกรนูลเกิดการดูดน้ำแล้วฟองตัวจนแตกออก ทำให้โปรตีนที่เกาะอยู่กับสตาร์ชแกรนูลหลุดออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก

2.3 สารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้ง

สารต้านคุณค่าทางโภชนาการเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ หากร่างกายได้รับเข้าไปก็สามารถก่อให้เกิดโทษต่อร่างกายได้ โดยสารต้านคุณค่าทางโภชนาการมีสมบัติไปทำลายหรือขัดขวางการดูดซึมและการนำไปใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร เช่น วิตามิน และแร่ธาตุบางชนิด สารต้านคุณค่าทางโภชนาการบางตัวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต้องใช้ในการย่อยอาหารที่รับประทานเข้าไป ดังนั้นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการคือ สารที่คอยขัดขวางการนำสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้ประโยชน์ภายในร่างกาย ซึ่งสารพวกนี้พบมากในถั่วเมล็ดแห้ง สารกลุ่มนี้ได้แก่ เลคติน สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน กรดไฟติก และ α -galactosides เป็นต้น (Khokhar and Apenten, 2003)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.1 เลคติน CHULALONGKORN UNIVERSITY

เลคติน (Lectin) เป็นโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 60,000 ถึง 100,000 ดาลตัน เลคตินส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไกลโคโปรตีน เนื่องจากโมเลกุลของเลคตินมีบริเวณจำเพาะที่เกิดพันธะโควาเลนต์กับน้ำตาล (sugar moieties) ได้ (Makkar et al., 2007) เลคตินถูกพบครั้งแรกในพืชโดย Herman Stillmark ขณะที่เรียนปริญญาเอกที่ University of Dorpat ในสาธารณรัฐเอสโตเนีย ซึ่งได้ศึกษาสารพิษจากเมล็ดกะหล่ำ (Ricinus communis) เรียกว่า ไฟโตฮีมาแอกกลูตินิน (phytohemagglutinin) คือการที่เซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดการเกาะกลุ่มแล้วรวมตัวกันเป็นก้อน (red blood cell agglutination) (Liener, 2012)

ถั่วเมล็ดแห้งมีปริมาณเลคตินร้อยละ 10-20 โดยน้ำหนักแห้ง (Pusztai et al., 1979) เลคตินในถั่วเมล็ดแห้งอยู่ในรูปของโปรตีนสะสม พบมากที่สุดประมาณร้อยละ 90 ในส่วนของ

ใบเลี้ยง (cotyledon) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อสำหรับเก็บอาหารของเมล็ด นอกจากนี้ยังพบเลคตินในส่วนของ เอ็มบริโอ (embryo) และเปลือกหุ้มเมล็ด แต่จะพบเลคตินในปริมาณที่น้อยในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด (Pueppke et al., 1978)

เลคตินเป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่สามารถกำจัดออกไปได้ง่าย เนื่องจากเป็น โปรตีน เมื่อถูกความร้อนจึงทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ หน้าที่ของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เลคตินที่อยู่ในตัวจึงไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงจับตัวกัน เป็นก้อนได้อีก (Khattab and Arntifield, 2009)

2.3.2 สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน

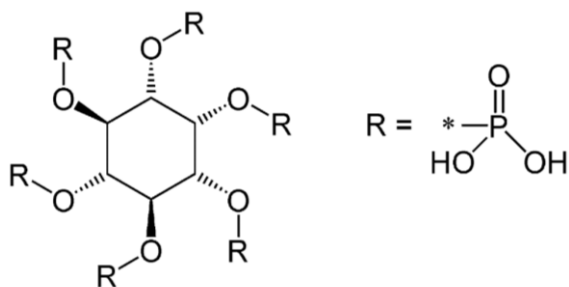
สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin Inhibitor) เป็นโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 18 - 24 กิโลดาลตัน สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินมีความจำเพาะกับเอนไซม์ทริปซิน ทำหน้าที่ยับยั้ง เอนไซม์โปรตีเอส โดยจับกับเอนไซม์ทริปซินที่ตำแหน่ง active site อย่างถาวรด้วยพันธะโควาเลนต์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้เอนไซม์ทริปซินไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยโปรตีนได้อีก ส่งผล ให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหารไปใช้ในมนุษย์และสัตว์ลดลง เมื่อได้รับความร้อนสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำให้ รูปร่างและหน้าที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับ เอนไซม์ทริปซินอีกต่อไป (El-Adawy, 2002)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.3.3 กรดไฟติก

กรดไฟติก หรือ ไฟเตท มีชื่อทางเคมีว่า myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexaphosphate (Inp6) โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติก แสดงดังรูปที่ 2.2 กรดไฟติกในถั่วเมล็ดแห้งจะมีประมาณร้อยละ 70 ของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในเมล็ด (Raboy and Dickinson, 1993) กรดไฟติกเป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการดูดซึมแร่ธาตุ เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และแมงกานีส ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เนื่องจากกรดไฟติก จะจับกับแร่ธาตุด้วยพันธะโควาเลนต์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เรียกว่าไฟเตต แสดงดังรูปที่ 2.3 ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ไฟเตสจึงไม่สามารถย่อยไฟเตตให้กลับมาเป็น

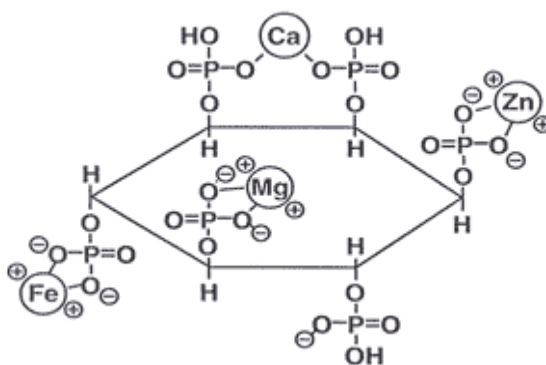
กรดไฟติกกับแร่ธาตุอิสระได้ จึงไม่สามารถดูดซึมแร่ธาตุอิสระนี้เข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ ปริมาณกรดไฟติกที่สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัยคือไม่เกิน 1,400 มิลลิกรัมต่อวัน (Makkar et al., 2007)



รูปที่ 2. 2 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติก

ที่มา: Kumar et al. (2010)

กรดไฟติกไม่สามารถถูกกำจัดออกไปจากตัวได้อย่างสมบูรณ์ด้วยกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน แต่สามารถลดปริมาณของกรดไฟติกลงได้ เนื่องจากความร้อนขึ้นจะทำให้กรดไฟติกเกิดปรากฏการณ์ dephosphorylation คือการสลายพันธะระหว่างหมู่ฟอสเฟตกับวงแหวน inositol ของกรดไฟติก (Kumar et al., 2010)

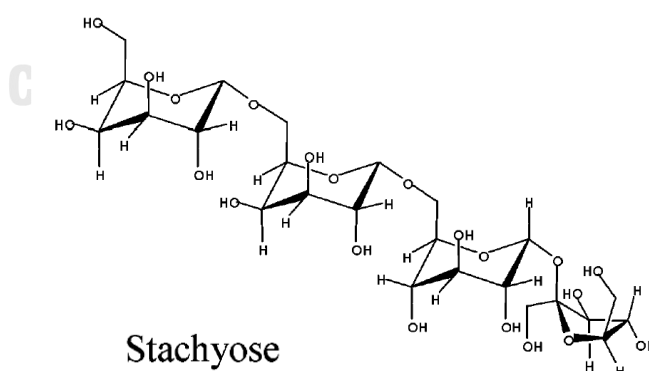
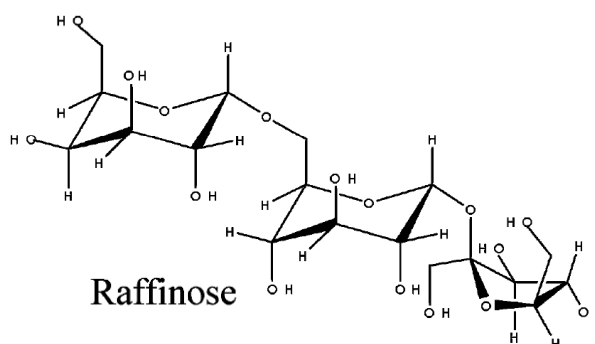


รูปที่ 2. 3 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟเตท

ที่มา: Kumar et al. (2010)

2.3.4 α -galactosides

α -galactosides เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำตาลโมเลกุลต่ำ มีความสามารถในการละลายน้ำ และสารละลายแอลกอฮอล์ได้ คาร์โบไฮเดรตในกลุ่มนี้ เช่น น้ำตาลราฟิโนส น้ำตาลสแตคิโอส โครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 2.4 (Martinez et al., 2008) น้ำตาลราฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสจัดเป็น dietary fiber ซึ่งเป็นพรีไบโอติกให้แก่จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหารของมนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามถ้าบริโภคน้ำตาลราฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสเข้าไปในร่างกายเกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อวันจะถูกจัดเป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากเมื่อร่างกายได้รับน้ำตาลราฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสเข้าไปในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ในระบบทางเดินอาหารของร่างกายมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ในการย่อยน้ำตาลชนิดนี้ ทำให้น้ำตาลชนิดนี้ถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ แล้วเกิดแก๊สในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (Martinez et al., 2008)



รูปที่ 2. 4 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลราฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอส

ที่มา: Martinez et al. (2008)

2.3.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้ง

จากการศึกษาของ Mubarak (2005) พบว่าการปรุงสุกถั่วเขียวด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที สามารถกำจัดเลคติน หรือ ฮีแมกกลูเตนิน และสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินออกไปได้อย่างสมบูรณ์ และทำให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้วิธีการใช้หม้อนึ่งอัตโนมัติยังส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงมากกว่าวิธีการต้ม ซึ่งเป็นผลมาจากความดันที่ใช้ในการปรุงอาหารมีส่วนช่วยในการเร่งให้กรดไฟติกหลุดออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก และเร่งการการเกิดปรากฏการณ์ dephosphorylation ของกรดไฟติกด้วย สอดคล้องกับ Kumar et al. (2010) ที่รายงานว่าความร้อนระดับการปรุงสุก เช่น การต้ม การใช้หม้ออัดแรงดัน ไม่สามารถกำจัดกรดไฟติกออกจากถั่วได้อย่างสมบูรณ์ แต่สามารถลดปริมาณของกรดไฟติกได้ เนื่องจากความร้อนขึ้นจะทำให้กรดไฟติกเกิดปรากฏการณ์ dephosphorylation คือการสลายพันธะระหว่างหมู่ฟอสเฟตกับวงแหวน inositol ของกรดไฟติก และกรดไฟติกบางส่วนที่หลุดออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุกด้วย

Omoikhoje et al (2009) พบว่าถั่วหรั่งที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้มเป็นเวลา 60 นาทีขึ้นไปสามารถกำจัดเลคติน และสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินออกไปอย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงร้อยละ 38.42 เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Khattab and Arntifield (2009) พบว่าการต้มถั่วแดง (*Phaseolus vulgaris*) ด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 45 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัตโนมัติ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 20 นาที สามารถกำจัดเลคติน หรือ ฮีแมกกลูเตนิน และสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินออกไปได้อย่างสมบูรณ์ เลคติน และสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินเป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่สามารถกำจัดออกไปได้ง่าย เนื่องจากเป็นโปรตีน เมื่อถูกความร้อนจึงทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้รูปร่างและหน้าที่ของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เลคตินที่อยู่ในถั่วจึงไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงจับตัวกันเป็นก้อนได้อีก ในขณะที่สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับเอนไซม์ทริปซินอีกต่อไป นอกจากนี้ยังส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลราฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากความร้อนส่งผลให้ผนังเซลล์ของเมล็ดถั่วถูกทำลาย น้ำตาลเหล่านี้จึงละลายออกมากับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก อย่างไรก็ตามวิธีการใช้หม้อนึ่งอัตโนมัติทำให้ปริมาณน้ำตาล

ราฟฟิโนส และสแตคซีโอสลดลงมากกว่าวิธีการต้ม การใช้ความดันในการปรุงสุกถั่ว ความดันและอุณหภูมิที่สูงมีผลต่อการเร่งให้ผนังเซลล์ของเมล็ดถั่วถูกทำลาย น้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคซีโอสจึงละลายออกมากับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุกมากขึ้นด้วย

El-Adawy (2002) พบว่าการต้มถั่วลูกไก่ด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที สามารถกำจัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินออกไปได้อย่างสมบูรณ์ สารยับยั้งเอนไซม์ ทริปซินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง สามารถกำจัดออกไปได้ง่าย เนื่องจากเมื่อได้รับความร้อนโปรตีนจะเกิดการเสียสภาพ ทำให้รูปร่างและหน้าที่ของโปรตีนเปลี่ยนไป ส่งผลให้สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับเอนไซม์ทริปซินอีกต่อไป

Alajaji and El-Adawy (2006) พบว่าการต้มถั่วลูกไก่ด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที สามารถกำจัดเลคติน หรือ ฮีแมกกลูเตนิน และสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินออกไปได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ส่งผลให้ปริมาณกรดฟอสฟอริกตกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Aguilera et al. (2009) พบว่าการปรุงสุกถั่วลูกไก่ที่ผ่านการ pre-treatment ด้วยการแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้น้ำตาลในเมล็ดถั่ว เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคซีโอส ลดลงร้อยละ 59 เมื่อเทียบกับถั่วดิบ เนื่องจากน้ำตาลที่กล่าวมาข้างต้นนี้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ การ pre-treatment ด้วยการแช่น้ำ จะทำให้น้ำที่แช่ถั่วเข้าไปทำละลายกับน้ำตาลในเมล็ดถั่ว เมื่อปรุงสุกถั่วผนังเซลล์ของเมล็ดถั่วถูกทำลาย น้ำตาลเหล่านี้จึงละลายออกมากับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก สอดคล้องกับ Frias et al. (2000) ที่รายงานว่าการต้มด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:6 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที ของถั่วลูกไก่ที่ผ่านการ pre-treatment ด้วยการแช่น้ำ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคซีโอสลดลงมากกว่า ถั่วลูกไก่ที่ไม่ได้ผ่านการ pre-treatment ด้วยการแช่น้ำ

2.4 สมบัติการต้านออกซิเดชันของถั่วเมล็ดแห้ง

2.4.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่เป็นองค์ประกอบ ทำให้อะตอม โมเลกุล หรือไอออนนั้นขาดอิเล็กตรอนไปหนึ่งตัว ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงเป็นอนุภาคที่ไม่

เสถียร และมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากอนุมูลอิสระสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลปกติโดยการดึงอิเล็กตรอนออกมา ทำให้โมเลกุลปกติขาดอิเล็กตรอนไปหนึ่งตัว และเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระแทน ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาการดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่น และเกิดการดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงอย่างต่อเนื่อง (วัชรีย์ หาญยิ่ง, 2549)

2.4.2 สารต้านออกซิเดชัน

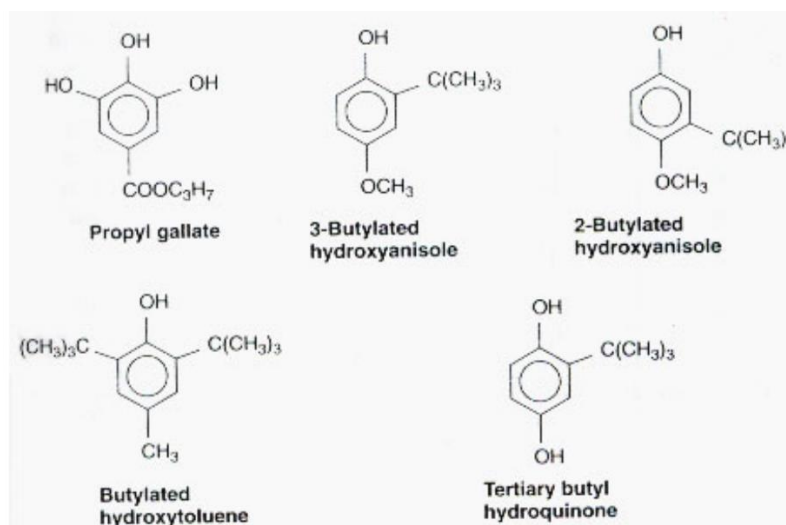
สารต้านออกซิเดชัน คือ สารที่สามารถชะลอ ยับยั้ง หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กลไกการต้านออกซิเดชันด้วยกันหลายแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง การยับยั้งปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่แตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน อุณหภูมิ ชนิดของสารตั้งต้น รวมถึงชนิด และโครงสร้างของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติในร่างกายมนุษย์มีหลายชนิด ได้แก่ สารต้านออกซิเดชันที่เป็นเอนไซม์ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส กลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส แคแทเลส และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และสารต้านออกซิเดชันที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น วิตามินซี วิตามินเอ คาโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ กลูตาไทโอน และกรดไลโปอิก (วัชรีย์ หาญยิ่ง, 2549)

สารต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 แหล่ง ได้แก่

2.4.2.1 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

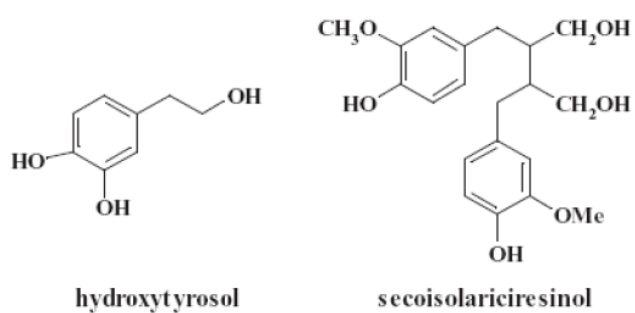
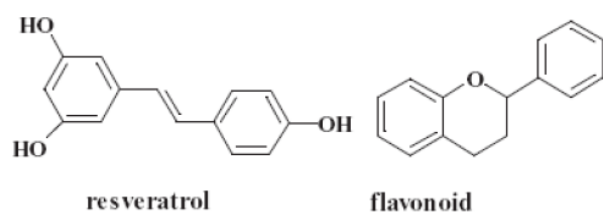
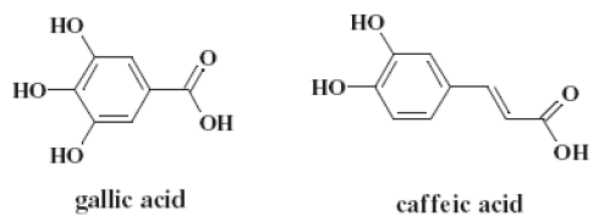
สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ propyl gallate, 3-butylated hydroxyanisole, 2-butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, tertiary butylhydroquinone เป็นต้น (รูปที่ 2.5) สารสังเคราะห์เหล่านี้นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Yang et al., 2002)



รูปที่ 2. 5 โครงสร้างทางเคมีของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์
ที่มา: Howell and Saeed (1999)

2.4.2.2 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟีนอลิก พบมากในถั่ว เมล็ดแห้ง สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิซึ่งเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ของพืชระหว่างการพัฒนาเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกอย่างน้อยหนึ่งวงแหวน และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิล จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีได้หลากหลายอนุพันธ์ เช่น กรดแกลลิก กรดคาเฟอิก และฟลาโวนอยด์ (รูปที่ 2.6) สารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดถั่วเขียว ถั่วอะชูกิ และถั่วดำมีปริมาณและชนิดที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2.3 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกเกิดจากหมู่ฟังก์ชันที่เกาะอยู่บนวงแหวนอะโรมาติกซึ่งมีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลในปฏิกิริยาที่มี Fe²⁺ และ Cu²⁺ เป็นตัวเหนี่ยวนำได้ด้วยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าว ซึ่งประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับตำแหน่ง และจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะอยู่กับโครงสร้างหลัก (Xiao and Kai, 2012)



รูปที่ 2. 6 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: Xiao and Kai (2012)

ตารางที่ 2. 3 ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่วเขียว ถั่วอะซูกิ และถั่วดำ

Phenolic compound*	Mung beans ¹	Azuki beans ¹	Black beans ²
Gallic acid	0.093±0.013	0.111±0.006	0.089±0.007
Catechin	nd	0.084±0.010	nd
4-HBA	0.041±0.001	0.008±0.000	0.019±0.003
Vanillic acid	0.002±0.000	nd	0.058±0.016
Epicatechin	nd	nd	nd
p-coumaric acid	0.018±0.005	0.041±0.005	0.004±0.002
Sinapic acid	0.005±0.000	0.045±0.001	0.013±0.003
Ferulic acid	nd	nd	nd
Vitexin	0.138±0.014	0.015±0.006	0.058±0.005
Rutin	nd	0.066±0.008	nd
Trans-cinnamic acid	0.007±0.000	0.006±0.001	0.009±0.001
Quercetin	0.008±0.000	0.005±0.000	0.006±0.000
Naringin	nd	nd	nd
Genistein	0.016±0.001	0.004±0.000	0.005±0.000

nd, not detected

*Individual phenolic content express as mg/g sample.

ที่มา: ¹Sangsukiam and Duangmal (2017) and ²Xu and Chang (2008)

2.4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีนั้นมีกลไกวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของตัวอย่างที่แตกต่างกัน วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ได้รับความนิยมแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

2.4.3.1 กลไกการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอม

กลไกการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอม (Hydrogen Transfer, HAT) ปฏิกริยาเป็นแบบ Competitive reaction คือ มีการแย่งกันระหว่างสารต้านออกซิเดชันกับสารตั้งต้น (substrate) ในการเข้าจับกับอนุมูลอิสระ โดยลักษณะของปฏิกริยา

การถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอมจะไม่ขึ้นกับชนิดของตัวทำละลาย หรือค่าความเป็นกรดเบส ปฏิกริยาส่วนใหญ่เกิดขึ้นค่อนข้างเร็ว และมีกฎกรบวณได้โดยการปนเปื้อนของสารรีดิวซ์รวมทั้งโลหะหนักต่าง ๆ ที่อาจทำให้การวัดความไวของปฏิกริยาเกิดความผิดพลาดได้ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่อาศัยหลักการนี้ ได้แก่ (1) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอมให้กับอนุมูลอิสระ โดยวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลที่จะเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันเมื่ออนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลเข้าทำปฏิกริยากับสารฟลูออเรสเซิน วิธีนี้มีข้อจำกัดหลายประการ คือ มีความแปรปรวนสูง และอาจเกิดปฏิกริยากับแสงได้ (2) 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการกำจัด (scavenge) สารที่มีสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH•) เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ชนิด Organic nitrogen radical ที่มีความคงตัว และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH เกิดปฏิกริยารีดักชัน หรือได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันจะทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีสีม่วงเข้มจางลงจนเป็นสีเหลือง ทำให้สามารถติดตามความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันจากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และแสดงผลในรูปร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH หรือเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน เช่น Trolox โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีข้อดี คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว แต่มีข้อจำกัด คือ อนุมูลอิสระ DPPH ค่อนข้างเสถียรไม่ว่าต่อปฏิกริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง ปฏิกริยาจึงเกิดได้ช้าทำให้ค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง นอกจากนี้สารปนเปื้อนหรือโลหะสามารถรีดิวซ์อนุมูลอิสระ DPPH แล้วทำให้มีสีจางลงได้เช่นกัน (Chuah et al., 2008)

2.4.3.2 กลไกการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทอิเล็กตรอน

กลไกการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทอิเล็กตรอน (electron transfer, ET หรือ Single Electron Transfer, SET) เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ได้รับค่านิยม โดยวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการให้อิเล็กตรอน (reduction reaction) กับสารออกซิแดนซ์ภายใต้การยอมรับว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารหนึ่งมีค่าเท่ากับความสามารถของสารนั้น ๆ ในการถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารอื่น โดยสารออกซิแดนซ์สามารถดึงอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะภาพรีดอกซ์ของสารออกซิแดนซ์เอง การ

เปลี่ยนแปลงสถานะภาพรีดอกซ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีระหว่างรูปแบบรีดิวซ์ และรูปแบบออกซิไดซ์ ซึ่งระดับของสีที่เปลี่ยนไปขึ้นกับปริมาณของสารต้านออกซิเดชันที่มีอยู่ในปฏิกิริยา ความว่องไวของปฏิกิริยาการถ่ายเทอิเล็กตรอนขึ้นอยู่กับกลไกการปลดปล่อยโปรตรอน (deprotonation) และ Ionization potential (IP) ดังนั้นปฏิกิริยาการถ่ายเทอิเล็กตรอนจึงขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ต่าง โดยพบว่าเมื่อค่าความเป็นกรด-ต่างเพิ่มขึ้นค่า IP จะลดลง และความสามารถการถ่ายเทอิเล็กตรอน (electron donating capacity) จะเพิ่มขึ้นด้วย

ปฏิกิริยาการถ่ายเทอิเล็กตรอนเกิดขึ้นช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาการถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอม สำหรับการคำนวณความสามารถในการต้านออกซิเดชันมักใช้วิธีคำนวณการลดลงของสารในปฏิกิริยาแทนการคำนวณในรูปแบบจลนศาสตร์ ตัวบ่งชี้ที่อาจส่งผลต่อผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยกลไกนี้ เช่น โลหะหนัก ทำให้ผลการศึกษาที่มีความแปรปรวนสูง นอกจากนี้ปฏิกิริยายังค่อนข้างไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพรีดอกซ์โดยเฉพาะเมื่อมีกรดแอสคอร์บิกหรือกรดยูริกร่วมในปฏิกิริยา การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่อาศัยหลักการนี้ เช่น Ferric reducing antioxidant power (FRAP) เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยอาศัยหลักการถ่ายเทอิเล็กตรอน โดยสารต้านออกซิเดชันที่มีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) สามารถรีดิวซ์สารประกอบ Fe(III)-2,4,6-tripyridyls-triazine(TPTZ) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่มีสีให้กลายเป็นสารประกอบ Fe(II)-TPTZ ที่มีสีน้ำเงิน สารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองรูปแบบมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรแตกต่างกัน (Benzie and Strain, 1996) ดังนั้นสามารถใช้ปริมาณ Fe(II)-TPTZ ที่เกิดขึ้นในการประมาณความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการถ่ายเทอิเล็กตรอนให้แก่สารออกซิแดนซ์ได้ในรูปของ FRAP value

2.4.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเมล็ดแห้ง

Benavente-Garcia et al. (1997) พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์จากผลไม้ตระกูลส้ม (citrus flavonoids) จะมีประสิทธิภาพมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของ ฟลาโวนอยด์ เช่น การมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งออร์โท และตำแหน่งพาราบนวงแหวนเบนซีน ทำให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์มากกว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ Trolox ถึง 4 เท่า

Turkmen et al. (2005) พบว่าการต้มถั่วเขียวในน้ำประปาเป็นเวลา 5 นาที และการนึ่งเป็นเวลา 8 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 60 และ 50

ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนการสลายตัวในระหว่างการต้ม และการนึ่ง สอดคล้องกับ Julkunen-Tiitto (1985) ที่รายงานว่าการแปรรูป Willows leaves โดยการใช้ความร้อนทำให้เกิดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิก โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงผ่านสองกลไกคือ เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อน และการรวมตัวของสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นในพืช จึงส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

Xu and Chang (2008) รายงานว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการต้มถั่วเขียว ถั่วลูกไก่ ถั่วแขก และถั่วเหลืองเป็นเวลา 45 นาทีส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ลดลงร้อยละ 70 50 65 และ 60 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในถั่วต่างชนิดกันมีปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่เหมือนกัน และเมื่อผ่านการปรุงสุก สารประกอบฟีนอลิกจะถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนจะเกิดการสลายตัว และไปทำปฏิกิริยากับสารอื่นในเมล็ดถั่ว (Julkunen-Tiitto, 1985) แต่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ตรวจวัดด้วยวิธี DPPH ลดลงอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกันคือร้อยละ 50-55 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เพราะความสามารถในการต้านออกซิเดชันนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกเพียงอย่างเดียว แต่ขึ้นกับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกด้วย สอดคล้องกับ Sritongtae et al. (2017) ที่รายงานว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกเพียงอย่างเดียว แต่ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกด้วย

Segev et al. (2011) พบว่าการต้มในน้ำประปา และการนึ่งถั่วลูกไก่ เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบโดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนยังเกิดการสลายตัวในระหว่างการต้ม และการนึ่ง วิธีการนึ่งจึงสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าวิธีการต้ม อาจเป็นผลมาจากวิธีการนึ่งนั้นถั่วไม่ได้ถูกแช่ในน้ำระหว่างการปรุงสุก

Lopez et al. (2013) พบว่าการการต้มถั่วแขกในน้ำประปาเป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 65 เมื่อเทียบกับถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนยังเกิดการสลายตัวในระหว่างการต้ม

Silva et al. (2018) พบว่าการปรุงสุกถั่วแขกด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:3 (w/v) เป็นเวลา 10 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ลดลงเพียงร้อยละ 15 ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงมากถึงร้อยละ 40 การลดลงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity เป็นผลมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ลดลง

Xu and Chang (2008) ได้ทำการต้มเมล็ดถั่วดำในน้ำประปาเป็นเวลา 60 นาที แล้วแยกเมล็ดถั่วดำ กับน้ำที่ใช้ในการต้มมาวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging capacity พบว่าเมล็ดถั่วดำมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging capacity ลดลง $4.13 \pm 0.03 \mu\text{M Trolox equivalents/g}$ เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดำดิบ และในน้ำที่ใช้ในการปรุงสุกมีสารประกอบฟีนอลิก $2.47 \pm 0.09 \text{ mg gallic acid equivalents/g}$ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging capacity $3.37 \pm 0.12 \mu\text{M Trolox equivalents/g}$ จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging capacity ของเมล็ดถั่วดำที่ลดลงเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก

บทที่ 3

อุปกรณ์ ขั้นตอน และวิธีดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการดำเนินงานวิจัย ได้แก่ วัสดุดิบ สารเคมีและเครื่องมือ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

วัสดุดิบ

ถั่วเขียว และถั่วดำ จากบริษัทชุมสิน ฟูด อินดัสทรี จำกัด จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย และ ถั่วอะซูกิ จากมูลนิธิโครงการหลวง ดอยคำ จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย โดยซื้อในช่วงเดือน พฤศจิกายน 2559 ถึงสิงหาคม 2560 แล้วแบ่งใส่ถุงอลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต ขนาดบรรจุ 100 กรัม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส)

สารเคมีชนิด Analytical Reagent Grade (AR grade)

Acetic acid	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Boric acid	(Univar, Australia)
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	(Sigma, Germany)
(DPPH)	
Ethanol	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Ferric chloride	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Ferric nitrate	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Folin-Ciocalteu phenol reagent	(Sigma, Germany)
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)
Nitric acid	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Petroleum ether	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Sodium acetate	(Univar, Australia)
Sodium carbonate	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Sodium hydroxide	(Carlo Erba, France)
Sodium sulphate	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Sulphuric acid	(Quality Reagent Chemical, New Zealand)
Trichloroacetic acid	(Carlo Erba, France)
2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)	(Sigma, Germany)

สารเคมีชนิด HPLC grade

Acetonitrile	(Sigma, Germany)
D-glucose	(Tokyo Chemical Industry, Japan)
Raffinose pentahydrate	(Tokyo Chemical Industry, Japan)
Stachyose hydrate	(Sigma, Germany)
Sucrose	(Tokyo Chemical Industry, Japan)

เครื่องมือ

กล้องจุลทรรศน์ (Olympus รุ่น BX51, Tokyo, Japan)

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP 310s, Bradford, Germany)

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

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

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Bohemia, NY, USA)

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

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

เครื่อง Spectrophotometer (PerkinElmer รุ่น Lambda 25 UV/VIS system, Waltham, MA, USA)

เครื่อง Centrifuge (Hettich รุ่น Mikro 22 R, Tuttlingen, Germany)

เครื่อง HPLC (Alltech, Nicholasville, KY, USA) ประกอบด้วย

- Pump (Alltech รุ่น 626, Nicholasville, KY, USA)
- Autosampler (Alltech รุ่น 580, Nicholasville, KY, USA)
- Column (Lichrospher® รุ่น NH2 HPLC Column, Darmstadt, Germany)
- Detector (Evaporative light scattering detector รุ่น 2000ES, Nicholasville, KY, USA)

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)

หม้ออัดแรงดัน (Homemate รุ่น HOM-12LC58, Bangkok, Thailand)

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

3.1 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

3.1.1 ศึกษาภาวะในการปรุงสุกที่เหมาะสมของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

นำเมล็ดถั่วมาชั่งน้ำหนัก และวัดขนาดความยาว ความกว้าง และความหนาของ
เมล็ดด้วย Vernier caliper ขนาดของเมล็ดถั่วที่ใช้แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3. 1 ขนาดและน้ำหนักของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

	น้ำหนักของเมล็ด* (g)	ขนาดของเมล็ด (cm)*		
		ความยาว	ความกว้าง	ความหนา
ถั่วเขียว	0.06±0.00	0.50±0.00	0.39±0.00	0.39±0.00
ถั่วดำ	0.15±0.01	0.73±0.01	0.55±0.00	0.50±0.01
ถั่วอะซูกิ	0.19±0.02	0.87±0.01	0.61±0.01	0.47±0.01

วัดเฉลี่ยจากเมล็ดถั่วจำนวน 100 เมล็ด*

นำเมล็ดถั่วดิบมาล้างให้สะอาดแล้วนำมาแช่น้ำประปาในอัตราส่วนระหว่างถั่วเมล็ด
แห้งต่อน้ำประปาเท่ากับ 1:10 (w/v) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) จากนั้น
นำมาผ่านวิธีปรุงสุก 3 วิธี ได้แก่ (1) การต้ม โดยต้มกับน้ำประปาในอัตราส่วนระหว่างเมล็ดถั่วแช่น้ำ
ต่อน้ำประปา 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (2) การนึ่ง โดยนึ่งด้วยไอน้ำร้อนด้วยการใช้
หม้อนึ่ง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และ (3) การปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดัน (pressure cooking)
ปรุงด้วยหม้ออัดแรงดัน อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) ใน
อัตราส่วนระหว่างเมล็ดถั่วแช่น้ำต่อน้ำประปา 1:10 (w/v)

แปรเวลาในการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการนึ่งเป็น 8 ระดับ ได้แก่ 5, 10, 15, 20,
25, 30, 35 และ 40 นาทีตามลำดับ เริ่มจับเวลาตอนน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และแปร
เวลาในการปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดันเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 1, 3, 5, 7 และ 10 นาทีตามลำดับ เริ่มจับ
เวลาตอนอุณหภูมิถึง 115 องศาเซลเซียส จากนั้นนำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกมาปอกเปลือกออกแล้วบด
ให้เป็น paste ด้วยโกร่งบดยาก่อนส่องกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย
40x เพื่อดูการหายไปของ Birefringence บนเม็ดแป้ง

เลือกเวลาในการปรงสุกที่เหมาะสมจากเวลาที่สตา์ชแกรนูลเกิดเจลาติไนซ์สมบูรณ์ โดยพิจารณาจากการหายไปของ Birefringence เมื่อได้เวลาที่เหมาะสมแล้วให้ปรงสุกต่อไปอีก 5 นาที (ถั่วสุกพร้อมบริโภค) และใช้เวลาในการปรงสุกนี้เพื่อเตรียมถั่วสำหรับการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

3.1.2 ศึกษาผลของการปรงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมี และคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

นำถั่วที่ผ่านการปรงสุกทั้งสามวิธีในข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และคุณค่าทางโภชนาการ เปรียบเทียบกับถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิดิบที่ผ่านการแช่น้ำ และไม่ผ่านการแช่น้ำ ดังนี้

3.1.2.1 ปริมาณความชื้นตามของ AOAC (2006) รายละเอียดในภาคผนวก ก.1

3.1.2.2 ปริมาณโปรตีนหยาบด้วยวิธี Kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2006) โดยใช้ conversion factor = 6.25 รายละเอียดในภาคผนวก ก.2

3.1.2.3 ปริมาณเถ้าตามวิธีของ AOAC (2006) รายละเอียดในภาคผนวก ก.3

3.1.2.4 ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet extraction ตามวิธี ของ AOAC (2006) รายละเอียดในภาคผนวก ก.4

3.1.2.5 ปริมาณเยื่อใยหยาบ ตามวิธีของ AOAC (2006) รายละเอียดในภาคผนวก ก.5

3.1.2.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยการคำนวณด้วยวิธี available carbohydrate by difference ตามวิธีของ AOAC (2006) ดังนี้

$$\text{Available carbohydrate} = 100 - (\text{ความชื้น} + \text{โปรตีนหยาบ} + \text{เถ้า} + \text{ไขมัน} + \text{เยื่อใยหยาบ})$$

3.1.2.7 คำนวณปริมาณพลังงานทั้งหมด คำนวณหาค่าพลังงานในอาหารทั้งหมด โดยเปลี่ยนค่า ร้อยละโปรตีน ร้อยละไขมัน และร้อยละคาร์โบไฮเดรต ด้วยค่าคงที่ซึ่งเรียกว่า Atwater factor ตามวิธีของ Atwater and Benedict (1902) ดังนี้

พลังงานทั้งหมด (Kcal/100g) = (ร้อยละไขมัน \times 9.0) + (ร้อยละโปรตีน \times 4.0) + (ร้อยละคาร์โบไฮเดรต \times 4.0)

นำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีในข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ โดยไม่ได้ทำการเปรียบเทียบกับถั่วดิบ ดังนี้

3.1.2.8 Total dietary fiber โดยวิธี enzymatic gravimetric method ตามวิธีของ AOAC (2006) รายละเอียดในภาคผนวก ก.6

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)

3.1.3 ศึกษาผลของการปรุงสุกต่อสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

นำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีในข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ เปรียบเทียบกับถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิดิบที่ผ่านการแช่น้ำ และไม่ผ่านการแช่น้ำดังนี้

3.1.3.1 วิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติก ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) ดังนี้

- นำตัวอย่างถั่วที่ผ่านการตีปนประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) มาสกัดด้วยสารละลาย TCA ความเข้มข้นร้อยละ 3 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าแบบ orbital ตลอดเวลา จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.2

- บีบเอาสารสกัดมา 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วตามด้วยสารละลายเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลา 30 นาทีให้หยดสารละลายโซเดียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 3 จำนวน 3 หยดแล้วต้มต่ออีก 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วเก็บตะกอนไว้

- นำตะกอนมาล้างรอบที่หนึ่งด้วยการเติมสารละลาย TCA ความเข้มข้นร้อยละ 3 จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วเก็บตะกอนไว้ ล้างตะกอนรอบที่สองและสามด้วยน้ำกลั่นจำนวน 20 มิลลิลิตร

- นำตะกอนมาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 3 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรรวมเป็น 30 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองตะกอนขณะร้อนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.2

- ชะตะกอนจากกระดาษกรองลงไปในช่วงปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดไนตริกร้อนความเข้มข้น 3.2 นอร์มัล จำนวน 40 มิลลิลิตร ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

- ปิเปตสารละลายมา 10 มิลลิลิตร ใส่ในช่วงปรับปริมาตร ตามด้วยสารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 20 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกรดไฟติกจากกราฟมาตรฐานเฟอริกไนเตรทช่วงความเข้มข้น 0-90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก.7) แล้วเปลี่ยนจากเฟอริกไนเตรทไปเป็นไฟเตทฟอสฟอรัส (phytate phosphorus) ด้วย 4:6 (iron: phosphorus molecular ratio) จากนั้นคูณด้วย 3.55 เพื่อเปลี่ยนจากไฟเตทฟอสฟอรัส (phytate phosphorus) ไปเป็นกรดไฟติก แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมกรดไฟติกต่อกรัมถั่ว

นำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีในข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ เปรียบเทียบกับถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิดิบที่ผ่านการแช่น้ำ ดังนี้

3.1.3.2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอส ตามวิธีของ Aguilera et al. (2009) และมีการดัดแปลง ดังนี้

- นำตัวอย่างถั่วที่ผ่านการตีปนประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) มาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าแบบ orbital ตลอดเวลา จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยกระดาษ

กรอง Whatman No.1 นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

- วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ (Lichrospher® รุ่น NH2 HPLC Column, Darmstadt, Germany) ขนาด 4x250 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ใช้แบบ gradient elution ซึ่งเป็นการผสมระหว่าง 100% Acetonitrile และ น้ำ Milli-Q (รายละเอียดอัตราการผสมดังตารางที่ 3.2) และวัดสัญญาณของน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสด้วยเครื่อง Evaporative light scattering detector หลังจากนั้นนำพื้นที่ใต้กราฟมาคำนวณปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลราฟฟิโนสช่วงความเข้มข้น 0-1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร และน้ำตาลสแตคิโอสช่วงความเข้มข้น 0-10 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร (ภาคผนวก ก.8 และ ก.9)

ตารางที่ 3. 2 อัตราการผสมระหว่าง 100% Acetonitrile และ น้ำ Milli-Q ที่ใช้ในการวิเคราะห์ HPLC

เวลา (นาที)	อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (มิลลิลิตรต่อนาที)	ร้อยละของ 100% Acetonitrile	ร้อยละของน้ำ Milli-Q
0.00	1.0	100	0
10.00	1.0	80	20
20.00	1.0	75	25
30.00	1.0	70	30

ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

ปริมาณตัวอย่าง	20	ไมโครลิตร
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	1.0	มิลลิลิตรต่อนาที
เวลาในการวิเคราะห์	30	นาทีต่อตัวอย่าง
อุณหภูมิในการวิเคราะห์	30	องศาเซลเซียส

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)

3.1.4 ศึกษาผลของการปรุงสุกต่อสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

นำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีในข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เปรียบเทียบกับถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิดิบที่ผ่านการแช่น้ำ และไม่ผ่านการแช่น้ำ โดยนำตัวอย่างถั่วที่ผ่านการตีปั่นประมาณ 4 กรัม (น้ำหนักแห้ง) มาสกัดสารประกอบฟีนอลิกกับเมทานอล 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าแบบ orbital ตลอดเวลา จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ดังนี้

3.1.4.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ตามการดัดแปลงวิธีของ Waterhouse (2005) ปิเปตสารสกัด 200 ไมโครลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ตามด้วยน้ำกลั่นจำนวน 7 มิลลิลิตร และสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 2 นอร์มัล จำนวน 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิมิตัวจำนวน 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชม. ก่อนนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกช่วงความเข้มข้น 0-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก.10) และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมถั่ว

3.1.4.2 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) ปิเปตสารสกัด 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ตามด้วยน้ำกลั่นจำนวน 4 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียม

คลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 0.3 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันก่อนนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชินช่วงความเข้มข้น 0-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก.11) และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมแคทีชินต่อกรัมถั่ว

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)

3.1.5 ศึกษาผลของการปรุงสุกต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

นำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีในข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเปรียบเทียบกับถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิดิบที่ผ่านการแช่น้ำ และไม่ผ่านการแช่น้ำ นำตัวอย่างถั่วที่ผ่านการตีป่นประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) มาสกัดสารประกอบฟีนอลิกกับเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าแบบ orbital ตลอดเวลา จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ดังนี้

3.1.5.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ตามวิธีของ Sritongtae et al (2017) ปิเปตสารละลาย FRAP (สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอสซีเตตความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่ผสมกับสารละลายเพอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 250 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร) 1900 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปปมในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นปิเปตสารสกัดจำนวน 100 ไมโครลิตรตามลงไป ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณความสามารถในการเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน FRAP จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ช่วงความเข้มข้น 0-0.8 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก.12) และแสดงผลในหน่วยไมโครโมล Trolox ต่อกรัมถั่ว (โดยน้ำหนักแห้ง)

3.1.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) ปีเปตสารสกัด 1.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองตามด้วย สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณ % DPPH radical scavenging activity ดังสมการ

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

เมื่อ A_0 คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

คำนวณความสามารถในการเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH โดยการเปลี่ยน % DPPH radical scavenging activity ไปเป็นหน่วยไมโครโมล Trolox ต่อกรัมถั่ว (โดยน้ำหนักแห้ง) จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ช่วงความเข้มข้น 0-140 ไมโครโมลต่อลิตร (ภาคผนวก ก.13)

3.1.5.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน metal chelating activity ตามการดัดแปลงวิธีของ Jamdar et al. (2010) ปีเปตสารสกัด 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ตามด้วยน้ำ Milli-Q จำนวน 1.85 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเฟอร์ริคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ จำนวน 0.05 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอโรซีนความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร สารละลาย control ใช้น้ำ Milli-Q ในการทำปฏิกิริยา คำนวณ % metal chelating activity ดังสมการ

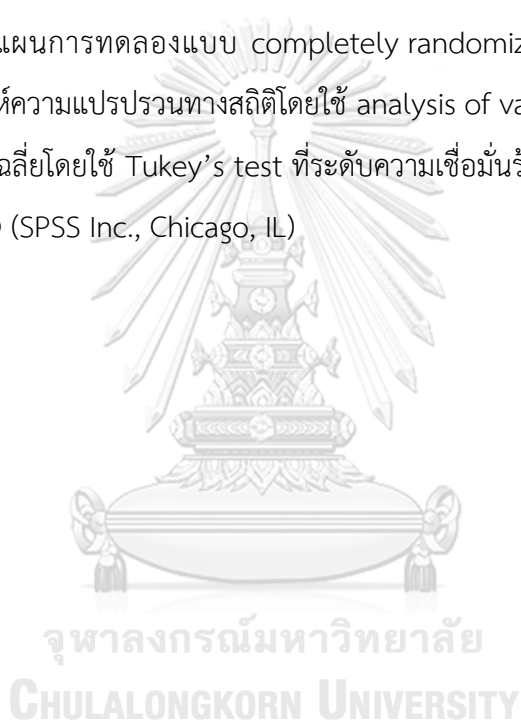
$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{(A_c - A_s) \times 100}{A_c}$$

เมื่อ Ac คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย control

As คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

คำนวณความสามารถในการเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Metal chelating activity โดยการเปลี่ยน % Metal chelating activity ไปเป็นหน่วยไมโครโมล EDTA ต่อกรัมถั่ว (โดยน้ำหนักแห้ง) จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย EDTA ช่วงความเข้มข้น 0-100 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก.14)

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)



บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

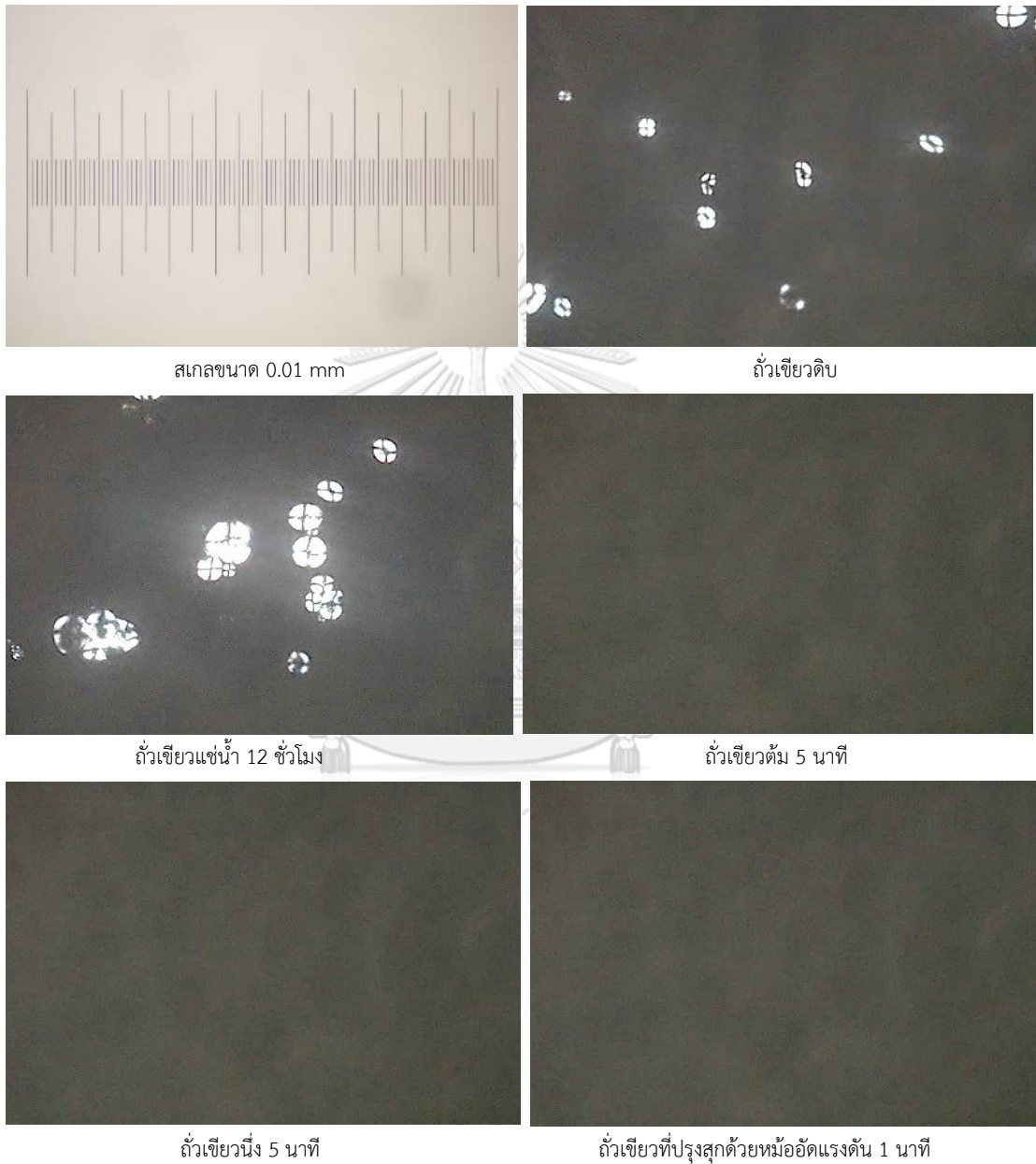
4.1 ภาวะที่เหมาะสมในการปรุงสุกถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

จากการแปรเวลาในการปรุงสุกถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิด้วยวิธีการต้ม และการนึ่ง การปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดัน จากนั้นนำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกมาปอกเปลือกออกแล้วบดให้เป็น paste ด้วยโถรงบดยาก่อนส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x เพื่อดูการหายไปของ Birefringence บนเม็ดแป้ง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.1 ถึง 4.6

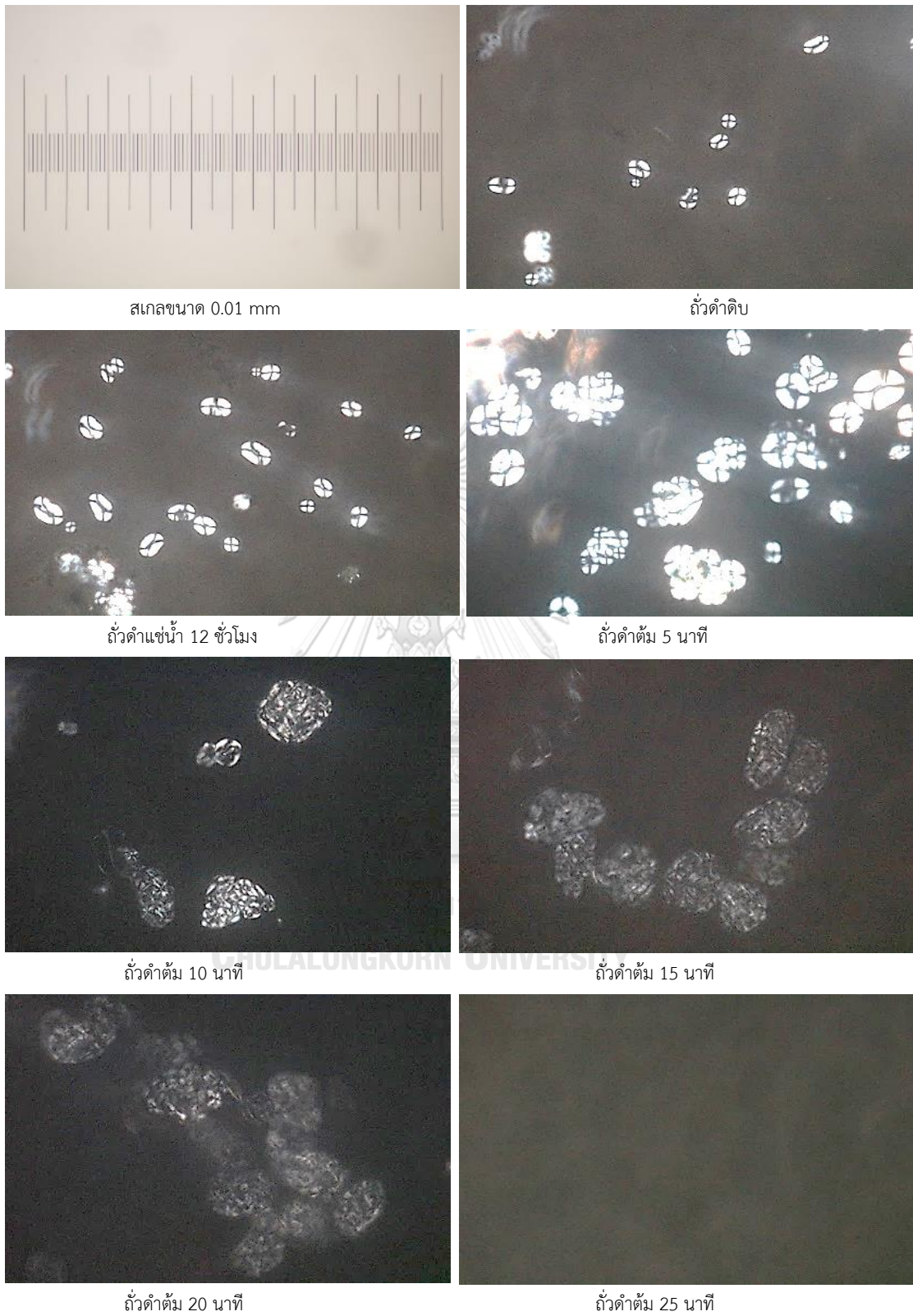
การปรุงสุกถั่วเขียวด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดัน (รูปที่ 4.1) พบว่าเม็ดแป้งของถั่วเขียว ในภาวะถั่วดิบจะพบลักษณะที่เป็นรูปกากบาท (Birefringence) บนเม็ดแป้งอย่างชัดเจน ซึ่งเกิดจากลักษณะโครงสร้างที่เป็นระเบียบในรูปผลึกของเม็ดแป้ง การนำเมล็ดถั่วเขียวมาแช่น้ำเม็ดแป้งจะดูดน้ำแล้วทำให้เม็ดแป้งมีขนาดใหญ่ขึ้น แต่โครงสร้างที่เป็นระเบียบในรูปผลึกของเม็ดแป้งยังไม่ถูกทำลาย เมื่อนำถั่วเขียวไปผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการนึ่ง ในช่วงเวลา 5 นาทีแรกโครงสร้างของเม็ดแป้งถูกความร้อนทำลายพันธะไฮโดรเจน แป้งจึงเกิดการแตกออกอย่างสมบูรณ์ ทำให้แป้งสุก สมบัติของการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ของเม็ดแป้งจะหายไป ส่งผลให้ภาพที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ไม่พบลักษณะโครงสร้างของเม็ดแป้ง (Whistler and James, 1997) ภาพที่ได้จึงเป็นภาพพื้นหลังสีดำ และเมื่อนำถั่วเขียวไปผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดัน ในช่วง 1 นาทีแรก โครงสร้างของเม็ดแป้งถูกทำลายอย่างสมบูรณ์ เช่นเดียวกันกับวิธีการนึ่ง และวิธีการต้ม ภาพที่ได้จึงเป็นภาพพื้นหลังสีดำ

การปรุงสุกถั่วดำด้วยวิธีการต้ม (รูปที่ 4.2) วิธีการนึ่ง (รูปที่ 4.3) และวิธีการใช้หม้ออัดแรงดัน (รูปที่ 4.4) พบว่าเม็ดแป้งของถั่วดำ ในภาวะถั่วดิบจะพบลักษณะที่เป็นรูปกากบาท (Birefringence) บนเม็ดแป้งอย่างชัดเจน เช่นเดียวกับถั่วเขียว แต่เมื่อนำถั่วดำมาปรุงสุก ในช่วงเวลา 5 นาทีแรกเม็ดแป้งยังมีโครงสร้างที่เป็นระเบียบอยู่ โครงสร้างของเม็ดแป้งจะเริ่มถูกทำลายพันธะไฮโดรเจนเมื่อผ่านการต้ม และการนึ่งไปแล้วเป็นเวลา 10 นาที และถูกทำลายอย่างสมบูรณ์เมื่อผ่านการต้ม และการนึ่งเป็นเวลา 20 และ 25 นาที ตามลำดับ สำหรับการปรุงสุกด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันโครงสร้างของเม็ดแป้งจะถูกทำลายอย่างสมบูรณ์เมื่อถั่วดำผ่านการปรุงสุกเป็นเวลา 5 นาที จะเห็นได้ว่าถั่วดำใช้เวลาในการปรุงสุกทั้งสามวิธีนานกว่าถั่วเขียว เป็นผลมาจากขนาดของเมล็ดที่ใหญ่กว่าถั่วเขียว และ

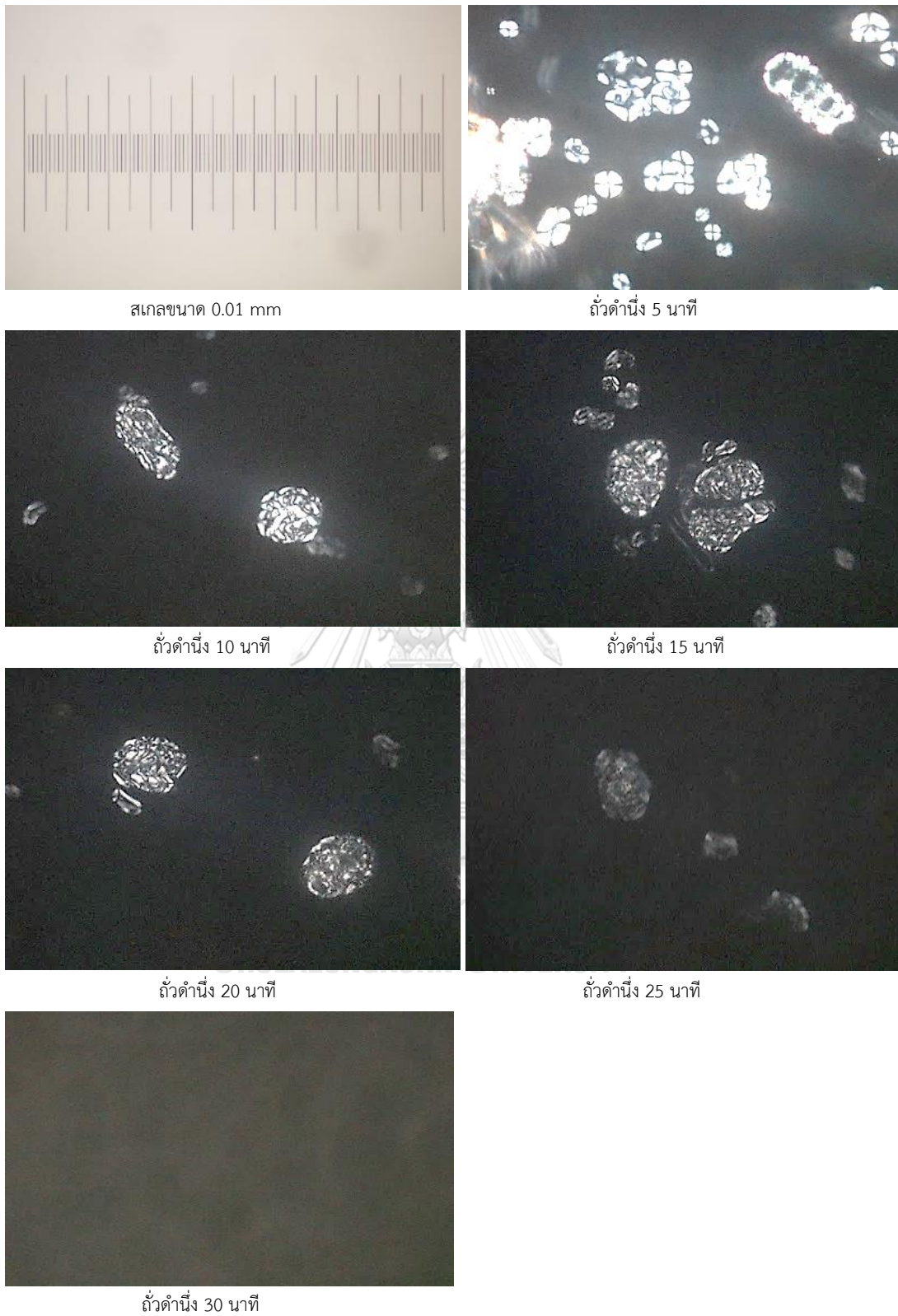
โครงสร้างของเม็ดแป้งด้วย ทำให้ความร้อนผ่านเข้าไปทำลายโครงสร้างเม็ดแป้งช้ากว่าถั่วเขียว



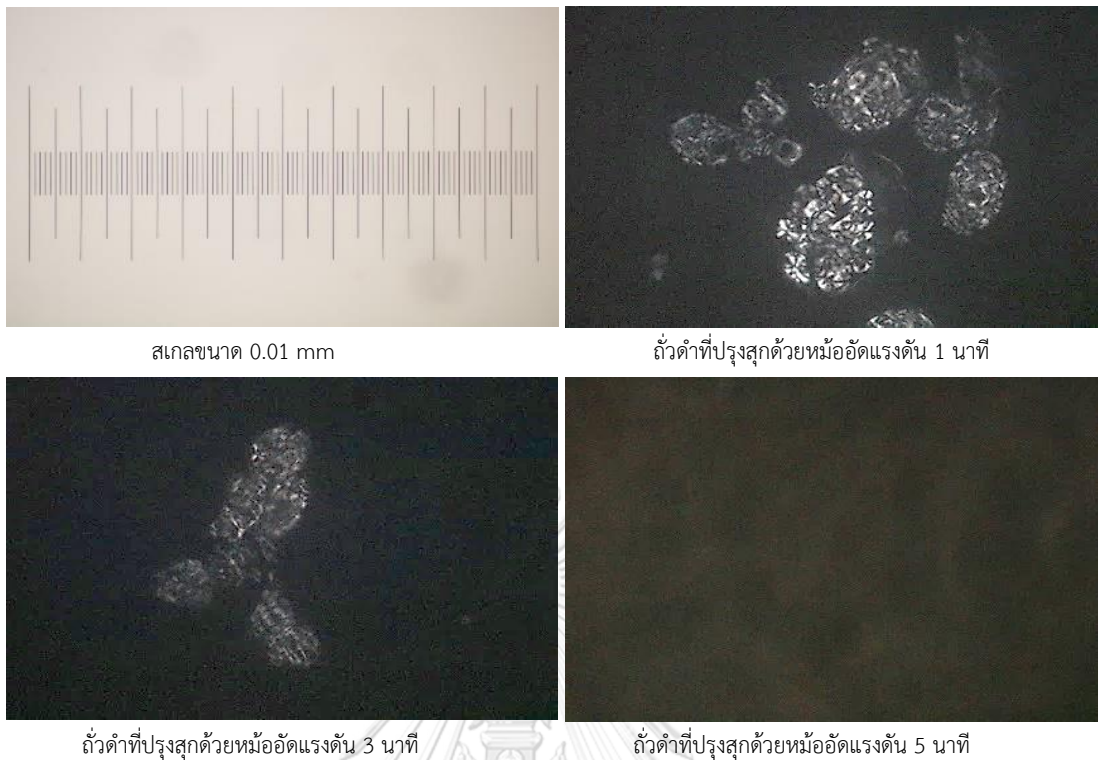
รูปที่ 4. 1 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแป้งของถั่วเขียวโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x



รูปที่ 4. 2 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแป้งของถั่วดำที่ปรุงสุกด้วยวิธีการต้มโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x

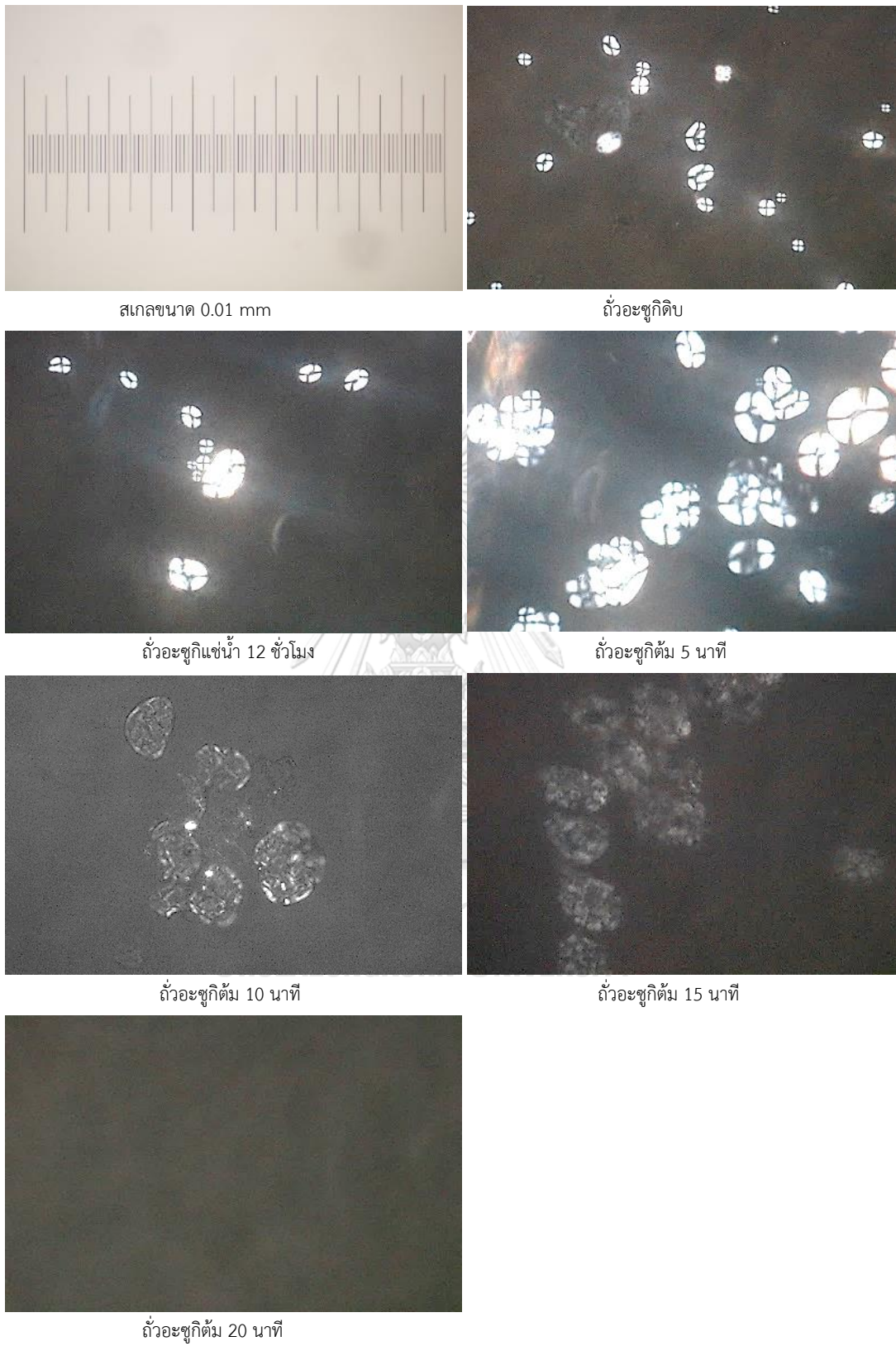


รูปที่ 4. 3 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแข็งของถั่วดำที่ปรุงสุกด้วยวิธีการนี้โดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x

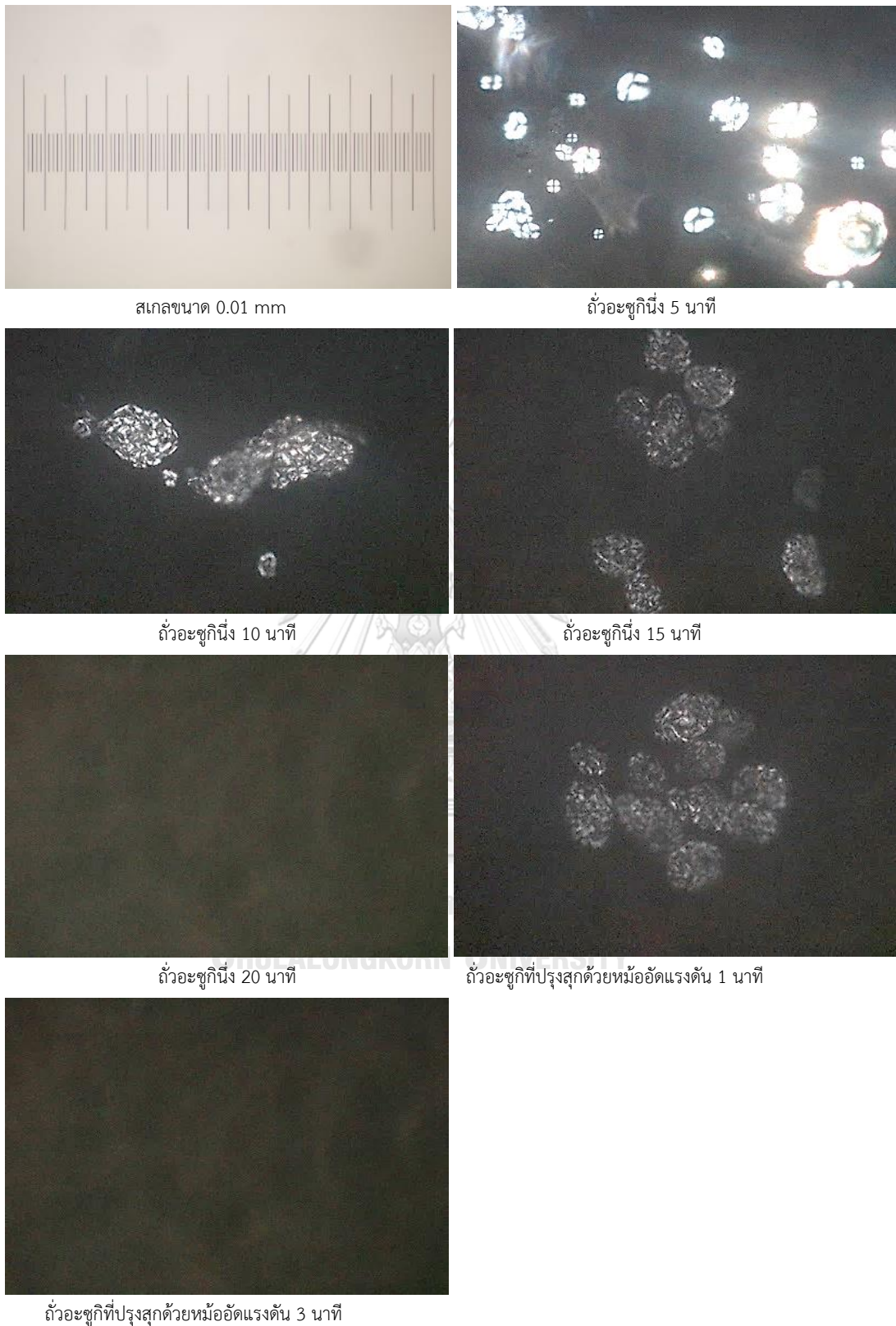


รูปที่ 4. 4 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแป้งของถ้วดำที่ปรุงสุกด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x

การปรุงสุกถ้วอะชะกิด้วยวิธีการต้ม (รูปที่ 4.5) วิธีการนึ่งและการใช้หม้ออัดแรงดัน (รูปที่ 4.6) พบว่าเม็ดแป้งของถ้วอะชูกิ ในภาวะถ้วดิบจะพบลักษณะที่เป็นรูปกากบาท (Birefringence) บนเม็ดแป้งอย่างชัดเจน เมื่อนำถ้วอะชูกิมาปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการนึ่งในช่วงเวลา 5 นาทีแรกเม็ดแป้งยังมีโครงสร้างที่เป็นระเบียบเช่นเดียวกับถ้วดำ แต่โครงสร้างของเม็ดแป้งจะถูกทำลายสมบูรณ์เมื่อถ้วอะชูกิผ่านการต้ม และการนึ่งเป็นเวลา 20 นาที สำหรับการปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดันจะใช้เวลาปรุงสุกเพียง 3 นาที เนื่องจากโครงสร้างของเม็ดแป้งถูกทำลายสมบูรณ์แล้ว ซึ่งเห็นได้ว่าถ้วชูกิจะใช้เวลาในการปรุงสุกทั้งสามวิธีเร็วกว่าถ้วดำ แต่ใช้เวลาในการปรุงสุกที่นานกว่าถ้วเขียว ทั้งนี้อาจขึ้นกับขนาดเมล็ดของถ้ว และโครงสร้างของเม็ดแป้งในถ้วแต่ละชนิดและสายพันธุ์ที่ไม่เหมือนกัน



รูปที่ 4.5 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแป้งของถ้าวะชุกิตีบที่ปรุงสุกด้วยวิธีการต้มโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x



รูปที่ 4. 6 ภาพถ่าย Birefringence บนเม็ดแป้งของถั่วอะซูกินิ่งที่ปรุ่งสุกด้วยวิธีการนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันโดยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงชนิด Polarized light ที่กำลังขยาย 40x

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการปรุงสุกถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ พบว่าเม็ดแป้งของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ มีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกัน และเวลาในการปรุงสุกแต่ละวิธีของถั่วทั้งสามชนิดก็แตกต่างกัน จะเห็นได้ว่าเมื่อนำถั่วไปผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการนึ่ง ถั่วดำ และถั่วอะซูกิในช่วงเวลา 5 นาทีแรกเม็ดแป้งยังมีโครงสร้างที่เป็นระเบียบ ในขณะที่การปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการนึ่งถั่วเขียวในช่วงเวลา 5 นาที โครงสร้างของเม็ดแป้งเกิดการแตกออกอย่างสมบูรณ์แล้ว เป็นผลมาจากการจัดเรียงตัวของอะไมโลส และอะไมโลเพกตินในเม็ดแป้งที่ต่างกัน ซึ่งมีผลต่อการเกิด swelling ของเม็ดแป้ง สำหรับการปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดัน พบว่าเวลาที่ใช้ในการปรุงสุกจะเร็วกว่าวิธีการต้ม และนึ่งมาก เนื่องจากวิธีนี้มีอุณหภูมิในการปรุงสุกที่มากกว่า 100 องศาเซลเซียส และมีการใช้ความดันร่วมด้วยในการปรุงสุก ทำให้ความร้อนเข้าสู่เม็ดแป้งได้เร็วกว่า

เวลาที่ Birefringence หายไป (เวลาที่เม็ดแป้งเกิดการเจลาติไนซ์ แต่เมล็ดถั่วยังมีความแข็งอยู่ ไม่สามารถบรีโกลด์ได้) และเวลาที่ถั่วสุกพร้อมบรีโกลด์ ในการทดลองนี้เวลาหลัง Birefringence หายไปแล้ว 5 นาที เนื่องจากเป็นเวลาที่เมล็ดถั่วสุกนึ่ง พร้อมบรีโกลด์ โดยดูจากการบีบเมล็ดถั่วด้วยนิ้วมือและทดลองบรีโกลด์ แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4. 1 เวลาที่เม็ดแป้งเกิดเจลาติไนซ์ และเวลาที่ถั่วสุกพร้อมบรีโกลด์

Treatment	เวลาที่ Birefringence หายไป (min)	เวลาที่ถั่วสุกพร้อมบรีโกลด์ (min)
Mung bean		
Steaming	5	10
Boiling	5	10
Pressure cooking	1	6
Black bean		
Steaming	30	35
Boiling	25	30
Pressure cooking	5	10
Azuki bean		
Steaming	20	25
Boiling	20	25
Pressure cooking	3	8

4.2 ผลของการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมี และคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

4.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี(ความชื้น โปรตีนหยาบ เถ้า ไขมัน เยื่อใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต) ของเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันโดย แสดงในตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.1 ถึง ข.6

จากตารางที่ 4.2 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่การนึ่ง การต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดัน ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าของเมล็ดถั่วเขียวลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากโปรตีนในเมล็ดถั่วอยู่ในรูปของโปรตีนบอดีติดอยู่กับสตาร์ชแกรนูล (Sathe et al., 1984) เมื่อเมล็ดถั่วได้รับความร้อนจนสุก สตาร์ชแกรนูลเกิดการดูดน้ำแล้วพองตัวจนแตกออก ส่งผลให้โปรตีนที่เกาะอยู่กับสตาร์ชแกรนูล และแร่ธาตุหลุดออกมา รวมถึงเมล็ดถั่วที่ผ่านการปรุงสุกมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มและยุ่ย เนื้อของเมล็ดถั่วที่ยุ่ยอาจจะหลุดไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก การปรุงสุกเมล็ดถั่วเขียวด้วยวิธีการต้ม และใช้หม้ออัดแรงดันมีผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าลดลงมากที่สุด ในขณะที่การปรุงสุกด้วยวิธีการนึ่งมีผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าหลงเหลืออยู่มากที่สุด ผลการลดลงของปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าในถั่วเขียวที่ผ่านการปรุงสุกเป็นไปทำนองเดียวกับ Mubarak (2005) ที่พบว่าการปรุงสุกเมล็ดถั่วเขียวด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำประปา อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วเขียวดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากปริมาณคาร์โบไฮเดรตได้มาจากการคำนวณ การเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตจึงเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีนหยาบ และปริมาณเถ้าที่ลดลง แต่อย่างไรก็ตามการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การนึ่ง การต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดัน ส่งผลให้ปริมาณไขมัน และเยื่อใยหยาบของเมล็ดถั่วเขียวไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 4. 2 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียว

Treatment	Moisture (% w/w wb.)	Crude protein (% w/w db.)	Ash (% w/w db.)	Crude fat ^{ns} (% w/w db.)	Crude fiber ^{ns} (% w/w db.)	Available carbohydrate*
Mung bean						
None (raw)	9.73 ^e ±0.10	27.25 ^a ±0.59	3.68 ^a ±0.06	1.83±0.01	3.52±0.05	64.25 ^d ±0.54
Soaking	58.35 ^c ±0.08	25.79 ^b ±0.46	3.24 ^b ±0.04	1.80±0.01	3.51±0.03	65.17 ^c ±0.44
Steaming	57.18 ^d ±0.40	24.64 ^c ±1.19	2.98 ^c ±0.03	1.81±0.01	3.49±0.02	66.57 ^b ±1.17
Boiling	65.14 ^b ±0.68	24.56 ^{cd} ±0.59	1.89 ^d ±0.07	1.81±0.01	3.49±0.03	69.74 ^{ab} ±0.52
Pressure cooking	69.05 ^a ±0.61	23.11 ^d ±0.94	1.69 ^d ±0.05	1.81±0.01	3.48±0.01	70.40 ^a ±0.91

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

ns ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* by difference method

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี(ความชื้น โปรตีน ใยหยาบ แกร์โบไฮเดรต) ของเมล็ดถั่วดำที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันโดย แสดงในตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.7 ถึง ข.12

ตารางที่ 4. 3 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วดำ

Treatment	Moisture (% w/w wb.)	Crude protein (% w/w db.)	Ash (% w/w db.)	Crude fat ^{ns} (% w/w db.)	Crude fiber ^{ns} (% w/w db.)	Available carbohydrate*
Black bean						
None (raw)	11.80 ^d ±0.11	28.65 ^a ±0.49	4.49 ^a ±0.04	1.44±0.02	4.08±0.09	61.34 ^d ±0.44
Soaking	56.09 ^b ±0.44	26.42 ^b ±0.96	3.98 ^b ±0.02	1.42±0.01	4.01±0.04	64.18 ^c ±0.94
Steaming	53.33 ^c ±1.00	25.25 ^c ±1.03	3.65 ^c ±0.03	1.41±0.01	4.01±0.03	65.68 ^b ±1.04
Boiling	59.00 ^a ±0.53	24.11 ^d ±0.54	3.33 ^d ±0.03	1.42±0.02	4.04±0.03	67.09 ^{ab} ±0.54
Pressure cooking	58.59 ^a ±0.97	23.86 ^e ±0.53	3.25 ^d ±0.04	1.42±0.00	3.99±0.01	67.48 ^a ±0.50

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

ns ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* by difference method

จากตารางที่ 4.3 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่การนึ่ง การต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีของถั่วดำเกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทำนองเดียวกับถั่วเขียว ผลการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของถั่วดำเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Alajaji and

El-Adawy (2006) ที่พบว่า การต้มเมล็ดถั่วลูกไก่ด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมัน และเยื่อใยหยาบ ($p > 0.05$) แต่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี(ความชื้น โปรตีนหยาบ เถ้า ไขมัน เยื่อใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต) ของเมล็ดถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันโดย แสดงในตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.13 ถึง ข.18

ตารางที่ 4. 4 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วอะซูกิ

Treatment	Moisture (% w/w wb.)	Crude protein (% w/w db.)	Ash (% w/w db.)	Crude fat ^{ns} (% w/w db.)	Crude fiber ^{ns} (% w/w db.)	Available carbohydrate* (% w/w db.)
Azuki bean						
None (raw)	12.90 ^e ±0.04	27.91 ^a ±0.67	3.65 ^a ±0.02	1.55±0.03	3.19±0.05	63.89 ^d ±0.70
Soaking	52.46 ^c ±0.35	26.88 ^b ±1.34	2.75 ^b ±0.01	1.53±0.03	3.17±0.03	65.84 ^c ±1.37
Steaming	49.80 ^d ±0.46	24.12 ^c ±0.95	2.43 ^c ±0.05	1.52±0.01	3.16±0.05	68.93 ^b ±0.98
Boiling	58.08 ^b ±0.81	23.82 ^{cd} ±0.67	2.06 ^d ±0.02	1.51±0.02	3.16±0.01	69.62 ^{ab} ±0.65
Pressure cooking	58.96 ^a ±0.4	22.64 ^d ±0.65	1.92 ^d ±0.04	1.51±0.03	3.12±0.05	70.94 ^a ±0.92

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

ns ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* by difference method

จากตารางที่ 4.4 พบว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีเป็นไปในทำนองเดียวกับถั่วเขียว และถั่วดำ ผลการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของถั่วอะซูกิเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Khattab and Arntifield (2009) ที่พบว่า การต้มเมล็ดถั่วแดง (*Phaseolus vulgaris*) ด้วยน้ำประปาอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 45 นาที และการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ(Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 20 นาที ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมัน และเยื่อใยหยาบ ($p > 0.05$) แต่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับ

เมล็ดถั่วแดงดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วแดงดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

จากการศึกษาผลของการปรุงสุกองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าของถั่วทั้งสามชนิดลดลงในทำนองเดียวกัน โดยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันมีต่อการลดลงมากที่สุด ในขณะที่วิธีการนึ่งส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีลดลงน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าวิธีการนึ่งยังคงรักษาปริมาณโปรตีนหยาบ และเถ้าไว้ได้ดีกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น

4.2.2 คุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (โปรตีนหยาบ ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต พลังงานทั้งหมด และ dietary fiber) ของเมล็ดถั่วเขียว แสดงดังตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.19 ถึง ข.24

ตารางที่ 4. 5 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วเขียว

Treatment	Crude protein (% w/w wb.)	Ash (% w/w wb.)	Crude fat (% w/w wb.)	Dietary fiber (% w/w wb.)	Available carbohydrate* (% w/w wb.)	Energy (Kcal/100 g wb.)
Mung bean						
None (raw)	25.25 ^a ±0.59	3.68 ^a ±0.06	1.83 ^a ±0.01	-	56.16 ^a ±0.32	327.91 ^a ±0.52
Soaking	11.79 ^b ±0.46	1.24 ^b ±0.04	0.80 ^b ±0.01	-	27.16 ^c ±0.97	174.70 ^b ±0.12
Steaming	11.64 ^b ±1.19	1.18 ^c ±0.03	0.81 ^b ±0.01	6.64 ^a ±0.16	29.58 ^b ±1.35	176.71 ^b ±1.15
Boiling	9.56 ^c ±0.59	0.89 ^d ±0.07	0.81 ^b ±0.01	5.51 ^b ±0.19	26.87 ^c ±0.70	154.74 ^c ±1.02
Pressure cooking	9.11 ^d ±0.94	0.69 ^e ±0.05	0.81 ^b ±0.01	4.33 ^c ±0.57	27.84 ^{bc} ±0.69	151.57 ^d ±1.12

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

* by difference method

- ไม่มีผลการทดลอง

จากตาราง 4.5 คำนวณองค์ประกอบทางเคมี (โปรตีนหยาบ เถ้า ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต) และวิเคราะห์พลังงานทั้งหมดและ dietary fiber เป็นน้ำหนักเปียก เพื่อพิจารณาคุณค่าทางโภชนาการในการบริโภคถั่วปรุงสุกในน้ำหนักที่เท่ากัน พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การนึ่ง การต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ เถ้า ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และพลังงานทั้งหมดลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก การลดลงของปริมาณ

โปรตีนหยาบ ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วในระหว่างการปรุงสุก และอาจเป็นผลมาจากปริมาณความชื้นของเมล็ดถั่วที่เพิ่มสูงขึ้นมากด้วย สำหรับพลังงานทั้งหมดที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากการลดลงของปริมาณโปรตีนหยาบ ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตนั่นเอง

เมื่อพิจารณาปริมาณใยอาหารของถั่วเขียวที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธี พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณใยอาหารแตกต่างกัน ($p < 0.05$) วิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารมากกว่าวิธีการนึ่ง เนื่องจากใยอาหารในเมล็ดถั่วมีทั้งชนิดที่ละลายน้ำได้ และละลายน้ำไม่ได้ การลดลงของปริมาณใยอาหารเกิดจากใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำได้ ถูกทำลายด้วยความร้อน (Wang et al., 2010) de Almeida Costa (2006) รายงานว่าการต้มถั่วลูกไก่ในน้ำประปาเป็นเวลา 40 นาที ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารชนิดที่ไม่ละลายน้ำ ($p > 0.05$) แต่ส่งผลให้ปริมาณใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำได้ลดลง ($p < 0.05$)

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (โปรตีนหยาบ ไขมัน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต พลังงานทั้งหมด และ dietary fiber) ของเมล็ดถั่วดำ แสดงดังตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.25 ถึง ข.30

ตารางที่ 4. 6 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วดำ

Treatment	Crude protein (% w/w wb.)	Ash (% w/w wb.)	Crude fat (% w/w wb.)	Dietary fiber (% w/w wb.)	Available carbohydrate* (% w/w wb.)	Energy (Kcal/100 g wb.)
Black bean						
None (raw)	25.27 ^a ±0.44	3.96 ^a ±0.03	1.27 ^a ±0.02	-	54.10 ^a ±0.43	328.91 ^a ±0.92
Soaking	11.60 ^b ±0.37	1.75 ^b ±0.01	0.62 ^b ±0.00	-	28.18 ^c ±0.95	164.70 ^c ±0.22
Steaming	11.78 ^b ±0.52	1.71 ^c ±0.03	0.67 ^b ±0.03	7.64 ^a ±0.25	30.64 ^b ±1.06	175.71 ^b ±1.16
Boiling	9.89 ^c ±0.29	1.37 ^d ±0.03	0.58 ^b ±0.01	6.72 ^b ±0.27	27.50 ^d ±0.50	154.78 ^e ±1.07
Pressure cooking	9.88 ^c ±0.37	1.35 ^d ±0.03	0.59 ^b ±0.01	6.79 ^b ±0.14	27.94 ^{cd} ±0.40	156.59 ^d ±1.18

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

* by difference method

- ไม่มีผลการทดลอง

จากตาราง 4.6 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่การนึ่ง การต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดัน ส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วดำเปลี่ยนแปลงไปในทำนองเดียวกับถั่วเขียว โดยส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และพลังงานของเมล็ดถั่วดำลดลง ($p < 0.05$)

เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก ซึ่งวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการมากกว่าวิธีการนี้

เมื่อพิจารณาปริมาณใยอาหารของถั่วดำปรุงสุกทั้งสามวิธี พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณใยอาหารแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) วิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารมากกว่าวิธีการนี้ การเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารอาจเกิดจากการลดลงของปริมาณใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำได้ลดลง Kutos et al. (2003) รายงานว่าการต้มถั่วแขกในน้ำประปาเป็นเวลา 40 นาที ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณใยอาหารชนิดที่ไม่ละลายน้ำ ($p > 0.05$) แต่ส่งผลให้ปริมาณใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำได้ลดลง ($p \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (โปรตีนหยาบ ไขมัน ถั่ว คาร์โบไฮเดรต พลังงานทั้งหมด และ dietary fiber) ของเมล็ดถั่วอะซูกิ แสดงดังตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.31 ถึง ข.36

ตารางที่ 4. 7 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วอะซูกิ

Treatment	Crude protein (% w/w wb.)	Ash (% w/w wb.)	Crude fat (% w/w wb.)	Dietary fiber (% w/w wb.)	Available carbohydrate* (% w/w wb.)	Energy (Kcal/100 g wb.)
Azuki bean						
None (raw)	27.91 ^a ± 0.67	3.65 ^a ± 0.02	1.55 ^a ± 0.03	-	53.20 ^a ± 0.42	324.92 ^a ± 0.45
Soaking	13.88 ^b ± 1.34	2.75 ^b ± 0.01	0.53 ^b ± 0.03	-	27.18 ^d ± 0.58	164.75 ^c ± 0.12
Steaming	13.12 ^c ± 0.95	2.43 ^c ± 0.05	0.52 ^b ± 0.01	7.50 ^a ± 0.49	32.64 ^b ± 1.04	166.73 ^b ± 1.15
Boiling	10.82 ^d ± 0.67	2.06 ^d ± 0.02	0.51 ^b ± 0.02	7.00 ^a ± 0.11	28.55 ^c ± 0.14	151.74 ^e ± 1.31
Pressure cooking	10.64 ^d ± 0.65	1.92 ^d ± 0.04	0.51 ^b ± 0.03	5.27 ^b ± 0.23	27.96 ^{cd} ± 0.48	157.57 ^d ± 1.25

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

* by difference method

- ไม่มีผลการทดลอง

จากตาราง 4.7 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วอะซูกิเปลี่ยนแปลงไปในทำนองเดียวกับถั่วเขียว และถั่วดำ การปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ ไขมัน ถั่ว คาร์โบไฮเดรต และพลังงานของเมล็ดถั่วอะซูกิลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก การปรุงสุกด้วยวิธีการนี้ส่งผลต่อการเปลี่ยนคุณค่าทางโภชนาการน้อยกว่าวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดัน จะเห็นได้ว่าการปรุงสุกด้วยวิธีการนี้สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการได้ดีกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น

เมื่อพิจารณาปริมาณใยอาหารของถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธี พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณใยอาหารแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับถั่วเขียว และถั่วดำ คือวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ถั่วอะซูกิมีปริมาณใยอาหารลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีการปรุงสุกอื่น การใช้หม้ออัดแรงดันในการปรุงสุกถั่ว ความดัน และอุณหภูมิที่สูงอาจส่งผลให้ใยอาหารในเมล็ดถั่วถูกทำลายได้มากกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น

จากการศึกษาผลของการปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และพลังงานของถั่วทั้งสามชนิดลดลงในทำนองเดียวกัน โดยวิธีการต้ม และวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันมีต่อการลดลงมากที่สุด ในขณะที่วิธีการนึ่งส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการลดลงน้อยที่สุด และเมื่อพิจารณาคุณค่าทางโภชนาการในการบริโภคถั่วที่ผ่านการปรุงสุกในน้ำหนักรที่เท่ากัน ควรใช้วิธีการนึ่งเป็นวิธีสำหรับการปรุงสุกถั่ว เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้ถั่วยังคงคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีนหยาบ ไขมัน ใยอาหาร คาร์โบไฮเดรต และพลังงานสูงกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น

4.3 ผลของการปรุงสุกต่อสารต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

4.3.1 ปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดัน แสดงในตารางที่ 4.8 และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.37 ถึง ข.42

ตารางที่ 4. 8 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

Treatment	Phytic acid (mg/g bean)			
	As dry basis	% Reduction	As wet basis	% Reduction
Mung bean				
None (raw)	68.02 ^a ±0.13	-	60.56 ^a ±0.11	-
Soaking	64.02 ^b ±1.53	5.06	28.14 ^b ±1.56	50.12
Steaming	59.31 ^c ±0.35	12.89	26.05 ^c ±0.89	55.83
Boiling	59.14 ^c ±1.83	14.02	23.58 ^d ±1.25	58.61
Pressure cooking	50.35 ^d ±2.56	22.3	20.25 ^e ±1.09	60.56
Black bean				
None (raw)	70.54 ^a ±0.21	-	62.64 ^a ±0.23	-
Soaking	66.93 ^b ±3.29	5.12	31.24 ^b ±1.54	50.13
Steaming	60.47 ^c ±0.45	13.02	26.89 ^c ±0.44	55.63
Boiling	60.70 ^c ±2.95	13.95	25.14 ^d ±1.21	59.87
Pressure cooking	56.39 ^d ±2.64	20.06	23.14 ^e ±1.09	63.09
Azuki bean				
None (raw)	69.43 ^a ±0.25	-	61.47 ^a ±0.24	-
Soaking	65.25 ^b ±3.55	5.14	30.57 ^b ±1.55	51.25
Steaming	61.08 ^c ±0.37	13.41	27.18 ^c ±0.88	56.61
Boiling	60.24 ^c ±2.26	14.56	24.63 ^d ±1.65	57.93
Pressure cooking	54.65 ^d ±2.58	21.25	22.58 ^e ±1.26	62.14

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

จากตารางที่ 4.8 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากกรดไฟติกเป็นสารที่ไม่คงทนต่อความร้อน เมื่อเมล็ดถั่วผ่านการปรุงสุกทำให้เกิดปรากฏการณ์ dephosphorylation คือการสลายพันธะระหว่างหมู่ฟอสเฟตกับวงแหวน inositol ของกรดไฟติก (Kumar et al., 2010) ผลการลดลงของกรดไฟติกเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ El-Adawy (2002) ที่รายงานว่าการต้มเมล็ดถั่วลูกไก่ในน้ำประปา อัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 90 นาที และการใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclaving) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:10 (w/v) ที่ความดัน 15 ปอนด์

อุณหภูมิตั้งที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที ส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงร้อยละ 20 และ 28 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ และเมื่อใช้ภาวะการปิ้งสุกหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclaving) เหมือนกัน Ibrahim et al. (2002) พบว่าเมื่อปิ้งสุกถั่วพุ่มเป็นเวลา 20 นาที ส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงร้อยละ 20 และ 32 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับถั่วพุ่มดิบ ในขณะที่ Elmaki et al. (2007) พบว่าการปิ้งสุกถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) ด้วยวิธีการต้มในน้ำประปา อัตราส่วน 1:15 (w/v) เป็นเวลา 30 นาที ส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงร้อยละ 21 เมื่อเทียบกับถั่วพุ่มดิบ จะเห็นว่าวิธีการปิ้งสุกต่างกัน ส่งผลต่อการลดลงของกรดไฟติก

การปิ้งสุกถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันเป็นวิธีที่สามารถกำจัดกรดไฟติกออกไปจากถั่วได้มากกว่าวิธีการปิ้งสุกอื่น เนื่องจากวิธีการนี้ใช้อุณหภูมิในการปิ้งสุกสูงกว่าวิธีการอื่น และมีการใช้ความร้อนร่วมด้วย จึงอาจส่งผลต่อการเร่งการเกิดปฏิกิริยาการ dephosphorylation มากขึ้น Nakitto et al. (2015) รายงานว่าการปิ้งสุกถั่วลูกไก่ด้วยการนึ่งเป็นเวลา 60 นาที วิธีการต้มในน้ำประปาเป็นเวลา 30 นาที และการใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclaving) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) เป็นเวลา 20 นาที พบว่าวิธีการต้ม และวิธีการใช้หม้ออัดแรงดัน ส่งผลให้ถั่วลูกไก่อมีปริมาณกรดไฟติกลดลงมากกว่าวิธีการนึ่ง เป็นผลมาจากเมื่อเมล็ดถั่วได้รับความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาการ dephosphorylation คือการสลายพันธะระหว่างหมู่ฟอสเฟตกับวงแหวน inositol ของกรดไฟติก

เมื่อพิจารณาในการบริโภคถั่วปิ้งสุกในน้ำหนักที่เท่ากัน พบว่าการปิ้งสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ปริมาณกรดไฟติกลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก ซึ่งวิธีการปิ้งสุกด้วยวิธีการนึ่ง การต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดัน ทำให้เมล็ดถั่วมีปริมาณกรดไฟติกลดลงประมาณร้อยละ 55-56, 57-59 และ 60-63 ตามลำดับ โดยที่วิธีการใช้หม้ออัดแรงดันสามารถกำจัดปริมาณกรดไฟติกออกจากเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิได้มากที่สุด

วิธีการปิ้งสุกทั้งสามวิธีสามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (กรดไฟติก) ออกจากเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ปิ้งสุกแล้วได้มากกว่าร้อยละ 13 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบโดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งถั่วที่ผ่านการปิ้งสุกทั้งสามวิธีมีปริมาณกรดไฟติกหลงเหลืออยู่ต่ำกว่า 27 มิลลิกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักเปียก ดังนั้นการบริโภคถั่วที่ผ่านการปิ้งสุกด้วยสามวิธีในข้างต้น 50 กรัมต่อวัน จะทำให้ร่างกายมนุษย์ได้รับกรดไฟติกไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด (1,400 มิลลิกรัมต่อวัน) (Makkar et al., 2007)

4.3.2 ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดัน แสดงในตารางที่ 4.9 และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.43 ถึง ข.54

ตารางที่ 4. 9 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

Treatment	Raffinose (mg/g bean)				Stachyos (mg/g bean)			
	As dry basis	% Reduction	As wet basis	% Reduction	As dry basis	% Reduction	As wet basis	% Reduction
Mung bean								
None (raw)	7.15 ^a ±0.33	-	5.27 ^a ±0.32	-	25.36 ^a ±0.25	-	24.03 ^a ±0.52	-
Steaming	4.56 ^b ±0.24	36.22	1.87 ^b ±0.14	70.18	20.14 ^b ±0.18	20.58	9.88 ^b ±0.31	58.88
Boiling	4.18 ^c ±0.18	41.54	1.76 ^b ±0.07	71.93	14.65 ^c ±0.15	42.23	7.22 ^c ±0.21	69.95
Pressure cooking	3.96 ^d ±0.22	44.62	1.64 ^c ±0.26	73.84	8.12 ^d ±0.17	67.98	4.11 ^d ±0.14	82.9
Black bean								
None (raw)	16.02 ^a ±0.35	-	10.11 ^a ±0.26	-	70.52 ^a ±0.48	-	65.09 ^a ±0.66	-
Steaming	10.65 ^b ±0.12	33.52	4.14 ^b ±0.11	72.6	56.21 ^b ±0.69	20.29	28.05 ^b ±0.32	56.91
Boiling	7.52 ^c ±0.05	53.12	2.92 ^c ±0.31	80.68	40.58 ^c ±0.58	42.46	19.30 ^c ±0.21	70.35
Pressure cooking	7.21 ^d ±0.02	54.99	2.59 ^{cd} ±0.25	82.86	29.24 ^d ±0.23	58.54	14.75 ^d ±0.22	77.34
Azuki bean								
None (raw)	3.21 ^a ±0.21	-	2.79 ^a ±0.53	-	69.21 ^a ±0.57	-	64.10 ^a ±0.59	-
Steaming	1.98 ^b ±0.11	38.32	0.93 ^b ±0.13	66.67	50.12 ^b ±0.58	27.58	26.39 ^b ±0.45	58.83
Boiling	1.75 ^c ±0.10	45.48	0.74 ^c ±0.05	73.48	40.32 ^c ±0.36	41.74	21.30 ^c ±0.36	66.77
Pressure cooking	1.56 ^d ±0.07	51.4	0.53 ^d ±0.14	81	30.14 ^d ±0.25	56.45	15.49 ^d ±0.21	75.83

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

จากตารางที่ 4.9 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ ลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี (Martinez et al., 2008) เมื่อเมล็ดถั่วผ่านการปรุงสุก ความร้อนทำให้ผนังเซลล์ของเมล็ดถั่วถูกทำลาย น้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสจึงละลาย

ออกมากับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก (Khattab and Arntifield, 2009) ผลการลดลงของน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอส สอดคล้องกับ Aguilera et al. (2009) ที่พบว่าการปรุงสุกเมล็ดถั่วลูกไก่ที่ผ่านการ pre-treatment ด้วยการแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้น้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอส ลดลงร้อยละ 59 และ 55 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ ในขณะที่ Frias et al. (2000) พบว่าการต้มด้วยน้ำประปา อัตราส่วน 1:6 (w/v) เป็นเวลา 35 นาที ของเมล็ดถั่วลูกไก่ที่ผ่านการ pre-treatment ด้วยการแช่น้ำ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอสลดลงร้อยละ 50 และ 55 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับถั่วลูกไก่ดิบ แสดงให้เห็นว่าการลดลงของน้ำตาลราฟฟิโนส และน้ำตาลสแตคิโอส ขึ้นกับชนิดของถั่ว

Egouley and Aworh (2003) พบว่าการปรุงสุกถั่วเหลืองด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำประปา อัตราส่วน 1:6 (w/v) เป็นเวลา 30 นาที ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสลดลงร้อยละ 47 และ 63 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วเหลืองดิบ

เมื่อพิจารณาผลในการบริโภคถั่วปรุงสุกในน้ำหนักที่เท่ากัน พบว่าการปรุงสุกส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก ซึ่งวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันสามารถกำจัดปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอสออกจากเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิได้มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามวิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการนี้ และวิธีการต้มสามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (น้ำตาลราฟฟิโนส และสแตคิโอส) ออกจากเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิได้มากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ

การปรุงสุกด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันสามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ กรดไฟติก น้ำตาลราฟฟิโนส น้ำตาลสแตคิโอส ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับวิธีการปรุงสุกทั้งสามวิธี แต่วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการใช้หม้ออัดแรงดันยังส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีนหยาบ ไขมัน ถั่ว ไอโซอาหารหยาบ คาร์โบไฮเดรต พลังงานทั้งหมดลดลงมากด้วยเช่นกัน ในขณะที่วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการนี้มีความสามารถในการกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการออกไปจากถั่วได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับวิธีการปรุงสุกทั้งสามวิธี แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้สามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการออกไปจากถั่วได้มากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ และยังคงรักษาคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับวิธีการปรุงสุกอื่น

4.4 ผลของการปรุงสุกต่อสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

4.4.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ผลการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ ที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดัน แสดงในตารางที่ 4.10 และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.55 ถึง ข.60

ตารางที่ 4. 10 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

Treatment	Total phenolic content (mg gallic acid/g bean)			
	(As dry basis)	% Reduction	(As wet basis)	% Reduction
Mung bean				
None (raw)	5.69 ^a ±0.53	-	5.16 ^a ±0.26	-
Soaking	5.53 ^a ±0.35	2.81	2.12 ^b ±0.19	58.92
Steaming	4.15 ^b ±0.27	27.07	1.89 ^c ±0.15	63.37
Boiling	1.56 ^c ±0.08	72.58	0.82 ^d ±0.01	84.12
Pressure cooking	1.37 ^{cd} ±0.07	75.92	0.74 ^d ±0.01	85.66
Black bean				
None (raw)	4.73 ^a ±0.23	-	4.17 ^a ±0.16	-
Soaking	4.29 ^{ab} ±0.39	9.30	2.32 ^b ±0.14	44.37
Steaming	4.18 ^b ±0.25	11.63	1.95 ^c ±0.10	53.24
Boiling	1.77 ^c ±0.27	62.58	0.73 ^d ±0.09	82.49
Pressure cooking	1.57 ^c ±0.07	66.81	0.64 ^d ±0.02	84.65
Azuki bean				
None (raw)	7.83 ^a ±0.24	-	7.32 ^a ±0.25	-
Soaking	7.39 ^{ab} ±0.15	5.62	3.52 ^b ±0.12	51.91
Steaming	7.26 ^b ±0.04	7.28	3.35 ^b ±0.08	54.24
Boiling	2.85 ^d ±0.22	63.60	1.82 ^c ±0.06	75.17
Pressure cooking	2.53 ^c ±0.06	67.69	1.71 ^c ±0.01	76.64

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

จากตารางที่ 4.10 พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงในช่วงร้อยละ 62 ถึง 75 ในขณะที่วิธีการนึ่งส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเพียงร้อยละ 7 ถึง 27 การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นผลมาจากการสลายตัวด้วยความร้อน และเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกระหว่างการปรุงสุก (Julkunen-Tiitto, 1985) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนยังถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก ผลการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Xu and Chang (2008) ที่รายงานว่า การให้ความร้อนด้วยวิธีการต้มถั่วเขียว ในน้ำประปาเป็นเวลา 45 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ลดลงร้อยละ 70 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วเขียวดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Segev et al (2011) พบว่าการต้มเมล็ดถั่วลูกไก่ เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ Lopez et al. (2013) พบว่าการต้มถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 65 เมื่อเทียบกับถั่วแขกดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการปรุงสุกด้วยวิธีนี้ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงได้ประมาณร้อยละ 65 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของถั่ว และระยะเวลาในการปรุงสุก

Xu and Chang (2008) รายงานว่าการต้มถั่วดำในน้ำประปาเป็นเวลา 90 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง ($p \leq 0.05$) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกถูกชะออกไปกับน้ำในการปรุงสุก ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดถั่วดำที่ลดลงนั้นถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก และนอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุกคือ gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, vanillin และ chlorogenic acid

เมื่อพิจารณาผลในการบริโภคถั่วปรุงสุกในน้ำหนักที่เท่ากัน พบว่าการปรุงสุกส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันมีผลต่อการลดลงมากที่สุด ในขณะที่วิธีการนึ่ง ยังคงหลงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่มากที่สุด

4.4.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดัน แสดงในตารางที่ 4.11 และผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในตารางที่ ข.61 ถึง ข.66

ตารางที่ 4. 11 ผลของวิธีการปรุงสุกต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

Treatment	Total flavonoid content (mg catechin/g bean)			
	(As dry basis)	% Reduction	(As wet basis)	% Reduction
Mung bean				
None (raw)	4.93 ^a ±0.13	-	4.53 ^a ±0.15	-
Soaking	4.89 ^a ±0.25	0.81	2.12 ^b ±0.18	53.2
Steaming	4.05 ^b ±0.14	17.85	1.09 ^c ±0.19	75.94
Boiling	0.98 ^c ±0.02	80.12	0.52 ^d ±0.06	88.52
Pressure cooking	0.85 ^c ±0.05	82.76	0.43 ^d ±0.04	90.51
Black bean				
None (raw)	4.02 ^a ±0.23	-	3.56 ^a ±0.16	-
Soaking	3.78 ^{ab} ±0.39	5.97	1.99 ^b ±0.14	44.1
Steaming	3.58 ^b ±0.25	10.95	1.53 ^c ±0.10	57.02
Boiling	0.67 ^c ±0.07	83.33	0.56 ^d ±0.02	84.27
Pressure cooking	0.53 ^c ±0.27	86.82	0.48 ^d ±0.09	86.51
Azuki bean				
None (raw)	6.23 ^a ±0.17	-	5.97 ^a ±0.19	-
Soaking	5.98 ^{ab} ±0.24	4.01	2.75 ^b ±0.25	53.94
Steaming	5.12 ^b ±0.05	17.81	2.46 ^b ±0.02	58.79
Boiling	2.06 ^c ±0.04	66.93	1.38 ^c ±0.02	76.88
Pressure cooking	1.95 ^c ±0.18	68.7	1.15 ^c ±0.05	80.74

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วชนิดเดียวกัน

จากตารางที่ พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การต้ม การนึ่ง และการใช้หม้อ 4.11 อัดแรงดันส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิลลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงในช่วงร้อยละ ในขณะที่วิธีการนึ่งส่งผลให้ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงเพียงร้อยละ 86 ถึง 66 การลดลงของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็นผลมาจากการสลายตัวด้วยความร้อน และเกิดการ 17 ถึง 4 ละ) รวมตัวของฟลาโวนอยด์กับสารประกอบอื่นในเมล็ดถั่วระหว่างการปรุงสุก Fabbri and Crosbu, 2016(นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์บางส่วนยังถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก ผลการลดลงของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Akillioglu and Karakaya (2010) การปรุงสุกเมล็ดถั่วปิ่นโต) *Phaseolus vulgaris* ด้วยวิธีการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ ((Autoclave) อุณหภูมิ 121 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 องศาเซลเซียส ที่ความดัน (psi) อัตราส่วน 1:3 (w/v) เป็นเวลา นาที 50 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วปิ่นโตดิบ 47 ส่งผลให้ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง ผลการลดลงของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ (Xu and Chang 2009) พบว่าการต้มถั่วดำเป็นเวลา นาที 90 ส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงร้อยละ เมื่อเทียบ 70 กับเมล็ดถั่วดำดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ Segev et al (2011) พบว่าการนึ่งเมล็ดถั่วลูกไก่ เป็นเวลา 20 นาที ส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงร้อยละ 60 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้การลดลงของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดขึ้นกับชนิดของถั่ว และระยะเวลาในการปรุงสุก

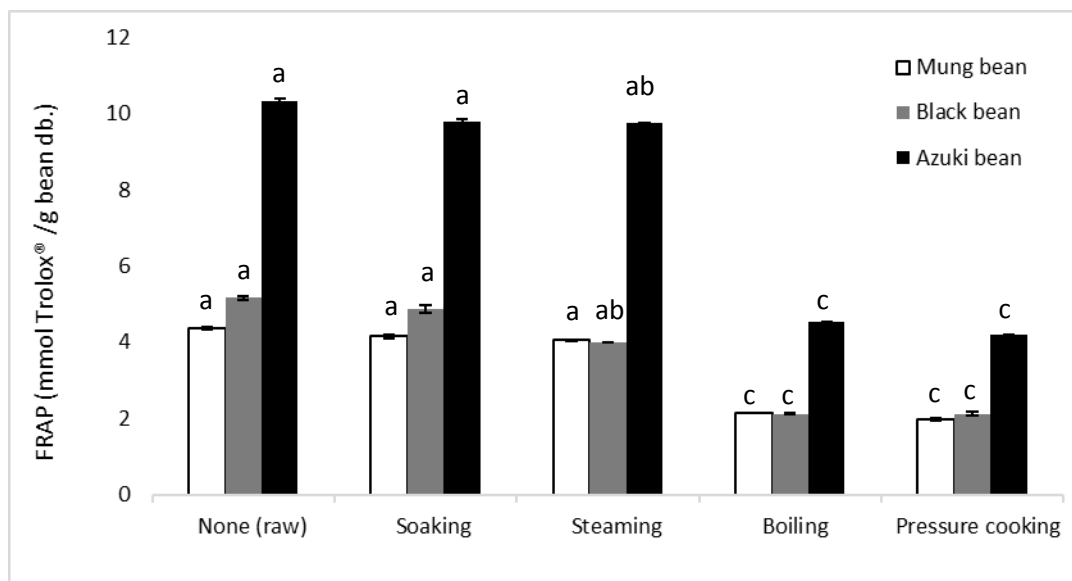
เมื่อพิจารณาผลในการบริโภคถั่วปรุงสุกในน้ำหนักที่เท่ากัน พบว่าการปรุงสุกส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักเปียก วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันมีผลต่อการลดลงมากที่สุด ในขณะที่วิธีการนึ่งยังคงหลงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่มากที่สุด

4.5 ผลของการปรุงสุกต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิ

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), DPPH radical scavenging activity และ Metal chelating activity ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดัน แสดงดังรูปที่ 4.7 ถึง 4.9

การปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่ การต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power, DPPH radical scavenging activity และ Metal chelating activity ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิลลดลงเมื่อเทียบกับ

เมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ซึ่งฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกด้วย โดยชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อกลไกการทำงานของ สารประกอบฟีนอลิก ในการต้านออกซิเดชันที่ต่างกัน (Pisoschi and Negulescu. 2012)



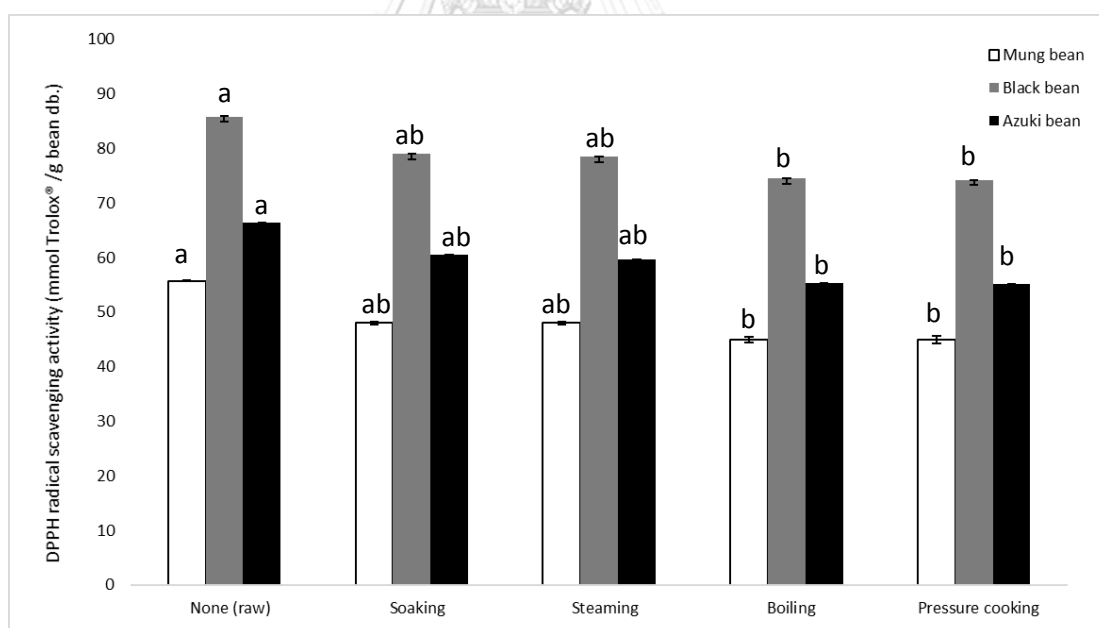
รูปที่ 4. 7 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ของ ถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power พบว่าถั่วอะซูกิมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP มากกว่าถั่วเขียว และถั่วดำ เนื่องจากถั่วต่างชนิดและสายพันธุ์จะมีปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน (Sritongtae et al., 2017) การปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP ของถั่วทั้งสามชนิดลดลงในทำนองเดียวกัน โดยวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิลดลงมากถึงร้อยละ 50 - 60 ในขณะที่วิธีการนึ่งส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิลดลงเพียงร้อยละ 5 - 10 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง การลดลงของ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสอดคล้องกับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ทั้งหมด ซึ่งวิธีการนึ่งเป็นวิธีการปรุงสุกที่ยังคงหลงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโ

นอยด์ทั้งหมดอยู่เยอะที่สุด แสดงให้เห็นว่าเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการนึ่งยังคงรักษาสารประกอบที่สำคัญที่มีคุณสมบัติการเป็นสารรีดิวซิงเอเจนต์ได้มากกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น ผลการทดลองของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP สอดคล้องกับ Segev et al (2011) พบว่าการต้มเมล็ดถั่วลูกไก่ เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP ลดลงร้อยละ 40 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Siah et al. (2014) พบว่าการต้มเมล็ดถั่วปากอ้า (*Vicia faba*) ในน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:10 (w/v) เป็นเวลา 5 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP ลดลงร้อยละ 70 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วปากอ้าดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Khang et al. (2016) รายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกชนิด benzoic acid, cinnamic acid และ ellagic acid มีสมบัติการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power เด่นที่สุด ซึ่งการปรุงสุกถั่วทำให้สารประกอบฟีนอลิกชนิดนี้เปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และถูกชะออกมากับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก จึงส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน FRAP ลดลง ($p < 0.05$)

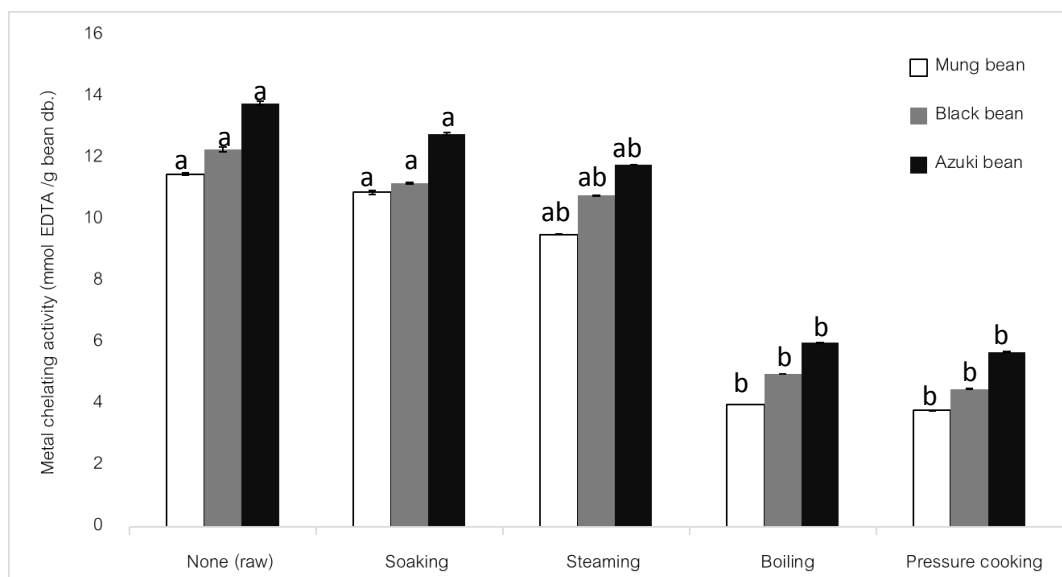


รูปที่ 4. 8 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity พบว่าถั่วดำมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH มากกว่าถั่วเขียว และถั่วอะซูกิ เนื่องจากถั่วต่างชนิดและสายพันธุ์จะมีปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน (Sritongtae et al., 2017) การปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH ของถั่วทั้งสามชนิดลดลงในทำนองเดียวกัน โดยวิธีการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ ลดลงในระดับใกล้เคียงกัน คือลดลงอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง แสดงให้เห็นว่าเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีมีความสามารถในการรักษาสารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระของ DPPH ได้ใกล้เคียงกัน ผลการลดลงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH เป็นไปทำนองเดียวกับ Xu and Chang (2008) ที่รายงานว่า การปรุงสุกถั่วดำด้วยวิธีการนึ่งเป็นเวลา 70 นาที และวิธีการต้มเป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ถั่วดำมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH ลดลงร้อยละ 20 และ 25 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับถั่วดำดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Silva et al. (2018) พบว่าการปรุงสุกถั่วแขกด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:3 (w/v) เป็นเวลา 10 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ลดลงเพียงร้อยละ 15 เมื่อเทียบกับถั่วแขกดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

Khang et al. (2016) รายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกชนิด sinapic acid มีสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity เด่นที่สุด และวิธีการปรุงสุกถั่วไม่ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกชนิดนี้ถูกชะออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก ทำให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ของถั่วที่ผ่านการปรุงสุกเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย



รูปที่ 4. 9 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity ของถั่วเขียว ถั่วดำ และ ถั่วอะซูกิ

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity พบว่าถั่วอะซูกิ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity มากกว่าถั่วเขียว และถั่วดำ เนื่องจากถั่วต่างชนิดและสายพันธุ์จะมีปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน (Sritongtae et al., 2017) การปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity ของถั่วทั้งสามชนิดลดลงในทำนองเดียวกัน โดยวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิลดลงมากถึงร้อยละ 55 - 70 ในขณะที่วิธีการนึ่งส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity ของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ ลดลงเพียงร้อยละ 10 - 20 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง แสดงให้เห็นว่าเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการนึ่งมีความสามารถในการรักษาสารสำคัญที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันด้วยกลไกการจับโลหะหนักมากกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น ผลการลดลงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity สอดคล้องกับ Niveditha and Sridhar (2014) พบว่าการปรุงสุกถั่วคัลล่า (*Canavalia maritima*) ด้วยวิธีการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) อัตราส่วน 1:3 (w/v) เป็นเวลา

45 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Metal chelating activity ลดลงร้อยละ 30 เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วคั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

จากการศึกษาผลของการปรุงสุกต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ พบว่าถั่วอะซูกิมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP และ Metal chelating activity มากกว่าถั่วเขียว และถั่วดำ แสดงให้เห็นว่าถั่วอะซูกิมีสารประกอบที่สำคัญที่มีคุณสมบัติการเป็นสารรีดิวซิงเอเจนต์ และสมบัติการเข้าจับโลหะหนักมากกว่าถั่วเขียว และถั่วดำ ในขณะที่ถั่วดำมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH มากกว่าถั่วเขียว และถั่วอะซูกิ แสดงให้เห็นว่าถั่วดำมีสารประกอบที่สำคัญที่มีคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระมากกว่าถั่วเขียว และถั่วอะซูกิ

การปรุงสุกทั้งสามวิธี ได้แก่วิธีการต้ม การนึ่ง และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP และ Metal chelating activity ของถั่วทั้งสามชนิดลดลงในทำนองเดียวกัน โดยวิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ถั่วมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย FRAP และ Metal chelating activity ลดลงกว่าวิธีการนึ่ง ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity ของถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีลดลงในระดับใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนึ่งเป็นวิธีที่แนะนำสำหรับการปรุงสุกเมล็ดถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ เนื่องจากวิธีการนึ่งเป็นวิธีที่สามารถรักษาสารประกอบที่สำคัญที่มีคุณสมบัติการเป็นสารรีดิวซิงเอเจนต์ สมบัติในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ และสมบัติการเข้าจับโลหะหนักได้ดีกว่าวิธีการปรุงสุกอื่น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิ โดยส่งผลให้ปริมาณโปรตีนหยาบ ไขมัน เยื่อใยหยาบ คาร์โบไฮเดรต พลังงาน สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาต่อน้ำหนักบริโภคที่เท่ากัน วิธีการนี้สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิไว้ได้มากกว่าวิธีการอื่น การเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีเกิดจากความร้อนและน้ำที่ใช้ในการปรุงสุกทำลายพันธะไฮโดรเจนภายในโครงสร้างของเมล็ดแบ่งทำให้เมล็ดแบ่งเกิดการแตกออก ผนังเซลล์ของเมล็ดถั่วถูกทำลาย โปรตีนบอดีที่ติดอยู่กับเมล็ดแบ่ง และแร่ธาตุจึงหลุดออกมา รวมถึงเมล็ดถั่วที่ผ่านการปรุงสุกมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มและยุ่ย เนื้อของเมล็ดถั่วที่อยู่ อาจจะถูกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก วิธีการต้มและการใช้หม้ออัดแรงดันที่มีน้ำเป็นตัวกลางในการให้ความร้อนจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการมากที่สุด นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เกิดการเปลี่ยนแปลงผ่านสองกลไกคือ เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อน และการรวมตัวของสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์กับสารประกอบอื่นในเมล็ดถั่ว

การปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ น้ำตาลราฟฟิโนส น้ำตาลสแตคีโอส และกรดไฟติกลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง กรดไฟติกเป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่กำจัดออกไปจากถั่วได้ยากกว่าน้ำตาลราฟฟิโนสและน้ำตาลสแตคีโอส วิธีการใช้หม้ออัดแรงดันสามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการออกไปจากถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิได้มากกว่าการปรุงสุกอื่น แต่อย่างไรก็ตามการปรุงสุกทั้งสามวิธีสามารถลดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (DPPH radical scavenging activity, Ferric reducing antioxidant power และ Metal chelating activity) ของถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะซูกิที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธี พบว่าการปรุงสุกทั้งสามวิธีส่งผลให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดิบ โดยน้ำหนักแห้ง วิธีการต้ม และการใช้หม้ออัดแรงดันส่งผลให้ถั่วมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric reducing antioxidant power และ Metal chelating activity ลดลงมากกว่าวิธีการนี้ สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งถั่วที่ผ่านการนี้

ยังคงหลงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่เยอะที่สุด ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity ของถั่วที่ผ่านการปรุงสุกทั้งสามวิธีลดลงในระดับใกล้เคียงกัน

เมื่อพิจารณาการบริโภคถั่วปรุงสุกในน้ำหนักรับประทานที่เท่ากัน ถั่วเขียว ถั่วดำ และถั่วอะชูกิที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการนี้สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการ และสมบัติการต้านออกซิเดชันในการกำจัดอนุมูลอิสระมากกว่าถั่วที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการอื่น นอกจากนี้วิธีการปรุงสุกด้วยวิธีการนี้ยังสามารถลดน้ำตาลราฟฟิโนส น้ำตาลสตาร์ซีโอส และกรดไฟติกของเมล็ดถั่วให้อยู่ในระดับต่ำได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับแนะนำวิธีการปรุงสุกถั่วในการบริโภค เพื่อยังคงรักษาคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันไว้ได้มากที่สุด และสามารถกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการออกไปจากถั่วได้ ซึ่งสำหรับบุคคลทั่วไป วิธีการนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่รักษาคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันไว้ได้มากที่สุด และสามารถลดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วให้อยู่ในระดับต่ำ แต่สำหรับบุคคลพิเศษ เช่น เด็กที่กำลังเจริญเติบโต อาจจะต้องคำนึงถึงการกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการออกไปให้ได้มากกว่านี้ ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมในการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการออกไปจากถั่ว นอกจากนี้ควรศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับชนิดของสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ เพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วที่ผ่านการปรุงสุก

บรรณานุกรม

- ไชยา เพ็งอ่อน. 2539. ถั่วและพืชคลุมดิน. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์เทคโนโลยีเพื่อสังคม.
- นันทวรรณ สโรบล 2547. ยกร่างแผนยุทธศาสตร์ถั่วเขียวปี 2547-2551. การประชุมวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติ ครั้งที่ 9
- วัชรวิทย์ หาญยิ่ง. 2549. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในกลไกของการเกิดมะเร็ง. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 34: 199-208
- สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร. 2555 ถั่วอะซูกิพันธุ์ปางดะ. แหล่งที่มา: http://doa.go.th/pvp/images/stories/indexpp2518/AnnoDOA_nameplant/t17.pdf
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2547. ถั่วเขียว: เนื้อที่ ผลผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ โดยรวมทประเทศไทย 2544-2546. แหล่งที่มา: <https://www.doae.go.th/data/rice/greenNut.pdf>
- Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M. A., Benítez, V., Mollá, E., López-Andréu, F. J., and Esteban, R. M. 2009. Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. Journal of Food Composition and Analysis. 22(7-8): 678-683.
- Akillioglu, H. G., and Karakaya, S. 2010. Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. Food Science and Biotechnology. 19(3): 633-639.
- Alajaji, S. A., and El-Adawy, T. A. 2006. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. Journal of Food Composition and Analysis. 19(8): 806-812.
- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis. 18th ed. Washington: The Association of Official Analytical Chemists.
- Atwater, W.O. and Benedict, F.G. 1902. Experiments on the Metabolism of Matter and Energy in the Human Body. pp. 1898-1900. US: Government Printing Office,

- Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuño, A., and Del Río, J. A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45(12): 4505-4515.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239: 70-76.
- Chuah, A. M., Lee, Y. C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L. J., and Matoba, T. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. Food Chemistry. 111(1): 20-28.
- de Almeida Costa, G. E., da Silva Queiroz-Monici, K., Reis, S. M. P. M., and de Oliveira, A. C. 2006. Chemical composition dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea common bean chickpea and lentil legumes. Food Chemistry. 94(3): 327-330.
- Duranti, M. 2006. Grain legume proteins and nutraceutical properties. Fitoterapia. 77(2): 67-82.
- Duke, J. 2012. Handbook of legumes of world economic importance. Springer Science and Business Media.
- Egounlety, M., and Aworh, O. C. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and ground bean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). Journal of Food Engineering. 56(2-3): 249-254.
- El-Adawy, T. A. 2002. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. Plant Foods for Human Nutrition. 57(1): 83-97.
- ElMaki, H. B., AbdelRahaman, S. M., Idris, W. H., Hassan, A. B., Babiker, E. E., and El Tinay, A. H. 2007. Content of antinutritional factors and HCl-extractability of minerals

from white bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars: Influence of soaking and or cooking. Food Chemistry. 100(1): 362-368.

Fabbri, A. D., and Crosby, G. A. 2016. A review of the impact of preparation and cooking on the nutritional quality of vegetables and legumes. International Journal of Gastronomy and Food Science. 3: 2-11.

France, B. and Martina, B. 2006 Legumes. In Franc, B. and Martina, B. Organic Production and Use of Alternative Crops. FL: CRC Press.

Frias, J., Vidal-Valverde, C., Sotomayor, C., Diaz-Pollan, C., and Urbano, G. 2000. Influence of processing on available carbohydrate content and antinutritional factors of chickpeas. European Food Research and Technology. 210(5): 340-345.

Howell, N. K., and Saeed, S. U. H. U. R. 1999. The effect of antioxidants on the production of lipid oxidation products and transfer of free radicals in oxidised lipid-protein systems. Antioxidants in Human Health and Disease. 43-54.

Ibrahim, S. S., Habiba, R. A., Shatta, A. A., and Embaby, H. E. 2002. Effect of soaking, germination, cooking and fermentation on antinutritional factors in cowpeas. Nahrung. 46(2): 92-95.

Jamdar, S. N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M. D., Juan, F., Yardi, V., and Sharma, A. 2010. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. Food Chemistry. 121(1): 178-184.

Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 33: 213-217.

Kaletunc, G., and Breslauer, K. J. 2003. Characterization of Cereals and Flours: Properties, Analysis and Applications. CRC Press.

- Kerr, R. W. 1950. (2nd Ed.). Chemistry and Industry of Starch. York, NY: Academic Press
New
- Khang, D., Dung, T., Elzaawely, A., and Xuan, T. 2016. Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. Foods. 5(2): 27.
- Khattab, R. Y. and Arntfield, S. D. 2009. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments. Food Science Technology. 42: 1113-1118.
- Khokhar, S., and Apenten, R. K. O. 2003. Antinutritional factors in food legumes and effects of processing. The Role of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries in Human Nutrition. 4: 82-116.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. and Becker, K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. Food Chemistry. 120(4): 945-959.
- Kutos, T., Golob, T., Kac, M., and Plestenjak, A. 2003. Dietary fibre content of dry and processed beans. Food Chemistry. 80(2): 231-235.
- Liener, I. (ed.). 2012. The Lectins: Properties Functions and Applications in Biology and Medicine. Minneapolis, US: Elsevier Academic Press.
- Lopez, A., El-Naggar, T., Dueñas, M., Ortega, T., Estrella, I., Hernández, T., and Carretero, M. E. 2013. Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chemistry. 138(1): 547-555.
- Makkar, H. P., Siddhuraju, P. and Becker, K. 2007. Plant Secondary Metabolites. Totowa, NJ, USA: Humana Press.
- Marconi, E., Ruggeri, S., Cappelloni, M., Leonardi, D., and Carnovale, E. 2000. Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(12): 5986-5994.

- Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., and Vidal-Valverde, C. 2008. Alpha-galactosides: antinutritional factors or functional ingredients. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 48(4): 301-316.
- McEwen, T. J., Dronzek, B. L., and Bushuk, W. 1974. scanning electron microscope study of fababean seed. Cereal Chemistry.
- Motomiya, G., and Ito, R. 1973. Domestic production, importation and utilization of food legumes and research organization in Japan. Tropical Agriculture Research Series.
- Mubarak, A. E. 2005. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. Food Chemistry. 89(4): 489-495.
- Nakitto, A. M., Muyonga, J. H., and Nakimbugwe, D. 2015. Effects of combined traditional processing methods on the nutritional quality of beans. Food Science and Nutrition. 3(3): 233-241.
- Niveditha, V. R., and Sridhar, K. R. 2014. Antioxidant activity of raw, cooked and *Rhizopus oligosporus* fermented beans of *Canavalia* of coastal sand dunes of Southwest India. Journal of Food Science and Technology. 51(11): 3253-3260.
- Nwokolo, E., and Smartt, J. (1996). (Eds.). Food and Feed from Legumes and Oilseeds. London, UK: Chapman and Hall.
- Omoikhoje, S.O., Aruna, M.B., and Bamgbose, A.M. 2009. Effect of cooking on some nutrient and antinutrient components of bambara groundnut seeds. Animal Science Journal. 80(1): 52-56.
- Raboy, V., and Dickinson, D. B. 1993. Phytic acid levels in seeds of *Glycine max* and *G. soja* as influenced by phosphorus status. Crop Science. 33(6): 1300-1305.
- Rachie, K. O. and Roberts, L. M. 1974. Grain legumes of the lowland tropics. Advances in agronomy. 26: 1-132

- Pernollet, J. C., and Mossé, J. 1983. Secondary structure prediction of seed storage proteins. International Journal of Peptide and Protein Research. 22(4): 456-463.
- Pisoschi, A. M., and Negulescu, G. P. 2012. Methods for total antioxidant activity determination: a review. Biochemistry and Analytical Biochemistry. 1(1): 1-10.
- Pueppke, S. G., Bauer, W. D., Keegstra, K. and Ferguson, A. L. 1978. Role of lectins in plant-microorganism interactions: II distribution of soybean lectin in tissues of *Glycine max* (L.) merr. Plant Physiology. 61(5): 779-784.
- Pusztai, A., Clarke, E. M., King, T. P. and Stewart, J. C. 1979. Nutritional evaluation of kidney beans (*phaseolus vulgaris*) chemical composition lectin content and nutritional value of selected cultivars. Journal of the Science of Food and Agriculture. 30(9): 843-848.
- Sangsukiam, T., and Duangmal, K. 2017. A comparative study of physico-chemical properties and antioxidant activity of freeze-dried mung bean (*Vigna radiata*) and adzuki bean (*Vigna angularis*) sprout hydrolysate powders. International Journal of Food Science and Technology. 52(9): 1971-1982.
- Sathe, S. K., Deshpande, S. S., Salunkhe, D. K. and Rackis, J. J. 1984. Dry beans of *phaseolus* a review part 1 chemical composition proteins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 20(1): 1-46.
- Segev, A., Badani, H., Galili, L., Hovav, R., Kapulnik, Y., Shomer, I., and Galili, S. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by soaking and cooking conditions. Food and Nutrition Sciences. 2(07): 724.
- Siah, S., Wood, J. A., Agboola, S., Konczak, I., and Blanchard, C. L. 2014. Effects of soaking, boiling and autoclaving on the phenolic contents and antioxidant activities of faba beans (*Vicia faba* L.) differing in seed coat colours. Food Chemistry. 142: 461-468.

- Silva, M. O., Brigide, P., Toledo, N. M. V. D., and Canniatti-Brazaca, S. G. 2018. Phenolic compounds and antioxidant activity of two bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) submitted to cooking. Brazilian Journal of Food Technology. 21.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: a review. Food Research International. 101: 1-16.
- 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.
- Turkmen, N., Sari, F., and Velioglu, Y. S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry. 93(4): 713-718.
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., and Gawalko, E. J. 2010. Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). Food Research International. 43(2): 589-594.
- Waterhouse, A. L. 2005. Polyphenolics. In Wrolstad, R. E., et al. (ed.), Handbook of Food Analytical Chemistry. pp. 461-470. London: Wiley Interscience.
- Whistler, Roy L., and James N. BeMiller. 1997. Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. AACC/Eagan Press.
- Xiao, J. and Kai, G. 2012 A review of dietary polyphenol-plasma protein interactions: characterization, influence on the bioactivity, and structure-affinity relationship. International Journal of Food Science and Nutrition. 52: 85-101.
- Xu, B., and Chang, S. K. 2008. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. Food Chemistry. 110(1): 1-13.

- Xu, B. J., & Chang, S. K. C. 2008. Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. Journal of Food Science. 73(2): 19-27
- Xu, B. and S. K. Chang 2008. Total Phenolic, Phenolic Acid, Anthocyanin, Flavan-3-ol, and Flavonol Profiles and Antioxidant Properties of Pinto and Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as Affected by Thermal Processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57(11): 4754-4764.
- Yang, J. H., Lin, H. C., and Mau, J. L. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. Food Chemistry. 77(2): 229-235.





ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2006)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนัก 2 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน
2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้อบลมร้อน โดยควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 105 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
3. นำตัวอย่างออกจากตู้อบและทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ทำการทดลองข้อ 2 และ 3 จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่
4. คำนวณหาปริมาณความชื้นโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}} \times 100$$

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2006)

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. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1.000 กรัม ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 41 ก่อนใส่ในหลอดย่อย (Kjeldahl flask)
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture) 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยในเครื่องย่อยโปรตีนจนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาลใส และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (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) ตามลงไปประมาณ 2 - 3 หยด แล้วนำมาเก็บสารที่ได้จากชุดกลั่น โดยให้ปลายท่อจากเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริกตลอดเวลา
5. นำสารละลายที่ย่อยได้ใส่ในเครื่องกลั่นเพื่อหาปริมาณไนโตรเจน โดยตั้งค่าเครื่องที่ภาวะการใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร (หรือจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีดำ) และตั้งเวลาในการกลั่น 6 นาที ให้ได้ปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร เครื่องจะทำการกลั่นจนสารละลายกรดบอริกเปลี่ยนเป็นสีเขียว
6. ล้างส่วนปลายท่อที่จุ่มในขวดรูปชมพู่ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (ทำ blank ทุกครั้งที่วิเคราะห์) และคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

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

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} \times 6.25$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

M คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (โมลาร์)

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ปริมาณเถ้าตามวิธีของ AOAC (2006)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งกรูชีเบลพร้อมฝาที่เผาและทิ้งให้เย็นแล้ว (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ในกรูชีเบลพร้อมฝา (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
3. นำกรูชีเบลที่บรรจุตัวอย่างไปเผาบนเตาจนได้เถ้าสีดำและหมดควัน
4. นำกรูชีเบลไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว
5. นำกรูชีเบลออกมาจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
6. คำนวณหาปริมาณเถ้าโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

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

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet extraction

วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet extraction ตามวิธีของ AOAC (2006)

สารเคมี

1. ปีโตรเลียม อีเทอร์

วิธีการทดลอง

1. อบขวดก้นกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ขนาด 250 มิลลิลิตร ในตู้อบลมร้อนแล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนัก 3 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บนกระดาษกรอง ท่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงใน thimble

3. นำ thimble ใส่ลงใน siphon arm ที่ต่อกับขวดกักกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน จากนั้นเติมตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์จำนวน 200 มิลลิลิตรลงไป แล้ววางบนเตาที่ต่อกับ condenser

4. ใช้เวลาในการสกัดไขมันประมาณ 2 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์กลั่นตัวจาก condenser ด้วยอัตรา 5-6 หยดต่อนาที

5. ระเหยตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

6. นำขวดหาปริมาณไขมันมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

7. นำขวดหาปริมาณไขมันออกมาจากตู้อบลมร้อน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

8. คำนวณหาปริมาณไขมันโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

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

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยหยาบ

วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยหยาบตามวิธีของ AOAC (2006)

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (w/w)
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/w)
3. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/w)
4. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนัก 5 กรัม (เทคนิค 4 ตำแหน่ง) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 จนถึงขีดบอกปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3. ต้มส่วนผสมจนเดือด แล้วต้มด้วยไฟอ่อนอีก 20 นาที ระวังส่วนผสมเดือดล้นออกมาในระหว่างการต้ม สังเกตปริมาณของส่วนผสม หากปริมาตรลดลงต่ำกว่าขีดบอกระดับ 200 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำกลั่นเดือดจนถึงขีด ระหว่างต้มคนด้วยแท่งแก้วที่มีปลายเป็นยางเป็นระยะๆ
4. นำส่วนผสมมากรองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้นบนกรวย Buchner ซึ่งวางบนพลาสติกที่ต่อกับปั๊มลม
5. ล้างกากตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นเดือดหลายครั้ง จนน้ำล้างที่ผ่านออกมาไม่เป็นกรดอีกต่อไป (ทดสอบความเป็นกรดของน้ำล้างที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัส)
6. นำกากตัวอย่างใส่กลับลงในบีกเกอร์ใบเดิม หากมีกากตัวอย่างติดอยู่ที่ผ้าขาวบาง ให้ชะออกด้วยน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย
7. เติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 50 มิลลิลิตร
8. เติมน้ำกลั่นต้มเดือดจนถึงขีดบอกระดับ 200 มิลลิลิตร
9. ต้มส่วนผสมจนเดือด แล้วต้มต่อด้วยไฟอ่อนอีก 20 นาที ระวังส่วนผสมเดือดล้นออกมาในระหว่างการต้ม สังเกตปริมาตรของส่วนผสม หากปริมาตรลดลงต่ำกว่าขีดบอกระดับ 200 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำกลั่นต้มเดือดให้ถึงขีด ระหว่างต้มคนด้วยแท่งแก้วที่มีปลายเป็นยางเป็นระยะๆ
10. นำส่วนผสมมากรองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้นบนกรวย bochner ซึ่งวางบนพลาสติกที่ต่อกับปั๊มลม
11. ล้างกากตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดหลายครั้ง จากนั้นชะด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดจนน้ำล้างที่ผ่านออกมาไม่เป็นกรดอีกต่อไป (ทดสอบความเป็นกรดของน้ำล้างที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัส)
12. ชะกากตัวอย่างด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 50 มิลลิลิตร
13. นำกากตัวอย่างใส่ลงในจานกระเบื้อง ออบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
14. นำจานกระเบื้องออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก (ห้กลับน้ำหนักของจานกระเบื้อง แล้วให้น้ำหนักของตัวอย่างขณะนี้ เป็นน้ำหนัก 1)

15. ชั่งกรูชิเบิลพร้อมฝาที่เผาและทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
16. นำกากตัวอย่างมาใส่ในกรูชิเบิลพร้อมฝาที่เผาและทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว นำไปเผาบนเตาจนได้ ถ้ำสีดำและหมดควัน
17. นำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้ถ้ำสีขาว
18. นำกรูชิเบิลออกจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก (หักลบน้ำหนัก ของกรูชิเบิล แล้วให้น้ำหนักของตัวอย่างขณะนี้เป็นน้ำหนัก 2)
19. นำน้ำหนัก 2 มาลบออกจากน้ำหนัก 1 น้ำหนักที่หายไปในระหว่างการเผาคือน้ำหนัก ของเยื่อใยหยาบ

ก.6 การวิเคราะห์ปริมาณ Total dietary fiber โดยวิธี enzymatic gravimetric method

วิเคราะห์ปริมาณ Total dietary fiber โดยวิธี enzymatic gravimetric method ตามวิธี ของ AOAC (2006)

สารเคมี

1. อะซีโตน
2. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 98
3. Phosphate buffer 0.08 โมลาร์ pH 6.0 โดยซึ่ง sodium phosphate dibasic, anhydrous (Na_2HPO_4) 1.400 กรัม (หรือ dihydrate 1.753 กรัม) และ sodium phosphate monobasic monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 9.68 กรัม (หรือ dihydrate 10.94 กรัม) ละลายด้วย น้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter เก็บในขวดสีชาและไว้ในตู้เย็น
4. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.325 โมลาร์
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.275 โมลาร์
6. Celite, acid-washed
7. เอนไซม์ 3 ชนิดได้แก่ Termamyl solution (heat stable α -amylase) Protease Amyloglucosidase หรืออาจใช้ชุดเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด (Sigma Chemical Co., Kit No. TDF-100 หรือเทียบเท่า)

การเตรียมตัวอย่าง

1. เตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการบดตัวอย่างโดยใช้เครื่อง cyclone mill แร่งผ่านตะแกรงขนาด 0.3-0.5 มิลลิเมตร
2. ชั่งตัวอย่าง 30 กรัม อบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ± 2 ชั่วโมง เก็บในภาชนะที่มีฝาปิด และเก็บในโถดูดความชื้นจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหาร
3. ชั่งตัวอย่างที่อบแล้วมา 0.5-1 กรัม จำนวน 2 ชุดในภาชนะย่อยตัวอย่าง (digestion flask) แต่ละชุดควรมีน้ำหนักต่างกันไม่เกิน 20 mg (ตัวอย่างที่มีไขมัน มากกว่าร้อยละ 10 และตัวอย่างอาหารผสม ให้สกัดไขมันออกโดยใช้ตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์สกัด 3 ครั้ง ครั้งละ 25 มิลลิลิตร)

วิธีการทดลอง

ทุกครั้งที่จะวิเคราะห์ตัวอย่างให้ทำ blank 2 ชุด ควบคุมไปด้วยทุกครั้งเพื่อตรวจวัดปริมาณ residue ใน reagent ซึ่งมีผลต่อค่า dietary fiber ในตัวอย่าง

1. ชั่ง celite ประมาณ 0.5 g จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ใน fritted crucible ที่เตรียมไว้อบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก
2. เติม phosphate buffer pH 6.0 (ที่วางไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนนำมาใช้) 50 มิลลิลิตร ลงใน digestion flask ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารละลายตัวอย่างเป็น 6.0 ± 0.2 เขย่าให้ตัวอย่างกระจายสม่ำเสมอ
3. เติม Termamyl solution (heat stable α - amylase) 0.1 มิลลิลิตร
4. บ่มตัวอย่างโดยนำ digestion flask ตั้งในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิของสารละลายใน digestion flask ถึง 95-100 องศาเซลเซียส (โดยปกติจะใช้เวลาในการบ่มทั้งหมดไม่เกิน 30 นาที ในระหว่างการบ่มให้เปิดระบบเขย่า digestion flask เบบ ๆ ทุก ๆ 5 นาที
5. ทิ้งให้ digestion flask เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง และนำมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.5 ± 0.2 โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.275 นอร์มัล 10 มิลลิลิตร

6. เติมเอนไซม์ protease 5 มิลลิกรัม แต่เนื่องจากเอนไซม์ protease ที่ใช้มีลักษณะเป็นผง และมักจะติดอยู่ที่ spatula ดังนั้นจึงเตรียมเป็นสารละลาย โดยชั่งเอนไซม์ protease 50 มิลลิกรัม ใส่ใน phosphate buffer 1 มิลลิลิตร แล้วปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ใน digestion flask แล้วฉีดยาล้าง ตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างภาชนะด้วยน้ำกลั่น

7. บ่มตัวอย่างในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิแบบมีระบบเขย่าต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (เริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิของสารละลายข้างใน digestion flask ถึง 60 องศาเซลเซียส) เปิดระบบเขย่าต่อเนื่องตลอดระยะเวลาในการบ่ม

8. ทิ้งให้สารละลายตัวอย่างใน digestion flask เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ระหว่าง 4 - 4.6 โดยเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.325 โมลาร์ ประมาณ 10 มิลลิลิตร

9. เติมสารละลาย amyloglucosidase 0.3 มิลลิลิตร ฉีดยาล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้างภาชนะด้วยน้ำกลั่น

10. บ่มตัวอย่างในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิแบบมีระบบเขย่าต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (เริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิของสารละลายใน digestion flask ถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส) เปิดระบบเขย่าต่อเนื่องตลอดระยะเวลาในการบ่ม

11. เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งอุ่นไว้แล้วที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปริมาตร 280 มิลลิลิตร หรือประมาณ 4 เท่าของสารละลายตัวอย่าง (วัดปริมาตรก่อนนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส) ใส่ใน digestion flask ทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

12. นำกรูชิเบล และ celite ที่ซั่งไว้แล้วมาทำให้ celite เรียบติดกับฐานของกรูชิเบลด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 10 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดฉีด (wash bottle) ลงบน celite เปิดระบบกรองสุญญากาศ

13. กรองสารละลายตัวอย่างใน digestion flask ที่ผ่านการตกตะกอนแล้วในข้อ 11 ลงในกรูชิเบลที่เตรียมไว้ในข้อ 12 ล้างตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 3 ครั้ง ครั้งละ 20 มิลลิลิตร และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 2 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิลิตร และอะซีโตน 2 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิลิตร ครั้งแรกของการล้างให้ฉีดยาล้างด้านข้างของ digestion flask เพื่อให้ residue ที่ติดอยู่ลงไปกรูชิเบลให้หมด

14. อบกรูชิเบลที่มี celite และ residue ที่ได้จากข้อ 13 ในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส หรือในตู้อบสุญญากาศอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสค้างคืน (ประมาณ 18 ชั่วโมง) แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก

15. นำ residue ชุดที่หนึ่ง มาหาปริมาณโปรตีนที่เหลือจากการย่อยด้วยเอนไซม์ (indigestible protein) โดยชุดที่ celite และ residue ใส่ลงในหลอดย่อยตัวอย่างขนาด 250 มิลลิลิตร แล้ววิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนใน residue โดยวิธี Kjeldahl

16. นำ residue ชุดที่สองหาปริมาณเถ้าโดยนำมาเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้กรูชิเบลเย็นลงต่ำกว่า 250 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำออกจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

การคำนวณ

การหาค่า Blank

$$B = \text{Blank (กรัม)} = RB - PB - AB$$

เมื่อ RB = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก residue ของ blank 2 ชุด (กรัม)

PB = น้ำหนักของโปรตีนใน residue ของ blank ชุดที่นำมาหาโปรตีน (กรัม)

AB = น้ำหนักของเถ้าใน residue ของ blank ชุดที่นำมาหาเถ้า (กรัม)

$$\text{Total Dietary Fiber (ร้อยละ)} = [(R - P - A - B) \times 100] / W$$

เมื่อ R = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก residue ของตัวอย่าง 2 ชุด (กรัม)

P = น้ำหนักโปรตีนใน residue ของตัวอย่าง ชุดที่นำมาหาโปรตีน (กรัม)

A = น้ำหนักเถ้าใน residue ของตัวอย่างชุดที่นำมาหาเถ้า (กรัม)

B = น้ำหนัก blank (กรัม)

W = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวอย่าง 2 ชุด (คำนวณเป็นน้ำหนักตัวอย่างที่ยังไม่อบแห้ง) (กรัม)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ก.7 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติก

วิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติกตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

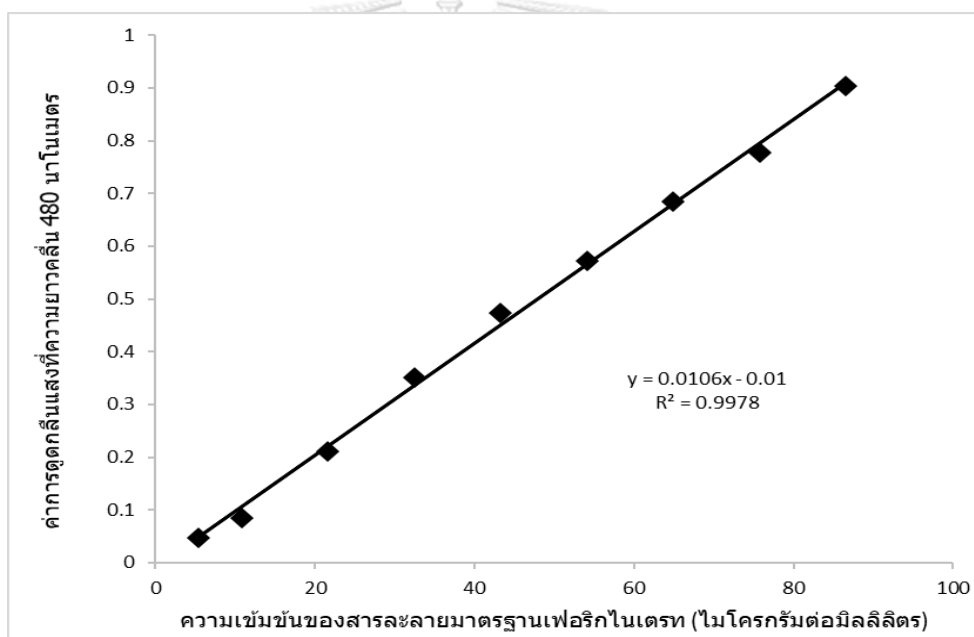
สารเคมี

1. โฟแทสเซียมไทโอไซยาเนต ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์
2. เฟอริกไนเตรท

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์ริกไนเตรท

1. ละลายเฟอร์ริกไนเตรท โดยสารละลายเฟอร์ริกไนเตรท มีความเข้มข้น 5, 10, 20, 30, 45, 55, 65, 75 และ 85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติก

2. ปิเปตสารละลายเฟอร์ริกไนเตรทในแต่ละความเข้มข้นจำนวน 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเฟอร์ริกไนเตรทและค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 . กราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์ริกไนเตรทที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติก

ก.8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส

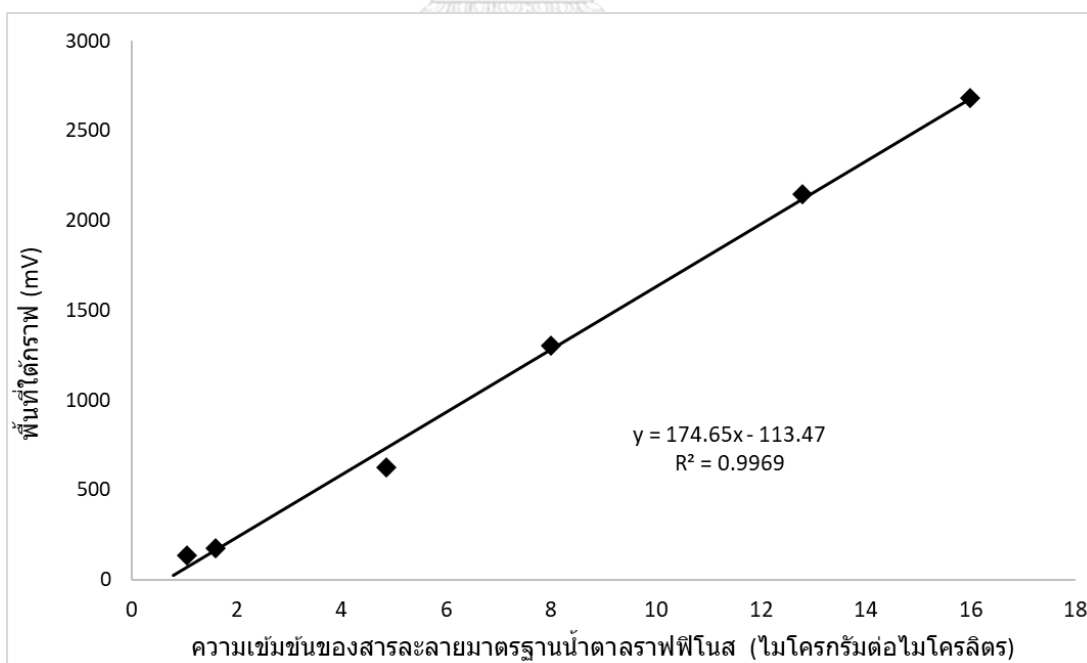
วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนสตามการดัดแปลงวิธีของ Aguilera et al. (2009)

สารเคมี

1. Acetonitrile
2. น้ำตาลราฟฟิโนส

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลราฟฟิโนส

ละลายน้ำตาลราฟฟิโนส โดยสารละลายน้ำตาลราฟฟิโนส มีความเข้มข้น 1.5, 1.8, 5, 8, 13 และ 16 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนสด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ (Lichrospher® รุ่น NH₂ HPLC Column, Darmstadt, Germany) ขนาด 4x250 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ใช้แบบ gradient elution ซึ่งเป็นการผสมระหว่าง 100% Acetonitrile และน้ำ Milli-Q และวัดสัญญาณของน้ำตาลราฟฟิโนสด้วยเครื่อง Evaporative light scattering detector แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลราฟฟิโนสและพื้นที่ใต้กราฟ แสดงดังรูปที่ ก.2



รูปที่ ก. 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลราฟฟิโนส

ก.9 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส

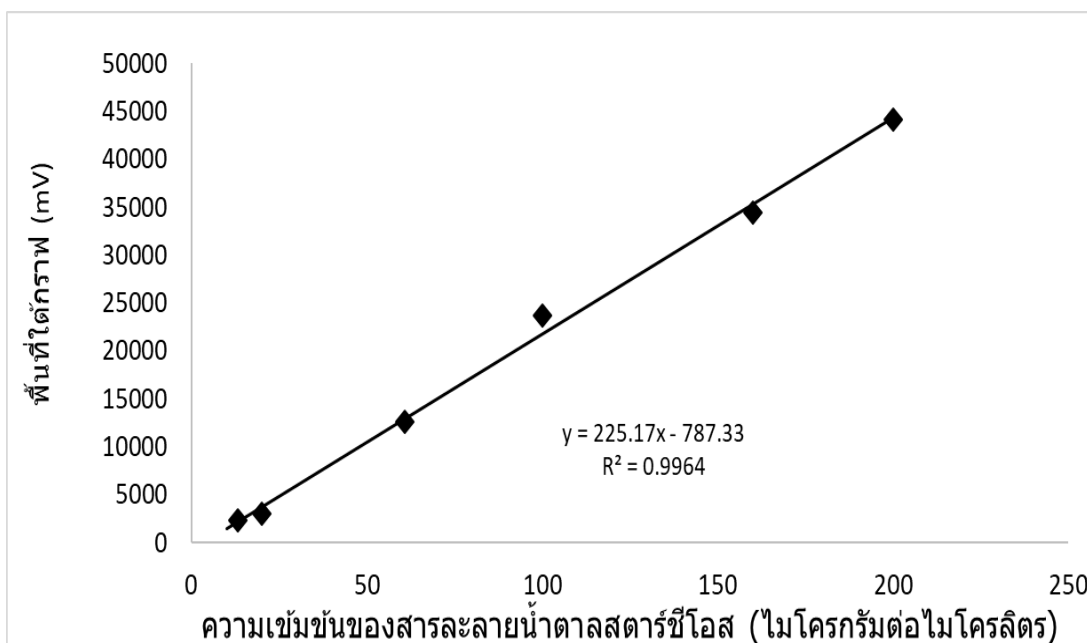
วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลสแตคิโอสตามการดัดแปลงวิธีของ Aguilera et al. (2009)

สารเคมี

1. Acetonitrile
2. น้ำตาลสแตคิโอสไอส

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลสแตคิโอส

ละลายน้ำตาลสแตคิโอส โดยสารละลายน้ำตาลสแตคิโอส มีความเข้มข้น 10, 20, 60, 10,160 และ 200 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลสแตคิโอสด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ (Lichrospher® รุ่น NH₂ HPLC Column, Darmstadt, Germany) ขนาด 4x250 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ใช้แบบ gradient elution ซึ่งเป็นการผสมระหว่าง 100% Acetonitrile และ น้ำ Milli-Q และวัดสัญญาณของน้ำตาลสแตคิโอสด้วยเครื่อง Evaporative light scattering detector แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลสแตคิโอสและพื้นที่ใต้กราฟ แสดงดังรูปที่ ก.3



รูปที่ ก.3 . กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลสแตคิโอส

ก.10 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu ตามการดัดแปลงวิธีของ Waterhouse (2005)

สารเคมี

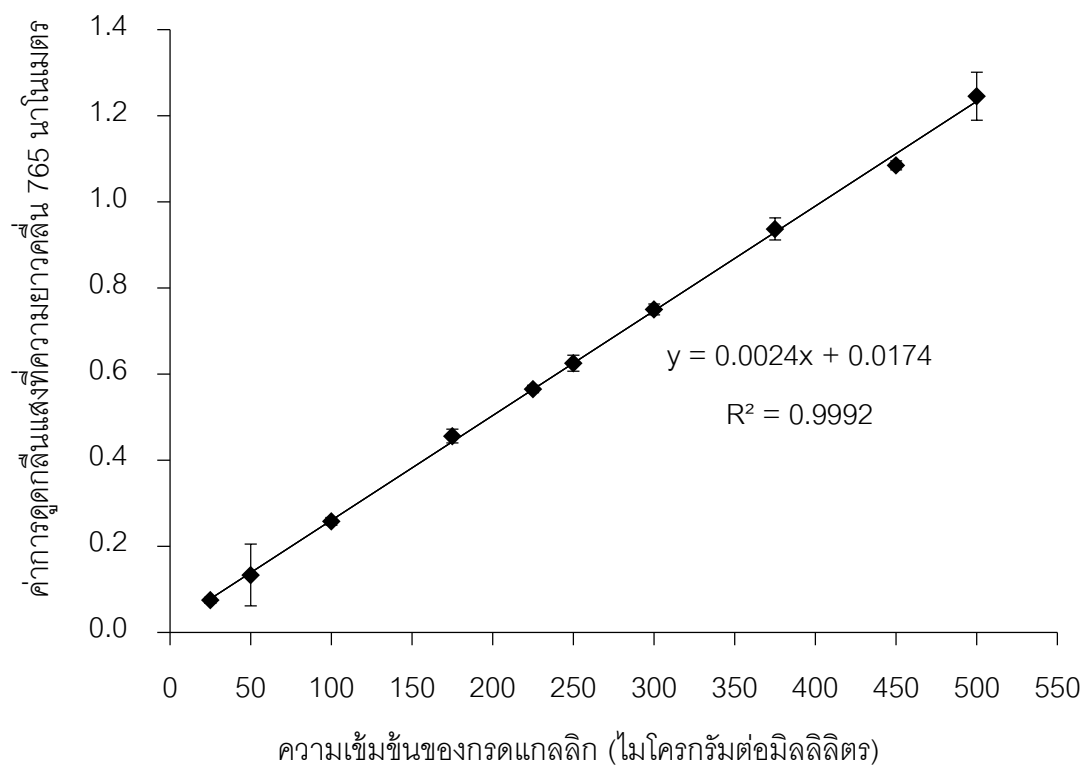
1. เมทานอล
2. โซเดียมคาร์บอเนต
3. Folin-Ciocalteu reagent
4. กรดแกลลิก (Gallic acid)

การเตรียมสารละลาย

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว โดยละลายโซเดียมคาร์บอเนตจำนวน 200 กรัม ในน้ำกลั่นจำนวน 800 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเก็บสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ปรับปริมาตรของสารละลายเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

1. ละลายกรดแกลลิก 0.5 กรัม ในสารละลายเมทานอลจำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกปริมาตร 0.5, 1, 2, 3.5, 4.5, 5, 6, 7.5, 9 และ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร โดยสารละลายกรดแกลลิกที่ได้จะมีความเข้มข้น 25, 50, 100, 175, 225, 250, 300, 450 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
3. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกในแต่ละความเข้มข้นจำนวน 200 ไมโครลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์
4. ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 7 มิลลิลิตร และสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 2 นอร์มัลจำนวน 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องประมาณ 4 นาที
5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวจำนวน 1.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
6. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังรูปที่ ก.4



รูปที่ ก4 . กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ก.11 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

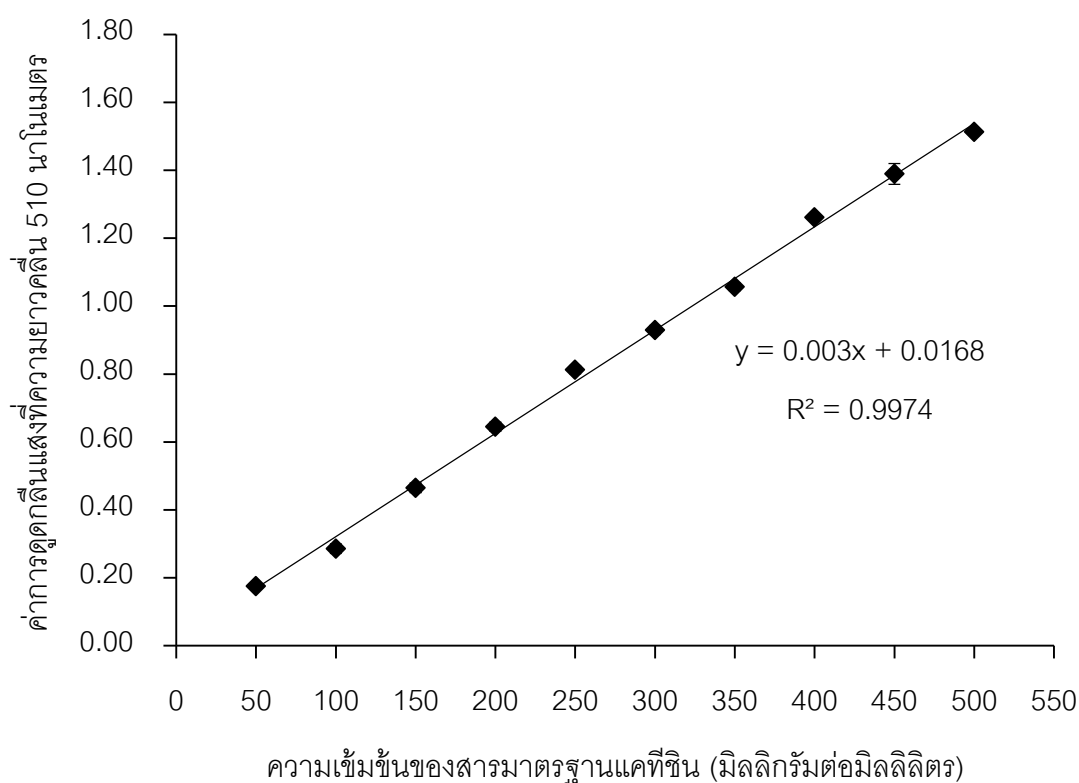
สารเคมี

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

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชิน

1. ละลายแคทีชินในน้ำกลั่น โดยสารละลายแคทีชินมีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 ไมโครกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

2. ปิเปตสารละลายแคทีซินจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 4 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
4. เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที
5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากัน
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีซินที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแคทีซินและค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังรูปที่ ก.5



รูปที่ ก5 . กราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีซินที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ก.12 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

วิเคราะห์ FRAP ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

สารเคมี

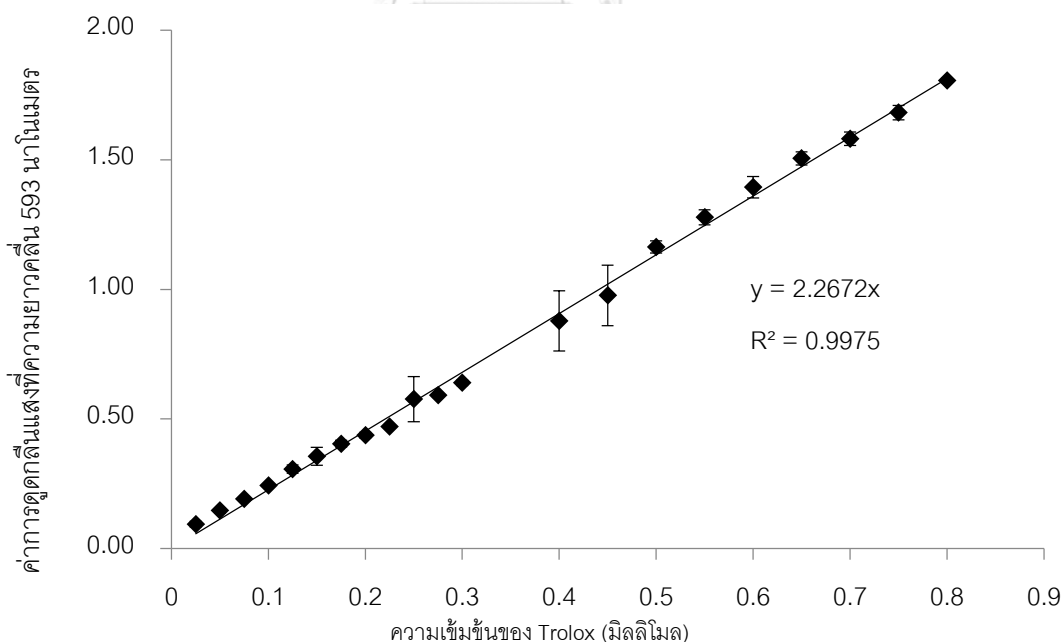
1. กรดอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 99.8
2. โซเดียมอะซีเตต
3. เพอริกคลอไรด์
4. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
5. 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 ละลายโซเดียมอะซีเตต 40.824 กรัม ในน้ำ 700 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ของสารละลายเป็น 3.6 ด้วยกรดอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 99.8 แล้วปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร
2. สารละลายเพอริกคลอไรด์ความเข้มข้น เข้มข้น 250 มิลลิโมลาร์ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ละลายเพอริกคลอไรด์ 0.3244 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 37 ปริมาตร 0.33 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร
4. สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ละลาย TPTZ 0.0312 กรัม ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ เป็น 10 มิลลิลิตร
5. สารละลาย FRAP (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตต 25 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเพอริกคลอไรด์ 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย TPTZ 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox

1. ละลาย Trolox 0.025 กรัม ในเมทานอล และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลาย Trolox ปริมาตร 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 และ 3.00 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรของสารละลายด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร สารละลาย Trolox มีความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 และ 3.00 มิลลิโมล ตามลำดับ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย FRAP
3. ปิเปตสารละลาย FRAP 1900 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
4. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Trolox ในแต่ละความเข้มข้น 100 ไมโครลิตร ตามลงไป ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังรูปที่ ก.6



รูปที่ ก.6 . กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย FRAP

ก.13 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity

วิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity 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)

การเตรียมสารละลาย

เตรียมสารละลาย DPPH 0.15 มิลลิโมลาร์ โดยละลาย DPPH 0.008 กรัม ในเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80 แล้วปรับสารละลายทั้งหมดด้วยเมทานอลเป็น 50 มิลลิลิตร

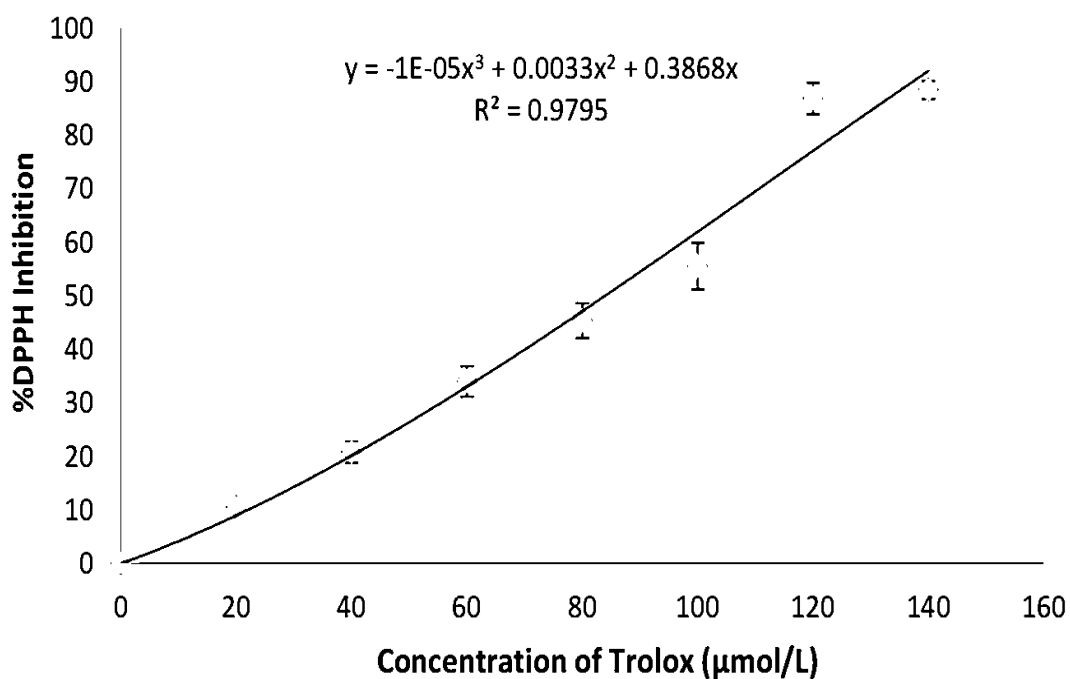
การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox

1. ละลาย Trolox ในเมทานอล โดยสารละลาย Trolox มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120 ไมโครโมลต่อลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity
2. ปิเปตสารละลาย Trolox ในแต่ละความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณ DPPH radical scavenging activity (%) ตั้งสมการ สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่า %DPPH inhibition ดังรูปที่ ก.7

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

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Trolox



รูปที่ ก7 . กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity

ก.14 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย Metal chelating activity

วิเคราะห์ Metal chelating activity โดยดัดแปลงวิธีของ Jamdar et al. (2010)

สารเคมี

1. เพอร์รัสคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 mM
2. เพอร์โรซีน ความเข้มข้น 5 mM
3. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน

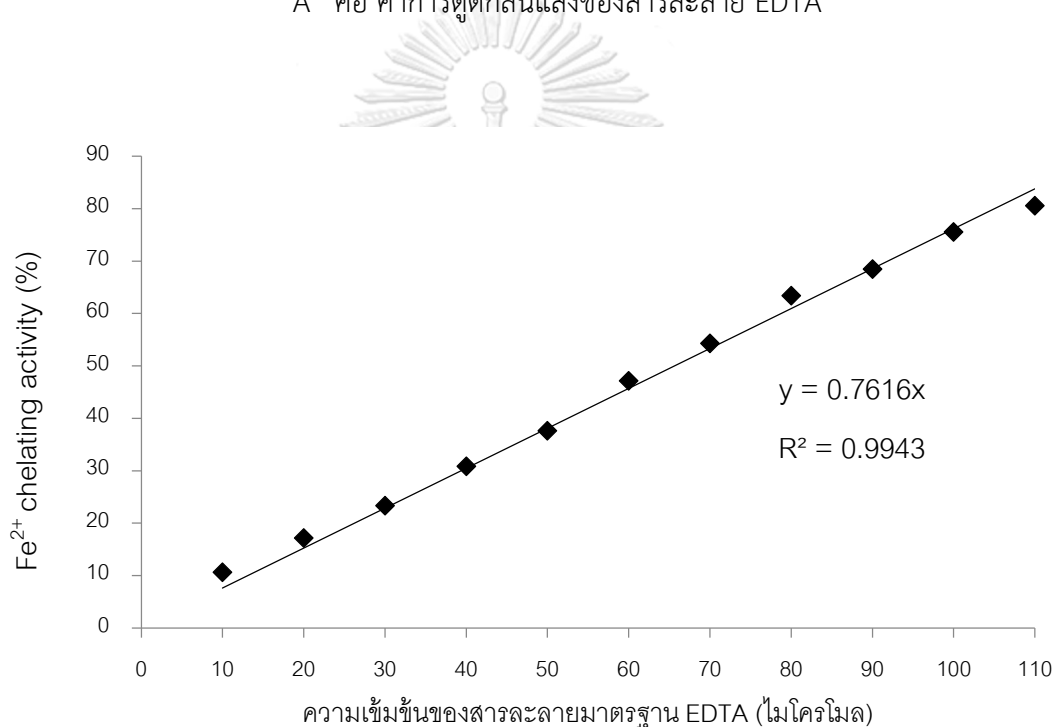
1. ปิเปตสารละลาย EDTA ในแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
2. ปิเปตสารละลายเพอร์รัสคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ 0.05 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 1.85 มิลลิลิตร และสารละลายเพอร์โรซีน (Ferozine) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ 0.1 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร คำนวณ %Fe²⁺chelating activity ตั้งสมการ สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน EDTA ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย EDTA และ %Fe²⁺chelating activity แสดงดังรูปที่ ก.8

$$\text{Fe}^{2+} \text{ chelating activity (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย control (blank)

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย EDTA



รูปที่ ก8 . กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน EDTA ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย Metal chelating activity

ภาคผนวก ข
ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางที่ ข 1 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	8199.456	4	2049.864	37.405	0.000
Error	548.020	10	54.802		
Total	8747.476	14			

ตารางที่ ข2 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	39.600	4	9.900	9.900	0.002
Error	10.000	10	1.000		
Total	49.600	14			

ตารางที่ ข3 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	9.063	4	2.266	676.700	0.000
Error	0.33	10	0.003		
Total	9.096	14			

ตารางที่ ข4 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	0.01	4	0.00	0.828	0.537
Error	0.02	10	0.00		
Total	0.03	14			

ตารางที่ ข5 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณเยื่อใยดิบ โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	0.00	4	0.00	0.106	0.978
Error	0.02	10	0.00		
Total	0.02	14			

ตารางที่ ข6 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	90.644	4	22.661	52.180	0.000
Error	4.343	10	0.434		
Total	94.987	14			

ตารางที่ ข7 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	5031.600	4	1257.900	1275.900	0.000
Error	10.000	10	1.000		
Total	5041.600	14			

ตารางที่ ข8 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	125.067	4	31.267	93.800	0.000
Error	3.333	10	0.333		
Total	128.400	14			

ตารางที่ ข9 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2.663	4	0.666	76.808	0.000
Error	0.872.	10	0.009		
Total	2.749	14			

ตารางที่ ข10 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	0.001	4	0.000	1.132	0.695
Error	0.001	10	0.000		
Total	0.002	14			

ตารางที่ ข11 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณเยื่อไผ่ โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	0.018	4	0.005	0.384	0.816
Error	0.120	10	0.012		
Total	0.138	14			

ตารางที่ ข12 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	75.614	4	18.903	71.805	0.000
Error	2.633	10	0.263		
Total	78.246	14			

ตารางที่ ข13 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณความชื้น โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	4466.400	4	1116.600	1116.600	0.000
Error	10.000	10	1.000		
Total	48.400	14			

ตารางที่ ข14 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	48.400	4	12.100	36.300	0.000
Error	3.333	10	0.333		
Total	51.733	14			

ตารางที่ ข 15 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	5.766	4	1.442	508.765	0.000
Error	0.28	10	0.003		
Total	5.794	14			

ตารางที่ ข16 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	21000.167	4	5250.042	0.879	0.510
Error	59701.667	10	5970.167		
Total	80701.833	14			

ตารางที่ ข17 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณเยื่อไผ่ โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	0.004	4	0.001	0.300	0.871
Error	0.033	10	0.003		
Total	0.37	14			

ตารางที่ ข18 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	99.681	4	24.920	32.759	0.000
Error	7.607	10	0.761		
Total	107.288	14			

ตารางที่ ข19 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	540.215	4	135.054	217.038	0.000
Error	6.223	10	0.622		
Total	546.438	14			

ตารางที่ ข 20 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	17.815	4	4.454	953.004	0.000
Error	0.4047	10	0.005		
Total	17.862	14			

ตารางที่ ข21 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2.604	4	0.651	1319.730	0.000
Error	0.005	10	0.000		
Total	2.609	14			

ตารางที่ ข22 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณ dietary fiber โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	5.314	2	2.657	120.583	0.01
Error	0.066	3	0.022		
Total	5.380	5			

ตารางที่ ข23 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	1942.461	4	485.615	6561.777	0.000
Error	0.740	10	0.74		
Total	1943.201	14			

ตารางที่ ข24 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อพลังงานทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	66162.927	4	16540.732	21071.533	0.000
Error	7.850	10	0.785		
Total	66170.777	14			

ตารางที่ ข25 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	309.936	4	77.484	17.830	0.000
Error	52.247	10	5.225		
Total	362.183	14			

ตารางที่ ข26 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	13.658	4	3.414	2179.453	0.000
Error	0.016	10	0.002		
Total	13.674	14			

ตารางที่ ข27 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2.445	4	0.611	2865.047	0.000
Error	0.002	10	0.000		
Total	2.447	14			

ตารางที่ ข28 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณ dietary fiber โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	1.049	2	0.525	10.024	0.047
Error	0.157	3	0.052		
Total	1.206	5			

ตารางที่ ข 29 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2110.639	4	527.660	60.327	0.000
Error	87.467	10	8.747		
Total	2198.105	14			

ตารางที่ ข30 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อพลังงานทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	65712.062	4	16428.015	1881.073	0.000
Error	87.333	10	8.733	0.00	
Total	65712.062	14			

ตารางที่ ข31 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณโปรตีนหยาบ โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	65.727	4	16.432	220.286	0.000
Error	0.746	10	0.75		
Total	66.473	14			

ตารางที่ ข32 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณเถ้า โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	5.697	4	1.424	53.101	0.000
Error	0.268	10	0.27		
Total	5.965	14			

ตารางที่ ข33 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณไขมัน โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2.449	4	0.612	13117.000	0.000
Error	0.000	10	0.000		
Total	2.449	14			

ตารางที่ ข34 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณ dietary fiber โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	5.459	2	2.730	27.110	0.012
Error	0.302	3	0.101		
Total	5.761	5			

ตารางที่ ข35 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	1923.096	4	480.774	26699.772	0.000
Error	0.180	10	0.018		
Total	1923.276	14			

ตารางที่ ข36 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อพลังงานทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	66240.890	4	16560.222	50338.083	0.000
Error	3.290	10	0.329		
Total	66244.180	14			

ตารางที่ ข37 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	1470.675	4	367.669	5.990	0.000
Error	3613.848	10	61.385		
Total	2084.522	14			

ตารางที่ ข38 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	373.957	4	93.489	351.507	0.000
Error	2.660	10	0.266		
Total	376.617	14			

ตารางที่ ข39 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวอะซูกิต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	400.400	4	100.100	300.300	0.000
Error	3.333	10	0.333		
Total	403.733	14			

ตารางที่ ข40 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	3231.578	4	807.895	3511.974	0.000
Error	2.300	10	0.230		
Total	3233.879	14			

ตารางที่ ข41 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	3171.600	4	792.900	2378.700	0.000
Error	3.333	10	0.333		
Total	3174.933	14			

ตารางที่ ข. 42 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณกรดไฟติก โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	3090.454	4	772.613	1641.762	0.000
Error	4.706	10	0.471		
Total	3095.160	14			

ตารางที่ ข43 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	409.937	3	102.484	1113.960	0.000
Error	0.920	8	0.092		
Total	410.857	11			

ตารางที่ ข44 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	134.400	3	33.600	100.800	0.000
Error	3.333	8	0.333		
Total	137.733	11			

ตารางที่ ข 45 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส โดย น้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	178.305	3	44.576	2054.205	0.000
Error	0.217	8	0.022		
Total	178.522	11			

ตารางที่ ข46 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส โดย น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	1639.749	3	409.937	257.361	0.000
Error	3.680	8	0.368		
Total	1643.429	11			

ตารางที่ ข47 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส โดย น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	537.600	3	134.400	100.800	0.000
Error	13.333	8	1.333		
Total	550.933	11			

ตารางที่ ข48 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณน้ำตาลราฟฟิโนส โดย น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	749.135	3	187.284	2105.888	0.000
Error	0.889	8	0.089		
Total	750.024	11			

ตารางที่ ข49 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส โดย
น้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	640.527	3	160.132	113.960	0.000
Error	1.437	8	0.144		
Total	641.965	11			

ตารางที่ ข50 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวดำต่อปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส โดย
น้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	210.000	3	52.500	100.800	0.000
Error	5.208	8	0.521		
Total	215.208	11			

ตารางที่ ข51 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกอะชูกิตต่อปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส โดย
น้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	604.299	3	151.075	1515.193	0.000
Error	0.997	8	0.100		
Total	605.296	11			

ตารางที่ ข52 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวเขียวต่อปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส โดย
น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	4329.963	3	1082.491	6.781	0.038
Error	9.718	8	0.972		
Total	4339.681	11			

ตารางที่ ข53 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส โดย
น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	1419.600	3	354.900	100.800	0.000
Error	35.208	8	3.521		
Total	1454.808	11			

ตารางที่ ข54 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณน้ำตาลสแตคิโอส โดย
น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	659.577	3	164.894	2159.055	0.000
Error	0.764	8	0.076		
Total	660.341	11			

ตารางที่ ข55 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก
ทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	7404.493	4	1851.123	1113.960	0.000
Error	16.618	10	1.662		
Total	7421.111	14			

ตารางที่ ข 56 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก
ทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2427.600	4	606.900	100.800	0.000
Error	60.208	10	6.021		
Total	2487.808	14			

ตารางที่ ข57 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	77.052	4	19.263	255.342	0.000
Error	0.754	10	0.75		
Total	77.806	14			

ตารางที่ ข58 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วเขียวต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2832.375	4	708.094	480.064	0.000
Error	14.750	10	1.475		
Total	2847.125	14			

ตารางที่ ข59 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	7560.000	4	1890.000	100.800	0.000
Error	187.500	10	18.750		
Total	7747.500	14			

ตารางที่ ข60 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วอะซูกิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยน้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	50.806	4	12.587	176.038	0.000
Error	50.347	10	0.072		
Total	0.715	14			

ตารางที่ ข61 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดย น้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	2860.983	4	715.246	175.902	0.000
Error	40.662	10	4.066		
Total	2901.645	14			

ตารางที่ ข62 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดย น้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	4510860.000	4	1127715.000	84.189	0.000
Error	133950.000	10	13395.000		
Total		14			

ตารางที่ ข 63 .การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวอะซูกิต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยน้ำหนักแห้ง

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	22.530	4	5.633	113.804	0.000
Error	0.495	10	0.049		
Total	23.025	14			

ตารางที่ ข64 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกข้าวต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดย น้ำหนักเปียก

SOV	Sum of Squarer	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	4542.709	4	1135.677	196.044	0.000
Error	57.930	10	5.793		
Total	4600.639	14			

ตารางที่ ข65 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกถั่วดำต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดย
น้ำหนักรับ

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	330874.502	4	82718.626	84.190	0.000
Error	9825.204	10	982.520		
Total	340699.706	14			

ตารางที่ ข66 . การวิเคราะห์ความแปรปรวนของวิธีการปรุงสุกอะชูกิต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดย
น้ำหนักรับ

SOV	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Cooking methods	23.385	4	5.846	121.714	0.000
Error	0.480	10	0.048		
Total	23.866	14			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายกิตติศักดิ์ ปานทอง
วัน เดือน ปี เกิด	23 เมษายน 2536
สถานที่เกิด	จังหวัดกระบี่
วุฒิการศึกษา	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย
ที่อยู่ปัจจุบัน	59/322 ซอยสวนหลวง แขวงบางค้อ เขตจอมทอง กรุงเทพมหานคร
ผลงานตีพิมพ์	กิตติศักดิ์ ปานทอง และ เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2562. ผลของการปรุงสุกต่อองค์ประกอบทางเคมี กรดไฟติก และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วดำ. ในการประชุมทางวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย ครั้งที่ 8. วันที่ 24-25 มกราคม 2562 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา.