รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2555

โครงการวิจัยรหัส ร-ม 23.55

โครงการ อิทธิพลของการแปรรูปถั่วเหลืองเพาะงอกต่อการดูดซึมธาตุเหล็กและความสามารถในการย่อยโปรตีน
(Influence of processing on *In vitro* iron bioavailability and protein digestibility of germinated soybean)

ศิริพร ตันจอ[(1)] วนิดา เทวารุทธิ์ ชิติสรรค์กุล [(1)] สมจิต อ่อนเหม[(1)] และเนตรนภิส วัฒนสุชาติ[(1)]
Siriporn Tanjor[(1)] Wanida Tewaruth Chitisankul[(1)] Somchit Onhem[(1)] and Nednapis Watanasuchat[(1)]

บทคัดย่อ

การเพาะงอกเป็นกระบวนที่เกิดขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช ส่งผลให้สารต่างๆ ที่อยู่ในเมล็ดพืชเปลี่ยนไปเพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโต ถั่วเหลืองเป็นแหล่งของสารอาหารที่ดี แต่การนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์มีข้อจำกัดเนื่องจากมีสารต้านโภชนาการ ได้แก่ สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและสารไฟเตท วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของการเพาะงอกถั่วเหลืองที่เวลาต่างๆ กัน (0, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง) ต่อการเปลี่ยนแปลงของสารอาหาร สารต้านโภชนาการ รวมทั้งทดสอบคุณภาพของสารอาหารที่สามารถดูดซึมได้ในหลอดทดลอง และศึกษาอิทธิพลของการแปรรูปอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและคุณภาพของสารอาหารในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเพาะงอก ผลการศึกษาพบว่า การเพาะงอกถั่วเหลืองไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ขณะที่ปริมาณเถ้าหรือแร่ธาตุรวม ไขมัน และสารต้านโภชนาการโดยเฉพาะสารไฟเตทลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การประเมินค่าความสามารถในการดูดซึมสารอาหารได้ในหลอดทดลองเป็นการเปรียบเทียบปริมาณสารอาหารที่ย่อยได้กับปริมาณสารอาหารทั้งหมดแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าความสามารถในการย่อยโปรตีนในแต่ละเวลาที่ใช้ในการเพาะงอกไม่เปลี่ยนแปลง คิดเป็น 62-68 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณธาตุเหล็กในถั่วเหลืองเพาะงอกนาน 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณธาตุเหล็กย่อยได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองที่ไม่เพาะงอก ส่งผลให้ค่าความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กเพิ่มขึ้นจาก 7 เป็น 17 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำถั่วเหลืองเพาะงอกมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองและถั่วเหลืองอบแห้ง พบว่าการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนที่สูงกว่าจะสามารถลดสารประกอบไฟเตทได้ดีกว่า ซึ่งย่อมส่งผลดีต่อความสามารถในการดูดซึมแร่ธาตุได้ดีขึ้น หากถั่วเหลืองมีการเพาะงอกก่อนนำมาผลิตอาหารก็จะสามารถลดปริมาณสารไฟเตทได้อีก 28 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การงอกของเมล็ดไม่มีผลต่อความสามารถในการย่อยโปรตีน (46-48 เปอร์เซ็นต์ ในถั่วเหลืองอบแห้งและ 64-69 เปอร์เซ็นต์ ในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง)

คำสำคัญ: การเพาะงอก, ถั่วเหลือง, สารต้านโภชนาการ, ความสามารถในการย่อยโปรตีน, ความสามารถในการดูดซึมแร่ธาตุ

[(1)] *(ภาษาไทย) ฝ่ายโภชนาการและสุขภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร*
(ภาษาอังกฤษ) Division of Nutrition and Health, Institute of Food Research and Product Development

ABSTRACT

Germination is a process that occurs during the growth period of seeds and affects their composition since these components are used for growth. Soybeans are a good source of nutrients. However, the utilities of soybeans are limited because of the anti-nutritional factors such as trypsin inhibitor and phytate. The objective of this study was to evaluate the effect of germination on the nutritional composition of soybeans at different times (for 8, 16 and 24 hours). The changes of *In vitro* iron bioaccessibility and protein digestibility in soybean processing after germination and processing were evaluated. The results showed that the germination of soybeans had no significant effect upon total carbohydrates and protein. The mineral contents by means of ash contents, total fat and anti-nutritional factors, especially phytate content, were significantly decreased. *In vitro* bioaccessibility of some nutrients found that the proportion of protein digestibility shows no difference by 62-68 percent. The amount of iron content after germination for 24 hours was increased, resulting in the bioaccessibility of iron increasing from 7 to 17 percent. The effects of processing, soy milk and soybean drying found that cooking at high temperatures can further reduce the phytate content leading to improved iron absorption. The germination of the soybean before cooking can further reduce the amount of phytate by 28 percent, while the ability to digest protein was not changed (46-48 percent in soy milk and 64-69 percent in drying soybeans).

Keywords: Germination; Soybeans; Anti-nutrients; Protein digestibility; *In vitro* bioaccessibility

1. บทนำ

นอกจากเนื้อสัตว์ ไข่ และนมจะเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพแล้ว ถั่วเมล็ดแห้งก็เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่สำคัญและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของผู้ที่รักสุขภาพ จากข้อมูลการบริโภคอาหาร พบว่า คนไทยบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ได้แก่ เต้าหู้หลอด/ไข่ไก่ หรือเต้าหู้เหลือง/ขาว ปริมาณ 70-135 กรัมต่อคนต่อวัน เมื่อเทียบกับการบริโภคเนื้อสัตว์ (สุก) ปริมาณ 25-40 กรัมต่อวัน และบริโภคน้ำนมถั่วเหลืองที่ 300 กรัมต่อวัน [1] ถั่วเหลืองจึงเป็นหนึ่งในกลุ่มถั่วเมล็ดแห้งที่ได้รับการขนานนามเป็นว่า "ราชาแห่งถั่ว" ที่นิยมรับประทานเพื่อสุขภาพและสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารได้หลากหลาย [2] และถั่วเหลืองยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่ดี ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตและกรดไขมันจำเป็นชนิดที่มีคุณภาพ ทั้งกรดไขมันไลโนเลนิกและลิโนเลอิกที่เหมาะสม วิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญสูง ได้แก่ วิตามินบี วิตามินซี แคลเซียมและธาตุเหล็ก แต่เนื่องจากองค์ประกอบของพืชที่มีปัจจัยหลายอย่างที่ส่งผลต่อการดูดซึมได้หรือชีวภาพความพร้อมของสารอาหาร (bioaccessibility) ร่างกายจึงไม่สามารถนำสารอาหารต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ [3] ประชากรในประเทศที่กำลังพัฒนาส่วนใหญ่ รวมทั้งประเทศไทย บริโภคโปรตีนและธาตุเหล็กจากพืชเป็นสำคัญซึ่งร่างกายสามารถย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ไม่ถึงครึ่งหนึ่งของคุณภาพโปรตีนและธาตุเหล็กที่ได้รับจากกลุ่มเนื้อสัตว์ ส่งผลให้ประชากรบางส่วนยังคงได้รับสารอาหารที่ไม่เพียงพอ เกิดภาวะขาดสารอาหาร เช่น ร่างกายขาดโปรตีนและเกิดโรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก (Iron Deficiency Anemia) เป็นต้น ผลเสียที่ตามมาคือ ทำให้ร่างกายอ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย มีผลกระทบต่อการทำกิจกรรมต่างๆ การเรียนรู้ และการทำงาน [4, 5]

การปรับปรุงคุณภาพของสารอาหารหรือประสิทธิภาพของความสามารถในการละลายและการดูดซึมได้ของสารอาหารนั้น (bioaccessibility) พบว่าสามารถเปลี่ยนแปลงได้จากการเตรียมวัตถุดิบและแปรรูปอาหารซึ่งเกิดจากขั้นตอนดังกล่าวเข้าไปทำลายหรือลดหรือกระตุ้นเอนไซม์ของปฏิกิริยาชีวเคมีในเมล็ดพืช เช่น เอนไซม์-อะไมเลส เอนไซม์กลูโคซิเดรส โปรติเอสและเอนไซม์ไฟเตท การเตรียมวัตถุดิบและปรุงประกอบอาหาร ได้แก่ การแช่น้ำ การเพาะงอก การให้ความร้อนและกระบวนการหมัก พบว่าสามารถลดปริมาณสารประกอบของพืชที่ส่งผลต่อการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ จากกระบวนการงอกของเมล็ดพืชเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ใหม่ เกิดการย่อยสลายและการลำเลียงสารอาหารที่เก็บสะสมไว้เพื่อนำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโต หลายงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้งหลายชนิดที่ผ่านกระบวนการเพาะงอกนั้น มีผลต่อการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการที่ดีและเป็นวิธีที่สามารถทำได้ไม่ยุ่งยาก มีรายงานการศึกษา พบว่า การเพาะงอกถั่วเหลืองส่งผลดีต่อปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ในเมล็ด ได้แก่ ปริมาณและคุณภาพของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ปริมาณไขมันและกรดไขมันชนิดต่างๆ วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ได้แก่ วิตามินบี 1, บี 2 ไนอะซิน รวมทั้งเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีโนลิกและสาร GABA (gamma-amino butyric acid) เป็นต้น และลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและสารไฟเตทซึ่งเป็นสารยับยั้งการดูดซึมสารอาหาร และลดชนิดของน้ำตาลที่ทำให้เกิดอาการไม่สบายท้อง ได้แก่ ราฟฟีโนสและสตาร์ชิโอส เป็นต้น [6-8]

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการงอกของเมล็ดต่อปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ในถั่วเหลือง ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน กากใย และธาตุเหล็ก รวมทั้งศึกษาคุณภาพของสารอาหาร ได้แก่ การทดสอบความสามารถในการย่อยโปรตีนและความสามารถในการย่อยและดูดซึมธาตุเหล็กได้ในถั่วเหลืองเพาะงอกที่เวลาต่างๆ กัน แล้วจึงนำถั่วเหลืองเพาะงอกในสภาวะที่เหมาะสมที่สุดไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองและถั่วเหลืองอบแห้ง พร้อมศึกษาปริมาณและคุณภาพของสารอาหารอีกครั้งหลังผ่านการแปรรูปถั่วเหลืองด้วยความร้อนซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อปริมาณและคุณภาพของสารอาหารเช่นกัน โดยการงอกของเมล็ดน่าจะมีส่วนช่วยเสริมคุณค่าทางโภชนาการให้กับถั่วเหลืองก่อนนำไปประกอบอาหารหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์

2. การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

2.1 คุณค่าสารอาหารในถั่วเหลือง [9-13]

ถั่วเหลือง (Soybean) เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของมนุษย์ นิยมนำมาบริโภคและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย เช่น น้ำเต้าหู้ ผลิตภัณฑ์เต้าหู้ เต้าฮวย ฟองเต้าหู้ นมถั่วเหลือง ผลิตภัณฑ์จากแป้งถั่วเหลืองชนิดต่างๆ และเนื้อเทียมหรือโปรตีนเกษตร เป็นต้น ซึ่งมีสารอาหารสำคัญ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดไขมันจำเป็น วิตามินและแร่ธาตุ รวมทั้งสารพฤกษเคมีสำคัญที่มีคุณประโยชน์เสริมสุขภาพ ได้แก่ สารไอโซฟลาโวนที่ช่วยป้องกันและรักษาโรคได้ จากหลายรายงานแนะนำให้รับประทานอาหารที่มีโปรตีนจากถั่วเหลือง ประมาณ 25 กรัมต่อวัน ลดอาหารที่มีไขมันอิ่มตัวและโคเลสเตอรอลสูง จะช่วยลดระดับกรดไขมันไม่ดี (LDL-cholesterol) ในร่างกาย ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ โดยในถั่วเหลืองประกอบด้วยสารอาหารหลัก ดังนี้

1) คาร์โบไฮเดรต ในถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 30-35 มีน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 2.5–8.2 น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ที่เรียกว่า แรฟฟิโนส (raffinose) ร้อยละ 0.1–1.0 และสตาร์ชิโอส (starchyose) ร้อยละ 1.4 - 4.1 ซึ่งเป็นน้ำตาลชนิดที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ แต่จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารบางชนิดใช้ประโยชน์ได้ ทำให้เกิดการหมักและเกิดก๊าซมากในทางเดินอาหาร เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน และมีเทน ในถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (complex polysaccharides) ที่มีคุณสมบัติเป็นใยอาหารทั้งชนิดเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคติน ร้อยละ 9.3

2) ไขมัน ในถั่วเหลืองมีปริมาณไขมัน ร้อยละ 20 สามารถสกัดน้ำมันพืชเพื่อใช้ประกอบอาหารได้ ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีกว่าไขมันสัตว์ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fat) ร้อยละ 75 ของปริมาณไขมันทั้งหมดซึ่งเป็นไขมันไม่อิ่มตัวชนิดเดี่ยว (monounsaturated, MUFA) ร้อยละ 30 และมีกรดไขมันจำเป็นชนิดกรดไลโนเลอิก (linoleic acid) และกรดลิโนเลนิก (linolenic acid) ด้วย และไม่มีโคเลสเตอรอล (cholesterol)

3) โปรตีน ในถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 35-40 ซึ่งเป็นโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพดี เพราะเป็นโปรตีนจากพืชเพียงชนิดเดียวที่มีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน ส่วนใหญ่ในพืชกลุ่มถั่วเมล็ดแห้ง จะขาดกรดอะมิโนชนิดเมทไธโอนีน (methionine) จึงสามารถเลือกรับประทานทดแทนเนื้อสัตว์ได้ ชนิดโปรตีนในถั่วเมล็ดแห้ง ส่วนใหญ่เป็นโกลบูลิน ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ มาเรียงต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ เป็นจำนวนหลายร้อยหลายพันโมเลกุลหรือเป็นโพลีเปปไทด์สายยาวและอัดแน่น เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์จะได้เป็นกรดอะมิโนที่มีขนาดเล็กลงเพื่อง่ายต่อการดูดซึม

4) วิตามิน เป็นแหล่งที่ดีของวิตามินที่ละลายน้ำ (water-soluble vitamins) ได้แก่ วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง ไนอะซิน และกรดโฟลิก

5) เกลือแร่ เป็นแหล่งของเกลือแร่หลายชนิด เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และเหล็ก ในถั่วเหลืองดิบ 100 กรัม พบธาตุเหล็กสูงถึง 10-16 มิลลิกรัม

6) สารต้านอนุมูลอิสระและสารพฤกษเคมี จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วเหลือง พบว่ามีประสิทธิภาพสูงช่วยจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย และพบสารโอโซฟลาโวนซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มของเอสโตรเจนจากพืช (phytoestrogens) ช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด และยังมี

คุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเพศหญิง ช่วยลดอาการที่ไม่พึงประสงค์ในผู้หญิงหลังหมดประจำเดือน และช่วยลดการเกิดโรคกระดูกพรุน (osteoporosis)

2.2 ความสามารถในการดูดซึมสารอาหารได้จากถั่วเหลือง (bioavailability)

จากองค์ประกอบของถั่วเมล็ดแห้ง พบว่ามีสารบางอย่างที่ส่งผลต่อการบริโภค เช่น น้ำตาลแรฟฟิโนสและสตาร์ชิโอสที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้เอง ทำให้เกิดก๊าซในกระเพาะเกิดอาการไม่สบายท้อง นอกจากนี้ยังพบสารต้านโภชนาการหรือสารที่มีผลการดูดซึมสารอาหาร (anti-nutrients factors) ได้แก่ สารยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน (protease inhibitors) เช่น สารยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitors), สารซาโปนิน (saponin) และสารเลคติน (lectins) ทั้งนี้ถั่วที่ผ่านการปรุงประกอบด้วยความร้อนสามารถทำลายสารดังกล่าวได้ นอกจากนี้แล้วในถั่วยังมีสารโพลีฟีนอล (polyphenol) และไฟเตท (phytate) ซึ่งอาจขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น เหล็ก สังกะสี และแคลเซียม สารต้านโภชนาการที่มีผลต่อการนำสารอาหารในถั่วเหลืองไปใช้ประโยชน์ มีดังนี้

1) สารไฟเตทหรือกรดไฟติก (phytic acid หรือ inositol hexaphosphate, IP6) ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของเกลือไฟเตท (phytate) มีโครงสร้างเป็น inosital ring ถูกจับด้วย phosphate 6 ตัว พบมากในพืชโดยเฉพาะในเมล็ด เช่น ปริมาณไฟเตทในถั่วเหลือง พบสูงถึงร้อยละ 2.2 ของน้ำหนักแห้ง [14] ไฟเตทสามารถรวมตัวกับแร่ธาตุบางชนิดได้เป็นอย่างดีเกิดเป็นสารประกอบเกลือที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งร่างกายคนไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสารประกอบนั้นได้ จึงไม่ถูกดูดซึมในลำไส้ ทำให้การดูดซึมแร่ธาตุนั้นลดน้อยลง เช่น เหล็ก สังกะสี และแคลเซียม เป็นต้น [4] การเตรียมถั่วก่อนนำมาปรุงประกอบนั้น พบว่าสามารถลดปริมาณไฟเตทในอาหารได้ เช่น การให้ความร้อนระหว่างการปรุงอาหาร การแช่น้ำและการเพาะงอก การหมักด้วยกรดแลกติก เป็นต้น [7, 15]

2) สารยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitors) เป็นสารชีวโมเลกุลในกลุ่มโปรตีน ซึ่งพบมากในพืชตระกูลถั่ว สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin) ในทางเดินอาหาร ทำให้ร่างกายย่อยและดูดซึมโปรตีนไปใช้ได้น้อยลง จากการศึกษาปริมาณสารยังยั้งเอนไซม์ทริปซินในพืช พบว่าพืชตระกูลถั่วจะมีสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินอยู่ในปริมาณสูงกว่าพืชชนิดอื่นและส่วนของพืชที่พบสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินมากที่สุดคือเมล็ด ในถั่วเหลืองพบสารยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ทริปซิน 16.7-27.2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม [16] ส่วนปัจจัยที่ส่งผลต่อการลดปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น วิธีการและระยะเวลาของการเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ การแช่น้ำ การนำเปลือกออก การทำให้สุกด้วยความร้อน และการหมัก ซึ่งจะมีผลต่อปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในพืชที่ลดลงแตกต่างกัน [17]

2.3 ผลของการเตรียมหรือแปรรูปถั่วเหลืองต่อปริมาณสารอาหาร

ส่วนใหญ่ถั่วเหลืองจะเก็บรักษาไว้ในสภาพที่เป็นเมล็ดแห้ง จึงจำเป็นต้องนำมาผ่านกระบวนการเตรียมวัตถุดิบก่อนนำมาปรุงประกอบอาหาร ได้แก่ การแช่น้ำ การนำเปลือกออก เป็นต้น รวมไปถึงการหมัก ซึ่งเป็นการแปรรูปอาหารอย่างหนึ่งจนเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ การเพาะงอกเป็นกระบวนการหนึ่งที่ส่งผลดีต่อคุณค่าทางอาหารและสามารถทำได้ง่าย

1) การแช่น้ำ (soaking)

การแช่ในน้ำเย็นหรือน้ำร้อนก่อนนำไปหุงต้ม จะช่วยให้เยื่อหุ้มเมล็ดถั่วนิ่มและถั่วสุกได้ง่ายขึ้น ลดเวลาและเชื้อเพลิงที่ใช้ในการทำให้ถั่วสุกได้มาก โดยปกติมักแช่ค้างคืน นาน 6 ถึง 18 ชั่วโมง หรือถ้าใช้น้ำร้อนก็ใช้เวลาลดลงเหลือ 4-6 ชั่วโมง การแช่น้ำและทิ้งน้ำที่ใช้แช่ไป อาจทำให้สูญเสียวิตามินและแร่ธาตุสารบางชนิดที่ละลายน้ำ เช่น วิตามินบี เป็นต้น แต่กระบวนการนี้พบว่าสามารถลดปริมาณสารไฟเตทในอาหารได้เล็กน้อย

2) การเพาะงอก (germination)

ภายหลังจากการแช่ถั่วในน้ำเพื่อให้เปลือกถั่วนิ่มแล้ว ถ้าเก็บในสภาวะที่เหมาะสม ถั่วจะงอก โดยจะเห็นการเปลี่ยนแปลงของรากที่งอกออกมาก่อน ภายในเมล็ดจะมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารต่างๆ ที่เก็บสะสมไว้ เช่น การสลายแป้ง โปรตีน ไขมัน และมีการสังเคราะห์วิตามินหลายชนิดเพิ่มขึ้น เช่น วิตามินซี ไรโบเฟลวิน วิตามินบีหนึ่ง

3) การปรุงสุกด้วยความร้อน (thermal processing)

ความร้อน ช่วยปรับปรุงคุณภาพของอาหาร ทั้งด้านประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ลดปริมาณสารยับยั้งการดูดซึมสารอาหาร เช่น ช่วยสลายสารประกอบไฟเตทที่จับกับธาตุบางชนิดในอาหาร และเพิ่มปริมาณของวิตามินบางชนิด ที่สามารถปลดปล่อยออกมาจากอาหารมากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพของกลิ่น เช่น กลิ่นของถั่ว เป็นต้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางอาหารในเมล็ดถั่วหลังผ่านขั้นตอนการแช่น้ำและการเพาะงอก ดังนี้

Lestiene และคณะ [18] ศึกษาผลของการแช่น้ำต่อปริมาณสารอาหารในอาหารกลุ่มธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ลูกเดือย ถั่วเหลือง และถั่วเขียว พบว่าเมื่อนำธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้งชนิดดังกล่าวมาแช่น้ำจะส่งผลต่อปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสี และช่วยให้ปริมาณสารไฟเตทในถั่วเหลืองลดลงร้อยละ 23

Kaushik และคณะ [19] ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารหลังผ่านกระบวนการเตรียมถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การแช่น้ำ การเพาะงอกและการทำให้สุกด้วยความร้อน พบว่าการแช่น้ำนาน 12 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลและแร่ธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัสและเหล็กลดลง รวมทั้งวิตามินบีและซีลดลง ส่วนการเพาะงอก มีผลต่อปริมาณน้ำตาล โปรตีน วิตามินบี2 ไนอะซิน วิตามินซี ธาตุแคลเซียม คอปเปอร์ แมงกานีส และสังกะสี เพิ่มขึ้น

Bau และคณะ [8] ได้รวบรวมรายงานการศึกษาเกี่ยวกับผลของการเพาะงอกต่อองค์ประกอบทางเคมีอาหารและปริมาณสารต้านโภชนาการหรือสารที่มีผลต่อการดูดซึมสารอาหาร (antinutrients) ในถั่วเหลือง พบว่า การเพาะงอกส่งผลให้ปริมาณโปรตีน ไขมัน แป้ง ชนิดของคาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร วิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญเปลี่ยนแปลง รวมทั้งสารยับยั้งการดูดซึม ได้แก่ กรดไฟติก และสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitors) ที่พบในถั่วเมล็ดแห้ง

อิงฟ้า และคณะ [20] ได้กล่าวถึงการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารทั้งปริมาณไขมันและโปรตีน ในระหว่างการงอกของข้าวกล้อง ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วแดง ว่าปริมาณโปรตีนและไขมันลดลงเป็นผลมาจากในระหว่างการแช่น้ำ น้ำไปกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ ทำโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดซึมเข้าไปภายในเมล็ดจึงทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง เช่นเดียวกับปริมาณไขมันเกิดการย่อยสลายไขมัน จึงทำให้ปริมาณลดลงเช่นกัน รวมทั้งปริมาณวิตามินบีและวิตามินซี โดยกลไกการเพิ่มขึ้นของวิตามินบี1 เกิดจากในช่วงการงอกมีกระบวนการหายใจเกิดขึ้นและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ GABA ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนอิสระโดยรวมของพืชชั้นสูง การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไฟติก (phytic acid) หรือ IP6 จัดเป็น antinutritional ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในธัญพืช ในระหว่างการงอกทำให้ปริมาณ IP6 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการงอก

Megat Rusydi และคณะ [21] ศึกษาผลของการเพาะงอกในถั่ว kidney bean, mung bean และ peanut รวมทั้งถั่วเหลือง พบว่าการเพาะงอกมีผลต่อปริมาณสารอาหารหลัก ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันและใยอาหาร รวมทั้งองค์ประกอบของไขมัน คือ เพิ่มชนิดของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดียว

Trugo และคณะ [22] ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารอาหารในถั่วเหลืองเพาะงอกที่ผ่านการใช้ความร้อนด้วยวิธีการต้ม พบว่าความร้อนมีผลต่อปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ธาตุแคลเซียม สังกะสี

และธาตุเหล็ก แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารไฟเตท แต่ความร้อนช่วยลดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitors) ในถั่วเหลืองเพาะงอกได้ดี

2.4 วิธีการทดสอบความสามารถในการย่อยและการดูดซึมได้ของสารอาหาร (*In vitro* bioaccessibility)

ผลของการแช่น้ำและการงอกของธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้ง ทำให้อาหารมีปริมาณสารอาหารเปลี่ยนแปลงไป ทั้งช่วยเพิ่มปริมาณสารอาหารสำคัญและลดปริมาณสารไฟเตทซึ่งเป็นสารยับยั้งการนำแร่ธาตุสำคัญไปใช้ เช่น เหล็ก สังกะสี และแคลเซียม รวมทั้งปริมาณสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินที่มีผลต่อความสามารถในการย่อยโปรตีน ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการทดสอบความสามารถในการย่อยและการดูดซึมได้ของสารอาหารดังกล่าวทั้งแร่ธาตุและโปรตีนที่มีในถั่วเหลือง

1) วิธีการทดสอบความสามารถในการย่อยและการดูดซึมได้ของแร่ธาตุ

วิธีที่นิยมใช้ศึกษากันอย่างกว้างขวาง แสดงผลได้รวดเร็วและราคาไม่แพง เป็นวิธีการศึกษาของ Miller, 1981 [23] โดยการจำลองการย่อยอาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเพื่อวัดความสามารถในการละลาย (solubility) และการดูดซึมผ่านได้ของธาตุเหล็ก (iron bioaccessibility) หลังจากอาหารถูกย่อยภายใต้สภาวะเดียวกับระบบการย่อยอาหารด้วยเอนไซม์ pepsin และ pancreatin-bile solution ที่จำลองขึ้นในหลอดทดลอง วัดปริมาณสารอาหารที่เหลือจากการย่อย คือปริมาณที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ลำไส้เล็ก นำปริมาณสารอาหารที่เหลือจากการย่อยอาหารเปรียบเทียบกับปริมาณสารอาหารที่มีทั้งหมด แสดงค่าเป็นร้อยละ (หรือ % Bioaccessibility)

2) วิธีการทดสอบความสามารถในการย่อยโปรตีน

เป็นวิธีการจำลองสภาวะการย่อยอาหารคล้ายมนุษย์ในหลอดทดลอง เพื่อหาปริมาณโปรตีนที่เหลือจากการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน คือ เอนไซม์เปปซิน (pepsin) ค่าที่ได้แสดงเป็นร้อยละของความสามารถในการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่มีทั้งหมด (% In vitro protein digestion; IVPD) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการวัดปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl's method แล้วนำมาคำนวณหาโปรตีน [24]

Ghavidel and Prakash [25] ศึกษาผลของการเพาะงอกและการแยกเยื่อหุ้มเมล็ดของเมล็ดถั่วชนิดต่างๆ (green gram, cowpea, lentil และ chickpea) ต่อปริมาณสารอาหาร สารยับยั้งการย่อยและดูดซึมสารอาหาร และทดสอบคุณภาพของสารอาหาร ได้แก่ การดูดซึมได้ของธาตุเหล็กและแคลเซียม (*In vitro* iron and calcium bioavailability) และความสามารถในการย่อยแป้งและโปรตีน (*In vitro* starch and protein digestibility) พบว่า การเพาะงอกช่วยเพิ่มปริมาณของโปรตีน วิตามินบี 1 และใยอาหาร แต่ส่งผลให้ปริมาณธาตุเหล็กและแคลเซียมลดลงเช่นเดียวกับปริมาณสารยับยั้งการดูดซึมสารอาหาร ได้แก่ สารไฟเตทและแทนนินที่มีปริมาณลดลง ร้อยละ 20-40 จึงทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซึมได้ของธาตุเหล็กและแคลเซียม รวมทั้งความสามารถในการย่อยโปรตีนจากถั่วต่างๆ เพิ่มขึ้น ร้อยละ 14-18

ในแต่ละประเทศนิยมบริโภคถั่วเมล็ดแห้งที่แตกต่างกัน สำหรับคนไทย "ถั่วเหลือง" เป็นแหล่งของธาตุเหล็กและโปรตีนที่ดี และสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นที่หลากหลายและนิยมบริโภคเพื่อสุขภาพ ซึ่งพบว่าแนวโน้มของการนำกระบวนการเพาะงอกมาใช้กับธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้งเพื่อเพิ่มปริมาณสารอาหารและลดปริมาณสารต้านโภชนาการเพิ่มมากขึ้น แต่ยังไม่พบการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของสารอาหาร

(ความสามารถในการดูดซึมได้ของสารอาหารที่มีอยู่) รวมถึงการปรุงสุกโดยผ่านความร้อนก่อนนำมารับประทาน โดยคาดว่าการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองจะช่วยเพิ่มคุณภาพของสารอาหารให้ดีมากขึ้น

3. วิธีวิจัย

3.1 การเตรียมเมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ เมล็ดถั่วเหลือง พันธุ์เชียงใหม่ 60 (ปลูกในช่วงเดือนเมษายน 2556) โดยมีวิธีการเพาะงอกเมล็ดถั่วเหลือง ดังนี้

1) นำถั่วเหลืองมาล้างให้สะอาด แช่น้ำให้เมล็ดนิ่มอยู่ในสภาพพร้อมต่อการงอก นาน 8 ชั่วโมง

2) นำเมล็ดมาล้างน้ำสะอาดอีกครั้ง ก่อนนำมาเกลี่ยบางๆ บนตะแกรง คลุมด้วยผ้าขาวบางชุบน้ำให้ชุ่ม ในภาชนะปิด วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$3 องศาเซลเซียส) ดังภาพที่ 1

3) พรมน้ำอีกครั้งให้ทั่วผิวหน้าของผ้าขาวบาง ทิ้งไว้ตามเวลาที่กำหนด ได้แก่ 8, 16 และ 24 ชั่วโมง (ตัวอย่างควบคุม = 0 ชั่วโมง) รวม 4 ตัวอย่าง

4) เมื่อได้เวลานำตัวอย่างมาล้างอีกครั้ง ทิ้งไว้จนสะเด็ดน้ำก่อนนำมาปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ºC จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

ทำการทดลองเพาะงอกซ้ำอีก 2 ครั้ง เพื่อให้ได้ตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำของการทดลอง (n=3) รวมทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง เพื่อนำไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณสารอาหารและธาตุเหล็ก

ภาพที่ 1 การเพาะงอกถั่วเหลือง

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารและสารยับยั้งการดูดซึม

1) การวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารหลัก (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และกากใย ตามมาตรฐานของ AOAC, 2000 (ภาคผนวก A) [26]

2) การวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่าง (Total Fe) โดยนำตัวอย่างมาเผาในเตาเผาความร้อนสูง (Muffle Furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรือจนได้เถ้าสีขาว นำเถ้ามาละลายด้วยกรดไนตริก วิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กด้วยเครื่อง AAS (Varian® SpectrAA-40 Atomic Absorption Spectrophotometer) (ภาคผนวก B)

3) การวัดปริมาณสารไฟเตท ดัดแปลงตามวิธีของ Haug and Lantzsch (1983) [27-28] โดยนำตัวอย่างมาย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที นำเฉพาะส่วนใสมาทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer model S-26, Boeco®) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (ภาคผนวก C)

4) การวัดปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin inhibitor activity) ตามวิธีมาตรฐาน AACC Method 22-40 [29] โดยปฏิกิริยาจะถูกวัดได้โดยการนำตัวอย่างมาบ่มกับสารที่มีความจำเพาะ (benzoyl-

DL arginine-*p*-nitroanalide; BAPA) และเอนไซม์ทริปซิน ปฏิกิริยาระหว่างทริปซินกับสารจำเพาะจะถูกวัดได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินที่มีอยู่ในตัวอย่าง จะส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นลดลง

3.3 การทดสอบความสามารถในการย่อยและการดูดซึมได้ของสารอาหารในตัวอย่าง ดังนี้

1) การทดสอบความสามารถในการย่อยของโปรตีนตามวิธีของ Fageer และคณะ (2004) [24] (ภาคผนวก D) โดยนำตัวอย่างมาย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน ปรับสภาวะการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (pH=2) ควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วย 10%TCA (trichloroacetic acid) นำส่วนใสที่ได้มากรองก่อนนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl method

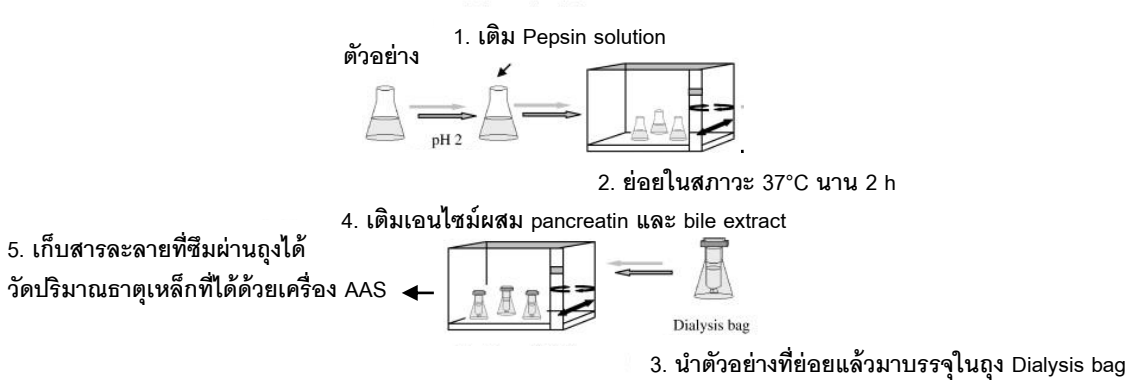
$$\% \text{ IVPD} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนย่อยได้}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด}} \times 100$$

โดย %IVPD (*In Vitro* Protein Digestion) คือ ค่าความสามารถในการย่อยของโปรตีนในหลอดทดลอง

2) การทดสอบความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กได้ โดยการจำลองระบบการย่อยของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กในหลอดทดลอง (*In vitro* simulated gastrointestinal digestion method) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Miller et al. (1981) [23] เพื่อวิเคราะห์หาธาตุเหล็กในสารละลายที่ได้ (Dialysed Fe) ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer โดยนำตัวอย่างมาย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน ปรับสภาวะเพื่อการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (pH=2) ควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยบรรจุลงในถุง dialysis bag และเติมเอนไซม์ผสม pancreatin และ bile extract ปรับสภาวะเพื่อการย่อยอีกครั้งด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (pH=7) ควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ที่ 37 องศาเซลเซียส ต่อเนื่องอีก 2 ชั่วโมง ทำการเก็บสารละลายที่ซึมผ่านถุงได้ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาธาตุเหล็กในสารละลายที่ได้ (ภาคผนวก E) ดังภาพที่ 2

$$\% \text{ Dialysed} = \frac{\text{ปริมาณเหล็กที่ซึมผ่านถุงได้}}{\text{ปริมาณเหล็กทั้งหมดในตัวอย่าง}} \times 100$$

โดย % Dialysed คือ ค่าความสามารถในการดูดซึมได้ของแร่ธาตุในหลอดทดลองหรือค่าชีวประสิทธิผลของธาตุเหล็ก (*In vitro* Bioaccessibility)



ภาพที่ 2 วิธีการจำลองสภาวะการย่อยในหลอดทดลอง

3.4 การศึกษาผลของการใช้ความร้อนในการแปรรูปถั่วเหลืองเพาะงอกเป็นผลิตภัณฑ์

นำถั่วเหลืองที่ใช้เวลาในการเพาะงอก 24 ชั่วโมง มาเป็นตัวแทนในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 2 ลักษณะ ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก (ใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที) และถั่วเหลืองเพาะงอกอบแห้ง (ใช้ความร้อน 60 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารและทดสอบความสามารถในการย่อยและดูดซึมได้ของธาตุเหล็กและโปรตีน เมื่อถั่วเหลืองเพาะงอกถูกทำให้สุกด้วยความร้อนเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะงอก

1) การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเพาะงอก (ภาพที่ 3) มีขั้นตอนดังนี้

1.1) นำถั่วเหลืองเพาะงอก (ล้างให้สะอาด) 1 ส่วน ปั่นผสมน้ำสะอาด 4 ส่วน กรองกากออก

1.2) นำไปต้มจนเดือดด้วยไฟปานกลาง จับเวลาหลังเดือดนาน 5 นาที (ได้น้ำนมถั่วเหลือง ประมาณ ¾ ส่วนของน้ำที่ใช้ปั่นทั้งหมด)

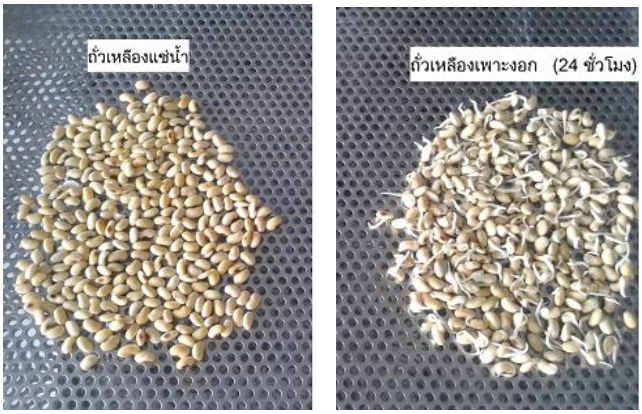
1.3) บรรจุตัวอย่างในภาชนะที่สะอาด ผ่านการลวกด้วยน้ำร้อนฆ่าเชื้อแล้ว แช่เย็น 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนาการและคุณภาพของสารอาหารต่อไป

ภาพที่ 3 การผลิตน้ำนมถั่วเหลือง

2) การผลิตถั่วเหลืองเพาะงอกอบแห้ง (ภาพที่ 4-5) มีขั้นตอนดังนี้

2.1) นำถั่วเหลืองเพาะงอก (ล้างให้สะอาด) อบในตู้อบลมร้อน ตั้งอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง หรือจนตัวอย่างแห้งสนิท

2.2) นำตัวอย่างแห้งมาปั่นเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บตัวอย่างในภาชนะที่แห้งและสะอาด จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนาการและคุณภาพของสารอาหารต่อไป



ภาพที่ 4 การเตรียมอบแห้งถั่วเหลือง

ภาพที่ 5 ลักษณะของถั่วเหลืองอบแห้ง

3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลวิเคราะห์ของสารอาหารต่างๆ ในตัวอย่างถั่วเหลืองที่ใช้เวลาการเพาะงอกที่แตกต่างกันและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเพาะงอก แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) ประเมินความแตกต่างของแต่ละชนิดของสารอาหารและสารต้านโภชนาการในแต่ละเวลาที่ใช้ในการเพาะงอก ด้วยสถิติ one-way ANOVA และ Duncan's test โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics for Windows version 21 ที่ระดับความเชื่อมั่น95%

4. สรุปผลและวิจารณ์

ผลการศึกษา แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1) ปริมาณสารอาหารในถั่วเหลืองเพาะงอกที่เวลาต่างๆ กัน (0, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง)

2) ปริมาณสารอาหารในถั่วเหลืองเพาะงอกแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด

<u>ส่วนที่ 1</u> ปริมาณสารอาหารในถั่วเหลืองเพาะงอกที่เวลาต่างๆ กัน

องค์ประกอบทางโภชนาการของถั่วเหลืองดิบ 100 กรัม ประกอบด้วยโปรตีน 35 กรัม คาร์โบไฮเดรต 28 กรัม และไขมัน 18 กรัม โดยพบธาตุเหล็กสูงถึง 8 มิลลิกรัม ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางโภชนาการของถั่วเหลืองดิบ

สารอาหาร	ปริมาณ
ความชื้น (%)	10.85
เถ้า (%)	7.61
ไขมันรวม (%)	17.95
กากใย (%)	12.28
คาร์โบไฮเดรต[1] (%)	27.96
ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (%)	34.74
ธาตุเหล็ก (มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม)	7.51
การยับยั้งทริปซิน หรือ Trypsin inhibitor activity (TIU/mg sample)	27.9
สารไฟเตท (กรัม/100 กรัม)	1.38

ค่าที่แสดงทั้งหมดได้มาจากค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ (n=1) ต่อน้ำหนักสด (Fresh weigh; FW) 100 กรัม

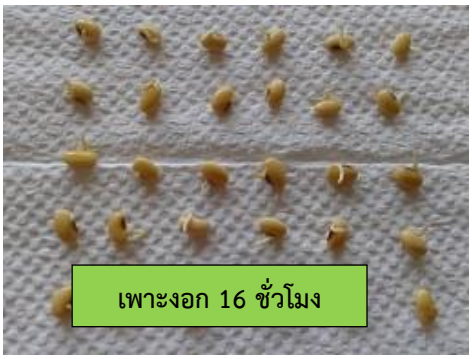
[1] ค่าที่แสดงมาจากการคำนวณตามสูตร คาร์โบไฮเดรต (กรัม) = 100- [โปรตีน(%)+ไขมัน(%)+ความชื้น(%)+เถ้า(%)]

เมื่อนำถั่วเหลืองดิบ พันธุ์เชียงใหม่ 60 มาเพาะงอกที่เวลาต่างกัน ครั้งละ 100 กรัม พบอัตราการงอกร้อยละ 60-70 ของปริมาณถั่วเหลืองทั้งหมด ลักษณะการงอกและความยาวของรากถั่วเหลืองเพาะงอกที่ช่วงเวลา 8, 16 และ 24 ชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 6

เพาะงอก 8 ชั่วโมง
ความยาว 0-2 มิลลิเมตร

เพาะงอก 16 ชั่วโมง
ความยาว 0-5 มิลลิเมตร

เพาะงอก 24 ชั่วโมง
ความยาว 0-20 มิลลิเมตร



เพาะงอก 16 ชั่วโมง

เพาะงอก 24 ชั่วโมง

คุณคาทางเภชนาการของถวเหลองเพาะงอกทเวลาตางกนเบรยบเทยบผลวเคราะหตอนาหนกแห้ง 100 กรัม (Dry matter; DM) ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าการเพาะงอกถั่วเหลืองที่เวลาต่างกัน (0, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง) มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะงอก อยู่ระหว่าง 60.9- 64.3 กรัม โดยมีความชื้นในตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ 24 ชั่วโมง) เพิ่มขึ้นร้อยละ 5 ของปริมาณความชื้นเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือมีคาร์โบไฮเดรตอยู่ในช่วง 33.9-35.8 กรัม และมีโปรตีน 41.0-41.8 กรัม สำหรับตัวอย่างที่เพาะงอก 24 ชั่วโมง พบปริมาณไขมันพบลดลงร้อยละ 17 แต่กลับพบกากใยเพิ่มขึ้นกว่าร้อยละ 50 โดยพบปริมาณไขมันพบอยู่ในช่วง 17.4-21.0 กรัม และปริมาณกากใย 9.1-14.1 กรัม และปริมาณเถ้าหรือปริมาณธาตุอาหารรวม พบปริมาณ 4.9- 5.5 กรัม โดยพบน้อยที่สุด ในตัวอย่างที่เพาะนาน 16 ชั่วโมง (ลดลงร้อยละ 10)

ตารางที่ 2 สารอาหารหลักของถั่วเหลืองเพาะงอกที่เวลาต่างกัน

สารอาหาร	ระยะเวลาเพาะงอก			
	0 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	16 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ความชื้น (%)	60.89±0.65[a]	62.02±1.73[a]	62.18±1.21[a]	64.29±0.93[b]
คาร์โบไฮเดรต (%)	33.87±1.74 [a]	34.22±1.29 [a]	34.33±1.10 [a]	35.83±0.55 [a]
โปรตีน (%)	41.01±0.92[a]	40.92±1.15[a]	41.46±0.55[a]	41.75±1.03[a]
ไขมัน (%)	20.96±0.45[b]	19.88±0.82[b]	20.05±0.28[b]	17.36±1.26[a]
กากใย (%)	9.09±0.49[a]	9.77±0.86[a]	11.07±2.06[a]	14.05±1.16[b]
เถ้า (%)	5.52±0.25[b]	5.36±0.32[b]	4.87±0.06[a]	5.23±0.45[ab]

ค่าที่แสดงทั้งหมดได้มาจากค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำของการทดลอง (n=3) ต่อตัวอย่างแห้ง (dry matter; DM) 100 กรัม ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละเวลาของสารอาหารชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%

กระบวนการเพาะงอก เกิดจากที่เมล็ดพืชได้รับปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกอย่างเหมาะสม ได้แก่ น้ำ ออกซิเจน และอุณหภูมิ ซึ่งต้องการแตกต่างกันไป สำหรับถั่วเหลือง ไม่ต้องการน้ำมาก เพราะเมล็ดเน่าได้ง่าย อุณหภูมิที่เหมาะสม อยู่ในช่วง 20-35 องศาเซลเซียส รวมทั้งแสง ซึ่งถั่วเหลืองไม่ต้องการ เมื่อเมล็ดถั่วเหลืองได้รับน้ำเข้าไป ทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่ม จะส่งผลให้เกิดขบวนการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในเซลล์และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการงอก เช่น การสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต เกิดการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ดพืช ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมาย่อย เช่น amylase ย่อยคาร์โบไฮเดรตให้อยู่ในรูปน้ำตาลที่ละลายได้ เอนไซม์ protease ย่อยโปรตีนเป็นกรดอะมิโน เพื่อใช้สร้างโปรตีนใหม่ เอนไซม์ lipase ย่อยไขมันได้กรดไขมันและกลีเซอรอล เพื่อสร้างผนังเซลล์และเซลล์พืชที่จะเกิดขึ้นใหม่ [6] ในการศึกษาครั้งนี้ พบเพียงปริมาณไขมันเท่านั้นที่ลดลง เมื่อใช้เวลาในการเพาะงอกมากขึ้น โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

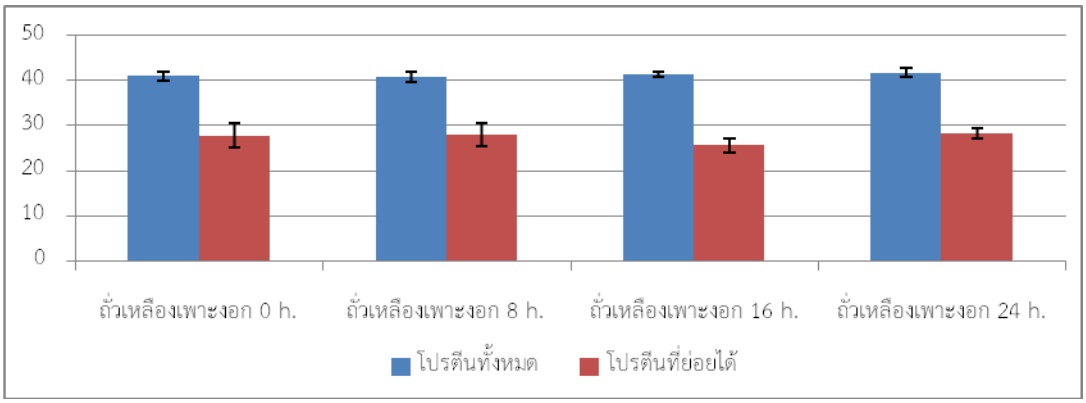
หลายการศึกษา พบว่าการเพาะงอกส่งผลต่อปริมาณเถ้าและไขมันลดลง รวมทั้งปริมาณกากใยเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ถั่วเหลืองเพาะงอกด้วยวิธีการแช่น้ำนาน 6 ชั่วโมง พบไขมันลดลง 12.5 เปอร์เซ็นต์ (จากร้อยละ 3.2 เป็น 2.8) และกากใยเพิ่มขึ้น 6 เปอร์เซ็นต์ (จากร้อยละ 76.78 เป็น 81.43) นอกจากนี้ยังพบปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนแปลง คือโปรตีนลดลง 4 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับถั่วเขียวและถั่วแดงเพาะงอก [20] ในขณะที่ถั่วเหลืองเพาะงอก (ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) นาน 40 และ 60 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างแช่น้ำ 6 ชั่วโมง พบเถ้าลดลง 20-35 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหารเพิ่มขึ้น 22-28 เปอร์เซ็นต์ และไขมันลดลง 8-15 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน แต่พบโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ [30] ถั่วเหลืองเพาะงอก (ที่ 28 องศาเซลเซียส) นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเพาะงอก พบไขมันลดลงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ และใยอาหารเพิ่มขึ้น 25 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน ส่วนคาร์โบไฮเดรต เถ้า และโปรตีน ลดลง 40-55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับอาหารชนิดเดียวกัน คือ ถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วพีนัท [21] บางรายงานพบถั่วเหลืองเพาะงอก 2 วัน มีปริมาณโปรตีน เพิ่มขึ้น 6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแป้ง ลดลง 26 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเหล็กลดลงเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะงอกนานกว่า 3 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างแช่น้ำ 12 ชั่วโมง [19]

ตารางที่ 3 ค่าการยับยั้งการทำงานของทริปซินและความสามารถในการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองเพาะงอก ที่เวลาต่างกัน

สารอาหาร	ระยะเวลาเพาะงอก			
	0 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	16 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Trypsin inhibitor activity (TIU/mg sample)	46.10±3.00 [a]	42.98±4.45 [a]	44.30±2.74 [a]	43.39±5.96 [a]
ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (กรัม/100กรัม)	41.01±0.92[a]	40.92±1.15[a]	41.46±0.55[a]	41.75±1.03[a]
ปริมาณโปรตีนย่อยได้ (กรัม/100กรัม)	27.82±2.61[a]	27.92±2.60[a]	25.67±1.60[a]	28.31±1.09[a]
% protein digestibility (หรือ IVPD)	68±8[a]	68±6[a]	62±4[a]	67±1[a]

ค่าที่แสดงทั้งหมดได้มาจากค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำของการทดลอง (n=3) ต่อตัวอย่างแห้ง (dry matter; DM) 100 กรัม
ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละเวลาของสารอาหารชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%
TIU= Trypsin Inhibitor Units; IVPD=In Vitro Protein Digestion

ค่าการยับยั้งการทำงานของทริปซิน (Trypsin activity) เกี่ยวข้องกับการต้านการย่อยของโปรตีนในถั่วเหลือง จากตารางที่ 3 พบว่า การเพาะงอกนาน 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อค่าการยับยั้งการทำงานของทริปซินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (43.0- 46.1 TIU/mg sample) อย่างไรก็ตาม ในหลายการศึกษาพบว่าการเพาะงอกสามารถลดค่าการยับยั้งการทำงานของทริปซินได้สูงถึง 32 เปอร์เซ็นต์ ในถั่วเหลืองเพาะงอกนาน 6 วัน [8] เช่นเดียวกับในตัวอย่างถั่วเขียวเพาะงอก 3 วัน พบค่าการยับยั้งการทำงานของทริปซินลดลงจากตัวอย่างแช่น้ำปกติ 12 ชั่วโมง ร้อยละ 7.5 [31] แต่บางรายงานก็ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน (ตัวอย่างเป็นถั่ว pea) [32]



ภาพที่ 7 ปริมาณโปรตีนทั้งหมดเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่ถูกย่อยได้ของแต่ละสภาวะการเพาะงอก (หน่วย: กรัมต่อตัวอย่างแห้ง 100 กรัม)

จากตารางที่ 3 และภาพที่ 7 การเพาะงอกไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและคุณภาพของโปรตีน โดยพบปริมาณโปรตีนที่ถูกย่อยได้ อยู่ในช่วง 25.7-28.3 กรัม คิดเป็นค่าความสามารถในการย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองอยู่ในช่วง 62-68 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับค่าการยับยั้งการทำงานของทริปซิน (Trypsin activity) ที่ไม่เปลี่ยนแปลง (43.0- 46.1 TIU/mg sample) อย่างไรก็ตาม มีรายงานในอาหารชนิดเดียวกัน เช่น ถั่วเมล็ดแห้งชนิดต่างๆ (green gram, cowpea, lentil และ chickpea) พบว่าการเพาะงอก นาน 24 ชั่วโมง ช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น ร้อยละ 14-18 (61 เป็น 73, 64 เป็น 73, 66 เป็น 75, 64 เป็น 73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) [25] เช่นเดียวกับการเพาะงอกถั่วเขียว (12-20 ชั่วโมง) และถั่ว cowpea (16-24 ชั่วโมง) สามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยโปรตีนได้ 11-20 และ 0-10 เปอร์เซ็นต์เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่แช่น้ำ 8-10 ชั่วโมง [33] แต่บางรายงานก็พบการเปลี่ยนแปลงในอาหารชนิดเดียวกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น คือ ความสามารถในการย่อยโปรตีนของถั่วเขียวเพาะงอก 3 วัน เปลี่ยนแปลงจาก 87.4 เป็น 89.1 เปอร์เซ็นต์ [31]

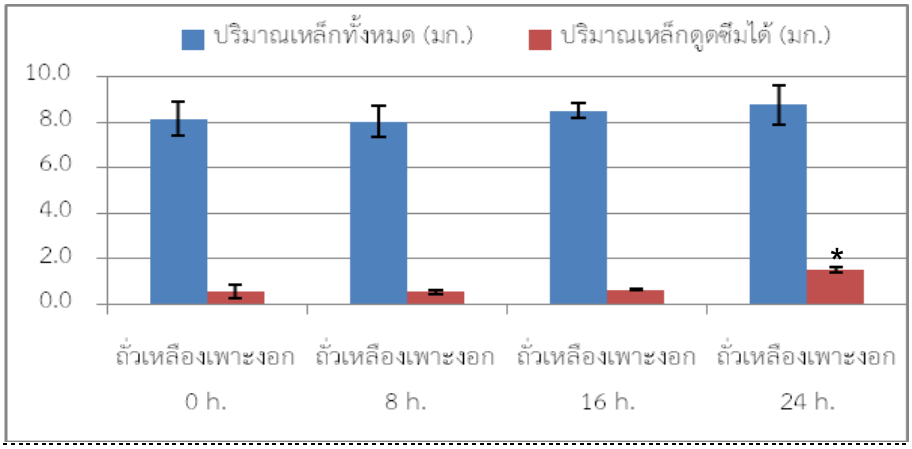
ตารางที่ 4 ปริมาณไฟเตทและความสามารถในการย่อยและดูดซึมธาตุเหล็กของถั่วเหลืองเพาะงอกที่เวลาต่างกัน

สารอาหาร (ต่อ 100 กรัม)	**ระยะเวลาเพาะงอก**			
	0 ชั่วโมง	**8 ชั่วโมง**	**16 ชั่วโมง**	**24 ชั่วโมง**
ไฟเตท (กรัม)	1.78 ± 0.16^{b}	1.58 ± 0.12^{b}	1.17 ± 0.09^{a}	1.19 ± 0.01^{a}
ปริมาณเหล็กก่อนย่อย (มิลลิกรัม)	8.14 ± 0.74^{a}	8.03 ± 0.66^{a}	8.50 ± 0.32^{a}	8.76 ± 0.86^{a}
ปริมาณเหล็กหลังย่อย (มิลลิกรัม)	0.57 ± 0.3^{a}	0.54 ± 0.14^{a}	0.65 ± 0.02^{a}	1.51 ± 0.11^{b}
% Dialysed iron (หรือ bioaccessibility of iron)	7 ± 4^{a}	7 ± 3^{a}	8 ± 0^{a}	17 ± 1^{b}

ค่าที่แสดงทั้งหมดได้มาจากค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำของการทดลอง (n=3) ต่อตัวอย่างแห้ง (dry matter; DM) 100 กรัม ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละเวลาของสารอาหารชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%

ปริมาณไฟเตท เกี่ยวข้องกับการต้านการดูดซึมแร่ธาตุในอาหาร ผลการวิเคราะห์ พบว่า การเพาะงอกถั่วเหลือง นาน 16 และ 24 ชั่วโมง ปริมาณสารไฟเตทลดลงประมาณ ร้อยละ 30 (จาก 1.78 เป็น 1.17 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษาพบการเพาะงอกถั่วเหลืองลดปริมาณสารไฟเตทลงร้อยละ 8-50 [8, 20, 30] เช่นเดียวกับถั่วเมล็ดแห้งชนิดอื่น ได้แก่ green gram, cowpea, lentil, chickpea และถั่วเขียว พบว่าการเพาะงอก (24-72 ชั่วโมง) ช่วยลดปริมาณไฟเตทลงร้อยละ 5-20 [25, 31, 34] สูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ ในถั่วเขียวเพาะงอกที่ใช้เวลาเพาะมากขึ้น [7] เช่นเดียวกับในถั่วเมล็ดแห้งอีกหลายพบปริมาณสารไฟเตทลดลงตามระยะเวลาของการเพาะงอกที่มากขึ้น เช่น ถั่วเหลืองเพาะงอก 72 ชั่วโมง สารไฟเตทลดลงร้อยละ 25 ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับค่าการทำงานของเอนไซม์ไฟเตทที่เพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่า เมื่อเพาะงอกถั่วเหลืองนาน 48 และ 72 ชั่วโมง [35]

ผลการศึกษาค่าความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กในหลอดทดลอง (หรือค่าชีวภาพความพร้อมของธาตุเหล็กที่ละลายและซึมผ่านได้) ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 8 พบว่า ปริมาณเหล็กที่ย่อยได้ อยู่ในช่วง 0.54-1.51 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 7-17 ของปริมาณเหล็กทั้งหมด แม้ว่าระยะเวลาการเพาะงอกต่างกันจะไม่มีผลต่อปริมาณเหล็กทั้งหมด แต่ส่งผลให้ความสามารถในการย่อยและดูดซึมธาตุเหล็กได้ดีขึ้นสูง เมื่อใช้เวลาในการเพาะงอกถั่วเหลือง นาน 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับหลายการศึกษาในถั่วเมล็ดแห้งชนิดต่างๆ (green gram, cowpea, lentil และ chickpea) การเพาะงอก 24 ชั่วโมง พบปริมาณธาตุเหล็กลดลงร้อยละ 10-20 แต่ช่วยเพิ่มค่าชีวภาพความพร้อมของการนำธาตุเหล็กไปใช้ (bioaccessibility) ร้อยละ 60-80 (10.9 เป็น 18.3, 11.2 เป็น 19.7, 10.2 เป็น 18.5, 11.3 เป็น 18.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) เช่นเดียวกับธาตุแคลเซียม [25] รวมทั้งการเพาะงอก 24 และ 48 ชั่วโมง ในตัวอย่าง green gram และ chickpea พบความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กในหลอดทดลองเพิ่มขึ้นสูงสุด ร้อยละ 39 [34]



ภาพที่ 8 ปริมาณเหล็กทั้งหมดเปรียบเทียบกับปริมาณเหล็กที่ดูดซึมได้ (iron dialysability) ของแต่ละสภาวะการเพาะงอก (หน่วย: มิลลิกรัมต่อตัวอย่างแห้ง 100 กรัม)

สรุปผลในภาพรวมของคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าการเพาะงอกถั่วเหลืองนาน 24 ชั่วโมง ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนและธาตุเหล็กทั้งหมดในตัวอย่าง แต่กลับส่งผลให้ปริมาณเถ้าลดลงร้อยละ 10 ปริมาณไขมันลดลง ร้อยละ 17 ปริมาณสารไฟเตท ลดลงร้อยละ 30 ส่วนปริมาณกากใยเพิ่มขึ้น หากพิจารณาถึงค่าความสามารถในการดูดซึมสารอาหารในถั่วเหลืองในหลอดทดลองได้ พบว่าค่าความสามารถในการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองเพาะงอกนั้น ไม่แตกต่างไปจากเดิม แต่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าชีวภาพความพร้อมของธาตุเหล็กที่ละลายและดูดซึมได้ดีขึ้น ในตัวอย่างถั่วเหลืองที่ใช้เวลาในการเพาะงอกนาน 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ยังมีอีกหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของสารอาหาร เช่น การแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อน ซึ่งมีรายงานพบว่าสามารถลดปริมาณไฟเตทในถั่วเมล็ดแห้งและธัญพืชได้เช่นกัน ประมาณ 5-15 เปอร์เซ็นต์ [7] และสามารถทำลายสารยั้บยั้งเอนไซม์ทริปซินได้ 100 เปอร์เซ็นต์ [31] ซึ่งผู้วิจัยได้ทดลองนำถั่วเหลืองผ่านการเพาะงอกนาน 24 ชั่วโมง มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 2 รูปแบบ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง (ใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที) และถั่วเหลืองเพาะงอกอบแห้ง (ใช้ความร้อน 60 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเพาะงอก แสดงผลในส่วนที่ 2

<u>ส่วนที่ 2</u> ปริมาณสารอาหารในถั่วเหลืองเพาะงอกแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด

ถั่วเหลืองเพาะงอกที่ใช้เวลาในการเพาะนาน 24 ชั่วโมง ถูกนำมาทดลองแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีการใช้ความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1) ผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง (ความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที) และ 2) ถั่วเหลืองเพาะงอกอบแห้ง (ความร้อน 60 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) ปริมาณสารอาหารและสารต้านโภชนาการที่สำคัญที่พบในผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเพาะงอก (ปกติ) แสดงในตารางที่ 5-6

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเพาะงอก

สารอาหาร	**น้ำนมถั่วเหลือง**		**ถั่วเหลืองอบแห้ง**	
(ต่ออาหาร 100 กรัม)	**สูตรปกติ**	**สูตรเพาะงอก**	**สูตรปกติ**	**สูตรเพาะงอก**
ความชื้น (%)	93.04 $\pm$0.02^{c}	93.74$\pm$0.01^{d}	5.04$\pm$0.03^{b}	4.39$\pm$0.22^{a}
เถ้า (กรัม)	6.57$\pm$0.14^{b}	6.69$\pm$0.10^{b}	5.15$\pm$0.02^{a}	5.29$\pm$0.10^{a}
โปรตีน (กรัม)	46.49$\pm$0.22^{b}	46.50$\pm$0.11^{b}	41.11$\pm$0.43^{a}	41.30$\pm$0.23^{a}
เหล็ก (มิลลิกรัม)	11.43$\pm$0.05^{b}	12.10$\pm$0.01^{b}	8.57$\pm$0.19^{a}	8.83$\pm$0.40^{a}
สารไฟเตท (กรัม)	0.68$\pm$0.04^{b}	0.49$\pm$0.01^{a}	1.79$\pm$0.03^{d}	1.66$\pm$0.01^{c}
Trypsin inhibitor (TIU)/ mg sample	10.78$\pm$1.02^{a}	13.58$\pm$1.13^{a}	36.70$\pm$2.61^{b}	43.61$\pm$1.18^{c}

ค่าที่แสดงทั้งหมดได้มาจากค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำของการทดลอง (n=3) ต่อตัวอย่างแห้ง (dry matter; DM) 100 กรัม
ตัวอักษรที่แตกต่างกันของผลิตภัณฑ์และสารอาหารชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%

จากตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารอาหารและสารต้านโภชนาการต่อตัวอย่างแห้ง 100 กรัม หากเปรียบเทียบในแต่ละชนิดของผลิตภัณฑ์ พบว่าปริมาณเถ้า โปรตีน และธาตุเหล็กในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเพาะงอกไม่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์สูตรปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเพาะงอก ทั้ง 2 ชนิด มีผลต่อปริมาณสารไฟเตท ลดลง 28 เปอร์เซ็นต์ ในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองสูตรเพาะงอก และลดลง 8 เปอร์เซ็นต์ ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเพาะงอกอบแห้ง ส่วนค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin inhibitor activity) ไม่ลดลง ซึ่งสารไฟเตทและค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินนั้นเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสามารถในการดูดซึมได้ของแร่ธาตุและความสามารถในการย่อยโปรตีนที่มีอยู่ในถั่วเหลืองตามลำดับ

ตารางที่ 6 ค่าความสามารถในการย่อยโปรตีนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเพาะงอก

สารอาหาร	น้ำนมถั่วเหลือง		ถั่วเหลืองอบแห้ง	
(ต่ออาหาร 100 กรัม)	ปกติ	เพาะงอก	ปกติ	เพาะงอก
โปรตีนทั้งหมด (กรัม)	46.49±0.22[b]	46.50±0.11[b]	41.11±0.43[a]	41.30±0.23[a]
โปรตีนที่ย่อยได้ (กรัม)	29.90±0.03[b]	32.27±2.02[b]	18.81±0.70[a]	19.73±0.71[a]
% protein digestibility	69±4[b]	64±1[b]	46±1[a]	48±2[a]

ค่าที่แสดงทั้งหมดได้มาจากค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ จำนวน 3 ซ้ำของการทดลอง (n=3) ต่อตัวอย่างแห้ง (dry matter; DM) 100 กรัม
ตัวอักษรที่แตกต่างกันของผลิตภัณฑ์และสารอาหารชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%

จากตารางที่ 6 เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่ย่อยได้ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์สูตรปกติ พบว่า ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อคำนวณเป็นค่าความสามารถในการย่อยโปรตีน (% protein digestibility หรือ IVPD) ของแต่ละผลิตภัณฑ์ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (ตารางที่ 5) ที่ไม่แตกต่างไปจากสูตรปกติ

ในการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การเพาะงอกถั่วเหลืองก่อนนำมาแปรรูปโดยผ่านความร้อน (ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) ไม่มีผลต่อปริมาณเถ้า โปรตีน และธาตุเหล็กในผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ถั่วเหลืองปกติ (สูตรปกติ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งไม่ได้ทำให้ความสามารถในการย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองดีขึ้น มีเพียงปริมาณสารไฟเตทเท่านั้นที่ลดลง ซึ่งอาจส่งผลต่อค่าความสามารถในการดูดซึมแร่ธาตุในถั่วเหลืองดีขึ้น อย่างไรก็ตาม มีหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเพาะงอก สามารถเพิ่มประสิทธิภาพทั้งปริมาณและความสามารถในการดูดซึมสารอาหารบางชนิดได้ (In vitro study) แต่มีบางรายงานระบุว่า กระบวนการใช้ความร้อนในระดับครัวเรือน ไม่สามารถลดปริมาณไฟเตทได้จนสามารถปลดปล่อยแร่ธาตุจนเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมดีขึ้น [7] ซึ่งมีรายงานพบว่าการเตรียมวัตถุดิบและแปรรูปอาหาร ได้แก่ การล้างทำความสะอาด และการทำให้อาหารสุก จะส่งผลให้สารอาหารเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม หากมีการใช้ความร้อนและเวลาที่เพียงพอ เช่น การต้มในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (Autoclave) นาน 1-35 นาที การต้มในไมโครเวฟ นาน 7-15 นาที รวมทั้งการต้มแบบทั่วไปจนถั่วนิ่ม ซึ่งอาจใช้เวลานาน 10-90 นาที ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitors) สามารถลดลงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการย่อยโปรตีน อาจเพิ่มขึ้น 2-10 เปอร์เซ็นต์ [22, 31, 33] หรือไม่เปลี่ยนแปลงหากใช้วิธีการต้มในและไมโครเวฟ (7-15 นาที) [33]

5. สรุปและข้อเสนอแนะ

กระบวนการเพาะงอก เกิดจากที่เมล็ดพืชได้รับปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกอย่างเหมาะสม ได้แก่ น้ำ ออกซิเจน และอุณหภูมิ ที่แตกต่างกันไป สำหรับถั่วเหลือง ไม่ต้องการน้ำมาก อุณหภูมิที่เหมาะสม อยู่ในช่วง 20-35 องศาเซลเซียส รวมทั้งไม่ใช้แสงในการเจริญเติบโต เมื่อเมล็ดถั่วเหลืองได้รับน้ำเข้าไป ทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่ม จะส่งผลให้เกิดขบวนการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในเซลล์และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการงอก เช่น การสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต เกิดการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ดพืช ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมาย่อย เช่น amylase ย่อยคาร์โบไฮเดรตให้อยู่ในรูปน้ำตาลที่ละลายได้ เอนไซม์ protease ย่อยโปรตีนเป็นกรดอะมิโน เพื่อใช้สร้างโปรตีนใหม่ เอนไซม์ lipase ย่อยไขมันได้กรดไขมันและกลีเซอรอลเพื่อสร้างผนังเซลล์ที่จะเกิดขึ้นใหม่ รวมทั้งเอนไซม์ย่อยไฟเตทจะถูกผลิตขึ้นใช เพื่อนำสารอาหารออกมาใช้สำหรับการเจริญเติบโต [6, 33, 36-38]

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเพาะงอกถั่วเหลืองนาน 24 ชั่วโมง ไม่ทำให้องค์ประกอบทางโภชนาการเปลี่ยนแปลงไป ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (33.9-35.8 g/100gDM) โปรตีน (40.9-41.8 g/100gDM) และธาตุเหล็ก (8.0-8.8 g/100gDM) แต่ปริมาณเถ้าลดลงร้อยละ 10 กากใยเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 50 (9.1-14.3 g/100gDM) ไขมันลดลงร้อยละ 17 (17.4-21.0 g/100gDM) รวมทั้งสารต้านโภชนาการ ได้แก่ สารไฟเตทลดลงร้อยละ 30 (1.2-1.7 g/100gDM) โดยให้ผลสอดคล้องกับการประเมินค่าความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กดีขึ้น (7-17%) ขณะที่ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เปปซินไม่เปลี่ยนแปลง (43.0- 46.1 TIU/mg sample) ส่งผลให้ความสามารถในการย่อยของโปรตีนในถั่วเหลืองไม่แตกต่างจากเดิม (62-68%) ซึ่งเมื่อนำถั่วเหลืองมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองและถั่วเหลืองอบแห้งที่มีการใช้ความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง พบว่า การแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนก็สามารถลดสารต้านโภชนาการได้เช่นกัน โดยเฉพาะสารไฟเตทในผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองที่ใช้ความร้อนสูง 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที อีกทั้งหากนำถั่วเหลืองมาผ่านการเพาะงอกก่อนนำไปแปรรูป จะสามารถลดปริมาณสารไฟเตทได้มากขึ้นอีก 28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับสูตรปกติ แต่ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เปปซินและความสามารถในการย่อยโปรตีนยังคงไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้น วิธีการแปรรูปถั่วเหลืองเป็นอาหารชนิดต่างๆ โดยใช้ความร้อนที่แตกต่างกัน น่าจะส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของสารอาหารที่แตกต่างไป รวมถึงสารอาหารที่สูญเสียได้ง่าย จึงน่าจะต้องมีการศึกษาต่อไป เพื่อหาวิธีและขั้นตอนที่เหมาะสมที่สุด รวมทั้งเทคนิคระหว่างการเตรียมและแปรรูปอาหาร การเพาะงอกเป็นเพียงเทคนิคหนึ่งสำหรับการเตรียมวัตถุดิบก่อนนำมาผลิตอาหาร ซึ่งพบว่าสามารถช่วยลดสารต้านโภชนาการได้มากขึ้น ย่อมส่งผลต่อการดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้

6. เอกสารอ้างอิง

1. สำนักมาตรฐานสินคาและระบบคุณภาพ, 2549, ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ครั้งที่ 1, สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
2. วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, ถั่วเหลือง, แหล่งที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki/ถั่วเหลือง, 24 มกราคม 2555.
3. Sandberg, Ann-Sofie, 2002, Bioavailability of minerals in legumes, British Journal of Nutrition 88 (3): S281–S285.
4. นัยนา บุญทวียุวัฒน์, 2546, ชีวเคมีทางโภชนาการ (Nutritional Biochemistry), บริษัทซิกม่า ดีไซน์กราฟฟิก จำกัด, กรุงเทพฯ.
5. Carroll, A.L. and Karen, R.P., 2005, p.137, Nutrition and diet therapy: evidence-based applications. In: Rutherford Przytulski, editors. 4th edition, Philadelphia PA: F.A. Davis Company.
6. จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529, เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์, ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 209 น.
7. Gibson, R.S., Perlas, L. and Hotz, C., 2006, Improving the bioavailability of nutrients in plant foods at the household level, Proceedings of the Nutrition Society 65: 160–168.
8. Bau, H.M., Villaume, C., Nicolas, J.P. and Mejean L., 1997, Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Anti-nutritional Factors of Soya Bean (*Glycine max*) Seeds, Journal of the Science of Food and Agriculture 73: 1-9.
9. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, Soybean / ถั่วเหลือง, แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1359/soybean-ถั่วเหลือง, ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร, 24 มกราคม 2558.
10. Wikipedia, the free encyclopedia, Soy bean, Available source: http://en.wikipedia.org/wiki/Soybean, January 24, 2012.
11. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, ผลไม้เปลือกแข็ง พืชเมล็ด ถั่วเมล็ดแห้ง และผลิตภัณฑ์ (Pulses, nuts, seeds and products), แหล่งที่มา: http://nutrition.anamai.moph.go.th/ FoodTable/.html, 24 มกราคม 2555.
12. ประไพศรี ศิริจักรวาล และประภาศรี ภูวเสถียร, 2546, รู้ก่อนพร้อมกว่า “ถั่วเหลือง... มีดีอย่างไร”, หนังสือรวบรวมบทความตีพิมพ์จากหนังสือพิมพ์มติชน, บริษัท สำนักพิมพ์แม่บ้าน จำกัด: กรุงเทพฯ.
13. Balk, E., Chung, M., Chew, P., et al., 2005, Effects of Soy on Health Outcomes, Summary, Evidence Report/Technology Assessment No. 126, AHRQ Publication No. 05-E024-1. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality.
14. Wikipedia, the free encyclopedia, Phytic acid, Available source: http://en.wikipedia.org/wiki/Phytic_acid, January 24, 2012.
15. Reddy, N.R., Pierson, M.D., Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K., 1989, Phytates in Cereals and Legumes, Boca Raton, FL, CRC Press.
16. Robert, L.A. and Walter, J.W., 1995, Compositional Changes in Trypsin Inhibitors, Phytic Acid, Saponins and Isoflavones Related to Soybean Processing, Journal of Nutrition 125: 581S-588S.
17. Egounletya, M. and Aworhb, 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 groundbean (*Macrotyloma geocarpa Harms*), Journal of Food Engineering 56 (2–3): 249–254.
18. Lestienne I., Christele I.V., Claire Mouquet et al., 2005, Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents, Food Chemistry 89: 421–425.

19. Kaushik, G., Satya, S. and Naik, S.N., 2010, Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean, Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism 3: 39–46.
20. อิงฟ้า คำแหง อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, 2552, การเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืชในระหว่างการงอก, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 40, ฉบับที่ 3 (พิเศษ), กันยายน-ธันวาคม 2552.
21. Megat Rusydi, M.R., Noraliza, C.W., Azrina, A., and Zulkhairi, A., 2011, Nutritional changes in germinated legumes and rice varieties, International Food Research Journal 18: 705-713.
22. Trugo, L.C., Donangelo, C.M., Trugo, N.M.F. and Bach Knudsen, K.E., 2000, Effect of Heat Treatment on Nutritional Quality of Germinated Legume Seeds, Journal of Agricultural and Food Chemistry 4: 2082-2086.
23. Miller, D., Schricker, B., Rasmussen, R. and Van Campen, D., 1981, An in vitro method for estimation of iron availability from meals, The American Journal of Clinical Nutrition 34: 2248-2256.
24. Fageer, A.S.M., Babiker, E.E. and Tinay, A.H.E., 2004, Effect of malt pretreatment and/or cooking on phytate and essential amino acids contents and in vitro protein digestibility of corn flour, Food Chemistry 88(2): 261–265.
25. Ghavidel, R.A., and Prakash, J., 2007, The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds, LWT 40: 1292–1299.
26. AOAC, 2000, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed., Maryland, USA.
27. Haug, W. and Lantzsch, H.J., 1983, Sensitive Method for the Rapid Determination of Phytate in Cereals and Cereal Products, Journal of the Science of Food 34: 1423-1426.
28. Reichwald, K. and Hatzack, F., 2008, Application of a Modified Haug and Lantzsch Method for the Rapid and Accurate Photometrical Phytate Determination in Soybean, Wheat, and Maize Meals, Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (9): 2888–2891.
29. AACC International Approved Methods, AACCI Method 22-40.01, Measurement of Trypsin Inhibitor Activity of Soy Products by Spectrophotometric Method, Available source: http://methods.aaccnet.org/summaries/22-40-01.aspx, November 2, 2015
30. Ramadan, E.A., 2012, Effect of Processing and Cooking Methods on the Chemical Composition, Sugars and Phytic Acid of Soybeans, Food and Public Health 2(1): 11-15.
31. Mubarak, A.E., 2005, Nutritional composition and anti-nutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes, Food Chemistry 89 (4): 489–495.
32. Urbano, G., López-Jurado, M., Frejnagel, S., Gómez-Villalva, E., Porres, J.M., Frías, J., Vidal-Valverde, C., Aranda, P., 2005, Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum L.*) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques, Nutrition 21(2) :230-9.
33. Uppal, V. and Bains, K., 2012, Effect of germination periods and hydrothermal treatments on in vitro protein and starch digestibility of germinated legumes, Journal of Food Science and Technology 49(2): 184–191.
34. Hemalatha, S., Platel, K. and Srinivasan, K., 2007, Influence of germination and fermentation on bioaccessibility of zinc and iron from food grains, European Journal of Clinical Nutrition 61: 342–348.

35. Egli, I., Davidsson, L., Juillerat, M.A., Barclay, D., Hurrell, R., 2002, The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding, Journal of Food Science 67: 3484–3488.
36. Abdel-Gawad, A.S., Ramadan, B.R. and Oraby, R.E.A., 2013, Legume phytases: Characteristics and changes in activity during germination, International Journal of Agricultural Policy and Research 1 (4): 93-102.
37. Kyriakidis, N. B., M. Galiotou-Panayotou, A. Stavropoulou and Athanasopoulos, P., 1998, Increase in phytase activity and decrease in phytate during germination of four common legumes, Biotechnology Letters 20: 475-478.
38. Senna, R., V. Simoni, Saliva-Neto and Fialho M.A.C., 2006, Induction of acid phosphatase activity during germination of maize (*Zea mays L.*) seed, Plant Physiology and Bio chemistry 44: 467-473.

ภาคผนวก A

การหาความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และกากใย ตามมาตรฐานของ AOAC, 2000

1. การหาความชื้น ด้วยวิธีการอบแห้งในตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

หลักการ คือ นำตัวอย่างมาระเหยน้ำออกด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส น้ำหนักตัวอย่างที่หายไป คือน้ำหนักของน้ำในตัวอย่าง

วิธีการ

1. อบภาชนะอลูมิเนียม ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที, นำออกทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง, ชั่งน้ำหนัก (w_1)
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม (w) ใส่ในภาชนะอลูมิเนียม
3. นำตัวอย่างเข้าตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
4. นำตัวอย่างออก ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
5. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างในภาชนะอลูมิเนียม (w_2) นำไปอบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างไม่เปลี่ยนแปลง

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของแข็ง (\%ของแข็ง)} = \frac{100 \times (w_2 - w_1)}{w}$$

เมื่อ w = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
w_1 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
w_2 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น (\%ความชื้น)} = 100 - \text{\%ของแข็ง}$$

2. การหาปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีเจลดาร์ล (Kjeldahl method)

โปรตีนในอาหารส่วนใหญ่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ หลักการ คือ การนำตัวอย่างมาย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่อุณหภูมิสูง 420 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างเปลี่ยนแปลงมาอยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วใช้สารละลายด่างเข้มข้นเป็นตัวทำปฏิกิริยากับเกลือดังกล่าวจนเกิดแก๊สแอมโมเนียขึ้น แล้วใช้สารละลายบอริกจับแก๊สที่เกิดขึ้น นำไปไตเตรทกับกรดโดยมีอินดิเคเตอร์เป็นตัวชี้บอกปริมาณไนโตรเจนที่มีในตัวอย่าง แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณโปรตีน โดยการคูณด้วย conversion factor

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อย
2. ใส่โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) ซึ่งเป็นสารช่วยเพิ่มจุดเดือด น้ำหนัก 10 กรัม
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4) ลงไป 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเบาๆ
4. เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ลงไป 8 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ
5. ย่อยตัวอย่างในเครื่องย่อย ที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส นาน 1-1.5 ชั่วโมง หรือจนกว่าตัวอย่างจะใส
6. นำตัวอย่างลง ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เติมน้ำกลั่นขณะตัวอย่างอุ่น ประมาณ 60 มิลลิลิตร
7. นำตัวอย่างเข้าเครื่องกลั่น เติมด่างเข้มข้น (40%NaOH) มากเกินพอหรือประมาณ 80 มิลลิลิตร
8. จับแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้น ด้วยสารละลายกรดบอริก (4%Boric acid) ที่มีเมทิลีนบลูและเมทิลเรดเป็นอินดิเคเตอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
9. นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (0.1 N HCl) จนได้สารละลายที่เป็นสีเริ่มต้น

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (\%ไนโตรเจน)} = \frac{1.4007 \times (v1 - v2) \times Normality\ of\ HCL\ (mol/L)}{Weight\ of\ Sample\ (g)}$$

เมื่อ v1 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรทตัวอย่าง
v2 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรท blank

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน (\%โปรตีน)} = \%\text{ไนโตรเจน} \times \text{conversion factor}$$

เมื่อ Conversion factor (ถั่วเหลือง) = 5.71

3. การวิเคราะห์หาไขมัน (crude fat)

ไขมันที่พบในอาหารส่วนใหญ่เป็นชนิดไตรกลีเซอรอลและอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน เช่น สารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีน (Lipoprotein) หรือคาร์โบไฮเดรต (Liposaccharide) หลักการ คือการสกัดไขมันออกจากสารประกอบนั้น ซึ่งไขมันชนิดนี้สามารถสกัดออกได้ดีด้วยอีเทอร์ เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ และเอทิล

อีเทอร์ ซึ่งจัดเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ไขมันจะถูกละลายอยู่ในตัวทำลาย แล้วจึงนำมาระเหยออก ส่วนที่เหลืออยู่ คือ ปริมาณไขมัน

วิธีการ

1. อบบีกเกอร์แก้ว สำหรับใส่ตัวทำลาย ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที, นำออกทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (w_1) พักไว้
2. ชั่งตัวอย่างแห้ง น้ำหนัก 1.5 กรัม (w) ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. เติมเอทานอล 2 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริก (9N HCl) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
4. ย่อยตัวอย่างในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส นาน 30-40 นาที, ทิ้งให้เย็นตัว
5. นำตัวอย่างที่ได้เทลงกรวยแยก ล้างตัวอย่างออกให้หมดด้วยเอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
6. เติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที
7. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าอีก 1 นาที ทิ้งไว้ 10 นาที
8. แยกตัวอย่าง ออกมาทางจุกปิด-เปิด (ส่วนที่ดำด้านล่าง) ใส่ลงในบีกเกอร์ ส่วนใสด้านบนคือตัวทำละลาย เทออกมาจากด้านบนกรองผ่านสำลีใส่บีกเกอร์พักไว้ (จากข้อ 1)
9. นำส่วนที่ดำด้านล่างมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ 15 มิลลิลิตรและปิโตรเลียมอีเทอร์ 15 มิลลิลิตร แยกตัวอย่างออก เก็บตัวทำละลายรวมไว้ในบีกเกอร์ใส่ตัวทำละลาย (ข้อ 8)
10. ล้างสำลีด้วยตัวทำละลายผสมไดเอทิลอีเทอร์กับปิโตรเลียมอีเทอร์ (1:1) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
11. นำบีกเกอร์ที่มีไขมันละลายอยู่ในตัวทำละลายมาต้มบนอ่างควบคุมอุณหภูมิ จนตัวทำละลายระเหยจนหมด แล้วจึงนำไปอบ ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที, นำออกทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (w_2)
12. นำไปอบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างไม่เปลี่ยนแปลง

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน (\% ไขมัน)} = \frac{100 \times (w_2 - w_1)}{w}$$

เมื่อ w = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
w_1 = น้ำหนักของบีกเกอร์ (กรัม)
w_2 = น้ำหนักของบีกเกอร์และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

4. การวิเคราะห์กากใยหรือเส้นใยหยาบ (crude fiber)

หลักการ คือ การนำอาหารมาสกัดไขมันออก ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนด้วยกรดซัลฟิวริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำไปอบแห้ง จนเหลือแต่กากใยหรือเส้นใยหยาบ

วิธีการ

1. อบจานแก้วพร้อมฝา และกระดาษกรอง Whatman#3 สำหรับใส่กากตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที, นำออกทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (w_1) พักไว้
2. ชั่งตัวอย่างแห้ง น้ำหนัก 2 กรัม (w) บนกระดาษกรอง Whatman#1 พับและมัดด้วยเชือกใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. เติมไดเอทิลอีเทอร์เพื่อสกัดไขมันออก ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เขย่าเป็นระยะ นาน 40 นาที
4. นำกระดาษห่อตัวอย่างออก ทิ้งไว้จนแห้งสนิท
5. ล้างตัวอย่างออกด้วยสารละลายกรดกรดซัลฟิวริก (1.25% H_2SO_4) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์แก้วทรงสูง นำไปต้ม 35 นาที
6. รินด้านข้างของบีกเกอร์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1.25% NaOH) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำผ้าวางบนกรวยกรองบุชเนอร์ (buchner funnel) กรองกากตัวอย่างออก ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำร้อน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จนไม่มีกรดเหลืออยู่ ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส
7. ล้างกากตัวอย่างที่อยู่บนผ้าออกด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1.25% NaOH) ลงในบีกเกอร์อีกครั้ง ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปต้มอีก 35 นาที
8. กรองกากตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง Whatman#3 (จากข้อ 1) และกรวยกรองบุชเนอร์ (buchner funnel) ล้างบีกเกอร์ให้หมดด้วยน้ำร้อน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ล้างกากด้วยเอทิลแอลกอฮอล์อีกครั้ง
9. พับกระดาษกรอง Whatman#3 ใส่ลงในจานแก้ว (จากข้อ 1) นำไปอบ ที่อุณหภูมิ 100±5 องศา-เซลเซียส นาน 120 นาที, นำออกทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (w_2)

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์กากใย (\% กากใย)} = \frac{100 \times (w_2 - w_1)}{w}$$

เมื่อ w = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
w_1 = น้ำหนักของจานแก้วและกระดาษกรอง Whatman#3 (กรัม)
w_2 = น้ำหนักของจานแก้วและกระดาษกรอง Whatman#3 หลังอบ (กรัม)

5. การวิเคราะห์เถ้า ด้วยวิธีการวิเคราะห์เถ้าแห้ง (Dry Ashing)

เถ้า หมายถึง ปริมาณแร่ธาตุทั้งหมดที่มีในอาหารซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ที่เหลืออยู่ภายหลังจากการแยกเอาน้ำและสารอินทรีย์ออก หลักการ คือ การเผาสารอินทรีย์ออกจากอาหารด้วยเตาเผาอุณหภูมิสูง 550 องศาเซลเซียส นาน 3-4 ชั่วโมง หรือจนกว่าตัวอย่างจะเป็นเถ้าสีขาว ให้คงเหลือไว้แต่สารอนินทรีย์นั้นคือปริมาณเถ้าทั้งหมด

วิธีการ

1. อบถ้วยกระเบื้องทนความร้อนสูง (crucible) ที่อุณหภูมิ 100$\pm$5 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง, นำออกทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง, ชั่งน้ำหนัก (w_1)
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม (w) ใส่ในถ้วยกระเบื้อง
3. ไล่ความชื้นในตัวอย่างบนเครื่องให้ความร้อน (Hot plate) ประมาณ 1 ชั่วโมง จนหมดควัน
4. นำตัวอย่างเข้าเตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3-4 ชั่วโมง จนได้เถ้าสีขาว
5. นำตัวอย่างออก ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
6. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างในถ้วยกระเบื้อง (w_2)

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า (\%เถ้า)} = \frac{100 \times (w_2 - w_1)}{w}$$

เมื่อ w = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
w_1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
w_2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ภาคผนวก B

การวิเคราะห์หาธาตุเหล็กด้วยเทคนิค AAS (Atomic Absorption Spectrophotometry)

หลักการ คือ นำเถ้าสีขาวที่เหลือจากการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า มาละลายด้วย 10% ของ $4HNO_3$ วิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer) โดยสารละลายที่ประกอบด้วยไอออนของธาตุที่สนใจจะถูกพ่นเข้าไปในเปลวไฟ ไอออนจะถูกเปลี่ยนเป็นไอของอะตอม ซึ่งยังคงอยู่ในระดับพลังงานต่ำที่สถานะพื้น (Ground State) และเมื่อผ่านแสงที่เปล่งจาก Hollow Cathode Lamp (HCL) ของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์เข้าสู่ไอของอะตอมของธาตุ อะตอมเหล่านี้จะดูดกลืนโฟตอน ทำให้อะตอมเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยอิเล็คตรอนที่อยู่วงนอกของอะตอมจะเคลื่อนย้ายไปสู่ระดับพลังงานที่สูงขึ้นหรือสถานะกระตุ้น (Excited State) ความยาวของคลื่นที่ก่อให้เกิดการดูดกลืนโฟตอนของไออะตอมนี้เป็นสมบัติเฉพาะของธาตุแต่ละชนิด และค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของอะตอมจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของไออะตอมหรือไอออนของธาตุนั้น

วิธีการ

1. ละลายเถ้าด้วย 10% ของ 4N HNO_3
2. กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman filter paper No. 541 ใส่ลงใน volumetric flask ล้าง crucible ตามหลายๆ ครั้ง ปรับปริมาตรด้วย 10% 4N HNO_3 เป็น 50 มิลลิลิตร
3. เก็บสารละลายตัวอย่างในขวดพลาสติกมีฝาเกลียว แช่เย็น เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย AAS
4. นำค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารละลายเทียบกับกราฟความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเหล็ก (มิลลิกรัม/100 กรัม)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)} \times \text{การเจือจาง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}$$

ภาคผนวก C

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารไฟเตท

ดัดแปลงตามวิธีของ Haug and Lantzsch (1983)

หลักการ คือ สารไฟเตทจะทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) เกิดการตกตะกอนที่สามารถวัดปริมาณได้ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ลงใน Elenmyler flask ขนาด 25 มิลลิลิตร
2. สกัดสารไฟเตทในตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (1M HCl) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) นาน 45 นาที
3. นำสารสกัดตัวอย่างปั่นเหวี่ยง ที่ 3000 rpm นาน 10 นาที พักไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 4°C
4. นำเฉพาะส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ต้มอีก 45 นาที
5. ลดอุณหภูมิตัวอย่างลง โดยนำไปแช่ในน้ำแข็ง นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (กรัม/มิลลิลิตร)

ภาคผนวก D

การตรวจสอบความสามารถในการย่อยของโปรตีนในหลอดทดลอง (*In Vitro* Protein Digestibility; IVPD)
ตามวิธีของ Fageer และคณะ (2004)

หลักการ คือ การจำลองสภาวะการย่อยคล้ายระบบการย่อยอาหารของมนุษย์ในหลอดทดลอง เพื่อวัดปริมาณโปรตีนที่สามารถย่อยได้ (protein digestibility) โดยนำอาหารมาย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน ปรับสภาวะในการย่อยคล้ายกระเพาะอาหารด้วยกรดไฮโดรคลอริก (สภาวะกรด = pH 2) และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาโปรตีนที่สามารถย่อยออกมาจากอาหารได้เปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ แสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการย่อยโปรตีน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้มีปริมาณไนโตรเจน 10 มิลลิกรัม (ถั่วเหลือง ชั่ง 0.5 กรัม)
2. ใส่สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (0.1 N HCl) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
3. เติมเอนไซม์เปปซิน (Sigma® No.P7000) ควบคุมอุณหภูมิตัวอย่าง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
4. หยุดปฏิกิริยาด้วย 10%TCA (trichloroacetic acid) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร
5. นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ 3000 rpm นาน 10 นาที
6. นำส่วนใสที่ได้มากรอง ด้วยกระดาษ Whatman#1 ก่อนนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการย่อยโปรตีนได้ (\%IVPD)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ย่อยได้ (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (กรัม)}}$$

ภาคผนวก E

การศึกษาความสามารถในการดูดซึมได้ของธาตุเหล็กโดยการจำลองระบบการย่อยอาหารในหลอดทดลอง (*In vitro* simulated gastrointestinal digestion method)

ดัดแปลงจากวิธีของ Miller et al. (1981)

หลักการ คือ การจำลองสภาวะการย่อยคล้ายระบบการย่อยอาหารของมนุษย์ในหลอดทดลอง เพื่อวัดปริมาณธาตุเหล็กที่สามารถแตกตัวออกมาพร้อมในการดูดซึมได้ (Dialysed Fe หรือ Bioaccessibility) โดยนำอาหารมาย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน ปรับสภาวะในการย่อยคล้ายกระเพาะอาหารด้วยกรดไฮโดรคลอริก (สภาวะกรด = pH 2) และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ต่อด้วยสภาวะการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม pancreatin และ bile extract ปรับสภาวะการย่อยคล้ายลำไส้เล็กด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (สภาวะด่าง = pH 7) ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ต่อเนื่องอีก 2 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กที่สามารถแพร่ผ่านถุง dialysis bag ออกมาได้ (วิธีวัดแบบ passive diffusion minerals) แสดงถึงปริมาณสารอาหารที่สามารถดูดซึมได้ ความสามารถในการดูดซึมแร่ธาตุเปรียบเทียบกับปริมาณแร่ธาตุที่วัดได้หลังย่อยด้วยเอนไซม์กับปริมาณธาตุอาหารเริ่มต้น แสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ Dialysable (หรือ Bioaccessibility)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ลงในหลอดทดลอง 50 มิลลิลิตร (polyethylene centrifuge tube) เติมน้ำปราศจากไอออน (Deionized water; DI) ให้ได้ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปรับ pH ในสารละลายตัวอย่างให้มี pH= 2 ด้วย 6N HCl ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบเป็น 50 มิลลิลิตร

2. เติมเอนไซม์เปปซิน[1] ปริมาตร 3.2 มิลลิลิตร นำไปควบคุมอุณหภูมิในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

3. นำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บรรจุลงในถุงไดอะไลสิส (dialysis tubing; ขนาด 12-14 KDa) ใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำ DI เพื่อรองรับแร่ธาตุที่แพร่ผ่านออกมาได้ นำไปควบคุมอุณหภูมิใน shaking water bath ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2.5 ชั่วโมง หลัง 30 นาทีแรก เติมเอนไซม์ผสม pancreatin-bile extract[2] ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

4. วิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุในสารละลายที่ได้ (Dialysed) ด้วยเครื่อง AAS

การคำนวณ

$$\% \text{ Dialysed} = \frac{\text{Dialysed Fe}}{\text{Total Fe}} \times 100$$

โดย % Dialysed คือ ค่าความสามารถในการซึมผ่านได้ของแร่ธาตุในหลอดทดลอง (*In vitro* Bioaccessibility)

[1]เอนไซม์เปปซิน เตรียมโดยการชั่ง pepsin (Sigma® No. P7000) น้ำหนัก 16 กรัม ละลายใน 0.1 M HCl ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

[2]เอนไซม์ผสม pancreatin-bile extract เตรียมโดยการชั่ง pancreatin (Sigma® No. P1750) น้ำหนัก 4 กรัม + bile extract porcine (Sigma® No. B8631) น้ำหนัก 25 กรัม ละลายใน 0.1 M $NaHCO_3$ ปริมาตร 1 ลิตร)