

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2552
โครงการวิจัยรหัส ว-ท (ค) 79.52

การใช้ประโยชน์ของแคลเซียมจากผลิตภัณฑ์เนื้อเทียมเสริมแคลเซียมในหนูทดลอง

Calcium bioavailability of texture vegetable protein fortified with calcium in rats

โดย

เยาวดี คุปตะพันธุ์	(Yaovadee Cuptapun)
ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์	(Duangchan Hengsawadi)
วันเพ็ญ มีสมญา	(Wanpen Mesomya)
จุฬาลักษณ์ จารุณูช	(Chulaluk Charunuch)
วิภากรณ์ ณ ถลาง	(Vipaporn Na Thalang)

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Institute of Food Research and Produce Development Kasetsart University

สารบัญเรื่อง

	หน้า
Table of Contents	3
ABSTRACT	4
บทคัดย่อ	5
บทนำ	6
วิธีวิจัย	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	12
สรุป	20
คำขอบคุณ	20
เอกสารอ้างอิง	21

Table of Contents

	Page
Table 1 Composition of Experimental Diets (%)	10
Table 2 Chemical composition of texture vegetable protein and casein (g/100 g)	12
Table 3 Chemical composition of experimental diet (g/100 g)	12
Table 4 Body weight (g)	13
Table 5 Average Body Weight Gain week (g)	14
Table 6 Food intake (g)	15
Table 7 Food intake (g/d)	15
Table 8 Ca intake (mg/d)	15
Table 9 Ca absorption (mg/d)	16
Table 10 Ca Retention (mg/d)	16
Table 11 True absorption coefficient (TAC)	16
Table 12 Femur Bone weight (dry weight) (g)	17
Table 13 Ca in Femur (g)	17
Table 14 Ca in bone (mg/g bone weight)	17
Table 15 Ca in Feces (mg/d)	18
Table 16 Ca in Urine (mg/d)	18
Table 17 Ca in Serum (mg/dl)	18
Table 18 Phosphorus in Serum (mg/dl)	18
Table 19 Alkaline phosphatase in Blood (U/l)	19

Abstract

The purpose of this research was to study the bioavailability of Calcium (Ca) from texture vegetable protein (TVP) fortified with 0.4% CaCO_3 or 0.3% CaCl_2 in rats. Calcium was determined in terms of : retention, absorption, intake, serum, bone etc. Three experimental diets and a control diet (casein) were prepared by the AOAC method from TVP, TVP+ CaCO_3 , TVP + CaCl_2 and casein. The animal experimentation were screened every 4, 8 and 12 weeks for the changes observed in their growth and the circulating levels of calcium (Ca), phosphorus (s) and alkaline phosphates activity. The results showed that calcium contents in TVP, TVP + CaCO_3 , TVP + CaCl_2 , were 334, 409 and 471 mg/100 g respectively. At 8 weeks Ca retention and Ca absorption in casein and TVP + CaCO_3 groups were 41.93 ± 5.70 , 42.22 ± 6.47 and 43.60 ± 5.40 , 44.37 ± 5.97 mg/d which were higher than TVP and TVP+ CaCl_2 groups which were 23.12 ± 6.15 , 28.43 ± 8.05 and 25.91 ± 5.94 , 30.89 ± 7.95 mg/d respectively and significance different. But when 12 weeks the Ca bioavailability of the experimental diet and control group showed no statistical significant difference ($p < 0.05$). The findings indicate that TVP fortified with CaCO_3 showed higher Ca bioavailability than TVP and TVP + CaCl_2 in short term period 8 weeks.

Key words : calcium bioavailability,
calcium absorption,
calcium retention, texture vegetable protein, kaset protein

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา การใช้ประโยชน์ของแคลเซียม จากเนื้อเทียม เสริมแคลเซียม ในปริมาณ 0.4% CaCO_3 หรือ 0.3% CaCl_2 โดยใช้หนูทดลอง มีการวิเคราะห์แคลเซียมในรูปของแคลเซียม retention, การดูดซึมแคลเซียม, ปริมาณที่กิน แคลเซียมในซีรัมหนูทดลอง แคลเซียมในกระดูกและอื่นๆ การทดลองประกอบด้วยกลุ่มทดลอง 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มเนื้อเทียม (TVP) กลุ่มเนื้อเทียมเสริมแคลเซียม คาร์บอเนต ($\text{TVP} + \text{CaCO}_3$) และกลุ่มเนื้อเทียมเสริมแคลเซียมคลอไรด์ ($\text{TVP} + \text{CaCO}_3$) โดยมีกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม ที่เลี้ยงด้วยอาหารเคซีน อาหารเตรียมโดยวิธีการของ AOAC การทดลองในหนูทดลองใช้ระยะเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์ เพื่อการเปลี่ยนแปลงในรูปของการเจริญเติบโต ปริมาณของ Ca P และ Alkaline phosphatase ผลการทดลองพบว่า ปริมาณแคลเซียมใน TVP, $\text{TVP} + \text{CaCO}_3$, $\text{TVP} + \text{CaCl}_2$ มีปริมาณ 334 409 และ 471 มก/100 กรัม ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 ปริมาณ Ca retention และ Ca absorption ในอาหาร เคซีน และ $\text{TVP} + \text{CaCO}_3$ มีปริมาณ 41.93 ± 5.70 , 42.22 ± 6.47 และ 43.60 ± 5.04 , 44.37 ± 5.97 มก./วัน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าในอาหารทดลอง TVP และ $\text{TVP} + \text{CaCl}_2$ ซึ่งมีปริมาณ 23.12 ± 6.15 , 28.43 ± 8.05 และ 25.91 ± 5.94 , 30.89 ± 7.95 มก./วัน ตามลำดับ แต่เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 12 ค่า Ca bioavailability ของอาหารทดลองและอาหารควบคุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การทดลองนี้สรุปได้ว่า การเสริมเนื้อเทียมด้วย CaCO_3 ให้ค่า Ca bioavailability สูงในระดับเดียวกับอาหารควบคุมเคซีนและสูงกว่าเนื้อเทียมสูตรปกติและเนื้อเทียม เสริม CaCl_2 ในระยะเวลาการทดสอบ 8 สัปดาห์

คำสำคัญ : calcium bioavailability, calcium absorption, calcium retention, เนื้อเทียม, โปรตีนเกษตร

บทนำ

โรคกระดูกพรุนจัดเป็นปัญหาสำคัญในทางสาธารณสุข เกิดจากการได้รับแคลเซียมไม่เพียงพอ ซึ่งมักพบในผู้ป่วยสูงอายุ เนื่องจากเป็นวัยที่มีอัตราการสลายของธาตุแคลเซียมสูง ข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุข พบว่า คนไทยส่วนใหญ่บริโภคแคลเซียมในปริมาณต่ำกว่าข้อกำหนด จากการสำรวจในปี พ.ศ.2537 พบว่าคนไทยบริโภคแคลเซียม 344 มิลลิกรัม / วัน (กระทรวงสาธารณสุข 2538) หรือประมาณ 43% ของข้อกำหนดสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน (800 มิลลิกรัม แคลเซียมต่อวัน)

ถั่วเหลืองมีสาร isoflavone ซึ่งเป็นสารเคมีในพืชที่ฤทธิ์ที่มีคล้ายเอสโตรเจน (phytoestrogens) เป็นฮอร์โมนในร่างกายที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลของกระดูก Achiraya Kamchan et al, 2004 ได้ศึกษา Calcium bioavailability ของพืชผักชนิดต่างๆ ในประเทศไทย พบว่า calcium bioavailability ของถั่วเหลืองเป็น 0.45 เท่าของนมผง และพบว่า Oxalate ในพืชเป็นตัวบ่งชี้การดูดซึมแคลเซียม กล่าวคือ พืชที่มีปริมาณ Oxalate สูงจะทำให้การดูดซึมแคลเซียมลดลง

Mortenson, et al 1996 ได้เปรียบเทียบการดูดซึมจากการเติมแคลเซียมคาร์โบเนตในนมและการเติมแคลเซียมคาร์โบเนตเสริมวิตามินดี เปรียบเทียบกับนมที่ไม่ได้เติมอะไรเลย ผลการทดลองไม่พบความต่างในการดูดซึมแคลเซียมของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด Martin BR, et al 2002 ได้ศึกษาการดูดซึมแคลเซียมของแคลเซียม 3 ชนิด คือ แคลเซียมออกซาลेट แคลเซียมแลคเตท และแคลเซียมซิเตรทมาเลท พบว่ามีการดูดซึม 0.102, 0.296 และ 0.363 ตามลำดับ

ในหลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับส่วนประกอบในอาหารที่อาจส่งผลต่อการนำแคลเซียมไปใช้โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ปัจจัยที่ส่งเสริมการนำแคลเซียมไปใช้ เช่น น้ำตาลแลคโตส วิตามินดี วิตามินเค กรดอินทรีย์บางชนิด และปัจจัยที่ลดการนำแคลเซียมไปใช้ เช่น กากใย ไฟเตทออกซาลेट โปรตีนบางชนิด ไขมัน และเกลือ (Gueguen et al., 2000)

C.Alan Titchenal และ Joannie Dobba, 2007 ได้จำแนกอาหารที่มี Calcium bioavailability ในระดับต่างๆ ไว้ 3 ชนิด คืออาหารที่เป็นแหล่งแคลเซียมสูงจะประกอบด้วยเงื่อนไข 2 ประการ คือ 1 serving ต้องมี absorbable calcium อย่างต่ำ 30 ม.ก. และพลังงานในอาหารต่ำกว่า 100 กิโลแคลอรี (418 กิโลจูล)

Calcium bioavailability ใน ระดับต่างๆ 3 ชนิดได้แก่

ระดับที่ 1 ต้องให้ค่า absorbable calcium 30 ม.ก. ซึ่งอาหารเหล่านี้ได้แก่ นม และผลิตภัณฑ์จากนม เต้าหู้ ปลาซาลมอน และชาร์ดินกระป๋องที่มีกระดูก

ระดับที่ 2 คือ potential calcium source หรืออาหารที่เป็นแหล่งแคลเซียมระดับกลาง ซึ่งจะตรงเพียงเงื่อนไขเดียว อาหารเหล่านี้ ได้แก่ ไอศกรีม ผักใบเขียวเกือบทั้งหมด

ระดับที่ 3 คือ poor calcium source หรืออาหารที่เป็นแหล่งแคลเซียมระดับต่ำ ซึ่งไม่ตรงกับเงื่อนไขข้างต้นเลย ได้แก่ อาหารส่วนที่เหลือได้แก่ เนยแข็ง ถั่วทั้งหมด เต้าหู้บางชนิด อัลมอนต์ และงา

Yuan, YV และ Kitts, D.D (1994) รายงานว่าหนูที่เลี้ยงด้วยนมถั่วเหลืองให้ปริมาณแคลเซียมในกระดูกมากกว่าในหนูกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเคซีน

เนื้อเทียมหรือโปรตีนเกษตรผลิตจากแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน โดยใช้แป้งถั่วเหลืองสกัดไขมันนำมาเพิ่มความชื้นโดยใช้น้ำหรือไอน้ำให้มีความชื้นสูงถึง 12% ผสมให้เข้ากันในเครื่องผสม แล้วนำเข้าเครื่องอัดอุนทุมิสูง (Cooker Extruder) ใช้เวลาสั้นๆ จะได้โปรตีนเกษตรซึ่งมีลักษณะเหมือนเนื้อไก่เป็นชิ้นๆ ออกมา (ประชา บุญศิริกุล, 2537) จากการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณแคลเซียม 186.8 มิลลิกรัม / 100 กรัม หรือ 23.35% Thai RDI, (จุฬาลักษณ์, 2553 ข้อมูลยังไม่ตีพิมพ์) เป็นที่ทราบดีว่าปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ และบุคคลทั่วไปมีความตื่นตัวเรื่องอาหารเสริมแคลเซียมเป็นอย่างมากเนื่องจากมีงานวิจัยมากมาย ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างแคลเซียมในอาหาร และโรคที่เกี่ยวข้องกับการขาดแคลเซียม เช่น โรคกระดูกอ่อน ความดันในเลือดสูง และมะเร็งลำไส้ ซึ่งโรคเหล่านี้มีสาเหตุมากมายแต่นักวิทยาศาสตร์ได้วิจัยพบว่า การกินอาหารที่มีแคลเซียมเป็นอีกแนวทางที่ช่วยป้องกันโรคเหล่านี้ (Gueguen et al, 2007) แคลเซียมจากพืชเป็นแหล่งที่ร่างกายดูดซึมได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้จากนม นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่ลดการนำแคลเซียมไปใช้ ได้แก่ คาเฟอีน ไฟเตต ออกซาเลต โปรตีน ไขมัน และเกลือ (Gueguen et al, 2000, Kennefick et al, 2000) ซึ่งเหตุเหล่านี้ ทำให้คนทั่วไปที่รับประทานพืช หรือ กลุ่มบริโภคมังสวิรัต ชนิดเข้มงวด (ไม่รับประทาน สัตว์ทุกชนิดรวมทั้งไข่และนม) มีปัญหาในการได้รับแคลเซียมไม่เพียงพอ

การศึกษา Calcium bioavailability หรือการใช้ประโยชน์ของแคลเซียมในร่างกายเป็นสิ่งที่ควรทำ เพื่อให้ผู้บริโภคได้ทราบถึงข้อมูลการนำแคลเซียมไปใช้ในร่างกาย Leon Gueguen, 2000 ได้สรุปวิธีการวิเคราะห์ Calcium bioavailability ในหลอดทดสอบ (In vitro) ว่าเป็นวิธีการที่ไม่อาจให้คำตอบถึงคุณค่าทางโภชนาการ การดูดซึม และให้ผลไม่ตรงเท่ากับในวิธี In vivo หรือในสิ่งมีชีวิต

งานวิจัยมากมายที่ศึกษา Calcium bioavailability ของอาหารแหล่งต่างๆ โดยใช้หนูทดลอง ในช่วงที่หนูเจริญเติบโต อายุ 4 – 8 สัปดาห์ หนูมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และให้การตอบสนองต่อการศึกษา calcium bioavailability อย่างดี ในช่วงระยะเวลาที่ศึกษา 4 – 12 สัปดาห์ ซึ่งถ้าศึกษาในคนต้องใช้เวลา 12 เดือน หรือนานกว่านั้น (Lean Gueguen, 2000) หรือแม้แต่วิธีการศึกษาใน in vitro ซึ่งใช้การดูดซึมในลำไส้ของแคลเซียม ไม่ได้สะท้อนความสามารถในการใช้ประโยชน์ของแคลเซียม เพราะแคลเซียมสะสมอยู่ในกระดูกและเลือด

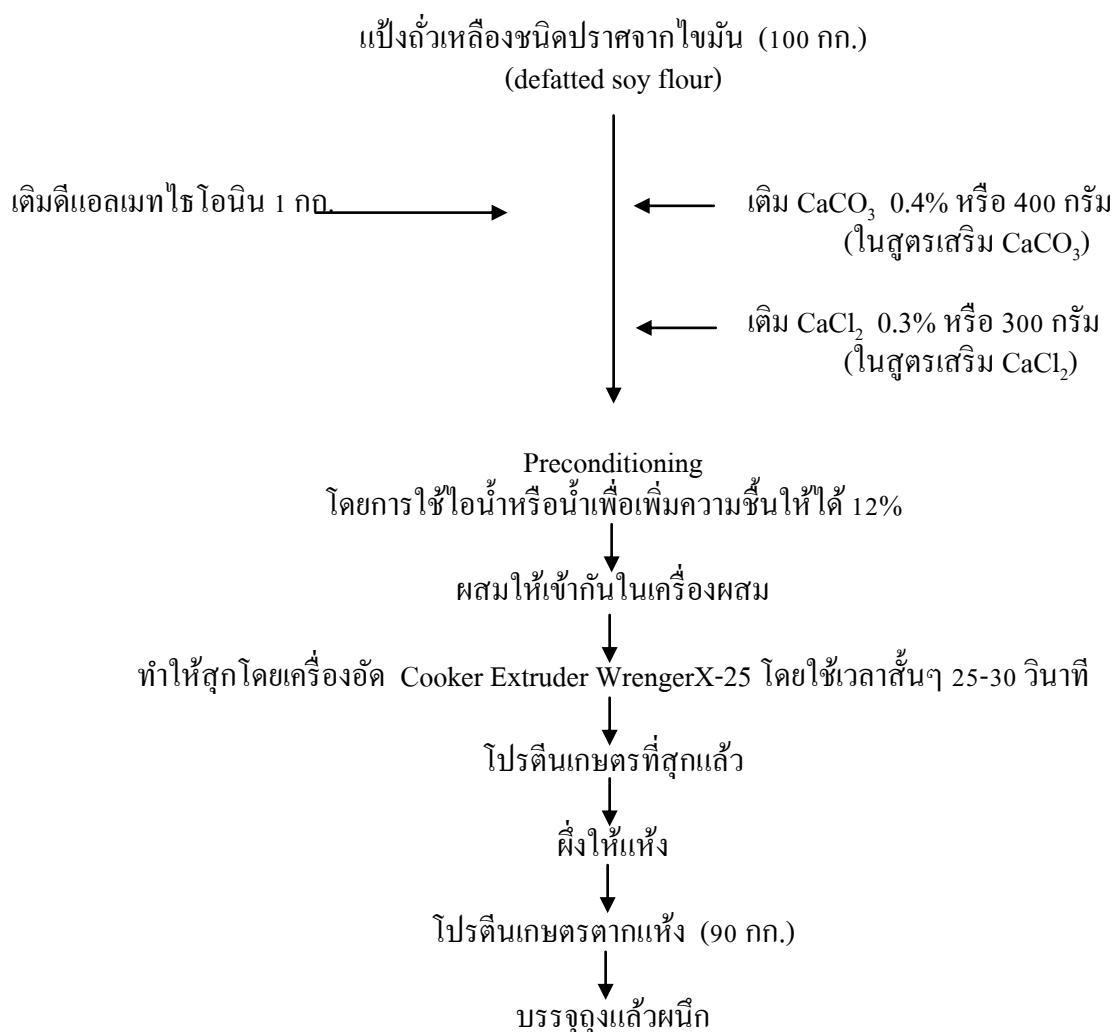
อย่างไรก็ตาม ไม่มีงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษา Calcium bioavailability ในผลิตภัณฑ์จากแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน (defatted soy flour) เสริมแคลเซียม ดังนั้น จึงมีแนวความคิดในการปรับปรุงคุณภาพ

ของเนื้อเทียม โดยมุ่งเน้นการผลิตและพัฒนาเนื้อเทียม ด้วยการเสริมแคลเซียม 2 ชนิด คือ แคลเซียมคาร์บอเนต และแคลเซียมคลอไรด์ การที่เลือกแคลเซียม 2 ชนิดนี้ เนื่องจากแคลเซียมคาร์บอเนตเมื่อเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อเทียม จะให้คุณสมบัติของเนื้อสัมผัสที่นุ่มเนียนโปร่ง ในขณะที่แคลเซียมคลอไรด์จะให้คุณสมบัติของเนื้อสัมผัสที่แน่น และเหนียว เพิ่มความเป็นเส้นใย โดยการเติมแคลเซียมทั้ง 2 ชนิดนี้ จะเติมในปริมาณที่กล่าวอ้างได้ว่า มีปริมาณแคลเซียม สูง (>30% RDI) โดยมีการศึกษาผลทางเคมีเนื้อเทียม ได้แก่ การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ จากนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาศึกษาความสามารถในการนำแคลเซียมไปใช้ได้ ในอาหาร (Calcium bioavailability) โดยศึกษาในหนูทดลอง เป็นระยะเวลา 3 เดือน มีการศึกษา Calcium retention, calcium absorption calcium intake, calcium excretion ตลอดจนค่าเอนไซม์เลือดหนูที่เกี่ยวข้องกับแคลเซียม ได้แก่ alkaline phosphatase, ปริมาณ calcium และ phosphorus ในเลือด

วิธีวิจัย

1. ผลิตเนื้อเทียมจากแป้งถั่วเหลืองปราศจากไขมัน (defatted soy flour) 3 สูตร คือ เนื้อเทียมสูตรปกติ เนื้อเทียมเสริมแคลเซียมคาร์บอเนต และเนื้อเทียมเสริมแคลเซียมคลอไรด์

เนื้อเทียมหรือโปรตีนเกษตรผลิตโดยนำแป้งถั่วเหลืองพร่องไขมัน 100 กิโลกรัมโดยน้ำหนัก ผสมกับดีแอลเมทไธโอนิน 1 กิโลกรัม และเติม CaCO_3 400 กรัม หรือ CaCl_2 300 กรัม ในสูตรเสริมแคลเซียม เติมน้ำหรือไอน้ำเพื่อปรับความชื้นให้ได้ประมาณ 12% ผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาเข้าเครื่องอัดเส้น อุณหภูมิสูงประมาณ 290 องศาเซลเซียส ในเวลาสั้นประมาณ 30-50 วินาที จะได้ผลิตภัณฑ์ลักษณะเหมือนเนื้อไก่ชิ้น นำผลิตภัณฑ์นี้มาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสายพานที่อุณหภูมิ 0-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 12-18 วินาที จะได้โปรตีนเกษตรแห้งหนักประมาณ 90 กิโลกรัม ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 49.74 และไขมันร้อยละ 0.26 ดังรายละเอียดในแผนภูมิที่ 1



แผนภูมิที่ 1 การทำโปรตีนเกษตร หรือเนื้อเทียม จากแป้งถั่วเหลือง ปราศจากไขมัน

2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ในข้อ 1 ได้แก่ โปรตีน ความชื้น เถ้า กากใย และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ AOAC 2000
3. นำเนื้อเยื่อทั้ง 3 สูตร มาผสมอาหารทดลองให้หนูทดลอง ดังมีรายละเอียด คือ

Table 1 Composition of experimental diets (%)

Ingredient (g)	Casein (Positive control)	TVP (Negative control)	TVP + CaCO₃ (g)	TVP + CaCl₂ (g)
Sample	-	200	200	200
Casein	200	-	-	-
L-cystine	3.0	3.0	3.0	3.0
Corn starch	529.5	529.5	529.5	529.5
Sucrose	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50
Soy bean oil	70	70	70	70
Mineral**mixture AIN-93 G	35	35	35	35
Vitamin**mixture AIN-93 VX	10	10	10	10
Choline chloride	2.5	2.5	2.5	2.5
Total	1000	1000	1000	1000

* TVP – Texture vegetable protein หรือเนื้อเทียม

** Vitamin mixture สูตร AIN – 93 VX มีรายละเอียด คือ หน่วย กรัม/กิโลกรัม Niacin 3, Calcium Pantothenate 1.6, Pyridoxine HCl 0.7, Thiamine HCl 0.6, Riboflavin 0.6 Folic acid 0.2, Biotin 0.02, Vitamin E Acetate (500 IU/g) 15, Vitamin B12 (0.1%) 2.5, Vitamin A Palmitate (500000 IU/g) 0.8, Vitamin D3 (400000 IU/g) 0.25, Vitamin K1 Dextrose Mix (10 mg/g) 7.50, Sucrose 967.23 รวม 1000 กรัม

* Mineral Mix AIN-93 G มีรายละเอียด คือ หน่วย กรัม/กิโลกรัม Calcium Carbonate 357, Potassium Phosphate. monobasic 196, Potassium citrate. H₂O 70.78, Sodium Chloride 74, Potassium Sulfate 46.6, Magnesium oxide 24, Ferric Citrate, U.S.P., 6.06, Zine Carbonate 1.65, Manganous Carbonate 0.63, Cupric Carbonate 0.3, Potassium Iodate 0.01, Sodium Selenate 0.01025, Ammonium Paramolybdate. 4H₂O 0.00795, Sodium Metasilicate. 9H₂O 1.45, Chromium Potassium Sulfate. 12H₂O 0.275, Lithium Chloride 0.0174, Boric acid 0.0815, Sodium Fluoride 0.0635, Nickel Carbonate 0.0318, Ammonium Vanadate 0.0066, Sucrose finely powdered 221.026 รวมทั้งสิ้น 1000 กรัม

4. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรในข้อ 3 ได้แก่ การวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน ความชื้น กากใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต และปริมาณแคลเซียม ตามวิธีการ AOAC 2000
5. ศึกษา Calcium bioavailability โดยนำอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรมาเลี้ยงหนูทดลอง 3 เดือน โดยใช้หนูพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ จำนวน 84 ตัว อายุประมาณ 3 สัปดาห์ (หย่านม) โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 21 ตัว ดังมีรายละเอียด คือ
 - 5.1 กลุ่มควบคุม (positive control) เลี้ยงด้วยอาหารเคซีน (Casein)
 - 5.2 กลุ่มควบคุม (negative control) เลี้ยงด้วยอาหารผสมโปรตีนเกษตร (TVP)
 - 5.3 กลุ่มทดสอบ (TVP+ CaCO_3) เลี้ยงด้วยอาหารผสมโปรตีนเกษตร และ CaCO_3
 - 5.4 กลุ่มทดสอบ (TVP+ CaCl_2) เลี้ยงด้วยอาหารผสมโปรตีนเกษตรและ CaCl_2

หนูทดลองจะถูกนำไปใส่กรงเมตาบอลิก (metabolic cages) กรงละ 1 ตัว อุณหภูมิของห้องทดลองควบคุมให้อยู่ที่ 22-24°C และให้มีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 50-60% โดยให้มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง และมีมืด 12 ชั่วโมง

มีการชั่งน้ำหนักอาหารที่หนูกินทุกวัน โดยชั่งเข้าในตอนเช้าและชั่งออกในเช้าวันรุ่งขึ้น มีการชั่งน้ำหนักตัวหนูสัปดาห์ละครั้ง เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หนูทดลองจะถูกนำมาเจาะเลือด เก็บปัสสาวะ และอุจจาระตลอด 24 ชั่วโมง และนำมาทำให้สลาย และตายด้วยอีเทอร์ จากนั้นจึงมีการเลาะกระดุกขาหน้าของหนู เพื่อนำไปหาปริมาณ แคลเซียมในกระดุกต่อไป ดังมีรายละเอียด คือ

- | | | |
|----------------------------|---|--|
| สิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 | → | หนูทดลองที่ใช้ 9 ตัว / กลุ่ม เจาะเลือด เก็บปัสสาวะ อุจจาระ 24 ชั่วโมง และทำให้ตายอย่างสงบ เลาะกระดุกขาหน้าหนู เพื่อนำไปหาปริมาณแคลเซียมในกระดุก ปัสสาวะ และอุจจาระ |
| สิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 และ 12 | → | หนูทดลองที่ใช้ 6 ตัว / กลุ่ม และทดลองเช่นเดียวกับรายละเอียด ของสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 |

ปัสสาวะและอุจจาระที่ได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ Ca ตามวิธีของ AOAC (2000) 984.27

6. การเจาะเลือด เพื่อหาปริมาณแคลเซียม (Ca) ฟอสฟอรัส (P) และอัลคาไลฟอสฟาเตส (Alkaline phosphatase) โดยใช้เครื่อง Automate รุ่น FlexorE
7. ศึกษา Calcium retention และ Calcium absorption และ True absorption coefficient โดยการเก็บปัสสาวะ และอุจจาระหนูทดลองในสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 เพื่อวิเคราะห์ค่าแคลเซียมในปัสสาวะ อุจจาระ และในอาหารที่กิน นำมาคำนวณตามสูตรดังนี้ คือ

$$\text{Calcium retention} = \text{Calcium intake} - \text{Fecal Ca} - \text{Urinary Ca}$$

$$\text{Calcium absorption} = \text{Calcium intake} - \text{Fecal Ca}$$

$$\text{True absorption coefficient} = \frac{\text{Ca intake} - \text{Fecal Ca}}{\text{Ca intake}}$$

8. ศึกษาปริมาณ Ca ในกระดูก

นำกระดูกขาหน้าหนู (Femur) มาละลายเอ็นและพังผืดทั้งจากนั้นจึงนำมาชั่งน้ำหนัก และอบแห้งที่อุณหภูมิ 100°C เป็นระยะเวลา 6-8 ชั่วโมง นำมาบดให้ละเอียด และวิเคราะห์ปริมาณ Ca ตามวิธีของ AOAC (2000) 984.27

9. การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical Analysis)

ผลการทดลองใช้วิธี Analysis of variance และใช้โปรแกรม SPSS เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้ Duncan New Multiple Range Test ในการวิเคราะห์หาความแตกต่างในแต่ละกลุ่มการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

Table 2 Chemical composition of texture vegetable protein and casein (g/100 g)

Sample	Protein	Moisture	Fat	Ash	Fiber	Carbohy drate	energy (kilocalorie)	Calcium (mg/100 g)
Casein	81.35	10.43	1.00	3.95	1.64	1.63	340.92	109
TVP	53.83	2.74	4.58	6.96	2.04	29.85	375.94	334
TVP + CaCO ₃	53.66	3.12	4.47	7.09	1.88	29.78	373.99	409
TVP + CaCl ₂	54.00	2.79	4.53	7.16	2.02	29.50	374.77	471

Table 3 Chemical composition of experimental diet (g/100 g)

Diet	Protein	Moisture	Fat	Ash	Fiber	Carbohy drate	energy (kilocalorie)	Calcium (mg/100 g)
Casein diet	17.71	7.88	7.81	2.55	2.95	61.10	385.53	487
TVP diet	11.74	6.66	8.81	3.72	3.13	65.94	390.01	532
TVP + CaCO ₃ diet	11.55	7.31	8.93	3.82	3.18	65.21	387.41	547
TVP + CaCl ₂ diet	11.44	7.81	8.41	3.80	2.83	65.71	384.29	549

จาก Table 3 พบว่า พลังงานในแต่ละสูตรอาหารใกล้เคียงกัน แม้ว่าโปรตีนในกลุ่มเคซีน จะสูงที่สุด(17.71%) แต่ปริมาณ Ca ในกลุ่มเคซีนต่ำสุด(487 mg/100g) เทียบกับอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร

Table 4 Body weight (g)

Sample	Start Body weight	4 week N = 21	8 week N = 12	12 week N = 6
Casein diet	80.90 ^a ± 4.32	297.17 ^c ± 15.64	433.48 ^b ± 25.73	519.79 ^b ± 32.24
TVP diet	80.95 ^a ± 2.65	234.69 ^a ± 19.92	360.02 ^a ± 26.65	437.20 ^a ± 28.46
TVP + CaCO ₃ diet	80.96 ^a ± 3.79	242.69 ^a ± 17.13	361.92 ^a ± 19.34	437.59 ^a ± 49.10
TVP + CaCl ₂ diet	80.80 ^a ± 4.45	255.11 ^b ± 17.70	374.32 ^a ± 28.44	462.16 ^a ± 37.41

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 4 แสดงน้ำหนักหนูตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์ พบว่ากลุ่ม TVP + CaCl₂ มีน้ำหนักสูงในสัปดาห์ที่ 4 และแตกต่างจากกลุ่ม TVP อีก 2 กลุ่มแต่อย่างไรก็ตามเมื่อครบสัปดาห์ที่ 8 และ 12 น้ำหนักของ TVP ทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

Table 5 Average Body weight gain/week (g)

* Sample	week	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Average Body weight gain (g) /week
casein diet		81.04	54.78	58.61	52.09	50.95	41.83	37.62	26.69	25.01	18.88	19.41	16.23	17.79	34.99 ^a ±16.14
TVP diet		81.12	35.45	38.26	40.2	39.82	28.12	31.02	30.13	28.82	20.98	22.57	18.52	17.89	29.31 ^a ± 8.05
TVP + CaCO ₃ diet		81.09	39.24	44.73	41.04	36.91	27.11	30.92	29.2	25.12	23.27	24.52	17.23	3.59	28.57 ^a ±11.35
TVP + CaCl ₂ diet		80.97	41.82	46.65	45.96	39.75	31.07	31.44	28.27	26.23	21.5	21.5	18.29	13.73	30.51 ^a ±10.99

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 5 พบว่าอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร ทำให้หนูทดลองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น โดยเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 6 Food intake (g)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	480.19 ^{bc} ± 22.22	1021.39 ^a ± 47.78	1745.63 ^b ± 118.08
TVP diet	435.57 ^a ± 40.76	1009.53 ^a ± 62.59	1578.98 ^a ± 70.33
TVP + CaCO ₃ diet	455.24 ^{ab} ± 45.14	1017.96 ^a ± 18.47	1636.35 ^{ab} ± 131.30
TVP + CaCl ₂ diet	498.90 ^c ± 33.25	1029.47 ^a ± 81.25	1679.53 ^{ab} ± 168.22

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 6 แสดงปริมาณอาหารที่กินในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่าหนูกลุ่ม เคซีน มีปริมาณการกินที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 12

Table 7 Food intake (g/d)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	17.15 ^{bc} ± 0.79	18.24 ^a ± 0.85	21.44 ^b ± 2.38
TVP diet	15.55 ^a ± 1.45	18.02 ^a ± 1.11	18.80 ^a ± 0.83
TVP + CaCO ₃ diet	16.26 ^{ab} ± 1.61	18.17 ^a ± 0.33	19.48 ^{ab} ± 1.56
TVP + CaCl ₂ diet	17.81 ^c ± 1.18	18.38 ^a ± 1.45	19.99 ^{ab} ± 2.00

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 7 แสดงปริมาณอาหารที่กิน โดยเฉลี่ยในแต่ละวันของทุกกลุ่มการทดลองพบว่าหนูกลุ่ม เคซีน มีปริมาณการกินที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และหนูกลุ่ม TVP+CaCl₂ กินอาหารสูงและแตกต่างจากกลุ่มอื่นในสัปดาห์ที่ 4 และ 12

Table 8 Ca intake (mg/d)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	83.44 ^a ± 3.85	88.72 ^a ± 4.16	101.10 ^a ± 6.84
TVP diet	82.71 ^a ± 7.71	95.91 ^b ± 5.94	100.02 ^a ± 4.44
TVP + CaCO ₃ diet	88.89 ^a ± 8.81	99.37 ^b ± 1.80	106.49 ^a ± 8.55
TVP + CaCl ₂ diet	97.77 ^b ± 6.52	100.89 ^b ± 7.95	109.73 ^a ± 10.99

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 8 แสดงปริมาณ Ca ที่หนูกินในแต่ละกลุ่ม พบว่าในสัปดาห์ที่ 4 และ 12 ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม แต่สัปดาห์ที่ 8 หนูกลุ่ม เคซีน ได้รับ Ca จากอาหารต่ำสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มอื่น อาจกล่าวได้ว่าหนูกลุ่ม TVP+CaCl₂ มีปริมาณ Ca ที่กินสูงกว่ากลุ่มอื่นในช่วงสัปดาห์ที่ 4 และ 8

Table 9 Ca absorption (mg/d)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	53.44 ^b ± 3.85	43.60 ^b ± 5.04	21.20 ^a ± 10.49
TVP diet	35.43 ^a ± 8.04	25.91 ^a ± 5.94	20.02 ^a ± 9.74
TVP + CaCO ₃ diet	38.89 ^a ± 8.81	44.37 ^b ± 5.97	31.49 ^a ± 10.30
TVP + CaCl ₂ diet	41.11 ^a ± 4.20	30.89 ^a ± 7.95	25.58 ^a ± 10.99

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Ca absorption = Caintake – Fecal Ca

Table 9 แสดงปริมาณของ Ca absorption ในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่าใน 4 สัปดาห์ ปริมาณ Ca absorption สูงสุดในกลุ่ม เคซีน และเมื่อครบ 8 สัปดาห์ กลุ่ม เคซีน และกลุ่ม TVP + CaCO₃ สูงและแตกต่างกันมีนัยสำคัญ แต่เมื่อทดลองครบ 12 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zikan 2001, และ Green et al 2003 ที่ระบุว่า Calcium Carbonate จะให้การดูดซึมที่ดีกว่า Ca ชนิดอื่น

Table 10 Ca Retention (mg/d)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	48.88 ^b ± 4.07	41.93 ^b ± 5.70	18.28 ^a ± 11.09
TVP diet	31.31 ^a ± 7.39	23.12 ^a ± 6.15	17.66 ^a ± 9.86
TVP + CaCO ₃ diet	31.41 ^a ± 8.32	42.22 ^b ± 6.47	27.72 ^a ± 10.48
TVP + CaCl ₂ diet	35.72 ^a ± 4.14	28.43 ^a ± 8.05	26.29 ^a ± 11.06

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Ca Retention = Ca intake – (Fecal Ca + Urinary Ca)

Table 9 แสดงปริมาณ Ca ที่เหลืออยู่ภายในร่างกาย (Ca Retention) พบแนวโน้มเช่นเดียวกับ Table 10 คือ กลุ่ม เคซีน และกลุ่ม TVP + CaCO₃ มีปริมาณ Ca Retention สูงกว่าอีก 2 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อทดลองครบ 12 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ

Table 11 True absorption coefficient (TAC)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	0.64 ^b ± 0.01	0.49 ^b ± 0.05	0.20 ^a ± 0.09
TVP diet	0.43 ^a ± 0.05	0.26 ^a ± 0.04	0.20 ^a ± 0.10
TVP + CaCO ₃ diet	0.43 ^a ± 0.06	0.44 ^b ± 0.05	0.29 ^a ± 0.07
TVP + CaCl ₂ diet	0.42 ^a ± 0.03	0.30 ^a ± 0.05	0.26 ^a ± 0.07

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

True absorption coefficient (TAC) = $\frac{\text{Ca intake} - \text{Fecal Ca}}{\text{Ca intake}}$

Table 11 แสดงค่า True absorption coefficient (TAC) หรือค่าสัมประสิทธิ์การดูดซึมจริงของแคลเซียม พบว่าในสัปดาห์ที่ 8 ค่า TAC ของกลุ่ม เคซีน และกลุ่ม TVP + CaCO₃ สูงกว่าอีก 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Zikan *et al.* (2003) ซึ่งได้กล่าวว่า CaCO₃ สามารถถูกดูดซึมได้ดีกว่า

Table 12 Femur Bone weight (dry weight) (g)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	1.74 ^c ± 0.05	2.59 ^b ± 0.29	2.97 ^a ± 0.11
TVP diet	1.47 ^a ± 0.06	2.15 ^a ± 0.21	2.83 ^a ± 0.31
TVP + CaCO ₃ diet	1.52 ^{ab} ± 0.07	2.17 ^a ± 0.13	2.72 ^a ± 0.26
TVP + CaCl ₂ diet	1.57 ^b ± 0.09	2.19 ^a ± 0.15	2.68 ^a ± 0.24

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 13 Ca in Femur (g)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	0.25 ^a ± 0.01	0.43 ^b ± 0.05	0.48 ^{ab} ± 0.02
TVP diet	0.24 ^a ± 0.01	0.38 ^{ab} ± 0.03	0.49 ^b ± 0.05
TVP + CaCO ₃ diet	0.24 ^a ± 0.01	0.38 ^b ± 0.02	0.47 ^{ab} ± 0.04
TVP + CaCl ₂ diet	0.24 ^a ± 0.01	0.37 ^b ± 0.02	0.43 ^a ± 0.04

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 14 Ca in bone (mg/g bone weight)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	143.37 ^a ± 3.04	165.63 ^a ± 3.48	162.90 ^a ± 2.38
TVP diet	163.52 ^c ± 3.07	180.61 ^c ± 4.27	175.92 ^b ± 2.28
TVP + CaCO ₃ diet	162.02 ^c ± 4.09	175.83 ^b ± 3.05	173.41 ^b ± 4.09
TVP + CaCl ₂ diet	155.36 ^b ± 3.08	172.60 ^b ± 3.15	166.03 ^a ± 10.60

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 14 แสดงค่ามิลลิกรัมของ Ca ในกระดูก / กรัม ของน้ำหนักกระดูก พบว่า มีความแตกต่างกันในทุกช่วงการทดลองและกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหาร TVP มีปริมาณ Ca มากกว่ากลุ่มควบคุมเคซีน หมายความว่า หนูที่กินอาหารถั่วเหลืองให้ปริมาณแคลเซียมสูงกว่าหนูที่เลี้ยงด้วยนมเคซีน ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Yuan, Y.V และ Kitts, D.D 1994

Table 15 Ca in Feces (mg/d)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	30.00 ^a ± 0.05	45.00 ^a ± 5.47	80.00 ^a ± 10.95
TVP diet	46.66 ^b ± 5.00	70.00 ^c ± 5.42	80.00 ^a ± 10.05
TVP + CaCO ₃ diet	50.00 ^b ± 0.57	55.00 ^b ± 5.40	75.00 ^a ± 5.47
TVP + CaCl ₂ diet	56.66 ^c ± 5.26	70.00 ^c ± 3.72	80.00 ^a ± 4.29

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 16 Ca in Urine (mg/d)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	4.10 ^a ± 1.14	1.80 ^a ± 0.43	2.82 ^{ab} ± 0.75
TVP diet	4.76 ^a ± 1.98	2.79 ^b ± 0.56	2.36 ^a ± 0.20
TVP + CaCO ₃ diet	7.47 ^b ± 1.12	2.15 ^{ab} ± 0.51	3.77 ^c ± 0.84
TVP + CaCl ₂ diet	5.38 ^a ± 1.28	2.45 ^{ab} ± 1.00	3.43 ^{bc} ± 0.20

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 17 Ca in Serum (mg/dl)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	9.33 ^a ± 0.84	10.11 ^a ± 0.41	9.55 ^a ± 0.15
TVP diet	9.58 ^a ± 0.38	10.33 ^a ± 0.16	9.55 ^a ± 0.30
TVP + CaCO ₃ diet	9.61 ^a ± 0.39	10.20 ^a ± 0.22	9.16 ^a ± 0.50
TVP + CaCl ₂ diet	10.85 ^a ± 3.32	10.18 ^a ± 0.17	9.28 ^a ± 0.37

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 18 Phosphorus in Serum (mg/dl)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	8.07 ^a ± 1.37	7.08 ^a ± 0.63	5.46 ^a ± 0.75
TVP diet	7.41 ^a ± 0.57	6.71 ^a ± 0.48	5.51 ^a ± 0.46
TVP + CaCO ₃ diet	7.15 ^a ± 0.72	6.66 ^a ± 0.59	5.15 ^a ± 0.70
TVP + CaCl ₂ diet	8.01 ^a ± 1.94	6.31 ^a ± 0.66	5.23 ^a ± 0.32

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 19 Alkaline phosphatase in Blood (U/l)

Sample	4 week	8 week	12 week
casein diet	241.00 ^a ± 23.65	183.16 ^a ± 29.86	116.66 ^a ± 40.72
TVP diet	374.77 ^b ± 57.99	300.50 ^b ± 26.26	179.50 ^{bc} ± 31.41
TVP + CaCO ₃ diet	378.66 ^b ± 54.03	253.83 ^b ± 50.96	215.00 ^c ± 64.64
TVP + CaCl ₂ diet	332.66 ^b ± 57.13	277.83 ^b ± 44.26	147.33 ^{ab} ± 25.00

a, b, c. ... different superscripts in the same column means significantly different ($p \leq 0.05$)

Table 19 แสดงค่า Alkaline phosphatase ซึ่งเป็นค่าแสดงการสร้างกระดูก เนื่องจาก Alkaline phosphatase เป็นผลพลอยได้จากการทำงานของ Osteoblast ซึ่งค่า Alkaline Phosphatase มีความแตกต่างกันในทุกกลุ่มทดลองและทุกช่วงเวลาจากผลการทดลองพบว่าค่า alkaline phosphatase ลดลงเมื่อหนูทดลองมีอายุมากขึ้นซึ่งไม่ทราบเหตุผลที่แท้จริง

สรุป

การทดลองนี้ใช้หนูทดลองเป็นตัวแทนทดลองจำลองในคน เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์ของแคลเซียม (Ca bioavailability) ในโปรตีนเกษตรหรือเนื้อเทียมที่เสริมด้วย CaCO_3 0.4% หรือ CaCl_2 0.3% เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีปริมาณแคลเซียมไม่น้อยกว่าร้อยละ 30 ของปริมาณแคลเซียมที่แนะนำให้คนไทยบริโภคต่อวัน (Thai Recommended Dietary Allowance หรือ Thai RDI) จากการวิเคราะห์พบว่าปริมาณแคลเซียมในโปรตีนเกษตร โปรตีนเกษตรเสริม CaCO_3 และโปรตีนเกษตรเสริม CaCl_2 ในปริมาณ 334, 409 และ 471 มก/100 กรัม ตามลำดับ เมื่อทดลองให้หนูกินอาหาร เคซีน (กลุ่มควบคุม) โปรตีนเกษตร โปรตีนเกษตรเสริม CaCO_3 และโปรตีนเกษตรเสริม CaCl_2 พบว่า เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 หนูกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเคซีน มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น และมีปริมาณ Ca absorption สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 12 มีเพียงน้ำหนักหนูในกลุ่มควบคุมเคซีนที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ค่า Ca absorption และ Ca Retention ในกลุ่มทดลองอาหารโปรตีนเกษตรทั้ง 3 กลุ่ม ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมเคซีน

ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า การเสริมโปรตีนเกษตรด้วย CaCO_3 ให้ผลของ Ca bioavailability สูงกว่าโปรตีนเกษตรเสริม CaCl_2 และโปรตีนเกษตรสูตรดั้งเดิม ในช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนูคือ 8 สัปดาห์ เท่านั้น แต่ไม่พบความแตกต่างในช่วงระยะเวลา 4 และ 12 สัปดาห์ และหากเสริม Ca ในโปรตีนเกษตรควรใช้ CaCO_3 ในการเสริมเนื่องจากให้ปริมาณ Ca bioavailability ที่ดีกว่าสูตรอื่น

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยเรื่องนี้

เอกสารอ้างอิง

- ประชา บุญญศิริเรือง 2537 โพรตีนเกษตร ทางเลือกของคุณค่าและรสชาติ เอกสารประกอบการบรรยายทางวิชาการ 11 หน้า
- Alan C. Titchenal., Dobbs Jaonnjie-2007. A system to assess the quality of food sources of calcium. **J. of Food Comp. and Analy.** Vol 20 (8) : p 717-724.
- Gueguen L, Pointillart A. 2007. The bioavailability of dietary calcium. **J. Am. Coll Nutr.** 19:119 S-136 S.
- Green JH, Booth C, Bunning R. 2003 Postprandial metabolic response to milk enriched with milk calcium are different from response to milk enrich with calcium carbonate. **Asia Pacific J Clin Nutr.** 12:109-119
- Kamchan. A., Puwastein, P., Prapaisiri, P., Sirichakwal, P., and Kongkachuichai, R. 2004 In vitro calcium bioavailability of vegetables, legumes and seeds. **J. of Food Compo and Analy** 17:311-320.
- Kennefick S. Cashman K.D. 2000. Investigation of an in vitro method for predicting the effect of food components on calcium availability from meats. **Int J. Fodd Sci Nutr.** 51:45-54.
- Martin BR, Weaver M, Heaney RP. Packard PT, Smith DL. 2002 Calcium absorption from three salts and CaSO₄-fortified bread in premenopausal women. **J. Agric Food Chem** 50:3874-6.
- Ministry of Public health. Nutrition Division, 1995. The Fouth National Survey of Thailand.
- Mortensen L, Charles P.1996 Bioavailability of Calcium supplements and the effect of vitamin D. comparisons between milk, calcium carbonate and calcium carbonate plus vitamin D. **Am J Clin Nutr** 63:354-357.
- Yuan, Y.V., Kitts, D.D., 1994. Calcium absorption and bone utilization in spontaneously hypertensive rats fed on native and heat-damaged casein and soyabean protein. **British Journal of Nutrition** 71:583-603.
- Zikan V, Roubal P, Haast T, Stepan JJ. Acute effects of calcium carbonate and milk on the calcium parathyroid axis and bone resorption in healthy women. In : Burckhardt P, Dawson-Stughes, Heaney RP eds. **Nutritional Aspects of Osteoporosis : Proceedings of the 4th International Symposium, Causanne, May 2000.** Academic Press London, 2001:131-140