

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

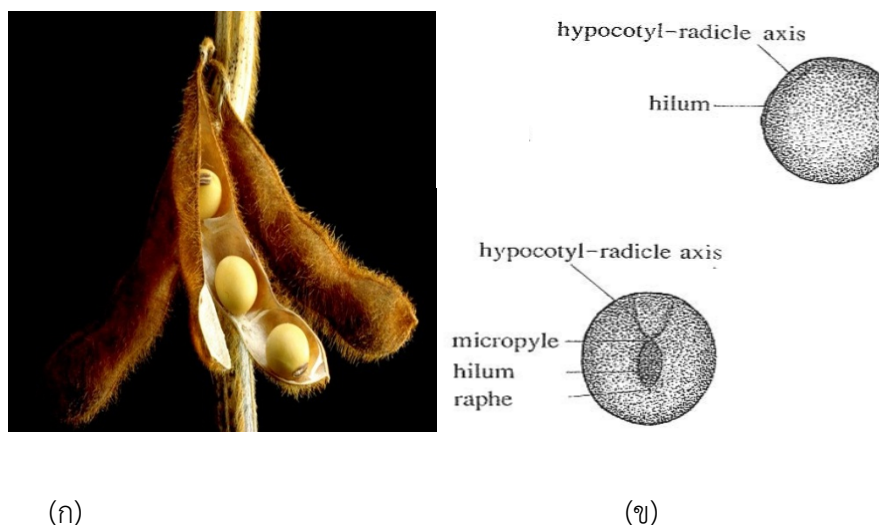
#### 2.1 ถั่วเหลือง (Soy bean)

ถั่วเหลืองมีถิ่นกำเนิดแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือของทวีปเอเชีย บริเวณประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนในปัจจุบัน ถั่วเหลืองเป็นพืชในตระกูล *Leguminosae* มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merrill เป็นพืชตระกูลถั่วที่รู้จักกันดีในแถบเอเชีย เช่น จีน เกาหลี และญี่ปุ่น ส่วนในประเทศไทยมีการเพาะปลูกถั่วเหลืองเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ โดยพันธุ์ถั่วเหลืองที่นิยมปลูกในประเทศไทยได้แก่ ถั่วเหลืองสายพันธุ์ ส.จ. 1, ส.จ. 2, ส.จ. 4 และ ส.จ. 5 (ส.จ. คือ สถานีการศึกษารวมใจ จังหวัดเชียงใหม่) (ศุภชัย, 2537)

##### 2.1.1 ลักษณะของผลและเมล็ดถั่วเหลือง (Seed)

ผลของถั่วเหลืองเรียกโดยทั่วไปว่า ฝัก (pod) เป็นแบบ legume เกิดเป็นกลุ่มมีลักษณะตรงหรือโค้งเล็กน้อย ความยาวตั้งแต่ 2-7 เซนติเมตร หรือมากกว่า ฝักที่กำลังพัฒนามีสีเขียว และมีขนปกคลุมโดยทั่วไปดังแสดงในภาพที่ 2.1 (ก) เมื่อฝักแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองพางขาว น้ำตาลหรือดำ ขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ แต่ละฝักมีเมล็ด 1-5 เมล็ด แต่ส่วนใหญ่จะมีเพียง 2-3 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะเช่นเดียวกับเมล็ดพืชวงศ์ถั่วอื่นๆ ที่ไม่มีเอนโดสเปิร์มเป็นส่วนสะสมอาหาร (รังสฤษฎ์, 2541) เมล็ดถั่วเหลืองมีรูปร่างค่อนข้างกลมรีจะมีลักษณะเว้าทางด้านของเมล็ดที่มี hilum ดังแสดงในภาพที่ 2.1 (ข) ขนาดของเมล็ดแตกต่างกันตามพันธุ์ฤดูกาลปลูกความอุดมสมบูรณ์ของดินและปริมาณน้ำที่ได้รับโดยทั่วไป 100 เมล็ด จะมีน้ำหนัก 5-20 กรัม (มนตรี, 2545) ภายในเมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยส่วนที่สำคัญได้แก่

2.1.1.1 เยื่อหุ้มเมล็ด หรือเปลือกนอกเมล็ด (seed coat หรือ testa) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดไว้สีของเปลือกนอกมีหลายสีด้วยกัน เช่น สีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้ม สีเหลืองแกมเขียว สีเขียว สีน้ำตาลอ่อน และสีดำ ทางด้านเว้าของเมล็ดจะพบ hilum หรือ seed scar ซึ่งเป็นจุดที่เมล็ดติดกับฝักมีสีแตกต่างกันตามพันธุ์ เช่น สีดำ สีน้ำตาล และสีเหลืองเข้ม ทางปลายด้านหนึ่งจะพบแผลหรือเปลือกตา (hilum หรือ seed scar) ที่เกิดจากส่วนที่เมล็ดเดิมติดอยู่กับฝัก มีสีแตกต่างกันตามพันธุ์ และมีรูปร่างต่างกันตั้งแต่เรียวยาวคล้ายเส้นตรงไปถึงกลมรีคล้ายรูปไข่ บริเวณใกล้กับรอยแผลด้านเดียวกับบริเวณต้นอ่อนในเมล็ดมีรูเล็กๆ (micropyle) เกิดจากเนื้อเยื่อ integument ของรังไข่ที่ถูกเคลือบด้วยสารคิวติน (cutin) ที่ปลายอีกด้านหนึ่งของรอยแผล มีร่องเล็กๆ (raphe) ที่เกิดจากการเกาะของ integument กับผนังรังไข่



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของฝักถั่วเหลือง (ก) ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง (ข)  
ที่มา : รังสฤษดิ์ (2546)

2.1.1.2 ต้นอ่อนขณะอยู่ในเมล็ด (embryo) เป็นเนื้อเยื่อทั้งหมดที่อยู่ในเมล็ดประกอบด้วย

2.1.1.2.1 ใบเลี้ยง (cotyledon) จำนวน 2 ใบซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ถัดจากเปลือกนอกเข้าไปมีขนาดใหญ่ทำหน้าที่ในการสะสมอาหาร

2.1.1.2.2 ส่วนยอดของต้นอ่อนขณะอยู่ในเมล็ด (plumule) ต่อไปจะเจริญเป็นใบจริงคู่แรก 2 ใบ (primary leaves) และเป็นจุดเจริญที่ทำให้ถั่วเหลืองเจริญเติบโตต่อไป

2.1.1.2.3 แกนกลางของต้นอ่อนในเมล็ด (hypocotyl-radicle axis) มีอยู่ 1 อันเป็นเนื้อเยื่อเจริญซึ่งเมื่อเมล็ดงอกจะเจริญเป็นรากและส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ใบเลี้ยงลงมา (มนตรี, 2545)

## 2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน เมื่อเปรียบเทียบกับพืชและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ชนิดอื่นๆ องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองจะแตกต่างกันไป โดยจะผันแปรตามปัจจัยต่างๆ เช่น สายพันธุ์ สภาพแวดล้อม ฤดูกาล และสภาพภูมิประเทศ ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองเมล็ดแห้ง ถั่วเหลืองมีโปรตีนประมาณ 32-48% สูงกว่าถั่วชนิดอื่นและมีน้ำมันประมาณ 18-22% น้ำมันจากถั่วเหลืองเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพดี

มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ประมาณ 87% ได้แก่ กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) กรดลิโนลินิก (linolenic acid) และกรดโอเลอิก (oleic acid) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ถั่วเหลืองและถั่วชนิดอื่นๆ จะมีกรดอะมิโน methionine และ cysteine ต่ำ แต่เป็นแหล่งอาหารที่ดีของกรดอะมิโน lysine ดังนั้นเวลาบริโภคควรบริโภคควบคู่กับข้าวหรือถั่ว ซึ่งมีโปรตีนที่มี

กรดอะมิโน methionine สูง แต่มี lysine ต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ซึ่งจะสามารถเสริมคุณภาพของโปรตีนให้สมบูรณ์เท่าเทียมกับโปรตีนที่ได้มาจากเนื้อสัตว์

**ตารางที่ 2.1** องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองเมล็ดแห้ง

| องค์ประกอบทางเคมี | ปริมาณ (ร้อยละ) |
|-------------------|-----------------|
| โปรตีน            | 34.0            |
| คาร์โบไฮเดรต      | 26.7            |
| ไขมัน             | 18.7            |
| ความชื้น          | 11.1            |
| เยื่อใย           | 4.7             |
| เถ้า              | 4.8             |

ที่มา : สุมาลี และวลัยทิพย์ (2541)

**ตารางที่ 2.2** ชนิดและปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองงอก

| ชนิดกรดไขมัน       | ปริมาณ (ร้อยละ) |               |
|--------------------|-----------------|---------------|
|                    | ถั่วเหลือง      | ถั่วเหลืองงอก |
| กรดไขมันอิ่มตัว    |                 |               |
| กรดปาล์มติก        | 11.0            | 10.1          |
| กรดเทรียริก        | 2.3             | 2.7           |
| กรดไขมันไม่อิ่มตัว |                 |               |
| กรดโอเลอิก         | 18.5            | 18.0          |
| กรดรีโนเลอิก       | 59.8            | 61.7          |
| กรดรีโนเลนิก       | 8.4             | 7.6           |

ที่มา : Lee *et al.* (2002)

**ตารางที่ 2.3** กรดอะมิโนชนิดต่างๆในถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์อื่นๆเทียบกับปริมาณที่องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) กำหนดเป็นมาตรฐาน

| ชนิดกรดอะมิโน | มาตรฐาน FAO | ชนิดของถั่วเหลือง (มิลลิกรัมต่อกรัม) |           |      |           |                 |
|---------------|-------------|--------------------------------------|-----------|------|-----------|-----------------|
|               |             | งอก                                  | เมล็ดแห้ง | แป้ง | อาหารชั้น | แยกออกเป็นอิสระ |
| ซิสเตอีน      | 4.2         | 2.4                                  | 1.3       | 1.6  | 1.6       | 1.3             |
| ไอโซลิวซีน    | 4.2         | 13.1                                 | 4.5       | 4.7  | 4.8       | 4.9             |
| ลิวซีน        | 4.8         | 20.6                                 | 7.8       | 7.9  | 7.8       | 7.8             |
| ไลซีน         | 4.2         | 17.0                                 | 6.4       | 6.3  | 6.3       | 6.4             |
| เมทไธโอนีน    | 2.2         | 2.4                                  | 1.3       | 1.4  | 1.4       | 1.3             |
| ฟีนิลอะลานีน  | 2.8         | 16.2                                 | 4.9       | 5.3  | 5.2       | 5.4             |
| ทรีโอนีน      | 2.8         | 11.6                                 | 3.9       | 3.9  | 4.2       | 3.6             |
| ทริปโตเฟน     | 1.4         | -                                    | 1.3       | 1.3  | 1.5       | 1.4             |
| ไทโรซีน       | 2.8         | 8.9                                  | 3.1       | 3.8  | 3.9       | 4.3             |
| แวลีน         | 4.2         | 15.4                                 | 4.8       | 5.1  | 4.9       | 4.7             |

ที่มา : Lee et al. (2002)

### 2.1.3 การใช้ประโยชน์จากถั่วเหลือง

การใช้ประโยชน์โดยตรงจากถั่วเหลือง คือ นำเมล็ดแห้งมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ และใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ ส่วนประโยชน์โดยอ้อม คือ ให้ธาตุไนโตรเจนแก่ดิน สำหรับในประเทศไทยนั้นได้มีการแปรรูปและใช้ประโยชน์จากถั่วเหลืองแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

#### 2.1.3.1 ผลิตภัณฑ์อาหารพื้นเมืองที่ไม่ต้องผ่านการหมักดอง

2.1.3.1.1 น้ำมันถั่วเหลือง ถั่วเหลืองที่ผลิตได้ในประเทศส่วนใหญ่ใช้ในการสกัดน้ำมันประมาณเกือบ 80% ของเมล็ดทั้งหมดที่ผลิตได้ ส่วนกากที่เหลือจะใช้ในอุตสาหกรรมสัตว์ น้ำมันถั่วเหลืองที่ผลิตได้จะใช้ในการประกอบอาหารมากถึง 60% ที่เหลือใช้ในอุตสาหกรรมปลาทูลำกระป๋อง อาหารกระป๋องอื่นๆ และสี

2.1.3.1.2 น้ำเต้าหู้ เป็นการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองวันต่อวัน โดยผู้ผลิตส่วนใหญ่จะผลิตน้ำเต้าหู้ที่ 50-100 ลิตร และถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม สามารถผลิตน้ำเต้าหู้ได้ 7 ลิตร

2.1.3.1.3 น้ำมันถั่วเหลือง เป็นชื่อที่เรียกน้ำเต้าหู้ในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งจะมีการผสมน้ำเต้าหู้ที่ผลิตได้กับนมผงหรือปรุงแต่งรสชาติต่างๆ และบรรจุลงขวดหรือกล่องเพื่อความสะดวกในการขนส่งและเก็บรักษาไว้ได้นาน

2.1.3.1.4 เต้าฮวย ผลิตโดยการอุ่นน้ำเต้าหู้บนไฟอ่อนๆ เป็นเวลา 10-15 นาที แล้วเทใส่ในสารตกตะกอน ผสมกับแป้งมันสำปะหลัง

2.1.3.1.5 เต้าหู้ มี 2 ชนิด คือ เต้าหู้อ่อน และเต้าหู้แข็ง ทั้งสองชนิดสกัดมาจากน้ำเต้าหู้เช่นกันแต่ใช้สารตกตะกอนต่างกัน และเต้าหู้อ่อนจะบีบน้ำออกบางส่วน แต่เต้าหู้แข็งจะบีบน้ำออกมากกว่าเต้าหู้อ่อน

2.1.3.1.6 ฟองเต้าหู้ ได้จากการอุ่นน้ำเต้าหู้ให้ขึ้น จะเกิดแผ่นฟองเต้าหู้บางๆ อยู่ด้านบนมีโปรตีนสูงประมาณ 52% ซึ่งสูงกว่าผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเกือบทุกชนิด

2.1.3.1.7 ไลซีนมีเยื่อ และนมไหม้พระจันทร์ ในบางท้องที่ใช้ถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมที่สำคัญของไลซีน

2.1.3.1.8 ถั่วอกหัวโต เป็นกรรมวิธีการเพาะถั่วเหลืองให้งอกคล้ายกับถั่วเขียว แต่มักมีกลิ่นเหม็นเขียว

2.1.3.1.9 ถั่วแระ เป็นถั่วเหลืองต้มที่ได้จากพันธุ์ผลิตเมล็ด (ถั่วเหลืองไร่) เป็นที่นิยมในท้องที่ที่ถั่วเหลืองฝักสดไปไม่ถึง และยังมีราคาถูกกว่าถั่วเหลืองฝักสดอีกด้วย

## 2.1.3.2 ผลิตภัณฑ์อาหารพื้นเมืองที่ต้องผ่านการหมักดอง

2.1.3.2.1 ถั่วเน่า เป็นอาหารโปรตีนที่นิยมในภาคเหนือ โดยใช้ถั่วเหลืองต้มสุกมาหมักโดยวิธีทางธรรมชาติในตะกร้าไม้ไผ่ทิ้งไว้ 3-4 วัน เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ทำให้ถั่วเป็นเมือก มีกลิ่นแอมโมเนีย แล้วจึงนำมาบดกับเกลือ กระเทียม พริกไทย ผึ่งแดดให้แห้ง เมื่อบริโภคจะนำมาเผาให้หอมก่อนรับประทาน

2.1.3.2.2 ซีอิ๊ว เกิดจากการหมักด้วยเชื้อที่นิ่งสุกกับข้าวสาลี โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* โดยต้องระวังไม่ให้ราดำเข้ามาปนเปื้อน เมื่อราขึ้นดีแล้วนำไปแช่เกลือเข้มข้น 17-20% ผึ่งแดด 3-6 เดือน จึงนำมาต้ม กรอง แล้วบรรจุขวด ในประเทศไทยมีการผลิตซีอิ๊ว 4 ชนิด ได้แก่ ซีอิ๊วขาว ซีอิ๊วดำเค็ม ซีอิ๊วดำ และซีอิ๊วหวาน

2.1.3.2.3 เต้าเจี้ยว มีขั้นตอนการทำเหมือนซีอิ๊ว แต่ไม่กรองเอาเนื้อออก เต้าเจี้ยวคุณภาพดีจะต้องไม่เอาน้ำซีอิ๊วออกไปจากเนื้อ (แล้วเติมเกลือแทน)

2.1.3.2.4 เต้าหู้ยี้ ใช้เต้าหู้แข็งมาตัดเป็นลูกบาศก์ อบเอาน้ำออกให้ค่อนข้างแห้ง นำไปหมักโดยเชื้อรา *Actinomyces elegans* เป็นเวลา 3-7 วัน เติมน้ำเกลือเข้มข้น 2-5% แล้วหมักต่ออีก 40-60 วัน ในช่วงนี้อาจเติมเครื่องเทศเข้าไปด้วย ส่วนสีแดงที่เป็นธรรมชาติได้จากการหมักข้าวที่หุงแล้วด้วยราแดง *Monascus purpureus*

### 2.1.3.3 ผลิตภัณฑ์ใหม่จากถั่วเหลือง

2.1.3.3.1 เลซิติน (lecitin) เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลือง ในขั้นตอนการแยกส่วนยางเหนียวออกจากน้ำมัน (degumming) เลซิตินจากถั่วเหลืองประกอบด้วย น้ำมันถั่วเหลืองประมาณ 35% ซึ่งเลซิตินจะใช้ในอุตสาหกรรมนมหลายชนิด

2.1.3.3.2 แป้งถั่วเหลืองไขมันเต็ม เป็นการทำแป้งถั่วเหลืองจากเมล็ดโดยไม่ต้องสกัดน้ำมันออก แป้งที่ได้มีไขมันเต็ม นำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น ผสมอาหารเด็กอ่อน ผสมแป้งสาลีในการทำขนมปัง ผสมแป้งสาลีในการทำเส้นก๋วยเตี๋ยวโปรตีนสูง

2.1.3.3.3 โปรตีนเทียม ผลิตจากแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน ใช้ปรุงอาหารได้หลายชนิดเหมือนเนื้อสัตว์

2.1.3.3.4 ซีอิ๊วเคมี เป็นการผลิตซีอิ๊วโดยใช้กรดแทนเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในการย่อยถั่วเหลือง (รังสฤษดิ์, 2541)

Zhu *et al.* (2005) ศึกษาชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์ในเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Hutcheson และพันธุ์ Caviness โดยนำเมล็ดมาแช่น้ำนาน 12 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะให้งอกเป็นต้นกล้า ใช้เวลา 24 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์ของต้นกล้าแต่ละอายุ พบว่าต้นกล้าถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์มีปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกัน โดยปริมาณฟลาโวนอยด์มีค่าสูงสุดในช่วงเวลาที่ 16 ซึ่งชนิดฟลาโวนอยด์ที่พบมากคือ daidzein และ genistein

## 2.2 ถั่วเขียว (Mung bean)

ถั่วเขียวเป็นพืชตระกูลถั่ว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek อยู่ในวงศ์ Leguminosae ถั่วเขียวมีถิ่นกำเนิดแถบอินเดีย เมียนมาร์ และไทย ซึ่งพบว่าการปลูกถั่วเขียวมานานแล้ว (วิยดา และคณะ, 2546) สำหรับประเทศไทยถั่วเขียวมีการปลูกเกือบในทุกภูมิภาค

### 2.2.1 ลักษณะของผลและเมล็ดถั่วเขียว (seed)

ผลของถั่วเขียวเรียกโดยทั่วไปว่า ฝัก (pod) เป็นแบบ legume เกิดเป็นกลุ่ม เมล็ดถั่วเขียว มีลักษณะค่อนข้างเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วชนิดอื่นๆ ที่ใช้เมล็ดเป็นอาหารขนาด 100 เมล็ดมีน้ำหนักประมาณ 4-8 กรัมภายในเมล็ดถั่วเขียวประกอบด้วยส่วนที่สำคัญได้แก่

2.2.1.1 เยื่อหุ้มเมล็ดหรือเปลือกนอกเมล็ด (seed coat หรือ testa) มีสีต่างๆ กันเช่น เขียว เหลือง น้ำตาล และดำขึ้นอยู่กับลักษณะประจำพันธุ์โดยทั่วไปมักจะมีสีเขียวทางด้านหนึ่งของเมล็ดมีรอยแผลหรือเปลือกตา (hilum หรือ seed scar) ที่เกิดจากส่วนที่เมล็ดเดิมติดอยู่กับฝักมีลักษณะยาวแบนสีขาวบริเวณใกล้กับรอยแผลด้านเดียวกับบริเวณต้นอ่อนในเมล็ดมีรูเล็กๆ (micropyle) เกิดจากเนื้อเยื่อ integument ของรังไข่ที่ถูกเคลือบด้วยสาร คิวติน (cutin) ที่ปลายอีกด้านหนึ่งของรอยแผล มีร่องเล็กๆ (raphe) ที่เกิดจากการเกาะของ integument กับผนังรังไข่ภายในเมล็ดไม่มีส่วนของ

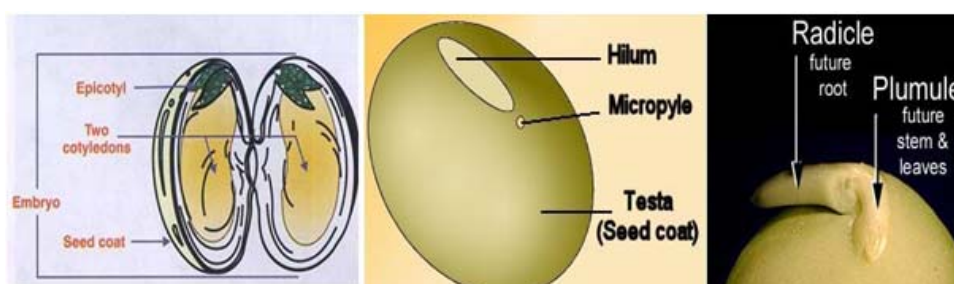
เอนโดสเปิร์ม (endosperm) แต่จะประกอบด้วยใบเลี้ยง (cotyledon) 2 อันอยู่ถัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดเข้าไปทำหน้าที่ในการสะสมอาหารเพื่อใช้ในการงอกและการเจริญของต้นอ่อนประกอบไปด้วย พลุมูล (plumule) และ Hypocotyl-radicle axis

2.2.1.2 พลุมูล (plumule) เป็นส่วนยอดของต้นอ่อนขณะอยู่ในเมล็ดจะเจริญเป็นใบจริงคู่แรก 2 ใบ (primary leaf หรือ unifoliate leaf)

2.2.1.3 Hypocotyl-radicle axis เป็นแกนกลางของต้นอ่อนในเมล็ดมีอยู่ 1 อันเมื่อเมล็ดงอกจะเจริญเป็นรากและส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ใบเลี้ยงลงมา



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะของฝักถั่วเขียว (ก) ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเขียว (ข)

ที่มา : กมลรัตน์ (2554)

## 2.2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว

ถั่วเขียวมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญถั่วเขียวมีไขมันต่ำเมื่อเทียบกับถั่วชนิดอื่นแต่เป็นแหล่งสำคัญของแป้งและแร่ธาตุต่างๆ ได้แก่ โพแทสเซียมฟอสฟอรัส และแคลเซียม ซึ่งร่างกายคนเราต้องการโพแทสเซียมในการเสริมกล้ามเนื้อให้แข็งแรงนอกจากนั้นเมล็ดถั่วเขียวยังอุดมไปด้วยวิตามินเอ บี 1 บี 2 ไนอาซิน และวิตามินซี เมื่อนำเมล็ดถั่วเขียวไปทำแป้งจะมีเส้นใยและคาร์โบไฮเดรตลดลงไปเล็กน้อยแต่คุณค่าทางอาหารอื่นๆ แสดงในตารางที่ 2.4

**ตารางที่ 2.4** องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเขียว และแป้งถั่วเขียว (คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

| สารอาหาร     | เมล็ดถั่วเขียว (ร้อยละ) | แป้งถั่วเขียว (ร้อยละ) |
|--------------|-------------------------|------------------------|
| โปรตีน       | 25.98                   | 25.40                  |
| ไขมัน        | 1.30                    | 2.52                   |
| เถ้า         | 3.80                    | 3.16                   |
| เส้นใย       | 4.79                    | 1.01                   |
| คาร์โบไฮเดรต | 64.12                   | 58.77                  |

ที่มา : นพพร (2547)

### 2.2.3 การใช้ประโยชน์จากถั่วเขียว

ในปัจจุบันการบริโภคถั่วเขียวในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ประกอบกับประเทศไทยสามารถแปรรูปถั่วเขียวได้มากขึ้น ซึ่งการใช้ประโยชน์จากถั่วเขียวโดยมากจะใช้ทำผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด แต่สำหรับถั่วเขียวผิวดำจะใช้เพาะถั่วงอกเป็นหลัก ซึ่งการใช้ประโยชน์จากถั่วเขียว แบ่งได้ดังต่อไปนี้

2.2.3.1 ถั่วงอก ใช้เพาะให้งอกส่วนมากนิยมนำถั่วเขียวผิวดำเนื่องจากถั่วงอกที่เพาะจากถั่วเขียวผิวดำจะมีลักษณะอวบอ้วน และขาวกว่าถั่วงอกจากถั่วเขียวชนิดอื่น และยังสามารถเก็บไว้ได้นานกว่า

2.2.3.2 ถั่วชิก เป็นเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการกะเทาะออกเป็นชิก นิยมนำไปทำอาหารประเภทซूपและแกงต่างๆ

2.2.3.3 ขนมหวาน ถั่วเขียวใช้ทำขนมหวานของไทยหลายชนิด เช่น ถั่วกวน ลูกชุบ เต้าส่วน ถั่วแปบ เม็ดขนุน ขนมหึง ขนมหม้อแกง หรือถั่วเขียวต้มน้ำตาล

2.2.3.4 แป้งถั่วเขียว (flour) ใช้ทำผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด เช่น ขนมหึงและอาหารต่างๆ

2.2.3.5 สตาร์ช (starch) เป็นแป้งที่มีการแยกโปรตีนและไขมันออก และได้แป้งที่บริสุทธิ์กว่า ใช้ในการทำวุ้นเส้นและ沙河粉 ส่วนกากที่เหลือจะใช้เป็นอาหารสัตว์

2.2.3.6 โปรตีนไอโซเลท ในการทำสตาร์ชนั้น มีขั้นตอนการตกตะกอนของสตาร์ชเหลือส่วนน้ำที่มีโปรตีนละลายอยู่ สามารถนำมาตกตะกอนด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นได้โปรตีนไอโซเลทซึ่งนำไปใช้ทำผลิตภัณฑ์โปรตีนสูงต่างๆ เช่น เนื้อเทียม

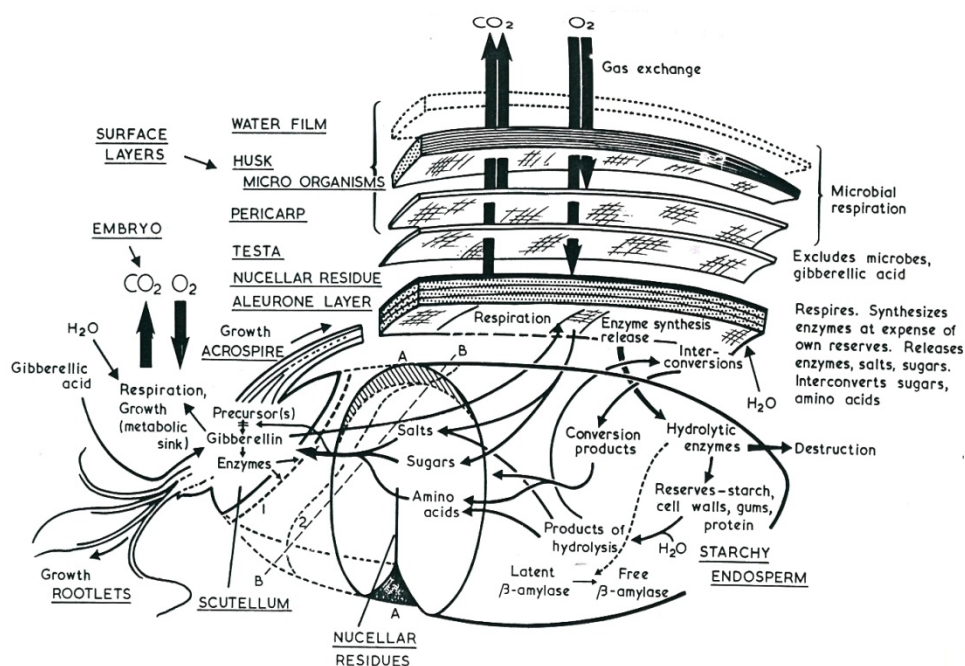
## 2.3 การแช่ (Soaking)

การแช่มีจุดประสงค์เพื่อให้เกิดการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ด และน้ำเกิดการกระจายตัวเข้าไปในส่วนต่างๆ อย่างสม่ำเสมอ เพื่อเป็นการกระตุ้นให้เกิดการงอกของเมล็ด และการเปลี่ยนแปลงที่เหมาะสมขององค์ประกอบทางเคมีในเนื้อเมล็ด การดูดน้ำของธัญพืชแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้

ระยะแรก เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพโดยกระบวนการแพร่ (diffusion) เพียงอย่างเดียว จนกระทั่งได้ความชื้นประมาณ 32% โดยน้ำหนักการเพิ่มขึ้นของความชื้นในระยะนี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ ดังนั้นระยะเวลาในการดูดน้ำจนได้ความชื้นตามที่ต้องการจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้

ระยะที่สอง เป็นช่วงที่มีการดูดน้ำลดลง (lag phase)

ระยะสุดท้าย มีอัตราการดูดน้ำเพิ่มขึ้นจนกระทั่งได้ความชื้นคงที่ อัตราเร็วของการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ดหรือระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำที่แช่ ขนาดของเมล็ด ชนิด และพันธุ์ของธัญพืช ตลอดจนลักษณะของส่วนประกอบในเนื้อเมล็ด ผลของอุณหภูมิต่อการแช่ พบว่าถ้าแช่ที่อุณหภูมิสูงทำให้เกิดการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ดได้อย่างรวดเร็วแต่ทำให้การกระจายตัวของความชื้นในส่วนต่างๆ ของเมล็ดไม่สม่ำเสมอโดยเฉพาะในส่วนเนื้อเมล็ดและคัพพะซึ่งอาจทำให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหรือการทำงานของเอนไซม์ได้ไม่สม่ำเสมอ การเจริญของรากและลำต้นมีประสิทธิภาพต่ำ ในทางตรงกันข้ามหากใช้อุณหภูมิในการแช่ต่ำเกินไป การดูดน้ำของเมล็ดจะเป็นไปอย่างช้าๆ (ดูรายละเอียดประกอบในภาพที่ 2.3) เกิดการกระจายตัวของเมล็ดได้ดี แต่จะใช้เวลานานเป็น การเพิ่มโอกาสในการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของเมล็ดและทำให้ประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดต่ำลง เช่นการแช่ข้าว ซึ่งความชื้นมีความสัมพันธ์กับการงอกของเมล็ดในส่วน เนื้อเมล็ด (endosperm) และคัพพะหรือจุมูกข้าว (embryo) มีการดูดน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งได้ความชื้น 60-65% ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และจะเริ่มเกิดการงอกของรากเทียมออกมา (coleorhizae) เป็นจุดเริ่มต้นของการงอก การสร้างรากเทียมนี้เกิดขึ้นในส่วนที่เจริญเป็นใบเลี้ยงอ่อน (scutellum) ซึ่งเป็นส่วนที่สะสมสารอาหารต่างๆ ไว้สำหรับการงอกเป็นรากและลำต้น ความชื้นที่เหมาะสมในการสร้างรากเทียมของใบเลี้ยงเริ่มต้นที่ 55% และเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เพื่อให้เกิดการกระจายความชื้นอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งเนื้อเมล็ด เป็นการปรับสภาพความชื้นให้เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ในขั้นตอนการงอกต่อไป



ภาพที่ 2.3 ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการแช่ของข้าวบาเลย์

ที่มา : Lewis และ Young (2001)

Saikusa (1994) ศึกษาการกระจายตัวของกรดอะมิโนอิสระที่อยู่ใน milled-rice kernel พบว่ากรดอะมิโนทั้งหมดยกเว้น arginine มีมากในชั้นนอกและการแช่น้ำทำให้กรดอะมิโนส่วนมากมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ไปลดปริมาณ glutamate และ taurine โดยการเปลี่ยนแปลงของ glutamate, GABA และ arginine ในระหว่างการแช่มีส่วนช่วยให้รสชาติที่ดีแก่ข้าวสุก ซึ่งปริมาณของกาบาทั้งหมดเพิ่มมากขึ้น เมื่อแช่ในสภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย

Dang *et al.* (2000) ศึกษาอิทธิพลของการแช่ และวิธีการแปรรูป ต่อการคงเหลืออยู่ของปริมาณโฟเลทในถั่ว pea และ chickpeas โดยแช่ถั่วในน้ำด้วยอัตราส่วน 1:3 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และนำถั่วไป ต้มในน้ำเดือดด้วยอัตราส่วน 1:3 นาน 2 ชั่วโมงจนกระทั่งเมล็ดถั่วนิ่ม และต้มในหม้อความดัน (pressure-cooker) นาน 20 นาที พบว่าทั้งการแช่เมล็ดถั่ว และวิธีการแปรรูปมีผลทำให้ปริมาณโฟเลทลดลง แต่วิธีการการหุงต้มมีผลต่อปริมาณของโฟเลทมากกว่าคือ มีปริมาณของโฟเลทคงเหลือ 52.6 และ 62.1% (ถั่ว pea) และ 45 และ 50.3% (ถั่ว chickpeas) โดยการต้มในน้ำเดือด และการต้มในหม้อความดัน ตามลำดับ

Mccue *et al.* (2004) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ Syngenta โดยนำเมล็ดแช่น้ำนาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะให้งอกเป็นต้นกล้าใช้เวลา 10 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของต้นกล้าแต่ละอายุ พบว่าต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์นี้มีกิจกรรม

ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมต้านออกซิเดชันมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการงอกและเชื่อว่ากิจกรรมต้านออกซิเดชันของต้นกล้าถั่วเหลืองน่าจะเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสำคัญ

Randhir *et al.* (2004) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในต้นกล้าถั่วเขียวพันธุ์ Hadley โดยแช่เมล็ดในน้ำนาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเพาะให้งอกเป็นต้นกล้าใช้เวลาทั้งหมด 5 วัน นำต้นกล้าแต่ละอายุมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging activity และ  $\beta$ -carotene bleaching วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX) พบว่าต้นกล้าถั่วพันธุ์นี้ที่อายุ 2 วันมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงสุด สอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ GPX ที่สูงสุดเช่นกัน ส่วนสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณค่อยๆ ลดลงตลอดระยะเวลาการงอก ทั้งนี้คาดว่ากิจกรรมต้านออกซิเดชันที่สูงเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดเท่านั้นซึ่งอยู่ในวิธีการสังเคราะห์ลิแกนด์ที่มีความสามารถสูงในการต้านออกซิเดชัน โดยมีเอนไซม์ GPX มีส่วนร่วมในกิจกรรมต้านออกซิเดชัน

Boateng (2008) ได้ศึกษาผลของวิธีการแปรรูปด้วยการแช่ถั่ว (100 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นานประมาณ 22 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง 25°C) และวิธีการคั่วด้วยไมโครเวฟ (กำลังไฟ 1200 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที) ต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ ferric reducing antioxidant potential (FRAP) ในถั่ว 4 ชนิด ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วพินโต และถั่วเหลือง พบว่า สารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และสาร proanthocyanidin มีค่าอยู่ระหว่าง 3.42-7.21, 0.61-0.84 และ 0.51-3.13 ในถั่วดิบ 3.58-6.94, 0.19-0.99 และ 0.43-3.13 ในถั่วที่ผ่านการแช่ และ 4.55-9.52, 0.23-1.00 และ 0.20-3.25 ในถั่วที่ผ่านการคั่วด้วยไมโครเวฟ ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี FRAP ในถั่วดิบ ถั่วที่ผ่านการแช่ และถั่วที่ผ่านการคั่วด้วยไมโครเวฟมีปริมาณ 0.0097-0.00424 มิลลิกรัมต่อกรัม ในขณะที่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวัดด้วยวิธี DPPH (T30) อยู่ระหว่าง 43.9-62.61% โดยถั่วที่ผ่านการคั่วด้วยไมโครเวฟให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าถั่วที่ผ่านการแช่

Ocheme และ Chinma (2008) ศึกษาผลของการแช่ และการงอกต่อคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของแป้งข้าวฟ่าง เติร์ยมแป้งข้าวฟ่างจากการแช่ การงอก และแช่-งอกทั้งเมล็ด มีโปรตีน เถ้า น้ำหนักแห้ง ความจุการดูดซึมน้ำ การดูดความชื้น และความสามารถการพองตัวของแป้งเพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากการแช่ และการงอก มีไขมัน กรดไขมัน กรดไขมันอิ่มตัว การเกิดเจล และความหนืดในตัวอย่างของแป้งลดลงเป็นผลจากการแช่และการงอก

Xu และ Chang (2008) ศึกษาผลของการแช่ การต้ม และการนึ่ง ต่อสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของอาหารประเภทถั่วในฤดูหนาว (CSFL) นำถั่ว CSFL 20 กรัม แช่ในน้ำ 60 มิลลิลิตร อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ทำการวัดความชื้นทุกๆ 1 ชั่วโมง ในช่วง 0-6 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดทุกๆ 2 ชั่วโมง ในช่วง 6-16 ชั่วโมง และวัดในชั่วโมงสุดท้าย จากนั้นนำมาผ่านการต้ม และการนึ่งในถั่วที่แช่ ต้ม และนึ่ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง โดยวิธีต้มจะมีฟีนอลิกลดลงมากที่สุดเช่นเดียวกับวิธี DPPH และวิธี ORAC มีการเปลี่ยนแปลง การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ขึ้นอยู่กับกรรมวิธี และชนิดของถั่ว อย่างไรก็ตามวิธีการนึ่งจะสูญเสียเพียงเล็กน้อย

## 2.4 การงอก (Germination)

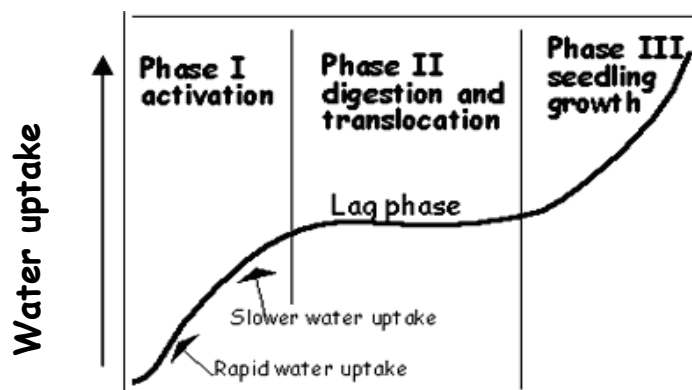
### 2.4.1 ความหมายของการงอก

การงอกของเมล็ดหมายถึง การงอกและการพัฒนาการของต้นอ่อนถึงขั้นที่โครงสร้างที่สำคัญของส่วนต่างๆ ของต้นอ่อน ที่สามารถบ่งชี้ได้ว่าจะสามารถเจริญเติบโตต่อไปเป็นต้นพืชที่ปกติภายใต้สภาพแวดล้อมในดินที่เหมาะสม (ISTA, 1999) อย่างไรก็ตามการให้คำจำกัดความหรือการให้ความหมาย การงอกของเมล็ดของบุคคลในแต่ละสาขาอาชีพมีความแตกต่างกัน บุคคลโดยทั่วไปอาจจะมองว่าต้นอ่อนโผล่พ้นขึ้นมาเหนือดินก็แสดงว่าเมล็ดนั้นงอก สำหรับนักสรีรวิทยาเมล็ดได้ให้ความหมายว่าเมื่อใดก็ตามที่เห็นรากโผล่ออกมา แสดงว่าเมล็ดงอก ส่วนนักวิทยาศาสตร์ทางด้านเมล็ดและนักวิชาการเกษตรที่เกี่ยวข้องกับการปลูกพืชกล่าวว่า การงอกของเมล็ดหมายถึง เริ่มตั้งแต่เมล็ดมีกระบวนการต่างๆ เกิดขึ้นในเมล็ดที่กำลังอยู่ในระยะพัก จนถึงระยะที่ต้นอ่อนเจริญเติบโต และพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่แข็งแรง (จวงจันทร์, 2529)

### 2.4.2 วัตถุประสงค์ของการงอก

การงอกมีจุดประสงค์เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่สะสมในเนื้อเมล็ดให้อยู่ในรูปโครงสร้างที่สลายได้ง่ายโดยการทำงานของเอนไซม์ ในขั้นตอนการงอกเมล็ดจึงมีการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายที่มีปริมาณสูง เช่น ในเมล็ดข้าวมีเอนไซม์เบต้าอะไมเลสสะสมอยู่แล้ว เอนไซม์ชนิดนี้ถูกสร้างขึ้นมาพร้อมกับการพัฒนาของเมล็ดจนกลายเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์ และในขั้นตอนการงอกของเมล็ดก็มีการผลิตเอนไซม์เบต้าอะไมเลสเป็นหลักการสร้างเอนไซม์เบต้าอะไมเลสเกิดขึ้นในส่วนคัพพะ โดยการกระตุ้นของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินที่ถูกสร้างในขณะเกิดการงอก นอกจากเอนไซม์เบต้าอะไมเลสแล้ว กรดจิบเบอเรลลินยังเป็นตัวกระตุ้นให้เยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดผลิตเอนไซม์ชนิดอื่นๆ เช่น เบต้ากลูแคนเนส ( $\beta$ -glucanase) แพนโตแซนเนส (pentosanase) เป็นต้น หลังจากคัพพะและเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดมีการผลิตเอนไซม์ต่างๆ ขึ้นมา ซึ่งเอนไซม์จะมีกิจกรรมในการสลายสารอาหารต่างๆ ที่สะสมในส่วนเนื้อเมล็ด โดยการย่อยสลายและโปรตีนในเนื้อเมล็ดได้น้ำตาลรีดิซ เช่น กลูโคส มอลโตส ฟรุคโตส และกรดอะมิโน สิ่งที่ยังบอกว่าการงอกของเมล็ดคือการเกิดจุดขาว เป็นส่วนของรากเทียมและแทงทะลุส่วนเปลือกหุ้มผล และ testa

ออกมาจากนั้นจึงเกิดการสร้างรากแท้ (acrospires) การงอกของเมล็ดพืช แบ่งออกเป็น 3 ระยะ (Manna *et al.*, 1995) ดังแสดงในภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 ระยะต่างๆ ในการงอกของเมล็ดพืช

ที่มา : Manna *et al.* (1995)

ระยะแรก การดูดซึมของน้ำเข้าสู่เมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งกระตุ้นการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ และมีการย่อยสลายสารอาหารต่างๆ ภายในเมล็ดบางส่วน

ระยะที่สอง การดูดน้ำเข้าสู่เมล็ดลดลงจนอัมตัมและมีการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ทำให้เกิดการย่อยสลายของผนังเซลล์ของชั้นอะลิวโรน เช่น เบต้าอะไมเลสเบต้ากลูแคนเนส เมื่อเกิดการย่อยของผนังเซลล์จะทำให้เอนไซม์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้นซึมผ่านเข้าไปสู่น้ำในเมล็ดเพื่อย่อยสลายให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสหรือโอลิโกแซ็กคาไรด์อื่นๆ เมื่อเกิดการย่อยผนังเซลล์แล้วเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำในเมล็ดให้เป็นกรดอะมิโนชนิดต่างๆ

ระยะสุดท้าย เกิดการเพิ่มปริมาณของเซลล์และเกิดการเจริญของต้นพืช

#### 2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของเมล็ด

ปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ด มีอยู่ 3 ปัจจัยคือ น้ำ ออกซิเจน และอุณหภูมิ เมื่อเมล็ดได้รับปัจจัยดังกล่าวที่เหมาะสมและเพียงพอต่อความต้องการ เมล็ดจะสามารถงอก และเจริญเติบโตเป็นต้นพืชที่แข็งแรงได้ ความสำคัญของแต่ละปัจจัยมีดังนี้

2.4.3.1 น้ำ เมื่อเมล็ดเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมจะเก็บเกี่ยวภายในเมล็ดจะมีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่น้อยมาก เมื่อเมล็ดจะงอก น้ำเป็นปัจจัยแรกที่จะกระตุ้นให้เมล็ดตื่นตัว กระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาเคมีและขบวนการเมแทบอลิซึมในเบื้องต้น เมล็ดดูดน้ำเข้าไปทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่มทำให้เมล็ดพองโตขึ้น เนื่องจากการขยายของผนังเซลล์และโปรโทพลาสต์ เมื่อเปลือกเมล็ดอ่อนนุ่มทำให้รากแทงผ่านเปลือกได้สะดวกมากขึ้น เมล็ดพืชแต่ละชนิดต้องการน้ำสำหรับการงอกแตกต่างกัน

บางชนิดหากได้รับน้ำมากเกินไปจะทำให้เมล็ดขาดออกซิเจนที่ใช้สำหรับหายใจและทำให้เมล็ดเน่า ในบางชนิดการที่เมล็ดได้รับน้ำมากๆ อาจจะทำให้เมล็ดเข้าสู่สภาวะพักตัวใหม่ สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการดูดน้ำของเมล็ด ได้แก่ ความหนาของเปลือก สารที่เคลือบอยู่ที่ผิวเปลือก ความเข้มข้นของน้ำ อุณหภูมิ และการสุกแก่ของเมล็ดที่ต่างกัน เป็นต้น (จวงจันทร, 2529)

2.4.3.2 ออกซิเจนมีความสำคัญต่อขบวนการหายใจของเมล็ดที่กำลังงอก ซึ่งเมล็ดที่กำลังงอกต้องการพลังงาน และพลังงานนั้นได้จากขบวนการ oxidation โดยใช้ออกซิเจนคือ ขบวนการหายใจเมล็ดที่กำลังงอกจะมีอัตราการหายใจสูงเมื่อเทียบกับการหายใจในช่วงอื่นๆ และจะมีกิจกรรมการสลายและเผาผลาญอาหารที่เก็บสะสมไว้ เมล็ดโดยทั่วไปจะงอกในสภาพบรรยากาศปกติที่มีออกซิเจนประมาณ 20% และคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.03% แต่ก็มีเมล็ดพืชหลายชนิดที่งอกได้ในสภาพที่มีออกซิเจนต่ำกว่าปกติ เช่น พืชที่งอกได้ในน้ำและสภาพที่มีออกซิเจนสูงซึ่งลักษณะการงอกจะมีความแตกต่างกัน ในสภาพที่มีออกซิเจนต่ำจะงอกยอต่อ่อนออกมาก่อนแล้วจึงงอกในส่วนของรากออกมาทีหลัง และพลังงานที่ใช้ในการงอกจะมาจากกระบวนการ oxidation ที่ไม่ใช้ออกซิเจนคือ กระบวนการ fermentation เมล็ดที่งอกจึงทนต่อการสะสมแอลกอฮอล์หรือสารพิษที่เกิดจากกระบวนการหมักได้จนกว่าต้นกล้าจะงอกขึ้นเหนือน้ำ และได้รับออกซิเจน ส่วนเมล็ดที่ต้องการออกซิเจนสูงสำหรับการงอกนั้นเมื่อได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอ ดังเช่นในกรณีเมล็ดถูกฝังอยู่ลึกในดิน เมล็ดจะพักตัวจนกว่าจะมีการไถพรวนขึ้นมาจึงจะสามารถงอกได้ตามปกติ นอกจากนี้อัตราการใช้ออกซิเจนจะเป็นตัวบ่งชี้การเกิดกระบวนการงอก และเป็นตัววัดความแข็งแรงของเมล็ดอีกด้วย

2.4.3.3 อุณหภูมิ มีความสำคัญมากต่อการควบคุมและอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชตามมาด้วยความแตกต่างของชนิดและถิ่นกำเนิดของพืชทำให้พืชมีความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกที่แตกต่างกัน เช่น พืชเขตร้อน เอนไซม์และปฏิกิริยาชีวเคมีในเมล็ดพืชเขตร้อนยังทำงานได้เมื่ออุณหภูมิใกล้เคียงเยือกแข็งและเมล็ดยังสามารถงอกได้ในขณะที่จุดเยือกแข็งจะเป็นอันตรายสำหรับการงอกของเมล็ดพืชเขตร้อน ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าระดับที่เหมาะสม ซึ่งเกินกว่าที่เมล็ดจะสามารถงอกได้ เมล็ดบางชนิดอาจจะมีการพักตัวหรือบางชนิดอาจจะเสียชีวิตได้ ดังนั้นเมล็ดแต่ละชนิดจะมีระดับอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่เมล็ดจะสามารถงอกได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.5) อย่างไรก็ตามเมล็ดยังมีการปรับตัวต่อช่วงอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดในรอบวันคือถ้าอุณหภูมิกกลางคืนและกลางวันมีความแตกต่างกันมาก เมล็ดจะงอกได้ดีกว่าการได้รับอุณหภูมิที่สม่ำเสมอตลอดเวลา เช่น หญ้า blue grass จะงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 15 เป็นเวลานาน 16 ชั่วโมง

**ตารางที่ 2.5** อุณหภูมิระดับต่างๆ ที่เมล็ดพืชชนิดต่างๆ สามารถงอกได้

| ชนิดพืช      | อุณหภูมิ (°C) |         |        |
|--------------|---------------|---------|--------|
|              | ต่ำสุด        | เหมาะสม | สูงสุด |
| ข้าว         | 10-20         | 20-30   | 40-42  |
| ข้าวโพด      | 3-5           | 15-20   | 30-40  |
| ข้าวบาร์เลย์ | 8-10          | 25      | 40-44  |
| ข้าวสาลี     | 3-5           | 15-20   | 30-43  |
| ถั่วเหลือง   | 8             | 20-35   | 40     |
| มะเขือเทศ    | 20            | 20-30   | 35-40  |
| ยาสูบ        | 10            | 24      | 30     |
| แคนตาลูป     | 16-19         | 20-30   | 45-50  |

ที่มา : จวงจันทร (2529)

นอกจากปัจจัย 3 ชนิดข้างต้นที่จำเป็นในการงอกของเมล็ดโดยทั่วไปแล้วยังมีเมล็ดบางชนิดที่ต้องการแสงสำหรับการงอก เช่น ปอกระเจา ผักกาดเขียวปลี ผักกาดหอม และพริก เป็นต้น เมล็ดบางชนิดอาจจะต้องแสงเพียงเพื่อกระตุ้นการงอกในระยะใดระยะหนึ่งเท่านั้น สำหรับเมล็ดบางชนิดแสงจะเป็นตัวยับยั้งการงอก มีพืชบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถงอกได้ในที่ที่ไม่มีแสง เช่น พืชตระกูลหอมหรือไม้หัว และพืชในกลุ่มไม้ดอกบางชนิด เช่น ฟลิค พืชในกลุ่มนี้เมื่อได้รับแสงจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง

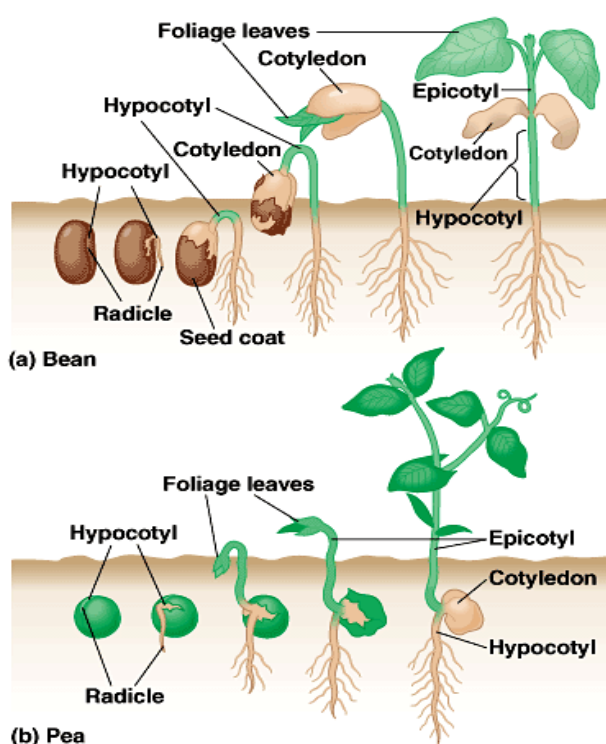
#### 2.4.4 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในระหว่างการงอกของเมล็ด

เมื่อเมล็ดได้รับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการงอก ซึ่งได้แก่ปัจจัยต่างๆที่ได้กล่าวไว้เบื้องต้นแล้ว เมล็ดจะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพโดยมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

2.4.4.1 เมล็ดพองโต จากสภาพโดยทั่วไปในเมล็ดที่เจริญเติบโตเต็มที่เมล็ดจะแข็ง เนื่องจากภายในเมล็ดมีความชื้นต่ำมาก เมื่อเมล็ดได้รับน้ำเข้าไปโดยผ่านช่องเปิดธรรมชาติที่มีอยู่ เช่น ไฮลัม (hilum) หรือบาดแผลที่เกิดขึ้นที่บริเวณเปลือกเมล็ด เป็นต้น จะทำให้เมล็ดขยายขนาดใหญ่ขึ้น และเปลือกเมล็ดมีลักษณะอ่อนนุ่ม

2.4.4.2 การเจริญของราก ส่วนแรกที่จะเจริญออกมาจากเมล็ด คือ รากแรกเกิด (radicle) ด้วยบทบาทของน้ำที่ทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่ม จึงทำให้รากแรกเกิดงอกได้สะดวกมากขึ้นรากแรกเกิดเมื่อเจริญพัฒนาต่อไปจะเป็นรากแก้ว เรียกว่า primary root เพื่อความอยู่รอดเมล็ดจะงอกส่วนรากออกมาก่อนเพื่อค้ำจุนต้นกล้า ดูดน้ำและแร่ธาตุอาหารส่งไปยังใบเลี้ยงและยอดอ่อน เพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้าต่อไป

2.4.4.3 การเจริญในส่วนของใบเลี้ยงและยอดอ่อน เมล็ดจะงอกส่วนที่เรียกว่าลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) และลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ออกมา หลังจากนั้น ใบเลี้ยงจะค่อยๆ เจริญออกมาและสลัดส่วนของเปลือกเมล็ดทิ้งไป พืชใบเลี้ยงคู่มีใบเลี้ยงสองใบ เมื่อโผล่ขึ้นมาเหนือดินจะเป็นส่วนแรกที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงในต้นกล้าได้ ส่วนพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีใบเลี้ยงเพียงใบเดียว ส่วนใหญ่ใบเลี้ยงจะตกค้างอยู่ภายในเมล็ด ทำหน้าที่ดูดอาหารจากเอนโดสเปิร์มส่งไปเลี้ยงต้นอ่อนที่กำลังงอก ส่วนของลำต้นเหนือใบเลี้ยงและลำต้นใต้ใบเลี้ยง ในพืชใบเลี้ยงคู่จะเห็นได้ชัดเจนกว่าในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวบางชนิดจะมีลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่มีลักษณะยาวเป็นพิเศษ เรียกว่า ปล้องแรก (mesocotyl)



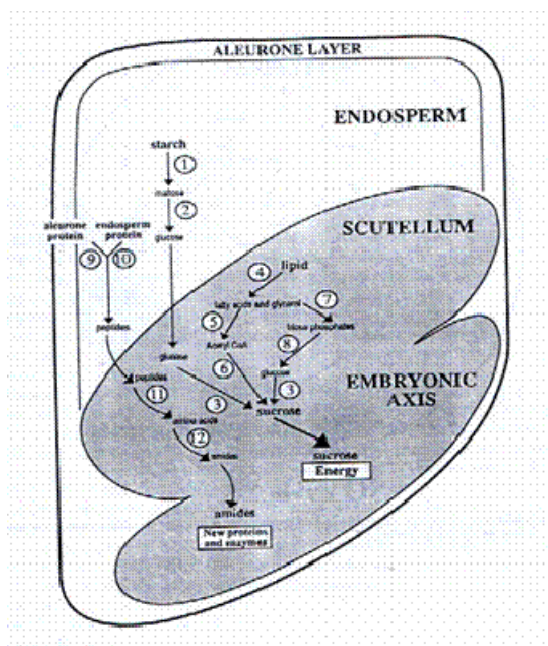
ภาพที่ 2.5 ลักษณะการงอกของเมล็ดถั่ว (ก) Bean (ข) Pea  
ที่มา : Anonymous (2011)

#### 2.4.5 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการงอกของเมล็ด

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการงอกของเมล็ดเกิดได้เนื่องจากมีน้ำเข้าไปกระตุ้น กล่าวคือ เมล็ดเมื่อแก่เต็มที่แล้วและแห้งจะอยู่ในสภาวะเฉื่อยคือ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้น อัตราการหายใจและการใช้พลังงานภายในเมล็ดเกิดขึ้นน้อยมาก ต่อเมื่อเมล็ดได้รับน้ำเข้าไป ส่งผลให้ขบวนการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในเซลล์เริ่มทำงาน เพราะฉะนั้นกระบวนการงอกของเมล็ดจึงเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ ขบวนการย่อยสลาย และกระบวนการ

ลำเลียงสารอาหารที่เก็บสะสมไว้ นำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอให้สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่ปกติ ซึ่งกระบวนการต่างๆ สามารถอธิบายได้ดังนี้

2.4.5.1 การสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ ได้แก่ เอนไซม์ DNA และ RNA ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนจะถูกชักนำในการสังเคราะห์เพิ่มขึ้นด้วย เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้มาจาก 2 แหล่งคือ เอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นขณะเมล็ดกำลังเจริญเติบโตจะถูกกระตุ้นให้ทำงาน เนื่องจากการเข้าไปของน้ำ เช่น amylopectin และ glucocidase เอนไซม์ 2 ตัวนี้จะปรากฏขึ้นทันทีหลังจากเมล็ดดูดน้ำ แหล่งที่สองได้จากการเริ่มสังเคราะห์ขึ้นใหม่ โดยผ่านการควบคุมของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ที่เรียกว่า *de novo* synthesis โดยพบในเซลล์อะลิวโรน (aleurone) ในเมล็ดข้าวบาเลย์ เอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่ amylase, ribonuclease, protease และ lipase เป็นต้น พลังงานที่ต้องใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนต่างๆ ได้มาจาก ATP ซึ่งผลิตในไมโทคอนเดรียที่ต้นตัว ภายหลังจากเมล็ดได้รับน้ำเข้ามา การทำงานของไมโทคอนเดรียในการผลิต ATP ทำให้เมล็ดมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับสภาพที่เมล็ดยังไม่งอก (ภาพที่ 2.6)



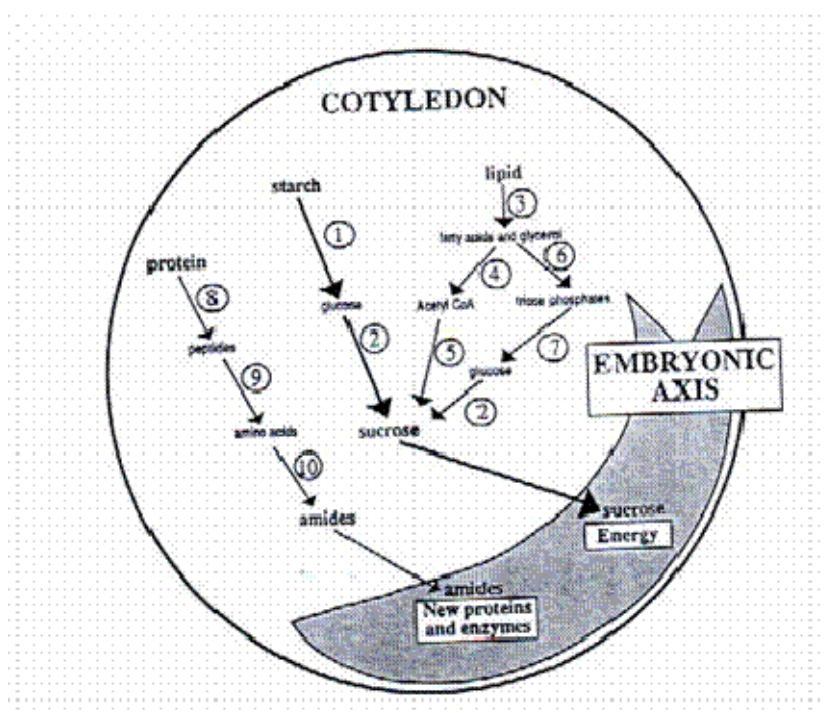
ภาพที่ 2.6 การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

ที่มา : Copeland และ McDonald (1995)

2.4.5.2 การย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ด สารอาหารที่เมล็ดเก็บสะสมไว้ในส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมา คาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ hydrolase เช่น amylase และ phosphorylase จากรูบน้ำตาลที่ละลายไม่ได้เป็นรูปน้ำตาลที่ละลายได้โปรตีนถูกย่อยโดยเอนไซม์ protease ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้าง

ขึ้นมาใหม่ในระหว่างการงอกของเมล็ดได้กรดอะมิโน ส่วนการย่อยสลายไขมันจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ lipase ได้กรดไขมันและกลีเซอรอล การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมไว้ในพีชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่แตกต่างกัน ดังนี้

2.4.5.2.1 พีชใบเลี้ยงเดี่ยว เก็บสะสมอาหารไว้ในเอนโดสเปิร์ม ได้แก่ แป้งและโปรตีน ซึ่งเก็บสะสมไว้ในรูปน้ำตาลที่ละลายได้ และเปปไทด์ (peptides) ตามลำดับ (ภาพที่ 2.7) ถูกเคลื่อนย้ายไปยังเอ็มบริโอเพื่อสร้างพลังงานและสร้างเอนไซม์เพื่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน



ภาพที่ 2.7 การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมในพีชใบเลี้ยงคู่

ที่มา : Copeland และ McDonald (1995)

2.4.5.2.2 พีชใบเลี้ยงคู่ อาหารที่เก็บสะสมไว้ในส่วนของใบเลี้ยงมี 3 ชนิด คือ ลิพิด แป้ง และโปรตีน ดังแสดงในภาพที่ 2.7 ลิพิดและแป้งถูกย่อยสลายที่ใบเลี้ยงจนได้เป็นน้ำตาลซูโครส (sucrose) ส่วนโปรตีนจะถูกย่อยสลายกลายเป็นเอไมด์ (amides) ทั้งน้ำตาลซูโครสและเอไมด์เมื่อถูกย่อยให้มีอนุภาคเล็กลงก็จะเคลื่อนย้ายเพื่อเป็นอาหารสำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อนต่อไปในขั้นตอนนี้การดูดน้ำและการหายใจจะเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ สำหรับการหายใจซึ่งต้องใช้ใช้ออกซิเจน ถ้าหากมีการย่อยไขมันและน้ำมัน จะใช้ออกซิเจนสูงกว่าปกติ

### 2.4.5.3 การลำเลียงอาหารที่เก็บสะสม ดังนี้

2.4.5.3.1 คาร์โบไฮเดรต การลำเลียงอาหารสะสมประเภทคาร์โบไฮเดรตจากที่เคยอยู่ในรูปของน้ำตาลที่ละลายไม่ได้ จะถูกย่อยให้อยู่ในรูปของน้ำตาลที่ละลายได้ ซึ่งเป็นรูปที่สามารถลำเลียงได้

2.4.5.3.2 โปรตีน จะลำเลียงในรูปของสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายได้ เช่น กรดอะมิโน โดยกรดอะมิโนจะถูกลำเลียงไปที่เอ็มบริโอ เพื่อเป็นวัตถุดิบในการสร้างโปรตีนใหม่ ในส่วนที่มีการเจริญเติบโต

2.4.5.3.3 ลิพิด จะถูกลำเลียงในรูปของกรดไขมันและกลีเซอรอล บางส่วนจะถูกลำเลียงไปเป็นวัตถุดิบในการสร้างสารพวก phospholipid และ glycolipid เพื่อสร้างเมมเบรนของออร์แกเนลล์และเซลล์ที่จะเกิดขึ้นใหม่

2.4.5.4 การเจริญเติบโตของเอ็มบริโอในขณะที่เอ็มบริโอมีการเจริญเติบโต น้ำหนักต้นอ่อนจะเพิ่มมากขึ้นส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อสะสมอาหารจะลดลง และการหายใจจะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอในเนื้อเยื่อของต้นอ่อน ขณะเดียวกัน กระบวนการเมแทบอลิซึมที่เนื้อเยื่อสะสมอาหารจะลดลง ยกเว้นในส่วนของใบเลี้ยงซึ่งจะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงได้ ต่อมาจะมีการยืดตัวและการเจริญเติบโตของยอดอ่อนเกิดเป็นใบแรก (primary leaf) และแกนกลางของเอ็มบริโอส่วนใต้ใบเลี้ยงจะเติบโตไปเป็นลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ส่วนเหนือใบเลี้ยงจะเจริญเป็นลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) จากนั้นต้นอ่อนก็จะเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าปกติ

### 2.4.6 ลักษณะการงอกของเมล็ด มี 2 แบบ ดังนี้

2.4.6.1 การงอกแบบใบเลี้ยงอยู่เหนือดิน (epigeal germination) คือ การงอกของเมล็ดที่เมื่อต้นกล้าเจริญเติบโตเต็มที่จะมีใบเลี้ยงชูขึ้นมาเหนือดิน โดยขั้นตอนแรกของการงอกเมล็ดดูดน้ำเข้าไป เมล็ดมีลักษณะพองโต รากแรกเกิดแทงทะลุออกมาลงสู่พื้นดิน ต่อมาไม่นาน มีรากแขนงแตกออกลำต้นใต้ใบเลี้ยงเริ่มปรากฏมีลักษณะโค้งงออยู่เหนือดิน แล้วดึงส่วนของใบเลี้ยงตามขึ้นมาเหนือดิน ใบเลี้ยงนี้จะทำหน้าที่สังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารเพียงช่วงระยะหนึ่งแล้วจะเหี่ยวแห้งไปเหลือเพียงลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่ปรากฏให้เห็น และจะเจริญไปเป็นใบจริงใบแรกต่อไป เมล็ดพืชที่งอกในลักษณะนี้ส่วนใหญ่ที่เห็นอยู่เหนือดินคือ ส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ใบเลี้ยง เช่น ถั่วเหลือง (*Glycine max*) ถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris*) และละหุ่ง (*Ricinus communis*) นอกจากนี้ ยังมีพืชใบเลี้ยงเดี่ยวบางชนิดที่มีลักษณะพิเศษ สามารถงอกแบบอพิเจียล เช่น เมล็ดหอม ใบเลี้ยงจะยืดตัวดึงเมล็ดขึ้นเหนือดิน มียอดอ่อนแตกออกบริเวณระหว่างรากกับลำต้น และหลังจากนั้น ส่วนของใบเลี้ยงก็จะเหี่ยวแห้งไป

2.4.6.2 การงอกแบบใบเลี้ยงอยู่ใต้ดิน (hypogeal germination) คือการงอกของเมล็ดที่เมื่อเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนแล้วใบเลี้ยงยังไม่โผล่ขึ้นมาเหนือดิน หรือในบางกรณี อาจจะรวมถึงเอนโดสเปิร์ม

ที่ยังตกค้างอยู่ใต้ดินด้วยขั้นตอนการงอกในลักษณะนี้คือ เริ่มแรกเมล็ดจะดูดน้ำเข้าไป ทำให้เอ็มบริโอและเอนโดสเปิร์มขยายตัว coleorhiza จะแทงทะลุเปลือกออกมา รากปฐมภูมิ (primary root) เจริญออกมาอย่างรวดเร็ว แล้วเนื้อเยื่อหุ้มยอด (coleoptile) จะเจริญโผล่พ้นดินขึ้นมา เมื่อได้รับแสงแดดจึงหยุดการเจริญ ปล่อยให้ยอดอ่อนเจริญแตกใบจริงออกมา ส่วนใหญ่ที่เห็นอยู่เหนือดินคือส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือใบเลี้ยง (epicotyl) การงอกในลักษณะนี้มักพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าวโพด (*Zea mays*) แต่ก็มีพืชใบเลี้ยงคู่บางชนิดที่งอกแบบใบเลี้ยงอยู่ใต้ดิน เช่น ถั่วลันเตา (*Pisum sativum*) (จวงจันทร, 2529)

อิงฟ้า และคณะ (2552) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืชในระหว่างการงอก โดยนำเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ ไปแช่ในน้ำ pH 5.5 และ 6.5 ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แช่เมล็ดธัญพืช (ข้าวโพด, ถั่วเหลือง, ถั่วเขียว และถั่วแดง) ในน้ำอุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิที่ผ่านการแช่น้ำที่ pH 5.5 ทำให้มีสารอาหารเพิ่มขึ้นได้แก่ สารกาบา วิตามินบี1 และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งมากกว่าการแช่ข้าวขาวดอกมะลิน้ำ pH 6.5 ส่วนเมล็ดธัญพืชที่ผ่านการงอก พบว่าเมล็ดธัญพืช มีสารอาหาร เช่น กาบา วิตามินบี 1 และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการงอกจะมีปริมาณวิตามินบี 1 สารกาบา และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 3.37, 2.92 และ 0.63 เป็น 13.80, 22.14 และ 0.74 ตามลำดับ

Kuo *et al.* (2005) ศึกษาผลของสภาวะในการงอกต่อปริมาณโปรตีนอิสระ (free protein) และกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein amino acid) ของถั่ว โดยแช่ถั่วในน้ำที่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.07% ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ล้างถั่วด้วยน้ำสะอาด และแช่ถั่วในน้ำนาน 5.30 ชั่วโมง จากนั้น นำไปงอกที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 วัน ในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสง ที่อุณหภูมิ 20 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 99% พบว่าถั่วทั้ง 3 ชนิดเจริญเติบโตในช่วงเวลา 2, 4 และ 6 วัน ทั้งในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสง ส่วนปริมาณของโปรตีนอิสระและกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งขึ้นอยู่กับสภาวะในการงอกและชนิดของถั่วโดยถั่วป็น มีฮิสทิดีน (histidin) กลูตาเมต (glutamate) ไกลซีน (glycine) อาร์จินีน (arginine) ไทโรซีน (tyrosine) และ ทริปโตเฟน (tryptophan) ลดลง ในขณะที่ ถั่วเลนทิล และ ถั่วพี โปรตีนอิสระเพิ่มขึ้นหลังการงอก และการงอกที่ใช้แสงจะให้ปริมาณโปรตีนอิสระในถั่วป็นและถั่วเลนทิลต่ำสุด แต่ในถั่วพี กรดอะมิโนอิสระที่ไม่ใช่โปรตีนเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในช่วงของการงอก ในถั่วป็น การงอกจะทำให้  $\alpha$ -amino adipic ลดลง และกาบาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ ถั่วเลนทิลและถั่วพี การงอกโดยการให้แสงส่งผลให้  $\alpha$ -amino adipic สูงขึ้น

Khattak *et al.* (2007) ได้ศึกษาอิทธิพลของเทคนิคการงอกต่อกรดฟีนอลิก และปริมาณ polyphenols ของถั่ว chickpea (*Cicer arietinum* L.) นำถั่วมาแช่ 24 ชั่วโมงอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปงอกที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ (28°C) นำมาฉายรังสีแกมมา ที่ 3 krad และเก็บรักษาในแสงต่างๆ

สีดำ แดง น้ำเงิน ทั้งสดและแห้ง สีเขียว และสีเรืองแสงนาน 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าการงอกที่ 48 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไฟติกสูง ในห้องที่เก็บด้วยสีแดงมีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิก คือสารฟีนอลิกเพิ่มเป็น 2 เท่าในเวลา 24 ชั่วโมง

Sangronis และ Machado (2007) ศึกษาอิทธิพลของการงอกต่อปริมาณสารอาหารของถั่วในตระกูล Phaseolus vulgaris (ถั่วดำและถั่วขาว) Cajanus cajan (ถั่วแระ) โดยแช่ถั่วในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 1% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด และแช่ถั่วในน้ำด้วยอัตราส่วน 1 : 3 นาน 5 ชั่วโมง นำถั่วไปงอกในที่ที่บดแสงที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 5 วัน โดยในระหว่างการงอกสเปรย์น้ำทุกวัน จากนั้นนำตัวอย่างไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 10 ชั่วโมง บดละเอียดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์ พบว่า กระบวนการงอกทำให้ ปริมาณกรดไฟติก ลดลงมากกว่า 40 % ในถั่วทั้ง 3 ชนิด ส่วน แทนนิน ลดลง 14.3% ในถั่วแระ 19% ใน ถั่วดำ และ 36.3 ในถั่วขาว นอกจากนี้ พบว่าการงอกทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น 2.4% ในขณะที่ปริมาณกรดแอสคอร์บิก เพิ่มขึ้น 300% ในถั่วขาว 33% ในถั่วดำ และ 208% ในถั่วแระ ปริมาณไขมัน เพิ่มขึ้นมากกว่า 26.7% ส่วน ผลของการงอกมีผลต่อปริมาณแร่ธาตุไม่ชัดเจน โดยมีทั้งกรณีของการเพิ่มขึ้นและลดลง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของถั่วและชนิดของแร่ธาตุ

Siddhuraju และ Manian (2007) ศึกษาผลของความร้อนต่อกิจกรรมต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ด horse gram 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สีน้ำตาล และพันธุ์สีดำโดยการอบเมล็ดที่อุณหภูมิ 135 °C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเมล็ดมาสกัดและวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแทนนิน พบว่าการให้ความร้อนมีผลเพิ่มกิจกรรมต้านออกซิเดชันในเมล็ดถั่วทั้ง 2 พันธุ์ สอดคล้องกับการมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินเพิ่มขึ้น 1.58 และ 1.70 เท่าสำหรับพันธุ์สีน้ำตาล และเพิ่มขึ้น 1.41 และ 1.49 เท่าสำหรับพันธุ์สีดำ ตามลำดับ

Cevallos-Casals *et al.* (2010) ทำการศึกษาผลของการงอกต่อปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดธัญพืช 13 ชนิด นำเมล็ดธัญพืชมางอกในสภาวะต่างกัน ได้แก่ เมล็ดในระยะพักตัว, เมล็ดที่อุ้มน้ำ และเมล็ดที่ผ่านการงอก 7 วัน มีปริมาณ สารฟีนอลิกเพิ่มขึ้น โดยเปรียบเทียบกัน在水หนักต่อเมล็ด น้ำหนักฐานเปียก น้ำหนักฐานแห้ง พบว่าในน้ำหนักฐานแห้ง มีปริมาณสารฟีนอลิกมาก เมล็ดที่ผ่านการงอก 7 วัน มากกว่าเมล็ดในระยะพักตัวมากกว่าเมล็ดที่อุ้มน้ำ

Ghavidel และ Davoodi (2011) ได้ประเมินการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ ไฟเตสแอลฟา-อะมิเลส และไปเตสในเมล็ดพันธุ์ถั่วระหว่างการงอก ได้ทำการแช่ถั่ว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วเลนทิล ถั่วคาลพี และถั่วชิกพี เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และทำการงอกที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ไฟเตส จะมีการทำงานเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการงอกเพิ่มขึ้น แต่ในถั่วเขียวจะมีการทำงานของเอนไซม์ไฟเตส

ลดลง ในช่วงที่ 72 เอนไซม์แอลฟาอะมิเลส จะมีการทำงานเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น แต่จะมีการทำงานที่ดีในถั่วเขียว และเอนไซม์โปรตีเอสจะมีการทำงานเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น

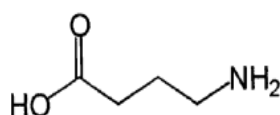
Rusidy *et al.* (2011) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการในพืชตระกูลถั่ว และสายพันธุ์ข้าว การวิเคราะห์ทางเคมี และองค์ประกอบของกรดไขมันของถั่วที่งอก และไม่งอก และสายพันธุ์ข้าว ในกลุ่มตัวอย่างที่งอกมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้น ไขมัน, โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตลดลง เยื่อใยในภาพรวมเพิ่มขึ้น ในถั่ว และข้าวที่งอกมีกรดไขมันอิ่มตัวสูง มีกรดไขมันเชิงเดี่ยวลดลงในทุกตัวอย่าง ยกเว้น (ถั่วแดง, ถั่วเหลือง และข้าว Barrio) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้นในบางตัวอย่างที่งอก (ถั่วเขียว, ถั่วลิสง, ข้าวสีแดง, ข้าวสีน้ำตาล, ข้าว Barrio และข้าวขาว) แต่ลดลงในพืชตระกูลถั่ว และข้าว

## 2.5 กรดแกมมาอะมิโนบิวทริก (Gamma-aminobutyric acid : GABA)

กรดแกมมาอะมิโนบิวทริก หรือสารกาบา (GABA) เป็นกรดอะมิโนที่พบในธรรมชาติทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและสัตว์มีกระดูกสันหลังรวมทั้งพืชซึ่งสิ่งมีชีวิตสังเคราะห์กาบา จากกลูตาเมต (Maeda *et al.*, 2007) ถูกค้นพบครั้งแรกในสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในปี ค.ศ. 1950 ต่อมาได้มีการค้นพบว่ามีความเข้มข้นสูงมากในสมองส่วน Encephalon และ Medulla oblongata โดยทำหน้าที่เป็น Inhibitory nerve transmitter และมีประโยชน์ในการกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในสมองนักวิทยาศาสตร์ในประเทศญี่ปุ่นได้รายงานถึงกาบาในรำข้าว (รวมจมูกข้าว) มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1994 ซึ่งนำมาสู่การพัฒนาสารที่มีกาบา สูงที่ได้จากจมูกข้าวจากนั้นได้มีการพัฒนาอาหารต่างๆ โดยการเติมกาบา เช่น ข้าว และชา เป็นต้น

### 2.5.1 คุณสมบัติของกรดแกมมาอะมิโนบิวทริก

กาบาเป็นกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีนเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยหมู่อะมิโน ( $\text{NH}_2$ ) และหมู่คาร์บอกซิล ( $\text{COOH}$ ) อย่างละ 1 หมู่ ต่ออยู่กับคาร์บอนอะตอม สูตรโมเลกุลคือ  $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$  มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 103.12 ในโครงสร้างประกอบด้วย คาร์บอน 4 อะตอม กาบาจะมีหมู่อะมิโนตรงตำแหน่งแอลฟาคาร์บอน ( $\alpha$ -carbon) โครงสร้างเป็นเส้นตรงและอยู่โดยไม่เกาะกับโมเลกุลอื่นมีคุณสมบัติในการละลายในน้ำได้สูงและมีคุณสมบัติเป็น zwitterionic ซึ่งมีทั้งขั้วบวกและขั้วลบ มีค่า  $\text{pK}_a$  เท่ากับ 4.03 และ 10.56 (Shelp *et al.*, 1999)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างสารกาบา (GABA)

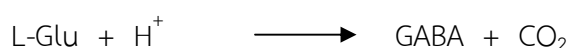
ที่มา : Shelp *et al.* (1999)

โดยทั่วไปแล้วระดับของกาบาที่พบในเนื้อเยื่อของพีชจะต่ำ โดยพบในช่วงระดับ 0.03-2.00 ไมโครโมลต่อกรัมของน้ำหนักสด แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อตอบสนองกับการกระตุ้น เช่น การให้ความร้อนหรือในสภาวะที่เนื้อเยื่อของพีชขาดออกซิเจน (hypoxia) ในสภาวะที่ออกซิเจนในเนื้อเยื่อพีชต่ำกว่าปกติ (anoxia) จะทำให้กาบาเพิ่มขึ้นซึ่งกระบวนการเมตาบอลิซึมของกาบานั้นเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ (Shelp *et al.*, 1999)

#### 2.5.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตกาบา

การสังเคราะห์ปริมาณกาบาเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซีเลสซึ่งจะเปลี่ยนกลูตาเมตเป็นกาบาแต่กระบวนการเมตาบอลิซึมของกาบามีกลไกที่เกี่ยวข้องหลายอย่าง (Shelp *et al.*, 1999)

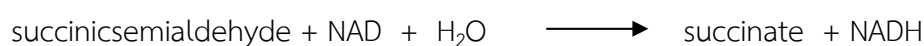
โดยเมตาบอลิซึมของสารกาบานี้มี 2 แบบ คือ การสังเคราะห์ (catalyst) และการเผาผลาญ (metabolized) ขั้นต้นนั้นเกิดการสังเคราะห์โดยเริ่มจาก  $H^+$  ทำปฏิกิริยากับ L-glutamate ในปฏิกิริยา  $\alpha$ -decarboxylation โดยใช้เอนไซม์ L-glutamate decarboxylase ซึ่งแสดงดังสมการ



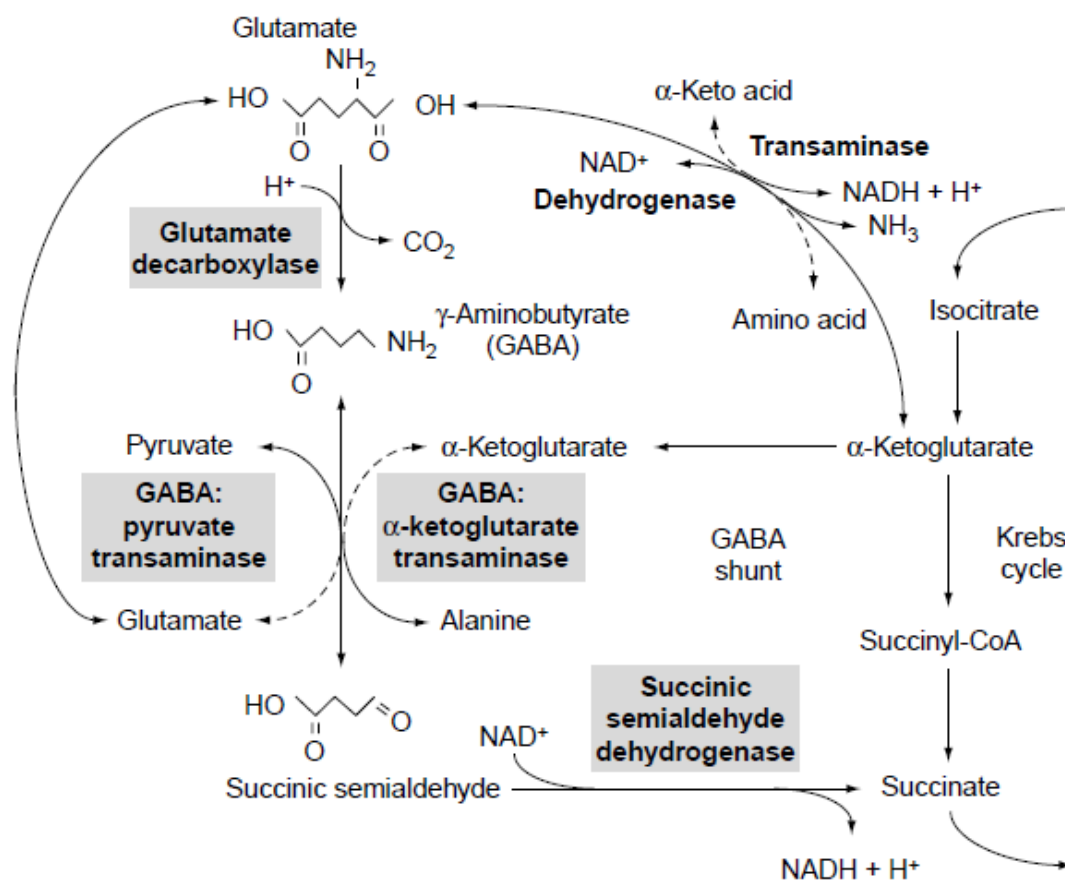
ขั้นต่อมาเป็นการ metabolize โดยกาบาทำปฏิกิริยา transamination ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่สามารถผันกลับได้โดยตัวเร่งปฏิกิริยา นี้คือ GABA transamination (GABA-T) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยานี้คือ succinic semialdehyde ซึ่งแสดงดังสมการ



จากนั้น succinic semialdehyde ถูก oxidized ไปเป็น succinate ดังสมการ

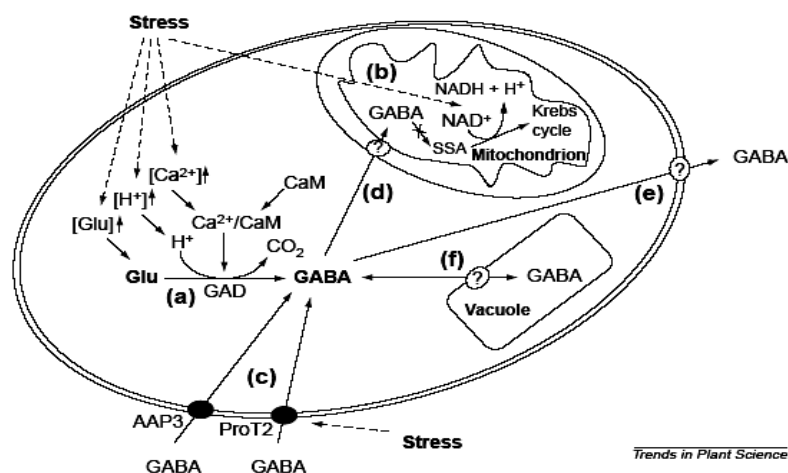


ซึ่งปฏิกิริยา oxidized นี้หากเกิดขึ้นไม่สามารถผันกลับได้ ซึ่งเอนไซม์ที่เร่งในปฏิกิริยานี้คือ succinatedsemialdehyde dehydrogenase ทั้ง 3 ปฏิกิริยานี้เป็น pathway ที่เรียกว่า GABA shunt (Shelp *et al.*, 1999) (ดังภาพที่ 2.9)



ภาพที่ 2.9 สารกาบา (gamma-aminobutyric acid) กับความสัมพันธ์ในการเผาผลาญ  
ที่มา : Barry (1999)

สภาวะที่พืชได้รับความเครียดส่งผลให้เพิ่มระดับของแคลเซียมไอออนต่อแคลโมดูลิน ( $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin) หรือไฮโดรเจนไอออน ( $\text{H}^+$ ) และกลูตาเมต ทำให้เกิดการกระตุ้นการสังเคราะห์กาบา โดยกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลสในเซลล์ของพืชเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลสเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในส่วนไซโตซอล (cytosol) (Breitkreuz และ Shelp, 1995) และในสภาวะที่มีความเครียดก่อให้เกิดการสังเคราะห์กาบาเกิดขึ้นความเครียดมีผลทำให้ไซโตซอลมีสภาวะเป็นกรดและส่งผลให้เกิดการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์เอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลส Carroll *et al.* (1994) และ Crawford *et al.* (1994) แสดงให้เห็นว่า ความเครียดทำให้ไซโตซอลมีระดับของไฮโดรเจนไอออนสูงขึ้นแล้วก่อให้เกิดการสะสมของกาบาแสดงว่า การสังเคราะห์กาบามีการรับไฮโดรเจนไอออนจะเป็นการลดความเป็นกรดต่างของไซโตซอลลงนำไปสู่การกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลส และส่งผลให้มีการสะสมของกาบาเกิดขึ้น



ภาพที่ 2.10 ความสัมพันธ์ของกาบาเมื่อเซลล์ได้รับความเครียด

ที่มา : Shelp *et al.* (1999)

ความเครียดเกิดจากหลายปัจจัย เช่น การสัมผัสกับความเย็นอย่างรุนแรง สภาวะที่มีออกซิเจนในเนื้อเยื่อต่ำกว่าปกติ (Reggiani, 1999) สภาวะที่เนื้อเยื่อพืชขาดออกซิเจน เป็นต้น จะนำไปสู่การเกิด signal transduction pathway เป็นผลเกิดการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมไอออนซึ่งจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลสและก่อให้เกิดการสะสมของกาบา (Shelp *et al.*, 1999)

Aoki *et al.* (2003) พบว่าความเครียดก่อให้เกิดกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ทำให้เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนแตกออกเกิดการย่อยของโปรตีนหรือกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ภายในเซลล์ ทำให้มีการกระจายของกรดอะมิโนภายในเซลล์รวมทั้งปริมาณกลูตาเมตก็เพิ่มขึ้นด้วย

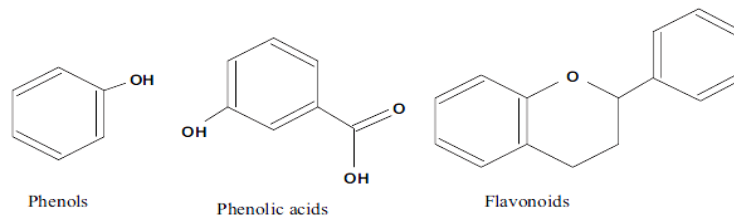
โดยทั่วไปแล้วกระบวนการเมตาบอลิซึมของกาบาจะเปลี่ยนไปเป็นกรดซักซินิก (succinic acid) แต่เมื่อเซลล์ของพืชได้รับความเครียด ก็จะไปลดสัดส่วนของ NAD : NADH ซึ่ง เอนไซม์ซักซินิกเคมีแอลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนสต้องการ NAD ในการเกิดปฏิกิริยา จึงทำให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ซักซินิกเคมีแอลดีไฮด์ ดีไฮโดรจิเนส เป็นสาเหตุให้เกิดการสะสมของซักซินิกเคมีแอลดีไฮด์มากขึ้น ซึ่งทำให้ผันกลับไปยังกิจกรรมของเอนไซม์ กาบา-ทรานสไมเนส (ภาพที่ 2.9) จึงทำให้มีกาบาเพิ่มมากขึ้น (Shelp *et al.*, 1999)

Watanabe *et al.* (2004) นำข้าวกล้องพันธุ์ Koshihikari มาเพาะงอกที่อุณหภูมิ 30° ซ นาน 8, 16 และ 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องหลังการงอกที่อุณหภูมิ 30° ซ นาน 8 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นจาก 3.2 มก./100 กรัม เป็น 9.0 มก./100 กรัม หลังจากการงอกนาน 16 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นเป็น 9.6 มิลลิกรัม/100 กรัม และหลังจากการงอก 24 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นเป็น 13 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ซึ่งสารกาบาจะเกิดขึ้นได้ง่ายเพียงแต่น้ำอุณหภูมิ 30° ซ และพบว่ากลูตาเมตและกรดแอสพาทิกลดลงอย่างเห็นได้

ชัดเจน จาก 13.3 และ 7.7 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ไปเป็น 5.2 และ 1.6 มิลลิกรัม/100 กรัม กระทั่งถึง 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นสาเหตุเนื่องมาจากการงอกของเมล็ด โดยพบว่า การลดลงครึ่งหนึ่งของกลูตาเมทมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กาบาโดยเอนไซม์กลูตาเมทดีคาร์บอกซีเลส ดังนั้นระยะเวลาในการแช่ข้าวที่แตกต่างกันส่งผลต่อปริมาณของกรดอะมิโน และสารกาบาแตกต่างกันโดยอะลานีน ไทโรซีน ฮิสทีดีน กาบา ไลซีน และโอโซลิวีน เพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น ส่วนกลูตาเมทและกรดแอสพาทิกลดต่ำลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น

## 2.6 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารประกอบประเภท aromatic rings ซึ่งอาจจะมีหมู่ hydroxyl groups หรือ aromatic rings ได้หลายกลุ่มสารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่จะละลายน้ำได้ดีความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับชนิดของเมล็ดพืช (Adom และ Liu, 2002 และ Adom *et al.*, 2003, 2005) สารเหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่เป็น glycosides เชื่อมต่อกันมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำตาลและสารอื่นๆ กรดอินทรีย์ เอมีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และอนุพันธ์อื่นๆ ของฟีนอลที่พบมากที่สุดในเมล็ดพืช คือ Phenolicsacids และ flavonoids (ภาพที่ 2.11)



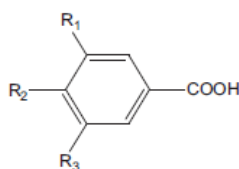
ภาพที่ 2.11 โครงสร้างของ phenolic compounds ที่พบมากโดยทั่วไป  
ที่มา : Liu (2007)

### 2.6.1 สารประกอบฟีนอลิก สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

2.6.1.1 Hydroxybenzoic acid อนุพันธ์ ได้แก่ p-hydroxybenzoic, protocatechuic, vanillic, syringic และ gallic acids และมักจะอยู่เป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น ligninshydrolysable tannins นอกจากนี้ยังพบอนุพันธ์ของกรดอินทรีย์และน้ำตาลในพืชอีกด้วย

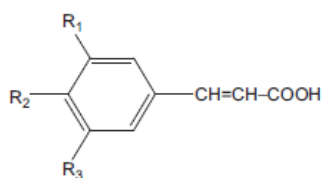
2.6.1.2 hydroxycinnamic acid อนุพันธ์ของ Hydroxycinnamic acid ได้แก่ p-coumaric, caffeic, ferulic และ sinapic acid จะอยู่เป็นโครงสร้างของส่วนประกอบใน cell wall เช่น เซลลูโลส ลิกนิน และโปรตีน

สารประกอบฟีนอลิก ได้มาจากกระบวนการ metabolism ของพืชในการเจริญเติบโต ทำหน้าที่ป้องกันเชื้อโรคและปรสิตรวมทั้งให้สีแก่พืช นอกจากบทบาทในพืชแล้วสารประกอบฟีนอลิก ยังเป็นสารอาหารที่ช่วยป้องกันโรคเรื้อรังต่างๆ อีกด้วย



(ก)

| Benzoic acid<br>derivatives | Substitutions     |                |                   |
|-----------------------------|-------------------|----------------|-------------------|
|                             | R <sub>1</sub>    | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub>    |
| Benzoic acid                | H                 | H              | H                 |
| p-Hydroxybenzoic acid       | H                 | OH             | H                 |
| Protocatechuic acid         | H                 | OH             | OH                |
| Vannilic acid               | CH <sub>3</sub> O | OH             | H                 |
| Syringic acid               | CH <sub>3</sub> O | OH             | CH <sub>3</sub> O |
| Gallic acid                 | OH                | OH             | OH                |



(ข)

| Cinnamic acid<br>derivatives | Substitutions     |                |                   |
|------------------------------|-------------------|----------------|-------------------|
|                              | R <sub>1</sub>    | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub>    |
| Cinnamic acid                | H                 | H              | H                 |
| p-Coumaric acid              | H                 | OH             | H                 |
| Caffeic acid                 | OH                | OH             | H                 |
| Ferulic acid                 | CH <sub>3</sub> O | OH             | H                 |
| Sinapic acid                 | CH <sub>3</sub> O | OH             | CH <sub>3</sub> O |

ภาพที่ 2.12 โครงสร้างของ Phenolics acids ที่พบโดยทั่วไป (ก) อนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก และ (ข) อนุพันธ์กรด cinnamic

ที่มา: Liu (2007)

ปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากคุณสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเจ็บป่วย และการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับอาหารเพื่อเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในการป้องกันการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารอันมีสาเหตุ เนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันในอาหารและยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการเกิดสี กลิ่นรส ในผักผลไม้ โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกจะพบมากบริเวณผิวชั้นนอกของพืช เช่น เปลือก ดลฤดี (2551) ได้ศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกมะม่วงแก้ว เปลือกส้มเขียวหวาน และเปลือกกล้วยน้ำว้า ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ด้วยวิธี Follin-Ciocalteu reagents สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบของสิ่งมีชีวิต โดยกำจัดอนุมูลอิสระที่มากเกินไปอันเป็นสาเหตุการเกิดภาวะการเจ็บป่วยต่างๆ การที่สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นเกี่ยวเนื่องกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระทำให้อนุมูลอิสระมีความคงตัว ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ ปัจจัยที่ผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ แสง และเอนไซม์รวมถึงการรวมตัวกับโมเลกุลอื่น (วิวัฒน์, 2545)

Fernandez-Orozco *et al.* (2006) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในต้นกล้าถั่ว lupin พันธุ์ Zapaton โดยนำเมล็ดแช่น้ำนาน 6 ชั่วโมงแล้วนำไปเพาะให้งอกเป็นต้นกล้าซึ่งใช้เวลาทั้งหมด 9 วัน นำต้นกล้าแต่ละอายุมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TEAC และ peroxy radical รวมทั้งวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ปริมาณวิตามินซี วิตามินอี และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่ามีกิจกรรมต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ตามอายุของต้นกล้าที่เพิ่มขึ้นของถั่วพันธุ์นี้ และเพิ่มสูงสุดวันที่ 9 ของการงอก สอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ SOD และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ และเพิ่มสูงสุดวันที่ 9 ของการงอกเช่นเดียวกัน ส่วนปริมาณวิตามินซีและวิตามินอี เพิ่มขึ้นสูงสุดวันที่ 6 ของการงอก เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมต้านออกซิเดชันกับกิจกรรมของเอนไซม์ SOD และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.68 และ 0.72 ตามลำดับ ทั้งนี้สันนิษฐานว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงเป็นผลจากกิจกรรมของเอนไซม์ SOD และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

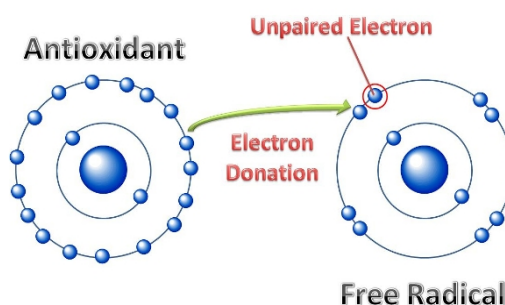
Kim *et al.* (2006) ศึกษาชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในต้นกล้าถั่วเหลืองจำนวน 7 พันธุ์ของประเทศเกาหลี โดยนำเมล็ดมาเพาะให้งอกเป็นเวลา 5 วัน แล้วนำต้นกล้ามาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าต้นกล้าของถั่วเหลืองพันธุ์ Poongsannamoolkong มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด โดยมี

สารประกอบฟีนอลิกชนิดที่สำคัญได้แก่ p-hydroxybenzoic acid, salicylic acid, p-coumaric acid และ benzoic acid นอกจากนี้ยังพบฟลาโวนอยด์ชนิด daidzein และ genistein ในปริมาณสูงอีกด้วย

Lopez-Amoros *et al.* (2006) ศึกษาผลของการงอกของถั่วต่อปริมาณองค์ประกอบสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ถั่วป็น (beans) พี (peas) และเลนทิล (Lentils) มาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.7% ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จากนั้น นำมาแช่ต่อน้ำสะอาด 2.30 ชั่วโมง นำถั่วที่ผ่านการแช่มางอกที่ 2, 4 และ 6 วัน ในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสง ที่อุณหภูมิ 20°C ความชื้นสัมพัทธ์ 99% นำตัวอย่างถั่วไปทำหั่นบดละเอียดร่อนผ่านตะแกรงเส้นผ่านศูนย์กลาง ขนาด 0.18 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์ พบว่า การงอกมีการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและคุณภาพของสารประกอบฟีนอลิก แต่จะขึ้นอยู่กับชนิดของถั่ว โดยเฉพาะในถั่วป็นและถั่วพี มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนหลังการงอก ในขณะที่ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของ ถั่วเลนทิลค่อยๆ ลดลง

## 2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากมีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุล หรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียรดังแสดงในภาพที่ 2.13 โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นอีกต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อไปเรื่อยๆ โดยที่อนุมูลอิสระมีสมบัติเหมือนสารทั่วไปตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น (Halliwell, 1991)



ภาพที่ 2.13 ลักษณะของอนุมูลอิสระ (free radicals) และสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

ที่มา : Anonymous (2011)

อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลอิสระที่อยู่ในสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนโดดเดี่ยว ของอนุมูลอิสระแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล  $R^{\bullet}$  แทนอะตอมหรือโมเลกุลของอนุมูลอิสระที่ไม่เฉพาะเจาะจง ซึ่งอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก ( $R^{+}$ ) เช่น อนุมูล pyridinyl ( $NAD^{+}$ ) และประจุลบ ( $R^{-}$ ) เช่น อนุมูลsuperoxide ( $O_2^{-}$ ) หรือเป็นกลาง เช่น อนุมูล peroxy ( $ROO^{\bullet}$ ) หรือ thylly ( $RS^{\bullet}$ ) เป็นต้น ซึ่งคำจำกัดความนี้ส่งผลให้อะตอมของธาตุและสารละลายหลายชนิด เช่น คลอรีนอะตอม ( $Cl^{\bullet}$ ) และซิลเวอร์อะตอม ( $Ag^{\bullet}$ ) เป็นต้นอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพได้แก่ Hydroxyl radical ( $HO^{\bullet}$ ), Superoxide anion radical ( $O_2^{-}$ ) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ยังผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกายไม่ว่าจะเป็น การทำลายโครงสร้างของดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนตลอดจนไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์นั้นๆ ผิดปกติไป เป็นต้น (วัลยา และพัชรี, 2542) แต่อย่างไรก็ตามในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ก็ตามต่างก็มีระบบที่เรียกว่า antioxidant defense system เพื่อชำระล้างซึ่งสมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกายทั้งสิ้น ระบบกำจัดอนุมูลอิสระดังกล่าวเกิดจากการทำงานของสารต่างๆ ที่รวมเรียกว่า สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณที่มากเกินไปกว่าระบบจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “Oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระที่ยังหลงเหลืออยู่อาจไปทำอันตรายอวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจโรคพาร์กินสันโรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ และโรคต่อกระเจก เป็นต้น (วัลยา และพัชรี, 2542)

#### 2.7.1 อนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต

อนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

2.7.1.1 Reactive oxygen species (ROS) หมายถึงสารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจนที่เป็นสารอนุมูลอิสระเช่น superoxide anion radical ( $O_2^{-}$ ), hydroxyl radical ( $HO^{\bullet}$ ) และที่ไม่ใช่อนุมูลแต่มีคุณสมบัติในการออกซิไดซ์หรือถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระได้ง่ายเช่น hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), hypochlorous acid (HOCl) และ ozone ( $O_3$ ) เป็นต้น

2.7.1.2 Reactive nitrogen species (RNS) หมายถึงสารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจนเช่น nitric oxide radical ( $NO^{\bullet}$ ) และ nitrogen dioxide radical ( $NO_2^{\bullet}$ ) เป็นต้น

2.7.1.3 Reactive chlorine species (RCS) หมายถึงสารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมคลอรีนเช่นhypochlorous acid (HOCl) และnitryl chloride ( $NO_2Cl$ ) เป็นต้น

2.7.1.4 Reactive bromine species (RBS) หมายถึงสารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมโบรมีน เช่น hypobromous (HOBr) และ bromine gas ( $\text{Br}_2$ ) เป็นต้น

อนุมูลอิสระเหล่านี้มีที่มาจากสิ่งแวดล้อมภายนอกร่างกายได้แก่รังสีกัมมาออกซิเจนสารเคมี ยาสิ่งปนเปื้อนในอากาศสารปรุงแต่งอาหารและอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (ประภาศรี, 2547) หรือเกิดขึ้นเองโดยกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์หรือถูกกระตุ้นจากปัจจัยภายนอกเซลล์ซึ่งสามารถทำความเสียหายให้แก่ภายในเซลล์ได้ (Cheeseman และ Slater, 1993)

## 2.7.2 คุณสมบัติของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความเสถียรต่ำจึงว่องไวในการทำปฏิกิริยาสูงเนื่องจากมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารอื่นๆเพื่อให้ตัวอนุมูลอิสระเปลี่ยนไปเป็นโมเลกุลที่เสถียรโดยจะทำปฏิกิริยาได้ 3 วิธีคือดึงอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวจากโมเลกุลปกติหรือเพิ่มอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวให้กับโมเลกุลปกติหรือสร้างพันธะโควาเลนต์กับโมเลกุลปกติแล้วยังมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเหลืออยู่ (Cheeseman และ Slater, 1993) โดยเมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะมีอนุมูลอิสระชนิดใหม่เกิดขึ้นและจะเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่เช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆ ซึ่งสามารถตรวจสอบและวิเคราะห์อนุมูลอิสระโดยคุณสมบัติจากอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่สามารถดึงดูดในสนามแม่เหล็กอย่างอ่อนเรียกเทคนิคนี้ว่า

electron paramagnetic resonance (EPR) scopy แต่วิธีดังกล่าวสามารถตรวจสอบอนุมูลอิสระได้เฉพาะโมเลกุลที่เสถียรเท่านั้นดังนั้นจึงนิยมใช้เทคนิค spin trapping ช่วยให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้นเรียกว่า spin adduct แล้วนำไปตรวจสอบด้วยเทคนิค EPR ดังกล่าว (Roberfroid และ Calderon, 1995)

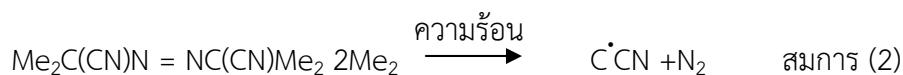
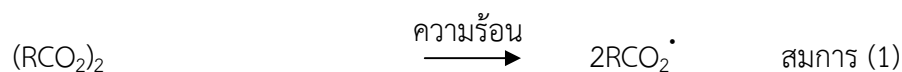
## 2.7.3 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องโดยมีกลไกการเกิด 3 ขั้นตอนคือขั้นตอนอินิทิเอชัน (initiation) เป็นขั้นตอนแรกที่อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นขั้นตอนพวพาเกชัน (propagation) เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อไปและขั้นตอนเทอร์มิเนชัน (termination) ปฏิกิริยาสุดท้ายที่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระรายละเอียดของทั้ง 3 ขั้นตอน ที่มักพบในสภาวะปกติของสิ่งมีชีวิตมีดังนี้ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

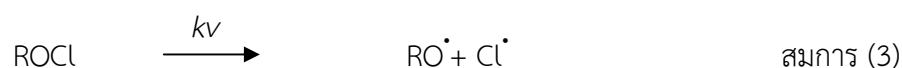
2.7.3.1 ขั้นตอนอินิทิเอชัน (initiation of radical in chain reaction) เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งอาจแบ่งสาเหตุการเกิดได้ 2 กลุ่มคือ

2.7.3.1.1 Abiotic factor เป็นการเกิดอนุมูลอิสระจากสิ่งไม่มีชีวิตเช่นอุณหภูมิแสง และรังสีต่างๆ ดังนี้

2.7.3.1.1.1 Thermolysis เป็นการเกิดอนุมูลอิสระของสารประกอบอินทรีย์ในสภาวะอุณหภูมิสูงทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างพันธะลดลงอะตอมจึงแยกออกมาเป็นอนุมูลอิสระส่วนมากเกิดกับพันธะออกซิเจน-ออกซิเจนและคาร์บอน-ไนโตรเจนดังสมการ (1) และ (2) (Nonhebel *et al.*, 1979)

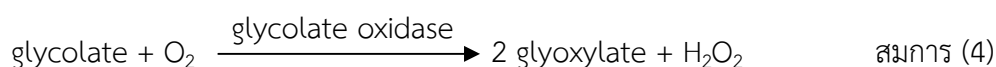


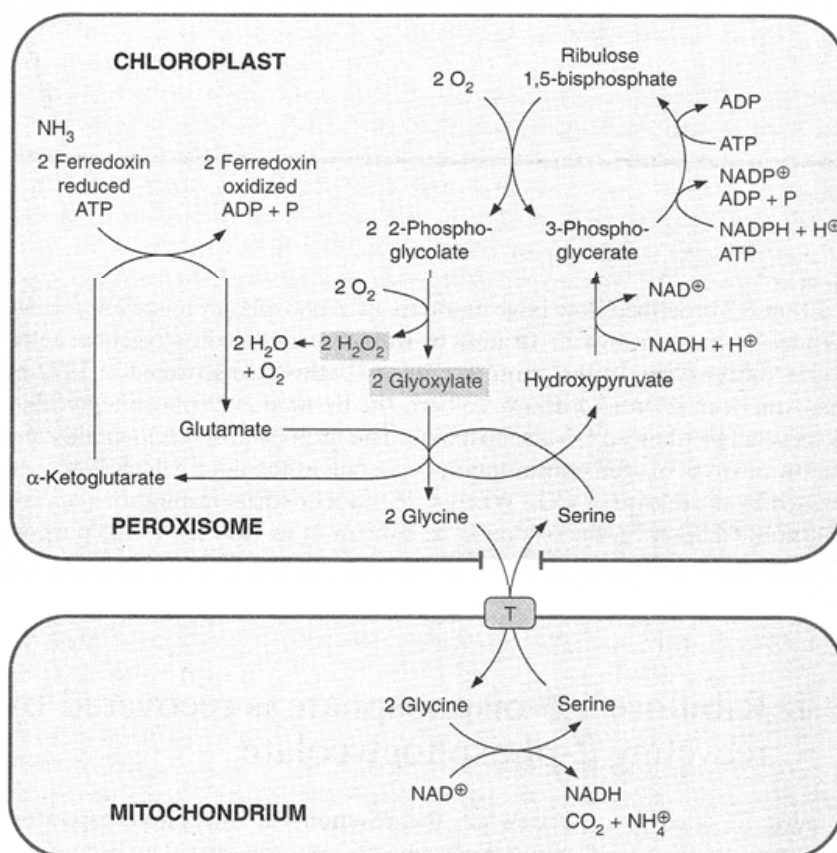
2.7.3.1.1.2 Photolysis radiolysis and sonolysis เป็นการเกิดอนุมูลอิสระที่อาศัยแสงรังสีและคลื่นเสียงซึ่งเป็นสสารที่มีพลังงานในตัวเองเมื่อตกกระทบกับโมเลกุลของสารจะทำให้อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลอยู่ในสถานะตื่นเต้น (excited state) ก็จะพยายามทำให้โมเลกุลเสถียรโดยการแตกพันธะออกมาจึงเกิดเป็นอนุมูลอิสระ 2 ตัวดังสมการ (3) (Roberfroid และ Calderon, 1995)



2.7.3.1.2 Biotic factor เป็นการเกิดอนุมูลอิสระจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตโดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาหรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารชีวโมเลกุลต่างๆภายในเซลล์ซึ่งมีกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สำคัญดังนี้

2.7.3.1.2.1 การหายใจแสง (photorespiration) เกิดขึ้นในเซลล์พืชในสภาพที่มีปริมาณ  $\text{CO}_2$  ต่ำและปริมาณ  $\text{O}_2$  สูง เป็นผลให้ในระหว่างมีการเปลี่ยนแปลงสารตัวกลางบางตัวเช่นการเปลี่ยน glycolate เป็น glyoxylate โดยอาศัยเอนไซม์ glycolate oxidase ใน peroxisome หรือ glyoxysome เกิดอนุมูลอิสระ  $\text{H}_2\text{O}_2$  ขึ้นมา (ภาพ 2.14) ดังสมการ (4) (Inze และ Montagu, 2002 และ Heldt, 2005)

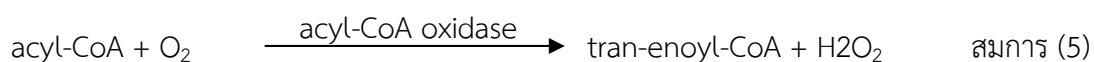


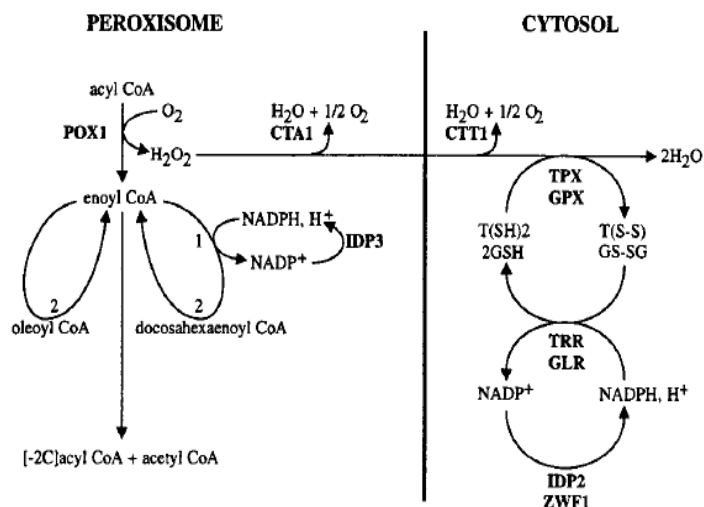


ภาพที่ 2.14 การเกิดอนุมูลอิสระในกระบวนการหายใจแสง (photorespiration)

ที่มา : Heldt (2005)

2.7.3.1.2.2 เบตา-ออกซิเดชัน ( $\beta$ -oxidation) เป็นกระบวนการสลายไขมันในเซลล์สิ่งมีชีวิตโดยระหว่างกระบวนการเปลี่ยนจาก acyl-CoA เป็น tran-enoyl-CoA โดยเอนไซม์ acyl-CoA oxidase ใน peroxisome หรือ glyoxysome มีการสร้างอนุมูลอิสระ  $H_2O_2$  (ภาพ 2.15) ดังสมการ (5) (Inze และ Montagu, 2002)

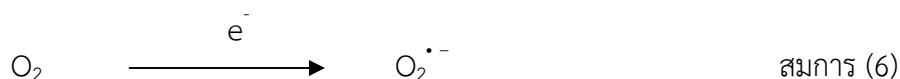




ภาพที่ 2.15 การเกิดอนุมูลอิสระในกระบวนการเบตา-ออกซิเดชัน ( $\beta$ -oxidation)

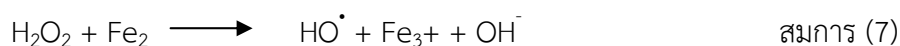
ที่มา : Minard และ McAlister-Henn (1999)

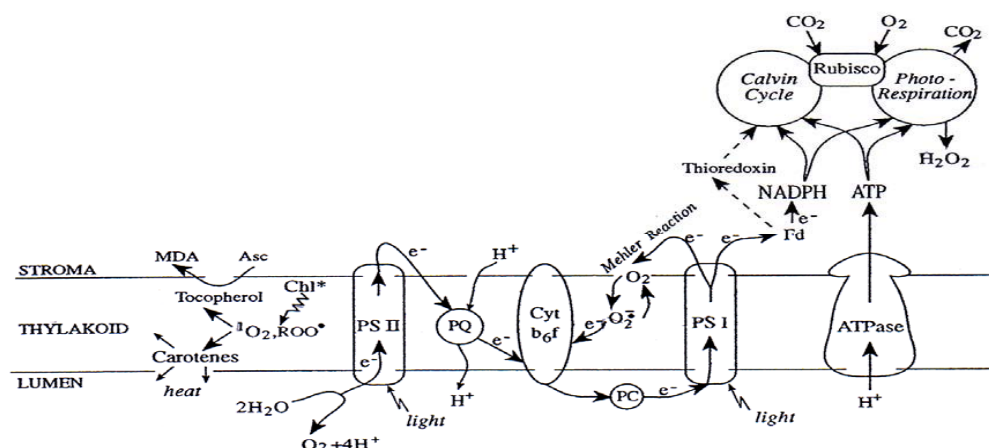
2.7.3.1.3 กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport) ในปฏิกิริยาแสงของกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยระหว่างที่มีการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในระบบแสง 1 (PSI) ภายใน chloroplast อิเล็กตรอนที่รั่วไหลออกมาทำปฏิกิริยารีดักชันกับ  $O_2$  เกิดอนุมูลอิสระ  $O_2^{\cdot-}$  ขึ้นมาเรียกว่า Mehler reaction (ดังภาพที่ 2.16) ใน thylakoid membrane ของ chloroplast ดังสมการ (6) (Inze และ Montagu, 2002)



2.7.3.1.4 กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport) ในกระบวนการหายใจโดยระหว่างที่มีการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนเพื่อสร้าง ATP  $O_2$  จะเข้าไปรับอิเล็กตรอนที่รั่วไหลจากระบบขนส่งอิเล็กตรอนเกิดเป็น superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) ใน matrix ของ mitochondria (ดังภาพที่ 2.17) เช่นเดียวกับสมการ (6) (Inze and Montagu, 2002)

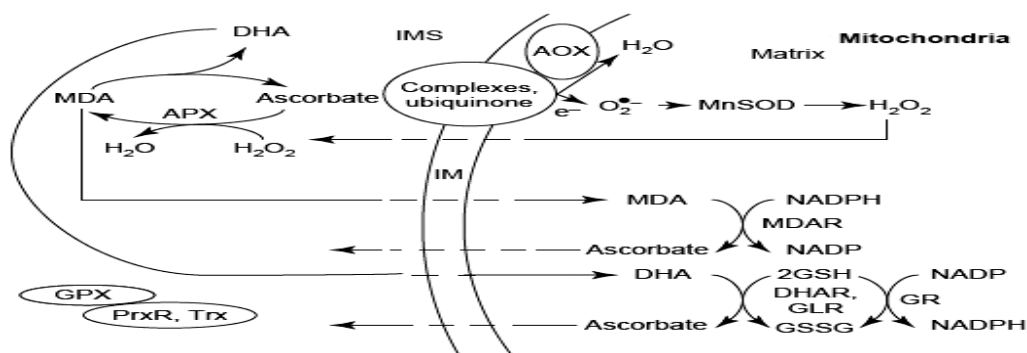
นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นใน cytosol หรือ organelle ต่างๆ ได้โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของสารเสียอิเล็กตรอนไป 1 ตัวให้แก่ตัวรับอิเล็กตรอน (oxidizing agent) เมื่อโมเลกุลดังกล่าวเสียอิเล็กตรอนแล้วจะกลายเป็นอนุมูลอิสระดังสมการ (7) (Inze และ Montagu, 2002)





ภาพที่ 2.16 การเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาแสงของกระบวนการสังเคราะห์แสง

ที่มา : Inze และ Montagu (2002)



ภาพที่ 2.17 การเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาถ่ายทอดอิเล็กตรอนของกระบวนการหายใจ

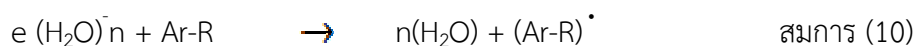
ที่มา : Mittler *et al.* (2004)

2.7.3.2 ขั้นตอนพรอพาเกชัน (propagation of radical in chain reaction) เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระจากขั้นตอนอินิทิเอชันมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่นและดำเนินต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่เกิดอนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลาที่มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาขั้นตอนนี้ 3 แบบคือ

2.7.3.2.1 Atom group transfer โดยอนุมูลอิสระจะไปดึงอะตอมของหมู่ function ของสารอีกโมเลกุลหนึ่งมาทำให้อนุมูลอิสระเสถียรแล้วโมเลกุลที่ถูกดึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระแทน ดังสมการ (8) และ (9)



2.7.3.2.2 Electron transfer คืออนุมูลอิสระที่มีประจุบวกหรือลบถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้กับโมเลกุลปกติแล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระดังสมการ (10)



2.7.3.2.3 Addition of radical โดยอนุมูลอิสระเข้าทำพันธะต่อกับโมเลกุลปกติทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระโมเลกุลใหม่ขึ้นมาดังสมการ (11)



2.7.3.3 ขั้นตอนเทอร์มินชัน (termination of radical in chain reaction) เป็นขั้นตอนที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระซึ่งมีกลไก 3 ปฏิกิริยา คือ

2.7.3.3.1 Homo-linking and cross-link of radical เป็นกลไกที่อนุมูลอิสระ 2 ชนิดมารวมกันเป็นโมเลกุลที่เสถียรถ้าอนุมูลอิสระชนิดเดียวกัน 2 ตัวมารวมตัวกันเรียกว่า homodimer หรือ 2 ชนิด ที่ต่างกันมารวมกันเรียก heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นกลไกการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลขึ้นมาใหม่ในสิ่งมีชีวิตดังสมการ (12) และ (13)



2.7.3.3.2 Radical scavenging เป็นการกำจัดอนุมูลอิสระออกไปโดยใช้สารที่เรียกว่า radical scavenger หรือสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งพบทั่วไปตามธรรมชาติหรือสังเคราะห์ขึ้นมาเองโดยจะทำให้อนุมูลอิสระเสถียรแล้วกำจัดออกภายหลัง

2.7.3.3.3 Electron transfer คืออนุมูลอิสระจะรับอิเล็กตรอนจากภายนอกเข้ามาในโมเลกุล 1 ตัวแล้วทำให้อนุมูลอิสระนั้นเสถียรขึ้นมาใหม่และไม่ดำเนินปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระต่อไปดังสมการ (14)



#### 2.7.4 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันมีบทบาทหน้าที่แตกต่างกันไปตามชนิดของสารซึ่งกลไกของการต้านออกซิเดชันมีหลายกลไกและสามารถสรุปได้ดังนี้ (Papad, 1998)

2.7.4.1 ขนย้ายออกซิเจนออกไปจากระบบหรือเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน

2.7.4.2 กำจัด reactive oxygen species (ROS) ต่างๆ รวมถึงอนุมูลเริ่มต้น (initiating radical)

2.7.4.3 ยับยั้งการเกิดออกซิเจนในรูป active form ซึ่งพบในขั้นตอนอินิทิเอชันของปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2.7.4.4 เข้าจับกับไอออนโลหะ (เหล็กและทองแดง) เพื่อป้องกันการสร้าง ROS ในรูปอื่นๆ

2.7.4.5 ยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation และสลายอนุมูลเปอร์ออกไซด์เพื่อลดการเกิดอนุมูลอิสระเริ่มต้น

2.7.4.6 เป็นสารรีดิวซ์โดยให้ไฮโดรเจนและอิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเพื่อป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระไปดึงไฮโดรเจนจากสารชีวโมเลกุลสำคัญ

2.7.4.7 ส่งเสริมระบบการทำงานของสารต้านออกซิเดชันภายในร่างกาย (endogenous - antioxidant defense)

#### 2.7.5 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ได้แก่

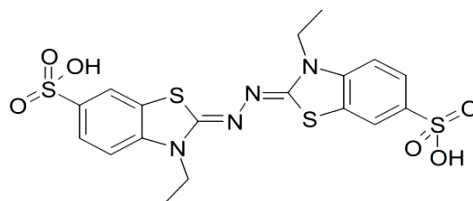
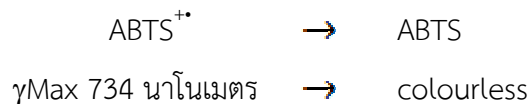
2.7.5.1 วิธี scavenging activity of ABTS radical (Re *et al.*, 1999) เป็นวิธีวัดทางอ้อมโดยวิธีการใช้สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล  $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$  มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระ โดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ให้กลายเป็น  $ABTS^{+•}$  ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีสีฟ้า-เขียว มี max ที่ 660, 734 และ 820 nm. แต่นิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\gamma_{Max}$  734 นาโนเมตร (ภาพที่ 2.17) โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น  $ABTS^{+•}$  ให้เป็น  $0.700 \pm 0.02$  เมื่อเติมสารทดสอบ ที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชัน ทำให้  $ABTS^{+•}$  ลดลง ซึ่งทำให้สีจางลง และสามารถนำไปคำนวณ % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A_{734} \text{ control} - A_{734} \text{ test sample}) \times 100}{A_{734} \text{ control}}$$

ผลการวิเคราะห์คำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน trolox จึงมีชื่อว่า trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย อนุมูล  $ABTS^{+•}$  ทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านออกซิเดชัน อนุมูล  $ABTS^{+•}$  ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งสารที่ทำละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน

ข้อเสียของวิธีนี้คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย  
+ antioxidant

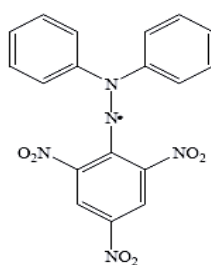


ภาพที่ 2.18 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS [(2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)]

ที่มา : Lo and Cheung (2005)

2.7.5.2 วิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

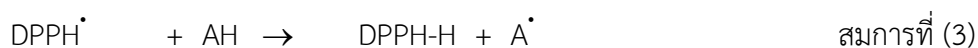
DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันซึ่งใช้ reagent คือ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (ภาพที่ 2.19) เป็น stableradical ในตัวทำละลายเมทานอลซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วงซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร



ภาพที่ 2.19 สูตรโครงสร้างของ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazylradical (DPPH radical)

ที่มา : ปริญนันท์ (2549)

โดย DPPH• จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R•)  
ดังสมการที่ (3) และ (4)



ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูงความเข้มข้นของสารละลายสีม่วง จะลดลงซึ่งจะรายงานผลการทดลองเป็น 50% effective concentration (EC50) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH<sup>•</sup> เหลืออยู่ 50% การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ในสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า EC50 ทำโดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Remaining DPPH<sup>•</sup> กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานหรือตัวอย่างเพื่อหาค่า EC50 โดยคำนวณ % Remaining DPPH<sup>•</sup> ตามสมการที่ (5)

$$\% \text{ Remaining DPPH}^{\bullet} = \frac{(\text{Abs sample})}{\text{Abs control}} \times 100 \quad \text{สมการที่ (5)}$$

และนอกจากนี้แล้วยังมีการรายงานในรูปของค่า IC50 ด้วยซึ่งทำโดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition DPPH<sup>•</sup> กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพื่อหาค่า IC50 โดยคำนวณ % Inhibition DPPH<sup>•</sup> ตามสมการที่ (6)

$$\% \text{ Inhibition DPPH}^{\bullet} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs sample})}{\text{Abs control}} \times 100 \quad \text{สมการที่ (6)}$$

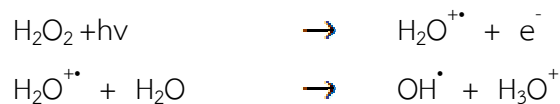
DPPH assay เป็นวิธีที่มีข้อดีคือเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วต่อการวิเคราะห์ให้ ความถูกต้องและมี reproducibility สูงแต่มีข้อเสียคือไม่สามารถใช้วิธีนี้วิเคราะห์ antioxidant activity ของเลือดได้เพราะต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็น alcohol ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ (ปริยพันธ์, 2549)

2.7.5.3 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity (Ohkawa *et al.*, 1979) hydroxyl-radical (OH<sup>•</sup>) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถโจมตีโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายโดยการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer *et al.*, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH<sup>•</sup> radical โดย 2 กลไก ได้แก่

a) ปฏิกิริยาของไฮดรอกซิลเพอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) แม้ว่าเกลือของโลหะทรานซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้ OH<sup>•</sup> แต่ในร่างกายนั้นเป็นไปได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe<sup>2+</sup> ทำปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้ OH<sup>•</sup> โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction ดังสมการ



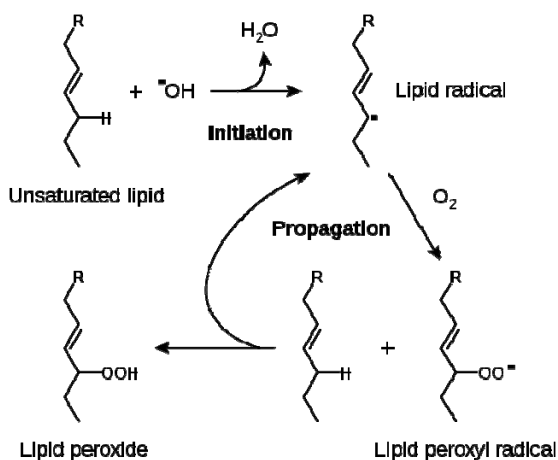
b) ปฏิกิริยาการแตกตัวของน้ำ เนื่องจากการถูกแสง หรือรังสี ตามสมการ



ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ของสารตัวอย่าง ต้องทำการสังเคราะห์ hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา fenton reaction model system เมื่อเติมสาร thiobarbituric acid (TBA) และ trichloroacetic acid เกิดเป็นสีชมพูเมื่อเติมสารที่ต้องการทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ลงไป ทำให้สีชมพูของสารละลายจางลง โดยสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm. (Huang *et al.*, 2005) จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{A532 control} - \text{A532 test sample}) \times 100}{\text{A532 control}}$$

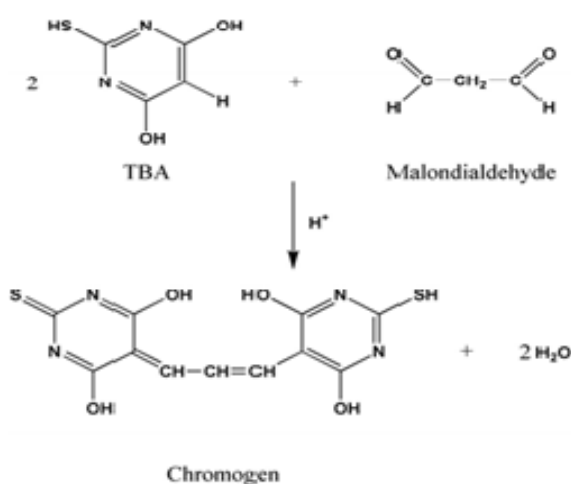
2.7.5.4 วิธี lipid peroxidation in liver homogenates (Halliwell *et al.*, 1987) เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุล ก่อนที่สิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยา lipid per oxidation สามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่ประกอบด้วยลิพิด 2 ชั้น การเกิดลิพิดออกซิเดชันกับลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติเปลี่ยนไป ยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์ และรีเซพเตอร์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์ และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เปลี่ยนไป เป็นสาเหตุในการเกิดโรคต่างๆ ได้ ผลผลิตที่เกิดขึ้นจาก lipid peroxidation ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน อีทีน และเพนเทน รวมถึงสารคีโตน และสารแอลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารแอลดีไฮด์ที่สำคัญ คือ มาลอน-ไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ a) ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ b) ปฏิกิริยาทวีเพิ่มขึ้น และ c) การสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นและอนุมูลอิสระนี้เข้าไปทำปฏิกิริยากับลิพิด ทำให้เกิดอนุมูลลิพิด (L<sup>•</sup> หรือ R<sup>•</sup>) (ภาพที่ 2.20) ที่แสดงถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation (โอภา และคณะ, 2549)



ภาพที่ 2.20 กลไกการเกิดปฏิกิริยา lipidperoxidation

ที่มา : โอภา และคณะ (2549)

วิธีนี้เป็นารวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง lipidperoxidation ของสารสกัดทดสอบ โดยใช้ตับหนูมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดผลผลิตจากปฏิกิริยา lipidperoxidation ได้เป็นสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) จากนั้นเติมกรดไธโอบาบิวทริก ในสภาวะกรดสาร MDA กับกรดบาบิวทริก ได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) (ภาพที่ 2.21) เมื่อเติมสารสกัดทดสอบ ที่มีความสามารถในการยับยั้ง lipidperoxidation ลงไปทำให้สารสีจางลง จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (โอภา และคณะ, 2549)



ภาพที่ 2.21 ปฏิกิริยาการเกิด TBARS

ที่มา : โอภา และคณะ (2549)

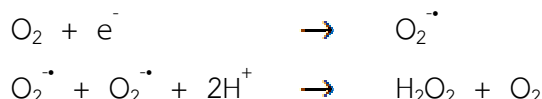
ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ทำการศึกษาง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณ % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{A532 control} - \text{A532 test sample}) \times 100}{\text{A532 control}}$$

2.7.5.5 วิธี metalchelatingactivity (Benzie และ Szeto, 1999) วัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะธาตุเหล็กในรูปเฟอร์รัส  $\text{Fe}_2^+$  ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล superoxideanionradical ( $\text{O}_2^-$ ) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิด อนุมูลอิสระตัวอื่นๆ โดยมีวิธีการวัด คือ วัดความสามารถในการแย่งจับโลหะกับ  $\text{Fe}_2^+$  ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยเมื่อเติมสาร ferrozine ลงไปสารนี้จะจับกับ  $\text{Fe}_2^+$  แล้วอยู่ในรูป ferrozine  $\text{Fe}_2^+$  complex ซึ่งให้สีแดงและถ้าสารที่ต้องการทดสอบ มีความสามารถในการแย่งจับกับ  $\text{Fe}_2^+$  อยู่ในรูป antioxidant- $\text{Fe}_2^+$  complex แล้วทำให้สีแดงจางลงได้ เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำมาคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{A562 control} - \text{A562 test sample}) \times 100}{\text{A562 control}}$$

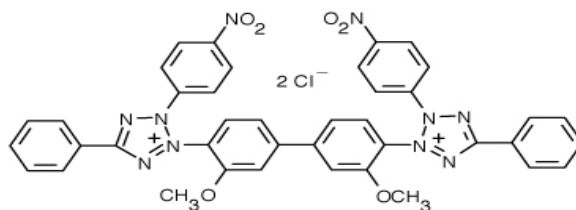
2.7.5.6 วิธี superoxideradicalscavenging (Benzie และ Szeto, 1999) super dioxide anion radical ( $\text{O}_2^-$ ) เป็นอนุมูลเริ่มแรก ที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และเป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากนั้นฤทธิ์ และความแรงของอนุมูลอิสระ ที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงขึ้นด้วย แต่ตัวของ  $\text{O}_2^-$  มีความว่องไวน้อยกว่า  $\text{OH}^\cdot$  ซึ่งการเกิด  $\text{O}_2^-$  เป็นดังสมการ



เมื่อ  $\text{O}_2^-$  ทำปฏิกิริยากับ  $\text{H}_2\text{O}_2$  เรียกปฏิกิริยานี้ว่า haber-weiss reaction (Kappus, 1992) ดังสมการ



การศึกษาสมบัติการเป็นสารจับ  $O_2^{\cdot -}$  ของสารตัวอย่างซึ่ง  $O_2^{\cdot -}$  ผลิตมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ phenazinemethosuphate (PMS) nicotinamineadenine dinucleotide (NADH) อนุมูล  $O_2^{\cdot -}$  ที่เกิดขึ้น ทำปฏิกิริยากับสาร nitrobluetetrazolium (NBT) ซึ่งมีสีเหลือง โดยมีโครงสร้างทางเคมี (ภาพที่ 2.22)



ภาพที่ 2.22 โครงสร้าง nitrobluetetrazolium (NBT)

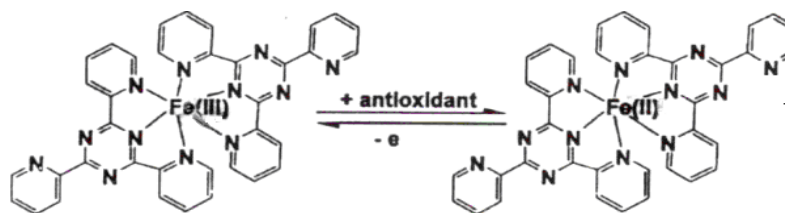
ที่มา: โอภา และคณะ (2549)

ปฏิกิริยาระหว่าง  $O_2^{\cdot -}$  กับสาร NBT ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร diformazan (DF) ที่มีสีน้ำเงิน และสามารถวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 560 nm. จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{A560 control} - \text{A560 test sample}) \times 100}{\text{A560 control}}$$

2.7.5.7 Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อนคือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine ( $Fe^{3+}$ -TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine ( $Fe^{2+}$ -TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน

วิธี FRAP สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่า absorbance ที่ 595 nm. จากนั้นศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ferrous sulfate แล้วรายงานเป็นค่า FRAP value ข้อดีของวิธีนี้ก็คือเสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวกรวดเร็วมีขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยากซับซ้อนและมี reproducibility ดี



ภาพที่ 2.23 ปฏิกริยาของ FRAP assay

ที่มา: โอภา และคณะ (2549)

อรดา และคณะ (2550) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในเมล็ดข้าวที่กำลังงอก 6 พันธุ์ โดยแช่เมล็ดในน้ำนาน 24 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเป็นต้นกล้าซึ่งใช้เวลาทั้งหมด 7 วัน จากนั้นนำต้นกล้าแต่ละอายุมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าต้นกล้าข้าว พันธุ์ข้าวเหนียวดำไร่ มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือ ข้าวเหนียวดำเชียงแสน ข้าวเหนียวดำนา ข้าวเจ้า กข 15 ข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 ตามลำดับ โดยมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ และเพิ่มสูงสุดวันที่ 7 ของการงอก สอดคล้องกับการมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ และเพิ่มสูงสุดวันที่ 7 เช่นเดียวกัน เชื่อว่ากิจกรรมต้านออกซิเดชันของต้นกล้าข้าวเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิก

กัมปนาท และคณะ (2551) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันระหว่างการงอกของเมล็ดถั่วเหลือง พบว่าเมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 2 เชียงใหม่ 60 และ สจ.5 จำนวน 200 กรัมแช่น้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และผ่านการงอกที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นทำการวัดกิจกรรมต้านออกซิเดชันส่วนต่างๆของถั่วเหลือง ได้แก่ ใบเลี้ยง (cotyledon) ไฮโปคอติล (hypocotyl) และทั้งต้น (whole seedling) ทุก 12 ชั่วโมง ด้วยสาร DPPH radical scavenging พบว่าชั่วโมงการงอกที่ 24 ชั่วโมง ถั่วเหลืองทั้ง 3 สายพันธุ์ มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของใบเลี้ยงทั้งต้น และไฮโปคอติล สูงที่สุด ไฮโปคอติลมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด โดยถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 2 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมากที่สุด รองลงมาคือ ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 และพันธุ์ ส.จ.5 แต่หลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่ามีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของถั่วเหลืองทุกสายพันธุ์ลดลงตามลำดับ

Jeong *et al.* (2004) ศึกษาผลของความร้อนต่อกิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกส้มพันธุ์ Satsumas โดยนำเปลือกมาอบด้วยความร้อน 50, 100 และ 150°C เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที ทำการวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ reducing power รวมทั้ง

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกผลที่อบ พบว่าการอบด้วยความร้อนอุณหภูมิ 150°ซ นาน 60 นาที มีผลเพิ่มกิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด โดยเพิ่มสูงเป็น 2 และ 3 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เชื่อว่าความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับเกาะอยู่บริเวณ membrane หลุดออกมาเป็นสารประกอบฟีนอลิกอิสระเพิ่มมากขึ้น โดยไม่ทำให้โครงสร้างหรือพันธะภายในโมเลกุลเสียหาย จึงทำให้มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้น

Lin และ Lai (2006) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในต้นกล้าถั่วเหลืองจำนวน 13 พันธุ์ของประเทศไต้หวัน โดยนำต้นกล้าอายุ 4 วันหลังการงอกมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี reducing power และ DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ TN3 มีกิจกรรมต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด และความสัมพันธ์ของกิจกรรมต้านออกซิเดชันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของต้นกล้าถั่วเหลืองทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.6885 และ 0.9414 ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่ากิจกรรมต้านออกซิเดชันที่มีค่าสูงนั้นอาจเกิดจากทั้งสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

Lopez-Amoros *et al.* (2006) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดถั่วที่กำลังงอก 3 ชนิด คือถั่วแขกพันธุ์ La Granja ถั่วเลนทิลพันธุ์ Castellana และถั่วลันเตาพันธุ์ Elsa โดยแช่เมล็ดในน้ำนาน 6 ชั่วโมงก่อนการเพาะให้เป็นต้นกล้าซึ่ง ใช้เวลาทั้งหมด 6 วัน นำต้นกล้าของถั่วแต่ละชนิดมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าต้นกล้าถั่วลันเตามีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมา คือ ถั่วเลนทิล และถั่วแขก ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงสุดในวันที่ 6 ของการงอก สอดคล้องกับการมีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกชนิด p-hydroxybenzoic acid และ p-hydroxybenzoic aldehyde เพิ่มขึ้นสูงสุดในถั่วทั้ง 3 ชนิด คาดว่า การมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันที่สูงเป็นผลจาก สารประกอบฟีนอลิกทั้ง 2 ชนิดซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ

Horii *et al.* (2007) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในเมล็ดพืชที่กำลังงอก 3 ชนิด คือ ข้าวโพด มะเขือเทศ และถั่วเหลือง โดยแช่เมล็ดในน้ำนาน 24 ชั่วโมง ก่อนการเพาะให้เป็นต้นกล้าซึ่งใช้เวลาทั้งหมด 12 วัน นำต้นกล้าของพืชแต่ละชนิดมาวิเคราะห์ กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าต้นกล้าข้าวโพดมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมา คือ มะเขือเทศ และถั่วเหลือง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงสุดในวันที่ 6 ของการงอก สอดคล้องกับการมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงสุดในพีชทั้ง 3 ชนิด คาดว่าการมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันที่สูงเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ

Arranz *et al.* (2008) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในเมล็ดถั่ว 5 ชนิด ได้แก่ walnut, almond, hazelnut, peanut และ pistachio โดยนำเมล็ดมาสกัดน้ำมัน แล้ววิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิตามินอี พบว่าน้ำมันจากเมล็ดถั่ว pistachio มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมา คือ walnut, hazelnut, almond และ peanut ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันทั้ง 2 ชนิด พบว่าปริมาณวิตามินอีเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์สูงกับกิจกรรมต้านออกซิเดชันในเมล็ดถั่วทั้ง 5 ชนิด

Randhir *et al.* (2008) ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในเมล็ดพืชที่กำลังงอก 4 ชนิด คือ บัควีท ข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวโอ๊ต โดยแช่เมล็ดในน้ำนาน 24 ชั่วโมง ก่อนการเพาะให้เป็นต้นกล้าซึ่งใช้เวลาทั้งหมด 10 วัน นำต้นกล้าของพืชแต่ละชนิดมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าต้นกล้าข้าวสาลีมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันสูงสุดรองลงมา คือ บัควีท ข้าวโอ๊ต และข้าวโพด ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงสุดในวันที่ 2 ของการงอกสอดคล้องกับการมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดในพีชทั้ง 4 ชนิด คาดว่าการมีกิจกรรมต้านออกซิเดชันที่สูงเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ

## 2.8 กระบวนการแปรรูปโดยการใช้ความร้อน

การใช้ความร้อนในการแปรรูปอาหารช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น เนื่องจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ (denature) จึงมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ นอกจากความร้อนสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้แล้ว ความร้อนยังทำลายสารอาหารหลายชนิด เช่น วิตามิน สารให้กลิ่น รส และสี เป็นต้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทราบถึงอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด เพื่อหลีกเลี่ยงการให้ความร้อนที่มากเกินไป (over processing) ซึ่งจะทำลายคุณค่าทางอาหารและลักษณะทางประสาทสัมผัส หรือการให้ความร้อนที่น้อยเกินไป (under processing) ซึ่งจะทำให้การฆ่าเชื้อไม่สมบูรณ์ การให้ความร้อนแก่อาหารสามารถทำได้ 2 ระดับ คือ ระดับพาสเจอร์ไรส์ และสเตอริไลส์

ความร้อนเป็นพลังงานที่สามารถผ่านเข้าออกจากวัตถุ เมื่อมีความแตกต่างของอุณหภูมิของวัตถุกับสิ่งแวดล้อม โดยจะเคลื่อนที่จากที่มีอุณหภูมิสูงไปสู่ที่มีอุณหภูมิต่ำ

การให้ความร้อนแก่อาหาร สามารถทำได้ 2 ลักษณะ คือ

1. การให้ความร้อนโดยตรง คือ การให้ความร้อนสัมผัสกับอาหารโดยตรง รวมทั้งการสัมผัสอาหารกับสารที่เกิดจากการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงด้วย เช่น การปิ้ง การย่าง และการรมควัน วิธีนี้อาจทำให้เกิดการสะสมของสารอาหารต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการเผาไหม้

2. การให้ความร้อนโดยอ้อม คือ การให้ความร้อนแก่อาหาร โดยความร้อนไม่ได้สัมผัสกับเชื้อเพลิงที่กำลังเผาไหม้โดยตรง เช่น การให้ความร้อนไอน้ำร้อนเป็นตัวกลางในการแลกเปลี่ยนความร้อน การแผ่รังสีของโลหะที่ได้รับความร้อน เป็นต้น

#### 2.8.1 การพาสเจอร์ไรส์ (Pasteurization)

การพาสเจอร์ไรส์เป็นกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 °C วัตถุประสงค์เพื่อการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค จุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน และเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการน้อยที่สุด การพาสเจอร์ไรส์เป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ แต่ไม่ใช่ทั้งหมดในอาหาร ดังนั้นอาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วต้องผ่านกระบวนการเก็บรักษาในสภาวะที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ การบรรจุภายใต้สภาวะก๊าซ เป็นต้น

##### 2.8.1.1 ระบบในการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์

การให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์สามารถทำได้ 2 ระบบ คือ

2.8.1.2 ระบบอุณหภูมิต่ำเวลานาน (low temperature long time; LTLT) เป็นระบบที่ใช้อุณหภูมิไม่สูง แต่ใช้เวลาในการให้ความร้อนนาน เช่น อุณหภูมิ 60-65 °C นาน 30 นาที ซึ่งอาจส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ

2.8.1.2.1 ระบบสูงเวลาสั้น (high temperature short time; HTST) เป็นระบบที่ใช้อุณหภูมิไม่สูง แต่ใช้เวลาในการให้ความร้อนสั้น เช่น อุณหภูมิ 70 °C นาน 15-16 วินาที เพื่อคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์

การใช้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิและเวลาเท่าใด ขึ้นอยู่กับชนิดอาหารโดยเฉพาะค่า pH อาหารที่มีค่า pH ต่ำมักใช้อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนต่ำกว่าอาหารที่มี pH สูง ในขณะเดียวกันในผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งสามารถใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ทั้งอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน

#### ผลกระทบต่ออาหาร

การพาสเจอร์ไรส์เป็นกระบวนการที่ไม่ค่อยรุนแรงถึงแม้จะทำงานร่วมกับกระบวนการอื่นๆ เช่น การฉายรังสีและการแช่เย็น การพาสเจอร์ไรส์จึงทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านโภชนาการ และประสาทสัมผัสของอาหารน้อยมาก อย่างไรก็ตามวิธีนี้จะสามารถยืดอายุของ

ผลิตภัณฑ์ออกไปได้หลายวัน หรือหลายอาทิตย์เท่านั้น ในขณะที่การสเตอริไลซ์ซึ่งเป็นการให้ความร้อนที่ค่อนข้างรุนแรงจะสามารถยืดอายุการเก็บอาหารได้หลายเดือนหรือนานถึง 2 ปี

### สี กลิ่นและรส

โพลิฟีนอลออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้สีของน้ำผลไม้เกิดการเปลี่ยนแปลง ออกซิเจนเป็นตัวเร่งการเกิดสีน้ำตาล โดยทั่วไปจึงต้องกำจัดอากาศในน้ำผลไม้ก่อนจะเข้าสู่กระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ส่วนการที่นมพาสเจอร์ไรซ์ขาวกว่านมดิบไม่ใช่เพราะการพาสเจอร์ไรซ์แต่เป็นการโฮโมจิไนเซชัน การพาสเจอร์ไรส์ไม่มีผลต่อสีในพืชและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ ด้วย การสูญเสียกลิ่นเล็กน้อยในระหว่างกระบวนการพาสเจอร์ไรส์น้ำผลไม้ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลงและอาจกลบกลิ่นที่เกิดขึ้นระหว่างการให้ความร้อนอาหารได้ สามารถเก็บเกี่ยวสารหอมระเหยเพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของน้ำผลไม้ให้ดีขึ้นแต่ยังไม่เป็นวิธีที่นิยมใช้ การสูญเสียสารหอมระเหยของนมดิบช่วยลดกลิ่นหยาบ และทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสนุ่มนวลขึ้น

### การสูญเสียวิตามิน

การกำจัดอากาศออกจะสามารถลดการสูญเสียวิตามินซีและคาโรทีนในน้ำผลไม้ได้ สำหรับการเปลี่ยนแปลงของนมพาสเจอร์ไรส์ได้แก่ การสูญเสียโปรตีนเซรุ่มร้อยละ 5 และวิตามินเกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

## 2.8.2 การสเตอริไรส์

การสเตอริไรส์ หมายถึง กระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 °ซ ภายใต้ความดัน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมด หรือทำให้ปลอดเชื้อ ซึ่งความร้อนที่ใช้มักใช้ความร้อนเปียก (wet heat) โดยมีไอน้ำหรือตัวกลางให้ความร้อน อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่รุนแรงในระดับสเตอริไรส์ที่ปลอดเชื่อนั้น ทำให้เกิดความเสียหายต่อคุณภาพด้านโภชนาการและประสาทสัมผัสของอาหารอย่างมาก ดังนั้นในทางปฏิบัติจึงมีการใช้ความร้อนระดับสเตอริไรส์ในเชิงการค้า (commercial-sterilization) ซึ่งหมายถึงการให้ความร้อนเพื่อทำอาหารปราศจากเชื้อโรคที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเชื้อจุลินทรีย์หรือสปอร์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง นั่นคืออาหารที่ผ่านการให้ความร้อนระดับสเตอริไรส์ในเชิงการค้า อาจมีเชื้อจุลินทรีย์ อาจมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นอันตรายซึ่งทนความร้อนหลงเหลืออยู่บ้าง แต่มันไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะแวดล้อมที่อุณหภูมิปกติได้ จึงยังคงรักษาคูณค่าของลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคได้

การให้ความร้อนระดับสเตอริไรส์สามารถแบ่งได้ 2 ระบบ เช่นเดียวกับการพาสเจอร์ไรส์ ดังนี้

2.8.2.1 การฆ่าเชื้ออาหารกระป๋องประเภทมีความเป็นกรดต่ำ (low acid canned food) โดยการใช้อุณหภูมิสูงกว่า 100°ซ เป็นเวลานาน

2.8.2.2 การใช้กรรมวิธียูเอชที (ultra-heat หรือ ultra high temperature sterilization; UHT) เป็นกรรมวิธีที่ใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้นมาก นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์นมบรรจุกล่อง โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 135 °ซ เป็นเวลา 2-5 นาที แล้วลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว แล้วบรรจุแบบปลอดเชื้อ ผลิตภัณฑ์สามารถเก็บได้นานที่อุณหภูมิห้อง

#### ผลกระทบต่ออาหาร

วัตถุประสงค์ของการสเตอริไลซ์คือ การยืดอายุของผลิตภัณฑ์และลดการเปลี่ยนแปลงด้านโภชนาการและคุณภาพการบริโภค มีการใช้ความแตกต่างระหว่างค่า D และค่า Z ของเอนไซม์รวมถึงองค์ประกอบด้านโภชนาการและคุณภาพทางประสาทสัมผัสเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการเพื่อคงคุณภาพด้านโภชนาการและประสาทสัมผัสให้มากที่สุด การสเตอริไลซ์เปรียบเทียบกับกระบวนการ UHT

#### สี

การสเตอริไลซ์มีผลต่อรงควัตถุในอาหารมาก เช่น ออกซิโมโนโกลบิน ซึ่งมีสีแดงในเนื้อสัตว์และเปลี่ยนเป็นเมโทโมโนโกลบิน ซึ่งมีสีน้ำตาลลดลง ปฏิกริยาเมลลาร์ดและการเกิดสีน้ำตาลคาราเมลก็จะทำให้น้ำตาลผ่านการสเตอริไลซ์เปลี่ยนสีได้ แต่การเปลี่ยนแปลงสีในเนื้อยังเป็นที่ยอมรับได้ สำหรับผักและผลไม้ คลอโรฟิลล์จะเปลี่ยนเป็นฟีโอไฟทิน คาร์โรทีนอยด์จะเปลี่ยนจาก 5,6-อีพอกไซด์ 5,8-อีพอกไซด์ ซึ่งจะทำให้สีอ่อนกว่า และแอนโทไซยานินจะกลายเป็นรงควัตถุสีน้ำตาล

#### กลิ่นรส

การเปลี่ยนแปลงเกิดจากปฏิกริยาไฟโรไลซิส การขจัดหมู่أمينหรือหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโน ปฏิกริยาน้ำตาลหรือปฏิกริยาการเกิดคาราเมลของคาร์โบไฮเดรตไปเป็นเฟอเฟอรอล ไฮโดรออกซีเมทิลเฟอเฟอรอล ปฏิกริยาการออกซิเดชันและปฏิกริยาการกำจัดหมู่คาร์บอกซิลของไขมัน ทำปฏิกริยากันทำให้เกิดสารประกอบที่มีกลิ่นมากกว่า 600 ชนิด ความเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นในผักและผลไม้เกิดปฏิกริยาที่ซับซ้อนของการสลายตัวและการกลับมารวมตัวกันใหม่กลายเป็นไอของแอลดีไฮด์ คีโตน น้ำตาลแลคโตน กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์

#### ลักษณะเนื้อสัมผัสและความหนืด

เกิดจากการจับตัวกันและการสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนทำให้กล้ามเนื้อหดตัวและแข็งขึ้น ปฏิกริยาไฮโดรไลซิสของคอลลาเจน กลายเป็นเจลาตินรวมทั้งการละลายและการกระจายของไขมันที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ทำให้น้ำมันขึ้น ในบางผลิตภัณฑ์จะมีการเติมโพลิฟอสเฟตเพื่อให้เกิดการจับตัวกับน้ำทำให้การอุ้มน้ำดีขึ้น ผลิตภัณฑ์จึงนุ่มนวลขึ้น และลดการหดตัว ผักผลไม้เน่าเกิดจากปฏิกริยาไฮโดรไลซิสของแพคติน การเกิดเจลของแป้งและการละลายของเอมิเชลลูโลส ทำให้เซลล์สูญเสียความเต่ง การเปลี่ยนแปลงความหนืดเพียงเล็กน้อยของนม เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเคซีนทำผลิตภัณฑ์มีความไวต่อการตกตะกอนด้วยแคลเซียม

### คุณค่าทางโภชนาการ

ในผลิตภัณฑ์เนื้อเทียมเมื่อผ่านการสเตอริไรส์จะเกิดการเสื่อมเสียไทอะมิน และ ไพร่ ต็อกซีน การสูญเสียแร่ธาตุและวิตามินในนมที่ผ่านกระบวนการปลอดเชื้อต่ำมากในระดับตรวจสอบไม่พบและไม่มีผลต่อไขมันและไม่มีผลต่อไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเกลือแร่ วิตามิน ไโรโบฟลาวิน กรดแพนโทเทนิค ไบโอติน กรดนิโคตินิก และวิตามินบี 6

Azizah และ Zainon (1997) ได้ศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปต่อปริมาณใยอาหาร คือ TDF (total dietary fiber), SDF (soluble dietary fiber) และ IDF (insoluble dietary fiber) ในพืช ตระกูลถั่ว และธัญพืช พบว่ากระบวนการให้ความร้อนให้ผลที่แตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนของปริมาณ ใยอาหาร โดยปริมาณของ IDF มีปริมาณเปลี่ยนแปลง ส่วน TDF และ SDF ยังเกือบเหมือนเดิม ในกลุ่มตัวอย่างที่มีโปรตีนสูงทั้ง SDF และ IDF มีปริมาณเพิ่มขึ้น

Inns *et al.* (2007) ศึกษาผลของความร้อนต่อกิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่กำลังงอก โดยนำเมล็ดมาเพาะให้งอกเป็นต้นกล้า อายุ 5 วัน จากนั้นนำต้นกล้านี้ไปเลี้ยงในตูบความร้อนโดยปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุกๆ 30 นาที เริ่มตั้งแต่ 25, 70, 80, 85, 90, 100, 105, 110, 115 และ 120 °ซ ตามลำดับ แล้วนำต้นกล้าแต่ละระดับความร้อน มาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABST และ FRAP รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าต้นกล้าที่ระดับอุณหภูมิ 110°ซ มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นสูงสุดและสูงประมาณ 5 เท่า เมื่อเทียบกับอุณหภูมิเริ่มต้นคือ 25°ซ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นสูงสุดที่อุณหภูมิ 110°ซ เช่นกัน ซึ่งชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มสูงได้แก่ ferulic acid, p-coumaric acid และ vanillic acid เชื่อว่าความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่เกาะกับเอนไซม์บริเวณ membrane หลุด ออกมาสู่ cytosol ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นและมีผลเพิ่มกิจกรรมต้านออกซิเดชันด้วย

Mubarak (2005) ศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปได้แก่ การกะเทาะเปลือก การแช่ การงอก และการหุงต้มถั่ว โดยการต้ม (boiling) อุณหภูมิ 100°ซ นาน 90 นาที การใช้หม้อความดัน (autoclaving) ใช้ความดัน 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121°ซ นาน 35 นาที และใช้ไมโครเวฟ (Microwave-cooking) ที่ความถี่ 2450 MHz ระดับกำลังวัตต์สูงสุด นาน 15 นาทีโดยทั้ง 3 วิธีใช้อัตราส่วนของถั่ว ต่อ น้ำ 1:10 (w/v) ต่อปริมาณสารอาหาร (nutrient contents) และสารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการ (anti-nutritional factors ) พบว่าการงอกและการหุงต้มทำให้ปริมาณไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ สารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการ ลดลง และในทุกขั้นตอนของกระบวนการทำให้ ไลซีน (lycine) ทริปโตเฟน (tryptophan) และ ทรีโอนิน (threonine) ลดลง การต้ม โดยการใช้หม้อความดันและการใช้ ไมโครเวฟ มีผลต่อองค์ประกอบของสารอาหารและสารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียว กระบวนการให้ความร้อนแก่ถั่วทั้ง 3 วิธี ทำให้ปริมาณสารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการลดลง คือ trypsin inhibitor activity, tannins และ hemagglutinin activity และพบว่าการงอกมีผลในการลดปริมาณ

กรดไฟติก ปริมาณ stachyose และ raffinose ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน พบว่าเมื่อถั่วที่ผ่านการงอกนำมาผ่านกระบวนการแปรรูปจะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนและการดูดซึมดีขึ้น อย่างไรก็ตามการหุงต้มโดยการต้มถั่ว ในน้ำ (boiling) ที่ต้องใช้เวลานานจะทำให้ปริมาณโฟเลตในถั่ว chickpeas ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหุงต้มโดยใช้หม้อความดัน (pressure cooking) ซึ่งใช้เวลาสั้นกว่า

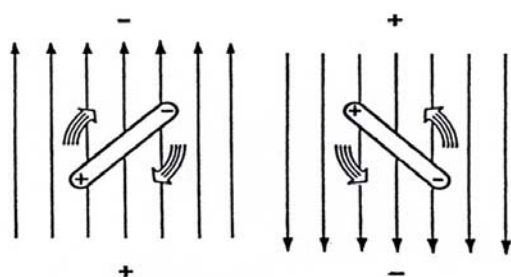
### 2.8.3 ไมโครเวฟ

การใช้ไมโครเวฟในการแปรรูปอาหารเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องในอุตสาหกรรมอาหารสามารถนำไมโครเวฟมาใช้ในกระบวนการต่างๆ ได้หลายกระบวนการได้แก่การลวก (blanching) การทำให้สุก (cooking) การทำให้แห้ง (drying) การพาสเจอร์ไรส์ (pasteurizing) การสเตอริไลส์ (sterilizing) การละลายน้ำแข็ง (thawing) การอบ (baking) รวมทั้งกระบวนการอื่นๆ เช่น การควบคุมจุลินทรีย์ การยับยั้งเอนไซม์ และการควบคุมแมลง เป็นต้น (Rosenberg and Boegl, 1987) และในปัจจุบันนี้เนื่องจากกระแสความต้องการของผู้บริโภคทางด้านอาหารได้มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมโดยผู้บริโภคต้องการอาหารที่มีคุณภาพที่ใกล้เคียงกับของสด มีคุณภาพสูง มีความสะดวกสบายในการเตรียม อีกทั้งมีอายุการเก็บรักษาอย่างเพียงพอ โดยเฉพาะอาหารที่ปรุงสุกได้อย่างรวดเร็ว (quick cooking dishes) ที่ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นในสังคมปัจจุบันจึงทำให้มีการศึกษาการใช้ไมโครเวฟเพื่อดัดแปลงและปรับปรุงกระบวนการแปรรูปอาหาร โดยเฉพาะในการให้ความร้อน และได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการแปรรูปอาหารชนิดต่างๆ เช่น อาหารแปรรูปขั้นต้น (minimally processed foods) ทั้งนี้เนื่องจากไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อนขึ้นอย่างรวดเร็วและเป็นผลให้เกิดการสูญเสียคุณภาพด้านต่างๆ เช่น กลิ่นรสสี และเนื้อสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการน้อยกว่าการให้ความร้อนแบบดั้งเดิม

ไมโครเวฟ เป็นพลังงานที่เกิดจากการแผ่ของแถบคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง ไมโครเวฟที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 1 มิลลิเมตรถึง 1 เมตร มีความถี่ของคลื่นอยู่ระหว่าง 300 เมกะเฮิร์ต ถึง 300 กิกะเฮิร์ต โดยช่วงความถี่คลื่นไมโครเวฟที่นำมาใช้งานทางอุตสาหกรรม และการวิจัยนั้นอยู่ระหว่าง 915-2450 เมกะเฮิร์ต (วิล, 2543) คลื่นไมโครเวฟจะมีลักษณะเหมือนลำแสงเส้นตรงที่มีคุณสมบัติสะท้อนกลับ (reflection) เมื่อไปกระทบกับภาชนะที่เป็นโลหะหรือมีส่วนผสมของโลหะ คลื่นไมโครเวฟสามารถทะลุผ่าน (transmission) ภาชนะที่ทำด้วยแก้ว กระดาษไม้ และพลาสติก ส่วนประกอบที่มีไขมัน เช่น น้ำ สามารถดูดซับ (absorption) คลื่นไมโครเวฟไว้ได้ (Decareau, 1992)

การให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเกิดจากการเปลี่ยนรูปของพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นพลังงานความร้อนโดยไมโครเวฟทำให้เกิดการเคลื่อนของไอออนในสารละลายและการเสียดสีกันของไอออนที่เคลื่อนที่ ทำให้เกิดความร้อนขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้สารประกอบที่มีไขมัน เช่น น้ำ เกิดการเรียงตัวของประจุบวก และลบอย่างเป็นระเบียบ พร้อมกับการเกิดการหมุนตัวกลับไปกลับมาอย่างรวดเร็วตาม

ระดับความถี่ของคลื่นไมโครเวฟ คือ 915-2450 ล้านครั้งต่อ 1 วินาที เกิดการเสียดสีกันของโมเลกุลของน้ำ ทำให้เกิดความร้อนขึ้น (Decareau, 1992) ดังภาพที่ 2.24



ภาพที่ 2.24 การหมุนตัวของสารประกอบที่มีประจุเนื่องจากไมโครเวฟ  
ที่มา: Decareau (1992)

### 2.8.3.1 กลไกการเกิดความร้อนเนื่องจากไมโครเวฟ

จากการที่วัตถุดูดซับพลังงานไมโครเวฟเนื่องจากการมีคุณสมบัติไดอิเล็กทริกทำให้เกิดพลังงานความร้อนขึ้นภายในวัตถุการเกิดความร้อนภายในวัตถุที่สัมผัสกับคลื่นไมโครเวฟนั้นมีสาเหตุมาจากกลไก 2 ประการได้แก่การเคลื่อนที่ของไอออน เมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้าและการหมุนของสารประกอบที่มีขั้ว

2.8.3.1.1 การเคลื่อนที่ของไอออนเมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้า (ionic polarization) ภายในเตาไมโครเวฟ (microwave oven) มีอุปกรณ์ที่เรียกว่า แมกนีตรอน (magnetron) ที่ทำหน้าที่สร้างสนามไฟฟ้ากระแสสลับซึ่งสนามไฟฟ้าจะถูกสร้างออกมาในลักษณะ 3 ทิศทางคือบนสู่ล่างข้างสู่ข้างและหน้าสู่หลังเมื่อนำภาชนะที่มีประจุในอาหารสัมผัสกับคลื่นไมโครเวฟจะทำให้เกิดการสั่นและเคลื่อนที่ซึ่งเกิดการชน (collisions) หรือเสียดสีกับอนุภาคที่อยู่ข้างเคียงเป็นผลให้เกิดความร้อนขึ้นในอาหารนั้นซึ่งโดยทั่วไปในอาหารจะมีองค์ประกอบที่ซับซ้อนมีปริมาณน้ำและเกลือที่ละลายได้แตกต่างกัน เช่น โซเดียม โพตัสเซียม หรือแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้จะแตกตัวให้อิออนบวก (cations) และอิออนลบ (anions) ดังนั้นอนุภาคที่มีประจุจึงสามารถที่จะมีอันตรกิริยา (interactions) กับสนามไฟฟ้าใดๆ รวมทั้งสนามไฟฟ้าที่ถูกสร้างขึ้นในเตาไมโครเวฟเช่นเดียวกัน

2.8.3.1.2 การหมุนของสารประกอบที่มีขั้ว (dipole rotation) ในอาหารประกอบด้วยน้ำที่มีปริมาณแตกต่างกันน้ำเป็นโมเลกุลมีขั้ว (polar molecule) ซึ่งในสภาพปกติจะเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ (random oriented) เมื่อผ่านสนามไฟฟ้ากระแสสลับเข้าไปประจุบวกและลบในโมเลกุลจะหมุนตัวเพื่อเปลี่ยนทิศทางตามทิศของสนามไฟฟ้าสลับนั้นๆ โดยการหมุนตัวกลับไปมาจะเกิดอย่างรวดเร็วตามความถี่ของไมโครเวฟ คือ 915 หรือ 2,450 พันล้านครั้งต่อวินาที ทำให้เกิดความร้อนขึ้นและกระจายไปยัง

โมเลกุลข้างเคียงเนื่องมาจากการชนระหว่างโมเลกุลของน้ำในอาหารแสดงดังภาพที่ 4 ในส่วนของโมเลกุลที่อยู่ในสถานะของแข็ง เช่น น้ำแข็งนั้นโมเลกุลของน้ำจะถูกยึดติดกับโครงสร้างที่มีลักษณะเฉพาะของผลึกและไม่หมุนตัวเองมากพอที่จะชนกับโมเลกุลอื่นๆ ที่อยู่ข้างเคียงเพื่อทำให้เกิดความร้อนขึ้นได้ และในส่วนของโมเลกุลที่อยู่ในสถานะแก๊สหรือไอจะมีโมเลกุลข้างเคียงจำนวนน้อยมากที่จะชนกันจนทำให้เกิดความร้อนขึ้นได้เช่นเดียวกันโดยอันตรกิริยาชนิดนี้มีความสำคัญที่สุดในอาหารยกเว้นในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงมาก เช่น แสม เป็นต้น

การเกิดความร้อนในอาหารบริเวณจุดที่สัมผัสกับไมโครเวฟเนื่องจากกลไกทั้งสองแบบดังที่กล่าว มาแล้วนั้นความร้อนจะกระจายออกไปยังส่วนอื่นๆ เนื่องจากผลของการเดือดของน้ำโดยการนำความร้อนและเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องซึ่งทำให้เกิดความร้อนขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับวิธีการให้ความร้อนแบบดั้งเดิม (วิลโล, 2543)

Randhir และ Shetty (2004) ศึกษาผลของความร้อนจากไมโครเวฟต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันในเมล็ดถั่วปากอ้าที่กำลังงอก โดยนำเมล็ดมาให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลานาน 0, 15, 30, 45 และ 60 วินาที ก่อนนำไปแช่น้ำนาน 24 ชั่วโมงแล้วนำไปเพาะให้งอกเป็นต้นกล้าโดยใช้เวลาทั้งหมด 8 วัน นำต้นกล้าแต่ละชุดที่ได้รับความร้อนมาวิเคราะห์กิจกรรมต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH radical scavenging activity กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกชนิด L-DOPA พบว่าการให้ความร้อนเป็นเวลา 30 วินาที ก่อนการเพาะมีผลเพิ่มกิจกรรมต้านออกซิเดชัน กิจกรรมของเอนไซม์ SOD และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ชนิด L-DOPA ประมาณ 1.5 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในวันที่ 1 ของการออกสัณนิฐานว่าความร้อนทำให้เกิดความเครียด (stress) และชักนำให้เมล็ดมีการสังเคราะห์สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มเอนไซม์ออกมาเพื่อป้องกันอันตรายเซลล์จากความร้อนรวมทั้งความร้อนมีผลสลายพันธะของสารประกอบฟีนอลิกที่จับเกาะบริเวณ membrane ให้หลุดออกมา และถูกนำไปสังเคราะห์เป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดใหม่ เช่น L-DOPA เพื่อช่วยในการต้านออกซิเดชันนั่นเอง