อิทธิพลของกระบวนการงอกและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันต่อคุณภาพของถั่วเหลืองเริ่มงอก

สำนักหอสมุดกลาง

โดย

นางสาวพอฤทัย ช้างบุญมี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

อิทธิพลของกระบวนการงอกและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันต่อ คุณภาพของถั่วเหลืองเริ่มงอก

สำนักหอสมุดกลาง

โดย

นางสาวพอฤทัย ช้างบุญมี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2556

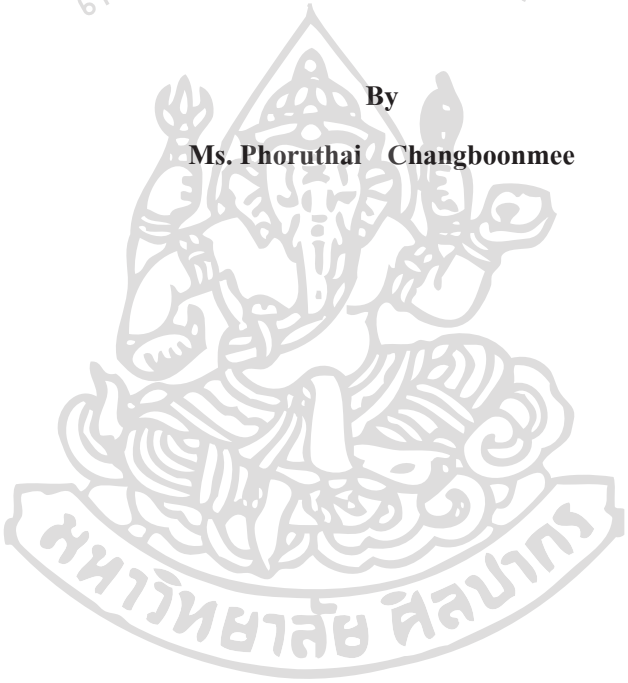
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

EFFECT OF GERMINATION AND DRYING USING FLUIDIZATION TECHIQUE ON THE QUALITY OF GERMINATED SOYBEAN.

สำนักหอสมุดกลาง

By

Ms. Phoruthai Changboonmee



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in Biotechnology

Department of Biotechnology

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2013

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง " อิทธิพลของกระบวนการงอกและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันต่อคุณภาพของถั่วเหลืองเริ่มงอก " เสนอโดย นางสาวพอฤทัย ช้างบุญมี เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

……..

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ
3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเชษฐ์ สมุหเสนีโต)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ดร.กิตติศักดิ์ วิธินันทกิตต์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ)

...../...../.....

สำนักหอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยศิลปากร

53401201 : สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คำสำคัญ : ถั่วเหลืองเริ่มงอก/การคั่ว/การอบแห้ง/สารต้านอนุมูลอิสระ

พอฤทัย ช้างบุญมี : อิทธิพลของกระบวนการงอกและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันต่อคุณภาพของถั่วเหลืองเริ่มงอก. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์ , ผศ.ดร.ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ และ ผศ.ดร.ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ. 84 หน้า.

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เมื่อถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกคุณค่าทางโภชนาการมีปริมาณสูงขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้ศึกษาผลของ กระบวนการงอก การคั่ว และ การอบแห้งถั่วเหลืองเริ่มงอกส่งผลต่อคุณภาพทางเคมีของถั่วเหลือง โดยถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที คั่วที่เวลา 6–8 นาที จากการทดลองพบว่าเมื่อเวลาการคั่วเพิ่มขึ้น ปริมาณ isoflavones ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด FRAP value %inhibition DPPH˙ มีค่าสูงขึ้นที่เวลาคั่ว 8 นาที มีปริมาณสารสูงที่สุด ในขณะที่เอนไซม์ยูรีเอสมีค่าลดลงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ส่วนปริมาณโปรตีนมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง และจากผลการทดลองการอบแห้งถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที ที่อุณหภูมิอากาศร้อน 100-140 องศาเซลเซียส ได้ความชื้นหลังการอบแห้งประมาณ 19-21% db. พบว่าปริมาณ isoflavones ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด FRAP value %inhibition DPPH˙ มีค่าไม่แตกต่างกันทุกอุณหภูมิการอบแห้ง และเมื่อเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงพบว่ามีค่าเพิ่มมากขึ้น เอนไซม์ยูรีเอสมีค่าลดลงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ปริมาณโปรตีนมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างอ้างอิง แสดงให้เห็นว่ากระบวนการงอก เวลาและ อุณหภูมิของการคั่ว และการอบแห้ง ส่งผลต่อคุณภาพทางเคมีและสามารถลดสารขัดขวางทางโภชนาการของถั่วเหลืองได้

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2556
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. ..... 2. ..... 3. .....

53401201 : MAJOR : BIOTECHNOLOGY
KEY WORD : GERMINTED SOYBEAN/ROASTING/DRYING/ANTIOXIDANT
PHORUTHAI CHANGBOONMEE : EFFECT OF GERMINATION AND DRYING USING FLUIDIZATION TECHIQUE ON THE QUALITY OF GERMINATED SOYBEAN. THESIS ADVISORS : ASST.PROF.CHAIYONG TAECHAPAIROJ,Ph.D., ASST.PROF.PRAMOTE KHUWIJITJARU,Ph.D. AND ASST.PROF. PRASONG SIRIWONGWILAICHAT,Ph.D. 84 pp.

Soybean is a highly nutrition crop. It's nutrition value can be increased through the germination process. This research investigated the effects of germination, roasting and drying using fluidization technique on the chemical quality of soybeans. The germinated soybeans were roasted for 6, 7 and 8 minutes. The results demonstrated that as the time of roasting increased, the isoflavones content, total phenolic content, FRAP value and %inhibition DPPH$^{\cdot}$ also increased to maximum a 8 minutes of roasting. The urease activity reduced to acceptable levels after the roasting process was completed. The protein content did not change. In addition, moisture content of germinated soybeans dried with hot-air at temperature of 100-140°C reduced to 19-21% db. The results showed that isoflavones content, total phenolic content, FRAP value and % DPPH$^{\cdot}$ inhibition did not change when the germinated soybean went though different drying temperatures but they were increased when compared with raw soybeans. The urease activity reduced to acceptable levels after the drying process but protein content did not change. This research demonstrated that the germination process, time of roasting and drying temperature effected the chemical quality and could reduce the presence of anti-nutritional substances in soybean seeds.

Department of Biotechnology Graduate School, Silpakorn University
Student's signature ..... Academic Year 2013
Thesis Advisors' signature 1. ..... 2. ..... 3. .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้เนื่องด้วย ผศ.ดร.ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์ ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาที่ดีให้การทำวิจัย ตลอดจนตรวจสอบเล่มวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่มอบทุนอุดหนุนการทำวิจัย จากงบประมาณแผ่นดิน ปีการศึกษา 2555 (ครั้งที่ 2) ทำให้วิทยานิพนธ์สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ ผศ.ดร.ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ ผศ.ดร.สุเชษฐ์ สมุหเสนีโต และ อ.ดร.กิตติศักดิ์ วิธินันทกิตต์ สำหรับคำแนะนำ และตรวจสอบ แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่านที่ ได้มอบความรู้และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัยและวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณประไพ บางเชย และ คุณนุชนาฏ เลี้ยงอำนวย ที่อำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์การทางานวิจัย

และขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวช้างบุญมี สำหรับกำลังใจที่ดีที่สุดในการศึกษาเล่าเรียน และการทำงานวิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....จ
กิตติกรรมประกาศ .....ฉ
สารบัญตาราง .....ญ
สารบัญภาพ .....ฏ
บทที่
1 บทนำ 1
ที่มาและความสาคัญ 1
วัตถุประสงค์ 2
ขอบเขตของงานวิจัย.....3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4
ถั่วเหลือง.....4
ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง.....5
สารต้านอนุมูลอิสระ.....12
ประโยชน์ของถั่วเหลือง.....15
การแปรรูปถั่วเหลือง.....15
สารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการ.....17
การลดปริมาณสารต้านโภชนาการในเมล็ดถั่วเหลือง.....19
3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....25
วัตถุดิบ สารเคมีและอุปกรณ์ 25
วิธีการทดลอง.....27
การงอกถั่วเหลือง.....27
การนึ่งถั่วเหลือง.....27
การอบแห้งถั่วเหลืองด้วยเทคนิคฟลูอิดไดเซชัน.....28
การคั่วเหลือง.....28
การตรวจสอบคุณภาพถั่วเหลือง.....28
การหาความชื้นถั่วเหลือง.....28

บทที่ หน้า
การหาปริมาณโปรตีน....29
การวิเคราะห์หาปริมาณ isoflavones....29
การหาปริมาณเอนไซม์ยูรีเอส....29
การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอล....29
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay....29
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP....29
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล....30
กระบวนการงอกถั่วเหลือง....30
การเปลี่ยนแปลงความชื้นของถั่วเหลืองเริ่มงอก....30
การนึ่งถั่วเหลืองเริ่มงอก....32
Isoflavones....32
Total phenolic content (TPC)....36
Ferric reducing antioxidant power (FRAP)....36
DPPH radical scavenging activity....37
Urease Activity....38
Protein Content....39
การคั่วถั่วเหลือง....40
การเปลี่ยนแปลงความชื้นหลังการคั่ว....40
Isoflavones....41
Total phenolic content (TPC)....43
Ferric reducing antioxidant power (FRAP)....44
DPPH radical scavenging activity....44
Urease Activity....47
Protein Content....48
จลนพลศาสตร์การอบแห้ง….....50
Isoflavones....51
Total phenolic content (TPC)....52
Ferric reducing antioxidant power (FRAP)....53
DPPH radical scavenging activity....53

บทที่ หน้า

Urease Activity.....55
Protein Content.....56
5 สรุปผลการทดลอง.....57
รายการอ้างอิง.....59
ภาคผนวก 68
ภาคผนวก ก 69
ภาคผนวก ข 76
ภาคผนวก ค 79
ประวัติผู้วิจัย 84

สำนักหอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัย ศิลปากร

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในถั่วเหลือง…….....6

2 ชนิดและปริมาณของแร่ธาตุที่มีในเมล็ดถั่วเหลือง.....7

3 ปริมาณสารที่ได้จาก isoflavones ในแหล่งอาหารต่าง ๆ.....9

4 ปริมาณของ isoflavones ต่ออาหารเปริมาณ 100 g…….....10

5 ระยะเวลาการงอกของถั่วเหลืองแช่น้ำที่ชั่วโมงๆ.....32

6 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองเริ่มงอกที่ผ่านการนึ่ง.....35

7 ปริมาณ Total phenolic content , FRAP value และ % inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ…..…….....37

8 ความแตกต่างความเป็นกรดด่าง(ΔpH)ถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่างๆ.....38

9 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ.....39

10 ความชื้นถั่วเหลืองที่ผ่านการรคั่วที่เวลาต่าง ๆ.....40

11 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงที่ผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ….....42

12 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงที่ ผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ……..... 42

13 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองผ่านการนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลาต่างๆ.....43

14 ปริมาณ Total phenolic content , FRAP value และ % inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำที่ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ.....45

15 ปริมาณ Total phenolic content , FRAP value และ % inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงที่ ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ…….....46

16 ปริมาณ Total phenolic content , FRAP value และ % inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านการนึ่ง 10 นาทีที่ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ.....46

17 ค่าความแตกต่างความเป็นกรดด่าง (ΔpH) ของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ ของถั่วเหลืองผ่านการนึ่ง 10 นาทีที่ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ..... 47

18 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ..... 48

ตารางที่ หน้า

19 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมง ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ 49

20 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการนึ่ง 10 นาที ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ 49

21 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ 52

22 ปริมาณ Total phenolic content , FRAP value และ % inhibition DPPH radical ถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ…..…..... 54

23 ค่าความแตกต่างความเป็นกรดด่าง (ΔpH) ของถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้ง ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 55

24 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ 56

สำนักวิทยบริการฯ มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของเมล็ดถั่วเหลือง	5
2	โครงสร้างของ isoflavones	8
3	เครื่องคั่วกาแฟ	21
4	เครื่องอบแห้งแบบฟลูอิดไดซ์เบด	28
5	การเปลี่ยนแปลงความชื้นของถั่วเหลืองในกระบวนการแช่	30
6	การเปลี่ยนแปลงความชื้นถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำในกระบวนการงอกอากาศ	31
7	ตัวอย่าง HPLC โครมาโตแกรมของ isoflavones ในตัวอย่างถั่วเหลืองงอกอากศ 19 ชั่วโมง	34
8	การเปลี่ยนแปลงความชื้นถั่วเหลืองผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ	41
9	การเปลี่ยนแปลงความชื้นของถั่วเหลืองเริ่มงอกผ่านการนึ่งหลังอบแห้งอุณหภูมิต่าง ๆ	50

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ถั่วเหลือง (Soybean, *Glycine max* (L.) Merrill) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นวัตถุดิบหลักในอุตสาหกรรมภายในประเทศหลายชนิดทั้งที่ใช้เป็นอาหารสัตว์และใช้บริโภค โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถั่วเหลืองมีหลายชนิด เช่น เต้าเจี้ยว เต้าหู้ ซีอิ้ว น้ำเต้าหู้ นมถั่วเหลือง น้ำมันถั่วเหลือง เป็นต้น ถั่วเหลืองเป็นพืชที่ให้คุณประโยชน์ทางด้านโภชนาการสูง และยังประกอบด้วยสารที่มีผลดีต่อสุขภาพร่างกายและยังช่วยป้องกันโรคบางโรคได้ ในเมล็ดถั่วเหลืองมีโปรตีนร้อยละ 30-50 ไขมันร้อยละ 13-25 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 14-24 โดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีนในระดับสูง มีไขมันอิ่มตัวในปริมาณต่ำ ไม่มีคลอเรสเตอรอล เป็นแหล่งของกรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร (คัดนางค์ ทองสุก, 2542) โปรตีนจากถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับโปรตีนจากสัตว์ ถั่วเหลืองจึงเป็นแหล่งโปรตีน เหมาะกับคนที่ไม่บริโภคเนื้อสัตว์ การรับประทานโปรตีนจากถั่วเหลือง มีส่วนช่วย ลดระดับโคเลสเตอรอลจึงเป็นการลดโอกาสเสี่ยงของการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดอุดตัน ได้ นอกจากนี้ถั่วเหลืองมีสารเคมี ประเภท Isoflavones Phytoestrogens ซึ่งเป็นสารช่วยป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัวและ การเกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ สารในกลุ่มนี้ที่พบมากคือ เจนีสทีน (Genistein) และไดเซนอิน (Daidzein) สารกลุ่มนี้สามารถป้องกันโรคดังกล่าวได้ เพราะ สารนี้มีผลเปลี่ยนแปลงเมตาโบลิซึ่มของเอสโตรเจนรวมทั้งคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน เนื่องจาก Isoflavones มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างอ่อน ๆ จากการศึกษาของ Morabito และคณะ (2002) พบว่า genistein เป็น phytoestrogen ช่วยเพิ่มมวลกระดูก (Bone mass) ให้หนาแน่นขึ้น โดยลดการสลายกระดูกและเพิ่มการสร้างกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือน และในเมล็ดถั่วเหลืองยังมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามเมล็ดถั่วเหลืองดิบไม่สามารถนำมาใช้บริโภคหรือใช้เลี้ยงสัตว์ได้โดยตรง เนื่องจากว่าในถั่วเหลืองดิบมีสารขัดขวางทางโภชนาการอยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่น เอนไซม์ยูรีเอส สารยับยั้งทริปซิน สารฮีมแอกกลูตานิน สารซาโทนิน เป็นต้น และบางชนิด

นำมาใช้บริโภคหรือใช้เลี้ยงสัตว์ได้โดยตรง เนื่องจาก ว่าในถั่วเหลืองดิบมีสารขัดขวางทางโภชนาการอยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่น เอนไซม์ยูรีเอส สารยับยั้งทริปซิน สารฮีมแอกกลูตานิน สารซาโทนิน เป็นต้น และบางชนิดมีโทษต่อผู้บริโภค จึงต้องนำมาผ่านกระบวนการแช่และการอบแห้งด้วยความร้อน ซึ่งสามารถลดสารขัดขวางทางโภชนาการได้ การแช่เป็นการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลสารอาหารที่ร่างกายสามารถย่อยง่ายและสามารถนำไปใช้ได้ (พลังจิต, 2546) การคั่วเป็นการให้ความร้อนกับถั่วเหลืองได้โดยตรง ความร้อนจากการคั่วสามารถช่วยลดปริมาณสารขัดขวางทางโภชนาการได้และผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเมื่อผ่านการคั่วมีลักษณะที่น่ารับรับประทาน และการอบแห้งเป็นการรักษาวัตถุดิบให้อยู่ในนานยิ่งขึ้นโดยไม่เน่าเสีย วิธีที่นิยมใช้การอบแห้งถั่วเหลือง คือ ฟลูอิไดเซชัน การอบแห้งวิธีนี้เป็น ให้ความร้อนกับถั่วเหลือง ใช้ระยะเวลาสั้น การให้ความร้อนใช้เวลาเล็กน้อยช่วยให้สารอาหารที่มีในถั่วเหลืองสูญเสียไปกับความร้อนในอัตราที่ลดลง

ดังนั้นในการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการคั่วและการอบแห้งถั่วเหลืองเริ่มงอกโดยการใช้เทคนิคฟลูอิไดเซชัน แบบลมร้อน โดยจะทำการ ศึกษาปัจจัยเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งที่เหมาะสมที่ต่อคุณภาพ ของ isoflavones เอนไซม์ยูรีเอส ปริมาณโปรตีน และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน และศึกษาคุณภาพทางกายภาพต่าง ๆ เช่น ระยะเวลาการงอกของถั่วเหลืองที่ทำให้เมล็ดถั่วเหลืองเริ่มงอกมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์เพิ่มสูงขึ้น ผลการวิจัยนี้คาดว่าทำให้ทราบกระบวนการอบแห้งที่เหมาะสมที่ได้ถั่วเหลืองเริ่มงอกที่มีคุณค่าโภชนาการเพิ่มมากขึ้นโดยใช้ระยะเวลาในการอบแห้งที่ลดลง สามารถนำไปใช้ ทางอุตสาหกรรมอาหารโดยใช้เป็นส่วนผสมอาหาร เป็นทางเลือกใหม่ในการปรับปรุงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะในการงอกของถั่วเหลือง การคั่ว และการอบแห้งถั่วเหลืองเริ่มงอกด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันแบบลมร้อนต่อคุณภาพถั่วเหลืองเริ่มงอก

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1. ถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60
2. อุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ถั่วเหลือง คือ 30°C เป็นเวลา 2 ถึง 5 ชั่วโมง ตามด้วยงอกในอากาศ 15–23 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะเริ่มงอก
3. อุณหภูมิที่ใช้ในการคั่ว 200°C เวลาที่ใช้ 6-8 นาที
4. อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง 100, 120 และ 140°C ความเร็วลมที่ใช้ 2.8 m/s
4. ศึกษาคุณภาพทางเคมี

   ความชื้น

   Isoflavones

   ปริมาณโปรตีน

   เอนไซม์ยูรีเอส

   Total Phenolic Content (TPC)

   Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

   DPPH radical scavenging assay

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตของถั่วเหลืองเริ่มงอก เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง ทราบถึงปริมาณโปรตีน Isoflavones เอนไซม์ยูรีเอส สารประกอบฟีนอล และความสามารถในการต้านออกซิเดชันในถั่วเหลืองเริ่มงอกเมื่อผ่านขั้นตอนการคั่วและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบดแบบลมร้อน และยังเป็นแนวทางในปรับปรุงและการประยุกต์ใช้ ในระดับอุตสาหกรรมอาหารต่อไปได้

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัย ศิลปากร

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วเหลือง

2.1.1 ลักษณะทางวิทยาศาสตร์

ถั่วเหลืองเป็นพืชชนิดหนึ่งในตระกูลถั่ว ชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merrill มีถิ่นกำเนิดในประเทศจี น ในประเทศไทย ได้มีการปลูกถั่วเหลืองเช่นเดียวกัน พื้นที่เพาะปลูกถั่วเหลืองส่วนใหญ่จะเป็นบริเวณในแถบภาคเหนือและภาคกลางตอนบน ถั่วเหลือง จัดเป็นพืชเศรษฐกิจ ที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย และถือว่าเป็นราชาของพืชตระกูลถั่วทั้งหลาย อุดมด้วยคุณประโยชน์และคุณค่าอันหลากหลาย ถั่วเหลืองถูกจัดอยู่ในกลุ่มอาหารประเภทเนื้อสัตว์ของอาหารหลักหมู่ที่ 1 อันอุดมไปด้วยโปรตีน ซึ่งเป็นโปรตีนชั้นดีมีคุณภาพสูงใกล้เคียงกับโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์

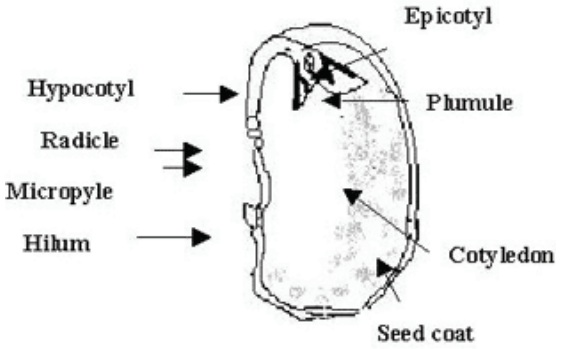
2.1.2 ข้อมูลทางพันธุศาสตร์

ถั่วเหลือง จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae โดยชื่อวิทยาศาสตร์ของถั่วเหลืองมีหลายชื่อ เช่น *Glycine soja*, *Soja max*, *Phaseolus Max*, *Dolichos soja* ที่ยอมรับกันในปัจจุบันคือ *Glycine max* (L.) Merr.

2.2 ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง

2.2.1 ลักษณะทางกายภาพของถั่วเหลือง

เมล็ดถั่วเหลือง ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ เปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) เอ็มบริโอ (embryo) และส่วนที่เก็บสะสมอาหาร เอ็มบริโอทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหาร (นิสยา เกิดสบาย, 2549) โครงสร้างของเมล็ดถั่วเหลืองแสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างเมล็ดถั่วเหลือง (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007)

เมล็ดถั่วเหลืองมีหลายขนาดและหลากหลายสีรวมถึงสีดำ สีน้ำตาล สีฟ้า สีเหลือง เปลือกถั่วเหลืองที่แก่แล้วจะแข็งแรงทนต่อน้ำ ถ้าส่วนห่อหุ้มเมล็ดแตก จะส่งผลกระทบต่อการงอกถั่วเหลืองกล่าวคืออาจจะไม่งอก รอยที่คล้าย ๆ แผลเป็นเห็นได้ชัดบนส่วนห่อหุ้มเมล็ดเรียกว่า hilum หรือแผลเป็นบนเมล็ดพืช และเป็นรูเปิดเล็ก ๆ ที่สามารถดูซึมน้ำเข้าไปได้ แต่ที่น่าสังเกตเมล็ดถั่วเหลืองบรรจุโปรตีนไว้สูง สามารถทำให้แห้งโดยไม่เสียหายและสามารถฟื้นกลับมาโดยการใส่น้ำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชล้มลุก ลำต้นสูงประมาณ 1-2 เมตร ลักษณะของลำต้นเป็นสีเหลี่ยมปกคลุมขนสีเทาขาว ใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ ใบประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ รูปร่างคล้ายยูปไข่ปลายแหลมใบค่อนข้างหนา ผิวมันทั้งด้านบนและด้านล่าง ดอกเป็นช่อสีขาวหรือม่วงแดง ออกดอกเมื่ออายุประมาณ 25-30 วัน เก็บเกี่ยวอายุประมาณ 90-100 วัน ฝักแบนขาวติดเป็นกระจุกที่ข้อของต้น กิ่งในฝักมีเมล็ด 3-5 เมล็ด รูปไข่ เมล็ดกลม ผิวสีเหลืองมันตาค่อนข้างลึกสีน้ำตาลอ่อน

2.2.2 ส่วนประกอบทางเคมี

ถั่วเหลืองประกอบไปด้วยส่วนประกอบดังต่อไปนี้

2.2.2.1 โปรตีน

ในถั่วเหลืองมีโปรตีนในปริมาณที่สูงมีประมาณ 35-40% โดยสูงเป็น 2 เท่าของปริมาณโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์และมีปริมาณเป็น 3–4 เท่าของโปรตีนที่ได้จากไข่หรือแป้งสาลี (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2534) อย่างไรก็ตาม โปรตีนในถั่วเหลืองมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายบางชนิดในปริมาณน้อย

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในถั่วเหลือง (อรอนงค์ กังสดาลอำไพร, 2543)

กรดอะมิโน	**ถั่วเหลือง (mg /g protein)**
Isoleucine	37
Leucine	74
Lysine	59
Methionine + Cystine	22
Phenylalanine + tyrosine	64
Threonine	42
Tryptophan	15
Valine	50

2.2.2.2 ไขมัน

ไขมันในถั่วเหลืองมีปริมาณรองจากโปรตีนอยู่ในช่วง 17 –20% ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และมีอัตราส่วนค่อนข้างคงที่ประมาณ 15 ต่อ 85 (ภาณุวรรณ จันทรวรรณกูร, 2543) โดยไขมันที่ดีและมีประโยชน์ต่อการบริโภคคือ ไขมันที่ไม่อิ่มตัวประกอบไปด้วย linoleic acid, linolenic acid และ oleic acid นอกจากนั้นยังพบ lecithin เป็นไขมันที่ช่วยในกระบวนการดูดซึมไขมันเข้าสู่ร่างกาย (คัดนางค์ ทองสุก, 2542)

2.2.2.3 คาร์โบไฮเดรต

ในถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 35% แต่ร่างกายนำไปใช้ได้น้อยโดยสามารถนำไปใช้ได้เพียง 40% ของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด โดยคาร์โบไฮเดรตแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่สามารถละลายน้ำได้ (Water soluble carbohydrate) และชนิดที่ไม่ละลายน้ำ (Water insoluble carbohydrate) คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ประกอบด้วย disaccharide และ oligosaccharide ได้แก่ sucrose, trisacchloride ได้แก่ stachyose และ คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำประกอบด้วย cellulose, hemicellulose, pectin และ แป้ง หน้าที่สำคัญของคาร์โบไฮเดรตมีผลต่อคุณภาพของถั่วเหลืองคือ ผลจากปฏิกิริยาของน้ำตาลรีดิวซิ่งทำให้เกิดสีน้ำตาลเข้ม ทำให้คุณภาพสีของถั่วเหลืองลดลง (Garcia และ คณะ, 1997)

2.2.2.4 วิตามินและแร่ธาตุ

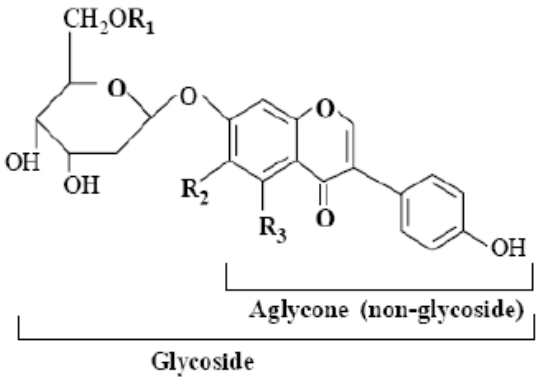
ถั่วเหลืองประกอบด้วยวิตามินและ เกลือแร่หลายชนิด แต่อยู่ในระดับปริมาณที่น้อย ประมาณ 5% แต่มีวิตามินบีรวมสูง ส่วนวิตามินอีพบมากในน้ำนมถั่วเหลือง เกลือแร่ที่สำคัญในถั่วเหลือง คือ ฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบใน phytin ซึ่งเป็นสารประกอบในถั่วเหลือง (ภาณุวรรณ จันทรวรรณกูร, 2543)

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณของแร่ธาตุที่มีในเมล็ดถั่วเหลือง (Kadam และคณะ, 1989)

ชนิดของแร่ธาตุ	ปริมาณ (mg/100g)
ฟอสฟอรัส	546
แมกนีเซียม	236
แคลเซียม	226
โซเดียม	27.9
เหล็ก	8.5
ทองแดง	2.4

2.2.2.5 Isoflavones

Isoflavones เป็น Phytoestrogen ชนิดหนึ่งซึ่งพบได้จากพืชต่าง ๆ โดยเฉพาะในถั่วเหลือง (Setchell, 1998) โครงสร้างทางเคมีของ Isoflavones มีโครงสร้างคล้ายกับ Flavonoid มีวงแหวนฟีนิล เกาะกับคาร์บอนอยู่ในตำแหน่งที่ 3 Isoflavones มีอนุพันธ์ 4 กลุ่ม ประกอบด้วย Acetyl Glycoside ได้แก่ Acetyldaidzin, Acetylgenistin และ Acetylglycitin, Aglycone ได้แก่ Daidzein, Genistein และ Glycitein, Glycoside ได้แก่ Daidzin, Genistin และ Glycitin และ Malonyl Glycoside ได้แก่ Malonyl daidzin, Malonyl gensitin และ Malonyl glycitin (ณัฐนันท์ วิเศษสุภมิตรและคณะ, 2547) แสดงดังรูปที่ 2



Name	R_1	R_2	R_3
[Glycoside]			
Daidzin	H	H	H
Glycitin	H	OCH_3	H
Genistin	H	H	OH
6″-O-malonyldaizin	$COCH_2COOH$	H	H
6″-O-malonylglycitin	$COCH_2COOH$	OCH_3	H
6″-O-malonylgenistin	$COCH_2COOH$	H	OH
6″-O-acetyldaizin	$COCH_3$	H	H
6″-O-acetylglycitin	$COCH_3$	OCH_3	H
6″-O-acetylgenistin	$COCH_3$	H	OH
[Non-glycoside]			
Daidzein	OH	H	H
Glycitein	OH	OCH_3	H
Genistein	OH	H	OH

รูปที่ 2 โครงสร้างของ isoflavones (Anon, 2001)

Isoflavones เป็นสารที่สามารถสกัดได้มาจากถั่วเหลือง อยู่ในพวกไฟโตเอสโตรเจนซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนในสตรี สารเหล่านี้ไม่จัดเป็นสารอาหาร แต่มีผลทางชีววิทยาต่อร่างกาย ส่วนในพืชชนิดอื่น เช่น ข้าวไรย์ ข้าวสาลี เมล็ดงา เมล็ดดอกทานตะวัน แอปเปิ้ล แครอท และข้าวโพด จะมี isoflavones น้อยกว่าที่พบในถั่วเหลือง isoflavones มีฤทธิ์น้อยกว่าเอสโตรเจนประมาณ 100-1,000 เท่า มีโครงสร้างลักษณะ คล้ายคลึงกัน สามารถทดแทนการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ โดยอาศัยสมบัติทางเคมีของสาร isoflavones ที่เหมือนกัน

ตารางที่ 3 ปริมาณสารที่ได้จาก isoflavones ในแหล่งอาหารต่าง ๆ (สายพิณ พงษธา, 2005)

Sources	**Daidzein (mg/100g)**	**Genistein (mg/100g)**	**Glycetein (mg/100g)**	**Total (mg/100g)**
Roasted soybeans	56.3	86.9	19.3	162.5
Textured vegetable protein	47.3	70.7	20.2	138.2
Green soybean	54.6	72.9	7.9	135.4
Soyflour	22.6	81	8.8	112.4
Tempen	27.3	32	3.2	62.5
Tofu	14.6	16.2	2.9	33.7
Tofu yogurt	5.7	9.4	1.2	16.4
Soy hot dog	3.4	8.2	3.4	15
Soy noodle (dry)	0.9	3.7	3.9	8.5

แหล่งของ isoflavones ที่สำคัญที่สุดคือ ถั่วเหลืองและปริมาณของ isoflavones ต่ออาหารเหล่านี้ปริมาณ 100 g ได้ค่าดังที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณของ isoflavones ต่ออาหารเหล่านี้ปริมาณ 100 g (สายพิณ พงษธา, 2005)

Sources	Isoflavones (mg)
Soy flours	178- 305
Soy protein isolate	103- 145
Soy protein concentrate	21- 317
Soy drink	26- 31.3

ณัฐนันท์ วิเศษสุภมิตร และคณะ (2547) พบว่ากระบวนการผลิตที่มีผลทำให้ปริมาณ isoflavones ลดลง ได้แก่ การล้างน้ำ การเติมส่วนผสมอื่น ๆ ดังนั้นหากต้องการลดการสูญเสีย isoflavones ต้องควบคุมการล้างน้ำ โดยคำนึงถึงเวลาที่ใช้ในการล้างน้ำ ปริมาณน้ำที่ใช้ล้าง ส่วนกระบวนการผลิตที่มีผลทำให้ปริมาณ isoflavones เพิ่มขึ้น ได้แก่ การกะเทาะเปลือกถั่ว การบดสกัด การฆ่าเชื้อโดยการให้ความร้อน โดยปริมาณ isoflavones จะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากอนุพันธ์ของ isoflavones ในกลุ่มของ acetyl glycoside และ malonyl glycoside เป็นอนุพันธ์ของ isoflavones ในกลุ่มของ aglycone และ glycoside ที่สามารถตรวจวัดได้

Allred และคณะ (2001) พบว่าน้ำลายมนุษย์สามารถเปลี่ยน glucosides ไปอยู่ในรูป aglycones ทำให้ aglycones สามารถดูดซึมเข้าสู่กระเพาะอาหารได้ก่อนจะถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก

ความสำคัญของสาร isoflavones ที่มีต่อร่างกาย

Isoflavones จากถั่วเหลืองเป็นสารที่มีความปลอดภัยสำหรับการบริโภคมีรายงานว่า การบริโภคสารสกัด isoflavones จากถั่วเหลืองมีความสัมพันธ์กับการป้องกันโรค ในชาวเอเชียจะมีการบริโภคถั่วเหลืองประมาณ 20-100 mg/days ข้อมูลการวิจัยทางวิทยาศาสตร์แสดงให้เห็นว่า isoflavones จากถั่วเหลืองช่วยในเรื่องสุขภาพของหัวใจ ความแข็งแรงของกระดูก ลดอาการหลังหมดประจำเดือน ส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และลดความเสี่ยงของปัจจัยที่ก่อให้เกิดมะเร็ง

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของ isoflavones จากถั่วเหลือง พบว่า isoflavones จากถั่วเหลืองมีผลต่อสุขภาพในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. ถั่วเหลืองกับการป้องกันโรคหัวใจ (Sacks และคณะ, 2006)

Isoflavones ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซล ล์ที่สร้าง plaque ที่ไปอุดตันเส้นเลือด และยังมีผลต่อระดับความเข้มข้นของไขมัน และ lipoprotein ในเลือด โดยจะไปลด cholesterol ชนิด low density lipoprotein (LDL) และ triglycerides (ลงประมาณ 5%) และเพิ่ม cholesterol ชนิด high density lipoprotein (HDL) ซึ่งเป็น cholesterol ที่ดีให้มากขึ้นประมาณ 2% และสามารถลดการเกิดออกซิเดชัน โดยเพิ่มความต้านทานต่อการเกิดออกซิเดชัน (oxidation resistance) ของอนุภาค LDL หากได้รับโปรตีนจากถั่วเหลือง (soy protein) 25 กรัมต่อวัน ร่วมไปกับการทานอาหารที่มีไขมันอิ่มตัว (saturated fat) และ cholesterol ต่ำ ก็อาจจะช่วยลดความเสี่ยงจากการเป็นโรคหัวใจได้

2. ถั่วเหลืองกับภาวะการเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็ง (Iwasaki และคณะ, 2008)

ถั่วเหลืองมีสารเคมีพวก isoflavones phytoestrogens ซึ่งเป็นสารที่ช่วยป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็งในบางอวัย ะ สารในกลุ่มนี้ที่พบมากคือ genistein และ daidzein สารกลุ่มนี้สามารถป้องกันโรคดังกล่าวได้เนื่องจากสารนี้จะมีผลเปลี่ยนแปลงเมตาโบลิซึมของเอสโตรเจน รวมทั้งคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

การศึกษาทางระบาดวิทยาในกลุ่มชนทางเอเชียพบว่า การบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมีส่วนสัมพันธ์กับการลดภาวะเสี่ยงของการเป็นมะเร็งทั้งชนิดขึ้นกับฮอร์โมน และไม่ขึ้นกับฮอร์โมน เช่น มะเร็งปอด ไส้ตรง เต้านม กระเพาะอาหาร และต่อมลูกหมาก จากการศึกษาในสตรีวัยก่อนหมดประจำเดือนชาวสิงค์โปร พบว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นประจำลดโอกาสเสี่ยงของการเป็นมะเร็งเต้านมได้ร้อยละ 50 ผลในการต้านเอสโตรเจน (antiestrogen) ในถั่วเหลืองมาจาก genistein และ daidzein ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน จึงไปจับกับตัวรับเอสโตรเจนได้ และยังพบว่า isoflavones สามารถยับยั้งฤทธิ์ของเอสโตรเจนในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์มะเร็ ง isoflavones ยังมีผลยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์มะเร็ง การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าอาหารที่มีถั่วเหลืองหรือ isoflavones ที่สกัดจากถั่วเหลืองสามารถลดโอกาสเสี่ยงของการเกิดมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังพบว่า genistein สามารถยับยั้งกระบวนการสร้างเส้นเลือด ขั้นตอนการสร้างเส้นเลือดนี้เป็นขั้นตอนที่จำเป็นสำหรับก้อนมะเร็งที่จะโตขึ้น

3. ถั่วเหลืองกับภาวะกระดูกโปร่งบาง (Chen และคณะ, 2003)

ภาวะกระดูกโปร่งบาง (osteoporosis) เป็นปัญหาด้านสุขภาพแบบหนึ่งที่เกิดขึ้นทั่วโลก การบริโภคอาหาร ประเภท โปรตีนสูงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลเสียต่อความแข็งแรงของกระดูก เนื่องจากมีผลทำให้แคลเซียมถูกขับออกมาในปัสสาวะมากขึ้น กรดอะมิโนที่มีกำมะถันในโมเลกุล คือ เมทไทโอนีน และซีสตีน เมื่อถูกเมตาโบไลส์จะเกิดซัลเฟตและไฮโดรเจน ทำให้ปัสสาวะเป็น กรดมากขึ้น แคลเซียมถูกขับออกมาในปัสสาวะมากขึ้น ดังนั้นการบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลือง ช่วยลดการขับแคลเซียมในปัสสาวะได้

นอกจากนี้ genistein และ daidzein ซึ่งเป็น isoflavones ที่พบในถั่วเหลืองยังมีคุณสมบัติ เป็นทั้งเอสโตรเจน และตัวต้านเอสโตเจน isoflavones นี้มีสูตรโครงสร้างคล้าย tamoxifen ซึ่ง เป็นสารที่มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนในการป้องกันการสูญเสียเนื้อกระดูกในสตรีหลังหมด ประจำเดือน ได้มีการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ถูกตัดรังไข่ออกไป พบว่าการเพิ่มขึ้นของเนื้อกระดูก ในสัตว์ทดลองนี้เป็นผลมาจา ก isoflavones ในถั่วเหลือง และการศึกษาในสตรีวัยหมด ประจำเดือนเป็นเวลา 6 เดือนพบว่าสตรีที่ได้รับโปรตีนจากถั่วเหลืองจะมีความหนาแน่นของ กระดูกมากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งได้รับโปรตีนจากเคซีน (Casein)

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

ถั่วเหลืองมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด โดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ โมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไป ยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็ นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสาร อนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติ ปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูก ออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ (จักรพงศ์ ไพบูลย์, 2542) สารต้าน อนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรค โดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (เช่น อัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอ กระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่ โดยปกติร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่จะ ทำอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็วหรือมากเกินกว่าร่างกายจะกำจัด หมด อนุมูลอิสระที่ เกิดขึ้นจะสร้างความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) พบในผักผลไม้ทั่วไป ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม บีตาแคโรทีน วิตามินเอ

พฤกษาเคมีต่าง ๆ (phytochemicals) เช่น สารประกอบฟีนอลิก (polyphenol) จากชาและสมุนไพรบางชนิด ไอโซฟลาโวน (isoflavones) จากถั่วเหลือง เป็นต้น (ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์, 2548)

2.3.1 วิธีการทดสอบความสามารถการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1.1 สารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) เป็นสารประกอบที่มี aromatic ring และอย่างน้อย 1 hydroxyl group และรวมไปถึงอนุพันธุ์ของสารประกอบฟีนอลซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่เคมีต่าง ๆ ตัวอย่างสารประกอบฟีนอล ได้แก่ flavonoids, lignin, abscisic acid, cinnamic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, tyrosine, phenylalanine และ dihydroxy-phenylalanine (DOPA), coenzyme Q (สุจิตรา รตนะมโน, 2547) สารประกอบฟีนอลภายในเซลล์ที่อยู่ในรูปอิสระนั้นพบน้อยมาก ส่วนใหญ่มักพบรวมอยู่กับโมเลกุลอื่น หลายชนิดพบในรูป glycosides โดยเชื่อมต่อกับโมโนแซคคาไรด์หรือไดแซคคาไรด์ โดยเฉพาะกลุ่มขอ ง flavonoids ซึ่งมักรวมกับน้ำตาล นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังอาจรวมกับสารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น hydroxycinnamic acid อาจพบรวมกับ organic acids, amino groups, lipids, terpenoids, phenolics และกลุ่มอื่น ๆ นอกเหนือจากน้ำตาลการรวมตัวในลักษณะนี้ภายในเซลล์เป็น monophenols และ diphenols ทำให้เกิดความเป็นพิษกับพืช (phytotoxic) น้อยกว่าในรูปอิสระ

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยวิธี Folin-Ciocalteu (Skerget และคณะ, 2005)

หลักการการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลโดยวิธี Folin-Ciocalteu อาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบจำพวกฟีนอล โดย Folin-Ciocalteu reagent เป็นสารสีเหลืองทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลหรือสารต้านอนุ มูลอิสระ เกิดปฏิกิริยารีดักชันสารละลายกลายเป็นสีเขียวเมื่อเติมโซเดียมคาร์บอเนตลงไปทำให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ถ้ามีสารประกอบฟีนอลหรือสารต้านอนุมูลอิสระอยู่มาก การเกิดสารประกอบสีน้ำเงินมีสีเข้มขึ้นและสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm

2.3.1.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay) (Benzie และ Strain , 1996)

วิธีนี้เป็นการวัดคุณสมบัติการต้านออกซิเดชั่ น โดยอาศัยหลักการว่าสารต้านออกซิเดชันที่ให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) โดย Total Antioxidant Capacity (TAC) เป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์ ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) เป็นสารทดสอบ อะตอมของเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยสารต้านออกซิเดชันได้สารประกอบเชิงซ้อนของ ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ซึ่งมีสีน้ำเงิน ดูดกลืนแสงที่

ความยาวคลื่น 593 nm ถ้าเกิด Fe^{2+}-TPTZ มากแสดงว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี

2.3.1.3 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\cdot}$) เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง DPPH เป็น stable radical ในตัวทำละลาย methanol ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 nm โดย $DPPH^{\cdot}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือ radical species ($R^{\cdot}$) ดังสมการที่ 2.1 และ 2.2 (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2550)

$$DPPH^{\cdot} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot} \quad (2.1)$$

(สีม่วง) (สีเหลือง)

$$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow DPPH\text{-}R \quad (2.2)$$

(สีม่วง) (สีเหลือง)

ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้าน อนุมูลอิสระ ได้ดี ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลงจนสารละลายเป็นสีเหลือง การรายงานผลจะแสดงเป็นค่า EC_{50} ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ $DPPH^{\cdot}$ ลดลง 50% นอกจากนี้มีรายงานในรูปของค่า IC_{50} ด้วย ซึ่งทำโดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition $DPPH^{\cdot}$ กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เพื่อหาค่า IC_{50} (Lo และ Cheung, 2005; Brand – William และคณะ, 1995)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในถั่วเหลือง

Lee และคณะ (2005) ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระของ isoflavones ในถั่วเหลือง โดยวิธี low–density lipoprotein (LDL), the ferric reducing–antioxidant power (FRAP) และ Free radical–scavenging (the anti–DPPH free radical) พบว่า glycoside และ aglycones มีความสามารถการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี FRAP และ the anti–DPPH free radical แต่วิธี LDL กลับพบว่าการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ aglycones มีความสามารถมากกว่า glycoside อย่างไรก็ตาม isoflavones ในถั่วเหลืองมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี

จากการศึกษาของ Akitha Devi และคณะ (2009) พบว่า total phenolic content (TPC) มีความสัมพันธ์กับปริมาณ isoflavones ในถั่วเหลือง โดยเฉพาะ daidzein และ genistein มีปริมาณ isoflavones มาก ก็จะพบว่ามี TPC มากเช่นเดียวกัน

2.4 ประโยชน์จากถั่วเหลือง (พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2547)

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูงมีประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถช่วยลด glycemix index ซึ่งมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน โปรตีนในถั่วเหลืองช่วยลดการขับถ่ายแคลเซียมทางปัสสาวะสามารถช่วยลดอัตราเสี่ยงของโรคกระดูกผุได้ ในถั่วเหลืองมีใยอาหารที่ละลายและไม่ละลายน้ำ ใยอาหารนี้ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด และช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ ที่สำคัญถั่วเหลืองเป็นพืชตะกูลถั่วชนิดเดียวที่มี Isoflavones มีคุณสมบัติแบบฮอร์โมนเพศหญิงจำพวกเอสโตรเจน ช่วยป้องกันอาการที่เกิดในหญิงวัยทองได้ดี อีกทั้งมีเกลือแร่ที่ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเป็นโรคกระดูกพรุน และความดันโลหิตสูง แต่ถั่วเหลืองมีสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะ สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin Inhibitor) สารนี้จัดเป็นสารต้านโภชนาการ เพราะสามารถจับกับเอนไซม์ทริปซินในน้ำย่อย ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีหน้าที่ย่อยโปรตีน จึงทำให้ร่างกายย่อยและใช้ประโยชน์จากโปรตีนที่กินเข้าไปได้น้อยลง แต่สามารถทำลายได้โดยการใช้ความร้อน ดังนั้นถ้าเราต้องการประโยชน์จากถั่วเหลืองก็ต้องทำให้สุกก่อนนำมารับประทาน

2.5 การแปรรูปถั่วเหลือง

ภายในประเทศไทยมี การแปรรูปถั่วเหลืองให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่หลากหลายและเป็นที่นิยมของผู้บริโภค ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองแบ่งได้เป็นกลุ่มใหญ่ ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านก ระบวนการ หมัก ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ผ่านก ระบวนการ หมัก และผลิตภัณฑ์ใหม่จากถั่วเหลือง

ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก

1. น้ำมันถั่วเหลือง (Soybean oil) ใช้ในการปรุงอาหารสำหรับการบริโภค โดยสกัดออกมาจากเมล็ดถั่วเหลือง ในน้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย ได้แก่ linolenic acid และ linoleic acid

2. กากถั่วเหลือง เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันถั่วเหลือง ใช้ทำเป็นอาหารสัตว์

3. น้ำนมถั่วเหลือง ในการผลิตนมถั่วเหลืองควรใช้ถั่วเหลืองที่แก่จัด เมล็ดมีสีเหลืองนวลและอยู่ในสภาพที่ดีไม่เน่าเสีย

4. เต้าหู้ เป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนจากนมถั่วเหลือง ซึ่งมีสีครีมขาว อ่อนนุ่ม อุ้มน้ำ และย่อยง่าย

5. ฟองเต้าหู้ ได้จากการอุ่นน้ำเต้าหู้ให้ข้น จะเกิดแผ่นฟองเต้าหู้บาง ๆ อยู่ด้านบน มีโปรตีนสูงถึง 52% คนไทยนิยมบริโภคช่วงเทศกาลกินเจ

6. ถั่วงอกหัวโต เ ป็นอาหารประเภทผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่อผู้บริโภ ค เพราะนอกจากคุณภาพของโปรตีนและไขมันจะไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนัก แต่ได้วิตามินซี และวิตามินเอปริมาณที่เพิ่มขึ้น แต่การรับประทานถั่วเหลืองหัวโตจะต้องทำให้สุกก่อนเพื่อให้โปรตีนมีประสิทธิภาพสูง

ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมัก

1. ซีอิ๊ว เกิดจากการหมักถั่วเหลืองที่นึ่งสุกกับข้าวสาลี โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* เมื่อราขึ้นดีแล้ว นำไปแช่น้ำเกลือที่ความเค็ม 17-20% ผึ่งแดดประมาณ 3-6 เดือน จึงนำต้ม กรอง บรรจุขวด

2. เต้าเจี้ยว มีขั้นตอนการหมักเหมือนซีอิ๊ว แต่ไม่กรองเอาเนื้อออก

3. ถั่วเน่า เป็นอาหารโปรตีนนิยมในภาคเหนือ ทำโดยใช้ถั่วเหลืองต้มสุกมาหมักในตระกร้าไม้ไผ่แบบธรรมชาติ ทิ้งไว้ 3-4 วัน เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จะทำให้ถั่วมีลักษณะเป็นเหมือก มีกลิ่นแอมโมเนีย จึงนำมาบดกับเกลือ กระเทียม พริกไทย ผึ่งให้แห้ง

4. มิโซะ (miso) เป็นน้ำปรุงรสเตรียมจากถั่วเหลือง ธัญพืช และเกลือ มักไว้ 1-3 ปี ใช้สำหรับปรุงรสหรือหมักอาหาร

ผลิตภัณฑ์ใหม่จากถั่วเหลือง

1. แป้งถั่วเหลือง (Soy Flour) มีคุณค่าอาหารและให้โปรตีนสูงกว่าแป้งสาลี ใช้ทำอาหารอ่อนและอาหารเสริมโปรตีน แป้งถั่วเหลืองมีสีเหลือง มีรสเหมือนถั่วเหลืองคั่ว มีลักษณะเป็นปุยเบากว่าแป้งสาลี

2. ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน ซึ่งเป็นอาหารที่ผลิตโดยใช้ถั่วเหลืองหรือแป้งถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมเพื่อเสริมโปรตีน และสามารถใช้บริโภค ได้ในเด็กทารก เด็กก่อนวัยเรียน เด็กวัยเรียนที่มีปัญหาขาดสารอาหารพวกโปรตีนได้ ได้แก่ นมถั่วเหลืองผง ขนมผิง บะหมี่ เนื้อเทียม อาหารเด็ก

3. เลซิทิน (lecithin) เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลือง

4. เนยถั่วเหลือง เตรียมจากถั่วเหลืองไปอบ บด คลุกกับน้ำมันถั่วเหลืองและสารประกอบอื่น จะมีไขมันน้อยกว่าเนยถั่วลิสง มีคุณค่าอาหารเหมือนถั่วเหลือง

2.6 สารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการ

เมล็ดถั่วเหลืองดิบไม่สามารถนำมาใช้บริโภคหรือใช้เลี้ยงสัตว์ได้โดยตรง เนื่องจากในเมล็ดถั่วเหลืองดิบมีสาร ขัดขวางทาง โภชนาการ (Antinutritional Substances) หลายชนิดด้วยกัน ไม่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และบางชนิดมีโทษต่อผู้บริโภค สารขัดขวางทางโภชนาการนี้ ได้แก่

2.6.1 สารยับยั้งทริปซิน (Trypsin Inhibitor)

สารยับยั้งทริปซินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบโปรตีน จะไปขัดขวางการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ใ นกระเพาะอาหาร ทำให้การย่อยของโปรตีนลดลง ทำให้ตับอ่อนต้องผลิตน้ำย่อยมากขึ้น ในพืชตระกูลถั่วจะมียับยั้งสารเอนไซม์ทริ ปซิน 2 ชนิด (อัญชรินทร์ สิงห์คำ และ ทศพร นามโฮง, 2547) คือ

1. Kunitz inhibitor เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 21,000 ดาลตัน มีความเฉพาะเจาะจงกับเอนไซม์ทริปซิน โดยรวมตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในอัตราส่วน 1: 1

2. Bowman-Birk inhibitor เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8,300 ดาลตัน ยับยั้งทั้งเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน โดยรวมตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในอัตราส่วน 1 : 1

ถั่วเกือบทุกชนิดมีสารยับยั้งเป็น Bowman–Birk inhibitor ส่วน Kunitz inhibitor มีพันธะไดซัลไฟด์ 2 พันธะ ทนความร้อนได้น้อยกว่า Bowman-Birk inhibitor เนื่องจากพันธะไดซัลไฟด์ 7 พันธะ สำหรับ Bowman–Birk inhibitor ต้องใช้ความร้อนนาน 1 ชั่วโมง สามารถทำลายได้อย่างสมบูรณ์หรืออาจใช้สารรีดิวซิงเอเจนต์ เช่น ซิสเตอีน (cysteine) สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสที่พบในถั่ว มีปริมาณเพียงพอที่จะทำให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในถั่วลดลงได้ เช่น มีผลทำให้ค่า Protein Efficiency Ratio (PER) ต่ำลง การต้มถั่วให้สุกจะทำให้ปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในถั่วลดลง และค่า PER ของโปรตีนในถั่วจะเพิ่มขึ้น

จากงานวิจัยของ ดุจฤทัย เชาวะวณิช (2536) หาปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในพืชที่ใช้เป็นอาหารบางชนิด จากผลการวิจัยพบว่าพืชที่นำมาวิเคราะห์ 93 รายการ ตรวจพบสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน 28 รายการ โดยพืชวงศ์ถั่วจะมีสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินอยู่ในปริมาณสูงกว่าพืชอื่น ๆ และส่วนของพืชที่พบสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินได้มากที่สุดคือเมล็ดและเมล็ดงอก จากการศึกษาผลของการปรุงอาหารต่อปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อ การลดปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และระยะเวลาของการให้ความ

ร้อนการปรุงอาหารวิธีการต่าง ๆ ได้แก่ ต้มในน้ำเดือด นึ่งอัดไอ อบแห้ง และแช่น้ำ จะมีผลต่อปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในพืชต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความชื้นที่ใช้ในแต่ละวิธี การนึ่งด้วยกระบวนการอัดไอจะสามารถลดปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินได้มากกว่าวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การอบแห้งสามารถลดปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินได้เพียงเล็กน้อย การแช่น้ำสามารถลดปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในพืชที่ผ่านการแช่น้ำในระยะเวลา 3, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

2.6.2 ฮีมแอกกลูตานิน/เลคติน (Heamagglutinins/lectins)

ฮีมแอกกลูตานินหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าเลคติน ซึ่งสารมีในถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่แตกต่างกัน 4 ชนิด โดยแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่คล้ายคลึงกัน แต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณของคาร์โบไฮเดรต ในแป้งถั่วเหลืองพร่องไขมันจะประกอบด้วยโปรตีนตัวนี้ประมาณ 3% โปรตีนเหล่านี้จัดอยู่ในพวกไกลโคโปรตีน ซึ่งประกอบด้วยแมนโนส (Manose) 4.5% และกลูโคสอะมีน (Glucosamine) 1% ซึ่งโปรตีนเหล่านี้เป็นสาเหตุให้เม็ดเลือดแดงจับกันเป็นก้อนทำให้ความสามารถในการพาอาหารไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายลดลง แต่อย่างไรก็ตามโปรตีนตัวนี้ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน

2.6.3 ซาโปนิน (Saponins)

ซาโทนินเป็นสารในกลุ่มของสารประกอบเชิงซ้อนไกลโคไซด์อยู่ในรูปของ Steroidal หรือ Triterpenoid ซึ่งมีอยู่ในถั่วเหลืองประมาณ 0.65% สารตัวนี้มีคุณสมบัติไม่ละลายในตัวทำละลายเฮกเซน ดังนั้นจึงยังคงมีเหลืออยู่ในกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว โดยเหลือประมาณ 0.6% ซึ่งสารตัวนี้มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงสลายตัว แต่เนื่องด้วยปริมาณที่มีอยู่น้อยทำให้ไม่มีอันตราย ถึงแม้ว่าสารตัวนี้จะไม่ถูกทำลายด้วยความร้อนก็ตาม

2.6.4 สารจับตัวกับแร่ธาตุ (Metal Chelating Factors)

ในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีสารประกอบอินทรีย์ เช่น กรดไฟติก (phytic acid) และกรดโอเซลิก (oxalic acid) ซึ่งสามารถจับตัวกับแร่ธาตุแคลเซียม เหล็ก ทองแดง แมงกานีส และสังกะสีได้ดี เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนกับกรดไฟติก (protein-phytic acid complexes) ทำให้การดูดซึมและการใช้ประโยชน์แร่ธาตุเหล่านี้ลดลง แต่อย่างไรก็ตามสารนี้สามารถทำลายได้ด้วยความร้อน โดยวิธีการทอดและคั่วสามารถลดกรดไฟติกได้มากกว่าการต้ม

นึ่ง หรือลวก แต่ก็ยังลดปริมาณกรดไฟติกได้น้อย (25%) เมื่อเปรียบเทียบกับการนำไปอัดรีดด้วยอุณหภูมิที่สูงซึ่งสามารถลดปริมาณกรดไฟติกได้ 43.83% เนื่องจากเกิดการสลายตัวของกรดไฟติก

2.6.5 เอนไซม์ยูรีเอส (Urease)

การวิเคราะห์ระดับความสุก-ดิบ ของถั่วเหลืองโดยการวัด Urease activity ให้ทำปฏิกิริยาในสภาพที่มียูเรียกับไม่มียูเรีย โดยวัดค่าความแตกต่างของความเป็นกรดด่าง (ΔpH) ที่เกิดขึ้น (สุกัญญา จัตตุพรพงษ์, 2539) เอนไซม์ยูรีเอ สไม่มีผลในการยับยั้งโภชนาการของถั่วเหลือง แต่สามารถใช้บอกระดับความสุกของถั่วเหลืองไขมันเต็ม และกากถั่วเหลืองได้ นอกจากนั้นเอนไซม์ยูรีเอสยังสามารถนำมาใช้การบอกระดับสารยับยั้งทริปซินที่มีในถั่วเหลืองได้

2.7 การลดปริมาณสารต้านโภชนาการในเมล็ดถั่วเหลือง

เนื่องจากถั่วเหลืองดิบมีสารขัดขวางทางโภชนาการหลายชนิด และการย่อยโปรตีนมีปริมาณค่อนข้างต่ำ จำเป็นต้องมีวิธีการปรับสภาพเมล็ดถั่วเหลือง เพื่อช่วยนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดีมากยิ่งขึ้น โดยสามารถทำได้หลากหลายวิธี ได้แก่

2.7.1 การแช่ถั่วเหลือง

การแช่ถั่วเหลืองเป็นวิธีการเพิ่มปริมาณความชื้น รวมถึงเป็นการลดปริมาณสารต้านโภชนาการ และลดเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนกับถั่วเหลือง เมื่อเวลาที่ให้ความร้อนสั้นทำให้คุณภาพของโปรตีนดีขึ้น การดูดซึมน้ำของถั่วเหลืองจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลา Pan และคณะ (2003) ได้ทำการทดลองนำถั่วเหลืองมาแช่น้ำที่ช่วงอุณหภูมิ 10 ถึง 40°C จนได้ความชื้นอย่างต่ำ 120% db. เพื่อการนำไปบดให้มีขนาดลดลงจะทำได้ง่ายขึ้ น โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำที่ใช้ในการแช่เวลาที่ใช้ในการแช่น้ำลดลง ซึ่งในเวลา 30 นาทีแรก ถั่วเหลืองจะมีอัตราการดูดซับน้ำที่สูงหลังจาก 30 นาทีอัตราการดูดซับน้ำจะช้าลงและหลังจาก 2 ชั่วโมง อัตราการดูดซับน้ำจะลดต่ำลงมาก และจากการทดลองของวันดี รังสีวิจิตรประภา และคณะ (2549) ได้มีการศึกษาพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้จากถั่วเหลือง ได้แก่ ระยะเวลาในการแช่น้ำ อุณหภูมิ และในระหว่างการแช่น้ำของกระบวนการงอกนั้น มีเหตุการณ์สำคัญเกิดขึ้ นสารอาหารที่เก็บไว้ในเมล็ดทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนเป็นสารอาหารที่สำคัญมากมายที่ใช้ในการ งอกของเมล็ดถั่วเป็นต้น ถั่วทั้งกรดอะมิโน, polysaccharide, fatty acid, vitamin ที่สำคัญ ๆ เช่น C, B_{12} และยังมี lecitin ถ้าเรารับประทานจะได้สารอาหารที่มีประโยชน์ (วิถีแห่งความทรงจำ, 2550)

ในระหว่างการแช่น้ำจะมีสารที่มีอยู่ในถั่วเหลืองกระจายออกมาอยู่ในน้ำ เช่น วิตามิน แร่ธาตุ กรดอะมิโน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ซึ่งรวมถึงสารต้านโภชนาการและกรดอินทรีย์ด้วย ทำให้สารที่มีประโยชน์ในถั่วเหลืองลดลงเพื่อทำให้สารที่มีประโยชน์กับร่างกายในถั่วเหลืองให้คงอยู่มากที่สุด ทำได้โดยการนำน้ำที่ผ่านการแช่ไปกำจัดสารต้านโภชนาการแล้วนำกลับมาใช้ในการแช่ใหม่ ซึ่งเมื่อถั่วเหลืองดูดซับน้ำจะช่วยเพิ่มสารที่มีประโยชน์กับร่างกายในถั่วเหลือง จากการทดลองของนิพนธ์ ไชยมงคล (2548) พบว่าในระยะที่เมล็ดเริ่มงอก โปรตีนในเมล็ดจะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน วิตามินบีรวม วิตามินอี และวิตามินซี ที่อยู่ในรูปสารละลายมีปริมาณเพิ่มขึ้น ไขมันและแป้งจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาล นอกจากนี้ไทอะมินมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 5 เท่า และประกอบด้วยวิตามินซี ปริมาณเท่ากับมะเขือเทศ และเมล็ดพืชที่เริ่มงอกจะประกอบด้วยวิตามิน แร่ธาตุ โปรตีน และน้ำย่อยซึ่งอยู่ในรูปที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เร็ว ช่วยระบบย่อยอาหาร

จากการทดลองของอิงฟ้า คำแพงและคณะ (2009) ได้ทำการเพิ่มปริมาณสารอาหารของข้าวและธัญพืชไทยโดยใช้กระบวนการงอก พบว่าเมื่อนำข้าวกล้องไปแช่น้ำที่อุหภูมิ 25°C pH 5.5 นาน 48 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณคาร์โบไฮเดร ต วิตามินบี 1 gamma amino butyric acid (GABA) total phenolics และ phytic acid มากที่สุด แต่เมื่อนำข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วแดง ไปผ่านกระบวนการงอก โดยนำไปแช่น้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีสารเหล่านี้มีปริมาณเพิ่มขึ้น เช่น วิตามินบี1 gamma amino butyric acid (GABA) และ total phenolic และจากงานวิจัยของ Park และ Oh (2006) พบว่าจากการหมักโยเกิร์ตโดยใช้ถั่วเหลืองงอกเป็นสารตั้งต้นพบว่า ปริมาณ GABA และ free amino acid มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเทียบกับโยเกิร์ตทั่วไป

Goes-Favoni และคณะ (2010) ได้ทำการทดลองนำใบเลี้ยงถั่วเหลืองทำการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนนำไปทำเป็นถั่วเหลืองพบว่า aglycones มีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ malonyl และ β–glucosides มีปริมาณลดลงหลังจากผ่านระยะเวลาการแช่ และจากการทดลองยังพบว่าปริมาณ isoflavones มีค่าเพิ่มขึ้น 14% จากปริมาณเดิมก่อนผ่านการแช่

2.7.2 การต้มหรือการต้มโดยใช้ความดัน (Cooking or Autoclaving)

วิธีนี้เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายโดยสามารถนำถั่วเหลืองแช่น้ำเพื่อให้น้ำซึมผ่านเข้าเมล็ด แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิน้ำเดือด เมื่อสุกนำมาผึ่งให้แห้ง สำหรับการต้มโดยใช้ความดัน ผ่านไอน้ำเข้าไปในหม้อโดยใช้ความดัน วิธีนี้ใช้เวลานาน อุปกรณ์มีราคาสูง โดย Anderson-Hafferman และ

คณะ (1992) ทำการทดลองต้มถั่วเหลืองโดยใช้ความดัน 124 kPa ที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที พบว่าทำลายสารยับยั้งทริปซินและเอนไซม์ยูรีเอสได้ จากผลการศึกษาทำให้สรุปได้ว่า ในการทำลายสารยับยั้งทริปซินและเอนไซม์ยูรีเอสต้องใช้เวลาไม่น้อยกว่า 15 นาที

2.7.3 การคั่ว (Roasting)

การคั่ว คือ กระบวนการที่ทำให้ให้เมล็ด วัตถุดิบอุณหภูมิสูงขึ้นจากระดับอุณหภูมิห้องไปจนถึง 200-230 องศาเซลเซียล หรือประมาณ 400-450 องศาฟาเรนไฮต์ ในระหว่างการคั่วนั้น น้ำและความชื้นที่อยู่ภายในเมล็ดจะถูกไล่ออกไป ทำให้สีของเมล็ดเริ่มเปลี่ยนจากสีขาวแห้งๆ เป็นสีเขียวมัน เงา แล้วกลายเป็นสีน้ำตาลซีด จากนั้นจะค่อยๆเข้มขึ้นตามลำ ดับ การที่ใช้อุณหภูมิสูงโดยทั่วไปใช้เวลาในการคั่วประมาณ 5–10 นาที

รูปที่ 3. เครื่องคั่วกาแฟ (BlueKoff, 2002)

2.7.4 กระบวนการอบแห้ง (สมชาติ โสภณรณฤทธิ์, 2540)

การอบแห้ง คือ กระบวนการลดความชื้น โดยส่วนใหญ่ใช้การถ่ายเทความร้อนไปยังวัสดุที่ชื้น เพื่อไล่ความชื้นออกโดยการระเหย โดยใช้อาศัยความร้อนที่ได้รับเป็นความร้อนแฝงของการระเหย โดยปกติจะใช้ความชื้นเป็นตัวบ่งบอกปริมาณของน้ำที่อยู่ในวัสดุ ซึ่งสามารถแสดงได้เป็น 2 แบบ คือ

1.ความชื้นมาตรฐานเปียก (Wet basis) คือ อัตราส่วนน้ำหนักของน้ำในผลิตภัณฑ์ต่อน้ำหนักผลิตภัณฑ์ชื้น โดยมีสมการดังนี้

$$M_w=[(w-d)/w] \times 100 \qquad (2.1)$$

2. ความชื้นมาตรฐานแห้ง (Dry basis) คือ อัตราส่วนน้ำหนักของน้ำในผลิตภัณฑ์ต่อน้ำหนักผลิตภัณฑ์แห้ง โดยมีสมการดังนี้

$$M_d=[(w-d)/d] \times 100 \qquad (2.2)$$

โดยที่ M_w คือ ความชื้นมาตรฐานเปียก

M_d คือ ความชื้นมาตรฐานแห้ง

w คือ น้ำหนักเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์

d คือ น้ำหนักผลิตภัณฑ์แห้ง

โดยทั่วไปการอบแห้งวัสดุสามารถแบ่งออกเป็น 2 ช่วงคือ ช่วงอัตราการอบแห้งคงที่ ซึ่งปริมาณความชื้นภายในวัสดุมีค่าสูงกว่าความชื้นวิกฤติที่ผิวของวัสดุมีน้ำอยู่จำนวนมา ก เมื่อความร้อนจากอากาศถ่ายเทไปยังวัสดุ การถ่ายเทความร้อนและมวลจะเกิดขึ้นเฉพาะที่ผิวของวัสดุ ช่วงนี้อุณหภูมิ ที่ผิวของวัสดุอบแห้งและอัตราการอบแห้งจะมีค่าคงที่และช่วงอัตราการอบแห้งลดลง ปริมาณความชื้นภายในวัสดุมีค่าต่ำกว่าความชื้นวิกฤติเมื่อความร้อนจากอากาศถ่ายเทไปยังวัสดุ น้ำจะเคลื่อนที่จากภายในเนื้อวัสดุมาที่ผิวของวัสดุในลักษณะของเหลวหรือไอน้ำและน้ำที่ผิวจะระเหยไปกับอากาศ

2.7.4.1 การอบแห้งด้วยความร้อน

โดยทั่วไปในกระบวนการอบแห้งนิยมใช้อากาศเป็นตัวกลางในการอบแห้ง ซึ่งจะใช้อากาศที่มีอุณหภูมิสูง และความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ทั้งนี้เพราะสามารถอบแห้งได้รวดเร็ว และได้ความชื้นของเมล็ดพืชต่ำตามที่ต้องการ ในการอบแห้งโดยมากมักจะเลือกใช้อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถทำการอบแห้งได้ โดยที่คุณภาพของเมล็ดพืชไม่เกิดความเสียหาย และอยู่ในมาตรฐานที่ยอมรับได้

หลักการในการอบแห้งด้วยอากาศร้อ น ในขณะที่อากาศร้อนเคลื่อนผ่านเมล็ดพืชจะเกิ ดกระบวนการถ่ายเทความร้อนและมวลขึ้นพร้อม ๆ กัน ความร้อนจากอากาศถ่ายเทไปยังเมล็ดพืชและทำให้น้ำที่บริเวณผิวเมล็ดระเหยเข้าไปอยู่ในอากาศเป็นผลให้อากาศมีอุณหภูมิลดลงและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงขึ้น ส่วนเมล็ดพืชจะมีความชื้นลดต่ำล งเมื่อความชื้นลดลงมากพอแล้วอุณหภูมิของเมล็ดพืชจะเริ่มสูงขึ้น จนกระทั่ง เมล็ดพืชจะมีอุณหภูมิเท่ากับอากาศที่ใช้อบแห้ง และความชื้นลดลงจนถึงความชื้นสมดุล โดยวิวัฒน์ วุฒิวิวัฒน์ชัย (2540) ได้ทำการศึกษาการอบแห้งถั่วเหลืองโดยเทคนิคฟลูอิไดเซชัน พิจารณาถึงตัวแปรต่าง ๆ ที่มีผลต่ออัตราการอบแห้งและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ทำการทดลองอบแห้งถั่วเหลืองในเครื่องอบแห้งฟลูอิไดซ์เบดที่อุณหภูมิอากาศก่อนเข้าห้องอบแห้ง 110-140^{O}C ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 24.7-33.3 (มาตรฐานแห้ง) ความสูงเบด 10-15 cm และความเร็วของอากาศอบแห้ง 2.4-4.1 m/s จากการทดลองพบว่าตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการอบแห้ง ได้แก่ อุณหภูมิอากาศก่อนเข้าห้องอบแห้ง และอัตราการไหลจำเพาะของอากาศ การอบแห้งถั่วเหลืองที่อุณหภูมิสูงไม่ทำให้โปรตีนในถั่วเหลืองลดลง การลด

ปริมาณสาร Trypsin Inhibitor โดยเทคนิคฟลูอิไดเซชันที่ความชื้นสูงให้มีค่าตามมาตรฐานที่ยอมรับได้ จะต้องใช้อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 120^{O}C ผลการวิเคราะห์ค่า Urease Activity และค่า Protein Solubility ของถั่วเหลืองความชื้นต่ำผ่านกระบวนให้ความร้อนโดยเทคนิคฟลูอิไดเซชัน พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะใช้เครื่องอบแห้งแบบฟลูอิไดซ์เบด ในการให้ความร้อนแก่ถั่วเหลืองเพื่อลดปริมาณสารขัดขวางโภชนาการ โดยคุณภาพในด้านโปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ

2.7.4.2 ฟลูอิไดเซชัน (Fluidization)

ในกระบวนการอบแห้งถั่วเหลืองในปัจจุบันเทคนิคที่นิยมใช้กันมาก คือ เทคนิคฟลูอิไดเซชัน ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ของแข็งขนาดเล็กถูกทำให้มีสภาพเหมือนของไหล โดยการสัมผัสกับก๊าซหรือของเหลว และทั่วไปมักจะเป็นฟลูอิไดเซชัน 2 สถานะ คือ ฟลูอิไดเซชันระหว่างก๊าซกับของแข็ง และฟลูอิไดเซชันระหว่างของแข็งกับของเหลว โดยตัวกลางที่ใช้ในการอบแห้งเมล็ดถั่วเหลืองส่วนใหญ่ใช้อากาศร้อนเพราะเป็นวิธีที่สะดวกสมบัติคล้ายของไหลในกระบวนการฟลูอิดไดเซชันเริ่มแรกเม็ดหรือชิ้นของแข็งดังกล่าวถูกวางไว้บนตะแกรงในหอทดลองซึ่งมักจะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ของไหล เช่น ก๊าซหรือของเหลว ถูกปล่อยให้ผ่านมาทางด้านล่างของตะแกรงที่รองรับเม็ดของแข็ง แล้วไหลออกทางส่วนบนของหอทดลอง เมื่อเพิ่มความเร็วของไหลให้มากขึ้นเรื่อย ๆ เม็ดของแข็งจะเริ่มขยับตัวและลอยตัวขึ้นเป็นอิสระไม่เกาะติดกัน ของแข็งที่อยู่ในลักษณะนี้จะมีสมบัติคล้ายของไหล กล่าวคือ มีการไหลหมุนเวียนของเม็ดของแข็งภายในเบดหรือภายในหอทดลอง หรือระหว่างเบดต่อเบดก็ได้

มนตรี หวังจิ และคณะ (2540) ทดลองอบแห้งเมล็ดถั่วเหลืองด้วยเครื่องอบแห้งฟลูอิไดซ์เบดแบบต่อเนื่อง ซึ่งได้ทำการทดลองศึกษาตามสภาวะเงื่อนไขการอบแห้งที่อัตรากำลังผลิต 2.9 tons / h อัตราการไหลอากาศอบแห้ง 3.6 m^3 / s (3.3 kg/s) ความเร็วอากาศอบแห้ง 2.9 m/s ความสูงของชั้นเมล็ดถั่วเหลือง 15 เซนติเมตร ระยะเวลาที่เมล็ดถั่วเหลืองอยู่ในห้องอบแห้ง 2.35 นาที อัตราการเวียนคืนอากาศอบแห้งประมาณ 83% โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 110, 120, 130 และ 140^{o}C ซึ่งสามารถลดความชื้นที่เริ่มต้นโดยเฉลี่ย 20.2, 22.9, 25.2 และ 28.2% มาตรฐานเปียก เหลือความชื้นสุดท้ายโดยเฉลี่ย 16.8, 18.0, 18.6 และ 19.0% มาตรฐานเปียก, ตามลำดับ

ปัญญา ตีระกิจวัฒนา (2549) ศึกษาวิธีการให้ความร้อนกับถั่วเหลืองด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบดอากาศร้อนร่วมกับการใช้ไอน้ำร้อนเพื่อกำจัดสารยับยั้งทริปซิน ซึ่งแบ่งได้ 2 วิธี คือ การให้

ความร้อนด้วยอากาศร้อนชื้นกับวิธีการให้ความร้อนด้วยไอน้ำอิ่มตัวตามด้วยอากาศร้อน การทดลองดำเนินการที่เงื่อนไข ความเร็วลม 2.6 เมตร / วินาที ความสูงเบด 10 เซนติเมตร อุณหภูมิตัวกลาง 120, 135 และ 150°C โดยถั่วเหลืองมีความชื้นเริ่มต้นประมาณ 12% db. จากผลการทดลองที่อุณหภูมิตัวกลาง 120°C พบว่า วิธีการให้ความร้อนด้วยอากาศร้อนไม่สามารถกำจัดเอนไซม์ยูรีเอสให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนวิธีการให้ความร้อนด้วยอากาศร้อนชื้น และวิธีการให้ความร้อนด้วยไอน้ำอิ่มตัวตามด้วยอากาศร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าวสามารถกำจัดเอนไซม์ยูรีเอสผ่านเกณฑ์มาตรฐานได้

นอกจากนี้ Lee และ Lee (2009) ได้ทำการศึกษาผลของการอบแห้งด้วยกระบวนการ oven-drying, roasting และ explosive puffing พบว่า วิธี oven-drying ทำการอบที่ 100°C เป็นเวลา 120 นาที ปริมาณ isoflavones มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ขณะที่ 2 วิธีพบว่าปริมาณ isoflavones มีค่าลดลง วิธี roasting ลดลง 25.46% ที่ 200°C เป็นเวลา 21 นาที และ explosive puffing ลดลง 10.42% ที่ 686 kPa

Niamnuy และ คณะ (2011) ทำการศึกษาผลของการอบแห้งต่อปริมาณ isoflavones, antioxidant activity และ α-glucosidase inhibitory activity โดยผ่านการอบแห้งแบบ Hot–air fluidized bed drying (HAFBD), superheated–steam fluidized bed drying (SSFBD) และ infrared combind with hot air vibrating (GFIR–HAVD) พบว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงส่งผลให้อัตราการอบแห้งและปริมาณ β–glucosides และ antioxidant activity สูง แต่ปริมาณ malonyl-β–glucosides, acetyl-β–glucosides และ total isoflavones ลดลง การอบแห้งแบบ GFIR–HAVD มีอัตราการอบแห้งสูง และพบว่าปริมาณ β–glucosides, aglycones, total isoflavones และ antioxidant activity ตลอดจน α-glucosidase inhibitory activity สูงขึ้น และการอบแห้งทั้งสามวิธีที่อุณหภูมิ 130°C พบว่าปริมาณ aglycones และ α-glucosidase inhibitory activity มีค่าเพิ่มขึ้น

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ในงานวิจัยนี้ ถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60 ถั่วเหลืองได้ รับมาจาก ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิษณุโลก เก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ 4°C ก่อนทำการทดลองถั่วเหลืองจะถูกปรับไว้ให้เท่ากับอุณหภูมิห้องก่อน และนำไปทำความสะอาด เพื่อแยกเมล็ดที่เสียออก หลังจากนั้นจึงนำมาทำการทดลองได้

3.1.2 สารเคมี ยี่ห้อ	/ประเทศ
1. Sulfuric acid (H_2SO_4)	Fluka/Germany
2. Sodium hydroxide (NaOH)	Fluka/Germany
3. Potassium hydroxide (KOH)	Fluka/Germany
4. Boric acid (H_3BO_3)	Ameresco/Canada
5. Potassium sulfate (K_2SO_4)	Fluka/Germany
6. Copper (II) sulfate ($CuSO_4$)	Merck/Germany
7. Acetonitrile	RCI Labscan/Thailand
8. Ethanol	RCI Labscan/Thailand
9. Di – Potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)	RCI Labscan/Thailand
10. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	Fluka/Germany
11. Urea	Research/USA
12. Tolulene	Analar /England
13. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Aldrich/USA
14. Methanol	RCI Labscan/Thailand
15. Sodium acetate trihydrate ($NaC_2H_3O_2$)	Sigma/USA
16. Acetic acid	Lab scan/Ireland
17. 2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazine (TPTZ)	Fluka/Germany
18. Hydrochloric acid (HCl)	Merck/Germany
19. Ferric sulfate ($FeSo_4.7H_20$)	RCI Labscan/Thailand

18. Hydrochloric acid (HCl)	Merck/Germany
19. Ferric sulfate ($FeSo_4.7H_20$)	RCI Labscan/Thailand
20. Gallic acid	Fluka/Germany
21. Sodium carbonate (Na_2CO_3)	Riedel-deHaen/Germany
22. Folin Ciocalteu reagent	Sigma/USA
23. Standard Isoflavones (Daidzein และ Genistein)	Sigma/USA
24. Methyl Red	Fluka/Germany
25. Methylene Blue	Fluka/Germany

3.1.3 อุปกรณ์	**ยี่ห้อ/ประเทศ**
1. เครื่องชั่ง	Denver Instrument
2. เครื่องชั่ง	Sartorius/Germany
3. เครื่องแก้วต่าง ๆ	SCHOTT/Germany
4. ตู้อบ (Hot Air Oven)	Memmert/Germany
5. Data logger	BrainChlid
6. นาฬิกาจับเวลา	SPORT TIMER
7. โถดูดความชื้น (Desiccator)	-
8. อ่างน้ำร้อน (Water bath)	Memmert/Germany
9. ชุดกรอง HPLC	SCHOTT/Germany
10. เครื่อง High pressure liquid chromatography (HPLC)	Shimadzu/Japan
11. Spectrophotometer	Libra S22/England
12. เครื่องแช่ถั่วเหลือง	Scan Engineering/Thailand
13.เครื่อง Kjeldahl	Gerhardt/Germany
14. เครื่องคั่วกาแฟ	IMEX/Korea
15. pH Meter	Denver Instrument

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การงอกถั่วเหลือง

3.2.1.1 การแช่น้ำเพื่อหาความชื้นและหาเวลาการงอก

ทำการทดลองแช่น้ำ โดย

1. นำเมล็ดถั่วเหลืองที่แห้งมีความชื้นเริ่มต้นประมาณ 10 ถึง 13% db. ที่ผ่านการทำความสะอาดและแยกเมล็ดที่เสียออก มาแช่น้ำ
2. เก็บตัวอย่างถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำที่เวลา 2-5 ชั่วโมง ไปหาค่าความชื้นเพื่อศึกษาการดูดซับน้ำของเมล็ดถั่วเหลือง
3. จากข้อ 3. นำถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำที่ชั่วโมงต่างๆ งอกอากาศต่อจนกว่าจะงอก เลือกจุดกระบวนการงอกคือ ระยะรากมีความยาวประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตรและระยะการงอกรวมเร็วที่สุด

3.2.2 การนึ่งถั่วเหลืองเริ่มงอก

1. ชั่งถั่วเหลืองชื้น 800 กรัม ใส่ลงในซึงที่น้ำเดือด
2. เวลาที่ใช้ในการนึ่ง 0–40 นาที
3. ทำการทดสอบคุณภาพโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างถั่วเหลืองในขั้นตอนต่อไป
4. จากการผลการทดลองการนึ่งนี้ เลือกตัวอย่างที่นำไปทำการคั่วและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เซชัน โดยดูปริมาณ isoflavones หลังจากถั่วเหลืองผ่านการนึ่งที่เวลาต่าง ๆ เป็นเกณฑ์การเลือกตัวอย่างทำการทดลองต่อไป

3.2.2 การอบแห้งถั่วเหลืองด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบด

1. ชั่งถั่วเหลืองชื้น 800 กรัม ใส่เครื่องอบแห้งแบบฟลูอิไดซ์เบด โดยความสูงของเบด 10 เซนติเมตร
2. อบแห้งที่อุณหภูมิ 100, 120 และ 140°C โดยฟลูอิไดซ์เบดแบบลมร้อน
3. เวลาที่ใช้ในการอบ 0-30 นาที
4. นำถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งเป่าด้วยอากาศแวดล้อม
5. ทำการทดสอบคุณภาพโดยเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองในขั้นตอนต่อไป

3.2.4 การอบแห้งถั่วเหลืองด้วยการคั่ว

1. ชั่งถั่วเหลืองนึ่ง 800 กรัม ใส่ลงในเครื่องคั่วเมล็ดกาแฟ
2. เวลาที่ใช้ในการคั่ว 0-8 นาที
3. นำถั่วเหลืองออกจากเครื่องคั่ว
4. นำไปเป่าด้วยอากาศแวดล้อม ก่อนทำการทดสอบคุณภาพโดยเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบในขั้นตอนต่อไป

3.2.5 การตรวจสอบคุณภาพถั่วเหลือง

3.2.5.1 การหาปริมาณความชื้น (AACC, 1990)

การหาความชื้นของเมล็ดถั่วเหลืองโดยมาตรฐานของ AAAC method 44-10 มีขั้นตอนการทดลองดังนี้ โดยชั่งน้ำหนักของถั่วเหลืองจำนวน 50 กรัม ใส่ในกระป๋องความชื้น (moisture can) นำเข้าตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่โถดูดความชื้น 45 นาที ชั่งน้ำหนักอีกครั้งแล้วคา นวณเป็นความชื้น มาตรฐานแห้ง ดังสมการ (3.1) ทา การทดลองซ้า 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

$$M_d = \left(\frac{w-d}{d} \right) \quad (3.1)$$

เมื่อ M_d = ความชื้นมาตรฐานแห้ง, % db.

w = มวลของวัสดุ , g

d = มวลของวัสดุแห้ง (ไม่มีความชื้น) , g

3.2.5.2 ปริมาณโปรตีน (Protein content)

ปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในถั่วเหลืองทั้งหมด ตามวิธี AOCS Method BA 10-65 (1999) ดังแสดงในภาคผนวก ก3 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณ isoflavones ด้วย HPLC

การวิเคราะห์หาปริมาณ isoflavones โดยใช้เครื่อง High pressure liquid chromatography (HPLC) ดัดแปลงจากวิธีการของ Akitha Devi และคณะ(2009) ดังแสดงในภาคผนวก ก4 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2.5.4 เอนไซม์ยูรีเอสในถั่วเหลือง

วิธีการหาค่า Urease Activity สามารถทำได้โดยนำถั่วเหลืองมาทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์ยูเรีย (มีค่าเป็นความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7) ซึ่งทำให้เกิดแอมโมเนียส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของค่าเป็นกรดด่าง โดยแอมโมเนียที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสที่มีในถั่วเหลือง หาเอนไซม์ยูรีเอสที่มีในถั่วเหลืองโดยมาตรฐานของ AAAC method 22-90 (1990) ดังแสดงในภาคผนวก ก5 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2.11 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอล โดยใช้ Folin – Ciocalteu method

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอล โดยใช้ Folin – Ciocalteu method ตามวิธีการของ Skerget et al. (2005) ดังแสดงในภาคผนวก ก6 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2.12 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay ตามวิธีการของ Maisuthisakul et al. (2007) ดังแสดงในภาคผนวก ก7 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2.13 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP assay ตามวิธีการของ Benzie and Strain (1996) ดังแสดงในภาคผนวก ก8 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

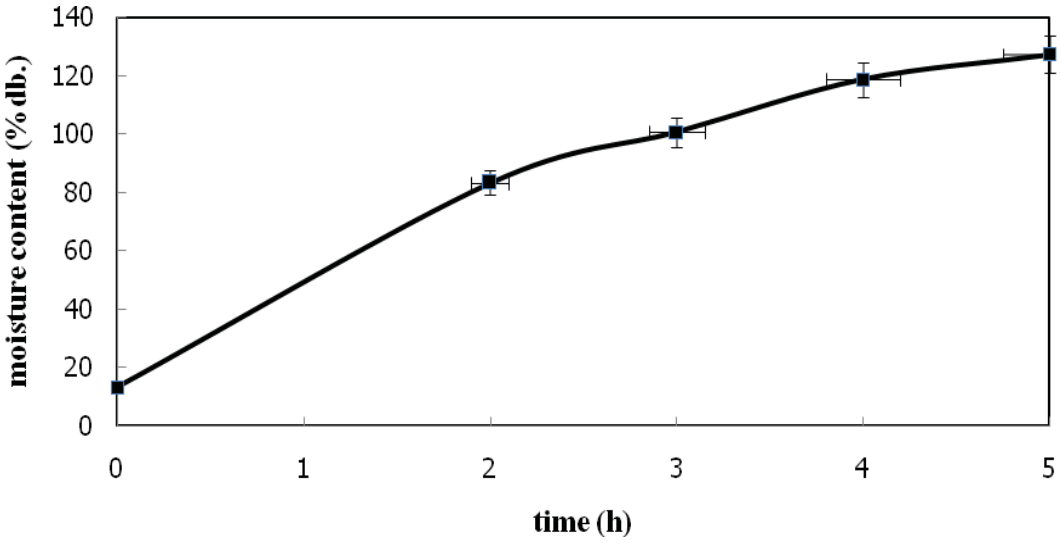
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1.กระบวนการงอกถั่วเหลือง

4.1.1 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของถั่วเหลืองเริ่มงอก

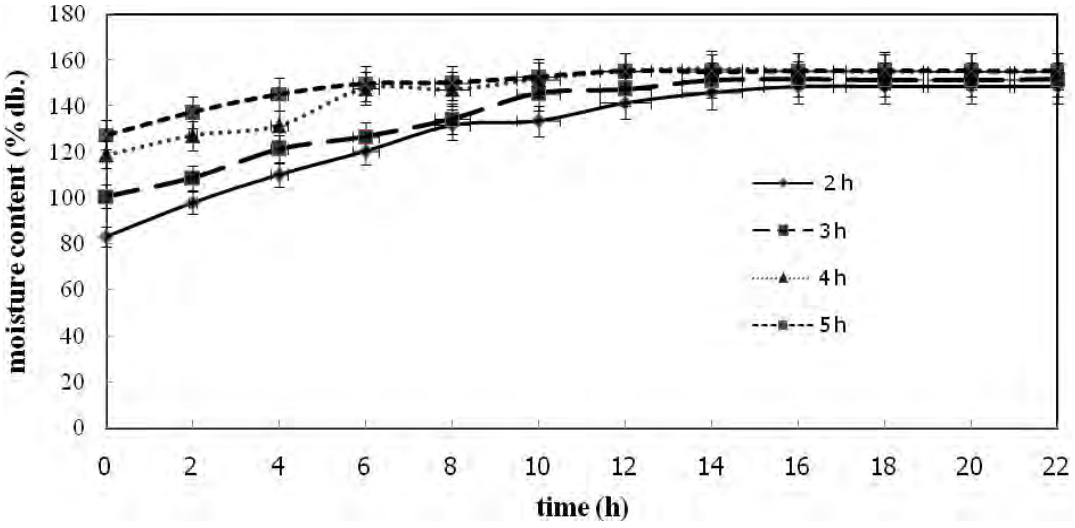
ภาพที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงความชื้นภายในเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ที่อุณหภูมิห้อง จากการทดลองพบว่าถั่วเหลืองมีอัตราการดูดซับน้ำที่รวดเร็วในช่วง 1–2 ชั่วโมงแรก และค่อยเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากปริมาณน้ำภายในเมล็ดและภายนอกเมล็ดมีความแตกต่างกันมากในช่วงระยะแรก ส่งผลให้เมล็ดถั่วเหลืองสามารถดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณน้ำภายในและภายนอก อยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างกันมากนัก ทำให้อัตราการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของถั่วเหลืองในกระบวนการแช่

ภายหลังจากที่เมล็ดถั่วเหลืองได้ผ่านกระบวนการแช่น้ำ ได้นำเมล็ดถั่วเหลืองมาทำการงอกอากาศ โดยทำการพรมน้ำทุก ๆ 2 ชั่วโมงในอัตราที่เท่ากัน จนกระทั่งมีความยาว รากประมาณ 0.5–1.0 มิลลิเมตร ภาพที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงความชื้นภายในเมล็ดถั่วเหลืองเมื่อผ่าน

กระบวนการงอกอากาศ พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองมีอัตราการดูดซับน้ำ โดยเฉพาะถั่วเหลืองแช่น้ำ 2 และ 3 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 8 ชั่วโมงแรก ในขณะที่ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 และ 5 ชั่วโมงมีอัตราเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และเพิ่มขึ้นไปเรื่อยจนกระทั่งเริ่มคงที่ ที่งอกอากาศ 14 ชั่วโมง เป็นเช่นนี้เนื่องจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำนั้น เมื่อนำขึ้นจากน้ำผิวของเมล็ดถั่วเหลืองจะสัมผัสกับอากาศ ทำให้น้ำบางส่วนระเหยออกไป ในช่วงแรกชั่วโมงที่ทำการงอกอากาศเ มล็ดถั่วเหลืองมีการดูดซับน้ำที่อยู่ภายในผิวและสภาวะแวดล้อมเข้าไปภายในให้ได้มากที่สุด



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงความชื้นถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำในกระบวนการงอกอากาศ

การทดลองครั้งนี้เลือกช่วงการงอกถั่วเหลืองโดยดูระยะความยาวรากประมาณ 0.5–1.0 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 5 ผลการทดลองจากตารางพบว่าถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงมีช่วงเวลาการงอกไม่แตกต่างกับถั่วเหลืองแช่น้ำ 5 ชั่วโมงมากนัก แต่ระยะเวลารวมการงอกของถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงเร็วกว่าจึงทำการเลือกถั่วเหลือง 4 ชั่วโมงทำการทดลองต่อไป

ตารางที่ 5 ระยะเวลาการงอกของถั่วเหลืองแช่น้ำที่ชั่วโมงต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ระยะเวลางอกอากาศ (ชั่วโมง)	ระยะเวลางอกรวม (ชั่วโมง)
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 2 ชั่วโมง	21-23	23-25
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 3 ชั่วโมง	20-22	23-25
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	18-20	22-24
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 5 ชั่วโมง	18-20	23-25

4.2 การนึ่งถั่วเหลืองเริ่มงอก

การนึ่งเป็นการทำให้อาหารสุกโดยการให้ความร้อนผ่านไอน้ำ โดยไอน้ำที่ได้เกิดจากการต้มน้ำให้เดือด อุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 100 องศาเซลเซียส สามารถคงความชื้นไว้ในอาหารได้ดี การนึ่งยังสามารถช่วย ลดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลได้ดีกว่าผ่านการต้มหรือไมโครเวฟ (Vallejo และคณะ, 2003)

4.2.1 คุณภาพทางเคมี

4.2.1.1 Isoflavones

ภาพที่ 7 แสดงโครมาโตแกรมขอ ง isoflavones ตัวอย่างถั่วเหลือง และตารางที่ 6 แสดงปริมาณสาร isoflavones ของถั่วเหลืองเริ่มที่ผ่านการนึ่งในเวลา ที่ต่างกัน จากตารางพบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงมีปริมาณ isoflavones เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบ โดยมีปริมาณ daidzein, gensitein และ total isoflavones อยู่ที่ 4.84, 4.07 และ 8.91 mg/100 g dry weight ตามลำดับ เมื่อถั่วเหลืองผ่านแช่น้ำปริมาณ daidzein และ gensitein มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากถั่วเหลืองดิบ อาจมาจากเมื่อถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำเกิดการสลายฟอร์มของอนุพันธ์

glucosides บางส่วนด้วยกระบวนการ deglycosylation มาเป็นฟอร์ม aglycones เมื่อถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำแล้ว ปริมาณ isoflavones มีค่าเพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองดิบ (ณัฐนันท์ วิเศษสุภมิตร และคณะ, 2547)

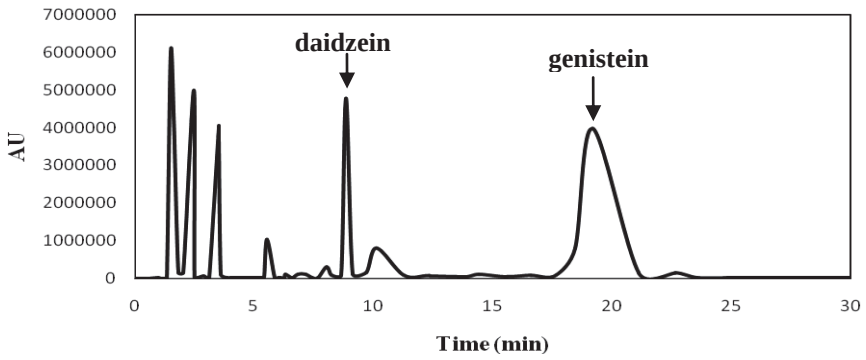
เมื่อถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณ isoflavones เพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการงอกเพิ่มขึ้น ในขั้นตอนกระบวนการงอกของถั่วเหลืองจะเกิดกระบวนการสลายสารอาหารที่เก็บสะสมในเมล็ด เพื่อนำพลังงานและสารตัวกลางที่ได้นำไปใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบต่าง ๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของต้นอ่อน อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการงอกเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเวลาผ่านไปถึงจุดหนึ่งจะคงที่และค่อย ๆ ลดลง และการเพิ่มขึ้นของปริมาณ isoflavones อาจเกิดจาก metabolic pathway ของ naringenin chalcone และ isoliquiritigenin (Liu และคณะ, 2002) และจากผลการทดลองพบว่าตามถั่วเหลืองที่ผ่านการงอกอากาศ 21 ชั่วโมง ปริมาณ isoflavones มีค่าลดลง อาจมาจากสารอาหารที่ผลิตได้ถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนของถั่วเหลือง ทำให้สารอาหารที่สำคัญภายในเมล็ดมีปริมาณน้อยลงมีผลปริมาณ isoflavones จึงมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhu และคณะ (2005) พบว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์ *Hutcheson* และ *Caviness* มีความยาว hypocotyls 0.5 mm มีปริมาณ daidzein 0.016 และ 0.012 mg/g flour ตามลำดับ และมีปริมาณ gensitein 0.009 และ 0.008 mg/g flour ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านระยะนี้ไปแล้ว daidzein และ gensitein มีค่าลดลง ในขั้นตอนการงอก physiological มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ daidzein และ gensitein มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น จากขั้นตอนการงอกอากาศนำถั่วเหลืองที่ผ่านการงอกอากาศชั่วโมงที่ 15, 17, 19 และ 21 ทำการทดลองโดยนำไปผ่านการนึ่ง

จากตารางที่ 6 ผลการทดลองถั่วเหลืองงอกอากาศที่ผ่านการนึ่งที่เวลาต่าง ๆ ถั่วเหลืองงอกอากาศ 15 ชั่วโมงที่ผ่านการนึ่งที่เวลา 10-40 นาที พบว่าถั่วเหลืองงอกอากาศ 15 ชั่วโมงเมื่อผ่านการนึ่งปริมาณ daidzein และ genistein มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการนึ่งเพิ่มขึ้น ซึ่งถั่วเหลืองผ่านการงอกอากาศ 17 ชั่วโมงที่ผ่านการนึ่งที่เวลา 10–40 นาทีมีผลการทดลองเหมือนกัน ซึ่งเมื่อถั่วเหลืองผ่านการงอกอากาศผ่านขั้นตอนการนึ่งนั้น ความร้อนจากการนึ่งกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอนุพันธุ์ในกลุ่ม acetyl glycoside และ malonyl glycoside เป็นอนุพันธ์ในกลุ่ม

aglycones และ glycoside ที่สามารถตรวจวัดได้ (ณัฐนันท์ วิเศษสุภมิตรและคณะ, 2547) เมื่อใช้เวลาการนึ่งนานขึ้นและอุณหภูมิที่ใช้เพิ่มมากขึ้น ปริมาณ isoflavones เพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย

ในขณะที่ถั่วเหลืองผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที ปริมาณ daidzein และ gensitein เพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองงอกอากาศ 19 ชั่วโมงที่ไม่ผ่านการนึ่งเล็กน้อย โดย daidzein เพิ่มขึ้น 1.02 เท่า และ gensitein เพิ่มขึ้น 1.14 เท่า แต่เมื่อเวลาการนึ่งเพิ่มขึ้นกลับ พบว่าปริมาณ daidzein และ gensitein ลดลง และถั่วเหลืองผ่านการงอกอากาศ 21 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง พบว่าปริมาณ daidzein และ gensitein มีค่าลดลงทุกเวลาการนึ่ง เมื่อการผ่านนึ่งมีปริมาณ isoflavones ลดลงอาจเนื่องมากจากอนุพันธ์ของ isoflavones บางอนุพันธ์มีความชอบน้ำ สามารถละลายน้ำได้ดี (Chang และ Nair, 1995) อาจจะละลายไปกับไอน้ำจากการนึ่งเป็นสาเหตุให้ปริมาณ isoflavones มีค่าลดลง

ผลการทดลองข้างต้นได้ทำการเลือกชั่วโมงการงอกที่ 19 ผ่านการนึ่ง 10 นาที ทำการทดลองในการอบแห้งด้วยวิธีการคั่วและเทคนิคฟลูอิไดเซชันเบดแบบลมร้อนต่อไป การเลือกตัวอย่างในการทดลองครั้งนี้โดยดูระยะเวลารวมทั้งหมดที่ใช้ในการงอก การนึ่งและปริมาณ isoflavones เป็นเกณฑ์ โดยพบว่าชั่วโมงการงอกที่ 19 มีความยาวของ hypocotyl ประมาณ 0.5–1.0 มิลลิเมตร เมื่อผ่านการนึ่งปริมาณ isoflavones มีค่าไม่แตกต่างกับการงอกอากาศชั่วโมงที่ 15 และ 17 ผ่านการนึ่ง 20 นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อดูระยะเวลาการนึ่งถั่วเหลืองผ่านการงอกอากาศชั่วโมงที่ 19 ใช้ระยะเวลาการนึ่งสั้นกว่าการงอกอากาศชั่วโมงที่ 15 และ 17 ทำให้เลือกชั่วโมงการงอกที่ 19 และผ่านการนึ่ง 10 นาที



ภาพที่ 7 โครมาโตแกรมของ isoflavones ตัวอย่างถั่วเหลืองงอกอากาศ 19 ชั่วโมง

ตารางที่ 6 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองเริ่มงอกอากาศที่ชั่วโมงต่าง ๆ ผ่านการนึ่ง

ตัวอย่าง	นึ่ง (นาที)	isoflavones(mg/100 g dry weight) daidzein	genistein	total
ถั่วเหลืองดิบ	0	4.23±0.03^{h}	3.65±0.03^{f}	7.88±0.01^{l}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0	4.84±0.08^{g}	4.07±0.04^{h}	8.91±0.20^{k}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 15 ชั่วโมง	0	6.73±0.33^{e}	6.60±0.16^{d}	13.30±0.43^{h}
	10	7.23±0.11^{d}	7.30±0.04^{b}	14.53±0.14^{de}
	20	7.54±0.09^{b}	7.50±0.14^{ab}	15.04±0.23^{c}
	30	7.77±0.04^{a}	7.62±0.16^{a}	15.39±0.17^{a}
	40	7.80±0.12^{a}	7.60±0.08^{a}	15.40±0.18^{a}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 17 ชั่วโมง	0	7.19±0.07^{de}	7.06±0.01^{c}	14.25±0.06^{f}
	10	7.32±0.06^{c}	7.12±0.17^{bc}	14.44±0.11^{e}
	20	7.40±0.14^{c}	7.20±0.06^{bc}	14.60±0.19^{d}
	30	7.69±0.04^{ab}	7.51±0.09^{ab}	15.20±0.05^{b}
	40	7.70±0.05^{a}	7.49±0.12^{ab}	15.19±0.16^{b}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	0	7.23±0.05^{d}	6.46±0.20^{e}	13.68±0.25^{g}
	10	7.35±0.08^{c}	7.38±0.36^{b}	14.73±0.42^{d}
	20	7.20±0.44^{de}	6.48±0.11^{e}	13.68±0.51^{g}
	30	6.83±0.21^{e}	6.18±0.56^{g}	13.01±0.77^{ij}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 21 ชั่วโมง	0	7.10±0.12^{e}	7.04±0.09^{c}	14.14±0.13^{f}
	10	6.83±0.16^{e}	6.38±0.21^{e}	13.21±0.37^{i}
	20	6.74±0.16^{e}	6.38±0.17^{e}	13.12±0.28^{i}
	30	6.62±0.09^{f}	6.30±0.05^{f}	12.92±0.13^{j}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.1.2 Total phenolic content (TPC)

จากผลการทดลองในตารางที่ 7 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของถั่วเหลืองดิบมีค่า 0.19 mg GAE/g dry weight เมื่อถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมง มีค่า 0.23 mg GAE/g dry weight โดยเพิ่มเล็กน้อยเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบ ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงมีค่าเพิ่มเป็น 0.36 mg GAE/g dry weight ถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารอาหารภายในเมล็ดมีการเปลี่ยนเป็นสารที่สำคัญและรวมทั้ง สารประกอบบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สามารถป้องกันอันตรายจากสารอนุมูลอิสระได้ (Bau และคณะ, 1997) จากผลการทดลองเมื่อถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณ isoflavones สูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นเมื่อถั่วเหลืองผ่านการงอกเช่นเดียวกัน และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.36 mg GAE/g dry weight ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง

4.2.1.3 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ปริมาณ FRAP ในหน่วย μmolFeSO$_4$/g dry weight แสดงในตารางที่ 7 พบว่าปริมาณ FRAP ถั่วเหลืองดิบมีค่า 0.75 μmolFeSO$_4$/g dry weight เมื่อถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงมีค่า 0.81 μmolFeSO$_4$/g dry weight ซึ่งมีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบ ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงมีปริมาณ FRAP เพิ่มขึ้นมีค่า 1.32 μmol FeSO$_4$/g dry weight ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาทีมีปริมาณ FRAP 1.88 μmol FeSO$_4$/g dry weight จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อถั่วเหลืองผ่านการงอกส่งผลให้ปริมาณ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน

4.2.1.4 DPPH radical scavenging activity

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จากตารางที่ 7 แสดงค่า %inhibition DPPH˙ จากผลการทดลองพบว่าถั่วเหลืองดิบ %inhibition DPPH˙ อยู่ที่ 34.26% ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมง %inhibition DPPH˙ เพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองดิบเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ที่ 35.52% ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง %inhibition DPPH˙ อยู่ที่ 42.60% และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านนึ่ง 10 นาทีมีค่า %inhibition DPPH˙ อยู่ที่ 44% จากวิจัย McCue และ Shetty (2004) ทำการงอกถั่วเหลืองพบว่าค่า %inhibition DPPH˙ มีผลสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อถั่วเหลืองผ่านการงอกปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้น %inhibition DPPH˙ เพิ่มขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน และงานวิจัยของ Lopez-Amoros และคณะ (2006) ทำการศึกษา antioxidant activity โดยวิธี free radical scavenging capacity แสดงค่าเป็น IC_{50} ของถั่วที่ผ่านการงอก พบว่า antioxidant activity (IC_{50}) ของถั่วเมื่อผ่านการงอกมีค่าสูงกว่าถั่วเหลืองดิบ

ตารางที่ 7 ปริมาณ Total phenolic content, FRAP value และ % Inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ

ตัวอย่าง	TPC (mg GAE/g)	FRAP (μmol $FeSO_4$/g)	inhibition DPPH (%)
ถั่วเหลืองดิบ	0.19±0.13[c]	0.75±0.27[c]	34.26±0.12[d]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0.23±0.02[b]	0.81±0.03[c]	35.52±0.05[c]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	0.36±0.03[a]	1.32±0.20[b]	42.60±0.39[b]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	0.36±0.01[a]	1.88±0.10[a]	44.00±0.29[a]

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2.5 Urease Activity

ในกระบวนการงอกของถั่วเหลืองมีการสร้างสารขัดขวางทางโภชนาการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเอนไซม์ยูรีเอส สามารถวัดได้โดยดูค่า urease activity โดยสารยับยั้งทริปซินจะมีอัตราการสลายตัวใกล้เคียงกับเอนไซม์ยูรีเอส (Albrecht และคณะ, 1966) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยูเรียกับเอนไซม์ยูรีเอสในถั่วเหลือง ปริมาณก๊าซแอมโมเนียที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสที่มีอยู่ในถั่วเหลือง ค่า urease activity (ΔpH) ที่ยอมรับได้สำหรับอุตสาหกรรมอาหารสัตว์อยู่ในช่วง 0.02–0.30 (Ward, 1996) จากตารางที่ 8 ถั่วเหลืองดิบและผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมง มีค่า ΔpH เท่ากับ 2.26 เมื่อถั่วเหลืองผ่าน การแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงมีค่า ΔpH เท่ากับ 2.33 เมื่อการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงและนึ่ง 10 นาที พบว่ามีค่า ΔpH ลดลงเท่ากับ 1.88 จากผลการทดลองถั่วเหลืองดิบ ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมง และถั่วเหลืองการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมง มีค่า ΔpH สูงกว่าเกณฑ์การยอมรับ เนื่องจากกระบวนการงอกของถั่วเหลืองมีการสร้างสารขัดขวางทางโภชนาการเพิ่มขึ้น (ดุจฤทัย เชาวะวณิช, 2536) เมื่อถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกอากาศทำให้ค่า ΔpH เกินเกณฑ์การยอมรับ แต่เมื่อถั่วเหลืองงอกที่ผ่านการนึ่งมีค่า ΔpH ลดลงแต่ยังมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ เนื่องจากเอนไซม์ยูรีเอสสามารถสลายตัวหรือสูญเสียเมื่อได้รับ ความร้อนที่เหมาะสม (ปิยนันท์ อึ้งทรงธรรม, 2553) ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ระยะเวลาการนึ่งสั้น อาจยังไม่เพียงพอต่อการลดเอนไซม์ยูรีเอสให้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับทางอุตสาหกรรมได้

ตารางที่ 8 ค่าความแตกต่างความเป็นกรดด่าง (ΔpH) ของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ΔpH
ถั่วเหลืองดิบ	2.26±0.20[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	2.26±0.26[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	2.33±0.13[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	1.88±0.01[b]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2.5 Protein Content

ถั่วเหลืองเมื่อผ่านกระบวนการงอก มีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารภายใน โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีการสร้างโปรตีน แร่ธาตุ วิตามินหลายชนิดและสารประกอบบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Bau และคณะ, 1997) จากการทดลองถั่วเหลืองดิบมีปริมาณโปรตีน 38.52% ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองดิบเพียงเล็กน้อย ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที พบว่าปริมาณโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองดิบโดยอยู่ในช่วง 40.18–40.25% (ตารางที่ 9) จากผลการทดลองเมื่อถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกสารอาหารภายในเมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารภายในเพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อถั่วเหลืองผ่านการนึ่งปริมาณโปรตีนมีค่าไม่แตกต่างกับถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกอากาศเนื่องจากการนึ่งใช้ระยะเวลาสั้น โปรตีนยังไม่ถูกทำลายหรือทำให้เสียสภาพได้ โดยทั่วไปโปรตีนภายในเมล็ดถั่วเหลืองมีประมาณร้อยละ 37-45 (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2534)

ตารางที่ 9 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ

ตัวอย่าง	โปรตีน(%)
ถั่วเหลืองดิบ	38.52±0.13[b]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	39.87±0.26[ab]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	40.18±0.22[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	40.25±0.17[a]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

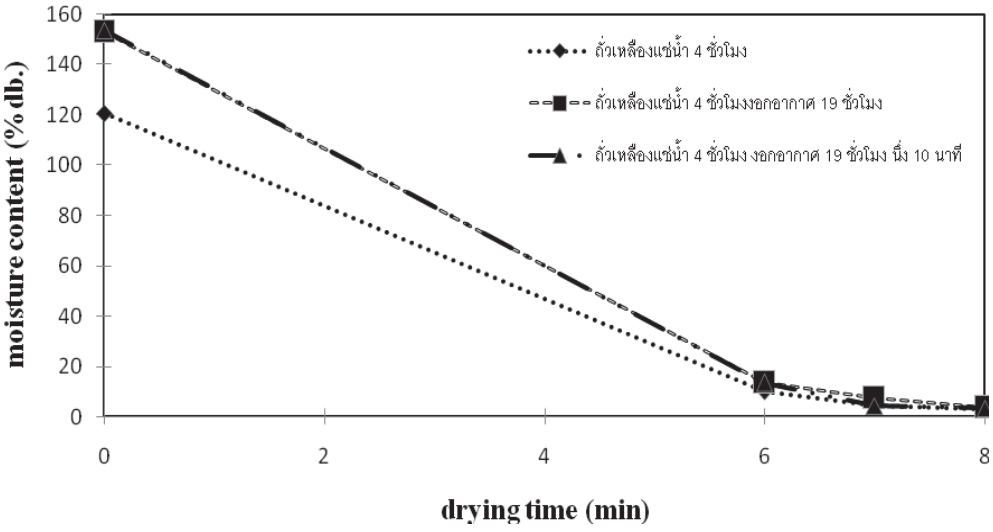
4.3 การคั่วถั่วเหลือง

4.3.1 การคั่วถั่วเหลืองต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้น

จากตารางที่ 10 ผลการทดลองการคั่วถั่วเหลืองผ่านแช่น้ำ 4 ชั่วโมง ถั่วเหลืองผ่านแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง และถั่วเหลืองผ่านแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที เมื่อผ่านคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที พบว่าความชื้นลดลงจากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการคั่วอย่างรวดเร็วโดยแสดงดังภาพที่ 8 การคั่วคือการให้ความร้อนแก่เมล็ดถั่วเหลืองโดยตรง อุณหภูมิที่ใช้ในการคั่วประมาณ 200 องศาเซลเซียส ซึ่งภายในเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแช่น้ำ การงอก และการนึ่งมีปริมาณน้ำและความชื้นภายในเมล็ดเมื่อได้รับความร้อนจากการคั่วทำให้น้ำภายในเมล็ดระเหยออกอย่างรวดเร็ว

ตารางที่ 10 ความชื้นถั่วเหลืองที่ผ่านการรคั่วที่เวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	ความชื้นหลังการคั่ว (% db.)
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0	120.53
	6	10.23
	7	4.48
	8	3.11
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	0	153.01
	6	13.39
	7	7.42
	8	3.65
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	0	153.47
	6	13.39
	7	4.39
	8	3.33



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงความชื้นถั่วเหลืองผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ

4.3.2 คุณภาพทางเคมี

4.3.2.1 Isoflavones

ผลการทดลองในตารางที่ 11 ถึงตารางที่ 13 แสดงปริมาณ isoflavones พบว่าปริมาณ isoflavones ของถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ ผ่านกระบวนการงอก และการนึ่งหลังผ่านการคั่วมีค่าเพิ่มขึ้น Coward และคณะ (1998) ได้รายงานว่าอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่มากเกินพอจะมีผลให้ปริมาณ aglycones มีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง โดย daidzein และ genistein เป็นอนุพันธ์ในกลุ่ม aglycones จากผลการทดลองพบว่า ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง และถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง ผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงและนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที ปริมาณ daidzein และ gensitein เพิ่มเมื่อเวลาการคั่วเพิ่มขึ้น และผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัย Lee และ Lee (2009) ได้คั่วถั่วเหลืองที่เวลา 0, 7, 14 และ 21 นาที พบว่าเมื่อถั่วเหลืองผ่านการคั่วอนุพันธ์ aglycones มีค่าเพิ่มมากขึ้น การคั่วที่เวลา 21 นาที อนุพันธ์ aglycones มีค่าเพิ่มจาก 3.26% เป็น 12.04% จากผลการทดลอง aglycones มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อผ่านการคั่ว เนื่องจากความร้อนที่ได้จากการคั่วมีผลให้เกิดการเปลี่ยนฟอร์มจาก malony–β–glucosides และ

acetyl-β–glucosides ด้วยกระบวนการ decarboxylation มาเป็น aglycones ซึ่งเป็นผลให้ aglycones มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อผ่านการคั่ว (Coward และคณะ, 1998)

ตารางที่ 11 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงที่ผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	Isoflavones (mg/g 100 dry weight)		
		daidzein	genistein	total
ถั่วเหลืองดิบ	0	6.02±0.03^{c}	3.42±0.03^{e}	9.44±0.01^{b}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0	6.20±0.08^{c}	4.07±0.04^{d}	10.26±0.20^{b}
	6	15.84±0.13^{b}	14.63±0.13^{c}	30.47±0.26^{a}
	7	15.95±0.06^{ab}	15.20±0.04^{b}	31.15±0.10^{a}
	8	16.13±0.16^{a}	15.89±0.16^{a}	32.01±0.31^{a}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 12 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	Isoflavones (mg/g 100 dry weight)		
		daidzein	genistein	total
ถั่วเหลืองดิบ	0	6.02±0.03^{d}	3.42±0.03^{e}	9.44±0.01^{e}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง งอกอากาศ 19 ชั่วโมง	0	15.02±0.05^{c}	12.14±0.20^{d}	27.16±0.25^{d}
	6	16.25±0.17^{b}	15.41±0.20^{c}	31.66±0.04^{c}
	7	18.04±0.17^{a}	17.35±0.25^{b}	35.40±0.11^{b}
	8	18.34±0.11^{a}	18.34±0.13^{a}	36.69±0.15^{a}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 13 ปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองผ่านการนึ่ง 10 นาทีที่ผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	Isoflavones (mg/g 100 dry weight) daidzein	genistein	total
ถั่วเหลืองดิบ	0	6.02±0.03[e]	3.42±0.03[d]	9.44±0.01[e]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง งอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	0	15.17±0.08[d]	13.67±0.36[c]	28.84±0.42[d]
	6	18.26±0.17[c]	16.67±0.21[b]	34.93±0.37[c]
	7	18.79±0.22[b]	17.33±0.22[a]	36.12±0.21[b]
	8	19.46±0.09[a]	17.57±0.10[a]	37.03±0.09[a]

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2.2 Total phenolic content (TPC)

จากผลการทดลองในตารางที่ 14 ถึงตารางที่ 16 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.23 เป็น 0.36, 0.38 และ 0.39 mg GAE/g dry weight ตามลำดับ ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.36 เป็น 0.38, 0.43 และ 0.44 mg GAE/g dry weight ตามลำดับ และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงและนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.36 เป็น 0.39, 0.43 และ 0.46 mg GAE/g dry weight ตามลำดับ โดยพบว่าการคั่ว 8 นาทีมีค่าสูงสุดทุกกรณี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการคั่วเพิ่มขึ้น เนื่องจากความร้อนที่ได้จากการอบแห้งทำลายพันธะเคมีของโพลีฟีนอลภายในเมล็ดถั่ว ทำให้สารประกอบฟีนอลิคหลุดออกจาก glycoside phenylpropanoid esters มากขึ้น และ phytochemicals มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งสาร phytochemicals มีองค์ประกอบเป็นสารฟีนอล (Dewanto และคณะ, 2002) จึงทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นเมื่อผ่านการคั่ว และผลการทดลองสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Kim และคณะ (2011) พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าสูงสุดผ่านการคั่ว 250

องศาเซลเซียส ที่ 30 นาที (9.26 mg/g) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเมื่อผ่านการคั่ว 250 องศาเซลเซียส ที่ 34 นาที

4.3.2.3 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ปริมาณ FRAP ในหน่วย μmol $FeSO_4$/g dry weight แสดงในตารางที่ 14 ถึงตารางที่ 16 พบว่าปริมาณ FRAP ของถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.81 เป็น 1.39, 1.53 และ 1.63 μmol $FeSO_4$/g dry weight ตามลำดับ ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีปริมาณ FRAP เพิ่มขึ้นจาก 1.32 เป็น 2.39, 2.74 และ 2.78 μmol $FeSO_4$/g dry weight ตามลำดับ และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง และนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีปริมาณ FRAP เพิ่มขึ้นจาก 1.88 เป็น 2.44, 2.77 และ 2.85 μmol $FeSO_4$/g dry weight ตามลำดับ เมื่อผ่านการคั่วพบว่าที่เวลาคั่ว 8 นาที มีค่าสูงสุดทุกกรณี FRAP เป็นวิธีหา total antioxidant โดยอาศัยปฏิกิริยา Fe^{3+}-TPTZ ถูกรีดิวซ์จะเกิดเป็น Fe^{2+}-TPTZ ถ้าเกิด Fe^{2+}-TPTZ มากแสดงว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Benzie และ Strain, 1996) และจากการทดลองเมื่อถั่วเหลืองผ่านคั่วมีปริมาณ FRAP เพิ่มขึ้นนั้น Murphy และคณะ (2002) อธิบายไว้ว่ากระบวนการให้ความร้อนโดยวัตถุดิบมีความชื้นหรือน้ำภายในเป็นองค์ประกอบ จะมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารภายใน เช่น phytochemicals (isoflavones) และสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณที่สูงขึ้น โดยสารเหล่านี้มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ส่งให้ผลให้ปริมาณ FRAP มีค่าเพิ่มมากขึ้น

4.3.2.4 DPPH radical scavenging activity

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จากตารางที่ 14 ถึงตารางที่ 16 พบว่า ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ เพิ่มขึ้นจาก 35.52 เป็น 44.09, 44.82 และ 51.30% ตามลำดับ ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ เพิ่มขึ้นจาก 42.60 เป็น 80.56, 85.34 และ 86.23% ตามลำดับ

และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านและนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีค่า %inhibition DPPH˙ เพิ่มขึ้นจาก 44.00 เป็น 80.64, 86.12 และ 89.80% ตามลำดับ และงานวิจัยของ Kim และคณะ (2011) พบว่าการคั่วถั่วเหลืองที่ 250 องศาเซลเซียส ที่เวลา 26, 30 และ 34 นาที มีค่า %inhibition DPPH˙ 52.30, 58.61 และ 55.98% ตามลำดับ จากการผลการทดลองเมื่อเวลาการคั่วเพิ่มมากขึ้น ค่า %inhibition DPPH˙ ก็เพิ่มมากขึ้น ซึ่งถั่วเหลืองเมื่อผ่านการคั่ว %inhibition DPPH˙ มีค่าเพิ่มขึ้นเนื่องจากความร้อนจากการคั่วส่งผลให้มีการเพิ่ม antioxidant activity จากกระบวนการ maillard (Lee และ Lee, 2009) ทำให้ปริมาณความสามารถในการต้านทานอนุมูลอิสระมีค่าสูงขึ้น และแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการคั่วมีผลต่อมีค่า %inhibition DPPH˙ ของถั่วเหลือง

ตารางที่ 14 ปริมาณ Total phenolic content, FRAP value และ % Inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำที่ผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	การคั่ว (นาที)	TPC (mg GAE/g)	FRAP (μmol $FeSO_4$/g)	inhibition DPPH (%)
ถั่วเหลืองดิบ	0	0.19±0.13^{d}	0.75±0.27^{e}	34.26±0.12^{d}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0	0.23±0.02^{c}	0.81±0.03^{d}	35.52±0.05^{d}
	6	0.36±0.06^{b}	1.39±0.07^{c}	44.09±0.37^{c}
	7	0.38±0.03^{a}	1.53±0.14^{b}	44.82±0.18^{b}
	8	0.39±0.06^{a}	1.63±0.23^{a}	51.30±0.21^{a}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 15 ปริมาณ Total phenolic content, FRAP value และ % Inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงที่ผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	การคั่ว (นาที)	TPC (mg GAE/g)	FRAP (μmol $FeSO_4$/g)	inhibition DPPH (%)
ถั่วเหลืองดิบ	0	0.19±0.13^{d}	0.75±0.27^{e}	34.26±0.12^{d}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง งอกอากาศ 19 ชั่วโมง	0	0.36±0.03^{c}	1.32±0.20^{c}	42.60±0.39^{d}
	6	0.38±0.02^{c}	2.39±0.51^{b}	80.56±0.17^{c}
	7	0.43±0.06^{b}	2.74±0.12^{a}	85.34±0.17^{b}
	8	0.44±0.07^{a}	2.78±0.16^{a}	86.23±0.14^{a}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 16 ปริมาณ Total phenolic content, FRAP value และ % Inhibition DPPH radical ของถั่วเหลืองผ่านการนึ่ง 10 นาทีที่ผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	การคั่ว (นาที)	TPC (mg GAE/g)	FRAP (μmol $FeSO_4$/g)	inhibition DPPH (%)
ถั่วเหลืองดิบ	0	0.19±0.13^{d}	0.75±0.27^{e}	34.26±0.12^{e}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง งอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	0	0.36±0.01^{d}	1.88±0.10^{d}	44.00±0.29^{d}
	6	0.40±0.01^{c}	2.44±0.44^{c}	80.64±0.18^{c}
	7	0.43±0.02^{b}	2.77±0.26^{b}	86.12±0.09^{b}
	8	0.46±0.06^{a}	2.85±0.06^{a}	89.80±0.18^{a}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2.5 Urease Activity

จากตารางที่ 17 ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที มีค่า ΔpH ลดลงจาก 2.26 เหลือ 0.04, 0.03 และ 0.01 ตามลำดับ ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีค่า ΔpH ลดลงจาก 2.33 เหลือ 0.02 ทุกเวลาการคั่ว และถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19

ชั่วโมงและการนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีมีค่า ΔpH ลดลงจาก 1.88 เหลือ 0.02, 0.02 และ 0.01 ตามลำดับ เมื่อถั่วเหลืองผ่านการคั่ว ความร้อนที่ได้จากการคั่วมีผลให้ทำลายเอนไซม์ยูรีเอสโดยมีค่า ΔpH ลดลงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับทางอุตสาหกรรม (Stewart และคณะ, 2003) อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่าค่า ΔpH ต่ำกว่าเกณฑ์ คือมีค่า ΔpH 0.01 โดยค่า ΔpH ลดลงเกินช่วงการยอมรับทางอุตสาหกรรมอาจเกิดจากโปรตีนบางส่วนในเมล็ดเกิดการสลายตัวหรือเกิดการเปลี่ยนฟอร์มเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งเอนไซม์ยูรีเอสมีองค์ประกอบโปรตีนเป็นหลัก อาจเป็นสาเหตุให้ค่า ΔpH ลดลงเกินเกณฑ์การยอมรับ (สุกัญญา จัตตุพรพงษ์, 2539)

ตารางที่ 17 ค่าความแตกต่างความเป็นกรดด่าง (ΔpH) ของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว(นาที)	ΔpH
ถั่วเหลืองดิบ	-	2.26±0.20[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0	2.26±0.26[a]
	6	0.04±0.02[c]
	7	0.03±0.01[c]
	8	0.01±0.10[c]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากศ 19 ชั่วโมง	0	2.33±0.13[a]
	6	0.02±0.01[c]
	7	0.02±0.01[c]
	8	0.02±0.01[c]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	0	1.88±0.01[b]
	6	0.02±0.01[c]
	7	0.02±0.01[c]
	8	0.01±0.01[c]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2.5 Protein Content

ตารางที่ 18 ถึงตารางที่ 20 แสดงปริมาณโปรตีนหลังผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ จากการทดลองถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีพบว่าปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 40.00–40.12% ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีพบว่าปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 40.11–40.16% และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงและนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาทีพบว่าปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 40.00–40.12% เมื่อผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ พบว่าปริมาณโปรตีนอยู่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองสะสมในเซลล์ของเนื้อเยื่อถั่วเหลืองที่เรียกว่า protein bodies หรือ storage protein (วันชัย จันทร์ประเสริฐ, 2538) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการคั่วจากการทดลองส่งผลต่อปริมาณโปรตีนภายในเมล็ดถั่วเหลืองแตกต่างเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 18 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำผ่านการคั่วเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	โปรตีน (%)
ถั่วเหลืองดิบ	-	38.52±0.13[b]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	0	39.87±0.26[ab]
	6	40.00±0.13[a]
	7	40.12±0.23[a]
	8	40.01±0.09[a]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 19 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอก 19 ชั่วโมงผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	โปรตีน(%)
ถั่วเหลืองดิบ	-	38.52±0.13[b]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง งอกอากาศ 19 ชั่วโมง	0	40.18±0.22[a]
	6	40.16±0.10[a]
	7	40.11±0.15[a]
	8	40.11±0.13[a]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 20 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการนึ่ง 10 นาทีผ่านการคั่วที่เวลาต่าง ๆ

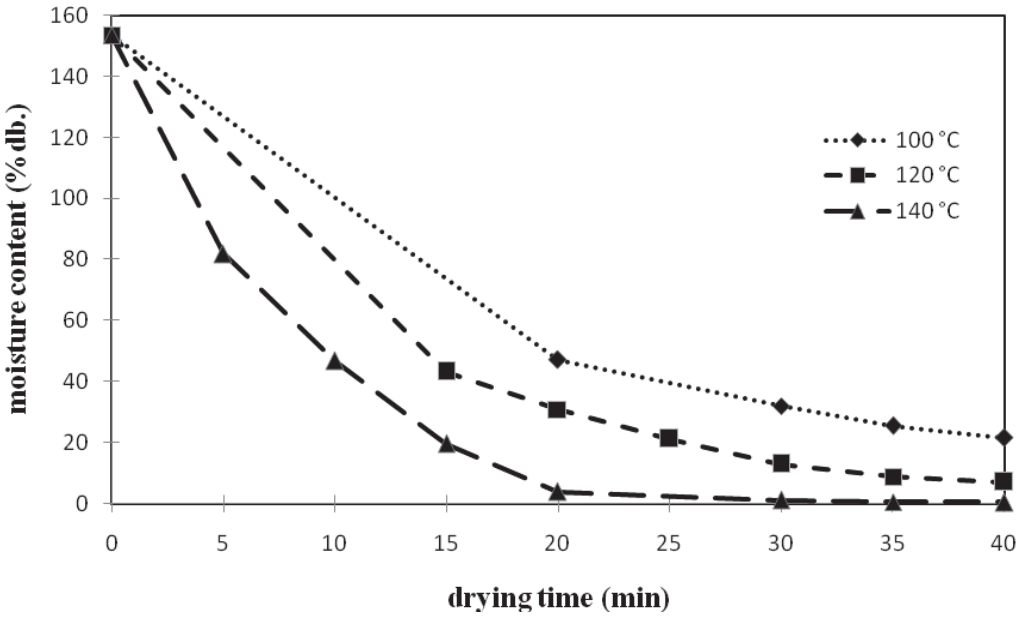
ตัวอย่าง	คั่ว (นาที)	โปรตีน(%)
ถั่วเหลืองดิบ	-	38.52±0.13[b]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง งอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	0	40.25±0.17[a]
	6	40.17±0.16[a]
	7	40.18±0.09[a]
	8	40.17±0.09[a]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4 การอบแห้งถั่วเหลืองด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบด แบบลมร้อน

4.4.1 จลนพลศาสตร์การอบแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นถั่วเหลือง

จากผลการทดลองการอบแห้งถั่วเหลืองเริ่มงอกอากาศ 19 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 10 นาที ที่มีความชื้น 153.58% db. ที่อุณหภูมิ 100, 120 และ 140 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 10 พบว่าการอบแห้งที่ระดับอุณหภูมิสูงใช้ระยะเวลาในการอบแห้งน้อยกว่าที่ ระดับอุณหภูมิต่ำ การเพิ่มขึ้นของอัตราการอบแห้งเกิดเนื่องมาจากความแตกต่างของอุณหภูมิเมล็ดกับอุณหภูมิในการอบแห้ง ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของความชื้นมีค่ามากขึ้นตามไปด้ว ยส่งผลให้สามารถระเหยน้ำออกจากวัตถุดิบได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องงานวิจัยของ Prachyawarakorn และคณะ (2006) ทำการศึกษาลักษณะการอบแห้งในถั่วเหลืองระหว่างลมร้อนแบบไอน้ำร้อนยวดยิ่ง ผลการทดลองพบว่าอัตราการอบแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการอบแห้ง อัตราการระเหยน้ำอบแห้งแบบลมร้อนมีค่าสูงแบบไอน้ำร้อนยวดยิ่ง จากผลการทดลองทำการเลือกความชื้นหลังการอบแห้งอยู่ที่ 19-21 %db. แต่ละอุณหภูมิไปทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี คือ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (เวลาอบแห้ง 35, 40 นาที) อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส (เวลาอบแห้ง 20, 25 นาที) และ อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส (เวลาอบแห้ง 10, 15 นาที)



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของถั่วเหลืองเริ่มงอกผ่านการนึ่งหลังอบแห้งอุณหภูมิต่าง ๆ

4.4.2 คุณภาพทางเคมี

4.4.2.1 Isoflavones

จากผลการทดลองในตารางที่ 21 แสดงปริมาณ isoflavones ตัวอย่างถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้ง โดย Lee และ Lee (2009) รายงานว่า Isoflavones มีความต้านทานความร้อนสูง ทนต่อการสลายตัวในระหว่างการอบแห้งได้ ความร้อนระหว่างการอบแห้งนั้นส่งผลให้ปริมาณ aglycones มีค่าเพิ่มขึ้น โดย daidzein และ genistein เป็นอนุพันธ์ในกลุ่ม aglycones จากผลการทดลองพบว่า daidzein และ genistein มีค่าเพิ่มขึ้น โดยที่เวลาการอบของอุณหภูมิต่าง ๆ (100, 120 และ 140 องศาเซลเซียส) มีค่าไม่แตกต่างกัน โดยปริมาณ daidzein และ genistein มีค่าอยู่ในช่วง 17.27–17.75 และ 16.97–17.85 mg/100 g dry weight ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Niamnuy และคณะ (2011) พบว่าปริมาณ isoflavones มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นระหว่างการอบแห้ง โดยอนุพันธ์ malony–β–glucosides และ acetyl-β–glucosides มีค่าลดลง ส่วน β–glucosides และ aglycones มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนรูปร่างระหว่างกระบวนการอบแห้ง จาก malony–β–glucosides เป็น acetyl-β–glucosides และเปลี่ยนจาก β-glucosides เป็น aglycones โดยความร้อนกระตุ้นปฏิกิริยา deesterification ให้มีอัตราการสลาย glucoside ที่สูงขึ้น จึงส่งผลให้ 2 อนุพันธ์มีค่าเพิ่มขึ้นหลังผ่านการอบแห้ง (Zhu และคณะ, 2005)

ตารางที่ 21 แสดงปริมาณ isoflavones ถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่าง	อบแห้ง (นาที)	moisture (% db.)	isoflavones(mg/ 100 g dry weight) daidzein	genistein	total
ถั่วเหลืองดิบ	-	13.17	4.23±0.03[d]	3.65±0.03[e]	7.88±0.01[d]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	-	120.53	4.84±0.08[d]	4.07±0.04[e]	8.91±0.20[d]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	-	153.01	7.23±0.05[c]	6.46±0.20[d]	13.68±0.25[c]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	-	153.58	7.35±0.08[c]	7.38±0.36[c]	14.73±0.42[c]
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	35	25.52	17.41±0.13[a]	16.97±0.18[b]	34.37±0.26[b]
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	40	21.54	17.73±0.10[a]	17.72±0.07[a]	35.45±0.06[a]
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	20	30.80	17.39±0.36[a]	17.34±0.29[a]	34.72±0.32[b]
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	25	21.08	17.78±0.10[a]	17.73±0.11[a]	35.51±0.04[a]
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	10	46.72	17.27±0.06[a]	17.47±0.24[a]	34.74±0.19[b]
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	15	19.50	17.75±0.19[a]	17.85±0.13[a]	35.60±0.25[a]

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.2.2 Total phenolic content (TPC)

จากผลการทดลองตารางที่ 22 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของถั่วเหลืองเมื่อผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ (100, 120 และ 140 องศาเซลเซียส) มีค่าเพิ่มจากถั่วเหลืองงอกอากาศที่ผ่านการนึ่ง 10 นาที จาก 0.36 mg GAE/g dry weight เป็น 0.42, 0.43 และ 0.43 mg GAE/g dry weight ตามลำดับ จากผลการทดลองเมื่อถั่วเหลืองผ่านการอบแห้งแล้วปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเพิ่มประมาณ 1.16–1.18 เท่าเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองผ่านการนึ่ง และจากกระบวนการให้ความร้อนแก่เมล็ดธัญพืชส่งผลต่อองค์ประกอบเคมี Kim และคณะ (2011) ได้มีการศึกษาพบว่ากระบวนการให้ความร้อนมีผลต่อการส่งเสริมสุขภาพโดยการเพิ่มความสามารถ antioxidant activity ให้มีมากขึ้น และ ผลการทดลองปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิสูง

เนื่องมาจากในถั่วเหลืองมีสารจำพวก phytochemicals ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่อยู่บริเวณผนังและเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อผ่านการอบแห้งที่ อุณหภูมิต่าง ๆ ความร้อนที่ได้จากการอบแห้งทำลายพันธะเคมีของโพลีฟีนอลภายในเมล็ดถั่ว ทำให้สารประกอบฟีนอลิคหลุดออกจาก glycoside phenylpropanoid esters มากขึ้น (Dewanto และคณะ, 2002) จึงมีผลทำให้ปริมาณฟีนอลิคมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ

4.4.2.3 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ปริมาณ FRAP value ในหน่วย μmol $FeSO_4$/g dry weight แสดงในตารางที่ 22 พบว่าปริมาณ FRAP ของถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเวลาการอบแห้ง 35 และ 40 นาทีมีค่า 2.08 และ 2.77 μmol $FeSO_4$/g dry weight ตามลำดับ อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเวลาการอบแห้ง 20 และ 25 นาทีมีค่า 2.16 และ 2.73 μmol $FeSO_4$/g dry weight ตามลำดับ และอุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียสเวลาการอบแห้ง 10 และ 15 นาที มีค่า 2.12 และ 2.74 μmol $FeSO_4$/g dry weight ตามลำดับ จากผลการทดลองเมื่อถั่วเหลืองผ่านการอบแห้งส่งผลให้ปริมาณ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นและผลการทดลองสอดคล้องงานวิจัยของ Niamnuy และคณะ (2011) พบว่าปริมาณ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการอบแห้งทุกอุณหภูมิ Dewanto และคณะ (2002) พบว่ากระบวนการให้ความร้อนจะมีผลต่อการช่วยส่งเสริมสุขภาพ โดยเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น

4.4.2.4 DPPH radical scavenging activity

จากผลการทดลองแสดงค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ ในตารางที่ 22 พบว่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ ถั่วเหลืองผ่านการอบแห้งมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการอบแห้งเพิ่มขึ้นทุกอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเวลาการอบแห้ง 35 และ 40 นาที มีค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ 80.16 และ 85.25% ตามลำดับ อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเวลาการอบแห้ง 20 และ 25 นาที มีค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ 80.53 และ 85.33% ตามลำดับ และอุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียสเวลาการอบแห้ง 10 และ 15 นาที มีค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ 80.61 และ 85.33% ตามลำดับ ซึ่งค่า %inhibition $DPPH^{\cdot}$ สอดคล้องกับงานวิจัย Niamnuy และคณะ (2011) พบว่าค่า $DPPH^{\cdot}$ radical scavenging capacity ของถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิการอบแห้งเพิ่มมากขึ้น แสดงให้

เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาที่ใช้มีผลต่อ มีค่า %inhibition DPPH· ของถั่วเหลือง จากผลการทดลองถั่วเหลืองเมื่อผ่านการอบแห้งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นนั้น เนื่องจากความร้อนที่ได้จากการอบแห้งกระตุ้นสารภายในเมล็ดถั่วเหลือง เช่น วิตามินซี วิตามินอีและสารประกอบฟีนอลิค ซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยกระบวนการ hydrolysis (Lee และ Lee, 2009) เมื่อได้รับความร้อนประกอบกับภายในเมล็ดถั่วเหลืองมีน้ำและความชื้น ทำให้ปฏิกิริยา hydrolysis เกิดได้ดี ส่งผลให้สารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิทุกอุณหภูมิ

ตารางที่ 22 ปริมาณ Total phenolic content, FRAP value และ % Inhibition DPPH radical ถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่าง	อบแห้ง (นาที)	moisture (% db.)	TPC (mg GAE/g)	FRAP (μmol $FeSO_4$/g)	inhibition DPPH (%)
ถั่วเหลืองดิบ	-	13.17	0.19±0.13^{e}	0.75±0.27^{e}	34.26±0.12^{d}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	-	120.53	0.23±0.02^{d}	0.81±0.03^{e}	35.52±0.05^{d}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	-	153.01	0.36±0.03^{c}	1.32±0.20^{d}	42.60±0.39^{c}
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	-	153.58	0.36±0.01^{c}	1.88±0.10^{c}	44.00±0.29^{c}
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	35	25.52	0.40±0.07^{b}	2.08±0.28^{b}	80.16±0.54^{b}
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	40	21.54	0.42±0.02^{a}	2.74±0.32^{a}	85.25±0.23^{a}
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	20	30.80	0.40±0.01^{b}	2.16±0.31^{b}	80.53±0.04^{b}
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	25	21.08	0.43±0.03^{a}	2.73±0.39^{a}	85.33±0.39^{a}
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	10	46.72	0.40±0.01^{b}	2.12±0.35^{b}	80.61±0.37^{b}
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	15	19.50	0.43±0.03^{a}	2.74±0.53^{a}	85.33±0.18^{a}

*อักขระเดียวกันในคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.2.5 Urease Activity

จากตารางที่ 23 ถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่ามีค่า ΔpH ลดลงอยู่ในช่วง 0.0 1-0.15 ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ วรุต ยุทธชัย และคณะ (2548) พบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อบแห้งด้วยอากาศร้อนที่อุณหภูมิ 135 และ 150 องศาเซลเซียส ส่งผลเอนไซม์ยูรีเอสเสื่อมสลายจนถึงเกณฑ์การยอมรับ โดยถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียสใช้เวลาประมาณ 5 นาที และที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสใช้เวลาประมาณ 3 นาที เนื่องจากการใช้อุณหภูมิอบแห้งที่สูงทำให้เมล็ดถั่วเหลืองได้รับความร้อนมากยิ่งขึ้นและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้เอนไซม์ยูรีเอสสลายตัวหรือสูญเสียในเมล็ดถั่วเหลืองได้เร็วขึ้นและมีค่าลดลงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับทางอุตสาหกรรมได้

ตารางที่ 23 ค่าความแตกต่างความเป็นกรดด่าง (ΔpH) ถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่าง	อบแห้ง (นาที)	ΔpH
ถั่วเหลืองดิบ	-	2.26±0.20[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	-	2.26±0.26[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	-	2.33±0.13[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	-	1.88±0.01[b]
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	35	0.15±0.02[c]
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	40	0.03±0.01[d]
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	20	0.10±0.01[cd]
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	25	0.01±0.01[d]
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	10	0.05±0.02[d]
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	15	0.01±0.01[d]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.2.6 Protein Content

จากผลการทดลองพบว่าถั่วเหลืองผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ ปริมาณโปรตีนมีค่าไม่แตกต่างจากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการงอกอากาศและการนึ่ง 10 นาที โดยอยู่ในช่วง 40.15–40.25% (ตารางที่ 24) โดยทั่วไปโปรตีนภายในเมล็ดถั่วเหลืองมีประมาณร้อยละ 37-45 (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2534) โปรตีนภายในถั่วเหลืองบางชนิดมีการสร้างพันธะไดซัลไฟล์และยังมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมต่อ เมื่อโปรตีนได้รับความร้อนพันธะไดซัลไฟด์จะถูกทำลาย โดยโมเลกุลเกิดการคลายตัวส่งผลให้สมบัติทางกายภาพ และทางเคมีเปลี่ยน แต่น้ำหนักโมเลกุลคงเดิม ทำให้โปรตีนในถั่วเหลืองเมื่อได้รับความร้อนเปลี่ยนสภาพแต่ปริมาณโปรตีนมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงจากเดิมมากนัก (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) ทำให้ปริมาณโปรตีนยังคงอยู่เมื่อผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ตารางที่ 24 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองผ่านกระบวนการต่าง ๆ

ตัวอย่าง	อบแห้ง (นาที)	โปรตีน (%)
ถั่วเหลืองดิบ	-	38.52±0.13[b]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมง	-	39.87±0.26[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง	-	40.18±0.22[a]
ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงงอกอากาศ 19 ชั่วโมง นึ่ง 10 นาที	-	40.25±0.17[a]
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	35	40.15±0.26[a]
อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	40	40.15±0.22[a]
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	20	40.13±0.22[a]
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	25	40.10±0.18[a]
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	10	40.16±0.28[a]
อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส	15	40.19±0.22[a]

*อักขระเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลกระบวนการงอก การนึ่ง การคั่วและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบดแบบลมร้อน สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. จากการศึกษากระบวนการงอก ถั่วเหลืองเมื่อผ่านการแช่น้ำที่ 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง พบว่าถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำใช้ระยะเวลาการงอกอากาศ โดยมีระยะ hypocoty 0.5-1.0 มิลลิเมตรที่ดีที่สุด คือ ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงเวลาการงอกอากาศประมาณ 17-19 ชั่วโมง

2. ผลของการนึ่ง โดยถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอก 15, 17, 19 และ 21 ชั่วโมงทำการนึ่ง พบว่าถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงนึ่ง 10 นาที มีปริมาณ isoflavones ไม่แตกต่างกับถั่วเหลืองผ่านกระบวนการงอกอากาศ 15 และ 17 ชั่วโมงผ่านการนึ่ง 20 นาที ในการทดลองครั้งนี้เลือกถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงนึ่ง 10 นาที และจากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณ FRAP และ %inhibition $DPPH^{\cdot}$ พบว่าถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงนึ่ง 10 นาที มีปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบ ปริมาณโปรตีนค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากถั่วเหลืองดิบ ในขณะที่เอนไซม์ยูรีเอสมีค่าสูงเกินเกณฑ์การยอมรับทางอุตสาหกรรม

3. ผลของการคั่ว โดยถั่วเหลืองผ่านการคั่วที่เวลา 6, 7 และ 8 นาที พบว่าถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมง ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมง และถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงนึ่ง 10 นาทีที่เวลาคั่ว 8 นาที มีปริมาณ isoflavones ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณ FRAP และ%inhibition $DPPH^{\cdot}$ มีค่าสูงที่สุด ปริมาณโปรตีนที่เวลาการคั่วต่าง ๆ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเอนไซม์ยูรีเอสมีค่าลดลงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับทางอุตสาหกรรม

4. ผลของการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบด แบบลมร้อน ถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงนึ่ง 10 นาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 100, 120 และ 140 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณ isoflavones ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณ FRAP และ %inhibition $DPPH^{\cdot}$ มีค่าเพิ่มขึ้นจากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการอบทุกอุณหภูมิการอบแห้ง ปริมาณ

ปริมาณโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเอนไซม์ยูรีเอสมีค่าลดลงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับทางอุตสาหกรรม

5. จากผลการทดลอง สภาวะที่เหมาะสมในการพัฒนาถั่วเหลืองเริ่มงอก กรณีการคั่ว คือ ถั่วเหลืองแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงและนึ่ง 10 นาที ผ่านคั่ว 8 นาที และกรณีการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เบด แบบลมร้อนคือถั่วเหลืองผ่านการแช่น้ำ 4 ชั่วโมงผ่านกระบวนการงอกอากาศ 19 ชั่วโมงนึ่ง 10 นาที อบแห้งที่ทุกอุณหภูมิการอบแห้ง

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการทดลองหาปริมาณสาร isoflavones เพิ่มเติมครบทั้ง 12 ชนิด เพื่อให้ได้ปริมาณ isoflavones ที่แม่นยำมากยิ่งขึ้น การทดลองหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระควรมีการทดสอบเพิ่มเติม เช่น ABTS$^{\cdot}$, ORAC, HOSC เป็นต้น และควรหาการวัดสีของถั่วเหลืองหลังผ่านการคั่วและการอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดซ์เซชัน เพื่อบ่งบอกถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในถั่วเหลืองได้แม่นยำมากยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

คัดนางค์ ทองสุก. (2542). **ถั่วเหลืองอาหารสุขภาพ**. วารสารอาหาร. 3:212–213.

จักรพงศ์ ไพบูลย์. (2542). **อนุมูลอิสระ (Free Radical)**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.thaiclinic.com/antioxidant.html.

ณัฐนันท์ วิเศษสุภมิตร, พรทิพย์ รัตนรังสิมา, ศุกร์จิตต์ เอี่ยมนเรพร และสิทธิวัฒน์ เลิศศิริ. (2547). **การศึกษาปริมาณสาร Isoflavone ในกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง และการสกัดสาร Isoflavone ในกากถั่วเหลือง เพื่อการนำไปใช้เป็นอาหารสุขภาพ** . Food Composition. 51:80-91.

ดุจฤทัย เชาวะวณิช. (2536). **Effect of cooking on the trypsin inhibitor activity of some plant foodstuffs**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 4 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://pikul.lib.ku.ac.th/cgibin/agkb.exe?rec_id=047729&database=agkb&search_type=link&table=mona&back_path=/agkb/mona&lang=thai&format_name=TFMON.

นิธิยา รัตนาปนนท์. (2549). **เคมีอาหาร**.พิมพ์ครั้งที่ 2. โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮาส์. 504 หน้า.

นิพนธ์ ไชยมงคล. (2548). **ถั่วงอก (Bean sprout)**. สาขาพืชผัก ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

นิสยา เกิดสบาย. (2549). **การสืบพันธุ์ของพืชดอก**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 4 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://nd-biology.tripod.com/mysite/nd_biology_17.html.

ปัญญา ตีระกิจวัฒนา. (2549). **Heat Treatment of Soybean Using Fluidization Technique with Hot Air and Steam**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. คณะพลังงาน สิ่งแวดล้อมและวัสดุ. สาขาวิชาเทคโนโลยีพลังงาน.

ปิยนันท์ อึ้งทรงธรรม. (2553). **สารต้านทานโภชนาการ**. หนังสือแม่บ้านอาหารเพื่อสุขภาพ. บริษัทสำนักพิมพ์แม่บ้าน.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. (2550). **DPPH assay**. Food Network Solution. เข้าถึงเมื่อวันที่ 13 มีนาคม 2555. เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3200/dpph-assay.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2547). **พืชเศรษฐกิจ** : ถั่วเหลือง. พิมพ์ครั้งที่ 2 . ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 460 หน้า.

พลังจิต [นามแฝง]. (2546). **ถั่วงอกพลังแห่งชีวิต**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://board.palungjit.com/f9/%E0%B8%96%E0%B8%B1%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%87%E0%B8%AD%E0%B8%81-%E0%B8%9E%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B9%81%E0%B8%AB%E0%B9%88%E0%B8%87%E0%B8%8A%E0%B8%B5%E0%B8%A7%E0%B8%B4%E0%B8%95-26375.html.

ภานุวรรณ จันทวรรณกูร. (2543). **“การศึกษาถั่วหมักอาหารพื้นบ้านในภาคเหนือ”**. วิทยาสาร. 36:6.

มนตรี หวังจิ , สมชาติ โสภณรณฤทธิ์ และสมบูรณ์ เวชกามา. (2540). **การอบแห้งถั่วเหลืองโดยเทคนิคฟลูอิไดเซชัน** . เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มีนาคม 2554 . เข้าถึงได้จาก http/www.phtnet.org/research/view-abstract.asp?research_id=ad042.

วันดี รังสีวิจิตรประภา, ไชยวัฒน์ ไชยสุต, จินตนา นภาพร, นัทที พัชราวนิช และจารุวรรณ ธนวิรุฬห์. (2549). **การพัฒนาสารสกัดถั่วเหลืองบรรจุแคปซูลและการกำหนดขนาดรับประทาน**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 3 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.arda.or.th/kasetinfo/north/research_soybean/research_soybean39.pdf

วันชัย จันทร์ประเสริฐ . (2538). **สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์** .ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 213 หน้า.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2534). **ซีอิ๊ว**. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาลัยวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร .

วิวัฒน์ วุฒิวิวัฒน์ชัย. (2540). **แนวทางที่เหมาะสมสำหรับการอบแห้งถั่วเหลืองโดยเทคนิคฟลูอิไดเซชัน**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มีนาคม 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.phtnet.org/research/view-abstract.asp?research_id=ca034.

วิถีแห่งความทรงจำ[นามแฝง]. (2550). **สารพัดถั่วงอก**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มีนาคม 2554. เข้าถึงได้จาก http://gotoknow.org/blog/articholb/132752.

วรุต ยุทธชัย, สมชาติ โสภณรณฤทธิ์ และ สมเกียรติ ปรัชญาวรากร. (2548). **ผลของการแช่น้ำต่อการลดลงของเอนไซม์ยูรีเอสและการละลายโปรตีนในถั่วเหลืองโดยใช้การอบแห้งแบบฟลูอิไดซ์เบดด้วยอากาศร้อน**. การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 6, 30-31 มีนาคม 2548. โรงแรมมิราเคลแกรนด์ กรุงเทพมหานคร. หน้า 555-565.

ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์. (2548). **สารต้านอนุมูลอิสระจำเป็นต่อร่างกายอย่างไร**.หมอชาวบ้าน. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.doctor.or.th/node/1346.

สายพิณ พงษธา. (2005). **Phytoestrogen**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.med.cmu.ac.th/dept/obgyn/Unit/fp/PHYTO.htm.

สมชาติ โสภณรณฤทธิ์. (2540). **การอบแห้งเมล็ดพืชและอาหารบางประเภท**. พิมพ์ครั้งที่ 7. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ. หน้า 101–128.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. (2539). **การตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบอาหารสัตว์**. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 194 น.

สุจิตรา รตนะมโน. (2547). **ชีวเคมีของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว**. ภาคเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว. คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เข้าถึงเมื่อวันที่ 13 มีนาคม 2555. เข้าถึงได้จาก http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning47/section2/pt331/08.htm

อิงฟ้า คำแพง, อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. (2009). **การเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืชในระหว่างการงอก**. Agricultural Science. 40: 341 – 344.

อัญชรินทร์ สิงห์คำ และ ทศพร นามโฮง. (2547). **เคมีอาหาร**.เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://courseware.rmutl.ac.th/courses/103/unit903.html.

อรอนงค์ กังสดาลอำไพร. (2543). **อาหารเสริมสุขภาพ : ถั่วเหลือง.** เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.pharm.chula.ac.th/clinic101_5/article/Soy.html.

AACC. (1990). **Official and Tentative Methods of the American Association Cereal Chemistry**, 2nd ed. AACC Method 22-90 and AACC Method 44-10.

Albrecht, W.J., Mustakas, G. C. and McGhee, J.E. (1966). **Rate Studies on Atmospheric Steaming and Immersion Cooking of soybeans**. Cereal Chemistry. 43:400-407

Allred, C.D., Ju, Y. H., Allred, K.F., Chang, J., and Helferich, W.G. (2001). **Dietary genistin stimulaes growth of estrogen – dependent breast cancer tumors similar to that observes with genistein**. Carcinogenesis. 22:1667–1673.

Akitha Devi, M.K., Gondi, M., Sakthivelu, G., Giridhar, P., Rajasekaran, T., Ravishankar, G.A. (2009). **Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity**. Food Chemistry. 114:771-776.

Anderson-Haffermann, J.C., Zhang, Y., Parsons, C.M. and Hymowitz, T. (1992). **Effect of heating on nutritional quality of conventional and Kunitz trypsin inhibitor free soybeans**. Poultry Science. 71:1700–1709.

Anon. (2001). **Soybean isoflavone**. Tokiwa Phytochemical Co., Ltd. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.tokiwaph.co.jp./products/produc02/soy_bean/soy_bean.htm.

AOCS. (1999). **American Oil Chemists' Society, Official Methods and Recommended Practices of the AOCS 5th ed.**, Champaign. IL: AOCS Method BA 10-65.

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

Benzie, I.F.F., and Stain, J.J. (1996). **The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power : The FRAP Assay**. Analytical Biochemistry. 236:70–76.

Bluekoff. (2002). **เครื่องคั่วกาแฟ.** เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://bluekoff.com/product/?xID=47

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. (1995). **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. LWT - Food Science and Technology. 28:25 – 30.

Chang, Y. and Nair, H.Y. (1995). **Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria**. Journal of Natural Products. 58:1892-1896.

Chen, Y.M., Ho, S.C., Lam, S.S., Ho, S.S. and Woo, J.J. (2003). **Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized, controlled trial**. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 88:4740–7.

Coward, L., Smith, M., Kirk, M. and Barnes, S. (1998). **Chemical modification of isoflavones in Soybean foods during cooking and processing**. American Journal of Clinical Nutrition. 68:1486s-1491s.

Dewanto, V., Wu, X. and Liu, R. H. (2002). **Processed sweet corn has higher antioxidant activity**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50:4959–4964.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2007). **โครงสร้างเมล็ดถั่วเหลือง**. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.fao.org/inpho/content/compend/img/ch19/ph02580.htm.

Garcia, M.C., Torre, M.L., Marina, M.L. and Laborda, F. (1997). **Composition and Characterization of Soybean and Related Product**. Critical Review in Food Science and Nutrition. 4:361–391.

Goes-Favoni, S.P., Carrao-Panizzi, M.C., and Beleia, A . (2010). **Changes of isoflavones in soybean cotyledons soaked in different volumes of water**. Food Chemistry. 119:1605-1612.

Iwasaki, M., Inoue, M., Otani, T., Sasazuki, S., Kurahashi, N., Miura, T., Yamamoto, S. and Tsugane S. (2008). **Plasma Isoflavone Level and Subsequent Risk of Breast Cancer Among Japanese Women: A Nested Case-Control Study From the Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group**. Journal of Clinical Oncology. 26:1677-1683.

Kadam, S.S., Deshpande, S.S., Jambhale, N.D. (1989). **Seed structure and composition. CRC Handbook of World Food Legumes : Nutritional Chemistry**. Processing Technology and Utilization. CRC Press. Florida. p. 39.

Kim, H.G., Kim, G.W., Oh, H., Yoo, S.Y., Kim, Y.O. and Oh, M.S. (2011). **Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (Glycine max L. Merrill)**. LWT – Food Science and Technology. 44:992–998.

Lee, C.H., Lin Yang, Xu, J.Z., Venus Yeung, S.Y., Yu Huang and Chen, Z.Y. (2005). **Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides**. Food Chemistry. 90:735–741.

Lee, S.W., and Lee. J.H. (2009). **Effects of oven-drying, roasting and explosive puffing process on isoflavones distributions in soybeans**. Food chemistry. 112:316-320.

Lee, S.J., Seguin, P., Kim, J.J., Moon, H.I., Ro, H.M., Kim, E.H., Seo, S.H., Seo, E.Y., Aha, J.K., and Chung, I.M. (2010). **Isoflavones in Korean soybeans differing in seed coat and cotyledon color**. Food Composition and Analysis. 23:160-165.

Liu, C.J., Blount, J.W., Steele, C.L. and Dixon, R.A. (2002). **Bottlenecks for metabolic engineering of isoflavone glycoconjugates in *Arabidopsis***. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America. 22:14578–14583.

Lo, K.M. and Cheung, C.K. (2005). **Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of Agrocybe aegerita var. alba**. Food Chemistry. 89:533–539.

Lopez-Amoros, M.L., Hernandez, T. and Estrella, I. (2006). **Effect of germinating on legume phenolic compounds and their antioxidant activity**. Journal of Food Composition and Analysis.19:277-283.

Luthria, D.L., Biswas, R. and Natarajan, S. (2007). **Comparison of extraction solvents and techniques used for the assay of isoflavones from soybean**. Food Chemistry. 105:325-333.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R. (2007). **Assessment of phenolic content and free radical–scavenging capacity of some Thai indigenous plants**. Food Chemistry. 100:1409-1418.

McCue, P.P., and Shetty, K. (2004). **A role for amylase and peroxidase–linked polymerization in phenolic antioxidant mobilization in dark-germinated soybean and implications for health**. Process Biochemistry. 39:1785-1791.

Murphy, P.A., Barua, K. and Hauck, C.C. (2002). **Solvent extraction selection in the determination of isoflavones in soy foods**. Journal of Chromatography. 777:129–138.

Morabito, A., Crisafulli, A., Vergara, C., Gaudio, A., Frisina, N., D'Anna, R., Corrado, F., Pizzoleo, MA., Cincotta, M., Altavilla, D., Ientile, R. and Squadrito, F. (2002). **Effects of Genistein and Hormone-Replacement Therapy on Bone Loss in Early Postmenopausal Women: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Study**. Journal of Bone and Mineral Research . p. 1904-1912.

Niamnuy, C., Nachaisin, M., Laohavanich, J., and Devahastin, S. (2011). **Evaluation of bioactive compounds and bioactivities of soybean dried by different methods and conditions.** Food chemistry. 129:889-906.

Pan, Z. and Tangratanavalee, W. (2003). **Characteristics of soybeans as affected by soaking conditions.** Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie. 36:143-151.

Park, K.B. and Oh, S.H. (2006). **Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrientsusing lactic acid bacteria and germinated soybean extract**. Bioresource Technology. 98:1675 - 1679.

Prachyawarakorn, S., Prachayawasin, P. and Soponronnarit, S. (2006). **Heating process of soybean using hot-air and superheated-steam fluidized–bed dryers**. LWT–Food Science and Technology. 39:770–778.

Sacks, F. M., Lichtenstein, A., Horn, L. V., Kris-Etherton, P. and Winston, M. (2006). **Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for professionals from the Nutrition Committee**. Circulation. 113:1034-1044.

Setchell, K.D.R. (1998). **Phytroestrogens : the biochemistry, physiology, and implications for human health of isoflavoes**. American Journal of Clinical Nutrition . 68:1333–1346.

Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A.R., Simonič, M.,and Knez, Ž. (2005). **Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities**. Food Chemistry. 89:191–198.

Stewart, O.P., Raghavan, G.S.V., Orsat, V. and Golden, K.D. (2003). **The effect of drying on unsaturated fatty acids and trypsin inhibitor activity in soybean**. Process Biochemistry. 39:483-489.

Tian, S., Nakamura, K., Cui, T. and Kayahara, H. (2005). **High-performance liquid Chromatographic determination of phenolic compounds in rice**. Journal of Chromatography. 1063:121–128.

Vallejo, F., Tomás-Barberón, F.A. and García-Viguera, C. (2003). **Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking**. Journal of the Science of Food and Agriculture. 83: 1511–1516

Ward, N.E. (1996). **Soybean meal quality for animal feeding**. In: Proceedings of the 2nd International Soybean Processing and Utilization Conference; 8-13 January 1996; Bangkok, Thailand: Department of Agricultural Extension, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand and Institute of Food and Product Develolpment, Kasersart University, Thailand. p.454-465.

Zhu, D., Hettiarachchy, N.S., Horax, R. and Chen, P. (2005). **Isoflavones Contents in Germinated Soybean Seeds**. Plant Foods for Human Nutrition. 60:147-151.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการสกัดสารและการวิเคราะห์ antioxidant

1.การสกัดตัวอย่าง (ดัดแปลงวิธีจาก Tian และคณะ, 2005)

1. ชั่งแป้งถั่วเหลืองตัวอย่าง 5 กรัม เติม 70% ethanol ปริมาตร 25 มิลลิตร
2. กวนโดยใส่ magnetic bar วางบน corning hot plate/stirrer เป็นเวลา 30 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 g เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 2 รอบ นำส่วนใสรวมกัน
4. สารละลายที่ได้ไปทำการกรองด้วยกระดาษกรอง No.5
5. นำสารละลาย evaporated ที่อุหณภูมิ 30°C เหลือปริมาตรสุดท้าย 5 มิลลิลิตร

2. ปริมาณโปรตีน (Protein content) (AOCS, 1999)

ปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในถั่วเหลืองทั้งหมดสามารถหา ได้ดังนี้

1. เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.2% โดยการละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร
2. ชั่งถั่วเหลืองประมาณ 0.1 กรัมใส่ลงในขวด Kjeldahl ที่แห้ง
3. เติมตัวเร่งปฏิกิริยาไดโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 10 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 1 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร ลงในสารข้อที่ 2
4. ติดตั้งขวด Kjeldahl ในชุดให้ความร้อน จนกระทั่งได้สารละลายใสสีเขียว รอให้สารเย็น
5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในปริมาณที่มากเกินพอลงในสารข้อ 4
6. ทำการกลั่นสารในข้อ 5 ลงในสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4% (W/V) 25 มิลลิลิตร โดยเติมอินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง Methyl Red และ Bromocresol Green จะเกิดการเปลี่ยนสีของสารจากสีส้มเป็นสีเขียว
7. นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน
8. ทำ blank โดยการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อที่ 2 ถึง 7 โดยไม่ใช้สารตัวอย่าง

การหาปริมาณโปรตีนสามารถคำนวณได้จากสมการ 3.2 และ 3.3

$$\%N = \frac{1.4 \times B(x-y)}{A} \qquad (3.2)$$

$$\%\,\mathrm{Protein} = \%N \times 6.25 \qquad (3.3)$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักของถั่วเหลืองตัวอย่าง,กรัม

B คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต,โมลต่อลิตร

x คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง,มิลลิลิตร

y คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์,มิลลิลิตร

3. การสกัด isoflavones ตามวิธี Lee และคณะ (2010)

สารเคมี

1. Ethanol
2. Hydrocholoric acid (HCl)
3. Methnaol

วิธีการ

1. นำแป้งถั่วเหลืองบด 2 กรัมใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติม 10 มิลลิลิตร 80% ethanol และ 2 มิลลิลิตร 0.1 M HCl
3. กวนโดยใส่ magnetic bar แล้วนำบีกเกอร์ไปวางบน corning hot plate/stirrer เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. นำสารละลายที่ได้ไปทำการกรองด้วยกระดาษกรอง No.5
5. นำสารละลาย evaporated ให้แห้ง และละลายด้วย 80% methanol 5 มิลลิลิตร

4.การวิเคราะห์หาปริมาณ isoflavones ด้วย HPLC ตามวิธี Akitha Devi และคณะ (2009)

สารเคมี

1. Acetonitrile
2. glacial acetic acid
3. Daidzein
4. Genistein

วิธีการ

1. นำสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน กรองด้วย 0.45 μm PVDF syringe filte

สภาวะที่ใช้

1. Column : Inertsil ODS-3 ขนาด 4.6 x 250 mm
2. Mobile phase : acetonitrile H_2O + 0.1% glacial acetic acid อัตราส่วน 25/75
3. Flow rate : 1.0 ml/min
4. Volume injection : 20 μl
5. Detector : UV 254 nm

5.การวิเคราะห์เอนไซม์ยูรีเอสในถั่วเหลือง ตามวิธี AACC. (1990)

สารเคมี

1. Dipotassium phosphate (K_2HPO_4)
2. Potassium Dihydrogenphosphate (KH_2PO_4)
3. Urea

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร โดยการชั่งสารไดโพแทสเซียมไฮโดรฟอสเฟต (K_2HPO_4) 4.355 กรัม และโพแทสเซียมไดไฮโดรฟอสเฟต (KH_2PO_4) 3.403 กรัม นำสารแต่ละส่วนละลายในน้ำกลั่น จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ก่อนใช้งานให้ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7
2. เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ยูเรีย โดยละลายยูเรีย 15 กรัม ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายโทลูอีน 5 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันสารละลายไม่ให้เสียสภาพ และปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7 ก่อนนำมาใช้งาน
3. ชั่งถั่วเหลืองบดละเอียด 0.2 กรัมลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ยูเรีย 10 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลอง ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 30°C โดยใช้ Water Bath
4. ทำแบลงค์ โดยการทดลองซ้ำในข้อ 3 แต่เปลี่ยนจากสารละลายบัฟเฟอร์ยูเรียเป็นสารบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (Blank Solution)
5. เขย่าหลอดทดลองทั้งสองทุก ๆ 5 นาที จนครบ 30 นาที
6. วัดค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายโดยใช้ pH Meter โดยค่า Urease Activity คือค่าความแตกต่างของค่าความเป็นกรดด่างระหว่างสารตัวอย่างกับ blank

6. การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอล โดยใช้ Folin-Ciocalteu method ดัดแปลงจากวิธีการขอ ง Skerget et al., 2005

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu reagent
2. Sodium Carbonated (Na_2CO_3)
3. Mathanol
4. Gallic acid

วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่างถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัด 0.5 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu reagent (เจือจาง 10 เท่า) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร
2. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
3. เติมสารละลาย 7.5% (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
4. นำไป incubated ที่ 50°C นาน 5 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer
6. ใช้ methanol เป็น blank
7. ใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน

7. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP assay ดัดแปลงจากวิธีการของ Benzie and Strain, 1996

สารเคมี

1. 300 mM acetate buffer pH 3.6
2. 2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazine (TPTZ)
3. 20 mM ferric chloride ($FeCl_3$)
4. 40 mM hydro choric (HCl)
5. Methanol
6. Acetic acid
7. Ferrous sulfate heptahydrate ($FeSO_4.7H_2O$)

วิธีการ

1. นำ 300 mM acetate buffer pH 3.6 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร , TPTZ ใน 40 mM HCl ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ 20 mM $FeCl_3$ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมรวมกันเป็น FRAP reagent แล้วนาไปอุ่น 37°C 15 นาที
2. ปิเปต FRAP reagent ปริมาตร 950 μl เติมลงในตัวอย่างปริมาตร 50 μl
3. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
4. นาไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer
5. ใช้ acetate buffer pH 3.6 เป็น blank
6. ใช้ FRAP reagent 950 μl + methanol 50 μl เป็น control
7. ใช้ $FeSO_4.7H_2O$ เป็นสารมาตรฐาน

8.การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

ดัดแปลงจากวิธีการของ Maisuthisakul et al., 2007

สารเคมี

1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 6 x 10^{-5} M
2. Ethanol

วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่างที่ได้จากการสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6 x 10^{-5} M ปริมาตร 3.9 มิลลิลิตร
2. เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer
4. ใช้ ethanol เป็น blank

การคานวณ

% Inhibition = $(A_0 - A_{ext})/A_0$ x 100

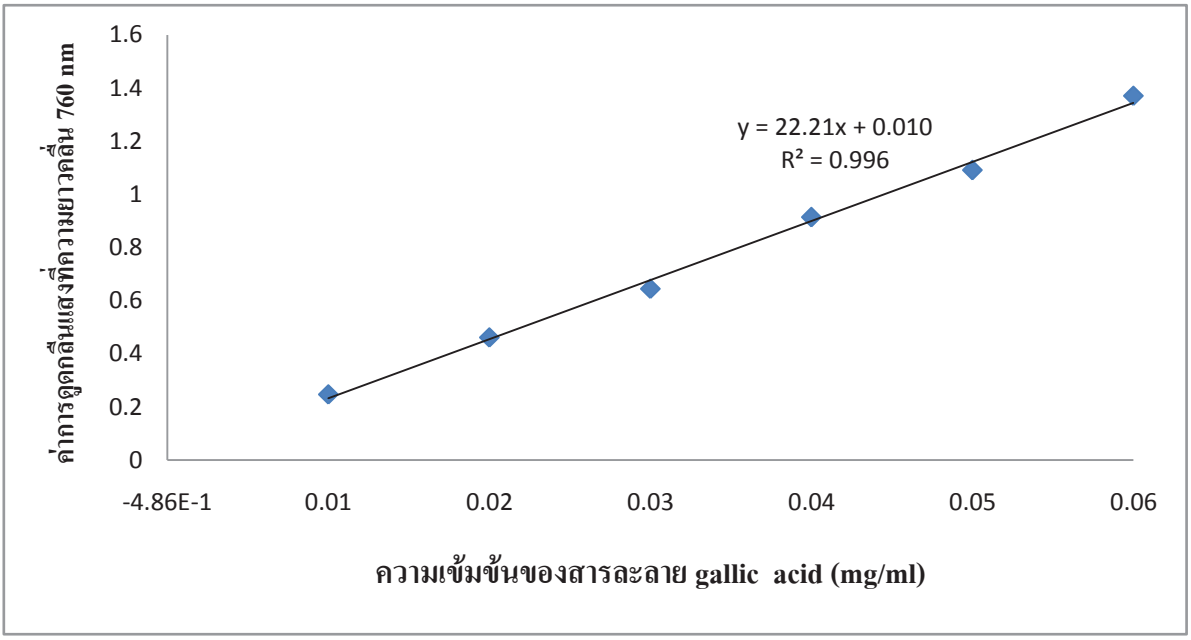
โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ 0 นาที

A_{ext} = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ 120 นาที

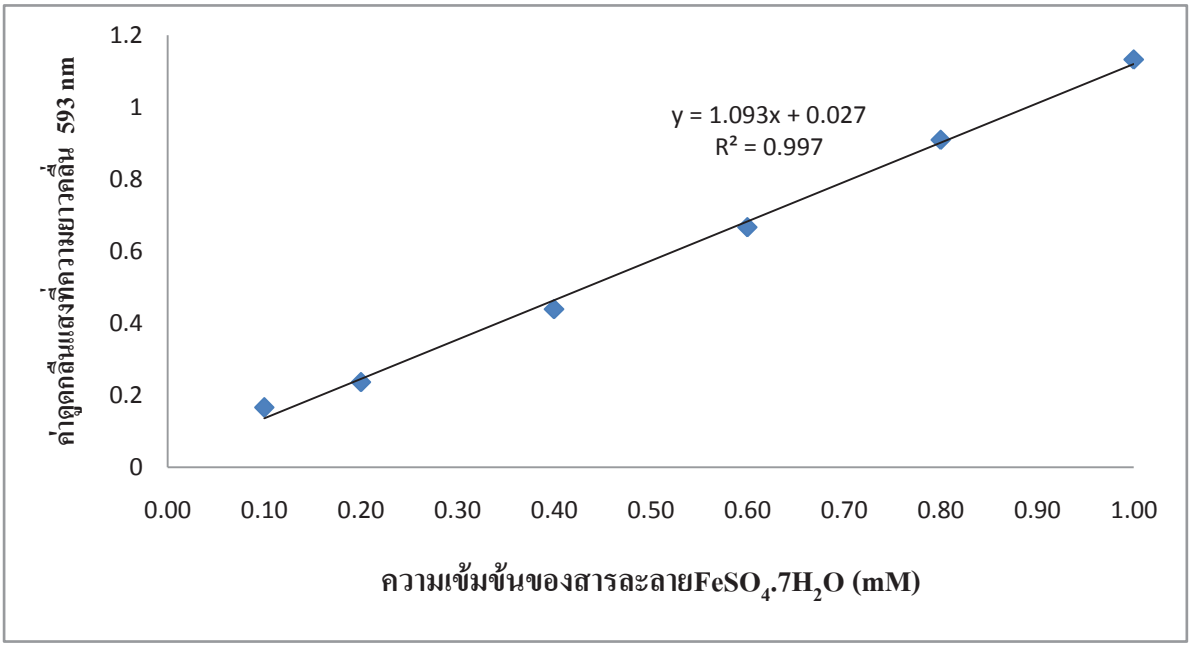
ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานต่าง ๆ

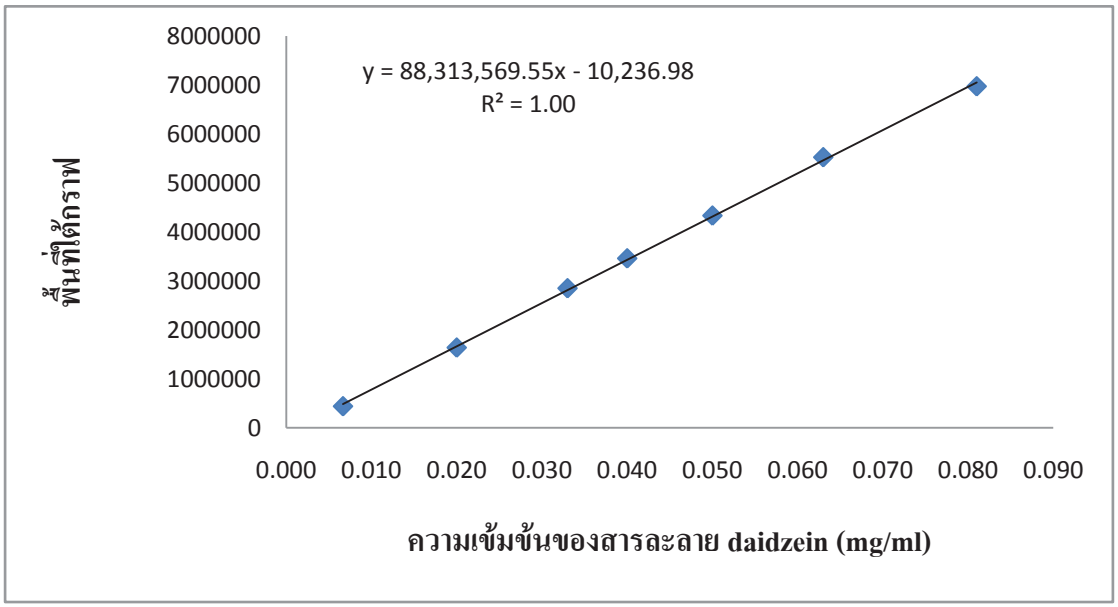
1. กราฟมาตรฐานของ gallic acid



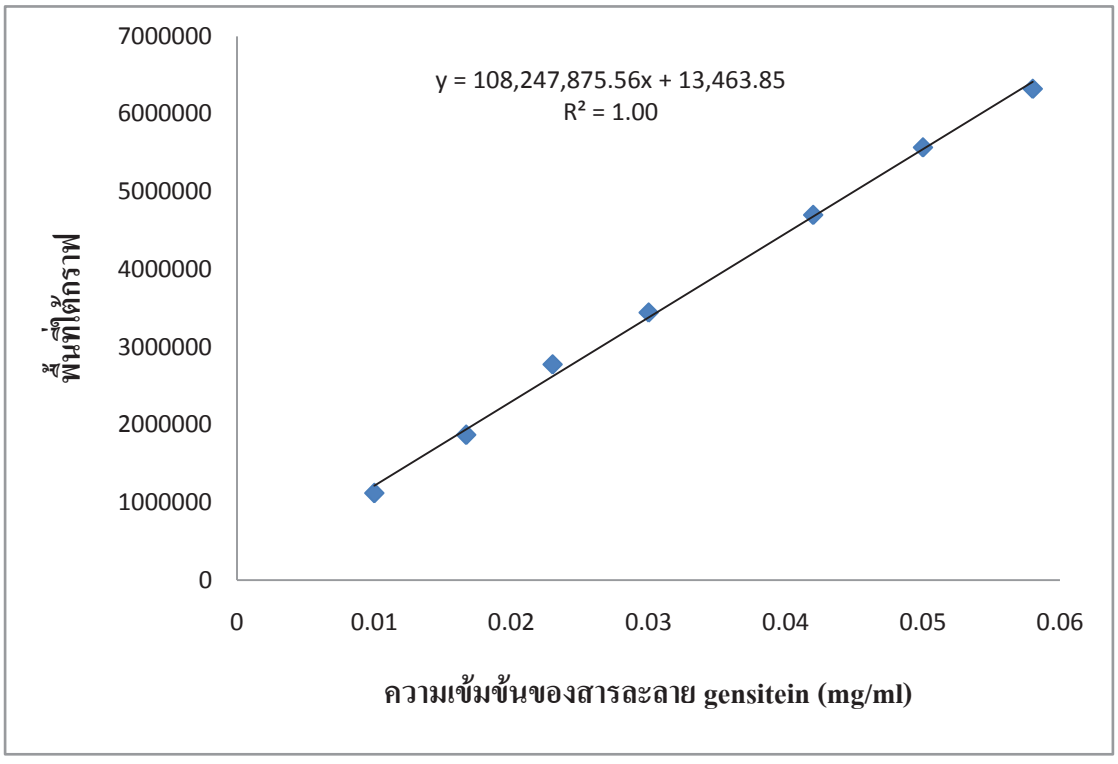
2. กราฟมาตรฐานของ $FeSO_4.7H_2O$



3. กราฟมาตรฐานของ Daidzein



4. กราฟมาตรฐานของ Genistein



ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณ

วิธี Folin – Ciocalteu

การคำนวณความเข้มข้นของ Gallic acid ของสารตัวอย่าง และ ค่า Gallic acid equivalent (GAE)

การคำนวณความเข้มข้นของ Gallic acid ของสารตัวอย่างจากกราฟ

สมการของกราฟมาตรฐาน Gallic acid ดังนี้คือ

$y = 22.21x + 0.010$

y = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm

x = Gallic acid (mg/mL)

สารตัวอย่างสารสกัดแป้งถั่วเหลือง ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ 0.417 ทำ dilution 10 เท่า ดังนั้นค่าดูดกลืนแสงมีค่าเท่ากับ 4.17

$y = 22.21x + 0.010$

$4.17 = 22.21x + 0.010$

$x = \frac{(4.17-0.010)}{22.21}$

$x = 0.187$ mg/ml

การคำนวณค่า Gallic acid equivalent (mg/g extract)

สารสกัดตัวอย่าง 1 ml มี Gallic acid 0.187 mg

สารสกัดตัวอย่าง 5 ml มี Gallic acid $\frac{(0.187\ mg \times 5ml)}{1\ ml}$

สารสกัดตัวอย่างหลังการระเหยแห้ง 5 ml มีความเข้มข้นเท่ากับสารสกัดตัวอย่างก่อนการระเหยแห้ง 45 ml จากตัวอย่างถั่วเหลือง 4.83 g

ดังนั้น สารสกัดตัวอย่าง 4.83 g มีค่า Gallic acid equivalent 0.935 mg/ml

สารสกัดตัวอย่าง 1 g มีค่า Gallic acid equivalent $\frac{(0.935\ mg \times 1\ g)}{4.83\ g}$

$= 0.193$ mg

สารสกัดแป้งถั่วเหลืองมี Gallic acid equivalent 0.193 mg/g extract

วิธี FRAP

การคำนวณความเข้มข้นของ $FeSO_4.7H_2O$ ของสารตัวอย่างและค่า FRAP values

การคำนวณความเข้มข้นของ $FeSO_4.7H_2O$ ของสารตัวอย่างจากกราฟ

สมการกราฟมาตฐาน $FeSO_4.7H_2O$ ดังนี้คือ

y = 1.092x + 0.027

y = ผลต่างของ Abs ที่วัดได้ - Abs control วัดที่ความยาวคลื่น 593 nm

x = $FeSO_4.7H_2O$ (mM)

สารตัวอย่างสารสกัดแป้งถั่วเหลือง ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ 0.0817 ทำ dilution 10 เท่า ดังนั้นค่าดูดกลืนแสงมีค่าเท่ากับ 0.817

y = 1.092x + 0.027

0.817 = 1.092x + 0.027

$$x = \frac{(0.817-0.027)}{1.092}$$

x = 0.723 mM

การคำนวณค่า FRAP values

FRAP values คือ mmol equivalent ของ (Fe(II)/L กับสารสกัดตัวอย่าง g/L

สารสกัดตัวอย่าง 1000 ml มี Gallic acid 0.723 mmol

สารสกัดตัวอย่าง 1 ml มี Gallic acid $\frac{(0.723\ mmol \times 1ml)}{1000\ ml}$

= 0.723 µmol

สารสกัดตัวอย่าง 5 ml มี Gallic acid $\frac{(0.723\ \mu mol \times 5ml)}{1\ ml}$

= 3.615 µmol

จากสารสกัดตัวอย่างหลังการระเหยแห้ง 5 ml มีความเข้มข้นเท่ากับสารสกัดก่อนการระเหยแห้ง 45 ml จากตัวอย่างถั่วเหลือง 4.83 g

สารสกัดตัวอย่าง 4.83 g มีค่า FRAP values 3.615 µmol

ถ้า สารสกัดตัวอย่าง 1 g มีค่า FRAP values $\frac{(3.615\ \mu mol \times 1g)}{4.83\ g}$

= 0.748 µmol

สารสกัดแป้งถั่วเหลือง FRAP values 0.748 µmol/g extract

วิธี Isoflavone

การคำนวณความเข้มข้น daidzein และปริมาณ daidzein ของสารตัวอย่าง

การคำนวณความเข้มข้น daidzein ของสารตัวอย่างจากกราฟ

ได้สมการมาตรฐาน daidzein ดังนี้คือ

$y = 8.831*10^{7}x - 10236$

y = พื้นที่ใต้กราฟที่ความคลื่น 254 nm

x = ปริมาณ daidzein (mg/mL)

สารตัวอย่างสารสกัดแป้งถั่วเหลืองมีพื้นที่ใต้กราฟ เท่ากับ 1,879,764

$y = 8.831*10^{7}x - 10236$

$1,879,764 = 8.831*10^{7}x - 10236$

$x = \frac{(1,879,764+10236)}{8.831*10^{7}}$

$x = 0.021$ mg/mL

การคำนวณปริมาณ daidzein (mg/100 g extract)

สารสกัดตัวอย่าง สารสกัดตัวอย่าง 1 mL มีปริมาณ daidzein 0.021 mg

ถ้า สารสกัดตัวอย่าง 5 mL มีปริมาณ daidzein $\frac{(0.021mg \times 5\ mL)}{1\ mL}$

$= 0.107$ mg

สารสกัดแป้งถั่วเหลือง ก่อนระเหยให้แห้ง มีปริมาณ daidzein 0.107 mg

ดังนั้น ตัวอย่างเริ่มต้น 1. 8 g มีปริมาณ daidzein 0.107 mg

ถ้า ตัวอย่างเริ่มต้น 100 g มีปริมาณ daidzein $\frac{(0.107\ mg \times 100\ g)}{1.8\ g}$

$= 5.94$ mg

แป้งถั่วเหลือง มีปริมาณ daidzein 5.94 mg/100 g extract

การคำนวณความเข้มข้น genistein และปริมาณ genistein ของสารตัวอย่าง

การคำนวณความเข้มข้น genistein ของสารตัวอย่างจากกราฟ

ได้สมการมาตรฐาน genistein ดังนี้คือ

$y = 1.082*10^{8}x - 13490$

y = พื้นที่ใต้กราฟที่ความคลื่น 254 nm

x = ปริมาณ genistein (mg/mL)

สารตัวอย่างสารสกัดแป้งถั่วเหลืองมีพื้นที่ใต้กราฟ เท่ากับ 1,186,510

$y = 1.082*10^{8}x - 13490$

$1,186,510 = 1.082*10^{8}x - 13490$

$$x = \frac{(1,186,510+13490)}{1.082*10^{8}}$$

$x = 0.011$ mg/mL

การคำนวณปริมาณ genistein (mg/100 g extract)

สารสกัดตัวอย่าง มีความเข้มข้นของตัวอย่าง 0.011 mg/mL

สารสกัดตัวอย่าง 1 mL มีปริมาณ genistein 0.011 mg

ถ้า สารสกัดตัวอย่าง 5 mL มีปริมาณ genistein $\frac{(0.011\ mg \times 5\ mL)}{1\ mL}$

$= 0.055$ mg

สารสกัดแป้งถั่วเหลือง ก่อนระเหยให้แห้ง มีปริมาณ genistein 0.055 mg

ดังนั้น ตัวอย่างเริ่มต้น 1. 8 g มีปริมาณ genistein 0.055 mg

ถ้า ตัวอย่างเริ่มต้น 100 g มีปริมาณ genistein $\frac{(0.062\ mg \times 100\ g)}{1.8\ g}$

$= 3.08$ mg

แป้งถั่วเหลืองมีปริมาณ genistein 3.08 mg/100 g extract

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล พอฤทัย ช้างบุญมี

ที่อยู่ 19/1 หมู่ 3 ต.ท่าพระยา อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม 73120

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2552 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศิลปากร

พ.ศ.2553 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลงานทางวิชาการ เรื่อง “EFFECTS OF GERMINATION AND ROASTING ON THE ISOFLAVONES CONTENT AND UREASE ACTIVITY OF SOYBEAN” ในงานประชุมวิชาการวิทยาสาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 38 (oral presentation)