ผลกระทบของการแช่น้ำและกระบวนการแปรรูปต่อปริมาณและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill)

Effect of soaking and processing process on content and antioxidant activity of bioactive compounds in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill)

เอกราช ตังควานิช[1] และ ศิริธร ศิริอมรพรรณ[1*]
Ekkarat Tangkhawanit[1] and Sirithon Siriamornpun[1]

บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญทั้งในด้านเศรษฐกิจและคุณค่าทางโภชนาการ อีกทั้งยังเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอล เป็นต้น โดยก่อนการบริโภคถั่วทั่วไปนั้นจำเป็นต้องมีกระบวนการทำให้สุกก่อนซึ่งกระบวนการดังกล่าวอาจจะส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของการแช่น้ำที่ระยะเวลาแตกต่างกัน (2, 12 และ 24 ชั่วโมง) และกระบวนการแปรรูป 3 วิธี ได้แก่ การต้ม การนึ่ง และการคั่ว ที่ระยะเวลาแตกต่างกันต่อปริมาณและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลือง ผลการวิจัยพบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำและผ่านกระบวนการแปรรูปแล้วนั้นมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลน้อยกว่าและมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบ และยังพบว่าถั่วเหลืองแช่น้ำ 2 ชั่วโมง มีค่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลมากกว่าที่แช่น้ำ 12 และ 24 ชั่วโมง ในขณะที่ถั่วเหลืองแช่ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปพบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการคั่วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งและการต้มตามลำดับ นอกจากนี้ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มมีค่าการสูญเสียฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงสุด คือ ร้อยละ 41-46 และ ร้อยละ 87.4-87.8 ตามลำดับ ในขณะที่ถั่วเหลืองที่ผ่านการคั่วและนึ่งพบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพิ่มขึ้น ร้อยละ 19 และ ร้อยละ 3 ตามลำดับ จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของการแช่น้ำและกระบวนการแปรรูปต่อปริมาณและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ซึ่งสามารถนำข้อมูลของงานวิจัยนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากถั่วเหลืองต่อไป

คำสำคัญ: ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ การต้ม การนึ่ง การคั่ว

[1] คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบล ขามเรียง อำเภอ กันทรวิชัย มหาสารคาม 44150
[1] Faculty of Technology, Mahasarakham University. Kham Riang Sub-district of Kantharawichai District, Mahasarakham 44150.
Corresponding author: sirithons@hotmail.com

Abstract

Soybean is a legume that is important both economically and nutritionally. It is also a good source of bioactive compounds such as phenolics and flavonoids and normally being cooked prior to consumption. However, cooking processes may affect the properties of antioxidant and the content of bioactive compounds. This research aimed to study the effects of various soaking times (2, 12 and 24 h) and cooking methods namely boiling, steaming and roasting on the content and antioxidant activity of bioactive compounds in soybean. The results found that the total phenolic content (TPC) of soaked and processed beans were significantly ($p<0.05$) lower than that of raw bean. The TPC value of 2h soaked sample was the highest, followed by 12 and 24 h, respectively. Whilst, roasting provided the greatest TPC, followed by steaming and boiling, respectively. In addition, this research has demonstrated that boiling method resulted in the highest loss of antioxidant activities as measured by DPPH and FRAPS assays, in the range of 41-46% and 87.4-87.8%, respectively. In contrast, the roasting and steaming had increased of DPPH radical scavenging activity approximately by 19% and 3%, respectively. Our findings have provided useful information which could be applied for process development of functional food products from soybean.

Keywords: Phenolic, flavonoid, boiling, steaming, roasting

บทนำ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบทวีปเอเชีย รวมถึงเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในกลุ่มของประเทศที่กำลังพัฒนา (Messina, 1999) ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ต่างๆ อาทิเช่น น้ำนมถั่วเหลือง เต้าหู้ ซีอิ๊วจากถั่วเหลือง แป้งถั่วเหลือง และ ถั่วเหลืองงอก เป็นต้น (Devi et al., 2009) นอกจากจะเป็นแหล่งของโปรตีน (20 – 40%) แล้ว ถั่วเหลืองยังประกอบไปด้วยกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว เช่น กรดไลโนเลอิกและไลโนเลนิก เป็นต้น เส้นใยอาหาร วิตามินและแร่ธาตุ แล้วยังพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ไอโซฟลาโวน ซาโปนิน ไฟเตท และสารประกอบฟีนอล (Kim and Kim, 2005; Díaz-Batalla et al., 2006) และจากรายงานสภาพระบาดวิทยาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ในการบริโภคถั่วและถั่วเมล็ดแห้งนั้น ได้มีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงต่อกลุ่มโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือด โรคเบาหวานและโรคอ้วน ซึ่งได้แสดงให้เห็นว่าสารกลุ่มโพลีฟีนอลในถั่วเมล็ดแห้งนั้นสามารถมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยการขัดขวางการทำลายโครงสร้างเซลล์จากสารอนุมูลอิสระได้ ((Bhathena and Velasquez, 2002; Kris-Etherton et al., 2002; Aparicio-Fernandez et al., 2005)

อย่างไรก็ตามก่อนการบริโภคถั่วเหลืองนั้นจำเป็นต้องมีการปรุงสุก โดยมีการแช่น้ำเพื่อให้มีความรวดเร็วลดระยะเวลาในการที่จะนำไปปรุงสุกต่อด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การต้ม การนึ่ง และการคั่ว เป็นต้น สำหรับการปรุงสุกจะมีส่วนในการปรับเปลี่ยนลักษณะของกลิ่นรส เนื้อสัมผัสแล้วนั้น ช่วยในการลดสารบางชนิดที่ขัดขวางการดูดซึมเช่น ทริปซิน หรือกรดไฟติก เป็นต้น และส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อปริมาณและฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (Boateng et al., 2008) โดยมีรายงานวิจัยถึงผลของกระบวนการแปรรูปต่อปริมาณและฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลในถั่วชนิดต่างๆ เช่น ถั่ว green pea, lentil และ chickpea (Xu and Chang, 2008) แต่ยังมีผลรายงานวิจัยค่อนข้างน้อยเกี่ยวกับกระบวนการแปรรูปที่ส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศไทย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาถึงผลกระทบของการแช่น้ำและกระบวนการแปรรูป (การต้ม การนึ่งและการคั่ว) ต่อปริมาณและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่วเหลือง เพื่อเป็นข้อมูลวิจัยในการนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพจากถั่วเหลืองต่อไป

วิธีการวิจัย (Methodology)

1. สารเคมี

เตรียมสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripiridyl-s-triazine (TPTZ), Folin-Ciocalteu's, สารมาตรฐานกรดฟีนอล ได้แก่ gallic acid, ferulic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, *p*-coumaric aicd , caffeic acid, syringic acid, sinapic acid และ chlorogenic acid, สารมาตรฐานฟลาโวนอยด์ ได้แก่ rutin, myricetin, quercetin, apigenin และ kaempferol ซื้อจาก Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA), เอทา-นอล เมทานอล และอะซีโตนไนไตร สำหรับวิเคราะห์ HPLC ซื้อจาก Merck (Darmstadt, Germany) และสารเคมีอื่นๆ ที่ใช้เป็นแบบระดับใช้ในการวิเคราะห์

2. วัตถุดิบและวิธีการเตรียมตัวอย่าง

2.1 ถั่วเหลืองดิบและถั่วเหลืองแช่น้ำ

ตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) สายพันธุ์ขอนแก่น ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น กรมวิชาการเกษตร จังหวัดขอนแก่น โดยเมล็ดถั่วเหลืองดิบนำไปบดเป็นผงร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh บรรจุซองปิดสนิท เก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส รอนำไปวิเคราะห์ต่อไป และวิธีการแช่น้ำอ้างอิงจาก Xu และ Chang (2008) ได้มีการปรับปรุงเล็กน้อย โดยนำเมล็ดถั่วเหลือง 100 กรัม มาล้างผ่านน้ำกลั่น 1 รอบ แล้วจึงนำมาแช่กับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 แช่ที่ระยะเวลา 2 (S2) 12 (S12) และ 24 (S24) ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลาแล้วนำไปกรองน้ำทิ้ง นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้ไปอบให้แห้ง (ความชื้นต่ำกว่า 7%) นำมาบดให้เป็นผง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh บรรจุซองปิดสนิท เก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส รอนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.2 ถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูป

2.2.1 ถั่วเหลืองต้ม

วิธีการต้ม อ้างอิงจาก Xu และ Chang (2008) และได้มีการดัดแปลงเล็กน้อย โดยนำเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 2 ชั่วโมง ต้มในน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 30 (B1) 45 (B2) และ 60 (B3) นาที ในอัตราส่วน เมล็ดถั่ว 1 ต่อ น้ำกลั่น 10 เมื่อครบเวลาแล้วนำไปกรองน้ำออก นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้ไปอบให้แห้ง (ความชื้นต่ำกว่า 7%) นำมาบดให้เป็นผง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh บรรจุซองปิดสนิท เก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส รอนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.2.2 ถั่วเหลืองนึ่ง

วิธีการนึ่ง อ้างอิงจาก Xu และ Chang (2008) และได้มีการดัดแปลงเล็กน้อย โดยชั่งเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 2 ชั่วโมง 20 กรัม นึ่ง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 30 (ST1) 45 (ST2) และ 60 (ST3) นาที เมื่อครบเวลาแล้ว นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้ไปอบให้แห้ง (ความชื้นต่ำกว่า 7%) นำมาบดให้เป็นผง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh บรรจุซองปิดสนิท เก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส รอนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.2.3 ถั่วเหลืองคั่ว

วิธีการคั่ว อ้างอิงจาก Kim และคณะ(2011) และได้มีการดัดแปลงเล็กน้อย โดยชั่งเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ 2 ชั่วโมง จำนวน 50 กรัม นำไปคั่ว (R) ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้ไปอบให้แห้ง (ความชื้นต่ำกว่า 7%) นำมาบดให้เป็นผง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh บรรจุซองปิดสนิท เก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส รอนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.3 วิธีการสกัดตัวอย่างถั่วเหลือง

ชั่งตัวอย่างถั่วเหลืองผง 2 กรัม จากนั้นเติม 80% เอทานอล 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารสกัดที่ -18 องศาเซลเซียส รอนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.4 วิธีการวัดวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.4.1 การวัดวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic content)

เป็นการวัดปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารประกอบฟีนอลทั้งหมด โดยดัดแปลงวิธีจาก Kubola และSiriamornpun (2008) วิธีการวิเคราะห์ดังนี้ ดูดสารสกัดตัวอย่างถั่วเหลือง 0.3 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลาย Folin-Ciocalteu (ผสมสารละลายมาตรฐาน Folin-Ciocalteu 1 มิลลิลิตร ต่อ น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร) จำนวน 2.25 มิลลิลิตร ลงไปผสมในตัวอย่างสารสกัด ตั้ง

ทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 6% (w/v) จำนวน 2.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ซึ่งใช้น้ำกลั่นเป็น blank โดยคำนวณปริมาณของฟีนอลทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid ในหน่วย mg GAE/g DW โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

2.5 วิธีการวัดวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH scavenging radical

เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยดูความสามารถในการจับอนุมูล 2,2 diphenyl-1-picryhydrazyl โดยได้ดัดแปลงจากวิธีของ Kubola และ Siriamornpun (2008) วิธีการวัดวิเคราะห์ดังนี้ ดูดสารสกัดตัวอย่างถั่วเหลือง 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นดูดสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.04 มิลลิโมล (ละลายใน 80% เอทานอล) ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งใช้เอทานอลเป็น blank โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

สมการในการคำนวณ

เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

$$=[(A_{DPPH}-A_{Sample})/A_{DPPH}]x100 \quad (1)$$

เมื่อ A_{DPPH} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่าง

A_{Sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

2.5.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

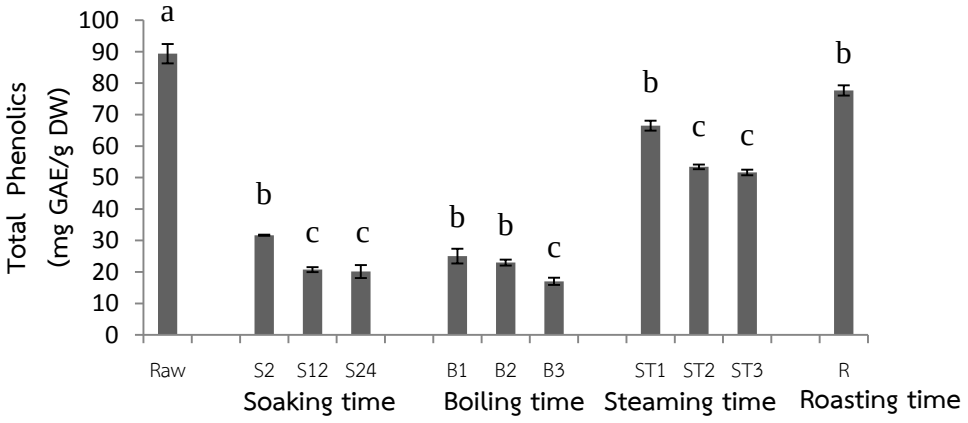
เป็นการวิเคราะห์ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่การให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าความสารมารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นความสามารถรวมในการรีดิวซ์ ซึ่งในวิธีนี้จะทดสอบด้วยสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl-s-triazine) เมื่อถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระแล้วจะได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{2+} - TPTZ โดยดัดแปลงวิธีจาก Kubola และSiriamornpun (2008) วิธีการวิเคราะห์ดังนี้ เตรียมสารละลาย FRAP (สารละลาย acetate buffer 300 mM (pH 3.5-3.7) จำนวน 100 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย TPTZ 10 มิลลิลิตร (ละลายใน HCl เข้มข้น 10 mM) เติม สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ เข้มข้น 20 mM จำนวน 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 120 มิลลิลิตร) จากนั้น ดูดสารสกัดตัวอย่างถั่วเหลือง 60 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 180 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย FRAP 1.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที แล้วนำไปวัดที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ซึ่งใช้น้ำกลั่นเป็น blank โดยคำนวณปริมาณการรีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ จากกราฟมาตรฐานในหน่วย mM $FeSO_4.7H_2O$ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ผลการวิจัยและการอภิปลายผล

3.1 ผลของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ; ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในถั่วเหลืองดิบ ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำและถั่วทีผ่านกระบวนการแปรรูป

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด พบว่าในถั่วเหลืองดิบนั้นมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลสูงที่สุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำและผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว (รูปที่ 1) และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในถั่วเหลืองที่แช่น้ำ 2 ชั่วโมง (S2) มีค่าสูงสุด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองที่แช่น้ำ 12 ชั่วโมง (S12) และ 24 ชั่วโมง (S24) (รูปที่ 1) โดยค่าการสูญเสียของปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดตามระยะเวลาการแช่ คือ 2, 12 และ 24 ชั่วโมงนั้น มีค่าการสูญเสียเพิ่มขึ้น คือ 64.5%, 76.77% และ 77.48% ตามลำดับ โดยถั่วเหลืองที่แช่น้ำ 24 ชั่วโมง มีค่าการสูญเสียของสารประกอบฟีนอลสูงสุดโดยเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบ มีรายงานวิจัยที่มีการนำเอาถั่วชนิดต่างๆ เช่น green pea, yellow pea, chickpea และ lentil มาแช่น้ำที่ระยะเวลา 2 – 24 ชั่วโมงนั้น จะส่งผลให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลลดลงเมื่อระยะเวลาของการแช่น้ำเพิ่มมากขึ้นในถั่วทั้ง 4 ชนิด และมีค่าการสูญเสียถึง 37.8% ในถั่ว lentil (Xu and Chang, 2008) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการแช่น้ำมีผลกระทบต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้มีค่าลดลง โดยการแช่น้ำมีส่วนทำให้ผนังเซลล์หรือเปลือกที่ห่อหุ้มถั่วให้มีความนิ่มมากขึ้นส่งผลให้สารประกอบฟีนอลที่มีคุณสมบัติที่สามารถละลายน้ำได้ละลายออกไปสู่น้ำที่ใช้แช่ได้ นอกจากนี้ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ S2 แล้วนำไปต้มที่ระยะเวลา 30 นาที (B1) 45 นาที (B2) และ 60 นาที (B3) ส่งผลทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดนั้นลดลงเมื่อระยะเวลาการต้มนานขึ้น (รูปที่ 1) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับถั่วเหลือง

ดิบพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ และยังพบว่าถั่วเหลืองต้ม B1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับถั่วเหลืองต้ม B2 โดยค่าการสูญเสียของปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ B3 เท่ากับ 80.96% ในขณะที่ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ S2 แล้วนำไปนึ่งที่ระยะเวลา 30 นาที (ST1) 45 นาที (ST2) และ 60 นาที (ST3) พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการนึ่งนานขึ้น (รูปที่ 1) และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบ โดยพบว่าถั่วเหลืองนึ่ง ST1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองนึ่ง ST2 และ ST3 และค่าการสูญเสียของปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ ST3 เท่ากับ 42.23% สำหรับวิธีการคั่วพบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ S2 แล้วนำไปคั่ว (R) พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลลดลงและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบ โดยมีค่าการสูญเสียของปริมาณสารประกอบฟีนอลอยู่ที่ 13.06% จากผลการวิเคราะห์พบว่าถั่วเหลืองที่แช่น้ำ 2 ชั่วโมง แล้วไปผ่านวิธีการต้มจะส่งผลให้มีค่าการสูญเสียปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดและวิธีการคั่วมีค่าการสูญเสียน้อยที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการแปรรูปนั้นมีส่วนสำคัญต่อปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีรายงานวิจัยในการนำเอาถั่ว green pea, yellow pea และ chickpea นำมาแช่น้ำแล้วไปผ่านกระบวนการแปรรูปคือ ต้มและนึ่ง พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลของถั่วนึ่งทั้งสามชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมากกว่าในถั่วต้ม(Xu and Chang, 2008) ซึ่งวิธีการต้มทำให้ถั่วได้สัมผัสกับน้ำโดยตรงและยังมีความร้อนเข้าร่วมด้วยทำให้ให้สารประกอบฟีนอลที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำสามารถละลายออกมาจากเซลล์ได้ง่ายขึ้นจากการเกาะติดอยู่กับโครงสร้างของน้ำตาลในเซลล์หรือที่เรียกว่าอยู่ในรูปของไกลโคไซด์มีการแตกตัวออกมาเป็นสารประกอบฟีนอลอิสระหรือที่อยู่ในรูปของอะไกลโคนมากขึ้นและละลายออกมาในน้ำที่ใช้ต้มมากขึ้น (Dewanto et al., 2002) ส่วนในการนึ่ง ถั่วไม่ได้สัมผัสกับน้ำโดยตรงซึ่งอาจจะมีส่วนช่วยให้สารประกอบฟีนอลที่ละลายน้ำได้ไม่ละลายออกไปมากเหมือนกับถั่วที่ต้ม แต่อย่างไรตามก็ยังมีไอน้ำร่วมกับความร้อนซึ่งมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลเกิดการเปลี่ยนทางโครงสร้างเคมีจากความร้อนที่ได้รับและมีการร่วมจับกลุ่มกับกลุ่มสารอินทรีย์อื่นๆ ภายในเซลล์ได้ (Satwadhar et al., 1981) ทำให้มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่ลดลงได้ สำหรับวิธีการคั่วนั้นเป็นการให้ความร้อนโดยตรงโดยไม่มีน้ำร่วมด้วยซึ่งอาจจะส่งผลให้ยังคงรักษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลได้ใกล้เคียงกับตัวอย่างถั่วเหลืองดิบ โดยมีรายงานวิจัยของKim และคณะ (2011) ในการนำเอาถั่วเหลืองไม่แช่น้ำมาคั่วที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมีค่าสูงกว่าถั่วเหลืองดิบเล็กน้อยซึ่งในการคั่วนั้นจะมีส่วนในการทำให้เกิดปฏิกิริยา Maillard และได้ผลผลิตจากปฏิกิริยานี้ที่จะมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณของสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วย (Siddhuraju, 2006; Dueñas et al., 2005)

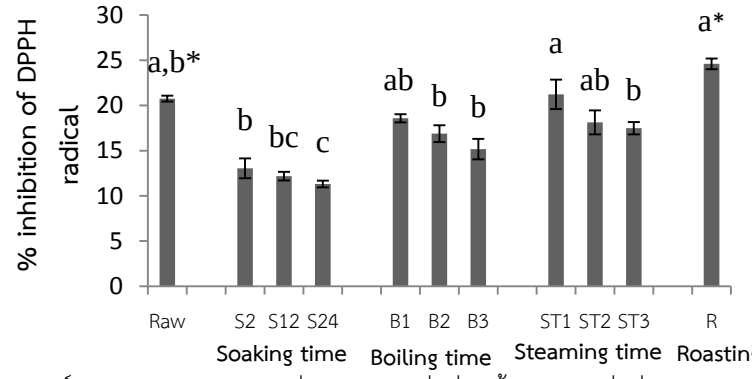


รูปที่ 1 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในถั่วเหลืองดิบ ถั่วที่แช่น้ำ (S) และถั่วที่ผ่านกระบวนการต้ม (B) การนึ่ง (ST) และการคั่ว (R) และ $^{a,b,c....}$ตัวอักษรที่แสดงบนภาพแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ p=0.05 โดยใช้ค่าถั่วเหลืองดิบเป็นค่าเปรียบเทียบความแตกต่างปริมาณของสารประกอบฟีนอลในแต่ละวิธีการ

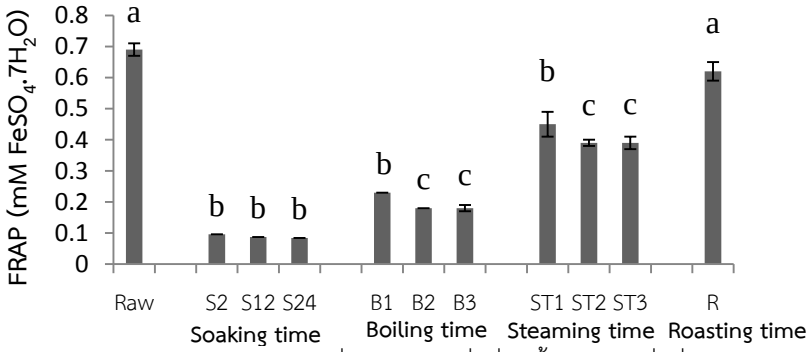
3.2 ผลของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH และ FRAP ในถั่วเหลืองดิบและถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำและกระบวนการแปรรูป

ผลของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าในถั่วเหลืองดิบจะมีค่า % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำและผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว (รูปที่ 2) โดยพบว่าถั่วเหลืองแช่น้ำ S2 มีค่า % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองที่แช่น้ำ S24 โดย S24 มีค่า % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำสุด สำหรับถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ S2 แล้วนำมาผ่านกระบวนการแปรรูปโดย การต้ม (B), ที่ระยะเวลา 30 นาที (B1), 45 นาที (B2) และ 60 นาที (B3) พบว่าถั่วต้ม B1 มีค่า % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบ ถั่วต้ม B2 และ B3 โดยค่าการสูญเสียฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 10.5 – 26.9% (รูปที่ 2) ซึ่งจากผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับรายงายวิจัยของ Xu และ Chang (2008) ที่ทำการต้มถั่ว lentil ที่ระยะเวลา 30 45 และ 60 นาที ได้มีค่าการสูญเสีย % ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 8.4 – 29.5% ในส่วนของวิธีการนึ่งพบว่าถั่วเหลืองนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆกัน คือ 30 นาที (ST1), 45 นาที (ST2) และ 60 นาที (ST3) จะมี % ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง โดยถั่วเหลืองนึ่ง ST1 มีค่า % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบและถั่วเหลืองนึ่ง ST2 โดยค่าการสูญเสีย % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 12.6 – 15.8% (รูปที่ 2) จากรายงานวิจัยของการนึ่งถั่ว lentil นาน 15 นาที พบว่า % ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง 13.9% และทำการนึ่งถั่ว green pea, yellow pea และ chickpea ที่ 70 นาที พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลงประมาณ 32 – 50% แสดงให้เห็นได้ว่าระยะเวลาในการแปรรูปมีส่วนสำคัญที่ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงได้(Xu and Chang, 2008) สำหรับวิธีการคั่ว (R) พบว่าถั่วเหลืองที่ผ่านการคั่วนั้นส่งผลให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าถั่วเหลืองดิบและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ โดยเพิ่มขึ้น 18.6% (รูปที่ 2) ซึ่งมีรายงานวิจัยในการนำถั่วเหลืองไปคั่วที่ 150 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีนั้นมีผลช่วยให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น 12.2% (Kim et al., 2011)

ผลการวิเคราะห์ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP พบว่ามีแนวโน้มเป็นเช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยถั่วเหลืองดิบมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูงที่สุด (รูปที่ 3) และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำและผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ นอกจากนี้ตัวอย่างถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำ S2, S12 และ S24 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (รูปที่ 3) โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของถั่วที่ผ่านการแช่น้ำ อยู่ระหว่าง 12.2 - 13.9% เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบและจากรายงานวิจัยของ Boateng และคณะ (2008) พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำมีค่าลดลงเมื่อเปรียบกับถั่วเหลืองดิบ สำหรับวิธีการต้มพบว่าถั่วเหลืองต้ม B1 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงกว่า B2 และ B3 และเมื่อนำมาเปรียบเทียบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ โดยค่าการสูญเสียของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อยู่ที่ 86.1 – 87.8% โดย B3 มีค่าการสูญเสียสูงที่สุด (รูปที่ 3) ซึ่งมีความสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ (Siah et al., 2014) โดยการนำถั่ว faba ไปต้มที่ระยะเวลา 40 นาที ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการสูญเสียฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อยู่ที่ 65.4 – 82.4% และจากรูปที่ 3 ในส่วนของวิธีการนึ่งจะเห็นได้ว่าถั่วเหลืองนึ่งนั่นจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP นั้นสูงกว่าวิธีการต้มแต่น้อยกว่าวิธีการคั่ว ซึ่งถั่วเหลืองนึ่ง ST1 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติกับ ST3 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ โดยมีค่าการสูญเสียฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อยู่ระหว่าง 34.8 – 43.5% นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการคั่ว จะส่งผลให้ถั่วเหลืองที่ผ่านการคั่ว (R) แล้วนั้นมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงกว่าถั่วที่ต้มและนึ่ง และเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองดิบพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (รูปที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ(Kim et al., 2011) ที่ตรวจพบว่าสารที่เกิดจากปฏิกิริยา Maillard นี้มีส่วนช่วยในการเพิ่มฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระให้มีมากขึ้น



รูปที่ 2 เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในถั่วเหลืองดิบ ถั่วที่แช่น้ำ (S) และถั่วที่ผ่านกระบวนการต้ม (B)การนึ่ง (ST) และการคั่ว (R) และ $^{a,b,c,....}$ตัวอักษรที่แสดงบนภาพแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ p=0.05 โดยใช้ค่าถั่วเหลืองดิบเป็นค่าเปรียบเทียบความแตกต่างของ % ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในแต่ละวิธีการ



รูปที่ 3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ในถั่วเหลืองดิบ ถั่วที่แช่น้ำ (S) และถั่วที่ผ่านกระบวนการต้ม (B) การนึ่ง (ST) และการคั่ว (R) และ $^{a,b,c,....}$ตัวอักษรที่แสดงบนภาพแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ p=0.05 โดยใช้ค่าถั่วเหลืองดิบเป็นค่าเปรียบเทียบความแตกต่าง ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ในแต่ละวิธีการ

สรุป

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นได้ว่าการแช่น้ำมีผลทำให้ปริมาณและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วเหลืองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบ กล่าวคือเมื่อระยะการแช่ถั่วเหลืองในน้ำนานมากขึ้นการสูญเสียต่อปริมาณและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการแปรรูปที่แตกต่างกันส่งผลต่อปริมาณและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีความแตกต่างกัน ยกตัวอย่างเช่น ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำแล้วนำไปแปรรูปด้วยการคั่ว พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ประเมินด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงกว่า การนึ่งและการต้ม ตามลำดับ และจากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการแช่ถั่วเหลืองในน้ำนั้นไม่ควรจะเกิน 12 ชั่วโมงและในการแปรรูปโดยวิธีการต้มและนึ่งไม่ควรจะเกิน 45 นาที และวิธีการคั่วไม่ควรเกิน 5 นาที โดยจากข้อมูลการวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดความเหมาะสมในผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณประโยชน์สูงสุดทางด้านสุขภาพของผู้บริโภคต่อไป

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้ได้ในเชิงระดับอุตสาหกรรมและสามารถพัฒนาให้มีผลิตภัณฑ์ที่ดีต่อสุขภาพจากถั่วเหลืองได้

กิตติกรรมประกาศ

ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหาสารคามและคณะเทคโนโลยี ที่ได้สนับสนุนงบวิจัยในการทำวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนขอขอบคณะเทคโนโลยีและศูนย์เครื่องมือกลางในการอำนวยความสะดวกในสถานที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและอุปกรณ์เครื่องทางวิทยาศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

Aparicio-Fernandez, X., G.G. Yousef, G. Loarca-Pina, E. de Mejia, and M.A. Lila. 2005. Characterization of polyphenolics in the seed coat of Black Jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agricultural and Food chemistry. 53(11), 4615–4622.

Bhathena, S.J., and M.T. Velasquez. 2002. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. The American journal of clinical nutrition. 76(6), 1191–1201.

Boateng, J., M. Verghese, L.T. Walker, and S. Ogutu. 2008. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). LWT-Food Science and Technology. 41(9), 1541–1547.

Devi, M.A., M. Gondi, G. Sakthivelu, P. Giridhar, T. Rajasekaran, and G.A. Ravishankar. 2009. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. Food Chemistry. 114(3), 771–776.

Dewanto, V., X. Wu, and R.H. Liu. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. Journal of Agricultural and food Chemistry. 50(17), 4959–4964.

Díaz-Batalla, L., J.M. Widholm, G.C. Fahey, E. Castaño-Tostado, and O. Paredes-López. 2006. Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54(6), 2045–2052.

Dueñas, M., D. Fernández, T. Hernández, I. Estrella, and R. Muñoz. 2005. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. Journal of the Science of Food and Agriculture. 85(2), 297–304.

Kim, H.G., G.W. Kim, H. Oh, S.Y. Yoo, Y.O. Kim, and M.S. Oh. 2011. Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (*Glycine max* L. Merrill). LWT-Food Science and Technology. 44(4), 992–998.

Kim, M. J., and K. S. Kim. 2005. Functional and chemical composition of Hwanggumkong, Yakong and Huktae. Korean journal of food and cookery science. 21(6), 844–849.

Kris-Etherton, P.M., K.D. Hecker, A. Bonanome, S.M. Coval, A.E. Binkoski, K.F. Hilpert, A.E. Griel, and T.D. Etherton. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. The American journal of medicine. 113(9), 71–88.

Kubola, J., and S. Siriamornpun. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. Food chemistry. 110(4), 881–890.

Messina, M. J. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects.The American Journal of Clinical Nutrition. 70(3), 439S-450S**.**

Satwadhar, P.N., S.S. Kadam, and D.K. Salunkhe. 1981. Effects of germination and cooking on polyphenols and *in vitro* protein digestibility of horse gram and moth bean. Plant Foods for Human Nutrition. 31(1), 71–76.

Siah, S., J.A. Wood, S. Agboola, I. Konczak, and C.L. Blanchard. 2014. Effects of soaking, boiling and autoclaving on the phenolic contents and antioxidant activities of faba beans (*Vicia faba* L.) differing in seed coat colours. Food chemistry. 142, 461–468.

Siddhuraju, P. 2006. The antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of phenolics of raw and dry heated moth bean (*Vigna aconitifolia*)(Jacq.) Marechal seed extracts. Food Chemistry. 99(1), 149–157.

Xu, B., and S.K. Chang. 2008. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic contentand antioxidant activities of cool season food legumes. Food chemistry. 110(1), 1–13.