โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ชื่อนิสิต นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ
นางสาวนวแพรว มะลิลา
นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์

ภาควิชา ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัย
ภายใต้โครงการการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

Antioxidant activities in cooked organic and conventional mung beans

โดย

นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ

นางสาวนวแพรว มะลิลา

นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์

ประจำปีการศึกษา 2563

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

โดย

นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ
นางสาวนวแพรว มะลิลา
นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

รายงานนี้เป็นส่วนของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ประจำปีการศึกษา 2563

ANTIOXIDANT ACTIVITIES IN COOKED ORGANIC AND CONVENTIONAL MUNG BEANS

Nishakorn A-neksittikit
Navapraew Malila
Panisara Amornrungroj

Project Advisor

Asst. Prof. Kiattisak Duangmal, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2020

หัวข้องานวิจัย	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก
โดย	นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ
	นางสาวนวแพรว มะลิลา
	นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์
ปีการศึกษา	2563

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2563

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ขนิษฐา ธนานุวงศ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก
โดย นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ
นางสาวนวแพรว มะลิลา
นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์
ปีการศึกษา 2563

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันผลิตผลเกษตรอินทรีย์กำลังเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นผลิตผลที่ผ่านกระบวนการเพาะปลูกแบบปลอดสารเคมี รวมถึงมีงานวิจัยอ้างถึงข้อดีของผลิตผลเกษตรอินทรีย์ด้านการมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าผลิตผลเกษตรทั่วไป งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณและศึกษาความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน รวมถึงศึกษาปริมาณโปรตีนในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก โดยวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกอิสระ (free polyphenol) และสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (bound polyphenol) โดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent วิเคราะห์ฟลาโวนอยด์อิสระ (free flavonoid) และฟลาโวนอยด์ไม่อิสระ (bound flavonoid) ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity และ Ferric Reducing Antioxidant Power ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระและปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่อิสระในถั่วเขียวปรุงสุกทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกมีปริมาณมากกว่าถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกอิสระ ($r = 0.9204$ และ 0.9513) และปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ ($r = 0.8560$ และ 0.9397) ที่พบในถั่วเขียวปรุงสุกทั้งสองชนิด เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl พบว่าถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกมีปริมาณโปรตีนมากกว่าถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวปรุงสุกมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระที่พบ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ในถั่วเขียวปรุงสุกที่ต่างกันอาจเนื่องมาจากแหล่งเพาะปลูกและสภาวะในการเพาะปลูก

Project Title Antioxidant activities in cooked organic and conventional mung beans
Student Nishakorn A-neksittikit
Navapraew Malila
Panisara Amornrungroj
Study Program Bachelor of Science in Food Technology
Advisor Asst. Prof. Kiattisak Duangmal, Ph.D.
Academic Year 2020

Abstract

Nowadays, organic agricultural products are becoming widely popular because they are produced through chemical-free cultivation processes, and some researchers claim that organic agricultural products contain more antioxidants than conventional agricultural products do. The objectives of this research were to quantify phenolics content, flavonoids content and antioxidant activity and to study their correlations. Crude protein content of cooked organic mung beans and cooked conventional mung beans were also investigated. Free and bound polyphenol were analyzed with Folin-Ciocalteu reagent. Free and bound flavonoids were analyzed using Aluminum chloride colorimetric assay. Antioxidant activities were analyzed via DPPH radical scavenging activity and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). The result showed that free phenolics content of cooked organic mung beans and cooked conventional mung beans were significantly different ($p \leq 0.05$). On the other hand, there was no significant difference in bound phenolics content found between two types of cooked beans ($p > 0.05$). There was a significant difference in free flavonoids content and bound flavonoids content between cooked organic mung beans and cooked conventional mung beans ($p \leq 0.05$). Antioxidant activities (DPPH radical scavenging activity and FRAP) of cooked conventional mung beans were significantly higher than cooked organic mung beans ($p \leq 0.05$). It appeared that the antioxidant activity was correlated with the amount of free phenolics content ($r = 0.9204$ and 0.9513) and free flavonoid contents ($r = 0.8560$ and 0.9397). Crude protein content, determined using Kjeldahl method, in cooked organic mung beans was significantly higher than that in cooked conventional mung beans ($p \leq 0.05$). The obtained results revealed that antioxidant activities in cooked mung beans were correlated with the amount of free phenolics content and free flavonoids content. The amount of total phenolics and flavonoids content in cooked mung beans may vary depending on cultivation area and cultivation conditions.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนตามหลักสูตรระดับปริญญาบัณฑิตของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งได้รับเงินทุนสนับสนุนจากงบประมาณของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2563 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

งานวิจัยชิ้นนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ ทางคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้น รวมทั้งความรู้แนวคิดที่ผู้วิจัยได้นำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาค้นคว้า ทดลอง จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อ.ดร.พิมพ์พินันท์ สมทรง ที่เอื้อเฟื้อสารเคมี 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) สำหรับการทำการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบพระคุณ อ.ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล ผู้ประสานรายวิชา ที่คอยให้ข้อมูลต่างๆ แนะแนวทางที่ดีในงานวิจัยและเอกสารที่เกี่ยวข้องจนดำเนินการได้อย่างราบรื่นตลอดมา รวมถึงคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ได้ประสาทวิชาทั้งหลายก่อเป็นความรู้ความเข้าใจที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยได้ทุกส่วน

ขอขอบพระคุณหัวหน้าห้องปฏิบัติการเคมีทางอาหารและหัวหน้าห้องปฏิบัติการกระบวนการผลิตอาหาร ที่คอยอำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ รวมถึงเพื่อนนิสิตร่วมชั้นปี รุ่นพี่ปริญญาโทและปริญญาเอกที่คอยให้คำปรึกษาช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆตลอดการทำงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ ทางคณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและการค้นคว้าวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไปในอนาคต

นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ
นางสาวนวแพรว มะลิลา
นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	3
2.1 เกษตรอินทรีย์	3
2.2 มาตรฐานรับรองผลผลิตเกษตรอินทรีย์	4
2.3 ถั่วเมล็ดแห้ง	8
2.4 การปรุงสุก	10
2.5 สารประกอบฟีนอลิก	12
2.6 สารต้านออกซิเดชัน	14
2.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	15
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	16
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	18
3.1 วัสดุอุปกรณ์	18
3.1.1 วัตถุดิบ	18
3.1.2 อุปกรณ์	18
3.1.3 สารเคมี	19
3.2 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย	20
3.2.1 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมล็ดถั่วเขียว	20
3.2.2 การเตรียมตัวอย่างถั่วเขียว	20
3.2.3 การเตรียมตัวอย่างถั่วเขียวสุกเพื่อทำการสกัด	20
3.2.4 การสกัดตัวอย่าง	20
3.2.5 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	21

(Total Phenolics Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก
3.2.6 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoids Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 21
3.2.7 ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 22
3.2.8 ศึกษาปริมาณโปรตีนของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 22
3.2.9 การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ทางสถิติ 23
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 24
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมล็ดถั่วเขียว 24
4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 25
(Total Phenolics Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก
4.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) และไม่อิสระ (Bound phenolics content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 25
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 28
4.3.1 ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) และไม่อิสระ (Bound flavonoids content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 28
4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 30
4.5 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ 32
4.5.1 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวปรุงสุก 32
4.5.2 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวปรุงสุก 33
4.6 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 35
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 36
5.1 สรุปผลการทดลอง 36
5.2 ข้อเสนอแนะ 36
เอกสารอ้างอิง 37

ภาคผนวก

ก กราฟแสดงความแตกต่างทางสถิติ 41

ข ข้อมูลจำเพาะของผลิตภัณฑ์ 43

ค ตารางวิเคราะห์ผล t-test (Two-Sample Assuming Unequal Variances) 47

ง วิธีวิเคราะห์ทางเคมี 50

จ ประวัติผู้วิจัย 54

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 Cooking temperatures at different pressures: the higher the pressure, the shorter the cooking time. 11

4.1 ขนาดและน้ำหนักของเมล็ดถั่วเขียว 24

4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและไม่อิสระของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 25

4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระและไม่อิสระของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 28

4.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 30

4.5 ปริมาณโปรตีนและปริมาณโปรตีนเฉลี่ยของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก 35

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ IFOAM	4
2	ตรารับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ IFOAM ของสำนักงานมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ มกท.	4
3	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์สหภาพยุโรป	5
4	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์สหรัฐอเมริกา	5
5	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์แคนาดา	6
6	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ญี่ปุ่น	6
7	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ	7
8	ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ มกท.	7
9	สมการปฏิกิริยาระหว่าง DPPH• และ Antioxidant (AH)	15
10	สมการปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine และ antioxidant	16
11	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity	32
12	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)	32
13	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity	33
14	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)	33

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันผลิตผลทางการเกษตรที่มีการเพาะปลูกแบบอินทรีย์กำลังเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในประเทศ ซึ่งในท้องตลาดทั่วไปผลิตผลที่ได้รับตรารับรองเกษตรอินทรีย์มักมีราคาสูงกว่าผลิตผลทางการเกษตรทั่วไป โดยผลิตผลที่ได้รับตรารับรองเกษตรอินทรีย์เป็นผลิตผลที่ผ่านกระบวนการเพาะปลูกแบบปลอดสารเคมี และนอกจากนี้ยังมีการโฆษณาผ่านสื่อออนไลน์ด้วยว่าผลิตผลทางเกษตรที่มีการเพาะปลูกแบบอินทรีย์มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าที่มีการเพาะปลูกทั่วไป

ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุสั้น ทำให้มีการเพาะปลูกได้ปีละหลายครั้ง โดยทั่วไปถั่วเขียวทนอากาศร้อนและชื้น ทนทานต่อความแห้งแล้ง จึงเป็นที่นิยมปลูกอย่างแพร่หลายในทุกภาคของประเทศไทย และถั่วเขียวเป็นแหล่งสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการในด้านต่างๆ เช่นโปรตีน ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายในการควบคุมการทำงานของอวัยวะต่างๆของร่างกายให้ทำงานได้เป็นปกติรวมถึงช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้แข็งแรงมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีสารพฤกษเคมีเช่นสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน ในงานวิจัยนี้จึงเลือกถั่วเขียวเพื่อการศึกษาเชิงลึกทางวิทยาศาสตร์ในการหาข้อมูลเกี่ยวกับการกล่าวอ้างข้างต้น

ซึ่งงานวิจัยนี้ทำการศึกษาถั่วเขียวที่ผ่านปรุงสุกเนื่องจากการบริโภคถั่วเขียวจำเป็นต้องผ่านกระบวนการปรุงสุกก่อนรับประทาน เพื่อกำจัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินและเลคตินออกไปจากถั่วได้อย่างสมบูรณ์ ในงานทำการปรุงสุกถั่วเขียวโดยการให้ความร้อนผ่านการหุงด้วยหม้ออัดแรงดัน เนื่องจากเป็นกระบวนปรุงสุกที่ใช้ระยะเวลาสั้นและสามารถคงคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเขียวไว้ได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบและเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน อีกทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
3. ศึกษาปริมาณโปรตีนในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

3. ขอบเขตของการวิจัย

    1. คัดเลือกถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไป ประเภทละ 5 แหล่ง
    2. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
    3. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและไม่อิสระ
    4. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระและไม่อิสระ
    5. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน
    6. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและฟลาโวนอยด์อิสระ

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลปริมาณของโปรตีน สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ในถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจของผู้บริโภค

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์ (Literature review)

2.1 เกษตรอินทรีย์

เกษตรอินทรีย์เป็นการทำการเกษตรด้วยหลักธรรมชาติ บนพื้นที่การเกษตรที่ไม่มีสารพิษตกค้างและหลีกเลี่ยงจากการปนเปื้อนของสารเคมีทางดิน ทางน้ำ และทางอากาศเพื่อส่งเสริมความอุดสมสมบูรณ์ของดินความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศน์และฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมให้กลับคืนสู่สมดุลธรรมชาติโดยไม่ใช้สารเคมีสังเคราะห์หรือสิ่งที่ได้มาจากการตัดต่อพันธุกรรม ใช้ปัจจัยการผลิตที่มีแผนการจัดการอย่างเป็นระบบในการผลิตภายใต้มาตรฐานการผลิตเกษตรอินทรีย์ให้ได้ผลผลิตสูงอุดมด้วยคุณค่าทางอาหารและปลอดสารพิษโดยมีต้นทุนการผลิตต่ำเพื่อคุณภาพชีวิต และเศรษฐกิจพอเพียง แก่มวลมนุษยชาติ และสรรพชีวิต (สำนักงานเกษตรจังหวัดลพบุรี กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2556)

ประโยชน์ของผลิตผลเกษตรอินทรีย์

นอกจากผลผลิตเกษตรอินทรีย์จะมีความปลอดภัยมากกว่าผลผลิตเกษตรทั่วไปแล้ว ประโยชน์ต่อสุขภาพโดยตรงที่ผู้บริโภคได้จากการบริโภคอาหารเกษตรอินทรีย์ก็คือ คุณค่าทางโภชนการ จากงานศึกษาของ Worthington (2001) ศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตเกษตรอินทรีย์และเกษตรทั่วไป 1,240 ชนิด พบว่า คุณค่าทางโภชนาการด้านวิตามินและแร่ธาตุของผลผลิตเกษตรอินทรีย์สูงกว่าผลผลิตทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจาก 2 ปัจจัยสำคัญ คือ 1) การปรับปรุงบำรุงดินในระบบเกษตรอินทรีย์ ซึ่งทำให้พืชเกษตรอินทรีย์มีระบบเมตาโบลิซึ่มที่ดีกว่า ส่งผลให้ผลผลิตเกษตรอินทรีย์มีวิตามินซี ธาตุเหล็ก แมกนีเซียม และฟอสฟอรัสที่สูงกว่าผลผลิตที่ไม่ใช่เกษตรอินทรีย์ รวมทั้งมีไนเตรทและโลหะหนักตกค้างน้อยกว่า (ไนเตรทเป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค หากได้รับ ไนเตรทและไนไตรท์ มากเกินไป อาจเกิดอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องเสีย ตัวเขียว หายใจลำบาก หมดสติ และหากไม่ได้รับการรักษาทันที อาจอันตรายถึงขั้นเสียชีวิตได้ และในขณะเดียวกันปริมาณโปรตีนในผลผลิตเกษตรอินทรีย์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลผลิตทั่วไป 2) ผลผลิตเกษตรอินทรีย์มีปริมาณน้ำในผลผลิตต่ำกว่า (เฉลี่ย 20%) ซึ่งทำให้มวลแห้ง (dry matter) สูงกว่าผลผลิตทั่วไป ส่งผลให้ผลผลิตเกษตรอินทรีย์มีปริมาณธาตุอาหารต่างๆ ในสัดส่วนที่มากกว่าผลผลิตทั่วไป

2.2 มาตรฐานรับรองผลผลิตเกษตรอินทรีย์

2.2.1 ตรามาตรฐานสินค้าอินทรีย์ของประเทศผู้นำเข้าสินค้าอินทรีย์รายใหญ่

2.2.1.1 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ IFOAM หรือ IFOAM Accredited สมาพันธ์เกษตรอินทรีย์นานาชาติ (International Federation of Organic Agriculture Movements IFOAM) ได้จัดทำโครงการรับรองระบบงานเกษตรอินทรีย์ IFOAM (IFOAM Accreditation Program) ภายใต้กรอบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ IFOAM ซึ่งปัจจุบันหลายประเทศทั่วโลกยอมรับเป็นเกณฑ์มาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ขั้นต่ำสินค้าอินทรีย์เพื่อการนำเข้า เช่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ฮ่องกง สิงคโปร์ มาเลเซียเป็นต้น นอกจากนี้ สหพันธ์ฯยังได้จัดตั้งหน่วยงานชื่อ International Organic Accreditation Service – IOAS เพื่อทำหน้าที่ให้บริการรับรองหน่วยงานผู้ตรวจรับรองเกษตรอินทรีย์ทั่วโลกภายใต้กรอบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ IFOAM ซึ่งหน่วยงานผู้ตรวจรับรองเกษตรอินทรีย์ที่ได้รับการรับรองจาก IOAS จะมีคำว่า IFOAM Accredited เป็นตราสัญลักษณ์มาตรฐานที่แสดงไว้คู่กับตราสัญลักษณ์ของหน่วยงานผู้ตรวจนั้นๆ ตัวอย่างเช่นตรารับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ IFOAM ของสำนักงานมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ หรือ มกท. (Organic Agriculture Certification Thailand – ACT) จะมีตรา IFOAM Accredited อยู่ใต้สัญลักษณ์ของ มกท. (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่1 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ IFOAM (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่2 ตรารับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ IFOAM ของสำนักงานมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ มกท. (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.1.2 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์สหภาพยุโรป (EU) การแสดงตรามาตรฐานเกษตรอินทรีย์สหภาพยุโรปที่ถูกต้องจะต้องมีเลขรหัสหน่วยงานที่ทำการตรวจรับรองของสหภาพยุโรป ซึ่งระบุประเทศของหน่วยงานผู้ตรวจรับรองกำกับไว้ พร้อมกับระบุประเทศแหล่งที่มาของสินค้าอินทรีย์นั้นๆ ไว้ใต้ตรามาตรฐานด้วย (ดูตัวอย่าง ตรามาตรฐาน EU ของ มกท. ด้านขวามือ) สหภาพยุโรปยังไม่อนุญาตให้ใช้คำว่า 100% Organic หรือ อินทรีย์ 100% บนฉลากสินค้าด้วย ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์อื่นที่สหภาพยุโรปยอมรับ ได้แก่ ระบบมาตรฐาน

เกษตรอินทรีย์แคนาดา (เฉพาะที่ผลิตในประเทศแคนาดา) และระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์สหรัฐอเมริกา (เฉพาะที่ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกา) (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่3 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์สหภาพยุโรป (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.1.3 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์สหรัฐอเมริกา (National Organic Program – NOP) แผนงานเกษตรอินทรีย์แห่งชาติ (National Organic Program – NOP) ดำเนินงานภายใต้การกำกับดูแลของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา (United States Department of Agriculture – USDA) โดยระบบการตรวจรับรองเกษตรอินทรีย์นี้เริ่มใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์อื่นที่ประเทศสหรัฐอเมริกายอมรับ ได้แก่ ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์แคนาดา (จากผู้ผลิตทั่วโลก) และระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์สหภาพยุโรป (เฉพาะที่ผลิตในสหภาพยุโรป) โดยการแสดงตรามาตรฐานฯ ที่ยอมรับต้องแสดงคู่กับตรามาตรฐานฯ ของสหรัฐอเมริกาเสมอ (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่4 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์สหรัฐอเมริกา (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.1.4 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์แคนาดา (Canada Organic Regime – COR) รัฐบาลแคนาดาเริ่มนำาระบบ Canada Organic Regime (COR) ออกบังคับใช้เมื่อปี พ.ศ.2552 ตามระเบียบ Organic Products Regulations, 2009 โดยมี Canadian Food Inspection Agency (CFIA) เป็นหน่วยงานรับผิดชอบ การใช้ตรามาตรฐานเกษตรอินทรีย์แคนาดาที่ถูกต้อง ต้องมีชื่อสินค้า รหัสหน่วยงานที่ทำการตรวจการรับรองที่ออกโดย IOAS พร้อมกับระบุประเทศผู้ผลิต ทั้งภาษาอังกฤษและฝรั่งเศสกำกับไว้ใกล้ๆ ตรามาตรฐานฯ ให้เห็นได้ชัดเจน ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์อื่นที่ประเทศแคนาดายอมรับ ได้แก่ ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์สหรัฐอเมริกา (จากผู้ผลิตทั่วโลก) ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์สหภาพยุโรป (เฉพาะที่ผลิตในสหภาพยุโรป) และระบบมาตรฐาน

เกษตรอินทรีย์ญี่ปุ่น (เฉพาะที่ผลิตในญี่ปุ่น) เริ่ม 1 ม.ค. พ.ศ. 2558 โดยการแสดงตรามาตรฐานฯ ที่ยอมรับต้องแสดงคู่กับตรามาตรฐานฯ ของแคนาดาเสมอ (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่5 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์แคนาดา (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.1.5 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ญี่ปุ่น (Japanese Agricultural Standard Organic JAS mark) กำกับดูแลของกระทรวงเกษตร ป่าไม้ และประมง ของญี่ปุ่น (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries – MAFF) ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์อื่นที่ประเทศแคนาดายอมรับ ได้แก่ ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์แคนาดา (เฉพาะที่ผลิตในแคนาดา) เริ่ม 1 ม.ค. พ.ศ. 2558 โดยการแสดงตรามาตรฐานฯ ที่ยอมรับต้องแสดงคู่กับตรามาตรฐานฯ ของญี่ปุ่นเสมอ (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่6 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ญี่ปุ่น (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.2 ตรามาตรฐานสินค้าอินทรีย์ของหน่วยงานไทย

2.2.2.1 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ – มกอช. (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards – ACFS) มกอช. ได้ประกาศใช้ตรามาตรฐาน Organic Thailand เมื่อปี พ.ศ. 2555 และถือเป็นตรามาตรฐานของประเทศไทย แต่ไม่ได้บังคับว่าการนำเข้าสินค้าเกษตรอินทรีย์หรือสินค้าเกษตรอินทรีย์ที่ผลิตในประเทศไทยจะต้องได้รับมาตรฐาน Organic Thailand (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่7 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.2.2 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ มกท. (Organic Agriculture Certification Thailand – ACT) นอกจากสัญลักษณ์ ACT-IFOAM Accredited แล้ว มกท. ยังมีระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์เฉพาะ ที่จัดทำขึ้นสำหรับตรวจรับรองการผลิตเกษตรอินทรีย์บางประเภทที่เพิ่งเริ่มพัฒนาขึ้นในประเทศและในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เพื่อให้เหมาะกับผู้ประกอบการในระยะเริ่มต้น ซึ่งรวมถึง การเลี้ยงสัตว์ การเลี้ยงผึ้ง และการประกอบอาหารสำหรับร้านอาหาร ผู้ประกอบการที่ได้รับการรับรองตามระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ มกท. จะใช้ตราสัญลักษณ์ของ มกท. เป็นตรารับรองมาตรฐาน (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

ภาพที่8 ตรามาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ มกท. (มูลนิธินวชีวัน, 2555)

2.2.3 มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ของประเทศไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

(1) ที่ดินไม่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่ำกว่ามาตรฐานกำหนด

(2) พื้นที่ปลูกต้องไม่มีสารเคมีสังเคราะห์ตกค้าง

(3) ไม่ใช้สารเคมีสังเคราะห์ในกระบวนการผลิต

(4) ไม่ใช้เมล็ดพันธุ์ที่คลุกสารเคมีสังเคราะห์

(5) ไม่ใช้สิ่งที่ได้จากการตัดต่อทางพันธุกรรม

(6) ไม่ใช้มูลสัตว์ที่เลี้ยงอย่างผิดมาตรฐาน

(7) ปัจจัยการผลิตจากภายนอกต้องได้รับการรับรองมาตรฐาน

(8) กระบวนการผลิตต้องปราศจากสิ่งปนเปื้อนสารเคมีสังเคราะห์

(9) ส่งเสริมความหลากหลายทางชีวภาพ และสิ่งแวดล้อม

(10) ต้องได้รับการรับรองมาตรฐานอย่างเป็นทางการ

2.2.4 ข้อกำหนดเมล็ดพันธุ์และส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์เพื่อได้รับการรับรองผลิตพืชอินทรีย์ (กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562)

(1) ห้ามใช้พันธุ์พืชที่ได้จากการตัดต่อสารพันธุกรรมและหรือผ่านการฉายรังสี

(2) เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ควรมาจากระบบการผลิตแบบเกษตรอินทรีย์ ยกเว้นในกรณีที่พืชชนิดนั้นยังไม่มีการผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์

(3) ในช่วงระยะเริ่มต้นของการผลิตพืชอินทรีย์สามารถ ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ผลิตจาหน่ายโดยทั่วไปได้แต่ห้ามนำมาคลุกหรือจุ่มสารเคมีก่อนปลูก

2.3 ถั่วเมล็ดแห้ง

จากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ว่าด้วยเรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับถั่วเมล็ดแห้ง ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑กล่าวถึงถั่วเมล็ดแห้ง (legume) ไว้ว่า เมล็ดหรือผลจากฝักของพืชตระกูลถั่วในวงศ์ Leguminosae หรือ Fabaceae ที่ผลิตเมล็ดเพื่อเป็นการค้า โดยมีการเก็บเกี่ยวในระยะสุกแก่เต็มที่ของถั่วแต่ละชนิดและพันธุ์ ตัวอย่างถั่วในวงศ์นี้ เช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียวผิวมัน ถั่วเขียวผิวดำ ถั่วแดงหลวง ถั่วขาว ถั่วดำ (มกษ. 4902-2558)

2.3.1 สารอาหารในถั่วเมล็ดแห้ง

ก) คาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะแตกต่างกันไปตามชนิดของถั่ว เช่น ถั่วเขียวมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ60%ขณะที่ถั่ว เหลืองมี 30 % ถั่วลิสงมีเพียง 13 % เป็นต้น (Durant, 2006) ถั่วเมล็ดแห้งที่มีคาร์โบไฮเดรตในรูปแป้งมาก จะถูกนำมาสกัดแป้งเพื่อใช้ ประโยชน์ นอกจากแป้งแล้วในถั่วยังมีคาร์โบไฮเดรตในรูปของน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ที่เรียกว่า แรฟฟิโนส (Raffinose) และ สตาร์ชิโอส (Starchyose) ซึ่งน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ แต่จุลินทรีย์ ในทางเดินอาหารบางชนิดใช้ได้ ทำให้เกิดการหมักและเกิดก๊าซมากในทางเดินอาหาร (สิริมนต์ ชายเกตุ และคณะ, 2555)

ข) ไขมัน

ถั่วเมล็ดแห้งส่วนใหญ่มีไขมันน้อยประมาณ1-2% ยกเว้น ถั่วเหลืองมีไขมัน 20% และถั่วลิสงซึ่งมีสูง ถึง 50% จึงสามารถสกัดน้ำมันพืชเพื่อใช้ประกอบอาหารได้ (Durant, 2006) กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไขมันในถั่วมีคุณค่าทาง โภชนาการดีกว่าไขมันสัตว์ เนื่องจากมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมาก และมีกรดไขมันจำเป็น เช่น กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) และ กรดลิโนเลนิก (Linolenic acid) ด้วย (สิริมนต์ ชายเกตุ และคณะ, 2555)

ค) โปรตีน

ถั่วเมล็ดแห้งเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่สำคัญ ผู้เป็นมังสวิรัติสามารถบริโภคถั่วเมล็ดแห้งและ ผลิตภัณฑ์จากถั่วเมล็ดแห้งทดแทนเนื้อสัตว์ ถั่วเมล็ดแห้งมีโปรตีนประมาณ 20 - 40% เช่น ถั่วเหลืองมีโปรตีนประมาณ 34% ถั่วลิสงมี 28% ถั่วเขียวมีโปรตีนประมาณ 22% เป็นต้น แต่โปรตีนในถั่วขาดกรดอะมิโนจำเป็น คือเมทไธโอนีน (Methionine) (สิริมนต์ ชายเกตุ และคณะ, 2555)

ง) วิตามิน

ถั่วเมล็ดแห้งเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินที่ละลายน้ำ (Water-soluble Vitamins) ได้แก่ วิตามินบี1 วิตามินบี2 ไนอะซิน และกรดโฟลิก แต่ถั่วไม่มีวิตามินบีสิบสอง (สิริมนต์ ชายเกตุ และคณะ, 2555)

จ) เกลือแร่

ถั่วเมล็ดแห้งเป็นแหล่งของเกลือแร่หลายชนิดเช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม สังกะสี ฯลฯ (สิริมนต์ ชายเกตุ และคณะ, 2555)

ฉ) อื่นๆ

สารอื่นๆที่พบในถั่วเมล็ดแห้ง เช่น แทนนิน (Tannin) สารประกอบโพลีฟีนอล (Polyphenols) ซึ่งช่วยจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย สารประกอบในกลุ่มของเอสโตรเจนจากพืช (Phytoestrogens) (สิริมนต์ ชายเกตุ และคณะ, 2555)

2.3.2 ข้อมูลเบื้องต้นของถั่วเขียว

ถั่วเขียว เดิมถั่วเขียวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Phaseolus aureus* Roxb.ต่อมา Wilczek R. และ Hepper ได้มีการจัดกลุ่มใหม่ โดยมีการทำการศึกษาสายพันธุ์ของถั่วเขียว และพบว่าถั่วเขียวมีพัฒนาการมาจากถั่วสายพันธุ์ป่าที่พบในประเทศอินเดีย (Rachie and Roberts, 1974) ซึ่งการค้นพบครั้งนี้ทำให้ถั่วเขียวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiata* L. Wilczek มีชื่อสามัญคือ mung bean, green gram และในบางประเทศมีการใช้ชื่อ golden gram ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกชนิดใบเลี้ยง คู่ประเภทหนึ่ง ซึ่งเจริญได้ดีในดินแทบทุกชนิด โดยเฉพาะดินร่วนที่มีสภาพเป็นกลาง ถั่วเขียวที่นิยม ปลูกในประเทศไทย คือ ถั่วเขียวผิวมัน และถั่วเขียวสีทอง เมล็ดถั่วเขียวมีรูปร่างกลม ขนาดเมล็ด ค่อนข้างเล็ก มีขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร โดยเมล็ดถั่วเขียว 100 เมล็ด จะมีน้ำหนักประมาณ 1.5-4 กรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547)

2.4 การปรุงสุก

2.4.1 การสูญเสียคุณค่าทางอาหารในขณะเตรียมก่อนประกอบอาหาร

การเตรียมก็คือการนำอาหารมาทำให้พร้อมสำหรับที่จะประกอบอาหาร โดยมีวิธีการเปลี่ยนหลากหลายวิธีต่างกันไป เช่น การล้าง การแช่น้ำ เป็นต้น

การล้าง ส่งผลให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหาร โดยเฉพาะสารอาหารที่สามารถละลายน้ำได้ โดยจะเกิดการสูญเสียมากน้อยขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิของน้ำ หากอุณหภูมิสูง สารอาหารต่างๆ จะถูกละลายออกไปเร็วขึ้น จึงควรล้างหรือแช่ผักในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำหรืออุณหภูมิปกติ, ผิวหน้าตัด หากอาหารมีผิวหน้าตัดมาก ก็จะสูญเสียคุณค่าทางอาหารออกไปเร็ว โดยเฉพาะเมื่อมีการหั่นก่อนนำไปล้าง และระยะเวลาที่ใช้ในการแช่น้ำ พบว่ายิ่งมีการแช่ผักผลไม้ในน้ำนานจะยิ่งเกิดการสูญเสียของสารอาหารมากเท่านั้น ซึ่งการแช่อาหารในน้ำ ทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหารไปกับน้ำ โดยเฉพาะเมื่อมีการแช่ในน้ำปูนใส เนื่องจากน้ำปูนใสมีฤทธิ์เป็นด่าง (สิริพันธุ์ จุลกรังคะ, 2558)

2.4.2 การปรุงสุกด้วยหม้ออัดแรงดัน

การปรุงอาหารด้วยความดันเป็นวิธีการปรุงอาหารที่ใช้ไอน้ำปิดผนึกอยู่ในหม้ออัดแรงดันซึ่งเป็นหม้อ ที่ปิดสนิทพร้อมวาล์วที่ควบคุมแรงดันไอน้ำภายใน เมื่อให้ความร้อนของเหลวที่อยู่ภายในหม้ออัดแรงดันจะกลายเป็นไอ และจะถูกดักจับไอที่ระเหยมาจากของเหลว ซึ่งทำให้ความดันภายในหม้ออัดแรงดันสูงขึ้น อุณหภูมิและความดันที่เพิ่มขึ้นช่วยเร่งกระบวนการปรุงอาหารได้รวดเร็วอย่างมีนัยสำคัญ ความดันจะส่งไอน้ำร้อนเข้าไปในอาหาร การปรุงอาหารด้วยความดันสามารถปรุงอาหารได้ใน 1/3 ของเวลาปกติโดยเฉลี่ย (Circular Input Products Ltd., 2007) ไอน้ำแรงดันสูงนี้มีผลกระทบที่สำคัญสองประการ

1. เพิ่มจุดเดือดของน้ำในหม้อ ที่ระดับน้ำทะเล การต้มน้ำในหม้อไม่มีฝาปิดน้ำจะเดือดที่อุณหภูมิ 100 °C (212 °F) ไอน้ำที่ระเหยออกจากหม้อนี้ยังอยู่ที่ 100 °C (212 °F) ไม่ว่าน้ำจะถูกให้ความร้อนมากแค่ไหน แต่หากใส่ฝาที่ปิดสนิทบนหม้อเพื่อดักจับไอน้ำที่อาจระเหยออกไปจะทำให้ความดันภายในหม้อเพิ่มขึ้น เมื่อความดันสูงขึ้นอุณหภูมิของน้ำและไอน้ำภายในหม้อที่ปิดสนิท (หม้ออัดแรงดัน) จะสูงกว่าอุณหภูมิจุดเดือดปกติ 100 °C (212 °F) ความร้อนที่สูงขึ้นนี้ช่วยให้อาหารสุกได้เร็วขึ้น ดังนั้นหากหม้ออัดแรงดันความดันยิ่งสูงขึ้น เวลาที่ใช้ในการปรุงอาหารจะลดลง เช่น หม้ออัดแรงดันที่สามารถรับแรงดันได้ถึง 15 psi สามารถลดระยะเวลาในการปรุงอาหารได้ อุณหภูมิภายในหม้ออัดแรงดันสูงเกินกว่าหม้อทั่วไป (Durand, 2019) โดยปกติน้ำจะเดือดที่ 100 °C (212 °F) แต่ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้นเป็น 121 °C ดังตารางที่ 1

ตารางที่1 Cooking temperatures at different pressures: the higher the pressure, the shorter the cooking time. (Circular Input Products Ltd., 2007)

Pressure Inside The Pressure Cooker	**Cooking Temperature**
0 pounds (psi)	100 °C (212 °F)
5 pounds (psi)	104 °C (220 °F)
10 pounds (psi)	113 °C (235 °F)
15 pounds (psi)	121 °C (250 °F)

2. เพิ่มความดันบังคับให้ของเหลวเข้าไปในอาหาร ความดันสูงยังช่วยบังคับให้ของเหลวและความชื้นเข้าสู่อาหารได้อย่างรวดเร็วซึ่งช่วยให้ปรุงอาหารได้เร็วขึ้นและยังช่วยให้อาหารบางชนิดเช่นเนื้อที่แข็งสุกได้เร็วขึ้น

แรงดันไอน้ำภายในหม้ออัดแรงดันจะทำให้ปรุงอาหารได้รวดเร็วมากกว่าการต้มหรืออบอาหาร ซึ่งแตกต่างจากการปรุงด้วยไมโครเวฟ อาหารที่ปรุงด้วยความดันจะมีความชุ่มชื้นและชุ่มฉ่ำ อาหารที่ปรุงด้วยความดันจะยังคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้มากกว่าอาหารที่ต้มหรือทำกระบวนการแปรรูปอื่นๆ (Durand, 2019)

2.4.3 การสูญเสียคุณค่าทางอาหารระหว่างการประกอบอาหาร

การสูญเสียของคุณค่าทางอาหารสามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการประกอบอาหาร โดยจะมีอัตราการสูญเสียที่แตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร เพราะอาหารแต่ละชนิดจะมีความคงทนต่อความร้อน แสงสว่าง ออกซิเจนและความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน ถ้าเป็นการประกอบอาหารด้วยความร้อนชื้น เช่น เมื่อมีการเติมน้ำลงไปในการหุงต้มด้วย ก็จะทำให้เกิดการสูญเสียวิตามินที่ละลายในน้ำได้มาก หากประกอบอาหารแบบมีความร้อนแห้งและใช้น้ำมันเป็นองค์ประกอบ อย่างเช่น การผัด การทอด ก็จะมีการสูญเสียวิตามินและแร่ธาตุที่ละลายในไขมัน

การต้ม โดยส่วนใหญ่การใช้ความร้อนในการหุงต้มอาหารจะส่งผลให้ขาดคุณค่าทางอาหารบางอย่างไปได้ แต่จะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น

- ปริมาณของความร้อนที่ใช้ในการหุงต้ม โดยความร้อนจะทำให้ผนังเซลล์สลายตัวหรืออ่อนตัวลง ซึ่งจะทำให้วิตามินต่างๆ สูญเสียออกไปได้

- เวลาที่ใช้ในการปรุงอาหาร พบว่า ยิ่งใช้เวลาในการปรุงอาหารนานเท่าไหร่ ก็ยิ่งทำให้สูญเสียคุณค่าอาหารมากขึ้นเท่านั้น ดังนั้นจึงควรใช้เวลาในการหุงต้มให้น้อยที่สุด เพื่อคงคุณค่าของอาหารไว้ให้มากที่สุด และยังช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นแรงของอาหารบางชนิดได้ (สิริพันธุ์ จุลกรังคะ, 2558)

2.4.4 การปรุงสุกถั่ว

เมื่อนำถั่วเขียวมาปรุงสุกโดยการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ เป็นระยะเวลา 35 นาที พบว่าปริมาณโปรตีนหยาบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับถั่วเขียวดิบ โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นผลมาจากการที่โปรตีนเกาะอยู่กับสตาร์ชแกรนูลหลุดออกมา เนื่องจากสตาร์ชแกรนูลเกิดการดูดน้ำแล้วพองตัวจนแตกออก ทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ และมีโปรตีนบางส่วนหลุดออกไปกับน้ำที่ใช้ในการปรุงสุก (Mubarak, 2005)

Turkmen et al. (2005) พบว่าการต้มถั่วเขียวด้วยน้ำประปาเป็นระยะเวลา 5 นาที และ การนึ่งเป็นระยะเวลา 8 นาที ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 60 และ 50 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับถั่วเขียวดิบ โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากน้ำที่ใช้ในการปรุงสุกทำให้สารประกอบฟีนอลิกละลายออกไป อีกทั้งสารประกอบฟีนอลิกบางส่วนสลายตัวได้ระหว่างการให้ความร้อน ทำให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีการเปลี่ยนแปลงไป

2.5 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซินและมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน รูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิดจึงแตกต่างกันออกไป (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2560)

โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกมีสองรูปแบบ คือ Free polyphenols และ Bound polyphenols ซึ่ง free polyphenols สามารถสกัดด้วยตัวทำละลาย แต่ bound polyphenols ไม่สามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลาย เนื่องจาก bound polyphenols จับกับเซลลูโลส เพกติน และพอลิแซ็กคาไรด์ ด้วยพันธะเอสเทอร์ ทำให้ยากต่อการสกัดออกด้วยตัวทำละลายจึงต้องมีการใช้กรดในการไฮโดรไลส์และปลดปล่อย bound polyphenols (Su et al., 2014)

2.5.1 ชนิดของสารประกอบฟีนอลิก

2.5.1.1 กลุ่มไดเฟอร์รูลอยลิวมีเทนส์ (Diferuloylmethanes)

เป็นสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มเล็กๆ ที่โครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก 2 วง มีหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่และจับอยู่กับหมู่คาร์บอนิลแบบสายตรง ชนิดของไดเฟอร์รูลอยลิวมีเทนส์ที่รู้จักกันดีคือ เคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) พบมากในขมิ้น และไฮดรอกซีไทโรซอล (hydroxytyrosol) พบมากใน น้ำมันในผลไม้และน้ำมันมะกอก (ลือชัย บุตคุป, 2554)

2.5.1.2 กลุ่มสติลบีนส์ (stilbenes)

สติลบีนส์ที่รู้จักคือ ทรานส์เรสเวอราโทรล (*trans*-resveratrol) ในธรรมชาติจะถูกสร้างขึ้นโดยพืชเพื่อป้องกันเชื้อโรค แมลงกัดกิน และป้องกันแสงแดด จึงจัดเป็นสารไฟโตอเล็กซิน (phytoalexins) จากการศึกษาพบว่ามีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน และต้านการอักเสบในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ดี (ลือชัย บุตคุป, 2554)

2.5.1.3 กลุ่มฟลาโวนอยด์

เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุด พบได้ทั่วไปในอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืช เช่น ผักและผลไม้ ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างหลักฟลาโวนตรงนิวเคลียส มีสูตรโมเลกุล คือ C6-C3-C6 โดยมีวงแหวน A และ B (phenyl ring) จับกับไพแรนหรือไพโรน (C) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ ring C ทำให้มีการแยกฟลาโวนอยด์ออกเป็นกลุ่มต่างๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ (1) แอนโธไซยานินส์ (anthocyanins) ซึ่งจะพบในรูปของอนุพันธ์ต่างๆ พบมากในสีของดอกไม้ ผัก และผลไม้ (2) แอนโธแซนทินส์ (anthoxanthins) เป็นกลุ่มสารที่ไม่มีสี ประกอบด้วยกลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่มฟลาโวนส์ ฟลาแวนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์ ฟลาวานอลส์ และอนุพันธ์ที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ (ลือชัย บุตคุป, 2554)

2.5.1.4 กลุ่มกรดฟีนอลิก

เป็นกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นโดยพืช สามารถแบ่งกรดฟีนอลิกได้ 2 ชนิด ได้แก่ กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) และกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) เป็นกรดฟีนอลิกกลุ่มใหญ่ที่สุด พบทั่วไปในพืช กรดฟีนอลิกที่พบมากได้แก่ p-coumaric, caffeic, ferulic และ sinapic acids โดยปกติเกิดขึ้นจากหลายๆ รูปแบบ เช่น เกิดจากการย่อยของเอนไซม์ หรือการเชื่อมกันของเอสเทอร์ของ hydroxy acids ตัวอย่างเช่น quinic, shikimic และ tartaric acid กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) มีโครงสร้างโดยทั่วไปคือ C6-C1 เป็นอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก ความแปรผันโครงสร้างของกรดนี้ขึ้นอยู่กับการเกิดปฏิกิริยา hydroxylations และ methylations ของวงแหวนอะโรมาติก เช่น phydroxybenzoic, vanillic, syringic และ protocatechuic acid ในธรรมชาติพบอยู่ในรูปที่จับกับน้ำตาลหรือกรดอินทรีย์ ถูกสะสมอยู่บรอเวณผนังเซลล์ของพืชในส่วนที่เรียกว่า “ลิกนิน” (ลือชัย บุตคุป, 2554)

2.5.1.5 กลุ่มแทนนินส์

เป็นสารประกอบฟีนอลิก พบได้ในพืชทั่วไปเกือบทุกชนิด มีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีโครงสร้างสลับซับซ้อน สามารถละลายน้ำได้ แยกให้บริสุทธิ์ได้ยากเพราะไม่ตกผลึก ส่วนใหญ่จะพบในรูปของกลัยโคไซด์ ซึ่งโดยทั่วไปจะพบในรูปโครงสร้างที่ซับซ้อนจับอยู่กับอัลคาลอยด์ โพลีแซคคาไรด์ และโปรตีน (ลือชัย บุตคุป, 2554)

2.5.2 สรรพคุณของสารประกอบฟีนอลิก

2.5.2.1 ประโยชน์ทางด้านสุขภาพ

สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพสามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2560)

2.5.2.2 ประโยชน์ทางด้านการถนอมอาหาร

ใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

2.6 สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หรืออาจเรียกว่า สารกำจัดอนุมูลอิสระ คือสารที่สามารถยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) เช่น การเกิดออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

2.6.1 สารต้านออกซิเดชันที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive)

สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ ได้แก่ สารเคมีจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ชา ตัวอย่างเช่น

(1) phenolic compounds ได้แก่ polyphenol ในเครื่องเทศ (spices) สารสกัดจากเมล็ดองุ่น ชาและขมิ้น

(2) แอสตาแซนทิน (astaxanthin)

(3) ยูจีนอล (eugenol) ในกานพลู

(4) วิตามินซี (vitamin C)

(5) วิตามินอี (vitamin E)

(6) กรดซิตริก

(7) แอนโทไซยานิน (anthocyanin)

(8) ซีลีเนียม (selenium)

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene), TBHQ (tertiary butyl hydro quinone), EDTA (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2563)

2.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

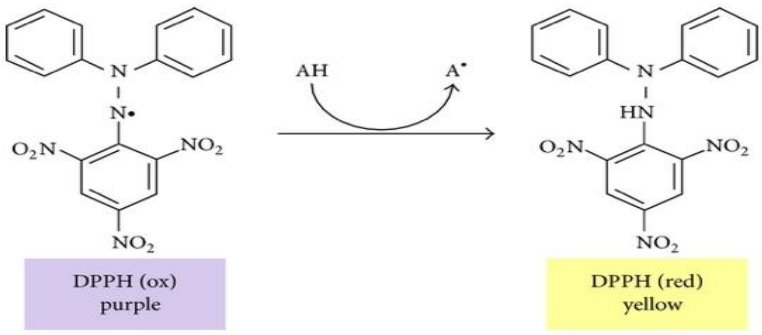
2.7.1 DPPH radical method

เป็นวิธีการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen transfer, HAT) จะใช้ reagent คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยมีหลักการคือ DPPH จะเป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH• ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidant, AH) หรือกับ radical species (R•) ได้ดังสมการ

$$DPPH\bullet + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A\bullet$$

$$DPPH\bullet + R\bullet \longrightarrow DPPH\text{-}R$$

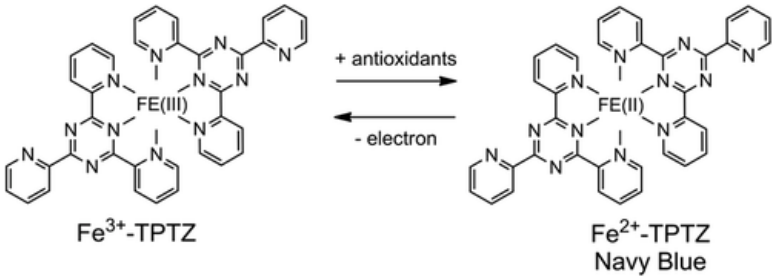
สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง หากในตัวอย่างมีฤทธิ์ในการต้านต้านออกซิเดชันสูง ความเข้มของสีม่วงจะลดลง ซึ่งเปรียบเทียบค่าที่ได้กับสารมาตรฐานคือ Trolox และรายงานผลเป็นค่าน้ำหนักสมมูลกับ Trolox (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)



ภาพที่ 9 สมการปฏิกิริยาระหว่าง DPPH• และ Antioxidant (AH) (Teixeira et al., 2013)

2.7.2 Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay

เป็นวิธีการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการการถ่ายเทอิเล็กตรอน (electron transfer, ET) โดย สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) จะได้รับอิเล็กตรอนจากสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และจะเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ซึ่งจะให้สีม่วงน้ำเงิน ดังสมการ



ภาพที่ 10 สมการปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine และ antioxidant (Xiao et al., 2020)

โดยวิธีนี้สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และเปรียบเทียบค่าที่ได้กับสารมาตรฐาน Trolox และรายงานผลเป็นค่าน้ำหนักสมมูลกับ Trolox (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 ผลการปรุงสุกต่อสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วอินทรีย์และถั่วทั่วไป

Mastura et al. (2017) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของขั้นตอนการปรุงอาหารที่แตกต่างกันที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของถั่วอินทรีย์และถั่วทั่วไป 8 ชนิด ได้แก่ adzuki bean, black bean, soybean, red kidney bean, chickpea, mung bean, red dhal และ yellow dhal โดยทำการทดลอง 3 สภาวะคือ ถั่วดิบ(R) ,ถั่วปรุงสุกไม่ผ่านการแช่น้ำ(CWS) และถั่วปรุงสุกผ่านการแช่น้ำ(CAS) พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันมีปริมาณลดลงเมื่อผ่านขั้นตอนการปรุงสุกด้วยวิธีการต้มเป็นเวลา 45 นาที ซึ่งถั่วที่ผ่านการแช่น้ำ(CAS) มีการสูญเสียปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากกว่าถั่วปรุงสุกที่ไม่ผ่านการแช่น้ำ(CWS) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ลดลงทั้งในถั่วอินทรีย์และถั่วทั่วไปทั้ง 8 ชนิดไม่แตกต่างกัน

Chutipanyaporn et al. (2014) ได้ทำการศึกษาผลของการปรุงสุกต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่ว 5 สี ได้แก่ mungbean, black bean, red kidney bean, white bean และ

soybean โดยศึกษาระหว่างถั่วดิบและถั่วที่ผ่านการต้มเป็นเวลา 20 นาที วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin–Ciocalteu reagent พบว่า ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของถั่วทั้ง 5 สี ที่ผ่านการต้มเป็นเวลา 20 นาที มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับถั่วดิบ จากผลการวิเคราะห์ DPPH values ของถั่วดิบเป็น 200-800 μmole TE/100 g dry weight และถั่วที่ผ่านการต้มแล้วเป็น 400-1500 μmole TE/100 g dry weight ส่วนผล TPC values ของถั่วดิบเป็น 40-300 mg GAE/100 g dry weight และถั่วที่ผ่านการต้ม 80-300 mg GAE/100 g dry weight

Xu and Chang. (2008) ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการแช่น้ำ,การต้ม และการนึ่ง ต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของพืชตระกูลถั่วฤดูหนาว ซึ่งประกอบด้วย green pea, yellow pea, chickpea และ lentil โดยเปรียบเทียบระหว่างถั่วดิบและถั่วที่ผ่านกระบวนการข้างต้น พบว่า ถั่วที่ผ่านกระบวนการข้างต้น มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อเทียบทั้ง 3 กระบวนการแล้วพบว่า กระบวนการนึ่ง ทำให้ถั่วสูญเสียปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่ากระบวนการต้ม

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ถั่วเขียวทั่วไป 5 ยี่ห้อ จากบริษัท ไร่ธัญญะ จำกัด จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย(ไม่ระบุแหล่งปลูก), บริษัท อาจจิตต์ อินเตอร์เนชั่นเนล เพ็พเพอร์แอนด์สไปซ์ จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(ไม่ระบุแหล่งปลูก), ห้างหุ้นส่วนจำกัด ซิ่มยิ่งง้วน(ไม่ระบุแหล่งปลูก), บริษัท อุตสาหกรรมอาหารไทย (1964) จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(ไม่ระบุแหล่งปลูก), บริษัท ลี่ฮะฮวด (1988) จำกัด(ไม่ระบุแหล่งปลูก) และถั่วเขียวอินทรีย์ 5 แหล่งจากบริษัท ซำโต จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(แหล่งปลูกอ.เมือง จ.เพชรบูรณ์), บริษัท เซนจูเรีย แล บอราทัวรี่ จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(ไม่ระบุแหล่งปลูก), บริษัท แค๊ปแม๊คซ์ เทรดดิ้ง จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(นำเข้าจากต่างประเทศ), บริษัท เรเดียนซ์ โฮลฟูดส์ จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(ไม่ระบุแหล่งปลูก) และ บริษัท แนชเชอรัล แอนด์ พรีเมี่ยม ฟู๊ด จำกัด จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย(นำเข้าจากต่างประเทศ)

โดยซื้อในช่วงเดือนตุลาคม 2563 ถึงพฤศจิกายน 2563 และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส)

3.1.2 อุปกรณ์

กระดาษกรอง Whatman™ No.1 150 mm (Lab Global©, Thailand)

กระดาษกรอง Whatman™ No.41 90 mm (Lab Global©, Thailand)

Burette ขนาด 50 ml (DURAN®, Germany)

Erlenmeyer Flask ขนาด 250 ml (PYREX®, USA)

เครื่องชั่งแบบแม่นยำ MS-TS (METTLER TOLEDO©, Thailand)

ตู้อบลมร้อน (Memmert GmbH+Co.KG, Model UF110 ,Germany)

เครื่องบดสับอาหาร

pH meter (METTLER TOLEDO™ FiveEasy™ Plus, Model FEP 20, Thailand)

เครื่อง Spectrophotometer (PerkinElmer รุ่น Lambda 25 UV/VIS system, Waltham, MA, USA)

ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Buchi, Flawil, Switzerland) ประกอบด้วย

- ชุดย่อย (Buchi รุ่น K-424, Flawil, Switzerland)
- เครื่องดักจับไอกรด (Buchi รุ่น B-414, Flawil, Switzerland)

- ชุดกลั่น (Buchi รุ่น B-324, Flawil, Switzerland)
- ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น 600, Schwalbach, Germany)

หม้ออัดแรงดัน (Homemate รุ่น HOM-12LC58, Bangkok, Thailand)

อ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าตลอดเวลาแบบ orbital (Gesells chaft fur รุ่น GEL 1092, Burgwedel, Germany)

3.1.3 สารเคมี

2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma-Aldrich, Germany)	A.R. grade
Acetic acid (QRëc ™, New Zealand)	A.R. grade
Aluminium choride (QRëc ™, New Zealand)	A.R. grade
Boric acid (UNIVAR® Ajax Finechem Pty CO. LTD., Australia)	A.R. grade
Bromocresol green	
Catechin (Sigma-Aldrich, Germany)	A.R. grade
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma, Germany)	A.R. grade
Ethanol (Reagent Chemical Industry Co., Ltd., Thailand)	A.R. grade
Iron(III) chloride (QRëc ™, New Zealand)	A.R. grade
Folin-ciocalteu reagent (Merck KGaA, Germany)	A.R. grade
Gallic acid (Sigma-Aldrich, Germany)	A.R. grade
Hydrochloric acid 37% (QRëc ™, New Zealand)	A.R. grade
Methanol (Sigma-Aldrich, Germany)	A.R. grade
Methyl red	
Copper(II) sulfate (OSKON Co., Ltd., Thailand)	A.R. grade
Sodium acetate (QRëc ™, New Zealand)	A.R. grade
Sodium carbonate (Loba Chemie Pvt, Ltd., India)	A.R. grade
Sodium hydroxide	
Sodium nitrite (UNIVAR® Ajax Finechem Pty CO. LTD., Australia)	A.R. grade
Sulfuric acid 98% (QRëc ™, New Zealand)	A.R. grade
6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman (Sigma-Aldrich, Germany)	A.R. grade
-2-carboxylic acid (Trolox)	

3.2 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมล็ดถั่วเขียว

นำเมล็ดถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปมาชั่งน้ำหนัก และวัดขนาดโดยการวัดความยาว ความกว้างและความหนาของเมล็ดด้วย Vernier caliper โดยสุ่มเมล็ดถั่วจากแต่ละแหล่ง แหล่งละ 20 เมล็ด และนำมาหาค่าเฉลี่ยต่อเมล็ดของแต่ละแหล่ง

3.2.2 การเตรียมตัวอย่างถั่วเขียว

นำเมล็ดถั่วดิบมาล้างให้สะอาด และแช่น้ำประปา ในอัตราส่วนระหว่างถั่วเมล็ดแห้งต่อน้ำประปาเท่ากับ 1 : 10 w/v ทำการแช่ถั่วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำถั่วเขียวมาทำให้สุกโดยการใช้วิธีหุงด้วยหม้ออัดแรงดัน (pressure cooker) ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) เป็นเวลา 2 นาที (กิตติศักดิ์ ปานทอง, 2018) โดยหุงตัวอย่างละ 100 กรัม ในอัตราส่วนระหว่างเมล็ดถั่วแช่น้ำต่อน้ำประปา 1:10 (w/v)

3.2.3 การเตรียมตัวอย่างถั่วเขียวสุกเพื่อทำการสกัด

นำถั่วที่ผ่านการปรุงสุกในข้อ 3.1 มาเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 °C โดยนำตัวอย่างถั่วเขียวมาวางบนถาดตะแกรงลวดตาข่ายที่แบ่งช่องไว้ ใส่ตัวอย่างละ 1ช่อง ทำการอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อระเหยน้ำออก อบจนตัวอย่างมีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 10 นำตัวอย่างที่แห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบด จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh แล้วจึงเก็บใส่ถุงฟอยล์และเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะทำการสกัดสารต่อไป

3.2.4 การสกัดตัวอย่าง

3.2.4.1 การสกัดสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free polyphenol) ตามวิธีของ Faller et al. (2010) และ Mastura et al. (2017) ดังนี้

นำตัวอย่างถั่วที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการสกัดจากข้อ3.2.3 2 กรัม ทำการสกัดด้วยการเติมสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 (เมทานอล:น้ำ, 50:50, v/v) 50 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส โดยตั้งค่าการเขย่าเป็น 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 นาที โดยระดับน้ำท่วมสารในขวดกำหนดปริมาตรคลุมด้วย parafilm จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่น้ำทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาโดยประมาณ 2 นาที) จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.2.4.2 การสกัดสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (Bound polyphenol) ตามวิธีของ Faller et al. (2010) และ Mastura et al. (2017) ดังนี้

นำตัวอย่างถั่วที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการสกัดจากข้อ3.2.3 2 กรัม ทำการสกัดด้วยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.2 โมลาร์ในสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 (เมทานอล:น้ำ, 50:50, v/v) 50 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส โดยตั้งค่าการเขย่าเป็น 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 นาที โดยระดับน้ำท่วมสารในขวดกำหนดปริมาตรคลุมด้วย parafilm จากนั้นนำตัวอย่างไปทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาโดยประมาณ 2 นาที) จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

3.2.5 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ดัดแปลงตามวิธีของ Hanis et al. (2017) ปิเปตสารสกัดจากข้อ 3.2.4.1 หรือ 3.2.4.2 ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตรที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ตามด้วยน้ำกลั่นจำนวน 6 มิลลิลิตร สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 2 นอร์มัล จำนวน 500 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7 จำนวน 1500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น 1700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกช่วงความเข้มข้น 0-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมถั่ว

3.2.6 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoids Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) ทำการปิเปตสารสกัดจากข้อ 3.2.4.1 หรือ 3.2.4.2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่มีกาหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 5 นาที และเติมอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาณ 0.3 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซค์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำตัวอย่างสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชินช่วงความเข้มข้น 0-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมแคทิชินต่อกรัมถั่ว

3.2.7 ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

3.2.7.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) โดยการปิเปตสารสกัดจากข้อ 3.2.4.1 ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ตามด้วยสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex หลังจากนั้นตั้งทิ้ง ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาว คลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณ % DPPH radical scavenging activity ดังสมการ

% DPPH radical scavenging activity = (Ao – A) x 100/A

เมื่อ Ao คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH
A คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

คำนวณความสามารถในการเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH โดยการเปลี่ยน % DPPH radical scavenging activity ไปเป็นหน่วยไมโครโมล Trolox ต่อกรัมถั่ว (โดยน้ำหนักแห้ง) จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ช่วงความเข้มข้น 0-140 ไมโครโมลต่อลิตร

3.2.7.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017) ปิเปตสารละลายFRAP (สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียม แอซีเตดความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่ผสมกับสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 250 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร) 1800 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง หลังจากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำการปิเปตสารสกัดจากข้อ 3.2.4.1 จำนวน 200 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณความสามารถในการเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน FRAP จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ช่วงความเข้มข้น 0-0.8 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร และแสดงผลในหน่วยไมโครโมล Trolox ต่อกรัมถั่ว (โดยน้ำหนักแห้ง)

3.2.8 ศึกษาปริมาณโปรตีนของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหยาบด้วยวิธี Kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2006) โดยใช้ conversion factor = 6.25 โดยทำการชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1.000 กรัม ลงบนกระดาษชั่งสาร นำตัวอย่างใส่ในหลอดย่อย (Kjeldahl flask) จากนั้นเติมสารเร่งปฏิกิริยา (KJELBLET) 1 เม็ด และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยในเครื่องย่อยโปรตีนจนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาลใส ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เทกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และหยด indicator (ผสม

methyl red 20 มิลลิกรัม และ bromocresol green 100 มิลลิกรัม ใน ethanol 100 มิลลิลิตร) ตามลงไปประมาณ 2 - 3 หยด แล้วนำมาเก็บสารที่ได้จากชุดกลั่น โดยให้ปลายท่อจากเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริกตลอดเวลา สารละลายที่ย่อยได้ใส่ในเครื่องกลั่นเพื่อหาปริมาณไนโตรเจน โดยตั้งค่าเครื่องที่ภาวะการใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาณ 60 มิลลิลิตร (หรือจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีดำ) และตั้งเวลาในการกลั่น 6 นาที ให้ได้ปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร เครื่องจะทำการกลั่นจนสารละลายกรดบอริกเปลี่ยนเป็นสีเขียว ล้างส่วนปลายท่อที่จุ่มในขวดรูปชมพู่ด้วยน้ำกลั่น และนำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับกรด ไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (ทำblank ทุกครั้งที่วิเคราะห์) และคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{\mathbf{(B - A)\ x\ M\ x\ 14.007\ x\ 100}}{\mathbf{1000\ x}\ \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}}$$

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) = ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ) x 6.25

เมื่อ A คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

M คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (โมลาร์)

3.2.9 การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบ ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey’s test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS v.22 for Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL)

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ (Results and discussion)

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมล็ดถั่วเขียว

นำเมล็ดถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปมาชั่งน้ำหนัก และวัดขนาดโดยการวัดความยาว ความกว้างและความหนาของเมล็ดด้วย Vernier caliper แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ขนาดและน้ำหนักของเมล็ดถั่วเขียว

Type of Beans	Brand	น้ำหนักเฉลี่ยต่อเมล็ด(g)* n= 20	ขนาดของเมล็ด (cm)*		
			ความยาว	ความกว้าง	ความหนา
ถั่วเขียวชนิด Organic	ปลูกรัก	0.07^{b}±0.01	0.50^{a}±0.01	0.35^{abc}±0.04	0.35^{abc}±0.04
	Raw food	0.08^{a}±0.01	0.49^{a}±0.02	0.38^{a}±0.02	0.38^{a}±0.02
	N&P	0.08^{a}±0.01	0.49^{a}±0.01	0.35^{ab}±0.04	0.35^{ab}±0.04
	Radiance	0.08^{a}±0.00	0.49^{a}±0.02	0.35^{ab}±0.04	0.35^{ab}±0.04
	Mr&Mrs	0.08^{a}±0.01	0.49^{a}±0.01	0.36^{a}±0.04	0.36^{a}±0.04
ถั่วเขียวชนิด Conventional	ซิ่มยิ่งง้วน	0.07^{b}±0.01	0.50^{a}±0.01	0.35^{abc}±0.03	0.35^{abc}±0.03
	ง่วนสูน	0.06^{d}±0.01	0.49^{a}±0.04	0.32^{c}±0.03	0.32^{c}±0.03
	ลี่ ฮะ ฮวด	0.05^{d}±0.01	0.49^{a}±0.01	0.31^{c}±0.02	0.31^{c}±0.02
	ข้าวทอง	0.06^{c}±0.01	0.50^{a}±0.01	0.32^{bc}±0.02	0.32^{bc}±0.02
	ไร่ทิพย์	0.07^{bc}±0.01	0.50^{a}±0.01	0.36^{a}±0.03	0.36^{a}±0.03

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

*วัดเฉลี่ยจากเมล็ดถั่วจำนวน 100 เมล็ด (ถั่วเขียวดิบอินทรีย์และถั่วเขียวดิบทั่วไปแต่ละแหล่ง แหล่งละ 20 เมล็ด)

จากตารางที่ 4.1 พบว่าน้ำหนักของเมล็ดถั่วเขียวอินทรีย์จากแต่ละแหล่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนน้ำหนักของเมล็ดถั่วเขียวทั่วไปพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในแต่ละแหล่ง ซึ่งทำให้เห็นได้ว่าเมล็ดถั่วเขียวอินทรีย์มีน้ำหนักเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันมากกว่าเมล็ดถั่วเขียวทั่วไป

และขนาดของเมล็ดถั่วเขียวพบว่าความยาวของเมล็ดถั่วเขียวอินทรีย์และเมล็ดถั่วเขียวทั่วไปทั้ง 10 แหล่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนความกว้างและความหนาของเมล็ดถั่วเขียวอินทรีย์และเมล็ดถั่วเขียวทั่วไปมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

4.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) และไม่อิสระ (Bound phenolics content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและไม่อิสระของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

Types of mung bean	Brand	Total Phenolics Content (mg GAE/g dry basis)			
		Free	Average	Bound	Average
ถั่วเขียวชนิด Organic	ปลูกรัก	$1.81^{a} \pm 0.17$	$1.48^{ns} \pm 0.20$	$4.18^{a} \pm 0.78$	$4.30^{ns} \pm 0.33$
	Raw food	$1.47^{b} \pm 0.09$		$4.49^{a} \pm 0.50$	
	N&P	$1.26^{b} \pm 0.11$		$4.01^{a} \pm 0.36$	
	Radiance	$1.41^{b} \pm 0.02$		$4.04^{a} \pm 0.29$	
	Mr&Mrs	$1.45^{b} \pm 0.09$		$4.77^{a} \pm 0.20$	
ถั่วเขียวชนิด Conventional	ซิ่มยิ่งง้วน	$1.54^{b} \pm 0.20$	$1.91^{ns} \pm 0.44$	$3.55^{b} \pm 0.68$	$4.69^{ns} \pm 0.73$
	ง่วนสูน	$2.58^{a} \pm 0.06$		$5.09^{a} \pm 0.16$	
	ลี่ ฮะ ฮวด	$2.05^{ab} \pm 0.59$		$4.90^{a} \pm 0.25$	
	ข้าวทอง	$1.87^{ab} \pm 0.19$		$5.45^{a} \pm 0.44$	
	ไร่ทิพย์	$1.49^{b} \pm 0.30$		$4.44^{ab} \pm 0.25$	

^{a,b} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วเขียวปรุงสุกประเภทเดียวกัน ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากตารางที่ 4.2 พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกยี่ห้อปลูกรัก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากตัวอย่างอื่น ($p \leq 0.05$) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่อิสระ (Bound phenolics content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระในถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวทั่วไปและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่อิสระในถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกยี่ห้อ ซิ่มยิ่งง้วน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วย ANOVA แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วย t-test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) จากการวิเคราะห์ t-test จะเห็นว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก อีกทั้งพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของถั่วเขียวทั่วไปมากกว่าถั่วเขียวอินทรีย์และปริมาณฟีนอลิกในถั่วเขียวทั่วไปยังให้ค่าแปรปรวนมาก ซึ่งจะเห็นว่าขึ้นกับแหล่งปลูกหรือบริษัทที่ขาย ซึ่งไม่สอดคล้องกับสมมติฐานในงานวิจัยของ Winter and Davis (2006) ที่มีการตั้งสมมติฐาน 2 ข้อหลักเกี่ยวกับความเป็นไปได้ในการเพิ่มปริมาณของกรดอินทรีย์และฟีนอลิกในผลิตผลเกษตรอินทรีย์คือ การใช้ปุ๋ยสังเคราะห์เพิ่มปริมาณไนโตรเจนในดินเพื่อเป็นแหล่งในการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งส่งผลให้พืชมีการผลิตสารทุติยภูมิลดลง และการไม่ใช้สารสังเคราะห์ต่างๆ จะส่งผลให้พืชเกิดภาวะเครียดทำให้พืชผลิตสารเคมีป้องกันตนเองตามธรรมชาติขึ้นมา เช่น สารประกอบฟีนอลิก เป็นต้น แต่เนื่องจากในปัจจุบันการเพาะปลูกแบบอินทรีย์มีการดูแลระหว่างการปลูกที่มากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการบำรุงดิน การใช้ปุ๋ยอินทรีย์จากธรรมชาติ หรือการควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของพืช เป็นการลดสภาวะเครียดในพืช อีกทั้งการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และการบำรุงดิน เป็นการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้แก่พืช ส่งผลให้พืชมีการผลิตสารทุติยภูมิลดลง

Wang et al. (2017) รายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free polyphenol) สามารถสกัดออกจากพืชได้ง่าย ในขณะที่การสกัดของสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (Bound polyphenol) ทำได้ยากกว่า เนื่องจากมีแรงกระทำระหว่างโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์ในผนังเซลล์ จึงต้องมีการใช้สารละลายกรดมาช่วยในการทำลายพันธะ ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ มีการเติมกรดลงไปในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจึงทำให้สามารถสกัดฟีนอลิกออกมาได้ทั้งแบบอิสระและไม่อิสระ เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจะเห็นว่าค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ แสดงให้เห็นว่าในพืชอาจมีปริมาณโปรตีนหรือ พอลิแซ็กคาไรด์มากและทำให้เกิดการจับพันธะกับสารประกอบฟีนอลิกได้มาก จึงมีสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระที่มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้น นอกจากนี้ Xu and Chang. (2007) พบว่าการปรุงสุกด้วยความร้อนทำให้เนื้อเยื่อผนังเซลล์มีความอ่อนตัวลงทำให้สกัดสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (Bound polyphenol) ได้มากขึ้น

จากการทดลองเมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) และไม่อิสระ (Bound phenolics content) ของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกมีปริมาณมากกว่าผลิตผลผักสดจากงานวิจัยของ Faller and Fialho. (2010) ได้แก่ มันฝรั่ง, บรอกโคลี, หอมหัวใหญ่, แครอทและผักกาดขาว ซึ่งจะเห็นว่าถั่วเขียวยังคงเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกเมื่อเทียบกับผลิตผลชนิดอื่น แม้ว่าจะผ่านกระบวนการปรุงสุกแล้ว

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoids Content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

4.3.1 ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) และไม่อิสระ (Bound flavonoids content) ของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระและไม่อิสระของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

Types of mung bean	Brand	Total Flavonoids Content (mg catechin/ g dry basis)			
		Free	Average	Bound	Average
ถั่วเขียวชนิด Organic	ปลูกรัก	$1.45^{a} \pm 0.16$	$1.28^{B} \pm 0.10$	$1.76^{a} \pm 0.07$	$1.87^{ns} \pm 0.09$
	Raw food	$1.26^{ab} \pm 0.03$		$1.88^{a} \pm 0.01$	
	N&P	$1.25^{ab} \pm 0.09$		$1.94^{a} \pm 0.15$	
	Radiance	$1.21^{b} \pm 0.01$		$1.78^{a} \pm 0.05$	
	Mr&Mrs	$1.23^{ab} \pm 0.02$		$1.98^{a} \pm 0.11$	
ถั่วเขียวชนิด Conventional	ซิ่มยิ่งง้วน	$1.49^{ab} \pm 0.07$	$1.47^{A} \pm 0.14$	$1.84^{c} \pm 0.03$	$2.09^{ns} \pm 0.27$
	ง่วนสูน	$1.63^{a} \pm 0.02$		$2.16^{b} \pm 0.07$	
	ลี่ ฮะ ฮวด	$1.56^{ab} \pm 0.06$		$2.13^{b} \pm 0.15$	
	ข้าวทอง	$1.43^{ab} \pm 0.07$		$2.48^{a} \pm 0.03$	
	ไร่ทิพย์	$1.26^{c} \pm 0.07$		$1.83^{c} \pm 0.08$	

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วเขียวปรุงสุกประเภทเดียวกัน ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

^{A,B} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากตารางที่ 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) ของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวอินทรีย์และปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวทั่วไป นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่อิสระ (Bound flavonoids content) ของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวอินทรีย์และปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่อิสระของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวทั่วไป นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่อิสระของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วย ANOVA แต่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วย t-test

ทั้งนี้ De Oliveira et al. (2017) รายงานว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids content) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในเสาวรสที่มีการเพาะปลูกแบบเกษตรอินทรีย์และเกษตรทั่วไป ในขณะที่งานวิจัยของ Anttonen and Karjalainen (2006) พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในผลแบล็คเคอแร้นท์ขึ้นอยู่กับพื้นที่เพาะปลูกมากกว่าประเภทของการทำการเกษตรแบบอินทรีย์หรือการเกษตรแบบทั่วไป ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ยังไม่สามารถสรุปได้อย่างแน่ชัดว่าประเภทของการทำการเกษตรมีผลต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

Types of bean	Brand	DPPH (μmoleTE/g db)	Average DPPH (μmoleTE/g db)	FRAP (mmoleTE/g db)	Average FRAP (mmoleTE/g db)
ถั่วเขียวชนิด Organic	ปลูกรัก	$2.24^{a} \pm 0.03$	$1.91^{B} \pm 0.25$	$0.051^{a} \pm 0.001$	$0.046^{B} \pm 0.003$
	Raw food	$1.98^{a} \pm 0.50$		$0.047^{b} \pm 0.001$	
	N&P	$1.53^{a} \pm 0.50$		$0.043^{c} \pm 0.001$	
	Radiance	$1.87^{a} \pm 0.06$		$0.044^{bc} \pm 0.001$	
	Mr&Mrs	$1.92^{a} \pm 0.44$		$0.045^{bc} \pm 0.001$	
ถั่วเขียวชนิด Conventional	ซิ่มยิ่งง้วน	$2.08^{bc} \pm 0.17$	$2.28^{A} \pm 0.25$	$0.049^{a} \pm 0.006$	$0.052^{A} \pm 0.004$
	ง่วนสูน	$2.58^{a} \pm 0.10$		$0.057^{a} \pm 0.002$	
	ลี่ ฮะ ฮวด	$2.40^{a} \pm 0.12$		$0.055^{a} \pm 0.005$	
	ข้าวทอง	$2.38^{ab} \pm 0.04$		$0.052^{a} \pm 0.001$	
	ไร่ทิพย์	$1.98^{c} \pm 0.07$		$0.047^{a} \pm 0.001$	

^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วเขียวปรุงสุกประเภทเดียวกัน ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

^{A,B} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวอินทรีย์ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวทั่วไป เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

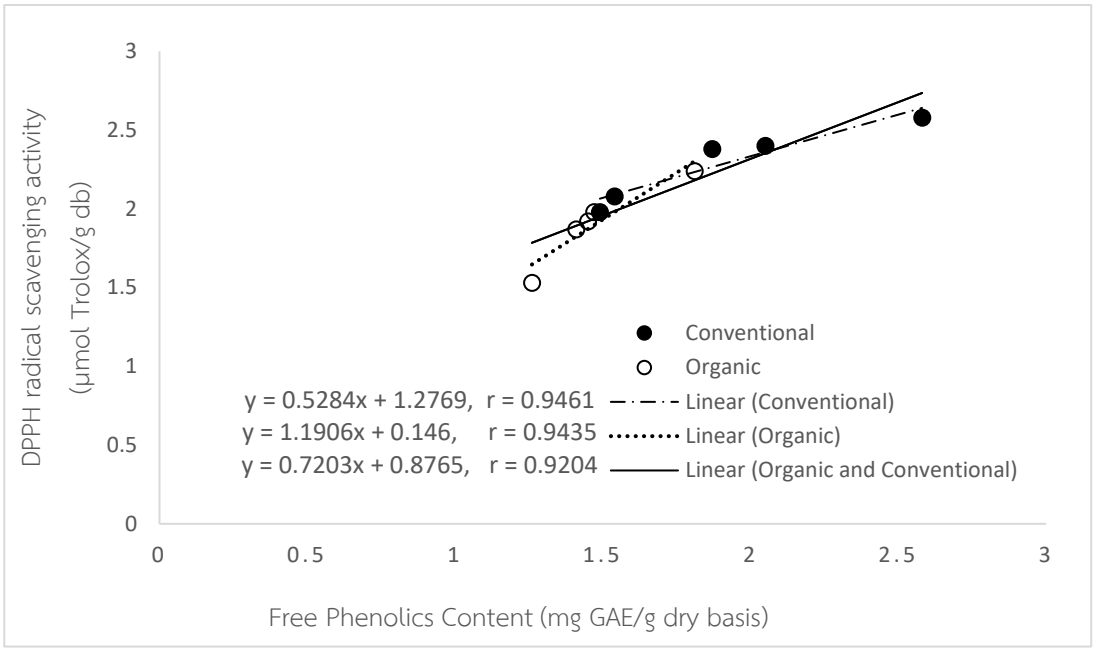
ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวอินทรีย์ ในขณะที่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ภายในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวทั่วไป เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าข้อมูลมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mastura et al. (2017) ซึ่งทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวทั้ง 3 สภาวะ ได้แก่ ถั่วเขียวดิบ (raw; R), ถั่วเขียวปรุงสุกที่ไม่ผ่านการแช่น้ำ (cooked without soaking; CWS) และ ถั่วเขียวปรุงสุกที่ผ่านการแช่น้ำ (cooked after soaking; CAS) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) พบว่า ถั่วเขียวทั่วไปมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากกว่าถั่วเขียวอินทรีย์ เนื่องจากถั่วเขียวทั่วไปมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มากกว่าอีกทั้งพบผลของความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์

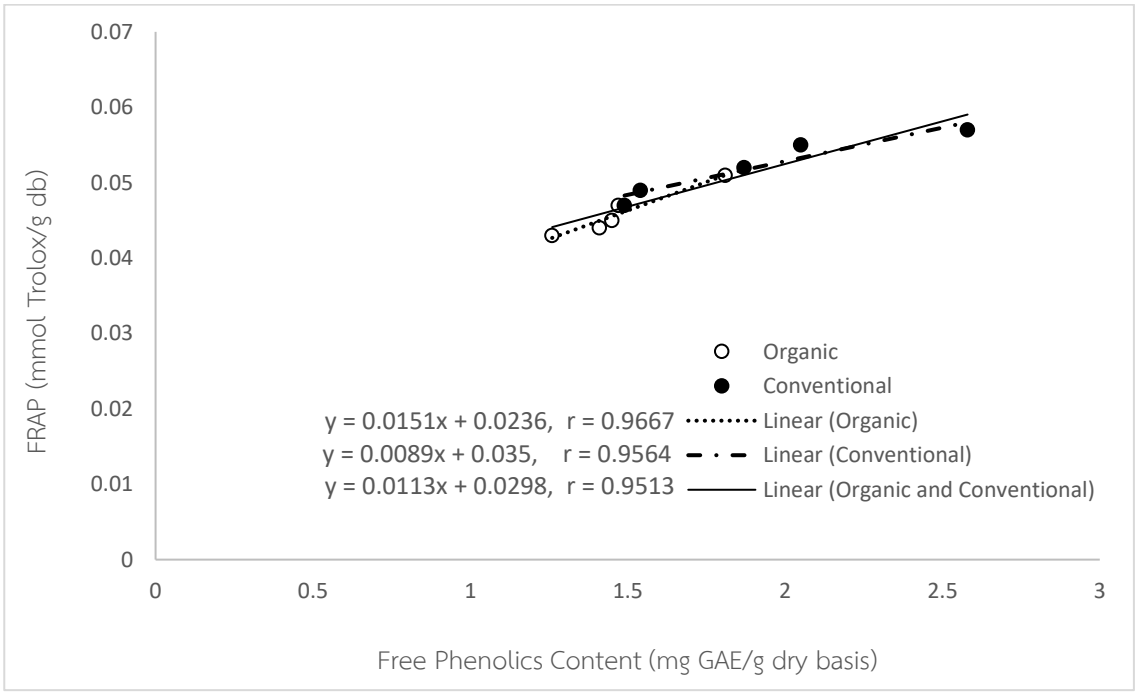
งานวิจัยนี้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกอิสระในถั่วเขียวปรุงสุกเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกอิสระสามารถถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและในลำไส้เล็กได้รวดเร็วกว่าและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายเช่น การยับยั้งกิจกรรมการเกิดออกซิเดชันของคลอเลสเตอรอลชนิด low density lipoprotein(LDL) (Chandrasekara and Shahidi., 2011a)

4.5 ผลการศึกษาความสัมพันธ์

4.5.1 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวปรุงสุก

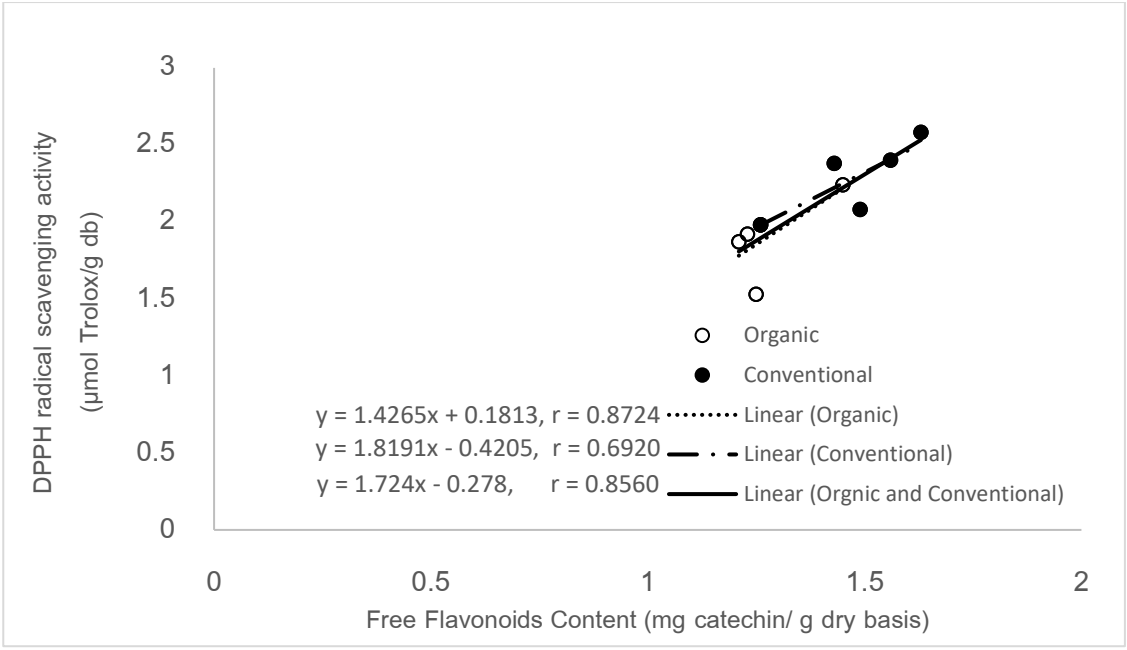


ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

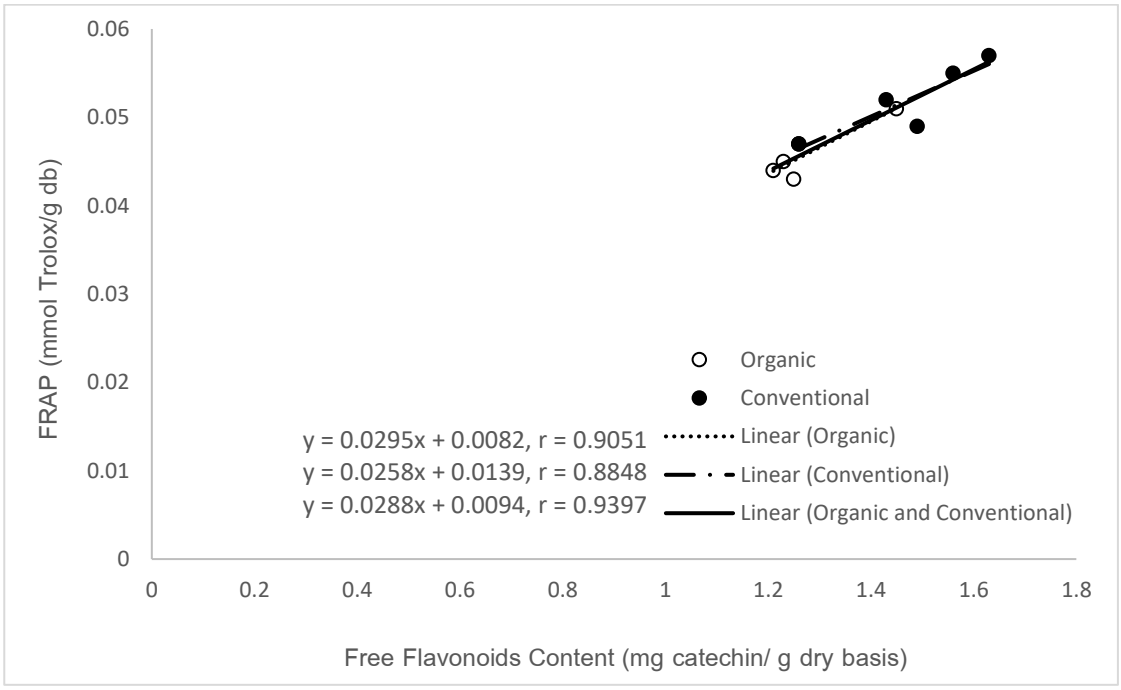


ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

4.5.2 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียวปรุงสุก



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

จากภาพที่ 11 และ 12 จะเห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 2 วิธี ในถั่วเขียวปรุงสุก มีความสัมพันธ์กัน โดยมีค่า Pearson's correlation coefficient เท่ากับ 0.9204 และ 0.9513 ตามลำดับ และจากภาพที่ 13 และ 14 จะเห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 2 วิธี ในถั่วเขียวปรุงสุก มีความสัมพันธ์กัน โดยมีค่า Pearson's correlation coefficient เท่ากับ 0.8560 และ 0.9397 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยของ Mastura et al. (2017) ที่มีการรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolics content) มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วทั้ง 8 ชนิดที่ทำการวิเคราะห์ ผลของความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีค่า Pearson's correlation coefficient เท่ากับ 0.854, 0.867 และ 0.774 ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการประเมินความสามารถของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในถั่วเขียว ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติ (Golam et al., 2011)

4.6 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ตารางที่ 4.5 ปริมาณโปรตีนและปริมาณโปรตีนเฉลี่ยของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

Treatment	โปรตีน (%w/w db)	โปรตีนเฉลี่ย (%w/w db)
Organic		
ปลูกรัก	$32.53^{c} \pm 0.92$	$34.52^{A} \pm 1.54$
Raw food	$36.72^{a} \pm 0.35$	
N&P	$33.81^{bc} \pm 0.25$	
Radiance	$34.64^{b} \pm 0.36$	
Mr&Mrs	$34.89^{b} \pm 0.10$	
Conventional		
ซิ่มยิ่งง้วน	$31.48^{ab} \pm 0.47$	$31.15^{B} \pm 0.74$
ง่วนสูน	$31.15^{b} \pm 0.01$	
ลี่ ฮะ ฮวด	$32.16^{a} \pm 0.22$	
ข้าวทอง	$30.81^{bc} \pm 0.24$	
ไร่ทิพย์	$30.16^{c} \pm 0.36$	

^{a,b} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบในถั่วเขียวปรุงสุกประเภทเดียวกัน ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

^{A,B} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก ด้วยวิธี Tukey's test ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.5 พบว่า ปริมาณโปรตีนในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและปริมาณโปรตีนในแต่ละยี่ห้อของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยของถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกมีความแตกต่างกัน โดยถั่วเขียวอินทรีย์ปรุกสุกมีค่ามากกว่าถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก ($p \leq 0.05$) จากการที่ถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก อาจเนื่องมาจากกระบวนการเพาะปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ เกษตรกรมีการบำรุงดิน และปรับปรุงดินให้มีความอุดมสมบูรณ์เหมาะแก่การเพาะปลูก ทำให้ดินบริเวณที่ใช้เพาะปลูกมีปริมาณแร่ธาตุรวมไปถึงปริมาณธาตุไนโตรเจนที่สูงและเพียงพอต่อความต้องการของพืช อีกทั้งงานวิจัยของ Brandt and Mølgaard (2001) กล่าวว่า ความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในผลิตผลเกษตรอินทรีย์มีผลเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมของการเพาะปลูกที่มีความแตกต่างกัน โดยขึ้นกับระดับแร่ธาตุในดิน อุณหภูมิของดินและแหล่งน้ำที่ใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ(Conclusions and recommendation)

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการวิเคราะห์ t-test ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (Bound phenolics content) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) การศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกกับถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก ($p \leq 0.05$) ขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่อิสระ (Bound flavonoids content) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วย t-test ค่าเฉลี่ยระหว่างฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ของถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกมีมากกว่าถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกอิสระ ($r = 0.9204$ และ 0.9513) และปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ ($r = 0.8560$ และ 0.9397) ที่พบในถั่วเขียวปรุงสุกทั้งสองชนิด เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl พบว่าถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกมีปริมาณโปรตีนมากกว่าถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในถั่วเขียวปรุงสุกที่ต่างกันอาจเนื่องมาจากแหล่งเพาะปลูกและสภาวะในการเพาะปลูก

5.2 ข้อเสนอแนะ

- ถั่วเขียวที่นำมาวิเคราะห์ไม่ทราบแหล่งเพาะปลูกที่แน่นอน เนื่องจากเป็นการสุ่มซื้อตัวอย่างผลิตผลทางการเกษตรผ่านคนกลาง จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมสภาวะการเพาะปลูกให้เหมือนกันได้ ส่งผลให้เกิดความแปรปรวนของผลที่วิเคราะห์ได้
- ควรหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (Bound polyphenol) และฟลาโวนอยด์ไม่อิสระ (Bound flavonoid) เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เพิ่มเติม
- ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ สามารถนำไปใช้ในการประกอบการตัดสินใจเลือกซื้อผลิตผลระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์และถั่วเขียวทั่วไปของผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2562). การผลิตพืชอินทรีย์. ค้นเมื่อ 13 พฤษภาคม 2564, จาก https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2019/01/1-%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%9C%E0%B8%A5%E0%B8%B4%E0%B8%95%E0%B8%9E%E0%B8%B7%E0%B8%8A%E0%B8%AD%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%97%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B9%8C.pdf

กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2559). ระบบมาตรฐานเกษตรอินทรีย์. ค้นเมื่อ 13 พฤษภาคม 2564, จาก https://esc.doae.go.th/wp-content/uploads/2018/12/%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B8%9A%E0%B8%9A%E0%B8%A1%E0%B8%B2%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%90%E0%B8%B2%E0%B8%99%E0%B9%80%E0%B8%81%E0%B8%A9%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%AD%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%97%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B9%8C.pdf

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2558). นิยามถั่วเมล็ดแห้ง. ค้นเมื่อ 15 เมษายน 2563, จาก http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2558/E/092/9.PDF

กรีนเนท GREEN NET. (2562). ประโยชน์ต่อสุขภาพ. ค้นเมื่อ 15 เมษายน 2563, จาก https://www.greennet.or.th/ประโยชน์ต่อสุขภาพ/

กิตติศักดิ์ ปานทอง. (2018). ผลของวิธีปรุงสุกต่อคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในพืชสกุล Vigna สามชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. (2560). สารประกอบฟีนอล. ค้นเมื่อ 17 เมษายน 2563, จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds-%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%

มูลนิธินวชีวัน. (2555). ตรารับรองมาตรฐานสินค้าอินทรีย์ที่ควรรู้จัก. ค้นเมื่อ 30 มีนาคม 2563, จาก http://www.nawachione.org/articles/%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%B1%E0%B8%9A%E0%B8%A3%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%A1%E0%B8%B2%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%90%E0%B8%B2%E0%B8%99%E0%B8%AA%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%84%E0%B9%89%E0%B8%B2/

ลือชัย บุตคุป. (2554). สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 31(4): 443-455.

สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และ สรพงค์ เบญจศรี. (2560). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ในเมล็ดพืช เมล็ดพืชงอก และเมล็ดพืชงอกอบแห้ง. แก่นเกษตร. 45(1): 1259-1264.

สาลี่ ชินสถิต. (2559). การผลิตพืชอินทรีย์ (พิมพ์ครั้งที่ 6). กรุงเทพมหานคร: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

สำนักงานเกษตรจังหวัดลพบุรี กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2556). เกษตรอินทรีย์. ค้นเมื่อ 15 เมษายน 2563, จาก http://www.lopburi.doae.go.th/Organic.htm

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2547. ถั่วเขียว: เนื้อที่ ผลผลิต ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ โดยรวมทั้งประเทศปี 2544-2546. แหล่งที่มา: https://www.doae.go.th/data/rice/greenNut.pdf

สิริพันธุ์ จุลกรังคะ. (2558). โภชนศาสตร์เบื้องต้น (พิมพ์ครั้งที่ 9). กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิริมนต์ ชายเกตุ, วลัยกร นิตยพัฒน์ และ วีณา ทองรอด. (2555). สารอาหารสำคัญในถั่วเมล็ดแห้ง. คหกรรมศาสตร์ มศว. 10(1): 9-11.

เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 40(2): 283-293.

<u>ภาษาอังกฤษ</u>

Anttonen, M.J., and Karjalainen, R.O. (2006). High-performance liquid chromatography analysis of black currant (Ribes nigrum L.) fruit phenolics grown either conventionally or organically. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 7530–7538.

AOAC. (2006). Official Methods of Analysis. 18th ed. Washington: The Association of Official Analytical Chemists.

Arnao, M.B., Cano, A. and Acusta, M. (2001). The Hydrophilic and Lipophilic Contribution to Total Antioxidant Activity. Food Chemistry. 7: 239–244.

Baran´ski, M., S´rednicka-Tober, D., Volakakis, N., Seal, C., Sanderson, R., Stewart, G.B., Benbrook, C., Biavati, B., Markellou, E., Giotis, C., Gromadzka-Ostrowska, J., Rembiałkowska, E., Skwarło-Son´ta, k., Tahvonen, R., Janovská, D., Niggli, U., Nicot, P., and Leifert, C. (2014). Higher antioxidant and lower cadmium concentrations and lower incidence of pesticide residues in organically grown crops: A systematic literature review and meta-analyses. British Journal of Nutrition. 112: 794-811.

Benzie, F.F., and Strain, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘Antioxidant Power’: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 239: 70-76.

Brandt, K., and Mølgaard, J.P. (2001). Organic agriculture: Does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods?. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81: 924–931.

Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2011a). Bioactivities and antiradical properties of millet grains and hulls. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(17), 9563–9571.

Chutipanyaporn, P., Kruawan, K., Chupeerach, C., Santivarangkna, C. and Suttisansanee, U. (2014). The effect of cooking process on antioxidant activities and total phenolic compounds of five colored beans. Food and Applied Bioscience Journal. 2(3): 183-191.

Circular Input Products Ltd. (2007). How Pressure Cookers Work. Retrieved December 11, 2020 from https://fastcooking.ca/pressure_cookers/how_pressure_cookers_work.php.

De Oliveira, A.B., Lopes, M.M.A., Moura, C.F.H., Oliveira, L.S., De Souza, K.O., Filho, E.G., Urban, L., and De Miranda, M.R.A. (2017). Effects of organic vs. conventional farming systems on quality and antioxidant metabolism of passion fruit during maturation. Scientia Horticulturae. 222: 84-89.

Durand, F. (2019). What Is Pressure Cooking, and What Does It Do? A Pressure Cooker FAQ. Retrieved December 11, 2020 from https://www.thekitchn.com/a-primer-on-pressure-cooking-193715.

Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and nutraceutical properties. Fitoterapia. 77: 67-82.

Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. (1999). The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. Food Chemistry. 64: 555–559.

Faller, A.L.K., and Fialho, E. (2010). Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. Journal of Food Composition and Analysis. 23: 561-568.

Golam, M.A., Khandaker, L., Berthold, J., Gates, L., Peters, K., Delong, H., and Hossain, K. (2011). Anthocyanin, total polyphenols and antioxidant activity of common beans. American Journal of Food Technology. 6: 385-394.

Mastura, H., Hasnah, H., and Dang, T.N. (2017). Total phenolic content and antioxidant capacity of beans: Organic vs inorganic. International Food Research Journal. 24(2): 510-517.

Mubarak, A.E. (2005). Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (Phaseolus aureus) as affected by some home traditional processes. Food Chemistry. 89(4): 489-495.

Nuengchamnong, N., Krittasilp, K., and Ingkaninan, K. (2009). Rapid Screening and Identification of Antioxidants in Aqueous Extracts of Houttuynia Cordata Using LC–ESI–MS Coupled with DPPH Assay. Food Chemistry. 117: 750–756.

Sritongtae, B., Sangsukiam, T., Morgan, M. R., and Duangmal, K. (2017). Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice bean (Vigna umbellata). Food Chemistry. 227: 280-288.

Su, D., Zhang, R., Hou, F., Zhang, M., Guo, J., Huang, F., Deng, Y., and Wei, Z. (2014). Comparison of the free and bound phenolic profiles and cellular antioxidant activities of litchi pulp extracts from different solvents. BMC Complementary and Alternative Medicine. 14(9): 1-10.

Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E.M., Garrido, J., and Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. BioMed Research International. 2013: 1-11.

Turkmen, N., Sari, F., and Velioglu, Y.S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry. 93: 713-718.

Wang, L., Bei, Q., Wu, Y., Liao, W., and Wu, Z. (2017). Characterization of soluble and insoluble-bound polyphenols from Psidium guajava L. leaves co-fermented with Monascus anka and Bacillus sp. and their bio-activities. Journal of Functional Foods. 32: 149-159.

Winter, C.K., and Davis, S.F. (2006). Organic Foods. Journal of Food Science. 71: R117-R124.

Worthington, V. (2001). Nutritional Quality of Organic Versus Conventional Fruits, Vegetables, and Grains. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. 7: 161-173.

Xiao, F., Xu, T., Lu, B., and Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. Food frontiers. 1:60-69.

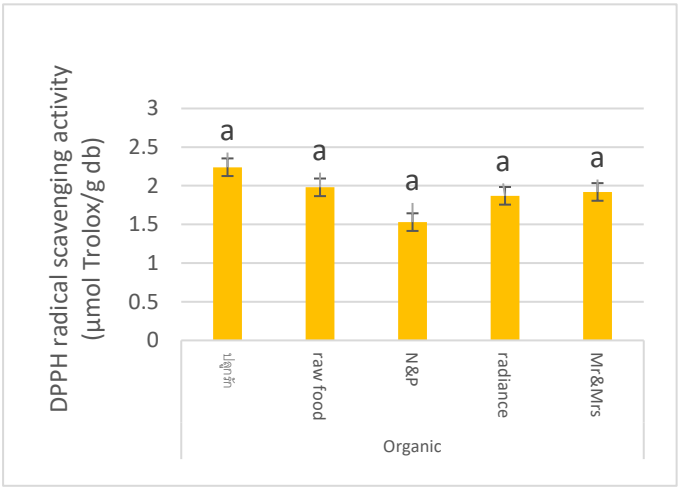
Xu, B. and Chang, S. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. Journal of Food Science 72: S159-S166.

Xu, B. and Chang, S.K.C. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. Food Chemistry. 110: 1-13.

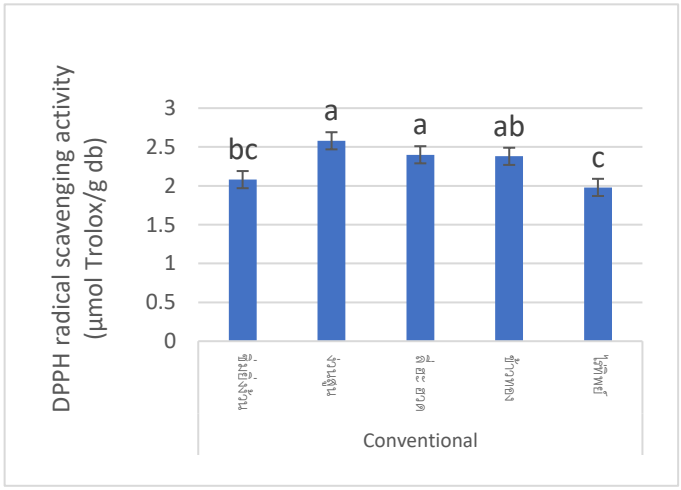
ภาคผนวก ก
กราฟแสดงความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ ก1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity ของถั่วเขียวปรุงสุก

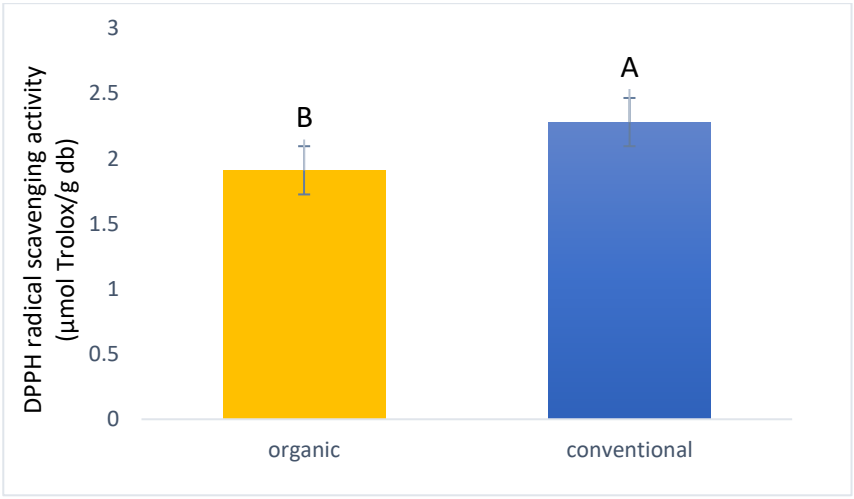
(ก)



(ข)



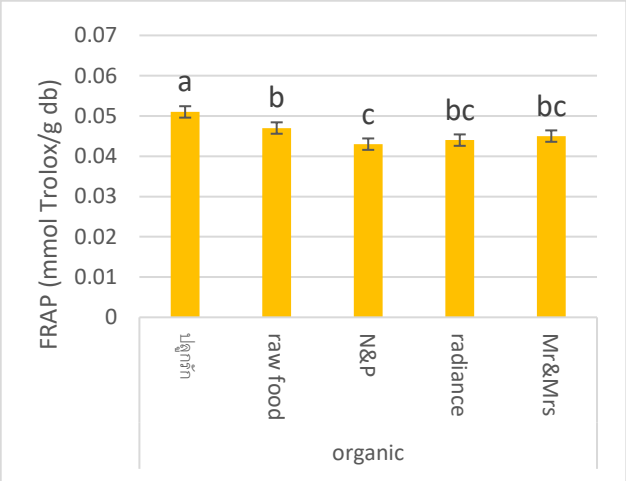
(ค)



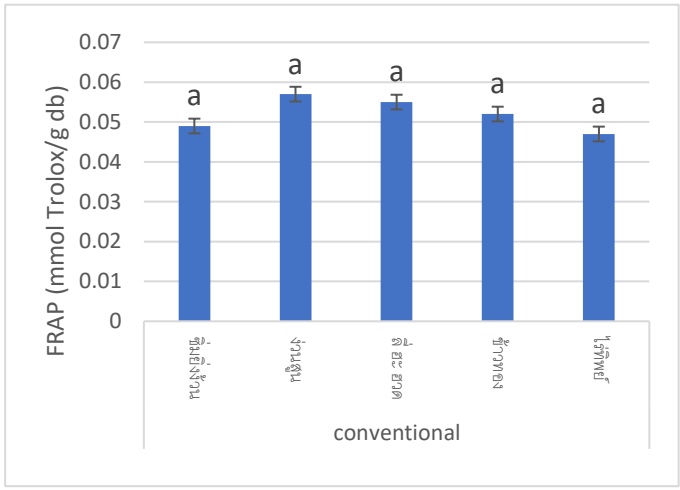
(ก) ถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก, (ข) ถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก และ
(ค) ระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ภาพที่ ก2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ของถั่วเขียวปรุงสุก

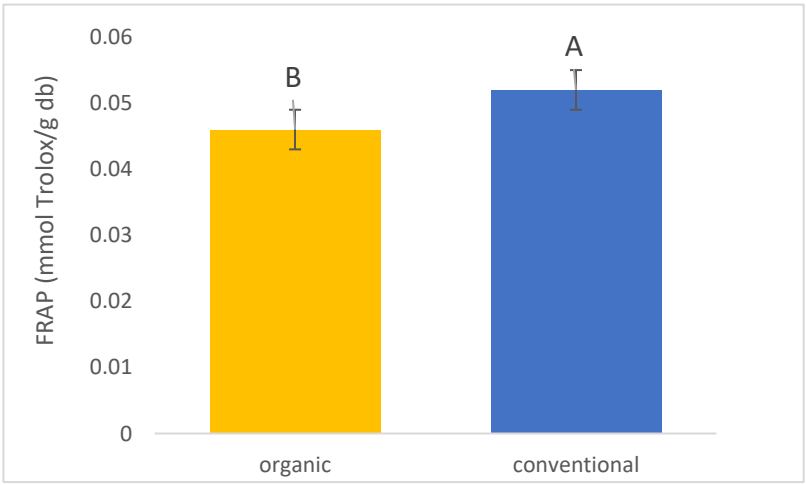
(ก)



(ข)



(ค)



(ก) ถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก, (ข) ถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก และ

(ค) ระหว่างถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

ภาคผนวก ข

ข้อมูลจำเพาะของผลิตภัณฑ์

ยี่ห้อ: ปลูกรัก

แหล่งปลูก: อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

จำหน่ายโดย: บริษัท ชำโต จำกัด

7/492 ทวีวัฒนา 24 ศาลาธรรมสพน์ ทวีวัฒนา กรุงเทพฯ

ยี่ห้อ: Raw food

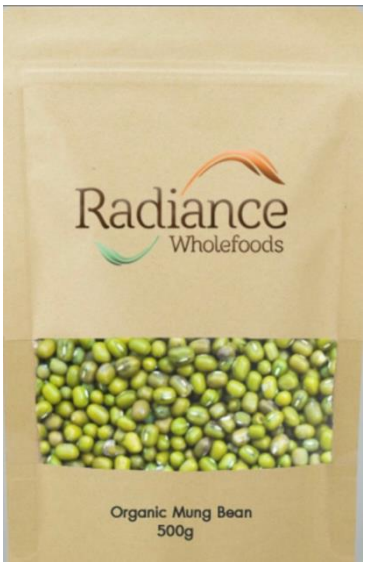
แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: บจก.เซนจูเรีย แลบอราทัวรี่ เทศบาลสงเคราะห์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กทม

ยี่ห้อ: N&P

แหล่งปลูก: นำเข้าจากต่างประเทศ

นำเข้าและจำหน่ายโดย: บริษัท แนชเชอรัล แอนด์ พรีเมี่ยม ฟู้ด จำกัด 194 ถนนคุ้มเกล้า แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ



ยี่ห้อ: Radiance Wholefoods

แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: Radiance Wholefoods (Thailand) Co. Ltd. 106 สุขุมวิท ซ. 49 คลองตันเหนือ, วัฒนา กรุงเทพมหานคร

ยี่ห้อ: MR&MRS

แหล่งปลูก: นำเข้าจากต่างประเทศ

นำเข้าและจำหน่ายโดย: บริษัท แค๊ปแม๊คซ์ เทรดดิ้ง จำกัด

19 รามคำแหง 118 แยก 51 สะพานสูง กรุงเทพฯ

ยี่ห้อ: ซิ่มยิ่งง้วน

แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: หจก. ซิ่มยิ่งง้วน

ร้านขายของชำ ใน เขตสัมพันธวงศ์

189-191 ซอย เยาวราช 6 ถนน เยาวราช แขวง สัมพันธวงศ์ เขตสัมพันธวงศ์

กรุงเทพมหานคร

ยี่ห้อ: ตรามือที่ 1

แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: ผลิตโดย: บริษัท อาจจิตต์อินเตอร์เนชั่นแนลเพ๊พเพอร์ แอนด์ สไปซ์ จำกัด 83/4 หมู่ 5 ซอยสุขสวัสดิ์ 2 ถนนสุขสวัสดิ์ จอมทอง กรุงเทพฯ

ยี่ห้อ: ลี่ฮะฮวด

แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: บริษัท ลี่ฮะฮวด (1988) จำกัด ที่อยู่291 ถนนเยาวราช แขวง จักรวรรดิ์ เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพมหานคร

ยี่ห้อ: ข้าวทอง

แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: บริษัท อุตสาหกรรมอาหารไทย (1964) จำกัด 50 ซอย เพชรเกษม 48 แยก 16-2 แขวง บางด้วน เขต ภาษีเจริญ กรุงเทพฯ

ยี่ห้อ: ไร่ทิพย์

แหล่งปลูก: ไม่ระบุแหล่งปลูก

จำหน่ายโดย: บริษัท ไร่ธัญญะ จำกัด

62/3 หมู่ 3 ตำบลบางใหญ่ อำเภอบางใหญ่ จังหวัดนนทบุรี 11140

ภาคผนวก ค

ตารางวิเคราะห์ผล t-test (Two-Sample Assuming Unequal Variances)

ตารางที่ ค1 ค่าวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Free phenolics content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

	organic	conventional
Mean	1.480542	1.905097
Variance	0.043485	0.241181
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	19	
t Stat	-3.08186	
P(T<=t) one-tail	0.003069	
t Critical one-tail	1.729133	
P(T<=t) two-tail	0.006138	
t Critical two-tail	2.093024	

ตารางที่ ค2 ค่าวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่อิสระ (Bound phenolics content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

	organic	conventional
Mean	4.297478	4.685257
Variance	0.249995	0.571498
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	24	
t Stat	-1.65702	
P(T<=t) one-tail	0.055267	
t Critical one-tail	1.710882	
P(T<=t) two-tail	0.110533	
t Critical two-tail	2.063899	

ตารางที่ ค3 ค่าวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์อิสระ (Free flavonoids content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

	organic	conventional
Mean	1.283232	1.474341
Variance	0.012787	0.018585
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	27	
t Stat	-4.17885	
P(T<=t) one-tail	0.000138	
t Critical one-tail	1.703288	
P(T<=t) two-tail	0.000275	
t Critical two-tail	2.051831	

ตารางที่ ค4 ค่าวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่อิสระ (Bound flavonoids content) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุก และถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

	organic	conventional
Mean	1.874414	2.087294
Variance	0.012974	0.065255
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	19	
t Stat	-2.9478	
P(T<=t) one-tail	0.004131	
t Critical one-tail	1.729133	
P(T<=t) two-tail	0.008262	
t Critical two-tail	2.093024	

ตารางที่ ค5 ค่าวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย DPPH radical scavenging activity ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

	organic	conventional
Mean	1.908889	2.281084
Variance	0.155199	0.061204
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	24	
t Stat	-3.09873	
P(T<=t) one-tail	0.002451	
t Critical one-tail	1.710882	
P(T<=t) two-tail	0.004902	
t Critical two-tail	2.063899	

ตารางที่ ค6 ค่าวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ในถั่วเขียวอินทรีย์ปรุงสุกและถั่วเขียวทั่วไปปรุงสุก

	organic	conventional
Mean	0.045942	0.051879
Variance	1.04E-05	2.39E-05
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	24	
t Stat	-3.92786	
P(T<=t) one-tail	0.000316	
t Critical one-tail	1.710882	
P(T<=t) two-tail	0.000632	
t Critical two-tail	2.063899	

ภาคผนวก ง
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ง.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ดัดแปลงตามวิธีของ Hanis et al. (2017)

สารเคมี

1.เมทานอล

2.โซเดียมคาร์บอเนต

3. Folin-Ciocalteu reagent

4.กรดแกลลิก (Gallic acid)

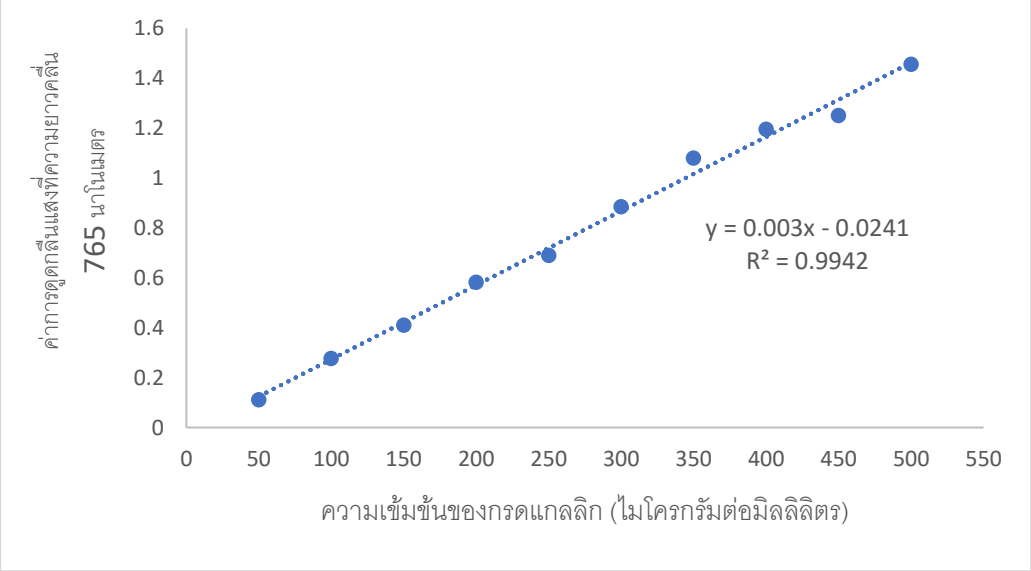
การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

1. ละลายกรดแกลลิก 0.5 กรัม ในสารละลายเมทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนเป็น 100 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกปริมาตร 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร โดยสารละลายกรดแกลลิกที่ได้จะมีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกในแต่ละความเข้มข้นจำนวน 300 ไมโครลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 6 มิลลิลิตร และสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 2 นอร์มัล จำนวน 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7% จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ง1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ง.2 การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

สารเคมี

1. โซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v)
2. อะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์
4. แคทีชิน (Catechin)

การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชิน

1. ละลายแคทีชิน 0.05 กรัม ในสารละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนเป็น 100 มิลลิลิตร

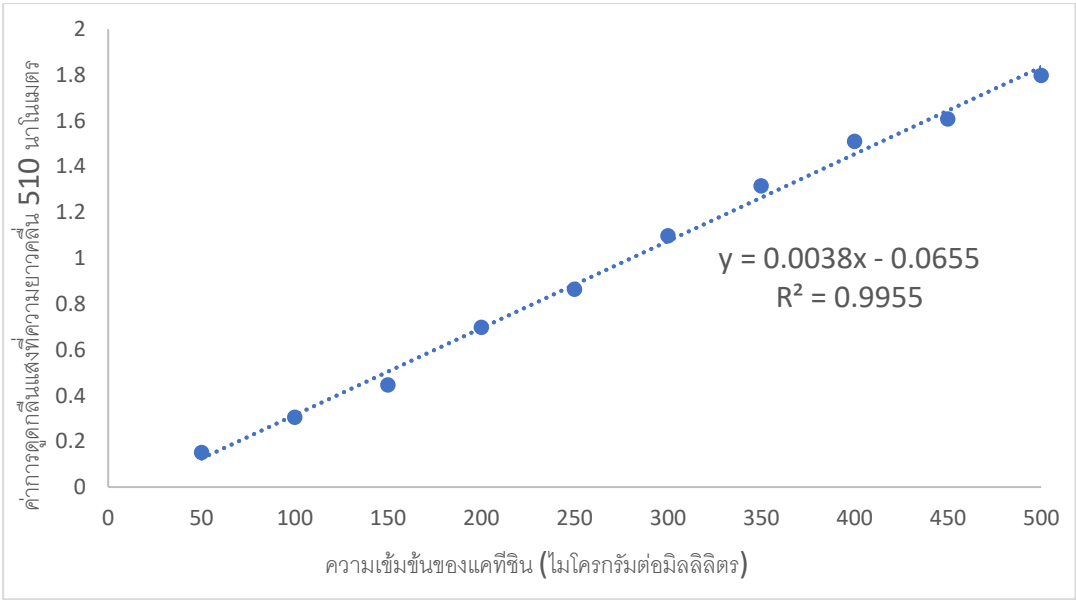
2. ปิเปตสารละลายแคทีชินปริมาตร 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร โดยสารละลายกรดแคทีชินที่ได้จะมีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3. ปิเปตสารละลายแคทีชินจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 4 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

4. เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที

5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแคทีชินและค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ง2 กราฟมาตรฐานของสารละลายแคทีชินที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ง.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

สารเคมี

1. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
2. เมทานอล
3. 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid (Trolox)

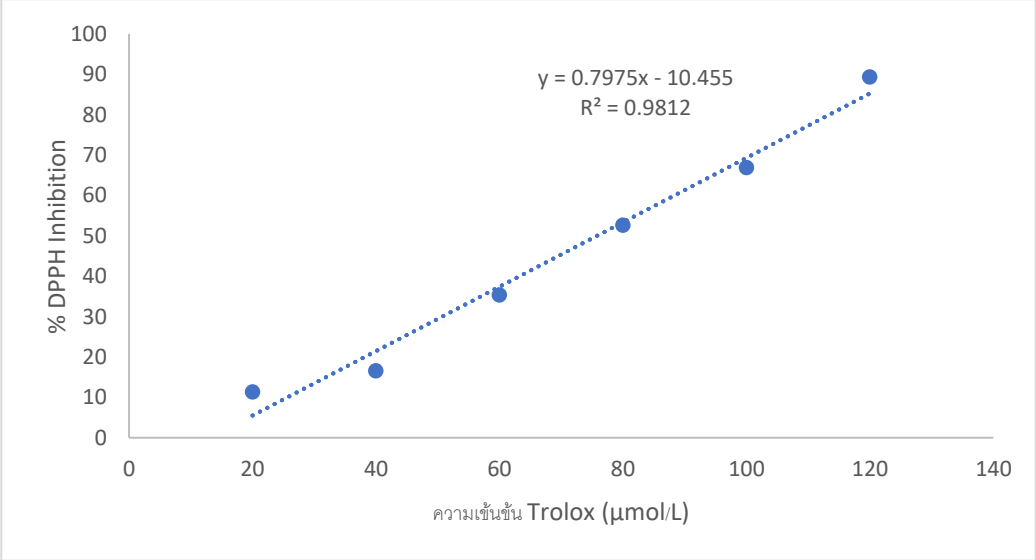
การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox

1. ละลาย Trolox 0.003 g ในเมทานอล และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลาย Trolox 1.67, 3.33, 5.00, 6.67, 8.33 และ 10.00 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร โดยสารละลาย Trolox มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120 ไมโครโมลต่อลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity
3. ปิเปตสารละลาย Trolox ในแต่ละความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณ DPPH radical scavenging activity (%) ดังสมการ สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่า %DPPH inhibition

% DPPH radical scavenging activity = (Ao – A) x 100/A

เมื่อ Ao คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง



รูปที่ ง3 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย DPPH radical scavenging activity

ง.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน FRAP ตามวิธีของ Sritongtae et al. (2017)

สารเคมี

1. กรดอะซีติดเข้มข้นร้อยละ 99.8
2. โซเดียมอะซีเตต
3. เฟอริกคลอไรด์
4 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
5. 2,4,6-tripyridyl-s-trirazine (TPTZ)

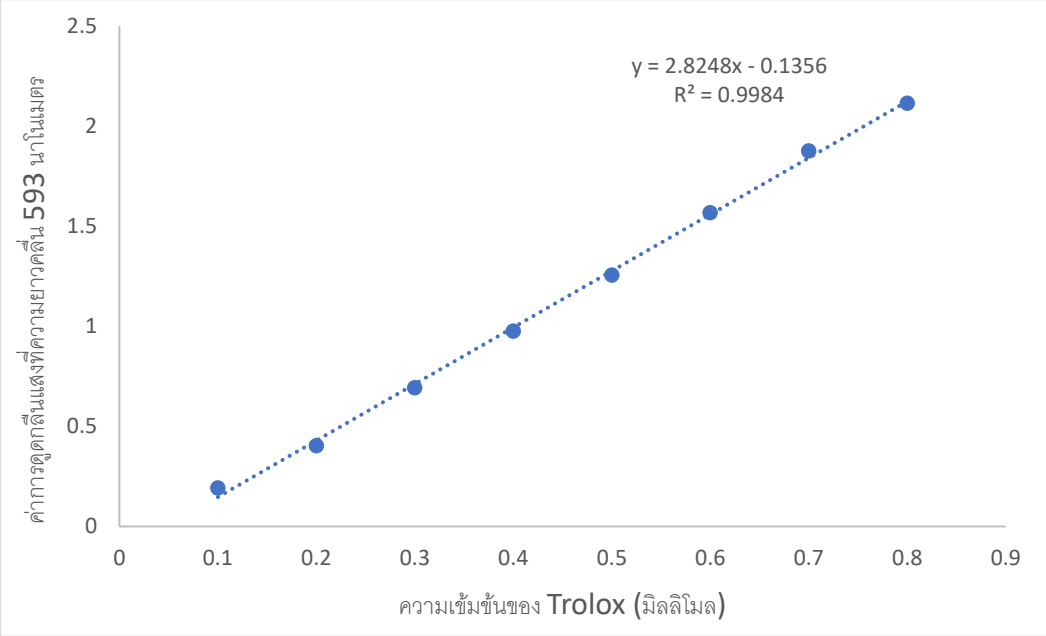
การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox

1. ละลาย Trolox 0.025 กรัม ในเมทานอล และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย Trolox ปริมาตร 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00, 7.00 และ 8.00 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรของสารละลายด้วย น้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร สารละลาย Trolox มีความเข้มข้น 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.70, และ 0.80 มิลลิโมล ตามลำดับ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย FRAP

3. ปิเปตสารละลาย FRAP 1700 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Trolox ในแต่ละความเข้มข้น 300 ไมโครลิตร ลงไปผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของ สารละลายมาตรฐาน Trolox ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ง4 สารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย FRAP

ภาคผนวก จ

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวณิชากร อเนกสิทธิกิจ
ตำแหน่ง	หัวหน้าโครงการ
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	0818836511
Email	nishakornp@gmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวนวแพรว มะลิลา
ตำแหน่ง	ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	0618829947
Email	navapraew@gmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวปาณิสรา อมรรุ่งโรจน์
ตำแหน่ง	ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	0878018484
Email	por8484@hotmail.com