สมบัติทางพฤกษเคมีของธัญพืชและถั่วต่างๆ และการประยุกต์ใช้

PHYTOCHEMICAL PROPERTY OF CEREALS AND LEGUMES AND THEIR APPLICATION

ปาริฉัตร พุดจอน

พรนภา เนตรจุฬารัตน์

พัชรี อ่อนน้อม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

สมบัติทางพฤกษเคมีของธัญพืชและถั่วต่างๆ และการประยุกต์ใช้

PHYTOCHEMICAL PROPERTY OF CEREALS AND LEGUMES AND THEIR APPLICATION

ปาริฉัตร พุตจอน
พรนภา เนตรจุฬารัตน์
พัชรี อ่อนน้อม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

PHYTOCHEMICAL PROPERTY OF CEREALS AND LEGUMES AND THEIR APPLICATION

PHARICHAT PUTJON
PONDNAPA NETCHULARRAT
PATCHAREE ONNORM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHEL OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สมบัติทางพฤกษเคมีของธัญพืชและถั่วต่างๆ และการประยุกต์ใช้ Phytochemical Property of Cereals and Legumes and their Application
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปาริฉัตร พุตจอน รหัสนักศึกษา 55051335 นางสาวพรนภา เนตรจุฬารัตน์ รหัสนักศึกษา 55051339 นางสาวพัชรี อ่อนน้อม รหัสนักศึกษา 55051345
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุรีย์ นานาสมบัติ

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สมบัติทางพฤกษเคมีของธัญพืชและถั่วต่างๆ และการประยุกต์ใช้
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปาริฉัตร พุตจอน รหัสนักศึกษา 55051335
	นางสาวพรนภา เนตรจุฑารัตน์ รหัสนักศึกษา 55051339
	นางสาวพัชรี อ่อนน้อม รหัสนักศึกษา 55051345
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่สกัดด้วยเอทานอลทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilcz.) ถั่วดำ (*Phaseolus mungo* L.) ถั่วแดง (*Phasecolus vulgaris* L.) ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.)) ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) ข้าวกล้องลืมผัว (*Oryza sativa* var.Glutinosa) ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L.) ข้าวกล้องแดง (*Oryza sativa* L.) ข้าวกล้องสินเหล็ก (*Oryza sativa* L.) ข้าวโพดข้าวเหนียว (*Zea mays* Linn.) และข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม (*Zea mays* Linn.) ทั้งที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก ได้วิเคราะห์หากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กิจกรรมต้านเบาหวาน (กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส) และปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ผลปรากฏว่าข้าวกล้องลืมผัว ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และถั่วแดง มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าธัญพืชและถั่วชนิดอื่นๆ โดยมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงเท่ากับ 0.396-1.17 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด โดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในบรรดาสารสกัดที่วิเคราะห์ทั้งหมด สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าชนิดอื่น ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก มีค่าอยู่ช่วง 516.67-1,704.17 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด สารสกัดที่มีสมบัติการต้านเบาหวานสูงกว่าชนิดอื่น ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัวงอก ถั่วเหลืองงอก ข้าวกล้องสินเหล็กงอก โดยมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 19.39-24.55 และมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสอยู่ในช่วงร้อยละ 10.23-11.88 สำหรับสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูงได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วเขียวงอก และข้าวกล้องลืมผัวงอก หลังจากนั้นได้คัดเลือกถั่วแดง ถั่วเหลือง ข้าวกล้องลืมผัว และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก มาผลิตเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก คือ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 โดยได้ศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิดนี้ในน้ำนมธัญพืช และถั่วเหล่านี้ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จำนวน *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในน้ำนมธัญพืชและถั่วทุกชนิดลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ร้อยละการอยู่รอดของ

แบคทีเรียในน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอกสูงกว่าในน้ำนมชนิดอื่น ส่วนน้ำนมชนิดอื่นมีร้อยละการอยู่รอดค่อนข้างต่ำ นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์หากิจกรรมต้านอนุมูลอิสละในน้ำนมธัญพืชและถั่วทุกชนิดด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ปรากฏว่าน้ำนมถั่วแดงนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด เท่ากับ 0.32 มิลลิโมลเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร และยังมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 1,838.15 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร น้ำนมถั่วแดง และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ได้สูงกว่าน้ำนมชนิดอื่น (การยับยั้งเอนไซม์ร้อยละ 3.60-11.34) ในขณะที่น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสสูงกว่าน้ำนมชนิดอื่น (การยับยั้งเอนไซม์ ร้อยละ 24.95-36.14)

คำสำคัญ : การทำให้งอก โรคเบาหวาน สารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระ
เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส

Title	Phytochemical Property of Cereals and Legume and their Application		
Students	Miss Pharichat Putjon	Student ID	55051335
	Miss Pondnapa Netchularrat	Student ID	55051339
	Miss Patcharee Onnorm	Student ID	55051345
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Associate Professor Dr.Suree Nanasombat		

ABSTRACT

Phytochemical properties of 11 germinated and non-germinated cereal and legume ethanolic extracts including mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilcz.), black gram (*Phaseolus mungo* L.), kidney bean (*Phasecolus vulgaris* L.), soybean (*Glycine max* (L.) Merrill), peanut (*Arachis hypogaea* L.), leumpua purple rice (*Oryza sativa* var.Glutinosa), rice berry (*Oryza sativa* L.), red rice (*Oryza sativa* L), sinlek rice (*Oryza sativa* L.), waxy corn (*Zea mays* Linn.) and waxy corn (Violet white) (*Zea mays* Linn.) were studied for analyzing antioxidant activity, total phenolic contents, anti-diabetes activity (α-amylase and α-glucosidase inhibition activity) and indigestible polysaccharide content. The extracts of leumpua purple rice, rice berry and kidney bean had strong antioxidant activities with high reducing ferrous capacities of 0.396-1.17 mmol Fe(II)/g extract by FRAP (reducing antioxidant power) assay. The extracts from both of germinated and non-germinated leumpua purple rice, waxy corn and rice berry had higher total phenolic contents (516.67-1,704.17 mg GAE/g extract) than those from other extracts. The extracts with higher anti-diabetes activities were the extracts of germinated leumpua purple rice, germinated soybean and germinated sinlek rice (α-amylase inhibition activities of 19.39-24.55% and α-glucosidase inhibition activity of 10.23-11.88%). The extracts with high amount of indigestible polysaccharide were peanut, germinated mung bean and germinated leumpua purple rice extracts. Then, germinated and non-germinated kidney bean, soybean, leumpua purple rice and rice berry were selected to produce beverages with the addition of probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034. The survival percentage of this probiotic bacterium in rice and legume beverage during storage at 4 °C for 14 days were studied. The viable counts of bacteria in all beverages decreased as the storage time increased, and survival percentage of viable probiotic bacteria in rice berry and leumpua purple rice beverages were higher than those in other beverages. In addition, the antioxidant capacities in beverages were analyzed. Among all beverages, kidney bean beverage had the strongest reducing ferrous capacity of 0.32 mmol Fe(II)/ 100 ml beverage by FRAP assay and the highest total phenolic contents of 1,838.15 mg GAE/100 ml beverage. Kidney bean and rice berry beverages had higher α-amylase inhibitory activity (3.60-11.34% inhibition), while leumpua purple rice and rice berry beverages had higher α-glucosidase inhibitory activity (24.95-36.14% inhibition) compared to other beverages.

Keyword : Germination, Diabetes mellitus, Phenolic compound, Antioxidant,
α-amylase and α-glucosidase

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือของ รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย

ขอขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล และ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับบนี้ให้ถูกต้อง และสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้การสนับสนุนสายพันธุ์ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และสินเหล็กในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่ให้การสนับสนุนสายพันธุ์ข้าวเหนียวลืมผัว และข้าวแดงในการทำวิจัยในครั้งนี้

นอกจากนี้ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษเรื่องนี้

สุดท้ายนี้ ผู้ทำโครงงานพิเศษขอขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนคอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

ปาริฉัตร พุตจอน
พรนภา เนตรจุฬารัตน์
พัชรี อ่อนน้อม

สารบัญ

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

สารบัญ (ต่อ)

สารบัญ (ต่อ)

สารบัญตาราง

สารบัญรูป

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ธัญพืช (cereal grain) จัดเป็นวัตถุดิบหลักที่มีความสำคัญทั่วโลก ธัญพืชทั้งเมล็ด (whole grain cereal) เป็นแหล่งที่ดีของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งประกอบด้วยอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก และกรดซินนามิค (cinnamic acid) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ควินิน (quinines) ฟลาโวนอล (flavonols) ชาลโคน (chalcones) ฟลาโวน (flavones) และสารประกอบฟีนอลอะมิโน (amino phenolic compounds) ธัญพืชประกอบด้วย ไทโคไตรอินอล (tocotrienols) และโทโคฟีรอล (tocopherols) และโอโรซานอล (oryzanols) เป็นที่ยอมรับว่าการที่สารพฤกษเคมีให้ประโยชน์ต่อสุขภาพจากการที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ เชื่อกันว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากเมล็ดธัญพืชจัดว่าเป็นตัวจับอนุมูลอิสระโดยตรงซึ่งจัดเป็นสาร cofactor ของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme) หรือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางอ้อม (Masisi และคณะ, 2016) ธัญพืชทั้งเมล็ดเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินอี โฟเลต (folates) กรดฟีนอลิก สังกะสี เหล็ก ซีลีเนียมทองแดง แมงกานีส แคโรทีนอยด์ กรดไฟติก ลิกนิน ลิกแนน และ alkylresorcinols เป็นต้น (Fardet และคณะ, 2008) โดยเฉพาะพืชตระกูลถั่ว (legume) ซึ่งได้แก่ อัลฟอลฟา (alfalfa) ใบโคบเวอร์ (clover) ลูพิน (lupins) ถั่วลันเตา (green beans) ถั่วลิสง (peanuts) ถั่วเหลือง ถั่วปากอ้า (broad beans) ถั่วลูกไก่ (chickpeas) และถั่วเลนทิล (lentils) และถั่วชนิดอื่นๆ ใช้เป็นส่วนผสมที่สำคัญในการประกอบอาหารของมนุษย์ในหลายพื้นที่ของโลก โดยเฉพาะในประเทศที่พัฒนาแล้ว เนื่องจากถั่วเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง (ร้อยละ 18-25) เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ถูกปล่อยออกมาช้า (slow release carbohydrate) และยังเป็นแหล่งที่ดีของแร่ธาตุต่างๆ รวมถึงวิตามิน (Bouchenak และ Lammri-Senhadji, 2013) ปกติจะบริโภคถั่วหลังจากแปรรูป เพราะนอกจากจะช่วยเพิ่มรสชาติที่ดีของอาหารแล้วยังเพิ่มการดูดซึมที่สามารถเอาไปใช้ได้ของสารอาหาร (bioavailability) โดยการทำลายตัวยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor) ยับยั้งการเจริญ (growth inhibitor) และฮิมแมกกลูตินิน (hemagglutinins) นอกจากนี้พืชตระกูลถั่วที่ผ่านการทำให้งอกยังอุดมไปด้วยวิตามินซี ในถั่วบางชนิดมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไรโบฟลาวิน และไนอะซีน (Tharanathan และ Mahadevamma, 2003) การบริโภคถั่วจะช่วยลดความเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคอ้วน (obesity) โรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular diseases) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (diabetes type 2) รวมถึงก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (cancer) (Bouchenak และ Lammri-Senhadji, 2013; Tharanathan และ Mahadevamma, 2003) นอกจากนี้ถั่วยังมีสารทางพฤกษเคมีหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก และโพลีฟีนอล รวมถึงกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และลิกนิน สารประกอบฟีนอลิกในพืชตระกูลถั่วจะประกอบไปด้วยเม็ดสีของแอนโทไซยานิน เช่น เดลฟินิดิน (delphinidin) ไซยานิดิน (cyanidin) พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) แมลวิดิน (malvidin) และเพทูนิดิน (petunidin) (Mazza และ Miniati, 1993) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ และยังเป็นแหล่งที่ดีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ถั่วจึงเป็นที่นิยมในการบริโภคเป็นอาหาร นอกจากนี้ข้าว (*Oryza sativa* L.) ยังเป็นอาหารหลักสำหรับประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของประชากรโลก ข้าวเป็นส่วนที่ได้จากเมล็ดของต้นข้าว ซึ่งเป็นพืชตระกูลหญ้าที่เจริญขึ้นมามีความสูง 1-2 เมตร ส่วนของผลธัญพืชที่อยู่ในเมล็ดข้าว (caryosis) มีส่วนประกอบของ starch (ประมาณร้อยละ 70) พอลิแซคคาไรด์ชนิดอื่น และน้ำตาล

เช่น กลูโคส ฟรุกโตส และแซคคาโรส (saccharose) โดยทั่วไปแล้วไขมันส่วนใหญ่ที่พบประกอบด้วยกรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิก ส่วนโปรตีนชนิดหลัก คือ prolamins, glutelins, globulins และ albumins สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่พบอยู่ในเปลือกหุ้มเมล็ด (pericarp) หรือชั้นรำข้าวที่อยู่รอบนอก แต่จะลดลงอย่างมากเมื่อผ่านการขัดสีข้าว สารประกอบฟีนอลิกที่พบ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ เช่น ไตรซิน (tricin) และไตรซินิน (tricinin) และสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น ferulic acid, coumaric acid, vanillic acid, caffeic acid และ gallic acid ส่วนสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิชนิดอื่น เช่น วิตามินอี (tocopherols และ tocotrienos) สารสเตอรอล (sterol) เช่น β-*sitosterol* สาร γ-sitosterol และ campesterol สารไดเทอฟีน (diterpenes) รวมทั้งวิตามินบี เช่น ไทอะมีน ไรโบฟลาวิน และไนอะซิน ซึ่งมีจำนวนเส้นใยอีกมากมายที่อยู่ในข้าวกล้อง ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพคติน และลิกนิน (Burlando และ Cornara, 2014) ยังมีรายงานว่าข้าวหลายชนิดมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ในข้าวแดง (Gunaratne และคณะ, 2013) ข้าวดำ (Zhang และคณะ, 2015) ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Leardkamolkarn และคณะ, 2011) ข้าวชนิดต่างๆเหล่านี้ประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก เช่น แอนโทไซยานินและสารอื่นๆ ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารเหล่านี้เป็นสารพฤษเคมีที่พบตามธรรมชาติในพืช โดยทั่วไปเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive) หรือสารที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) โรคมะเร็ง โรคอ้วน ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และช่วยลดปฏิกิริยาการอักเสบ (Xu, 2012) นอกจากนี้ข้าวกล้องช่วยปรับปรุง glucose intolerance และช่วยป้องกันโรคอ้วนและโรคเบาหวานในคนอีกด้วย (Kozuka และคณะ, 2013)

สารอนุมูลอิสระ (ROS หรือ Reactive oxygen species) ซึ่งได้แก่ superoxide anion hydrogen peroxide, peroxyl radical, peroxynitrite และ singlet oxygen เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นในร่างกายจากกิจกรรมเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ตามปกติ รวมถึงปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น มลพิษทางอากาศหรือควันบุหรี่ ROS เป็น reactive molecule ที่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของเซลล์ เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดนิวคลีอิก ไขมัน และโปรตีน รวมถึงสารที่สำคัญอีกหลายๆกลุ่ม ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังและอาการเจ็บป่วยต่างๆตามมา เช่น โรคมะเร็ง ความผิดปกติของระบบประสาท (neurological disorders) ไขมันอุดตันในเส้นเลือด (atherosclerosis) ความดันโลหิตสูง (hypertension) การขาดเลือด (ischemia) โรคเบาหวาน ภาวะการหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน (acute respiratory distress syndrome) โรคปอดอักเสบเรื้อรัง (idiopathic pulmonary fibrosis) โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease) และโรคหอบหืด (asthma) ในร่างกายสิ่งมีชีวิตจะมีระบบต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งรวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันอันตรายจาก ROS (Birben และคณะ, 2012) โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะต่อต้าน ROS และอนุมูลอิสระ รวมถึงป้องกันสารชีวโมเลกุลอื่นๆ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิพิด และสารอื่นๆ (Keshari และคณะ, 2015) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องรับประทานอาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระสูง เช่น ในข้าวและถั่ว

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) ไม่ใช่โรคเพียงโรคเดียว แต่ยังเป็นกลุ่มของอาการแปรปรวนที่เป็นสาเหตุในการก่อให้เกิดโรค ซึ่งมีลักษณะ คือ หลังจากรับประทานอาหารจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งเกิดจากการที่อินซูลินทำงานบกพร่องหรือมีการทำงานของอินซูลินที่ลดลง จึงทำให้เกิดความผิดปกติของเมทาบอลิซึมของกลูโคส ไขมันและ

โปรตีน ทำให้เกิดโรคต่างๆที่ส่งผลในระยะยาว ซึ่งสภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นจากโรคเบาหวาน ได้แก่ สภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเฉียบพลัน (hyperglycemia) ปัสสาวะมากผิดปกติ (polyuria) เกิดการสูญเสียน้ำส่งผลให้มีความกระหายน้ำเพิ่มมากขึ้น น้ำหนักตัวลด สายตาพร่ามัว ร่างกายอ่อนเพลีย และจนบางครั้งเกิดสภาวะช็อกจากการที่น้ำตาลในเลือดสูง (hyperosmotic non-ketonic coma) ในรายที่ขาดอินซูลินอย่างรุนแรง หรือเกิดสภาวะความเครียด อาจจะส่งผลให้เกิดภาวะเลือดเป็นแอซิดคีโตซีส หรือ ketoacidosis ได้ ซึ่งถ้าผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาอย่างเพียงพออาจจะทำให้ติดเชื้อได้ง่ายและแผลที่เป็นจะยากในการรักษาให้หายเป็นปกติ ซึ่งภาวะแทรกซ้อนในระยะยาวจะรวมถึงโรคที่เกิดจากเส้นเลือดขนาดเล็กมีความผิดปกติ (microvascular abnormalities) จึงทำให้เกิดโรคจอประสาทตา (retinopathy) และโรคไต (nephropathy) นำไปสู่โรคปลายประสาทอักเสบ (peripheral neuropathy) ในกรณีเส้นประสาทถูกกดทับทำให้เกิดโรคต้อกระจก (cataract) รวมถึงเส้นเลือดใหญ่เกิดความผิดปกติ (macrovascular disease) ซึ่งจะทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (premature coronary artery disease) โรคหลอดเลือดในสมอง (cerebrovascular disease) และโรคหลอดเลือดส่วนปลายอุดตัน (peripheral cerebrovascular disease) (Horton, 1995) โรคเบาหวานถูกแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes) เกิดจากการถูกทำลายของเบต้า-เซลล์ของตับอ่อน (pancreatic beta-cell) ที่ถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันตัวเอง (autoimmune destruction) ทำให้ไม่สามารถหลั่งอินซูลินได้เกือบทั้งหมด ผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้จึงจำเป็นต้องได้รับการฉีดอินซูลินเพื่อชดเชยการหลั่งอินซูลินในร่างกาย แต่การได้รับอินซูลินจากการฉีดก็ไม่สามารถที่จะเลียนแบบหน้าที่ปกติของเบต้า-เซลล์ได้ ซึ่งจะช่วยปรับอัตราการหลั่งอินซูลินตามความต้องการของร่างกาย การรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 1 คือ การควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสภาวะช็อก (coma) ได้ และสภาวะน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้นทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ เช่น ตาบอดและโรคไตวายเรื้อรัง (kidney failure) และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes) จัดเป็นโรคเบาหวานที่พบมากในผู้ป่วยส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 90 ของผู้ป่วยทั้งหมด) ซึ่งมีสาเหตุจากการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน (resistance to the action of insulin) ร่วมกับภาวะบกพร่องของการหลั่งอินซูลิน (deficiency in insulin secretion) (Taylor, 1999) ซึ่งมีการใช้ยาสังเคราะห์หลายชนิดที่นำมารักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เช่น ซัลฟูนิลยูเรีย (sulfonylureas) เป็นยาที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเบต้า-เซลล์ของตับอ่อน ไบกวาไนด์ (biguanide) เป็นยาที่ปรับปรุงความไวของเนื้อเยื่อต่ออินซูลินหรือช่วยลด insulin resistance และอะคาร์โบส (acarbose) เป็นยาที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อนซึ่งจะทำหน้าที่ในการย่อยแป้ง การกินยาอะคาร์โบสพร้อมอาหารจะช่วยให้การย่อยคาร์โบไฮเดรตล่าช้าลง (Frayn, 2010) และอีกวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดน้ำตาลในเลือด คือ การป้องกันการดูดซึมของคาร์โบไฮเดรตหลังจากรับประทานอาหารซึ่งพอลิแซคคาไรด์เป็นสารอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อน จะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสไปเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ หลังจากนั้นจะถูกไฮโดรไลซ์ต่อไปเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสก่อนที่จะถูกดูดซึมใน intestinal epithelium และเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส จึงช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยจะยับยั้งเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์คาร์โบไฮเดรตจึงทำให้ชะลอการดูดซึมของกลูโคส (Ademiluyi และ Oboh, 2013) ซึ่งหากค้นหาธัญพืชและถั่วที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ และต้านเบาหวานสูงได้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

เครื่องดื่มธัญพืชและถั่ว เช่น น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ น้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมธัญพืชชนิดอื่นเป็นเครื่องดื่มที่กำลังได้รับความนิยม เนื่องจากอุดมไปด้วยวิตามิน แร่ธาตุ ไฟเบอร์ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต และยังเหมาะกับผู้ที่มีภาวะแพ้แลคโตส (lactose intolerance) ซึ่งเป็นภาวะการขาดเอนไซม์แลคเตส (lactase deficiency) ที่จะไปย่อยน้ำตาลแลคโตสในน้ำนม เมื่อน้ำตาลชนิดนี้ไม่ถูกย่อยจะผ่านลำไส้เล็กไปสู่ลำไส้ใหญ่ และถูกหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ส่งผลให้เกิดก๊าซต่างๆ เช่น ก๊าซไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และมีเทน ซึ่งน้ำตาลแลคโตสที่ไม่ถูกย่อยนี้ยังดึงน้ำเข้ามาในลำไส้ใหญ่มากขึ้น ซึ่งเกิดจากแรงดันออสโมติกเป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย (diarrhea) และอาการอื่นๆที่เกิดขึ้นรวมถึง ปวดท้อง (abdominal pain) ท้องอืด (bloating) และท้องเฟ้อ (flatulence) เป็นต้น (Lule และคณะ, 2016) นอกจากนี้ธัญพืชยังจัดเป็นสารพรีไบโอติก (prebiotic) ซึ่งจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในร่างกาย แต่จะมีกิจกรรมกับแบคทีเรียในลำไส้ที่ส่งผลดีต่อร่างกาย (Vernazza และคณะ, 2006) เช่น raffinose oligosaccharides ที่พบในเมล็ดถั่วต่างๆ soybean oligosaccharide ที่พบในถั่วเหลือง และ arabinoxylooligosaccharides ที่พบในรำข้าวสาลี เป็นต้น (Al-Sheraji และคณะ, 2013) ในปัจจุบันมีงานวิจัยด้านอาหารฟังชันนอล (functional food) ได้มีการปรับปรุงพัฒนาอาหารเสริมที่มีประสิทธิภาพต่อองค์ประกอบและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ หรือที่เรียกว่าแบคทีเรียโพรไบโอติก (probiotic bacteria) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid) ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ส่งเสริมการย่อยน้ำตาลแลคโตส และยังช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จึงมีการใช้กลยุทธ์จากทั้ง 2 ชนิดนี้ (พรีไบโอติกและโพรไบโอติก) ในการทำงานร่วมกัน (synbiotic) เพื่อให้ส่งผลดีต่อร่างกาย (Ziemer และ Gibson, 1998) จึงได้มีการนำธัญพืชมาผลิตเป็นเครื่องดื่ม เช่น เครื่องดื่มโพรไบโอติกจากข้าวโอ๊ต (Angelov และคณะ, 2006) และเครื่องดื่ม non-diary probiotic ที่ได้จากธัญพืชงอก ถั่วชนิดต่างๆรวมถึงนมถั่วเหลือง (Mridula และ Sharma, 2015) เป็นต้น ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะผลิตน้ำนมจากธัญพืชและถั่วชนิดต่างๆ เช่น น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว น้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมถั่วแดงที่เติมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เพื่อเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางพฤกษเคมีของธัญพืชและถั่ว

2) เพื่อประยุกต์ใช้ธัญพืชและถั่วในการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในโครงงานพิเศษนี้ จะทำการศึกษาคุณสมบัติด้านพฤกษเคมีต่างๆของธัญพืชและถั่วหลายชนิดที่มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อคัดเลือกธัญพืชและถั่วที่มีกิจกรรมดังกล่าวสูงมาประยุกต์ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทำให้ทราบถึงชนิดของสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว ที่มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติด้านพฤกษเคมีต่างๆของธัญพืชและถั่ว

2) สามารถนำธัญพืชและถั่ว มาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพได้

บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของธัญพืช

ธัญพืช หรือธัญชาติ หมายถึง เมล็ดพืชที่มีขนาดเล็ก เป็นผลเดี่ยว เมล็ดแห้ง และมีเปลือกเชื่อมติดกับเยื่อหุ้มผล จัดอยู่ในพืชตระกูลหญ้า เรียกว่า Grain หรือเรียกตามทางพฤกษศาสตร์ว่า Caryopsis ตัวอย่างธัญพืชที่สำคัญ และนิยมนำมาบริโภคมาก เช่น ข้าว ข้าวไรซ์ และข้าวโพด เป็นต้น (อนุชิตา, 2555)

ธัญพืชเป็นอาหารหลักของประชากรทั่วโลก ซึ่งให้พลังงานมากกว่าร้อยละ 50 ของพลังงานจากอาหารทั้งหมดที่ได้รับมาจากธัญพืช มีหลากหลายชนิด หลายสายพันธุ์ ปลูกง่าย และส่วนของเมล็ดสามารถเก็บรักษาได้นานเป็นปี จึงเป็นที่นิยมของคนทั่วโลก ซึ่งธัญพืชแต่ละชนิดก็จะขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศและสภาพภูมิประเทศที่ธัญพืชสามารถเจริญเติบโตได้ เช่น ประชากรในทวีปเอเชียส่วนใหญ่นิยมปลูกข้าว แล้วนำเมล็ดข้าวมาขัดสี จากนั้นก็นำไปหุงต้มเป็นอาหารหลัก ส่วนประชาชนที่อยู่ในแถบทวีปยุโรป อเมริกาเหนือ แคนาดา หรือออสเตรเลีย จะนิยมปลูกข้าวสาลีแล้วนำมาบดเป็นแป้ง เพื่อใช้ทำเป็นขนมปัง และใช้บริโภคเป็นอาหารหลัก เป็นต้น (อนุชิตา, 2555)

2.1.1 แอนติออกซิแดนท์ในธัญพืช

สารแอนติออกซิแดนท์ของธัญพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ซึ่งแอนติออกซิแดนท์ที่พบในธัญพืชเป็นไฟโตเคมิคอล (phytochemical) หรือสารพฤกษเคมี ซึ่งหมายถึงสารเคมีที่ผลิตโดยพืชเมื่อบริโภคเป็นประจำจะส่งผลดีแก่ผู้บริโภค นักวิทยาศาสตร์พบว่าสารพฤกษเคมีมีประโยชน์ต่อร่างกายด้วยกลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ เช่น สามารถทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระและต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จึงสามารถลดความเสียหายที่เกิดขึ้นกับสารชีวโมเลกุลได้

ปัจจุบันพบว่าการบริโภคอาหารธัญพืชโดยเฉพาะอาหารที่เป็นธัญพืชทั้งเมล็ด หรือผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตจากธัญพืชทั้งเมล็ด สามารถลดความเสี่ยงในการเกิดเรื้อรังได้หลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคหัวใจ ซึ่งส่งผลต่อองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ และไฟเบอร์ทั้งชนิดละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ (อนุชิตา, 2555)

2.2 ชนิดของธัญพืชและถั่วต่างๆ

2.2.1 พืชตระกูลถั่ว

Kingdom Plant Kingdom

Division Spermatophyta

Sub-division Angiospermae

Class Dicotyledonae

Older Polypetalae

Famly Leguminosae

พืชตระกูลถั่วจัดเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ (Dicotyledonous plants) ซึ่งประกอบด้วยถั่วชนิดต่างๆ มากกว่าหมื่นชนิด แต่มีเพียง 200 ชนิด ที่มนุษย์นิยมปลูกโดยมีทั้งประเภทอายุปีเดียว และหลายปี โดยมีลักษณะเป็นพุ่มเนื้ออ่อน หรือเป็นเถาเลื้อย มีถิ่นกำเนิดมาจากบริเวณเขตร้อนของอเมริกาใต้ ถั่วชนิดต่างๆที่คนนิยมรับประทาน ตัวอย่างเช่น

2.2.1.1 ถั่วลิสง (Peanut)

ถั่วลิสงจัดเป็นพืชล้มลุกในตระกูลถั่ว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Arachis hypogaea* L. และมีชื่อสามัญ คือ ground nut หรือ peanut หรือ ถั่วดิน หรือถั่วใต้ดินตามแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกันไป และยังมีลักษณะเด่นที่แตกต่างจากพืชตระกูลเดียวกันคือ ออกดอกเหนือดินแต่มีฝักอยู่บริเวณใต้ดิน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2526)

ก. ลักษณะทั่วไปของถั่วลิสง

1. รากของต้นถั่วลิสงมีระบบรากแก้ว (tap root system) บางพันธุ์อาจมีรากขนอ่อนอยู่ด้วยในบริเวณรากแก้วจะมีรากแขนง และมีปมที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น ไรโซเบียม อาศัยอยู่กับถั่วลิสงแบบพึ่งพากัน

รูปที่ 2.1 ลักษณะรากของถั่วลิสง
ที่มา: http://frynn.com

2. ลำต้น จัดเป็นพืชล้มลุกประเภทไม้เนื้ออ่อน ลำต้นกลมสีเขียว มีขนสั้นๆปกคลุมอยู่ เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 1-2 มิลลิเมตร สูงประมาณ 15-70 เซนติเมตร แบ่งการเจริญเติบโตออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

2.1 พวกลำต้นเป็นพุ่มตั้งต้น (erect type) บริเวณลำต้นจะมีการแตกกิ่งก้านมากมายในแนวตั้ง จึงมีลักษณะเป็นพุ่ม สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

- ลำต้นและกิ่งจะมีขนาดเท่ากัน เช่น พวกสะแปนิช
- ต้นตรงสูง กิ่งมักสูงกว่าลำต้น เช่น พันธุ์วาเลนเชีย มีลักษณะพุ่ม เกิดฝักที่โคนต้น

2.2 พวกลำต้นเลื้อย (runner type) ความยาวของลำต้นจะสั้น แตกกิ่งก้านในแนวนอน เช่น พวกเวอร์จิเนีย

รูปที่ 2.2 ลักษณะลำต้นของถั่วลิสง
ที่มา: http://frynn.com

3. ใบของถั่วลิสงจัดเป็นใบประกอบแบบ even-pinnate ประกอบด้วยใบย่อย 2 คู่ รูปไข่มีขอบใบเรียบ ก้านใบยาว ซึ่งมีลักษณะแหลมและยาวประมาณ 2 เซนติเมตร

รูปที่ 2.3 ลักษณะใบของถั่วลิสง
ที่มา: http://frynn.com

4. ดอกจะมีสีเหลือง อาจเกิดลักษณะแบบเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 2-5 ดอก บริเวณตามมุมใบตรงส่วนโคนของลำต้นเหนือผิวดิน หรือใต้ผิวดิน การผสมเกสรจะเกิดขึ้นก่อนที่ดอกจะบาน เมื่อได้รับการผสมแล้วรังไข่จะยืดตัวออกเป็นก้านยาว เรียกว่า เข็ม (peg) จะส่งรังไข่ที่ปลายเข็มลงไปใต้ผิวดินลึกประมาณ 3-5 เซนติเมตร แล้วจะเจริญเป็นฝักให้เห็นประมาณ 5-7 วัน ดอกถั่วลิสงมีส่วนประกอบ เช่น ก้านดอก (pedicel) ใบประดับ (bract) และริ้วประดับ (bracteole) เป็นส่วนของดอกที่อยู่นอกสุด กลีบรอง (calyx) กลีบดอก (petal) เกสรตัวผู้ (stamen) และเกสรตัวเมีย (pistil)

รูปที่ 2.4 ลักษณะดอกของถั่วลิสง
ที่มา: http://frynn.com

5. ฝักและเมล็ด ฝักอาจเกิดเดี่ยวๆ หรืออาจเกิดเป็นกลุ่ม เมื่อแก่จะเปราะและแข็ง ฝักจะมีสีขาวนวลหรือน้ำตาลอ่อน ใน 1 ฝักจะมีเมล็ด 1-4 เมล็ด บริเวณเมล็ดจะมีเปลือกสีม่วงแดงและขาวนวล โดยสีขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2526)

รูปที่ 2.5 ลักษณะเมล็ดของถั่วลิสง
ที่มา: http://frynn.com

ข. การจำแนกชนิดของถั่วลิสง

สามารถจำแนกออกได้ตามรูปร่างลักษณะทางพฤกษศาสตร์ โดยอาศัยตำแหน่งที่เกิดของช่อดอกเป็นเกณฑ์ แบ่งได้ 3 แบบ คือ

1. แบบเวอร์จิเนีย (Verginia type) ลักษณะลำต้นเป็นพุ่มทอดเลื้อยไปตามผิวดิน ใบมีสีเขียวเข้ม เมล็ดและฝักมีขนาดใหญ่ ใน 1 ฝักมี 2-3 เมล็ด มีน้ำมันประมาณร้อยละ 38-47 โดยน้ำหนัก

2. แบบสแปนิช (Spanish type) มีลักษณะลำต้นตรง มีกิ่งก้านมากมาย ใบมีสีเขียวจาง ฝักและเมล็ดมีขนาดป้อม เมล็ดมีน้ำมันประมาณร้อยละ 47-50

3. แบบวาเลนเซีย (Valencia type) ลักษณะลำต้นเป็นพุ่ม กิ่งมีขนาดใหญ่ ใบมีขนาดใหญ่มีสีเขียวเข้ม ฝักมีขนาดใหญ่ มีเมล็ดประมาณ 3 เมล็ด มีทั้งแบบป้อมและยาวรี มีน้ำมันปริมาณร้อยละ 47-50 (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2526)

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วลิสง

ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วลิสง	ปริมาณ (ร้อยละ)
ความชื้น	8.0
โปรตีน	38.0
ไขมัน	18.0
แร่ธาตุ	4.7
คาร์โบไฮเดรต	31.3

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1660/peanut

2.2.1.2 ถั่วแดง (Red Bean)

ถั่วแดงมีถิ่นกำเนิดจากบริเวณเทือกเขาหิมาลัย ประเทศจีนตอนกลางจนถึงแถบมาเลเซีย นอกจากนี้ยังทนต่ออุณหภูมิสูง และทนต่อสภาพที่แห้งแล้งปานกลางได้ ใช้ปลูกเป็นพืชฤดูเดียว นอกจากนี้ไม่จัดเป็นพืชเศรษฐกิจ แต่มีการปลูกเพื่อการค้าหลายชนิดที่นิยมคือ ถั่วแดงที่มีเมล็ดสีแดง ดอกสีเหลือง มีฝักขนาดเล็กเมื่อแก่จะมีสีน้ำตาลอ่อนและสีดำ มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละท้องที่ เช่น ถั่วแดงหลวง ถั่วนา ถั่วเล็บมือนาง เป็นต้น มีชื่อสามัญ คือ Kidney bean หรือ Red Kidney bean ถั่วแดงก็จัดว่าเป็นถั่วที่ให้โปรตีนสูง มีเส้นใยอาหารสูงมากเป็นเส้นใยที่สามารถละลายน้ำได้ จึงช่วยดูดซับน้ำและพองตัวได้ดี ส่งผลทำให้การย่อยและการดูดซึมสารอาหารช้าลง นอกจากนี้ยังช่วยทำความสะอาดลำไส้จึงช่วยให้การสะสมของสารพิษในลำไส้ลดลงอีกด้วย ในประเทศไทยจะเจริญได้ดีในแถบภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือในแถบที่สูงและที่ราบ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2526)

ก. ลักษณะทั่วไปของถั่วแดง

1. ใบ (Leaves) ใบของถั่วแดงเป็นใบรวม หนึ่งกิ่งมีใบย่อย 3 ใบ ก้านใบยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร

รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะลำต้นของถั่วแดง
ที่มา: http://frynn.com/%E0

2. ลำต้น (Stem) ลำต้นมีขนสีขาว มีลักษณะเป็นร่อง สามารถเลื้อยหรือพันกับต้นไม้อื่นได้ มีความสูงประมาณ 33 เซนติเมตร

รูปที่ 2.7 ลักษณะใบของถั่วแดง
ที่มา: http://frynn.com/%E0

3. ดอกและช่อดอก (Flower & Inflorescence) ดอกช่อ ออกที่ซอกใบ และปลายกิ่ง กลีบดอกสีขาวปนม่วงดอกของถั่วแดงเป็นดอกช่อแบบ Raceme ซึ่งแต่ละช่อมีประมาณ 5-10 ดอก ดอกมีสีเหลือง มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร

รูปที่ 2.8 ลักษณะดอกของถั่วแดง
ที่มา: http://frynn.com/%E0

4. ฝักและเมล็ด (Pod & Seed) ฝักอ่อนจะมีสีเขียวคล้ายกับฝักถั่วเขียว ฝักแก่มีสีน้ำตาลและสีดำ ฝักจะยาวประมาณ 6-12 เซนติเมตร แต่ละฝักจะมีประมาณ 8-12 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลมรี มีความยาวประมาณ 8 มิลลิเมตร

รูปที่ 2.9 ฝักและเมล็ดของถั่วแดง
ที่มา: http://frynn.com/%E0

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางอาหารของถั่วแดง

ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วแดง	ปริมาณ (ร้อยละ)
โปรตีน	21.7
ไขมัน	0.6
คาร์โบไฮเดรต	58.1
เยื่อใย	5.2
น้ำ	10.5

ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร (2526)

2.2.1.3 ถั่วเหลือง (Soybean)

ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลกมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merrill อยู่ในวงศ์ Legumeminosae ซึ่งจัดเป็นพืชล้มลุกทรงต้นเป็นพุ่ม มีความสูงระหว่าง 50 เซนติเมตรถึงสองเมตร บางพันธุ์ก็เลื้อยเป็นเถา เป็นธัญพืชที่สามารถปลูกได้ทุกพื้นที่โดยเฉพาะในเขตอบอุ่น เขตร้อน โดยถั่วเหลืองประมาณร้อยละ 70 จะพบการผลิตมากที่ประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศในสมาคมอาเซียนที่พบการปลูกถั่วเหลืองโดยระบบการปลูกพืชหมุนเวียนในปริมาณมาก เช่น ประเทศอินโดนีเซีย ไทย ฟิลิปปินส์ จีน และญี่ปุ่นอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีการนำมาแปรรูปเป็นน้ำมันพืชที่ใช้ในการบริโภคและเป็นอาหารสัตว์ ถั่วเหลืองจัดเป็นพืชที่ไม่จำเป็นต้องใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการเจริญเติบโต เนื่องจากมีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีโดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน

ก. โครงสร้างของเมล็ด

โครงสร้างของเมล็ดส่วนมากจะมีลักษณะที่คล้ายๆกัน มีเพียงสีที่ทำให้แตกต่างกัน ซึ่งมีโครงสร้างหลักๆ 2 ส่วน คือ เปลือกและส่วนของใบเลี้ยง โดยโปรตีนส่วนใหญ่จะพบในบริเวณ

ส่วนของใบเลี้ยง ส่วนเมล็ดของถั่วเหลืองจะประกอบด้วยเปลือกของเมล็ด ใบเลี้ยง ไฮโพโคทิล และยอดของต้นอ่อนขณะอยู่ในเมล็ด (อภิพรรณ, 2546)

ข. ลักษณะทั่วไปของถั่วเหลือง

1. ราก ถั่วเหลืองมีระบบรากแก้ว ซึ่งแตกแยกกิ่งก้านออกไปได้มาก รากแก้วจะมีความยาวลึกลงไปถึง 150 เซนติเมตร จะมีรากแขนงออกมาจากรากแก้วยาว 60 เซนติเมตร ตามแนวขนานไปกับผิวดิน รากจะหยุดการเจริญเติบโตในช่วงการเจริญพันธุ์ นอกจากนี้ยังมีรากขนอ่อนที่เกิดจากการพัฒนาของเซลล์ epidermis ซึ่งเกิดขึ้นที่ปลายสุดของรากแก้ว และรากแขนง รากอ่อนจะมีบทบาทในการดูดซับธาตุอาหาร และน้ำ

2. ลำต้น มีการแตกกิ่งจำนวน 3-8 กิ่ง มีขนสีขาว น้ำตาล หรือเทาคลุมอยู่

3. ใบ จะเกิดสลับกัน เป็นใบรวม ประกอบด้วย ใบย่อย 3 ใบ มีรูปร่างกลมรี

4. ดอกมีขนาดเล็กสีขาวหรือม่วง จำนวน 3-15 ดอกต่อหนึ่งช่อ ดอกสมบูรณ์เพศมีอับเกสรตัวผู้และรังไข่อยู่ในดอกเดียวกัน การผสม เกสรเกิดขึ้นก่อนดอกบานช่อดอกเกิดจากมุมใบ

5. ฝักและเมล็ด พัฒนามาจากรังไข่ โดยรังไข่จะมีการเจริญเติบโตไปเป็นฝักรูปยาวและโค้ง ภายในมีเมล็ด 2-3 เมล็ด เรียงตัวอยู่ตามแนวนอน เปลือกหุ้มเมล็ด มีทั้งสีเหลือง เขียว น้ำตาล และดำ มีขนาดของเมล็ดแตกต่างกันตามพันธุ์ ฤดูกาลปลูก ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และปริมาณน้ำที่ได้รับ โดยทั่วไปมีขนาดเมล็ด 100 เมล็ดมีน้ำหนัก 5-20 กรัม (อภิพรรณ, 2546)

รูปที่ 2.10 ลักษณะฝักของถั่วเหลือง

ที่มา: http://www.oknation.net/blog/horti-asia/2013/03/08/entry-1

ค. ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

1. คาร์โบไฮเดรต จะพบอยู่ในรูปของน้ำตาล ใยอาหารและคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ เช่น pectin arabinogalactans และ oxyloglucans ซึ่งน้ำตาลชนิดต่างๆที่พบในถั่วเหลือง โดยโครงสร้างส่วนใหญ่ของถั่วเหลืองจะประกอบด้วยโปรตีนประมาณร้อยละ 35-44 บางชนิดมีมากกว่าร้อยละ 50 ซึ่งแบ่งออกเป็นส่วนของโปรตีนและน้ำมัน ซึ่งยังพบกรดอะมิโนต่างๆ พบว่าไลซีนจากโปรตีนถั่วเหลืองช่วยเสริมสร้างสารอาหารในธัญพืช เมทไธโอนีน เป็นกรดอะมิโนที่มีปริมาณจำกัด และคิสทีน ก็พบในปริมาณเช่นกัน

2. ไขมัน ปริมาณไขมันทั้งหมดที่พบในถั่วเหลืองมีประมาณร้อยละ 18-23 ในเมล็ดจะประกอบด้วยนิวทัลลิปิดประมาณร้อยละ 88.10 ฟอสโฟไลปิดประมาณร้อยละ 9.8 และไกลโคลิปิดประมาณร้อยละ 1.6 โดยนิวทัลลิปิด เช่น ไตรกลีเซอไรด์ จะประกอบด้วยกรดไขมันอิสระ สเตอรอล

และสเตอรอล เอสเทอร์ ในอัตราส่วนต่างๆ โดยส่วนประกอบที่สำคัญของนิวทัลลิปิด คือ ฟอสโฟลิปิด และไกลโคลิปิด คือ กรดอะมิโนพวก ปาลเมติก โอเลอิค ลิโนเลอิค และลิโนเลนิค

3. วิตามิน ถั่วเหลืองเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยวิตามินที่สามารถละลายน้ำได้ เมื่อรับประทานถั่วเหลืองเข้าไปจะได้สารอาหารประเภทวิตามินที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

4. แร่ธาตุ ปริมาณแร่ธาตุที่ได้จากเมล็ดถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ซึ่งมีปริมาณแคลเซียมที่พบในถั่วเหลืองในอัตรา 160-470 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จัดว่าอยู่ในปริมาณต่ำ จากการรายงานของ Schroeder และคณะ พบว่ามีแคลเซียมเพียงร้อยละ 10 เท่านั้นที่มนุษย์จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และยังพบอีกว่าปริมาณกรดไฟทิกในถั่วเหลือง มีความสัมพันธ์ปริมาณแคลเซียม ซึ่งถ้ามีปริมาณน้อยเกินไปอาจทำให้เกิดโรคกระดูกอ่อนได้ การใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุต่างๆ จากถั่วเหลืองจะเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีน กรดไฟทิก และพอลีฟีนอล (Kadam และ Chavan, 1998)

2.2.1.4 ถั่วเขียว (Mung Bean)

ถั่วเขียวจัดเป็นพืชไร่ที่มีการนำส่วนของเมล็ดมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น การนำมาประกอบอาหารหรือของหวาน การแปรรูปเป็นวุ้นเส้น การเพาะเป็นถั่วงอก การนำไปผสมอาหารสัตว์ เป็นต้น

ก. ลักษณะทั่วไปของถั่วเขียว

1. รากของถั่วเขียวเป็นระบบรากแก้ว เหมือนกับถั่วเหลือง และมีรากแขนง (lateral root) เจริญแตกออกมาจากรากแก้ว รากของถั่วเขียวมักอยู่ลึก และมีรากแขนงค่อนข้างเยอะทำให้ถั่วเขียวเติบโตได้เร็ว ดินที่มีความชื้น บริเวณรากมักจะพบปมของเชื้อแบคทีเรียไรโซเบียมทำหน้าที่ช่วยตรึงไนโตรเจน

2. ลำต้นของถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุก มีลักษณะลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านเป็นพุ่ม ความสูงทรงพุ่มประมาณ 30-150 เซนติเมตร ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุ์ ลำต้นเป็นเหลี่ยม มีขนอ่อนปกคลุม ทั้งนี้ถั่วเขียวบางสายพันธุ์อาจมีลักษณะลำต้นเลื้อย

รูปที่ 2.11 ลักษณะลำต้นของถั่วเขียว
ที่มา: http://puechkaset.com/

3. ใบเลี้ยง (Cotyledon) เป็นใบแรกหลังการงอก ส่วนใบจริงคู่แรกที่มี 2 ใบ เป็นใบที่เกิดจากใบเลี้ยง เกิดสลับบนต้น ซึ่งภายในหนึ่งใบจะประกอบด้วยใบย่อย (Leaflet) จำนวน 3 ใบ แต่บางพันธุ์อาจมี 4-7 ใบ ก้านใบ (Petiole) บริเวณฐานมีหูใบ (Stipule) 2 อัน รูปร่างของใบแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ ใบแคบหรือใบเรียวยาว (lanceolate) ใบค่อนข้างแคบ (triangular) และใบกว้าง (ovate) ตรงโคนก้านใบทุกชนิดจะมีข้ออ่อน

4. ดอกจะมีลักษณะเป็นช่อ (Inflorescence) เกิดที่บริเวณมุมใบด้านบนบริเวณปลายยอด และกิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ดอกเกิดเป็นกลุ่ม จำนวนดอกประมาณ 10-15 ดอก สีดอกมีหลายสี เช่น สีเหลือง สีขาว และสีม่วง ดอกที่บานเต็มที่จะมีขนาดประมาณ 3-8 มิลลิเมตร ดอกถั่วเหลืองจัดเป็นประเภทดอกสมบูรณ์ ถึงแม้จะมีการออกดอกมากมายแต่การติดฝักนั้นมีไม่มาก ส่วนประกอบของดอกมี ก้านช่อดอก กลีบเลี้ยง กลีบรอง กลีบดอก เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมีย

รูปที่ 2.12 ลักษณะดอกของถั่วเขียว
ที่มา: http://www.samunpri.com

5. ฝัก และเมล็ด ฝักถั่วเขียวจะมีลักษณะกลมยาว สีเขียว ปลายโค้งงอเล็กน้อย เมื่อแก่จะมีสีน้ำตาลจนถึงสีดำตามอายุขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ภายในหนึ่งฝักจะมีเมล็ดประมาณ 10-15 เมล็ด ในเมล็ดถั่วเหลืองประกอบไปด้วย โปรตีนร้อยละ 35 - 50 น้ำมันร้อยละ 12 - 20 (มีส่วนประกอบของน้ำมันชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ 85) เป็นน้ำมันคุณภาพดีสามารถละลายสารคอเลสเตอรอลที่เกาะผนังเส้นเลือดได้ และยังมีวิตามินบี ซี อีรวมอยู่ด้วย (อภิพรรณ, 2546)

รูปที่ 2.13 ลักษณะของฝักและเมล็ดถั่วเขียว
ที่มา: http://www.samunpri.com

ข. ชนิดของถั่วเขียวในประเทศไทย

1. ชนิดของถั่วเขียวในประเทศไทย แบ่งตามลักษณะเปลือกเป็น 4 ชนิด คือ ถั่วเขียวเมล็ดมัน จัดเป็นถั่วเขียวที่มีลักษณะเมล็ดสีเขียวมีความมันวาว เมื่อแก่ฝักจะมี 2 สีตามสายพันธุ์ คือ พันธุ์อู่ทอง ฝักมีสีดำ และพันธุ์พื้นเมืองฝักขาว ฝักมีสีขาวนวล

2. ถั่วเขียวธรรมดาหรือถั่วเขียวเมล็ดด้าน เป็นถั่วเขียวที่มีสีเขียว และลักษณะของเมล็ดจะมีผิวด้าน

3. ถั่วเขียวสีทอง มีลักษณะคล้ายกับถั่วเขียวผิวมัน และถั่วเขียวธรรมดา แต่เมล็ดมีสีเขียวอมเหลือง มีทั้งลักษณะเมล็ดด้าน และเมล็ดมัน

4. ถั่วเขียวผิวดำ เป็นถั่วเขียวที่มีลักษณะเมล็ดคล้ายกับถั่วเขียวธรรมดา แต่ต่างจาก

ถั่วเขียวธรรมดา คือ ลำต้นมีทรงพุ่มใหญ่ และแตกกิ่งก้านมากกว่า บางพันธุ์อาจมีลักษณะยอดเลื้อยพันกันใบหนา ลำต้นมีขนปกคลุม ลักษณะก้านใบ และฝักหนากว่า ดอกออกสีเขียวอมเหลือง ฝักป้อมสั้นกว่า เมล็ดมีสีดำมีขนาดปานกลาง (อภิพรรณ, 2546)

2.2.1.5 ถั่วดำ (Black Gram)

ถั่วดำจัดอยู่ในวงศ์ RHIZOPHORACEAE มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Bruguiera parviflora* ชื่ออื่น เช่น ถั่วทะเล และรังกะแท้ จัดเป็นไม้ยืนต้น

ก. ลักษณะทั่วไปของถั่วดำ

1. ลำต้นจัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีความสูง 10-20 เมตร พูพอนน้อยแต่บริเวณโคน ผิวเปลือกบริเวณโคนต้นมีจุดสีขาวแต้ม สีเขียวอมเหลือง รากยาว 15-20 เซนติเมตร เหนือผิวดิน เปลือกสีเทาหรือสีน้ำตาลเข้ม เรียบถึงแตกเป็นเกล็ด มีช่องอากาศเล็กๆ
2. ใบมีลักษณะเป็นกระจุกที่ปลายกิ่งเรียงตรงข้ามสลับทิศทางแผ่นใบรูปรีปลายใบแหลม ฐานใบรูปลิ่ม แผ่นใบสีเหลืองอมเขียว เส้นใบบางมี 7 คู่ หูใบยาว 3-6 เซนติเมตร
3. ดอกจะออกเป็นช่อกระจุกที่ง่ามใบ ช่อละ 3-7 ดอก ก้านช่อดอกยาว 1.8-2.2 เซนติเมตร สีเหลืองอมเขียว ก้านดอกย่อยยาว 0.6-1.5 เซนติเมตร วงกลีบเลี้ยงเป็นหลอดยาว มีสีเหลืองอมเขียว มีสัน ปลายแยกเป็นแฉกมีแฉก 8 กลีบ รูปขอบขนาน ยาว 0.1-0.2 เซนติเมตร ขอบกลีบมีขน ปลายกลีบมีขนแข็ง 3 เส้น
4. เมล็ดมีลักษณะเป็นแบบงอกตั้งแต่ยังติดอยู่บนต้น รูปทรงกระบอก ยาว 1.3-2.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงหุ้มผลตรงลำต้นใต้ใบเลี้ยงหรือฝัก เมล็ดอ่อนมีสีเขียว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเขียวเมื่อแก่ ออกดอกและผลเกือบตลอดปี การเจริญเติบโตขึ้นในป่าชายเลนที่น้ำท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ (อภิพรรณ, 2546)

2.2.2 ข้าว (Rice)

ข้าวจัดเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญสำหรับประชากรไทย และคนต่างชาติทั่วโลกรวมถึงสัตว์อีกมากมาย เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารหลักเพื่อการดำรงชีวิตที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าอย่างครบถ้วน ที่มีประโยชน์ และมีความจำเป็นต่อมนุษย์ จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการส่งออกในอันดับต้นๆ เช่น ข้าวขาว (ร้อยละ 63.34) ข้าวนึ่ง (ร้อยละ 14.30) ข้าวหอมมะลิ (ร้อยละ 10.79) ปลายข้าว (ร้อยละ 9.00) ข้าวเหนียว (ร้อยละ 1.61) ข้าวกล้อง (ร้อยละ 0.94) และข้าวอื่นๆ (ร้อยละ 0.03) เพราะมีคุณสมบัติที่หลากหลายทางด้านคุณค่าทางอาหารนั่นเอง โดยในกระบวนการผลิตข้าวทั่วไปจะได้ข้าวสาร รำ และแกลบ ข้าวสารที่ได้นอกจากจะใช้เพื่อการบริโภคโดยตรงแล้วยังสามารทำเป็นแป้งใช้ในการแปลงรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆได้ รำสามารถนำไปทำน้ำมันรำข้าว และเป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ ส่วนแกลบนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในการผลิตกระแสไฟฟ้า ซึ่งจะได้ขี้เถ้าเป็นผลพลอยได้ จะเห็นว่าข้าวที่ส่งออกเกือบทั้งหมดจะอยู่ในรูปของข้าวสาร ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มต่ำสุดในห่วงโซ่มูลค่า ข้าวมักจะมีปลูกมากในแถบเอเชีย เนื่องจากประชากรส่วนใหญ่ที่บริโภคข้าวอยู่ในแถบเอเชีย มีการบริโภคประมาณร้อยละ 90 ประชากรไทยส่วนใหญ่จะบริโภคข้าวเฉลี่ยประมาณคนละ 130 กิโลกรัมต่อปี ในปัจจุบันนั้นมีการปลูกทั้งแบบนาปีและนาปรัง ข้าวจัดเป็นพืชในตระกูลหญ้า (Family Gramineae หรือ Poaceae) สกุลออไรซ่า (Genus Oryza) โดยมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนชื้น แต่จะเจริญได้ดีในเขตร้อนและอบอุ่น และยังขึ้นได้ดีตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับที่สูงประมาณ 2,500 เมตร โดยที่ข้าวนั้นมีทั้งหมด 23 ชนิด แต่เป็นข้าวที่บริโภคได้ 2 ชนิด คือ

1. ข้าวแอฟริกา (*O.glaberrima* Steud.) จะแพร่กระจายอยู่ในบริเวณพื้นที่เขตร้อนของแอฟริกาเท่านั้น

2. ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* Linn.) เป็นข้าวลูกผสม ซึ่งเกิดจาก *Oryza sativa* กับข้าวป่าซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากบริเวณประเทศอินเดีย บังคลาเทศ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ข้าวเอเชียสามารถแบ่งออกได้ 3 สายพันธุ์ คือ

- ข้าวสายพันธุ์แรกเรียกว่า สายพันธุ์เซนิกา (Senica) หรือ จาโปนิก้า (Japonica) ซึ่งข้าวมีลักษณะป้อม
- สายพันธุ์ที่สองเรียกว่า อินดิกา (Indica) ลักษณะเมล็ดยาว ปลูกในเขตร้อนแพร่สู่ตอนใต้ของอินเดีย
- ข้าวสายพันธุ์ที่สามเรียกว่า ข้าวชวา หรือ จาวานิก้า (Javanica) ปลูกในประเทศอินโดนีเซียและแพร่ไปยังฟิลิปปินส์ และญี่ปุ่น (นิลวรรณ และคณะ, 2548)

ก. การแบ่งชนิดของข้าว

1. แบ่งตามประเภทของเนื้อแข็งในเมล็ดข้าวสารสามารถแบ่งแยกได้เป็นข้าวเจ้า และข้าวเหนียว ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่เหมือนกันทุกอย่าง เว้นแต่ประเภทของเนื้อแข็งในเมล็ด เมล็ดข้าวเจ้าจะประกอบด้วย แป้งอะมิโลส ส่วนเมล็ดข้าวเหนียวจะประกอบด้วยแป้งอะมิโลเพคติน เป็นส่วนใหญ่ส่วนแป้งอะมิโลสพบเพียงเล็กน้อย

2. แบ่งตามสภาพพื้นที่เพาะปลูก ข้าวไร่ (upland rice) เป็นข้าวที่ปลูกได้ทั้งที่ราบและชันนิยมปลูกบริเวณที่ราบสูงตามไหล่เขาข้างทาง ข้าวนาสวนหรือนาดำ (lowland rice) เป็นข้าวที่ปลูกในที่ลุ่ม สภาพมีน้ำหล่อเลี้ยงข้าวตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงการเก็บเกี่ยว โดยต้องวัดและรักษาระดับน้ำได้โดยระดับน้ำจะสูงไม่เกิน 1 เมตร ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง (floating rice) เป็นข้าวที่ปลูกในแหล่งที่ไม่สามารถวัดและรักษาระดับน้ำได้ ระดับน้ำอาจสูงเกิน 1 เมตร ต้องใช้ข้าวพันธุ์พิเศษที่เรียกว่า ข้าวลอย หรือข้าวฟ่างลอย

3. แบ่งตามอายุการเก็บเกี่ยว สามารถแบ่งออกได้เป็นข้าวเบา อายุการเก็บเกี่ยวอยู่ที่ 90-100 วัน ข้าวกลาง อายุการเก็บเกี่ยวอยู่ที่ 100-120 วัน และข้าวหนัก อายุการเก็บเกี่ยวอยู่ที่ 120 วันขึ้นไป โดยอายุการเก็บเกี่ยวจะนับตั้งแต่วันที่เพาะกล้าหรือหว่านจนถึงการเก็บเกี่ยว

4. แบ่งตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง ข้าวที่มีความไวต่อช่วงแสงจะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ไม่แน่นอน เพราะจะออกดอกในช่วงเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่ากลางคืน

ข้าวพวกนี้จะเพาะปลูกในฤดูนาปี หรือฤดูฝนเท่านั้น ส่วนข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงจะปลูกได้ทุกฤดูกาลแบ่งตามรูปร่างของเมล็ดข้าวสาร : ข้าวเมล็ดสั้น (short grain) ความยาวของเล็ดไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง (medium grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 5.51-6.60 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาว (long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 6.61- 7.50 มิลลิเมตร และข้าวเมล็ดยาวมาก (extra-long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 7.51 มิลลิเมตรขึ้นไปแบ่งตามฤดูปลูก : ข้าวนาปีหรือข้าวนาน้ำฝน คือ ข้าวที่ปลูกในช่วงฤดูการทำนาปกติ ส่วนข้าวนาปรัง คือ ข้าวที่ปลูกนอกช่วงฤดูการทำนาปกติ (นิลวรรณ และคณะ, 2548)

ข้าวมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางมากขึ้น ได้มีการพัฒนาสายพันธุ์โดยการผสมแต่ละสายพันธุ์เข้าด้วยกัน ทำให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี และยังมีส่วนประกอบตามหลักโภชนาการที่ครบถ้วน เช่น ไขมัน เกลือแร่ ใยอาหาร โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูงประมาณร้อยละ 75-80 แต่ก็ยังมีคุณสมบัติอื่นๆที่มีผลต่อการส่งเสริมสุขภาพที่สูง โดยมีองค์ประกอบ

ทางพฤกษเคมีหลายชนิด ที่มีผลในการเสริมสุขภาพและต้านทานโรคได้มากมายตามความหลากหลายของชนิดและสายพันธุ์ โดยรงควัตถุที่พบจะเกิดขึ้นจากการสังเคราะห์สารประกอบทางเคมีโดยมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งจะพบอยู่ 3 กลุ่ม 1) คลอโรฟิลล์ (Chlorophylls) จะพบเป็นสีเขียว เช่น สีของใบข้าว 2) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) จะมองเห็นเป็นสีเหลือง สีส้ม จนถึงสีแดง 3) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) เห็นเป็นสีน้ำเงินม่วง น้ำเงินแดง โดยจะมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีอยู่ในกลุ่ม Flavonoids หรือ Phenolic compounds ซึ่งมีกลุ่มย่อยอีก 5 กลุ่ม คือ flavonols, -flavones, -flavanones, -flavan-3-ols และAnthocyanidins ซึ่งลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของ Anthocyanins ประกอบด้วย $C_{15}H_{10}O_2$ ที่เรียกว่า Anthocyanidin หรือ Flavan nucleus หรือ Flavalium cation ส่วนที่เราเห็นเป็นสีม่วงเรียกว่า Dephinidin เป็นโครงสร้างที่มี OH เข้าไปแทนที่ตำแหน่ง 3' และ 5' ส่วนที่มองเห็นเป็นสีม่วงดำ เรียกว่า Peonidin จะมี -OCH3 เข้าไปอยู่ที่ 3' ส่วน 5' จะเป็น H และยังพบว่ารงควัตถุในกลุ่มแอนโทไซยานิน จะเป็นโครงสร้างที่เป็นอิสระในเซลล์เนื้อเยื่อพืช และยังอยู่รวมกับน้ำตาลเชิงซ้อนหรือน้ำตาลเชิงเดี่ยว พบมากที่สุด คือ กลูโคส (นิลวรรณ และคณะ, 2548)

ข. กรดฟีนอลิกในข้าว

แป้งที่เป็นส่วนผสมของข้าวพบว่ามีปริมาณกรดฟีนอลิกประมาณ 856 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับข้าวโอตและข้าวสาลี ferulic acid เป็นกลุ่มของกรดฟีนอลิกที่พบในข้าวประมาณร้อยละ 74.2 ของปริมาณกรดฟีนอลิกทั้งหมด เป็นรูปแบบอนุพันธุ์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งกรดฟีนอลิกจะส่งผลถึงสีหรือรสชาติเล็กน้อย (Shahidi และ Naczk, 1951)

2.2.2.1 ข้าวกล้อง (Brown Rice)

ข้าวกล้องหรือข้าวซ้อมมือ เป็นข้าวที่ผ่านการตำหรือสีข้าว เพื่อร่อนผัดเอาแกลบออกหรือผ่านการขัดสีเพียงแค่ครั้งเดียว แต่ยังเหลือจมูกข้าวและและเยื่อหุ้มของเมล็ดข้าว ทำให้สีของเมล็ดข้าวออกสีคล้ำออกน้ำตาลอ่อนๆ ซึ่งจมูกข้าวและและเยื่อหุ้มของเมล็ดข้าว มีส่วนประกอบที่สำคัญที่เป็นประโยชน์แก่ร่างกาย คือ โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่และใยอาหาร ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้พบได้มากกว่าข้าวขาวที่ผ่านการขัดสีหลายครั้ง ทำให้จมูกข้าวและเยื่อหุ้มของเมล็ดข้าวหลุดออกไป (วิภาวัน, 2552)

ก. องค์ประกอบของข้าวกล้อง

1. แป้ง เป็นองค์ประกอบหลักที่พบในข้าว มีประมาณร้อยละ 90 ของน้ำหนักข้าว ซึ่งแป้งในข้าวมีทั้งชนิดอะไมโลส และอะไมโลเพคทิน สัดส่วนจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของข้าว คาร์โบไฮเดรตที่พบมาก คือ แป้ง เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และน้ำตาลอิสระ

2. สารประกอบไนโตรเจนจะพบรองลงมาจากแป้ง คือ โปรตีนและกรดอะมิโนอิสระ มีปริมาณร้อยละ 14 ซึ่งจะพบโปรตีนชนิดอัลบูมินและโคลบูลินมาก โดยเฉพาะบริเวณเยื่อหุ้มข้าว แป้งและจมูกข้าว ซึ่งข้าวกล้องจะพบไลซีนสูง

3. ไขมัน มีองค์ประกอบถึงร้อยละ 80 ซึ่งจะพบมากในส่วนของรำละเอียด รำข้าวขาว และอีกประมาณ 1 ใน 3 จะพบในจมูกข้าว โดยไขมันส่วนใหญ่ที่พบจะอยู่ในรูปกรดโอลีอิค ลีโนลีอิค และปาร์มีติค เป็นต้น

4. วิตามินส่วนใหญ่จะพบในบริเวณเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดและจมูกข้าว วิตามินที่พบโดยส่วนมาก คือ วิตามินบี 1 แก้โรคเหน็บชา วิตามินบี 2 แก้โรคปากนกกระจอกและไนอาซิน ป้องกันโรคหนังกระ เป็นต้น

5. เกลือแร่ ที่พบในข้าวกล้องส่วนใหญ่จะปนอยู่ในส่วนของรำข้าว ซึ่งพบมากมีหลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม คลอรีน ซิลิคอน โซเดียมและเหล็ก

จะเห็นได้ว่าข้าวกล้องมีสารอาหารบางชนิดมากกว่าข้าวขาว ซึ่งเมื่อพิจารณาจากคุณประโยชน์ในด้านต่างๆแล้วพบว่าควรหันมาบริโภคข้าวกล้องมากขึ้น แต่ข้าวกล้องมีข้อเสียตรงที่ข้าวกล้องไม่นุ่มเท่าข้าวขาว ทำให้เวลาเคี้ยวข้าวจึงรู้สึกข้าวแข็ง จึงทำให้คนไม่ค่อยนิยมบริโภค ดังนั้นการบริโภคข้าวกล้องที่ถูกวิธี ควรเคี้ยวข้าวนานๆ ถึงจะรู้สึกถึงรสชาติของความอร่อยได้ โดยน้ำลายในช่องปากจะย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ซึ่งการหุงข้าวกล้องจะเป็นวิธีเพิ่มคุณสมบัติของเมล็ดข้าวกล้องได้เป็นอย่างดี และที่สำคัญคือการเพาะเป็นข้าวกล้องงอกจะมีส่วนช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารมากยิ่งขึ้น (วิภาวัน, 2552)

2.2.2.2 ข้าวกล้องงอก (Germinated brown rice หรือ GABA-Rice)

ข้าวกล้องงอก เป็นการนำข้าวกล้องมาผ่านกระบวนการงอก ซึ่งเมื่อข้าวกล้องงอกจะทำให้สารอาหารหลายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะสารกาบ้ามากกว่าข้าวทั่วไป 15 เท่า ซึ่งสารกาบ้านี้มีส่วนช่วยทำให้การส่งสัญญาณในระบบประสาทดีขึ้น ถ้าหากบริโภคอย่างต่อเนื่อง จะมีส่วนช่วยในการป้องกันการเสื่อมของเซลล์ประสาท เป็นสาเหตุของโรคอัลไซเมอร์ และยังสามารถป้องกันโรคต่างๆได้ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน และช่วยในการควบคุมน้ำหนักได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังทำให้ข้าวกล้องงอกที่หุงออกมานุ่ม (พิมพ์อร, 2552)

ก. อุปกรณ์และวิธีการเพาะข้าวกล้องงอก

- ข้าวกล้องที่มีคุณภาพดีและสด
- น้ำสะอาด
- กะละมัง สำหรับแช่

ข. วิธีการเพาะข้าวกล้องงอก

1. นำเมล็ดข้าวกล้องมาแช่น้ำสะอาดให้ท่วม
2. แช่ไว้ข้ามคืนในอุณหภูมิห้อง และพยายามเปลี่ยนน้ำบ่อยๆอย่าให้เกิดฟองเด็ดขาด เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง
3. เทน้ำทิ้งและล้างทำความสะอาด ทำให้สะเด็ดน้ำ แล้วใส่ภาชนะปิดสนิท
4. หลังจากนั้นนำมาล้างน้ำอีกครั้ง ทำให้สะเด็ดน้ำ แล้วใส่ภาชนะทิ้งไว้ประมาณ 14 ชั่วโมง ในช่วงนี้ จะพบตุ่มเล็กๆงอกออกมาคล้ายถั่วงอก (พิมพ์อร, 2552)

ในกระบวนการงอก จะมีการสร้างสารที่มีประโยชน์ต่อระบบประสาท ที่สามารถช่วยป้องกันโรคเบาหวานได้ คือ สารกาบ้า (กล้า, 2552)

ค. ประโยชน์ของข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้องงอกมีสารต่างที่มีประโยชน์สำหรับผู้บริโภคอย่างมาก สารสำคัญเหล่านี้ได้แก่ สารกาบ้า ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ ลดความดันโลหิตสูง

1. สารแกมมาออรีซานอล ช่วยลดไขมันในเส้นเลือด มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ปรับระดับน้ำตาลในเลือด ปรับสมดุลความดันโลหิต และลดการเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน
2. สารอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอลิก ช่วยชะลอการเหี่ยวย่น
3. กรดไขมันไลโนเลอิก และ โอเลอิก ช่วยบำรุงระบบประสาทและสมอง
4. กรดไฟติก (Phytic Acid) ช่วยต่อต้านเซลล์มะเร็ง
5. วิตามินอี ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ซ่อมแซมเซลล์ต่างๆในร่างกาย

6. เยื่อใยอาหารมีคุณสมบัติช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันโรคมะเร็งลำไส้และลดอาการท้องผูก

7. แร่ธาตุที่มีประโยชน์ ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ซิลิเนียม และแคลเซียม (กล้า, 2552)

2.2.2.3 ข้าวหอมนิล (Black Jasmine Rice)

ข้าวหอมนิลเป็นพันธุ์ข้าวที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารครบถ้วน มีคุณค่าทางอาหารสูงมากกว่าข้าวสีชนิดอื่นถึง 7 เท่า โดยประโยชน์ที่เห็นเด่นชัดคือ มีสาร Proanthocyanidin ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดีกว่าวิตามินซีและอี อีกทั้งยังช่วยควบคุมน้ำหนักได้

ก. คุณลักษณะของข้าวหอมนิล

- เมล็ดใส เรียวยาว
- มีสีม่วงเข้ม หรือสีดำธรรมชาติ
- รสชาติหวาน
- เนื้อเหนียวนุ่ม เมื่อหุงสุกจะเป็นสีม่วงอ่อน มีกลิ่นหอม

รูปที่ 2.14 ลักษณะของข้าวหอมนิล

ที่มา: http://www.kaset-doctorthiam.com/article

ข้าวหอมนิลอุดมไปด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมากมายได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามินอี วิตามินบี แคลเซียม ธาตุเหล็ก สังกะสี น้ำมันรำข้าว สารต้านอนุมูลอิสระ ใยอาหาร แอนโทไซยานิน กรดไขมันไม่อิ่มตัว โอเมก้า 3 และฟอสฟอรัส ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีส่วนช่วยในการบำรุงสมอง บำรุงสายตา บำรุงเส้นผม และป้องกันโรคต่างๆได้มากมาย ได้แก่ โรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โรคเหน็บชา โรคโลหิตจาง โรคหัวใจอัมพาต เป็นต้น รวมทั้งช่วยการไหลเวียนของเส้นเลือดฝอย การทำงานของระบบสมองและระบบกล้ามเนื้อ รวมถึงลดไขมันอุดตันในเส้นเลือดอีกด้วย โดยในปัจจุบันนิยมนำข้าวหอมนิลไปแปรรูปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็นขนมขบเคี้ยวต่างๆ แคร็กเกอร์ คุกกี้ เครื่องดื่มข้าวหอมนิล กาแฟข้าวหอมนิล รวมถึงมีการนำไปแปรรูปทำเป็นครีมบำรุงข้าวหอมนิล ครีมแต้มสิวข้าวหอมนิล สบู่ข้าวหอมนิล แชมพูและครีมนวดผมข้าวหอมนิลกันเป็นจำนวนมากอีกด้วย (ณัฐภูมิ, 2550)

2.2.2.4 ข้าวสินเหล็ก (Sinlek Rice)

ข้าวสินเหล็ก เป็นข้าวที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีดัชนีน้ำตาลต่ำ-ปานกลาง และมีธาตุเหล็กสูง เมื่อนำมาทดลองบริโภคในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน พบว่าการบริโภคข้าวกล้องสินเหล็กช่วยแก้ปัญหาเบาหวานได้ ทำให้สภาวะดื้อต่อ insulin ลดลงและการทำงานของตับอ่อนดีขึ้น รวมทั้งทำให้ค่าเฉลี่ยของ triglyceride ลดลง นอกจากนี้ข้าวสินเหล็กยังมีธาตุเหล็กในเมล็ดสูง ข้าวพันธุ์นี้ได้ผ่านการประเมินคุณสมบัติความเป็นประโยชน์ของธาตุเหล็ก ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในมนุษย์

โดยพบว่าการส่งเสริมการบริโภคข้าวสินเหล็กในเด็กนักเรียนที่มีภาวะพร่องธาตุเหล็ก ทำให้ระดับ hemoglobin มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และมีวิตามินบี 1 ช่วยป้องกันโรคเหน็บชา คุณสมบัติทางโภชนาการในข้าวกล้องมีปริมาณอะไมโลสร้อยละ 16.5 ธาตุเหล็ก 15-21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ธาตุสังกะสี 26.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วิตามินอี 680 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม โฟเลต 20.35 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม (ณัฐภูมิ, 2550)

รูปที่ 2.15 ลักษณะของข้าวสินเหล็ก

ที่มา: http://www.greenshopcafe.com/mobi/greennewss.php?id=1214

2.2.2.5 ข้าวเหนียวลืมผัว (Leumpua)

ข้าวเหนียวลืมผัว จัดเป็นข้าวเหนียวนาปีของกลุ่มชาติพันธุ์ชาวม้ง เป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ด ข้าวกล้องสีดำไวต่อช่วงแสง จะเก็บเกี่ยวประมาณกลางเดือนตุลาคม ลักษณะทรงกอตั้งต้นแข็ง ไม่ล้มง่าย ปล้องสีเหลืองอ่อน กาบใบและใบสีเขียว ลิ้นใบจะมีสีน้ำตาลอ่อน หูใบมีสีเหลืองหรือน้ำตาล คอรวงมีลักษณะยาว รวงค่อนข้างแน่น กลีบดอกระยะออกรวงร้อยละ 50 มีสีเขียวอ่อน เมื่อข้าวระยะสุกแก่สีเปลือกเมล็ดเปลี่ยนสีฟางแถบดำ (วรวีย์, 2557)

ก. ลักษณะเด่น

- สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แอนโทไซยานินและแกมมาโอไรซานอล
- สารอาหารที่สำคัญกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น โอเมก้า3 โอเมก้า6 และโอเมก้า9
- วิตามิน เช่น วิตามิน บี1 บี2
- ธาตุอาหารอื่นๆ เช่น เหล็ก แคลเซียม และแมงกานีส (วรวีย์, 2557)

รูปที่ 2.16 ลักษณะเมล็ดของข้าวเหนียวลืมผัว

ที่มา: http://www.ricethailand.go.th/rice%20web/Rice

2.2.2.6 ข้าวแดง (Red Rice)

ข้าวแดง คือ ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวสีแดงจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ที่ผ่านกระบวนการผลิตเหมือนกันกับข้าวกล้อง ข้าวแดงจะแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ข้าวป่า และข้าวแดงที่ใช้บริโภคกัน แต่ข้าวป่าเป็นวัชพืชร้ายแรงเนื่องจากขึ้นปะปนอยู่กับข้าวขาว เวลานำมาหุงข้าวจะไม่สุกเพราะมีขนาดเล็กและแข็ง แต่ข้าวแดงที่นิยมรับประทานกันนั้นจะมีเมล็ดเรียวยาวสามารถนำมาหุงสุก

รับประทานได้และมีคุณค่าสารอาหารต่างๆมากมาย พันธุ์ข้าวแดงต่างๆที่นิยมบริโภคและจำหน่ายในแต่ละภาค ได้แก่ ข้าวมันปูของภาคกลางและข้าวสังข์หยดของภาคใต้ (พิมพ์อร, 2552)

รูปที่ 2.17 ลักษณะเมล็ดของข้าวแดง
ที่มา: http://www.kasetorganic.com

ก. สารอาหารของข้าวกล้องหอมมะลิแดง

- ธาตุเหล็ก 12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- สังกะสี 3.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- ทองแดง 4.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- วิตามินอี 336.62 ไมโครกรัมต่อกรัม
- เบต้าแคโรทีน 3.26 ไมโครกรัมต่อกรัม
- ลูทีน 9.12 ไมโครกรัมต่อกรัม (กล้า, 2552)

2.2.2.7 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Rice Berry)

ข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นพันธุ์ข้าวที่เกิดจากความร่วมมือระหว่างศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าวและคณะกรรมการกรมวิจัยแห่งชาติ ได้มีการวิจัยและปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมา โดยใช้การผสมพันธุ์ข้าวระหว่างข้าวหอมนิลและข้าวหอมมะลิ 105 ทำให้ได้ข้าวพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะเด่นคือ เมล็ดข้าวจะมีสีม่วงมีลักษณะเรียวยาวและมีผิวที่มันวาว นอกจากนี้ยังสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี มีคุณสมบัติต้านต่อโรครากไหม้และทนต่อสภาพธาตุเหล็กที่เป็นพิษ ลำต้นสูงประมาณ 105 ถึง 110 เซนติเมตร ลักษณะเป็นข้าวเจ้าสีม่วงเข้ม รูปร่างเมล็ดเรียวยาว เมล็ดข้าวเมื่อหุงแล้วจะมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวมีความนุ่มนวล (ณัฐภูมิ, 2550)

ก. สารอาหารสำคัญที่อยู่ในข้าวไรซ์เบอร์รีประกอบด้วย

- โอเมก้า 3 มีอยู่ 25.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- ธาตุสังกะสี (กินไม่ได้) 31.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- ธาตุเหล็ก 13-18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- วิตามินอี 678 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
- วิตามินบี1 0.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- เบต้าแคโรทีน 63 ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม
- ลูทีน 84 ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม

ซึ่งสารอาหารสำคัญเหล่านี้มีส่วนช่วยในการสังเคราะห์โปรตีน สร้างคอลลาเจน รักษาสิว ป้องกันผมร่วง และกระตุ้นรากผม (ณัฐภูมิ, 2550)

รูปที่ 2.18 ลักษณะของข้าวไรซ์เบอร์รี่
ที่มา: https://twitter.com/thairiceberry

นอกจากนี้ยังมีการนำข้าวไรซ์เบอร์รี่มาทำเป็นผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอก เนื่องจากมีคุณค่าและให้สารอาหารมากมายที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น

- ช่วยให้เกิดความผ่อนคลาย นอนหลับได้ดี
- ให้เกิดการ สร้างเนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อเกิดความกระชับ ป้องกันไขมัน
- ป้องกันการทำลายสมอง สาเหตุของโรคสูญเสียความทรงจำ
- มีสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าวิตามินซี ดี และ เบต้าแคโรทีน
- แอนโทไซยานิน ช่วยล้างสารที่ก่อมะเร็ง ออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดมีความอ่อนนิ่ม ช่วยลดไขมันแอลดีแอล และช่วยลดความเสี่ยงในการเป็นโรคหัวใจและอัมพาต (ณัฐภูมิ, 2550)

รูปที่ 2.19 ลักษณะของข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก
ที่มา: http://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=6438&s=tblrice

2.2.2.8 ข้าวโพด (Corn)

ข้าวโพด (*Zea mays* L.) มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา มีการแพร่กระจายไปยังทวีปแอฟริกา อินเดีย และประเทศในทวีปยุโรปที่มีอากาศอบอุ่น ข้าวโพดมีหลายชนิด เช่น ข้าวโพดหัวแข็ง ข้าวโพดแป้ง ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดข้าวเหนียว นอกจากนี้สีของเมล็ดที่แตกต่างกัน เช่น สีขาว สีเหลือง และสีม่วงแดง โดยประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นประเทศที่ปลูก และส่งออกมากที่สุด คิดเป็นร้อยละประมาณ 39 ของปริมาณข้าวโพดทั้งโลก ซึ่งข้าวโพดส่วนใหญ่ที่ได้จะเป็นอาหารของสัตว์ แต่ในปัจจุบันมีแนวโน้มบริโภคเป็นอาหารหลักมากขึ้น (พิมพ์อร, 2552)

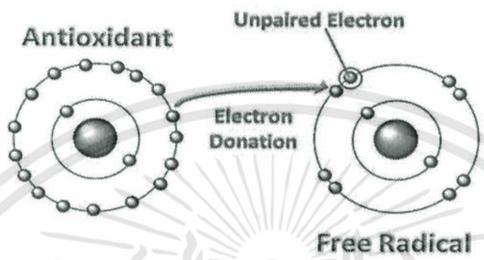
ก. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวโพด (Phenolic compound in corn)

ข้าวโพดที่มีสีขาวนวลหรือสีเหลืองจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกประมาณ 309.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งถือว่าพบมากกว่าปริมาณที่พบในข้าวขาว ข้าวสาลี และข้าวโอ๊ตถึง 3 เท่า มีทั้งรูปแบบอิสระและถูกตรึง (พิมพ์อร, 2552)

2.3 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับแอนติออกซิแดนท์และอนุมูลอิสระ

2.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

เป็นสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่กำจัดอนุมูลอิสระที่มีสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ซึ่งในกรณีที่อยู่ในร่างกายสารต้านอนุมูลอิสระจะมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระที่อยู่ในร่างกายโดยตรง โดยมีผลยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ และยังสามารถประยุกต์สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปแบบผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ยา เป็นต้น (อนุชิตา, 2555)



รูปที่ 2.20 การเข้าจับกับอนุมูลอิสระ

ที่มา: http://www.synergy-product.com/Synergy-Mistica.html

ในสิ่งมีชีวิตนั้นจะมีระบบป้องกันการถูกทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระอยู่แล้ว ซึ่งมีหลายชนิดและทำหน้าที่แตกต่างกัน เช่น บางชนิดเป็นเอนไซม์ หรือสารประกอบ จะทำหน้าที่ในการป้องกันการเกิดและการกำจัดอนุมูลอิสระ หรือบางชนิดยังทำหน้าที่ซ่อมแซมเซลล์ต่างๆ ที่ถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ โดยปกติแล้วร่างกายมนุษย์สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้เอง ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นเอนไซม์และโปรตีนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่น superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) และ glutathione (GSH) แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในร่างกายยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งในแต่ละคนก็มีปริมาณความต้องการที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากภายนอกด้วย ซึ่งส่วนหนึ่งสามารถรับได้จากอาหาร โดยเฉพาะผักและผลไม้ ซึ่งเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เช่น วิตามินต่างๆ แคโรทีนอยด์ และยังพบสารในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น flavonones, flavones, flavonols และแอนโทรไซยานิน ซึ่งสารเหล่านี้พบได้ในพืชทั่วไปในปริมาณที่แตกต่างกัน (อนุชิตา, 2555)

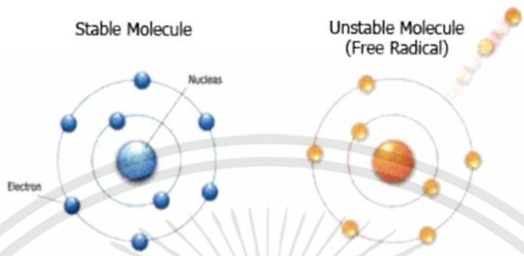
2.3.1.1 คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ

- มีความเฉพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับและกำจัดกับอนุมูลอิสระโดยตรง
- สามารถเกิดปฏิกิริยาคีเลทกับโลหะได้
- เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดซัน
- ไม่มีผลกระทบของการแสดงออกของยีนส์ (โอภา และคณะ, 2549)

2.3.2 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (outer electron) ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก ทำให้มีอิเล็กตรอนเดี่ยวคงเหลือบนอนุมูลอิสระ

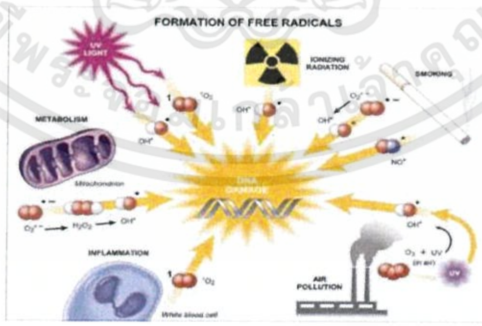
เนื่องจากมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวอยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรต่ำ และไวต่อการเกิดปฏิกิริยา จึงทำให้ไปจับกับโมเลกุลอื่นๆที่อยู่รอบๆ เช่น ไปแย่งจับให้หรือดึงอิเล็กตรอนหนึ่งตัวให้แก่อะตอมตัวอื่นๆ ทำให้โมเลกุลนั้นเกิดการสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนเพิ่ม เกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ และสารอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเรื่อยๆ ที่เรียกว่าปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ส่งผลให้เซลล์และอวัยวะต่างๆได้รับความเสียหาย และก่อให้เกิดเป็นโรคต่างๆได้ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ หัวใจวาย ไตวาย เบาหวาน และต้อกระจก เป็นต้น (อนุชิตา, 2555)



รูปที่ 2.21 การเกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจน
ที่มา: http://www.jsppharma.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=539320534

2.3.3 แหล่งที่มาของอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ มีแหล่งมาจากภายใน และภายนอกร่างกาย ซึ่งแหล่งที่มาจากภายนอก ได้แก่ มลพิษต่างๆที่อยู่ในอากาศ (ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนออกไซด์ ฝุ่น) ควันบุหรี่ อาหารบางชนิดที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณที่สูงกว่าปกติ แสงแดด คลื่นความร้อน และรังสีแกมมา เป็นต้น ส่วนแหล่งที่มาเกิดจากภายในร่างกาย เช่น เกิดจากเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ และเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งร้อยละ 98 ของออกซิเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำ และอีกร้อยละ 2 จะอยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายขึ้นอยู่กับสภาวะทางอารมณ์ (ความเครียด วิตกกังวล) และพยาธิสภาพของร่างกาย เช่น การมีไข้ และการติดเชื้อภายในร่างกาย เป็นต้น (อนุชิตา, 2555)



รูปที่ 2.22 แหล่งต่างๆของสารอนุมูลอิสระที่มาจากภายในและภายนอกร่างกาย
ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2254/free-radical

2.3.4 การต้านอนุมูลอิสระและกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย

ร่างกายมนุษย์จะมีระบบและกลไกเพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระเพื่อไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกาย ซึ่งในสภาวะปกติกลไกเหล่านี้สามารถควบคุมและรักษาปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับสมดุลที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ซึ่งสามารถแบ่งได้ 3 ประเภท ดังนี้

1. ประเภทแป้งป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระในระดับเซลล์ ได้แก่ เอนไซม์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญอันดับแรกที่สามารถควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระในร่างกาย เอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และglutathione peroxidase (GPX)

2. ประเภทสารต้านออกซิเดชันหรือที่เรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มนี้จะทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระโดยตรง คือ กำจัดสารอนุมูลอิสระออกไปและหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ ไม่ให้สามารถดำเนินต่อไปได้ เช่น กรดยูริก เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกจะเป็นตัวที่ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่หยุด เป็นต้น

3. ประเภทสารที่ทำหน้าที่เป็นคีเลทโลหะ (metal chelators) ส่วนใหญ่เป็นโปรตีน เช่น ทรานเฟอร์ริน (transferrin) เฟอร์ริติน (ferritin) และอัลบูมิน (albumin) เป็นต้น ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะจับกับโลหะที่เร่งการเกิดสารอนุมูลอิสระ โดยการดึงเอาโลหะมารวมไว้ในโครงสร้างเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้โลหะเหล่านั้นไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดสารอนุมูลอิสระได้ (อนุชิตา, 2555)

2.3.5 ภาวะเครียดออกซิเจน (Oxidative Stress)

เป็นสภาวะที่ร่างกายได้รับหรือสร้างสารอนุมูลอิสระมากเกินไป ทำให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุลที่สำคัญ เช่น สารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมันและสารโมเลกุลขนาดเล็กชนิดอื่นๆ ดังนั้นร่างกายจึงจำเป็นที่จะต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มเติมจากที่ร่างกายสร้างขึ้น และได้รับในปริมาณที่เพียงพอเพื่อช่วยกำจัดสารอนุมูลอิสระและป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเจน (อนุชิตา, 2555)

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural Antioxidants)

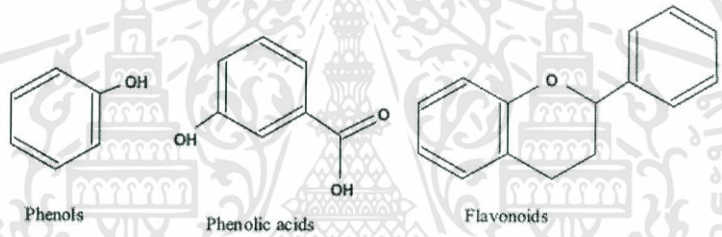
ในวงการแพทย์ยอมรับว่า พยาธิสรีรวิทยาของการเกิดโรค มีความสัมพันธ์กับการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้นการที่เราสามารถการทำลายหรือควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระได้ จะช่วยป้องกันรักษาโรคต่างๆที่เกิดขึ้นได้ การศึกษาทางระบาดวิทยายืนยันถึงการลดอัตราเสี่ยง และเพิ่มอัตราการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่นๆที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) แคโรทีนอยด์ รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ ฟีนิลโปรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันพบว่าสารในกลุ่มโพลีฟีนอลิก เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย พบมากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ชาเขียว ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ โดยโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์ และ ฟลาโวนอยด์ ส่วนโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญ เนื่องจากมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ไวรัส ต้านการอักเสบและมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด สารต้านการก่อมะเร็ง ลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูล โครงสร้างทั่วไปของสารฟีนอลิกประกอบไปด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก มีหมู่แทนที่เป็นไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ จัดว่าเป็น secondary metabolites ของพืชผัก โดยมีสมบัติทางโครงสร้างที่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร ซึ่งสารกลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแอนโทรไซนานิน (ปรีชา, 2549)

2.4.1 กรดฟีนอลิก (Phenolic acids)

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกรดฟีนอลิก และเอสเทอร์ของฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล ซึ่งมีคุณสมบัติในการดึงอิเลคตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิก ในกรดเบนโซอิก ส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของ hydroxybenzoate น้อยลงจึงพบว่าสารกลุ่ม hydroxycinnamic acids จะมีฤทธิ์ที่ดีกว่า (อนุชิตา, 2555)

2.4.1.1 โครงสร้างทางเคมีและสารประกอบฟีนอลิก

พบในธรรมชาติมีหลายรูปประเภท ทำให้มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป แต่มีโครงสร้างพื้นฐานทางเคมี คือ มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) หนึ่งวง หรือมากกว่าหนึ่งวง และมีหมู่ไฮดรอกซิล (OH) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ ซึ่งจัดเป็นอนุพันธ์ของฟีนอล เรียกรวมกันว่า สารประกอบฟีนอล หรือสารประกอบฟีนอลิก สามารถแบ่งออกได้ 5 ประเภท ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สติลบีนส์ คูมารินส์ และแทนนิน ซึ่งมีคุณสมบัติทั่วไป คือ สามารถละลายน้ำได้เล็กน้อย และสามารถละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีสารประกอบฟีนอลที่แตกต่างกันออกไป (อนุชิตา, 2555)



รูปที่ 2.23 โครงสร้างทางเคมีพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound

2.4.1.2 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิกต่อสุขภาพ

1. สารประกอบฟีนอลิก มีคุณสมบัติในการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยให้ป้องกันการเกิดเนื้องอก ที่จะพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้

2. สารฟีนอลิกช่วยลดระดับช่วยลดระดับแอลดีแอลคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ แต่ช่วยเพิ่มระดับเอชดีแอลคอเลสเตอรอล ที่ช่วยกำจัดเกร็ดเลือดที่เกาะตามผนังเส้นเลือดใหญ่ ทำให้สามารถป้องกันโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองแตกได้

3. สารฟีนอลิกจะไปยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ angiotension conveting enzyme (ACE) จากไต ทำให้สามารถลดภาวะการเกิดความดันโลหิตสูงได้

4. สารฟีนอลิกจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส ทำให้ไม่สามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ จึงช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด

5. ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ โดยสารฟีนอลิกจะต่อต้านการเกิดออกซิเดชันที่สมอง

6. ช่วยต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย

7. ช่วยลดการอักเสบต่างๆ

8. ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ในส่วนต่างๆของร่างกาย (อนุชิตา, 2555)

2.4.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

พบสารฟลาโวนอยด์ในพืชที่มีสีเขียว และทุกส่วนในพืช คือ ใบ ราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก หรือเมล็ด ส่วนในสัตว์ก็สามารถพบได้บ้าง โดยเชื่อว่าเกิดจากการบริโภคพืชเข้าไปของสัตว์มากกว่าที่จะเกิดชีวสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์ ฟลาโวนอยด์เป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอลมีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาแวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงต่อกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีวงเบนซีน 2 วง จับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ซึ่งอาจจัดเรียงเกิดเป็นวงที่ 3 ทำให้โครงสร้างหลักที่ได้เหมือนโครงสร้างของวิตามินอีที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน (chroman) หรือเบนโซไพแรน (benzopyran) (โอภา และคณะ, 2549)

2.4.2.1 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

สารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารที่สามารถทำให้ดอกหรือผลมีสีที่สวย เช่น สีเหลือง สีชมพู แดง ฟ้า หรือม่วง ซึ่งมีประโยชน์ในการใช้ล่อแมลง นก หรือผึ้งให้เข้ามาผสมเกสรเพื่อแพร่กระจายพันธุ์ ในปัจจุบันมีรายงานการศึกษามากมายยืนยันถึงเรื่องฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารฟลาโวนอยด์ ที่สามารถใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านแพ้ ต้านไวรัส เป็นต้น ซึ่งพบว่าคุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์ สำหรับกลไกในการต้านอนุมูลอิสระนั้นมีรายงานการศึกษาอย่างกว้างขวางทั้งในเรื่องของฤทธิ์ในสารละลายน้ำ และฤทธิ์ในลิพิด แต่ยังไม่มีรายงานยืนยันที่ชัดเจนสำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของฟลาโวนอยด์ที่ต่างชนิดกัน ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของสาร รวมถึงกลุ่มฟีนอลอื่นๆ ได้แก่

1. เป็นสารคีเลต (chelating agent)
2. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant)
3. ทำหน้าที่ regenerate วิตามินอี (α-tocopherol) (โอภา และคณะ, 2549)

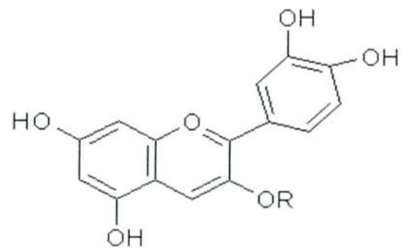
2.4.3 แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน เป็นสารให้สีธรรมชาติ (coloring agent) ที่ใช้สำหรับประกอบอาหาร สารสกัดแอนโทไซยานินมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ลดการเหี่ยวย่น ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง โดยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) ที่พบในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้โมเลกุลของแอนโทไซยานิน จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลและกลุ่มพอลิฟีนอล (โอภา และคณะ, 2549)

ตัวอย่างอาหารที่พบแอนโทไซยานิน ได้แก่

- ผลไม้และผัก เช่น องุ่น ทับทิม
- ผลไม้ในกลุ่มเบอร์รี่ เช่น สตรอเบอรี่ (strawberry) บลูเบอรี่ (blueberry) แครนเบอรี่ (cranberry) เชอรี่ (cherry) ราสเบอรี่ (raspberry) ผลหม่อน (mulberry) กะหล่ำปลีสีม่วง (red cabbage) และเรดิชสีแดง (red radish) เป็นต้น
- เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวก่ำ หรือข้าวสีนิล ข้าวโพดสีม่วง และข้าวแดง
- พืชหัว ได้แก่ มันเทศสีม่วง
- ดอกไม้ เช่น กระเจี๊ยบแดง และดอกอัญชัน เป็นต้น

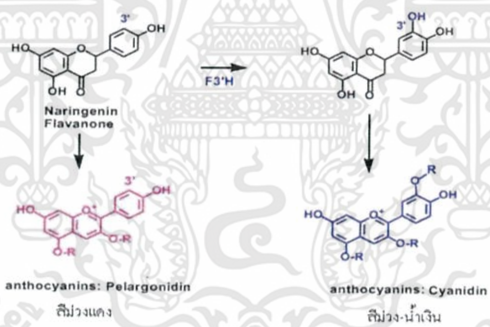
โมเลกุลของแอนโทไซยานิน จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล และกลุ่มพอลิฟีนอล (โอภา และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.24 ลักษณะโมเลกุลของแอนโทไซยานิน
ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin

2.4.3.1 สีของแอนโทไซยานิน

เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีตั้งแต่สีแดงถึงน้ำเงินเข้ม ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโทไซยานินมีสีแดงในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็นเบสสูง) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน (โอภา และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.25 ลักษณะโมเลกุลของสีของแอนโทไซยานิน
ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin

2.4.4 ตัวอย่างการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืช

มีสารสกัดจากพืชมากมายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในที่นี้จะขอยกตัวอย่างเครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบของโพลีฟีนอลิกในธรรมชาติในปริมาณค่อนข้างสูงและเป็นที่สนใจต่อผู้บริโภค คือ สารสกัดจากชาเขียวและไวน์ (โอภา และคณะ, 2549)

2.4.4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาเชียว

Catechins เป็นสารที่สำคัญของพืชตระกูลชา ซึ่งโครงสร้างหลักของสารกลุ่มนี้ คือ flavan-3-ol ซึ่งวง C จะอิ่มตัวไม่มีพันธะคู่ ทำให้อิเลคตรอนไม่สามารถเคลื่อนที่ไปมาระหว่างวงได้ ดังนั้นฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจึงขึ้นกับจำนวนหมู่ฟีนอลิกในโครงสร้าง โดยสารที่มีจำนวนของหมู่ฟีนอลิก

มากกว่าจะให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นมากกว่า นอกจากนี้สารที่เป็น catechin-gallate ester ที่เพิ่มหมู่ gallate เข้าไปที่ตำแหน่ง 3-OH ทำให้มีจำนวนหมู่ฟีนอลิกเพิ่มขึ้น จะมีฤทธิ์มากกว่า catechins และมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับเควอร์ซิทิน (quercetin) มีการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในโมเลกุลดีกว่า เนื่องจากมีโครงสร้างหลักเป็นฟลาโวนอยด์ (โอภา และคณะ, 2549)

2.4.4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในไวน์

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นที่ได้มาจากเปลือกหรือผิวสีขององุ่น และผลไม้ตระกลูเบอร์รี่ (berries) ส่วนใหญ่นั้นจะเป็นสาร cyaniding (TEAC 4.4 มิลลิโมลาร์) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นใกล้เคียงกับ quercetin (TEAC 4.7 มิลลิโมลาร์) ในไวน์แดงจะมีส่วนประกอบของสารโพลีฟีนอลค่อนข้างสูง มีรายงานศึกษาถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของไวน์แดง พบว่าสามารถต้านการเกิดออกซิเดชั่นของ LDL ได้ดีกว่าวิตามินอี ทั้งยังพบว่าสารโพลีฟีนอลิกในไวน์แดงมีสูงกว่าไวน์ขาว สามารถป้องกันโรคของระบบหลอดเลือดและหัวใจ โดยสารที่พบมากจะเป็น catechin, epicatechi และ gallic acid (โอภา และคณะ, 2549)

2.4.5 สารต้านอนุมูลอิสระที่พัฒนาจากสมุนไพร

อนุพันธ์ของฟีนอล คือ สารต้านอนุมูลอิสระจำพวกโครงสร้างฟีนอลที่สามารถให้ไฮโดรเจนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล การแทนที่ตำแหน่งออโทด้วยหมู่ที่ให้อิเล็กตรอนได้ง่าย เช่น กรดเฟอรูริกมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลเพิ่มขึ้น เมื่อวิจัยโดยการสังเคราะห์อนุพันธ์ของนาโพรเซนในรูปของเอสเทอร์และเอไมด์ พบว่ามีการเพิ่มฤทธิ์ต้านการเกิดไลปิดเพอร์ออกซิเดชั่นและมีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ ซึ่งเอไมด์จะให้ฤทธิ์ดีกว่าเอสเทอร์ จากการวิจัยโดยออกแบบสารจากสมุนไพรที่มีหมู่ฟีนอลต่างๆ ได้แก่ กรดเฟอรูริก กรดวานิลลิก กรดโฮโมวานิลลิก และกรดไซลินิก นำมาทำการสังเคราะห์ได้สารเอไมด์ ทำปฏิกิริยากับเอมีน คือ 1-diphenylmethylpiperazine เพื่อเพิ่มความสามารถของการละลายในลิพิดและผ่านเมมเบรนไปยังบริเวณที่ออกฤทธิ์ พบว่าเอไมด์ 1-4 มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดไลปิดเพอร์ออกซิเดชัน โดยมีฤทธิ์ที่ดีกว่า trolox แต่ฤทธิ์นั้นยังไม่แรงเท่าสารเคอร์คูมินที่ได้จากขมิ้น เมื่อได้นำมาทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่าสามารถลดการตายของเซลล์ NG108-15 เมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดภาวะถูกออกซิไดซ์ (oxidative stress) เซลล์รอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญ สารเฟอร์รูลิกเอไมด์ 1 จะมีฤทธิ์ที่สูงสุด เนื่องจากสามารถละลายในลิพิดได้ดีกว่าสารอื่น (logP=3.86) และมีระบบคอนจูเกตยาวกว่าสารในชุดเดียวกัน ซึ่งเริ่มจากอิเล็กตรอนคู่หมู่ไฮดรอกซีทำหน้าที่ออกฤทธิ์ส่งผ่านพันธะคู่ (π-bond) ของวงเบนซีน พันธะคู่ของ CH=CH และพันธะคู่ของ C=O ทำให้อนุมูลฟีนอกซี (phenoxy) ที่เกิดภายหลังการให้อะตอมไฮโดรเจนที่มีความคงตัวมีผลทำให้มีฤทธิ์แรง (โอภา และคณะ, 2549)

2.4.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของธัญพืชและถั่วต่างๆ

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธัญพืชมีปริมาณที่แตกต่างกัน ดังตาราง (Shahidi และ Naczk, 1995) โดยพิจารณาจากธัญพืชหลักที่ใช้ในการบริโภค ได้แก่ ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวโอ๊ต พบว่าข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด โดยส่วนใหญ่มีประมาณมากกว่าร้อยละ 80 อยู่ในรูปที่ถูกตรึง ยกเว้นเปลือกนอกของเมล็ดเท่านั้นที่อยู่ในรูปอิสระ กรดฟีนอลิกที่พบมา เช่น *p*-coumaric acid, gallic acid, vanillic acid, caffeic acid และsyringic acid แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างธัญพืชทั้งหมด พบว่าโดยทั่วไปธัญพืชที่มีแทนนินสูง และมีสีเข้มจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า เช่น ข้าวฟ่างดำ ข้าวดำ และข้าวฟ่าง (อนุชิตา, 2555)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดฟีนอลิกทั้งหมดในแป้งจากธัญพืชบางชนิด (มิลลิกรัมต่อกรัม)

กรดฟีนอลิก	ข้าวสาลี	ข้าว	ข้าวโอ๊ต	ข้าวโพด
p-hydroxybenzoic acid	Trace	5	1.4	1.3
(p-hydroxyphenyl) acetic	-	Trace	0.4	1.1
Vanillic acid	3.6	2.1	4.2	3.7
Protocatechuic acid	Trace	-	0.5	3
Syringic acid	4.2	0.2	5.3	11.5
Trans-*p*-coumaric acid	Trace	1.3	2	18.9
Cis-ferulic acid	Trace	1.9	2.6	6.5
Trans-ferulic acid	63.6	75.1	63.7	258.9
Caffeic acid	Trace	-	2.6	4.5
Trans-sinapic acid	Trace	Trace	4.3	Trace
Total	71.4	85.6	87	309.1

ที่มา: อนุชิตา, 2555

2.5 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระหรือกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) หมายถึงความสามารถของแอนติออกซิแดนท์ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของโมเลกุลต่างๆ สามารถยับยั้งหรือกำจัดการเกิดอนุมูลอิสระได้ ยุติการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งสามารถประเมินได้จากการทดลองทั้งในหลอดทดลอง ในสิ่งมีชีวิตหรือในสัตว์ทดลอง ซึ่งการทดลองแต่ละแบบก็มีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกันไป ซึ่งจะกล่าวถึงเฉพาะการประเมินจากการศึกษาในหลอดทดลองเท่านั้น เนื่องจากมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง และมีข้อมูลการศึกษาค่อนข้างมาก (อนุชิตา, 2555)

2.5.1 การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดธัญพืชเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การเตรียมสารสกัดเป็นขั้นตอนแรกของการวิเคราะห์ มีวิธีการเช่นเดียวกับการสกัดสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ชีวภาพ (bioactive compound) จากพืชอื่นๆ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยทั่วไปประกอบไปด้วยขั้นตอนหลักๆ เช่น การเตรียมตัวอย่างพืช เริ่มจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดธัญพืชที่ต้องการวิเคราะห์ จากนั้นนำมาทำความสะอาด เอาสิ่งปะปนที่ไม่ต้องการออก ทำให้แห้ง และบดเป็นผงละเอียด เก็บไว้ในภาชนะที่แห้ง สะอาด ปิดสนิทและป้องกันแสงได้ จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม นำมากรอง และระเหยตัวทำละลายออก ซึ่งจะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้โดยตรง หรืออาจนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆที่มีขั้วต่างกัน จากนั้นสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกแล้วจึงนำไปทดสอบฤทธิ์ ควรเก็บสารสกัดในที่เย็น นอกจากนี้อาจนำสารสกัดที่ได้ไปแยกด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ชนิดเดี่ยวๆ และใช้ในการวิเคราะห์ในรายละเอียดของสารนั้นๆต่อไป (อนุชิตา, 2555)

2.5.1.1 การเตรียมวัตถุดิบ (Preparation of raw materials)

ปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพในเมล็ดธัญพืชแต่ละชนิดค่อนข้างมีความแปรปรวน ซึ่งเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย เช่น สายพันธุ์ ฤดูกาลปลูก และการเก็บเกี่ยว สภาพดิน สภาพอากาศ ปริมาณน้ำ และการดูแลรักษา เป็นต้น เมล็ดธัญพืชที่นำมาใช้จะต้องมีการตรวจสอบก่อนว่าไม่มีเมล็ดธัญพืชชนิดอื่นปะปนอยู่ ไม่มีเชื้อราหรือโรคพืชที่ติดมาด้วย เนื่องจากเป็นสาเหตุให้มีสารอื่นที่ไม่ต้องการติดมาพร้อมกับสารที่ต้องการโดยทั่วไปเมล็ดธัญพืชมักจะอยู่ในสภาพแห้ง มีความชื้นค่อนข้างต่ำ กล่าวคือต่ำกว่าร้อยละ 10-13 ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นาน หากเก็บตัวอย่างมาในสภาพสดหรือความชื้นสูง จำเป็นต้องทำให้แห้งก่อนเพื่อป้องกันการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้การทำให้ธัญพืชแห้งยังช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเมล็ดพืช การทำให้แห้งสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่รวดเร็ว และใช้อุณหภูมิต่ำจะเหมาะสมกว่า เพราะอุณหภูมิสูงจะทำให้สารออกฤทธิ์สลายตัวหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ ซึ่งการทำให้แห้งสามารถใช้แสงแดด หรือความร้อนจากแหล่งต่างๆ โดยอุณหภูมิควรไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส ซึ่งระยะเวลาจะแตกต่างกันออกไปจนกว่าจะได้ตัวอย่างเมล็ดที่มีความชื้นต่ำกว่าประมาณร้อยละ 10-12 เมื่อเมล็ดพืชแห้งควรเก็บรักษาไว้ในที่แห้ง มีอุณหภูมิต่ำ และภาชนะที่ปิดสนิท เนื่องจากออกซิเจนในอากาศช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบทางเคมีและควรหลีกเลี่ยงการเก็บตัวอย่างเป็นเวลานาน เนื่องจากเมล็ดธัญพืชมีโครงสร้างที่แข็งแรงทำให้มีการแทรกซึมได้ยาก ดังนั้นจึงควรมีการบดให้ละเอียดเสียก่อนทำการสกัด เพื่อทำให้การสกัดสารมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปควรบดให้ละเอียดประมาณ 40-70 เมช (mesh) การบดเมล็ดธัญพืชให้มีขนาดเล็กจนเกินไปอาจจะเกิดผลเสียได้ เนื่องจากธัญพืชเป็นอาหารที่มีปริมาณแป้งสูง สามารถทำให้เกิดปัญหาการอุดตันเครื่องกรองในกระบวนการสกัด และทำให้ได้องค์ประกอบที่ไม่ต้องการมากขึ้น เนื่องจากเซลล์ของเมล็ดพืชแตกมากเกินไป และบางครั้งทำให้สารที่ได้มีความขุ่น (อนุชิตา, 2555)

2.5.1.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพ

ขั้นตอนการสกัดควรทำด้วยความระมัดระวัง หลีกเลี่ยงความร้อนหรือแสง เนื่องจากอาจทำให้สารออกฤทธิ์ชีวภาพเสื่อมสภาพได้ การสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชทำได้หลายวิธี ซึ่งจะได้องค์ประกอบที่เป็นของผสมหลายชนิด สารต่างๆถูกสกัดออกมาจากเมล็ดพืชโดยตัวทำละลาย มีทั้งที่ต้องการ ที่มีสารออกฤทธิ์ชีวภาพและองค์ประกอบที่ไม่มีสารออกฤทธิ์ ดังนั้นอาจนำสารสกัดหยาบนี้ไปสกัดต่อไปอีก เพื่อสกัดแยกเอาสารสำคัญออกมาให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง และเพื่อลดปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้ให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม (อนุชิตา, 2555)

2.5.1.3 ชนิดของสารสกัดหรือตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารโดยทั่วไป ได้แก่ น้ำ เมทานอล เอทานอล ปิโตรเลียมอีเธอร์ เอทิลแอซีเทต และเฮกเซน เป็นต้น ส่วนตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมสารสกัด ได้แก่ น้ำ แอลกอฮอล์ หรือสารละลายผสมของน้ำและแอลกอฮอล์ นอกจากนี้อาจเติมกรด หรือด่างในสารสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่าง ของสารสกัดให้มีความเหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนสารสกัดหรือตัวทำละลายอื่นๆ เช่น อีเทอร์ (ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) อาจมีการใช้บ้างเฉพาะกรณี

ก. น้ำ เป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่าย และราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายอาจมีข้อเสีย เช่น น้ำสามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มาก สารที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาลและแป้ง ล้วนแล้วแต่เป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการเน่าเสียที่เกิดจากจุลินทรีย์ได้ และน้ำยังสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นหากต้องการทำให้

สารสกัดในน้ำมีความเข้มข้นขึ้น จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิที่สูงในการระเหยน้ำออกไป ซึ่งอาจเกิดความเสียหายต่อสารสำคัญได้

ข. แอลกอฮอล์ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี เมื่อเทียบกับน้ำ คือมีความจำเพาะในการละลายสารมากกว่าน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และหากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้น สามารถระเหยได้ง่ายกว่า แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้ คือ เอทานอล และเมทานอล

ค. น้ำผสมแอลกอฮอล์ (hydro-alcoholic mixture) เป็นสารสกัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เช่น เมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 75 (methanol: water; 75:25) เนื่องจากเป็นสารสกัดที่สามารถละลายสารสำคัญในพืชได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้การใช้น้ำผสมแอลกอฮอล์ ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่างๆในสารสกัด เมื่อตั้งทิ้งไว้ ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัด

ง. ตัวทำละลายอินทรีย์ ตัวอย่างเช่น เฮกเซน (hexane) และปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ใช้สกัดพืชในขั้นตอนแรก เพื่อกำจัดสารพวกไขมันออกไป ก่อนที่จะทำการสกัดสารออกฤทธิ์ แต่ต้องระเหยเอาสารสกัดเหล่านี้ออกจนหมด ก่อนทำการนำไปวิเคราะห์ต่อไป ตัวทำละลายเหล่านี้ นิยมใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว เช่น ไขมัน วิตามินอี และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น ขณะที่คลอโรฟอร์ม และอีเทอร์ ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางถูกนำไปใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ที่ไม่มีขั้วไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลางได้ (อุทัย, 2543)

2.5.2 วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแบบในหลอดทดลอง

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีหลายชนิด ซึ่งทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ และทำให้เกิดโรคต่างๆตามมา อนุมูลที่สำคัญ เช่น superoxide radical, hydroxyl radical สารอัลดีไฮด์ต่างๆ ที่เกิดจากกระบวนการ lipid peroxidation เป็นต้น ดังนั้นจึงมีการคิดค้นวิธีสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง และทดสอบความสามารถของสารแอนติออกซิแดนท์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระต่างๆ ส่งผลให้เกิดวิธีการวิเคราะห์หลากหลายวิธี ซึ่งที่นิยมใช้ในการทดสอบมีดังนี้

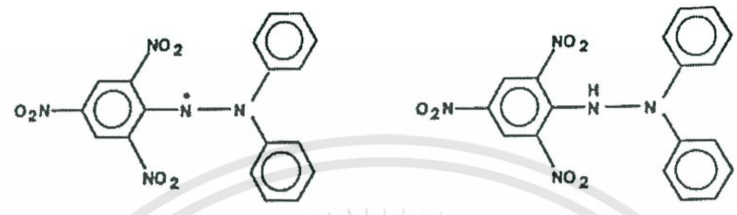
2.5.2.1 วิธี DPPH radical scavenging

DPPH เป็นชื่อย่อของสารอินทรีย์ ชื่อ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl หรือ di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl) iminoazanium หรือ 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl มีลักษณะเป็นผลึกสีเข้ม เมื่อละลายด้วยแอลกอฮอล์จะได้อนุมูล DPPH (DPPH radical; $DPPH^{\bullet}$) เป็นอนุมูลที่เสถียร การเกิดอนุมูล DPPH ไม่จำเป็น ต้องทำปฏิกิริยาเหมือนกับอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ การวิเคราะห์เป็นการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ของสารตัวอย่าง สารละลายของ $DPPH^{\bullet}$ จะมีสีม่วงในเมทานอลหรือเอทานอล มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และสารแอนติออกซิแดนท์จะให้ไฮโดนเจนอะตอมแก่ $DPPH^{\bullet}$ ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีม่วง แล้วเกิดการฟอกจางสีไปเป็นสีเหลือง ทำให้ $DPPH^{\bullet}$ หมดสภาพ ทำการวิเคราะห์วัดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น จากตัวอย่างที่ไม่มีสารแอนติออกซิแดนท์ หรือไม่มีสารสกัดจากตัวอย่าง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโมเมตร ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ หากสารที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายลดลง ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันออกมาในค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) หรือ scavenging activity (%) ตามสมการ (อนุชิตา, 2555)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{(A_{517}\ \text{control} - A_{517}\ \text{test sample}) \times 100}{(\text{Absorbance}_{517}\ \text{control})}$$

A517 control หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่มีสารสกัดตัวอย่างที่ 517 นาโมเมตร

A517 test sample หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 517 นาโนเมตร ของตัวอย่างที่มีสารสกัดตัวอย่าง (อนุชิตา, 2555)

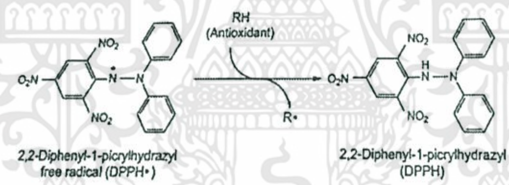


1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical) 2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

รูปที่ 2.26 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH˙ และ DPPH
ที่มา: อนุชิตา, 2555

$$\text{DPPH}^{\cdot} + \text{RH} \longrightarrow \text{DPPH-H} + \text{R}^{\cdot}$$

สีม่วง + ตัวอย่างทดสอบ สีเหลือง



รูปที่ 2.27 ปฏิกิริยาระหว่าง DPPH˙ กับสารแอนติออกซิแดนท์เพื่อสร้าง DPPH
ที่มา: อนุชิตา, 2555

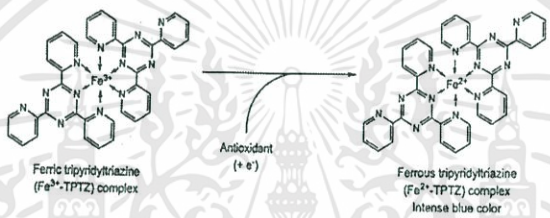
ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ทำได้ง่ายนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารแอนติออกซิแดนท์จากธรรมชาติ แต่มีข้อเสียคือ อนุมูล DPPH มีความคงตัวสูง ทำให้มีความไวต่ำ (low sensitivity) ต่อการทำปฏิกิริยา ซึ่งต่างจากอนุมูลอิสระที่เกิดในเซลล์หรือในร่างกายซึ่งมีความไวมากกว่า (อนุชิตา, 2555)

นอกจากนี้ในการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH ยังสามารถรายงานเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ร้อยละ 50 โดยทำการวัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารหลายความเข้มข้น และควรให้ครอบคลุมเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ร้อยละ 50 ก่อนนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไปเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ซึ่งจะได้สมการเพื่อใช้ในการคำนวณ IC_{50} ซึ่งสมการที่ใช้มีทั้งที่เป็นสมการเส้นตรงและลอการิทึม นอกจากนี้ยังมีวิธีการรายงานผลอีกหลายวิธี เช่น คำนวณเป็นปริมาณเทียบเท่ากับแอนติออกซิแดนท์มาตรฐาน เช่น ascorbic acid หรือ α-tocopherol หรือ Trolox จากงานวิจัยของ Sreeramulu และคณะ (2009) ที่เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลดีพีพีเอชของธัญพืชชนิดต่างๆ รายงานผลเป็น Trolox equivalent ซึ่งพบว่า

ฟิงเกอร์มิลเลตมีฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุด ส่วนข้าวโพดและข้าวฟ่างจะรองลงมาตามลำดับ (โอภา และคณะ, 2549)

2.5.2.2 Ferric Reducing Ability Power (FRAP) Assay

FRAB assay วิธีนี้เป็นการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชั่น โดยอาศัยหลักการที่สารต้านออกซิเดชั่นให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ จึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงเป็น total antioxidant capacity (TAC) เป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์ โดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอริค Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyltriazine) เป็นสารทดสอบอะตอมของเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยสารต้านออกซิเดชั่น ได้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส Fe^{3+}-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงิน มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ในการคำนวณหาค่า activity สามารถทำได้จากกราฟมาตรฐานของ L-ascorbic acid (0.2-1 มิลลิโมล/ลิตร) ซึ่งผลที่ได้แสดงค่าเป็น ascorbic acid equivalents (AAE)/มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งของพืชที่นำมาสกัด (โอภา และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.28 การเกิด (Fe^{3+}-TPTZ) complex จาก (Fe^{3+}-TPTZ) กับแอนติออกซิแดนท์
ที่มา: อนุชิตา, 2555

2.6 โรคเบาหวาน (Diabetes Melitus)

ในปัจจุบันโรคเบาหวานถือว่าเป็นโรคที่สำคัญ เป็นภาวะที่ร่างกายมีลำดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เกิดขึ้นเนื่องจากการขาดฮอร์โมนอินซูลิน มีประสิทธิภาพลดลงจากภาวะต้านอินซูลิน ทำให้ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดไปใช้ได้ตามปกติ คาร์โบไฮเดรตนั้นมีโครงสร้างที่เริ่มจากน้ำตาลเชิงเดี่ยวที่มีขนาดเล็กที่สุด เช่น กลูโคส ฟรุกโตส และน้ำตาลทรายหรือซูโครส จะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป ซูโครสจะมีส่วนประกอบของน้ำตาลเชิงเดี่ยวอยู่ 2 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส โดยมาเกาะจนสารประกอบทางเคมีมีโครงสร้างขนาดใหญ่ และยังมีความซับซ้อนมากขึ้น เช่น แป้งถูกจัดอยู่ในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ อะไมเลสและอะไมโลแพกติน โดยจะพบปริมาณอะไมโลสในแป้งชนิดต่างๆมีได้ตั้งแต่ร้อยละ 0-75 แต่โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วงร้อยละ 20-25 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) อะไมโลสจะมีลักษณะเส้นที่ยาวในหน่วยที่เล็กที่สุด คือ กลูโคสเรียงต่อกันเป็น (1-4) linkage โดยความยาวของสายโซ่จะเรียกว่า Degree of polymerization (DP) อาจมีมากถึง 600 ส่วนอะไมโลแพกตินนั้นจะเป็นสายสั้นๆต่อกันมีการแตกแขนงออกไป อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตทุกชนิดเมื่อบริโภคเข้าสู่ร่างกายแล้วจะถูกย่อยให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและเข้าสู่กระแสโลหิต แต่จะซึมได้เร็วหรือช้าจะขึ้นอยู่กับชนิดและคุณสมบัติของคาร์โบไฮเดรต เม็ดแป้งนี้จัดเป็นสารอาหารจะถูกย่อยสลายภายในร่างกาย เมื่อถูกสะสมไว้ในรูปของไกลโคเจนจะถูกนำมาใช้เป็นแหล่งสร้างพลังงานในขณะที่ร่างกายขาดพลังงาน แต่หากมีการบริโภคอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตมากจนเกินไปก็จะทำให้ร่างกายนำส่วนที่เหลือไปสะสมไว้ในรูปไขมันทำให้อาจเกิดโรคอ้วนและอาจส่งผลให้เกิดโรคเบาหวานอีกด้วย (สายสนม, 2551)

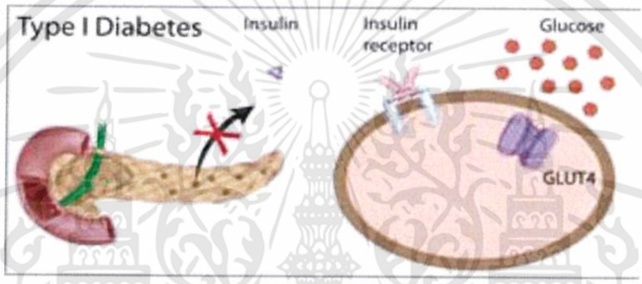
2.6.1 สาเหตุการเกิดโรคเบาหวาน

เกิดจากการทำงานที่ผิดปกติของฮอร์โมนอินซูลิน ทำให้เซลล์ในอวัยวะส่วนต่างๆของร่างกายนำน้ำตาลในกระแสเลือดเข้าไปใช้ได้น้อยหรือใช้ไม่ได้ ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ (สูงกว่า 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) (สายสนม, 2551)

อาหารส่วนใหญ่ที่เรารับประทานเข้าไป จะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปใช้เป็นพลังงาน โดยฮอร์โมนอินซูลินที่ผลิตจากเบต้า-บีเซลล์อยู่ในตับอ่อน มีหน้าที่ในการนำน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ เพื่อนำไปใช้เป็นพลังงานต่อไป (สายสนม, 2551)

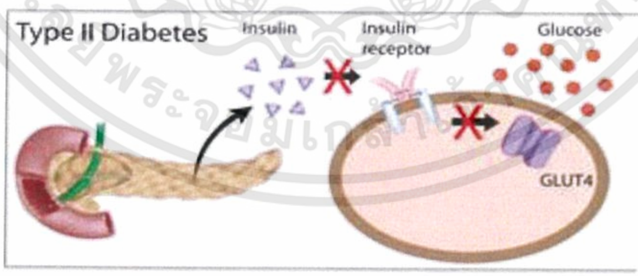
2.6.2 ชนิดของโรคเบาหวาน แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

- เบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 Diabetes) ชนิดพึ่งอินซูลิน คือเกิดจากเบต้า เซลล์ของตับอ่อนถูกทำลายทำให้ไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้ จึงต้องมีการฉีดอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาล จะพบมากในเด็กและวัยรุ่น



รูปที่ 2.29 การเกิดเบาหวานชนิดที่ 1
ที่มา: http://www.dxneast.com/13661206

- เบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 Diabetes) ชนิดไม่พึ่งอินซูลิน คือเกิดจากที่ร่างกายสามารถผลิตอินซูลินได้อยู่ แต่ไม่เพียงพอหรือเกิดภาวะการดื้อต่ออินซูลิน ทำให้เซลล์ที่สร้างอินซูลินค่อยๆถูกทำลายไป (สายสนม, 2551)



รูปที่ 2.30 การเกิดเบาหวานชนิดที่ 2
ที่มา: http://www.dxneast.com/13661206

2.6.3 อาการที่พบของโรคเบาหวาน

ในระยะแรกๆจะยังไม่แสดงอาการให้เห็น ส่วนใหญ่จะแสดงอาการเมื่อมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากแล้วทำให้ผู้ป่วยชะล่าใจว่าแสดงอาการมากก่อนค่อยมาทำการรักษา ซึ่งอาการของคนที่เป็นโรคเบาหวานจะมีอาการปัสสาวะบ่อยมากในเวลากลางคืน คอแห้งกระหายน้ำ ดื่มน้ำมาก หิวบ่อย แต่น้ำหนักลด มีอาการอ่อนเพลีย ถ้าเป็นแผลจะหายยาก มีอาการคันตามผิวหนัง ตาพร่ามัว ชาตาม

ปลายมือและเท้า อาการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ เท้าชา หรือนิ้วดำเนื่องจากขาดเลือดไปหล่อเลี้ยง หรืออาจจะมีอาการของโรคไตวาย เช่น บวม ซีด ปัสสาวะเป็นฟอง เป็นต้น (สายสนม, 2551)

2.6.4 วิธีป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน

– ควบคุมน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ
– ควรตรวจเช็คระดับน้ำตาลในเลือดสม่ำเสมอ
– ยาบางชนิดหรือยาสมุนไพร
– ควบคุมโภชนาการโดยการรับประทานอาหารที่มีค่าไกลซีมิค อินเดกซ์ต่ำ (สายสนม, 2551)

2.6.5 ไกลซีมิค อินเดกซ์ (glycemic index)

คือ ดัชนีที่ใช้ตรวจวัดคุณภาพของอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต หลังรับประทาน ย่อย และถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบการย่อยและดูดซึมของร่างกายแล้วสามารถเพิ่มระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้มากหรือน้อย มี 3 ระดับ ได้แก่

อาหารที่มีค่า GI ต่ำ จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือดเท่ากับ 55 หรือน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น ถั่วชนิดต่างๆ ผัก และอาหารที่มีเส้นใย

อาหารที่มีค่า GI ปานกลาง จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือดเท่ากับ 56-69 เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน จะเป็นอาหารประเภทเส้น (pasta) ถั่วคั่ว มันเทศ ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดคั่ว ซุปถั่ว whole wheat และข้าวกล้อง เป็นต้น

อาหารที่มีค่า GI สูง จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือดเท่ากับ 70 หรือมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ได้แก่ ขนมปังขาว corn-flake ข้าวเมล็ดสั้น มันฝรั่งทอด (French fries) ไอศกรีม ลูกเกด ผลไม้อบแห้ง กล้วย แตงโม เป็นต้น (สายสนม และคณะ, 2551)

ดังนั้นผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจึงควรบริโภคอาหารให้ถูกต้อง เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานควรหลีกเลี่ยงอาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง ที่มีอยู่ในเนย นม ไขวัว น้ำมันหมู น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม ส่วนอาหารประเภทโปรตีน ควรเลือกทานพวกเนื้อสัตว์ประเภทปลา ไก่ และโปรตีนจากพืชเช่น ถั่ว เต้าหู้ เนื่องจากมีปริมาณไขมันที่น้อย สำหรับอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต เป็นประเภทที่มีความสำคัญต่อการควบคุมโรคเบาหวาน เพราะเมื่อรับประทานคาร์โบไฮเดรต คาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคส เพื่อนำไปใช้เป็นพลังงาน และถ้าเหลือจะเก็บในรูปไกลโคเจน และถูกเปลี่ยนเป็นไขมันไว้ใช้ในยามที่ร่างกายต้องการ ผู้ป่วยโรคเบาหวานควรเลือกกินคาร์โบไฮเดรตที่มีใยอาหารสูง ซึ่งพบในข้าว และเมล็ดธัญพืชต่างๆ (ที่ไม่ได้ผ่านขบวนการขัดสี) ขนมปังโฮลวีท ผลไม้ และผัก ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีกากใยอาหารสูง (นิลวรรณ, 2548)

2.6.5.1 การเลือกบริโภคข้าวที่มีค่าดัชนีไกลซิมิคต่ำ

อาหารที่มีค่าดัชนีไกลซิมิคต่ำจะส่งผลดีต่อระดับน้ำตาลในกระแสโลหิต โดยปกติแล้วร่างกายสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในสภาวะที่คงเหมาะสม ถ้าระดับน้ำตาลต่ำจนเกินไปอาจทำให้เกิดอาการเซื่องซึม ใจสั่น จนอาจหมดสติ แต่ถ้าในร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกินไป สมองจะสั่งการให้ตับอ่อนปล่อยอินซูลินมากขึ้นเพื่อลดปริมาณน้ำตาลลง และจะเก็บไว้ในรูปไกลโคเจน (glycogen) ไขมันจะถูกสะสมในร่างกาย ส่งผลให้มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น และอ้วนขึ้น หากปล่อยให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงต่อไปเป็นเวลานาน ตับอ่อนจะผลิตอินซูลินมากจนเกินไปทำให้เกิด hypoglycemic ตับอ่อนจะหยุดการสร้างอินซูลิน เนื่องจากมีการทำงานหนักเกินไป จึงก่อให้เกิด

โรคเบาหวาน ดังนั้นการบริโภคอาหารที่มีค่าดัชนีไกลซิมิคต่ำจะช่วยรักษาระดับน้ำตาลไม่ให้สูงเกินไป และยังช่วยในการทำงานของตับอ่อนในการปล่อยอินซูลิน โดยการคงระดับนั้นไว้ได้นาน จึงเป็นการช่วยลดน้ำหนักไปในตัว GL = GI/100 × น้ำหนัก (กรัม) ของส่วนที่บริโภค (นิลวรรณ, 2548)

ตัวอย่างการคำนวณ

ข้าวนึ่งมีอะไมโลสสูงครึ่งถ้วย (22 กรัม)	มีค่า GL = 38/100×22 = 8
ข้าวเหนียวครึ่งถ้วย (29กรัม)	มีค่า GL = 98/100×29 = 28

2.6.5.2 ข้อดีในการบริโภคอาหารที่มีไกลซิมิคต่ำ

1. ช่วยปรับให้ร่างกายผลิตอินซูลินได้อย่างสม่ำเสมอ มีความเหมาะสม และคงที่เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวาน

2. ช่วยลดอาการอยากรับประทานอาหาร ซึ่งจัดว่าเป็นการช่วยควบคุมน้ำหนัก

3. ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลโดยเฉพาะชนิดที่ไม่ดี (LDL) จึงช่วยลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ

4. ช่วยในการวางแผนการจัดการเรื่องอาหาร และการออกกำลังกายอย่างเหมาะสม

2.7 การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์

2.7.1 น้ำข้าวกล้องงาดำ

ส่วนผสม

ข้าวกล้อง	100 กรัม
น้ำเปล่า	4 ถ้วยตวง
น้ำตาลทราย	200 กรัม
นมสด	200 กรัม
งาดำคั่ว	¼ ถ้วยตวง

วิธีทำ

1. ซาวข้าวกล้องแช่น้ำไว้ 1 คืน หรือประมาณ 3 ชั่วโมง ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ
2. นำข้าวกล้อง งาดำ น้ำเปล่า มาผสมกัน ปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า กรองด้วยกระชอน
3. นำส่วนผสมของข้าวกล้องงาดำที่ปั่นแล้วมาผสมกับน้ำตาลทรายและนมสด จากนั้นตั้งไฟอ่อน คนอยู่ตลอดจนกระทั่งน้ำตาลทรายละลาย จึงยกขึ้น (วิภาวัน, 2552)

2.7.2 น้ำข้าวกล้องงอก

ส่วนผสม

ข้าวกล้องงอก	100 กรัม
น้ำเปล่า	4 ถ้วยตวง
โอวัลติน	¼ ถ้วยตวง
น้ำตาลทราย	½ ถ้วยตวง
นมสด	½ ถ้วยตวง

วิธีทำ

1. ล้างข้าวกล้องให้สะอาด แช่น้ำประมาณ 5-6 ชั่วโมง ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ หลังจากนั้นใส่ภาชนะหุ้มด้วยผ้าขาวบางชุบน้ำทิ้งไว้ประมาณ 13-14 ชั่วโมง ข้าวจะเริ่มงอกขึ้น จึงนำมาใช้ได้

2. นำข้าวกล้องงอกมาล้างน้ำให้สะอาด ผสมกับน้ำเปล่าแล้วปั่นให้ละเอียด หรือผ้าขาวบาง

3. นำข้าวกล้องที่ได้มาผสมกับโอวัลติน น้ำตาลทราย นมสด ตั้งไฟปานกลาง คนอยู่ตลอดประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นลดไฟให้อ่อนลง คนต่ออีกประมาณ 15 นาที จึงยกลง (วิภาวัน, 2552)

2.7.3 น้ำนมถั่วเหลือง

ส่วนผสม

ถั่วเหลืองเมล็ดแห้ง	1 กิโลกรัม
น้ำตาลทราย	1 กิโลกรัม
เกลือ	1 ช้อนชา
น้ำสะอาด	10 ลิตร

วิธีทำ

1. นำถั่วเหลืองที่เตรียมไว้ทั้งหมดล้างให้สะอาด แล้วเทใส่หม้อเอาไว้
2. เทน้ำอุ่นจัดลงไปให้ท่วมเมล็ดถั่วเหลือง โดยแช่ไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง
3. ตวงถั่ว 1 ส่วน น้ำ 1 ส่วน ทำการโม่หรือบดให้ละเอียด
4. นำถั่วและน้ำที่ไม่ได้ทั้งหมดไปต้มให้เดือดประมาณ 5 นาที
5. จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางซ้อน 2 ชั้น เอาแต่น้ำ ส่วนกากถั่วเหลืองที่เหลือเอาไปผสมทำอาหารอย่างอื่นได้
6. นำน้ำนมไปต้มอีกครั้ง เติมน้ำตาล เกลือ ตามความต้องการ รอจนเดือดแล้วกรองด้วยผ้าขาวบางอีกครั้ง (ถั่วเหลืองเมล็ดแห้ง 1 กิโลกรัม จะได้น้ำนมประมาณ 10 ลิตร) (อุทัย, 2543)

2.7.4 น้ำข้าวกล้องธัญพืช

ส่วนผสม

ข้าวกล้องงอก	100 กรัม
น้ำเปล่า	10 ถ้วยตวง
ข้าวเหนียวดำ	100 กรัม
ลูกเดือยแช่น้ำ (แช่น้ำค้างคืน)	¼ ถ้วยตวง
ถั่วเหลืองแช่น้ำ (แช่น้ำค้างคืน)	¼ ถ้วยตวง
น้ำตาลทราย	1 ถ้วยตวง

วิธีทำ

1. ซาวข้าวกล้องแล้วข้าวเหนียวดำที่ทำการแช่น้ำ 5-6 ชั่วโมง พึ่งให้สะเด็ดน้ำ ล้างให้สะอาดแล้วกรองด้วยกระชอน

2. ผสมข้าวกล้อง ข้าวเหนียวดำ ลูกเดือย ถั่วเหลือง และน้ำเปล่า ปั่นให้ละเอียดกรองด้วยผ้าขาวบางหรือกระชอน

3. นำส่วนผสมที่ได้ ตั้งไฟอ่อนๆ ใส่น้ำตาลคนให้น้ำตาลละลาย คนต่อไปอีกประมาณ 20 นาที แล้วจึงยกลง (วิภาวัน, 2552)

2.8 โพรไบโอติก (Probiotic) และ พรีไบโอติก (Prebiotic)

โพรไบโอติก มาจากภาษากรีกของคำว่า “for life” ซึ่งสามารถเป็นอาหารเสริม (food supplement) ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และเริ่มมีคนนิยามให้คำกำจัดความมากขึ้นเรื่อยๆ แต่โดยส่วนใหญ่แล้วจะนิยามคำว่า โพรไบโอติก ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่เชื้อก่อโรค (nonpathogenic) ซึ่งอาจมีชนิดเดียวหรือเป็นจุลินทรีย์ผสมหลายชนิด ซึ่งจะถูกนำมาใช้เมื่อร่างกายของมนุษย์หรือสัตย์ต้องการ โดยช่วยรักษาความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งคุณสมบัติของโพรไบโอติกที่ดี คือ เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์เดียวกับที่มีอยู่ในทางเดินอาหารของมนุษย์ ทนต่อกรดและเกลือน้ำดี ยึดเกาะกับผนังเซลล์ของลำไส้ได้ดีสามารถแย่งที่ยึดเกาะกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ผลิตสารต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น และปลอดภัยในการนำมาใช้ในอาหารซึ่งจะส่งผลดีต่อร่างกาย คือ ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ช่วยกระตุ้นภูมิต้านทาน ช่วยลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือดที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และช่วยยับยั้งการเกิดโรคมะเร็ง โดยส่วนมากจุลินทรีย์ที่ถูกนำมาใช้เป็นโพรไบโอติก ได้แก่ Lactobacili และ Bifidobacteria แต่จะพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กลุ่มอื่นด้วย เช่น แบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม แท่ง ยีสต์ (yeast) และ *E.coli* ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่แปลจากโพรไบโอติก มีหลายลักษณะ เช่น เป็นผง ยาเม็ด เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์จากการหมัก (Vernazza และคณะ, 2006)

การรับประทานแบคทีเรียโพรไบโอติกเข้าไปในร่างกายนั้น ไม่สามารถรับประกันได้ว่าจุลินทรีย์เหล่านั้นจะมีชีวิตรอดอยู่ลำไส้ใหญ่ได้หรือไม่ เนื่องจากอาหารส่วนใหญ่ที่รับประทานเข้าไปแล้วนั้นจะถูกย่อยที่บริเวณกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก ซึ่งบริเวณลำไส้ใหญ่จะมีแต่การดูดซึมน้ำและแร่ธาตุเท่านั้น จึงทำให้จุลินทรีย์บริเวณลำไส้ไม่มีอาหาร ส่งผลให้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงจำเป็นต้องรับประทานอาหารที่ระบบทางเดินอาหารไม่สามารถย่อยได้ จึงจะสามารถผ่านกระบวนการย่อยไปถึงลำไส้ใหญ่ได้ เพื่อเป็นอาหารให้จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ใหญ่ ที่เรียกว่า พรีไบโอติก (เอกลักษณ์, 2552)

พรีไบโอติก เป็นอาหารที่เรารับประทานเข้าไปแล้วไม่ถูกย่อย โดยจะทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตและส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ เช่น Lactobacili และ Bifidobacteria โดยพรีไบโอติกจะส่งผลต่อสุขภาพ ได้แก่ ช่วยควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง ส่งเสริมการดูดซึมแร่ธาตุต่างๆ โดยเฉพาะแคลเซียมและแมกนีเซียม ควบคุมปริมาณไขมัน และสามารถทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้ นอกจากนี้มีการนำโพรไบโอติก และพรีไบโอติกมารวมกัน ซึ่งเรียกว่า ซินไบโอติก (Synbiotic) เป็นการเพิ่มอัตราการอยู่รอด และการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Vernazza และคณะ, 2006)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ธัญพืชและถั่วทั้ง 11 ชนิดที่ผ่านกระบวนการงอก และไม่งอกรวมเป็นทั้งหมด 22 ชนิด ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วดำ และถั่วเขียว (ตราท็อปส์ ผลิตโดย บริษัท เซ็นทรัล ฟู้ด รีเทล จำกัด จังหวัดนนทบุรี) ถั่วแดงและถั่วเหลือง (ตราไร่ทิพย์ ผลิตโดย บริษัท ไร่ธัญญะ จำกัด จังหวัดนนทบุรี) ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวสินเหล็ก ได้มาจากศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ข้าวเหนียวลืมผัวและข้าวแดง ได้มาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) จังหวัดเพชรบูรณ์

ตารางที่ 3.1 ธัญพืชที่นำมาใช้ในการสกัด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ	วงศ์
Arachis hypogaea L.	ถั่วลิสง	Peanut	LEGUMINOSAE
Phaseolus mungo L.	ถั่วดำ	Black gram	LEGUMINOSAE
Phasecolus vulgaris L.	ถั่วแดง	Kidney bean	LEGUMINOSAE
Glycine max (L.) Merrill	ถั่วเหลือง	Soybean	LEGUMINOSAE
Vigna radiata (L.) R. Wilcz.	ถั่วเขียว	Mung Bean	LEGUMINOSAE
Oryza sativa var.Glutinosa	ข้าวลืมผัว (ข้าวเหนียว)	Leumpua Purple Rice	GRAMINEAE
Oryza sativa L.	ข้าวแดง (ข้าวเจ้า)	Red Rice	GRAMINEAE
Oryza *sativa* L.	ข้าวสินเหล็ก (ข้าวเจ้า)	Sinlek Rice	GRAMINEAE
Oryza sativa L.	ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ข้าวเจ้า)	Rice Berry	GRAMINEAE
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม	Corn	POACEAE
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียว	Corn	POACEAE

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ คือ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Thailand Institute of Scientific and Technological Research)

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง คือ De Man Rogosa Sharpe Broth (MRS, Difico, Becton, Ickinson and Company, USA)

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 สาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) สารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (pH 3.6) สาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3{\cdot}6H2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ สาร Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 15 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) สารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (Starch soluble, 14418, Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (pH 6.9) สารโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต สารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ rat-intestinal acetone powder 48 (I1630, Sigma-Aldrich, USA) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 6.9) สาร *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (487506-1G, Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ สารละลายน้ำเกลือ (saline) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 สารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (pH 1.0) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid, Aldrich, India) สารกลูโคสมาตรฐาน (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) สารละลายฟีนอล (Panreac Quimica, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QRëC, Newzealand)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร หลอดทดลอง ปิเปตต์แบบปริมาตร (volume pipette) จุกยาง แท่งแก้วคนสาร ช้อนตักสาร ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) กรวย แก้วกรองสาร ตะเกียงแอลกอฮอล์ เครื่องบด (blender, National, MX 795N) เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (TE214S, Sartorius, Germany) เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Heizbad Hei-VAP, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany) ตู้อบลม-ร้อน (hot air oven, Memmert, UN 110, Germany) ตู้เย็น (Samsung) หม้อนึ่งความดัน (autoclave, TOMY, ES-315, Japan) ตู้บ่มเชื้อ (incubator, Memmert, INP 600, Germany) ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow, BIOHAZARD CLASS II, CLEAN, V6, USA) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hermle, Z 383 K, Germany) เครื่องเขย่า (shaker, Gallenkamp, United Kingdom) เครื่องผสมสาร (vortex mixer, G560E, VORTEX GENIE 2, USA) เครื่องเขย่าสารด้วยความถี่สูง (Ultrasonic cleaner, Crest, 2800HT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 500-5,000 ไมโครลิตร (eppendrof, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 100-1,000 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปต ปริมาตร 10-100 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 2-20 ไมโครลิตร

(Thermo Scentific, USA) เครื่องวัดกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, WNB 14, Germany) เครื่อง microplate reader (N12648 Thermo Labsystem IEMS Reader MF Type 1401, Finland) และเครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว

3.2.1.1 การทำธัญพืชและถั่วให้งอก

วิธีการทำธัญพืชและถั่วให้งอกทำตามวิธีการของ Pradeep และ Sreerama (2015) ซึ่งมีการดัดแปลงเล็กน้อย ทำได้โดยการล้างธัญพืชและถั่วให้สะอาด และทำการแช่ธัญพืชและถั่วต่างๆ ในน้ำที่มีอัตราส่วน 1:3 น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นเวลาประมาณ 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวางบนผ้าขาวบางที่เปียก และปล่อยให้งอกที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง โดยผ้าที่ใช้ต้องเปียกอยู่เสมอ หลังจากนั้นนำมาทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน แล้วนำไปบดให้ละเอียด

3.2.1.2 การเตรียมสารสกัดจากธัญพืชและถั่วด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80

การสกัดธัญพืชและถั่วทำได้โดยชั่งตัวอย่างผงแห้งของธัญพืชและถั่วตัวอย่างละ 10 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และกรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและบรรจุสารสกัดเข้มข้นแก้วที่หุ้มและปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู หลังจากนั้นนำไประเหยที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนกระทั่งเอทานอลระเหยออกจนหมดจะได้สารสกัดแห้ง เมื่อจะทำการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านเบาหวาน ตามวิธีการข้อ 3.2.2 ทำการเตรียม stock solution ของสารสกัดแต่ละชนิดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางสารสกัดแห้งด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว

3.2.2.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว

ก) Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) มีวิธีการดังนี้ ทำการเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยนำสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) pH 3.6 ที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

และเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3{\cdot}6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้เป็นสารละลายของ FRAP reagent จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติมสารสกัดตัวอย่าง (ทำการเจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia)

ส่วนแบลงค์ (blank) จะใช้สารละลาย FRAP ที่ไม่เติมตัวอย่าง เป็นแบลงค์ และใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยทำการเจือจางเป็น 7 ระดับ คือ 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำมาทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล จะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้นของ Fe^{2+}-TPTZ หรือความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing capacity) ของสารตัวอย่างรายงานผลเป็นหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II)/g extract)

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิธีนี้ทำตามวิธีการของ Zhou และคณะ (2014) โดยการเตรียมสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดนี้ 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเติมน้ำบริสุทธิ์ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร Folin Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาทีในที่มืด แล้วนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 15 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 นาที ปรับปริมาตรโดยเติมน้ำบริสุทธิ์ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสในที่มืด นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดซึ่งทำตามวิธีเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากธัญพืช ส่วนแบลงค์ (Blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสง

ของกรดแกลลิก จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.2.2.3 การศึกษาสมบัติการต้านโรคเบาหวาน

การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว ทำการวิเคราะห์หากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (porcine pancreas) และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Intestinal acetone powder) ตามวิธีการดังต่อไปนี้

ก) Alpha-amylase inhibition assay

วิธีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทำตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) โดยผสมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 240 ไมโครลิตร กับสารละลายตัวอย่าง 120 ไมโครลิตร หรือสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมสารละลายเอนไซม์ α-amylase (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตรใน Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (pH 6.9) ปริมาตร 240 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เติมสารสี 240 ไมโครลิตร (การเตรียม colorimetric reagent ทำการเตรียมจากวิธีการของ Loizzo และคณะ (2008) ทำได้โดยการเติมสารละลาย sodium potassium tartarate tetrahydrate ปริมาณ 12 กรัม ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร และสารละลาย 3,5 dinitrosalycylic acid ความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ (3,5 dinitrosalycylic acid ปริมาณ 0.88 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 46 มิลลิลิตร) โดยทำการผสมสารในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตรโดยปริมาตร) นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ใน water bath นาน 15 นาที และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวควบคุม

A_1 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของสารตัวอย่าง

ข) Alpha-glucosidase inhibition assay

วิธีการยับยั้งเอนไซม์ แอลฟา-กลูโคซิเดสซึ่งการเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal acetone powder ทำตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) ทำได้โดยการชั่ง rat-intestinal acetone powder (I1630, Sigma-Aldrich, USA) ปริมาณ 0.5 กรัม นำมาผสมกับสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปทำการเขย่าให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน 15 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลซียส หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000×g นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลซียส นำส่วนใสที่ได้ใช้เป็น

สารละลายเอนไซม์ที่จะใช้วิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำตามวิธีการของ Kim และคณะ (2009) โดยนำตัวอย่างสารสกัดของธัญพืชและถั่ว (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) หรือสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal acetone powder ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีหลังจากนั้นเติมสาร *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (487506-1G, Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ที่ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 6.9) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมซึ่งใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัดตัวอย่าง ปริมาตร 250 ไมโครลิตร นำค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างมาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส ดังสมการ

$$\%\ \text{Inhibition} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวควบคุม

A_1 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของสารตัวอย่าง

3.2.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว 11 ชนิด โดยทำตามวิธีการของ Wichienchot และคณะ (2011) ซึ่งทำได้โดยการปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (Korakli และคณะ, 2002) ที่มีค่า pH เท่ากับ 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 4 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับ pH ของสารละลายผสมให้มี pH ได้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล จากนั้นทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์โดยการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase from porcine pancreas, Sigma, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อ มิลลิลิตร ใน Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (pH 6.9) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric method) ตามวิธีการในข้อ 3.2.2.5 โดยทำตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) โดยปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยนั้นจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) โดยคำนวณจากสูตรนี้

ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) – ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดชั่วโมงที่ 0 วิเคราะห์ ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS method) ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Miller (1959) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid, Sigma-Aldrich, India) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันที (แช่ในน้ำเย็น) เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์(UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

3.2.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method)

ตามวิธีการทดลองของ Dubois และคณะ (1956) ปิเปตสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ที่ย่อยด้วยกรดและเอนไซม์แล้ว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (Panreac Quimica, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรตามลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QRëC, Newzealand) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นผสมสารละลายให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อีก 20 นาทีในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract)

จากผลการทดลองด้านพฤกศาสตร์เคมีของธัญพืชและถั่วต่างๆ เช่น มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง มีกิจกรรมการต้านเบาหวานที่ดี และปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่สูง ทำให้สามารถคัดเลือกธัญพืชและถั่วเพื่อนำไปพัฒนาเป็นเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติกต่อไป

3.2.3 การผลิตเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วโพรไบโอติก

3.2.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034

การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 เพื่อเติมลงในเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วทำได้โดยเขี่ยเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 จากหลอด Stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสปริมาณ 1 ลูปเต็มลงในอาหาร MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ Microaerophilic จากนั้นนำหลอดอาหาร MRS ที่บ่มแล้วไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งไปเหลือแต่เฉพาะตะกอนเซลล์ที่ก้นหลอด แล้วจึงล้างเซลล์โดยการเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ในครั้งที่ 1) หลังจากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปสารแขวนลอยเซลล์โดยการเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยให้เท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน Mcfarland เบอร์ 8 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร)

3.2.3.2 การเตรียมเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วโพรไบโอติก

ในการทดลองนี้ใช้ธัญพืชและถั่วต่างๆจำนวน 4 ชนิด คือ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ข้าวกล้องลืมผัว และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก ซึ่งมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง และมีกิจกรรมการต้านเบาหวานที่ดี จึงนำมาพัฒนาเป็นน้ำนมธัญพืชและถั่วจำนวน 8 สูตร ได้แก่ น้ำนมจากถั่วแดงปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) น้ำนมจากถั่วแดงชนิดที่ผ่านการทำให้งอก น้ำนมจากถั่วเหลืองปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) น้ำนมจากถั่วเหลืองชนิดที่ผ่านการทำให้งอก น้ำนมจากข้าวกล้องลืมผัวปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) น้ำนมจากข้าวกล้องลืมผัวชนิดที่ผ่านการทำให้งอก น้ำนมจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) และน้ำนมจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ชนิดที่ผ่านการทำให้งอก

ก) น้ำนมธัญพืชและถั่วชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก

ทำได้โดยนำธัญพืชและถั่วแต่ละชนิดปริมาตร 250 กรัม มาล้างน้ำให้สะอาด แช่น้ำสะอาดประมาณ 16-18 ชั่วโมง โดยแช่น้ำให้ท่วมวัตถุดิบในอัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำ 1:3 น้ำหนักต่อปริมาตร) หลังจากนั้นแกะเปลือกออก และนำขึ้นมาผึ่งไว้ นำวัตถุดิบมาปั่นให้ละเอียดโดยผสมน้ำอุ่นเล็กน้อย แล้วนำมากรองด้วยผ้าข้าวบาง 2 ชั้น เพื่อกรองกากออก นำน้ำสะอาดที่ต้มจนเดือดเทใส่ปริมาตร 2 ลิตร ผสมกับวัตถุดิบให้เข้ากันแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที ในขณะที่ต้มนั้นต้องคนอยู่ตลอดเวลา หลังจากนั้นเติมเกลือ 1/4 ช้อน ยกลงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาบรรจุลงขวดผลิตภัณฑ์ และเติมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในอัตราส่วนเชื้อต่อน้ำนม 1:30 มิลลิลิตรปริมาตรต่อปริมาตร ปิดฝาให้สนิท นำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา วันที่ 7 และ 14 ของการเก็บรักษา เพื่อนำไปวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกและวัดค่า pH ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ ส่วนการตรวจหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มธัญพืชและถั่ว ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการยับยั้ง

เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคสิเดสโดยทดสอบเฉพาะในตัวอย่างที่ทำการเก็บรักษาครบ 14 วัน

ข) น้ำนมธัญพืชและถั่วชนิดที่ผ่านการทำให้งอก

ทำได้โดยนำธัญพืชและถั่วแต่ละชนิดปริมาตร 250 กรัม มาล้างน้ำให้สะอาด แช่น้ำสะอาดประมาณ 16 ชั่วโมง โดยแช่น้ำให้ท่วมวัตถุดิบในอัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำ 1:3 น้ำหนักต่อปริมาตร) หลังจากนั้นนำออกมาวางบนผ้าขาวบางที่เปียก และปล่อยให้งอกที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยผ้าที่ใช้ต้องเปียกอยู่เสมอ จากนั้นนำวัตถุดิบมาปั่นให้ละเอียดโดยผสมน้ำอุ่นเล็กน้อย แล้วนำมากรองด้วยผ้าข้าวบาง 2 ชั้น เพื่อกรองกากออก นำน้ำสะอาดที่ต้มจนเดือดเทใส่ปริมาตร 2 ลิตร ผสมกับวัตถุดิบให้เข้ากันแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที คนตลอดเวลาในขณะต้ม หลังจากนั้นเติมเกลือปริมาณ 1/4 ช้อนชา ยกลงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาบรรจุลงขวดผลิตภัณฑ์ และเติมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในอัตราส่วนเชื้อต่อน้ำนม 1:30 มิลลิลิตรปริมาตรต่อปริมาตร ปิดฝาให้สนิท นำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา วันที่ 7 และ 14 ของการเก็บรักษา เพื่อนำไปวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกและวัดค่า pH ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ ส่วนการตรวจหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคสิเดส โดยทดสอบเฉพาะในตัวอย่างที่ทำการเก็บรักษาครบ 14 วัน

3.2.4 การวิเคราะห์เครื่องดื่มธัญพืชและถั่วโพรไบโอติก

3.2.4.1 การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก

ปิเปตเครื่องดื่มมา 1 มิลลิลิตร เพื่อทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆคือ10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยเทคนิค spilal plate โดยใช้เครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA) ลงบนอาหาร MRS agar ที่เตรียมไว้ซึ่งมีผิวหน้าแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย นำมานับจำนวนโคโลนี

3.2.4.2 การวิเคราะห์หาค่า pH

นำเครื่องดื่มไปวัด pH ด้วยเครื่องวัดกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) โดยตั้งเครื่องพีเอชมิเตอร์ไว้บนโต๊ะแล้วนำ probe มาจุ่มในเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วแต่ละชนิดเพื่อวัดค่า pH โดยต้องล้าง probe ทุกครั้งก่อนวัดตัวอย่างต่อไป

3.2.4.3 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) มีวิธีการดังนี้ ทำการเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยนำสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) pH 3.6 ที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 10

มิลลิโมลาร์ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้เป็นสารละลายของ FRAP reagent จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติมเครื่องดื่มตัวอย่างที่ได้ทำการเจือจาง 1:10 (โดยปิเปตเครื่องดื่มมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia)

ส่วนแบลงค์ (blank) จะใช้สารละลาย FRAP ที่ไม่มีการเติมตัวอย่างเป็นแบลงค์และใช้สารละลายมาตรฐาน Fe(II) ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยทำการเจือจางเป็น 7 ระดับ คือ 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำมาทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล จะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของเครื่องดื่มตัวอย่าง รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mmol Fe(II)/100 ml beverage)

3.2.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิธีนี้ทำตามวิธีการของ Zhou และคณะ (2014) โดยนำตัวอย่างเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 (โดยปิเปตเครื่องดื่มมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเติมน้ำบริสุทธิ์ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร Folin Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาทีในที่มืด แล้วจึงนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 15 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 นาที ปรับปริมาตรโดยเติมน้ำบริสุทธิ์ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสในที่มืด นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม (mg gallic acid equivalents (GAE)/ 100 ml beverage)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งทำตามวิธีเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่ว ส่วนแบลงค์ (Blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิก จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเครื่องดื่ม

3.2.4.5 การศึกษาสมบัติการต้านโรคเบาหวาน

การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่ว โดยการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (porcine pancreas) ซึ่งทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา- กลูโคซิเดส (Intestinal acetone powder) ซึ่งทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Kim และคณะ (2009)

ก. Alpha-amylase inhibition assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) โดยผสมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 240 ไมโครลิตรกับตัวอย่างเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 (โดยปิเปตเครื่องดื่มมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร) หรือสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น ปริมาตร 120 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมสารละลายเอนไซม์ α-amylase (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) 20 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เติมสารสี 240 ไมโครลิตร (การเตรียม colorimetric reagent ทำการเตรียมจากวิธีการของ Loizzo และคณะ (2008)) ทำได้โดยการเติมสารละลาย sodium potassium tartarate tetrahydrate ปริมาณ 12 กรัม ละลายในโซเดียมไฮดรอดไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 8 มิลลิลิตรและสารละลาย 3,5 dinitrosalycylic acid ความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ (3,5 dinitrosalycylic acid ปริมาณ 0.88 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 46 มิลลิลิตรในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตรโดยปริมาตร) นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ใน water bath นาน 15 นาที และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวควบคุม

A_1 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างเครื่องดื่ม

ข. Alpha-glucosidase inhibition assay

วิธีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสซึ่งการเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal acetone powder ทำตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) ทำได้โดยการชั่ง rat-intestinal acetone powder (I1630, Sigma-Aldrich, USA) ปริมาณ 0.5 กรัม ผสมกับสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปทำการเขย่าให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน 15 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลซียส หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000×g นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลซียส นำส่วนใสที่ได้ใช้เป็นสารละลายเอนไซม์ที่จะใช้วิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำตามวิธีการของ Kim และคณะ (2009) โดยนำตัวอย่างเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 (โดยปิเปต

เครื่องดื่ม 1 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร) หรือสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal acetone powder (I1630, Sigma-Aldrich, USA) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นทำการเติมสาร *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (487506-1G, Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 6.9) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมซึ่งใช้เอทานอลร้อยละ 30 แทนตัวอย่างเครื่องดื่ม ปริมาตร 250 ไมโครลิตร นำค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างมาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส ดังสมการ

$$\%\ \text{Inhibition} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวควบคุม

A_1 = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างเครื่องดื่ม

3.2.4.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และค่า pH ที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis variance (ANOVA) และ Duncan’s multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 20.0 (ภาคผนวก ง)

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว

4.1.1 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วทั้งหมด 11 ชนิดทั้งที่ผ่านการทำให้งอกและไม่งอกด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส (Fe^{2+}-TPTZ) ซึ่งมีสีน้ำเงินเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร Fe^{3+}-TPTZ ถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็น Fe^{2+}-TPTZ เทียบกับสารมาตรฐาน คือ BHT นั่นหมายความว่าถ้าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงว่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งมากเช่นกัน เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงและมีค่าสูงกว่า BHT คือ ข้าวกล้องลืมผัวที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.170 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด ส่วนในข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ข้าวโพดข้าวเหนียวงอก ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก ถั่วแดง และข้าวกล้องแดงนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์รองลงมาอยู่ในช่วง (0.658-0.321 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) โดยเฉพาะข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างสูง มีค่าเท่ากับ 0.658 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด ในทางตรงกันข้ามสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ต่ำ และยังมีค่าต่ำกว่า BHT ได้แก่ ถั่วแดงงอก ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสงงอกและไม่งอกมีความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ในช่วง (0.089-0.005 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมสารสกัด) เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากธัญพืชและถั่วปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) กับชนิดที่ผ่านการทำให้งอกพบว่าธัญพืชและถั่วชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ถั่วแดง ข้าวกล้องแดง ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวกล้องสินเหล็ก ถั่วดำ และถั่วเขียว ในทางตรงกันข้ามสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่ผ่านการทำให้งอกนั้นจะมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม ถั่วเหลือง และถั่วลิสง

4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากธัญพืชและถั่วทั้งหมด 11 ชนิด เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.1 พบว่า สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงจะอยู่ในช่วง 304.17-1,704.17 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ข้าวกล้องแดง ข้าวกล้องสินเหล็ก ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม และถั่วแดง โดยเฉพาะสารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัวพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (1,704.17 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) รองลงมาอีก 4 อันดับ ได้แก่ ข้าวโพดข้าวเหนียว (1,010.42 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) ข้าวโพดข้าวเหนียวงอก (837.50 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ (833.33 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก (656.25 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำ คือ อยู่ในช่วง 141.67-285.42 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วเหลือง และถั่วลิสง

เมื่อนำสารสกัดแต่ละสารสกัดมาเปรียบเทียบกันระหว่างชนิดปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) กับชนิดที่ผ่านการทำให้งอก พบว่ามีสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกนั้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ถั่วดำ ถั่วแดง ถั่วลิสง ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และข้าวโพดข้าวเหนียว ในทางตรงกันข้ามพบว่ามีสารสกัดจากธัญพืชและถั่วบางชนิดที่ผ่านการทำให้งอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก ซึ่งได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวกล้องแดง ข้าวกล้องสินเหล็ก และข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม

จากการทดลองพบว่าข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวซึ่งเป็นข้าวที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นสีแดง และสีม่วงเข้มจะมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงอาจเป็นเพราะในข้าวเหนียวลืมผัวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แอนโทไซยานิน แกมมาโอโรซานอล (Gamma Oryzanol) วิตามินบี2 กรดไขมันไม่อิ่มตัว รวมถึงธาตุอาหารอื่นๆ ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการของสารเหล่านี้จะช่วยป้องกันโรคสมองเสื่อม ลดไขมันในเส้นเลือด ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง รวมถึงโรคเบาหวาน (การุณย์, 2557) มีรายงานการพบสารแอนโทไซยานินในข้าวดำโดย อภิชาติ และคณะ (2553) พบว่าข้าวเหนียวลืมผัวมี anthocyanin 46.56 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม มีสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวม 833.77 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม และอุดมไปด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินบี1 วิตามินบี 2 วิตามินอี (แอลฟา-โทโคฟีรอล) 16.83 มิลลิกรัมต่อข้าว 1 กิโลกรัม มีแร่ธาตุต่างๆ หลายชนิด เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม สังกะสี แมงกานีส แมกนีเซียม รวมทั้งกรดไขมันโอเมก้า3 (33.94 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม) โอเมก้า6 (1,160.08 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม) และโอเมก้า9 (1,146.41 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม) ดังนั้นการที่ข้าวลืมผัวมีวิตามินอี จึงเป็นสาเหตุของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงในข้าวเหนียวลืมผัว

ผลการวิจัยในครั้งนี้พบว่าข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง วสันต์ (2557) ได้กล่าวว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีสารจับอนุมูลอิสระ เช่น quinolone alkaloid, vitamin E, phytate, Gamma Oryzanol, polyphenol และ anthocyanin ในปริมาณที่สูง โดยพบว่าข้าวดำพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่มี β-carotene 63.3 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม พอลิฟีนอล 752.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แอนโทไซยานิน 250.36 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งจะพบมากในส่วนของ pericarp และได้วิเคราะห์หากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวเจ้าหอมนิลและในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง ระหว่าง 229-304.7 ไมโครโมลต่อกรัม ด้วยวิธี ORAC (Oxyen Radical Capacity) และจึงพบว่าข้าวยิ่งมีสีม่วงเข้มมากขึ้นจะยิ่งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น Leardkamolkarn และคณะ (2011) ได้รายงานการตรวจพบสารแอนโทไซยานินชนิดหลักถึง 2 ชนิด ได้แก่ cyaniding-3-glucoside (ร้อยละ 10.3) และ peonidin-3-glucoside (ร้อยละ 6.2) ในสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วยเมทานอล

การทำให้งอกสามารถช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองได้ เนื่องจากช่วยในการปรับปรุงความสามารถในการย่อยโปรตีน ช่วยเพิ่มสัดส่วนของโปรตีนที่มีประสิทธิภาพ (Protein efficiency ratio) นอกจากนี้ยังช่วยลด anti-nutritional factor เช่น ตัวยับยั้งการย่อยโปรตีน (proteolytic inhibitors) เช่น trypsin inhibitor (ช่วยยับยั้งการย่อยของโปรตีนในลำไส้) รวมถึงแลคติน (lactin) และยังมีส่วนช่วยในการไฮโดรไลซิสของโอลิโกแซคคาไรด์ (แรฟฟิโนส (raffinose) และเอสทาคิออส (estaquiose) นอกจากนี้การทำให้งอกยังช่วยในการเพิ่มปริมาณของเมทไธโอนิน (methiomine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีจำกัดในโปรตีนถั่วเหลือง และยังช่วยกระตุ้นเอนไซม์ไฟเตส

และรีดิวซ์กรดไฟติก (phytic acid) (Abdullah และคณะ, 1984) ซึ่งกรดไฟติก (myo-inositol hexaphophate) จัดเป็นสารที่พบในธัญพืชและถั่ว สารนี้เป็นสารต้านการนำสารอาหารไปใช้ (antinutrient) โดยมีกิจกรรมคีเลต (chelating activity) ของโลหะต่างๆ และสามารถจับกับโปรตีน ดังนั้นจึงลดความสามารถในการนำไปใช้ (Bioavailabity) ของโปรตีนและแร่ธาตุที่สำคัญได้ (Park และคณะ, 2006) จากการทดลองของ Ademiluyi และคณะ (2014) ได้ทำการจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในถั่วเหลือง โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) สามารถจำแนกองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกได้ดังนี้ นารินจิน (Naringin) 53.1 มิลลิกรัมต่อกรัม ไอโซควาซิตริน (Isoquercitrin) 47 มิลลิกรัมต่อกรัม กรดคาเฟอิค (Caffeic acid) 46.7 มิลลิกรัมต่อกรัม กรดแกลลิก (Gallic acid) 40.1 มิลลิกรัมต่อกรัม อนุพันธ์ของคาเฟอิค (Caffeic derivative) 39.2 มิลลิกรัมต่อกรัม รูติน (Rutin) 32.4 มิลลิกรัมต่อกรัม แคมพ์เฟอรอล (Kaempferol) 31.5 มิลลิกรัมต่อกรัม เควอซิทริน (Quercitrin) 19.6 มิลลิกรัมต่อกรัม แคทีชิน (Epicatechi) 15.8 มิลลิกรัมต่อกรัม เควอซิทิน (Quercetin) 14.9 มิลลิกรัมต่อกรัม แคมพ์เฟอรอล แรมโนไซด์ (Kaempferol rhamnoside) 14.8 มิลลิกรัมต่อกรัม อนุพันธ์ของฟลาโวนอล (Flavonol derivative) 12.7 มิลลิกรัมต่อกรัม และอนุพันธ์ของกรดแกลลิก (Gallic acid derivative) 12.3 มิลลิกรัมต่อกรัม จากผลการวิจัยของ Huang และคณะ (2014) พบว่าถั่วเหลืองชนิดที่ผ่านการทำให้งอกนั้นจะมีปริมาณไอโซฟลาโวนทั้งหมด (isoflavones) สูงกว่าถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการทำให้งอก Anderson และคณะ (1995) ได้รายงานว่าโปรตีนจากถั่วเหลืองช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ จากการวิจัยครั้งนี้พบว่ากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้งอกสูงกว่าในถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการทำให้งอก ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Huang และคณะ (2014) ได้รายงานว่าการทำให้งอกช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในถั่วเหลือง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะเพิ่มสูงสุดในถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้งอกเป็นเวลา 4 วัน นอกจากนี้การทำให้งอกยังมีผลช่วยเพิ่มปริมาณวิตามินซีในถั่ว ซึ่งวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ Lin และLai (2006) ยังได้รายงานว่าการทำให้ถั่วงอกโดยการแช่ในระยะสั้น (short-term germination) จะสูญเสียเม็ดสีจากเยื่อหุ้มเมล็ด จึงเป็นสาเหตุให้สารต้านอนุมูลอิสระลดลง แต่เมื่อปล่อยให้ถั่วงอกต่อไปอีกเป็นเวลานาน (long-term germination) จะมีผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นได้

4.1.3 สมบัติการต้านเบาหวาน

4.1.3.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วทั้งหมด 11 ชนิดทั้งที่ผ่านการทำให้งอกและไม่งอก โดยใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ได้จาก porcine pancreatic ซึ่งมีสตาร์ซเป็นสารตั้งต้นทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งสามารถทราบได้ว่ามีน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่อยู่นั้น โดยการทำปฏิกิริยากับสารสี 3,5-dinitrosalicylic acid เป็น 3- amino-5 nitrosalicylic acid (จากสารสีส้มเหลืองถูกเปลี่ยนเป็นสารสีส้มแดง) โดยทำการเปรียบเทียบกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วกับ Positive control ผลปรากฏว่าสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่นำมาทดลองทั้งหมดนั้นมีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสค่อนข้างต่ำ (ในช่วงร้อยละ 4.37-26.11)

(ตารางที่ 4.1) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอะคาร์โบส (ร้อยละ 54.77) แต่พบว่าในบรรดาสารสกัดจากธัญพืชและถั่วทั้งหมดที่ศึกษา คือ ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ข้าวกล้องลืมผัว และถั่วเหลือง มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (อยู่ในช่วงร้อยละ 19.39-26.11) ซึ่งกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสมีค่าสูงกว่าสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดอื่น โดยเฉพาะข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีกิจกรรมดังกล่าวสูงที่สุด คือ ร้อยละ 26.11 ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสค่อนข้างสูงรองลงมาอีก 4 อันดับ ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก ข้าวกล้องลืมผัวงอก และถั่วเหลืองงอก (มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ร้อยละ 26.02, 25.28, 24.54 และ 23.26 ตามลำดับ) แต่ในทางตรงกันข้ามนั้นสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่ำ ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วแดง ถั่วลิสง ข้าวกล้องแดง ข้าวกล้องสินเหล็ก ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม และข้าวโพดข้าวเหนียว (กิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสอยู่ในช่วงร้อยละ 4.37-19.39)

เมื่อได้เปรียบเทียบระหว่างสารสกัดธัญพืชและถั่วปกติ (ไม่ผ่านการทำให้งอก) กับชนิดที่ผ่านการทำให้งอก พบว่าสารสกัดธัญพืชและถั่วชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกที่มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วลิสง ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และข้าวโพดข้าวเหนียว ในทางตรงกันข้ามสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่ผ่านการทำให้งอกที่มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก คือ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ข้าวกล้องแดง ข้าวกล้องสินเหล็ก ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม และข้าวโพดข้าวเหนียว

4.1.3.2 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วทั้งหมด 11 ชนิด โดยใช้เอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสที่ได้จาก rat-intestinal acetone powder ซึ่งมีสาร 4-nitrophenel α-D-glucoparanoside (PNPG) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ดังกล่าวแล้วถูกไฮโดรไลซ์เกิดเป็นสาร *p*-nitrophenol ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง โดยทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือ สารอะคาร์โบส เมื่อพิจารณาจากตาราง 4.1 จะพบว่าสารอะคาร์โบสมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสสูงกว่าสารสกัดทุกชนิด (สารอะคาร์โบสมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ร้อยละ 54.89) เมื่อเปรียบเทียบในบรรดาสารสกัดด้วยกันจะพบว่าในสารสกัดจากข้าวกล้องแดงมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสได้สูงที่สุด (ร้อยละ 12.82) รองลงมานั้นเป็นข้าวกล้องลืมผัวงอก (ร้อยละ 11.88) ข้าวโพดข้าวเหนียว (ร้อยละ 11.54) ถั่วดำงอก (ร้อยละ 10.53) และข้าวกล้องสินเหล็กงอก (ร้อยละ 10.44) ส่วนสารสกัดชนิดอื่นๆ เช่น สารสกัดจากถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วแดง ถั่วลิสง และข้าวโพดข้าวเหนียวทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก พบว่ามีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสค่อนข้างต่ำ คือ ร้อยละ 4.40–9.18 เมื่อนำสารสกัดแต่ละสารสกัดมาเปรียบเทียบกันระหว่างชนิดปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) กับชนิดที่ผ่านการทำให้งอก พบว่ามีสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวกล้องแดง ข้าวกล้องสินเหล็ก ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม และข้าวโพดข้าวเหนียว ตรงกันข้ามกับสารสกัดจากถั่วดำ ถั่วแดง และข้าวกล้องไรซ์เบอรี่ที่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส

ของชนิดที่ผ่านการทำให้งอกสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก

จากการวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคสิเดสได้ดี ผลงานวิจัยนี้สอดคล้องกับการรายงานของ McCue และคณะ (2005) ที่พบว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองทั้งหมดที่ทดสอบมีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมแอลฟา-อะไมเลส โดยใช้สารสกัดจากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* มีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสสูงสุดแต่มีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-กลูโคสิเดสเพียงเล็กน้อย ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเป็นเพราะผลของสารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณมากในถั่วเหลือง ดังเช่นผลงานวิจัยของ Ademiluyi และ Obeh (2013) ที่ได้พบว่าสารสกัดจากถั่วเหลือง (จากประเทศไนจีเรีย) ที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูงสามารถยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคสิเดสได้ ซึ่งเขาได้ทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกชนิด Free phenolic ที่ทำการสกัดด้วยอะซิโตนร้อยละ 80 และชนิด Bound phenolic ที่ทำการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต พบว่ากิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสของ Bound phenolic extract (IC_{50} 320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงกว่ากิจกรรมการยับยั้งของ Free phenolic extract (IC_{50} 526.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในเอนไซม์ชนิดนี้ ในทางตรงกันข้ามพบว่า Free phenolic extract (IC_{50} 373.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) มีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-กลูโคสิเดสที่สูงกว่า Bound phenolic extract (IC_{50} 458.72 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนั้นการบริโภคถั่วเหลืองอาจมีส่วนช่วยป้องกันโรคเบาหวานได้ ดังรายงานการวิจัยของ Ademiluyi และคณะ (2014) ซึ่งได้ศึกษาผลการต้านเบาหวานของอาหารถั่วเหลืองหมักในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นโรคเบาหวาน (streptozotocin-induce diabetic rats) โดยได้ทดลองให้หนูที่เป็นโรคเบาหวานกินอาหารถั่วเหลืองหมักปริมาณร้อยละ 10 แล้วตรวจหาระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดวันที่ 1, 7 และ 14 ผลปรากฏว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดวันที่ 1 เท่ากับ 350.0 mg/dL วันที่ 7 เท่ากับ 210.8 mg/dL และวันที่ 14 เท่ากับ 89.4 mg/dL ชี้ให้เห็นว่าอาหารถั่วเหลืองหมักมีผลต่อการลดระดับของน้ำตาลกลูโคสในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน เช่นเดียวกับการรายงานของ Hiroyuki และคณะ (2001) ซึ่งได้พบว่าการให้ผู้ป่วยเบาหวานกิน Touchi-Extract (TE) ซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองของจีนที่ผลิตจากถั่วเหลืองหมัก มีผลช่วยลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของผู้ป่วยได้ ดังนั้นสารสกัดจาก Touchi ซึ่งมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-กลูโคสิเดสและยังมี anti-hyperglycemic effect อาจช่วยปรับปรุง glycemic control ในผู้ป่วยเบาหวานประเภท non-insulin-dependent ได้

สารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัวกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคสิเดสได้ค่อนข้างดี ปรียชยา (2555) ได้กล่าวว่าข้าวเหนียวลืมผัวเป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีดำ ไวต่อช่วงแสง อายุสั้น เก็บเกี่ยวประมาณกลางเดือนตุลาคม ลักษณะทรงกอตั้ง ต้นแข็งไม่ล้มง่าย รวงค่อนข้างแน่น เมื่อระยะน้ำนมกลีบดอกเปลี่ยนสีเป็นแถบสีม่วงบนพื้นสีเขียวอ่อน ต่อมาเมื่อเข้าระยะแป้งแข็งสีกลีบดอกจะเปลี่ยนเป็นสีฟางแถบม่วงดำ และเมื่อเข้าระยะสุกแก่สีเปลือกเมล็ดเปลี่ยนเป็นสีฟางแถบดำหรือสีฟาง ปรเมศ (2551) ได้กล่าวว่าสารสีม่วงแดงจนถึงสีดำที่พบในบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดของข้าวเหนียวดำหรือข้าวก่ำนั้น เป็นรงควัตถุที่เกิดจากการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในต้นข้าว ซึ่งแบ่งออกได้เป็นแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน อภิชาติ (2553) ได้ทำการวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว โดยพบว่าข้าวเหนียวดำลืมผัว (เขาค้อ) มีปริมาณแอนโทไซยานิน 46.56 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และข้าวเหนียวดำลืมผัว (แพร่) มีแอนโทไซยานิน 14.35 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม นอกจากนี้มีรายงานว่าสารแอนโทไซยานินจากสารสกัด purple rice มีผลช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นโรคเบาหวานได้ (Chen และคณะ, 2016) นอกจากนี้ยัง

มีอีกหลายงานวิจัยที่รายงานว่าสารแอนโทไซยานินที่ได้จากผักและผลไม้ต่างๆ นั้นมีประโยชน์ต่อร่างกายเป็นอย่างมาก ดังผลการทดลองของ Jayaprakasam และคณะ (2005) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารแอนโทไซยานิน 9 ชนิดในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจาก pancreatic β-cell ของหนูพบว่า delphinidin-3-glucoside และ cyaniding-3-galactoside เป็นสารที่มีประสิทธิสูงที่สุดในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินที่ระดับน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 4 และ 10 มิลลิโมลาร์ และจากงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2011) พบว่าสารแอนโทไซยานินจากสารสกัดจากบ๊วย (Chinese bayberry extract) สามารถช่วยป้องกันเบต้าเซลล์ของตับอ่อน (pancreatic β-cell) ที่เกิดจากการตายของเซลล์และเนื้อเยื่อที่พบในรูปแบบของนีโครสิส (necrosis) และอะพอพโทสิส (apoptosis) ที่ถูกชักนำโดยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ดังนั้นการรับประทานข้าวเหนียวลืมผัวซึ่งมีสารแอนโทไซยานินสูงอาจช่วยต้านเบาหวานได้ สารสกัดจากข้าวกล้องสินเหล็กมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคสิเดสได้ค่อนข้างดีปานกลาง ดวงจันทร์ (2557ก) ได้กล่าวว่าข้าวพันธุ์สินเหล็กเป็นข้าวที่พัฒนาขึ้นโดยศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าวมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เป็นข้าวที่ผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิล (พันธุ์พ่อ) และข้าวขาวดอกมะลิ (พันธุ์แม่) ข้าวชนิดนี้จัดว่ามีคุณสมบัติพิเศษ คือ มีธาตุเหล็กสูง (15-21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ คือ ร้อยละ 58 นอกจากนี้ยังพบสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในปริมาณที่สูง ได้แก่ วิตามินอี ปริมาณ 680 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม และแกมมา-โอไรซานอล (Gamma Oryzanol) ปริมาณ 372 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร เป็นต้น โดยนักวิจัยจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และมหาลัยมหิดลได้ทำการศึกษาผลของการรับประทานข้าวกล้องพันธุ์สินเหล็กในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยการให้รับประทานข้าวสินเหล็กวันละ 2 มื้อ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ต่อระดับน้ำตาลและปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหัวใจ พบว่าเป็นข้าวที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำช่วยแก้ปัญหาโรคเบาหวานได้ ทำให้สภาวะการดื้อต่ออินซูลินลดลง และตับอ่อนมีประสิทธิภาพการทำงานที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ค่าเฉลี่ยของไขมันไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ลดลงอีกด้วย ซึ่งในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวานนั้น สามารถทำได้โดยการควบคุมอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่จะทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้น จึงควรรับประทานอาหารที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำๆ และยังพบว่าในข้าวกล้องมีค่าดัชนีน้ำตาลน้อยกว่าข้าวซ้อมมือ และข้าวสวย (55, 64 และ 71 ตามลำดับ) เนื่องจากแป้งในข้าวกล้องเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนซึ่งการย่อยจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ทำให้สามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ ส่วนข้าวขาวเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยว การย่อยจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นกัน ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลกับฮอร์โมนอินซูลิน ทำให้น้ำตาลเกิดการสะสมในเลือดมากขึ้น (พัชรี, 2551) ซึ่งข้าวกล้องสินเหล็กมีใยอาหารที่อยู่ในรำข้าวสูงจึงช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาล ทำให้ระดับน้ำตาลขึ้นช้ากว่าการบริโภคข้าวชนิดอื่น ดังนั้นข้าวพันธุ์สินเหล็กจึงเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ส่งผลดีในระยะยาวสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานและผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก (ดวงจันทร์, 2557ก)

สารสกัดจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสได้ค่อนข้างดีเล็กน้อย Leardhamolkarn และคณะ (2011) ได้กล่าวว่าข้าวไรซ์เบอรี่เป็นข้าวดำสายพันธุ์ใหม่ของไทยที่ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาเมื่อเร็วๆนี้ โดยมีจุดประสงค์เพื่อให้ผู้บริโภคได้ประโยชน์ด้านโภชนาการที่เหมาะสม รวมทั้งเป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคโลหิตจาง และผู้ป่วยโรคเบาหวาน เพราะข้าวไรซ์เบอร์รี่มีธาตุเหล็กในปริมาณที่สูง และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ต่ำ ซึ่ง ประเทืองศรี (2551) ได้รายงานว่ามีสารสำคัญหลายชนิดที่พบมากในส่วนของรำข้าว (rice bran) ได้แก่ เส้นใยอาหาร วิตามินอี วิตามินบี และสารต้านอนุมูลอิสระ โดย Posuwan และ

คณะ (2013) ได้ทำการศึกษาอาหารเสริมจากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อสภาวะเครียดออกซิเดทีฟ (oxidative strees) ในหนูที่เป็นโรคเบาหวานและได้รับอาหารที่มีไขมันสูง พบว่าการที่ให้หนูที่เป็นโรคเบาหวานได้กินอาหารเสริมจากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้น สามารถช่วยลดระดับของมาลอนได-แอลดีไฮด์ (malondialdehyde) และยังช่วย restore เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) คะตาเลส (catalase) กลูตาไทโอน เพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) โคเอนไซม์ คิวเทน (coenzyme Q_{10}) ระดับ ORAC (oxygen radical absorbance capacity) ในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน และยังช่วยปรับปรุง regenerative change ของตับอ่อน ไต หัวใจ และตับ ชี้ให้เห็นว่าสารอาหารจากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นสามารถก่อให้เกิดผลดีต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน โดยการลดสภาวะเครียดออกซิเดทีฟ และยังช่วยฟื้นฟูกลไกการทำงานของอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย (organ histology) ให้ทำงานได้อย่างปกติ สอดคล้องกับการรายงานของ ดวงจันทร์ (2557ข) ที่ได้รายงานว่าผลิตภัณฑ์เสริมอาหารไฮเบอร์รี่ เป็นสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งวิจัยและพัฒนาโดยความร่วมมือของศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยโภชนาการ และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นี้ในแง่ของการลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้หนูในการทดลอง พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นโรคเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และ LDL (ไขมันเลว) ได้อีกด้วย ซึ่งสารที่พบในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ คือ สารลูพีออล (lupeol) ซึ่งเป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มสเตอรอยด์ (steroids) มีการรายงานว่าสารกลุ่มนี้เป็นสารยับยั้งเซลล์มะเร็งและแก้ไขปัญหาหลอดเลือดแข็งตัวได้ดี เนื่องจากสารลูพีออลมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านเบาหวานในสารสกัดจากธัญพืช

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Anti-oxidant activity [a]	Total Phenolic content [a] (mg GAE/g extract)±SD	Diabetes inhibition [a]	
		FRAP assay (mmol Fe (II)/g extract)±SD		α-amylase Inhibition (%)±SD	α-glucosidase Inhibition (%)±SD
Vigna radiata (L.) R. Wilcz.	ถั่วเขียวงอก	0.006±0.000	204.17±3.61	14.070±0.25	9.18±0.17
	ถั่วเขียว	0.012±0.001	189.58±3.61	16.14±0.26	6.56±0.31
Phaseolus mungo L.	ถั่วดำงอก	0.042±0.003	195.83±3.61	15.18±0.72	9.17±0.22
	ถั่วดำ	0.196±0.004	285.42±3.61	16.71±1.44	10.53±0.65
Phasecolus vulgaris L.	ถั่วแดงงอก	0.044±0.001	197.92±3.61	17.80±0.19	8.66±0.35
	ถั่วแดง	0.396±0.002	477.17±9.68	13.38±0.10	9.29±0.24
Glycine max (L.) Merrill	ถั่วเหลืองงอก	0.089±0.002	247.92±3.61	23.27±0.36	10.23±0.18
	ถั่วเหลือง	0.037±0.002	189.58±3.61	19.63±0.31	8.53±0.12
Arachis hypogaea L.	ถั่วลิสงงอก	0.006±0.005	141.67±3.61	15.26±0.04	7.22±0.22
	ถั่วลิสง	0.005±0.004	193.75±0.00	17.21±0.32	4.61±0.46
Oryza sativa var.Glutinosa	ข้าวกล้องลืมผัวงอก	0.294±0.001	516.67±3.61	24.55±0.20	11.88±0.24
	ข้าวกล้องลืมผัว	1.170±0.005	1,704.17±3.61	26.02±0.20	3.03±0.27
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	0.441±0.004	656.25±6.25	25.29±0.28	4.40±0.10
	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	0.658±0.007	833.33±3.61	26.12±0.18	4.69±0.22
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องแดงงอก	0.283±0.003	385.42±3.61	10.65±0.23	12.82±2.32
	ข้าวกล้องแดง	0.321±0.002	372.92±3.61	8.29±0.45	9.21±0.44
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องสินเหล็กงอก	0.198±0.005	343.75±0.00	19.39±0.19	10.44±0.17
	ข้าวกล้องสินเหล็ก	0.291±0.002	129.17±3.61	9.43±1.18	7.88±0.22
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมงอก	0.190±0.002	335.42±3.61	4.37±1.16	11.54±0.22
	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม	0.185±0.003	304.17±3.61	9.86±0.16	9.07±0.48
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวงอก	0.249±0.002	837.50±0.00	11.24±0.37	8.50±0.41
	ข้าวโพดข้าวเหนียว	0.463±0.002	1,010.42±3.61	11.29±0.42	4.41±0.23
	BHT	0.117±0.003	-	-	-
	Acarbose	-	-	54.78±0.24	54.89±0.29

[a] คือ จำนวนค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

4.1.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

จากการศึกษาหาสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ หลังจากการย่อยแล้วยังคงมีสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่เหลืออยู่ในปริมาณสูงแสดงว่าสารสกัดชนิดนั้นมีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง และมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่ดี เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่นำมาทดลอง ชนิดที่มีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง คือ ถั่วลิสง ถั่วเขียวงอก ข้าวกล้องสินเหล็ก ข้าวกล้องลืมผัวงอก และถั่วดำงอก อยู่ในช่วง (511.66-614.71 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) โดยเฉพาะถั่วลิสงงอก มีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 614.71 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมนี้ค่อนข้างสูงรองลงมา 4 อันดับ ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วลิสงงอก ถั่วเหลืองงอก และข้าวกล้องลืมผัว มีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์อยู่ในช่วง (416.32-459.97 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้สารสกัดที่มีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ต่ำที่สุด คือ ถั่วเขียว มีค่าเท่ากับ 53.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่ผ่านการทำให้งอกกับชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก พบว่าธัญพืชและถั่วชนิดที่ผ่านการทำให้งอกที่มีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ถั่วเขียว ข้าวกล้องลืมผัว ถั่วดำ ถั่วเหลือง ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวกล้องแดง และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ในทางตรงกันข้ามสารสกัดจากธัญพืชและถั่วชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกที่มีความสามารถที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ ถั่วลิสง ข้าวกล้องสินเหล็ก ถั่วแดง และข้าวโพดข้าวเหนียว

สารสกัดจากถั่วลิสง ถั่วเขียว ข้าวกล้องสินเหล็ก ข้าวกล้องลืมผัว และถั่วดำ มีปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง Shori (2016) ได้กล่าวว่า ธัญพืชอุดมไปด้วยแหล่งของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน แร่ธาตุ เส้นใยอาหาร และยังประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น การกระตุ้นการเจริญเติบโตของ Lactobacilli และ Bifidobacteria ในลำไส้ใหญ่ Mudgil และ Barak (2013) ได้กล่าวว่า โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่มี degree of polymerization ตั้งแต่ 3 ถึง 10 พบได้ตามธรรมชาติในพืชที่ใช้เป็นอาหารซึ่งส่วนใหญ่พบในผัก ผลไม้ และธัญพืช เมื่อบริโภคโอลิโกแซคคาไรด์เข้าไปจะมีส่วนที่ไม่ถูกย่อย ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น Bifidobacteria และ Lactobacillus ชนิดต่างๆ ซึ่งจากการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าการรับประทาน GOS (Galactooligosaccharides), FOS (Fructooligo- saccharides) และอินนูลิน สามารถช่วยเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ ในขณะเดียวกันก็ลดจำนวนของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย รวมถึงช่วยเพิ่มการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่เป็นประโยชน์ เช่น บิวทีเรท (butyrate) ช่วยในการเพิ่มการดูดซึมแคลเซียม แมกนีเซียม และช่วยปรับปรุงการกำจัดสารพิษ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	reducing sugar (mg/g extract) ± SD	total sugar (mg/g extract) ± SD	Indigestible polysaccharide [a] (mg / g extract) ± SD
Vigna radiata (L.) R. Wilcz.	ถั่วเขียวงอก	76.42±4.53	656.62±5.66	580.19±5.71
	ถั่วเขียว	61.96±2.14	115.25±0.47	53.29±2.15
Phaseolus mungo L.	ถั่วดำงอก	150.23±1.83	661.90±5.69	511.66±4.50
	ถั่วดำ	62.38±2.24	247.22±1.41	184.84±1.08
Phasecolus vulgaris L.	ถั่วแดงงอก	57.38±1.57	442.82±0.92	385.44±2.47
	ถั่วแดง	78.74±1.53	538.71±1.06	459.97±1.63
Glycine max (L.) Merrill	ถั่วเหลืองงอก	46.84±2.62	490.32±1.55	443.48±1.61
	ถั่วเหลือง	42.73±3.80	238.27±1.73	195.54±4.70
Arachis hypogaea L.	ถั่วลิสงงอก	42.73±3.80	486.81±1.49	444.07±2.34
	ถั่วลิสง	42.20±4.96	656.90±3.63	614.71±6.23
Oryza sativa var.Glutinosa	ข้าวกล้องลืมผัวงอก	270.41±7.23	788.57±2.30	518.16±6.24
	ข้าวกล้องลืมผัว	299.52±5.72	715.84±1.83	416.32±5.51
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	137.91±1.69	372.44±1.70	234.53±0.50
	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	69.16±1.91	234.90±2.12	165.74±3.62
Oryza sativa L.	ข้างกล้องแดงงอก	73.33±0.74	312.32±1.55	238.99±1.53
	ข้าวกล้องแดง	59.58±2.45	192.37±0.53	132.80±2.93
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องสินเหล็กงอก	230.17±3.64	437.83±1.44	207.66±4.73
	ข้าวกล้องสินเหล็ก	45.53±2.44	583.58±4.02	538.06±5.63
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมงอก	328.21±2.53	697.65±4.83	369.45±2.34
	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม	381.07±0.38	553.08±1.61	172.02±1.36
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวงอก	258.98±4.91	388.86±2.17	129.88±2.74
	ข้าวโพดข้าวเหนียว	353.92±4.04	737.84±1.93	383.91±2.19

[a] คือ จำนวนค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

4.2 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่ว

4.2.1 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่วที่ทำการเก็บรักษาจนครบ 14 วัน ทั้งหมด 4 ชนิด โดยทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ด้วยวิธี FRAP method ถ้าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงว่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มก็จะยิ่งมากเช่นกัน เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในตารางที่ 4.3 จะสังเกตได้ว่าน้ำนมจากถั่วทั้งหมดมีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงกว่าน้ำนมจากข้าวทั้งหมด โดยชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุด และมีค่าสูงกว่า BHT คือ น้ำนมถั่วแดง มีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.322 มิลลิโมลเฟอรัสต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม ในส่วนของน้ำนมข้าวชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุด และมีค่าสูงกว่า BHT คือ น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว มีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.216 มิลลิโมลเฟอรัสต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม แต่ในทางกลับกันน้ำนมจากข้าวที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ต่ำ และมีค่าต่ำกว่า BHT คือ ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีความสามารถในการรีดิวซ์ เท่ากับ 0.034 มิลลิโมลเฟอรัสต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) กับชนิดที่ผ่านการทำให้งอกโดยพบว่าน้ำนมชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ น้ำนมถั่วแดง น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ในทางตรงกันข้ามน้ำนมชนิดที่ผ่านการทำให้งอก มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก คือ น้ำนมถั่วเหลือง

4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิก

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่วที่ทำการเก็บรักษาจนครบ 14 วัน ทั้งหมด 4 ชนิดพบว่าเครื่องดื่มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงจะอยู่ในช่วง 1,456.67-1,838.15 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม ได้แก่ น้ำนมถั่วแดง และน้ำนมถั่วเหลือง โดยที่น้ำนมถั่วแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (1,838 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม) รองลงมาอีก 2 อันดับ ได้แก่ น้ำนมถั่วแดงงอก 1,690.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม) และน้ำนมถั่วเหลืองงอก (1,556.57 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม) ส่วนเครื่องดื่มที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างต่ำ คืออยู่ในช่วง 452.96-915.93 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม ได้แก่ น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก เมื่อนำเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วทั้งหมดมาเปรียบเทียบกัน ระหว่างชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก พบว่าเครื่องดื่มชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัว ในทางตรงกันข้ามพบว่ามีเครื่องดื่มชนิดที่ผ่านการทำให้งอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ น้ำนมถั่วแดง และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่

4.2.3 สมบัติการต้านเบาหวาน

4.2.3.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่วที่ทำการเก็บรักษาจนครบ 14 วัน ทั้งหมด 4 ชนิด โดยทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือ สารอะคาร์โบส เมื่อพิจารณาจากตาราง 4.3 พบว่าสารอะคาร์โบสมีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงกว่าเครื่องดื่มทุกชนิด (สารอะคาร์โบสมีกิจกรรมยับยั้งเอนไซม์ร้อยละ 71.92) แต่เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในบรรดาเครื่องดื่มด้วยกัน ผลปรากฏว่าน้ำนมถั่วแดงมีกิจกรรมการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงสูงที่สุด (ร้อยละ 11.34) รองลงมาอีก 2 อันดับ คือ น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก (ร้อยละ 10.34) และน้ำนมถั่วแดงงอก (ร้อยละ5.76) ในทางตรงกันข้ามพบว่าเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วที่มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่ำ ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัวทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก คือ ร้อยละ 2.05-3.21 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วชนิดปกติ (ที่ไม่ผ่านการทำให้งอก) กับชนิดที่ผ่านการทำให้งอก พบว่าธัญพืชและถั่วที่ไม่ผ่านการทำให้งอกมีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ได้แก่ น้ำนมถั่วแดง น้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัว ยกเว้นน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่มีกิจกรรมการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสชนิดที่ผ่านการทำให้งอกสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก

4.2.3.2 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่วหลังจากการเก็บรักษาจนครบ 14 วัน ทั้งหมด 4 ชนิด โดยทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือ สารอะคาร์โบส เมื่อพิจารณาจากตาราง 4.3 พบว่าสารอะคาร์โบสมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสสูงกว่าสูงกว่าเครื่องดื่มทุกชนิด (สารอะคาร์โบสมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ร้อยละ 57.59) โดยที่น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกมีค่ากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสสูงที่สุด (ร้อยละ 36.14) รองลงมาอีก 2 อันดับ ได้แก่ น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก (ร้อยละ 29.69) และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ (ร้อยละ 26.07) ในทางตรงกันข้ามพบว่าเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วที่มีค่ากิจกรรมการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสค่อนข้างต่ำ คือ อยู่ในช่วงร้อยละ 12.10-17.56 ได้แก่ น้ำนมถั่วแดง และน้ำนมถั่วเหลืองทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก เมื่อนำเครื่องดื่มทั้งหมดมาทำการเปรียบเทียบกันจะพบว่าน้ำนมส่วนใหญ่ ได้แก่ น้ำนมถั่วแดง น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว และน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ชนิดที่ผ่านการทำให้งอกจะมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสได้สูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก ยกเว้นน้ำนมถั่วเหลืองที่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก

ตารางที่ 4.3 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านเบาหวานในเครื่องดื่มน้ำนมจากธัญพืชและถั่ว

ชื่อไทย	Anti-oxidant activity [a]	Total Phenolic content [a]	Diabetes inhibition [a]	
	FRAP assay (mmol Fe (II)/100 ml beverage)±SD	(mg GAE/ 100 ml beverage)±SD	α-amylase Inhibition (%)±SD (เครื่องดื่ม 100 ml)	α-glucosidase Inhibition (%)±SD (เครื่องดื่ม 100 ml)
น้ำนมถั่วแดงงอก	0.297±0.0013	1,690.00±5.56	5.76±0.17	17.56±0.21
น้ำนมถั่วแดง	0.322±0.0023	1,838.15±3.21	11.34±0.26	15.74±0.24
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	0.310±0.0023	1,556.67±5.56	3.18±0.19	12.10±0.15
น้ำนมถั่วเหลือง	0.265±0.0022	1,456.67±5.56	3.21±0.17	12.13±0.22
น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	0.199±0.0039	915.93±3.21	2.05±0.10	29.69±0.07
น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	0.216±0.0012	812.22±5.56	2.36±0.11	24.95±0.10
น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	0.034±0.0008	452.96±3.21	10.34±0.19	36.14±0.04
น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	0.144±0.0015	652.96±3.21	3.60±0.20	26.07±0.16
BHT	0.085±0.0029	-	-	-
Acarbose	-	-	71.92±0.24	57.59±0.12

[a] คือ จำนวนค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

4.3 การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียในเครื่องดื่มธัญพืชและถั่ว

4.3.1 การอยู่รอดของแบคทีเรียทั้งหมดในเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาการรอดชีวิตของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่วทั้ง 4 ชนิดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าหลังการเก็บรักษาครบ 7 วัน น้ำนมจากธัญพืชและถั่วส่วนใหญ่มีการรอดชีวิตน้อยกว่าร้อยละ 50 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากเชื้อเริ่มต้น (100 เปอร์เซ็นต์) ยกเว้นน้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอกมีการรอดชีวิตร้อยละ 52.03 น้ำนมจากธัญพืชและถั่วที่มีการรอดชีวิตรองลงมาอีก 2 อันดับ คือ น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัว มีการรอดชีวิตร้อยละ 45.40 และ 38.77 ตามลำดับ น้ำนมจากธัญพืชและถั่วที่มีการรอดชีวิตค่อนข้างต่ำมาก คือ น้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วแดง และน้ำนมถั่วเหลืองงอก (การรอดชีวิตอยู่ในช่วงร้อยละ 21.84-25.66) หลังการเก็บรักษาครบ 14 วัน พบว่าน้ำนมจากธัญพืชที่มีการรอดชีวิตสูงกว่าน้ำนมชนิดอื่นๆ คือ น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ (การรอดชีวิตร้อยละ 40.59) และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก (การรอดชีวิตร้อยละ 38.70) และน้ำนมจากธัญพืชและถั่วที่มีการรอดชีวิตไม่สูงมาก ได้แก่ น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัว (การรอดชีวิตอยู่ในช่วงร้อยละ 25.87-28.11) แต่ในทางกลับกันน้ำนมจากธัญพืชและถั่วที่มีการรอดชีวิตน้อยที่สุด คือ น้ำนมถั่วแดงงอก มีการรอดชีวิตเพียงร้อยละ 13.87

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในน้ำนมจากธัญพืชและถั่วโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดของน้ำนมจากธัญพืชและถั่ว	การรอดชีวิต (ร้อยละ)		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
น้ำนมถั่วแดงงอก	$100±0.00^{a}$	$32.21±26.32^{ab}$	$13.87±9.45^{b}$
น้ำนมถั่วแดง	$100±0.00^{a}$	$23.28±3..82^{b}$	$21.20±4.89^{b}$
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	$100±0.00^{a}$	$25.66±7.06^{b}$	$23.28±5.45^{b}$
น้ำนมถั่วเหลือง	$100±0.00^{a}$	$21.84±4.65^{b}$	$15.82±7.46^{b}$
น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	$100±0.00^{a}$	$52.03±7.52^{a}$	$38.70±12.51^{a}$
น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	$100±0.00^{a}$	$38.77±15.73^{ab}$	$25.87±11.43^{ab}$
น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	$100±0.00^{a}$	$33.90±9.83^{ab}$	$28.11±2.92^{ab}$
น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	$100±0.00^{a}$	$45.40±6.36^{ab}$	$40.59±6.71^{a}$

หมายเหตุ a และ b ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างทั้งหมดในเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.4 พบว่าก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส น้ำนมจากธัญพืชและถั่วทุกสูตรมีค่า pH เริ่มต้นใกล้เคียงกัน คือ มีค่า pH เป็นกรดเล็กน้อย อยู่ในช่วง 6.15-6.75 เมื่อทำการเก็บรักษาจนครบ 7 วัน พบว่าน้ำนมถั่วแดงและน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก มีค่า pH ลดลงเล็กน้อย คือ ลดลงเพียง 0.26-0.58 หน่วยพีเอช (หรือมีค่า pH 5.99-6.32) โดยเฉพาะในน้ำนมถั่วเหลืองงอกและน้ำนมถั่วแดงมีค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ pH เริ่มต้น ส่วนน้ำนมข้าวกล้องลืมผัวและน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ทั้ง 2 ชนิด ทั้งที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอกนั้น มีค่า pH ลดลงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ ลดลง 1.57-2.19 หน่วยพีเอช (หรือมีค่า pH 4.21-5.18) และเมื่อทำการเก็บรักษาจนครบ 14 วัน น้ำนมถั่วแดงและน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก มีค่า pH ลดลงเพียงเล็กน้อย คือ มีค่า pH ระหว่าง 5.87-6.40 ในขณะที่น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวและน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก มีการเปลี่ยนแปลงของ pH มากกว่า โดยมีค่า pH ต่ำกว่าน้ำนมถั่วแดงและน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่งอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือมีค่า pH 3.55-4.6

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมธัญพืชและถั่วระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ชุดของน้ำนมธัญพืชและถั่ว	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่าง(±SD)		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
น้ำนมถั่งแดงงอก	6.57 ± 0.05^{ab}	5.99 ± 0.67^{a}	6.02 ± 0.38^{ab}
น้ำนมถั่วแดง	6.60 ± 0.17^{a}	6.32 ± 0.30^{a}	6.40 ± 0.12^{a}
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	6.54 ± 0.30^{ab}	6.28 ± 0.10^{a}	5.87 ± 0.14^{b}
น้ำนมถั่วเหลือง	6.55 ± 0.39^{ab}	6.14 ± 0.28^{a}	5.94 ± 0.17^{ab}
น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	6.15 ± 0.07^{b}	4.56 ± 0.23^{c}	3.69 ± 0.32^{d}
น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	6.44 ± 0.25^{ab}	4.60 ± 0.42^{bc}	3.76 ± 0.43^{d}
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก	6.75 ± 0.14^{a}	5.18 ± 0.11^{b}	4.61 ± 0.24^{c}
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่	6.40 ± 0.24^{ab}	4.21 ± 0.12^{c}	3.55 ± 0.27^{d}

หมายเหตุ a, b, c, d ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการศึกษานี้น้ำนมธัญพืชและถั่วที่มีจำนวน *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 รอดชีวิตปริมาณสูงสุดหลังจากการเก็บรักษา 14 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้แก่ น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก (5.20×10^{7} CFU/ml) ดังตารางที่ 5 (ฉ) ถึงแม้ว่าจะมีจำนวนลดลงจากจำนวนเริ่มต้น แต่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดอยู่ในระดับนี้ก็มีปริมาณที่เพียงพอที่จะทำให้ส่งผลดีต่อสุขภาพ ได้มีผู้กล่าวว่าในการรับประทานอาหารประเภทโพรไบโอติกให้ได้ประโยชน์ต่อสุขภาพ ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกนั้นควรมีจำนวนของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีชีวิตอย่างน้อย 10^{6} CFU/ml หรือ CFU/g

เมื่อถึงวันหมดอายุของผลิตภัณฑ์ตามที่มีคำแนะนำว่า therapeutic dose ต่ำสุดที่ควรได้รับต่อวันคือ 10^8-10^9 CFU/ml (Tamime และคณะ, 2005) และในการที่จำนวน *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ลดลงระหว่างการเก็บรักษานั้นอาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณออกซิเจน เนื่องจากการที่แบคทีเรียโพรไบโอติกเผชิญต่อสภาวะที่มีออกซิเจน เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียสูญเสียการรอดชีวิต (Tripathi และ Giri, 2014) Tamime และคณะ (2005) ได้กล่าวว่าออกซิเจนสามารถเข้าไปและละลายในน้ำนมได้ง่าย ในการที่จะขจัดออกซิเจนออกจากน้ำนมโพรไบโอติกจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์พิเศษทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งออกซิเจนสามารถซึมผ่านภาชนะบรรจุเข้าสู่ผลิตภัณฑ์ได้ระหว่างการเก็บรักษา โดยออกซิเจนจะมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก 3 ทาง คือ 1) เป็นพิษกับเซลล์โดยตรงซึ่งแบคทีเรียโพรไบโอติกบางชนิดจะมีความไว (sensitive) หรือได้รับอันตรายได้ง่ายในสภาวะที่มีออกซิเจนจึงทำให้เซลล์ตาย 2) ในสภาวะที่มีออกซิเจนนั้นแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จะเกิดการสร้างเปอร์ออกไซด์ (peroxide) และ 3) อนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นจากสารประกอบนี้เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นนั้นเป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย โพรไบโอติกซึ่งได้เคยมีรายงานถึงการเสริมฤทธิ์ของกรดกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการยับยั้งแบคทีเรียโพรไบโอติก นอกจากนี้ยังพบว่ามีอีกหลายปัจจัยที่จะส่งผลถึงการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก เช่น ส่วนผสมอาหาร ภาชนะที่ใช้บรรจุ และสภาวะในการเก็บรักษา เป็นต้น (Tripathi และ Giri, 2014)

Lactobacillus acidophilus TISTR 1034 ที่รอดชีวิตในน้ำนมจากธัญพืชและถั่วมีจำนวนสูงถึง 10^7 CFU/ml ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อาจเป็นเพราะในน้ำนมธัญพืชและถั่วทุกชนิดที่ผลิตมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่ค่อนข้างสูง ซึ่งสารนี้ อาจมีส่วนช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Charalampopoulos และ Pandiella (2010) ซึ่งศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* ซึ่งจัดเป็นโพรไบโอติกในสารสกัดจากข้าวมอลต์ ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ ที่มีการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 วัน พบว่าสารสกัดจากธัญพืชมีผลต่อการรอดชีวิตของ *Lactobacillus plantarum* โดยเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้อยู่รอดได้ในสารสกัดจากข้าวมอลต์ดีกว่าในสารสกัดจากข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี จุลินทรีย์ที่มีการรอดชีวิตที่ดีเกิดจากปริมาณของกรดแลคติก และความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงขึ้น ค่าความเป็นกรดด่างของธัญพืชมีค่าลดลงจากชั่วโมงที่ 0 มีค่า (อยู่ในช่วง 5.0-6.9) ถึงชั่วโมงที่ 24 มีค่า (อยู่ในช่วง 2.9-3.4) เนื่องจากความเข้มข้นของเซลล์ที่สูง นอกจากนี้มีรายงานว่า สารสกัดจากธัญพืชสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากมนุษย์ ให้มีจำนวนในช่วง 8 และ 10 log10 CFU/ml (Angelov และคณะ, 2006) การที่แบคทีเรียโพรไบโอติกมีจำนวนลดลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส Tripathi และ Giri (2014) ได้กล่าวว่ามีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการอยู่รอดของโพรไบโอติก เช่น ส่วนประกอบของอาหาร ชนิดของวัสดุบรรจุภัณฑ์ สภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (อุณหภูมิการเก็บรักษา ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณออกซิเจน และการสัมผัสกับแสง) สำหรับน้ำนมธัญพืชและถั่วในการทดลองนี้คาดว่าปริมาณออกซิเจนและค่า pH ของน้ำนมน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 มีจำนวนลดลงอย่างไรก็ตามน้ำนมธัญพืชและถั่วที่ผลิตขึ้นมานี้ หากผู้บริโภคดื่มน่าจะให้ผลดีต่อสุขภาพ (จำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกสูงถึง 10^7 CFU/ml) จากการรายงานของ Gibson และ Roberfroid (1995) แบคทีเรียโพรไบโอติกนั้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย เช่น ยับยั้งการ

เจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดอันตราย กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (stimulation of immune function) ช่วยในการย่อยและดูดซึมอาหารและแร่ธาตุ และสังเคราะห์วิตามิน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของธัญพืชและถั่วทั้ง 11 ชนิดทั้งที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก พบว่าสารสกัดที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงโดยมีความสามารถในการรีดิวซ์สูง ได้แก่ สารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัว รองลงมา คือ ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และถั่วแดง เท่ากับ 1.17, 0.625 และ 0.396 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ทำการทดสอบโดยใช้วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัว ข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 516.67–1,704.17 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่มีสมบัติการต้านเบาหวานที่สูง ได้แก่ ข้าวกล้องลืมผัวงอก ถั่วเหลืองงอก และข้าวกล้องสินเหล็กงอก โดยมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสร้อยละ 19.59–24.54 และมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์กลูโคสิเดสร้อยละ 10.23–11.88 และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูง ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วเขียวงอก และข้าวกล้องลืมผัว มีค่าเท่ากับ 614.71, 580.19 และ 518.16 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

ในการคัดเลือกธัญพืชและถั่วมาประยุกต์ใช้โดยการผลิตเป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก ซึ่งได้ทำการคัดเลือกธัญพืชและถั่วมา 4 ชนิด ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ข้าวกล้องลืมผัวงอก และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอก โดยมีการเติมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ลงเครื่องดื่ม โดยทำการศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วัน พบว่าน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ และน้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอกมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากที่สุด คือ 40.59 และ 38.70 ตามลำดับ และพบว่าน้ำนมถั่วแดงมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay มีค่าเท่ากับ 0.32 มิลลิโมลเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร และยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดอีกด้วย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1,838.15 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร และเครื่องดื่มที่มีกิจกรรมการต้านเบาหวานที่ดี ได้แก่ น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก โดยมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสร้อยละ 11.34 และมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสร้อยละ 36.14

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เครื่องดื่มที่ผลิตควรมีการปรับปรุงเรื่องของกลิ่นรส เพื่อนำไปใช้ในการต่อยอดทางการค้า
2. ในการทำเครื่องดื่มธัญพืชและถั่วต่างๆ ควรพัฒนาสูตรเครื่องดื่มให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น การผสมสูตรระหว่างธัญพืชและถั่วต่างๆ เข้าด้วยกัน เพื่อให้ร่างกายได้รับสารอาหารอย่างเต็มที่
3. ในการบรรจุน้ำนม ควรบรรจุแยกใส่ภาชนะในแต่ละวันของการทดสอบ คือ 0, 7 และ 14 เพื่อความสะดวกในการทดสอบและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2526). *ถั่วลิสง.* กรุงเทพฯ: ศูนย์การทหารราบ.

กล้า เมธากานต์. (2552). *ข้าวกล้องงอก มหัศจรรย์พันธุ์ข้าวไทย.* กรุงเทพฯ: แอล.ที.เพรส.

การุณย์ มะโนใจ. (2557). ข้าวกล้องลืมผัว อบกรอบ ปรุงรส พร้อมรับประทาน. *เทคโนโลยีชาวบ้าน, 26(570),* 112-113.

ณัฐภูมิ สุดแก้ว. (2550). หอมนิล ไรซ์เบอรี่ สินเหล็ก พันธุ์ข้าวโภชนาการสูง อาหารเลิศคุณค่า และยาเลิศคุณ. *เกษตรธรรมชาติ, 10(6),* 29 - 33

ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์. (2557ก). ข้าวต้านเบาหวาน อาหารที่คุณเลือกได้. *วารสารอาหาร, 44(2),* 15-.

ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์. (2557ข). ไฮเบอร์รี่ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่. *วารสารอาหาร, 44(2),* 55-56.

นิลวรรณ เพชรบูระณิน, จตุรพร พรศิลปทิพย์, รพีพรรณ เกตุศิระ และปรีดา ยังสุขสถาพร. (2548). *ORICE.* กรุงเทพฯ: แท่นทองชัยพัฒน์.

ปรเมศ บรรเทิง. (2551). ข้าวเหนียวดำ. *เทคโนโลยีชาวบ้าน, 20(423),* 71-72.

ประเทืองศรี สินชัยศรี. (2551). รำข้าวและจมูกข้าว (คัพพะ) เพื่อสุขภาพและความงาม. *วารสารวิทยาศาสตร์, 62(3),* 37-39.

ปรีชา บุญจูง. (2549). สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ. โอภา วัชรุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. *สารต้านอนุมูลอิสระ.* กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์.

ปรียชยา คล้ายทวน. (2555). ข้าวลืมผัว ข้าวพื้นบ้านมากคุณค่า โภชนาการสูง ข้าวดีเด่น อ.เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์. *เกษตรธรรมชาติ, 15(8),* 42-46.

พัชรี ตั้งตระกูล. (2551). ข้าวกล้องเริ่มงอกที่มี GABA สูง. *เกษตรกรรมธรรมชาติ, 11(12),* 33-37.

พิมพ์อร ศีตคุนรัตน์. (2552). *"ข้าวกล้องงอก" ราชาแห่งข้าว สุดยอดอาหารเพื่อสุขภาพ และความงาม.* กรุงเทพฯ: อมรินทร์ บุ๊ค เซ็นเตอร์.

วิภาวัน จุลยา. (2552). *ข้าวกล้องเมนูสุขภาพ.* กรุงเทพฯ: ไทยควอลิตี้บุ๊คส์.

วรวีย์ รายา. (2557). ข้าวลืมผัว. *ข่าวสารเกษตรศาสตร์, 59(3),* 1-16.

วสันต์ ชุณห์วิจิตรา. (2557). ข้าวไรซ์เบอรี่. *ข่าวสารเกษตรศาสตร์, 59(3),* 25-35.

สายสนม ประดิษฐดวง. (2551). *ข้าวในมิติของอาหารต้านโรค.* กรุงเทพฯ: ธนาเพรส.

อภิพรรณ พุกภักดี. (2546). *ถั่วเหลืองพืชทองของไทย.* กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุทัย ไชยานนท์. (2543). *ถั่วเหลือง.* กรุงเทพฯ: น้ำฝน.

อนุชิตา มุ่งงาน. (2555). *แอนติออกซิแดนท์ในธัญพืช.* มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

อภิชาต เนินพลับ, อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ, พจน์ วัจนะภูมิ และพงศา สุขเสริม. (2553). ข้าวเหนียวพันธุ์ "ลืมผัว" พันธุกรรมข้าว อนุรักษ์เพื่อคุณค่าทางโภชนาการ. *การสัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง,* 248-250.

เอกลักษณ์ ทวีโรจนกุล. (2552). Probiotic & Prebiotic คู่หูกู้วิกฤต โรคในระบบทางเดินอาหาร. *ส่งเสริมเทคโนโลยี, 35(203),* 66-72.

โอภา วัชรุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2549). *สารต้านอนุมูลอิสระ.* กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์.

Abdullah, A., Baldwin, R. E., & Minor, H. (1984). Germination effects on flatus causing factors and antinutrients of mung beans and two strains of small seeds soybeans. *Journal of Food Protection, Ames, 47(6),* 441–444.

Ademiluyi, A. O., & Oboh, G. (2013). Soybean phenolic-rich extracts inhibit keyenzymes linked to type 2 diabetes (α-amylase and α-glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology, 65,* 305-309. DOI: 10.1016/j.etp.2011.09.005.

Ademiluyi, A. O., Oboh, G., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2014). Effect of fermented soybean condiment supplemented diet on α-amylase and α-glucosidase activities in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Functional Foods, 9,* 1-9. DOI: 10.1016/j.jff.2014.04.003.

Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional food: A review. *Journal of Functional Foods, 5,* 1542-1553. DOI: 10.1016/j.jff.2013.08.009.

Anderson, J. W., Johnstone, B. M., & Cooknewell, M. E. (1995). Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *The New England Journal of Medicine, 333(5),* 276-282. DOI: 10.1056/NEJM199508033330502.

Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., & Hristozova, T. (2006). Development of a new oat-based probiotic drink. *International Journal of Food Microbiology, 112,* 75–80. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.05.015.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal, 5(1),* 9-19. DOI: 10.1097/WOX. 0b013e3182439613.

Bouchenak, M., & Lamri-Senhadji, M. (2013). Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: A review. *Journal of Medicinal Food, 16(3),* 185–198. DOI: 10.1089/jmf.2011.0238.

Brand-Williams, W., Cuvelivr, M., & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle Wissenchaft and Technologie, 28(1),* 25-30. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

Burlando, B., & Cornara, L. (2014). Therapeutic properties of rice constituents and derivatives (*Oryza sativa* L.): A review update. *Trends in food Science & Technology, 40,* 82-98. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.08.002.

Charalampopoulos, D., & Pandiella, S. S. (2010). Survival of human derived Lactobacillus plantarum in fermented cereal extracts during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology, 43,* 431-435.

Chen, Y. -F., Shibu, M. A., Fan, M. -J., Chen, M. -C., Viswanadha, V. P., Lin, Y. -L., Lai, C. -H., Lin, K. -H., Ho, T. -J., Kuo, W. -W., & Huang, C. -Y. (2016). Purple rice anthocyanin extract protects cardiac function in STZ-induced diabetes rat hearts by inhibiting cardiac hypertrophy and fibrosis. *Journal of Nutritional Biochemistry, 31,* 98-105. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.12.020.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry, 28(3)*, 350-356. DOI: 10.1021/ac60111a017.

Fardet, A., Rock, V., & Rémésy, C. (2008). Is the *in vitro* antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected *in vivo?*. *Journal of Cereal Science, 48(2)*, 258-276. DOI: doi:10.1016/j.jcs.2008.01.002.

Frayn, K. N. (2010). *Metabolic regulation a human perspective.* (3rd ed.) New Delhi: Fabulous Printers, (chapter 11).

Gibson, G. B., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition, 125*, 1401-1412.

Gunaratne, A., Wu, K., Li, D., Bentota, A., Corke, H., & cai, Y., (2013). Antioxidant acticity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties comtaining proanthocyanidins. *Food chemistry, 138*, 1153-1161. DOI: 10.1016/j.foodchem. 2012.11.129.

Hiroyuki, F., Tomohide, Y., & Kazunori, O. (2001). Efficacy and safety of Touchi Extract, an α-glucosidase inhibitor derived from fermented soybeans, in non-insulin dependent diabetic mellitus. *The Journal of Nutritional Biochemistry, 12*, 351-356. DOI: 10.1016/S0955-2863(01)00149-8.

Horton, E. S. (1995). NIDDM - the devastating disease. *Diabetes Research and Clinical Practice, 28,* S3-S11. DOI: 10.1016/0168-8227(95)01087-T.

Huang, X., Cai, W., & Xu, B. (2014). Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germination time. *Food Chemistry, 143,* 268-276. DOI: 10.1016/j.foodchem. 2013.07.080.

Jayaprakasam, B., Vareed, S. K., Olson, L. K., & Nair, M. G. (2005). Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53*, 28-31. DOI: 10.1021/jf049018+.

Kadam, S. S., & Chavan, J. K. (1998). Other Legumes. In D. K. Salunkhe, & S. S. Kadam, *Handbook of vegetable science and technology* (pp. 471-492). Rahuri: Marcel Dekker, Inc.

Keshari, A. K., Verma, A. K., Kumar, T., & Srivastava, R. (2015). Oxidative Stress: A Review. *The International Journal of Science & Technoledge, 3(7)*, 155-162.

Kim, G. N., Shin, J. G., & Jang, H. D. (2009). Antioxidant and antidiabetic activity of Dangyuja (Citrus grandis Osbeck) extract treated with *Aspergillus saitoi*. *Food Chemistry, 117*, 35-41. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.03.072.

Korakli, M., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2002). Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Journal of Applied Microbiology, 92*, 958-965.

Kozuka, C., Yabiku, K., Takayama, C., Matsushita, M., Shimabukuro, M., & Masuzaki, H. (2013). Natural food science based novel approach toward prevention and treatment of obesity and type 2 diabetes: Recent studies on brown riceand γ-oryzanol. *Obesity Research & Cliinical Practice, 7*, 165-172. DOI: 10.1016/j.orcp. 2013.02.003.

Lado, C., Then, M., Varga, I., Szóke, E., & Szentmihalyi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. *A Journal of Biosciences*, *59*, 354-358.

Leardkamolkarn, V., thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S., & Wanavijitr, A. (2011). Chemopreventive properties of the branextacted from a newly- developed Thai rice: The ricebery. *Food Chemistry, 125*, 978-985. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.09.093.

Lin, P. Y., & Lai, H. M. (2006). Bioactive compounds in legumes and their germinated products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*, 3,807–3,814. DOI: 10.1021/jf060002o.

Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Piccolo, V., Statti, G. A., Cindio, B. D., Houghton, P. J., & Menichini, F. (2008). In vitro inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of Ethnopharmacology, 119*, 109-116.

Lule, V. K., Garg, S., Tomar, S. K., Khedkar, C. D., & Nalage, D. N. (2016). Food Intolerance: lactose intolerance. In B. Caballero, P. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *The Encyclopedia of Food and Health*, 3, (pp. 43-48). Oxford: Academic Press. DOI: 10.1016 /B978-0-12-384947-2.00312-3.

Masisi, K., Beta, T., & Moghadaslan, M. H. (2016). Antioxidant properties of diverse cereal grains : A review on in vitro and in vivo studies. *Food Chemistry, 196*, 90-97. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.021.

Mazza, G., & Miniati, E. (1993). Anthocyanins in fruits, Vegetables, and Grains. *CRC Press: Boca Raton, FL*, pp. 2-10.

McCue, P., Kwon, Y. -I., & Shetty, K. (2005). Anti-diabetic and anti-hypertensive potential of sprouted and solid-state bioprocessed soybean. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 14(2)*, 145-152.

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry, 31*, 426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030.

Mridula, D., & Sharma, M. (2015). Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legume and soymilk. *LWT - Food Science and Technology, 62,* 482-487. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.07.011.

Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules, 61,* 1-6. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044.

Park, H. R., Ahn, H. J., Kim, S. H., Lee, C. H., Byun, M. W., & Lee, G. W. (2006). Determination of the phytic acid levels in infant foods using different analytical methods, *Food Control, 17,* 727-732. DOI: 10.1016/j.foodcont.2005.05.007.

Posuwan, J., Prangthip, P., Leardkamolkan, V., Yamborisut, U., Surasiang, R., Charoensiri, R., & Kongkachuichai, R. (2013). Long-term supplementation of high pigmented rice bran oil (Oryza sativa L.) on amelioration of oxidative stress and histological changes in streptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet; Riceberry bran oil. *Food Chemistry, 138,* 501-508.

Pradeep, P. M., & Sreerama, Y. N. (2015). Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: Evaluationof their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia. *Food Chemistry, 169,* 455-463. DOI: 10.1016/j. foodchem.2014.08.010.

Sancheti, S., Sancheti, S., & Seo, S. -Y. (2013). Antidiabetic and antiacetylcholinesterase effects of ethyl acetate fraction of *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne fruits in streptozotocin-induced diabetic rats. *Experimental and Toxicologic Pathology, 65,* 55-60. DOI: 10.1016/j.etp.2011.05.010.

Shahidi, F., & Naczk, M. (1951). Phenolics in food and nutraceuticals. New York: CRC Press LLC, (Chapter 2).

Shori, A. B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience, 13,* 1-8. DOI: 10.1016/j. fbio.2015.11.001.

Tamime, A. Y., Saarela, M., Søndergaard, A. K., Mistry, V. V., & Shah, N.P. (2005). Production and maintenance of viability of probiotic micro-organisms in dairy product. In A. Y. Tamime, *Probiotic dairy product* (pp. 39-72). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

Taylor, S. I. (1999). Deconstructing Type 2 Diabetes. *Cell, 97,* 9-12. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80709-6.

Tharanathan, R. N., & Mahadevamma, S. (2003). Grain legumes a boon to human utrition. *Trends in Food Science & Technology, 14*, 507-518. DOI: 10.1016/j.tifs. 2003.07.002.

Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotic during processing and storage. *Journal of Functional Foods, 9*, 225-241. DOI: 10.1016/j. jff.2014.04.030.

Vernazza, C. V., Rabiu, B. A., & Gibson, G. R. (2006). Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics. Gibson, G. R., & Rastall, R. A., *Prebiotcs development & application* (pp. 1-28). New Delhi: Thomson press.

Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A., & Ooraikul, B. (2011). Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailang. *Songklanakarin Journal Science Technology, 33(5)*, 517-523.

Xu, Z. (2012). Important Antioxidant Phytochemicalsin Agricultural Food Products. In Z. Xu, & L. R. Howard (Eds), *Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals* (pp. 1-24). Singapore: Markono Print Media Pte Ltd. DOI: 10.1002/9781118229378. ch1.

Zhang, B., Kang, M., Xie, Q., Xu, B., Sun, C., Chen, H., & Wu, Y. (2011). Anthocyanins from Chinese bayberry extract protect β-cell from oxidative stress-mediated injury via Ho-1 upregulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59*, 537-545. DOI: 10.1021/jf1035405.

Zhang, H., Shao, Y., Bao, J., & Beta, T. (2015). Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. *Food Chemistry, 172*, 630-639. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.118.

Zhou, Z., Chen, X., Zhang, M., & Blanchard, C. (2014). Phenolics, flavonoids, proanthocyanidin and antioxidant activity of brown rice with different pericarp colors following storage. *Journal of Stored Products Research, 59*, 120-125. DOI: 10.1016/j.jspr.2014.06.009.

Ziemer, C. J., & Gibson, G. R. (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *International Dairy Journal, 8*, 473-479. DOI: 10.1016/S0958-6946(98)00071-5.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS borth

ประกอบด้วย	Proteose Peptone No.3	10.0	กรัม
	Beef Extract	10.0	กรัม
	YeastExtract	5.0	กรัม
	Dextrose	20.0	กรัม
	Polysorbate 80	1.0	กรัม
	Ammonium Citrate	2.0	กรัม
	Sodium Acetate	5.0	กรัม
	Magnesium Sulfate	5.0	กรัม
	Manganese sulfate	0.05	กรัม
	Dipotassium Phosphate	2.0	กรัม
	Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

ชั่ง MRS 55 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร โดยนำไปต้มจนเดือดและคนให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำมาเทใส่หลอดอาหารพร้อมทั้งปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการเทอาหารลงจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเก็บใส่ตู้เย็น

2. MRS Agar

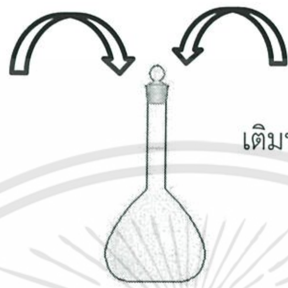
ชั่ง MRS มา 55 กรัม Agar 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร โดยนำไปต้มจนเดือดและคนให้เข้ากัน เมื่อ Agar ละลายเป็นสีใสแล้วเติมน้ำอีก 500 มิลลิลิตรลงไป หลังจากนั้นนำมาเทใส่ขวดดูแรน พร้อมทั้งปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที นำอาหารที่ได้มาเทใส่จานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว ปิดฝาแล้วนำอาหารเก็บใส่ตู้เย็นโดยการเก็บอาหารควรคว่ำจานเพาะเชื้อเพื่อไม่ให้ไอน้ำเกาะอยู่บนหน้าอาหาร

หมายเหตุ : ขั้นตอนการเทอาหารลงจานเพาะเชื้อควรทำในตู้ปลอดเชื้อลามินาร์ และในทุกขั้นตอนต้องใช้ aseptic technique เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารเคมีและเอนไซม์ชนิดต่างๆ

1. การเตรียมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยทำการปิเปตสารละลายเอทานอลปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้



รูปที่ 1 (ข) การเตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

2. การเตรียม Stock solution ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว

Stock solution ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วที่ใช้ในการทดลองจะใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม แล้วเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารสกัดให้ได้ 0.0010 กรัมนั้นเป็นไปได้ยาก และได้ปริมาณน้อยมากจึงทำได้ ดังนี้

จากสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม

ดังนั้น ชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม จะเติมสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ถ้าชั่งสารสกัด 0.0030 กรัม จะเติมสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร $\frac{1 \times 0.0030}{0.0010}$

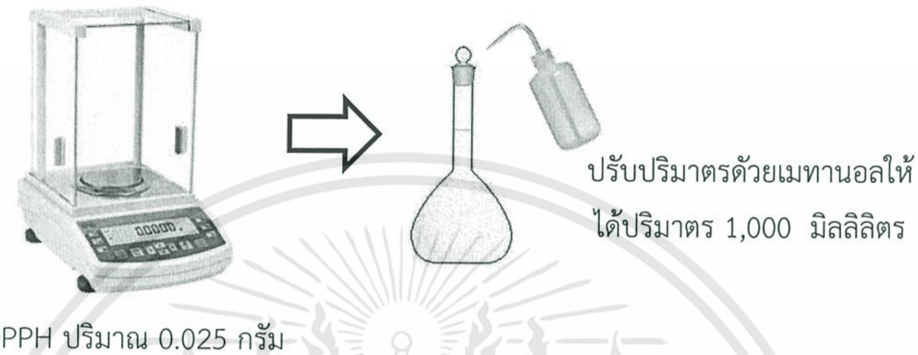
เท่ากับ 3.0 มิลลิลิตร

รูปที่ 2 (ข) การเตรียม Stock solution ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว

3. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

3.1 การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

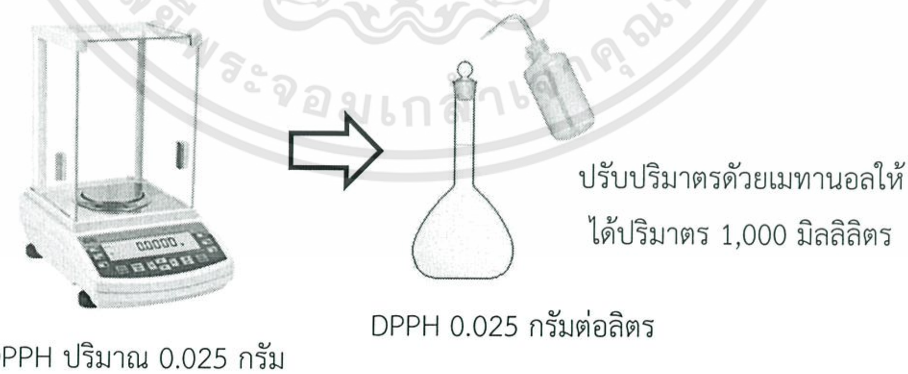
ชั่งสาร DPPH ปริมาณ 0.025 กรัม ละลายในเมทานอลเล็กน้อยแล้วทำการปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

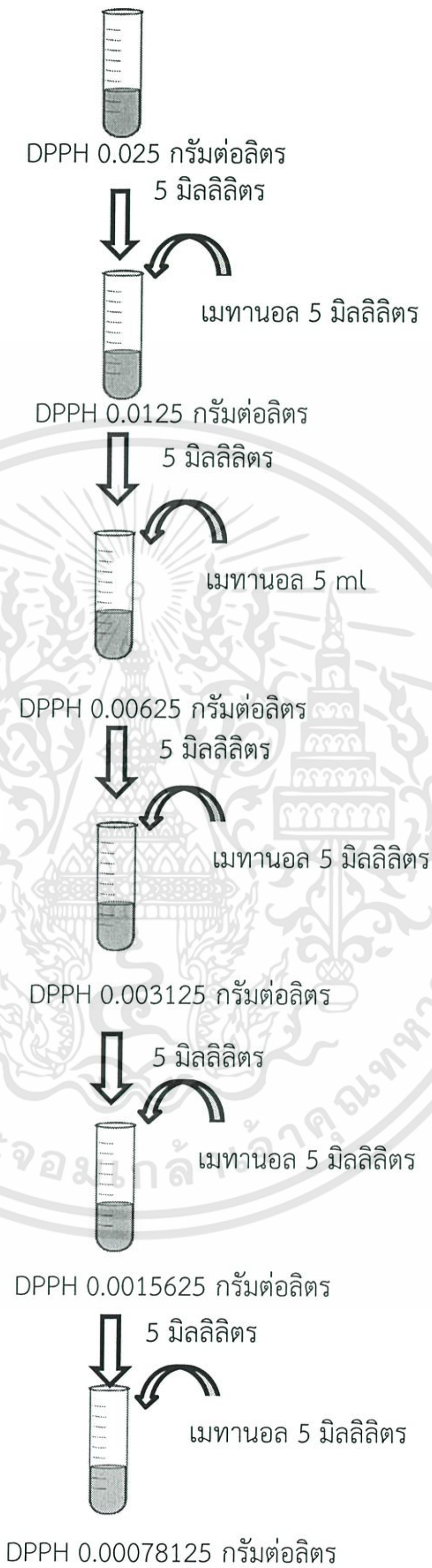


รูปที่ 3 (ข) การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

3.2 สารละลายมาตรฐานDPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

สำหรับการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015625 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร โดยทำการชั่งสารละลายมาตรฐาน DPPH ปริมาณ 0.025 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 1,000 มิลลิลิตร ดังนี้



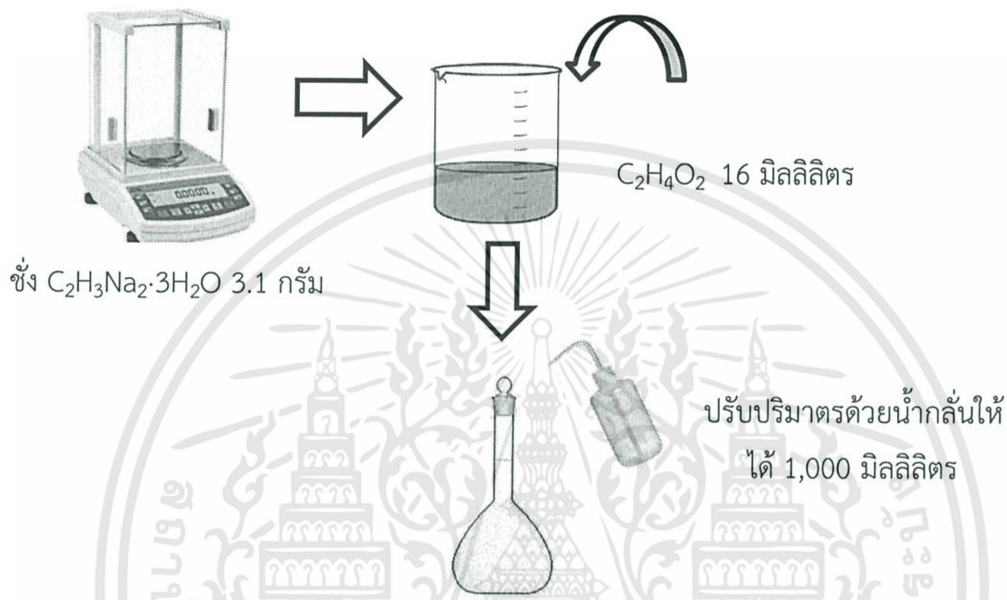


รูปที่ 4 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

4. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

4.1 การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

เตรียมได้โดยชั่งสารโซเดียมอะซิเตตไตรไฮเดรต ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$) ปริมาณ 3.1 กรัมลงในกรดอะซิติก ($C_2H_4O_2$) ปริมาตร 16 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น



รูปที่ 5 (ข) การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

4.2 การเตรียมสารละลาย 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์โดยหาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกในขวด

จากสูตร $C = 10dx / Mw$

C คือ ความเข้มข้นหน่วยเป็นนอร์มอล(N)

d คือ ความหนาแน่น

x คือ ปริมาณเนื้อกรด

Mw คือ มวลโมเลกุล

จะได้ $C = (10 \times 1.19 \times 37) / 36.5 = 12.06$ นอร์มอล

เนื่องจาก 1 โมลาร์กรดไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริก
จะได้ กรดไฮโดรคลอริกมีความเข้มข้น 12.06 โมลาร์

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ต้องการเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ หรือ 0.04 โมลาร์ จากกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 12.06 โมลาร์

จะได้ $V_1 = (0.04 \times 1,000) / 12.06 = 3.32$ มิลลิลิตร

ทำการปิเปตกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 3.32 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้ว จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

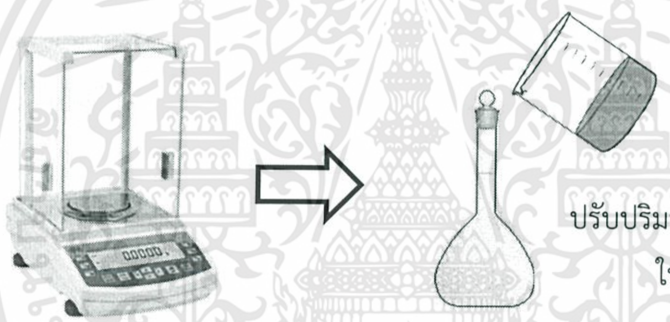
จากมวลโมเลกุลของสาร TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัมต่อโมล

ในสารละลาย 1,000 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัม

ถ้าเตรียม สารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร TPTZ เท่ากับ $\frac{10 \times 312.33}{1,000}$

เท่ากับ 3.1233 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ชั่งสาร TPTZ เท่ากับ 3.1233 กรัม ละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์และปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร



รูปที่ 6 (ข) การเตรียมสารละลาย 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

4.3 การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสาร $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัมต่อโมล

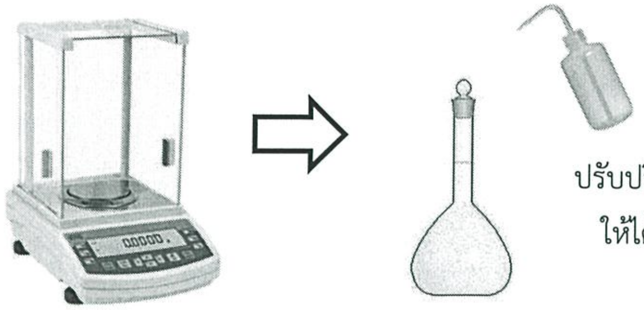
ในสารละลาย $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 1,000 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลาย $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 20 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ เท่ากับ $\frac{20 \times 270.30}{1,000}$

เท่ากับ 5.4060 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ เท่ากับ 5.4060 กรัม

ถ้าต้องการสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ เท่ากับ 0.5406 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
ให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ชั่ง $FeCl_3{\cdot}6H_2O$ 0.5406 กรัม

รูปที่7 (ข) การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3{\cdot}6H_2O$)ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

4.4 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4{\cdot}7H_2O$)

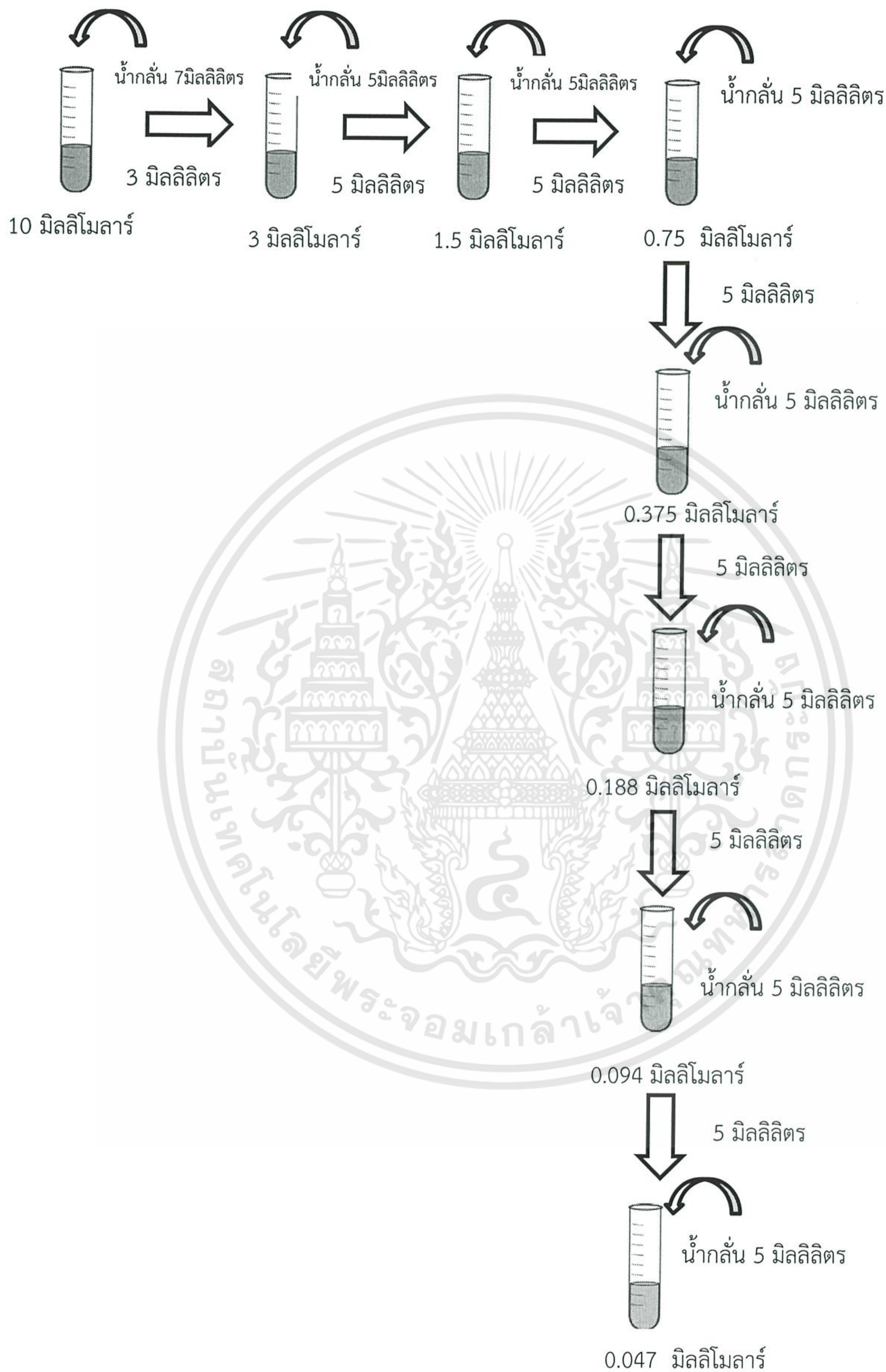
สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ทำได้โดยเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 10, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.188, 0.094 และ 0.047 มิลลิโมลต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ดังนี้

จากมวลโมเลกุลของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4{\cdot}7H_2O$) เท่ากับ 278.01 กรัมต่อโมล
เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องชั่งสาร $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ เท่ากับ 278.01 กรัมต่อลิตร
สารละลายความเข้มข้น $10{\times}10^{-3}$ โมล ต้องชั่งสาร $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ เท่ากับ 2.7801 กรัมต่อลิตร
ดังนั้นเตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ เท่ากับ 2.7801 กรัม
ถ้าต้องการเตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ เท่ากับ 0.2780 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 มิลลิลิตร

ชั่ง $FeSO_4{\cdot}7H_2O$ 0.2780 กรัม

$FeSO_4{\cdot}7H_2O$ 10 มิลลิโมลาร์



รูปที่ 8 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)

5. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว

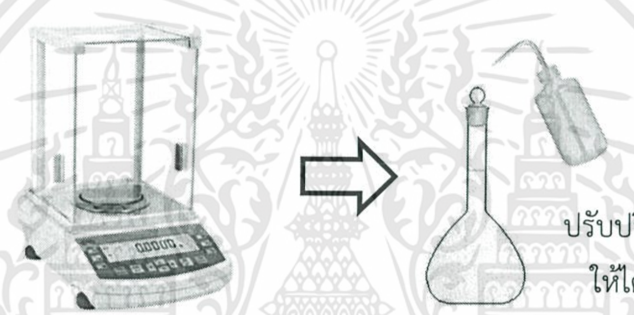
5.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร (15% (w/v) Na_2CO_3) คิดได้ดังนี้

จาก สารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สาร Na_2CO_3 15 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะใช้สาร Na_2CO_3 75 กรัม

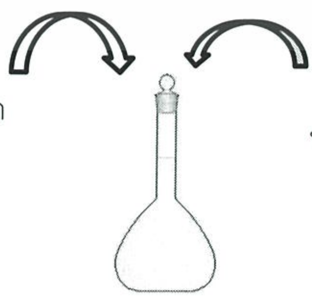
ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 500 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งสารโซเดียมคาร์บอเนตปริมาณ 75 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยจากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร



รูปที่ 9 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

5.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



รูปที่ 10 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

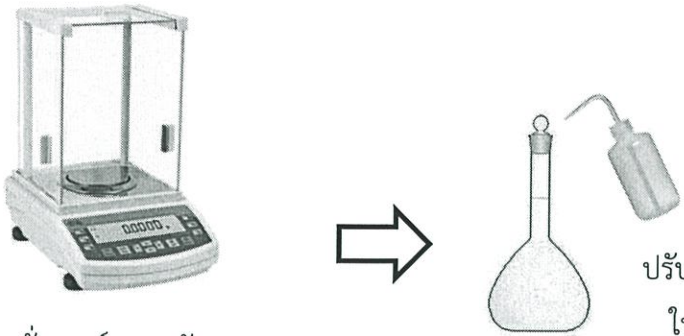
ตารางที่ 1 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (µg/ml)	ปริมาตรของกรดแกลลิก (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดแกลลิกในหลอดทดลอง (µg/ml)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,850	25
1,000	50	4,950	10

6. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วโดยวิธี Alpha-amylase inhibition

6.1 สารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ทำการเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตร (1% (w/v) Starch) ในการเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งสตาร์ท 1 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้

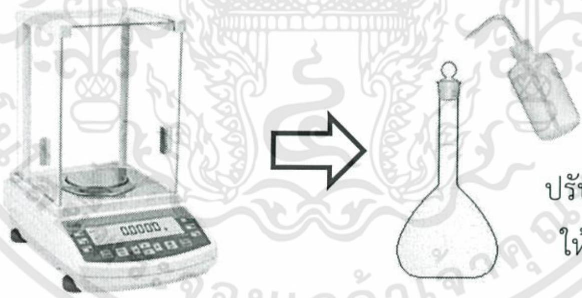


รูปที่ 11 (ข) การเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

6.2 การเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.9

จากมวลโมเลกุลของสาร Tris-HCl เท่ากับ 121.14 กรัมต่อโมล
ต้องการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ที่มีความเข้มข้น 0.5 โมลาร์หรือ 0.5 โมลต่อลิตร
ใน สารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร Tris-HCl 121.14 กรัม
ถ้าเตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ต้องใช้สาร Tris-HCl 121.14×0.5
เท่ากับ 60.57 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร Tris-HCl เท่ากับ 60.57 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้

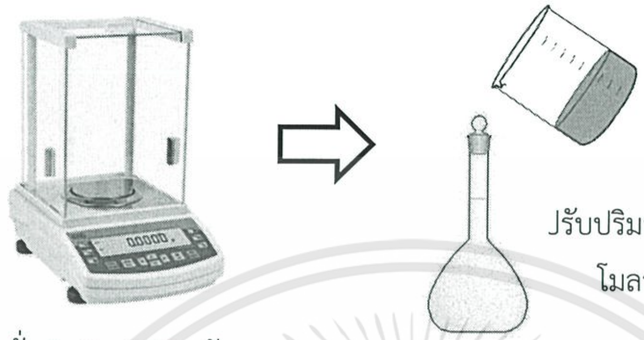


รูปที่ 12 (ข) การเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

ทำการเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 6.9 ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คิดได้ดังนี้

จากโมเลกุลของแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เท่ากับ 147.02 กรัมต่อโมล
เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ต้องใช้สาร $CaCl_2$ 147.02 กรัม
ถ้าเตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ต้องใช้สาร $CaCl_2$ 147.02×0.01
เท่ากับ 1.4702 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์พีเอช 6.9 ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรนั้น จะต้องเติมสาร $CaCl_2$ ปริมาณ 1.4702 กรัม แล้วเติมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร ดังรูป



ปรับปริมาตรด้วย Tris-HCl buffer 0.5 โมลาร์ ให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

ชั่ง $CaCl_2$ 1.47 กรัม

รูปที่ 13 (ข) การเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์

ทำการปรับสารละลาย Tris-HCl bufferความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ที่ได้ให้มีค่า pH เท่ากับ 6.9 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 3 โมลาร์

6.3 การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองหาสมบัติการต้านโรคเบาหวานจะใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน 21 มิลลิกรัม

ดังนั้น เอนไซม์ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน (0.47 x 21)/1 = 9.87 มิลลิกรัม

นำปริมาณโปรตีนมาคำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร

จาก ปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ 821 ยูนิต

ดังนั้น ปริมาณโปรตีน 9.87 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ (9.87 x 821)/1 = 8,103.27 ยูนิต

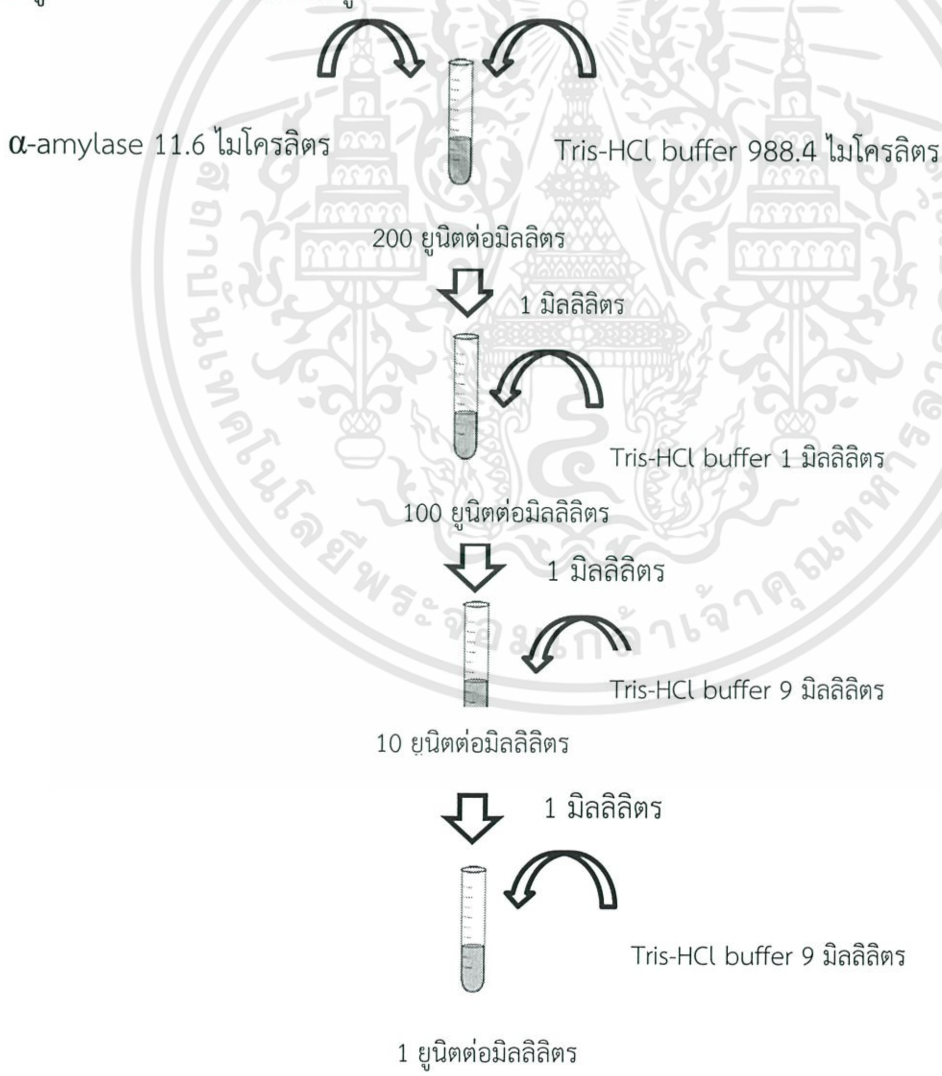
ดังนั้น เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น เท่ากับ 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร เท่ากับความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิต ต่อมิลลิลิตร ซึ่งในทางปฏิบัตินั้นการเตรียมเอนไซม์ให้ได้ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตรโดยตรงเป็นไปได้ยาก จึงนิยมเตรียมจากความเข้มข้นสูงๆแล้วทำการเจือจางให้เหลือความเข้มข้นเพียง 1 ยูนิต ต่อมิลลิลิตร โดยในที่นี้จะเตรียมจากความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียมดังนี้

จาก เอนไซม์ความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิต มีปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร

ดังนั้น เอนไซม์ความเข้มข้น 20 ยูนิต มีปริมาตร (200 x 0.47)/8,103.27 = 0.0116 มิลลิลิตร

หรือ = 11.6 ไมโครลิตร

ดังนั้น ทำการปิเปตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปริมาตร 11.6 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์พีเอช 6.9 ปริมาตร 988.4 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากันจะได้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ two-fold dilution โดยทำการปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ pH 6.9 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ ten-fold dilution โดยทำการปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์พีเอช 6.9 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยวิธีดังกล่าวอีก 1 ครั้ง จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในรูป



รูปที่ 14 (ข) การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

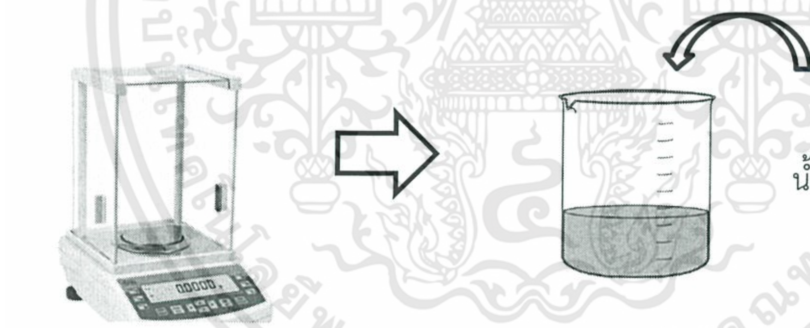
6.4 การเตรียม coloring reagent

สารผสมของสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) กับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS) ความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีวิธีการเตรียม ดังนี้

เตรียมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต โดยการชั่งสารโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) ปริมาณ 12 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดังรูป

รูปที่ 15 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$)

เตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์โดยการชั่งกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS) ปริมาณ 0.88 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 46 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดังรูป



รูปที่ 16 (ข) การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์

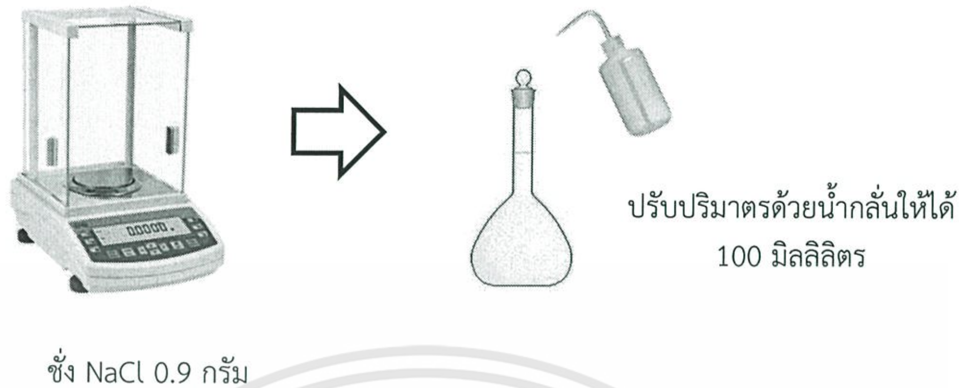
ผสมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรตในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ กับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมเข้าด้วยกันได้เป็นสาร coloring reagent

7. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว โดยวิธี Alpha-glucosidase inhibition

7.1 สารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ทำการเตรียมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 น้ำหนักต่อปริมาตร (0.9% (w/v) Saline) ในการเตรียมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรนั้น

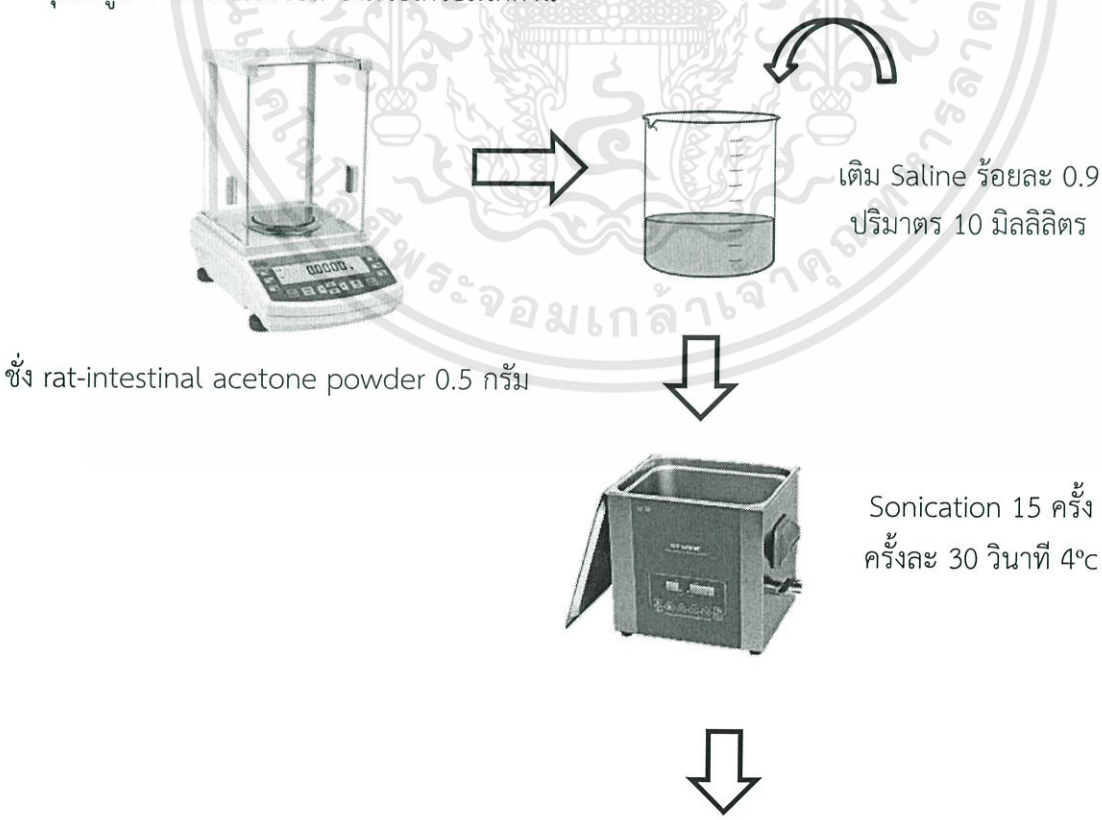
จะต้องชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.9 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งทำได้ดังนี้

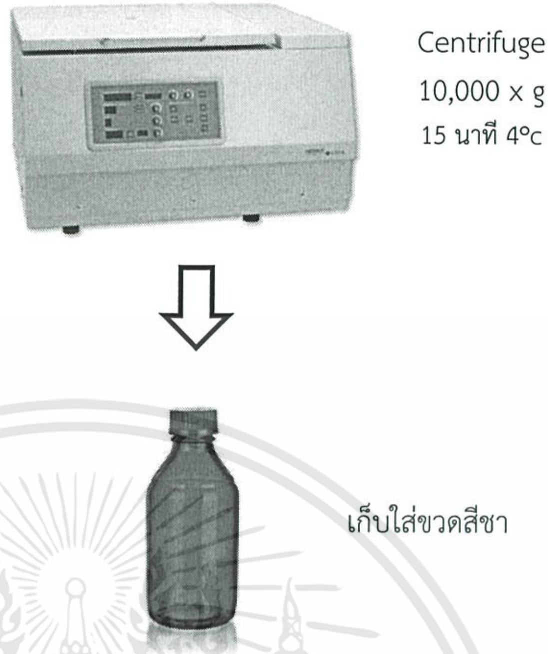


รูปที่ 17 (ข) การเตรียมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

7.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α-glucosidase

ในการเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α-glucosidase เตรียมได้โดยชั่ง ratintestinal acetone powder 0.5 กรัม แล้วเติมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ลงไปปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป sonication 15 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 แรง g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะได้เป็นสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α-glucosidase เก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้





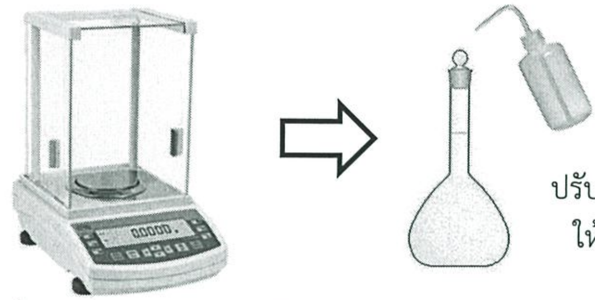
รูปที่ 18 (ข) การเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α-glucosidase

7.3 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9

Stock A : ชั่งสาร NaH_2PO_4 ปริมาณ 0.6899 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

รูปที่ 19 (ข) การเตรียม Stock A

Stock B : ชั่งสาร Na_2HPO_4 ปริมาณ 0.7098 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อยคนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร



รูปที่ 20 (ข) การเตรียม Stock B

เมื่อทำการเตรียมสารละลาย Stock A และ B แล้วให้ทำการผสมสารละลายทั้งสองชนิดในสัดส่วนดังตารางที่ 2 (ข) เพื่อให้ได้ pH ที่ต้องการ (ในที่นี้ต้องการสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ pH ≈ 6.9) จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้ากัน เก็บใส่ขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2 (ข) ปริมาณของสารละลาย Stock A และ Stock B ที่ใช้ในการเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ค่า pH	ปริมาตร Stock A (มิลลิลิตร)	ปริมาตร Stock B (มิลลิลิตร)
6.8	51.0	49.0
6.9	45.0	55.0
7.0	39.0	61.0
7.1	33.0	67.0

7.4 การเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9

ทำการเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ คิดได้ดังนี้

น้ำหนักโมเลกุล *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside เท่ากับ 301.30 กรัมต่อโมล

ใน 1 โมล มีสาร PNPG เท่ากับ 301.30 กรัม

ถ้า 5×10^{-3} โมล มีสาร PNPG = (5 x 10-3x 301.30)/1 = 1.5065 กรัม

ทำการเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คิดได้ดังนี้

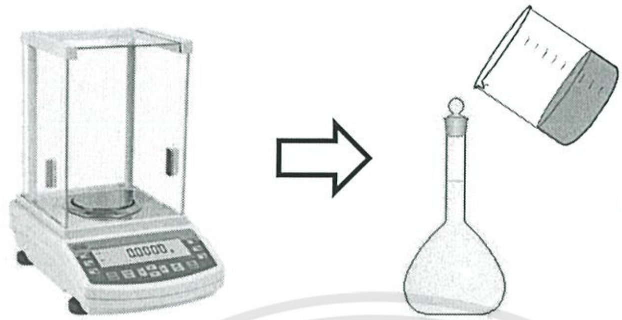
จาก สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะมีสาร PNPG = 1.5065 กรัม

ถ้า เตรียมปริมาตร 25 มิลลิลิตร จะมีสาร PNPG = (25 x 1.5065)/1,000 กรัม

= 0.0377 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

เตรียมได้โดยชั่งสาร *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside ปริมาณ 0.0377 กรัม แล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9 ลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.9 ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ดังรูป



ปรับปริมาตรด้วย
Phosphate buffer ให้ได้
25 มิลลิลิตร

ชั่ง PNPG 0.0377 กรัม

รูปที่ 21 (ข) การเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ pH 6.9

8. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

8.1 การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์นั้นจะใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน 21 มิลลิกรัม
ดังนั้น เอนไซม์ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน $(0.47 \times 21)/1 = 9.87$ มิลลิกรัม

นำปริมาณโปรตีนมาคำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร

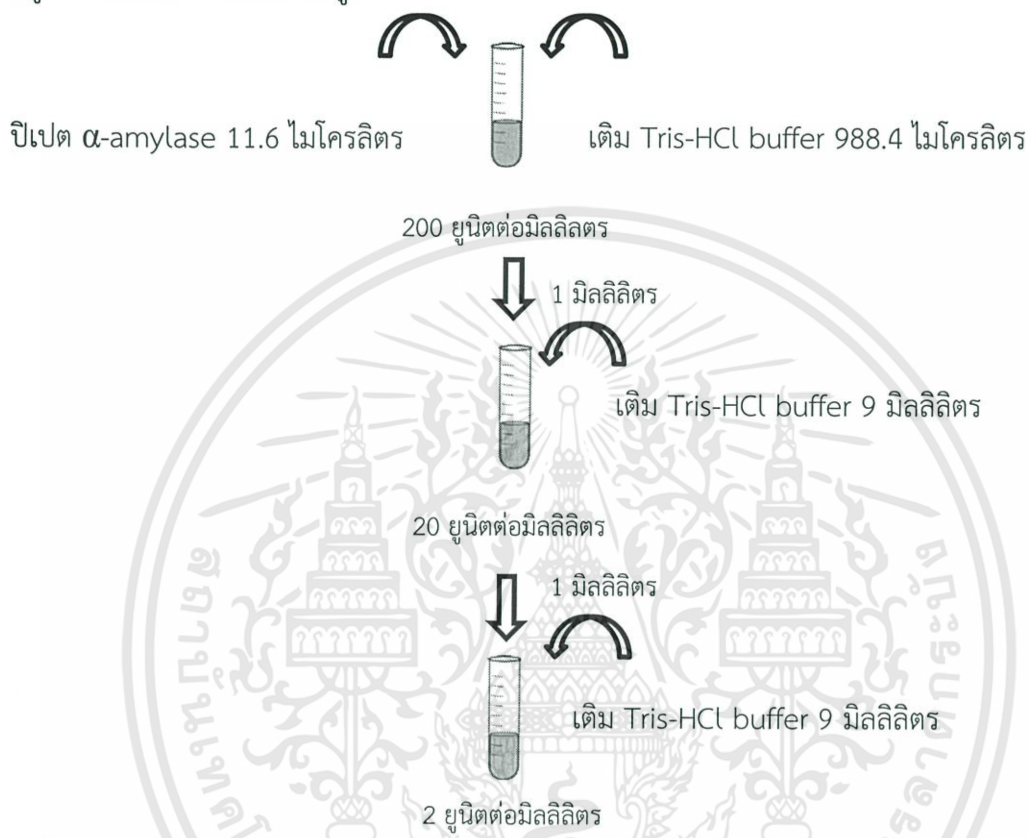
จาก ปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม มี เนื้อสารของเอนไซม์ 821 ยูนิต
ดังนั้น ปริมาณโปรตีน 9.87 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ $(9.87 \times 821)/1 = 8{,}103.27$ ยูนิต

ดังนั้น เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร เท่ากับความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งในทางปฏิบัตินั้นการเตรียมเอนไซม์ให้ได้ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรโดยตรงเป็นไปได้ยาก จึงนิยมเตรียมจากความเข้มข้นสูงๆแล้วทำการเจือจางให้เหลือความเข้มข้นเพียง 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยในที่นี้จะเตรียมจากความเข้มข้น 200 ยูนิต ต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิต มีปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร
ดังนั้น เอนไซม์ความเข้มข้น 200 ยูนิต มีปริมาตร $(200 \times 0.47)/8{,}103.27 = 0.0116$ มิลลิลิตร
หรือ = 11.6 ไมโครลิตร

ดังนั้นทำการปิเปตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสปริมาตร 11.6 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Tris-HCl buffer (ตามวิธีการ 6.2) ปริมาตร 988.4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจะ

ได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ ten-fold dilution โดยทำการปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Tris-HCl buffer ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยวิธีดังกล่าวอีก 1 ครั้ง จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในรูป



รูปที่ 24 **(ข)** การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

8.2 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอกริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer)

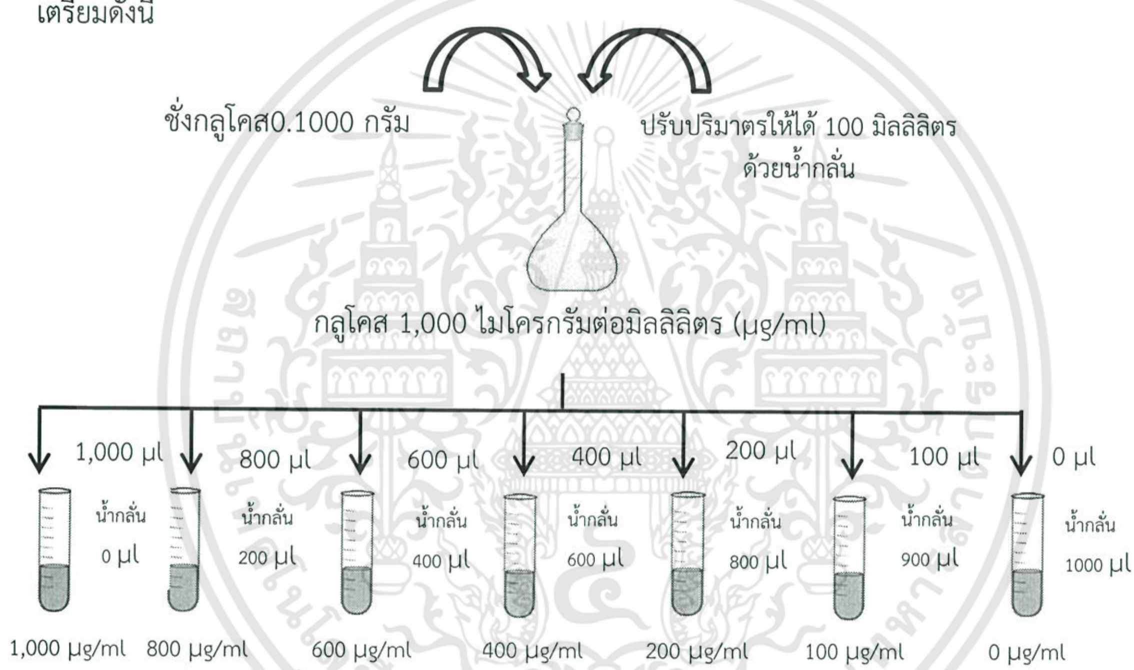
การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอกริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) ทำได้โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 8 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.2 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟตไดไฮเดรต ($Na_2HP_4{\cdot}2H_2O$) 8.25 กรัม โซเดียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟต ($NaH_2{\cdot}2PO_4$) 14.35 กรัม แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2{\cdot}2H_2O$) 0.1 กรัม และแมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MgCl_2{\cdot}6H_2O$) 0.18 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย คนให้ละลาย จากนั้นเทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร และทำการปรับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) ที่ได้ให้มีพีเอชเท่ากับ 1 ด้วยกรดไฮโดรคลอ-ริกเข้มข้น 5 โมลาร์

8.3 การเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicyric acid (DNS)

การเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicyric acid (DNS) ทำได้โดยชั่งสาร DNS ปริมาณ 10 กรัมลงในบีกเกอร์จากนั้นเติมนำกลั่นปริมาณเล็กน้อยคนให้ละลายโดยใช้เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (hot plate stirrer) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายหมดแล้วจึงเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ปริมาณ 300 กรัม ลงไปแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

8.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200, 100 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้



รูปที่ 25 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS)

ตารางที่ 4 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (µg/ml)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (µg/ml)
1,000	1,000	0	1,000
1,000	800	200	800
1,000	600	400	600
1,000	400	600	400
1,000	200	800	200
1,000	100	900	100
1,000	0	1,000	0

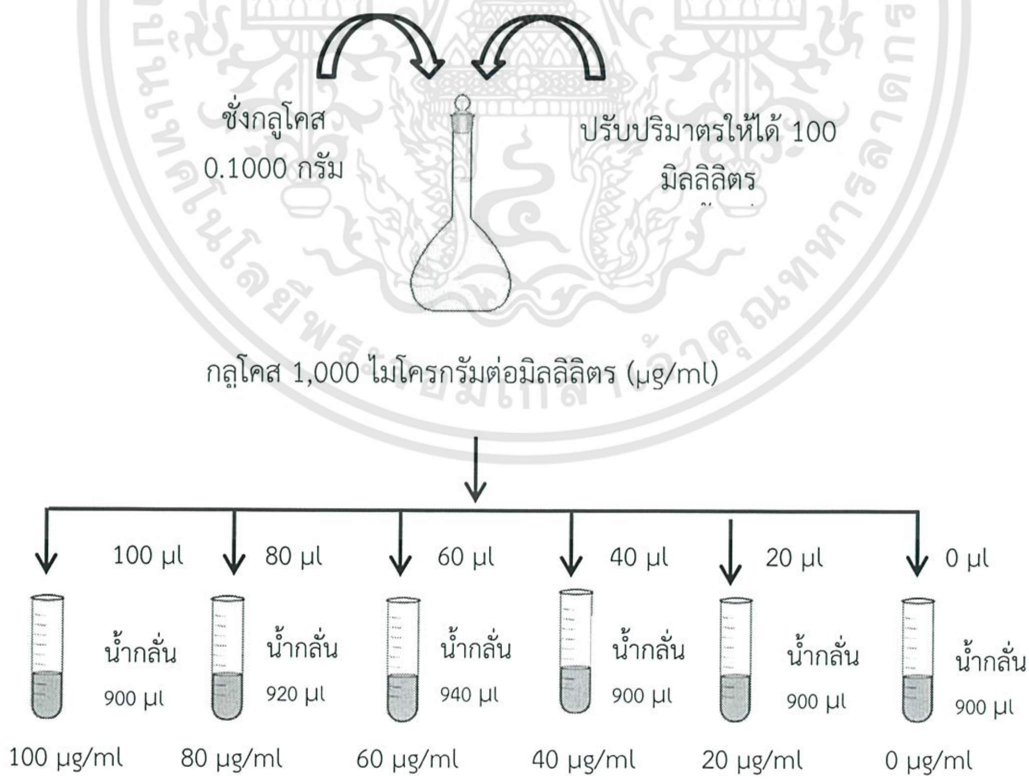
8.5 สารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5

ทำการเตรียมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เตรียมได้โดยชั่งสารฟีนอลปริมาณ 12.5 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้

รูปที่ 26 (ข) การเตรียมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5

8.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40, 20 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้



รูปที่ 27 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

ตารางที่ 5 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (μg/ml)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส (μl	ปริมาตรของน้ำกลั่น (μl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (μg/ml)
1,000	100	900	100
1,000	80	920	80
1,000	60	940	60
1,000	40	960	40
1,000	20	980	20
1,000	0	1,000	0

ภาคผนวก ค
การคำนวณ

1. การคำนวณสารหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว (Lado และคณะ, 2004)

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตจะทำการทดลองตามวิธีการเดียวกับสารสกัดตัวอย่าง ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ดังในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆจะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตรอยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต 3 มิลลิโมล

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 3 \text{ มิลลิโมล}}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$

= 0.0003 มิลลิโมล

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

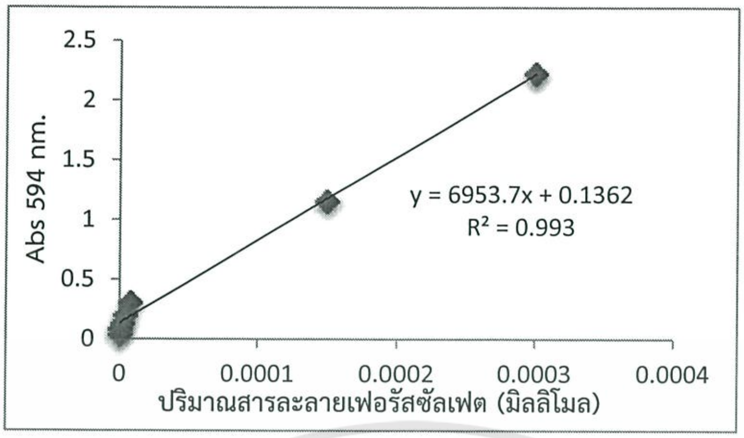
ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตรอยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต 1.5 มิลลิโมล

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 1.5 \text{ มิลลิโมล}}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$

= 0.00015 มิลลิโมล

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟตอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 0.0003, 0.00015, 0.0000075, 0.00000375, 0.00000188, 0.000000094 และ 0.000000047 มิลลิโมลตามลำดับ มาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมลได้ดังนี้

กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอรัสซัลเฟต



รูปที่ 1 (ค) กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอรัสซัลเฟตสำหรับการวิเคราะห์คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร และปริมาณสารละลายเฟอรัสซัลเฟต (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่างที่ 1.1 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัว โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรของสารสกัดข้าวกล้องลืมผัวแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต

สารสกัดข้าวกล้องลืมผัว มีค่า A_{594} เท่ากับ 0.952

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต

$$y = 6953.7x + 0.1362$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

แทนค่า $0.925 = 6953.7x + 0.1362$

$$x = \frac{0.925 - 0.1362}{6953.7}$$

$$= 1.17 \times 10^{-4} \text{ มิลลิโมล}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดข้าวกล้องลืมผัวที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิโมลของเฟรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น ในสารสกัด 0.1 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ 1.17×10^{-4} มิลลิโมล

ถ้า สารสกัด 1 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ $\frac{1.17 \times 10^{-4} \text{ มิลลิโมล}}{0.1 \text{ มิลลิกรัม}}$

ถ้า สารสกัด 1,000 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ $\frac{1.17 \text{X} 10^{-4}}{0.1} \times 1{,}000$

เท่ากับ 1.17 มิลลิโมลต่อกรัมสารสกัด

เพราะฉะนั้น สารสกัดข้าวกล้องลืมผัวมีปริมาณเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 1.17 มิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

2. การคำนวณสารหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว (Zhou และคณะ, 2014)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากธัญพืชและถั่วซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{1{,}000 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 100 \text{ ไมโครกรัม}$$

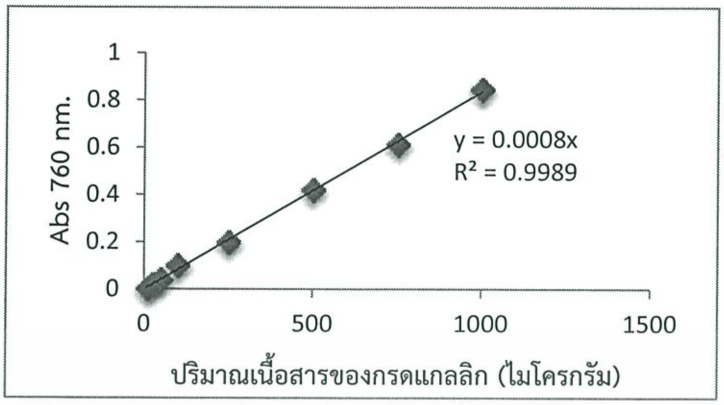
<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 75 \text{ ไมโครกรัม}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้

กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก



รูปที่ 2 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่าง 2.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัว (ซ้ำที่ 1) คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัว แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัว มีค่า $Abs._{760}$ เท่ากับ 0.135

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$y = 0.0008x$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.135 = 0.0008x$

$$x = \frac{0.135}{0.0008}$$

$x = 168.75$ ไมโครกรัมกรดแกลลิก

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 168.75 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\dfrac{168.75 \times 1 \text{ มิลลิกรัม}}{0.1 \text{ มิลลิกรัม}}$

เท่ากับ 1,687.50 ไมโครกรัมกรดแกลลิก

ดังนั้น สารสกัด 1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ $\frac{1,687.50}{1,000}$

ถ้าสารสกัด 1,000 มิลลิกรัม (1 กรัม) จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ $\frac{1,687.50 \times 1,000}{1,000}$

เท่ากับ 1,687.50 มิลลิกรัมกรดแกลลิก

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1,687.50 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว (Sancheti และคณะ, 2013)

ตัวอย่าง 3.1 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของหลอดควบคุม และหลอดสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ แทนค่าลงในสูตรหาร้อยละการยับยั้ง ดังนี้

หลอด	$Abs._{540}$
ควบคุม (control)	1.4
สารสัดหยาบจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	1.035
Blank	0

สูตรการคำนวณ

$$\%\ \text{การยับยั้งเอนไซม์}\ \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\%\ \text{การยับยั้งเอนไซม์}\ \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\%\ \text{การยับยั้งเอนไซม์}\ \alpha\text{-amylase} = 100 \times (1.4 - 1.035) / 1.4$$

$$\%\ \text{การยับยั้งเอนไซม์}\ \alpha\text{-amylase} = 26.07$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสร้อยละ 26.07

4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว (Kim และคณะ, 2009)

ตัวอย่าง 4.1 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องแดงงอกคิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของหลอดควบคุมและหลอดสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องแดงงอกแทนค่าลงในสูตรหาร้อยละการยับยั้ง ดังนี้

หลอด	$Abs._{540}$
ควบคุม (control)	2.941
สารสัดหยาบจากข้าวกล้องแดงงอก (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	2.555
Blank	0

สูตรการคำนวณ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 100 \times (2.941 - 2.555) / 2.941$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 13.13$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องแดงงอกมีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา- อะไมเลสร้อยละ 13.13

5. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้หลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Dubois และคณะ, 1956)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) ซึ่งในการทดลองนั้นจะใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่เท่ากับ

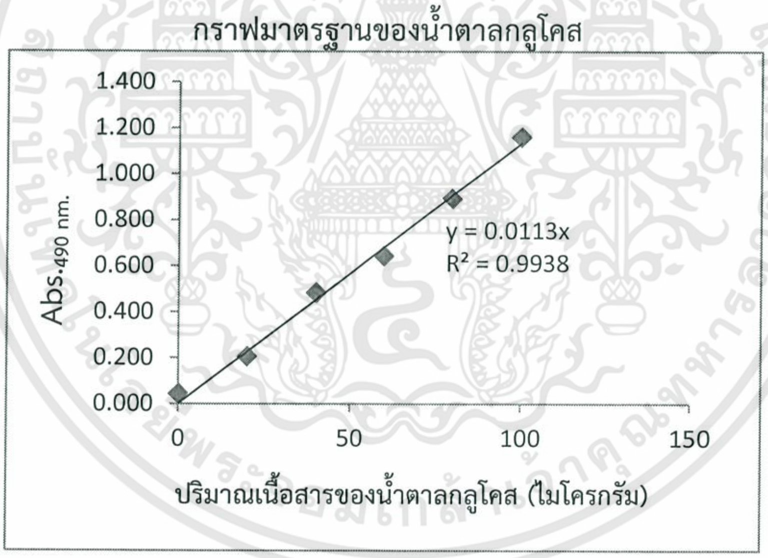
$$\frac{100\ \text{ไมโครกรัม} \times 1\ \text{มิลลิลิตร}}{1\ \text{มิลลิลิตร}} = 100\ \text{ไมโครกรัม}$$

<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่เท่ากับ

$$\frac{80\ \text{ไมโครกรัม} \times 1\ \text{มิลลิลิตร}}{1\ \text{มิลลิลิตร}} = 80\ \text{ไมโครกรัม}$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ใน หลอดทดลองเท่ากับ 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้



รูปที่ 5 **(ค)** กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารสกัด (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่างที่ 5.1 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (หลังการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) ของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก มีค่า $Abs._{490}$ เท่ากับ 0.892

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$y = 0.0113x$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

แทนค่า $y = 0.0113x$

$0.892 = 0.0113x$

$= 0.892 / 0.0113$ x

= 78.9380 ไมโครกรัม

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ทำการเจือจาง 10 เท่า ก่อนการวัด (เพื่อให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2 ถึง 0.8) โดยปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เท่ากับ 78.9380 ไมโครกรัม

ถ้า สารสกัด 1,000 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{78.9380 \times 1,000}{1,000}$

เท่ากับ 789,300 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ 789,380/1,000 เท่ากับ 789.38 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 789.38 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด

6. การคำนวณสารหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (DNS method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้ คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Miller (1956) ซึ่งในการทดลองนั้นจะใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

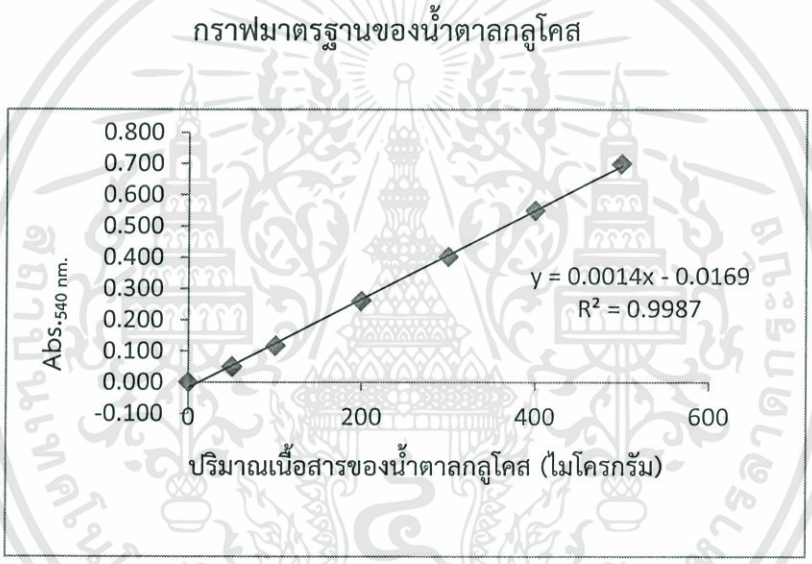
ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส เท่ากับ $\frac{1,000 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.5 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}}$ = 500 ไมโครกรัม

<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ

$$\frac{800 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.5 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 400 \text{ ไมโครกรัม}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 500, 400, 300, 200, 100 และ 50 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้



รูปที่ 6 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสกัด

ตัวอย่างที่ 6.1 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก (ก่อนย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้ สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก มีค่า $Abs._{540}$ เท่ากับ 0.178

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 0.0014x - 0.0169$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

แทนค่า y = 0.0014x – 0.0169

0.178 = 0.0014x – 0.0169

x = (0.178 + 0.0169)/ 0.0014

= 139.2143 ไมโครกรัม

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากธัญพืชและถั่วที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดหยาบ 0.5 มิลลิกรัม เท่ากับ 139.2143 ไมโครกรัม

ถ้า สารสกัด 1,000 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{139.2143 \times 1,000}{0.5}$

เท่ากับ 278,428 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ 278,428 / 1,000 เท่ากับ 278.43 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 278.43 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด

7. การหาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (Indigestible polysaccharide) ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วนั้นนั้น จะใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลืออยู่หลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบ (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 5.1) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบ (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 6.1) มาคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)
– ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

ในที่นี้จะยกตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอก

<u>จากสูตร</u>

แทนค่า Indigestible polysaccharide (mg/g extract) = 789.40 – 278.42

= 510.95 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัวงอกมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ 510.95 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด

8. การคำนวณสำหรับการหาผลได้ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว (ร้อยละของธัญพืชและถั่วแห้ง)

การคำนวณสำหรับการหาผลได้ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่วนั้น (ร้อยละของน้ำหนักธัญพืชและถั่วแห้ง) สามารถคิดคำนวณโดยการเทียบบัญญัติไตรยางศ์ ดังนี้

ถ้าใช้ธัญพืชและถั่วแห้ง A กรัม จะได้สารสกัดหยาบ B กรัม

ดังนั้น ถ้าใช้ธัญพืชและถั่วแห้ง 100 กรัม จะได้สารสกัดหยาบ (100 x B)/A กรัม

ตัวอย่าง 8.1 การคำนวณผลได้ของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก (ร้อยละของธัญพืชและถั่ว)

โดยการค่าน้ำหนักสุทธิของข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกที่ได้เทียบค่าบัญญัติไตรยางศ์ดังนี้

ถ้าใช้ธัญพืชและถั่วแห้ง 10.0084 กรัม ได้สารสกัดหยาบ 8.5062

ดังนั้น ถ้าใช้ธัญพืชและถั่วแห้ง 100 กรัม จะได้สารสกัดหยาบ (100 x 8.5062)/10.0084

เท่ากับร้อยละ 84.99

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกนั้น มีค่าผลพลอยได้ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว (ร้อยละของน้ำหนักธัญพืชและถั่วแห้ง) เท่ากับร้อยละ 84.99

หมายเหตุ: ธัญพืชและถั่วแห้งที่ใช้ในการสกัดน้ำหนักประมาณ 10 กรัม

9. การคำนวณสารหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่ว (Lado และคณะ, 2004)

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตจะทำการทดลองตามวิธีการเดียวกับเครื่องดื่ม ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ดังในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆจะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตรอยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต 3 มิลลิโมล

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต $\dfrac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 3 \text{ มิลลิโมล}}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$

= 0.0003 มิลลิโมล

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

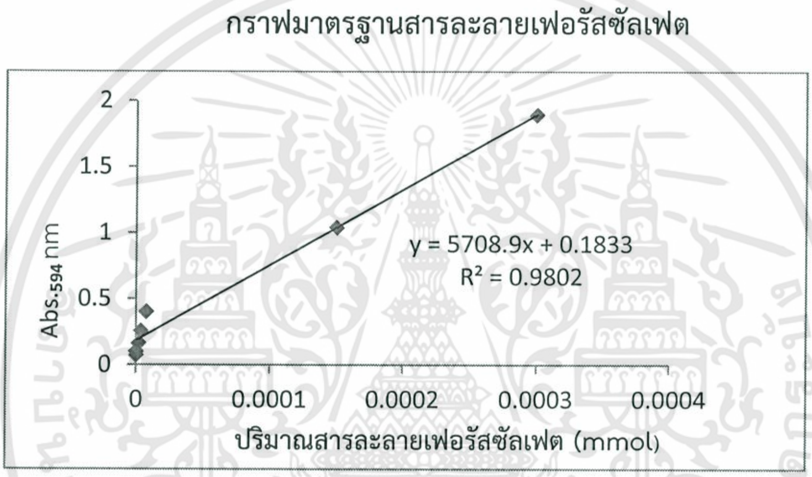
ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตรอยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต 1.5 มิลลิโมล

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 1.5 \text{ มิลลิโมล}}{1{,}000 \text{ มิลลิลิตร}}$

= 0.00015 มิลลิโมล

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟตอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 0.0003, 0.00015, 0.0000075, 0.00000375, 0.00000188, 0.000000094 และ 0.000000047 มิลลิโมลตามลำดับ มาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมลได้ดังนี้



รูปที่ 7 (ค) กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอรัสซัลเฟตสำหรับการวิเคราะห์คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร และปริมาณสารละลายเฟอรัสซัลเฟต (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่างที่ 9.1 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของน้ำนมถั่วแดง โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร ของน้ำนมถั่วแดงแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต

น้ำนมถั่วแดง มีค่า A_{594} เท่ากับ 0.366

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต

$$y = 5708.9x + 0.1833$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

แทนค่า $0.366 = 5708.9x + 0.1833$

$$x = \frac{0.366 - 0.1833}{5708.9}$$

$$= 3.20 \times 10^{-5} \text{ มิลลิโมล}$$

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า
จะได้ว่าในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 มิลลิลิตร มีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์เครื่องดื่มปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร
ในน้ำนมถั่วแดงปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร มีปริมาณเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต 3.20×10^{-5} มิลลิโมล
ถ้าน้ำนมถั่วแดงปริมาตร 100 มิลลิลิตร มีปริมาณเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต $\dfrac{3.20 \times 10^{-5} \times 100}{0.01}$

เท่ากับ 0.32 มิลลิโมล

เพราะฉะนั้น น้ำนมถั่วแดงมีปริมาณเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 0.32 มิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

10. การคำนวณสารหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่ว (Zhou และคณะ, 2014)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับเครื่องดื่มจากธัญพืชและถั่ว ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

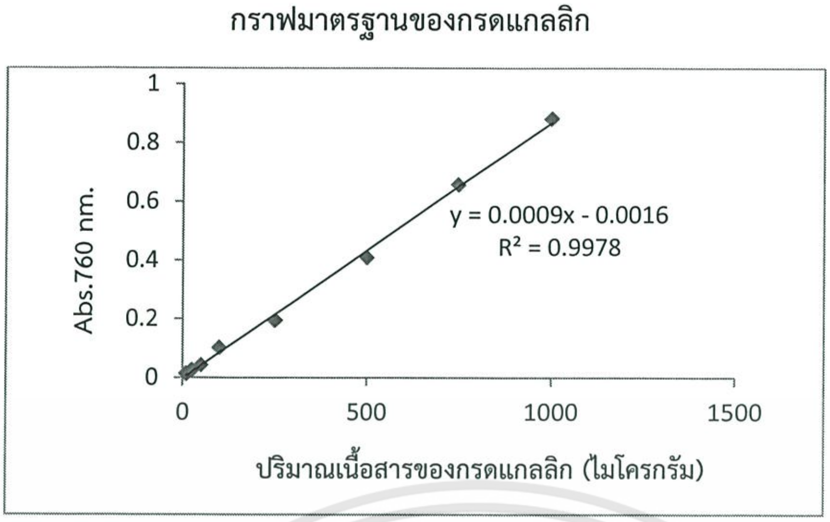
$$\frac{1{,}000 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 100 \text{ ไมโครกรัม}$$

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 75 \text{ ไมโครกรัม}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 8 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่าง 10.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำนมถั่วแดง (ซ้ำที่ 1) คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของน้ำนมถั่วแดง แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ดังนี้

น้ำนมถั่วแดง มีค่า $Abs._{760}$ เท่ากับ 0.164

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 0.0009x - 0.0016$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.164 = 0.0009x - 0.0016$

$$x = \frac{0.164 + 0.0016}{0.0009}$$

= 184 ไมโครกรัม

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า

จะได้ว่า ในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 มิลลิลิตร มีเครื่องดื่มปริสุทธิ์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์เครื่องดื่มปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร

ในน้ำนมถั่วแดงปริมาตร 0.01 มิลลิลิตรมีปริมาณเนื้อสารกรดแกลลิก 184 ไมโครกรัม

ถ้าน้ำนมถั่วแดงปริมาตร 100 มิลลิลิตรมีปริมาณเนื้อสารกรดแกลลิก $\frac{\text{184 ไมโครกรัม} \times \text{100 มิลลิลิตร}}{\text{0.01 มิลลิลิตร}}$

เท่ากับ 1.84×10^{6} ไมโครกรัม

เพราะฉะนั้น น้ำนมถั่วแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 1.84×10^{6} ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร หรือ 1.84×10^{3} มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

11. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของเครื่องดื่มธัญพืชและถั่ว (Sancheti และคณะ, 2013)

ตัวอย่าง 11.1 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของน้ำนมถั่วแดงคิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของหลอดควบคุม และน้ำนมถั่วแดงแทนค่าลงในสูตรหาร้อยละการยับยั้ง ดังนี้

หลอด	$Abs._{540}$
ควบคุม (control)	1.528
น้ำนมถั่วแดง	1.357
Blank	0

สูตรการคำนวณ

$$\boxed{\%\ \text{การยับยั้งเอนไซม์}\ \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเครื่องดื่ม

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม(control)

แทนค่าลงในสูตร

$\%$ การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase $= 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$

$\%$ การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase $= 100 \times (1.528 - 1.357) / 1.528$

$\%$ การยับยั้งเอนไซม์ α-amylase $= 11.19$

เพราะฉะนั้น น้ำนมถั่วแดงมีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสร้อยละ 11.19

12. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของเครื่องดื่มธัญพืชและถั่ว (Kim และคณะ, 2009)

ตัวอย่าง 12.1 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของหลอดควบคุมและหลอดน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกแทนค่าลงในสูตรหาร้อยละการยับยั้ง ดังนี้

หลอด	$Abs._{540}$
ควบคุม (control)	2.948
น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	1.884
Blank	0

สูตรการคำนวณ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเครื่องดื่ม

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 100 \times (2.948 - 1.884) / 2.948$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 36.09$$

เพราะฉะนั้น น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกมีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสร้อยละ 36.09

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในน้ำนมจากธัญพืชและถั่วโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วันที่ 0

Descriptives

ตัวอย่าง	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
น้ำนมถั่วแดงงอก	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมถั่วแดง	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมถั่วเหลือง	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมข้าวลืมผัวงอก	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมข้าวลืมผัว	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	24	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		.000	7	.000		
	Linear Term	Contrast	.000	1	.000		
		Deviation	.000	6	.000		
Within Groups			.000	16	.000		
Total			.000	23			

2. การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในน้ำนมจากธัญพืชและถั่วโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วันที่ 7

Descriptives

ตัวอย่าง	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
น้ำนมถั่วแดงงอก	3	32.2133	26.32197	15.19700	-33.1741	97.6007	4.03	56.16
น้ำนมถั่วแดง	3	23.2800	3.82807	2.21014	13.7706	32.7894	20.47	27.64
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	25.6633	7.06359	4.07816	8.1164	43.2103	17.53	30.26
น้ำนมถั่วเหลือง	3	21.8400	4.65742	2.68897	10.2703	33.4097	18.24	27.10
น้ำนมข้าวลืมผัวงอก	3	53.0367	7.52474	4.34441	34.3442	71.7292	44.67	59.25
น้ำนมข้าวลืมผัว	3	38.7733	15.73678	9.08563	-.3190	77.8657	23.31	54.77
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก	3	33.9067	9.83299	5.67708	9.4802	58.3332	26.10	44.95
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่	3	45.4000	6.36632	3.67560	29.5852	61.2148	38.10	49.80
Total	24	34.2642	14.73142	3.00704	28.0436	40.4847	4.03	59.25

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		2550.198	7	364.314	2.388	.071
	Linear Term	Contrast	832.886	1	832.886	5.459	.033
		Deviation	1717.312	6	286.219	1.876	.147
Within Groups			2441.144	16	152.571		
Total			4991.342	23			

Homogeneous Subsets

	ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	น้ำนมถั่วเหลือง	3	21.8400	
	น้ำนมถั่วแดง	3	23.2800	
	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	25.6633	
	น้ำนมถั่วแดงงอก	3	32.2133	32.2133
	น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก	3	33.9067	33.9067
	น้ำนมข้าวลืมผัว	3	38.7733	38.7733
	น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่	3	45.4000	45.4000
	น้ำนมข้าวลืมผัวงอก	3		53.0367
	Sig.		.055	.079

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในน้ำนมจากธัญพืชและถั่วโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียส วันที่ 14

Descriptives

ตัวอย่าง	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
น้ำนมถั่วแดงงอก	3	13.8700	9.45105	5.45656	-9.6077	37.3477	3.16	21.04
น้ำนมถั่วแดง	3	21.2067	4.89670	2.82711	9.0426	33.3707	17.47	26.75
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	23.2833	5.45718	3.15071	9.7269	36.8397	17.05	27.20
น้ำนมถั่วเหลือง	3	15.8267	7.46127	4.30777	-2.7082	34.3615	10.24	24.30
น้ำนมข้าวลืมผัวงอก	3	38.7067	12.51287	7.22431	7.6230	69.7904	24.61	48.50
น้ำนมข้าวลืมผัว	3	25.8767	11.43001	6.59912	-2.5170	54.2704	16.53	38.62
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก	3	28.1167	2.92809	1.69054	20.8429	35.3905	24.75	30.07
น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่	3	40.5900	6.71237	3.87539	23.9156	57.2644	33.17	46.24
Total	24	25.9346	11.53168	2.35389	21.0652	30.8040	3.16	48.50

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		1979.336	7	282.762	4.192	.008
	Linear Term	Contrast	1136.251	1	1136.251	16.846	.001
		Deviation	843.085	6	140.514	2.083	.113
Within Groups			1079.196	16	67.450		
Total			3058.532	23			

Homogeneous Subsets

	ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	น้ำนมถั่วแดงงอก	3	13.8700	
	น้ำนมถั่วเหลือง	3	15.8267	
	น้ำนมถั่วแดง	3	21.2067	
	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	23.2833	
	น้ำนมข้าวลืมผัว	3	25.8767	25.8767
	น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่งอก	3	28.1167	28.1167
	น้ำนมข้าวลืมผัวงอก	3		38.7067
	น้ำนมข้าวไรซ์เบอร์รี่	3		40.5900
	Sig.		.075	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4. การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมธัญพืชและถั่วระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 0

Descriptives

ตัวอย่าง	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
น้ำนมถั่วแดงงอก	3	6.5700	.05292	.03055	6.4386	6.7014	6.51	6.61
น้ำนมถั่วแดง	3	6.6033	.16503	.09528	6.1934	7.0133	6.42	6.74
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	6.5433	.30288	.17487	5.7909	7.2957	6.33	6.89
น้ำนมถั่วเหลือง	3	6.5467	.38940	.22482	5.5793	7.5140	6.26	6.99
น้ำนมลืมผัวงอก	3	6.1500	.06557	.03786	5.9871	6.3129	6.08	6.21
น้ำนมลืมผัว	3	6.4400	.24980	.14422	5.8195	7.0605	6.24	6.72
น้ำนมไรซ์เบอรี่งอก	3	6.7467	.13577	.07839	6.4094	7.0839	6.62	6.89
น้ำนมไรซ์เบอรี่	3	6.4000	.23580	.13614	5.8142	6.9858	6.20	6.66
Total	24	6.5000	.25350	.05174	6.3930	6.6070	6.08	6.99

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		.650	7	.093	1.793	.158
	Linear Term	Contrast	.025	1	.025	.480	.498
		Deviation	.625	6	.104	2.012	.124
Within Groups			.828	16	.052		
Total			1.478	23			

Homogeneous Subsets

	ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	น้ำนมลืมผัวงอก	3	6.1500	
	น้ำนมไรซ์เบอร์รี่	3	6.4000	6.4000
	น้ำนมลืมผัว	3	6.4400	6.4400
	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	6.5433	6.5433
	น้ำนมถั่วเหลือง	3	6.5467	6.5467
	น้ำนมถั่วแดงงอก	3	6.5700	6.5700
	น้ำนมถั่วแดง	3		6.6033
	น้ำนมไรซ์เบอร์รี่งอก	3		6.7467
	Sig.		.060	.117

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

5. การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมธัญพืชและถั่วระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 7

Descriptives

ตัวอย่าง	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
น้ำนมถั่วแดงงอก	3	5.9933	.67002	.38684	4.3289	7.6578	5.22	6.40
น้ำนมถั่วแดง	3	6.3233	.29704	.17150	5.5854	7.0612	5.99	6.56
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	6.2800	.10149	.05859	6.0279	6.5321	6.17	6.37
น้ำนมถั่วเหลือง	3	6.1433	.28449	.16425	5.4366	6.8500	5.95	6.47
น้ำนมลืมผัวงอก	3	4.5567	.23029	.13296	3.9846	5.1287	4.32	4.78
น้ำนมลืมผัว	3	4.6033	.41741	.24099	3.5664	5.6402	4.14	4.95
น้ำนมไรซ์เบอร์รี่งอก	3	5.1767	.11060	.06386	4.9019	5.4514	5.06	5.28
น้ำนมไรซ์เบอร์รี่	3	4.2133	.11504	.06642	3.9276	4.4991	4.10	4.33
Total	24	5.4113	.87887	.17940	5.0401	5.7824	4.10	6.56

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		16.003	7	2.286	20.757	.000
	Linear Term	Contrast	10.992	1	10.992	99.796	.000
		Deviation	5.012	6	.835	7.584	.001
Within Groups			1.762	16	.110		
Total			17.766	23			

Homogeneous Subsets

	ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan[a]	น้ำนมไรซ์เบอร์รี่	3	4.2133		
	น้ำนมลืมผัวงอก	3	4.5567		
	น้ำนมลืมผัว	3	4.6033	4.6033	
	น้ำนมไรซ์เบอร์รี่งอก	3		5.1767	
	น้ำนมถั่วแดงงอก	3			5.9933
	น้ำนมถั่วเหลือง	3			6.1433
	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3			6.2800
	น้ำนมถั่วแดง	3			6.3233
	Sig.		.191	.050	.279

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

6. การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมธัญพืชและถั่วระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 14

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
น้ำนมถั่วแดงงอก	3	6.0233	.38475	.22214	5.0676	6.9791	5.58	6.27
น้ำนมถั่วแดง	3	6.4000	.11790	.06807	6.1071	6.6929	6.27	6.50
น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3	5.8700	.14177	.08185	5.5178	6.2222	5.76	6.03
น้ำนมถั่วเหลือง	3	5.9367	.17214	.09939	5.5090	6.3643	5.80	6.13
น้ำนมลืมผัวงอก	3	3.6867	.32005	.18478	2.8916	4.4817	3.32	3.91
น้ำนมลืมผัว	3	3.7600	.42509	.24542	2.7040	4.8160	3.27	4.03
น้ำนมไรซ์เบอร์รี่งอก	3	4.6067	.23714	.13691	4.0176	5.1957	4.41	4.87
น้ำนมไรซ์เบอร์รี่	3	3.5533	.27429	.15836	2.8720	4.2347	3.24	3.75
Total	24	4.9796	1.17394	.23963	4.4839	5.4753	3.24	6.50

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		30.444	7	4.349	55.557	.000
	Linear Term	Contrast	21.671	1	21.671	276.832	.000
		Deviation	8.773	6	1.462	18.678	.000
Within Groups			1.253	16	.078		
Total			31.697	23			

Homogeneous Subsets

	ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan[a]	น้ำนมไรซ์เบอร์รี่	3	3.5533			
	น้ำนมลืมผัวงอก	3	3.6867			
	น้ำนมลืมผัว	3	3.7600			
	น้ำนมไรซ์เบอร์รี่งอก	3		4.6067		
	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	3			5.8700	
	น้ำนมถั่วเหลือง	3			5.9367	5.9367
	น้ำนมถั่วแดงงอก	3			6.0233	6.0233
	น้ำนมถั่วแดง	3				6.4000
	Sig.		.404	1.000	.534	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากธัญพืชและถั่วด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

1. วิธีการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดธัญพืชและถั่วด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การหาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Wiliams และคณะ (1995) โดยทำการเจือจางธัญพืชด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำธัญพืชและถั่วแต่ละชนิดของแต่ละความเข้มข้น หรือชุดควบคุมเชิงบวก BHT ปริมาตร 75 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ที่ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2,925 ไมโครลิตรในหลอดทดลองแต่ละหลอด และใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ (Blank) จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) พร้อมกับบันทึกค่าการดูดกลืนแสงเป็นที่ 0 นาที แล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร พร้อมบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 30 นาที ทำกราฟมาตรฐานของ DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นเขียนกราฟมาตรฐานแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลา 0 นาที และที่เวลา 30 นาที มาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (%DPPH`*REM*) จากปฏิกิริยาในแต่ละหลอดทดลอง (ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น) สามารถคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH ได้จากสมการนี้

$$[\%DPPH^{`}_{REM}] = ([DPPH^{`}]_T / [DPPH^{`}]_{T=0}) \times 100$$

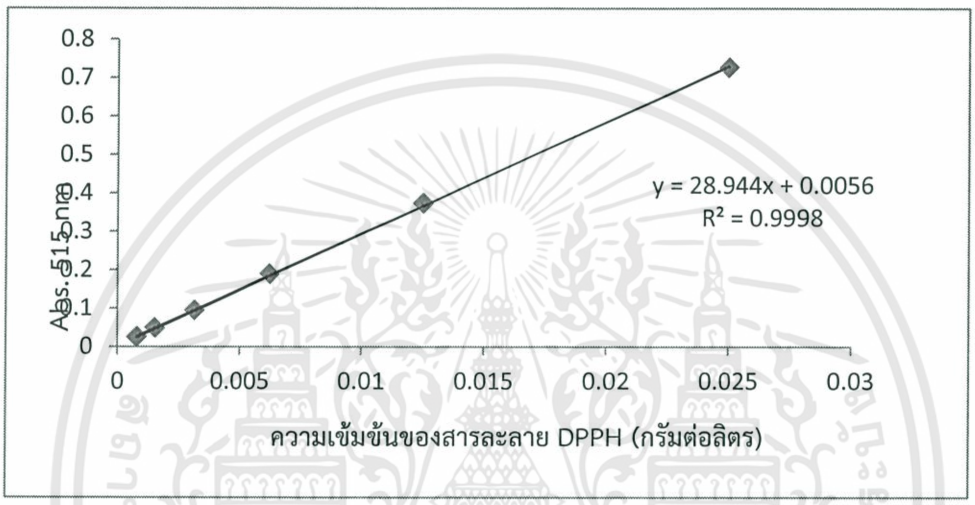
เมื่อ $[DPPH^{`}]_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH` ที่เวลาใดๆ (30 นาที)

$[DPPH^{`}]_{T=0}$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที

จากนั้นนำมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ของสารสกัดแต่ละชนิดที่เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้น DPPH (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา EC_{50} (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิด และหาค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

2. การคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 1,1-dipheny-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดหยาบจากธัญพืชและถั่ว

การวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ นำมาโดยใช้สารละลายมาตรฐาน DPPH ทำการเจือจางสารละลายมาตรฐาน DPPH ให้ ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และนำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรและความเข้มข้นของ DPPH ดังนี้



รูปที่ 1 (จ) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ในหน่วยกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical (ซ้ำ1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือสามารถหาได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$[\%DPPHREM] = ([DPPH\ ]T\ /\ [DPPH\ ]T{=}0) \times 100$$

เมื่อ [DPPH•]T คือ ความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลาใดๆ

[DPPH•]T=0 คือ ความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที

ตัวอย่าง 1.1 การคำนวณหาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องลืมผัว โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบข้าวกล้องลืมผัว แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ข้าวกล้องลืมผัวที่เวลา 0 นาที Abs.$_{515}$	[DPPH]
1,000	0.651	0.022298
500	0.66	0.022609
100	0.69	0.023645
10	0.691	0.023680
1	0.695	0.023818

สารสกัดข้าวลืมผัวที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า Abs.$_{515}$ เท่ากับ 0.651

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 28.944x + 0.0056$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า $x = \frac{0.651 - 0.0056}{28.944}$

$= 0.022298$ มิลลิกรัม

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ข้าวกล้องลืมผัวที่เวลา 30 นาที Abs.$_{515}$	[DPPH]
1,000	0.461	0.015733
500	0.599	0.019119
100	0.688	0.022885
10	0.692	0.023714
1	0.694	0.023783

สารสกัดข้าวลืมผัวงอกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า Abs.$_{515}$ เท่ากับ 0.461

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 28.944x + 0.0056$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า $x = \frac{0.651 - 0.0056}{28.944}$

$= 0.015733$ มิลลิกรัม

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที สามารถหาได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

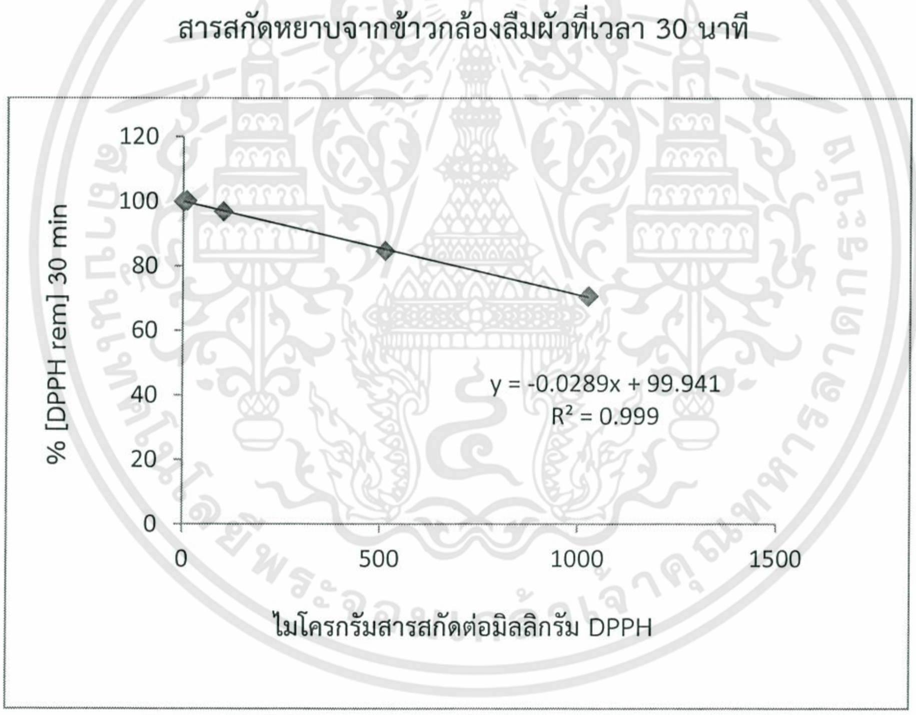
$$[\%DPPH_{REM}] = ([DPPH\bullet]T / [DPPH\bullet]T{=}0) \times 100$$

ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH	[DPPH]
1,025.641	70.5608
512.8205	84.5660
102.2564	96.7855
10.2564	100.1459
1.0256	99.8549

$[\%DPPH_{REM}]$ = (0.015733/0.022298) × 100

= 70.5608 มิลลิกรัม

จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อความเข้มข้นของ DPPH เพื่อคำนวณหาค่า effective concentration (EC_{50}) และค่า antiradical efficiency (AE) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$ จากกราฟสมการเส้นตรง



รูปที่ 2 (จ) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาทีกับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อความเข้มข้นของ DPPH (ซ้ำที่ 1)

การคำนวณหาค่า EC_{50} เท่ากับ 50

จากสมการเส้นตรงของกราฟค่าความเข้มข้นของ DPPH ณ 30 นาที

y = -0.0289x + 99.941

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า x = $\frac{50 - 99.941}{-0.0289}$

= 1,728.06 ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบข้าวกล้องลืมผัวมีความสามารถกำจัด1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical มีค่า EC_{50} เท่ากับ 1,728.06 ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH (µg extract / mg DPPH)

ตารางที่ 1 (จ) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากธัญพืชและถั่ว ด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	DPPH assay[a]	
		EC_{50} (µg extract / mg DPPH) ±SD	AE (10^{-3})±SD
Arachis hypogaea L.	ถั่วเขียวงอก	26,140.40±2.74	0.04±0.00
	ถั่วเขียว	19,956.12±9.87	0.05±0.00
Phaseolus mungo L.	ถั่วดำงอก	9,954.86±6.96	0.10±0.00
	ถั่วดำ	10,635.94±5.52	0.09±0.00
Phasecolus vulgaris L.	ถั่วแดงงอก	13,903.38±1.03	0.07±0.00
	ถั่วแดง	3,800.57±6.84	0.26±0.00
Glycine max (L.) Merrill	ถั่วเหลืองงอก	15,622.06±3.14	0.06±0.00
	ถั่วเหลือง	24,141.33±2.08	0.04±0.00
Vigna radiata (L.) R. Wilcz	ถั่วลิสงงอก	19,155.13±9.09	0.05±0.00
	ถั่วลิสง	25,984.79±4.29	0.04±0.00
Oryza sativa	ข้าวกล้องลืมผัวงอก	24,621.33±4.91	0.04±0.00
var.*Glutinosa*	ข้าวกล้องลืมผัว	1,762.45±7.43	0.57±0.00
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	9,615.15±9.69	0.10±0.00
	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	2,380.05±9.29	0.42±0.00
Oryza sativa L.	ข้างกล้องแดงงอก	41,281.39±4.83	0.02±0.00
	ข้าวกล้องแดง	40,575.38±4.87	0.02±0.00
Oryza sativa L.	ข้าวกล้องสินเหล็กงอก	44,140.30±3.20	0.02±0.00
	ข้าวกล้องสินเหล็ก	41,086.67±4.17	0.02±0.00
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมงอก	21,500.22±6.49	0.05±0.00
	ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม	59,869.14±5.79	0.02±0.00
Zea mays Linn.	ข้าวโพดข้าวเหนียวงอก	33,173.22±7.49	0.03±0.00
	ข้าวโพดข้าวเหนียว	13,213.76±2.14	0.08±0.00

[a] คือ ค่าเฉลี่ยทั้ง 3 ซ้ำ

ภาคผนวก ฉ

การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034

สูตรการคำนวณหาจำนวนโคโลนี

$$\text{จำนวนโคโลนี} = \frac{\text{จำนวนโคโลนี}}{\text{Segment}} \times 1{,}000 \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

หมายเหตุ จำนวนโคโลนีที่ได้จะอยู่ในหน่วย CFU/ml

ตารางที่ 1 (ฉ) ค่าคงที่ของปริมาตรตัวอย่างที่จ่ายลงบน segment ที่นับโคโลนีทั้ง 2 ด้าน (ปริมาตรที่จ่าย 50 ไมโครลิตรต่อจาน)

Segment ที่	จานขนาด 100 มิลลิลิตร
8	1.214
9	2.968
10	5.500
11	9.157
12	14.482
13	25.015
ทั้งเพลท	50.030

ตารางที่ 2 (ฉ) จำนวนการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ซ้ำที่ 1

ลำดับ	ชื่อเครื่องดื่ม	วันที่ 0		วันที่ 7		วันที่ 14	
		CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml
1	น้ำนมถั่วแดงงอก	1.66×10^{8}	8.22	6.05×10^{7}	7.78	2.89×10^{7}	7.46
2	น้ำนมถั่วแดง	1.49×10^{8}	8.17	3.05×10^{7}	7.48	2.09×10^{7}	7.32
3	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	1.00×10^{8}	8.00	2.92×10^{7}	7.46	2.72×10^{7}	7.43
4	น้ำนมถั่วเหลือง	1.25×10^{8}	8.09	2.28×10^{7}	7.35	1.28×10^{7}	7.10
5	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	1.33×10^{8}	8.12	7.34×10^{7}	7.86	5.72×10^{7}	7.75
6	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	1.30×10^{8}	8.11	7.12×10^{7}	7.85	5.02×10^{7}	7.89
7	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	1.77×10^{8}	8.24	$4.62 \times 1o^{7}$	7.66	4.38×10^{7}	7.88
8	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	1.01×10^{8}	8.00	5.03×10^{7}	7.70	4.67×10^{7}	7.66

ตารางที่ 3 (ฉ) จำนวนการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ซ้ำที่ 2

ลำดับ	ชื่อเครื่องดื่ม	วันที่ 0		วันที่ 7		วันที่ 14	
		CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml
1	น้ำนมถั่วแดงงอก	1.25×10^{8}	8.09	7.02×10^{7}	7.85	2.63×10^{7}	7.41
2	น้ำนมถั่วแดง	1.23×10^{8}	8.08	3.40×10^{7}	7.53	3.29×10^{7}	7.52
3	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	1.16×10^{8}	8.06	3.51×10^{7}	7.55	2.97×10^{7}	7.47
4	น้ำนมถั่วเหลือง	1.00×10^{8}	8.00	2.71×10^{7}	7.43	2.43×10^{7}	7.39
5	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	1.20×10^{8}	8.08	7.11×10^{7}	7.85	5.82×10^{7}	7.76
6	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	1.21×10^{8}	8.08	2.82×10^{7}	7.45	2.00×10^{7}	7.30
7	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	1.07×10^{8}	8.03	4.81×10^{7}	7.68	3.16×10^{7}	7.50
8	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	1.06×10^{8}	8.03	5.12×10^{7}	7.71	4.49×10^{7}	7.65

ตารางที่ 4 (ฉ) จำนวนการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ซ้ำที่ 3

ลำดับ	ชื่อเครื่องดื่ม	วันที่ 0		วันที่ 7		วันที่ 14	
		CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml
1	น้ำนมถั่วแดงงอก	1.60×10^{8}	8.20	6.45×10^{7}	7.81	5.06×10^{7}	7.70
2	น้ำนมถั่วแดง	1.62×10^{8}	8.21	3.52×10^{7}	7.55	3.37×10^{7}	7.52
3	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	1.66×10^{8}	8.22	2.91×10^{7}	7.46	2.83×10^{7}	7.45
4	น้ำนมถั่วเหลือง	1.70×10^{8}	8.23	3.43×10^{7}	7.54	2.20×10^{7}	7.34
5	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	1.65×10^{8}	8.22	7.37×10^{7}	7.87	4.06×10^{7}	7.61
6	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	1.53×10^{8}	8.18	5.85×10^{7}	7.77	3.44×10^{7}	7.54
7	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	1.50×10^{8}	8.18	4.60×10^{7}	7.66	4.51×10^{7}	7.65
8	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	1.42×10^{8}	8.15	5.41×10^{7}	7.73	4.71×10^{7}	7.67

ตารางที่ 5 (ฉ) ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ทั้ง 3 ซ้ำ

ลำดับ	ชื่อเครื่องดื่ม	วันที่ 0		วันที่ 7		วันที่ 14	
		CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml	CFU/ml	Log CFU/ml
1	น้ำนมถั่วแดงงอก	1.50×10^{8}	8.18	6.51×10^{7}	7.81	3.53×10^{7}	7.55
2	น้ำนมถั่วแดง	1.45×10^{8}	8.16	3.32×10^{7}	7.52	2.92×10^{7}	7.46
3	น้ำนมถั่วเหลืองงอก	1.27×10^{8}	8.10	3.11×10^{7}	7.49	2.84×10^{7}	7.45
4	น้ำนมถั่วเหลือง	1.32×10^{8}	8.12	2.81×10^{7}	7.45	1.97×10^{7}	7.29
5	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัวงอก	1.39×10^{8}	8.14	7.27×10^{7}	7.86	5.20×10^{7}	7.72
6	น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว	1.35×10^{8}	8.13	5.26×10^{7}	7.72	3.49×10^{7}	7.54
7	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอก	1.45×10^{8}	8.16	4.68×10^{7}	7.67	4.02×10^{7}	7.60
8	น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	1.16×10^{8}	8.07	5.19×10^{7}	7.71	4.62×10^{7}	7.66