Published online: 28 December 2018

ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกากถั่วงอก 5 ชนิด

Phenolic content and antioxidant capacity of 5 germinated bean residues

กัลยา เกิดศิริชัยรัตน์

อีเมล์: 5951701253@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. นนท์ ธิติเลิศเดชา อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล์: nont.thi@mfu.ac.th

ดร. ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

อีเมล์: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างการงอกของสารสกัดกากเมล็ดถั่ว 5 ชนิด คือ เมล็ดถั่วดำ (*Vigna mungo*) เมล็ดถั่วแดง (*Phasecolus vulgaris* L.) เมล็ดถั่วเขียว (*Vigna radiata*) เมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max*) และเมล็ดถั่วขาว (*Phaseolus vulgalis Linn*) กากถั่วขาว ถั่วดำ ถั่วเขียวและถั่วแดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมเพิ่มมากขึ้นในขณะที่ปริมาณฟีนอลิกรวมของกากถั่วเหลืองงอกไม่เปลี่ยนแปลงตามอัตราการงอก นอกจากนี้พบว่ากากถั่วขาว ถั่วดำ และถั่วเขียวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นตามระยะการงอกในขณะที่สารสกัดกากถั่วแดงและถั่วเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงตามอัตราการงอก กากถั่วขาวที่ระยะเวลางอก 144 ชั่วโมง มีปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (2,232.5 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม และ 566.1 ไมโครกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัม ตามลำดับ) ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: กากเมล็ดถั่วงอก/เมล็ดถั่ว/ปริมาณฟีนอลิกรวม/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Mae Fah Luang University

Abstract

This research was aimed to study total phenolic content and antioxidant capacity of residual extracts from 5 beans during germination which were black gram (*Vigna mungo*), red kidney bean (*Phasecolus vulgaris* L.), green bean or mung bean (*Vigna radiate*), soybean (Glycine max) and white bean (*Phaseolus vulgalis Linn*). White bean, black gram, mung bean and red kidney bean residues possessed increasing in total phenolic content during germination while phenolic content in soybean residual did not changed during germination. In addition, white bean, black gram and mung bean residues during germination showed increasing tendency in antioxidant capacity, however, decrement in antioxidant capacity were observed in red kidney bean and soybean residues during germination. The highest amount of total phenolic content and antioxidant capacity were observed in white bean residue germinated for 144 hours (2,232.5 µg GAE/g and 566.1 µg TEAC/g, respectively), which could be then utilized in cosmetics.

Keywords: Germinated bean residuals/Bean/Total phenolic content/Antioxidant Capacity

บทนำ

ปัจจุบันการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ รวมถึงการใช้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากสารสกัดธรรมชาติมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ธัญพืช อาทิเช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวโพด ข้าวสาลี อัลมอนด์ งาดำ เมล็ดเจีย และเมล็ดถั่วเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่ ได้รับความนิยมสูงจากคุณค่าทางโภชนาการ ทั้งวิตามิน แร่ธาตุโปรตีนสูง และไขมันดี นอกจากนี้เมล็ดถั่วมีสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งสมบัติต้านอนุมูลอิสระมาก ในปัจจุบันจึงมีการทำผลิตภัณฑ์ในรูปของเครื่องดื่ม เช่นน้ำนมถั่วเหลือง ถั่วแดง ถั่วดำ เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะน้ำนมจากธัญพืชงอก เช่น น้ำนมข้าวกล้องงอก ซึ่งมีสารพฤกษเคมีที่มีสมบัติทางชีวภาพโดยเฉพาะสารต้านอนุมูลมากกว่าธัญพืชปกติ (Duenas, Hernández, Estrella and Fernández, 2009) ซึ่งในกระบวนการผลิตน้ำนมธัญพืชงอกทำให้ได้กากธัญพืชที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์เป็นจำนวนมาก ซึ่งยังขาดการประเมินถึงคุณประโยชน์จากกากเมล็ดถั่วงอกเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วดำ ถั่วแดง และถั่วขาวเป็นธัญพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำนมธัญพืชงอกและมีกากธัญพืชงอกจากกระบวนการผลิต ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกากของเมล็ดถั่วงอกทั้ง 5 ชนิด

Mae Fah Luang University

ในระยะเวลางอกต่างๆ เพื่อประเมินถึงประโยชน์จากกากถั่วต่อการประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอาง และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกากถั่วงอก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกระหว่างการงอกของสารสกัดจากกากเมล็ดถั่วงอก 5 ชนิด
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างการงอกของสารสกัดจากกากเมล็ดถั่วงอก 5 ชนิด

ขอบเขตการวิจัย

ทำการเตรียมเพาะเมล็ดถั่ว 5 ชนิด โดยเก็บตัวอย่างตั้งแต่ 0 ถึง 144 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 80 จากนั้นวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity โดยทำการประเมินเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่เตรียมได้

การทบทวนวรรณกรรม

1. แนวคิดหลักการทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

เมล็ดถั่วประกอบไปด้วยใยอาหารปริมาณสูงที่บริเวณเปลือกหุ้ม และสารอาหารที่มีคุณค่าอย่างคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เกลือแร่ วิตามิน สารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระ ไอโซฟลาโวน ซาโปนิน และเอนไซม์ซึ่งช่วยทำให้เกิดความสมดุลแก่ร่างกาย (ทัทยา อนุสสร, 2555) ในถั่วมีไขมันค่อนข้างต่ำ ยกเว้นถั่วเหลืองที่มีไขมันสูงถึง 30-35% แต่ไขมันดังกล่าวจะมีปริมาณของไขมันคุณภาพดี เช่น ไขมันไม่อิ่มตัวค่อนข้างสูง ได้แก่ กรดไลโนเลอิกและกรดโอเลอิก ซึ่งล้วนแต่มีความสำคัญต่อร่างกาย เช่น ช่วยสร้างความสมบูรณ์ให้แก่ผิวหนัง

โปรตีนเป็นส่วนประกอบสำคัญของเอนไซม์ ฮอร์โมน โลหิต และความเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ เมล็ดถั่วมีกรดอะมิโนทั้งสิบชนิดที่ร่างกายไม่สามารถสร้างได้เอง ได้แก่ ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน วาลีน อาร์จีนีนและฮีสทิดีน ในถั่วเมล็ดแห้งจะมีเอนไซม์ที่ยังไม่ทำงานกระทั่งเมื่อได้รับน้ำและออกซิเจนจึงจะเริ่มทำงาน ช่วยให้เมล็ดถั่วงอกเป็นต้นอ่อน เมล็ดถั่วยังมีแร่ธาตุต่างๆ อาทิ แคลเซียม พบมากในถั่วเหลือง เป็นต้น

เมล็ดถั่วที่ได้รับน้ำเข้าไปในเมล็ดทำให้ความชื้นในเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในตอนแรก แล้วคงที่ การดูดน้ำในระยะแรกเกี่ยวข้องกับการดูดน้ำของสารคลอรีนในเมล็ดที่มีความชื้นต่ำนั้น น้ำจะช่วยทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนลงและทำให้โพรโทพลาสซึมในเซลล์ได้รับน้ำ เมล็ดบวมขึ้นและ

ang University

เปลือกเมล็ดอาจแตก การดูดน้ำของเมล็ดเป็นกระบวนการทางฟิสิกส์ หลังจากนั้นจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ให้เกิดขึ้นมาใหม่ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกสร้างในระหว่างการพัฒนาของเอ็มบริโอและจะถูกเก็บสะสมไว้ อีกส่วนหนึ่งมาจากการสังเคราะห์ใหม่เมื่อเริ่มกระบวนการงอก การสังเคราะห์เอนไซม์ต้องการโมเลกุล RNA ซึ่งมีโปรแกรมเฉพาะ บางส่วนสร้างขึ้นระหว่างการพัฒนาของเมล็ดและเก็บไว้ระหว่างกระบวนการบ่มเพาะ เอนไซม์ที่เกิดขึ้นมาเพื่อกระตุ้นกระบวนการการงอก ส่วนอื่นสร้างขึ้นหลังจากเริ่มมีการงอกแล้ว พลังงานสำหรับกระบวนการเหล่านี้ได้มาจากพันธะฟอสเฟต ซึ่งมีพลังงานสูงใน ATP ในไมโทรคอนเดรีย ATP บางส่วนเก็บรักษาไว้ในเมล็ดที่พักตัวและจะกลับมาทำงานใหม่เมื่อเมล็ดมีการดูดน้ำเข้าไป เซลล์ทั้งระบบจะถูกกระตุ้นให้ทำงาน ระบบการสังเคราะห์โปรตีนทำหน้าที่ผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ เอนไซม์ใหม่และสารที่เป็นโครงสร้าง สารประกอบที่ควบคุมการเจริญเติบโต ฮอร์โมน และกรดนิวคลิอิกเพื่อทำหน้าที่ของเซลล์ต่อไปและสังเคราะห์สารใหม่

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมล็ดถั่วทั้ง 5 ชนิด พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง ซึ่งอยู่ในช่วง 260 ถึง 817 μmole TE/ 100 g น้ำหนักแห้งและปริมาณฟีนอกลิกอยู่ที่ 40 ถึง 300 mg GAE/ 100 g น้ำหนักแห้ง (Chutipanyaporn, Kruawan, Chupeerach, Santivarangkna and Suttisansanee, 2014) เมล็ดถั่วเหลืองที่งอกเป็นต้นอ่อน ถูกทำการศึกษาโดย นำมาสกัดสดมีปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วย DPPH Assay สูง และมีมากกว่าเมล็ดถั่วดำ และถั่วเขียว (สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และสรพงค์ เบญจศรี, 2560) นอกจากนั้นถั่วเหลืองงอกวันที่ 5 ยังมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าเมล็ดถั่วเหลืองแห้งถึง 2 เท่า (Khang et al., 2016)

จากการศึกษาถั่วดำ พบว่า มีสารต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วย DPPH Assay และปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดในเมล็ดถั่วแห้งทั้ง 5 สี สูงถึง 817 μmole TE/ 100 g และ 305 mg GAE/ 100 g น้ำหนักแห้งตามลำดับ (Chutipanyaporn et al., 2014) และการแช่เมล็ดถั่วดำในน้ำจนงอกเป็นต้นอ่อนแล้วทำการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH Assay มากถึง 95% เทียบเท่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี (ปกติใส่ในเครื่องสำอาง 1%-2%) (Lai et al., 2012)

นอกจากที่เมล็ดถั่วดำงอกมีปริมาณเบต้า-แคโรทีน วิตามินซี สารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลและฟลาโวนอยด์สูงกว่าเมล็ดถั่วดำแห้ง โดยเฉพาะวิตามินซีที่มีปริมาณสูงขึ้นกว่าเมล็ดถั่วดำแห้งมากกว่าถึง 22.9 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อ 100 กรัม ทั้งฤกธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดถั่ว

Mae Fah Luang University

ดำงอกเพิ่มมากขึ้นกว่าเมล็ดถั่วดำแห้งถึง 9.5% ยังมีปริมาณสารฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ของเมล็ดถั่วดำงอกเพิ่มขึ้น 15.93% และ 43.37% ตามลำดับเมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วดำแห้ง (Luthria, Singh and D'souza, 2014)

การนำเมล็ดถั่วดำ และถั่วเหลืองไปแช่เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องและนำไปเข้าเครื่องเมล็ดงอกกึ่งอัตโนมัติ (Semi-Automatic germination machine) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 วัน และเครื่องจะทำการรดน้ำทุก 1 ชั่วโมง แล้วแบ่งเมล็ดที่งอกต้นอ่อนวันที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มาสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน พบว่าปริมาณวิตามินซีจะมีค่าเพิ่มขึ้นจากศูนย์และมีค่ามากขึ้นเป็นลำดับ ในขณะที่วิตามมินอีจะมีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ส่วนปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะมีค่ามากที่สุดในวันที่ 5 ของระยะเวลาการงอกเป็นต้นอ่อนซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ค่าสูงที่สุด ทำให้สามารถสรุปได้ว่าเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ควรเพาะเมล็ดถั่วจนเกิดเป็นต้นอ่อนในวันที่ 3 ถึงวันที่ 5 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วย DPPH Assay และ ABTS Assay เข้าใกล้ค่าสูงสุด (Xue et al., 2016)

ถั่วเขียว มีการศึกษาพบว่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในถั่วเขียวงอกมีมากกว่าเมล็ดถั่วเขียวแห้ง (Kim, Jeong, Gorinstein and Chon, 2012) และมีปริมาณฟีนอลิกรวมของถั่วเขียวงอกวันที่ 5 มากกว่าเมล็ดถั่วแห้ง ถึง 2 เท่า ถั่วแดงแห้งมีปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าถั่วเหลือง แต่น้อยกว่าถั่วดำ นอกจากนั้นปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง 1 และ 4.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อมีการนำไปปรุงอาหารเทียบกับเมล็ดถั่วแดงแห้ง (Mastura, Hasnah and Dang, 2017) ส่วนถั่วขาวนั้น มีการศึกษา พบว่า มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงขึ้นตามระยะเวลาการงอกและมีค่ามากขึ้นถึง 2 เท่าเมื่อระยะเวลางอกที่ 120 ชั่วโมง ยังมีค่าสูงกว่าถั่วเขียวงอก แต่น้อยกว่าถั่วเหลืองงอก (Khang et al., 2016)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเพาะเมล็ดถั่ว

นำเมล็ดถั่วแห้ง 5 ชนิด (ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วขาว) ล้างด้วยน้ำสะอาดและแช่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างและเทน้ำออก เพาะเมล็ดถั่วบนฟองน้ำในถังเพาะที่อุณหภูมิระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส และทำการรดน้ำให้ฟองน้ำเปียกชุ่มในช่วงเช้าวันละ 1 ครั้ง ทำการเก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วแห้ง เมล็ดถั่วแช่ 12 ชั่วโมง (ถั่วงอกวันที่ 0, 0 ชั่วโมง) และเมล็ดถั่วที่งอกวันที่ 1 (24 ชม), 2 (48 ชม), 3 (72 ชม), 4 (96 ชม), 5 (120 ชม) และ 6 (144 ชม) โดยนำเมล็ดถั่วแห้ง

Mae Fah Luang University

ปริมาณ 50 กรัม บดละเอียดและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนเมล็ดถั่วแช่ 12 ชั่วโมง (ถั่วงอกวันที่ 0 ชั่วโมง) และเมล็ดถั่วที่งอกวันที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เก็บตัวอย่างมาครั้งละประมาณ 500 กรัม และนำเข้าเครื่องแยกกากและนำกากมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้แห้งจนน้ำหนักคงที่และบดให้ละเอียด เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจาก Xue et al., 2016)

2. การสกัดกากเมล็ดถั่ว 5 ชนิด

นำตัวอย่าง 1 กรัมมาสกัดด้วยสารละลายร้อยละ 80 เอธานอลปริมาณ 10 มิลลิลิตรจากนั้นเขย่าผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด นาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (สกุลกานต์ สิมลา และคณะ, 2560) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอสระต่อไป เตรียมสารสกัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu

นำสารสกัดที่เตรียมโดยการละลายด้วยสารละลายร้อยละ 80 เอธานอล จำนวน 0.25 มิลลิลิตรมาเติมด้วยน้ำปราศจากไอออน (1.0 มิลลิลิตร) และสารละลายFolin-Ciocalteu (0.25 มิลลิลิตร) แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 (1.5 มิลลิลิตร) ตามลำดับ ทำการผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีและนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (Pintathong et al., 2012)

4. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดที่เตรียมโดยการละลายด้วยสารละลายร้อยละ 80 เอธานอล จำนวน 0.25 มิลลิลิตร มาเติมด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (0.75 มิลลิลิตร) และสารละลาย DPPH (2.0 มิลลิลิตร) ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร คำนวณร้อยละการยับยั้ง และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (Sripum et al., 2017)

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

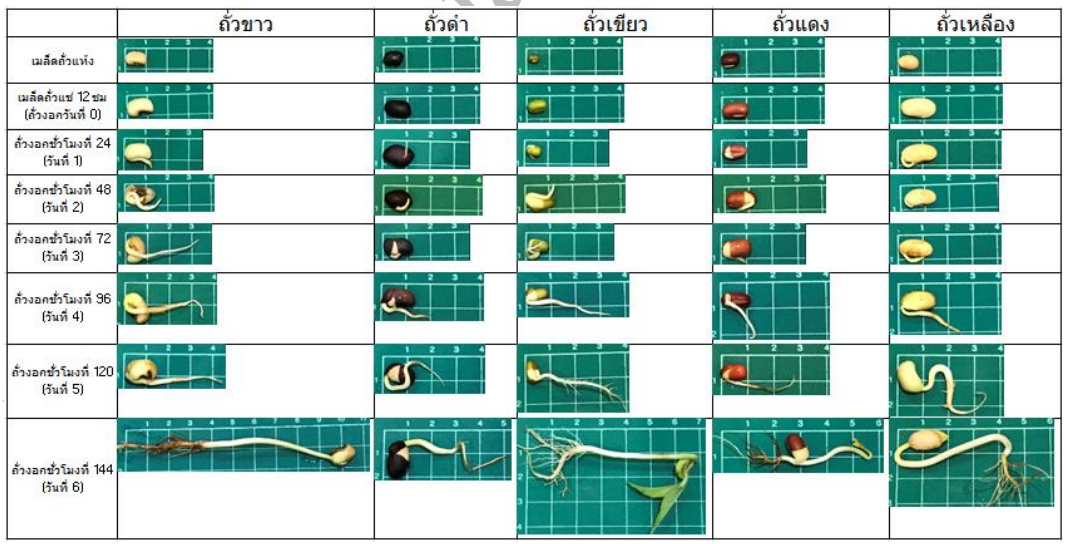
ทดสอบค่าความแตกต่างของการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากนั้นเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยวิธี Duncan' Multiple Range test

Mae Fah Luang University

ผลการวิจัย

จากการศึกษาเปรียบเทียบน้ำหนักระหว่างเมล็ดถั่วแห้งและเมล็ดถั่วหลังแช่น้ำเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดถั่วเหลืองมีการบวมน้ำมากที่สุดเมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วอื่น โดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 120 ในขณะที่ถั่วเขียว ถั่วขาวและถั่วดำ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยลงตามลำดับ และถั่วแดงมีน้ำหนักหลังแช่น้อยที่สุด คือน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 75 Nahar, Ali, Amin and Hasanuzzaman (2009) รายงานว่า ความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเจริญเติบโตและช่วงชีวิตของเมล็ดพืช อย่างไรก็ตามหากมีความชื้นมากเกินไปอาจทำให้เกิดการเสื่อมสลายของเมล็ดถั่วอย่างรวดเร็วจากการติดเชื้อรา

การเจริญเติบโตของถั่วแต่ละชนิด มีการเจริญเติบโตเร็วช้าต่างกัน จากการศึกษาดัง**ภาพที่ 1** พบว่า ถั่วขาวมีการเจริญเติบโตมากที่สุดเทียบกับการงอกของถั่วอื่นในระยะเวลาการงอกที่ 144 ชั่วโมง มีความสูงของต้นรวมราก 11 เซนติเมตร ในขณะที่ถั่วเขียวมีการเจริญเติบโตเร็วในช่วงแรกและมีการชะลอการเจริญเติบโตในช่วงหลังโดยมีความสูงของต้นรวมรองจากถั่วขาว ถั่วเขียวและถั่วเหลืองมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันของการงอกในวันที่ 2 ถึง 6 และถั่วดำมีกระบวนการเจริญเติบโตน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาการงอกเมื่อเทียบกับการเจริญเติบโตของถั่วชนิดอื่น ๆ

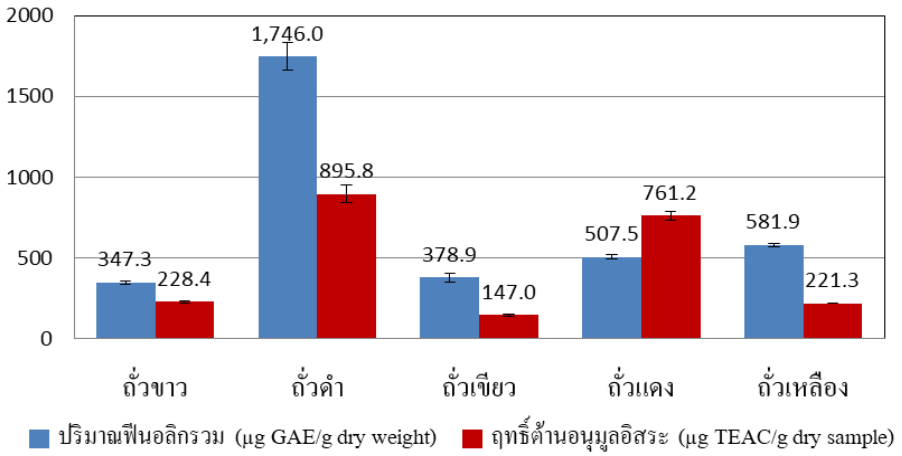


ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของถั่วที่ระยะเวลาการงอกต่างๆ

จากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดถั่วแห้ง (**ภาพที่ 2**) พบว่า เมล็ดถั่วดำมีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เทียบกับเมล็ดถั่วแห้งทั้ง 5 ชนิดที่ 1746.0±84.2 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง และ 895.8±55.2

Rangsit University

ไมโครกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของกากถั่วขาว ณ ระยะเวลาการงอกที่ 144 ชั่วโมงหรือวันที่ 6 มีปริมาณสูงสุดเทียบกับกากถั่วงอก 5 ชนิดที่ 2232.5±83.2 ไมโครกรัมสมมูลแกลลิกต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง (**ตารางที่ 1**)



ภาพที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดถั่วแห้ง

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวม ของกากถั่วงอก (ไมโครกรัมสมมูลแกลลิกต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง)

	ถั่วขาว	ถั่วดำ	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วเหลือง
0hr	332.4 ± 7.2^{cd}	353.7 ± 19.4^{c}	503.5 ± 25.8^{b}	275.9 ± 17.4^{d}	1060.7 ± 51.2^{a}
24hrs	382.0 ± 27.4^{c}	258.6 ± 20.3^{d}	509.2 ± 28.3^{b}	260.3 ± 8.9^{d}	619.1 ± 43.2^{a}
48hrs	554.0 ± 39.1^{c}	235.4 ± 21.0^{d}	767.8 ± 68.6^{b}	295.2 ± 13.8^{d}	861.7 ± 63.4^{a}
72hrs	298.1 ± 20.2^{c}	172.7 ± 2.2^{d}	477.9 ± 13.1^{b}	337.4 ± 22.2^{c}	926.3 ± 64.8^{a}
96hrs	798.8 ± 69.7^{b}	311.4 ± 20.2^{c}	844.9 ± 24.4^{b}	372.4 ± 26.3^{c}	1086.0 ± 30.4^{a}
120hrs	764.9 ± 47.7^{b}	428.8 ± 23.8^{c}	915.9 ± 33.5^{a}	991.5 ± 76.7^{a}	921.3 ± 25.8^{a}
144hrs	2232.5 ± 83.2^{a}	1073.5 ± 86.1^{c}	2054.6 ± 61.3^{b}	1001.8 ± 36.0^{cd}	903.6 ± 18.4^{d}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

Mae Fah Luang University

เปรียบเทียบระหว่างถั่วต่างชนิดในระยะเวลาการงอกที่เท่ากัน

[a-d] แสดงถึงความแตกต่างของระยะเวลาการงอกของถั่วแต่ละชนิด ($P<0.05$)

จากการศึกษาวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสารสกัดกากถั่วงอก 5 ชนิด พบว่า กากถั่วขาวงอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเทียบกับกากถั่วงอกอื่นที่ระยะการงอกที่ 144 ชั่วโมง หรือวันที่ 6 ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโตที่ถั่วขาวงอกที่มีการเจริญเติบโตมากที่สุด ยังพบว่า กากถั่วขาวงอก กากถั่วดำงอกและกากถั่วเขียวงอก มีแนวโน้มของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นและสูงสุดในระยะการงอกที่ 144 ชั่วโมง หรือวันที่ 6 เท่ากับ 566.1±55.2, 301.6±29.3 และ 254.1±1.1 ไมโครกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ (**ตารางที่ 2**) หากเปรียบเทียบกากถั่วงอกกับเมล็ดถั่วแห้ง พบว่า ปริมาณฟีนอลิกของกากถั่วขาวงอก กากถั่วเขียวงอก และกากถั่วเหลืองงอกจะมีปริมาณสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเมล็ดถั่วแห้ง กากถั่วแดงงอกมีปริมาณสารฟีนอลิกมากกว่าเมล็ดถั่วแดงแห้ง แต่มีสารต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าเมล็ดถั่วแดงแห้ง โดยที่กากถั่วดำงอกมีทั้งปริมาณฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าเมล็ดถั่วดำแห้ง

ตารางที่ 2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกากถั่วงอก (ไมโครกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง)

	ถั่วขาว	ถั่วดำ	ถั่วเขียว	ถั่วแดง	ถั่วเหลือง
0hr	68.7 ± 6.1^{c}	173.5 ± 2.3^{b}	143.2 ± 8.6^{b}	591.3 ± 58.7^{a}	179.6 ± 17.3^{b}
24hrs	190.9 ± 13.7^{b}	236.0 ± 10.4^{a}	107.2 ± 12.1^{d}	155.8 ± 3.1^{c}	80.5 ± 5.6^{e}
48hrs	182.8 ± 16.3^{a}	195.8 ± 11.9^{a}	132.3 ± 6.9^{b}	181.2 ± 15.0^{a}	84.3 ± 0.8^{c}
72hrs	68.4 ± 2.4^{c}	66.3 ± 2.6^{c}	126.3 ± 2.4^{b}	114.3 ± 6.8^{b}	180.3 ± 14.4^{a}
96hrs	195.4 ± 9.1^{c}	95.5 ± 4.0^{d}	212.1 ± 4.2^{b}	221.3 ± 8.4^{b}	238.1 ± 9.3^{a}
120hrs	217.0 ± 14.6^{b}	85.0 ± 3.0^{e}	177.1 ± 5.0^{c}	442.2 ± 39.5^{a}	146.7 ± 6.5^{d}
144hrs	566.1 ± 55.2^{a}	301.6 ± 29.3^{b}	254.1 ± 1.1^{c}	270.3 ± 21.0^{bc}	116.1 ± 11.5^{d}

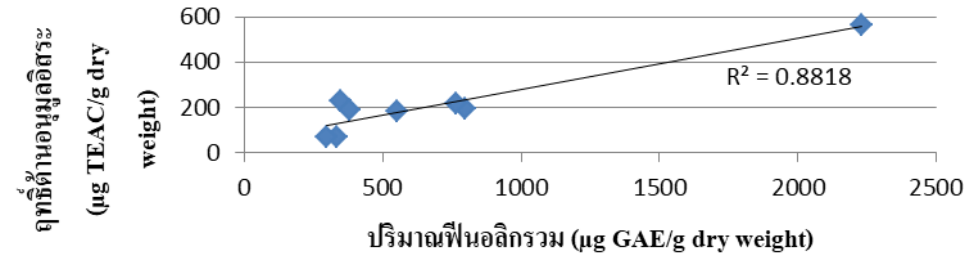
หมายเหตุ. ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

เปรียบเทียบระหว่างถั่วต่างชนิดในระยะเวลาการงอกที่เท่ากัน

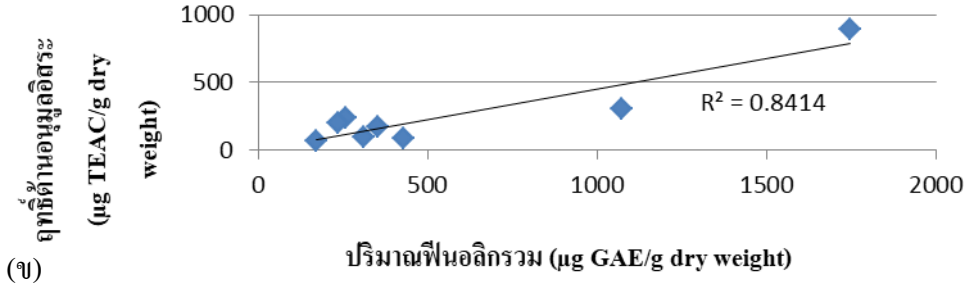
[a-e] แสดงถึงความแตกต่างของระยะเวลาการงอกของถั่วแต่ละชนิด ($p < 0.05$)

Mae Fah Luang University

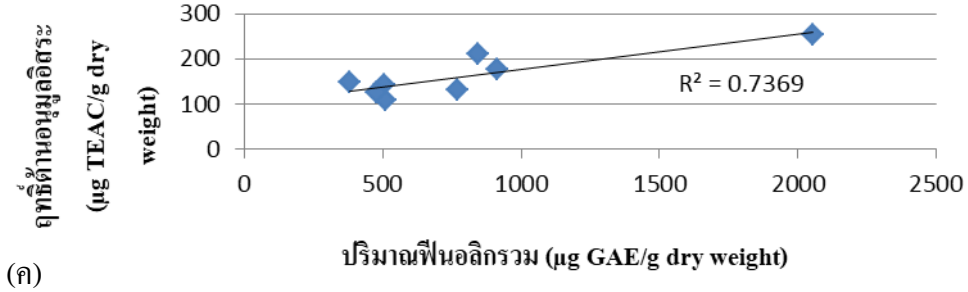
จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกากถั่วงอก (**ภาพที่ 2**) พบว่า กากถั่วขาวงอก ถั่วดำงอกและถั่วเขียวงอก มีความสัมพันธ์ต่อกัน โดยปริมาณฟีนอลิกรวมที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีความสัมพันธ์ต่อกันสูง (R^2 เท่ากับ 0.8818, 0.8414 และ 0.7369 ตามลำดับ) กล่าวคือเมื่อสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim et al. (2012) พบว่า ทั้งปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล มีค่าสูงและมีความสัมพันธ์ต่อกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืช



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ (ก) กากถั่วขาว (ข) กากถั่วดำ (ค) กากถั่วเขียว

อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการศึกษาการเจริญเติบโตของเมล็ดถั่ว ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า กากถั่วขาวงอกมีการผลิตสารประกอบฟีนอลิมากที่สุด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเทียบกับกากถั่วงอกอื่นที่ระยะการงอกที่ 144 ชั่วโมง หรือวันที่ 6 ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของถั่วขาว ที่มีการเจริญเติบโตมากที่สุด ทั้งนี้การที่กากถั่วขาวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง อาจเนื่องจากการเจริญเติบโตของพืชต้องการสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ป้องกันต้นอ่อนในกระบวนการเจริญเติบโต ดังการศึกษาของ Larson (1988) พบว่าการเจริญเติบโตของพืชขึ้นกับระบบสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่ใช้เพื่อป้องกันการทำลายชีวโมเลกุลระหว่างการเจริญเติบโต (Oxidative damage) Gupta and Datta (2003) รายงานว่า ระบบป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระ มีเอนไซม์ อย่างเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase) เอนไซม์คะตาเลส (Catalase) เอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) และเอนไซม์กลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (Glutathione Peroxidase) รวมทั้งสารโมเลกุลต่ำอย่าง วิตามินซี (Ascorbate) กลูต้าไธโอน (Glutathione) และ วิตามินอี (α-tocopherol) ที่สามารถกำจัดสารอนุมูลอิสระในระบบ ช่วงแรกของการเจริญเติบโตอาจมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณน้อย เนื่องจากการสร้างสารอนุมูลอิสระยังมีปริมาณน้อยในช่วงแรก ตามการศึกษาของ Gupta and Datta (2003) ยังพบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารกลูตาไธโอน วิตามินอี และวิตามินซี ถูกยับยั้งในขณะที่เป็นเอ็มบริโอ แต่ได้รับการกระตุ้นมากขึ้นเมื่อมีการเจริญเติบโตของพืชไม้ดอก (*Gladiolus hybridus*) ดังนั้นอาจเป็นเหตุผลที่ถั่วขาวงอกระยะเวลาการงอกที่ 144 ชั่วโมง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดตามผลการศึกษานี้

จากผลงานวิจัยนี้ กากถั่วขาวงอกให้ทั้งปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงเมื่อเทียบกับกากถั่วชนิดอื่น ๆ จึงเป็นสารสกัดจากของเหลือใช้ที่น่าสนใจในการนำไปพัฒนาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอางต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษานี้ทำให้ทราบว่า กากถั่วขาวงอก มีปริมาณฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง จึงควรมีการการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพทางด้านเครื่องสำอางของกากถั่วขาวเพิ่มเติมเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการต้านริ้วรอย

Mae Fah Luang University

2. ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงองค์ประกอบของสารฟีนอลิกในถั่วงอกทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำในระหว่างการเจริญเติบโตเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาถึงความคุ้มค่าในการประยุกต์ใช้

รายการการอ้างอิง

ทัทยา อนุสรณ์. (2555). *ถั่วและธัญพืช เมล็ดพันธุ์แห่งสุขภาพ.* กรุงเทพฯ: มติชน.

สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และสรพงค์ เบญจศรี. (2560). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดพืช เมล็ดพืชงอก และเมล็ดพืชงอกอบแห้ง. *Khon Kaen Agr. J, 45*(1), 1259 – 1264.

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

Duenas, M., Hernández, T., Estrella, I., & Fernández, D. (2009). Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chemistry*, *117*(4), 599-607.

Gupta, S. D., & Datta, S. (2003). Antioxidant enzyme activities during *in vitro* morphogenesis of gladiolus and the effect of application of antioxidants on plant regeneration. *Biologia Plantarum*, *47*(2), 179-183.

Khang, D. T., Dang, T. N., Elazaawely, A. A., & Xuan T. D. (2016). Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. *Foods, 5*(27), 1-10.

Kim, D. K., Jeong, S. C., Gorinstein, S., & Chon S. U. (2012). Total polyphenols, antioxidant and antiproliferative activities of different extracts in mungbean seeds and sprouts. *Plant Foods for Human Nutrition, 67(1)*, 71-75.

Lai, J., Xin, C., Zhao, Y., Feng, B., . . . Wei, S. (2012). Study of active ingredients in black soybean sprouts and their safety in cosmetic use. *Molecules, 17*, 11669-11679.

Mae Fah Luang University

Larson, R. A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, *27*(4), 969-978.

Luthria, A., Singh, K., & D'souza, M. (2014). In vitro antioxidant activity of black gram, cowpea, desi chickpea and yellow mustard as affected by sprouting. *Journal of Global Biosciences*, *3*(1), 385-389.

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

Nahar, K., Ali, M. H., Amin, A. R., & Hasanuzzaman, M. (2009). Moisture content and germination of bean (Phaseolus vulgaris L.) under different storage conditions. *Academic Journal of Plant Sciences*, *2*(4), 237-241.

Pintathong, P., Chanpitak, P., Sereetaveekul, P., Thitipramote, N., & Chaiwut, P. (2012). Use of response surface methodology for phenolic antioxidant extraction from lotus (Nelumbo nucifera Gaertn) pod periearp. *Advanced Materials Research, 506*, 591-594.

Sripum, C., Kukreja, R. K., Charoenkiatkul, S., Kriengsinyos, W., & Suttisansanee, U. (2017). The effect of extraction conditions on antioxidant activities and total phenolic contents of different processed Thai Jasmine rice. *International Food Research Journal, 24*(4), 1644-1650.

Xue, A., Wang, C., Zhai, L., Yu, W., . . . Zhou, F. (2016). Bioactive compounds and antioxidant activity of mung bean (*Vignaradiata* L.), soybean (*Glycine max* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination process. *Czech J. Food Sci, 34*, 68-78.

Mae Fah Luang University