ความสามารถของถั่วชนิดต่าง ๆ ในการต้านอนุมูลอิสระและส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัส

The Ability of Beans on Antioxidant Capacity and Synergistic Effects of *Lactobacillus* sp. Growth

นิพัฒน์ ลิ้มสงวน*, ประมวล ทรายทอง และสุภัคชนม์ คล่องดี

ฝ่ายกระบวนการผลิตและแปรรูป สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Nipat Limsangouan*, Pramuan Saithong and Supakchon Klongdee

Department of Food Processing and Preservation, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

การศึกษาสมบัติในการเสริมสร้างสุขภาพของถั่ว 8 ชนิด ได้แก่ ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วแดงหลวง ถั่วเหลือง ถั่วขาว ถั่วแดงอะซูกิ ถั่วเหลืองผิวดำ และถั่วแดงนาง โดยศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical-scavenging method, ABTS radical cation decolorization assay, ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานิน) และส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพ (การวัดความขุ่น การนับจำนวนเซลล์ และปริมาณแป้งรีซิสแตนท์) พบว่าถั่วต่างชนิดกันมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ถั่วที่มีรงควัตถุเคลือบที่ผิว มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานินสูง โดยเฉพาะถั่วดำและถั่วแดง เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 450, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. casei* TISTR 453 พบว่าจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากถั่วแต่ละชนิดแตกต่างกัน ($p<0.05$) สำหรับถั่วที่ใช้เป็นตัวอย่างทดลองทั้งหมดให้ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพใกล้เคียงกัน แต่พบสูงสุดในตัวอย่างถั่วแดงอะซูกิและถั่วแดงหลวง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของแป้งรีซิสแตนท์ที่มีมากกว่าถั่วชนิดอื่น ๆ

คำสำคัญ : ถั่ว; ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ; แป้งรีซิสแตนท์; แลคโตบาซิลลัส

Abstract

Functional properties on health benefit of eight kinds of beans (Black gram bean, Mung bean, Red kidney bean, Soybean, Navy bean, Azuki bean, Black soybean and Red bean) were studied for

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** ifrnpl@ku.ac.th

antioxidant capacity (DPPH radical-scavenging method, ABTS radical cation decolorization assay, total phenolic and anthocyanins content) and the synergistic effects of probiotic microorganism growth (*Lactobacillus acidophilus* TISTR 450, *L. bulgaricus* TISTR 451, and *L. casei* TISTR 453) (turbidimetrically, probiotic cell count and resistant starch content). The result showed that the colored beans have more antioxidant efficiency than the non-colored beans. Especially, black gram bean and red kidney bean were found to have the highest capacity compared to the other beans. When synergistic effects of probiotic Lactobacillus sp. growth such as *L. acidophilus* TISTR 450, *L. bulgaricus* TISTR 451 and *L. casei* TISTR 453 were studied, the result found that three probiotics could use the different carbon-source from each bean. Azuki bean and red kidney bean exhibited the highest synergistic effect of probiotic growth according to the high level of resistant starch content.

Keywords: bean; antioxidant capacity; resistant starch; *Lactobacillus*

1. บทนำ

ปัจจุบันกระแสความสนใจในการศึกษาและวิจัยสมบัติในการเป็นสารเสริมสร้างสุขภาพจากวัตถุดิบทางธรรมชาติ เช่น ผัก ผลไม้ และสมุนไพร แพร่หลายในวงวิชาการทั่วโลก ซึ่งจะเห็นได้จากจำนวนงานวิจัยที่ทำการตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติเกี่ยวกับสมบัติดังกล่าวในปริมาณที่สูง วัตถุประสงค์ในการวิจัยก็เพื่อนำองค์ความรู้ดังกล่าวมาวิเคราะห์และประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ เพื่อนำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารทั้งในระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นการตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันที่หันมาดูแลสุขภาพของตนเองมากขึ้น ด้วยการรับประทานอาหารที่นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการที่ได้รับ ยังได้รับประโยชน์จากสารเสริมสร้างสุขภาพจากอาหารดังกล่าวอีกทางหนึ่งด้วย สมบัติในการเสริมสร้างสุขภาพที่ได้รับความสนใจเป็นอันมาก ได้แก่ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง [1,2] แล้วยังมีผลต่อการชะลอความเสื่อมสภาพของร่างกายอีกด้วย [3,4] และความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพ [5,6] โดยเฉพาะถั่วจัดได้ว่าเป็นธัญพืชที่มีการบริโภคทั่วโลกในปริมาณที่สูง เนื่องจากมีราคาถูกและเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตที่จำเป็นต่อร่างกาย จึงถือได้ว่าเป็นอาหารหลักสำหรับประชากรบนโลก นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการที่ได้รับแล้ว ถั่วยังให้คุณประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านอื่น ๆ ด้วย เช่น สร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อร่างกาย [7] ลดอาการอักเสบ [8] โดยเฉพาะความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพ ซึ่งมีแนวโน้มในการศึกษาวิจัยคุณประโยชน์ดังกล่าวมากขึ้น

การศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการกลายพันธุ์จากถั่วพื้นเมือง (*Phaseolus vulgaris*) ของประเทศเม็กซิโก โดย Elizabeth และคณะ [9] พบว่าถั่วพื้นเมือง 3 ชนิด ซึ่งมีสีที่แตกต่างกันมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการกลายพันธุ์ที่ต่างกัน รวมทั้งฤทธิ์ทั้งสองด้านนี้แสดงความสัมพันธ์กันอย่างยิ่ง ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Martinez และคณะ [10] ในขณะที่ Nahashon และคณะ [11] ได้นำถั่วเหลืองมาผสมกับข้าวโพดและโมลาส พบว่า

ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ (ไก่) ได้เป็นอย่างดี ในขณะที่ Su และคณะ [12] ศึกษาการใช้โอลิโกแซกคาไรด์ซึ่งสกัดจากถั่วเหลือง ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพกลุ่มแลคโตบาซิลลัส พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพได้สูงกว่าพรีไบโอติกจากแหล่งอื่น ๆ เช่น อินนูลิน เบตากลูแคน ฯลฯ Lima bean และ Cowpea ถูกนำมาศึกษาอิทธิพลของปฏิกิริยา pyrodextrinization ต่อการเกิดแป้งรีซิสแตนท์ พบว่าปฏิกิริยาดังกล่าวช่วยส่งเสริมให้เกิดแป้งรีซิสแตนท์ ซึ่งเป็นพรีไบโอติกที่สำคัญและส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพภายในลำไส้ใหญ่ [13]

เพื่อเป็นการสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับสมบัติในการเสริมสร้างสุขภาพจากวัตถุดิบทางการเกษตรของไทย ได้แก่ ถั่ว ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ อันจะเป็นการกระตุ้นให้มีการผลิตเพื่อเพิ่มผลิตภาพ และมูลค่าของวัตถุดิบ โดยอ้างอิงจากฐานความรู้ที่ได้ นอกจากนี้ยังเป็นการพัฒนานวัตกรรมและองค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่สำคัญ เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีวิจัย

2.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

ถั่ว 8 ชนิด ได้แก่ ถั่วดำ (Black gram bean) ถั่วเขียว (Mung bean) ถั่วแดงหลวง (Red kidney bean) ถั่วเหลือง (Soybean) ถั่วขาว (Navy bean) ถั่วแดงอะซูกิ (Azuki bean) ถั่วเหลืองผิวดำ (Black soybean) และถั่วแดงนาง (Red bean) ซื้อจากโครงการหลวง แบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 450), *L. bulgaricus* (TISTR 451) และ *L. casei* (TISTR 453) จากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) Resistant Starch Assay Kit สั่งซื้อจากบริษัท Megazyme (Ireland) 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), methanol, 6-hydroxyl-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid (Trolox), Folin-Ciocalteau reagent, sodium carbonate, gallic acid monohydrate, เมทานอล และเอทานอล 95 % สั่งซื้อจากบริษัทเบตเตอร์ซินดิเคท จำกัด (กรุงเทพฯ) อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS medium (ประกอบด้วย enzymatic from casein 10 กรัม, meat extract 10 กรัม, yeast extract 4 กรัม, triammomiun citrate 2 กรัม, sodium acetate 5 กรัม, magnesium sulfate heptahydrate 0.2 กรัม, manganese sulfate tetrahydrate 0.05 กรัม, dipotassium hydrogen phosphate 2.0 กรัม, glucose 10 กรัม (modified), Tween 80 1.08 กรัม, agar 15 กรัม, distilled water 1,000 มล.) ยี่ห้อ Merck สั่งซื้อจากบริษัท U&V Holding (ประเทศไทย) จำกัด

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

นำถั่วมาบดให้ละเอียด (Pin Mill: Alpine Augsbug, Germany) ภายใต้อุณหภูมิต่ำและปลอดเชื้อ เก็บตัวอย่างในซองอะลูมิเนียม ปิดผนึก และเก็บในห้องแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) จนกระทั่งนำมาวิเคราะห์ รวมถึงเตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะกับการวิเคราะห์ด้วย

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง สกัดด้วยเมทานอล 80 % ปริมาณ 10 มล. ผสมให้เข้ากันแช่ในอ่างอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 นาที นำไปหมุนเหวี่ยง (Centrifuge: Hettich, Germany) เก็บสารละลายส่วนใสในหลอดขนาด 50 มล. สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วปรับปริมาตรสารสกัดให้ได้ 50 มล. ก่อนนำไปใช้

วิเคราะห์สมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระต่อไป

2.3.1 DPPH radical-scavenging method

วิเคราะห์ตามวิธีของ Tachibana และคณะ [14] โดยมีการดัดแปลงให้เหมาะสมกับวัตถุดิบที่ใช้ ซึ่งมีวิธีวิเคราะห์ดังนี้ นำสารสกัดที่ได้ 3 มล. ผสมกับสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 3 มล. เก็บในที่มืด 40 นาที ก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer: Genesys 10 UV, Thermo scientific, USA) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (สร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารละลาย Trolox ที่ความเข้มข้น 0-100 ไมโครโมลาร์) ค่าที่ได้จากการคำนวณแสดงในหน่วย Trolox quivalents

2.3.2 ABTS radical cation decolorization assay

วิเคราะห์ตามวิธีของ Re และคณะ [15] โดยดัดแปลงดังรายละเอียดนี้ เตรียมสารละลาย 7 mM ABTS ด้วยสารละลาย 2.45 mM potassium persulfate เก็บสารละลายที่ได้ในที่มืด อุณหภูมิปกติ นาน 12-16 ชม. (ก่อนนำมาใช้) จากนั้นนำสารละลาย ABTS ที่เตรียมได้ เจือจางด้วยเมทานอล 80 % จนได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.700±0.020 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร หลังจากนั้นใช้สารละลายที่เจือจางได้ 1 มล. ผสมกับสารสกัดของตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้ ให้ใช้สารละลายมาตรฐาน Trolox สร้างกราฟมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0-100 ไมโครโมลาร์) ค่าที่ได้จากการคำนวณแสดงในหน่วย Trolox equivalents เช่นกัน

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ตามวิธีของ Li และคณะ [16] รายละเอียดการวิเคราะห์ คือ นำสารสกัด 0.2 มล. ผสมกับสาร Folin-Ciocalteau reagent (เจือจาง 1:10) เมื่อครบ 4 นาที ให้เติมสารละลายอิ่มตัว Na_2CO_3 ปริมาตร 0.8 มล. ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วจึงนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที วิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (สร้างกราฟมาตรฐานด้วย Gallic acid) ค่าที่ได้จากการคำนวณแสดงในหน่วย mg GAE/g

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

ชั่งตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมสารละลายผสมสำหรับสกัด (โดยใช้ 95 % ethanol ผสมกับสารละลาย 1.5 M HCl) ที่เตรียมไว้ 150 มล. เขย่าให้เข้ากัน ปิดฝา เก็บในตู้เย็น 6 ชั่วโมง กรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ล้างขวด และกากด้วยสารละลายเดิม นำสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดปริมาตร 500 มล. ปรับปริมาตรจนได้ 500 มล. เขย่าให้เข้ากัน ปิเปตมา 2 มล. ใส่ในขวดปริมาตร 100 มล. ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. ด้วยสารละลายเดิม วัดค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 535 nm. ใช้น้ำกลั่นเป็น blank คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) [17]

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งรีซิสแตนท์

วิเคราะห์ตามวิธีในคู่มือ Resistant Starch Assay Kit (Megazyme, Ireland) รายละเอียดการวิเคราะห์โดยสังเขป คือ ชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ผสมสารละลายผสม pancreatic α-amylase (10 มก./มล.) และ amyloglucosidase (3 ยูนิต/มล.) ปริมาตร 4 มล. บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง พร้อมเขย่า หลังจากบ่มให้เติมเอทานอล 4 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ทิ้งสารละลายส่วนใสออก เติมเอทานอล 50 % (v/v) ปริมาตร 8 มล. แล้วเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง

อีกครั้ง ทิ้งสารละลายส่วนใสออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วจึงนำสารตัวอย่างที่เหลือในหลอดมาเติม 2 M KOH ปริมาตร 2 มล. ให้เติมในอ่างน้ำแข็งพร้อมกวนด้วย magnetic bar นาน 20 นาที แล้วจึงเติม 1.2 M sodium acetate buffer (8 มล., pH 3.8) และ amyloglucosidase (0.1 มล., 3,300 U/ml) นำหลอดตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ใช้สารละลายส่วนใส 0.1 มล. ผสมกับสารละลาย glucose oxidase-peroxidase-aminoantipyrine (GOPOD, >12,000 U/l glucose oxidase, >650 U/l peroxidase, 0.4 mM 4-aminoantipyrin) 3 มล. นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ใช้ sodium acetate buffer (0.1 M, pH 4.5) เป็น blank ค่าที่ได้จากการคำนวณแสดงในหน่วย % แป้งรีซิสแตนท์ (g/100g)

2.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เขี่ยเชื้อจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ลงในอาหารเหลว MRS (MRS broth) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับค่าความขุ่น (OD) ให้ได้มีค่าเท่ากับ 0.5 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ใช้เป็นค่าความขุ่นเริ่มต้นในการทดลอง [18]

2.7.1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพโดยการวัดความขุ่น (turbidimetrically)

ถ่ายจุลินทรีย์สุขภาพเริ่มต้น (starter culture) ที่มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.5 (600 นาโนเมตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อดัดแปลง MRS (modified MRS medium) ที่ประกอบด้วยถั่วชนิดต่า งๆ ในอัตรา 5 % (v/v) ของอาหารเหลว MRS ดัดแปลง จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้ววัดค่าความขุ่น (OD) ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบผลการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 5 สายพันธุ์ ที่เจริญในอาหารเหลว MRS ปกติที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม (control)

2.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพโดยการนับจำนวนเซลล์ (probiotic cell count) นับจำนวนจุลินทรีย์สุขภาพเริ่มต้น (starter culture) ทีมีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.5 หลังจากถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง โดยใช้เทคนิคการ pour plate นำไปบ่มในตู่บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์สุขภาพที่ปรากฏบนจานเพาะเชื้อ เมื่อทดลองครบเวลาที่ 48 ชั่วโมง นำหลอดเพาะจุลินทรีย์สุขภาพที่เจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง มานับจำนวนจุลินทรีย์สุขภาพหลังจากผ่านไป 48 ชั่วโมง โดยการเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์สุขภาพที่เลี้ยงในอาหาร MRS ปกติ

2.8 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองทั้งหมดมีจำนวนซ้ำของการทดลอง 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วย one-way ANOVA โดยโปรแกรม SPSS® version 12 (SPSS Thailand Co., Ltd.) วิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วทั้ง 8 ชนิด โดยวิธี DPPH radical-scavenging แสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าถั่วแต่ละชนิดมีความ

สามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กล่าวคือ ถั่วดำมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (529.04 ไมโครโมล Trolox eq./กรัม) รองลงมา คือ ถั่วแดงหลวงและถั่วแดงนาง (301.51 และ 293.91 ไมโครโมล Trolox eq. /กรัม ตามลำดับ) ส่วนถั่วเขียวมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด (51.74 ไมโครโมล Trolox eq. /กรัม) จากข้อมูลดังกล่าว เห็นได้ว่าถั่วที่มีสีจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า โดยถั่วดำ ถั่วแดงหลวง ถั่วแดง-นาง ถั่วแดงอะซูกิ และถั่วเหลืองผิวดำ จะมีรงควัตถุจำพวกแอนโทไซยานินสูง และสามารถออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Elizabeth และคณะ [9] ที่ทดลองในถั่วพื้นเมืองของเม็กซิโกที่มีสีที่ต่างกัน แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการกลายพันธุ์ที่ต่างกันด้วย รวมถึงงานวิจัยของ Madhujith และ Shahidi [19] ที่ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่ว 4 ชนิด ที่มีสีต่างกัน และแยกเปลือกนอกของถั่วมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกันด้วย

ตารางที่ 1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และแป้งรีซิสแตนท์ทั้งหมด

ตัวอย่าง	Antioxidant capacity (μM Trolox eq./g)*		Total phenolic content (mg GAE /g)*	Anthocyanins content (mg /100 g)*	Resistant starch content (g/100 g)*
	DPPH assay	ABTS assay			
ถั่วดำ	529.04±11.85^{a}	61.82±2.54^{a}	4.16±0.04^{a}	26.43±0.06^{a}	0.37±0.03^{e}
ถั่วเขียว	51.74±3.33^{g}	10.45±0.98^{f}	1.62±0.03^{f}	0.00±0.00^{d}	1.22±0.02^{d}
ถั่วแดงหลวง	301.51±36.11^{b}	34.66±1.98^{b}	2.29±0.03^{e}	0.76±0.00^{c}	7.93±0.40^{b}
ถั่วเหลือง	107.22±7.40^{e}	22.73±1.11^{d}	2.48±0.03^{d}	0.00±0.00^{d}	0.06±0.01^{f}
ถั่วขาว	90.41±6.31^{f}	20.91±1.96^{e}	0.99±0.03^{g}	0.00±0.00^{d}	0.46±0.05^{e}
ถั่วแดงอะซูกิ	268.01±2.50^{c}	34.09±0.83^{b}	2.47±0.03^{d}	0.68±0.24^{c}	8.99±0.23^{a}
ถั่วเหลืองผิวดำ	228.25±2.00^{d}	30.91±1.17^{c}	2.59±0.02^{c}	3.18±0.18^{b}	0.36±0.01^{e}
ถั่วแดงนาง	293.91±11.06^{b}	34.55±0.98^{b}	2.84±0.16^{b}	0.51±0.00^{c}	5.33±0.25^{c}

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เมื่อวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วทั้งหมดโดยวิธี ABTS radical cation decolorization (ตารางที่ 1) พบว่าถั่วดำมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (61.82 ไมโครโมล Trolox eq./กรัม) รองลงมา คือ ถั่วแดงหลวงและถั่วแดงนาง (34.66 และ 34.55 ไมโครโมล Trolox eq./กรัม ตามลำดับ) ส่วนถั่วเขียวมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด (10.45 ไมโครโมล Trolox eq./กรัม) จากข้อมูลดังกล่าว เห็นได้ว่าสอดคล้องกับการวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical-scavenging ที่แสดงแนวโน้มว่าถั่วที่มีสีจะมีฤทธิ์สูงกว่าถั่วที่ไม่มีสี

3.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สารประกอบฟีนอลิก เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความ

สามารถในการต้านอนุมูลอิสระทางหนึ่ง จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด ของถั่วทั้ง 8 ชนิด โดยวิธี Folin-Ciocalteau (ตารางที่ 1) พบว่าถั่วต่างชนิดกันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยถั่วดำมีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกมากที่สุด (4.16 มก. GAE/กรัม) รองลงมา คือ ถั่วแดงนางและถั่วเหลืองผิวดำ (2.84 และ 2.59 มก. GAE/กรัม ตามลำดับ) ส่วนถั่วขาวมีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกน้อยที่สุด (0.99 มก. GAE/กรัม) ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Madhujith และ Shahidi [19] ที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของถั่ว 4 ชนิด ที่มีสีผิวเปลือกต่างกัน พบว่าผิวเปลือกของถั่วดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ในขณะที่ผิวเปลือกถั่วขาวมีปริมาณน้อยที่สุด เมื่อวิเคราะห์ทั้งเมล็ดถั่วจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าเฉพาะที่เปลือก เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกจะถูกสะสมไว้ที่ผิวเปลือกมากกว่าในเนื้อเมล็ดของถั่วนั่นเอง (Segev และคณะ [20] วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เปลี่ยนแปลงไประหว่างการแช่น้ำของถั่ว chickpea พบว่าปริมาณสารดังกล่าวจะลดลงถึง 45 % เนื่องจากการสูญเสียที่ผิวเปลือกนั่นเอง) จากข้อมูลดังกล่าว เห็นได้ว่าสอดคล้องกับการวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical-scavenging และ ABTS radical cation decolorization ที่พบว่าถั่วที่มีสีจะมีฤทธิ์สูงกว่าถั่วที่ไม่มีสี [9]

3.3 ปริมาณแอนโทไซยานิน

รงควัตถุที่พบในถั่วที่มีสี คือ สารแอนโทไซยานิน [21] การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในถั่ว 8 ชนิด (ตารางที่ 1) พบว่าถั่วต่างชนิดกันมีปริมาณสารแอนโทไซยานินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยถั่วดำมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด (26.43 มก./100 กรัม) ปริมาณดังกล่าวเช่นเดียวกับการทดลองของ Fabroni และคณะ [22] ที่พบว่าในถั่วดำมีปริมาณแอนโทไซยานิน 25.00 มก./100 กรัม รองลงมา คือ ถั่วเหลืองผิวดำ (3.18 มก./100 กรัม) ส่วนถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วขาวไม่พบสารแอนโทไซยานิน เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะเห็นได้ว่าสอดคล้องกัน กล่าวคือ ถั่วที่มีแอนโทไซยานินจะมีฤทธิ์ดังกล่าวสูงกว่าถั่วที่มีรงควัตถุดังกล่าวน้อยกว่า ดังการทดลองของ Beninger และ Hosfield [23] ซึ่งศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแอนโทไซยานินที่สกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดถั่ว (*Phaseolus vulgaris* L.) ที่มีสี โดยโครงสร้างของสารแอนโทไซยานินจะมีหมู่ OH^- ที่จะสามารถรับ H^+ จากอนุมูลอิสระทำให้เสถียรขึ้นนั่นเอง

3.4 ปริมาณแป้งรีซิสแตนท์

ปริมาณแป้งรีซิสแตนท์ถือได้ว่าเป็น functional fiber ซึ่งจุลินทรีย์สุขภาพสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ [24] ในการวิเคราะห์ปริมาณแป้งรีซิสแตนท์ของถั่วทั้ง 8 ชนิด (ตารางที่ 1) พบว่าถั่วต่างชนิดกันจะมีปริมาณแป้งรีซิสแตนท์ที่แตกต่างกัน ถั่วแดงอะซูกิมีปริมาณแป้งรีซิสแตนท์มากที่สุด (8.99 กรัม/100 กรัม) รองลงมา คือ ถั่วแดงหลวงและถั่วแดงนาง (7.93 และ 5.33 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ) ซึ่ง Reddy และคณะ [25] ก็แสดงข้อมูลถึงปริมาณแป้งรีซิสแตนท์ที่มีมากในถั่วแดงเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วชนิดอื่นเช่นกัน ส่วนถั่วเหลืองมีปริมาณแป้งรีซิสแตนท์น้อยที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแป้งรีซิสแตนท์กับความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพ พบว่าให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกัน คือ ถั่วแดงอะซูกิซึ่งมีปริมาณแป้งรีซิสแตนท์สูงก็สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพทั้งจากการวิเคราะห์โดยวิธีวัดความขุ่นและการนับจำนวนเซลล์ได้สูงที่สุดเช่นเดียวกัน และให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Dangsungnoen และคณะ [26]

ซึ่งทดลองเปรียบเทียบปริมาณของแป้งรีซิสแตนท์จากแหล่งต่าง ๆ เช่น black cowpea ที่ส่งผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแลคโตบาซิลลัสเช่นกัน

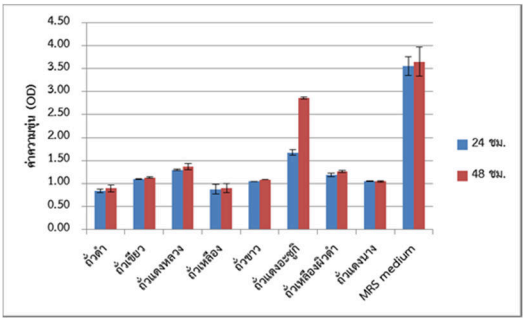
3.5 ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลงเปรียบเทียบกับอาหาร MRS ปกติที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส พบว่าจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *L. acidophilus* TISTR 450, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. casei* TISTR 453 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง ที่มีแหล่งคาร์บอนจากถั่วทั้ง 8 ชนิด แต่ให้อัตราการเจริญที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของถั่วที่นำมาใช้ในการทดลอง

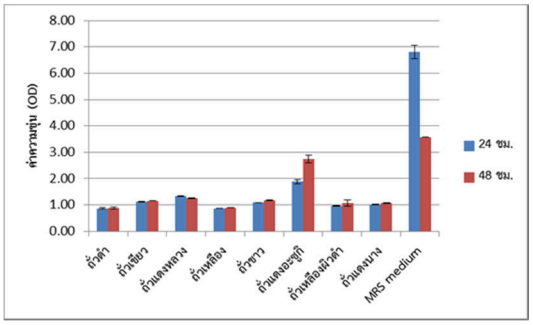
3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพโดยการวัดความขุ่น

รูปที่ 1 พบว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก จากการวัดค่าความขุ่น (OD) มีค่าสูงไม่เกิน 2.5 ในทุกชนิดของถั่วเป็นแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการทดลอง ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบค่าความขุ่นของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ปกติที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีความความขุ่นสูงถึง 2.80-6.80 ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าที่แตกต่างกันมาก โดยที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยชนิดของถั่วที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการเป็นแหล่งของคาร์บอนให้กับจุลินทรีย์สุขภาพและให้ค่าความขุ่นสูง ได้แก่ ถั่วอะซูกิ ถั่วแดง ถั่วขาว ถั่วเขียว ถั่วแดงนาง และถั่วเหลืองผิวดำ โดยมีค่าความขุ่นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.83-2.11

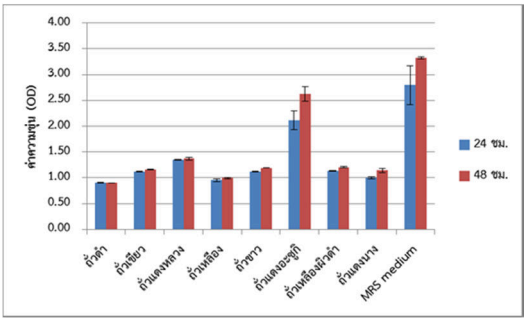
ในขณะที่ค่าความขุ่นของการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง ที่มีแหล่งคาร์บอนจากถั่ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากถั่วแดงอะซูกิ พบว่าหลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมง อัตราการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพ



(ก)



(ข)



(ค)

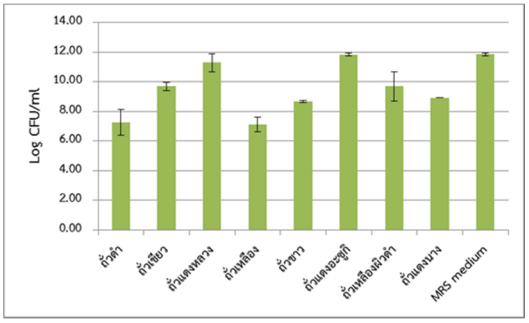
รูปที่ 1 ค่าความขุ่นจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลงผสมถั่วแต่ละชนิดที่ 24 และ 48 ชั่วโมง (ก) *Lactobacillus acidophilus* TISTR 450 (ข) *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451 (ค) *Lactobacillus casei* TISTR 453

มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในทุกสายพันธุ์ แต่ในทางกลับกันค่าความขุ่นของจุลินทรีย์สุขภาพ *L. bulgaricus* TISTR 451 ที่เจริญในอาหาร MRS ปกติ ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน กลับมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความขุ่นที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยมีค่าความขุ่นอยู่ในช่วง 3.33-4.42 โดยค่าความขุ่นของจุลินทรีย์สุขภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นอยู่ระหว่าง 0.99-2.87 ซึ่งอัตราการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพมีอัตราการเจริญที่ไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหาร MRS ปกติ ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Su และคณะ [12] ที่แสดงให้เห็นว่าโพลิ-แซกคาไรด์จากถั่วส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *L. casei* ที่ความขุ่นใกล้เคียงกัน

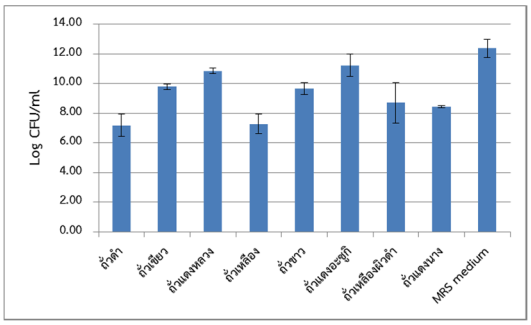
3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพโดยการนับจำนวนเซลล์

การนับจำนวนจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายหลังเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลงที่มีแป้งถั่วเป็นแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหาร MRS ปกติที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง มีค่าไม่แตกต่างกันกับการเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ปกติ โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง มีปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพอยู่ระหว่าง 10^7-10^{11} CFU/มล. ส่วนในอาหาร MRS ปกติมีปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพอยู่ระหว่าง 10^{11}-10^{12} CFU/มล. ทั้งนี้พบว่าปริมาณจุลินทรีย์สุขภาพที่เพิ่มขึ้นมีค่าแปรผันตามกับปริมาณค่าความขุ่นที่วัดได้ (รูปที่ 2) โดยปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (starter culture) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีค่าความขุ่นเริ่มต้นเท่ากับ 0.50 มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^5 CFU/มล.

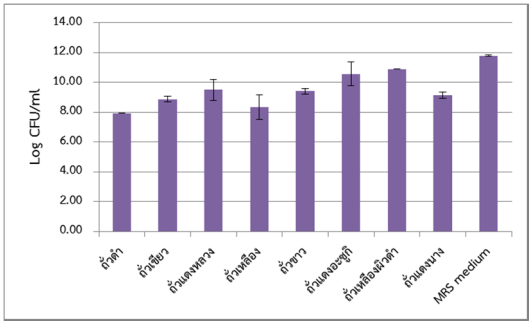
ผลการทดลองเปรียบเทียบค่าความขุ่นและการนับจำนวนจุลินทรีย์ สามารถสรุปได้ว่าแป้งถั่วที่



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 2 จำนวนจุลินทรีย์สุขภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลงผสมถั่วแต่ละชนิดที่ 48 ชั่วโมง (ก) *Lactobacillus acidophilus* TISTR 450 (ข) *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451 (ค) *Lactobacillus casei* TISTR 453

มีส่วนในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Dangsungnoen และคณะ [26] ซึ่งทดลองเปรียบเทียบปริมาณของแป้งรีซิสแตนท์จากถั่ว black cowpea ที่ส่งผลต่อ

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของแลคโตบาซิลลัสเช่นกัน โดยให้ค่าความขุ่นและมีจำนวนจุลินทรีย์สูงที่ 48 ชั่วโมง คือ แป้งจากถั่วอะซูกิ รองลงมา คือ ถั่วแดง-หลวงและถั่วแดงนาง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของแป้งรีซิสแตนท์ของถั่วทั้ง 3 ชนิด ที่มีอยู่ในปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วชนิดอื่นที่นำมาใช้ในการทดลองในครั้งนี้ โดยให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Reddy และคณะ [25] ซึ่งแสดงข้อมูลถึงปริมาณแป้งรีซิสแตนท์ที่มีมากในถั่วแดงเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วชนิดอื่นเช่นกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลการเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ปกติ ทีมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง มีอัตราการเจริญช้า โดยให้อัตราการเจริญสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ปกติ ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีอัตราการเจริญสูงสุดที่ 24 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจากในอาหาร MRS ปกตินั้นมีสารอาหารที่อุดมสมบูรณ์จุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ทันทีโดยเฉพาะแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ซึ่งเป็นน้ำตาลกลูโคส ส่งผลให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ปกติ มีค่าความขุ่นสูงสุดที่ 24 ชั่วโมง แต่เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลง ซึ่งถูกแทนที่แหล่งคาร์บอนของอาหาร MRS ปกติ คือ น้ำตาลกลูโคส ด้วยแป้งถั่วบดละเอียด จึงส่งผลให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอัตราการเจริญช้าในช่วง 24 ชั่วโมงแรก แต่หลังจาก 24 ชั่วโมงไปแล้ว อัตราการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพมีอัตราการเจริญเพิ่มสูงขึ้น โดยที่มีค่าอัตราการเจริญสูงจนมีค่าความขุ่นใกล้เคียงกับค่าความขุ่นของจุลินทรีย์สุขภาพที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ปกติ

สามารถอธิบายได้ว่าแหล่งคาร์บอนของอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดัดแปลงนั้น เป็นแป้งทีมีโมเกลุลขนาดใหญ่ที่ได้จากถั่วชนิดต่าง ๆ จึงทำให้จุลินทรีย์สุขภาพต้องใช้เวลาในการย่อยสลายพันธะขนาดใหญ่ให้เล็กลง เพื่อนำเข้าสู่เซลล์ในช่วงแรกของการเจริญที่ 24 ชั่วโมง [27] แต่หลังจาก 24 ชั่วโมง ไปแล้ว จุลินทรีย์สุขภาพสามารถนำสารอาหารที่ผ่านการย่อยสลายเข้าสู่เซลล์ได้จึงส่งผลให้อัตราการเจริญเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่การเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ปกติที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์สุขภาพสามารถเจริญดีที่เวลา 24 ชั่วโมง เพราะสามารถนำเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรงโดยไม่ต้องทำการย่อยสลายก่อนซึ่งแตกต่างจากแป้งนั่นเอง

4. สรุป

การศึกษาสมบัติในการเสริมสร้างสุขภาพจากถั่ว 8 ชนิด ได้แก่ ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วแดงหลวง ถั่วเหลือง ถั่วขาว ถั่วแดงอะซูกิ ถั่วเหลืองผิวดำ และถั่วแดงนาง โดยศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพ พบว่าถั่วที่มีสีหรือมีรงควัตถุเคลือบที่ผิวนอก มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าถั่วที่ไม่มีรงควัตถุ เคลือบที่เปลือกนอก โดยถั่วดำจะมีสมบัติสูงที่สุด รองลงมา คือ ถั่วแดง ในขณะที่ถั่วเขียวมีความ สามารถต่ำที่สุดในตัวอย่างทั้งหมดที่ทดลอง เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญ เติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 450, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. casei* TISTR 453 พบว่าจุลินทรีย์สุขภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถใช้แหล่ง คาร์บอนจากถั่วแต่ละชนิด แตกต่างกัน จากความสามารถในการเจริญเติบโต ซึ่งวิเคราะห์โดยการวัดความขุ่น และการนับจำนวนเซลล์ สำหรับถั่วที่ใช้เป็นตัวอย่างทดลองทั้งหมดให้ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพใกล้เคียงกัน แต่พบสูงสุดในตัวอย่างถั่วแดงอะซูกิและถั่วแดงหลวง ซึ่ง

สอดคล้องกับปริมาณของแป้งรีซิสแตนท์ที่วิเคราะห์ได้ องค์ความรู้ที่ได้นี้สามารถนำไปต่อยอดต่อการส่งเสริมการใช้ถั่วในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ ซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนในการดำเนินโครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการปฏิบัติงาน พร้อมเครื่องจักรและอุปกรณ์ทั้งหมดในการทดลอง

6. รายการอ้างอิง

[1] Hadi, S.M., Bhat, S.H., Azmi, A.S., Hanif, S., Shamin, U. and Ullah, M.F., 2007, Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: A putative mechanism for anticancer properties, Semin. Cancer Biol. 17: 370-376.

[2] Lansky, E.P. and Newman, R.A., 2007, *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer, J. Ethnophamacol. 19: 177-206.

[3] Alvira, D., Yeste-Velasco, M., Folch, J., Verdaguer, E., Canudas, A.M., Pallas, M. and Camins, A., 2007, Comparative analysis of the effects of resveratrol in two apoplotic models: Inhibition of complex I and potassium deprivation in cerebellar neurons, Neurosci. 147: 746-756.

[4] Sun, S.W., Yu, H.Q., Zhang, H., Zheng, Y.L., Wang, J.J. and Luo, L., 2007, Quercetin attenuates spontaneous behavior and spatial memory impairment in D-galactose-treated mice by increasing brain antioxidant capacity, Nutr. Res. 27: 169-175.

[5] Aryana, K.J. and McGrew, P., 2007, Quality attributes of yogurt with Lactobacillus casei and various prebiotics, LWT-Food Sci. Technol. 40: 1808-1814.

[6] Prescott, S.L. and Bjorksten, B., 2007, Probiotics for the prevention or treatment of allergic diseases, J. Allergy Clin. Immunol. 120: 255-262.

[7] Dai, Z., Su, D., Zhang, Y., Sun, Y., Hu, B., Ye, H., Jabbar, S. and Zeng, X., 2014, Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of Verbascose from mung bean (Phaseolus aureus), J. Agric. Food Chem. 62: 10727-10735.

[8] Oomah, B.D., Corbe, A. and Balasubramanian, P., 2010, Antioxidant and anti-inflamatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls, J. Agric. Food Chem. 58: 8225-8230.

[9] Elizabeth, R.N., Annete, H., Francisco, G.R., Javier, I.F., Graciela, Z. and Alberto, G.J., 2007, Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*), Food Chem. 103: 521-527.

[10] Martinez, A.C., Pina, G.L. and Oomah, B.D., 2002, Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.), J. Agric. Food Chem. 50: 6975-6980.

[11] Nahashon, S.N., Nakaue, H.S. and Mirosh, L.W., 1996, Performance of single comb white leghorn fed a diet supplemented with a live microbial during the growth and egg laying phases, Anim. Feed Sci. Technol. 57: 25-38.

[12] Su, P., Henriksson, A. and Mitchell, H., 2007, Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures *in vitro*, Anaerobe 13: 134-139.

[13] Carrera, E.C., Cruz, A.C., Guerrero, L.C. and Ancona, D.B., 2007, Effect of pyrodextrinization on available starch content of Lima bean (*Phaseolus lunatus*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) starches, Food Hydrocoll. 21: 472-479.

[14] Tachibana, Y., Kikuzaki, H., Lajis, N.H. and Nakatani, N., 2001, Antioxidative activity of carbazoles from *Murraya koenigii* leaves, J. Food Eng. 80: 1255-1260.

[15] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Evans, C.R., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radic. Biol. Med. 26: 1231-1237.

[16] Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. and Jiang, Y., 2007, Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae, Food Chem. 102: 771-776.

[17] Fuleki, T. and Francis, F.J., 1968, Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries, J. Food Sci. 33: 72-77.

[18] AOAC, 1998, Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, M.D.

[19] Madhujith, T. and Shahidi, F., 2005, Antioxidant potential of pea beans (*Phaseolus vulgaris* L.), J. Food Sci., 70(Nr.1): S85-90.

[20] Segev, A., Badani, H., Galili, L., Hovav, R., Kapulnik, Y., Shomer, I. and Galili, S., 2011, Total phenolic content and antioxidant activity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by soaking and cooking conditions, Food Nutr. Sci. 2: 724-730.

[21] Yoshida, K., Sato, Y., Okuno, R., Kameda, K., Isobe, M. and Kondo, T., 1996, Structural analysis and measurement of anthocyanins from colored seed coats of Vigna, Phaseolus and Glycine Legumes, Biosci. Biotech. Biochem. 60: 589-593.

[22] Fabroni, S., Ballistreri, G., Amenta, M., Romeo, F.V. and Rapisarda, P., 2016, Screening of the anthocyanin profile and in vitro pancreatic lipase inhibition by anthocyanin-containing extracts of fruits, vegetables, legumes and cereals, J. Sci. Food Agric. 96: 4713-4723.

[23] Beninger, C.W. and Hosfield, G.L., 2003, Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from Phaseolus vulgaris L. seed coat color genotypes, J. Sci. Food Agric. 51: 7879-7883.

[24] Bird, A.R., Conlon, M.A., Christophersen, C.T. and Topping, D.L., 2010, Resistant starch, large bowel fermentation and broader perspective of prebiotics and probiotics, Benef. Microbes. 1: 423-431.

[25] Reddy, C.K., Suriya, M. and Haripriya, S., 2013, Physico-chemical and functional properties of resistant starch prepared from red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) starch by enzymatic method, Carbohydr. Polym. 95: 220-226.

[26] Dangsungnoen, P., Moongngam, A. and Deeseenthum, S., 2012, Comparison of resistant starch content and survival of *Lactobacillus* spp. On four different sources of resistant starch, In Proceeding of 2012 International Conference on Life Science and Engineering, Singapore.

[27] Gänzle, M.G. and Follador, R., 2012, Metabolism of oligosaccharides and starch in lactobacilli: A review, Front. Microbiol. 3: 1-15.