บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

พืชที่จะนำมาแยกสะกัดโปรตีนควรจะเป็นพืชที่มีอยู่ทั่วไป ปลูกง่าย ให้ผลผลิตสูง เพื่อไม่ก่อให้เกิดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบ เมื่อจะนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ ควรที่จะมีปริมาณโปรตีนสูง เพื่อให้ได้โปรตีนสะกัดมากพอ ในการวิจัยนี้ จึงได้ทำการวิจัยตัวอย่างพืช 2 ชนิด คือฟักทอง(*Cucurbita maxima*) และกระถิน (*Leucaena leucocephala*)

ฟักทอง เป็นพืชเขตร้อนประเภทไม้เลื้อย ซึ่งปลูกได้ง่ายและให้ผลเร็ว ส่วนที่นำมาใช้เป็นอาหาร ได้แก่ ยอดอ่อน ใบและผล ส่วนเมล็ดก็สามารถรับประทานได้ (16) แม้จะไม่ค่อยเป็นที่นิยมกว้างขวางนัก ซึ่งการวิจัยนี้ใช้ส่วนของเมล็ดมาศึกษาแยกสะกัดโปรตีนออกมา ถ้าเมล็ดฟักทองสามารถให้โปรตีนสะกัดที่มีคุณภาพดี มีคุณค่าอาหารโปรตีนสูงและมีสารต้านคุณค่าทางโภชนาการน้อย ต่อไปในอนาคตอาจจะนำโปรตีนสะกัดจากเมล็ดฟักทอง ไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแทนที่จะทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์

สำหรับกระถินนั้นก็เป็นพืชในเขตร้อนเช่นกัน มีการนำส่วนต่างๆ ของกระถินมาใช้เป็นอาหาร เช่น ใบหรือยอดอ่อน ฝักอ่อน ส่วนใบ เมล็ด นำมาบดผสมเป็นอาหารสัตว์ได้ (17) แต่เนื่องจากกระถินเป็นพืชที่มีมิโมซีน (Mimosine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่เป็นพิษ ยับยั้งการเจริญเติบโตในสัตว์ทดลองและทำให้เกิดขนร่วงได้(9,17) การนำกระถินมาใช้เป็นอาหารจึงมีข้อจำกัด แต่ถ้าสามารถแยกเป็นโปรตีนสะกัดซึ่งมีปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นพิษลดลง จะทำให้มีความปลอดภัยสูง ก็จะเป็นประโยชน์มากขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. โปรตีนสะกัด

พืชเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีราคาถูก ประมาณร้อยละ 70 ของโปรตีนที่เป็นอาหารของประชาชน ได้มาจากพืช แม้ว่าโปรตีนจากพืชจะมีคุณภาพด้อยกว่าโปรตีนจากสัตว์ก็ตาม แต่ก็สามารถปรับสัดส่วนหรือเสริมโปรตีนส่วนที่บกพร่องให้สมบูรณ์ขึ้นได้(3) แหล่งโปรตีนจากพืชที่ใช้เป็นอาหารในปัจจุบัน ได้แก่ ธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด เป็นต้น พืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเขียว และพืชที่ให้น้ำมัน เช่น เมล็ดฝ้าย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดงา รวมทั้งถั่วเหลือง ถั่วลิสง(3) ในปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะปรับปรุง เพิ่มผลผลิตและคุณภาพของโปรตีนจากพืช เช่น ศึกษาวิธีการเพาะปลูก การใช้ปุ๋ย รวมไปถึงการผสมพันธุ์พืชให้มีกรดอะมิโนบางชนิดสูงขึ้น (3,18) เช่น การผสมพันธุ์ข้าวโพดให้มีปริมาณไลซีนสูงกว่าเดิม(3) นอกจากนี้ยังมีการนำพืชมาผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการดีขึ้น เช่น โปรตีนเกษตร เต้าหู้ เป็นต้น(6) ซึ่งอาศัยหลักการที่ต้องการแยกสะกัดเอาโปรตีนออกมาจากพืชที่ใช้ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาในเรื่องรส กลิ่น สารพิษ รวมทั้งสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่มีในพืช ซึ่งพืชที่มีการศึกษาแยกเอาโปรตีนออกมา และใช้เป็นอาหารได้ดี คือ ถั่วเหลือง (มีโปรตีน 43 %) ส่วนพืชอื่น ๆ ที่ได้รับความสนใจศึกษา ได้แก่ เมล็ดทานตะวัน (มีโปรตีน 25 %) ถั่วลิสง(มีโปรตีน 36 %) เมล็ดฝ้าย(มีโปรตีน 24 %) เป็นต้น (7,8,19-27)

สำหรับการแยกสะกัดโปรตีนออกจากพืชนั้น สามารถทำได้โดยบดพืชตัวอย่างให้ละเอียด แล้วสะกัดโปรตีนด้วยน้ำ จากนั้นจึงนำมาตกตะกอนโปรตีน ซึ่งมีวิธีการที่นิยมใช้โดยทั่วไป 3 วิธี คือ

1. การใช้ความร้อน

การใช้ความร้อนในการตกตะกอนโปรตีน เป็นวิธีที่ยอมรับและใช้กันอย่างกว้างขวาง ความร้อนจะทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนแปลง ความสามารถในการละลายลดลง จึงเกิดเป็นตะกอนแยกตัวออกมา โปรตีนจะเริ่มตกตะกอนที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส และจะตกตะกอนสมบูรณ์ที่ประมาณ 70 - 85 องศาเซลเซียส(28,29) ในกรณีที่ให้ความร้อน จนถึง 100 องศาเซลเซียส จะไม่มีผล

ต่อการเพิ่มปริมาณตะกอนของโปรตีน แต่จะเป็นการทำลายจุลินทรีย์ที่อาจจะมีอยู่ รวมทั้งเป็นการทำลายน้ำย่อยต่างๆ ที่มีอยู่ในพืชนั้นๆ โปรตีนสะกัดโดยวิธีการใช้ความร้อนนี้ จะได้ตะกอนโปรตีนที่เป็นก้อนจับกันค่อนข้างแน่น เมื่อตั้งทิ้งไว้จะนอนก้นได้ง่าย สะดวกในการแยกออกจากน้ำสะกัด วิธีการให้ความร้อนในการตกตะกอนโปรตีน ทำได้ง่ายๆ โดยการต้มและคนอย่างสม่ำเสมอจนกระทั่งเดือด แต่ในกรณีที่ทำในปริมาณมากๆ จะใช้เครื่องมือช่วยในการฉีดละอองไอน้ำเดือดไปผสมกับละอองไอน้ำของน้ำสะกัดโปรตีนจากพืช จะช่วยให้โปรตีนตกตะกอนอย่างรวดเร็วภายใน 2-3 วินาที(28) ข้อดีของวิธีการใช้ความร้อน นอกจากจะเป็นวิธีที่ประหยัด สะดวก สามารถทำลายจุลินทรีย์และน้ำย่อยได้แล้ว ยังสามารถทำลาย คลอโรฟิลล์ที่มีในพืช ทำให้โปรตีนสะกัดที่ได้มีสีปะปนมาน้อย เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร แต่ต้องระมัดระวังไม่ให้ความร้อนที่ใช้สูงเกินไป อาจจะทำให้โปรตีนบางส่วนถูกทำลายไปได้(28,29,30)

2. <u>การทำให้เป็นกรด</u>

โดยทั่วไปแล้วโปรตีนจะตกตะกอนที่พีเอชประมาณ 4-5 ซึ่งประจุไฟฟ้าของโปรตีนโดยรวมจะเป็นศูนย์ ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำลดลง จึงรวมตัวเป็นตะกอน โปรตีนสะกัดที่ได้จะมีลักษณะอ่อนนุ่ม ละเอียด ทำให้ยากในการแยกเอาตะกอนโปรตีนออกจากน้ำสะกัด จำเป็นต้องใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง วิธีการนี้จึงนิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ (28) ในบางกรณีอาจจะใช้ทั้งวิธีการให้ความร้อน ร่วมกับการทำให้เป็นกรด(29)

3. <u>การเติมเกลือ</u>

เกลือที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน ได้แก่ เกลือแคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งเกลือเหล่านี้จะไปแย่งน้ำมาเพื่อใช้ในการละลาย จึงทำให้การละลายของโปรตีนลดลงและจับตัวกันตกตะกอนออกมา วิธีการนี้ได้นำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตเต้าหู้โดยการเติมเกลือแคลเซียมซัลเฟตร่วมกับการใช้ความร้อน(31)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นอกจาก 3 วิธีดังกล่าวมาแล้ว การแยกโปรตีนโดยการเติมตัวทำละลาย เช่น อะซีโตน เอทธิลแอลกอฮอล์ ก็มีที่ใช้บ้าง ซึ่งจะสามารถกำจัดเม็ดสีและกลิ่นที่ไม่ต้องการได้มากขึ้น หรืออาจจะใช้การเติมตัวทำละลายร่วมกับการใช้ความร้อนหรือการปรับความเป็นกรดได้(29) แต่วิธีการนี้มีข้อเสียคือต้นทุนสูง เนื่องจากตัวทำละลายเหล่านี้มีราคาแพงและกระบวนการที่จะใช้ในการสะกัดโปรตีนออกมา เพื่อนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร ยังคงต้องศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติม(29,32) นอกจากนี้ ยังมีวิธีการอื่นๆ ซึ่งยุ่งยากและต้องใช้เครื่องมือที่พิเศษขึ้น เช่นวิธี Ultrafiltration(29) Ion exchange หรือการใช้ Gel electrophoresis(23) ซึ่งจะใช้ในกรณีที่ต้องการศึกษาโปรตีนสะกัดในแต่ละส่วนให้ละเอียด ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในงานทั่วไปหรือในอุตสาหกรรมอาหาร(33)

สำหรับปริมาณโปรตีนสะกัดที่ได้ นอกจากจะขึ้นกับวิธีการที่ใช้แล้ว ยังขึ้นกับชนิดของตัวอย่างพืช อายุของพืชที่เก็บตัวอย่างมา วิธีการทำให้โปรตีนสะกัดแห้งและอุณหภูมิที่ใช้ เป็นต้น(34) ดังนั้นในการที่จะนำพืชชนิดใดมาแยกสะกัดเอาโปรตีนเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีน นอกจากจะต้องคำนึงถึงปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนที่มีอยู่แล้ว กระบวนการต่างๆ ในการแยกสะกัดโปรตีนก็สำคัญ จะต้องทำการศึกษาวิจัยโดยละเอียดด้วย

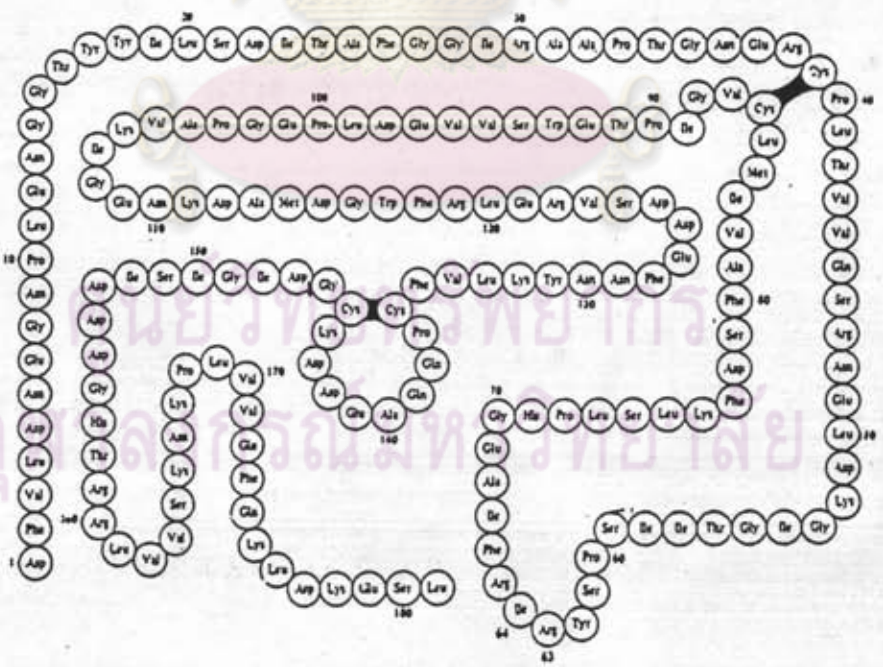
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. <u>สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ</u>

สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ จะพบได้ทั่วไปในพืช ดังนั้นในการนำพืชมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีน จึงควรที่จะคำนึงถึงสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่มีอยู่ในพืชนั้นๆ เช่น ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ มิโมซีน ไฟเตตและฮีแมกกลูตินิน เป็นต้น(1) ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดโทษหรือเกิดความเป็นพิษต่อผู้บริโภคได้ สารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพที่น่าสนใจมี 3 ชนิดคือ ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ มิโมซีนและไฟเตต

2.1 ทริพซิน อินฮิบิเตอร์(Trypsin inhibitors)

ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ จัดเป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการซึ่งมีโครงสร้างเป็นโพลีเปปไตด์ คือมีกรดอะมิโนต่อๆ กันเป็นสายยาว โดยจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของพืช และบางชนิดจะมีชื่อเรียกที่เฉพาะเจาะจงลงไปตามที่มีผู้ที่ได้ทำการศึกษาไว้ เช่น Kunitz inhibitor และ Bowman-Birk inhibitor ต่างก็พบในถั่วเหลือง แต่มีการเรียงลำดับของกรดอะมิโนแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 1 และ 2(35)และจะมีความสามารถในการยับยั้งน้ำย่อยโปรตีนชนิดต่างๆ แตกต่างกันไป โดยบางชนิดจะยับยั้งได้เฉพาะทริพซิน(trypsin) บางชนิดจะยับยั้งได้ทั้งทริพซินและไคโมทริพซิน(chymotrypsin) ทั้งนี้ขึ้นกับลักษณะโครงสร้างของทริพซิน อินฮิบิเตอร์แต่ละชนิด(36)



รูปที่ 1 ลำดับของกรดอะมิโนใน Kunitz inhibitor

รูปที่ 2 ลำดับของกรดอะมิโนใน Bowman-Birk inhibitor

ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ พบได้ในพืชทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชตระกูลถั่วและพบในพืชอื่นๆ อีก เช่น เมล็ดทานตะวัน ฟักทองและผัก(36) แม้ว่าโครงสร้างทั่วไปของทริพซิน อินฮิบิเตอร์ จะเป็นโพลีเปปไตด์ มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 6,000 ถึง 25,000 แต่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทั้งนี้เนื่องจากพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) มีอยู่เป็นจำนวนมากในโครงสร้าง ทำให้โครงสร้างจับตัวกันแน่น น้ำย่อยไม่สามารถย่อยได้

ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ค้นพบครั้งแรกโดย Osborne และ Mendel(37) ซึ่งพบว่าหนูที่เลี้ยงด้วยถั่วเหลืองดิบ จะไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร แต่เมื่อนำถั่วเหลืองมาทำให้สุกด้วยความร้อน จะสามารถช่วยให้การเจริญเติบโตของหนูดีขึ้น การยับยั้งการเจริญเติบโตในหนูที่เลี้ยงด้วยถั่วดิบ ก็เป็นผลมาจาก ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ที่มีอยู่ในถั่วเหลืองดิบนั้น เมื่อนำถั่วเหลืองมาทำให้สุก ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ก็ถูกทำลายไป(2,37) การเจริญเติบโตของหนูจึงดีขึ้น ซึ่งผลการทดลองในระยะต่อมา

สนับสนุนผลการทดลองนี้(10,38) นอกจากนี้ ผลการทดลองในพืชอื่น เช่น ถั่วเขียว ก็ให้ผลการทดลองในทำนองเดียวกัน(11,39-48) นอกจากนี้ Chernick และคณะ(45) ยังพบว่าลูกไก่ที่เลี้ยงด้วยถั่วเหลืองดิบ จะมีตับอ่อนที่ขยายตัวใหญ่ขึ้น ซึ่งเข้าใจว่าเป็นกระบวนการของร่างกายที่จะสร้างน้ำย่อยเพิ่มขึ้น เพื่อชดเชยกับน้ำย่อยที่ถูกยับยั้งการทำงานโดย ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ในถั่วเหลืองดิบ ขนาดของตับอ่อนนี้จะกลับสู่ปกติได้ถ้าสัตว์ได้รับอาหารที่มีทริพซิน อินฮิบิเตอร์อยู่ในปริมาณน้อยลง(50) อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ตับอ่อนจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อเพิ่มความสามารถในการผลิตน้ำย่อยให้มากพอกับความต้องการ สัตว์ทดลองก็ยังคงมีอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง เนื่องจากกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ ถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์น้ำย่อยของตับอ่อน แทนที่จะนำไปใช้ในการเสริมสร้างการเจริญเติบโตของร่างกาย จึงพบว่าเมื่อเติมกรดอะมิโนลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทดลอง จะสามารถทำให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ทั้งๆ ที่ตับอ่อนยังคงขยายตัวใหญ่ขึ้น เพื่อที่จะผลิตน้ำย่อยให้มากพอที่จะย่อยโปรตีนได้ ในทางตรงกันข้าม มีผู้ทำการทดลองเลี้ยงสุนัข สุกร ไก่ที่เติบโตเต็มที่แล้ว โคและหนูตะเภา ด้วยถั่วเหลืองดิบ พบว่าจะไม่มีผลทำให้ตับอ่อนขยายใหญ่ขึ้น(51) Kakade และคณะ(51)ได้กล่าวว่าการขยายตัวของตับอ่อนในสัตว์ทดลองจะมีความสัมพันธ์กับขนาดของตับอ่อน เมื่อคิดเป็นน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักตัวของสัตว์ ถ้าน้ำหนักของตับอ่อนมีค่ามากกว่า 0.3 % ของน้ำหนักตัวของสัตว์ จะมีผลทำให้ตับอ่อนขยายตัวใหญ่ขึ้นได้ ถ้าสัตว์ทดลองได้รับอาหารที่มีทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ในกรณีของสุนัข สุกร ไก่ที่โตเต็มที่ โคและหนูตะเภา ไม่เกิดการขยายตัวของตับอ่อน ก็เพราะน้ำหนักของตับอ่อนเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว มีค่าน้อยกว่า 0.3 % สำหรับคน พบว่าน้ำหนักของตับอ่อนเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว จะมีค่าประมาณ 0.09-0.12 % ดังนั้น จึงเชื่อว่าถ้าคนรับประทานถั่วเหลืองดิบ จะไม่ก่อให้เกิดการขยายตัวของตับอ่อน Liener(5) ยังพบว่าขนาดของตับอ่อน และปริมาณของน้ำย่อยโปรตีนจะมีความสัมพันธ์กัน สัตว์ที่มีตับอ่อนขนาดใหญ่ เช่น หนู ไก่ จะต้องการกรดอะมิโนชนิดที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบเพื่อใช้ในการสังเคราะห์น้ำย่อย สูงกว่าสัตว์ที่มีตับอ่อนขนาดเล็กกว่า เมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว ด้วยเหตุนี้จึงอาจอธิบายได้ว่า การที่เลี้ยงสัตว์ทดลองด้วยถั่วเหลืองดิบหรืออาหารที่มี ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ มีผลทำให้ตับอ่อนขยายตัว สำหรับในคน ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ มีแนวโน้มไม่ก่อให้เกิดการขยายตัวของตับอ่อน แต่ถ้าสามารถกำจัดหรือลดปริมาณของทริพซิน อินฮิบิเตอร์ในอาหารลงได้ด้วยปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ก็น่าที่จะกระทำเพื่อความแน่ใจในความปลอดภัย

1. ความร้อน

ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ส่วนใหญ่จะถูกทำลายได้เมื่อได้รับความร้อนในรูปของไอน้ำร้อน หม้อนึ่งอัดไอ(Autoclave) การต้มให้เดือด ความร้อนจากพลังงานไฟฟ้า รังสีไมโครเวฟ รวมทั้งการทำให้แห้งด้วยความร้อนก็สามารถลดปริมาณของทริพซิน อินฮิบิเตอร์ได้ ถ้าระยะเวลาในการให้ความร้อนนั้นมากเพียงพอ ปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์จะถูกทำลายไปมากหรือน้อยเพียงใดยังขึ้นกับชนิดของทริพซินอินฮิบิเตอร์ว่าพบในพืชชนิดใด วิธีการที่ให้ความร้อนและระยะเวลาที่ให้ความร้อนนั้น เช่น ถั่วเหลืองที่ผ่านไอน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ความชื้น 18% จะสามารถทำลายทริพซิน อินฮิบิเตอร์ได้ 90-92%(52) เป็นต้น ส่วนวิธีการอื่นๆ ก็ได้มีผู้ทำการทดลองไว้อีกหลายคณะ(53,54,55) เช่น Collins และ Beaty(53) พบว่าต้มถั่วเหลืองในน้ำเดือดนาน 3 นาที จะทำให้ปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ลดลง 90% การผ่านรังสีใต้แดง(Infrared)นาน 60 วินาที หม้อนึ่งอัดไอที่ 120 องศา-เซลเซียส ความดัน 1.05 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร นาน 15 นาทีและการต้มให้เดือด 30 นาที สามารถทำลายทริพซิน อินฮิบิเตอร์ได้ ในขณะที่ การใช้รังสีไมโครเวฟนาน 10 นาที ความชื้น 15% และเตาอบที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ไม่มีผลต่อปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์(47)

ความร้อนสามารถทำลายทริพซิน อินฮิบิเตอร์ได้ เชื่อว่าเนื่องจากความร้อนไปสลายพันธะไดซัลไฟด์ ในโครงสร้างของทริพซิน อินฮิบิเตอร์ แต่มีผู้พบว่าทริพซิน อินฮิบิเตอร์ในพืชบางชนิด เช่น ถั่วพู(winged bean) ไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน อาจเนื่องจากลักษณะโครงสร้างของทริพซิน อินฮิบิเตอร์ มีความสามารถที่จะทนต่อความร้อนได้(56)

2. การงอก

ผลของการงอกต่อทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด เนื่องจาก มีผู้ทดลองพบว่า ถั่วเหลือง ถั่วดำและถั่วแดง จะมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้นขณะที่กำลังงอก แต่ปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ไม่เปลี่ยนแปลง(57, 58) ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลองของอีกหลายคณะ ที่พบว่าทริพซิน อินฮิบิเตอร์ จะลดลงเล็กน้อย

ในขณะที่กำลังงอก(48, 59-62) ในทางตรงกันข้าม Liu และ Markakis(63) กลับพบว่าทริพซิน อินฮิบิเตอร์สูงขึ้นในถั่วเหลืองที่กำลังงอก ดังนั้นผลของการงอกต่อปริมาณ ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ในพืชยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด

3. การหมัก

อาหารที่ได้จากการหมัก เช่น Tempeh หรือ Natto จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น และมีทริพซิน อินฮิบิเตอร์ลดลง ซึ่งอาจเนื่องจากกรรมวิธีในการผลิตต้องใช้ความร้อนจึงเป็นผลให้ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ถูกทำลายได้ นอกจากนี้ ตับอ่อนของหนูที่เลี้ยงด้วย Tempeh ก็ไม่พบว่าเกิดการขยายใหญ่ขึ้น(64) แต่ผลการทดลองของ Stillings และ Hackler(65) พบว่าถ้าใช้เวลาในการหมัก Tempeh นานขึ้น จะทำให้คุณค่าทางโภชนาการลดลง และเมื่อนำไปเลี้ยงหนู พบว่าหนูไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร ทั้งนี้อาจเนื่องจากการหมักเป็นเวลานานๆ จะทำให้กรดอะมิโนสูญเสียไปได้

4. โปรตีนสะกัด

โปรตีนสะกัดจากพืชที่ใช้เป็นอาหารในปัจจุบันที่รู้จักกันดี คือ เต้าหู้ หรือเต้าฮวย(Soybean curd) ซึ่งได้จากการตกตะกอนโปรตีนจากน้ำถั่วเหลือง ด้วยเกลือของแคลเซียม พบว่ามีทริพซิน อินฮิบิเตอร์เพียง 19% ของปริมาณที่พบในถั่วเหลืองดิบ(52,66,67) การทดลองของ Churella และคณะ(54) พบว่าอาหารสำหรับทารกที่มีโปรตีนสะกัดจากถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมมีทริพซิน อินฮิบิเตอร์ต่ำ และไม่มีผลทำให้เกิดตับอ่อนของหนู(rat) ขยายตัวด้วย การทดลองกับคน พบว่าชายไทยที่ได้รับโปรตีนจากโปรตีนเกษตร(Textured protein) 0.95 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อ 1 วันสามารถช่วยให้เกิดภาวะสมดุลย์ของไนโตรเจนพอๆ กับการได้รับโปรตีนจากไข่ 0.77 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อ 1 วัน(10) แสดงว่าร่างกายคนสามารถใช้โปรตีนเกษตรเป็นอาหารเสริมโปรตีนหรือใช้แทนโปรตีนจากสัตว์ได้ในระยะเวลา 10 วัน โดยไม่ทำให้เกิดภาวะสมดุลย์ของไนโตรเจนเป็นลบ แม้ว่าโปรตีนสะกัดนั้น อาจจะมีกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิด คือ เมทไธโอนีน (Methionine) ซีสทีน(Cystine) และธรีโอนีน(Threonine) ต่ำกว่ามาตรฐาน

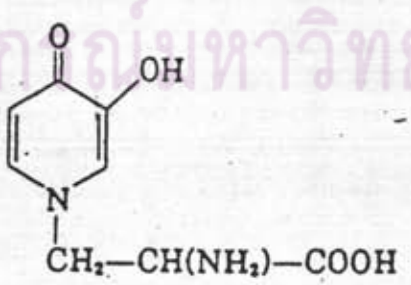
นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่ยืนยันว่า โปรตีนสะกัดจากพืชโดยไม่ผ่านความร้อน จะมีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ แต่เมื่อผ่านความร้อนแล้ว จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น(6) ซึ่งอาจจะอธิบายได้ว่าในโปรตีนสะกัดมีทริพซิน อินฮิบิเตอร์ปะปนอยู่ด้วย แต่เมื่อนำโปรตีนสะกัดนั้นมาประกอบอาหาร ซึ่งต้องใช้ความร้อน ปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ก็จะลดลง คุณค่าทางโภชนาการจึงสูงขึ้น

อย่างไรก็ตาม รายงานเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆ ซึ่งมีผลต่อปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ที่ได้กล่าวมาแล้วเป็นแต่เพียงส่วนใหญ่เท่านั้น ยังคงมีผลการทดลองส่วนน้อยที่ขัดแย้งกันอยู่ ดังนั้นในการจะนำเอาพืชหรือผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดใดมาเป็นอาหาร ก็ควรที่จะได้ทำการศึกษาทั้งปริมาณสารอาหารและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการต่างๆ ในอาหารแต่ละชนิดไปพร้อมกันด้วย

2.2 มิโมซีน(Mimosine)

มิโมซีน มีชื่อทางเคมี B[N-(3 hydroxy pyridone -4] a- amino propionic acid และมีสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในรูปที่ 3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 สูตรโครงสร้างของมิโมซีน

มิโมซีน เป็นกรดอะมิโนที่เป็นพิษชนิดหนึ่ง พบมากในพืชตระกูลถั่วและพืชอื่นๆ เช่น กระถิน *Mimosa pudica* โดยเฉพาะกระถิน มีการนำไปใช้เลี้ยงสัตว์กันอย่างกว้างขวางในประเทศทางแถบร้อน รวมทั้งประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีการใช้ใบอ่อน ฝักอ่อนและเมล็ด เป็นอาหารของคนด้วย(17)

ในการใช้กระถินเลี้ยงสัตว์ พบว่าจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง(9) ขนร่วง(9,17) เกิดความผิดปกติที่ตา ทำให้ตามีฝ้าขาวขุ่นเกิดขึ้น(12,68,69) นอกจากนี้สารที่ได้จากเมแทบอไลต์(metabolized)ของมิโมซีนคือ 3-hydroxy-4-1 (H)pyridone(DHP) ทำให้เกิดคอพอกในโค กระบือและหนู(rat)ได้ เนื่องจาก DHP ไปยับยั้งการจับไอโอดีนที่ต่อมไทรอยด์(13)

กระถินเป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูง ดังนั้นถ้าสามารถกำจัดหรือทำลายมิโมซีนได้ ก็จะสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนจากพืชที่สำคัญ และมีความปลอดภัยในการบริโภคด้วย(9) ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อปริมาณมิโมซีน ได้แก่

1. <u>ความร้อน</u>

Matsumoto และคณะ(9) พบว่าความร้อนจะสามารถทำลายมิโมซีนที่มีอยู่ในใบกระถินและเมล็ดกระถินได้ ถ้ามีความชื้นไม่น้อยกว่า 6.5% โดยการเก็บใบกระถินไว้ที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ปริมาณมิโมซีนจะลดลง 50% ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส มิโมซีนจะสลายตัวน้อยมาก นอกจากอุณหภูมิและความชื้นแล้ว ระยะเวลาก็เป็นปัจจัยสำคัญ โดยพบว่าการผ่านไอน้ำร้อนเข้าไปในที่เก็บใบกระถินเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะทำให้ปริมาณมิโมซีนลดลงจาก 6.4% เป็น 3.5% Wee และ Wang(14) ได้ทำการศึกษาผลของความร้อน จากการตากแห้งและการแช่ใบกระถินในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ ก็พบว่า ปริมาณมิโมซีนจะถูกทำลายมากขึ้นตามอุณหภูมิและเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Matsumoto และคณะ(9)

2. <u>น้ำย่อยในพืชเอง(Endogenous enzyme)</u>

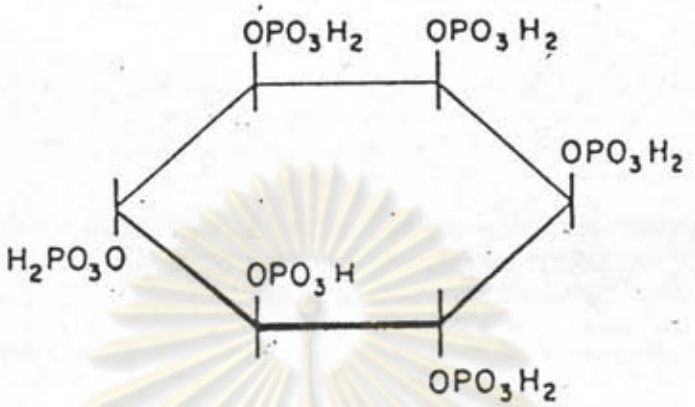
Lowry และคณะ(70) พบว่าใบกระถินที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที จะมีปริมาณมิโมซีนลดลง 50 % และเปลี่ยนแปลงเป็น DHP ถ้าแช่ทิ้งไว้นาน 30 นาที มิโมซีนทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนแปลงไป เชื่อว่า

ปรากฏการณ์นี้เกิดจากการสลายตัวโดยน้ำย่อยในใบกระถินเอง แต่ในทางตรงข้าม การทดลองของ Wee และ Wang(14) พบว่าการแช่ใบกระถินในน้ำก่อนไม่มีผลต่อการสลายตัวของมิโมซีนเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำที่ใช้แช่ ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะ Wee และ Wang(14) หั่นใบกระถินด้วยมีด ซึ่งอาจจะไม่สามารถทำลาย เนื้อเยื่อของใบกระถินได้มากพอที่จะปลดปล่อยน้ำย่อยออกมา

จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าความร้อนเป็นปัจจัยที่สำคัญ และเป็นวิธีการที่สะดวกในการทำลายมิโมซีน ดังนั้นก่อนจะนำใบกระถินหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระถินไปใช้เลี้ยงสัตว์หรือทำอาหาร ควรนำมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่สูงและเป็นระยะเวลาที่นานพอที่จะทำลายมิโมซีน ซึ่งพบว่าสัตว์ที่เลี้ยงด้วยใบกระถินที่ผ่านความร้อนจะมีอัตราการเจริญเติบโตเป็น 2 เท่าของกลุ่มที่เลี้ยงด้วยใบกระถินดิบ นอกจากนี้ การเติมเหล็กในรูปของเฟอร์รัส ซัลเฟต ลงในอาหารที่เลี้ยงสัตว์ที่มีใบกระถินอยู่ จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลองใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีใบกระถินและไม่พบอาการขนร่วงอันเนื่องมาจากพิษของมิโมซีนด้วย(49) ทั้งนี้อาจเนื่องจากเหล็กไปจับกับมิโมซีนเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ถูกดูดซึมและถูกขับออกมาทางอุจจาระ(9) อีกวิธีหนึ่งที่มีผู้ทำการศึกษาทดลอง คือ พยายามผสมพันธุ์ใหม่ของกระถินเพื่อให้มีมิโมซีนในปริมาณลดน้อยลง แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดลอง ยังไม่เป็นที่น่าพอใจนัก ยังคงต้องทำการศึกษาค้นคว้ากันต่อไป(15)

2.3 <u>ไฟเตต (Phytate)</u>

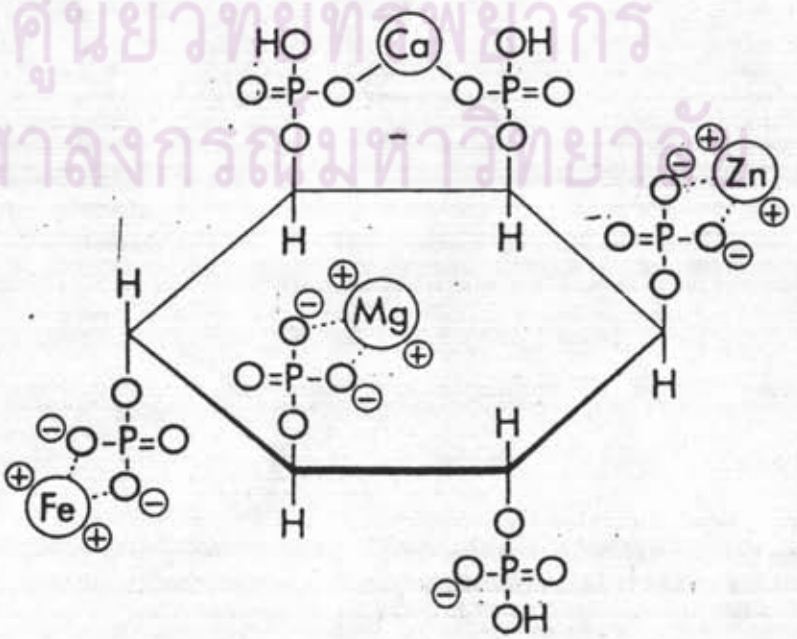
ไฟเตต เป็นสารประกอบของฟอสฟอรัส มีชื่อทางเคมีเป็น Myoinositol 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexa kis(dihydrogen phosphate)และมีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 4(71) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ไฟเตตสามารถจับกับประจุของโลหะ รวมทั้งโปรตีนได้ดี โดยกลุ่มฟอสเฟตทั้ง 6 ในโครงสร้าง



รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างของไฟเตต

ไฟเตตพบในพืชทั่วๆ ไปโดยเฉพาะพวกธัญพืช พืชตระกูลถั่วและพืชที่ให้น้ำมัน ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีไฟเตตอยู่ประมาณ 1-3 % ซึ่งคิดเป็น 60-80 % ของฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในพืช(72, 73, 74) ไฟเตตมีคุณสมบัติที่จะจับกับเกลือแร่ต่างๆ ได้ ตามที่แสดงในรูปที่ 5 ดังนั้น การรับประทานพืชที่มีไฟเตตในปริมาณสูง อาจมีผลทำให้ไฟเตตจับกับเกลือแร่ในอาหาร เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งร่างกายไม่สามารถดูดซึมเกลือแร่ต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้(75-85)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไฟเตตกับเกลือแร่ต่างๆ

016255

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าว จะขึ้นกับภาวะความเป็นกรดและด่าง ด้วย ซึ่งจะมีผลต่อการแตกตัวเป็นอิออนของโลหะ หรือเกลือแร่แต่ละชนิด เช่น ในสภาวะกรด(พีเอชประมาณ 4) สังกะสีจะอยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ 100% และจะไม่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไฟเตต ความเข้มข้นของเกลือแร่ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง เช่น แคลเซียมที่พีเอช 7 ความเข้มข้นมากกว่า 5 x 10^{-4} โมลต่อลิตร จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไฟเตตได้(79, 86)

ในกรณีที่เกลือแร่เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไฟเตตเช่นแคลเซียม(86) เหล็ก(83) และสังกะสี(83, 84, 87) จะทำให้การดูดซึมเกลือแร่เหล่านี้จากอาหารลดลง แต่ไฟเตตก็ไม่มีผลต่อการดูดซึมของเกลือแร่อีกหลายชนิด เช่น แมงกานีส ทองแดง เป็นต้น (88, 89, 90) อย่างไรก็ตาม เกลือแร่บางชนิดก็ถูกดูดซึมจากอาหารไม่ดี โดยเฉพาะอาหารจากพืชซึ่งจะมีเส้นใยอาหาร อ๊อกซาเลต และสารประกอบฟีนอล ไปขัดขวางการดูดซึมของเกลือแร่ ที่เห็นได้อย่างชัดเจน คือ การดูดซึมของเหล็กจากผักต่างๆ ซึ่งถึงแม้ว่าจะไม่มีไฟเตตอยู่ เหล็กก็ถูกดูดซึมได้น้อย(85) ดังนั้นไฟเตตอาจจะไม่ใช่ปัจจัยหลัก ที่ทำให้การดูดซึมของเกลือแร่จากอาหารลดลง แต่อย่างไรก็ตาม ถ้ามีวิธีการที่จะกำจัดหรือลดปริมาณไฟเตตในอาหารลงได้ ก็จะเป็นข้อดีกับผู้บริโภค

Bolond และคณะ(71) พบว่าการนำอาหารพวกธัญพืช และเมล็ดพืชที่ให้น้ำมันมานึ่งในหม้อนึ่งไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที จะทำให้ปริมาณไฟเตตลดลง 10 % การแช่เมล็ดพืชในน้ำก็สามารถทำให้ปริมาณไฟเตตลดลงได้ แต่ถ้าเป็นเมล็ดพืชที่แห้งและแก่จัด ไฟเตตจะมีความคงตัวมาก การแช่ไม่สามารถลดปริมาณไฟเตตได้(91)

การหมัก เช่น ในกรรมวิธีทำขนมปัง พบว่าไฟเตตส่วนใหญ่จะถูกทำลายโดยขบวนการย่อยของน้ำย่อยไฟเตส(phytase)ที่ได้จากยีสต์ Ranhotra และคณะ(92) พบว่าไฟเตตในข้าวสาลีจะถูกทำลายหมด ส่วนไฟเตตในแป้งสาลีที่ผสมกับแป้งถั่วเหลืองในอัตราส่วน 90:10 จะถูกทำลายไป 3 ใน 4

ความเป็นกรด-เบส ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ แคลเซียมและอีดีทีเอ(EDTA) ที่เติมลงในน้ำสะกัดจากถั่วเหลือง จะมีผลทำให้ไฟเตตตกตะกอนได้(85, 93) Ford และคณะ(94) สามารถตกตะกอนไฟเตตได้ที่พีเอช 5.0-5.5 และพีเอช 3.0-4.0

โดยการเติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ Lu และคณะ (95) ก็ได้ทำการศึกษาผลของการงอกต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถของน้ำย่อยไฟเตสและปริมาณไฟเตตในเมล็ด *Brassica napus* พบว่าเมื่อการงอกผ่านไป 2 วัน จะสามารถลดปริมาณไฟเตตจาก 1.26% เหลือ 0.85%

อย่างไรก็ตาม ยังคงจะต้องศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการจับตัวกันของเกลือแร่และไฟเตต ปริมาณของโปรตีนในพืช และวิธีการเสริมเกลือแร่ลงในผลิตภัณฑ์อาหาร ก็ควรที่จะต้องคำนึงถึงปริมาณไฟเตตที่มีอยู่ในอาหารนั้นๆ ว่า จะก่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนตกตะกอนออกมาหรือไม่ ซึ่งจะทำให้การดูดซึมของเกลือแร่ลดลง(86,91,96)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย