บทที่ 1

บทนำ

ผักตบชวา (Eichhornia crassipes (Mart.) Solms) เป็นวัชพืชน้ำชนิดหนึ่งที่เกือบทุกประเทศในเขตร้อนให้ความสนใจและศึกษากันมาก รวมทั้งประเทศไทยด้วย แต่ส่วนมากศึกษาเกี่ยวกับวิธีการควบคุมกำจัดผักตบชวา เนื่องจากผักตบชวาเจริญเติบโตและขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว จนก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ เช่น กีดขวางการสัญจรทางน้ำ ทำให้แหล่งน้ำตื้นเขิน เป็นต้น แต่ก็ไม่สามารถหาวิธีการที่เหมาะสมในการควบคุมและกำจัดผักตบชวาได้ จึงได้มีการศึกษาการนำผักตบชวามาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ กันมากขึ้น เช่น ทำปุ๋ยหมัก ใช้เป็นอาหารสัตว์ ทำเครื่องถักสาน เป็นต้น (Gopal and Sharma, 1981) แต่ก็ยังใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ ดังเช่นในการทำเครื่องถักสาน จะใช้เฉพาะส่วนก้านใบสำหรับถักทอ แต่ส่วนแผ่นใบจะทิ้งไป ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ ถ้านำส่วนแผ่นใบนี้มาใช้ประโยชน์ จะทำให้การใช้ประโยชน์จากผักตบชวามีประสิทธิภาพมากขึ้น

นักวิทยาศาสตร์ พบว่า ใบพืชสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนได้ แต่ในการรับประทานใบพืชโดยตรง เช่นการรับประทานผักเป็นอาหาร ร่างกายคนจะไม่ได้รับสารอาหารโปรตีนมากนัก เนื่องจากขาดกลไกในการย่อยผนังเซลล์พืช ในขณะที่สัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โค กระบือ มีกลไกที่จะย่อยผนังเซลล์พืช มีแบคทีเรียในกระเพาะอาหารช่วยย่อย เมื่อกินใบพืชเป็นอาหาร จึงได้รับสารอาหารโปรตีนมาก (Byers, 1983) ดังนั้น การนำใบผักตบชวามาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำหรับคน จำเป็นต้องผ่านกระบวนการสกัดโปรตีน แยกโปรตีนที่สกัดได้ และเตรียมให้อยู่ในรูปโปรตีนเข้มข้น (Leaf Protein Concentrate หรือย่อว่า LPC) โดยการทำให้เซลล์ใบพืชแตก เพื่อสกัดโปรตีนออกมาจากเซลล์ แยกกาก (fibrous residue) ออก จะได้ green juice แยกโปรตีนออกจาก green juice โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนหรือปรับ pH ให้เป็นกรด แยกตะกอนโปรตีนออก จะได้ LPC และเหลือ brown juice (Carlsson, 1989)

LPC ที่ได้ สามารถนำไปประกอบเป็นอาหาร หรือใช้เป็นอาหารเสริมได้ เนื่องจาก LPC มีคุณค่าทางอาหารสูง คือ มีโปรตีนสูง มีไขมันไม่อิ่มตัว แป้ง รงควัตถุ เช่น แคโรทีน แซนโทฟิลล์ และธาตุอาหารที่สำคัญหลายชนิด เช่น เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น (Carlsson, 1985)

สำหรับ brown juice ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการ ประกอบไปด้วยน้ำตาล กรดอะมิโน และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน แคลเซียม แมกนีเซียม เป็นต้น จึงเหมาะที่จะใช้ทำปุ๋ยชีวภาพ น้ำตาลที่มีอยู่ใน brown juice สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดีสำหรับการหมัก และเลี้ยงจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น ยีสต์ เป็นต้น ส่วนกากที่เหลือ นำไปใช้เป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง จะให้คุณค่าทางอาหาร เพราะสามารถย่อยได้ในกระเพาะของสัตว์เหล่านี้ (Carlsson, 1989) จากการที่ได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย อันเนื่องมาจากกระบวนการในการสกัดและเตรียม LPC เช่นนี้ เป็นเหตุให้มีนักวิทยาศาสตร์สนใจทำการศึกษาวิจัยงานทางด้านนี้มาก

ในปัจจุบัน มีประชากรโลกประมาณ 460 ล้านคน ที่เป็นโรคขาดอาหารอันเนื่องมาจากขาดอาหารโปรตีน โดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนาในเขตร้อน ซึ่งมีอัตราการเพิ่มของประชากรสูงขึ้นอย่างรวดเร็วถึง 2.3 เปอร์เซ็นต์ต่อปี (Nagy et al., 1978) ทำให้ความต้องการแหล่งอาหารโปรตีนสูงขึ้นด้วย และเนื่องจากสภาพทางเศรษฐกิจและสภาพทางภูมิศาสตร์ ทำให้ประชากรบางส่วนไม่สามารถหาอาหารโปรตีนมาบริโภคได้ ดังนั้น การคิดค้นหาแหล่งอาหารโปรตีน ที่มีคุณภาพดี มีราคาถูก และสามารถหามาบริโภคได้ง่าย ดังเช่น LPC จึงมีความสำคัญและจำเป็นต่อสภาพสังคมในปัจจุบัน เพราะจะเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารโปรตีนได้ทางหนึ่ง โดยเฉพาะสำหรับประชากรที่ยากจน

งานวิจัยครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนและเตรียมโปรตีนเข้มข้นจากใบ (Leaf Protein Concentrate (LPC)) ของผักตบชวา พร้อมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบของ LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสม อันจะเป็นข้อมูลเบื้องต้น และเป็นแนวทางสำหรับการนำใบผักตบชวามาใช้ประโยชน์ในการเป็นแหล่งอาหารโปรตีน

การตรวจเอกสาร

Leaf Protein Concentrate (LPC) คืออะไร

LPC หรือโปรตีนเข้มข้นจากใบพืช เป็นผลิตภัณฑ์อาหารโปรตีน ที่ได้จากการสกัดโปรตีนจากใบพืช โดยการทำให้เซลล์พืชแตก เพื่อสกัดโปรตีนออกมา แยกเอากากออก จะได้ green juice ทำการแยกส่วนของ green juice ต่อไป โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนหรือปรับ pH ให้เป็น แยกตะกอนโปรตีนออก จะได้ LPC และเหลือ brown juice (Carlsson, 1985) ถ้าทำการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน จะได้ LPC สองชนิด คือ chloroplastic LPC ซึ่งมีสีเขียว และ cytoplasmic LPC ซึ่งมีสีขาว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LPC ประกอบด้วยโปรตีน 50-60 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 20-25 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรท 10-15 เปอร์เซ็นต์และที่เหลือเป็นเถ้า cytoplasmic LPC ประกอบด้วยเอนไซม์ของพืช และมีปริมาณโปรตีนประมาณ 85-95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับโปรตีนบริสุทธิ์ ส่วน chloroplastic LPC ประกอบด้วยโปรตีนน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Byers, 1983)

LPC ที่ได้ สามารถนำไปประกอบเป็นอาหารว่าง อาหารมังสวิรัติ หรือใช้เป็นอาหารเสริม (Carlsson, 1985) เนื่องจาก LPC มีคุณค่าทางอาหารสูง คือ มีโปรตีนสูง มีไขมันไม่อิ่มตัว มีรงควัตถุที่สำคัญ เช่น แคโรทีน แซนโทฟิลล์ มีแป้ง และธาตุอาหารที่สำคัญหลายชนิด เช่น เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น โปรตีนที่ได้จาก LPC นี้ สามารถใช้เป็นอาหารเสริมกับโปรตีนจากธัญญพืช ได้เช่นเดียวกับโปรตีนจากนม และยังสามารถนำ LPC ไปใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น หมู ลูกวัว ไก่ ปลา เป็นต้น (Carlsson, 1989)

<u>ความเป็นมาของงานวิจัยทางด้าน leaf protein</u>

การค้นพบเกี่ยวกับ leaf protein เริ่มในปี ค.ศ.1773 โดย Roulle สังเกตเห็นว่าเมื่อให้ความร้อนแก่ juice ที่ได้จากใบพืช จะมีตะกอนเกิดขึ้น (Nagy et al., 1978) ปี ค.ศ.1901 Winterstein ได้สกัดโปรตีนจากใบพืชแห้งที่บดแล้วด้วยด่างอ่อน ๆ แต่งานนี้ก็ยังไม่ได้รับความสนใจ (Pirie, 1971) จนกระทั่งอีก 20 ปีต่อมา Osborne and Wakeman (1920), Chibnall and Schryver (1921) และ Kiesel et al.(1934) (อ้างถึงใน Pirie, 1971) ได้รายงานการสกัดโปรตีนจากใบพืชหลายชนิด ตั้งแต่นั้นมา จึงได้มีผู้ศึกษาทางด้าน leaf protein มากขึ้น

ในช่วงสงครามโลกครั้งที่สอง ในปี ค.ศ. 1939 หน่วยปฏิบัติการวิจัยต่าง ๆ ในเคมบริดจ์ ประเทศอังกฤษ มีการประชุมเพื่อนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์มาใช้ในภาวะหลังสงคราม โดยเน้นโครงการปรับปรุงผลผลิตทางอาหาร โดยเฉพาะโปรตีน (Pirie, 1966)

ในปี ค.ศ.1940 Pirie (อ้างถึงใน Carlsson, 1989) ได้เป็นผู้ริเริ่มงานวิจัยที่จะผลิต leaf protein ซึ่งเป็นความรู้ใหม่ในขณะนั้น เพื่อใช้เป็นอาหารของคนในช่วงสงคราม และมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้คิดเครื่องมือต่าง ๆ สำหรับสกัดโปรตีนออกจากใบพืช เป็นการช่วยบรรเทาภาวะขาดแคลนอาหารโปรตีน แต่มีประสิทธิภาพไม่ดี (Pirie, 1971) หลังจากสงครามผ่านไปแล้ว ความสนใจที่จะนำ leaf protein มาเป็นอาหารได้ลดลง จนกระทั่งปี ค.ศ.1964 ความสนใจที่จะนำ leaf protein มาเป็นแหล่งอาหารได้เริ่มขึ้นอีก เมื่อมีการ

ก่อตั้ง The International Biological Programme (IBP) ที่ประเทศอังกฤษ ภายใต้ความดูแลของ The International Council of Scientific Unions ส่วนหนึ่งของโครงการนี้ได้ศึกษาเรื่อง leaf protein ของพืชในเขตร้อน มีการศึกษาในประเทศจาไมกา ไนจีเรีย ศรีลังกา และอินเดีย โดยมีการศึกษาหาแหล่งโปรตีนใหม่ มีการศึกษาหาองค์ประกอบและคุณค่าของ tropical leaf protein แต่งานวิจัยยังไม่ทันสมบูรณ์ โครงการ IBP ก็ได้หยุดลงในปี ค.ศ.1974 อย่างไรก็ตาม งานวิจัยเรื่องนี้ก็ยังคงมีการศึกษากันอยู่ในหลายประเทศ เช่น อินเดีย ปากีสถาน ไนจีเรีย โมแซมบิค เวเนซูเอลลา เป็นต้น (Carlsson, 1989)

ประเทศเขตต่าง ๆ โดยเฉพาะในเขตร้อน จะมีการผลิต LPC มากกว่า protein concentrate ชนิดอื่น เพราะเขตนี้มีฝนตกเกือบตลอดปี จึงมีใบพืชมากที่จะใช้เป็นแหล่งของโปรตีน ได้มีผู้ศึกษางานวิจัยในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเตรียม LPC ดังตัวอย่างต่อไปนี้

ฟิลิปปินส์ : เริ่มมีงานวิจัยทางด้าน leaf protein ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960 เป็นต้นมา โดยการศึกษาการสกัดโปรตีนจากใบพืชยืนต้น และพืชล้มลุก เตรียม LPC จากใบของวัชพืชหรือพืชที่เหลือทิ้งจากการเกษตร (Ramappa, 1985)

อินโดนีเซีย : ใช้ใบมันสำปะหลังในการสกัดโปรตีน ตรวจหาปริมาณวิตามินเอ และธาตุเหล็กใน LPC องค์การ UNICEF พบว่า ในช่วงปี 1979-1984 มีเด็กก่อนวัยเรียนเป็นโรคขาดอาหารและโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ (Ramappa, 1985)

มาเลเซีย : มหาวิทยาลัยกัวลาลัมเปอร์ มีการศึกษา leaf protein จากมันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับคน (Ramappa, 1985)

ศรีลังกา : ประมาณปี ค.ศ. 1970 มีโครงการวิจัยหาพืช 12 ชนิด ที่มีความเหมาะสมสำหรับการผลิต LPC โดยศึกษาในวัชพืช หญ้าเลี้ยงสัตว์ และใบพืชที่รับประทานไม่ได้ ศึกษาการสกัดโปรตีนจากใบพืช ตรวจหาองค์ประกอบใน LPC และตรวจหาปริมาณแคลเซียม เหล็ก รวมทั้งกรดอะมิโน (Ramappa, 1985) มีการใช้ green leaf juice จากพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ Amaranthaceae (พวก spinach) และ Asparagus ชนิดหนึ่งผสมในข้าวเป็นอาหารใช้รับประทานกันในหลายพันหมู่บ้าน ที่มหาวิทยาลัยพาราเดนิยา ก็มีการศึกษาเกี่ยวกับ leaf protein มาก และทำการวิเคราะห์หากรดอะมิโนด้วย (Ramappa, 1985) นอกจากนี้ ยังมีอีกหลายหน่วยงานที่สนใจศึกษา LPC เช่น บริษัท "Find Your Feet Ltd.", ที่กรุงลอนดอน ประเทศอังกฤษ ให้การสนับสนุนโครงการทำ LPC เพื่อใช้เป็นอาหารคน (Ramappa, 1985)

ปากีสถาน : การเตรียม LPC จากใบพืช เริ่มต้นในปี ค.ศ. 1964 โดย Nazir และ Shah (1969) (อ้างถึงใน Ramappa, 1985) ศึกษาการสกัดโปรตีนจากใบพืชสด เมื่อใช้ mincing machine ในการบดปั่นใบพืช มีการศึกษาพบว่า พืชตระกูลถั่ว และ Brassica spp. เป็นพืชที่มีความเหมาะสมที่จะนำมาผลิต LPC มีการศึกษาการทำ LPC จากหญ้าในเขตร้อน โดยความร่วมมือระหว่างปากีสถาน และสหรัฐอเมริกา นอกจากนี้ มีการทดลองนำ LPC ไปประกอบในอาหารหลายชนิด มีอาหาร 28 ชนิด ที่เป็นที่ยอมรับทั้งสี กลิ่น และรส อาหารหลักที่ใช้ LPC เป็นส่วนประกอบ คือ macaroni, potato sandwitch , spinach curry , bread laddu (solid sweet ballus) และ missiroti (spiced chapathi) LPC ที่ใช้ประกอบในอาหารจะไม่มีผลกระทบต่อรส กลิ่น หรือลักษณะที่ปรากฏของอาหารนั้น อาหารเหล่านี้เป็นที่นิยมรับประทานกันในหมู่กรรมกร และประชาชนทั่วไป (Ramappa, 1985)

อียิปต์ : มีการเตรียม LPC จาก clover ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกกันในท้องถิ่น Alaily และ Soliman (1983) (อ้างถึงใน Ramappa, 1985) ได้ผสม LPC จาก clover ลงในอาหารไก่ พบว่า ไก่มีสุขภาพแข็งแรง และมีอัตราการเจริญเติบโตดี และชี้ให้เห็นว่า สามารถใช้ LPC จาก clover แทนการใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองสำหรับผสมในอาหารไก่ได้เป็นอย่างดี (Ramappa, 1985)

ไนจีเรีย : Oke (1983) (อ้างถึงใน Ramappa, 1985) ได้สกัด leaf protein จากพืชหลายชนิดคือ Amaranthus (Celosia sp.), มันสำปะหลัง, Elephant grass, มะละกอ , กล้วย เป็นต้น สามารถสกัด leaf protein จากใบของ Amaranthus (Celosia sp.) ได้ 3,000 กิโลกรัม/เฮคแตร์/ปี และยังมีการทดลองนำ leaf protein ไปใช้เป็นอาหารปลาเปรียบเทียบกับอาหารปลาและ peanut cake ที่ใช้เลี้ยงปลา พบว่า leaf protein ดีกว่า peanut cake และดีเท่า ๆ กับอาหารปลา (Ramappa, 1985)

นอกจากนี้ ยังมีอีกหลาย ๆ ประเทศในเขตอื่นที่ไม่ใช่เขตร้อน ที่ให้ความสนใจศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับ LPC เพื่อที่จะใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญต่อไป แต่สำหรับประเทศไทยนั้นยังไม่พบรายงานว่ามีการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเตรียม LPC

<u>ทำไมจึงต้องทำการสกัดโปรตีนจากใบพืช</u>

ในการรับประทานใบพืชหรือผัก คนและสัตว์กระเพาะเดี่ยว (non-ruminant) เช่น ไก่ หมู ปลา ไม่มีกลไกสำหรับย่อยผนังเซลล์พืชเพื่อทำให้เซลล์แตก จึงได้รับสารอาหารโปรตีนน้อยมาก ในขณะที่สัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminant) เช่น โค กระบือ มีวิธีการสำหรับย่อยผนัง-

เซลล์พืช โดยมีจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหารช่วยย่อย จึงได้รับสารอาหารโปรตีนมาก ดังนั้น ถ้าจะใช้ประโยชน์จากโปรตีนในใบพืช สำหรับเป็นอาหารของคนและสัตว์กระเพาะเดี่ยว จำเป็นต้องทำการสกัดโปรตีนออกมาจากใบพืช โดยการทำให้เซลล์ใบแตกออก ด้วยวิธีทางกลหรือเคมี (Byers, 1983)

ยังมีใบพืชประมาณ 250,000-300,000 ชนิด ที่ไม่ได้นำมารับประทานเป็นผักอันเนื่องมาจาก มีสารพิษหรือสารที่ทำให้ใบพืชนั้นมีรสชาติไม่ดี เช่น มีสารอัลคาลอยด์ กรดออกซาลิค ไนเตรท สารพวกฟีนอล สารพวกแซโพนิน และสารเอสโทรเจน ทำให้ใบพืชนั้นไม่เหมาะสมที่จะนำมารับประทานเป็นผัก แต่ในกระบวนการผลิต LPC จะช่วยให้สารพิษเหล่านี้ลดจำนวนลงไปประมาณ 1 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ (Byers, 1983)

นอกจากนี้ การสกัดโปรตีนออกมาจากใบ ยังเป็นการแยกเอากากที่ร่างกายคนย่อยไม่ได้ออกไปด้วย (ใบพืชบางชนิดมีกากมาก ทำให้ไม่เหมาะสมที่จะรับประทานโดยตรง) ดังนั้น การนำใบพืชมาใช้ในการสกัดโปรตีนและเตรียมเป็น LPC จึงได้ประโยชน์ในด้านคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งดีกว่าที่จะปล่อยให้ใบพืชนั้นร่วงหล่นไปโดยไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์

โปรตีนในใบพืช

โปรตีนที่มีอยู่ในใบพืช แบ่งได้เป็น soluble protein และ insoluble protein ส่วนใหญ่จะเป็น soluble protein ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามน้ำหนักโมเลกุล คือ fraction I protein (F I protein)และ fraction II protein (F II protein)

fraction I protein อยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์มีน้ำหนักโมเลกุล 500,000 - 6000,000 ส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์ Ribulose - 1,5 - bisphosphate carboxylase (Rubisco) มีน้ำหนักโมเลกุล 560,000 (Byers, 1983) อยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ ในคลอโรพลาสต์มีโปรตีนอยู่ประมาณครึ่งหนึ่งของโปรตีนทั้งหมดในใบพืช ประมาณ 25 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในคลอโรพลาสต์เป็นเอนไซม์ Rubisco นับว่าเอนไซม์ Rubisco เป็นโปรตีนที่มีมากที่สุดในโลก เอนไซม์ Rubisco ไม่ได้มีความสำคัญเฉพาะในการเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เท่านั้น แต่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหารโปรตีนสำหรับคนและสัตว์ด้วย (Salisbury, 1992)

fraction II protein เป็นส่วน soluble protein ที่มาจากส่วนของคลอโรพลาสต์ และไซโตพลาสซึม มีน้ำหนักโมเลกุล 100,000-300,000 (Byers, 1983)

ผลพลอยได้จากกระบวนการเตรียม LPC

ในกระบวนการเตรียม LPC นอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์ LPC ที่จะนำไปใช้เป็นอาหารโปรตีนแล้ว ในระหว่างกระบวนการ ยังมีผลพลอยได้อื่น ๆ ที่นำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย ในขั้นตอนการสกัดโปรตีน โดยปั่นใบพืชให้เซลล์แตก แยกกากออก จะได้ green juice ส่วนของกากที่แยกออก ซึ่งมีเส้นใยจำนวนมากและมีโปรตีนอยู่ด้วย นำไปใช้เป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งจะให้คุณค่าทางอาหารเพราะสามารถย่อยได้ในกระเพาะของสัตว์เหล่านี้ นอกจากนี้ยังสามารถนำกากไปใช้สำหรับผลิตก๊าซชีวภาพ ทำอุตสาหกรรมกระดาษและเส้นใย ผลิตเชื้อเพลิงแข็งและเหลว หรือใช้เป็นวัสดุสำหรับการเพาะเห็ด ส่วน green juice ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรท กรดนิวคลีอิค ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ คลอโรพลาสต์ และองค์ประกอบอื่น ๆ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง เช่นที่เมืองโคลา แคนดา ในศรีลังกา ดื่ม green juice เป็นอาหารเสริมสุขภาพ (Carlsson, 1989)

ถ้าทำการตกตะกอนโปรตีนจาก green juice แยกเอาตะกอนโปรตีนออก (เตรียมเป็น LPC ต่อไป) จะเหลือ brown juice ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล กรดอะมิโน และธาตุอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นต้น เหมาะที่จะใช้ทำปุ๋ยชีวภาพ น้ำตาลที่มีอยู่ใน brown juice สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานที่ดีสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ ในปัจจุบันนี้มีการศึกษาที่จะผลิตก๊าซชีวภาพ และเอธิลอัลกอฮอล์ โดยใช้คาร์โบไฮเดรท จาก brown juice (Carlsson, 1989)

การสกัดโปรตีน

การสกัดโปรตีนจากใบพืช ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น pH และ ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (Lu and Kinsella, 1972)

Kinsella (1976) (อ้างถึงใน อรพิน ชัยประสพ, 2531) กล่าวว่า การสกัดโปรตีนโดยใช้สารสกัดต่างกัน ซึ่งอาจเป็นเกลือหรือด่าง ที่ระดับ pH ต่างกัน จะมีผลต่อปริมาณผลผลิตที่ได้ โดยทั่วไปโปรตีนละลายได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง ที่ pH สูง จะมีผลทำให้โปรตีนจากใบพืชละลายได้มากขึ้น และคลอโรพลาสต์แตกได้มากขึ้น แต่ถ้าใช้ pH สูงเกินไป เช่นที่ pH 9.5 แม้จะได้ปริมาณโปรตีนที่สูง แต่โปรตีนบางส่วนอาจถูกทำลาย และสูญเสียสมบัติการใช้ประโยชน์ และอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษขึ้นได้

Betschart และ Kinsella (1973) ได้ศึกษาการสกัดโปรตีนและความสามารถในการละลายของโปรตีนจากใบของ alfalfa, cowpea, peanut และ soybean และรายงานว่าการสกัดโปรตีนที่ pH สูงขึ้น โปรตีนจากใบพืชจะละลายได้มากขึ้น และคลอโรพลาสต์จะถูกทำให้แตกมากขึ้น การสกัดโปรตีนที่ pH 12 โปรตีนจะละลายออกมาได้มากที่สุด อย่างไรก็ตามที่ pH 7 และ 8 นับเป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีน เพราะถ้า pH สูงเกินไป จะมีผลทำให้โปรตีนบางส่วนถูกทำลายไป การสกัดโปรตีนจะเกิดขึ้นได้น้อยที่สุดถ้าทำการสกัดโปรตีนที่ pH ใกล้เคียงกับค่า isoelectric point (pI) เนื่องจากที่จุด pI โปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ จะตกตะกอนและปนอยู่กับกาก เมื่อแยกกากออกไป ในสารละลายจึงมีโปรตีนเหลืออยู่น้อย การสกัดโปรตีนจะทำได้ดีขึ้น ถ้าเติมด่างลงไปในขณะปั่นใบพืช และควรจะให้ pH สูงประมาณ 8

Kinsella (1976) (อ้างถึงใน อรพิน ชัยประสพ, 2531) กล่าวถึงสภาวะโดยทั่วไปในการสกัดโปรตีนจากแป้งถั่วเหลืองว่า สามารถใช้น้ำ สารละลายด่าง (pH 8) หรือสารละลายเกลือ (0.5 M NaCl) เป็นสารสกัดโปรตีนได้

Srivastava และ Singh (1985) ได้ศึกษาผลของสารที่ใช้ในการสกัดโปรตีนต่อปริมาณผลผลิตของโปรตีนที่ได้จากถั่ว Berseem (Trifolium alexandrinum L.) โดยใช้น้ำกลั่นที่ pH 5.5, 7.0, 8.0, 9.0 และ 10.0 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 0.2 , 0.5 , 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1 , 2 , 5 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารสกัด พบว่า การใช้สารสกัดโปรตีนต่างกัน จะให้ผลผลิตของโปรตีนต่างกัน น้ำกลั่นที่ pH 8.0 เป็นสารสกัดที่ดีที่สุด ให้ผลผลิตของ LPC และปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ 1634 กิโลกรัม/เฮคแตร์ และ 722 กิโลกรัม/เฮคแตร์ ตามลำดับ

Oelshlegel (1969) ได้ศึกษาการเตรียม LPC จากใบพืชที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ ได้แก่ beet tops, potato vines, lima bean, vines, carrot tops และ lakeweeds และรายงานว่า ปริมาณโปรตีนที่ได้จากพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน ตะกอนที่ได้จะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าใน juice และทั้งสองส่วนต่างก็มีปริมาณเส้นใยต่ำ

<u>การตกตะกอนโปรตีน</u>

ขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการเตรียม LPC คือ การตกตะกอนโปรตีนจากสารละลายโปรตีนที่สกัดได้จากใบพืช สามารถตกตะกอนได้โดยวิธีทางเคมีหรือกายภาพ โดยเติมเกลือ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต แมกนีเซียมคลอไรด์ เฟอริกคลอไรด์ หรืออื่น ๆ ลงไปในสารละลาย

โปรตีน หรือใช้กรดปรับ pH ทำให้โปรตีนตกตะกอนที่จุด isoelectric point ซึ่งเป็นจุดที่โปรตีนละลายได้น้อยที่สุด หรืออาจจะใช้ความร้อนหรือใช้สารเคมีร่วมกับความร้อน การตกตะกอนด้วยความร้อนจะให้ผลผลิตสูงและมีปริมาณเถ้าในผลิตภัณฑ์โปรตีนต่ำกว่าการตกตะกอนที่อุณหภูมิห้อง (Knorr, 1982 (อ้างถึงใน อรพิน ชัยประสพ, 2531)) แต่ละวิธีจะมีผลทำให้ได้องค์ประกอบและคุณค่าทางอาหารต่างกัน (Pirie, 1975; Subba Rau et al., 1969)

Srivastava และ Mohan (1965) ได้ศึกษาองค์ประกอบและคุณค่าทางอาหารของ LPC จาก Morus alba ที่เตรียมโดยการตกตะกอนโดยวิธีต่างกัน คือใช้ความร้อน (heat coagulation), ไอน้ำ (steam coagulation), ทำให้เป็นกรดแล้วให้ความร้อน (heat coagulation of acidified extract) และทำให้เป็นกรดแล้วใช้ไอน้ำ (steam coagulation of acidified extract) พบว่า LPC ที่เตรียมโดยวิธีต่างกัน จะมีองค์ประกอบต่าง ๆ ในปริมาณต่างกัน LPC ที่ได้จากการทำให้ตกตะกอนด้วยกรดแล้วใช้ไอน้ำ ให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด LPC ที่เตรียมจากการตกตะกอนด้วยความร้อน ให้ปริมาณเถ้าและแร่ธาตุ (ฟอสฟอรัส เหล็ก และแคลเซียม) สูงที่สุด ให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรทและโพลีฟีนอลต่ำที่สุด LPC ที่เตรียมจากการตกตะกอนโดยใช้ไอน้ำ ให้ปริมาณแคโรทีน แซนโทฟิลล์ กรดอะมิโนชนิดเมไธโอนีน และทริปโตเฟน สูงที่สุด

การใช้ความร้อนในการตกตะกอนโปรตีน

แม้ว่าโปรตีนที่ละลายได้ใน juice ที่คั้นออกมาจากใบ จะตกตะกอนได้ และอนุภาคเล็ก ๆ จะมีการจับตัวกันโดยไม่ต้องให้ความร้อน แต่ในทางปฏิบัติมักจะมีการให้ความร้อนเสมอเพื่อให้เกิดการตกตะกอนโปรตีน ถ้าตั้ง juice ทิ้งไว้ 1-2 วัน จะมีตะกอนเกิดขึ้นด้วย และยังสามารถใช้วิธีปรับ pH ด้วยกรดให้ค่าใกล้เคียงกับค่า isoelectric point เพื่อให้เกิดการตกตะกอนได้ด้วย (Pirie, 1971) นอกจากนี้การใช้ความร้อนจะช่วยลดการปนเปื้อนอันเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์และช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ไม่ต้องการด้วย Subba Rau และ Singh (1970) ได้ทำการทดลองและรายงานว่าหนูที่กิน LPC ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยกรดจะโตช้ากว่าหนูที่กิน LPC ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยความร้อน

อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่พอเพียงที่จะทำให้โปรตีนทุกชนิดใน juice ตกตะกอน แต่ถ้าจะให้ได้คุณค่าทางโภชนาการสูงกว่านี้ ต้องให้อุณหภูมิครั้งแรกที่ 60 องศาเซลเซียสก่อน ซึ่งโปรตีนที่ตกตะกอนจะเป็น chloroplastic protein และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 80 องศาเซลเซียส จะได้ cytoplasmic protein ฉะนั้น การตกตะกอนโปรตีนที่ทั้งสอง

อุณหภูมินี้จะได้รับประโยชน์มากขึ้น เพราะส่วนสีเขียวซึ่งมีคลอโรพลาสต์อยู่ จะถูกแยกออกในตอนแรก ส่วน LPC ที่ได้จากการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 80 องศาเซลเซียส จะเป็นสีขาว แต่ก็ไม่จำเป็นที่จะต้องให้อุณหภูมิเท่ากับ 80 องศาเซลเซียสพอดีในการทำให้เกิดการตกตะกอน Woodham (1983) ได้ทดลองและแสดงให้เห็นว่าการตกตะกอนโปรตีนที่มากกว่า 80 องศาเซลเซียส เช่น ที่ 100 องศาเซลเซียส ไม่ได้ทำให้คุณค่าของ LPC ลดลง ถ้าให้ความร้อนแก่ juice ที่ 80 องศาเซลเซียส ตะกอนจะเกิดมากที่สุดและควรจะรีบแยกเอาตะกอนโปรตีนออกมาจากของเหลวโดยเร็วที่สุด เพราะปฏิกิริยาออกซิเดชันจะทำให้เกิดการสร้างควิโนน ซึ่งมีผลต่อกรดอะมิโนชนิดไลซีน และทำให้เกิดการรวมตัวของโพลีฟีนอลกับโปรตีนไปเป็น tannin protein complexes ซึ่งจะมีผลทำให้กรดอะมิโนที่จำเป็นมีปริมาณลดลง (Woodham, 1983)

Morrison และ Pirie (1961) รายงานว่าในการตกตะกอนโปรตีนเพื่อแยกโปรตีนที่สกัดได้ ควรปรับ pH ของสารละลายโปรตีนให้เป็นกรด โดย pH ต้องต่ำกว่า 6

Byers (1983) ได้ทดลองใช้เกลือหลายชนิดรวมทั้งแอมโมเนียมซัลเฟต และแคลเซียมคลอไรด์ในการตกตะกอนโปรตีนจากสารละลายที่สกัดได้จากใบพืช เปรียบเทียบกับการตกตะกอนโดยใช้ความร้อน พบว่า การใช้ความร้อนในการตกตะกอนโปรตีน จะให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่น

<u>รูปแบบในการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน</u>

Telek และ Martin (1983) ได้ทำการทดลองสกัดโปรตีนในพืชเขตร้อนเกือบร้อยชนิด และจำแนกพืชตามลักษณะการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนเป็น 4 type โดยสังเกตเห็นว่า green juice จากพืชบางชนิดจะตกตะกอนเอง ในขณะที่ทำการสกัด หรือหลังจากที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ลักษณะเช่นนี้พบครั้งแรกในมันสำปะหลัง (Cassava) ต่อมาพบในกระถิน <u>Leucaena leucocephala</u> , <u>Desmodium</u> sp., <u>Mimosa</u> sp., <u>Cassia</u> sp. และพวกพืชตระกูลถั่ว นอกจากนี้ ยังพบว่า ถ้าให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, 64 องศาเซลเซียส หรือ 82 องศาเซลเซียสแก่ green juice ก็จะไม่มีการตกตะกอนโปรตีนเพิ่มขึ้นกว่าเดิม และได้จำแนกให้พืชกลุ่มนี้เป็น type I

ส่วนพืชที่มีการตกตะกอนโปรตีน ให้ green protein coagulum เมื่อให้ความร้อนที่ 55 องศาเซลเซียสแก่ green juice เมื่อแยก green protein coagulum ออก และให้

ความร้อนที่ 82 องศาเซลเซียสแก่ brown juice จะมีตะกอนสีน้ำตาล (light tan) เกิดขึ้นแต่มีจำนวนน้อยมาก แต่ถ้าเติมอะซีโตนหรือเอธิลอัลกอฮอล์ลงใน brown juice จะได้ white protein coagulum เกิดขึ้น พืชกลุ่มนี้จัดเป็น type II ตัวอย่างพืช ได้แก่ Cnidosculus chyamansa และหญ้าหลายชนิด

สำหรับพืชที่จัดเป็น type III นั้น ในการให้ความร้อนแก่ juice เพื่อตกตะกอนโปรตีนจะได้โปรตีนแต่ละชนิดที่ต่างกันชัดเจน คือ ได้ green protein coagulum ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส white protein coaglum ที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส และ light tan จำนวนเล็กน้อยที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส ตัวอย่างพืช ได้แก่ Brassica alba, Desmodium distortum, Phaseolus calcalatus เป็นต้น

พืชกลุ่มสุดท้ายจัดเป็นพืช type IV โดยรวมเอาพืชที่เมื่อทำการสกัดโปรตีนแล้ว จะไม่ตกตะกอนโปรตีนเลย ไม่ว่าจะตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรือให้ความร้อนที่อุณหภูมิใดก็ตาม ตัวอย่าง เช่น Stylosanthus gracilis, S.humilis, Nasturtium officinale และพืชบางชนิดในสกุล Amaranthus เป็นต้น

นอกจากนี้ ปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิใดนั้นยังขึ้นอยู่กับปริมาณแทนนินและโพลีฟีนอลด้วย พืช type I มีปริมาณของแทนนินและโพลีฟีนอลสูง จะเกิดการตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิห้อง แต่การมีปริมาณของแทนนินและโพลีฟีนอลสูง ทำให้คุณค่าทางอาหารของโปรตีนลดลง พืช type I จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เตรียม LPC พืช type II มีปริมาณแทนนินและโพลีฟีนอลต่ำ จะตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสและ 82 องศาเซลเซียส พืช type III มีปริมาณแทนนินและโพลีฟีนอลต่ำมาก จะตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 64 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส ส่วนพืช type IV ไม่ตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน ไม่ว่าจะให้อุณหภูมิใดก็ตาม (Telek and Martin, 1983)

การจำแนกพืชออกเป็น type รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่าง type กับปริมาณแทนนินและโพลีฟีนอลนี้ ใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพืชขั้นต้นที่จะนำมาใช้เตรียม LPC พืช type II และ III จัดเป็นพืชที่มีความเหมาะสมในการที่จะนำไปใช้เตรียม LPC เพราะตกตะกอนโปรตีนได้มากกว่าหนึ่งชนิด และมีปริมาณแทนนินและโพลีฟีนอลต่ำ (Telek and Martin, 1983)

ตัวอย่างพืชที่มีผู้ทำการศึกษารูปแบบในการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน แสดงในตารางที่ 1 (Telek and Martin, 1983)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างพืชที่มีผู้ทำการศึกษารูปแบบในการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน (Telek and Martin, 1983)

Scientific name	Local name	Type
Amaranthaceae		
Amaranthus anclancalius		IV
A. caudatus	ผักขมใบแดง	IV
A. cruentus		IV
A. gangeticus	ผักขมสวน	IV
A. hypochondriacus		IV
A. mantegazzianus		IV
Compositae		
Helianthus uniflorus		II
H. annuus	ทานตะวัน	II
Cruciferae		
Brassica alba		III
B. campestris	ผักกาดฝรั่ง	III
B. hirta		III
B. napus	ผักกาดก้านขาว	III
B. juncea	ผักกาดเขียว	III
B. nigra		III
B. oleracea	กะหล่ำดอก	III
B. oleracea var. gongyloides	กะหล่ำปม	III
Lepidium sativum		III
Nasturtium officinale		IV
Cucurbitaceae		
Benincasa hispida	ฟัก	II
Lagenaria siceraria	น้ำเต้า	II
Luffa cylindrica	บวบหอม	II

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Scientific name	Local name	Type
Euphorbiaceae		
Cnidoscolus chayamansa		II
Manihot esculenta	มันสำปะหลัง	I
Leguminosae		
Aeschynomene falcata		III
A. scabra		III
A. indica	โสนหางไก่	III
Alysicarpus vaginalis	ถั่วลิสงนา	III
Cajanus cajan	ถั่วแระ	III
Calopogonium muconoides		III
Canavalia ensiformis	ถั่วแขก	III
C. gladiata	ถั่วพร้า	III
Centrosema pubescens	ถั่วลาย	III
Clitoria ternatea	อัญชัน	III
Crotalaria alata	หิ่งเม่นน้อย	II
C. argyrolobioloides		II
C. brachystachya		II
C. incana	หิ่งเม่นหลวง	II
C. juncea	คำบูชา	II
Cyamopsis tetragonoloba	ถั่วกัว	III
Desmodium canum		I
D. distortum		III
D. intortum		III
D. perplexum		II
D. sandwicense		I
Glycine wightii		III
Indigofera arrecta		II
I. brevipes		II

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Scientific name	Local name	Type
I. cireinella		I
I. colutea		III
I. confusa		II
I. cryptantha		III
I. echinata		II
I. hirsuta	ครามขน	II
I. hochstetteri		II
I. microcarpa		II
I. mucronata		II
I. retroflexa		II
I. schimperi		II
I. semitijuga		II
I. spicata	ครามเครือ	II
I. subulata		II
I. suffruticosa	ครามใหญ่	II
I. sumatrana		II
I. tetlensis		III
I. teysmannii		II
I. tinctoria	คราม	II
Lablab purpureus	ถั่วแปบ	III
Lupinus albus		III
L. angustifolius		III
L. luteus		III
L. hispanicus		III
Macroptilium lathyroides		III
Macrotyloma uniflorum		III
Mucuna deeringiana		II
Phaseolus acontifolius		III
P. calcaratus	ถั่วแดง	III

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Scientific name	Local name	Type
Psophocarpus tetragonolobus	ถั่วพู	III
Sesbania arabica		III
S. cannabina		III
S. exasperata		III
S. macrocarpa		III
S. sesban	สมี	III
Stizolobium aterrimum		III
Stylosanthes gracilis	หญ้าสไตโล	IV
S. humilis	หญ้าสไตโล	IV
Tephrosia adunea		II
T. cinerea		II
T. incana		II
T. noctiflora		II
T. vogelii		II
Vigna mungo		III
V. radiata	ถั่วทอง	III
V. unguiculata		III
Zornia brasiliensis		III
Z. diphylla		III
Z. latifolia		III
Malvaceae		
Abelmoschus manihot	ปอแก้ว	III
Solanaceae		
Capsicum annuum	พริกหยวก	III
C. chinense		III
C. pendulum		III
Solanum melongena	มะเขือยาว	III

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018688

การเตรียม unfractionated และ fractionated LPC

ในการเตรียม LPC โดยใช้ความร้อนในการตกตะกอนโปรตีน สามารถที่จะเตรียม LPC ได้ใน 2 รูปแบบ (Byers, 1983) คือ

1. unfractionated LPC

เป็นโปรตีนที่ตกตะกอนมาจากสารละลายที่สกัดได้จากใบพืช ที่ได้แยกกากออกแล้ว ทำการตกตะกอนโปรตีน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้กรด ใช้อะซีโตน หรือใช้เอธิลอัลกอฮอล์ (Subba Rau et al., 1972) การตกตะกอนแบบนี้จะมีรงควัตถุ เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ตกตะกอนลงมาปนกับตะกอนโปรตีนด้วย LPC ที่ได้จะมีสีเขียวคล้ำ ไม่น่ารับประทาน (Byers, 1983)

2. fractionated LPC

เนื่องจาก unfractionated LPC มีสีที่ไม่น่ารับประทาน ความสนใจในการเตรียม LPC จึงมุ่งไปที่วิธีการที่จะแยกเอารงควัตถุออกจากสารละลายที่สกัดได้จากใบพืชเพื่อให้โปรตีนที่อยู่ในสารละลายไม่มีคลอโรพลาสต์มาเกี่ยวข้อง ซึ่งแยกได้ chloroplastic protein และ cytoplasmic protein การแยกโปรตีนออกเป็น 2 กลุ่มนี้ จะช่วยแก้ปัญหาเรื่องการมีรงควัตถุปนอยู่ใน LPC โดยสามารถแยกรงควัตถุออกจากโปรตีนได้ โดยใช้เครื่อง ultracentrifuge แต่เครื่องมือนี้มีราคาสูงมากเกินกว่าที่จะใช้กันได้ทั่ว ๆไป ดังนั้น จึงต้องหาวิธีการอื่นที่สามารถแยกโปรตีนออกเป็น 2 กลุ่มนี้ Yemm และ Folkes (1953) (อ้างถึงใน de Fremery et al., 1973) สามารถแยกรงควัตถุออกโดยใช้เกลือแคลเซียมเป็นสารช่วยในการตกตะกอน Chibnall (1964) แยก cytoplasmic protein จากใบโดยให้ผ่านออกมาทางผนังเซลล์ หลังจากที่เปลี่ยนความสามารถในการยอมให้สารผ่านของผนังเซลล์ เมื่อแช่ในอีเธอร์ แต่วิธีที่ง่ายและสะดวกที่สุดในการแยกโปรตีน 2 กลุ่มนี้ คือ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน (Byers, 1983)

การตกตะกอนด้วยความร้อน (heat coagulation) เป็นวิธีการที่ง่ายและให้ผลดีในการตกตะกอนโปรตีนจาก juice จากใบพืช ตะกอนโปรตีนชนิดแรกที่เกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนแก่ juice ที่อุณหภูมิในช่วง 50 องศาเซลเซียส ถึง 64 องศาเซลเซียส เรียก chloroplastic protein เนื่องจากประกอบด้วยคลอโรฟิลล์และไขมันจำนวนมาก เมื่อแยก chloroplastic

protein ออก และนำสารละลายไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิในช่วง 64 องศาเซลเซียส ถึง 85 องศาเซลเซียส จะแยกได้ cytoplasmic protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่มาจากไซโตพลาสซึม แต่มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านไม่เห็นด้วยที่จะใช้คำว่า cytoplasmic protein เพราะมีโปรตีนที่มาจากส่วนของคลอโรพลาสต์ด้วย (Nagy et al., 1978) Bickoff et al.(1975) (อ้างถึงใน Byers, 1983) ให้ความเห็นว่า ไม่ควรนำคำว่า chloroplastic และ cytoplasmic มาใช้กับตะกอนโปรตีนที่ได้จากการแยกแบบ fractionate นี้ เพราะมีโปรตีนบางชนิดใน chloroplastic fraction ที่มาจากส่วนของไซโตพลาสซึม และในทำนองเดียวกันมีโปรตีนบางชนิดใน cytoplasmic fraction ที่มาจากส่วนคลอโรพลาสต์ ต่อมาจึงใช้คำว่า green protein แทนคำว่า chloroplastic protein และใช้คำว่า white protein แทนคำว่า cytoplasmic protein (Byers, 1983)

เหตุใด LPC จึงไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับในการใช้เป็นอาหารสำหรับคน

unfractionated LPC ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะมีสีเขียวดำคล้ำ เนื่องจากมีรงควัตถุตกตะกอนลงมาปนกับโปรตีน เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ เป็นต้น คลอโรฟิลล์ทำให้ LPC มีสีเขียว ถ้าในระหว่างกระบวนการเตรียม LPC คลอโรฟิลล์สลายไปเป็น pheophorbides และ pheophytins จะทำให้ LPC มีสีน้ำตาลเขียว สีของ LPC นี้ ทำให้ไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับในการที่จะใช้เป็นอาหาร (Holden, 1983) ส่วนแคโรทีนอยด์มักจะสลายไปในระหว่างกระบวนการเตรียม LPC ในขณะที่ทำการให้ความร้อนแก่ juice นอกจากนี้ LPC ยังมีกลิ่นที่ไม่น่ารับประทาน เนื่องมาจากสารประกอบพวกไขมัน และสารที่เกิดจากกระบวนการสลายแบบออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว รงควัตถุและสารพวกไขมันใน LPC นี้ สามารถที่จะกำจัดออกจาก LPC ได้โดยเลือกใช้ตัวทำละลายที่สามารถล้างเอาสารเหล่านี้ออกได้ (Bray et al., 1978)

การเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุในคลอโรพลาสต์ในระหว่างกระบวนการเตรียม LPC

ในระหว่างการปั่นใบพืช ถ้าเติมด่างลงไปและทำการสกัดอย่างรวดเร็ว จะสูญเสียปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด ในขณะที่ให้ความร้อนแก่ juice เพื่อตกตะกอนโปรตีน ปริมาณแคโรทีนและแซนโทฟิลล์จะลดน้อยลง (Holden, 1983) นอกจากนี้ Arkcoll และ Holden (1973) ได้ทำการทดลองและยืนยันว่า การตกตะกอนโปรตีนโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการสลายของแคโรทีน

เมื่อทำให้โปรตีนตกตะกอนโดยให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส จะทำให้คลอโรฟิลล์เปลี่ยนไปเป็น chlorophyllide เนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ chlorophyllase สารนี้เป็นพิษต่อสัตว์ (Woodham, 1983) อย่างไรก็ตาม สามารถล้าง chlorophyllide ออกจาก LPC ได้ด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ (Tasaki, 1985) ถ้าล้าง LPC ด้วยกรดจะทำให้สีของ LPC เปลี่ยนไป เพราะ chlorophyll จะเปลี่ยนไปเป็น pheophytin ส่วน chlorophyllide เปลี่ยนไปเป็น pheophorbide กรดจะมีผลทำให้แซนโทฟิลล์มีปริมาณลดลงเล็กน้อย แต่จะไม่มีผลต่อแคโรทีน (Arkcoll and Holden, 1973)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย