

1-1-1990

Proteins and antinutritional factors of *Laeucaena leucocephala* and *Cucurbita maxima* seed.(โปรตีนและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ใน กระถินและ เมล็ดขี้กทอ...

อรอนงค์ กังสดาลอำไพ

สุธี สุนทรธรรม

จิตริตน์ ยานม่วง

แก้ว กังสดาลอำไพ

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps>

 Part of the [Pharmacology Commons](#)

Recommended Citation

กังสดาลอำไพ, อรอนงค์; สุนทรธรรม, สุธี; ยานม่วง, จิตริตน์; and กังสดาลอำไพ, แก้ว (1990) "Proteins and antinutritional factors of *Laeucaena leucocephala* and *Cucurbita maxima* seed.(โปรตีนและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ใน กระถินและ เมล็ดขี้กทอ..." *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*: Vol. 15: Iss. 4, Article 3.
Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol15/iss4/3>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

650/71a ไร่สูง
650/71a ไร่กลาง
650/71a ไร่ต่ำ (พี)

650/71a
พีทอล (พี)



ปฐมนิพนธ์

ORIGINAL ARTICLE

6 3006761 ✓

โปรตีนและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ในกระถินและเมล็ดฟักทอง

อรอนงค์ กังสดาลอำไพ Ph.D.*

สุธี สุนทรธรรม ภ.ม. *

ชิตีรัตน์ ปานม่วง วท.ม.*

แก้ว กังสดาลอำไพ Ph.D. **

บทคัดย่อ

โรคขาดโปรตีนและแคลอรีเป็นปัญหาทางด้านโภชนาการที่สำคัญของประเทศไทย การศึกษานี้จึงนำไบโกระถิน เมล็ดกระถิน และเมล็ดฟักทอง มาแยกโปรตีนที่ละลายในน้ำ (soluble protein) โดยการตกตะกอนด้วยความร้อน การปรับพีเอช และเติมแคลเซียมซัลเฟต แล้วหาปริมาณกรดอะมิโนและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการคือ มิโมซิน ไฟเตต ทริพซินอินฮิบิเตอร์ และฮีแมกกลูตินินในโปรตีนไอโซเลตที่ได้เปรียบเทียบกับในวัตถุดิบ พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน และการปรับพีเอช จะมีปริมาณโปรตีน (ไนโตรเจน x 6.25) สูงกว่าในโปรตีนไอโซเลตที่ได้จากการตกตะกอนด้วยแคลเซียมซัลเฟต และปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไอโซเลตที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนจะมีปริมาณสูงสุด Amino acid score ของโปรตีนไอโซเลตมีค่าสูงกว่าในวัตถุดิบ ส่วนสารต้านคุณค่าทางโภชนาการพบว่าในโปรตีนไอโซเลตจะมีน้อยกว่าในวัตถุดิบโดย ในเมล็ดฟักทองและโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดฟักทองพบเฉพาะไฟเตต ในไบโกระถินและโปรตีนไอโซเลตจากไบโกระถินพบมิโมซิน และทริพซินอินฮิบิเตอร์ ส่วนในเมล็ดกระถินและโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถินพบทั้งไฟเตต มิโมซิน และทริพซินอินฮิบิเตอร์ สำหรับฮีแมกกลูตินินพบเฉพาะในเมล็ดกระถิน แสดงว่าการแยกโปรตีนออกมานี้จะทำให้ปริมาณส่วนประกอบของกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน ขณะเดียวกันสารต้านคุณค่าทางโภชนาการก็ลดลงด้วย (ไทยเกษตรสาร ปีที่ 15(4) : หน้า 255-268 (2533))

* ภาควิชาอาหารเคมี คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ฝ่ายพืชวิทยาทางอาหารและโภชนาการ สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำนำ

โปรตีนเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการมีสุขภาพที่ดี ปัจจุบันโรคขาดโปรตีนและแคลอรีจัดเป็นปัญหาทางด้านโภชนาการที่สำคัญของประเทศไทยและประเทศที่กำลังพัฒนาทั้งหลาย สาเหตุที่สำคัญของการเกิดโรคขาดโปรตีนและแคลอรี คือ การที่ประชาชนมีรายได้น้อย ไม่สามารถซื้ออาหารโปรตีนพวกเนื้อสัตว์มาบริโภคให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกายได้⁽¹⁾ ขณะเดียวกันแหล่งอาหารโปรตีนที่มีอยู่ในพืชบางส่วนก็ถูกทิ้งไปโดยไม่ได้นำมาบริโภคทั้งๆ ที่แหล่งอาหารโปรตีนจากพืชนี้ก็มิอยู่ในบ้านเราพอสมควร ทั้งนี้คงเนื่องมาจากการขาดความรู้ถึงวิธีการที่จะนำเอาโปรตีนจากพืชนี้มาเป็นอาหารที่ปลอดภัยและน่ารับประทาน

แหล่งอาหารโปรตีนที่ได้จากพืชนี้มักพบมีสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (antinutritional factors) บางชนิดอยู่ด้วย เช่น trypsin inhibitors, hemagglutinins (lectins) phytate และ mimosine⁽²⁾ เป็นต้น สารเหล่านี้จะรบกวนต่อการย่อยและการดูดซึมสารอาหารอื่นๆ ในทางเดินอาหาร⁽³⁾ สำหรับคนไทยได้ใช้ใบและเมล็ดกระถิน รับประทานกันบ้างในปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้ก็มีการใช้กระถินผสมอาหารสัตว์ด้วย แต่ต้องใช้ในปริมาณที่จำกัด เพราะถ้าใช้มากเกินไปจะทำให้สัตว์ขมระง⁽⁴⁾ และเมื่อทดลองผสมในอาหารเลี้ยงหนูปรากฏว่าหนูทดลองมีอาการผิดปกติที่ตา คือตาจะมีลักษณะเป็นฝ้าขาวขุ่น เมล็ดฟักทองคั่ว พบว่าไม่มีอันตรายต่อสัตว์ทดลอง และสัตว์ทดลองที่ได้รับอาหารผสมที่มีเมล็ดพืชนี้จะเจริญได้ดี⁽⁵⁾

ปัจจุบันมีการนำใบกระถิน เมล็ดกระถิน และเมล็ดฟักทองมาใช้เป็นอาหารกันบ้างแล้ว แต่ก็ยังมีปัญหาเกี่ยวกับรสชาติของอาหาร รวมทั้งสารต้านคุณค่าทางโภชนาการซึ่งมีในพืชเหล่านี้ การวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงวิธีการพื้นฐานที่จะแยกโปรตีนออกมาจากพืชเหล่านี้ พร้อมทั้งศึกษาปริมาณของสารอาหารและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่มีในพืชและโปรตีนที่แยกออกมาได้จากพืชนี้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างพืชที่จะนำมาศึกษา

พืชที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ ได้แก่ ใบกระถิน เมล็ดกระถิน (*Laeucaena lecuocephala* de Wit) และเมล็ดฟักทอง (*Cucurbita maxima* Duchesne) สำหรับใบกระถินและเมล็ดฟักทอง ซื้อจากตลาดในกรุงเทพฯ ส่วนเมล็ดกระถินใช้ฝักแก่ซึ่งเก็บจากต้นในกรุงเทพฯ เมล็ดฟักทองและเมล็ดกระถินจะนำมาตากแห้งแล้วเก็บในตู้เย็น เพื่อทำการศึกษาต่อไป ส่วนใบกระถินใช้ใบสด

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในพืชตัวอย่าง

นำตัวอย่างพืชมาอบให้แห้งในตู้อบ อุณหภูมิ $100 \pm 5^{\circ}$ ซ จนน้ำหนักคงที่แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน, ไขมัน, โยอาหาร และเถ้า⁽⁶⁾ ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตใน 100 กรัมของตัวอย่าง หาได้โดยคำนวณจากการหักลบค่าความชื้น โปรตีน โยอาหาร และเถ้าออกจาก 100

3. การแยกสกัดโปรตีน

การแยกโปรตีนทำโดยนำตัวอย่างพืชมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า (Moulinex) แบ่งมาสกัดแยกโปรตีน โดยวิธีต่อไปนี้

3.1 แยกโปรตีนโดยการปรับพีเอช⁽⁷⁾ นำตัวอย่างที่บดแล้วมาเติมน้ำกลั่น และปรับพีเอชให้เป็น 9 ด้วยสารละลาย 1 นอร์แมลโซเดียมไฮดรอกไซด์ กรองด้วยผ้าขาวบางแล้วนำสารละลายที่ได้มาปรับพีเอชให้เป็น 4 ด้วยสารละลาย กรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์แมล แยกตะกอนออกมาด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อช่วยให้ตกตะกอนเร็วขึ้น นำสารละลายชั้นบนมาปรับพีเอชให้เป็น 5 ด้วยสารละลาย 1 นอร์แมลโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอน นำตะกอนที่ได้มารวมกันแล้วอบที่ 70°C จนน้ำหนักคงที่

3.2 แยกโปรตีนด้วยความร้อน⁽⁸⁾ นำตัวอย่างพืชที่บดแล้วมาเติมน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายที่กรองได้มาต้มที่ 85°C นาน 30 นาที โปรตีนจะตกตะกอนออกมา นำตะกอนที่ได้ไปอบที่ 70°C จนน้ำหนักคงที่

3.3 แยกโปรตีนด้วยแคลเซียมซัลเฟต⁽⁸⁾ นำตัวอย่างพืชที่บดแล้วมาเติมน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายที่กรองได้มาต้ม 3 นาที แล้วเติมแคลเซียมซัลเฟต 1 กรัม ต่อสารละลายที่กรองได้ 100 กรัม วางทิ้งไว้ 5 นาที นำสารละลายที่ได้มาเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงแยกตะกอนออกมา นำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้งที่ 70°C

นำตะกอนโปรตีนที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี Micro Kjeldahl แล้วคำนวณหาปริมาณ crude protein โดยนำค่าปริมาณไนโตรเจนคูณด้วย 6.25⁽⁸⁾ แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน และสารด้านคุณค่าทางโภชนาการต่อไป

4. การวิเคราะห์กรดอะมิโน⁽⁹⁾

นำตัวอย่างวัตถุดิบและโปรตีนที่แยกได้ที่บดละเอียดแล้วมาสลายด้วยกรดที่ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว นาน 4 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มาระเหยให้แห้งแล้วละลายตะกอนด้วย Sodium citrate buffer พีเอช 2.2 กรองแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง Amino Analyzer (Hitachi Perkin Elmer) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า Amino acid score

5. การวิเคราะห์หาสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ในวัตถุดิบและโปรตีนที่แยกได้

5.1 วิเคราะห์หาปริมาณมิโมซีน (Mimosine)⁽¹⁰⁾

ปริมาณมิโมซีนวิเคราะห์ โดยวัดการดูดกลืนแสงของ Mimosine-ferric chloride หลังจากได้แยกสารที่จะรบกวนออกไปแล้วด้วยคาร์บอนกัมมันต์

5.2 การวิเคราะห์ไฟเตต^(11,12)

ปริมาณไฟเตตวิเคราะห์โดยการตกตะกอนไฟเตตด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ นำตะกอนมาละลายในกรดไนตริก แล้วนำไปวัดหาปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (Shimadzu AA-650) ปริมาณเหล็กที่ได้สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณไฟเตตได้โดยใช้อัตราส่วนเหล็ก 4 อะตอม ต่อไฟเตต 1 โมเลกุล

5.3 วิเคราะห์ Trypsin inhibitor activity⁽¹³⁾

วิธีนี้ทดสอบความสามารถของ Trypsin inhibitor ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินในการย่อยสลาย benzoyl - DL - arginine -p- nitroanilide (BAPA)

5.4 วิเคราะห์ปริมาณฮีแมกกลูตินิน ^(14,15)

นำตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วมาสกัดด้วย Phosphate Buffer Saline pH 6.8 นำสารละลายที่สกัดได้ไปหาปริมาณฮีแมกกลูตินิน โดยดูผลต่อการทำให้เม็ดเลือดแดงตกตะกอน

ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารในพืชที่ใช้ (ตารางที่ 1) เมื่อนำมาคำนวณเป็นน้ำหนักแห้งพบว่า ไบโกระถิน เมล็ดกระถิน และเมล็ดผักทองมีปริมาณโปรตีนสูง คือ มีโปรตีน 44.44%, 26.64% และ 31.70% ตามลำดับ ส่วนปริมาณไขมันพบว่าเมล็ดผักทองมีไขมันสูงถึง 39.83% ในขณะที่ไบโกระถินและเมล็ดกระถินมีไขมันเพียง 1.96 และ 4.20%

ตารางที่ 1 ปริมาณสารอาหารในพืชตัวอย่าง 100 กรัม (น้ำหนักสด)

ปริมาณสารอาหาร	ไบโกระถิน	เมล็ดกระถิน	เมล็ดผักทอง
ความชื้น (%)	81.04	9.74	8.07
โปรตีน (ก.)	8.42	24.04	29.14
ไขมัน (ก.)	0.37	3.79	36.61
ใยอาหาร (ก.)	1.40	10.43	20.20
เถ้า (ก.)	1.22	3.48	5.59
คาร์โบไฮเดรต (ก.)	7.55	48.52	0.39

เมื่อนำตัวอย่างพืชมาบดให้ละเอียดแล้วแยกโปรตีนที่ละลายน้ำออกมา แล้วตกตะกอนโปรตีนเหล่านั้นโดยวิธีใช้ความร้อน หรือปรับพีเอช หรือด้วยแคลเซียมซัลเฟต ตกตะกอนที่แยกออกมาได้ (โปรตีนไอโซเลต, Protein isolate) และปริมาณโปรตีนในโปรตีนไอโซเลต แสดงในตารางที่ 2 การแยกโปรตีนที่ละลายน้ำจากเมล็ดผักทอง และไบโกระถิน โดยการใช้ความร้อนจะได้ปริมาณโปรตีนไอโซเลตต่ำสุด คือ ได้ปริมาณโปรตีนไอโซเลตเพียง 11.13 และ 5.83 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้งที่ใช้ ส่วนการแยกโปรตีนโดยการปรับพีเอช จะได้ปริมาณโปรตีนมากกว่าการใช้ความร้อนและปริมาณโปรตีนที่แยกได้ไม่แตกต่างกันคือจากเมล็ดผักทองได้ 12.42% และจากไบโกระถินได้ 11.24% การใช้แคลเซียมซัลเฟตตกตะกอนโปรตีนจะได้ปริมาณโปรตีนไอโซเลตเพิ่มขึ้น แต่ปรากฏว่าโปรตีนไอโซเลตที่ได้จะมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าในโปรตีนไอโซเลตที่ได้จากการใช้ความร้อน หรือการปรับพีเอช (ตารางที่ 2) ซึ่ง Telek และ Graham ⁽⁶⁾ ก็รายงานไว้ว่าโปรตีนที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเกลือจะมีไนโตรเจนต่ำ ทั้งนี้คงเนื่องจากมีเกลือปะปนมาในโปรตีนไอโซเลตที่ได้ ในเมล็ดกระถินการแยกโปรตีนโดยใช้ความร้อน การปรับพีเอช และการตกตะกอนด้วยแคลเซียมซัลเฟต จะได้ปริมาณโปรตีนไอโซเลตใกล้เคียงกัน ปริมาณโปรตีน ในโปรตีนไอโซเลตที่แยกโดยวิธีตกตะกอนด้วยแคลเซียมซัลเฟตก็มีปริมาณต่ำสุดเช่นกัน

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนไอโซเลตในตัวอย่างแห้ง และปริมาณโปรตีนในโปรตีนไอโซเลตที่ได้จากเมล็ดฟักทอง ใบกระถิน และเมล็ดกระถิน

ชนิดโปรตีนไอโซเลต	ปริมาณโปรตีนไอโซเลต (กรัม /100 กรัมวัตถุดิบแห้ง)	ปริมาณโปรตีนใน โปรตีนไอโซเลต (กรัม /100 กรัม)
เมล็ดฟักทอง		
แยกโดยความร้อน	11.13	38.20
แยกโดยปรับพีเอช	12.42	38.16
แยกด้วยแคลเซียมซัลเฟต	18.06	28.00
ใบกระถิน		
แยกโดยความร้อน	5.85	53.12
แยกโดยปรับพีเอช	11.24	53.90
แยกด้วยแคลเซียมซัลเฟต	22.18	17.03
เมล็ดกระถิน		
แยกโดยความร้อน	10.09	60.06
แยกโดยปรับพีเอช	9.93	52.54
แยกด้วยแคลเซียมซัลเฟต	11.73	49.00

จากตารางที่ 2 เมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่สามารถสกัดออกมาได้เทียบกับโปรตีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบแห้ง ปรากฏว่า วิธีการสกัดโปรตีนทั้ง 3 วิธี คือ การสกัดโดยใช้ความร้อน การปรับพีเอชและการใช้แคลเซียมซัลเฟตจะสามารถสกัดโปรตีนออกมาได้ดังนี้ เมล็ดฟักทองได้ 13.40%, 14.95% และ 15.95% ตามลำดับ ใบกระถินได้ 7.00, 13.63 และ 8.50% ตามลำดับ ส่วนเมล็ดกระถินได้ 22.75%, 19.58 และ 21.56% ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนที่สกัดออกมาได้นี้ค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้คงเนื่องจากการบดตัวอย่างในการทดลองนี้ใช้เครื่องบดไฟฟ้าธรรมดา จึงไม่สามารถทำให้เซลล์พืชที่นำมาสกัดโปรตีนแตกออกได้หมด ซึ่งการจะสกัดโปรตีนออกมาจากพืชให้ได้ประสิทธิภาพนั้น ปัจจัยสำคัญอันหนึ่งก็คือต้องทำให้ผนังเซลล์ของพืชแตกออก⁽¹⁶⁾

ปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่ทำการศึกษาในตัวอย่าง คือ มิโมซีน (Mimosine) ไฟเตต (Phytate) ทริปซินอินฮิบิเตอร์ (Trypsin inhibitor) และฮีแมกกลูตินิน แอคติวิตี แสดงในตารางที่ 3 ในใบกระถินและโปรตีนไอโซเลตจากใบกระถินตรวจพบเฉพาะมิโมซีน และทริปซินอินฮิบิเตอร์ ปริมาณมิโมซีนในใบกระถินตรวจพบ 2.09% ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณที่ D'Mello ได้รวบรวมไว้คือ 1.41-2.55%⁽¹⁷⁾ ปริมาณมิโมซีนในเมล็ดกระถินและโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถินสูงกว่าในใบกระถินและโปรตีนไอโซเลตจากใบกระถิน (ตารางที่ 3) ในโปรตีนไอโซเลตพบว่าปริมาณมิโมซีนในโปรตีนที่แยกสกัดโดยใช้ความร้อน และการปรับพีเอชจะใกล้เคียงกัน ส่วนโปรตีนที่แยกสกัดโดยใช้แคลเซียมซัลเฟต จะมีปริมาณมิโมซีนน้อยที่สุด

ตารางที่ 3 ปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการในใบกระถิน เมล็ดกระถิน เมล็ดผักทอง และโปรตีนไอโซเลตจากใบกระถิน เมล็ดกระถิน และเมล็ดผักทอง

	ปริมาณมิโมซีน (%)	ปริมาณไฟเตต (%)	ทริปซินอินฮิบิเตอร์ (TIU*/กรัม)	ฮีแมกกลูตินิน แอคติวิตี (ยูนิต/กรัม)
ใบกระถิน	2.09	-**	0.48	-**
โปรตีนไอโซเลตโดยความร้อน	2.42	-	0.17	-
โปรตีนไอโซเลตโดยปรับพีเอช	2.25	-	0.53	-
โปรตีนไอโซเลตด้วยแคลเซียมซัลเฟต	0.78	-	0.06	-
เมล็ดกระถิน	3.70	0.15	1.71	5728
โปรตีนไอโซเลตโดยความร้อน	3.89	0.04	0.06	-**
โปรตีนไอโซเลตโดยปรับพีเอช	3.77	0.01	0.24	-
โปรตีนไอโซเลตด้วยแคลเซียมซัลเฟต	2.02	0.03	0.06	-
เมล็ดผักทอง	-**	1.84	-**	-**
โปรตีนไอโซเลตโดยความร้อน	-	1.36	-	-
โปรตีนไอโซเลตโดยปรับพีเอช	-	1.32	-	-
โปรตีนไอโซเลตด้วยแคลเซียมซัลเฟต	-	1.30	-	-

* Trypsin Inhibitory Unit,

** ตรวจไม่พบ

ในใบกระถินและเมล็ดกระถินพบปริมาณทริปซินอินฮิบิเตอร์ 1.71 และ 0.48 TIU/มก. ปริมาณที่พบนี้จัดว่าน้อยมาก ถ้าเทียบกับปริมาณที่พบในถั่วเหลืองซึ่งมีรายงานพบสูง 72-96 TIU/มก.⁽¹³⁾ ในโปรตีนไอโซเลตก็ยังคงพบทริปซินอินฮิบิเตอร์ แต่จะน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณในวัตถุดิบแห้ง

ปริมาณไฟเตตตรวจพบเฉพาะในเมล็ดกระถิน เมล็ดผักทอง และโปรตีนสกัดจากเมล็ดกระถินและเมล็ดผักทอง ส่วนในใบกระถินไม่มีไฟเตต ส่วนฮีแมกกลูตินินตรวจพบเฉพาะในเมล็ดกระถิน แต่ในโปรตีนไอโซเลตตรวจไม่พบ แสดงว่ากระบวนการในการตกตะกอนโปรตีนนี้สามารถลดฮีแมกกลูตินินแอคติวิตีได้ ซึ่งมีรายงานว่าทำให้ความร้อนสามารถทำให้ฮีแมกกลูตินินแอคติวิตีในอาหารลดลงได้^(2,15)

ปริมาณกรดอะมิโนในวัตถุดิบ และโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดผักทอง ใบกระถินและเมล็ดกระถิน แสดงในตารางที่ 4,5 และ 6 ตามลำดับ ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น (Essential amino acid) นำไปคำนวณเป็นค่า Amino acid score โดยเทียบกับค่ากรดอะมิโนตามมาตรฐานของ FAO/WHO⁽¹⁹⁾

$$\text{Amino acid score} = \frac{\text{มก.ของกรดอะมิโนใน 1 ก. โปรตีน} \times 100}{\text{มก. ของกรดอะมิโนใน 1 ก. โปรตีนมาตรฐาน}}$$

ดังแสดงในตารางที่ 7, 8 และ 9

จากค่า Amino acid score พบว่าในเมล็ดพืชทองและใบกระถินจะมีกรดอะมิโนจำเป็นเกือบทุกตัวต่ำกว่า 100 แสดงว่าโปรตีนในเมล็ดพืชทองและในใบกระถินมีคุณภาพต่ำ ส่วนในเมล็ดกระถินจะมี Lysine และ Threonine ต่ำกว่า 100 ในโปรตีนไอโซเลตพบว่าค่า amino acid score ของกรดอะมิโนจำเป็นเกือบทุกตัวสูงกว่าในวัตถุดิบแห้ง แสดงว่าการแยกโปรตีนออกมานี้ช่วยทำให้คุณภาพของโปรตีนไอโซเลตที่ได้ดีขึ้น โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดพืชทองมี Lysine เป็น Limiting amino acid ดังนั้นถ้านำโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดพืชทองมาบริโภค หรือใช้เป็นอาหารสัตว์ก็ควรจะเติม Lysine ลงไปด้วย เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนไอโซเลตที่ได้ ส่วนในโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถินโดยวิธีต่างๆ มี Limiting amino acid ที่ต่างกันเล็กน้อย คือ ในโปรตีนไอโซเลตที่ได้จากความร้อนมี Methionine เป็น Limiting amino acid ส่วนโปรตีนไอโซเลตโดยการปรับ pH และใช้แคลเซียมซัลเฟตมี Threonine และ Lysine เป็น Limiting amino acid ตัวแรก และมี Methionine เป็น Limiting amino acid ตัวที่สอง ส่วนโปรตีนไอโซเลตจากใบกระถินพบว่ามี Methionine เป็น Limiting amino acid ตัวแรก และมี Threonine เป็น Limiting amino acid ตัวที่สอง

อย่างไรก็ตามค่า Amino acid score นี้ก็เป็นเพียงการบอกคุณภาพของโปรตีนโดยประมาณเท่านั้น เนื่องจากการที่ร่างกายจะนำโปรตีนแต่ละชนิดไปใช้ประโยชน์ได้มากน้อยเพียงไรยังขึ้นกับปัจจัยอีกหลายอย่างเช่น ความสามารถในการย่อย (Digestibility) การดูดซึม และการนำโปรตีนไปใช้ในการเสริมสร้างร่างกาย ซึ่งถ้าจะสรุปให้ได้นี้ก็จำเป็นต้องศึกษาถึงความสามารถในการย่อยโปรตีน และศึกษาผลของโปรตีนนี้ต่ออัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง และภาวะสมดุลของไนโตรเจน (Nitrogen balance) ในสัตว์ทดลองต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดอะมิโนในเมล็ดฟักทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดฟักทอง

กรดอะมิโน (มก./ก.ตัวอย่าง)	เมล็ดฟักทอง	โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดฟักทองโดย		
		ความร้อน	พีเอช	CaSO ₄
กรดอะมิโนที่จำเป็น				
Histidine	8.39	9.03	7.90	6.70
Isoleucine	8.68	16.33	14.49	11.81
Leucine	15.93	30.49	27.54	22.25
Lysine	15.34	14.16	12.57	9.71
Methionine	5.42	10.04	9.17	7.08
Cystine	3.84	5.85	6.03	3.04
Phenylalanine	10.17	20.69	18.46	15.50
Tyrosine	21.15	12.94	11.48	9.26
Threonine	6.59	11.73	10.59	8.78
Tryptophan*	-	-	-	-
Valine	11.37	20.66	18.30	14.48
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น				
Alanine	10.55	18.17	16.64	13.33
Arginine	33.88	55.84	55.10	41.02
Aspartic acid	30.62	36.78	32.47	26.10
Glutamic acid	46.80	68.56	66.38	50.30
Glycine	27.38	18.11	16.60	12.97
Proline	8.16	15.82	13.79	10.79
Serine	12.62	19.49	17.43	14.93

* ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ 5 ปริมาณกรดอะมิโนในใบกระถิน และโปรตีนไอโซเลตจากใบกระถิน

กรดอะมิโน (มก./ก.ตัวอย่าง)	ใบกระถิน	โปรตีนไอโซเลตจากใบกระถินโดย		
		ความร้อน	ฟီးช	CaSO ₄
กรดอะมิโนที่จำเป็น				
Histidine	5.91	11.28	8.93	3.15
Isoleucine	13.33	24.90	20.61	7.40
Leucine	21.83	43.58	35.27	12.77
Lysine	16.16	35.35	27.37	7.68
Methionine	5.69	11.39	9.32	3.38
Cystine	4.69	6.48	8.09	1.88
Phenylalanine	12.54	25.41	20.21	7.23
Tyrosine*	9.01	19.28	17.53	5.75
Threonine	11.76	23.83	18.93	6.99
Tryptophan**	-	-	-	-
Valine	17.36	30.98	25.47	9.13
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น				
Alanine	14.63	28.57	22.94	8.36
Arginine	20.34	33.82	26.75	9.67
Aspartic acid	36.79	51.01	41.63	14.92
Glutamic acid	30.28	56.98	46.18	17.11
Glycine	15.37	24.89	21.11	7.59
Proline	12.87	20.08	19.58	6.69
Serine	12.89	26.13	20.35	7.87

* ค่าโดยประมาณเนื่องจากถูกรบกวนด้วยค่ามิโมซินในตัวอย่าง

** ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ 6 ปริมาณกรดอะมิโนในเมล็ดกระถิน และโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถิน

กรดอะมิโน (มก./ก.ตัวอย่าง)	เมล็ดกระถิน	โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถินโดย		
		ความร้อน	ฟီเอช	CaSO ₄
กรดอะมิโนที่จำเป็น				
Histidine	9.17	18.00	14.37	13.55
Isoleucine	13.80	29.62	23.73	22.16
Leucine	23.26	55.49	44.28	42.00
Lysine	20.30	37.81	27.72	27.39
Methionine	5.04	10.25	8.22	7.86
Cystine	4.90	6.83	5.70	4.78
Phenylalanine	13.93	33.33	25.67	26.17
Tyrosine**	-	26.95	17.23	18.26
Threonine	10.59	22.62	17.60	17.07
Tryptophan*	-	-	-	-
Valine	14.82	32.88	25.87	24.51
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น				
Alanine	14.66	29.87	23.95	23.30
Arginine	34.24	61.69	50.79	48.73
Aspartic acid	43.88	65.04	52.47	50.79
Glutamic acid	54.64	111.99	87.95	88.34
Glycine	16.66	29.63	23.81	22.63
Proline	13.86	32.72	23.03	24.57
Serine	14.92	32.29	23.66	24.69

* ไม่ได้วิเคราะห์

** เป็นค่าประมาณเนื่องจากถูกรบกวนด้วยปริมาณมิโมซินในตัวอย่าง

ตารางที่ 7 Amino acid score ของกรดอะมิโนจำเป็นในเมล็ดฟักทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดฟักทอง

กรดอะมิโน (มก./ก.ตัวอย่าง)	เมล็ดฟักทอง	โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดฟักทองโดย		
		ความร้อน	ฟီเอช	CaSO ₄
Isoleucine	68.43**	106.88	94.93	105.45
Leucine	71.79	114.03	103.10	113.51
Lysine	87.98	67.38*	59.89*	63.31*
Methionine+cystine	83.46	118.86	113.80	103.29
Phenylalanine+tyrosine	164.67	146.73	130.77	147.38
Threonine	52.00*	76.75**	69.45**	78.40**
Valine	71.76	108.16	95.92	106.00

* First limiting amino acid

** Second limiting amino acid

ตารางที่ 8 Amino acid score ของกรดอะมิโนจำเป็นในใบกระถิน และโปรตีนไอโซเลตจากใบกระถิน

กรดอะมิโน (มก./ก.ตัวอย่าง)	ใบกระถิน	โปรตีนไอโซเลตจากใบกระถินโดย		
		ความร้อน	ฟီเอช	CaSO ₄
Isoleucine	74.95	117.22	95.60	108.63
Leucine	70.16	117.20	93.49	107.13
Lysine	66.11*	121.00	92.33	82.00*
Methionine+cystine	66.71	96.08*	92.29**	88.26*
Phenylalanine+tyrosine	80.82	104.22	116.70	127.01
Threonine	66.13**	112.15	87.80*	102.62
Valine	78.10	116.64	94.50	107.22

* First limiting amino acid

** Second limiting amino acid

ตารางที่ 9 Amino acid score ของกรดอะมิโนจำเป็นในเมล็ดกระถิน และโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถิน

กรดอะมิโน (มก./ก.ตัวอย่าง)	เมล็ดกระถิน	โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกระถินโดย		
		ความร้อน	พีเอช	CaSO ₄
Isoleucine	129.63	123.30	112.90	113.08
Leucine	124.51	131.99	120.39	122.44
Lysine	36.91*	114.45	95.93	101.65
Methionine+cystine	106.40	81.23*	75.74*	72.23*
Phenylalanine+tyrosine	-	167.27	136.08	151.12
Threonine	99.15*	94.15**	83.78*	87.08**
Valine	111.04	109.50	98.48	100.06

* First limiting amino acid

** Second limiting amino acid

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนให้ทุนอุดหนุนการวิจัย "เงินทุนวิจัยรัชดา-ภิเษกสมโภช" ในการศึกษาวิจัยนี้ และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และเจ้าหน้าที่ที่ให้ความร่วมมือในการวิจัยนี้อย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. Tontisirin, K. and Winidragoon P. 1984. *Malnutrition as a Social Indicator: Nutrition Problems in Thailand*. Faculty of medicine, Ramathibodi hospital & Institute of nutrition, Mahidol University.
2. Liener, I.E., 1962. Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Amer. J.Clin. Nutr.* 15:281-298.
3. Kakade, M.L. and Evans, R.J. 1966. Growth inhibition of rats fed raw Navy beans (*Phaseolus vulgaris*) *J.Nutr.* 90:191-198.
4. Matsumoto H., Smith E.G. and Sherman, G.D. 1951. The effect of elevated temperatures on the mimosine content and toxicity of Koa Haole. *Arch. Biochem. Biophys.* 33:201-211.
5. วรนนท์ สุภกาญจน์, ประพาส งามบุญศรี, พงศ์ธร สังข์เผือก และธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ ๒๕๒๔-๒๕๒๖ การศึกษาคคุณค่าทางชีวภาพของโปรตีนจากพืช รายงานเสนอคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
6. Pearson, D.1976 *The Chemical Analysis of Food*. 7th ed. Churchill Livingstone. p. 4-18.
7. Rahma, E.H. and Narasinga Rao. M.S. 1979. Characterization of sunflower proteins. *J.Food Sci.* 44:579-582.
8. Telek L and Graham H.D. 1983. *Leaf Protein Concentrates*. AVI Publishing Co. Inc. Westport.

9. Moore, s. and Stein, W.H. 1963. Chromatographic determination of amino acids by use of automatic recording equipment, in *Methods in Enzymology* eds. Colowick, S.P. and Kaphan. N.O., Academic Press, N.Y.
10. Matsumoto H. and Sherman G.D. 1951 A rapid colorimetric method for the determination of mimosine. *Arch. Biochem. Biophys.* 33:195-200.
11. Ramhotra, G.S., Laewe R.J. and Puyat L.V. 1974 Phytic acid in soy and its hydrolysis during breadmaking. *J. Food Sci.* 39:1023-1025.
12. Wheeler, E.L. and Ferrel, R.E. 1971. A method for phytic acid determination in wheat and wheat fractions. *Cereal Chem.* 48:312-320.
13. Kakade, M.L., Rackis, J.J., McGhee, J.E. and Puski. G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity or soy products. A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 51:376-382.
14. Chen, L.H., Thacker, R.R. and Pan, S.H. 1977. Effect of germination on hemagglutinating activity of pea and bean seeds. *J. food Sci.* 42:1666-1668.
15. อรอนงค์ กังสดาลอำไพ, ลำดวน เสวตมาลย์ และสุวิมล ฉกาจนโรดม 2529. ปริมาณฮีแมกกลูตินินในพืชที่ใช้เป็นอาหารของคนไทย *โภชนการสาร* 20(4) 318-335.
16. Betschart, A.B. and Kinsella, J.E. 1973. Extractability and solubility of leaf protein. *J.Agr. Food Chem.* 21. 60-65.
17. D'mello, Felix, J.P. and Fraser K.W. 1980. The composition of leaf meal from *Leucaena leucocephala*. *Trop. Sci.* 23(1) : 75-8.
18. FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee, *Energy and protein requirement*, WHO Tech. Rep. No. 522, Geneva, Switzerland, 1973.

Proteins and antinutritional factors of *Laeucaena leucocephala* and *Cucurbita maxima* seed.

Oranong Kangsadalampai Ph.D.*

Suthee Sunthornthum M.Sc. (Pharm.)*

Thitirat Panmaung M.Sc.*

Kaew Kangsadalampai Ph.D.**

ABSTRACT

Protein-Calorie malnutrition is one of the important nutritional problems in Thailand. Attempts to isolated protein of *Laeucaena leucocephala* leaf and seed as well as of *Cucurbita maxima* seed were performed by heating, adjusting pH and adding calcium sulfate. Amino acid content and antinutritional factors including, phytate, trypsin inhibitor and hemagglutinin were investigated on both protein isolates and raw materials. Protein content (N x 6.25) of protein isolated by heating and adjusting pH was higher than those of protein isolated by calcium sulfate precipitation. Protein isolated by heating contained the highest content of amino acids. Amino acid scores of the protein isolate were higher than those of raw materials. Antinutritional factors in protein isolate were lower than those in raw material. *Cucurbita maxima* seed and its protein isolate contained only phytate. *Laeucaena leucocephala* leaf and its protein isolate contained mimosine and trypsin inhibitor, while *Laeucaena leucocephala* seed and its protein isolate contained phytate, mimosine and trypsin inhibitor. Hemagglutinin was found in *Laeucaena leucocephala* seed. This study showed that the process of isolation of protein improved the amino acid content with respected to reference protein and decrease antinutritional factors. (Th.J.Pharm. Sci., Vol.15 No. 4, 255-268 (1990))

* Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

** Food and Nutrition Toxicology section, Institute of Nutrition, Mahidol University