บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

1. สมบัติของฮีแมกกลูตินิน

จากการศึกษาฮีแมกกลูตินินในพืชหลายตระกูล พบว่าพืชตระกูลถั่ว ซึ่งเป็นแหล่งของสารอาหารโปรตีน มีฮีแมกกลูตินินอยู่มากกว่าพืชตระกูลอื่น ๆ สมบัติและส่วนประกอบทางเคมีของฮีแมกกลูตินินจากพืชแต่ละชนิด แต่ละพันธุ์จะมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันบ้าง และแตกต่างกันบ้างดังตัวอย่างต่อไปนี้

1.1 Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*)

พืชในวงศ์ Phaseolus มีอยู่หลายพันธุ์และเป็นวงศ์ที่มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับฮีแมก-กลูตินินมากที่สุด เพราะแต่ละพันธุ์มีปริมาณและชนิดของฮีแมกกลูตินินที่แตกต่างกัน ซึ่งก็มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) แตกต่างกันด้วย บางชนิดทำให้สัตว์ทดลองที่กินพืชที่มีฮีแมกกลูตินินในปริมาณร้อยละ 0.5 ตายภายใน 14 วัน แต่บางชนิดจะไม่ทำให้สัตว์ทดลองตาย เพียงแต่ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่านั้น พืชชื่อ *Phaseolus vulgaris* มีหลายพันธุ์ เช่น Kidney bean พันธุ์ต่าง ๆ จะมีฮีแมกกลูตินินที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 98,000 ถึง 138,000 (12,45,70) และมีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรทในโมเลกุลอยู่ประมาณร้อยละ 10.4 ส่วน Wax bean ซึ่งเป็นอีกพันธุ์หนึ่งของ *Phaseolus vulgaris* นั้น จะมีฮีแมก-กลูตินินที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 132,000 (45,72) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 4 ชนิด คือ Aspartic acid 6 โมเลกุล, Threonine 3 โมเลกุล, Glutamic acid 2 โมเลกุล และ Tyrosine 1 โมเลกุล นอกนั้นเป็นน้ำตาลอีก 4 ชนิดคือ Arabinose 5 โมเลกุล, Mannose 5 โมเลกุล, Galactose 4 โมเลกุล, Glucose 2 โมเลกุล, Glucosamine 2 โมเลกุล และ Fructose 1 โมเลกุล (74)

1.2 Soy bean (*Glycine max*)

ฮีแมกกลูตินินของถั่วเหลือง (Soy bean) มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 105,000 ถึง 110,000 (12,45,70) มีคาร์โบไฮเดรทเป็นส่วนประกอบราวร้อยละ 5 และถูกทำลายได้ง่ายด้วย Pepsin และ Trypsin

1.3 Field bean (*Dolichos lablab*)

ฮีแมกกลูตินินของถั่วประเภทนี้ประกอบด้วยน้ำตาลร้อยละ 1 ถึง 2 (30) มีความคงทนต่อ Trypsin และสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงของสัตว์หลายชนิดรวมทั้งเลือดหมู่ A ของคนรวมตัวกันเป็นก้อนได้ด้วย (30)

1.4 Horse gram (*Dolichos biflorus*)

ฮีแมกกลูตินินของถั่วชนิดนี้แตกต่างจากฮีแมกกลูตินินของ Field bean ตรงที่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหมู่ A ของคนเท่านั้นรวมกันเป็นก้อนได้ (55)

1.5 Broad bean (*Vicia faba*)

ฮีแมกกลูตินินของ Broad bean สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงของคน กระต่าย และหนูตะเภา รวมกันเป็นก้อนได้ (55)

1.6 Jack bean (*Concanavalia ensiformis*)

เป็นถั่วชนิดเดียวที่โมเลกุลของฮีแมกกลูตินินไม่มีน้ำตาลอยู่ด้วย จึงไม่ใช่ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 55,000 ถึง 112,000 (12, 45,70) ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ประมาณ 237 โมเลกุลด้วยกัน มีชื่อเรียกฮีแมกกลูตินินของ Jack bean ว่า Concanavalin A หรือเรียกย่อ ๆ ว่า Con. A

1.7 Wing bean (*Psophocarpus tetragonolobus*)

ถั่วพูมีฮีแมกกลูตินินระหว่าง 40,000 ถึง 320,000 Unit/gm (75) และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 46,000 ± 2,000 (60) ในโมเลกุลไม่มีน้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugar) เลย หรือถ้ามีก็มีไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักพบว่ามีกรดอะมิโนจำพวกที่เป็นกรดอยู่มาก ไม่พบ Methionine และ Cysteine เลย ฮีแมกกลูตินินของ

ถั่วพูสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงของคนทั้ง 3 หมู่รวมกันเป็นก้อนได้ (60)

1.8 Lima bean (*Phaseolus lunatus*)

Lima bean หรือ Double bean มีฮีแมกกลูตินินที่มีน้ำหนักโมเลกุลราว ๆ 269,000 ซึ่งมีคาร์โบไฮเดรทเป็นส่วนประกอบราวร้อยละ 4 (45,70) สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหมู่ A ของคนรวมกันเป็นก้อนได้มากกว่าหมู่เลือดหมู่อื่น (30)

1.9 Lentil (*Lens culinaris*)

Landsteiner & Raubitschek (30) เป็นคณะแรกที่สกัดฮีแมกกลูตินินจากโปรตีนของ Lentil และ Pea ได้ ต่อมา Haward & Sage (30) จึงสกัดฮีแมกกลูตินินบริสุทธิ์จาก Lentil ได้พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 42,000 ถึง 69,000 (45) และมีคาร์โบไฮเดรทอยู่ประมาณร้อยละ 2 ส่วนฮีแมกกลูตินินของ Pea นั้น มิได้มีรายงานเกี่ยวกับน้ำหนักโมเลกุลและส่วนประกอบของโมเลกุลเลย คงมีแต่รายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษเท่านั้น (49)

1.10 Potato (*Solanum tuberosum*)

ฮีแมกกลูตินินของมันฝรั่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 และมีคาร์โบไฮเดรทอยู่ประมาณร้อยละ 47 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล Arabinose (10) มี Cysteine อยู่ราวร้อยละ 11 แต่มี Phenylalanine อยู่น้อยมาก ส่วน Histidine นั้นไม่มีเลย Orteza & Gonzales (30) พบว่ามันฝรั่งบางพันธุ์ไม่มีฮีแมกกลูตินินอยู่ แต่บางพันธุ์มีฮีแมกกลูตินินอยู่มาก จนแม้กระทั่งจะหุงต้มด้วยความร้อนนานถึง 45 นาทีแล้ว ก็ยังทำลายฮีแมกกลูตินินได้ไม่หมด

1.11 Tomato (*Lycopersicum esculentum*)

ฮีแมกกลูตินินของมะเขือเทศเป็น glycoprotein ซึ่งมีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรทอยู่อย่างละเท่า ๆ กัน มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 71,000 ประกอบด้วย Arabinose ร้อยละ 85 และ Galactose ร้อยละ 15 (56) แต่ไม่พบ Histidine (8) มีความคงทนต่อการย่อยด้วย Pepsin และ Trypsin และทนต่อความร้อนได้แค่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเท่านั้น จะถูกทำลายหมดที่ 100 องศาเซลเซียส สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงรวมกลุ่มได้ดีที่

pH 1.5 - 9 Yeoman และคณะ (38) รายงานว่าพบฮีแมกกลูตินินของมะเขือเทศจากทุกส่วนของต้นรวมทั้งเมล็ดด้วย ส่วน Kilpatrick (38) พบว่า น้ำมะเขือเทศจากผลสุกจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากที่สุด ส่วนในเมล็ดนั้นมีบ้างแต่น้อยกว่า

1.12 Mushroom (*Flommulina veltipes*)

ฮีแมกกลูตินินของเห็ด ไม่มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรท์อยู่เลย จึงไม่ใช่ glycoprotein เป็นโปรตีนที่มีแต่กรดอะมิโนหลายชนิด ยกเว้น Cysteine, Histidine และ Methionine มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000 (77)

1.13 Castor bean (*Ricinus communis*)

ฮีแมกกลูตินินของเมล็ดละหุ่งมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 80,000 ถึง 98,000 (12,70) ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรท์ราวร้อยละ 3.7 การใช้ความร้อนในการสกัดน้ำมันละหุ่ง สามารถลดปริมาณฮีแมกกลูตินินได้ กากละหุ่งที่ได้อาจจะนำมาผสมเป็นอาหารสัตว์ได้ไม่เกินร้อยละ 10 (45) ฮีแมกกลูตินินของเมล็ดละหุ่งเรียกว่า "Ricin" (12,30) ซึ่งทนต่อการย่อยของ Pepsin และ Trypsin

กล่าวโดยสรุปฮีแมกกลูตินินที่ได้จากพืชต่าง ๆ ตามที่กล่าวมามีสมบัติทั่วไปดังต่อไปนี้ คือ

1. เป็น glycoprotein (6,30) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 20,000 ถึง 138,000 (45,70)

2. เป็น polypeptide ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนตั้งแต่ร้อยละ 30 ถึง 100 ซึ่งส่วนใหญ่เป็น acidic amino acid ได้แก่ Aspartic acid และ glutamic acid นอกนั้นคือ Serine และ Threonine ส่วน Cystein นั้นมีน้อยมาก (70)

3. มีน้ำตาลในโมเลกุลด้วย ยกเว้น Concanavalin A หรือ Con. A จาก Jack bean และฮีแมกกลูตินินจากเห็ด (12,30,77)

4. ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน (heat labile)

5. สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงจับกันเป็นก้อน (6,15,17,23,30,44,45,55)

6. กระตุ้นให้เกิด Mitogenesis ใน Lymphocyte (22,27,51,74) โดยเฉพาะ Lymphocyte ในระบบทางเดินอาหารจะมีผลมากที่สุด (27)

2. แหล่งกำเนิดของฮีแมกกลูตินิน

Nachbar และคณะ (1980) รายงานว่าพบฮีแมกกลูตินินในพืชที่ใช้เป็นอาหารในรูปของผัก ผลไม้ เครื่องเทศ และอื่น ๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการสำรวจพบฮีแมกกลูตินินที่มีในพืชที่ใช้เป็นอาหาร (Survey of the agglutinating activity in the edible parts of various foodstuffs)(55)

Name	Scientific Name
Vegetable	
Tomato	*Lycopersicon esculentum*
Potato	*Solanum tuberosum*
Sweet potato	*Ipomea batatas*
Carrot	*Daucus carota*
Green peas	*Pisum sativum*
Soybean sprouts	*Glycine max*
Mung bean sprouts	*Phaseolus mungo*
Lentil sprouts	*Lens esculenta*
Asparagus	*Asparagus officinalis*
Cucumber	*Cucurbita sativus*
Sweet peppers	*Capsicum annum*
Rice	*Oryza sativa*
Corn	*Zea mays*
Pumpkin	*Cucurbita maxima*
Jack bean	*Canavalia ensiformis*
Horse gram	*Dolichos biflorus*
Field bean	*Dolichos lablab*

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Name	Scientific Name
Lima bean	*Phaseolus lunatus*
Kidney bean	*Phaseolus vulgaris*
Navy bean	*P. vulgaris*
Castor bean	*Ricinus communis*
Sweet pea	*Lathyrus odoratus*
Fava bean	*Vicia faba*
Cow peas (black eyed)	*Vigna unguiculata*
Fruits	
Grapes	*Vitus vinifera*
Cherries	*Prunus avium begarreaus*
Water melon	*Citrullus vulgaris*
Grapefruit	*Citrus medica*
Lemon	*C. aurantium*
Orange	*C. aurantium*
Banana	*Musa paradisiac*
Papaya	*Carica papaya*
Strawberries	*Fragaria vesca*
Plum	*Prunus americana*
Spices	
Garlic	*Allium sativum*
Marjorum	*Labiaceae origanum*
Allspice	*Pimenta officinalis*
Nutmeg	*Myristica fragrans*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Name	Scientific Name
Peppermint	*Menta piperita*
Others	
Pea nuts (dry roasted)	*Arachis hypogea*
Mushroom	*Agaricus bisporus*
Coconut	*Cocus mucifera*
Sesame seeds	*Seramum indicum*
Sunflower seeds	*Helianthus annus*

จากตารางที่ 1 จะสังเกตเห็นว่า

2.1 พืชตระกูลถั่วจะมีฮีแมกกลูตินินมากกว่าตระกูลอื่น ๆ (12,55)

2.2 พบฮีแมกกลูตินินอยู่ในพืชชั้นสูงมากกว่าพืชชั้นต่ำจำพวก lime mold (Rosen et al., 1975), fungi & lichen (Kriipe, 1956)

2.3 ฮีแมกกลูตินินจะกระจายอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ทั้งนั้น ไม่ว่าจะเป็นหัว ใบ ยาง ลำต้น ฝัก และเปลือกต้น (66,70) เช่น พวกถั่วจะพบฮีแมกกลูตินินมากในเมล็ด ส่วนอื่น ๆ ของต้นบางครั้งอาจไม่พบเลย หรืออาจจะพบบ้างในต้น ใบ และฝัก เมื่อปี ค.ศ. 1978 Sabniss & Hart ได้พบฮีแมกกลูตินินจากยางของต้นแตงกวา แตงไทย ฟักทอง แต่ในเมล็ดของพืชทั้ง 3 ชนิด กลับไม่พบฮีแมกกลูตินินเลย ในปีเดียวกัน Yeoman และคณะ (38) พบฮีแมกกลูตินินจากทุกส่วนของต้นมะเขือเทศ รวมทั้งเมล็ดด้วย ส่วน Kilpatrick (1979) พบว่าน้ำมะเขือเทศจากผลสุกจะมีฮีแมกกลูตินินมากที่สุด ส่วนในเมล็ดจะพบฮีแมกกลูตินินด้วยแต่น้อยกว่า ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณฮีแมกกลูตินินที่พบในส่วนต่าง ๆ ของต้นมะเขือเทศ

(Specific agglutinating activity of tomato tissue)(38)

Tissue homogenate	Specific activity (Unit/gm Protein)
Leaf	8
Dried seed	32
Stem	53
Seed from ripe fruits	67
Fruit skin	914
Fruit juice	9,846

นอกจากจะพบฮีแมกกลูตินินในพืชแล้ว ยังอาจพบฮีแมกกลูตินินในสัตว์บางชนิด (Cohen, 1974) เช่น Pauly (1974) รายงานว่าพบฮีแมกกลูตินินใน Sponge และ Crustaceans, Uhlenbruch & Steinhausen (1972) พบฮีแมกกลูตินินใน Mollusks เช่น snail ส่วน Slockert และคณะ (1974) พบในไข่ของสัตว์เลี้ยงคลานด้วย ดังนั้น Liener (1976) จึงได้แยกความแตกต่างของฮีแมกกลูตินินที่ได้จากแหล่งที่ต่างกัน โดยเรียกชื่อต่างกันดังต่อไปนี้

ก. ฮีแมกกลูตินินที่ได้จากพืช เรียก Phytolectin

ข. ฮีแมกกลูตินินที่ได้จากสัตว์ เรียก Zoolectin

ค. ฮีแมกกลูตินินที่ได้จากพืชชั้นต่ำ เรียก Mycolectin

3. การสกัดฮีแมกกลูตินินบริสุทธิ์

เมื่อมีการศึกษาถึงความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินมากขึ้น จึงได้มีการทดลองและสกัดสารตัวนี้เป็นรูปของสารบริสุทธิ์ได้หลายวิธี (33,70) เช่น

3.1 Salt fractionation by chromatography on ion exchange or adsorbent (hydroxylapatite)

3.2 Affinity chromatography

3.3 Adsorption by Sephadex (Cross-linked dextran gel)

4. การหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหาร

วิวัฒนาการของการหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหารเป็นวิวัฒนาการของการทำให้เกิด Agglutination ระหว่างเม็ดเลือดแดงของสัตว์กับฮีแมกกลูตินินที่สกัดจากอาหารสูงสุด โดยเริ่มจากการหาสารละลายที่เหมาะสมสำหรับสกัดฮีแมกกลูตินินที่มีสมบัติทางชีวภาพสูงสุด (maximum biological activity) มีการทดลองใช้สารเคมีต่าง ๆ เพื่อสกัดฮีแมก-กลูตินินดังกล่าว และพบว่าสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลา (NaCl 0.1 M)(7) หรือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosplate Buffer) pH 6.8 ถึง 8.0 เป็นสารละลายที่มีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้สกัดฮีแมกกลูตินินในพืช (48)

การหาปริมาณฮีแมกกลูตินินที่สกัดได้โดยวิธีการทดสอบกับเม็ดเลือดแดงจากสัตว์มีการทดลองมากมาย ด้วยการทดลองใช้เม็ดเลือดแดงที่มีหมู่เลือดต่าง ๆ ของคน และเม็ดเลือดแดงจากสัตว์ เช่น กระต่าย หมู วัว ม้า แกะ กบ นก ช้าง หนู สุนัข ไก่ และปลา (25) โดยในระยะแรกของการทดลองหาปริมาณฮีแมกกลูตินินนั้น ใช้เม็ดเลือดแดงของสัตว์ที่มิได้ผ่านกรรมวิธี (untreated) อื่นใดเลย จึงได้ผลที่ไม่แน่นอน คือบางครั้งเกิดการรวมตัวของเม็ดเลือดแดงกับฮีแมกกลูตินินอย่างชัดเจน แต่บางครั้งไม่เกิดการรวมตัวตามที่คาดหวังไว้ ในปี ค.ศ. 1952 Liener และ Hill (42) จึงได้นำ papain มาใส่ลงในเม็ดเลือดแดงของหนูพุกก่อน แล้วจึงนำเม็ดเลือดแดงดังกล่าวที่เรียกว่า treated red blood cell (treated RBC) ไปทดลองกับฮีกแมกกลูตินินพบว่าเกิด agglutination ระหว่างฮีแมกกลูตินินและเม็ดเลือดแดงอย่างชัดเจน ดังเช่นพบว่า ฮีกแมกกลูตินินที่สกัดจากถั่วเหลืองที่อบร้อนนานถึง 75 นาที ก็ยังสามารถตรวจพบฮีแมกกลูตินินได้ ตรงกันข้ามกับเม็ดเลือดแดงที่ไม่ได้ผ่านกรรมวิธีผ่าน papain ที่เรียกว่า untreated red blood cell จะไม่ทำให้เกิด agglutination กับฮีแมกกลูตินินในถั่วเหลืองอบความร้อนดังกล่าว การที่เม็ดเลือดแดงทำให้เกิด agglutination กับฮีแมกกลูตินินในส่วนสกัดโปรตีนจากพืชได้ แปลว่าพืชนั้นมีฮีแมกกลูตินิน Liener และ Hill ได้ตรวจสอบปริมาณฮีแมกกลูตินินที่มีอยู่ใน

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Soybean oil meal ที่ผ่านความร้อนในระดับต่าง ๆ กับเม็ดเลือดแดงจากสัตว์ทั้งชนิดที่เป็น untreated และ treated RBC ได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฮีแมกกลูตินินในถั่วเหลือง (Soybean oil meal) ที่ผ่านความร้อนระดับต่าง ๆ โดยใช้เม็ดเลือดแดงจากสัตว์ในสภาพปกติ (untreated RBC) และเม็ดเลือดแดงที่ผ่านกรรมวิธี (treated RBC) (Summary data of soybean oil meal to various degrees of heat treatment with untreated RBC and treated RBC)(42)

Heat treatment of soybean oil meal (minutes)	Hemagglutinating activity (unit/gm)	
	untreated cell	treated cell
Atmospheric pressure (100°C)		
0	1,280	16,000
10	1,280	16,000
30	320	2,400
45	160	1,600
60	80	800
75	0	400
90	0	400
150	0	400
15 lb Pressure		
5	480	3,200
15	20	400
20	0	0
30	0	0
120	0	0

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปี ค.ศ. 1970 Lis และคณะ (48) ได้ทดสอบหาปริมาณฮีแมกกลูตินินโดยดูการเกิด agglutination ของฮีแมกกลูตินินจากถั่วเหลืองกับเลือดจากกระต่ายและจากคน โดยนำเม็ดเลือดแดงมา treat ด้วย trypsin แทน papain ผลปรากฏว่าเลือดคนหมู่โอ (group O) เหมาะสำหรับทำการวิจัยหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหารมากที่สุด เพราะเหตุผลดังต่อไปนี้

1. หาง่ายกว่าเลือดหมู่อื่น

2. ให้ผลการเกิด agglutination กับฮีแมกกลูตินินในปริมาณพอเหมาะ คือไม่มากหรือน้อยเกินไป (48,70) ดังแสดงผลการทดลองไว้ในตารางที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในถั่วเหลืองโดยใช้เม็ดเลือดแดงจากคนและสัตว์ (Activity of soybean agglutinin tested with different types of erythrocytes)(48)

Types of RBC	Agglutinating units/mg Soybean Agglutinin			
	Rabbit	Human, Type		
		A	B	O
Untreated	20	10	0.5	2
Trypsinized	4,000	320	70	150

ตารางที่ 5 การเกิดการรวมตัวของฮีแมกกลูตินินจากพืชชนิดต่าง ๆ กับเม็ดเลือดแดงของคน (Agglutination titers of Erythrocytes)(70)

Origin of HMT	Human Erythrocyte		
	Group A	Group B	Group O
Phaseolus limensis	128	0	0
Sophora japonica	32	16	16
Ulex europeus	16	4	16

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Origin of HMT	Human Erythrocyte		
	Group A	Group B	Group O
Laburnum alpinum	0	0	4
Lens culinaris	4	4	8
Vicia faba	4	1	4
Pisum sativum	4	4	2
Wistoria floribunda	16	8	4
Sesanum indicum	32	16	16
Ricinus communis	1,024	1,024	1,024
Momordia charantia	256	512	512
Triticum vulgaris	16	8	8
Solanum tuberosum	64	128	256
Phaseolus vulgaris	256	256	256

ดังนั้น ในปี ค.ศ. 1976 Reisner และคณะ ได้ทดลองใช้เลือดหมู่โอของคนและเลือดกระต่ายทดสอบ agglutination ของฮีแมกกลูตินินจากถั่วเหลือง โดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้ trypsin treated RBC (trypsinized RBC) และเลือดที่ไม่ได้ treat (untreated) ผลปรากฏว่าเลือดที่ treat ด้วย trypsin ทำให้เกิด agglutination ได้ชัดเจนกว่า ทั้ง ๆ ที่ใช้ฮีแมกกลูตินินในปริมาณน้อยกว่าเลือดที่ไม่ได้ treat

การที่เม็ดเลือดแดงของสัตว์ที่ผ่านการ treat ด้วย papain หรือ trypsin แล้วทำให้เกิด agglutination ได้ชัดเจนกว่าเม็ดเลือดแดงที่ไม่ได้ผ่านการ treat นั้น อธิบายว่า papain หรือ trypsin ทำให้ receptor site ของผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดงเปิดออก พอดีที่จะให้ฮีแมกกลูตินินจากโปรตีนสกัดเข้าไปสวมได้ง่ายขึ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยา

013403

agglutination เพิ่มมากขึ้น จึงเห็นได้ชัดเจนขึ้น ทั้งที่มีปริมาณฮีแมกกลูตินินเพียงเล็กน้อยก็ตาม และการเกิด agglutination นั้น ยังขึ้นอยู่กับความเฉพาะเจาะจงของผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดงของสัตว์แต่ละชนิดอีกด้วย (30)

5. กลไกการเกิด agglutination ของฮีแมกกลูตินินและเม็ดเลือดแดง

ปกติผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดงของสัตว์ทุกชนิดจะมี receptor site อยู่ ถ้า receptor site เปิดออก และสวมพอดีกับฮีแมกกลูตินินที่มีลักษณะเฉพาะแล้ว จะเกิดการรวมตัวเป็นก้อนที่เรียกว่า agglutination (30,47) โดยการแทรกตัว (penetration) ของฮีแมกกลูตินินหรือฮีแมกกลูตินินจะถูกดูดเข้าสู่เม็ดเลือดแดงโดยวิธีการ pinocytosis มิใช่การดูดซับ (adsorption) แบบธรรมดา (47)

6. ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณฮีแมกกลูตินินในพืช

ฮีแมกกลูตินินที่พบในพืชจะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ คือ

6.1 ชนิดและเผ่าพันธุ์ของพืช

พืชที่แตกต่างกันจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากหรือน้อยต่างกันด้วย (Schertz et al., 1960; Muelenare, 1965; Orteza & Cardona, 1970) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 6

6.2 อายุของพืช

ในปี ค.ศ. 1960 Renkonen (30) รายงานว่าเมล็ดพืชที่ยังไม่แก่จัดจะมีฮีแมกกลูตินิน ซึ่งอาจมีบางส่วนหรือเกือบทั้งหมดจับรวมอยู่กับ inhibitor ซึ่ง inhibitor เหล่านี้จะทนความร้อนและไม่ตกตะกอนด้วย acetone ระหว่างที่เมล็ดค่อย ๆ แก่จัดขึ้น ฮีแมกกลูตินินจะเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว เพราะมีการปล่อยฮีแมกกลูตินินออกจาก inhibitor ต่อมา Mialonier และคณะ (1973) พบว่าในเมล็ดถั่วแห้งที่แก่จัด จะมีฮีแมกกลูตินินอยู่มากใน Cytoplasm ของ cotyledon และ embryo ครั้นเมื่อนำถั่วไปเพาะให้งอก ฮีแมกกลูตินินจะหายไประหว่างการงอกนี้ (53) เหมือนกับการค้นพบของ Howard และคณะ (1972) ซึ่งทดลองใน Lima bean รายงานว่าฮีแมกกลูตินินจะเพิ่มขึ้นอย่างรวด

ตารางที่ 6 ปริมาณฮีแมกกลูตินินในพืชชนิดต่าง ๆ

(Hemagglutinating activity from various plants)(52)

Species	Common Name	Unit/gm
Phaseolus vulgaris	Natal round yellow bean	155,000
Phaseolus vulgaris	Umzumbi bean	45,000
Phaseolus vulgaris	Haricot bean	40,000
Glycine max	Soybean	30,000
Phaseolus vulgaris	Sugar speakled bean	8,000
Phaseolus acutifolius	White tepary	6,000
Phaseolus multifloris	Scarlet runner	4,000
Canavalia ensiformis	Jack sword bean	1,200
Vicia sativa	Common vetch	120
Vicia faba	Broad bean	90
Pisum sativum	Green pea	80
Phaseolus aureus	Mung bean	78
Vicia vitrosa	-	60
Phaseolus liminsis	Lima pole	20
Phaseolus liminsis	Lima dwarf	20
Vigna sinensis	Cow pea	6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เร็วในระหว่างการงอก ต่อมาในปี ค.ศ. 1976 Youle และ Huang (30) ก็ได้ทดลองหาฮีแมกกลูตินินในเมล็ดพืช พบว่ามีมากใน Protein bodies ของส่วน endosperm ซึ่งปรากฏชัดขณะกำลังเจริญเติบโตและหายไประหว่างการงอก

6.3 การใส่ปุ๋ย

Tobeška & Lhotecka - Brázdová (1960) พบว่าการใส่ปุ๋ยทำให้พืชตระกูลถั่วสร้างฮีแมกกลูตินินเพิ่มขึ้นได้ ส่วน Orteza & Cardona (1970) พบว่ามันฝรั่งต่างพันธุ์กันหรือปลูกในพื้นที่ต่างกันทำให้ปริมาณฮีแมกกลูตินินต่างกันด้วย และยังพบว่าคุณสมบัติของฮีแมกกลูตินินก็อาจเปลี่ยนไปด้วย เช่น ความสามารถในการละลาย (solubility) และการทนต่อความร้อนก็เปลี่ยนไปด้วยเมื่อปลูกในพื้นที่ต่างกัน (30)

6.4 ส่วนต่าง ๆ ของพืช

มีรายงานว่าพืชต่างชนิดกันมีฮีแมกกลูตินินในส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่เหมือนกัน เช่น พืชตระกูลถั่ว จะพบว่ามีฮีแมกกลูตินินมากในเมล็ด ส่วนต้น ใบ หรือฝัก อาจจะมีหรือไม่มีก็ได้ (66) ส่วนแตงกวา แตงไทย และฟักทอง พบว่าฮีแมกกลูตินินมากในน้ำยางใส ๆ ที่ไหลออกจากต้น แต่ในเมล็ดไม่มีฮีแมกกลูตินินเลย (66) ตรงกันข้ามกับมะเขือเทศที่พบว่ามีฮีแมกกลูตินินจากทุกส่วนของต้นรวมทั้งเมล็ดด้วย (38) ยิ่งน้ำมะเขือเทศที่คั้นจากผลมะเขือเทศสุก จะมีฮีแมกกลูตินินมากที่สุด (38) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังพบว่ามีฮีแมกกลูตินินในน้ำยาง (latex) ของพืชตระกูล Euphobiaceae เช่น *Hura eripetans* L. และ *Euphobia characias* L. (15)

7. <u>ความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินิน</u>

มีการศึกษาถึงความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินต่อคนและสัตว์ทดลองในแง่มุมต่าง ๆ มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1912 จนถึงปัจจุบัน สรุปได้ว่า ฮีแมกกลูตินินทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของร่างกายหลายประการ ดังนี้คือ

7.1 ขัดขวางการเจริญเติบโต

Osborne & Mendel (44) เป็นคนแรกที่รายงานใน ค.ศ. 1912 ว่าหนูพุกที่เลี้ยงด้วยอาหารที่สกัดจาก Kidney bean จะไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร และอาจจะตายได้ในที่สุด ต่อมาทั้ง Faschingbauer & Kofler และ Griebel (30) ต่างพบ

ว่า Runner bean ดิบ ๆ และถั่วที่ผ่านการหุงต้มแบบสุก ๆ ดิบ ๆ มีอันตรายต่อคนทั้งนั้น

ในปี ค.ศ. 1952 Liener & Hill (42) ได้รายงานผลการทดลองเลี้ยงลูกไก่ด้วยถั่วเหลืองดิบ และถั่วเหลืองที่หุงต้มด้วยวิธี autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ โดยใช้เวลาต่างกัน แล้ววัดอัตราการเจริญเติบโตเป็นน้ำหนักลูกไก่ควบคู่กับการหาปริมาณฮีแมกกลูตินิน ในอาหารแต่ละชนิดดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 7 ซึ่งสรุปผลได้สอดคล้องกับนักวิทยาศาสตร์คนอื่น ๆ ที่รายงานไว้ว่า ความร้อนสามารถทำลายฮีแมกกลูตินินให้ลดลงได้ ยิ่งจำนวนความร้อนมากปริมาณฮีแมกกลูตินินที่ถูกทำลายย่อมมีมากด้วย เช่น การใช้ความร้อนโดยวิธี autoclave สามารถทำลายฮีแมกกลูตินินให้หมดไปในเวลาอันรวดเร็ว มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ dry heat แต่ในขณะเดียวกัน ความร้อนจำนวนมากนั้นจะทำลายคุณค่าของอาหารของถั่วลงด้วย ทำให้สัตว์ทดลองไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร (9,14,22,24, 26,28,29,30,32,34,36,41,45,46,51,52,57,64,75)

หลังจากนั้นมา มีรายงานการทดลองใช้ถั่วดิบชนิดต่าง ๆ เลี้ยงสัตว์ทดลองต่าง ๆ ชนิดกัน ซึ่งสรุปผลการทดลองได้ว่า สัตว์ทดลองที่เลี้ยงด้วยถั่วดิบจะเจริญเติบโตช้าลง และอาจตายได้ในที่สุด เช่น ในปี ค.ศ. 1963 Wagh และคณะ (30) รายงานว่า ลูกไก่และหนูพุกที่เลี้ยงด้วย Kidney bean ดิบ ๆ จะเจริญเติบโตช้า โดยเฉพาะอัตราการเจริญเติบโตของลูกไก่ จะช้ากว่าหนูพุกมาก แต่ก็ไม่ตายเหมือนหนูพุก Jeffé & Lette (30) สนับสนุน Wagh ว่า Kidney bean ดิบ ๆ ทำให้หนูพุกวัยหย่านมตายในที่สุด ต่อมาปี 1979 Pusztai และคณะ (40) รายงานว่า Kidney bean 13 พันธุ์ที่ปลูกในอาณานิคมของอังกฤษมีพิษทั้งนั้น และมีปริมาณฮีแมกกลูตินินแตกต่างกัน เขาตั้งชื่อพันธุ์ที่มีพิษมากว่า "Processor" และพันธุ์ที่มีพิษน้อยว่า "Pinto III" หนูพุกที่เลี้ยงด้วย "Pinto III" จะมีน้ำหนักตัวลดลง ขณะที่หนูพุกที่เลี้ยงด้วย "Processor" ในอัตราส่วนร้อยละ 10 จะตายในวันที่ 5 ส่วน King และคณะ (41) รายงานไว้เมื่อปี ค.ศ. 1983 ว่าหมูที่เลี้ยงด้วย Kidney bean ดิบ ๆ จะมีความอยากอาหารลดลง กินอาหารน้อยลง และการเจริญเติบโตก็น้อยลงด้วย

สำหรับ Navy bean นั้น Hewett และคณะ (30) รายงานไว้เมื่อ

ตารางที่ 7 สรุปผลของปริมาณฮีแมกกลูตินินต่อการเจริญเติบโตของลูกไก่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารถั่วเหลือง ที่ผ่านความร้อนระดับต่าง ๆ

(Summary of hemagglutinating activity and chick growth data of soybean meal samples subjected to various degrees of heat treatment (42)

Heat Treatment in minutes	Chick Weight in gm at 16 days	Hemagglutinating Activity (Unit/gm)
at Atmospheric pressure		
0 (inadequate)	90 ± 10.2	1,280
10 (inadequate)	89 ± 11.6	1,280
30 (inadequate)	138 ± 12.3	320
45 (inadequate)	151 ± 13.3	160
60 (inadequate)	157 ± 7.1	80
75 (optimum)	172 ± 8.0	0
at 15 lb pressure		
5 (inadequate)	122 ± 12.3	480
20 (optimum)	168 ± 4.7	0
30 (excess)	152 ± 8.6	0
120 (excess)	67 ± 5.0	0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.ศ. 1973 ว่าลูกไก่ที่เลี้ยงด้วย Navy bean ซึ่งสกัดเอา Trypsin inhibitor ออกแล้วคงเหลือแต่ฮีแมกกลูตินินอย่างเดียวจะมีการเจริญเติบโตลดลงร้อยละ 26 ในปีเดียวกันนี้ Jayne - Williams (9) สังเกตพบว่า นกคุ่มของญี่ปุ่นที่เลี้ยงด้วย Jack bean ดิบ ๆ จะมีน้ำหนักลดลง มีอาการตัวเย็นและมีอัตราการตายสูง ปีรุ่งขึ้น Andrews & Jayne - Williams (9) จึงทดลองเลี้ยงนกคุ่มของญี่ปุ่นด้วย Jack bean ดิบ ๆ พบว่านกคุ่มมีน้ำหนักตัวลดลง และตายในที่สุดเหมือนกับการเลี้ยงด้วย Navy bean ดิบ ๆ แต่ถ้านำ Navy bean นี้ไปเข้า autoclave ก่อนนำไปเลี้ยงนกคุ่ม การเจริญเติบโตจะเป็นปกติ

Janzen & Juster (30,31) รายงานความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินใน Black bean ต่อแมลงช้าง (Bruchid Beetle : *Callosobruchus maculatus*) ว่าตามปกติแมลงช้างกิน Cow peas (*Vigna ungulata*) เป็นอาหารได้โดยไม่เกิดอาการพิษ แต่ถ้าเติมฮีแมกกลูตินินที่สกัดได้จาก Black bean ลงไปด้วยแมลงช้างจะตายในที่สุด

สำหรับ Natal bean นั้น Kakade & Evans (36) พบว่าหนูพุกที่เลี้ยงด้วย Natal bean ดิบ ๆ จะไม่เจริญเติบโตเหมือนกัน

นอกจากรายงานการทดลองใช้ Kidney bean, Navy bean, Jack bean, Black bean และ Natal bean เลี้ยงสัตว์ทดลองต่าง ๆ แล้ว Liener (45) รายงานว่า ถ้าฉีดฮีแมกกลูตินินที่สกัดได้จากพืชตระกูลถั่วชนิดต่าง ๆ รวมทั้งถั่วเหลืองและ Kidney bean เข้าสัตว์ทดลองทางใต้ผิวหนังแล้ว จะทำให้สัตว์ทดลองตายได้ นอกจากนั้น Yawata และคณะ (73) รายงานว่า ถ้าเอาฮีแมกกลูตินินที่สกัดจาก Kintoki bean (Kidney bean) ไปผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยวิธี tissue culture จาก mouse, human hela, human tendon และ liver cell ของ chick embryo แล้วเซลล์ของเนื้อเยื่อดังกล่าวจะหยุดการเจริญเติบโต ไม่เหมือนกับเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มีฮีแมกกลูตินินอยู่ จึงสรุปได้ว่าฮีแมกกลูตินินที่ได้จากถั่วดิบสามารถยั้งการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลองทั้งที่อยู่ในสภาพ in vitro และ in vivo ส่วนความเป็นพิษต่อคนนั้น Korte (30) รายงานไว้เมื่อ ค.ศ. 1972 ว่าอาหารผสมที่มี grown ground bean และเมล็ดธัญญพืชที่ใช้เป็นอาหารสำหรับทารกในประเทศด้อยพัฒนา เช่น อาฟริกา ทำให้

ทารกท้องเสีย และเจริญเติบโตช้า เพราะมีฮีแมกกลูตินินหลงเหลืออยู่ในอาหารนั้น

7.2 ขัดขวางการย่อยและการดูดซึมของสารอาหาร

เมื่อผลของการทดลองปรากฏว่าฮีแมกกลูตินินยับยั้งการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลองได้ นักวิทยาศาสตร์หลายท่านจึงเชื่อว่าฮีแมกกลูตินินอาจขัดขวางการย่อยและการดูดซึมสารอาหารก็ได้ เช่น Jeffe (30) เชื่อว่าฮีแมกกลูตินินสามารถรวมตัวกับเยื่อบุผนังลำไส้ก่อให้เกิดการรบกวนต่อการดูดซึมสารอาหารตามปกติ ทั้ง Jeffe และ Camejo (30) รายงานว่า เมื่อใส่ขดลำไส้ของหนูพุกลงในหลอดทดลองที่มีฮีแมกกลูตินินอยู่อัตราการดูดซึมกลูโคสผ่านผนังลำไส้เล็กของหนูพุกจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการดูดซึมกลูโคสโดยไม่มีฮีแมกกลูตินินอยู่ด้วย และต่อมา Jeffe และคณะ (62) รายงานเพิ่มเติมว่า ฮีแมกกลูตินินที่สกัดจาก Black bean สามารถลดการย่อยอาหารโปรตีนด้วย

ส่วน Kakade & Evans (36) อธิบายผลของการทดลองเลี้ยงหนูพุกด้วย Navy bean ดิบ ๆ ว่าการเจริญเติบโตของหนูพุกลดลง เพราะมีการสูญเสีย endogenous nitrogen และลดการดูดซึมของกรดอะมิโน เนื่องจากฮีแมกกลูตินินรบกวนการดูดซึมของลำไส้นั่นเอง ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการดูดซึมกรดอะมิโนของหนูพุกที่เลี้ยงด้วย Navy bean (Absorption of amino acid from Navy bean fed to rats)(36)

diet	Methionine	Cysteine	Lysine	Leucine	Valine
Raw bean	21.8 ±4.9	36.6 ±5.3	58.8 ±2.8	47.6 ±3.2	46.0 ±3.3
Heated bean	68.7 ±2.3	80.6 ±2.2	85.0 ±1.5	85.7 ±1.2	84.8 ±2.1

Absorption of amino acid

$$= \frac{\text{Amino acid intake - Amino acid in feces}}{\text{Amino acid intake}} \times 100$$

แต่ Jeffe & Lette (29) เชื่อว่าการที่สัตว์ทดลองมีการเจริญเติบโตต่ำกว่าปกติ เพราะถั่วดิบทำให้เกิด Pancreas hypertrophy และทำให้มี nitrogen absorption ต่ำ ดังรายละเอียดของผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 9

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 ผลของการเลี้ยงหนูพุก ด้วยอาหารซึ่งมีถั่วหลายชนิดผสมอยู่ (Performance of rats fed diets containing various beans)(29)

Diet	Wt change/day	Food intake/day	** N. absorbed	Pancrease Wt/BW x 100
Black bean				
Raw	-12.00 ± 0.14	2.9 ± 0.50	13.3 ± 9.90	0.42 ± 0.08
Autoclaved	3.20 ± 0.26	11.0 ± 1.30	66.8 ± 1.90	0.30 ± 0.06
Tapiramo bean				
Raw	0.05 ± 0.12	6.1 ± 0.70	27.1 ± 4.70	0.45 ± 0.16
Autoclaved	2.90 ± 0.21	12.8 ± 0.70	64.3 ± 6.00	0.29 ± 0.01
Mottled bean				
Raw	-0.22 ± 0.28	4.1 ± 0.60	17.6 ± 6.50	0.37 ± 0.07
Autoclaved	3.60 ± 0.17	13.7 ± 0.80	63.0 ± 2.10	0.31 ± 0.03
White bean				
Raw	10.05 ± 0.21	3.8 ± 1.10	42.2 ± 5.07	0.31 ± 0.01
Autoclaved	2.80 ± 0.40	11.0 ± 0.93	71.7 ± 2.26	0.20 ± 0.02
Soybean				
Raw	3.96 ± 0.52	12.3 ± 2.07	72.1 ± 3.05	0.53 ± 0.08
Autoclaved	5.15 ± 1.24	12.9 ± 1.87	77.3 ± 2.14	0.36 ± 0.02

$$^{**}\text{N. absorbed} = \frac{\text{N intake} - \text{N excreted in feces}}{\text{N intake}} \times 100$$

นอกจากนี้ Pope และคณะ (30) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงหนูพุกด้วยแป้งถั่วเหลืองดิบ พบว่าอาหารที่สะสมไว้ในทางเดินอาหารของหนูพุกจะลดลง ส่วน Pusztai และคณะ (63) รายงานว่าในโปรตีนที่สกัดได้จาก Kidney bean พันธุ์ต่าง ๆ นั้นจะมีฮีแมกกลูตินินอยู่ประมาณร้อยละ 10 แต่ละชนิดจะมีผลต่อผนังลำไส้เล็กของหนูพุกแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณฮีแมกกลูตินินที่มีอยู่โดย Banwell และคณะ (11) เสริมว่าฮีแมกกลูตินินใน Kidney bean ดิบ ๆ จะทำให้เกิด malabsorption ของ lipid, nitrogen และ vitamin B_{12} ส่วน Rouanet และคณะ (65) รายงานว่าฮีแมกกลูตินินในถั่วแขกดิบ ๆ ทำให้เกิด amino acid imbalance pattern of protein ทำให้เกิดการทำลาย enterocyte ทำให้การย่อยอาหารโปรตีนไม่สมบูรณ์ และทำให้การดูดซึมกรดอะมิโนไม่สมบูรณ์ด้วย

7.3 ความเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหาร

นอกจากนักวิทยาศาสตร์จะสังเกตว่าสัตว์ทดลองที่เลี้ยงด้วยถั่วดิบ จะมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำแล้ว ยังพบว่าสัตว์ทดลองเจ็บป่วยด้วยอาการปวดท้อง และอาการเครียด จนปี ค.ศ. 1964 Harry & Chubb (55) จึงพบว่าสัตว์ทดลองที่เลี้ยงด้วยถั่วดิบจะมีจำนวน *Escherichia coli* ชนิดที่เป็น pathogenic bacteria ที่ทำให้อาหารคาร์โบไฮเดรท เกิด fermentation ได้ในระบบทางเดินอาหารมากกว่า จำนวน non - pathogenic bacteria Jayne - Williams & Burgess (32) สนับสนุนความเชื่อดังกล่าว โดยรายงานว่าสาเหตุที่ทำให้นกคุ่มของญี่ปุ่นที่เลี้ยงด้วย Navy bean ดิบ ๆ ตายก็คือเชื้อ *Escherichia coli* นั่นเอง ส่วนกลไกของการทำลายนั้น อธิบายว่า เพราะฮีแมกกลูตินินทำให้เกิดการสูญเสียของระบบภูมิต้านทานโรคในร่างกายนกคุ่ม จึงมีผลทำให้เนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารถูก intestinal microflora ทำลาย และตับเกิดการอักเสบจนนกคุ่มตายในที่สุด (30,32) นอกจากนี้ Ikegwuonu & Eassir (30) รายงานว่าฮีแมกกลูตินินที่สกัดจากถั่วเหลือง ถั่วลิสง Cow peas หรือ Lima bean และอื่น ๆ ที่ยังไม่แก่จัด หากนำมาฉีดเข้าหนูพุก จะทำให้ตับสัตว์ทดลองถูกทำลายจนสัตว์ตายได้ด้วย

ส่วนกลไกของฮีแมกกลูตินินที่ทำลายระบบภูมิต้านทานของสัตว์นั้น Brottain และคณะ (30) สังเกตพบว่าคนที่กิน Jack bean ดิบ ๆ จะเกิดการรวมตัวของ

ฮีแมกกลูตินินชื่อ Con. A กับเยื่อบุผนังของลำไส้ใหญ่ ส่วน colon และ Moser กับพวก (62) เห็นว่าเป็นไปได้ที่ Kidney bean ดิบ ๆ ที่กินเข้าไปจะถูกหุ้มด้วย enterocyte ซึ่งรบกวนเมตาบอลิสมของผนังลำไส้เล็กจนกลายเป็นแผลลุกลาม ทำให้ผนังลำไส้ที่เป็นแผลต่อต้านการดูดซึมสารอาหารจากลำไส้เล็กได้ เมื่อพิจารณาในแง่ของพยาธิสภาพของลำไส้เล็ก Pusztai และคณะ (62) ได้ศึกษาความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินจาก Kidney bean พันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อเซลล์ของผนังลำไส้เล็ก พบว่าเมื่อให้ฮีแมกกลูตินินที่สกัดจาก Kidney bean ผ่านทาง stomach tube แก่หนูพุกแล้ว 1 ชั่วโมง brush border จะถูกทำลายราว 2 ใน 3 ของ duodenum และ jejunum villi และจะเกิดแผลซึ่งสังเกตเห็นใน jejunum ในอีกครึ่งชั่วโมงต่อมา ระยะแรกแผลยังไม่ติดเชื้อ แต่ภายหลัง 8 ชั่วโมงแล้วจึงจะเกิดการติดเชื้อ และถ้างดการให้อาหารดังกล่าว จำนวนเชื้อที่แผลจะลดลง และค่อย ๆ หายเป็นปกติได้ ปีต่อมา King และคณะ (40) ได้ทดลองให้หนูพุกกินอาหาร ซึ่งมีส่วนผสมของสารสกัดฮีแมกกลูตินินจาก Kidney bean ผลของการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 10 และ 11 รูปที่ 2 แสดงการอักเสบแทรกเข้าไปในชั้น lamina propia ของลำไส้เล็กของหนูพุกที่ได้รับฮีแมกกลูตินินของ "Processor" มีของเหลวสีเหลืองเป็นฟอง ผนังลำไส้แลดูบางลงและเปราะแตกง่าย สีของ enterocyte เข้ม มีไขมันเป็นหยด ๆ ตรงบริเวณ golgi cell การเรียงตัวของ microvilli ไม่สม่ำเสมอบางแห่งหดตัวแต่ยาวขึ้น และแตกเป็นชิ้น ๆ ดังรูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงในรูปที่ 2 และ 4 จะเห็นได้ชัดเจน ถ้าเปรียบเทียบกับรูปที่ 1 และรูปที่ 3 ซึ่งเป็นสภาพปกติถ้ามีฮีแมกกลูตินินของ "Processor" ในปริมาณน้อยเพียงร้อยละ 0.1 ในอาหารผสมสำหรับเลี้ยงหนูพุก จะพบว่าผนังลำไส้ถูกทำลายบางแต่จุลินทรีย์ยังไม่รวมทำลาย ดังรูปที่ 6 แต่ถ้ามีฮีแมกกลูตินินของ "Processor" ในอาหารผสมสูงถึงร้อยละ 10 จะพบว่ามีจุลินทรีย์รวมเข้าทำลายผนังลำไส้ด้วย ดังรูปที่ 5 สัตว์ทดลองจะแสดงอาการป่วย เพราะเกิดการเสื่อมสภาพของตับอ่อน ตับและม้ามร่วมกับลำไส้ด้วย และมักจะตายภายใน 5 วัน ส่วนหนูพุกที่เลี้ยงด้วยฮีแมกกลูตินินของ "Pinto III" จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของ brush border ของลำไส้เล็กตามรูปที่ 7

ตารางที่ 10 ผลการทำลายผนังลำไส้ส่วน duodenum และ jejunum ของหนูพุกอายุ 30 วัน ที่เลี้ยงด้วย *Phaseolus vulgaris* ชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 10 วัน (*Phaseolus vulgaris* lectin induced disruption of duodenal and jejunal enterocyte brush border observed on 30 days old rats on various diets for 10 days)(62)

Diet	Protein source (%)		Appearance of brush border
	Casein	Bean Protein	
"Processor" bean	5	5	Disrupted
"Processor" bean globulin lectin	5	0.1	Disrupted
"Processor" bean albumin lactin	5	0.2	Disrupted
Casein control	5	-	Normal
"Pinto III"	5	5	Normal
"Pinto III"	-	10	Normal

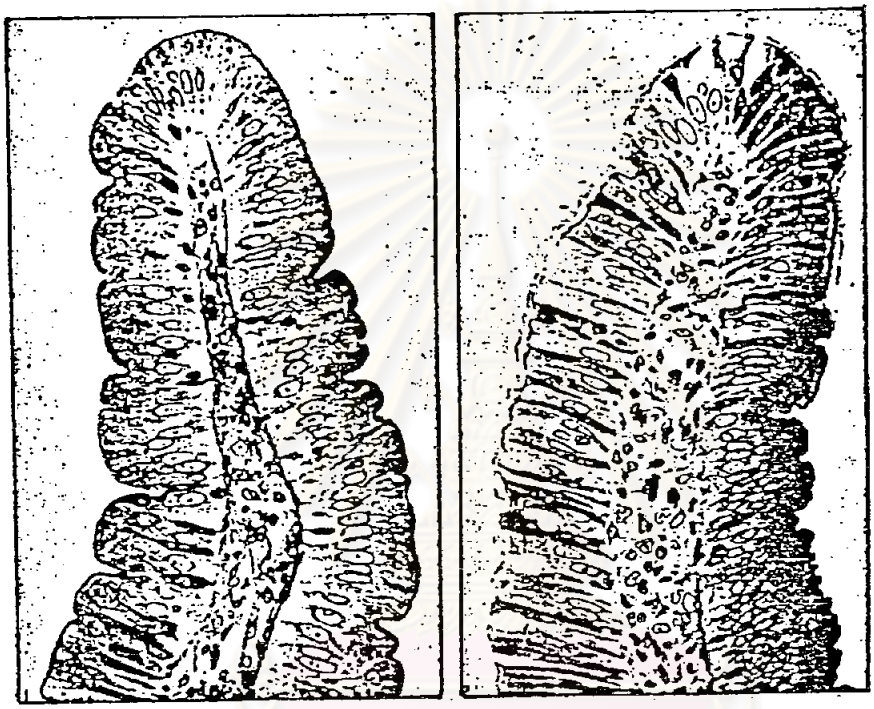
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 ผลการทำลาย intestinal microvilli ตรงส่วน duodunum ซึ่งเกิดจาก *Phaseolus vulgaris* ชนิดต่าง

(Disruption of intestinal microvilli induced by "*Phaseolus vulgaris*" bean)(40)

Diet	Protein source (%)		Length of time on diet (days)	Appearance of intestinal microvilli (duodenum)	Fig
	casein	bean protein			
Casein control	10	-	10	Undisrupted	1,3
"Processor" bean	5	5	10	disrupted	2,4
"Processor" bean	-	10	3	disrupted	5
"Processor" bean	5	0.1	10	disrupted	6
"Pinto III"	-	10	10	undisrupted	7

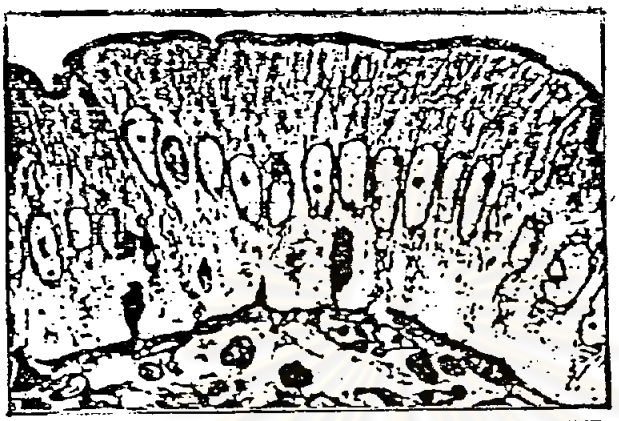
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



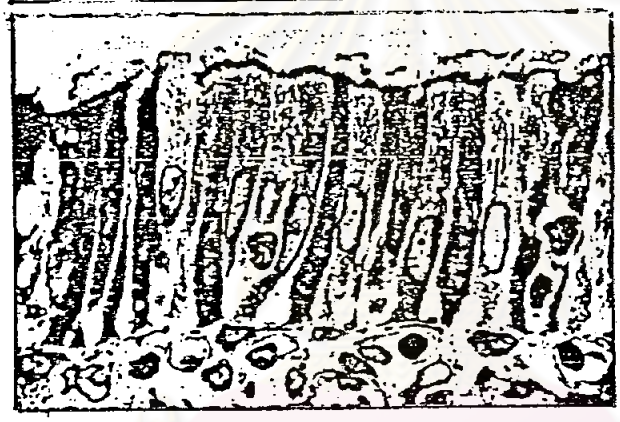
รูปที่ 1 รูปที่ 2

รูปที่ 1 ส่วนของ duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี Casein ร้อยละ 10 นาน 10 วัน แสดงให้เห็นถึงสภาพปกติของ microvilli ภาพขยาย 335 เท่า

รูปที่ 2 ส่วนของ duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี Casein และ "Processor" bean protein อย่างละเท่า ๆ กันคือ ร้อยละ 5 นาน 10 วัน แสดงให้เห็นถึง microvilli ที่ถูกทำลาย ในส่วน lamina propria ร่วมกับการอักเสบโดยทั่วไป ภาพขยาย 335 เท่า



รูปที่ 3

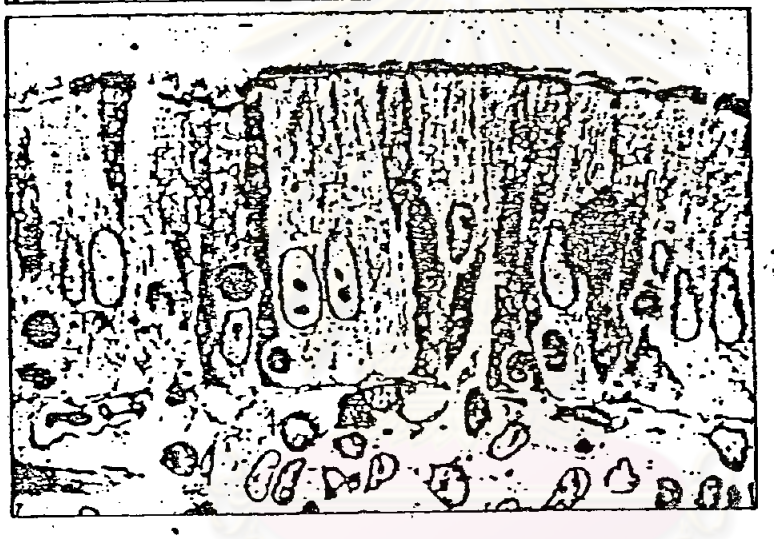


รูปที่ 4

รูปที่ 3 ส่วนของ duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี Casein ร้อยละ 10 นาน 10 วัน แสดงให้เห็นถึงส่วน microvilli ที่ไม่ถูกทำลาย ภาพขยาย 1,000 เท่า

รูปที่ 4 ส่วนของ duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี Casein และ "Processor" bean protein อย่างละเท่า ๆ กันคือ ร้อยละ 5 นาน 10 วัน แสดงให้เห็นถึงส่วนของ microvilli ที่ถูกทำลาย ภาพขยาย 1,000 เท่า

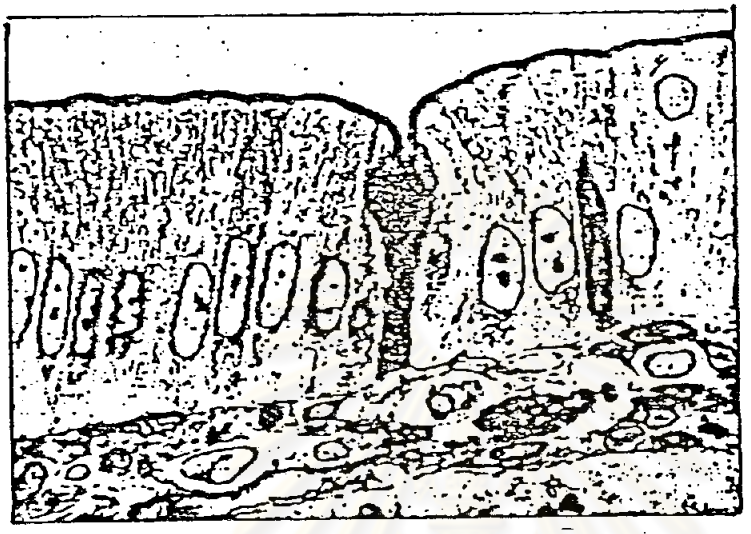
รูปที่ 5



รูปที่ 6

รูปที่ 5 ส่วนของ duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี "Processor" bean protein ร้อยละ 10 นาน 3 วัน แสดงให้เห็นถึงการทำลายของ microvilli อย่างรุนแรงโดยมีเชื้อจุลินทรีย์รวมด้วย ภาพขยาย 1,000 เท่า

รูปที่ 6 ส่วนของ duodenum ของหนูพุกที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มี Casein ร้อยละ 5 และ "Processor" bean ร้อยละ 0.1 นาน 10 วัน แสดงให้เห็นถึงการทำลายของ microvilli ภาพขยาย 1,000 เท่า



รูปที่ 7

รูปที่ 7 ส่วนของ duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี "Pinto III" bean protein ร้อยละ 10 นาน 10 วัน แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของ microvilli โดยไม่เกิดการทำลายของ microvilli ภาพขยาย 1,000 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วน Wilson และคณะ (79) ได้ทดลองให้หนูพุกกินอาหารผสมที่มีโปรตีนสกัดจาก "Processor" ร้อยละ 10 เปรียบเทียบจำนวน Coliform ที่เกิดขึ้นในลำไส้เล็กกับหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มีโปรตีนสกัดจาก "Pinto III" ร้อยละ 10 หรือ Casein ร้อยละ 10 ตามลำดับ ปรากฏผลดังแสดงไว้ในตารางที่ 12 ว่าหนูพุกที่ได้รับโปรตีนจาก Casein และจาก "Pinto III" จะไม่มีอาการผิดปกติของลำไส้ แต่หนูพุกที่ได้รับโปรตีนจาก "Processor" จะมีจำนวน Coliform ทวีขึ้นมากมายตามเวลา ทำให้เกิดการทำลายผนังลำไส้เพิ่มขึ้นด้วย พบว่า เมื่อให้ "Processor" นาน 24 ชั่วโมง เชื้อจะเพิ่มขึ้น หนู 6 ใน 9 ตัวจะมีเชื้อเกินจำนวน 1×10^8 organism per gm ซึ่งเป็นจำนวนเชื้อที่ทำให้เกิดการทำลายผนังลำไส้ สัตว์ทดลองจะแสดงอาการป่วยในท้องอย่างเด่นชัด เมื่อผ่าลำไส้เล็กออกตรวจดูจะเห็นว่าลำไส้ยืดตัวออกและมีน้ำสีเหลือง ๆ เป็นฟองแก๊สมากมาย เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบเชื้อ gram positive น้อยมากมีแต่ gram negative มากมาย ดังรูปที่ 9 ซึ่ง Coliaerogenes Sub Committee 1956 (79) พิสูจน์ว่าเชื้อ gram negative นั่นคือ *Escherichia coli* นั่นเอง ส่วนจุลินทรีย์ที่พบอยู่ในลำไส้ของหนูพุกที่กินอาหารที่มีโปรตีนจาก "Pinto III" นั้น จะมีแต่พวก gram positive เป็นรูป rod และ cocci ดังแสดงในรูปที่ 8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 จำนวนเชื้อ coliform ในผนังลำไส้เล็กของหนูพุกที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มี "Processor" bean protein หรือ "Pinto III" bean protein หรือ Casein เป็นส่วนผสมอย่างละร้อยละ 10 เป็นเวลา 6, 24 และ 72 ชั่วโมง (Numbers of coliforms in the samll intestine of rats fed for 6, 24 or 72 h on diets containing 10 per cent "Processor" bean protein, 10 per cent "Pinto III" bean protein or 10 per cent Casein)(79)

Casein	"Pinto III" bean protein	"Processor" bean protein		
72 h	72 h	6 h	24 h	72 h
8.0×10^3	2.0×10^4	4.2×10^4	1.0×10^6	5.0×10^7
8.0×10^3	6.0×10^4	2.6×10^5	1.3×10^7	9.0×10^8
1.6×10^4	$<1.0 \times 10^5$	7.0×10^5	2.3×10^7	1.0×10^9
4.0×10^4	$<1.0 \times 10^5$	9.2×10^5	1.1×10^8	1.0×10^9
	$<1.0 \times 10^5$	4.1×10^6	1.7×10^8	1.2×10^9
	8.0×10^5		1.8×10^8	1.3×10^9
	1.0×10^6		1.9×10^8	1.3×10^9
			2.8×10^8	1.6×10^9
			3.2×10^8	1.9×10^9
				3.1×10^9
				5.1×10^9
				1.7×10^{10}
				2.1×10^{10}

Counts are the numbers of organisms per gram of small intestine, each count refers to a separate animal.

รูปที่ 8

รูปที่ 9

รูปที่ 8 จำนวนจุลินทรีย์ชนิดแกรมบวกมีลักษณะเป็น rod และ cocci ที่พบในส่วน duodeum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มี "Pinto III" bean protein ร้อยละ 10 นาน 72 ชั่วโมง ภาพขยาย 1,250 เท่า

รูปที่ 9 จำนวนจุลินทรีย์ชนิดแกรมลบซึ่งมีอยู่มากมายผิดปกติในส่วน duodenum ของหนูพุก ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มี "Processor" bean protein เป็นส่วนผสมร้อยละ 10 นาน 72 ชั่วโมง ภาพขยาย 1,250 เท่า

ส่วน Banwell และคณะ (11) ทดลองเลี้ยงหนูพุกวัยหย่านมด้วยฮีแม็กกลูตินินบริสุทธิ์ที่สกัดจาก Kidney bean แล้วผสมลงในอาหารในปริมาณร้อยละ 6 พบว่าอาหารดังกล่าวทำให้ลูกหนูมีน้ำหนักตัวลดลง และมีจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กบริเวณ Jejunum และ Ileum มาก แต่ถ้าให้แต่ฮีแม็กกลูตินินเดี่ยว ๆ หรือให้กิน Kidney bean ดิบ ๆ จะพบความผิดปกติของการทำงานของลำไส้ และมีจุลินทรีย์เจริญเติบโตในลำไส้เล็กมากขึ้นด้วย King และคณะ (41) รายงานว่า หนูที่เลี้ยงด้วย Kidney bean ดิบ ๆ นอกจากจะมีน้ำหนักตัวลดลงแล้วผนังลำไส้เล็กยังถูกทำลายลงพร้อมกับการฝ่อของเซลล์ของตับอ่อนด้วย นอกจากนี้ Jindal และคณะ (35) รายงานว่าหนูพุกที่เลี้ยงด้วยถั่วเหลืองดิบ นอกจากการเจริญเติบโตจะลดลงแล้ว brush border ของ duodenum ยังถูกทำลาย enterocyte และ villi จะฝ่อ ตับและไตจะหดเล็กลง แต่ตับอ่อนและม้ามจะไม่เปลี่ยนแปลง

i 18101574

สำหรับอาการพิษของฮีแมกกลูตินินตอคนนั้น Cartwright & Wintrobe (44) เขียนพรรณาไว้ว่า เชลยศึกชาวญี่ปุ่นที่กินอาหารถั่วเหลืองดิบ ๆ จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง ซึ่งตรงกันกับที่ Gibbons & Dankers (20) รายงานว่า ฮีแมกกลูตินินมีพิษต่อระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ นอกจากจะทำให้เกิดการทำลายของผนังลำไส้ซึ่งมีผลต่อการย่อยและการดูดซึมสารอาหารแล้ว พบว่าสัตว์ทดลองจะมีอาการท้องอืดเฟ้อ ทำให้ปวดท้องด้วย โดย Kakade & Borchers (32) สังเกตเห็นว่าหนูพุกที่เลี้ยงด้วย Navy bean ดิบ ๆ มีแก๊สในลำไส้มากมาย เขาอธิบายว่าน้ำตาลในถั่วดิบ ๆ ทำให้เกิดแก๊สในลำไส้ การเอา Navy bean เข้า autoclave ก่อนนำไปเลี้ยงหนูพุกจะไม่เกิดแก๊สในลำไส้หนูพุก เพราะน้ำตาลถูกแปรสภาพไปแล้ว แต่ Liener (32) อธิบายว่าน้ำตาลในถั่วดิบเป็นพวก Oligosaccharide ได้แก่ Raffinose และ Stachyose ซึ่งน่าย่อยอาหารในลำไส้เล็กย่อยไม่ได้ จึงไปสะสมอยู่ในลำไส้ส่วนล่าง (32) และกลายเป็นอาหารของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถเปลี่ยนน้ำตาลดังกล่าวให้กลายเป็นแก๊สสะสมอยู่ในลำไส้ ทำให้สัตว์ทดลองและคนมีอาการปวด อึดอัดในท้องได้ ส่วน Olsnes และคณะ (59) ได้พบพิษจากสารสกัดโปรตีนจากรากของต้น *Adenia digitata* ในอาฟริกาใต้ ซึ่งมีพิษต่อระบบทางเดินอาหารเช่นกัน

7.4 ความเป็นพิษต่อการปลดปล่อยฮีสตามีน

Freed & Bucky (19) รายงานว่า เมื่อให้คนสูดดมฮีแมกกลูตินินของ Jack bean ที่มีชื่อว่า Con. A ประมาณ 2 มิลลิกรัมได้ราว 30 ถึง 60 นาที จะมี secretion ของระบบทางเดินหายใจเพิ่มมากขึ้น ครั้นเมื่อให้คนกิน Con. A ประมาณ 10 มิลลิกรัมแล้ว จะทำให้มี secretion ของระบบทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน เขาได้สรุปผลการทดลองว่า ฮีแมกกลูตินินกระตุ้น mast cell ทำให้มี secretion ในระบบทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น (19,25)

ต่อมา Enmis และคณะ (16) ได้รายงานผลการทดลองในหนูพุกและหนูตะเภาว่า ฮีแมกกลูตินินสามารถกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยฮีสตามีน ทั้ง in vivo และ in vitro

7.5 ความเป็นพิษต่อระดับน้ำตาลในเลือด

Hintz และคณะ (24) เป็นผู้พบว่าฮีแมกกลูตินินสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ จากการทดลองเลี้ยงหนูพุกวัยหย่านมด้วย Red Kidney bean เขาพบว่าลูกหนูมีน้ำหนักตัวลดลง มีแผลในสมองและมีอาการ hypoglycemia ก่อนตาย รายละเอียดของผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลของ Kidney bean ดิบ ๆ ต่อปริมาณกลูโคสในเลือดของหนูพุก (Effect of raw kidney bean on the blood glucose of rats) (24)

Raw Kidney bean content in diet	Blood glucose (mg %)	
	average	range
Rat killed on day 3 of trial		
0 % Beans	108	91 - 125
37 % Beans	72	64 - 80
74 % Beans	68	55 - 85
Rat killed on day 7 of trial		
0 % Beans	97	90 - 115
37 % Beans	78	70 - 89
74 % Beans	48	35 - 76

7.6 ความเป็นพิษต่อผิวหนัง

มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านพบว่าเมื่อฉีดฮีแมกกลูตินินเข้าที่หลังเท้าของสัตว์ทดลอง เช่น หนูชนิดต่าง ๆ ทั้งหนูพุก หนูตะเภา แล้วจะทำให้เกิดรอยฟกช้ำ (18,30,69) ดังแสดงในรูปที่ 10 บวมแดง ความหนาของฝ่าเท้าจะเป็น 2 เท่าภายหลังฉีดแล้ว 8 ชั่วโมง และจะหายเป็นปกติใน 72 ชั่วโมง (39,68,69,71) การอักเสบจะเป็นมากตามความเข้มข้น

ของฮีแมกกลูตินินที่ฉีด (67) และมีการพิสูจน์แล้วว่าอาการบวมแดงนี้ไม่ได้เกิดเนื่องจากสาเหตุอื่น (49) แต่เกิดเนื่องจากความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินิน

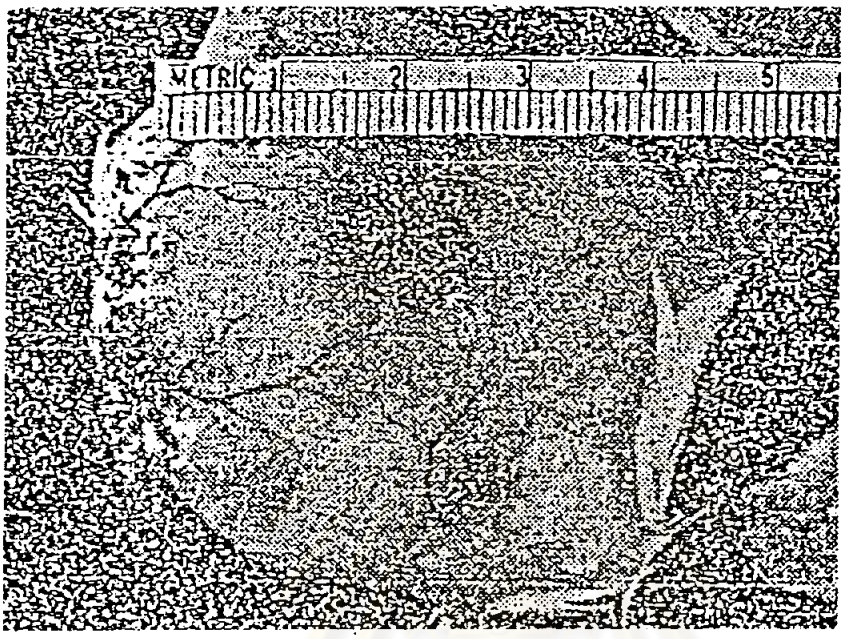
7.7 พิษต่อจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำลาย

ปี ค.ศ. 1983 Gibbons และคณะ (21) พบว่าฮีแมกกลูตินินจะจับกับผิวนอกของเยื่อบุผนังเซลล์มากมายในร่างกาย เช่น เยื่อบุช่องปาก เยื่อบุลิ้น เป็นต้น เขาพบเชื้อ Streptococcus sanguis FC. 1 ในเยื่อบุช่องปากของคนที่รับประทาน wheat germ ดิบ ๆ เชื้อนี้จะทวีจำนวนขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังจากที่รับประทาน wheat germ และ peanut ดิบ ๆ อีกด้วย ดังรายละเอียดของผลการทดลอง แสดงไว้ในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่าง wheat germ agglutinin และ peanut agglutinin กับจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำลาย ภายหลังจากรับประทาน wheat germ และ peanut ดิบ ๆ ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน (Association of wheat germ agglutinin and peanut agglutinin with salivary bacteria after eating raw wheat germ or raw peanuts)(21)

minutes after eating	ELIA Units of WGA/5 x 10^8 Bacteria		ELIA Units of PNA/5 x 10^8 Bacteria
	Trial 1	Trial 2	Trial 1
Before eating	3.9 ± 0.1	3.4 ± 0.2	2.3 ± 0.1
30	5.7 ± 0.3	5.4 ± 0.1	3.5 ± 0.1
60	5.4 ± 0.4	3.8 ± 0.1	3.7 ± 0.1
120	6.0 ± 0.3	3.9 ± 0.1	3.7 ± 0.1
180	4.8 ± 0.3	4.1 ± 0.1	-
240	-	3.5 ± 0.1	3.0 ± 0.2
300	-	-	2.8 ± 0.1

ELIA = Enzyme Linked Immuno Assay
WGA = Wheat Germ Agglutin
PNA = Pea Nut Agglutinin



รูปที่ 10 รอยฟกช้ำบวมแดงที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหนังของหนูตะเภา ภายหลังจากการฉีดด้วย Concanavalin A จำนวน 23 ไมโครกรัม เข้าระหว่างใต้ผิวหนัง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินิน

จากการศึกษาทางพิษวิทยาของฮีแมกกลูตินิน พบว่า ฮีแมกกลูตินินจากพืชต่างชนิดกัน ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองต่างกัน และฮีแมกกลูตินินจากพืชชนิดเดียวกันอาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองชนิดต่าง ๆ กันไม่เหมือนกันด้วย เพราะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ เช่น

8.1 ชนิดและเผ่าพันธุ์ของสัตว์ทดลอง

Jeffe' เป็นคนแรกที่มีความเห็นว่าความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและเผ่าพันธุ์ของสัตว์ทดลอง (30) ต่อมาอีก 10 ปี ใน ค.ศ. 1972 Manage และคณะ (49) จึงพิสูจน์ว่าจริงโดยทดลองเลี้ยงหนูถีบจักร (mice) และหนูพุกขาว (albino rat) ด้วยถั่วดิบ 4 ชนิด ผลปรากฏว่าค่า LD_{50} ในสัตว์ทดลอง 2 พันธุ์ไม่เท่ากัน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินจากถั่ว 4 ชนิดของอินเดียต่อหนูพุกขาวและหนูถีบจักร (Toxicity ot rats and mice of purified phytohemagglutinins from four Indian legumes)(49)

Bean	Scientific Name	HMT Unit/mg N	LD_{50} value	
			mice	rat
Field bean	*Dolichos lablab*	1,500	83	78
White pea	*Pisum sp.*	1,000	143	-
Double bean	*Phaseolus lunatus*	4,500	140	65
Horse gram	*Dolichos biflorus*	1,880	-	-

หมายเหตุ - = ไม่ให้ค่า

นอกจากนี้ Patten และคณะ (30) ทดลองเลี้ยงหนูตะเภา (guinea pig) และหนูพุก ด้วยถั่วเหลืองดิบ พบว่าหนูตะเภาตายแต่หนูพุกไม่ตาย และเมื่อ 2 ถึง 3 ปีมานี้ Holthofer(25) รายงานพิษของฮีแมกกลูตินินของพืชหลายชนิดต่อเนื้อเยื่อไตของสัตว์ 14 ชนิด คือ คน ช้าง วัว แพะ หมู สุนัข กระต่าย หนูถีบจักร หนูพุก หนูตะเภา ไก่ หอยทาก กบ และปลาเทราท์ (Trout) สรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1. ฮีแมกกลูตินินของถั่วเหลืองดิบทำลาย Proximal และ Distal tubule ของไตสัตว์ทดลองทุกชนิด

2. ฮีแมกกลูตินินของ *Ulex europeus* จะทำลาย Endothelial cell ของเนื้อเยื่อไตของคนเท่านั้น

3. ฮีแมกกลูตินินของ *Dolichos biflorus* จะทำลาย Distal tubule ของไตสัตว์ทดลองทุกชนิด

4. ฮีแมกกลูตินินของ wheat germ จะทำลาย glomeruli ของไตสัตว์ทดลองทุกชนิด

8.2 อายุของสัตว์

ผลการทดลองสรุปได้ว่า สัตว์ทดลองที่มีอายุต่างกันจะแสดงอาการพิษจากฮีแมกกลูตินินแตกต่างกัน สัตว์ที่มีอายุน้อยจะแสดงอาการพิษที่รุนแรงมากกว่าสัตว์ที่อายุมาก เช่น Honavar และคณะ (30) รายงานว่าฮีแมกกลูตินินจากถั่ว ทำให้หนูพุกที่อายุน้อย ๆ เท่านั้นตาย ซึ่ง Hintz และคณะ (24) สนับสนุนผลงานของ Honavar และคณะ โดยรายงานผลการทดลองว่าเมื่อให้หนูพุกที่มีอายุต่างกันกินอาหารที่ประกอบด้วย Kidney bean ดิบ ๆ ในปริมาณร้อยละ 74 พบว่าหนูพุกที่มีอายุมากกว่าจะมีชีวิตรอดอยู่ได้นานกว่าหนูที่อายุน้อยกว่า ดังแสดงผลไว้โดยละเอียดในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 อิทธิพลของอายุหนูพุก ต่อความอยู่รอดเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารซึ่งประกอบด้วย Kidney bean ร้อยละ 7.4 (Effect of the age of rats on servival time when fed a diet containing 74% kidney bean ($P < 0.01$)(24)

age of rats (days)	26	36	46	106
No. of rats	11	12	13	18
Avg. initial wt. (gm)	63.8	75.0	128.1	278.8
Avg. daily diet consumption (gm)	4.6	4.2	7.6	6.5
Avg. servival time (days)	9.2	9.8	16.4	32.0

8.3 น้ำย่อยอาหาร (Proteolytic enzyme)

น้ำย่อยอาหารของคนและสัตว์สามารถย่อยฮีแมกกลูตินินบางชนิดได้ ส่วนฮีแมกกลูตินินที่ไม่ถูกย่อยจะปะปนออกมากับอุจจาระ Nachbar (56) Brady และคณะ (30) Pusztai (30) รายงานว่าน้ำย่อยอาหารของคนและสัตว์ไม่สามารถย่อยฮีแมกกลูตินินจาก Wheat germ และจาก Navy bean ได้ Liener (42) สรุปผลการทดลองเลี้ยงหนูขาวด้วยถั่วดิบว่า Papain สามารถย่อยฮีแมกกลูตินินจากถั่วเหลืองได้ แต่ไม่สามารถย่อยฮีแมกกลูตินินจาก Kidney bean ดิบได้ ส่วน Jeffe และ Lette (29) สนับสนุน Liener ว่า น้ำย่อยอาหารของหนูพุกสามารถย่อยฮีแมกกลูตินินจากถั่วเหลืองได้ แต่ไม่สามารถย่อยฮีแมกกลูตินินจาก Black bean, Tapirano bean, White beanและ Mottled bean

8.4 วิธีการหุงต้ม

de Muelenaere (51) ได้ศึกษาหาปริมาณฮีแมกกลูตินินจากถั่ว 3 ชนิด คือ ถั่วเหลือง (Soy bean), Natal beanและ Umzumbi bean ที่ผ่านกรรมวิธีการหุงต้มที่ใช้ความร้อนในปริมาณแตกต่างกันได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 17 ซึ่งพอสรุปได้ว่าความร้อนจากการหุงต้มสามารถทำลายฮีแมกกลูตินินในอาหารให้ลดลงหรือหมดไปได้ ปริมาณ

ความร้อนที่สูงมีอำนาจในการทำลายฮีแมกกลูตินินได้สูงด้วย เช่น Natal bean มีฮีแมกกลูตินินสูงสุดต้องใช้ความร้อนในปริมาณสูงจึงจะทำลายได้หมด อาหารดิบหรืออาหารที่ปรุงด้วยความร้อนต่ำ ๆ ไม่สามารถทำลายฮีแมกกลูตินินให้หมดได้ ย่อมจะเกิดอันตรายจากฮีแมกกลูตินิน

ตารางที่ 17 ผลของความร้อนต่อปริมาณฮีแมกกลูตินิน (Effect of heat treatment of legume on the hemagglutinating activity)(51)

Legume	Heat Treatment	Hemagglutinin Activity (unit/gm)
Soy beans	Raw	30,240
	Dry heat (30 min.)	29,100
	Autoclaving (30 min.)	0
Natal beans	Raw	155,520
	Dry heat (30 min.)	128,000
	Dry heat (18 h.)	58,400
	Autoclaving (30 min.)	50
Umzumbi beans	Raw	45,200
	Dry heat (30 min.)	32,000
	Dry heat (18 h.)	0
	Autoclaving (30 min.)	0

9. การทำลายพิษของฮีแมกกลูตินิน

ฮีแมกกลูตินินเป็นไกลโคโปรตีนที่ถูกทำลายให้สูญเสียสภาพตามธรรมชาติได้ด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

9.1 การหุงต้มโดยใช้ความร้อนสูง

จากผลงานวิจัยที่ได้รายงานไว้ในตอนต้น พบว่าความเป็นพิษของฮีแมกกลูตินินในถั่วดิบต่อสัตว์ทดลองจะหมดไป ถ้านำถั่วดิบไปทำให้สุกด้วยความร้อนจาก autoclave หรือจาก dry heat แสดงว่าฮีแมกกลูตินินเป็นโปรตีนที่ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน (heat labile) ดังนั้นการประกอบอาหารด้วยความร้อนที่มีปริมาณมากพอจะขจัดฮีแมกกลูตินินในอาหารให้หมดไป มีข้อควรคำนึงถึงอยู่ 3 ประการคือ

1. จำนวนการใช้ความร้อนที่ใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมอาหารจะต้องมากพอที่จะทำลายฮีแมกกลูตินินได้

2. เมื่อหุงต้มในที่ ๆ มีความดันอากาศต่ำกว่าปกติ จุดเดือดของน้ำจะต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจทำให้จำนวนความร้อนที่ได้รับน้อยลงจนไม่สามารถทำลายฮีแมกกลูตินินในอาหารได้หมด

3. การปรุงอาหารสำหรับทารก เช่น การทำขนมปังสำหรับทารกจากแป้งสาลีผสมแป้ง Kidney bean จะต้องแน่ใจว่าใช้ความร้อนเพียงพอที่จะทำลายฮีแมกกลูตินินในแป้งทั้งสองได้หมด (30)

Liener (46) กล่าวว่าคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเมล็ดแห้งมิได้หมายถึงปริมาณของกรดอะมิโนเท่านั้น แต่ยังหมายรวมถึงสารอื่น ๆ ที่อาจทำให้คุณค่าของโภชนาการลดลงหรือเพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้นการหุงต้มและการถนอมอาหารด้วยความร้อนมีส่วนช่วยทำลายสารพิษที่ติดมากับถั่วเมล็ดแห้งดิบ ๆ เท่ากับเพิ่มพูนคุณค่าทางอาหารของถั่วเมล็ดแห้งให้สูงขึ้นนั่นเอง เขาพบว่าความร้อนจากการหุงต้มที่ทำลายฮีแมกกลูตินินในถั่วเมล็ดแห้งนั้น ช่วยเพิ่มค่า PER (Protein Efficiency Ratio) ของถั่วเหลืองให้สูงขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ผลของความร้อนต่อคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง (Effect of removing soybean hemagglutinin on the growth promoting activity of raw soybean extract)(46)

Protein component of diet	Hemagglutinating activity unit/gm Protein x 10^{-3}	PER
Original Soybean Extract	324	0.19
Original Soybean heated	6	2.25
Raw Soy flour	330	1.01
Heated Soy flour	13	2.30

PER = Protein Efficiency Ratio

$$= \frac{\text{น้ำหนักของสัตว์ทดลองที่เพิ่มขึ้นเป็นกรัม}}{\text{ปริมาณอาหารโปรตีนที่ได้รับเป็นกรัม}}$$

9.2 การแช่น้ำและการทำให้งอก

Kakade & Evans (37) ทดลองแช่ Navy bean ในน้ำเป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงราวร้อยละ 75 พร้อมกับมีปริมาณโปรตีนลดลงด้วย แต่ในถั่ว Navy bean ที่กำลังงอกได้ 4 วัน จะไม่เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮีแมกกลูตินินมากนัก ตรงกันข้ามกลับมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 19 และเมื่อนำเอา Navy bean ดิบ ๆ ที่แช่น้ำและงอกแล้วไปเลี้ยงหนูพุก ปรากฏว่าหนูพุกจะมีน้ำหนักตัวลดลง และตายในระหว่าง 8 ถึง 16 วัน แต่เมื่อนำ Navy bean ที่แช่น้ำและงอกนั้นไปเข้า autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ฮีแมกกลูตินินในถั่วทั้ง 2 ประเภทจะถูกทำลายหมด เมื่อนำไปเลี้ยงหนู หนูจะรอดตาย ดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 20

ตารางที่ 19 อิทธิพลของการแช่และการงอกต่อปริมาณฮีแมกกลูตินินของ Navy bean (Influence of soaking and germination on hemagglutinin acitvities of Navy bean)(37)

Treatment	Protein (%)	HA x 10^8 (unit/gm)
None (raw bean)	23.60	33.9
Soaked 1 day	21.88	36.5
Soaked 2 days	21.63	37.0
Soaked 3 days	20.31	19.7
Soaked 4 days	20.00	10.0
Germinated for 1 day	24.88	32.1
Germinated for 2 days	25.31	31.6
Germinated for 3 days	25.63	31.3
Germinated for 4 days	26.31	30.4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 ผลการเจริญเติบโตของหนูหุกเมื่อเลี้ยงด้วย Navy bean ที่แช่น้ำและกำลังงอก (Effect on growth of rats feeding soaked and germinated Navy beans)(37)

Protein source	weight gain/day (gm)	Food intake/day (gm)	Mortality (day)
Heated beans*	1.50	8.75	-
Raw beans	-0.92	2.95	9 - 14
Soaked 1 day	-1.00	2.90	11 - 15
Soaked 2 days	-1.11	3.00	10 - 16
Soaked 3 days	-1.00	2.92	12 - 16
Soaked 4 days	-1.10	3.10	10 - 14
Germinated for 1 day	-0.99	3.02	8 - 16
Germinated for 2 days	-0.96	2.94	8 - 16
Germinated for 3 days	-1.05	2.99	10 - 16
Germinated for 4 days	-1.09	3.10	10 - 16

*Autoclaved at 121℃ for 5 min

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นอกจากนี้ Sathe & Salunke (67) รายงานว่าการแช่เมล็ดถั่ว Kidney bean จะทำลายฮีแมกกลูตินินให้หมดไปได้ ทั้งยังช่วยเพิ่มการย่อยโปรตีนของเมล็ด Kidney bean ด้วย Ken (67) จึงแนะนำว่าควรแช่ถั่วเมล็ดแห้งก่อนนำไปหุงต้มทุกครั้ง จะทำให้โปรตีนของเมล็ดถั่วย่อยได้ง่ายขึ้น เป็นประโยชน์แก่ร่างกายเพิ่มขึ้นด้วย

แม้ว่า Kakade & Evans (37) จะพบว่า Navy bean ที่งอกได้ 4 วัน จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮีแมกกลูตินินมากนัก แต่ Chen และคณะ (13) กลับยืนยันว่าถั่วที่กำลังงอกจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลง แต่อัตราการลดลงของฮีแมกกลูตินินของถั่วชนิดต่าง ๆ มีไม่เท่ากัน เช่น ฮีแมกกลูตินินของถั่วเขียวจะหมดไปเมื่อถั่วเขียวงอกได้ 4 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย