บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในใบผักตบชวาและใบพืชน้ำอื่น 17 ชนิด

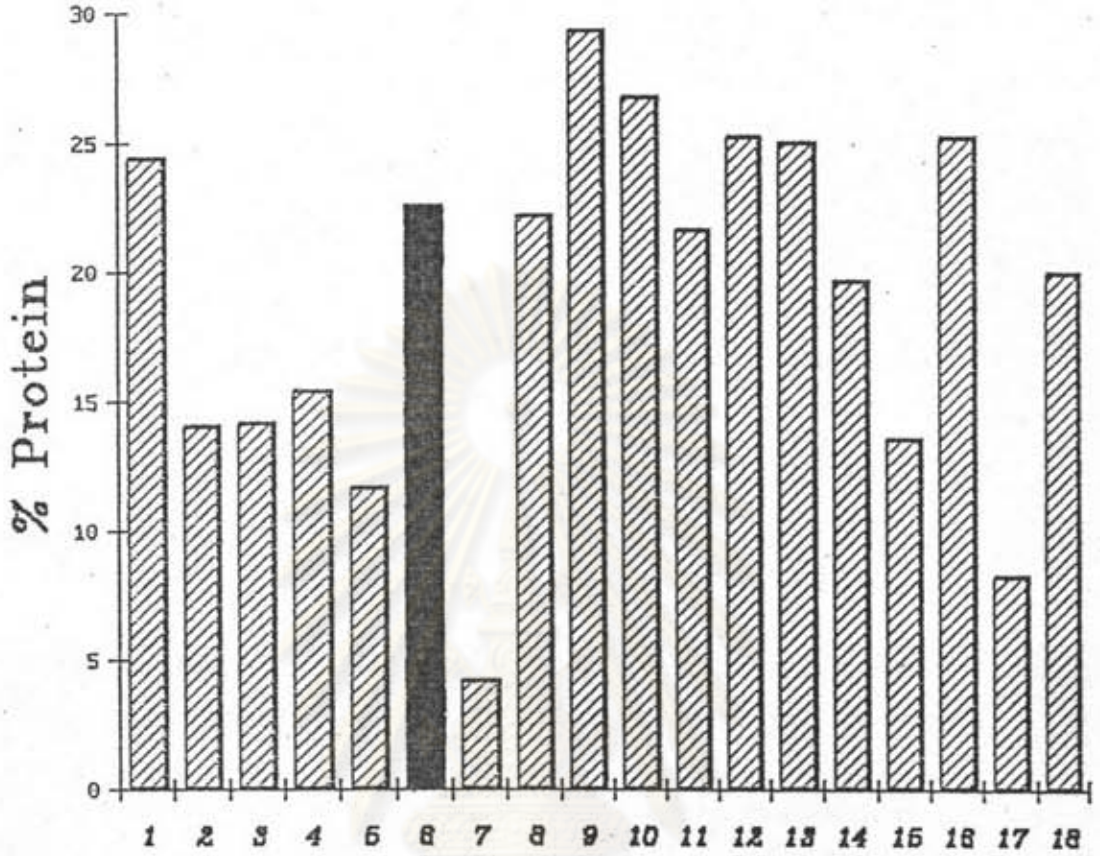
จากการเก็บตัวอย่างใบผักตบชวาและใบพืชน้ำอื่น 17 ชนิด จากบริเวณคลองทวีวัฒนา และนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า ใบพืชแต่ละชนิดมีปริมาณโปรตีนแตกต่างกันไป ดังแสดงในภาพที่ 3 เมื่อเรียงลำดับปริมาณโปรตีนในใบพืชจากค่ามากไปน้อย จะเห็นว่า พืชที่มีปริมาณโปรตีนในใบมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง มี 10 ชนิด ได้แก่ ผักบุ้ง กระถิน บัวหลวง โสน จอก ผักเป็ดน้ำ ผักตบชวา สาหร่ายหางกระรอก ไมยราพยักษ์ และไข่น้ำ ใบผักบุ้งมีปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ 29.36 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ผักตบชวามีปริมาณโปรตีนในใบสูง 22.61 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง สำหรับพืชอื่น ๆ อีก 8 ชนิด ได้แก่ เอื้องเพ็ดม้า สาหร่ายไฟ สาหร่ายพุงชะโด หญ้าขน ดีปลีน้ำ ลำเอียก ธูปฤาษี และแห้วทรงกระเทียมมีปริมาณโปรตีนในใบน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง แห้วทรงกระเทียมมีปริมาณโปรตีนในใบต่ำสุด คือ 4.25 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ดังในตารางที่ 3

2. การศึกษาการสกัดโปรตีนและเตรียมโปรตีนเข้มข้นจากใบผักตบชวา

2.1 การศึกษารูปแบบในการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน

หลังจากที่นำใบผักตบชวามาสกัดโปรตีน โดยปั่นให้เซลล์ใบแตก ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย กรองและแยกเอากากออก จะได้ green juice ที่ข้นข้น มีสีเขียวเข้ม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง(อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 3 ชั่วโมง green juice ยังมีลักษณะเหมือนเดิมไม่มีการแยกตัวของตะกอน นำ green juice ไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ก็ไม่ได้ตะกอน ดังแสดงในภาพที่ 4

เมื่อนำ green juice ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จะเห็นตะกอนสีเขียวจำนวนมาก นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที จะแยกได้ตะกอนสีเขียวเข้ม เหลือสารละลายสีน้ำตาลที่เรียก brown juice ดังแสดงในภาพที่ 4



1	หมายถึง	ผักเป็ดน้ำ	10	หมายถึง	กระถินไทย
2	..	หญ้าชน	11	..	ไมยราพยักษ์
3	..	สาหร่ายพุงชะโด	12	..	บัวหลวง
4	..	สาหร่ายไฟ	13	..	จอก
5	..	ลำเอียก	14	..	เอื้องเน็ดม้า
6	..	ผักตบชวา	15	..	ดีปลีน้ำ
7	..	แห้วทรงกระเทียม	16	..	โสน
8	..	สาหร่ายหางกระรอก	17	..	ธูปฤาษี
9	..	ผักบุ้ง	18	..	ไข่น้ำ

ภาพที่ 3 ปริมาณโปรตีนในใบผักตบชวาและใบพืชน้ำ 17 ชนิด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ปริมาณโปรตีนในใบผักตบชวาและใบพืชน้ำ 17 ชนิด

ชนิดพืช	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)
ผักบุ้ง (Ipomoea aquatica Forsk.)	29.36
กระถินไทย (Leucaena leucocephala de Wit)	26.81
บัวหลวง (Nelumbo nucifera Gaertn)	25.31
โสน (Sesbania javanica Miq.)	25.31
จอก (Pistia stratiotes Linn.)	25.17
ผักเป็ดน้ำ (Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb.)	24.44
ผักตบชวา (Eichhornia crassipes (Mart.) Solms)	22.61
สาหร่ายหางกระรอก (Hydrilla verticillata Presl)	22.25
ไมยราพยักษ์ (Mimosa pigra Linn.)	21.71
ไข่น้ำ (Wolffia globosa Hartog & Plas)	20.08
เอื้องเป็ดม้า (Polygonum tomentosum Wild)	19.77
สาหร่ายไฟ (Chara zeylanica Kl. ex Wild)	15.47
สาหร่ายพุงชะโด (Ceratophyllum demersum Linn.)	14.23
หญ้าขน (Brachiaria mutica Stapf)	14.06
ดีปลีน้ำ (Potamogeton malanus Miquel)	13.67
ลำเอียก (Coix aquatica Roxb.)	11.71
ธูปฤาษี (Thypha angustifolia Linn.)	8.31
แห้วทรงกระเทียม (Eleocharis dulcis (Burm. f.) Henschel)	4.25

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 4 ลักษณะของ extracted juice ที่อุณหภูมิห้อง (ซ้ายบน)
เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (ขวาบน)
64 องศาเซลเซียส (ซ้ายล่าง) และ 82 องศาเซลเซียส (ขวาล่าง)

เมื่อนำ brown juice ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที brown juice มีลักษณะเป็นสารละลายสีน้ำตาลเหมือนเดิม ไม่มีตะกอนเกิดขึ้นเลย ดังแสดงในภาพที่ 4

เมื่อนำ brown juice ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ยังไม่เห็นตะกอนชัดเจน แต่เมื่อเติมอะซีโตนหรือเอธิลอัลกอฮอล์ลงไป 1 ส่วนต่อปริมาตรของ brown juice 1 ส่วน จะเห็นตะกอนสีขาวเกิดขึ้น แต่มีจำนวนน้อยมาก ดังแสดงในภาพที่ 4 นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที แยกได้ตะกอนละเอียดสีน้ำตาลจำนวนน้อย

นำตะกอนที่แยกได้จากอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส ไปอบแห้งและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า ตะกอนสีเขียวจากอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีโปรตีน 48.25 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตะกอนสีขาวจากอุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส มีโปรตีน 54.94 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ดังในตารางที่ 4 และภาพที่ 5 แสดงว่าตะกอนที่แยกได้เป็นตะกอนโปรตีน

ดังนั้น จัดผักตบชวาเป็นพืชที่มีลักษณะการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนแบบ type II คือ ตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส

จากข้อมูลในตารางที่ 4 เมื่อคิดอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักตะกอนโปรตีน (กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม) ที่ได้จากอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส จะได้ 14 : 1 และอัตราส่วนระหว่าง protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม) ที่ได้จากอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส จะได้ 12:1 ดังแสดงในตารางที่ 5

2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน และ เตรียม LPC จากใบผักตบชวา

2.2.1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อน

การแยกโปรตีนที่สกัดได้โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส ซึ่งจะได้ fractionated LPC คือ ได้โปรตีน 2 ชนิดและเปรียบเทียบกับการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส ซึ่งจะได้ unfractionated LPC พบว่าการเตรียม fractionated LPC จะได้ green protein ที่ 55 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีน 48.05 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ protein yield 1.786 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม เมื่อแยก green protein ออกและนำ brown

I16177919.

ภาพที่ 5 ลักษณะของ LPC ที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (ซ้าย) และ 82 องศาเซลเซียส (ขวา)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ปริมาณโปรตีนในตะกอนโปรตีนที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน

ตะกอนโปรตีน	ปริมาณ (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักใบสด 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง 100 กรัม)
55°ซ	0.535	48.25	0.258	1.845
82°ซ	0.037	54.94	0.022	0.157

ตารางที่ 5 อัตราส่วนของน้ำหนักตะกอนโปรตีนและ protein yield ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ 82 องศาเซลเซียส

	อัตราส่วน
น้ำหนักตะกอน จากที่ 55°ซ : 82°ซ	14 : 1
protein yield จากที่ 55°ซ : 82°ซ	12 : 1

ตารางที่ 6 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการเตรียมแบบ fraction (ที่อุณหภูมิ 55 และ 82 องศาเซลเซียส) และ unfraction (ที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส)

LPC		ปริมาณ LPC (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักสดใบ 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม)
fraction	55°ซ	0.519	48.05	0.249	1.786
	82°ซ	0.050	54.14	0.027	0.195
	รวม			0.284 a	2.031 a
unfraction	82°ซ	0.617	50.61	0.312 a	2.236 a

juice ที่เติมเอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ความร้อนที่ 82 องศาเซลเซียส จะได้ white protein ซึ่งมีปริมาณโปรตีน 54.14 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ protein yield 0.195 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม

ถ้าแยกโปรตีนแบบ unfraction คือ ตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียสอย่างเดียว จะได้ unfractionated protein ที่มีสีเขียว มีปริมาณโปรตีน 50.15 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งและ protein yield 2.236 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม ปริมาณ protein yield ที่ได้ทั้งหมดจากการเตรียมแบบ fraction คือรวม protein yield จากการตกตะกอนโปรตีนที่ 55 องศาเซลเซียสและ 82 องศาเซลเซียส ได้ 2.031 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ protein yield ที่ได้จากการเตรียมแบบ unfraction ที่ 82 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 6 จึงเลือกแยกโปรตีนที่สกัดได้แบบ unfraction โดยการตกตะกอนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส สำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2.2.2 การศึกษาชนิดของสารสกัดที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน

ในการสกัดโปรตีนโดยใช้สารสกัดต่างกัน จะได้ protein yield ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ การใช้น้ำกลั่นที่ปรับ pH เป็น 8.5 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์เป็นสารสกัด ได้ protein yield สูงสุด คือ 4.182, 4.311, 4.388 และ 4.255 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม ตามลำดับ protein yield ที่ได้เมื่อใช้สารสกัดข้างต้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้น้ำกลั่นที่ปรับ pH เป็น 6.5 และ 10.5 เป็นสารสกัด ได้ protein yield สูงรองลงมา และการใช้สารสกัดทั้งสองในการสกัดโปรตีนได้ protein yield ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ได้ protein yield สูงรองลงมา และการใช้สารสกัดทั้งสองในการสกัดโปรตีนได้ protein yield ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์เป็นสารสกัด ให้ protein yield ต่ำที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 6 ดังนั้น จึงเลือกใช้น้ำกลั่นเป็นสารสกัดสำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2.2.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน

จากการทดลอง ข้อ 2.2.2 การใช้น้ำกลั่นเป็นสารสกัดในการสกัดโปรตีนที่ pH ต่างกัน ให้ protein yield ต่างกัน จึงได้ศึกษาผลของ pH ต่อการสกัดโปรตีนในช่วง

pH ที่ละเอียดขึ้น พบว่า การสกัดโปรตีนที่ pH ต่างกัน จะให้ protein yield แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสกัดโปรตีนที่ pH 4 นั้น เมื่อแยกเอากากออก green juice ที่ได้เป็นสารละลายใสสีเขียวอ่อน เมื่อทำการแยกโปรตีนโดยการตกตะกอนโปรตีน พบว่ามีตะกอนเกิดขึ้นน้อยมากและไม่สามารถนำตะกอนมาวิเคราะห์ได้ การสกัดโปรตีนที่ pH 5, 6, 7 และ 8 ให้ protein yield สูงขึ้น ตามลำดับ และการสกัดโปรตีนที่ pH 8.5, 9 และ 10 ให้ protein yield สูงที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 4.604, 4.410 และ 4.375 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 7 ในการศึกษานี้จึงเลือกทำการสกัดโปรตีนที่ pH 8.5 สำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2.2.4 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรด

หลังจากทำการสกัดโปรตีนตามสภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 2.2.3 โดยใช้น้ำกลั่นเป็นสารสกัดในการสกัดโปรตีนที่ pH 8.5 แล้ว ได้ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 2, 3, 4 และ 5 โดยการปรับ pH ของ green juice ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล พบว่า การตกตะกอนโปรตีนที่ pH ต่างกัน ได้ protein yield แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ การตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4 ได้ protein yield สูงที่สุดคือ 4.242 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม การตกตะกอนโปรตีนที่ pH 3 และ 5 ได้ protein yield รองลงมาคือ 2.990 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัมและ 3.225 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม ตามลำดับ การตกตะกอนโปรตีนที่ pH 2 ได้ protein yield ต่ำที่สุด คือ 1.971 กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 8 ดังนั้น จึงเลือกตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4 สำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2.2.5 การทำ LPC ให้บริสุทธิ์มากขึ้น

หลังจากสกัดโปรตีนและทำให้โปรตีนตกตะกอนแล้ว แยกตะกอนโปรตีนออกใช้เอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์และอะซีโตนล้างตะกอนโปรตีนเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น พบว่า เมื่อใช้น้ำกลั่นล้างตะกอนโปรตีน สารละลายที่ใช้ล้างจะมีสีเขียวอ่อน ตะกอนโปรตีนมีสีเขียวคล้ำ แต่ถ้าใช้เอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และอะซีโตนล้าง สารละลายที่ใช้ล้างจะมีสีเขียวของคลอโรฟิลล์เข้มมาก ตะกอนโปรตีนมีสีน้ำตาลอ่อน ดังภาพที่ 9 และเมื่อนำตะกอนโปรตีนที่ผ่านการล้างด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ มาวิเคราะห์โปรตีน พบว่า ตะกอนโปรตีนที่ล้างด้วย

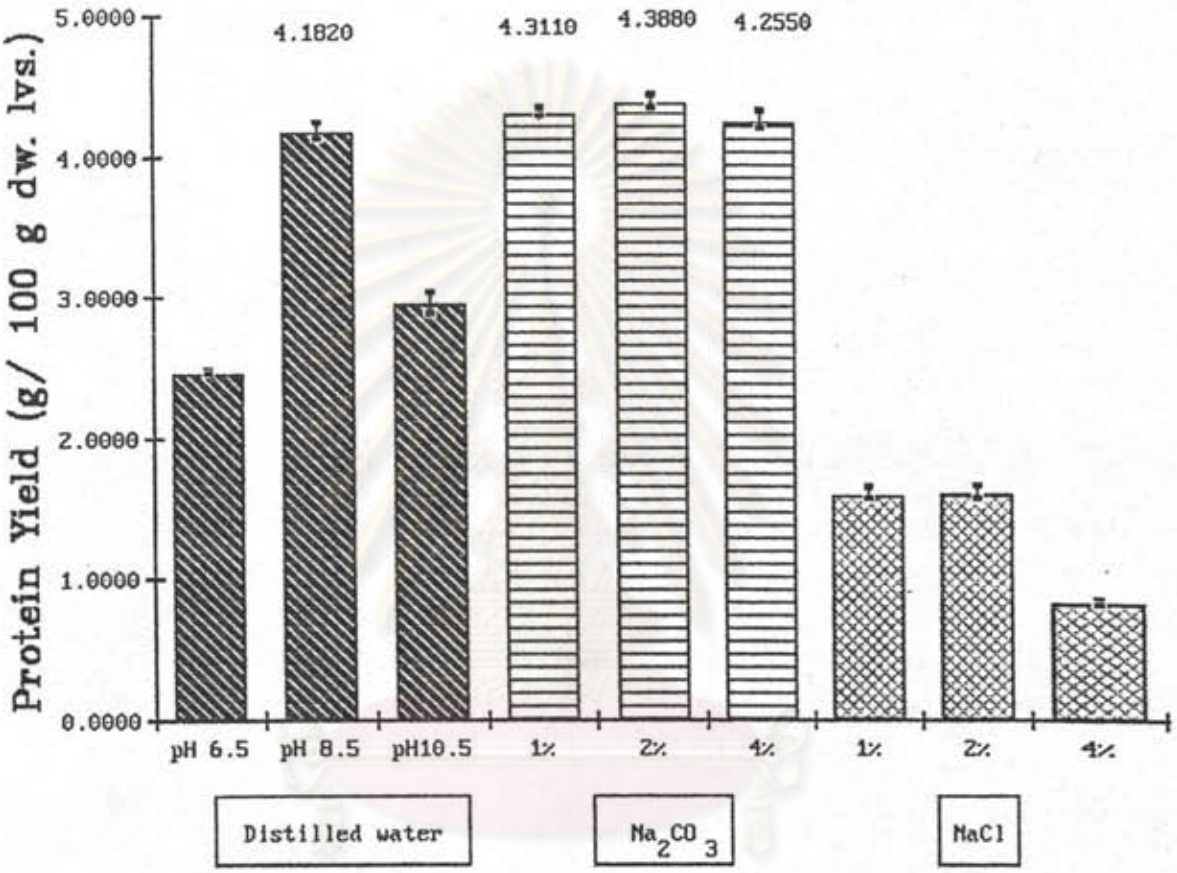
ตารางที่ 7 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการสกัดโปรตีนโดยใช้สารสกัดต่างกัน

สารสกัด	ปริมาณ LPC (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักสด ใบ 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง ใบ 100 กรัม)
น้ำกลั่น pH 6.5	0.715	48.21	0.344 b	2.466 b
น้ำกลั่น pH 8.5	1.094	53.40	0.584 a	4.182 a
น้ำกลั่น pH 10.5	0.806	51.37	0.413 b	2.955 b
1 % Na_2CO_3	1.128	53.43	0.602 a	4.311 a
2 % Na_2CO_3	1.128	54.35	0.613 a	4.388 a
4 % Na_2CO_3	1.092	54.49	0.594 a	4.255 a
1 % NaCl	0.473	47.18	0.223 c	1.599 c
2 % NaCl	0.510	44.08	0.224 c	1.608 c
4 % NaCl	0.266	43.34	0.115 d	0.825 d

ตารางที่ 8 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการสกัดโปรตีนที่ pH ต่างกัน

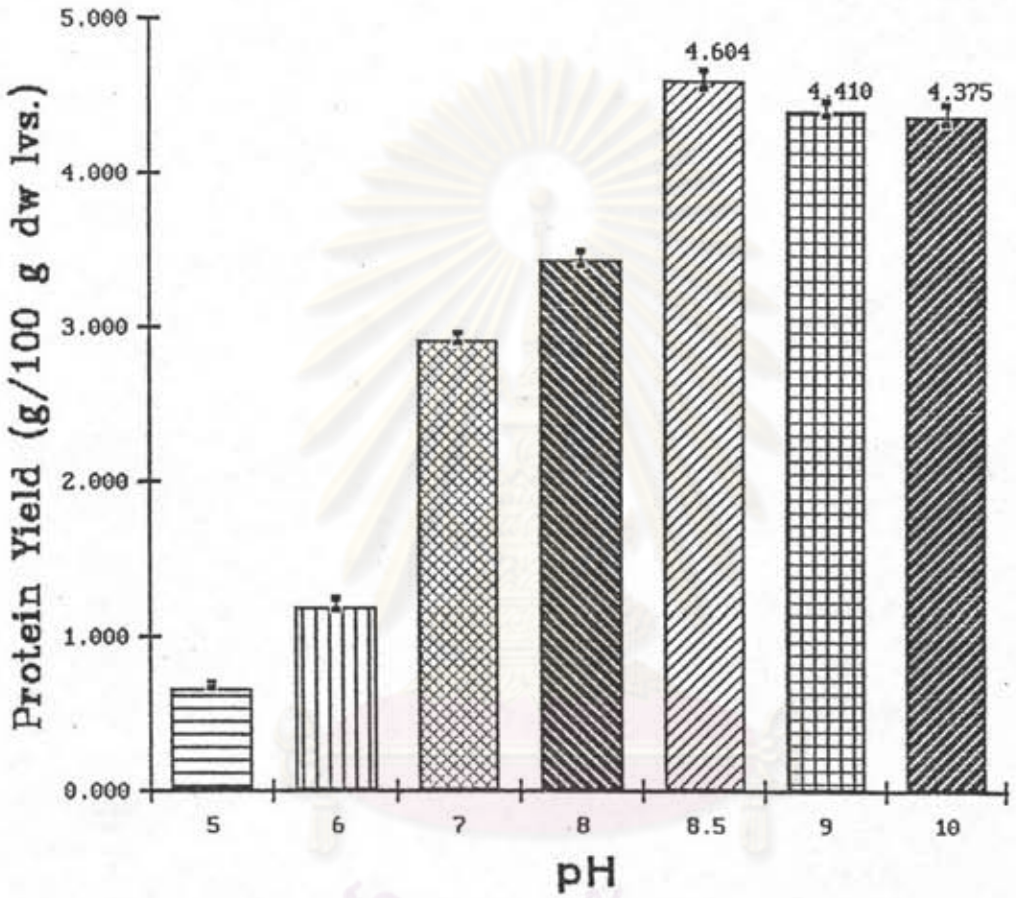
pH	ปริมาณ LPC (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักสด ใบ 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง ใบ 100 กรัม)
5	0.208	44.97	0.093 e	0.671 e
6	0.352	47.33	0.166 d	1.193 d
7	0.795	51.28	0.408 c	2.919 c
8	0.934	51.38	0.480 b	3.434 b
8.5	1.239	51.97	0.643 a	4.604 a
9	1.194	51.98	0.616 a	4.410 a
10	1.199	50.96	0.611 a	4.375 a

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 6 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารสกัดต่างกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 7 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการสกัดโปรตีนที่ pH ต่างกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

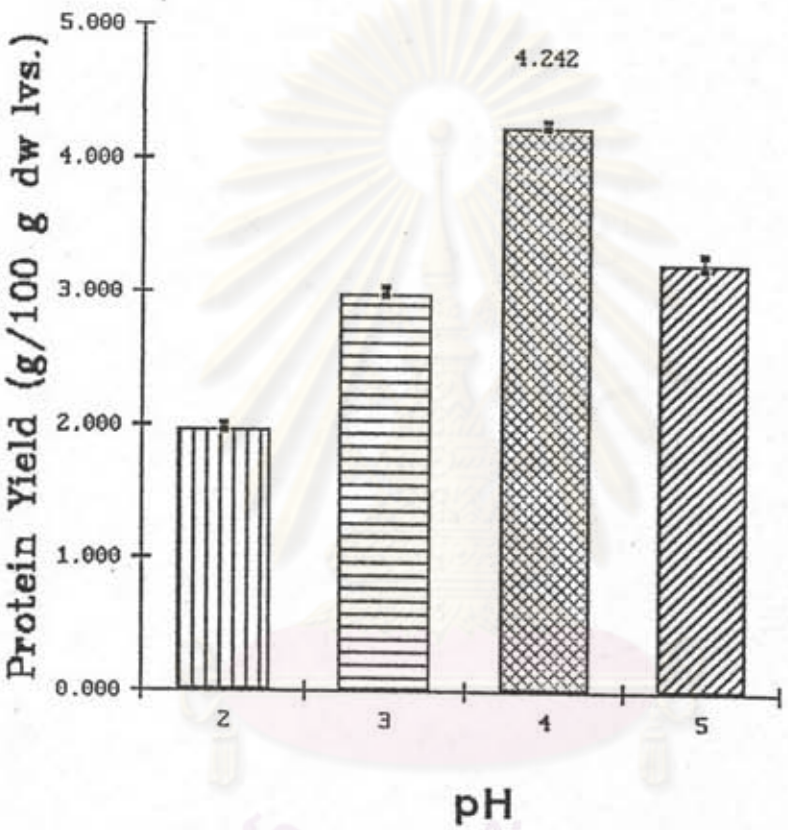
ตารางที่ 9 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดที่ pH ต่างกัน

pH	ปริมาณ LPC (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักสดใบ 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม)
2	0.558	49.32	0.275 c	1.971 c
3	0.835	49.95	0.418 b	2.990 b
4	1.161	51.03	0.593 a	4.242 a
5	0.929	48.52	0.450 b	3.225 b

ตารางที่ 10 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการล้างตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายต่างกัน

ตัวทำละลาย	ปริมาณ LPC (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักสดใบ 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม)
น้ำกลั่น	1.098	50.67 b	0.556 b	3.979 b
อะซีโตน	1.059	57.25 a	0.606 a	4.338 a
เอธิลอัลกอฮอล์ 95 %	1.139	57.00 a	0.649 a	4.642 a

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

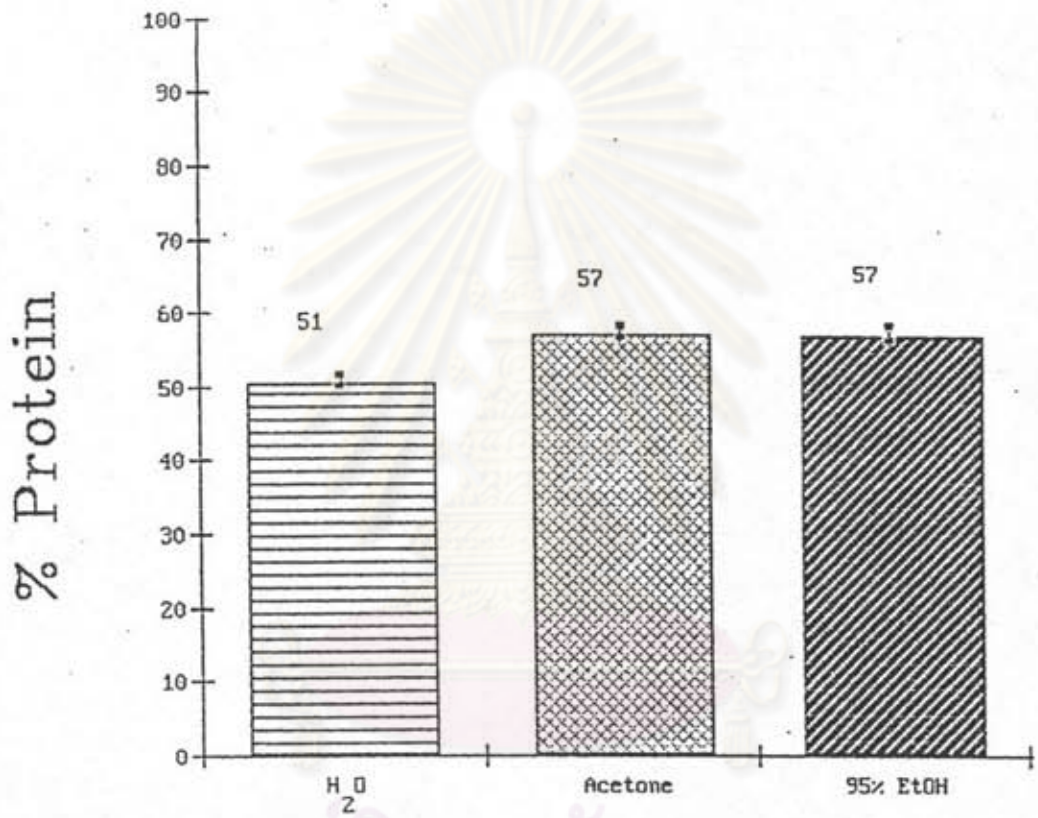


ภาพที่ 8 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดที่ pH ต่างกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 9 ลักษณะของ LPC ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (ซ้าย) เอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (กลาง) และอะซีโตน (ขวา)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 10 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยล้างด้วยตัวทำละลายต่างกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น้ำกลั่นมีปริมาณโปรตีน 50.67 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง แต่ถ้าล้างด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์-เซ็นต์ และอะซีโตน ตะกอนโปรตีนจะมีปริมาณโปรตีนมากกว่าการล้างด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 57.25 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ 57.00 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 10 ดังนั้น จึงเลือกใช้เอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์สำหรับล้างตะกอนโปรตีนในขั้นต่อไป

2.2.6 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการทำให้ LPC แห้ง

LPC ที่เตรียมจากการสกัดโปรตีนโดยใช้น้ำกลั่นที่ปรับ pH เป็น 8.5 เป็นสารสกัด ตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์แมล ให้ได้ pH 4.0 และความร้อนที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส จากนั้นล้างด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ แล้วทำให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับวิธีการ freeze drying พบว่า LPC ที่ผ่านการทำให้แห้งทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ LPC ที่ผ่านการทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสมีปริมาณโปรตีน 56.06 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง LPC ที่ผ่านการทำให้แห้งโดยวิธีการ freeze drying มีปริมาณโปรตีน 56.59 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 11 LPC ที่ทำแห้งด้วยวิธี freeze drying มีสีน้ำตาลอ่อน เป็นผง ส่วน LPC ที่ทำให้แห้งโดยอบในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส มีสีดำคล้ำ แข็ง แต่ถ้านำไปบด จะมีสีน้ำตาลคล้าย LPC ที่ทำแห้งด้วยวิธีการ freeze drying ดังแสดงในภาพที่ 11 และได้เลือกวิธีการทำให้ LPC แห้งโดยอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สำหรับการทดลองขั้นต่อไป

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบของ LPC

นำ LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสมมาวิเคราะห์องค์ประกอบโดยเปรียบเทียบกับ LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสมแต่ล้างด้วยน้ำกลั่น และสกัดไขมันออกโดยวิธี soxhlet พบว่า LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสมและผ่านขั้นตอนการล้างด้วยเอธิล-อัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า LPC ที่ล้างด้วยน้ำกลั่น คือ 55.39 เปอร์-เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ 49.52 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมีปริมาณไขมันลดลงเมื่อเทียบกับ LPC ที่ล้างด้วยน้ำกลั่น คือ 3.08 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ 10.21 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ถ้านำ LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสม ไปสกัดไขมันออกโดยวิธี soxhlet LPC จะมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น ส่วนปริมาณเถ้า เส้นใย และคาร์โบไฮเดรทใน LPC จากทั้ง 3 สภาวะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 12 และภาพที่ 12

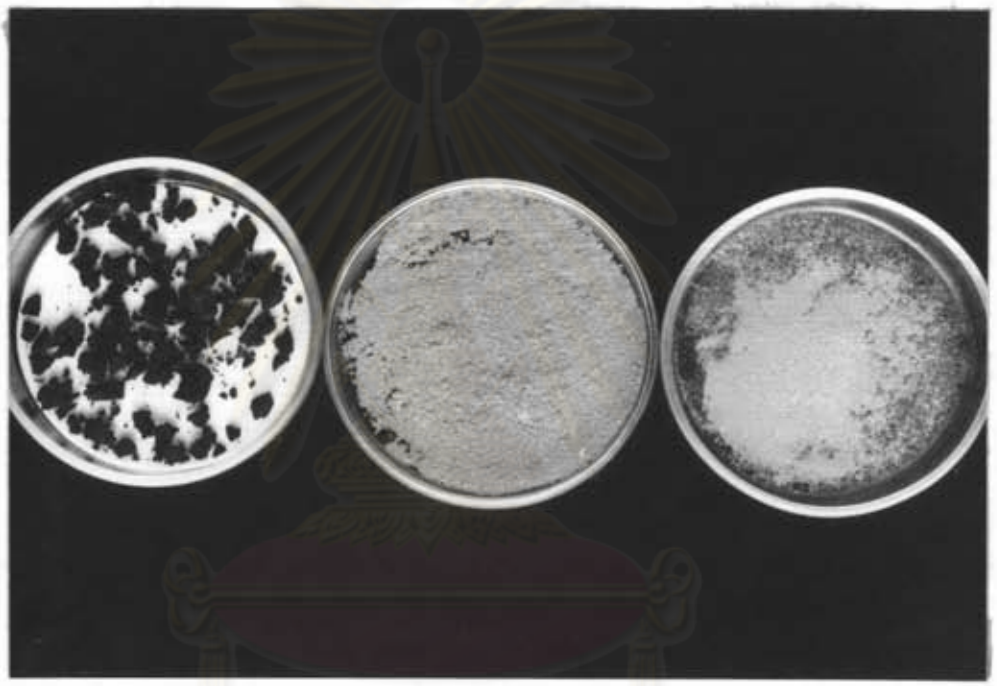
ตารางที่ 11 ปริมาณโปรตีนใน LPC ที่ได้จากการทำแห้งด้วยวิธีต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ปริมาณ LPC (กรัม)	โปรตีน (เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้ง)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักสดใบ 100 กรัม)	protein yield (กรัมต่อน้ำหนักแห้งใบ 100 กรัม)
อบแห้งที่ 60°ซ	1.121	56.06 a	0.627 a	4.487 a
freeze drying	1.131	56.59 a	0.639 a	4.577 a

ตารางที่ 12 องค์ประกอบของ LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสม (ล้างด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ เปรียบเทียบกับ LPC ที่ล้างด้วยน้ำกลั่นและสกัดไขมันออก)

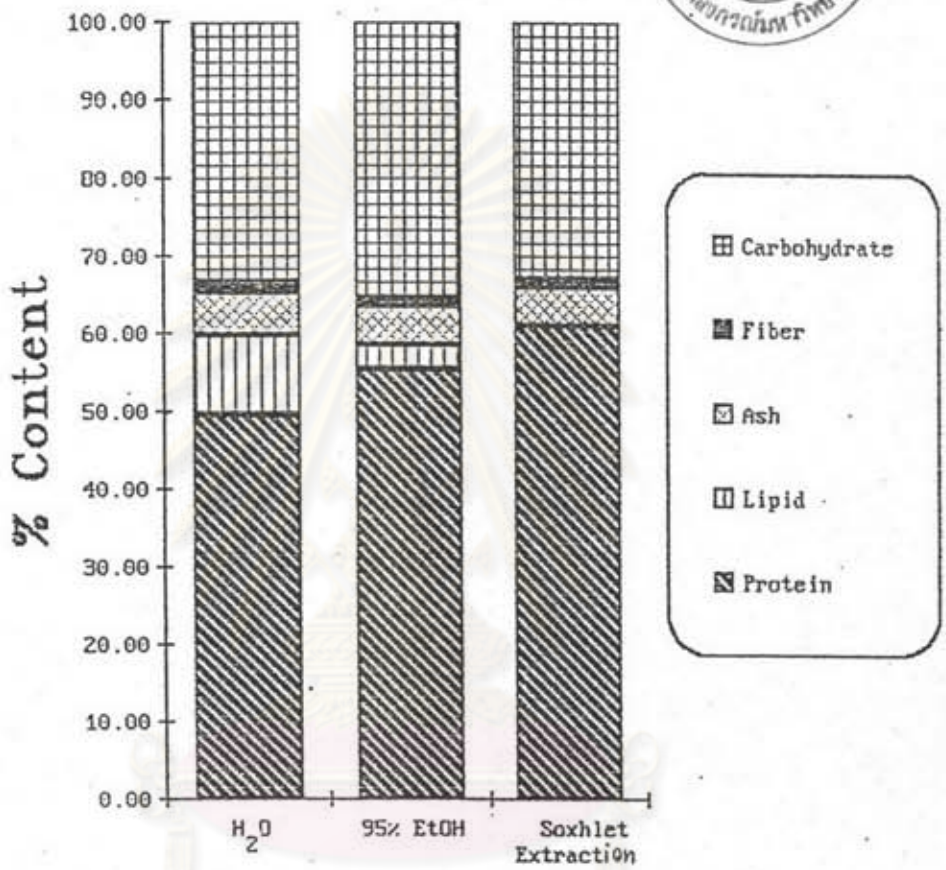
LPC	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เส้นใย	คาร์โบไฮเดรท
ล้างด้วยน้ำกลั่น	49.52 a	10.21 a	5.63 a	1.15 a	33.49 a
ล้างด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ 95 %	55.39 b	3.08 b	5.02 a	0.97 a	35.54 a
สกัดไขมันออก	61.04 c	-	4.98 a	1.02 a	32.96 a

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 11 ลักษณะของ LPC ที่ทำให้แห้งโดยอบในตู้อบ (ซ้าย) อบในตู้อบและบด (กลาง) และทำ freeze drying (ขวา)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 12 องค์ประกอบของ LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับชนิดและปริมาณกรดอะมิโนใน LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสมนี้ พบว่ามีทั้งกรดอะมิโนชนิดจำเป็นและชนิดไม่จำเป็นหลายชนิด (ยกเว้นทริปโตเฟนที่ไม่ได้วิเคราะห์ เนื่องจากถูกทำลายไปในระหว่างกระบวนการวิเคราะห์กรดอะมิโน) LPC ที่เตรียมได้มีลูซีนและเฟนิลอะลานีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดจำเป็นในปริมาณ 5.06 กรัมต่อน้ำหนัก LPC 100 กรัม และ 3.39 กรัมต่อน้ำหนัก LPC 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าปริมาณที่ FAO (1965) กำหนดไว้เป็นมาตรฐานสำหรับ LPC คือ 4.8 กรัมต่อน้ำหนัก LPC 100 กรัม และ 2.8 กรัมต่อน้ำหนัก LPC 100 กรัม ตามลำดับ (Pirie, 1971) ดังแสดงในตารางที่ 13 และภาพที่ 13

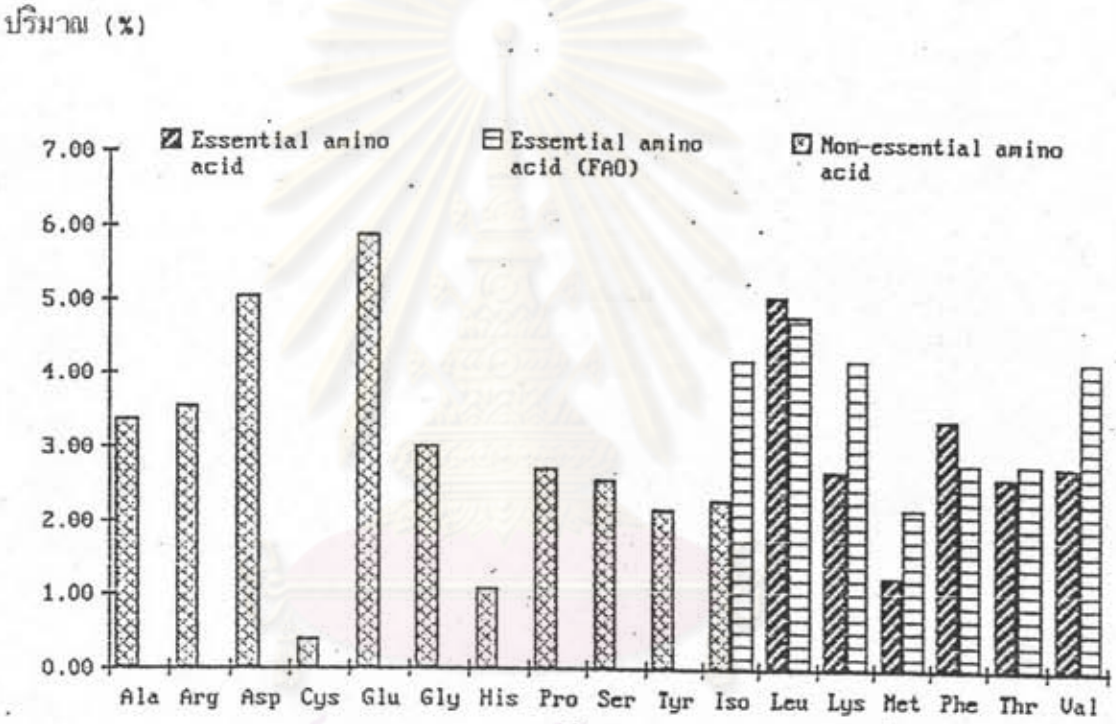
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนใน LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับปริมาณที่ FAO (1965) กำหนดไว้

กรดอะมิโน	ชื่อย่อ	ปริมาณใน LPC (กรัมต่อ LPC 100 กรัม)	ปริมาณที่ FAO กำหนด (กรัม LPC ต่อ100 กรัม)
อะลานีน	Ala	3.40	NA
อาร์จินีน	Arg	3.56	NA
แอสปาร์ติก	Asp	5.05	NA
ซีสเตอีน	Cys	0.42	NA
ซีสตีน	Cys	0.84	NA
กลูตามิก	Glu	5.90	NA
ไกลซีน	Gly	3.02	NA
ฮิสติดีน	His	1.10	NA
ไอโซลูซีน	Ile	2.31	4.2
ลูซีน	Leu	5.06	4.8
ไลซีน	Lys	2.69	4.2
เมไธโอนีน	Met	1.27	2.2
เฟนิลอะลานีน	Phe	3.39	2.8
โพรลีน	Pro	2.72	NA
ซีรีน	Ser	2.56	NA
ธรีโอนีน	Thr	2.63	2.8
ไทโรซีน	Tyr	2.16	2.8
วาลีน	Val	2.79	4.2

NA = Not Available

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนใน LPC ที่เตรียมจากสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับปริมาณที่ FAO (1965) กำหนดไว้เป็นมาตรฐานสำหรับ LPC