บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*) และพันธุ์ที่ปลูกในประเทศ

มันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหารให้พลังงานราคาถูก จึงมีบทบาทสำคัญในหลายประเทศในเขตร้อน (สมาคมการค้ามันสำปะหลังไทย, 2538) รวมทั้งประเทศไทยซึ่งมันสำปะหลังเป็นพืชไร่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวนและแห้งแล้งได้ดี ทำให้นิยมปลูกกันอย่างกว้างขวางโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ชาญ ถิรพร และวัฒนะ วัฒนานนท์, 2534; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2538, 2539) สำหรับพันธุ์มันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทยมีทั้งพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ซึ่งได้รับการปรับปรุงเพื่อให้ได้ผลผลิตดีขึ้น ซึ่งพันธุ์ที่เป็นอาหารสัตว์จะมีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกค่อนข้างสูงกว่าพันธุ์ที่เหมาะสำหรับเป็นอาหารคน ทั้งนี้พันธุ์และลักษณะประจำพันธุ์ได้ถูกจำแนกไว้ตามข้อมูลของกรมส่งเสริมการเกษตร กองส่งเสริมพืชไร่นา กลุ่มพืชไร่ (2538) ดังนี้

พันธุ์ระยอง 1

เป็นพันธุ์ที่คัดเลือกจากพันธุ์พื้นเมืองในประเทศ จัดเป็นพันธุ์ที่ดีซึ่งมีปลูกกันทั่วไปมานาน ลำต้นสีเขียวเงิน ก้านใบสีเขียวปนม่วง ลักษณะเด่นคือสามารถงอกได้ดีทุกสภาพแวดล้อมและทุกฤดูกาล ลำต้นตั้งตรงสูงทำให้สะดวกในการกำจัดวัชพืชและเก็บท่อนพันธุ์ ลักษณะด้อยคือมีปริมาณแป้งต่ำ ประมาณ 18.3% ในฤดูฝน และ 24% ในฤดูแล้ง

พันธุ์ระยอง 2

เป็นพันธุ์ลูกผสมที่คัดเลือกมา ลำต้นสีน้ำตาลอ่อน ก้านใบสีเขียวอมม่วง ลักษณะเด่นคือหัวมันสามารถหั่นเป็นแว่นๆได้ง่าย มีกรดไฮโดรไซยานิกต่ำ รสชาติดีเหมาะสำหรับบริโภค ลักษณะด้อยคือปริมาณแป้งต่ำ ใกล้เคียงพันธุ์ระยอง 1 คุณภาพหัวมันขึ้นกับสภาพแวดล้อมจึงยังไม่สามารถปลูกขายส่งโรงงานอุตสาหกรรมได้อย่างเต็มที่เนื่องจากจะได้ผลผลิตหัวมันน้อยและปริมาณไม่สม่ำเสมอ

พันธุ์ระยอง 3

เป็นพันธุ์ลูกผสมที่คัดเลือกมาเช่นกัน ลำต้นสีน้ำตาลอ่อน ก้านใบสีเขียวอ่อนปนแดง ลักษณะเด่นคือปริมาณแป้งสูง ประมาณ 23% ในฤดูฝน และ 28% ในฤดูแล้ง ตอบสนองต่อปุ๋ยและพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ลักษณะด้อย ลำต้นเตี้ยและแตกกิ่ง ทำให้ได้ท่อนพันธุ์น้อยและดูแลรักษายาก ท่อนพันธุ์เสื่อมความงอกเร็ว

พันธุ์ระยอง 5

ได้จากการผสมและคัดเลือกจากพันธุ์ในประเทศ ลำต้นสีน้ำตาลอมเขียวก้านใบสีแดงเข้มลักษณะเด่นคือให้ผลผลิตหัวมันสำปะหลังสดสูง มีปริมาณแป้งสูงประมาณ 22.3% ปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมต่างๆ ต้นพันธุ์มีความงอกดี ลักษณะด้อยพบอาการโรคใบไหม้มากกว่าพันธุ์อื่นๆ แต่จะไม่มีผลต่อผลผลิตหัวมันที่ได้

พันธุ์ระยอง 60

ได้จากการผสมและคัดเลือกพันธุ์ในประเทศ ลำต้นสีน้ำตาลอ่อน ก้านใบสีเขียวอ่อนปนแดง เนื้อในหัวมีสีขาวครีม ลักษณะเด่นคือให้ผลผลิตสูง อายุการเก็บเกี่ยวสั้น ลักษณะด้อยมีปริมาณแป้งต่ำ ประมาณ 18.5%

พันธุ์ระยอง 90

ได้จากการผสมและคัดเลือกพันธุ์ในประเทศ ลำต้นสีน้ำตาลอมส้ม ก้านใบสีเขียวอ่อนค่อนข้างขาว ลักษณะเด่นคือให้ผลผลิตสูง และปริมาณแป้งสูง ประมาณ 23.7% ตอบสนองต่อปุ๋ยและดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ลักษณะด้อยลำต้นโค้ง หากมีการแตกกิ่งจะทำให้ดูแลรักษายาก ต้นพันธุ์เสื่อมคุณภาพเร็ว เก็บรักษาไว้ได้ไม่นาน

พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50

ผสมและคัดเลือกจากพันธุ์ในประเทศ ลำต้นสีเขียวเงิน ก้านใบสีเขียว ลักษณะเด่นคือผลผลิตสูง และปริมาณแป้งสูง ประมาณ 23.3% ความงอกและการอยู่รอดค่อนข้างสูง ลักษณะด้อย จะมีการแตกกิ่งในสภาพแวดล้อมผิดปกติ ทำให้ไม่สะดวกในการดูแลรักษา

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พันธุ์ศรีราชา 1

ผสมและคัดเลือกจากพันธุ์ในประเทศ ลำต้นสีเขียวเงิน ก้านใบสีเขียวปนม่วง เนื้อในหัวมีสีครีม ลักษณะเด่นขึ้นได้ในพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ลักษณะด้อยคือปริมาณแป้งต่ำอยู่ที่ระดับ 21.9%

พันธุ์ห้านาที (พันธุ์มันยอดแดง)

เป็นพันธุ์ที่ปลูกในประเทศมานาน ลำต้นสีน้ำตาลอมเขียว ก้านใบสีแดงเข้ม ลักษณะเด่น มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกต่ำ เนื้อร่วน รสชาติดี เหมาะสำหรับบริโภค ลักษณะด้อยผลผลิตต่ำ ปริมาณแป้งต่ำ ประมาณ 14%

2.2 องค์ประกอบทางเคมี

2.2.1 หัวมันสำปะหลัง

องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณประกอบด้วยน้ำ 59-70% โปรตีน 0.9-2.3% ไขมัน 0.1-0.7% แป้ง 20-40% เส้นใยหยาบ 0.9-2.0% และเถ้า 0.8-2.0% (สมาคมการค้าอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังไทย, 2534; Hoshial, 1982) จะเห็นว่าในหัวมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งสูงมากเหมาะสำหรับทำแป้งมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมอื่นๆนอกเหนือจากอาหารเช่นอุตสาหกรรมสิ่งทอ กระดาษ และสี เป็นต้น หรือนำไปผลิตเป็นมันสำปะหลังเส้น และมันสำปะหลังอัดเม็ดเพื่อเป็นอาหารสัตว์ อายุของหัวมันสำปะหลังสดที่นำมาทำแป้งอยู่ในช่วง 8-13 เดือน (ชาญ ถิรพร และวัฒนะ วัฒนานนท์, 2534)

2.2.2 ใบมันสำปะหลัง

องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของใบมันสำปะหลังประกอบด้วย โปรตีน 15-42% ไขมัน 3.8-16% เส้นใยหยาบ 4.8-29% และเถ้า 5.7-12.5% โดยน้ำหนักแห้ง (Roger, 1959; Ravindran, 1993) แม้ปริมาณโปรตีนในใบจะแตกต่างกันซึ่งมีสาเหตุมาจากพันธุ์ สภาพแวดล้อม การบำรุงรักษา และคุณภาพดินเป็นต้น แต่เมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีนนับว่าใบมันสำปะหลังมีประโยชน์ในแง่ให้คุณค่าทางอาหารได้ (Ravindran, 1993) ซึ่งสามารถใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์พวกเคี้ยวเอื้องได้โดยตรง และสามารถเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์

ประเภทกระเพาะเดี่ยว (non-ruminant) และมนุษย์ได้ หากนำไปผ่านกระบวนการที่สามารถกำจัดหรือลดปัจจัยอันก่อให้เกิดผลกระทบต่อการได้รับคุณค่าทางอาหารเช่น แทนนิน (tannin) ไซยาไนด์ (cyanide) และเส้นใยออกไปได้ (Padmaja, 1989; Ravindran, 1993)

ปริมาณไนโตรเจนในใบมันสำปะหลังจะลดลงเมื่อมันสำปะหลังมีอายุมากขึ้น นอกจากนี้ในช่วงที่มีการขยายตัวของราก ก็มีส่วนให้ปริมาณไนโตรเจนลดลงด้วย ดังนั้นปริมาณโปรตีนในใบจะสูงสุดเมื่อเก็บเกี่ยวใบที่ยังอ่อนอยู่ (Ramos and Ledon, 1969 อ้างถึงใน ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์, 2536) ในทำนองเดียวกัน ณรงค์ นิยมวิทย์ (2538) ได้อธิบายไว้ว่ามีการเกิดโพลีเมอร์ไรซ์ (polymerize) ของกรดอะมิโนที่พืชนั้นสังเคราะห์ได้ให้เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ขึ้นแล้วสะสมไว้ในใบ ซึ่งกลไกดังกล่าวเกิดมากเมื่อระยะแรกที่แตกใบ ต่อมาโปรตีนนี้จะถูกสลาย (hydrolyze)เป็นอะมิโนและถูกส่งผ่านลำต้นไปสร้างดอก เมื่ออัตราการสลายมากกว่าการสังเคราะห์ กระบวนการจะหยุด ซึ่งเป็นช่วงที่โปรตีนกับแป้งถูกนำไปเก็บไว้ในเมล็ด และเมื่อใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลืองปริมาณโปรตีนในใบก็จะลดต่ำลงด้วย สำหรับขนาดใบมันสำปะหลังจะคลี่สมบูรณ์เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ และแผ่ขยายเต็มที่เมื่อมีอายุ 4 เดือน (Centro Internacional de Agricultura Tropical [CIAT], 1977 อ้างถึงใน ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์, 2536)

2.3 <u>การใช้ใบมันสำปะหลังเป็นแหล่งโปรตีน</u>

ในการนำส่วนของใบไปใช้จะพิจารณาเฉพาะแผ่นใบเป็นหลักเนื่องจากก้านใบจะมีปริมาณโปรตีนเพียงหนึ่งในหกเท่าเมื่อเทียบกับโปรตีนที่แผ่นใบ (Ramos and Ledon, 1969 อ้างถึงใน ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์, 2536)

2.3.1 ใบมันสำปะหลัง

ส่วนประกอบต่าง ๆของต้นมันสำปะหลังเมื่อคิดเป็นสัดส่วนร้อยละพบว่าแบ่งเป็นส่วนรากหรือหัวมัน (roots) 45% ลำต้น (stem) 35% และส่วนยอด (foliage) 20% ซึ่งส่วนยอดประกอบด้วยแผ่นใบ (leaf) 45% ก้านใบ (petiole) 25% และลำต้นอ่อน (tenderstem) 30% (Ravindran, 1993) สำหรับการนำใบมันสำปะหลังซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการเก็บเกี่ยวหัวมันจากต้นไปใช้เป็นอาหารเสริมที่ให้โปรตีนไม่ว่าจะสำหรับคนหรือสัตว์จะเกิดปัญหาเช่นเดียวกับโปรตีนจากพืชชนิดอื่น ๆคือมีกรดอะมิโนประเภทที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอยู่น้อย ดังนั้นในการบริโภคจำเป็นต้องผสมร่วมกับอาหารอื่นเช่นเมล็ดงาซึ่งมีเมทไธโอนีน (methionine) สูง

หรือเพิ่มกรดอะมิโนที่เป็นตัวจำกัดลงไป เพื่อให้ได้กรดอะมิโนครบถ้วนและเกิดประโยชน์อย่างเต็มที่ (Ravindran, 1993; Castellanos, Altamirano and Moretti, 1994)

ข้อจำกัดบางประการที่เป็นตัวจำกัดคุณค่าทางอาหารเมื่อบริโภคใบมันสำปะหลังได้แก่ ปริมาณเส้นใยที่มีอยู่มากทำให้ไม่ได้รับสารอาหารอย่างเต็มที่ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบตามธรรมชาติในใบมันสำปะหลังซึ่งจัดเป็นสารพิษหรือสารที่สามารถจำกัดคุณค่าทางอาหาร (antinutritional compound) ที่สำคัญคือไซยานิกไกลโคไซด์ (cyanic glycosides) และแทนนิน (Padmaja, 1989; Ravindran, 1993) สำหรับไซยานิกไกลโคไซด์สามารถถูกเอนไซม์ในเซลสลายให้กลายเป็นกรดไฮโดรไซยานิกอิสระ (free hydrocyanic acid) ก่อให้เกิดความเป็นพิษแก่ร่างกายมนุษย์และสัตว์ที่บริโภคเข้าไปได้ (Padmaja, 1989; Ravindran, 1993; Voldrich, 1995) ขณะที่แทนนินซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ชนิดหนึ่งสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนและสารมหโมเลกุล (macromolecules) อื่นๆ สารประกอบเชิงซ้อนนี้มีผลให้ความสามารถในการถูกย่อย (digestibility) ของโปรตีนลดลง และเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยในร่างกายได้แก่ทริปซิน (trypsin) และเปบซิน (pepsin) (Chavan et al., 1979; Dostalova and Pokorny, 1995) ดังนั้นวัตถุดิบที่จะนำไปใช้ควรผ่านการเตรียมที่เหมาะสมเช่นการลดปริมาณไซยาไนด์โดยการบดและหมัก (Awayinka, Abegunde and Adewusi, 1995) การตากแดด ต้ม (Ravindran, 1993) และการอบแห้ง (Fafunso and Bassir, 1976) เป็นต้น โดยไซยาไนด์จะสูญเสียจากวัตถุดิบได้ในรูปก๊าซ (Fafunso and Bassir, 1976) ส่วนแทนนินจะลดลงได้โดยแช่ในสารละลายด่างเช่นโซเดียมไฮดรอกไซด์ โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมคาร์บอเนตร่วมกับความร้อน

2.3.2 น้ำโปรตีนสกัด (green juice) จากใบมันสำปะหลัง

น้ำโปรตีนสกัดจากใบมันสำปะหลังสามารถผลิตได้ทั้งโดยการปั่นใบกับตัวทำละลายได้แก่น้ำกลั่นหรือน้ำที่ปรับ pH ให้เป็นด่างแล้วแยกของเหลวออก หรือการใช้เครื่องบีบอัดจากใบโดยตรงเช่นเครื่องบีบอัดแบบเกลียว (screw press) (Shepperson et al., 1977; Telek and Martin, 1983) น้ำโปรตีนสกัดจากทั้งสองวิธีสามารถนำไปผลิตโปรตีนเข้มข้นได้ ขณะที่น้ำโปรตีนสกัดจากใบมันสำปะหลังที่ได้จากการบีบอัดยังสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์โดยตรงได้ (Ostrowski-Meissner, 1983) สำหรับการใช้เป็นอาหารเสริมในคน แม้จะมีรายงานว่าประเทศศรีลังกามีการผลิตน้ำโปรตีนจากใบพืชพื้นเมืองบางประเภทเพื่อดื่มเป็นอาหารเสริมสุขภาพ (Carlsson, 1989 อ้างถึงใน บุญธิดา โฆษิตทรัพย์, 2535) แต่น้ำโปรตีนสกัดจากใบมันสำปะหลังมีกลิ่นรสไม่เป็นที่ยอมรับและมีสารที่สามารถจำกัดคุณค่าทางอาหารได้ จึงไม่

เหมาะสมที่จะบริโภคโดยตรง ขณะที่กระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นจะช่วยกำจัดหรือลดสารเหล่านี้ให้ลดลงได้ (Byers, 1983)

2.3.3 โปรตีนเข้มข้น (Leaf Protein Concentrates-LPC) จากใบมันสำปะหลัง

โปรตีนเข้มข้นที่ได้จากพืชชนิดต่างๆ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งในรูปที่ยังไม่ผ่านการทำแห้ง (wet LPC) และที่ผ่านการทำแห้งแล้ว (dry LPC) ทั้งนี้จากงานวิจัยของ Arkcoll (1973) โปรตีนเข้มข้นที่ไม่ผ่านการทำแห้งซึ่งมาจากการตกตะกอนโปรตีนและล้างตะกอนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH ประมาณ 4 ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มี pH ต่ำ จะป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียได้แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของรา ดังนั้นต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น 20°C ซึ่งมีอายุการเก็บประมาณ 4 วัน หรืออาจใช้วิธีการเติมเกลือ บรรจุกระป๋อง ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้ทันทีโดยผสมเป็นอาหารเสริม ขณะที่การทำแห้งโปรตีนเข้มข้นสามารถป้องกันการเจริญของราได้ นอกจากนี้ยังง่ายต่อการลำเลียง ขนส่งทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายได้

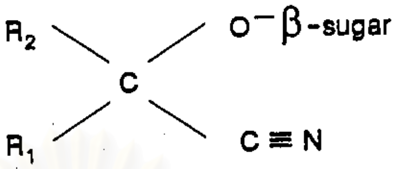
กรณีของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังพบว่ามีการใช้ประโยชน์ในรูปที่ทำแห้งแล้วคือใช้เป็นอาหารเสริมได้ทั้งในคนและสัตว์ (Ravindran, 1993; Castellanos et al., 1994) ในอาหารคน Oke (1971) ได้ทดลองหาปริมาณที่เหมาะสมในการผสมโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังในอาหารพื้นเมืองประเทศไนจีเรียได้แก่ Oyo (สตูว์ผัก) พบว่าใช้ประมาณ 10% ใน Yam flour ใช้ประมาณ 1-2% และใน Maize greul ประมาณ 0.8-1.3% ส่วนงานวิจัยที่ใช้เป็นอาหารสัตว์พบว่านอกจากสัตว์ประเภทเคี้ยวเอื้อง (ruminant) แล้วยังสามารถใช้เป็นอาหารปลาได้ (Adegbola and Oke, 1973) เนื่องจากโปรตีนจากพืชมีคุณภาพด้อยกว่าโปรตีนจากสัตว์ ดังนั้นการนำโปรตีนเข้มข้นไปใช้ควรเสริมคุณค่าทางอาหารด้วยการเติมกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ซีสทีน (cystine) หรือเติมเมทไธโอนีน หรือผสมกับอาหารที่มีเมทไธโอนีนสูงเช่นงาเป็นต้น (Tupynamba and Vieira, 1979; Castellanos et al., 1994)

กากใบที่เหลือหลังจากการผลิตโปรตีนเข้มข้นสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ ส่วนน้ำที่เหลือหลังจากการตกตะกอนโปรตีนซึ่งยังมีกรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่เหลืออยู่บางส่วน สามารถนำไปทำปุ๋ย หรือเป็นอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ได้ (Byers and Sturrock, 1965; Hoshiai, 1982)

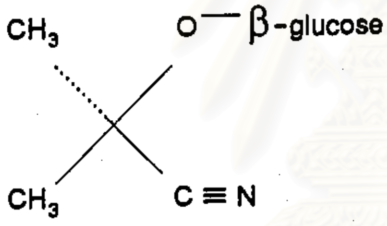
2.4 <u>ไซยาโนเจนนิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides) และแทนนิน</u>

2.4.1 ไซยาโนเจนนิกไกลโคไซด์

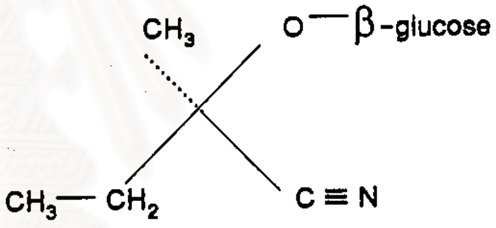
ไซยาโนเจนนิกไกลโคไซด์เป็นอนุพันธ์ไกลโคซิดิก (glycosidic derivatives) ของ 2-hydroxynitrites มีสูตรโครงสร้างทั่วไปดังนี้ (Voldrich, 1995)



ความเป็นพิษของใบมันสำปะหลังเกิดเนื่องจากกรดไฮโดรไซยานิกหรือไฮโดรเจนไซยาไนด์อิสระ (HCN) ที่ถูกเปลี่ยนมาจากไซยาโนเจนนิกไกลโคไซด์ 2 ตัวคือลินามาริน (linamarin) และโลทาวสดราลิน (lotaustralin) ทั้งนี้ในพืชตามธรรมชาติพบว่าลินามารินมีปริมาณมากกว่าโลทาวสดราลิน สำหรับสูตรโครงสร้างของลินามารินและโลทาวสดาลินคือ (Conn, 1973; Ravindran, 1993; Voldrich, 1995)



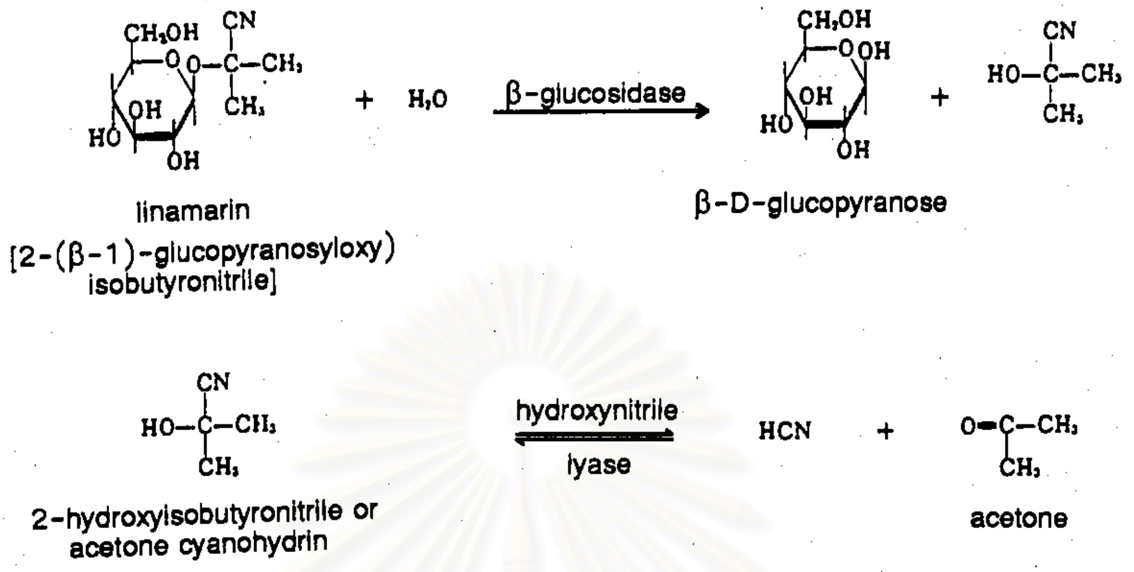
linamarin



lotaustralin

การปลดปล่อยไฮโดรเจนไซยาไนด์อิสระเกิดในกรณีที่ไกลโคไซด์ทั้ง 2 ตัว ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ลินามาเรส (linamarase) แล้วเปลี่ยนเป็นไฮโดรไซยานิก โดยเอนไซม์จะสัมผัสกับไกลโคไซด์เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายโดยทางกล ในกรณีนี้ไฮโดรเจนไซยาไนด์อิสระบางส่วนมีโอกาสสูญเสียออกไปในรูปของก๊าซได้ระหว่างกระบวนการ (Fafunso and Bassir, 1976) อีกกรณีหนึ่งคือการสูญเสียความสมบูรณ์ทางกายภาพเช่น กรณีใบเหี่ยว (Ravindran, 1993) นอกจากนี้สาเหตุยังมาจากการถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β-glucosidases) ในอวัยวะย่อยอาหารของสัตว์ที่บริโภคสารนี้เข้าไปโดยเริ่มต้นจะได้น้ำตาลและไซยาโนไฮดริน จากนั้นเอนไซม์ไฮดรอกซีไนตรายล์ไลเอส (hydroxynitrile lyase) จะมาเร่งปฏิกิริยา ให้เกิดการแยกไซยาโนไฮดริน (cyanohydrin) ทำให้เกิดสารประกอบคาร์บอนิล (carbonyl) และไฮโดรเจนไซยาไนด์ (hydrogen cyanide) ดังแสดงในปฏิกิริยาต่อไปนี้ (Voldrich, 1995)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



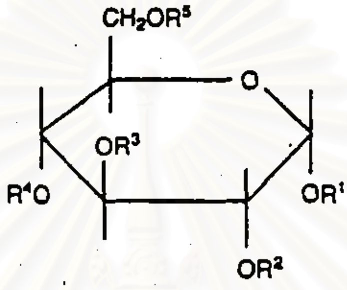
ไฮโดรเจนไซยาไนด์อิสระจะถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็วในระบบลำไส้ และแสดงความเป็นพิษในสองลักษณะ (Voldrich, 1995) คือความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute cyanide toxicity) และความเป็นพิษเรื้อรัง (Chronic cyanide toxicity)

ความเป็นพิษเฉียบพลันเมื่อได้รับถึง lethal dose คือ 0.5-3.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จะมีอาการ ซึม มึนงง หมดสติ หรือคลุ้มคลั่ง ชัก เสียชีวิต ส่วนความเป็นพิษเรื้อรัง เกิดเมื่อไซยาไนด์เข้าสู่ระบบเลือดของสิ่งมีชีวิตซึ่งมีการกำจัดพิษโดยทำปฏิกิริยากับไธโอซัลเฟต (thiosulphate) โดยมีเอนไซม์โรโดเนส (rhodonase) เร่งปฏิกิริยาเกิดเป็นไธโอไซยาเนต (thiocyanate) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบสามารถจะถูกขับออกสู่กระเพาะปัสสาวะได้ ดังนั้นเนื่องจากการใช้ซัลเฟอร์ในร่างกายไปในการกำจัดพิษ จึงทำให้ต้องการกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบมากขึ้น นอกจากนี้จะรบกวนการรับไอโอดีนเข้าสู่ต่อมไธรอยด์ (thyroid) มีผลทำให้เป็นโรคคอพอกได้ (Conn, 1973; Voldrich, 1995)

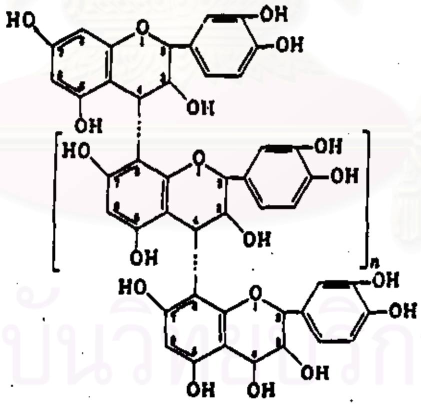
2.4.2 แทนนิน

แทนนินจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกมีน้ำหนักโมเลกุล 500-3,000 พบในพืชส่วนใหญ่ ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) จำนวนมาก สามารถทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนและมหโมเลกุลอื่น ๆ (Conn, 1973)

แทนนินที่พบมากมีสองชนิดคือไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (hydrolyzable tannin) และคอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin) สำหรับไฮโดรไลเซเบิลแทนนินประกอบด้วยโพลีไฮดริกแอลกอฮอล์ (polyhydric alcohol) และกลูโคส ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลของมันจะเกิดพันธะเอสเทอร์ (ester bond) กับกรดแกลลิก (gallic acid) ไปบางส่วนหรือทั้งหมด สูตรทั่วไปเป็นดังนี้ (Dostalova and Pokorny, 1995)



คอนเดนส์แทนนินเป็นกลุ่มหลักของแทนนิน ซึ่งเป็นรูปโพลีเมอร์ริก (polymeric form) ของฟลาโวนอล (flavonols) พบได้ในผักผลไม้ ตัวอย่างสูตรโครงสร้าง (Conn, 1973) คือ



ตัวที่เป็นปัญหาสำคัญได้แก่คอนเดนส์แทนนินในใบซึ่งมีปริมาณมากน้อยต่างกันในพืชแต่ละพันธุ์และแต่ละชนิด พบในรูปที่เชื่อมกับโปรตีนแล้วด้วยพันธะไฮโดรเจนหลาย ๆ ตำแหน่งซึ่งแยกออกไม่ได้โดยเอนไซม์ในระบบย่อยจึงทำให้เกิดโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งถูกย่อยได้ยาก และมีกรดอะมิโนที่ถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้ (amino acid availability) ต่ำ นอกจากนี้แทนนินจะทำให้เกิดรสฝาด (astringent taste) ได้ในผลิตภัณฑ์ (Dostalova and Pokorny, 1995)

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของแทนนินกับโปรตีนมีพันธะอยู่ 4 ชนิด (Kumar and Singh, 1984)

1. พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ระหว่างฟีนอลิกกับกลุ่มคีโตอิไมด์ (ketoimide) ของโปรตีนที่มีการจัดตัวแบบพวก β-pleated sheet

2. พันธะอิออนิก (ionic bond) ระหว่างฟีนอลิกและตำแหน่งแคทอิออนิก (cationic site) ของโมเลกุลโปรตีน

3. พันธะโควาเลนท์ (covalent bond) จากการเกิดออกซิเดชั่นของโพลีฟีนอลไปเป็นควิโนน (quinones) และเกิดรวมตัวกับกลุ่มนิวคลีโอฟิลิก (nucleophilic) ได้แก่ $-NH_2$, -SH และ -OH ในโปรตีน

4. ปฏิกิริยาของส่วนไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) ระหว่างโครงสร้าง aromatic ring ของสารประกอบฟีนอลิกกับส่วนไฮโดรโฟบิกของโปรตีน

เมื่อความเข้มข้นโปรตีนต่ำ ๆ โพลีฟีนอลจะจับบนผิวโปรตีน 1 ตำแหน่ง หรือมากกว่านั้น เกิดชั้นเดียว (monolayer) ซึ่งมีความเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophillic) น้อยกว่าตัวโปรตีนเอง ทำให้เกิดการรวมตัวและตกตะกอนตามมา ส่วนความเข้มข้นโปรตีนสูง ๆ จะเกิดชั้นที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกที่ผิว (hydrophobic surface layer) ขึ้น เมื่อความเข้มข้นของโปรตีนกับโพลีฟีนอลพอดีกันจะจับตัวเป็นร่างแหใหญ่เห็นเป็นตะกอนขุ่นในสารละลายได้ (Siebert, Troukhanova and Lynn, 1996)

ความเป็นพิษของสารประกอบฟีนอลิกมีผลในสองลักษณะทั้งเป็นพิษโดยตรง เช่นอัฟฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็ง และมีฤทธิ์ยับยั้งการได้รับสารอาหาร (antinutritional activity) เช่นแทนนินทำให้ร่างกายได้รับกรดอะมิโนไลซีน (lysine) และเมทไธโอนีนไม่ได้เต็มที่ แต่ลักษณะการยับยั้งการได้รับสารอาหารจะมีความสำคัญมากกว่ากรณีที่เป็นพิษโดยตรง (Dostalova and Pokorny, 1995; Conn, 1973)

2.5 <u>การผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลัง</u>

โปรตีนเข้มข้นคือโปรตีนที่ตกตะกอนได้จากพืช (Fafunso and Bassir, 1976) ซึ่งในที่นี้ส่วนของพืชที่ใช้คือใบ โดย 80% ของโปรตีนทั้งหมดในใบจะอยู่ในส่วนคลอโรพลาสต์ซึ่งเป็นโครงสร้างเล็กๆในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ส่วนปริมาณที่เหลือจะอยู่ในโครงสร้างอื่นในเซล โปรตีนในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) นี้ ประมาณ 50% เป็นโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) อีก 50% เป็นโปรตีนที่ไม่ละลาย (insoluble protein) (Wildman and Bonner, 1947)

โปรตีนที่ละลายได้หมายถึงโปรตีนที่ละลายได้ในตัวทำละลายได้แก่บัพเฟอร์หรือเกลือที่เหมาะสม โปรตีนบางตัวต้องการโมโนวาเลนท์แคทอิออน (monovalent cations) เช่น โซเดียมอิออนหรือโปตัสเซียมอิออนเพื่อให้เกิดการละลายได้ดี ส่วนบัพเฟอร์จะมีความจำเป็นในการป้องกันการเพิ่มขึ้นของไฮโดรเจนอิออนหลังจากเซลถูกทำลายไม่ให้มีความเข้มข้นถึงจุดไอโซอิเลคตริก (isoelectric point) ซึ่งโปรตีนละลายได้น้อยที่สุด สาเหตุของการเพิ่มขึ้นของไฮโดรเจนอิออนเนื่องจากเมื่อเซลแตกจะทำให้แวคิวโอล (vacuole) ที่เป็นโครงสร้างเล็กๆในเซลแตกได้ โดยที่แวคิวโอลนี้ภายในมีสารหลายชนิดอยู่ ได้แก่เกลืออนินทรีย์ น้ำตาล รวมทั้งกรดอินทรีย์ (organic acid) และเกลือของกรดอนินทรีย์ (Weier et al., 1982) ดังนั้นเมื่อกรดอินทรีย์ต่างๆถูกปลดปล่อยออกมา จึงทำให้ไฮโดรเจนอิออนในระบบมากขึ้นและ pH ลดต่ำลงจนอาจใกล้เคียงจุด ไอโซอิเลคตริกได้ (Morrison and Boyd, 1992) โปรตีนที่ไม่ละลายหมายถึงโปรตีนที่อยู่รวมกับกากที่แม้จะล้างด้วยตัวทำละลายแล้วก็ตามโปรตีนจะไม่ละลายเนื่องจากเป็นส่วนของโครงสร้างโมเลกุลขนาดเล็ก (micromolecular) ในเมมเบรนของคลอโรพลาสต์ซึ่งเป็นลิโปโปรตีน(chloroplast lipoprotein membranes) (Kohler et al., 1978)

สำหรับโปรตีนที่ละลายได้สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามน้ำหนักโมเลกุล คือ Fraction I protein (F I protein) และ Fraction II protein (F II protein) Fraction I protein มีน้ำหนักโมเลกุล 500,000-600,000 ดาลตัน ค่าคงที่ในการตกตะกอน (sedimentation constant) ประมาณ 18S ส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (RuBP carboxylase) มีน้ำหนักโมเลกุล 560,000 อยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ซึ่งประมาณ 25-50% ของโปรตีนในคลอโรพลาสต์จะเป็นเอนไซม์ สำหรับ RuBP carboxylase นับโปรตีนที่มีมากที่สุดในโลก ซึ่งไม่เพียงแต่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เท่านั้น แต่เป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารโปรตีนสำหรับคนและสัตว์ด้วย โปรตีนในใบส่วนใหญ่มักประกอบด้วย F I protein ที่มีลักษณะคล้ายกันมากไม่ว่าจะเป็นพืชชนิดใด Fraction II protein มีน้ำหนักโมเลกุล 10,000-300,000 ดาลตัน ค่าคงที่ในการตกตะกอน ประมาณ 4S-10S ปริมาณที่พบจะแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์ของพืช (Byers, 1983) ขั้นตอนหลักในการสกัดโปรตีนเข้มข้นจากใบสรุปได้ดังนี้ (Fafunso and Bassir, 1976)

2.5.1 การเตรียมใบพืชเพื่อสกัดโปรตีนออกมา

การเตรียมใบพืชโดยทำให้ใบพืชละเอียดเป็นขั้นตอนเริ่มต้นที่สำคัญมาก จุดประสงค์เพื่อให้เซลนับล้านๆเซลแตก จนโปรตีนสามารถละลายออกมากับตัวทำละลายได้ โดยผลผลิตของโปรตีนเข้มข้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการทำให้เซลและคลอโรพลาสต์แตกได้มากเพียงใด ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการทำให้เซลแตกนี้ได้แก่ ลักษณะของวัตถุดิบ และกระบวนการผลิต (Addy, Whitney and Chen, 1983)

ในแง่ลักษณะของวัตถุดิบพบว่าการเรียงตัวของเซลในใบพืชทั่วไปจะมีการเรียงตัวเป็น 7 ชั้นในด้านตัดขวาง ประกอบด้วยชั้นเอพิเดอร์มิส (epidermis) 2 ชั้นทางด้านหลังใบและด้านท้องใบ มีความหนา 20% ของความหนาใบทั้งหมด ส่วนเซลระหว่างเอพิเดอร์มิสจะรวมเรียกว่ามีโซฟิลเซล (mesophyll cells) แบ่งเป็นพาลิเสทเซล (palisade cells) ลักษณะเป็นเซลรูปแท่งเรียงตัวเป็นระเบียบหนาแน่นมี 2 ชั้น และสปองจีเซล (spongy cell) มี 3 ชั้น เป็นเซลรูปร่างไม่สม่ำเสมอ เซลเรียงตัวไม่เป็นระเบียบและอยู่กันหลวมๆ จึงทำให้เห็นขอบเขตระหว่างชั้นไม่ค่อยชัดเจน (Addy et al., 1983; Salisbury and Ross, 1992)

องค์ประกอบของผนังเซลพืชทั้งชั้นแรก (primary) และชั้นที่สอง (secondary) จะแบ่งได้เป็น 2 เฟส (phase) คือไมโครไฟบริลลา (microfibrillar phase) และแมทริกซ์ (matrix phase) โดยไมโครไฟบริลลามีองค์ประกอบหลักคือเซลลูโลส ส่วนแมทริกซ์ประกอบด้วยเพคติน เฮมิเซลลูโลส สารประกอบฟีนอลลิกซึ่งแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด และโปรตีน สำหรับโปรตีนในส่วนนี้เป็นโปรตีนที่ไม่ละลายทำหน้าที่เป็นโครงสร้างในผนังเซล ดังนั้นในการสกัดโปรตีนออกมาจึงไม่ได้โปรตีนส่วนนี้ออกมาด้วย สารแมทริกซ์เหล่านี้จะกระจายตัวภายในผนังเซลและมีการแทรกตัวล้อมรอบเซลลูโลส ทำให้เส้นใยสานติดกันหนาแน่น ให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลและทำให้มีการเกาะติดกันได้ดีในแต่ละเซล (Brett and Waldron, 1990; Salisbury and Ross, 1992)

สำหรับกระบวนการผลิตอันเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำให้เซลแตก พบว่าใบมันสำปะหลังมีเส้นใยมากและเซลมีความแข็งแรง นอกจากจะเป็นข้อจำกัดคุณค่าทางอาหาร หากบริโภคโดยตรงแล้ว (Ravindran, 1993) การทำให้เซลแตกจะต้องเสียพลังงานมากและทำได้ไม่ทั่วถึง เป็นสาเหตุให้โปรตีนสูญเสียไปมากระหว่างกระบวนการผลิต (Arkcoll and Davys, 1973) แม้จะมีวิธีทางชีวเคมีที่สามารถทำให้เซลแตกได้เช่นใช้เอนไซม์ แต่วิธีที่เป็นไปได้และคุ้มค่าทางเศรษฐกิจที่สุดคือ การใช้แรงทางกลบดหรือปั่นให้ใบแตกแล้วคั้นน้ำออกมา (Addy et al., 1983) โดยระหว่างปั่นหรือบดใบอาจมีการใช้สารช่วยสกัดด้วย ได้แก่เกลือ หรือด่าง ณ pH ต่างกัน ปกติโปรตีนจะละลายได้ดีในสภาพเป็นด่าง แต่ถ้า pH สูงเกินไป เช่นมากกว่า 9.5 แม้จะได้ปริมาณโปรตีนสูงแต่บางส่วนอาจถูกทำลายให้เสียสภาพและสูญเสียสมบัติการใช้

ประโยชน์ การสกัดโปรตีนจะเกิดขึ้นน้อยที่สุด เมื่อสกัดที่ pH ใกล้เคียงกับจุดไอโซอิเลคตริก เนื่องจากที่จุดไอโซอิเลคตริกโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์จะตกตะกอนและปนอยู่กับกาก เมื่อแยกกากออกแล้วในสารละลายจึงมีโปรตีนเหลืออยู่น้อย และการสกัดจะทำได้ดีขึ้นถ้าเติมด่างลงไปขณะปั่นพืช (Betschart and Kinsella, 1973; De Jong, 1982) ส่วนการใช้บัฟเฟอร์มีความจำเป็นในการป้องกันไฮโดรเจนอิออนไม่ให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึงจุดไอโซอิเลคตริกหลังเซลถูกทำลายเนื่องจากทำให้โปรตีนละลายได้น้อยลง (Kohler et al., 1978)

2.5.2 การแยกเส้นใยออกจากสารละลายโปรตีน

วิธีการแยกสามารถทำได้ทั้งการกรองผ่านตะแกรงหรือผ้ากรอง (Telek and Martin, 1983) และการใช้เครื่องมือบีบอัดออกมา (Addy et al., 1983) การแยกน้ำโปรตีนสกัดออกจากใบบางส่วนทำให้กากที่เหลืออบแห้งได้ง่ายขึ้นไม่ต้องใช้พลังงานมาก เมื่อเทียบกับการอบแห้งใบสด และเนื่องจากกากใบที่ได้ยังมีโปรตีนเหลืออยู่จึงสามารถนำไปเป็นอาหารสัตว์ได้ (Connell and Houseman, 1977; Ostrowski-Meissner, 1983)

ปริมาณเส้นใยในใบพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการแยกน้ำโปรตีนออกมา ในกรณีที่พืชมีเส้นใยมากและผนังเซลมีความแข็งแรง เช่นในใบมันสำปะหลัง จะต้องใช้พลังงานมากในการคั้น อีกทั้งจะได้สัดส่วนของน้ำโปรตีนสกัดต่อเส้นใยลดลงมาก จึงได้ผลผลิตน้อยลง (Arkcoll and Davys, 1973) สำหรับปริมาณไซยาไนด์ในน้ำโปรตีนสกัดได้ลดลงมากหลังจากที่ใบผ่านขั้นตอนการทำให้ละเอียดและคั้นน้ำออกมา แม้มีหลงเหลืออยู่บางแต่เป็นปริมาณน้อยซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยเมื่อบริโภคในปริมาณปกติ (Fafunso and Bassir, 1976; Ravindran, 1993) ขณะที่น้ำโปรตีนที่สกัดได้จากพืชบางชนิดจะมีสารตามธรรมชาติอีกหลายประเภทที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตต่อไปได้ เช่นกรดอินทรีย์ซึ่งทำให้ pH ลดลงจนการละลายของโปรตีนน้อยลงด้วย ขณะเดียวกันอาจทำให้โปรตีนเสียสภาพไปได้ สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดการรวมตัวกับโปรตีน และอาจทำให้โปรตีนเสียสภาพไปได้ นอกจากนี้ยังมีสารซาโปนิน (saponin) ซึ่งมีสมบัติช่วยรักษาเสถียรภาพของโฟมที่มาจากโปรตีน (protein foam stabilizers) ดังนั้นอาจเกิดฟองมากเกินไปในระบบและจำเป็นต้องเติมสารป้องกันการเกิดฟองก่อนเข้ากระบวนการผลิตต่อไป (Carlsson, 1983)

2.5.3 การตกตะกอนโปรตีน

สามารถใช้ได้ทั้งวิธีทางเคมีและกายภาพ ได้แก่การเติมกรด เกลือ สารช่วยตกตะกอน การปรับ pH การใช้ความร้อน การกรองด้วยระบบอัลทราฟิลเทรชั่น (ultrafiltration) (Byers,

1983; Castellanos et al., 1994) และการใช้สารละลายอินทรีย์ตกตะกอน (Huang et al., 1971) ทั้งนี้ขนาดของตะกอนจะแตกต่างกันไปขึ้นกับ pH ของน้ำโปรตีน ความเข้มข้นของโปรตีน และวิธีการตกตะกอน เช่นการตกตะกอนโดยใช้กรดตกตะกอนจะให้ตะกอน (curd) ที่ละเอียดและแน่นกว่าการตกตะกอนโดยใช้ความร้อน (Carlsson, 1983) สำหรับตะกอนโปรตีนที่ผลิตในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มักเป็นโปรตีนประเภทที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแยก (unfractionated protein) (Pirie, 1983) หมายถึงเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนที่แยกออกจากส่วนน้ำโดยใช้เพียงขั้นตอนการกรองผ่านตะแกรง หรือการหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ซึ่งตะกอนมีสีเขียวเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ปนอยู่ มีปริมาณโปรตีนประมาณ 50-65% โดยน้ำหนักแห้ง (Byers, 1983) ส่วนโปรตีนที่ผ่านขั้นตอนการแยก (fractionated protein) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือคลอโรพลาสติกโปรตีน (chloroplastic protein) และไซโตพลาสมิกโปรตีน (cytoplasmic protein) คลอโรพลาสติกโปรตีนเป็นโปรตีนส่วนที่มีสีเขียวปนอยู่จะตกตะกอนได้ที่อุณหภูมิ 60°C ส่วนไซโตพลาสมิกโปรตีนจะเป็นส่วนที่มีสีค่อนข้างขาวตกตะกอนได้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 80°C (Byers, 1983)

การตกตะกอนโดยเติมกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid) จะได้ตะกอนที่มีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าการตกตะกอนโดยใช้ความร้อน เนื่องจากมีกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ตกตะกอนลงมาด้วย (Singh, 1960) สำหรับการใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตตกตะกอนเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้กันมากในด้านชีวเคมี แต่ไม่เหมาะสำหรับผลิตโปรตีนเข้มข้นปริมาณมากๆ ในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้การตกตะกอนโดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์จะได้ตะกอนโปรตีนที่มีปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าการตกตะกอนโดยใช้ความร้อน (Byers, 1983) ขณะที่การทดลองใช้สารช่วยตกตะกอนพวกโพลีแอนอิออนิก (polyanionic) ได้แก่ Superfloc A150 พบว่าจะให้ผลผลิตตะกอนมากกว่าการตกตะกอนโดยใช้ความร้อน (Bray and Hamphries, 1979) สำหรับการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์นอกจากจะช่วยตกตะกอนได้แล้วยังสามารถลดรงควัตถุ (pigment) ที่จะปนมากับตะกอนได้ด้วย โปรตีนที่ได้จะมีสีน้ำตาลอ่อน มีการกระจายตัวในน้ำได้ดี แต่ค่าใช้จ่ายในการตกตะกอนด้วยวิธีนี้ยังสูงไปสำหรับการผลิตโปรตีนเข้มข้นระดับอุตสาหกรรม ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีการทดลองไว้ได้แก่อะซีโตน (Huang et al., 1971; Brown et al., 1975) และเอธานอล (Huang et al., 1971) ส่วนการตกตะกอนด้วยความร้อนเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและใช้กันมากในการตกตะกอนโปรตีนเข้มข้น (Norton, 1978; Byers, 1983) จากการตกตะกอนโดยใช้ความร้อนนี้ทำให้เห็นลักษณะเฉพาะของโปรตีนจากน้ำโปรตีนที่ได้จากพืชเขตอบอุ่น (tropical plants) ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของพืชตามอุณหภูมิในการตกตะกอนได้ 4 ลักษณะคือ Type I Type II Type III และ Type IV (Telek and Martin, 1983) Type I เป็นพืชที่โปรตีนในน้ำสกัดสามารถตกตะกอนได้เองที่อุณหภูมิห้องหลังจากตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที หรือบางชนิดใช้เวลานานมากคือประมาณ 20 ชั่วโมง

ขึ้นไป (Telek and Martin, 1983) ถ้านำส่วนน้ำที่เหลือจากการตกตะกอนไปให้ความร้อนที่ 55°C หรือ 64°C ไม่พบว่ามีโปรตีนแยกออกมาอีก และที่อุณหภูมิ 82°C มีโปรตีนจำนวนน้อยมากตกตะกอนลงมา พบลักษณะนี้ครั้งแรกในใบมันสำปะหลัง Type II เป็นพืชที่ให้ตะกอนโปรตีนส่วนที่เป็นสีเขียวได้เมื่อให้ความร้อน 55°C หลังจากนำน้ำที่เหลือหลังการตกตะกอนไปให้ความร้อนอีกครั้งที่ 82°C จะเกิดตะกอนโปรตีนทำให้สารละลายขุ่นขึ้น และยิ่งเห็นได้ชัดเจนเมื่อเติมอะซีโตนหรือเอธิลแอลกอฮอล์ลงไป พืช Type III เมื่อนำน้ำโปรตีนไปให้ความร้อนสามารถตกตะกอนได้ที่ 55°C ให้ตะกอนสีเขียว 64°C ให้ตะกอนโปรตีนสีขาว และ 82°C ให้ตะกอนโปรตีนสีค่อนข้างคล้ำ สำหรับพืชกลุ่มสุดท้ายคือ Type IV พบว่าโปรตีนในน้ำโปรตีนสกัดจะไม่สามารถตกตะกอนลงมาได้แม้จะให้ความร้อน ทั้งนี้เนื่องจากในพืชมีสารพวกที่มีเพคตินเป็นองค์ประกอบ (pectinaceus material) ทำหน้าที่ช่วยรักษาภาวะคอลลอยด์ (protective colloid) ของโปรตีนไว้ แต่อย่างไรก็ตามการตกตะกอนด้วยความร้อนทำให้โปรตีนบางส่วนถูกทำลายได้มีผลให้คุณค่าทางอาหารลดลง ดังนั้นการตกตะกอนด้วยการปรับ pH ให้เข้าใกล้จุดไอโซอิเลคตริกจึงเป็นวิธีการหนึ่งซึ่งใช้มากพอกับการให้ความร้อน รวมทั้งใช้ในทางการค้าด้วย (De Jong, 1982) ซึ่งบางงานวิจัยมีการใช้การปรับ pH ร่วมกับความร้อน (Ostrowski-Meissner, 1983) ซึ่งแม้การปรับ pH จะให้ตะกอนโปรตีนมากแต่ตะกอนจะไม่เกาะกันแน่นเก็บตัวอย่างได้ยาก ทำให้โปรตีนสูญเสียไประหว่างกระบวนการผลิต ขณะที่การใช้ความร้อน ตะกอนที่ได้จะติดกับภาชนะมากเกินไป ดังนั้นในทางการค้าจึงมีการใช้สารเคมีช่วยในการตกตะกอนระหว่างการปรับ pH ลักษณะโปรตีนที่ได้จะเกาะกันแน่นแต่ไม่ติดภาชนะ ทำให้ได้โปรตีนมากขึ้น สารที่มีการใช้ได้แก่กลูตาราลดีไฮด์ (glutaraldehyde) (De Jong, 1982) สำหรับการแยกตะกอนโปรตีนโดยใช้เทคนิคอัลทราฟิลเทรชั่น แม้จะลดความเสี่ยงที่โปรตีนจะเสียสภาพเพราะความร้อน แต่ค่าใช้จ่ายในการลงทุนยังสูง (Ostrowski-Meissner, 1983; Woodham, 1978; Castellanos et al., 1994)

2.5.4 การทำแห้งโปรตีนเข้มข้น

ตะกอนโปรตีนที่แยกออกมาได้อาจไม่ต้องผ่านการทำแห้ง สามารถเก็บรักษาโดยการเติมเกลือหรือกรดหรือบรรจุกระป๋อง นำไปใช้ได้ทันที แต่อายุการเก็บจะสั้นกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้ง (Arkcoll, 1973) แต่ละวิธีการทำแห้งสำหรับโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังนอกจากจะมีผลต่อคุณค่าทางอาหารแล้ว ยังมีผลต่อการลดปริมาณไซยาไนด์ที่ยังหลงเหลือในตะกอนโปรตีนด้วย โดยงานวิจัยของ Fafunso และBassir (1976) ได้เปรียบเทียบวิธีการทำแห้งต่าง ๆได้แก่ การพักไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ตากแดด อบแห้ง และทำแห้งระบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) พบว่าแต่ละวิธีสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ลงได้ 80-96% เทียบกับโปรตีนที่ยังไม่ผ่านการทำแห้ง

2.6 คุณค่าทางอาหารของโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลัง

การบริโภคใบมันสำปะหลังโดยตรงจะมีข้อจำกัดในแง่การได้รับคุณค่าทางอาหารเนื่องจากจะได้รับเส้นใยจากพืชเป็นปริมาณมากพร้อมกันไปด้วย ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยและนำสารอาหารไปใช้ได้เต็มที่ ยิ่งไปกว่านั้นในใบมันสำปะหลังยังมีสารพิษได้แก่ไซยาไนด์ และสารที่จำกัดคุณค่าทางอาหารได้แก่แทนนิน รวมทั้งมีกลิ่นรสไม่เป็นที่ยอมรับ แม้ว่าจะมีปริมาณโปรตีนสูง มีวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด ได้แก่ วิตามินเอ บี ซี และอี ธาตุเหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส และโปตัสเซียม เป็นต้น (Ravindran,1993; Castellanos et al., 1994) ในการนำใบมันสำปะหลังมาสกัดโปรตีนและตกตะกอนเป็นโปรตีนเข้มข้น Fafunso และ Oke (1976) พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สกัดได้จากใบมันสำปะหลัง 15 พันธุ์ จะประกอบด้วยไนโตรเจนที่มาจากโปรตีนอยู่ 74-80% ของไนโตรเจนทั้งหมด หรือประมาณ 2 ใน 3 ส่วน ขณะที่ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนจะประกอบด้วยสารประกอบหลายประเภท เช่นแอมโมเนีย ไนเตรต อัลคาร์ลอยด์ ยูเรีย กรดนิวคลีอิก เอไมด์และอื่นๆเป็นต้น นอกจากนี้พบว่าในโปรตีนเข้มข้นจะมีแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) เป็นรงควัตถุปนอยู่ หากใช้เลี้ยงไก่จะทำให้ไข่แดงที่ได้จากไก่มีสีสดเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภค (Yoshida and Hoshii, 1980; Byers, 1983)จึงมีการผลิตโปรตีนเข้มข้นขึ้น เพื่อดึงคุณค่าทางอาหารมาใช้ให้เต็มที่

สำหรับอาหารโปรตีนชนิดใดก็ตามแม้ว่าจะมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดสูง แต่ถ้าคุณภาพของโปรตีนต่ำก็จะต้องบริโภคอาหารโปรตีนนั้นมากขึ้นเพื่อให้ร่างกายสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและให้โปรตีนทำหน้าที่ได้อย่างเต็มที่ ซึ่งความแตกต่างของคุณภาพโปรตีนในอาหารโปรตีนแต่ละประเภทขึ้นอยู่กับปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหารชนิดนั้น (Hegsted, 1983) ทั้งนี้กรดอะมิโนในอาหารซึ่งมีประมาณ 20-22 ตัว สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) กรดอะมิโนกึ่งจำเป็น (semi-essential amino acid) และกรดอะมิโนที่ร่างกายสังเคราะห์เองได้ (non-essential amino acid) กรดอะมิโนจำเป็นได้แก่ ไอโซลิวซีน (isoleucine) ลิวซีน (leucine) ไลซีน (lysine) เมทไธโอนีน (methionine) เฟนีลอลานีน (phenylalanine) ทรีโอนีน (threonine) ทริปโทฟาน (tryptophan) วาลีน (valine) และฮีสทิดีน (histidine) สำหรับกรดอะมิโนกึ่งจำเป็นได้แก่ซีสทีน (cystine) และไธโรซีน (tyrosine) การจัดกรดอะมิโน 2 ชนิดอยู่ในกลุ่มนี้เนื่องจากการที่ร่างกายได้รับซีสทีนทำให้ความต้องการเมทไธโอนีนลดลง และการได้รับไธโรซีนทำให้ความต้องการเฟนีลอลานีนลดลง สำหรับอลานีน (alanine) อาร์จีนีน (arginine) กรดแอสปาติก (aspartic acid) ซีสเทอีน (cysteine) ไกลซีน (glycine) กรดกลูตามิก (glutamic acid) ไฮดรอกซีไลซีน (hydroxylysine) โปรลีน (proline) และซีรีน (serine) จัดเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสังเคราะห์

เองได้ (Wenck, Baren and Dewan, 1980) และจากปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่มีอยู่สามารถประเมินคุณค่าทางอาหารของโปรตีนได้ โดยคำนวณเป็นร้อยละปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นเทียบกับปริมาณกรดอะมิโนชนิดเดียวกันจากค่ามาตรฐาน เรียกว่า Chemical Score ซึ่งถ้ามีค่าน้อยที่สุดแสดงว่ากรดอะมิโนชนิดนั้นเป็นกรดอะมิโนที่จำกัด (limiting amino acid) (Woodham, 1978) แม้ว่ากรดอะมิโนจำเป็นตัวอื่นจะมีค่ามากกว่าค่ามาตรฐาน แต่ความสามารถในการใช้งานและสังเคราะห์โปรตีนสำหรับร่างกายจะถูกจำกัดไปด้วย (Wenck et al., 1980)

จากงานวิจัยของ Wallace (1973) พบว่าส่วนใหญ่ไลซีน และกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบได้แก่เมทไธโอนีน (methionine) และซีสทีน (cystine)มักเป็นกรดอะมิโนที่เป็นตัวจำกัด และการแยกโปรตีนในกระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นเป็นขั้นตอนที่มีผลกระทบต่อปริมาณกรดอะมิโนบางชนิดในผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้แก่ไลซีน (lysine) (Byers, 1971) แต่การเติมกรดอะมิโนประเภทที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบลงไปเสริมในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจะช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการได้ดียิ่งขึ้นมากกว่าการเติมไลซีน (Wallace, 1973) ดังนั้นการใช้เป็นอาหารเสริมทั้งสำหรับคนและสัตว์ ควรเติมกรดอะมิโนดังกล่าวหรือผสมกับเมล็ดพืชบางชนิดเช่นงา ซึ่งมีเมทไธโอนีนสูงด้วย (Broderrick, 1975; Castellanos et al., 1994)

2.7 <u>สมบัติด้านการใช้งาน (functional properties) ของโปรตีนเข้มข้น</u>

สมบัติด้านการใช้งาน หมายถึงสมบัติอื่นๆของสารนอกเหนือจากคุณค่าทางอาหาร ซึ่งเป็นสมบัติที่มีผลต่อการนำโปรตีนนั้นไปใช้งานต่อไป (Pour-El, 1979) การแบ่งประเภทของสมบัติทางกายภาพของโปรตีนแตกต่างกันไปในแต่ละงานวิจัย สำหรับ Briskey (1970) และ Kinsella (1976) ได้แบ่งสมบัติด้านการใช้งานที่มีความสำคัญต่อการใช้ในอาหารดังนี้

- สมบัติทางประสาทสัมผัส (Sensory properties) เช่นสี กลิ่นรส (flavor) และรสชาติ (taste)
- สมบัติด้านไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic properties) เช่นการละลายของโปรตีน (protein solubility) การดูดซับน้ำ (water absorption) และการเกิดโฟม (foaming)
- สมบัติเกี่ยวกับไฮโดรฟิลิก-ไฮโดรโฟบิก (Hydrophilic-hydrophobic properties) เช่นการร่วมตัวกับไขมัน (fat-binding) และการเกิดอิมัลชัน (emulsification)
- สมบัติด้านเนื้อสัมผัส (Textural properties) เช่น ความนุ่ม (softness) ความแข็ง (hardness) และความยืดหยุ่น (elasticity)

ขณะที่ Pour-El (1979) แบ่งสมบัติการใช้งานเป็น 5 กลุ่มดังนี้

- ไฮโดรฟิลิก (Hydrophillic) เกี่ยวข้องกับการจับตัวของโปรตีนกับน้ำ ได้แก่การเกิดโฟม (foaming) การตีให้ขึ้นฟู (whipping) การจับน้ำ (water binding) ลักษณะเหนียวติดภาชนะ (stickiness) และลักษณะที่สามารถทำให้เปียกได้ (wetting)

- ไฮโดรฟิลิก-ไฮโดรโฟบิก (Hydrophillic-hydrophobic) มีอิทธิพลมาจากการที่โมเลกุลโปรตีนมีทั้งขั้วบวกและลบ สมบัติเหล่านี้ได้แก่ การเกิดอิมัลชัน (emulsification) การดูดซึมน้ำมัน (fat absorption) และการอุ้มน้ำมัน (fat holding)

- ปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล (Intermolecular interactions) เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนในภาวะปกติ ได้แก่การเกิดฟิล์ม (film formation) การตีให้ขึ้นฟู (whipping) ความหนืด (viscosity) การเกิดโด (dough formation) และการถูกเกลี่ยให้กระจาย (spreading)

- ปฏิกิริยาที่เกี่ยวกับความร้อน (Thermal interaction) เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนเมื่อได้รับพลังงานความร้อน ได้แก่ การเกิดเส้นใย (fiber formation) ความหนืด การเกิดเจล (gelatin) การเกิดฟิล์ม ความยืดหยุ่น และเนื้อสัมผัส (texture)

- อิทธิพลเฉพาะ (Specific effect) เกี่ยวข้องกับลักษณะเฉพาะของโมเลกุล เช่น เสถียรภาพ (stabilities) และกลิ่นรสเป็นต้น

การศึกษาสมบัติด้านการใช้งานของโปรตีนจากพืชจะทำให้ทราบว่าโปรตีนที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการต่าง ๆมีสมบัติอย่างไรและช่วยในการประเมินความเป็นไปได้ในการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ผสมในอาหารที่มีองค์ประกอบอื่น ๆอยู่ในระบบ (Schoen, 1977; Knorr, 1983) ในกรณีโปรตีนเข้มข้นจากวัตถุดิบที่เป็นของเหลือไม่ได้ใช้ประโยชน์จากการเก็บเกี่ยวหรือจากกระบวนการอาหาร ซึ่งต้องไม่เน่าเสียเช่นส่วนใบที่ติดอยู่กับหัวแครอทหรือหัวบีท ใบผักกาดที่คุณภาพไม่ได้มาตรฐานในการผลิต ใบพืชที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์เช่นใบมันสำปะหลังเป็นต้น พบว่ามีสมบัติด้านการใช้งานไม่ค่อยเหมาะสม เนื่องจากควบคุมคุณภาพวัตถุดิบไม่ได้ ซึ่งถ้าใช้ในระดับอุตสาหกรรมอาจยังไม่คุ้มค่าในการลงทุนตั้งกระบวนการปรับปรุงสมบัติด้านการใช้งานต่อจากกระบวนการผลิตที่มีอยู่ แต่จะแก้ปัญหาโดยหลีกเลี่ยงภาวะการผลิตที่ทำให้สมบัติด้านการใช้งานเสียไปมาก เช่นการหาวิธีตกตะกอนและทำแห้งที่เหมาะสมเพื่อให้สมบัติการละลาย การดูดซับน้ำและการเกิดอิมัลชันดีขึ้น เป็นต้น (Knorr, 1983) สำหรับสมบัติสำคัญด้านการใช้งานที่เป็นประโยชน์ในการนำไปใช้กับอาหารซึ่ง Wang และ Kinsella (1976A, 1976B) ได้ศึกษาในผลิตภัณฑ์โปรตีนเข้มข้นจากใบอัลฟัลฟ่าได้แก่ สมบัติด้านการละลาย (solubility) ความหนาแน่น (bulk density) การดูดซับน้ำ (water absorption) การเกิดโฟม (foaming activity) เสถียรภาพของโฟม (foam stability) การดูดซับน้ำมัน (fat absorption) การเกิดอิมัลชัน (emulsifying activity) และเสถียรภาพของอิมัลชัน (emulsion stability)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การละลายของโปรตีนขึ้นอยู่กับ pH กำลังอิออนิก (ionic strength) สมบัติของตัวทำละลาย และอุณหภูมิ (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538; Bohinski, 1976) ทั้งนี้โปรตีนจะมีการละลายน้อยที่สุดที่จุดไอโซอิเลคตริก (isoelectric point) เนื่องจากจุดนี้โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ เกิดการตกตะกอนลงมาได้และตะกอนนั้นจะยังมีโครงสร้างดั้งเดิมอยู่ (native conformation) สำหรับเกลือที่มีความเป็นกลางเช่นโซเดียมคลอไรด์ โปตัสเซียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคลอไรด์ แมกนีเซียมคลอไรด์ และแมกนีเซียมซัลเฟต เป็นต้น ที่ความเข้มข้นต่ำๆ จะทำให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นได้เรียกว่าเกิด salting-in เนื่องจากกำลังอิออนิกของเกลือที่ทำให้เกิดการกระจายตัวของประจุบวกและลบในสารละลาย โดยอิออนของเกลือที่มีโมเลกุลของน้ำเกาะติดอยู่ด้วยจะเข้าล้อมรอบกรดอะมิโนที่มีประจุจึงทำให้โปรตีนละลายได้ดีซึ่งเกลือที่ให้ประจุบวกมากกว่าหนึ่งจะมีประสิทธิภาพสูงกว่า แต่ถ้าความเข้มข้นของเกลือสูงเกินไปคือประมาณ 0.3M ขึ้นไป การละลายจะลดลงและสามารถทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ เรียกว่าเกิด salting-out (ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, 2530; Lehninger, 1975) ส่วนอิทธิพลที่เกี่ยวกับสมบัติของตัวทำละลายพบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอธานอลและอะซิโตนที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำ จะลดการละลายของโปรตีนลงได้เนื่องจากจะช่วยเพิ่มแรงดึงดูด (attractive force) ระหว่างประจุตรงข้ามกันทำให้การแตกตัว (ionization) ของประจุบนโปรตีนลดลง (Lehninger, 1975) นอกจากนี้กรดอะมิโนที่ประกอบเป็นโปรตีนก็มีผลให้การจับตัวของน้ำกับโปรตีนต่างกันได้ โดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มได้แก่กรดอะมิโนที่มีขั้ว (polar) มักพบอยู่ผิวนอกของโมเลกุลโปรตีนเพราะชอบน้ำ (hydrophillic) ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งไม่มีขั้ว (non-polar) มักอยู่ภายในโมเลกุลโปรตีนเพราะไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) กรดอะมิโนที่เหลือมีลักษณะเป็นกลาง (ambivalent) พบได้ทั้งภายในและภายนอกโมเลกุลโปรตีน ถ้าโปรตีนมีกรดอะมิโนที่มีขั้วอยู่จำนวนมากจะจับกับน้ำได้ดี หากเป็นชนิดไม่มีขั้วจำนวนมากจะจับกับน้ำได้น้อยกว่า ทั้งนี้ในกรณีที่โปรตีนถูกความร้อนและเกิดเสียสภาพ (denature) คือมีการคลายตัวของโครงสร้างเดิม ส่วนที่ไม่ชอบน้ำซึ่งเคยอยู่ภายในโมเลกุลจะพลิกออกมาอยู่ภายนอกมากขึ้นเป็นผลให้การละลายของโปรตีนลดลงด้วย (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538; Lehninger, 1975; Bohinski, 1976; Knorr, 1983; Whitaker, 1983)

นอกจากกรดอะมิโนที่ชอบน้ำจะมีผลต่อการละลายของโปรตีนแล้วยังมีผลต่อการดูดซับน้ำและการเกิดโฟมด้วย (Briskey, 1970; Kinsella, 1976; Pour-El, 1979) ซึ่งพันธะไฮโดรเจนระหว่างน้ำกับโปรตีนเมื่อจับตัวกันเกิดจากกลุ่มไนโตรเจนและออกซิเจนที่มีอิเลคตรอนอิสระ 1 คู่ (unshared electron) นอกจากนี้ยังมีออกซิเจนที่อยู่ในกลุ่มคาร์บอนิล (-CO) หรือกลุ่มคาร์บอกซิล (-COO) ด้วย (Fennema, 1977) สำหรับความสามารถในการเกิดโฟมจะลดลงเมื่อสัดส่วนของกรดอะมิโนไม่มีขั้วมีสูงมากขึ้น เช่นกรณีที่โปรตีนโดนความร้อนและเสียสภาพ แต่การตกตะกอนของโปรตีนเมื่อถูกความร้อนทำให้ผนังฟองแข็งแรงขึ้นได้

โฟมจึงมีความอยู่ตัวมากขึ้น (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) แต่อย่างไรก็ตามในกรณีที่ในผลิตภัณฑ์มีไขมันปนอยู่มากจะสามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของไขมันกับโปรตีน (lipoprotein complex) ซึ่งลดการดูดซับน้ำและลดการแผ่กระจายตัวของโปรตีนที่พื้นผิว นอกจากนี้ยังทำลายแรงยึดเหนี่ยว (cohesive force) ระหว่างชั้นของโปรตีนที่ล้อมรอบอากาศไว้ โฟมจึงยุบตัวอย่างรวดเร็วได้ (Wang and Kinsella, 1976B) ขณะที่ Buckingham (1970) รายงานว่าการเกิดโฟมและความแข็งแรงของโฟมของโปรตีนเข้มข้นจากใบ clover จะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออยู่ในช่วง pH แคบ ๆสูงกว่าจุดไอโซอิเลคตริกเล็กน้อย

การดูดซับน้ำมันนอกจากจะเกี่ยวข้องกับสัดส่วนของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำแล้ว (Pour-El, 1979) จากงานวิจัยของ Wang และ Kinsella (1976A) พบว่ามีความสัมพันธ์กับค่าความหนาแน่นของโปรตีนด้วย ถ้าค่าความหนาแน่นสูงจะมีค่าการดูดซับน้ำมันสูงซึ่งความหนาแน่นนี้จะมีค่าสูงเมื่อน้ำที่มีในตัวอย่างก่อนทำแห้งมีปริมาณน้อย สำหรับการเกิดอิมัลชันเป็นผลมาจากการดูดซับโมเลกุลโปรตีนไว้บนผิวของเม็ดน้ำมัน โดยกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วไม่มีขั้วจะทำให้โปรตีนสามารถเกาะอยู่บนผิวของเม็ดน้ำมันได้ดีและหันส่วนที่มีขั้วออกสัมผัสกับน้ำ ดังนั้นถ้าโปรตีนมีส่วนของกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วอยู่มากจึงเกิดอิมัลชันได้ดีแต่โปรตีนดังกล่าวควรละลายน้ำได้ดีด้วย (ณรงค์ นิยมวิทย์) อย่างไรก็ตามระหว่างการให้ความร้อนจะทำให้ฟิล์มที่เกิดจากโปรตีนอ่อนแอและถูกทำลายได้ เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพเป็นผลให้เสถียรภาพของอิมัลชันลดลง ทั้งนี้การเพิ่มปริมาณโปรตีนสามารถช่วยเพิ่มเสถียรภาพของอิมัลชันได้ เนื่องจากจะไปเสริมความหนาและความแข็งแรงให้ชั้นของฟิล์ม (Wang and Kinsella, 1976A)

2.8 <u>การเพิ่มผลผลิตโปรตีนเข้มข้น</u>

ปริมาณผลผลิตโปรตีนเข้มข้นที่ได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักคือ วัตถุดิบและประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตที่เหมาะสม เพื่อให้คุ้มค่าในการผลิต (Kinsella, 1979)

2.8.1 ปัจจัยเกี่ยวกับวัตถุดิบ

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตได้แก่ ชนิดของพืช พันธุ์ อายุ องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพของพืช ฤดูกาล สภาพแวดล้อม และการดูแลรักษา (Kinsella, 1979; Pisulewska, 1991) ถ้าต้องใช้วัตถุดิบที่มีราคาแพงก็จะเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต หากพิจารณาการใช้วัตถุดิบที่เป็นส่วนของพืชซึ่งปกติไม่ได้ใช้ประโยชน์ แม้ไม่สามารถเลือกให้ได้ปัจจัยที่มีความเหมาะสมต่อการผลิต แต่ก็เป็นการใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ ไม่ให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหารที่ยังหลงเหลืออยู่ (Vinconneau, 1979; Knorr, 1983)

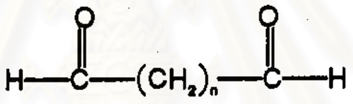
2.8.2 ปัจจัยที่เกี่ยวกับกระบวนการผลิต

กระบวนการที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตโปรตีนเข้มข้นได้แก่ การสกัด การตกตะกอน และการทำแห้ง (Kinsella, 1979) สำหรับในขั้นตอนการสกัดจะมีผลมากต่อผลผลิตที่ได้ ทั้งนี้ในการทำให้เซลพืชและคลอโรพลาสต์แตกอย่างทั่วถึงและมากพอส่วนใหญ่จะใช้แรงทางกลเช่นใช้เครื่องปั่นธรรมดา (blender) ซึ่งแม้ว่าความเร็วสูงๆจะทำให้ได้โปรตีนออกมามากแต่ก็ใช้พลังงานมากเช่นกัน จึงมีการออกแบบเครื่องมือทางกล เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในขั้นตอนการสกัดให้มากขึ้น (Norton, 1978; Addy et al., 1983) เช่นเครื่องเอ็กซ์ทรูดเดอร์ (extruder) (Davys and Pirie, 1969) hammermill-roller press หรือใช้ระบบ screw expeller ที่มีการดัดแปลงให้เหมาะสมสามารถสกัดน้ำโปรตีนจากวัตถุดิบได้มากถึง 2 กิโลกรัม ภายใน 1 นาที โดยใช้ร่วมกับเครื่องคั้นน้ำ อัดกากที่บดแล้วจนเป็นชั้นหนาน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร (Butler and Pirie, 1981) และการใช้ colloid mill (Hopkins, 1991) นอกจากนี้ยังมีเครื่องมือที่ออกแบบเฉพาะสำหรับผลิตโปรตีนเข้มข้นปริมาณมากๆ เรียกว่า IBP pulper และ IBP press (Davys and Pirie, 1969; Davys et al., 1969) โดย IBP pulper มีส่วนที่ใช้ตีเป็นทรงกระบอกวางเรียงกัน 6 แถว เป็นคู่อยู่ตรงข้ามกัน แต่ละทรงกระบอกจะมีใบตีติดอยู่ 58 ใบ ส่วน IBP press จะติดตั้งต่อจาก IBP pulper ลักษณะเป็นแผ่นโลหะ 2 แผ่น เซาะร่องเป็นเหลี่ยม เมื่อแผ่นล่างกับบนประกบกันร่องที่เซาะไว้จะสบกันพอดี การอัดใบจะทำในแนวดิ่ง โดยมีกรวยติดตั้งต่อจากรอยต่อด้านข้างของแผ่นเหล็กที่ใช้อัดเพื่อเป็นทางนำน้ำโปรตีนออกมา จะเห็นว่าเครื่องมือแต่ละชนิดจะมีหน้าที่หลักในการลดขนาดของวัตถุดิบและคั้นน้ำโปรตีนออกมา มีส่วนทำให้ประสิทธิภาพในการผลิตมากขึ้น (Ream et al., 1983)

การตกตะกอนโปรตีนเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป ได้แก่วิธีการให้ความร้อน การปรับ pH หรือการเติมกรด สำหรับวิธีการที่ปรับปรุงเพื่อให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ได้แก่การเติมสารพวกโพลีอิเลคโตรไลท์ (polyelectrolytes) สารที่ช่วยให้เกิดการรวมตัวเป็นตะกอน (flocculant) ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว การใช้ไฟฟ้า voltage ต่ำ การกรองผ่านเมมเบรน (Pandey and Srivastava, 1993; Castellanos et al., 1994) วิธีการที่น่าสนใจอีกวิธีหนึ่งคือการตกตะกอนโดยใช้จุลินทรีย์ซึ่ง Pandey and Srivastava (1993) ทดลองตกตะกอนโปรตีนเข้มข้นจาก *Medicago polymorpha L.* โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และใช้เชื้อผสมระหว่าง *Latobacillus acidophilous* กับ *Streptococus lactis* ปรากฏว่าสามารถเพิ่มผลผลิตได้ และโปรตีนเข้มข้นนั้นมีกลิ่นรสดีกว่าการตกตะกอนวิธีอื่น แต่ยังเหมาะสำหรับการผลิตปริมาณน้อยๆเท่านั้น สำหรับการตกตะกอนโดยการปรับ pH และใช้สารเคมีประเภทที่ช่วยให้เกิดพันธะติดกัน

(crosslinking) มีการใช้ทางการค้าสำหรับวัตถุดิบคือใบอัลฟัลฟา (alfalfa) สารเคมีดังกล่าวได้แก่กลูตาราลดีไฮด์ (De Jong, 1982)

กลูตาราลดีไฮด์เป็นสารประเภทมีจุดเกิดพันธะได้สองตำแหน่ง (bifunctional crosslinking agent) ลักษณะใสไม่มีสี กลิ่นฉุน ละลายน้ำได้ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่น การตรึงรูปเอนไซม์ การช่วยให้เกิดพันธะ (crosslinking agent) ในการทำ microencapsulate สำหรับสารให้กลิ่นรส ใช้ป้องกันจุลินทรีย์ และใช้ในกระบวนการบดน้ำตาล กลูตาราลดีไฮด์ที่ใช้สำหรับอาหารได้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วง 15-50% (Committee on Food Chemicals Codex, 1996) นอกจากนี้มีการใช้สารนี้ช่วยตกตะกอนโปรตีนเข้มข้นร่วมกับการปรับ pH แล้วในทางการค้า ซึ่งวัตถุดิบคือใบอัลฟัลฟา และไม่มีรายงานถึงผลเสียในการใช้ในงานลักษณะนี้ ถ้าใช้ในปริมาณที่เหมาะสม (Mangan et al., 1980; De Jong, 1982) สูตรโครงสร้างโดยทั่วไปคือ



กลูตาราลดีไฮด์สามารถก่อพันธะระหว่างโปรตีนโมเลกุลได้ โดยกลุ่มที่ทำปฏิกิริยากับกลูตาราลดีไฮด์ได้ดีที่สุดคือหมู่อะมิโนบนพื้นผิวของโปรตีนโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากไลซีน (Hopwood, 1969) ซึ่งใช้กลูตาราลดีไฮด์ 4 โมล ต่อไลซีนกับไฮดรอกซีไลซีน 1 โมล (Korn, Feairheller and Filachione, 1972) การทำงานของกลูตาราลดีไฮด์ให้ผลดีโดยสรุป (De Jong, 1982) คือ

1. ช่วยให้ตกตะกอนสมบูรณ์ในระยะเวลาสั้น
2. สามารถดึงโปรตีนออกมาได้เป็นส่วนใหญ่จากปริมาณโปรตีนเริ่มต้น
3. ไม่มีปัญหาในการย่อย คือโปรตีนที่เชื่อมกับกลูตาราลดีไฮด์จะย่อยง่ายกว่าโปรตีนที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับสารประกอบฟีนอลิกในระบบตามธรรมชาติ
4. การจับตัวกันทำให้ตะกอนมีลักษณะเกาะกันแน่น มีขนาดใหญ่ และไม่ติดกับภาชนะมาก จึงเก็บตัวอย่างได้ง่าย ลดการสูญเสียระหว่างกระบวนการ
5. แยกส่วนน้ำใสออกได้ง่ายด้วยวิธีการทั่วๆไป เช่น กรอง และหมุนเหวี่ยง
6. ทำให้โปรตีนที่จับกันเป็นตะกอนมีการเชื่อมกับสารประกอบฟีนอลิกน้อยมาก หรือไม่มีโอกาสเชื่อมกันเลยเมื่อเทียบกับการปรับ pH อย่างเดียว วิธีใช้จะเติมก่อนการปรับ pH ให้ตกตะกอน ป้องกันไม่ให้เกิดการจำกัดคุณค่าทางอาหารได้

ทั้งนี้การเกิดปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่พอดีกันของกลูตาราลดีไฮด์กับความเข้มข้นของโปรตีน (Hopwood,1969 and Siebert et al., 1996) กล่าวคือถ้าจำนวนตำแหน่ง

ที่เกิดปฏิกิริยา (reactive site) พอดีกันก็จะสามารถก่อเป็นร่างแห (net work) แข็งแรง ให้อนุภาคขนาดใหญ่ และตกตะกอนออกมาได้ดี แต่ถ้าไม่พอดีกันประสิทธิภาพในการจับโปรตีนจะด้อยลง อนุภาคตะกอนจะเล็ก และตกตะกอนได้ยากกว่า เมื่อใดก็ตามที่มีการก่อพันธะกันจนทั่วถึงแล้วการเพิ่มปริมาณกลูตาราลดีไฮด์ลงไปอีกก็จะไม่ช่วยเพิ่มผลผลิต (yield) มากกว่าเดิม เนื่องจากโปรตีนไม่เหลือตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยามาให้จับอีก (Hopwood, 1969; De Jong, 1982; Siebert et al., 1996)

ความสัมพันธ์ของการทำแห้งกับการเพิ่มผลผลิตจะถูกพิจารณาในแง่การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์และการสูญเสียคุณค่าทางอาหาร วิธีการทำแห้งสำหรับโปรตีนเข้มข้นมีหลายวิธีด้วยกัน ส่วนใหญ่จะเป็นการอบแห้งซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมที่สะดวกและไม่ต้องลงทุนสูง แต่พบว่าทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหาร เช่นวิตามิน และโปรตีนได้ (Vinconneau, 1979) ทั้งนี้การทำแห้งระบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณค่าทางอาหารหลงเหลืออยู่มากกว่าการทำแห้งวิธีอื่น แต่ค่าใช้จ่ายในการลงทุนจะสูง (Holden, 1983) ถ้าไม่มีกระบวนการทำแห้งแต่เก็บรักษาด้วยวิธีอื่นเช่นเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แก่ กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) โซเดียมเบนโซเอท (sodium benzoate) และโซเดียมซอร์เบท (sodium sorbate) หรือใช้การแช่แข็งไว้ อาจช่วยยืดอายุการเก็บได้ระยะหนึ่งซึ่งไม่สามารถเก็บได้นานเท่าการทำแห้ง (Hanczakowski, 1983)

2.9 <u>ความแข็งแรงของผนังเซล</u>

2.9.1 องค์ประกอบของผนังเซล

ผนังเซลมีองค์ประกอบที่ให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลที่แบ่งได้เป็น 2 เฟส คือไมโครไฟบริลลา (microfibrilla phase) และแมทริกซ์เฟส (matrix phase) (Brett and Waldron, 1990; Salisbury and Ross, 1992) ไมโครไฟบริลลาประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นเส้นใยบาง มีความยาวมากเรียกว่า ไมโครไฟบริล (microfibrils) มีความกว้างสม่ำเสมอตลอดเส้นประมาณ 10 nm ในเซลพืชที่โตเต็มที่ และ 20 nm ในสาหร่ายบางประเภท แต่ถ้าพืชยังอ่อนอยู่จะมีความกว้างประมาณ 3 nm แต่ละเส้นของไมโครไฟบริลประกอบด้วยเซลลูโลส 30-100 โมเลกุล เรียงต่อกันและคงรูปร่างอยู่ในลักษณะโครงผลึกเรียกว่าพาราคริสตอลไลน์ (paracrystalline lattice) เสถียรภาพของโครงสร้างนี้เกิดจากพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล สามารถทำให้สลายตัวได้ หากใช้เอนไซม์หรือแรงทางกลขณะวิเคราะห์ (Brett and Waldron, 1990) เส้นใยเซลลูโลสจะแข็งไม่มีสี ดูดซึมน้ำได้ดี ไม่ละลายน้ำ เป็น

องค์ประกอบหลักในผนังเซลที่ให้ความแข็งแรงและคงรูปร่างเซลไว้ (Brown, 1935; Brett and Waldron, 1990)

แมทริกซ์เป็นส่วนที่เชื่อมเส้นใยให้ติดแน่นแข็งแรงในผนังเซล มีองค์ประกอบหลายประเภทได้แก่ เพคติน เฮมิเซลลูโลส โปรตีน และสารประกอบฟีนอลิก ส่วนเพคตินประกอบด้วยกลุ่มของน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ (polysaccharides) หลายประเภทส่วนใหญ่ได้แก่กรดกาแลคตูโรนิก (galacturonic acid) แรมโนส (rhamnose) อราบิโนส (arabinose) และกาแลคโตส (galactose) อยู่ในเซลพืชใบเลี้ยงคู่ทั้งในชั้นสารเชื่อมระหว่างเซล (middle lamella) และผนังเซลชั้นแรก (primary wall) มีความไวต่อการสลายตัวแม้ภายใต้ภาวะไม่รุนแรงซึ่งตามธรรมชาติมักพบในรูปที่เกาะกับสารประกอบฟีนอลิก เซลลูโลส และโปรตีนในเซล ส่วนเฮมิเซลลูโลสได้แก่ไซแลน (xylan) กลูโคแมนแนน (glucomannan) และไซโลกลูแคน (xyloglucan) จะก่อพันธะไฮโดรเจนกับเซลลูโลสอย่างแข็งแรง หากต้องการสกัดออกมาวิเคราะห์ต้องใช้สารละลายด่างช่วยในการละลาย พืชแต่ละชนิดจะมีเฮมิเซลลูโลสที่มากที่สุดหนึ่งตัวนอกนั้นจะมีปริมาณน้อยกว่า สำหรับโปรตีนและไกลโคโปรตีน (glycoprotein) พบหลายชนิดในผนังเซลโดยกรดอะมิโนในผนังเซลส่วนใหญ่จะเป็นไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) ถึงประมาณ 40% ที่เหลือเป็นซีรีนและไลซีน ซึ่งปกติไม่พบในโปรตีนจากโปรโตพลาส ไกลโคโปรตีนที่พบเป็นตัวหลักเรียกว่าเอกซ์เทนซิน (extensin) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 มีโปรตีน 40-50% ไม่ละลายน้ำ มีอยู่ในส่วนแมทริกซ์ในผนังเซลตั้งแต่ 1-10% (Fry, 1986) เชื่อมด้วยพันธะโควาเลนท์ระหว่างเซล (intermolecular covalent bridge) และภายในผนังเซล (intramolecular covalent bridge) สารประกอบฟีนอลิกในพืชมีหลายชนิดเช่นแทนนิน ลิกนิน และกรดเฟอร์รูริก (ferruric acid) เป็นต้น ชนิดที่พบว่ามีความสำคัญต่อการให้ความแข็งแรงของเซลพืชได้แก่ลิกนิน (lignin) ซึ่งเป็นสารชนิดไม่ชอบน้ำพบมากในผนังเซลชั้นที่สองของเซลที่แก่จัด พืชที่มีลิกนินสะสมอยู่หนามากพบว่าส่วนโปรโตพลาสต์จะแห้งไป เช่นในส่วนท่อลำเลียงของเนื้อไม้ นอกจากลิกนินแล้ว กรดเฟอร์รูริกก็มีความสำคัญต่อความแข็งแรงของเซลโดยจะก่อพันธะเอสเทอร์กับอราบิโนสและกาแลคโตสซึ่งเป็นส่วนของเพคติน (Brett and waldron, 1990)

2.9.2 พันธะในผนังเซล

จากการวิจัยของ Fry (1986) ได้ทดลองใช้ภาวะต่างๆ และใช้สารเคมีสำหรับแยกพันธะ (cleaving agent) เพื่อศึกษาพันธะในผนังเซล สรุปได้ว่าพันธะที่เป็นไปได้ซึ่งทำให้โพลีเมอร์ต่างๆในผนังเซลเชื่อมอยู่ด้วยกันได้มีดังนี้

- พันธะไฮโดรเจน ระหว่างเซลลูโลส-เซลลูโลส ไซโลกลูแคน-เซลลูโลส ไซแลน-เซลลูโลส

- สะพานแคลเซียม (Calcium bridges) ระหว่างโฮโมกาแลคตูโรแนน - โฮโมกาแลคตูโรแนน (homogalacturonan-homogalacturonan)

- พันธะอิออนิก ระหว่าง เอกซ์เทนซิน-เพคติน

- พันธะระหว่างฟีนอลด้วยกัน (Coupled phenols) ระหว่าง เอกซ์เทนซิน-เอกซ์เทนซิน เพคติน-เพคติน อราบิโนไซแลน-อราบิโนไซแลน (arabinoxylan-arabinoxylan)

- พันธะเอสเทอร์ ระหว่างเพคติน-เซลลูโลส

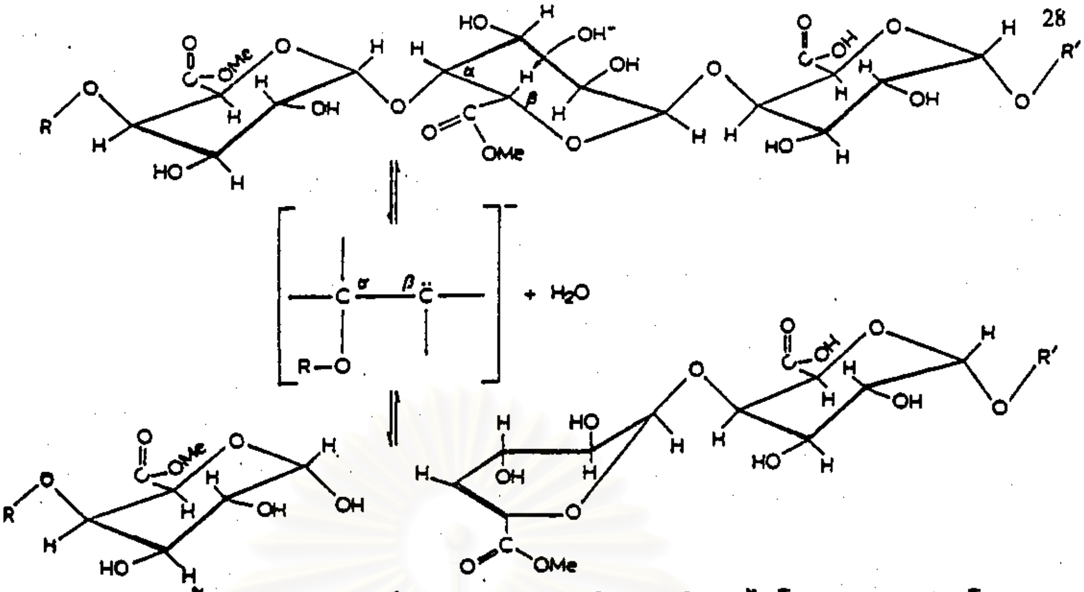
- พันธะไกลโคซิดิก ระหว่างอราบิโนกาแลคแทน- แรมโนกาแลคตูโรแนน (arabinogalactan-rhamnogalacturonan)

- การพันกัน (Entanglement) ของเพคตินในเอกซ์เทนซิน

2.9.3 การลดความแข็งแรงของผนังเซล

ในขั้นตอนการทำให้เซลแตกในกระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นนอกจากสามารถใช้เครื่องมือทางกลที่ออกแบบอย่างมีประสิทธิภาพดังที่กล่าวไว้ในหัวข้อ 2.8.2 แล้ว หากใช้วิธีที่ช่วยลดความแข็งแรงของผนังเซลก่อนก็จะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดส่วนน้ำโปรตีนออกจากใบดียิ่งขึ้น (Kokta, 1989) วิธีการที่มีผลต่อความแข็งแรงของเซลที่สามารถควบคุมได้ง่ายในการทดลอง ได้แก่การใช้ความร้อน สารเคมี และการใช้เอนไซม์ (Dainty, 1960; Keijbets, 1974; Fry, 1986; Van Buren, 1983; Edwards, 1995)

การใช้ความร้อนในลักษณะที่มีความชื้นเกี่ยวข้อง (moist heat) จะทำให้เพคตินซึ่งเป็นแมทริกซ์เชื่อมอยู่ที่ผนังเซลทั้งในชั้นแรก (primary cell wall) และสารเชื่อมระหว่างเซล (middle lamella) อ่อนตัวและสลายจากโมเลกุลที่ต่อกันเป็นโพลีเมอร์ใหญ่ไปเป็นโมเลกุลย่อยเล็กๆ ตามกลไกที่เรียกว่า β-elimination ของเพคตินดังนี้ (Keijbets, 1974)



นอกจากนี้ความร้อนยังทำให้เกิดการสลายตัวของพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลเพคตินและในน้ำตาลโมเลกุลใหญ่อื่นๆในผนังเซลได้ (Edwards, 1995) ทำให้ผนังเซลอ่อนตัวลง ไม่แข็งแรงเท่าเดิม และสูญเสียการเกาะติดกันในแต่ละเซลเป็นผลให้การเรียงตัวของเซลหลวมขึ้น (Keijbets, 1974; Van Buren, 1983; Edwards, 1995) ดังนั้นการให้ความร้อนแก่ใบมันสำปะหลังก่อนเข้ากระบวนการสกัดโปรตีน จึงมีส่วนช่วยให้สามารถตีปั่นใบไม้และแยกน้ำออกมาได้มากขึ้น

มีการใช้สารเคมีหลายชนิดรวมทั้งโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ ช่วยให้วัตถุดิบบวมและอ่อนตัวมากยิ่งขึ้นในอุตสาหกรรมการทำกระดาษมาก่อน เพื่อช่วยให้แยกเซลลูโลสออกมาได้สมบูรณ์มากขึ้น แต่จะใช้ความเข้มข้นสูง 1-4% ร่วมกับความร้อนสูง (Kokta, 1989) ซึ่งภาวะไม่เหมาะสำหรับการผลิตโปรตีนเข้มข้นเนื่องจากจะทำให้โปรตีนเสียสภาพได้ (ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์, 2530; ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) ดังนั้นจึงไม่ควรใช้ที่ความเข้มข้นมากเกินไปและอุณหภูมิไม่ควรสูงเท่าการทำกระดาษ ทั้งนี้งานวิจัยที่เกี่ยวกับการปรับปรุงคุณภาพโปรตีนในเมล็ด sorghum โดยการแช่สารเคมีทั้ง 3 ชนิดได้แก่โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อลดปริมาณแทนนินได้ใช้ความเข้มข้นสูงสุดเพียง 0.05M (Chavan et al., 1979)

สำหรับอิทธิพลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความแข็งแรงของผนังเซลสามารถทำให้เกิดการสูญเสียแคลเซียมซึ่งเป็นสะพานอิออนิก (ionic bridge) ระหว่างเพคตินในผนังเซลได้ทำให้เซลไม่แข็งแรงและมีความอ่อนนิ่ม ทั้งนี้จากงานวิจัยของ Van Buren (1983) ที่ได้ทดลองแช่ Snap bean ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิห้อง และวัดปริมาณแคลเซียมที่สูญเสียออกมาในน้ำแช่โดยวิธี Atomic absorption spectroscopy และสรุปได้ว่าการที่เซลอ่อนตัวหลังจากแช่ในเกลือโมโนวาเลนท์เนื่องจากเกิดการแทนที่ของแคลเซียมบางส่วนที่อยู่ในส่วนแมทริกซ์ระหว่างเซลพืช (Dainty et al., 1960) นอกจากนี้ยังสามารถแยกพันธะอิออนิก

ระหว่างหมู่คาร์บอกซีของเพคตินกับโปรตีนที่เป็นโครงสร้างในผนังเซลได้ (Fry, 1986) ส่วนโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถแยกพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซีของเพคตินกับหมู่ไฮดรอกซีของเซลลูโลส ขณะที่โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์สามารถแยกพันธะไฮโดรเจนระหว่างเฮมิเซลลูโลสกับเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสด้วยกัน (Meyer, 1960; Fry, 1986) จึงน่าจะเป็นแนวทางในการลดความแข็งของผนังเซลใบมันสำปะหลังเพื่อช่วยให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้นได้

นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ยังสามารถแยกพันธะบางพันธะในผนังเซลและตัดสายโพลีเมอร์ของแมทริกซ์ในผนังเซลได้ เอนไซม์ที่มีการทดลองใช้เพื่อทำให้ผนังเซลหลวมและอ่อนตัวเช่น เอนไซม์เอสเทอร์เรส (esterase) ไกลแคนเนส (glycanase) และโปรติเอส (protease) เป็นต้น ซึ่งจะต้องศึกษาภาวะและปริมาณที่เหมาะสมอีกต่อไป (Fry, 1986)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย