บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหาร ซึ่งแสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าเมล็ดฟักทอง ใบกระถินและเมล็ดกระถิน เป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนอยู่สูง คือ 32.08% 39.10% และ 30.31% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับถั่วเหลือง ซึ่งเป็นอาหารจากพืชที่มีโปรตีนสูง คือ 34.1%(101) ส่วนปริมาณไขมัน พบว่าเมล็ดฟักทองมีปริมาณไขมันสูงสุด คือ 37.81% ในขณะที่ใบกระถินและเมล็ดกระถินมีปริมาณไขมัน1.44% และ 4.65% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนและไขมันของเมล็ดฟักทองและใบกระถิน จากผลการวิจัยครั้งนี้ ใกล้เคียงกับที่มีรายงานไว้ในตารางแสดงคุณค่าอาหารไทย พ.ศ. 2530 ส่วนปริมาณสารอาหารในเมล็ดกระถิน ไม่มีในรายงานของกองโภชนาการ(101) จากปริมาณโปรตีนที่มีอยู่สูงทั้ง 3 ตัวอย่าง ถ้าสามารถนำมาผ่านกระบวนการเพื่อประกอบเป็นอาหารได้ เหมือนกับการนำถั่วเหลืองมาใช้ผลิตเป็นอาหารชนิดต่างๆ ก็จะเพิ่มแหล่งโปรตีนจากพืชที่สำคัญและราคาไม่แพง ได้ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการแยกเอาโปรตีนออกมาโดยใช้ 3 วิธี คือ การใช้ความร้อน การปรับพีเอชและการตกตะกอนด้วยเกลือแคลเซียมซัลเฟต(ตารางที่ 3-4) พบว่าการใช้ความร้อนเพื่อแยกโปรตีนจากเมล็ดฟักทองและใบกระถิน ได้ปริมาณโปรตีนสะกัด 11.13 และ 5.85 กรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ดฟักทองแห้งและใบกระถินแห้ง ซึ่งต่ำกว่าการใช้วิธีการปรับพีเอชซึ่งได้โปรตีนสะกัด 12.42 และ 11.24 กรัมต่อ 100 กรัมของวัตถุดิบ ส่วนการตกตะกอนโปรตีนโดยใช้เกลือแคลเซียมซัลเฟต พบว่าจะได้ปริมาณโปรตีนสะกัดสูงทั้ง 3 ตัวอย่าง แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในโปรตีนสะกัดที่ได้ จะพบว่าต่ำกว่าการสะกัดโปรตีนโดยการใช้ความร้อนและการปรับพีเอชมาก ซึ่งตรงกับรายงานของ Telek และ Graham(33) ซึ่งกล่าวไว้ว่า โปรตีนที่สะกัดได้โดยการตกตะกอนด้วยเกลือจะมีปริมาณไนโตรเจนต่ำ สำหรับการวิจัยนี้ ได้ปริมาณโปรตีนสะกัดสูง อาจจะเป็นเพราะมีแคลเซียมซัลเฟตปะปนมาในโปรตีนสะกัดด้วย สำหรับเมล็ดกระถินนั้น

การแยกโปรตีนโดยการใช้ความร้อนและการปรับพีเอช จะได้ปริมาณโปรตีนสะกัดใกล้เคียงกัน คือ 10.09 และ 9.93 กรัมต่อ 100 กรัมของวัตถุดิบตามลำดับ และปริมาณโปรตีนในโปรตีนสะกัดก็ไม่แตกต่างกันมากนัก คือ 60.06% เมื่อใช้การตกตะกอนโดยความร้อน และ 52.54% เมื่อใช้วิธีการปรับพีเอช

จากปริมาณโปรตีนที่มีในโปรตีนสะกัดของแต่ละตัวอย่าง พบว่าอยู่ในช่วง 17.03 % - 60.04 % (ตามตารางที่ 3 และ 4) ซึ่งยังไม่สูงพอที่จะจัดเป็นโปรตีนไอโซเลต(Protein isolate)(28) ดังนั้น โปรตีนสะกัดที่ได้ในการวิจัยนี้จะเป็นโปรตีนเข้มข้น (Protein concentrate) การที่ได้ปริมาณโปรตีนค่อนข้างต่ำนี้ น่าจะเป็นเพราะในการสะกัดโปรตีนนี้ ไม่ได้ทำการสะกัดเอาแป้งออกไปก่อน ทำให้มีปริมาณของแป้งปะปนมาในโปรตีนสะกัดสูง

จากตาราง 1, 3 และ 4 ถ้านำปริมาณโปรตีนที่สะกัดได้ คำนวณเปรียบเทียบกลับไปเป็นปริมาณโปรตีนเดิมที่มีอยู่ในแต่ละตัวอย่าง จะพบว่าปริมาณโปรตีนที่สะกัดได้จะค่อนข้างต่ำคือ โปรตีนที่สะกัดจากเมล็ดพักทองโดยการใช้ความร้อน การปรับพีเอชและการตกตะกอนด้วยเกลือแคลเซียมซัลเฟต จะเป็น 22.26%, 31.05% และ 28.18% ตามลำดับ ในใบกระถิน จะเป็น 7.95%, 15.49% และ 9.87% ตามลำดับ ในเมล็ดกระถินจะเป็น 22.80%, 20.32% และ 20.34% ตามลำดับ ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะการบดตัวอย่างในการทดลองนี้ใช้เครื่องบดไฟฟ้าธรรมดา ทำให้ตัวอย่างไม่ละเอียดพอ อาจจะทำให้เซลล์ของพืชแตกออกได้ไม่ดีพอ ทำให้โปรตีนละลายออกมาในน้ำสะกัดได้น้อย ซึ่งจะสังเกตได้ชัดเจนในใบกระถิน ซึ่งนำมาบดในขณะที่ยังสด เส้นใยพืช จะเหนียว ปริมาณโปรตีนที่สะกัดได้ เมื่อเทียบกับที่มีอยู่ในใบกระถินเดิม จะน้อยกว่าเมล็ดพักทองและเมล็ดกระถิน นอกจากนี้พันธุ์ของเมล็ดพักทองและใบกระถินก็ไม่แน่นอน เนื่องจากตัวอย่างพืชทั้งสองนี้ซื้อมาจากตลาด จึงอาจมีผลต่อปริมาณโปรตีนที่สะกัด

นอกจากปริมาณโปรตีนแล้ว ยังได้ทำการวิจัยหาปริมาณกรดอะมิโน (ยกเว้นทริพโตแฟน) ในแต่ละตัวอย่าง รวมทั้งในโปรตีนสะกัดที่ได้ด้วย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5, 6 และ 7 นอกจากนี้ปริมาณไทรซีนในใบกระถิน เมล็ดกระถิน และโปรตีนสะกัดจากใบกระถินและเมล็ดกระถินที่รายงานไว้ ก็เป็นค่าโดยประมาณ

ทั้งนี้ เนื่องจากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนโดยเครื่อง amino acid analyzer นี้ พบว่า chromatogram ของไทโรซีนถูกรบกวนด้วยปริมาณมิโนซีนที่มีอยู่ในปริมาณสูง(ภาคผนวก ก หน้า 66-77) ดังนั้นปริมาณของไทโรซีนที่ได้จากการวิเคราะห์นี้ จึงเป็นค่าโดยประมาณ นอกจากนี้ การสะกัดโปรตีนด้วยวิธีการต่างๆ จะทำให้กรดอะมิโนที่มีในโปรตีนสะกัดนั้นๆ แตกต่างไปด้วย ทั้งนี้น่าจะเป็นเพราะการใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน จะมีผลทำให้กรดอะมิโนถูกทำลายแตกต่างกันไป เช่น Lysine จะถูกทำลายได้ง่าย เมื่อถูกความร้อน Cystine จะเกิดการสลายตัวได้ง่าย ในภาวะที่เป็นกรด นอกจากนี้ประจุไฟฟ้าของกรดอะมิโนก็จะถูกรบกวนได้ จากความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเกลือ(104,105) ดังนั้นปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้ จึงแตกต่างกันไป

สำหรับกรดอะมิโนในใบกระถิน เปรียบเทียบกับที่ D'Mello และคณะ(102) ได้ทำการรวบรวมไว้(ตารางที่ 8) ก็มีค่าใกล้เคียงกับผลการวิจัยครั้งนี้

กรดอะมิโนจำเป็นที่มีในแต่ละตัวอย่าง เปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน พบว่าส่วนใหญ่แล้วยังมีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่ามาตรฐาน แต่เมื่อแยกโปรตีนออกมาเป็นโปรตีนสะกัดแล้ว พบว่าปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าในวัตถุดิบดังแสดงไว้ในตารางที่ 9, 10 และ 11 เป็นการยืนยันได้ว่าการแยกโปรตีนออกมา จะช่วยทำให้คุณภาพของโปรตีนสูงกว่าในวัตถุดิบ การแยกโปรตีนโดยการปรับพีเอช จะให้ค่าปริมาณโปรตีนต่ำกว่าเมื่อใช้วิธีสะกัดโดยการให้ความร้อน และการเติมเกลือแคลเซียมซัลเฟต ทั้งนี้เป็นเพราะการตกตะกอนโปรตีนโดยการปรับพีเอช จะมีกรดนิวคลีอิคตกตะกอนลงมาด้วย(33)

สำหรับ Limiting amino acid ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีค่า amino acid score ต่ำที่สุด พบว่าโปรตีนสะกัดจากเมล็ดพักทองโดย 3 วิธีการนี้ จะมีไลซีนเป็น Limiting amino acid ตัวแรกและมีธรีโอนีนเป็น Limiting amino acid ตัวที่สอง(ตารางที่ 12) ส่วนโปรตีนสะกัดจากใบกระถินโดยวิธีการใช้ความร้อนจะมีเมทไธโอนีนเป็น Limiting amino acid ตัวแรก แต่โปรตีนสะกัดโดยวิธีการปรับพีเอชและการเติมเกลือแคลเซียมซัลเฟต จะมีธรีโอนีนและไลซีนเป็น Limiting amino acid ตัวแรกตามลำดับ(ตารางที่ 13)

ในโปรตีนสะกัดจากเมล็ดกระถินทั้ง 3 วิธีจะมีเมทไธโอนีนเป็น Limiting amino acid ตัวแรก และมีธรีโอนีนเป็น Limiting amino acid ตัวที่สอง (ตารางที่ 14) ดังนั้นในการนำโปรตีนสะกัดเหล่านี้มาบริโภคหรือใช้เป็นอาหารสัตว์ควรจะเติมกรดอะมิโนที่เป็น Limiting amino acid ด้วย หรือใช้ผสมกับอาหารโปรตีนชนิดอื่น ที่มีปริมาณกรดอะมิโน ดังกล่าวในปริมาณที่สูงพอ เพื่อที่จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีคุณค่าอาหารโปรตีนที่สมบูรณ์ขึ้น อย่างไรก็ตาม การเติมกรดอะมิโนลงในผลิตภัณฑ์อาหาร ไม่ได้หมายความว่าผู้บริโภคจะได้คุณค่าอย่างเต็มที่ ทั้งนี้เพราะยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องอีก เช่น การย่อยการดูดซึม ซึ่งควรที่จะทำการศึกษาทดลองต่อไปอีก

ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งในการนำโปรตีนจากพืชมาประกอบอาหารคือสารต้านคุณค่าทางโภชนาการที่มีอยู่ในพืชแต่ละชนิด ดังนั้น ไม่เพียงแต่ปริมาณกรดอะมิโนจะต้องสูงมากพอ แต่ควรจะมีปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการในปริมาณที่ต่ำหรือไม่มีเลย ในการวิจัยครั้งนี้ พบว่าการสะกัดโปรตีนจะทำให้ปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการทั้ง 3 ชนิดคือ มิโมซีน ไฟเตตและทริพซิน อินฮิบิเตอร์ มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามค่าทางสถิติในภาคผนวก ค โดยคำนวณเป็นปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการเป็นกรัมต่อ 100 กรัม ของโปรตีนในแต่ละตัวอย่าง

ในเมล็ดพักทองมีปริมาณไฟเตตสูงสุดคือ 1.84% หรือ 5.73 กรัมไฟเตตต่อ 100 กรัมของโปรตีน เมื่อสะกัดโปรตีนโดยวิธีใช้ความร้อนและการตกตะกอนด้วยเกลือแคลเซียมซัลเฟต จะมีไฟเตตเหลืออยู่ 2.12 และ 2.60 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีน หรือสามารถลดปริมาณไฟเตตลงไปจากเดิมได้ 63% และ 54.62% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณไฟเตตที่มีในโปรตีนสะกัดจากเมล็ดพักทองน้อยกว่าที่มีในเมล็ดพักทองอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนโปรตีนสะกัดด้วยวิธีปรับพีเอชไม่พบไฟเตตเลย ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะพีเอชที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน คือ พีเอช 4 และพีเอช 5 ซึ่งพบว่าในภาวะที่เป็นกรดนี้ ไฟเตตจะไม่เกิดเป็นตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อน(79, 86) ดังนั้นจึงไม่พบไฟเตตในโปรตีนที่สะกัดได้ หรือเท่ากับว่าสามารถลดปริมาณไฟเตตลงได้ 100%

สำหรับทริพซิน อินฮิบิเตอร์ พบในเมล็ดพักทอง 0.22 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีน ซึ่งสูงกว่าที่พบในโปรตีนสะกัดโดยวิธีการปรับพีเอช และการตกตะกอนด้วยการเติมเกลือแคลเซียมซัลเฟตอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งพบเพียง 0.02 และ 0.10 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีน หรือสามารถลดปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ลงได้ 90.91% และ 45.55% ตามลำดับ แต่โปรตีนสะกัดโดยการใช้ความร้อนกลับพบว่าปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์สูงถึง 0.42 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีน ซึ่งสูงกว่าในเมล็ดพักทอง ทั้งนี้อาจจะเป็นไปได้ว่า ทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ที่มีอยู่ในพักทอง อาจจะมีโครงสร้างที่ทนต่อความร้อนได้เช่นเดียวกับที่ Tan และ Wang(56) พบว่าทริพซิน อินฮิบิเตอร์ในถั่วพู สามารถทนต่อความร้อนได้ ดังนั้นในกรณีของพักทอง อาจจะต้องทำการทดลองเพิ่มเติม เพื่อดูผลของความร้อนต่อปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์

ส่วนปริมาณมิโมซีนในเมล็ดพักทอง พบว่าการสะกัดเอาโปรตีนออกมาทั้ง 3 วิธี สามารถลดปริมาณมิโมซีนลงได้อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับในเมล็ดพักทองที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งพบว่ามีมิโมซีน 0.82% หรือ 2.56 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีน ซึ่งมีรายงานว่ามิโมซีนจะพบในพืชพวกกระถินเป็นส่วนใหญ่(9,13,14) อาจจะเป็นไปได้อีกกรณีหนึ่ง คือ การหาปริมาณมิโมซีนในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้วิธีของ Matsumoto และ Sherman(100) ซึ่ง Lowry และคณะ(103) กล่าวว่าการใช้วิธีนี้จะให้ค่าปริมาณของมิโมซีนสูงกว่าความเป็นจริง และไม่เหมาะสมที่จะใช้ในการหาปริมาณมิโมซีนจำนวนน้อยๆ อีกทั้งการหาปริมาณมิโมซีน ใช้วิธีการวัดการดูดกลืนแสง ซึ่งไม่เฉพาะเจาะจงสำหรับมิโมซีน อาจจะมีสารบนเปื้อนอื่นที่สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกันได้ จึงทำให้ตรวจพบมิโมซีนในเมล็ดพักทอง ดังนั้นปริมาณมิโมซีนที่ตรวจพบในเมล็ดพักทอง 0.82% อาจเกิดจากวิธีการหาปริมาณมิโมซีนของ Matsumoto และ Sherman(100) ไม่เฉพาะเจาะจงสำหรับมิโมซีนเท่านั้น การที่จะยืนยันว่ามีมิโมซีนในพักทองหรือไม่ หรือมีในปริมาณมากน้อยเท่าไร ควรจะได้มีการทดลองเพิ่มเติมโดยใช้วิธีการหาปริมาณมิโมซีนวิธีอื่น เช่น ใช้ High-performance liquid chromatography(103) ซึ่งจะมีความเฉพาะเจาะจงมากกว่า แต่ที่ไม่ได้เลือกใช้วิธีนี้ในการวิจัยครั้งนี้ ก็เนื่องจากความจำกัดของเครื่องมือที่มีใช้อยู่

สำหรับใบกระถิน ตรวจพบปริมาณมิโมซีน 2.09% ซึ่งใกล้เคียงกับที่ D'Mello และคณะ(102) รวบรวมไว้-คือ 1.41-2.55% แต่การทดลองของ Wee และ Wang(68) พบว่าใบกระถินมีมิโมซีนสูงถึง 5.56% ทั้งนี้อาจเนื่องจากความแตกต่างของพันธุ์และถิ่นที่ปลูก ส่วนโปรตีนสะกัดที่ได้จากใบกระถิน ทั้งโดยวิธีใช้ความร้อน การปรับพีเอชและการเติมเกลือแคลเซียมซัลเฟต พบว่ามีปริมาณมิโมซีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ ลดลงจากเดิมที่พบในใบกระถิน 5.34 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีน เป็น 4.56, 4.17 และ 4.48 กรัมต่อ 100 กรัมของโปรตีนในโปรตีนสะกัด หรือลดลง 14.61%, 21.91% และ 16.1% ตามลำดับ

ส่วนปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ในใบกระถิน พบ 0.48 TIU/มิลลิกรัม และเมื่อนำใบกระถินมาสะกัดเอาโปรตีนออกมาแล้ว พบว่าทริพซิน อินฮิบิเตอร์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 18 ซึ่งคิดเป็นทริพซิน อินฮิบิเตอร์ ลดลง 73.99%, 20.33% และ72.36% ในโปรตีนสะกัดโดยวิธีใช้ความร้อน การปรับพีเอชและการเติมแคลเซียมซัลเฟต ตามลำดับ ส่วนไฟเตต ตรวจไม่พบในใบกระถิน

สำหรับเมล็ดกระถินมีปริมาณมิโมซีน 3.70% ซึ่งสูงกว่าที่พบในใบกระถิน ส่วนไฟเตตพบ 0.15% และพบปริมาณทริพซิน อินฮิบิเตอร์ 1.71 TIU/มิลลิกรัม ซึ่งพบว่าในโปรตีนสะกัดจากเมล็ดกระถิน จะมีสารต้านคุณค่าทางโภชนาการทั้ง 3 ชนิด ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 18

ดังนั้นการสะกัดโปรตีนโดยการใช้ความร้อน การปรับพีเอชและการเติมเกลือแคลเซียมซัลเฟต จะสามารถลดปริมาณมิโมซีน ไฟเตตและทริพซิน อินฮิบิเตอร์ได้ เมื่อคิดต่อ 100 กรัมของโปรตีน ในอนาคต อาจจะมีการนำเอาโปรตีนสะกัดจากพืชไปผลิตเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ หรือแม้แต่อาหารสำหรับคน เมื่อเกิดการขาดแคลนอาหารโปรตีน โดยที่อาจจะมีการเสริมกรดอะมิโนบางชนิดที่มีอยู่ในปริมาณต่ำ เพื่อให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย โดยที่วิธีการใช้ความร้อน น่าจะเป็นวิธีที่สะดวก เหมาะสม ให้ปริมาณโปรตีนสูง รวมทั้งมีสารต้านคุณค่าทางโภชนาการลดลง ซึ่งในระดับอุตสาหกรรมคงจะต้องใช้เครื่องมือช่วยฉีดน้ำสะกัดโปรตีนที่ได้ เป็นละอองไอน้ำไปผสมกับละอองไอน้ำเดือด เพื่อให้โปรตีนตกตะกอนอย่างรวดเร็ว ตามที่ได้กล่าวมาแล้ว แต่อย่างไรก็ตาม ควรที่จะได้ศึกษาเพิ่มเติมอีกว่า เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปเลี้ยงสัตว์ สัตว์จะสามารถย่อย ดูดซึม และนำไปใช้ให้เกิดการเจริญเติบโตมากน้อยเพียงไร