

การหาปริมาณและคุณค่าของโปรตีน
ในข้าวเจ้าและข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย

ปริญญานิพนธ์

ของ

นิทยา สุชาถวาย

เกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เสนอขอมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้า
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

11 มีนาคม 2519

การหาปริมาณและคุณค่าของโปรตีน
ในข้าวเจ้าและข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย

บทคัดย่อ

ของ

นิศยา สุชาถวาย

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการ ศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

11 มีนาคม 2519

การศึกษาครั้งนี้ มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในข้าวเจ้า และข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทย 12 ชนิด เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ทาง ด้านโภชนาการ ในการทดลองนี้ใช้วิธี Micro - Kjeldahl Nessler's method ส่วนเครื่องมือที่ใช้ Hitachi Perkin-Elmer amino acid analyzer กับ Hitachi spectrophotometer

ผลการวิเคราะห์ปรากฏว่า ข้าวพันธุ์ที่ทำการศึกษา มีไอโซลิวซีน และไลซีนเป็น limiting amino acids ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ FAO รายงานไว้ สำหรับกรดอะมิโน อื่น ๆ มีปริมาณใกล้เคียงกับไข่ ยกเว้น เมไทโอนีน มีปริมาณน้อย แกลูตามิกและ ทรียโทเฟนมีปริมาณมากกว่า ปริมาณโปรตีนของข้าวทั้ง 12 พันธุ์ ที่ทำการ วิจัยมีค่าอยู่ในเกณฑ์ มาตรฐานของ American Association of Cereal Chemists ยกเว้น ข้าว ข้าวหอมมะลิ 105 ค่าต่ำ 15 และหางปี 71 เท่านั้นที่มีค่าต่ำกว่า

ในด้านคุณภาพของโปรตีน จากการวิเคราะห์ปรากฏว่า ข้าว กข 1 เหลืองประทิว นางมวลเฮส 4 นางพญา 132 และเหนียวสันป่าตอง เป็นข้าวที่ควรส่งเสริมให้บริโภคและเพาะปลูกอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีปริมาณและคุณภาพของโปรตีน ตลอดจนอัตราส่วนของ กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูง เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารพวกพืช ประเภทอื่นยกเว้นถั่วเหลือง ถั่วเหลืองกว่าอาหารพวกเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เนื่องจาก ข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทย ดังนั้นในการบริโภคข้าวในวันหนึ่ง ๆ จึงควรมีเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ หรือถั่วเมล็ดแห้ง รวมอยู่ด้วย เพื่อลดหรือขจัดปัญหาการขาดโปรตีนในเด็ก

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE DETERMINATION OF PROTEINS IN VARIOUS KINDS OF
ORDINARY AND GLUTINOUS RICE IN THAILAND

ABSTRACT

BY

NITAYA SUKATAWAI

Presented in partial fulfillment of requirement
for the Master of Education Degree
at Srinakharinwirot University

March 11, 1976

The purpose of this study is to determine the quantity and quality of proteins in 12 different kinds of ordinary and glutinous rice in Thailand. Micro-Kjeldahl Nessler's method together with the Hitachi Perkin-Elmer amino acid analyzer and Hitachi spectrophotometer were employed in this investigation. It was discovered that isoleucine and lysine are limiting amino acids in every variety of rice. The content of other amino acids in rice is not significantly different from those found in eggs with the exception that rice contains less methionine but higher amount of glutamic acid and tryptophan. The amount of proteins in 12 varieties of rice lies in the range proposed by the American Association of Cereal Chemists. Only few varieties, i.e. Kao D Kao Dawk Mali 105, Gam Pai 15 and Hahng Yi 71 are found to have lower protein contents.

From chemical analysis, it appears that RD 1, Leuang Pratew, Nahng Mon S-4 Nahng Phya 132 and Niaw Sanpatah tawng varieties are the best one for wider production and consumption. The quantity and quality of proteins, especially the ratio of essential amino acids to total nitrogen (E/T) are higher than those from any other kinds of foods except soybean, meat and animal products. Since rice is the most important component of the Thai diets, consumption of rice with pulses and animal foods should be encouraged in order to improve the quality of diets and to eliminate or decrease the incidence of protein deficiency diseases among growing children in Thailand.

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำวันนี้ได้พิจารณาปัญหานี้จนบัดนี้แล้วเห็นสมควรรับ
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตของมหาวิทยาลัยเรีนาธรวิโรฒได้

ศาสตราจารย์ ดร. ประทาน

กรรมการ

11 มีนาคม 2519

ประกาศนุญการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี เนื่องจากผู้เขียนได้รับความช่วยเหลือและ
แนะนำจาก รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวนีย์ จักรพิทักษ์ และอาจารย์สุภาพ สอนปาน
แห่งกองโขนการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งได้กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือ
ในด้านการทดลองก็มากเกินกว่า ตลอดจนการเขียนปริญญานิพนธ์ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ
เป็นอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์งามขึ้น กงเสรี แห่งกองการข้าว กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ได้กรุณาให้ข้อมูลข้าวเจ้าและข้าวเหนียว เพื่อทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คุณสุรีย์พันธุ์ บุญวิสุทธิ และคุณสมเริง ภูสิมวัง ที่กรุณาแนะนำและ
ช่วยเหลือในการทดลองเป็นอย่างดี

ในการทดลองครั้งนี้ ผู้เขียนได้รับความอนุเคราะห์จากกองโขนการ ให้ใช้สถานที่
และเครื่องมือในการทดลอง ผู้เขียนขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นิกยา สุชาดวาย

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ความมุ่งหมายในการศึกษาครั้งนี้	3
ขอบเขตของการศึกษาครั้งนี้	3
วิธีดำเนินการศึกษาครั้งนี้	5
หลักในการวิเคราะห์	5
กำหนดนิยามศัพท์เฉพาะ	9
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาครั้งนี้	11
3 วิธีดำเนินการทดลอง	
กลุ่มตัวอย่าง	15
การดำเนินการทดลอง	15
การหาโปรตีนโดย Macro Kjeldahl Nessler's method	15
การหากรดอะมิโนต่าง ๆ ยกเว้น cystine และ	
tryptophan	17
การหา cystine	19
การหา tryptophan	19
4 การวิเคราะห์ข้อมูลและผลการทดลอง	
การวิเคราะห์ข้อมูล	22
สรุปผลการทดลอง	25

บทที่

หน้า

5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

34

ข้อเสนอแนะ

37

บรรณานุกรม

38

ภาคผนวก

43

บัญชีตาราง

ตารางที่

หน้า

1	ปริมาณกรดอะมิโนในข้าวชนิดเดียวกันวิเคราะห์โดย Paper chromatography และ Column chromatography	13
2	ปริมาณกรดอะมิโนในข้าวชนิดเดียวกันวิเคราะห์โดย Ion-exchange chromatography และ Partition chromatography	14
3	ค่าปริมาณไนโตรเจนมาตรฐานที่ช่วงกลืน 420 มิลลิไมครอน	23
4	ค่ามิลลิกรัมต่อ O.D unit ของสารทรีโบเฟนมาตรฐาน	24
5	ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในข้าวเจ้าและข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย	27
6	อัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย กับปริมาณไนโตรเจน ทั้งหมด	28
7	อัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย กับปริมาณไนโตรเจน ของสารมาตรฐาน	29
8	ปริมาณร้อยละของกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายและคะแนนของ โปรตีน ในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย	30
9	คะแนนของโปรตีนในอาหารประเภทต่าง ๆ	32

บัญชีภาพประกอบ

รูป	หน้า
1 Micro Kjeldahl apparatus	44
2 Autoclave	45
3 Handy aspirator and Rotary evaporator	46
4 Hitachi Perkin-Elmer amino acid analyzer	47
5 Hitachi spectrophotometer model 101 and Tungsten lamp power	48
6 กราฟแสดงปริมาณไนโตรเจนในสารละลายมาตรฐาน	49
7 กราฟแสดงชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนมาตรฐาน	50
8 กราฟแสดงชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนในตัวอย่าง	
ข้าวเจ้า เหลืองประพิศ	51
นางมงคล 4	52
กช 1	53
ทองไร 2	54
นางพญา 132	55
เผือกน้ำ 43	56
ขาวกษณะดี 105	57
ข้าวเหนียว เพชรทอง 62	58
คัณยา 15	59
เหนียวสีน้ำตาลทอง	60
นางยี่ 71	61
กช 2	62

ภูมิหลัง

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญระดับโลก ประการหลายประการในแถบเอเชีย เช่น ไทย อินเดีย จีน ญี่ปุ่น ฯลฯ บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก สำหรับประเทศไทย ข้าวนอกจากจะเป็นอาหารหลักของประชากรแล้ว ข้าวยังเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอันดับหนึ่ง เนื่องจากประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกข้าวเป็นสินค้าออกปีละหลายพันล้านบาท

ข้าวเป็นพืชใน Genus *Oryza* ประกอบด้วย 23 species เป็นข้าวป่า 21 species อีก 2 species คือ *O. sativa* เป็นข้าวที่ปลูกในแถบเอเชีย ยุโรป อเมริกา และ *O. glaberrima* เป็นข้าวที่ปลูกในแถบแอฟริกาตะวันตก ข้าวใน species เดียวกันยังมีความแตกต่างทางพันธุกรรม (Genetic diversification) จึงเป็นผลให้เกิดพันธุ์ข้าวได้หลายชนิด พันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกในประเทศไทยอาจจำแนกได้หลายประเภท ดังนี้ (วัชรินทร์ บุญวัฒน์, 2516 : 15 - 16)

1. การจำแนกตามคุณสมบัติของแป้งที่มีอยู่ในเมล็ดข้าว ได้แก่

1.1 ข้าวเจ้า (Ordinary rice) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* เป็นข้าวที่มี endosperm ใสกว่าข้าวเหนียว เมื่อนึ่งจะไม่เหนียวเกาะกัน

1.2 ข้าวเหนียว (Glutinous rice) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza glutinosa* เป็นข้าวที่มี dextrins ผสมอยู่ ส่วน endosperm มีสีขาวและขุ่น เวลาหุงต้มจะเหนียวเกาะกัน

2. การวางแผนตามคุณสมบัติโดยธรรมชาติ

2.1 พันธุ์ข้าวไร่ (Upland rice) เป็นพันธุ์ข้าวที่ขึ้นโดยไม่กึ่งน้ำหรือไม่มีน้ำเลย จึงเหมาะแก่การปลูกตามดอนเชิงเขา ที่ราบสูงบางแห่งและในไร่นาข้าวพันธุ์ปลูกโดยมีโรคเค่นั้น เพราะผลผลิตค่อนข้างต่ำ จึงไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเท่าที่ควร

2.2 พันธุ์ข้าวนาสวน (Lowland rice) เป็นพันธุ์ข้าวที่ปลูกได้ในสภาพที่มีน้ำถึงตลอดฤดูกาลปลูกข้าว สามารถทนน้ำลึกได้ถึง 1 เมตร แต่ที่อาจปลูกได้ในสภาพเข่นเดียวกับพันธุ์ข้าวไร่ เนื่องจากจะปลูกข้าวพันธุ์นี้ประมาณร้อยละ 80 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด

2.3 พันธุ์ข้าวฉิมน้ำ (Floating rice) เป็นพันธุ์ข้าวที่ขึ้นได้กึ่งน้ำมาก ๆ สามารถทนน้ำลึกได้ 3 - 5 เมตร เป็นพันธุ์ข้าวที่ปลูกมากในที่ลุ่มภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากจะปลูกประมาณร้อยละ 20 ของพื้นที่เพาะปลูกข้าวทั้งหมด

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีสารอาหารหลายชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน เป็นต้น ประชากรไทยได้พลังงานส่วนใหญ่จากสารอาหารโปรตีนในข้าว (Food, 1972 : 34) และข้าวยังเป็นแหล่งที่ให้สารโปรตีนอีกด้วย ถึงแม้ว่าจะมีคุณค่าไม่เท่ากับเนื้อสัตว์ แต่ก็ยังนับคุณภาพดีกว่าโปรตีนจากเนื้ออื่น ๆ (ยกเว้นตัวเห็ด) เนื่องจากการบริโภคข้าวชนิดหนึ่ง ๆ มีปริมาณสูง ดังนั้นร่างกายจะได้รับปริมาณโปรตีนจากข้าวสูงกว่าเนื้อสัตว์ จากการสำรวจพบว่า ประชากรโลกได้รับปริมาณโปรตีนจากธัญพืชมากกว่าอาหารชนิดอื่น ถึงตัวเลขข้างล่างนี้ (ประจักษ์ มุญญศิริกุล, 1974 : 19)

ชนิดของอาหาร	ร้อยละของโปรตีนที่มนุษย์บริโภคได้รับ
ธัญพืช เช่น ข้าว	50
เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์นม	24
เมล็ดพืชที่ให้น้ำมัน เช่น ถั่ว เมล็ดแห้งต่าง ๆ	13

ชนิดของอาหาร

ร้อยละของโปรตีนที่ผู้บริโภครับ

พืชไร่ที่เป็นหัว เช่น มันฝรั่ง มันเทศ	5
ผักและผลไม้	3
ปลา	3
ไข่	2

เนื่องจากข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทยคงได้กล่าวมาแล้ว และข้าวที่ใช้บริโภคในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ ข้าวแต่ละพันธุ์จะประกอบไปด้วยปริมาณโปรตีนแตกต่างกัน (International Rice Research Institute, 1973 : 2) ดังนั้น ผู้เขียนจึงเห็นความจำเป็นที่ควรจะได้ศึกษาเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ และคุณค่าของโปรตีนในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ประชากรไทยบริโภคเป็นอาหาร เพื่อจะได้ทราบข้อมูลอันนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการ คือ ถ้าพันธุ์ใดมีปริมาณโปรตีนสูง หรือมีคุณภาพดีกว่าพันธุ์อื่น ก็ควรจะส่งเสริมให้มีการปลูก และรับประทานกันมากขึ้น

ความมุ่งหมายในการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อให้ความรู้ความแตกต่างของปริมาณ และคุณค่าของโปรตีนในข้าวเจ้า และข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย
2. เพื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ไปใช้ประโยชน์ในด้านโภชนาการ

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาหาปริมาณ และคุณค่าของโปรตีนในข้าวเจ้า และข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ใน 4 ภาค ของประเทศไทย ดังนี้

1.1 ภาคกลาง (Central region) ใช้ตัวอย่างจากสถานีทดลองบางเขน กรุงเทพฯ คือ

ชาวเจา นางมดเฮส 4 (Nahng Mon S - 4)

ชาวเจา เหลืองประทิว 123 (Leuang Pra-tew 123)

ชาวเจา กช 1 (R D 1)

1.2 ภาคใต้ (Southern region) ใช้อัตว์อย่างจากสถานีทดลอง
ควนกู จังหวัดพัทลุง คือ

ชาวเจา พวงไร 2 (Puang Rai 2)

ชาวเจา นางพญา 132 (Nahng Phya 132)

ชาวเจา เปือกนา 43 (Peuak Nam 43)

1.3 ภาคเหนือ (Northern region) ใช้อัตว์อย่างจากสถานีทดลองพวน
จังหวัดเชียงราย คือ

ชาวเจา ชาวคอกมะลิ 105 (Kao Dawk Mali 105)

ชาวเหนียว เหมยนอง 62 เอ็ม (Mueng Nawng 62 M)

ชาวเหนียว กาผาย 15 (Gam Pai 15)

1.4 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (North Eastern region)
ใช้อัตว์อย่างจากสถานีทดลอง อุดรราชธานี จังหวัดอุดรราชธานี

ชาวเหนียว เหนียวสันป่าตอง (Nlawn Sanpah tawng)

ชาวเหนียว หางยี่ 71 (Hahng Yi 71)

ชาวเหนียว กช 2 (R D 2)

2. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

2.1 Autoclave

2.2 Handy aspirator และ Rotary evaporator

2.3 Hitachi Perkin - Elmer amino acid analyzer

2.4 Hitachi spectrophotometer

2.5 Micro Kjeldahl apparatus

3. เทคนิคที่ใช้ในการศึกษากุ้ง

3.1 Ion-exchange chromatography

3.2 Light absorption

วัตถุประสงค์ในการศึกษากุ้ง

1. สุ่มตัวอย่างพันธุ์ขาวเจ้า และขาวเผือกพันธุ์ต่าง ๆ จาก 4 ภาค ของ ประเทศไทย

2. ทำการวิเคราะห์ โดยวิธีต่อไปนี้

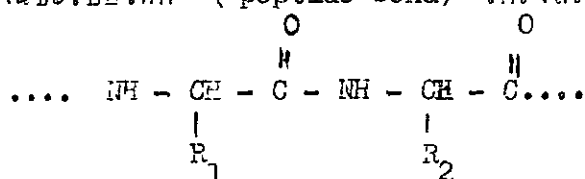
2.1 Micro - Kjeldahl - Nessler's method เพื่อหาปริมาณ โปรตีนในรูปของ ไนโตรเจนในโลเรเจน (Inorganic Nitrogen)

2.2 Amino acid analyzer เพื่อหาปริมาณกรดอะมิโนตัวอื่น ๆ ยกเว้น tryptophan

2.3 Spectrophotometer method เพื่อหาปริมาณ tryptophan

หลักในการวิเคราะห์

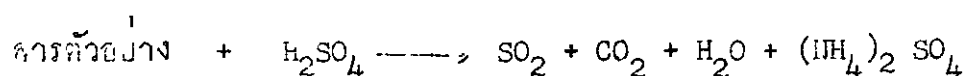
โปรตีนเป็นสารอาหารที่รู้จักกันมานานในอดีตของ albuminous food ก่อน ใน ค.ศ. 1840 G.J. Mulder นักเคมีของฮอลแลนด์ได้ตั้งชื่อใหม่ว่า โปรตีน (ภาษากรีก protos) มีความหมายว่า อันดิมแรก โปรตีนเจ็กเป็นสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุล ซับซ้อน ประกอบด้วยหมู่อมิโน (amino group) และหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide bond) โครงสร้างทั่วไปคือ



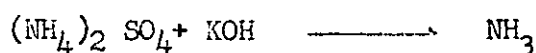
โปรตีน เมื่อถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ (completed hydrolysis) จะสลายได้
 α - amino acid 20 ชนิด ซึ่งอาจแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (Essential amino acids) เป็น
 กรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้หรือสังเคราะห์ได้ไม่เพียงพอ จำเป็นต้อง
 ได้รับจากอาหาร กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายผู้ใหญ่มี 8 ชนิด คือ valine, leucine,
 isoleucine, threonine, lysine, phenylalanine, methionine และ
 tryptophan ส่วนในร่างกายเด็กที่กำลังเจริญเติบโตต้องการกรดอะมิโนเพิ่มเติมจากผู้ใหญ่
 อีก 1 ชนิด คือ histidine และสัตว์บางชนิด เช่น ไก่ หนูขาว ยังต้องการกรด-
 อะมิโนที่จำเป็นเพิ่มเติมจากเด็กอีก 1 ชนิด คือ arginine
2. กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย (Nonessential amino acids)
 เป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ เช่น cysteine, cystine,
 proline, hydroxyproline, serine, aspartic acid, glutamic acid และ tyrosine

โปรตีนเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญยิ่งต่อร่างกาย นักวิทยาศาสตร์และโภชนาการ
 จึงพยายามที่จะกันคว้าเพื่อหาปริมาณโปรตีนในอาหารต่าง ๆ ที่จำเป็นในชีวิต ซึ่ง
 เป็นผลให้เกิดวิธีการต่าง ๆ แต่วิธีที่นิยมใช้คือ วิธีเคดาห์ (Kjeldahl's method)
 หลักการสำคัญ คือพยายามหาโปรตีนของอาหารในรูปของอะมิโนหรือไนโตรเจน (Inorganic
 nitrogen) แล้วคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 ถึงปริมาณที่พบได้



แอมโมเนียที่ผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา อาจวัดออกมาในรูปของแอมโมเนีย (NH_3)
 หรืออาจนำไปปฏิกิริยากับ Nessler's reagent (Meyer, 1968 : 132)



วิธีเกล็ดการใช้หาปริมาณโปรตีนเพียงอย่างเดียว อ้างอิงการทราบคุณภาพของโปรตีนในเวลาจริงจำเป็นต่อทางกรรรมมีในที่จำเป็นต่อร่างกายว่าน้อยเพียงใด กุญแจนี้ทางงานวิทยาศาสตร์จึงพยายามหาวิธีที่จะวิเคราะห์หาคุณภาพของอาหารโปรตีนในรูปของกรรรมมีในดังนี้

Folin และ Denis ได้แยก tyrosine และ tryptophan โดยใช้ phenol (Folin and Denis, 1912 : 1245)

Koeseler และ Hanke ได้แยก histidine โดยใช้ coupling กับ diazotized sulfanilic acid (Koeseler and Hanke, 1919 : 497)

Sakaguchi ได้แยก arginine โดยใช้ sakaguchi reagent (Sakaguchi, 1925 : 133)

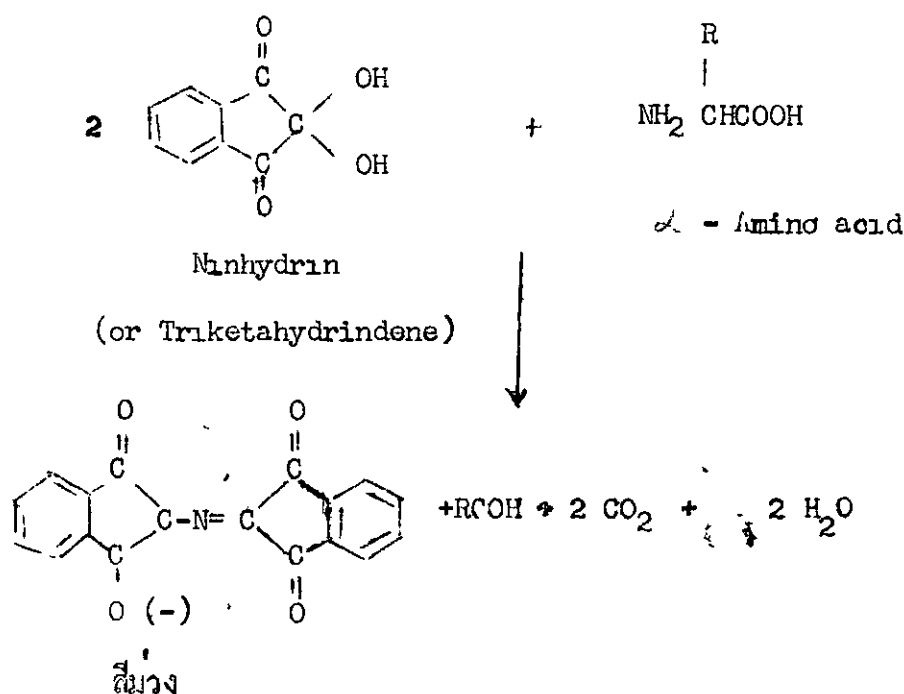
Gordon และคณะได้ใช้วิธี partition chromatography ในการแยก phenylalanine, leucine, isoleucine, valine, alanine, proline, tyrosine และ methionine จากโปรตีน 25 มิลลิกรัม (Gordon and others, 1943 : 79 - 86)

Bull และคณะ ได้ใช้วิธี paper chromatography แยก neutral amino acid แล้ว develope สีด้วย ninhydrin ร้อยละ 1 ใน n-butylalcohol : phenol 90:10 โดยปริมาตร (Bull and others, 1949:550-553)

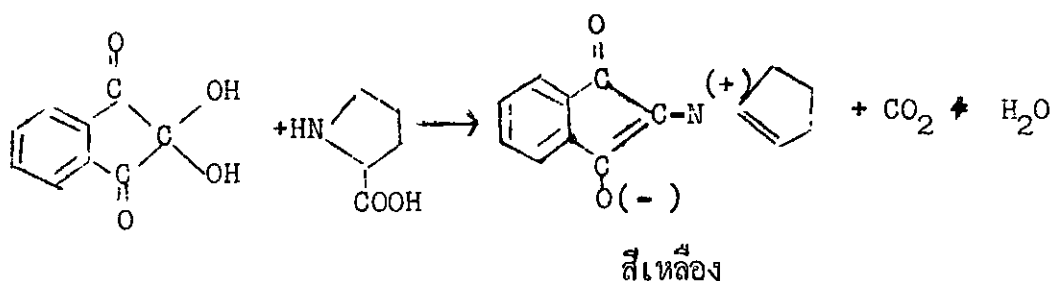
Partridge และ Brimley ได้พยายามพัฒนาวิธี ion exchange chromatography เพื่อใช้หากรรรมมีโปรตีน (Partridge and Brimley, 1952:628)

นอกจากวิธีการทั้งที่กล่าวข้างต้นแล้ว ปัจจุบันนี้นิยมใช้เครื่องมือที่เรียกว่า amino acid analyzer ซึ่งเป็นเครื่องมืออัตโนมัติ ทำการทำงานแบบ ion-exchange chromatography คืออาศัยคุณสมบัติการเป็น amphoteric กรรรมมีโปรตีนจะถูก adsorb บน sulfonated polystyrene ion-exchange resin และกรรรมมีโปรตีนจะถูก eluted ด้วยสารละลายโซเดียม ซิเตรต บัฟเฟอร์ (sodium citrate buffer) ที่ pH ต่าง ๆ คือ 3.25, 4.25 และ 5.9 กรรรมมีโปรตีนที่ถูก eluted

ออกมาแต่ละตัวจะไปทำปฏิกิริยากับสารละลายนินไฮดรินใน mixer ให้สารสีม่วง คือ DYDA (Diketo-hydrindyliden diketo-hydrindanin) หรือ Ruhemann's Violet ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้ (Light, 1974:61-68)



ความเข้มของสีที่เกิดจากปฏิกิริยาของกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ กับสารละลายนินไฮดรินวัดได้ด้วย photometer โดยจะถูกบันทึกบนแผ่นกระดาษ (chart paper) ในรูป peak สามเหลี่ยมที่ช่วงคลื่น 570 มิลลิไมครอน ส่วนกรดอะมิโนโพรีนในบริเวณคลื่น 440 มิลลิไมครอน เนื่องจากได้สีเหลือง ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้ (Ibid, 1974 : 77 - 78)



การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในสารตัวอย่างจาก curve มาตรฐาน แล้วคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 จะเป็นปริมาณโปรตีน
2. วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิด โดยการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ curve ต่าง ๆ กับพื้นที่ใต้ curve ของกรดอะมิโนมาตรฐาน

การปฎิบัติพิเศษเฉพาะ

1. Micro Kjeldahl Nessler's method เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากอาหารในรูปของอนินทรีย์ไนโตรเจน โดยเปลี่ยนไนโตรเจนในโปรตีนให้เป็นเกลือแอมโมเนียมด้วยการย่อย ต่อจากนั้นเติมสาร Nessler เพื่อให้เกิดสี แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 420 มิลลิไมครอน
2. Amino acid analyzer เป็นเครื่องอัตโนมัติ มีหลักการทำงานแบบ ion-exchange chromatography ใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน หรือสารประกอบที่คล้ายคลึงกัน
3. Ion-exchange chromatography เป็นขนาดการแยกสารประกอบ โดยอาศัยการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างของเหลวกับของแข็ง
4. Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดค่าดูดกลืนแสง (absorbance) หรือวัดค่าความเข้มของแสงที่ผ่านออกมา (transmittance) จากสารตัวอย่างที่ช่วงคลื่นต่าง ๆ
5. Autoclave เป็นเครื่องมือที่ใช้ย่อย (hydrolysed) สารตัวอย่างให้มีโมเลกุลเล็กลง โดยใช้ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121° เซลเซียส
6. Handy aspirator และ Rotary evaporator เป็นเครื่องมือสำหรับระเหย (evaporated) ของเหลวจนสารจะลายตัวอย่าง

7. Paper chromatography เป็นขบวนการแยกสารประกอบออกจากของผสมโดยใช้กระดาษกรองเป็นกึ่งกลางรองรับสารเคมีที่ไว้ในขบวนการแยก

8. Partition chromatography เป็นขบวนการแยกสารประกอบออกจากของผสม โดยอาศัยหลักการแพร่บนพื้นผิวของกึ่งตัวละลายสองชนิดที่ต่างกัน เนื่องจากคุณสมบัติของการไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

9. Column chromatography เป็นขบวนการแยกสารประกอบออกจากของผสม โดยอาศัยสารเคมีที่บรรจุอยู่ในหลอดแก้วเป็นกึ่งตัวกลางที่คงการแยกออกจากของผสม

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า

การศึกษาค้นคว้าคุณสมบัติของข้าวใบประเทศไทย ส่วนใหญ่เน้นหนักเฉพาะใบไร่นาเพื่อให้ผลผลิตสูง สำหรับการวิเคราะห์เพื่อหาคุณค่าทางโภชนาการก็มีบ้าง เช่น

การวิเคราะห์หา ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ คาร์โบไฮเดรตในข้าวซ้อมมือ และข้าวขัดขาว ปรากฏว่าผลไม่แตกต่างกันมากนัก (สังข์ตล บุณยะเวส และประทุม ปราศรัยกุล, 2490 : 206 - 215)

กองโภชนาการ กรมอนามัยได้ทดลองหาปริมาณกรดอะมิโนในข้าวบางชนิด เช่น ข้าวมันปู ข้าวเหนียวดำ และข้าวเย็นเหนือ (สุภาพ สอนปาน, 2518 : 44)

ส่วนปริมาณโปรตีนในข้าวเจ้าพันธุ์เหลืองอ่อนมีร้อยละ 7.69 กรัม (ประภัทร ปริบุญณะ, 2502 : 53)

สำหรับในต่างประเทศมีการศึกษากว้างขวางพอสมควร คือ

Saharabuddhe และ Kibe รายงานว่าข้าวแต่ละพันธุ์ให้น้ำมาสูงและต่ำ เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านคุณภาพไม่เหมือนกัน (Saharabuddhe and Kibe, 1935. 12 - 37)

Sreenivasan และ Venkata กล่าวว่าข้าวที่ขัดสีมากจะย่อยได้ดีกว่า ข้าวที่ขัดสีน้อย และข้าวหุงสุกจะย่อยได้ดีกว่าข้าวที่หุงไม่สุก (Sreenivasan and Venkata, 1939: 193-207)

Rosenberg และคณะ รายงานว่า การหุงต้มจะช่วยให้ย่อยโปรตีนจากข้าว (Rosenberg and others, 1959 : 217-228)

Eggum แห่งสถาบันวิจัยเพื่อการเกษตรของเดนมาร์กได้ศึกษาหาคุณค่าทางชีววิทยา (biological value) ความสามารถในการย่อยที่แท้จริง (true digestibility) และร้อยละของการใช้โปรตีนในข้าวพันธุ์ IR8, IR22,

IR 480 - 5 - 9, BPI - 76 - 1 และ IR 480 - 5 - 9 โดยนำไปเลี้ยงหนูขาว และทดสอบค่าไนโตรเจนในปัสสาวะ ปรากฏว่าทุกตัวอย่างมีค่าความสามารถในการย่อยสูง ส่วนคุณค่าทางชีววิทยาต่ำ ยกเว้น BPI - 76 - 1 เท่านั้นที่มีค่าสูง ส่วนการใช้โปรตีนให้เป็นประโยชน์มีความสัมพันธ์กับไลซีน คือ ค่าสหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.832 (The International Rice Research Institute, 1978:10-11)

Mitchell และ Block ได้ทดลองผสมไลซีนลงในข้าว และนำไปเลี้ยงหนูขาวเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อศึกษาผลที่มีต่อความเจริญเติบโตของหนูขาว และสรุปว่าไลซีนควรเป็น limiting amino acid ตัวแรกในข้าว เพราะความเจริญเติบโตของหนูขาวเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไลซีน (Mitchell and Block, 1946 : 599)

Pecora และ Hudley เสนอว่าโปรตีนจากข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการสูงสุดเมื่อเทียบกับโปรตีนจากธัญพืชอื่น (Cereal Proteins) เพราะว่ามีปริมาณไลซีนสูง ถึงแม้ว่าไลซีนจะเป็น limiting amino acid ก็ตาม และถ้านำไลซีนกับเม็ทไธโอนีนผสมข้าวแล้วนำไปเลี้ยงหนูขาว หนูขาวจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (Pecora and Hudley, 1951 :101)

Palmiano และคณะ ทดลองพบว่า ข้าวแดง (Brown rice) มีความโน้มเอียงที่จะมีปริมาณไลซีนสูง แต่ปริมาณกรดอะมิโนในกลูตามิกต่ำกว่าข้าวขัดขาว (Milled rice) ชนิดเดียวกัน (Palmiano and others, 1968:1-10)

Ignacio และ Juliano ได้ศึกษาปริมาณโปรตีนจากข้าวแดง 17 ตัวอย่างพบว่า ค่าสหสัมพันธ์ของไลซีนเท่ากับ -0.62 ไธโรซีนเท่ากับ + 0.61 ฟีนิลอลานีนเท่ากับ + 0.52 และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 7.42 - 12.0 ตลอดจนปริมาณไลซีนเป็นร้อยละ 3.12 - 4.48 (Ignacio and Juliano, 1968:433)

Huston และ Mohammad ได้แยก 2 - globulin จากข้าวสี
กวยกรหน้าร้อยละ 1 โดยปรับ crude globulin ให้มี pH 4.5 ด้วย
0.5N NaOH (Houston and Mohammad, 1970:5-11)

Sure และ House ได้ทดสอบคุณค่าทางชีววิทยา และความสามารถในการย่อยที่แท้จริง ของข้าวสาลี จากหนูขาวซึ่งได้ผลคือ 79.0 และ 95.1 ตามลำดับ (Sure and House, 1948:595 - 600)

Kester และคณะ ได้ทดสอบปริมาณไนโตรเจนใน non protein ของข้าวสาลี ปรากฏว่ามีค่าร้อยละ 2 ของไนโตรเจนทั้งหมด (Kester and others, 1963:323 - 335)

Bressani และคณะ พบว่าการเติมเม็ทไซโอนีน ทรีโอนีน และ ทริปโตเฟน พร้อมด้วยไลซีนลงในข้าวเพื่อเลี้ยงเด็กเป็นการช่วยเพิ่มnitrogen balance (Bressani and others 1967:630)

สถาบันวิจัยข้าวระหว่างชาติของประเทศฟิลิปปินส์ได้รายงานผลการหาปริมาณ กรดอมิโนในข้าวโดยใช้วิธีต่าง ๆ ซึ่งให้ผลแตกต่างกันดังนี้ (The International Rice Research Institute; Philippines, 1966:38-73)

ตาราง 1 ปริมาณกรดอมิโนในข้าวชนิดเดียวกันวิเคราะห์โดย Paper chromatography และ Coulumn chromatography

กรดอมิโน	กรัมต่อ 16.3 กรัมไนโตรเจน	
	Paper chromatography	Column chromatography
เม็ทไซโอนีน	0.2	0.12
ฟีนีลอลานีน	4.1	0.23
อาร์จินีน	4.7	0.25

ตาราง 2 ปริมาณกรกอมิโนในข้าวชนิดเดียวกันวิเคราะห์โดย Ion-exchange chromatography และ Partition chromatography

กรกอมิโน	มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม	
	Ion-exchange chromatography	Partition chromatography
ไซโรซีน	0.16	0.12
วาเลีน	0.44	0.23
ฮิสทีดีน	0.62	0.25

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

กลุ่มตัวอย่าง

จัดหาตัวอย่างพันธุ์ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวจาก 4 ภาคของประเทศไทย คือ ภาคกลาง ใช้ตัวอย่างพันธุ์ข้าวเจ้า นางมลเอส 4 เหลืองประทีพ 123 และ ก ข 1 จากสถานีทดลองบางเขน กรุงเทพฯ 1 ภาคใต้ ใช้ตัวอย่างพันธุ์ข้าวเจ้า พวงไร่ 2 นางพญา 132 และเผือกน้ำ 43 จากสถานีทดลองควนกฎ จังหวัดพัทลุง ภาคเหนือ ใช้ตัวอย่างพันธุ์ข้าวเจ้า ชาวกอกมะลิ 105 พันธุ์ข้าวเหนียว เหมยหนอง 62 เอ็ม และคำผาย 15 จากสถานีทดลองพาน จังหวัดเชียงราย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ใช้ตัวอย่างพันธุ์ข้าวเหนียว หางยี่ 71 เหนียวสันป่าตอง และ ก ข 2 จากสถานีทดลองอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี

การดำเนินการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 4 ตอน

1. การหาโปรตีนโดย Micro Kjeldahl Nessler's method
2. การหากรดอะมิโนต่าง ๆ ยกเว้น cystine และ tryptophan
3. การหา cystine
4. การหา tryptophan

1. การหาโปรตีนโดย Micro Kjeldahl Nessler's method

- 1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (standard nitrogen solution)
นำ 0.47165 กรัม แอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulphate)
ซึ่งทำให้แห้งที่ 110 °เซลเซียส อย่างน้อย 12 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็น

ใน dissicator จะละลายในน้ำเพื่อให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร

1.2 การเตรียมสารละลาย gum ghatti-NaOH

ชั่ง gum ghatti 0.72 กรัม ผสมน้ำอุ่น 80 มิลลิลิตร นำไปปั่นประมาณ 10 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีเนื้อ 22.4 กรัม แล้วปรับให้สารละลาย gum ghatti-NaOH มีปริมาตร 3.6 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.3 การหา standard curve

ดูดสารละลายมาตรฐานจาก 1.1 ใส่ volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 4, 6, 8, 10 และ 12 มิลลิลิตร ตามลำดับ เติมโปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 0.5 กรัม พรอทออกไซด์ (HgO) 0.2 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4 conc) 8 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการย่อยสารตัวอย่าง เพื่อหาค่าดูดกลืนแสงของไนโตรเจนในสารละลายมาตรฐาน

1.4 การหาโปรตีนจากสารตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างข้าวเจ้าและข้าวเหนียวประมาณ 0.1 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมโปตัสเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม พรอทออกไซด์ 0.2 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้น 8 มิลลิลิตร นำไปอุ่นจนสารละลายใส (ประมาณ 1 ชั่วโมง) แล้วอุ่นต่อไปอีก 20 - 30 นาที ปล่อยให้เย็น เติมน้ำกลั่นจนสารละลายครบ 100 มิลลิลิตร ดูดสารละลายนี้มา 2 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย gum ghatti-NaOH 45 มิลลิลิตร และ Nessler's reagent 1 มิลลิลิตร ปรับสารละลายนี้ให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยสารละลาย gum ghatti-NaOH ปล่อยให้ 20 นาที เพื่อนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 420 มิลลิเมตรด้วยเครื่อง Hitachi spectrophotometer นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาอ่านปริมาณไนโตรเจน จาก standard curve แล้วคูณด้วย 6.25 จะเป็นปริมาณโปรตีนของข้าวเจ้า และข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ

2. การหากรดอมิโนต่าง ๆ ยกเว้น cystine และ tryptophan

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ใช้สารละลายที่มีเนื้อกรดอมิโนบริสุทธิ์แต่ละชนิด 0.25 ไมโครโมล ต่อ 0.5 มิลลิลิตร ยกเว้น proline มี 0.5 ไมโครโมล ต่อ 0.5 มิลลิลิตร ผ่านสารละลายไปบน column ของเครื่อง amino acid analyzer เพื่อหาปริมาณกรดอมิโน

2.2 การเตรียมสารละลายนินไฮดริน

เตรียมสารละลายนินไฮดริน (ninhydrin reagent) ปริมาตร 3 ลิตร ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยตวง methyl cellosolve 2250 มิลลิลิตร ผสมกับ acetic acid buffer pH 5.5 750 มิลลิลิตร และนินไฮดริน 60 กรัม ผ่านกระดาษไนโตรเจนลงในสารละลาย ค่อย ๆ เติม stannous chloride 1140 มิลลิกรัม ผ่านกระดาษไนโตรเจนต่อไปจนสารละลายใส ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้

2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างข้าวต้มกะเฉยคอย่างละไม่เกิน 0.1 กรัม ใส่ใน bombelroll tube เติม 6N กรดเกลือ (HCl) 50 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น นำไปย่อย (hydrolyse) ใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121° เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง นำสารละลายนี้ 25 มิลลิลิตร มาระเหยในเครื่อง handy aspirator และ rotary evaporator จนเหลือตะกอน นำตะกอนนี้มาละลายด้วย sodium citrate buffer pH 2.2 ปรับสารละลายให้ปริมาตรครบ 50 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman no. 1 เก็บ filtrate ที่ได้เพื่อนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป

2.4 การวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างโดยใช้ 1 - column method

ดังนี้

2.4.1 เปิด switch ดังต่อไปนี้

Main switch เพื่อจ่ายกระแสไฟฟ้า

Heater และ circulating water bath เพื่อปรับอุณหภูมิ column ให้คงที่ที่ 55° เซลเซียส

Reaction bath เพื่อให้อุณหภูมิของการเกิดปฏิกิริยาอยู่ที่ 115° เซลเซียส

2.4.2 ตั้งเวลาการไหลของ ninhydrin และ sodium citrate buffer pH 3.25, 4.25 และ 5.9 ตลอดจนการทำงานของระบบวิเคราะห์โดย programming drum ให้เป็นไปอย่างอัตโนมัติ

2.4.3 pipet สารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ผ่านบน column. ปล่อยให้แห้งด้วยความดันของก๊าซไนโตรเจน ล้างผิว column ด้วยสารละลาย sodium citrate buffer pH 2.2 ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ปล่อยให้แห้งด้วยความดันของก๊าซไนโตรเจนเช่นกัน เติมสารละลาย sodium citrate buffer pH 3.25 ให้เต็ม column ปิด column ด้วย pump 1

2.4.4 เริ่มใช้เครื่อง amino acid analyzer โดยเปิดหัวผ่านของสารละลาย (column 4) กับท่อนินไฮดรินให้ตรงกันใบตำแหน่ง C และเปิด switch การทำงานของ pump 1, pump 3 (ninhydrin), programming drum, starter และ recorder เมื่อเครื่องทำงานผ่านไป 45 นาที จะได้ peak ของ aspartic acid ปรากฏบน chart paper ส่วนกรดอะมิโนตัวอื่น ๆ จะปรากฏออกมาตามลำดับ คือ threonine, serine, glutamic acid, proline, glycine, alanine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine, ammonia และ arginine เครื่องจะหยุดทำงานเมื่อเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง 30 นาที

2.4.5 การคำนวณ โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ curve ของกรดอะมิโนแต่ละชนิดในสารตัวอย่าง กับพื้นที่ใต้ curve ของกรดอะมิโนมาตรฐาน

3. การหา cystine

3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่ง L - cystine 0.125 กรัม ละลายใน 1 N NaOH
จำนวนเล็กน้อย เติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร แล้วเติมกรด performic 2 มิลลิลิตร

3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างขาวประมาณ 0.2 - 0.5 กรัม ใส่ erlenmeyer flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมกรด performic 2 มิลลิลิตร ปิดด้วย beaker
นำไปแช่ในตู้ที่เย็นจัดทิ้งไว้ แล้วถ่ายลงใน bombelroll tube ขนาด 50 มิลลิลิตร
ล้าง flask ด้วย 6 N HCl ปิดฝาให้แน่น นำไปย่อยใน autoclave ที่ 121 ° -
เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อสารละลายเย็น
เทออกหมักในห้อง นำมาระเหยในเครื่อง handy aspirator และ rotary evaporator
จนกรดเกลือหมด นำตะกอนที่เหลือมาละลายด้วยสารละลาย sodium citrate buffer
pH 2.2 ปรับปริมาตรสารละลายเป็น 25 มิลลิลิตร นำไปผ่านกระดาษกรอง what-
man no.1 เก็บสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หา cystine ต่อไป

3.3 การวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง

ใช้ column ขนาดเกี่ยวกับการวิเคราะห์กรดอะมิโนต่าง ๆ
ที่กล่าวมาแล้วในข้อ 2.4 แต่ pipet สารละลายตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร ผ่านไปบน
column ของเครื่อง amino acid analyzer เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที จะได้
peak ของ cystine

3.4 การคำนวณ โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ curve ของสารละลาย
ตัวอย่างกับพื้นที่ใต้ curve ของสารละลายมาตรฐาน

4. การหา tryptophan

4.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

4.1.1 สารละลายสำหรับใช้กับสารมาตรฐาน

วางกรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4 conc.) 98 มิลลิลิตร

ผสมน้ำ 63 มิลลิลิตร และกรดกินประสัวเข้มข้น (HNO_3 conc.) 84 มิลลิลิตร

4.1.2 สารละลาย tryptophan มาตรฐาน

ชั่ง tryptophan มาตรฐาน 0.1 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร pipet สารละลาย tryptophan 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ใน amberlite erlenmeyer flask ขนาด 100 มิลลิลิตร 5 ใบ แล้วเติมน้ำ 4, 3, 2, 1 และ 0 มิลลิลิตร ลงใน flask ตามลำดับ เติมสารละลาย 35 มิลลิลิตร จากข้อ 4.1.1 ลงใน flask ทั้ง 5 ใบ ที่มีสารละลาย tryptophan 5 มิลลิลิตร นำไปต้มบน water bath 16 - 18 ชั่วโมง เมื่อเป็นเท่าอุณหภูมิห้อง ปริมาณสารละลายนี้ควยน้ำที่เป็นจึก จนปริมาตรครบ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman no.52 เก็บ filtrate เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

4.1.3 เตรียม blank

ตวงสารละลาย 40 มิลลิลิตร จากข้อ 4.1.1 ใส่ flask นำไปต้มบน water bath 16 - 18 ชั่วโมง แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับ ข้อ 4.1.2

4.1.4 นำสารละลายจากข้อ 4.1.2 ไปวัดค่า optical density (absorbancy) ที่ช่วงคลื่น 440 มิลลิเมตร จากเครื่อง Hitachi spectrophotometer โดยปรับ blank ให้มีค่า optical density เป็นศูนย์

4.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

4.2.1 สารละลายสำหรับใช้กับสารตัวอย่าง

ตวงกรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4 conc.) 350 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 350 มิลลิลิตร และกรดกินประสัวเข้มข้น (HNO_3 conc.) 300 มิลลิลิตร

4.2.2 สารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างข้าวไม่เกิน 0.5 กรัม ใส่ amberlite erlenmeyer flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 40 มิลลิลิตร จากข้อ 4.2.1 นำไปต้มบน water bath นาน 16-18 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องปรับสารละลายตัวอย่างนี้ให้มี

ปริมาตรครบ 50 มิลลิลิตร ค่อยน้ำที่เย็นจัด กรองผ่านกระดาษกรอง whatman no.52 แล้วเก็บ filtrate เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

4.2.3 เตรียม blank

ทวงสารละลาย 40 มิลลิลิตร จากข้อ 4.2.1 ใส่ใน amberlite erlenmeyer flask นำไปต้มบน water bath นาน 16 - 18 ชั่วโมง แล้วดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.2.2

4.2.4 นำสารละลายข้อ 4.2.2 ไปวัดค่า optical density ด้วยเครื่อง Hitachi spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 440 มิลลิเมตร โดยปรับ blank ให้มีค่า optical density เป็นศูนย์

4.3 การคำนวณ

นำค่า optical density มาคำนวณเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล และผลการทดลอง

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

1. การหาปริมาณโปรตีน

โดยนำค่า absorbance ของสารละลายตัวอย่างที่อ่านจากเครื่อง Hitachi spectrophotometer มาหาปริมาณไนโตรเจนจาก curve มาตรฐาน แล้วคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 จะเป็นปริมาณโปรตีนตามต้องการ

ค่า absorbance ของปริมาณไนโตรเจนมาตรฐานที่ช่วงคลื่น 420 มิลลิไมครอน แสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ค่าปริมาณไนโตรเจนมาตรฐานที่ช่วงคลื่น 420 มิลลิไมครอน

สารละลาย เลขที่	สารละลาย ไนโตรเจน มิลลิกรัม	ปริมาณ ไนโตรเจน มิลลิกรัม	ครั้งที่ 1 A	ครั้งที่ 2 A	ค่าเฉลี่ย
1	4	0.8	0.057	0.061	0.059
2	6	1.2	0.089	0.089	0.089
3	8	1.6	0.121	0.116	0.114
4	10	2.0	0.154	0.153	0.154
5	12	2.4	0.195	0.173	0.183

2. การหาปริมาณกรอมิโนทุกตัว (ยกเว้น ซิสทีน และทริปโตเฟน)

สารละลายตัวอย่างที่ปรากฏในรูปของ curve จะต้องนำมาคำนวณหาพื้นที่กรังบนของแต่ละ curve โดยเปรียบเทียบกับแต่ละ curve ของสารมาตรฐาน การคำนวณใช้สูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณกรอมิโน} = \frac{H' \times W' \times 0.25 \times M.W. \times 1000}{M \times H \times W \times 1000 \times 1000} \quad \frac{\text{กรัม}}{100 \text{ กรัม}}$$

M = น้ำหนักของสารตัวอย่าง

H' = ความสูงของ curve ของกรอมิโนในสารละลายตัวอย่าง

W' = ความกว้างของ curve ของกรอมิโนในสารละลายตัวอย่าง

H = ความสูงของ curve ของกรอมิโนในสารละลายมาตรฐาน

W = ความกว้างของ curve ของกรอมิโนในสารละลายมาตรฐาน

M.W. = น้ำหนักโมเลกุลของกรอมิโนแต่ละชนิด

0.25 = ปริมาณกรอมิโนในแต่ละชนิดในสารละลายมาตรฐาน

ความกว้างของ curve = $4(n - 1) +$ ส่วนที่เหลือให้จุดค่าเหนือเส้นแบ่งครึ่ง curve ทั้งสอง

n = จำนวนจุดค่าที่อยู่ระหว่าง space (สเปซ 4 จุด)

3. การหาปริมาณซิสทีน

$$\text{ปริมาณซิสทีน} = \frac{H' \times W' \times 50 \times 100}{M \times H \times W \times 1000 \times 1000} \quad \frac{\text{กรัม}}{100 \text{ กรัม}}$$

50 = ปริมาณ cystine ในสารละลายมาตรฐาน (ไมโครกรัม)

4. การหาปริมาณทริปโตเฟน

ค่า optical density (O.D.) ที่อ่านจากเครื่อง Hitachi spectrophotometer ของสารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่าง นำมา

คำนวณหาปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน จากสูตร

$$\text{ปริมาณทริปโตเฟน} = \frac{F \times \text{O.D. unit} \times 100}{W \times 1000}$$

F = มิลลิกรัมต่อค่าเฉลี่ยของ O.D. unit ในสารมาตรฐาน

$$\text{O.D. unit} = \text{D.D.} \times 1000$$

W = น้ำหนักของสารตัวอย่าง

ตาราง 4 ค่ามิลลิกรัมต่อ O.D. unit ของสารทริปโตเฟนมาตรฐาน

การกระจาย เลขที่	ปริมาณ ทริปโตเฟน มิลลิกรัม	O.D.unit	มิลลิกรัมต่อ O.D.unit (F)	ค่าเฉลี่ยของ F
1	1	16	0.0625	0.0637
2	2	30	0.0667	
3	3	46	0.0652	
4	4	64	0.0625	
5	5	81	0.0617	

5. การหา Protein score ใช้วิธีของ FAO/WHO ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

5.1 รวมกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมไนโตรเจน)

5.2 หาเปอร์เซ็นต์ของ limiting amino acid ต่อค่าของกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้งหมด

5.3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ที่ให้กับ limiting amino acid ชนิดเกี่ยวกับ reference amino acid pattern (ใช้ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ)

ผลการทดลอง

1. ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโน ตรวจสอบคุณค่าของโปรตีนของข้าวเจ้า และข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย แสดงไว้ในตาราง 5, 6 และ 8
2. การหาค่าของโปรตีนในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ทำการวิจัย ผู้เขียนได้นำผลของกรดอะมิโนที่จำเป็นที่วิเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับไข่ ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน โดยใช้วิธีการคำนวณของ FAO ดังแสดงไว้ในตาราง 9

อภิปรายผลการทดลอง

1. ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโน ตาราง 5
 - 1.1 ข้าวพันธุ์ กข 1 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดรองลงมา คือ นางพญา 132 เหนียวสันป่าตอง นางมดเส 4 กข 2 พวงไร 2 เผือกน้ำ 43 เหลืองประทิว เหมยทอง 62 เอ็ม หางยี่ 71 คำผาย 15 และข้าวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ
 - 1.2 เมื่อเปรียบเทียบข้าวเจ้าพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า ข้าว กข 1 มีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนทั้งหมดสูงสุด คือ 9.406 และ 7.736 กรัม ส่วนข้าวข้าวดอกมะลิ 105 มีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนทั้งหมดต่ำสุดคือ 6.466 และ 4.978 กรัม สำหรับข้าวเหนียวพบว่า เหนียวสันป่าตอง มีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนทั้งหมดสูงสุดคือ 8.568 และ 6.575 กรัม ส่วนคำผาย 15 มีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนทั้งหมดต่ำสุด คือ 6.568 และ 5.296 กรัม
 - 1.3 ข้าว กข 1 มีปริมาณกรดอะมิโนไอโซลูซีน และไลซีนสูงสุด คือ 0.263 และ 0.331 กรัม สำหรับ นางพญา 132 มีปริมาณไอโซลูซีน และไลซีน

รองลงมาคือ 0.242 และ 0.297 กรัม ส่วนเหนียวสันป่าตองมีไลซีนสูงพอควร คือ 0.253 กรัม เนื่องจากไอโซลูซีนและไลซีนเป็น limiting amino acids ใน ธัญพืช ดังนั้นข้าวทั้ง 3 ชนิดนี้จึงจัดเป็นข้าวที่มีคุณภาพดีกว่าพันธุ์อื่น

1.4 ผลการวิเคราะห์พบว่า ข้าวเกือบทุกพันธุ์มีปริมาณกรดอะมิโน- เมไทโรนีนต่ำสุดเมื่อเทียบกับไข่ คือ 0.088 - 0.120 กรัม ยกเว้นข้าว เหลืองประทิว นางมดเอส 4 และ กข 1 มีปริมาณเมไทโรนีนสูงกว่าไข่โรซัน เล็กน้อย สำหรับกรดอะมิโนในกลูตามิคในข้าวทุกพันธุ์มีปริมาณสูง

ตาราง ปริมาณโปรตีน และ กรดอมิโน ในข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่ปลูกต่าง ๆ ของประเทศไทย

สารตัวอย่าง	Protein กรัม	Total amino acid กรัม	Isoleucine กรัม	Leucine กรัม	Lysine กรัม	Methionine กรัม	Phenylalanine กรัม	Threonine กรัม	Tryptophan กรัม	Valine กรัม	Histidine กรัม	Alanine กรัม	Arginine กรัม	Aspartic acid กรัม	Cystine กรัม	Glutamic acid กรัม	Glycine กรัม	Proline กรัม	Serine กรัม	Tyrosine กรัม
ข้าวเจ้า เหลืองประทิว	7.531	5.667	0.189	0.315	0.254	0.132	0.290	0.204	0.257	0.294	0.170	0.319	0.483	0.543	0.232	1.189	0.249	0.215	0.309	0.123
นางมจเอส 4	8.442	7.029	0.230	0.585	0.230	0.153	0.360	0.241	0.155	0.343	0.197	0.408	0.536	0.622	0.266	1.496	0.298	0.380	0.381	0.148
กข 1	9.406	7.736	0.263	0.609	0.331	0.174	0.380	0.265	0.199	0.363	0.243	0.432	0.658	0.688	0.291	1.599	0.344	0.341	0.390	0.166
พวงไร 2	8.278	6.139	0.196	0.481	0.233	0.102	0.325	0.214	0.154	0.292	0.185	0.279	0.497	0.665	0.178	1.304	0.267	0.269	0.319	0.179
นางพญา 132	8.897	7.293	0.242	0.572	0.297	0.106	0.427	0.241	0.159	0.342	0.297	0.374	0.627	0.622	0.241	1.503	0.314	0.297	0.369	0.263
เขื่อนน้ำ 43	7.542	5.681	0.184	0.450	0.227	0.120	0.296	0.195	0.156	0.276	0.175	0.296	0.460	0.511	0.205	1.164	0.249	0.269	0.287	0.161
ข้าวทองมะลิ 105	6.466	4.978	0.152	0.363	0.236	0.097	0.268	0.168	0.115	0.215	0.166	0.241	0.460	0.464	0.178	0.994	0.209	0.234	0.263	0.155
เพี้ยนา เหมยนา 62 เหม	7.653	5.612	0.176	0.451	0.216	0.117	0.301	0.175	0.137	0.259	0.189	0.316	0.478	0.488	0.223	1.146	0.247	0.262	0.291	0.140
ค่านาย 15	6.568	5.296	0.164	0.415	0.211	0.088	0.274	0.186	0.137	0.245	0.147	0.295	0.488	0.468	0.198	1.071	0.240	0.242	0.290	0.137
เดิยวต้นป่าทอง	8.598	6.575	0.212	0.542	0.253	0.120	0.358	0.211	0.168	0.316	0.212	0.374	0.551	0.581	0.189	1.407	0.297	0.319	0.335	0.130
หางยี 71	6.613	5.312	0.164	0.412	0.210	0.099	0.282	0.178	0.106	0.239	0.163	0.278	0.447	0.487	0.215	1.128	0.232	0.232	0.293	0.147
ก ข 2	8.304	5.954	0.187	0.513	0.218	0.067	0.303	0.206	0.135	0.269	0.181	0.323	0.488	0.546	0.220	1.360	0.256	0.250	0.321	0.111

2. อัตราส่วนระหว่างกรคอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายกับปริมาณไนโตรเจน ดูตาราง 2 และ 3

2.1 อัตราส่วนระหว่างกรคอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายกับปริมาณไนโตรเจน (E/T) ของข้าวนางพญา 132 มีค่ามากที่สุดคือ 2.029 ส่วน กข 1 มีค่าเท่ากับ 2.021 และนางมลเอส 4 เท่ากับ 2.007 สำหรับข้าวพันธุ์อื่น ๆ อีก 9 ชนิด มีค่า E/T น้อยกว่า 2.0

2.2 เมื่อเปรียบเทียบค่า E/T ของพันธุ์ข้าวที่ทำการทดลองกับ E/T ของสารมาตรฐานพบว่า ข้าวทุกพันธุ์มีคุณค่าทางโภชนาการน้อยกว่า ถั่ว ไข่ไก่ นมวัว นมคน ปลา ส่วนข้าวนางพญา 132 กข 1 และนางมลเอส 4 มีคุณค่าทางโภชนาการพอกับ Eye เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฝ้าย แต่ข้าวทั้ง 12 พันธุ์ที่ทำการวิจัยมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่ามันสำปะหลัง

2.3 ค่า E/T ของข้าวที่ FAO รายงานมีค่าเท่ากับ 2.61 ซึ่งมากกว่าค่า E/T ของตัวอย่างข้าวที่ทำการวิจัย ที่เป็นเช่นนั้นอาจเนื่องจากตัวอย่างข้าวที่ FAO รายงานนั้นเป็นข้าวที่คัดพันธุ์แล้ว จึงมีปริมาณกรคอมิโนที่จำเป็นอยู่มาก ส่วนข้าวที่ผู้เขียนนำมาวิจัยนี้ได้สุ่มมาจากสถานทดลองของภาคต่าง ๆ ที่กรมการข้าวพยายามส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกเนื่องจากได้ผลผลิตสูง

3. ปริมาณร้อยละของกรคอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายและคะแนนของโปรตีน ดูตาราง 4

3.1 จากการหาคุณค่าของโปรตีนตามวิธีการของ FAO/WHO ในตัวอย่างข้าวทั้ง 12 พันธุ์ พบว่า ไอโซลูซีนเป็น limiting amino acid คือ มีคุณค่าทางโภชนาการน้อยสุดเมื่อเทียบกับไข่ สำหรับไลซีนมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าไอโซลูซีนเล็กน้อย แต่ต่ำกว่ากรคอมิโนที่จำเป็นตัวอื่น ๆ ส่วนทริปโทเฟนเป็นกรดอมิโนที่มีคุณค่าสูงสุด แต่กรคอมิโนที่จำเป็นตัวอื่นมีค่าพอ ๆ กับไข่ ดังตาราง 4

3.2 ในข้าวทั้ง 12 พันธุ์ ที่ทำการวิจัยพบว่า ข้าวเหลืองประทิว และ กข 1 มีคะแนนของโปรตีนสูงสุดคือ 67 ส่วนขาวดอกมะลิมีค่าต่ำสุดคือ 60

ตาราง 2 อัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายกับปริมาณ
ไนโตรเจนทั้งหมด (Ratio of essential amino acid
and total nitrogen หรือ E/T)

สารตัวอย่าง 100 กรัม	กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ ร่างกาย กรัม	ไนโตรเจน กรัม	E/T
ข้าวเจ้า เหลืองประทิว	2.190	1.205	1.817
นางมลเอส 4	2.711	1.351	2.007
กข 1	3.041	1.505	2.021
พวงไร 2	2.354	1.325	1.777
นางพญา 132	2.890	1.424	2.029
เขื่อนน้ำ 43	2.270	1.207	1.881
ข้าวคอกมะลิ 105	1.947	1.035	1.881
ข้าวเหนียว เหมยทอง 62 เอ็ม	2.195	1.129	1.944
ค่านาย 15	2.055	1.074	1.913
เหนียว น้าต๋อง	2.499	1.375	1.817
หางยี 71	2.052	1.058	1.940
กข 2	2.229	1.329	1.677

ตาราง 3 อัตราส่วนระหว่างกรกอมินที่จำเป็นแก่ร่างกายกับปริมาณไนโตรเจน
ของสารมาตรฐาน (FAO, 1965 : 71)

สารตัวอย่าง	E/T
ไข่ไก่	3.22
นมวัว	3.20
นมคน	3.13
ปลา	2.66
ข้าวเจ้า	2.61
ถั่ว	2.59
สวye	2.17
เมล็ดฝ้าย	2.15
เมล็ดทานตะวัน	2.11
มันสำปะหลัง	1.31

ตาราง 4 | ปริมาณร้อยละของกรดอะมิโนที่จำเป็นในร่างกายและคะแนนของโปรตีน (Protein score) ในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย

กรดอะมิโนที่จำเป็น ในร่างกายและ คะแนนของ โปรตีน	ข้าวเจ้า เกล็ดประทิว	นางเอก 4	กต 1	ทองไร 2	นางพญา 132	เผือกน้ำ 43	ขาวดอกมะลิ 105	ขาวเหนียว เพลย์แดง 62 เอ็ม	กำผาย 15	เพี้ยวสันปากทอง	หางยี 71	กต 1	โปรตีน (reference standard)
Isoleucine	8.6	8.5	8.7	8.3	8.4	8.1	7.8	8.0	8.0	8.5	8.0	8.4	12.9
Leucine	14.4	21.6	20.0	20.4	19.8	19.8	18.6	20.5	20.2	21.7	20.1	23.0	17.2
Lysine	11.6	8.5	10.9	9.9	10.3	10.0	12.1	9.8	10.2	10.1	10.2	9.8	12.4
Aromatic amino acid	18.8	15.5	15.3	11.9	12.0	14.3	14.1	15.5	14.0	12.4	15.3	12.9	10.8
Sulfur containing amino acid	16.6	18.7	18.0	21.4	23.9	20.1	21.7	20.1	20.0	19.5	20.9	18.5	19.5
Threonine	9.3	8.9	8.7	9.1	8.3	8.6	8.6	8.0	9.0	8.4	8.7	9.2	9.9
Tryptophan	7.2	5.7	6.5	6.5	5.5	6.9	5.9	6.2	6.7	6.7	5.2	6.1	3.1
Valine	13.4	12.7	11.9	12.4	11.8	12.2	11.1	11.8	12.0	12.7	11.7	12.0	14.1
Protein score (Iso)	67	66	67	64	65	63	60	62	62	66	62	65	100

ตาราง 9 คะแนนของโปรตีนในอาหารประเภทต่าง ๆ

ตัวอย่าง	คะแนนของโปรตีน
ไข่ ¹	100
นมวัว ¹	78
ปลา ¹	70
ข้าวเจ้า ²	70
Lactalbumin ²	63
มะเขือเทศ ¹	56
Soy flour ²	53
White flour ²	43
Wheat gluten	40

1 ได้จากตัวเลขของ US Dept. of Agriculture

2 ได้จากตัวเลขของ FAO

3.3 คะแนนของโปรตีนของข้าวที่ FAO รายงานมีค่าเท่ากับ 70 ซึ่งสูงกว่าคะแนนของโปรตีนจากข้าวที่ผู้เขียนทำการวิจัย แต่ค่าไม่แตกต่างกันมากนัก ตัวอย่าง ข้าวเหลืองประทิว กข 1 นาง ลเอส 4 เหนียวสันป่าตอง นางพญา 132 และ กข 2 มีคะแนนของโปรตีนเท่ากับ 67, 67, 66, 66 65 และ 65 ตามลำดับ ดังนั้นผู้เขียนคิดว่าข้าวที่กล่าวมานี้น่าจะจัดเป็นข้าวพันธุ์ดีได้

3.4 เมื่อเปรียบเทียบข้าวที่ใช้ในการทดลองกับอาหารชนิดอื่น ๆ (ตาราง 9) เช่น นมวัว ไข่ ปลา พบว่าข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการต่ำกว่าอาหารที่มาจากสัตว์และผลิตภัณฑ์ของสัตว์ แต่ถาเปรียบเทียบกับพวกพืชเช่น มะเขือเทศ

Wheat gluten, White flour และ Soy flour ข้าวจะมีคุณค่าทาง
 โภชนาการสูงกว่า เนื่องจากมีกะแนนของโปรตีนสูงกว่า ผลอันนี้สอดคล้องกับที่FAO
 รายงานไว้

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

โปรตีนเป็นสารอาหารที่ได้คุณประโยชน์ต่อร่างกาย และมีอยู่มากพอสมควรในข้าวที่เป็นอาหารหลักของประชากรไทย ประชาชนไทยบริโภคข้าวจำนวนมากในวันหนึ่ง ๆ ดังนั้นการวิจัยเพื่อให้ทราบถึงปริมาณและคุณค่าของโปรตีนอย่างแท้จริงของข้าวแต่ละพันธุ์ จึงนับว่าได้ประโยชน์อย่างยิ่งในค่านโยบายการ

สรุปผลการทดลอง

1. ข้าวเจ้าและข้าวเหนียวหลายชนิดที่ทำการวิจัยมีปริมาณและคุณค่าของโปรตีนสูงเช่น กข 1 นางมลเอส 4 นางพญา 132 เหลืองประทีพ เหนียวสันป่าตอง และ กข 2 ดังนั้นผู้เขียนเห็นว่าสมควรส่งเสริมให้ประชากรได้บริโภคและเกษตรกรควรได้เพาะปลูก

2. ข้าวเจ้าและข้าวเหนียวทุกพันธุ์ที่ทำการวิจัยมีปริมาณไอโซลูซีนต่ำสุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ FAO สำหรับกรดอะมิโนไลซีนมีปริมาณสูงกว่าไอโซลูซีนเล็กน้อย แต่ก็น้อยกว่าไลซีนในไข่ ดังนั้นอาจจะกล่าวได้ว่าข้าวทั้ง 12 ชนิดนี้เป็นแหล่งที่ให้ไอโซลูซีนและไลซีนต่ำ เว้นไอโซลูซีนและไลซีนเป็น limiting amino acid ที่สำคัญในข้าว แต่ให้ทริปโตเฟนมากเมื่อเทียบกับไข่ สำหรับกรดอะมิโนที่จำเป็นตัวอื่นมีค่าใกล้เคียงกับไข่

3. ความแตกต่างของปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในข้าวแต่ละพันธุ์ อาจเนื่องจากองค์ประกอบหลายประการเช่น คุณสมบัติทางเคมี สภาพดินฟ้าอากาศ และแร่ธาตุในดิน ณ ที่ทำการเพาะปลูก ตัวอย่างที่ผู้เขียนได้ทำการวิจัยข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 ที่ทำการเพาะปลูก ณ สถานที่ทดลองต่างกัน ผลปรากฏว่าข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 จากสถานที่ทดลองบางเขน มีปริมาณและคะแนนของโปรตีน

เท่ากับ 7.099 กรัม และ 65 ส่วนข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 จากสถานีทดลองนา
มีปริมาณและคะแนนของโปรตีนเท่ากับ 6.466 กรัม และ 60 ซึ่งจะเห็นว่าแตกต่าง
กันทั้ง ๆ ที่เป็นข้าวพันธุ์เดียวกัน

4. ปริมาณโปรตีนของข้าวทุกพันธุ์ที่ทำการศึกษา มีค่ามากกว่าการคอบีในทั้งหมด
เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์เดียวกัน เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้เป็นค่า
ไนโตรเจนรวม คือไนโตรเจนในโมรฟีนจริง กับไนโตรเจนใน non protein จึง
ทำให้ค่าของโปรตีนและกรดอะมิโนในทั้งหมดแตกต่างกัน

5. ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างข้าวเจ้าและข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ โดย
Micro Kjeldahl Nessler's method ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใกล้เคียง
กับ Micro Kjeldahl's method เปรียบปริมาณโปรตีนในข้าวเจ้า กข 1
เหลืองประทิว ข้าวเหนียวเหนียว และข้าวเหนียวสันป่าตอง มีค่าเท่ากับ 9.404,
7.531, 7.053 และ 8.598 กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนจากข้าวพันธุ์
เดียวกัน แต่ใช้ Micro Kjeldahl's method มีค่าเท่ากับ 9.477, 7.456
6.993 และ 8.411 กรัม ต่อข้าวตัวอย่าง 100 กรัม

6. การกำหนดค่ามาตรฐานของโปรตีนจาก American Association
of Cereal Chemists ถือว่าค่าเฉลี่ยของโปรตีนจากข้าวมีค่าร้อยละ 7.33 -
11.9 ดังนั้น ตัวอย่างข้าวที่ทำการศึกษาที่ต่ำกว่า 7.33 มีเพียง 3 พันธุ์ คือ
ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 ข้าวเหนียวกาบาย 15 และหางยี 71 (Houston,
1972 : 41)

ข้อควรพิจารณาในการวิเคราะห์ทางเคมี

1. การหาปริมาณโปรตีนโดย Micro Kjeldahl Nessler's method
มีข้อควรระมัดระวังคือ

1.1 การเตรียม Nessler's reagent จะต้องเก็บไว้ในที่มืดและเย็นเพื่อป้องกันการถูกออกซิไดส์

1.2 การเตรียมสารละลาย gum ghatti - NaOH จะต้องกรองให้ใสเพื่อป้องกันไม่ให้สารละลายที่ต้องการทราบปริมาณไนโตรเจนขึ้น เพราะจะทำให้ค่าดูดกลืนแสงผิดพลาด

1.3 การย่อยสารตัวอย่าง ควรตั้ง flask ในแนว 45 องศา และไม่ใช้ความร้อนมากเกินไป เพราะอาจจะทำให้สารตัวอย่างบางส่วนกระเด็นออกนอก flask ซึ่งจะทำให้ปริมาณไนโตรเจนลดลงจากความเป็นจริง

1.4 กรดกำมะถันที่ใช้ในการย่อยควรเป็นกรดกำมะถันใหม่ เพราะถ้าเป็นกรดกำมะถันที่เก็บไว้นานจะมีปริมาณน้ำจากอากาศเข้าผสมอยู่มาก ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยไม่ดีพอ

1.5 จะต้องทำ standard curve ใหม่ทุกครั้งที่มีการเตรียม Nessler's reagent ขึ้น

2. ในการหาปริมาณกรดอะมิโนแต่ละตัว จะต้องทราบว่าสารตัวอย่างนั้น ๆ มีปริมาณกรดอะมิโนมากน้อยเพียงใด จะได้ใช้สารละลายตัวอย่างในปริมาณพอเหมาะ เพื่อ peak จะได้ไม่สูงหรือต่ำจนเกินไป ซึ่งจะสะดวกในการคำนวณพื้นที่ใต้ curve การหากรดอะมิโนโดยประมาณได้จากความเข้มข้น คือใส่สารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองสองหลอด แล้วเติมสารละลายนินไฮดริน 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายทั้งหมดเข้ากัน นำไปต้มในน้ำเคือกสองนาที่ แล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เทียบสีม่วงเพื่อดูความเข้มข้น ถ้าความเข้มข้นมากใช้สารละลายตัวอย่างเพียง 0.5 มิลลิลิตร ถ้าความเข้มข้นน้อยใช้สารละลายตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร เพื่อผ่านเครื่อง

amino acid analyzer

ข้อเสนอแนะ

1. การหาปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย น่าจะมีการวิจัยได้กว้างขวางต่อไป เนื่องจากยังมีข้าวอีกหลายชนิดที่ประชาชนนิยมบริโภค แต่ไม่ทราบปริมาณและคุณค่าของโปรตีนอย่างแท้จริง
2. ควรมีการศึกษาทดลองเปรียบเทียบปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในข้าวพันธุ์เดียวกัน แต่ปลูกในสถานที่ต่างกัน เพื่อจะได้ทราบถึงสาเหตุที่ทำให้ปริมาณและคุณค่าของโปรตีนต่างกัน
3. ควรมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อเปรียบเทียบค่าของกรกอมินในข้าวสี และไม่สีจากสถานีทดลองเดียวกัน เพื่อจะได้ทราบว่าในข้าวที่สีแล้วมีการสูญเสียกรกอมินมากน้อยเพียงใด และวิธีหุงข้าวมีผลต่อการสูญเสียกรกอมินหรือไม่
4. เนื่องจากไอโซลูซีนและไลซีน เป็น limiting amino acids ในข้าว ดังนั้นจึงควรบริโภคข้าวกับอาหารอื่นที่ได้ไอโซลูซีนและไลซีนสูง เช่น ถั่วเมล็ดแห้ง ไข่ นม และเนื้อสัตว์อื่น ๆ เพื่อทำให้คุณภาพของข้าวในแง่โปรตีนสูงขึ้น จะได้ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคขาดโปรตีนในเด็กซึ่งเป็นอยู่ในปัจจุบัน

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- ประชา บุญศิริกุล " W.S.B. ผลิตภัณฑ์อันสูงค่าด้วยโปรตีน" อาหาร ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2517 หน้า 19.
- ประภัทร ปรีพละ "รายงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือสารโซวาวโพดเป็นอาหารประจำวันร่วมกับข้าวสาร" กสิกร ปีที่ 32 เล่ม 1 มกราคม 2502 หน้า 53.
- วัชรินทร์ บุญวัฒน์ "ข้าว" คู่มือประกอบคำบรรยายวิชาพืชเกษตร 2516 หน้า 15 - 16.
- สุภาพ สอนปาน "ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดอะมิโนในอาหารไทย" โภชนาการสาร ปีที่ 9 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2518 หน้า 44.
- Blackburn, Stanley, Amino Acid Determination Methods and Techniques, March Dekker, Inc., New York, 1968, 271 pp.
- Bressani, R., and others, "Amino Acid Supplementation of Rice and Corn Fed alone and as Components of Human Diets" Federation Proc., 26, 1967, pp.630.
- Bull, H.B., Hahn, J.W. and Baptist, V.H., "Filter Paper Chromatography", J.Am. Chem. Soc., 71, 1947, pp. 550 - 553.
- Chiles, H.M., "Direct Nesslerization of Kjeldahl Digestions", J. Am. Chem. Soc., 50, 1928, pp. 217 - 221.
- FAO, "Energy and Protein Requirements", FAO Nutrition Meeting Report Series No.52, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, 1973, 1973, 118 pp.
- FAO, "Protein Requirements," FAO Nutritional Studies. No. 16, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, 1957, pp.28.

- Folin, O. and Denis, W., J. Biol Chem., 12, 1912, pp. 245.
- Gordon, A.H. and others, "Partition Chromatography in the Study of Protein Constituents", Biochem. J. (London), 37 1943, 79 - 86.
- Houston, D.F., Rice: Chemistry and Technology, Vol IV, American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, 1972, 517 pp.
- Houston, D.F. and Mohammad, A., "Purification and Partial Characterization of a Major Globulin from Rice Endosperm", Cereal Chem., 47, 1970, pp. 5-11.
- Ignacio, Cynthia C. and Juliano, B.O., "Physicochemical Properties of Brown Rice from Oryza Species and Hybrids," Food Chem., 13, 1968, pp. 438.
- International Research Council Washington, Evaluation of Protein Quality, National Academy Science - National Research Council, Washington, D.C., 1963, 74 pp.
- International Rice Research Institute, Annual Report for 1972, Los Banos, Laguna, Philippines, 1973.
- International Rice Research Institute, Physicochemistry Data on Rice Grain, Los Banos, Laguna, Philippines, August, 1966.
- Kasetsart, Institute of Food Research and Product Development, "The Rice Component," Food, Vol. 4, No. 4, October - December, 1972, pp. 19.
- Kester, E.B. and Others, "Influence of Maturity on Properties of Western Rices," Cereal Chem, 40, 1963, pp. 323 - 335.
- Koessler, K.K. and Hanke, M.T., J. Biol Chem., 39, 1919, pp. 497.
- Light, Albert, "Amino Acid Analysis," Protein Structure and Function, Prentice - Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1974, pp. 58 - 78.

2

Meyer, Lillian Hoagland, Food Chemistry, Reinhold Publishing Co.,
4 th printing, U.S.A., 1966, 385 pp.

Middleton, K.R., "New Nessler Reagent and Its Use in the Direct
Nesslerisation of Kjeldahl Digests," J. appl. Chem., 10 th
July, 1960, pp. 281 - 286.

Mitchell, H.H. and Block, R.J., "Some Relationships between the
Amino Acid Contents of Proteins and their Nutritive Values of
the Rat," J. Biol Chem., 163, 1946, pp. 599-618.

Nichols, M.L. and Willist, C.O., "Reaction of Nessler's Solution"
J. Am. Chem. Soc., 56, 1934, pp. 767 - 774.

Palmano, Evelyn P., Almazan, Aurea M. and Juliano, B.O.,
"Physicochemical Properties of Protein of Developing and
Mature Rice Grain," Cereal Chem., 45, 1968 pp.1 - 10.

Partridge, S.M. and Brimley, R.C., "Displacement Chromatography
on Synthetic Ion-exchange Resins," Biochem. J. 51, 1952,
pp. 628 - 639.

Pecora, L.J. and Hudley, J.M., "Nutritional Improvement of white
Polished Rice by the Addition of Lysine and Threonine,"
J. Nutr., 44, 1951, pp. 101.

Rosenberg, H.R., Culek, R. and Eckert, R.E., "Lysine and Threonine
Supplementation of Rice," J. Nutr., 69, 1959. pp. 217-228.

Sahasabuddhe, D.L. and Kibe, M.M. "Biochemical Study of the
Starches from Old and New Grain of Different Varieties of Rice,"
The Indian Journal of Agricultural Science, 5, 1935, pp. 12-
37.

Sakagushi, S., J. Biol Chem., 5, 13, 25, 1925, pp.133.

Snell, Foster Dee and Snell, Cornelia T., Colorimetric Method of Analysis, Vol II , Chapman & Hall Ltd., 1937, pp.333-334.

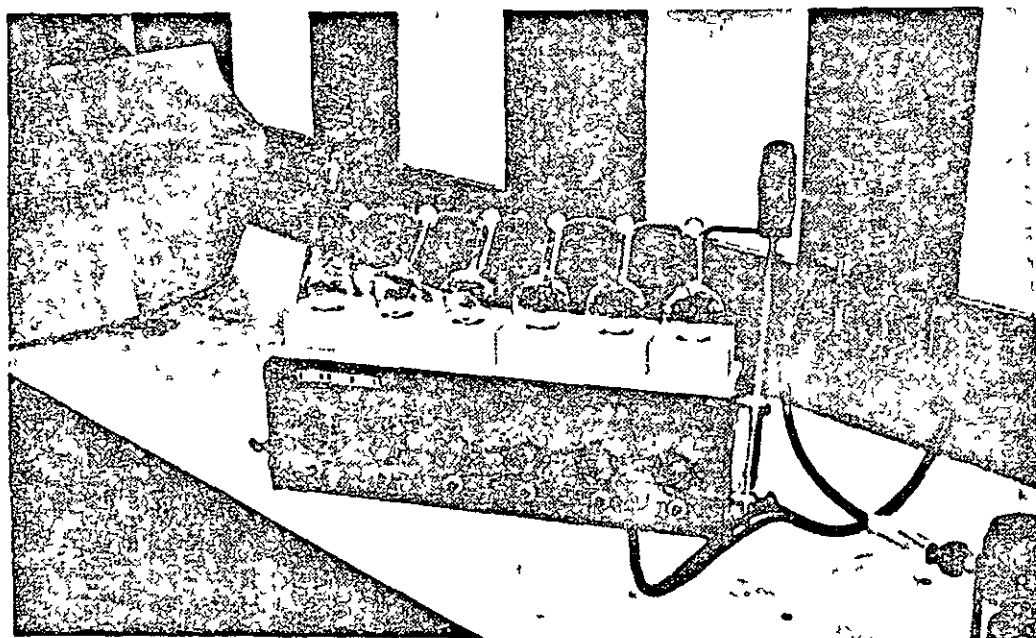
Sreenivasan, A. and Venkata, Girik., "Study on Quality in Rice", The Indian Journal of Agricultural Science, 9, 1939, pp 193-207

Spackman, D.H, Stein, W.H. and Moore, S., "Automatic Recording Apparatus for Use in the Chromatography of Amino Acids", Anal. Chem., 30, 1958, pp.1190-1206

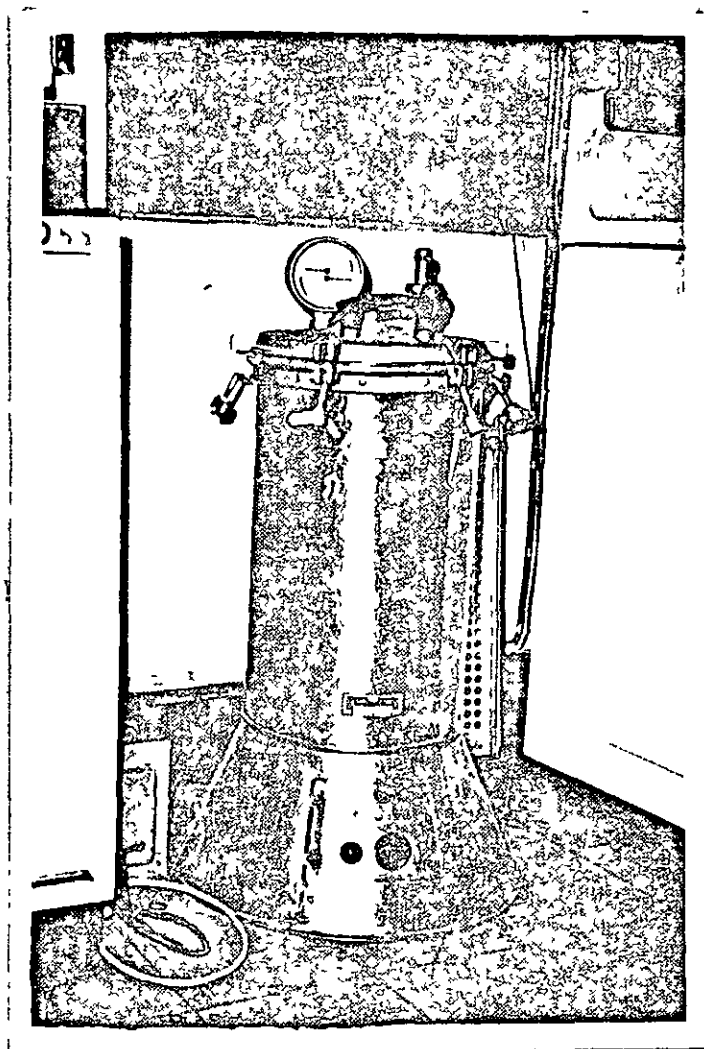
Sure, B. and House, F., "The Relative Biological Values of Proteins in Cereal Grains", J. Nutr., 36, 1948, pp. 595-600.

Yol, John H., Photometric Methods of Analysis, Vol.I, John Wiley & Sons, Inc., London, 1928, 771 p.p.

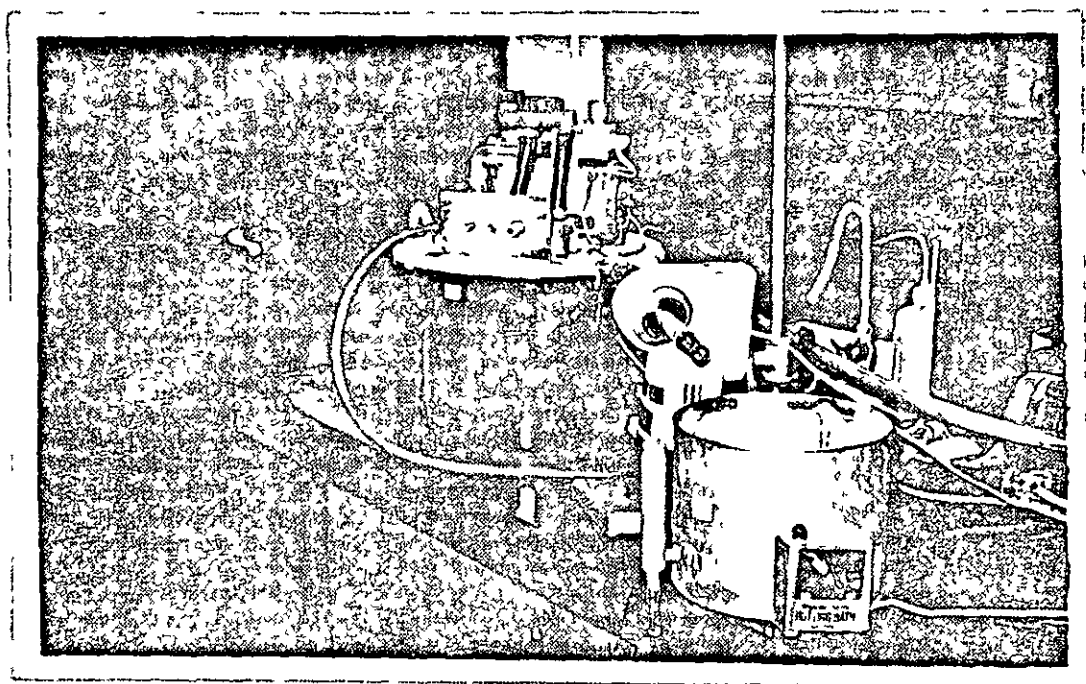
ภาคผนวก



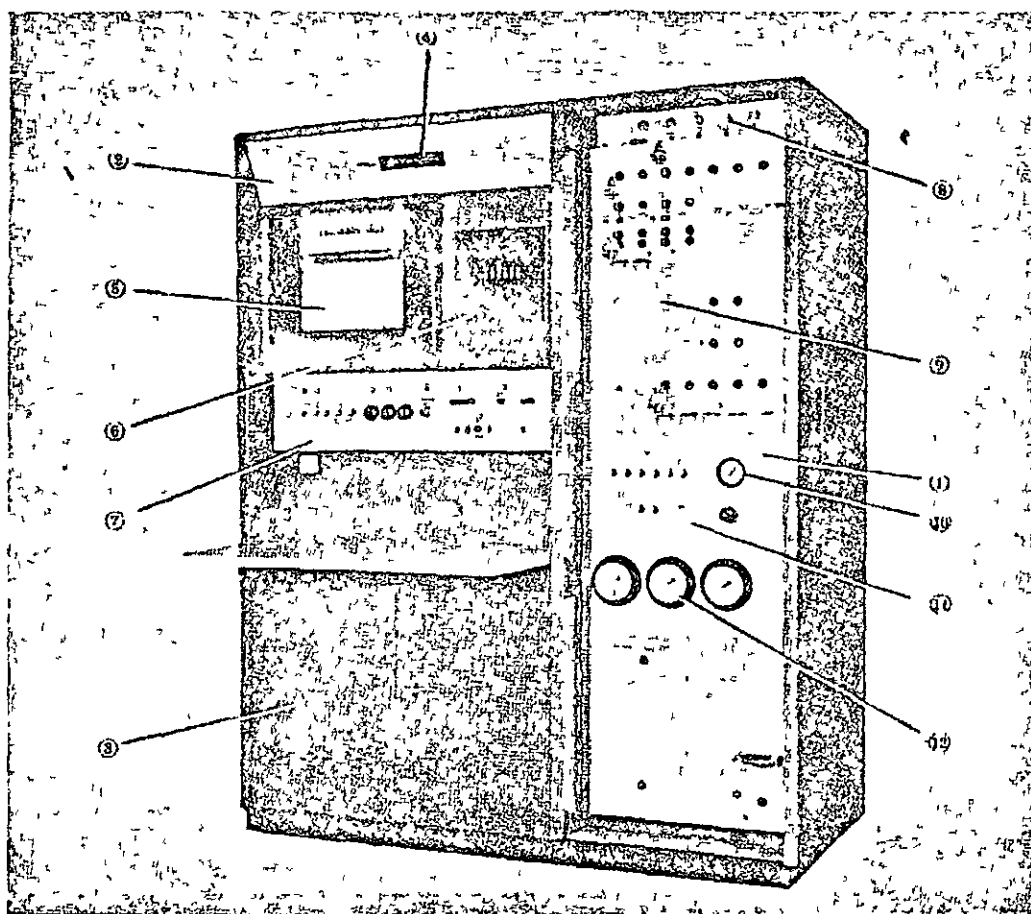
Micro Kjeldahl apparatus



Autoclave .

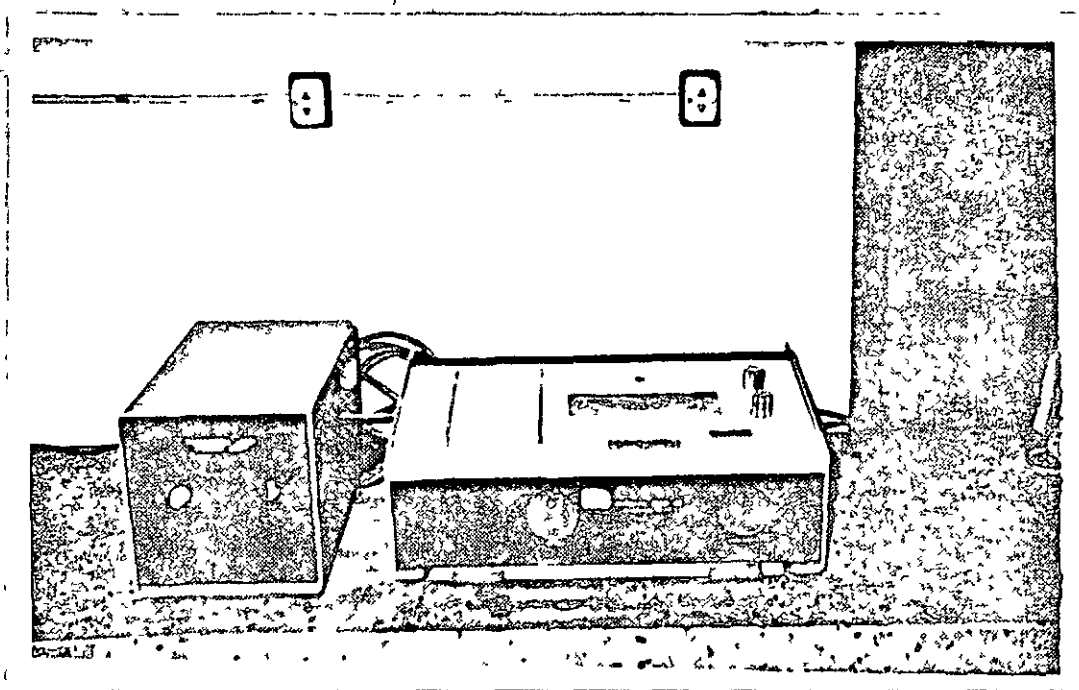


Handy aspirator and Rotary evaporator



- | | |
|-----------------------------|---|
| 1. Column housing | 7. Electric control device |
| 2. Electric control housing | 8. Supply valves |
| 3. Pump housing | 9. Columns |
| 4. Name plate | 10. Pressure gauge for N ₂ gas |
| 5. Recorder | 11. Tubing manifold |
| 6. Programming device | 12. Pressure gauges |

Fig. 1 Model KLA-3B Amino Acid Analyzer



Hitachi spectrophotometer model 101 and Tungsten lamp power

