47.75
เ๔ก
3

การหาปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพู

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ซอยสุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ ๑๑ โทร. 3921676, 3915068

ปริญญานิพนธ์

ของ

ยงยุทธ ภิญโญพรพาณิชย์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
มีนาคม 2521

72799

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้.

.....ประธาน

.....กรรมการ

ประกาศคุณูปการ

การทำปริญญานิพนธ์ครั้งนี้ได้รับพระราชทานเงินทุนช่วยเหลือการวิจัยจากทุนภูมิพล ผู้วิจัยรู้สึกสำนึกในพระมหากรุณาธิคุณเป็นล้นเกล้าล้นกระหม่อม

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี เนื่องจากผู้เขียนได้รับคำแนะนำและช่วยเหลือจาก ศาสตราจารย์ ดร. เสาวนีย์ จักรพิทักษ์ และ อาจารย์สุภาพ สวนปาน แห่งกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งได้กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือในด้านการทดลองศึกษาค้นคว้าตลอดจนการเขียนปริญญานิพนธ์ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ คุณสุรีย์พันธุ์ บุญวิสุทธิ์ และ คุณสมศรี ภู่สีม่วง ที่กรุณาแนะนำและช่วยเหลือในการทดลองเป็นอย่างดี และขอขอบคุณ คุณมนัส เกิดแย้ม ที่กรุณาในการติดต่อและหาแหล่งของสารตัวอย่างเพื่อทำการทดลอง

ในการทดลอง ผู้เขียนได้รับความสะดวกและความอนุเคราะห์ของกองโภชนาการ กรมอนามัย ให้ใช้สถานที่และเครื่องมือในการทดลอง ผู้เขียนขอขอบพระคุณอย่างยิ่งไว้ ณ ที่นี้ด้วย.

ยงยุทธ ภัญโญพรพาณิชย์

สารบาญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	1
	ความมุ่งหมายในการศึกษาค้นคว้า	2
	ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	2
	ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	2
	วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า	4
	หลักในการวิเคราะห์	4
	คำจำกัดความและนิยามคำศัพท์เฉพาะ	8
2	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า	10
3	วิธีดำเนินการทดลอง	16
	กลุ่มตัวอย่าง	16
	การดำเนินการทดลอง	16
	การหากรดอมิโนต่าง ๆ ยกเว้น Cystine และ Tryptophan	17
	การหา Cystine	18
	การหา Tryptophan	19
	การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Macro-Kjeldahl	20
	การหาความชื้น (Moisture) ของตัวอย่าง ยกเว้นน้ำนม	21
4	การวิเคราะห์ข้อมูลและผลการทดลอง	22
	การวิเคราะห์ข้อมูล	22
	อภิปรายผลการทดลอง	29

บทที่ หน้า

5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 31

สรุปผลการทดลอง 31

ข้อเสนอแนะในการทดลอง 32

ข้อเสนอแนะสำหรับผู้วิจัยต่อไป 33

บรรณานุกรม .....

ภาคผนวก .....

บัญชีตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงคุณค่าทางอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู	2
2	แสดงคุณค่าทางโภชนาการในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู	11
3	แสดงคุณค่าทางอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู	12
4	แสดงคุณค่าทางชีวภาพของถั่วพูเปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น ๆ	13
5	แสดงปริมาณกรดอมิโนในเมล็ดถั่วพูเปรียบเทียบกับถั่วเหลือง	13
6	ค่ามิลลิกรัมต่อ O.D. unit ของสารมาตรฐาน Tryptophan	23
7	แสดงปริมาณโปรตีน กรดอมิโน และร้อยละของความชื้นในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพู	24
8	แสดงอัตราส่วนระหว่างกรดอมิโนที่จำเป็นกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารตัวอย่าง 100 กรัม	25
9	แสดงปริมาณโปรตีนและกรดอมิโนในอาหารที่กินได้ 100 กรัม	26
10.	แสดงอัตราส่วนระหว่างกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของสารมาตรฐาน	27

บัญชีภาพประกอบ

รูป

1 ส่วนต่าง ๆ ของต้นถั่วพู .....

2 รากหรือหัวถั่วพู .....

3 Hitachi Perkin-Elmer amino acid analyzer .....

4 กราฟแสดงชนิดและปริมาณของกรดอมิโนในสารตัวอย่าง .....

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ปัญหาการขาดแคลนอาหารในปัจจุบันเป็นที่ได้รับการกล่าวขวัญมาก ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการเพิ่มของประชากรไม่ได้สัดส่วนกับปริมาณอาหารที่ผลิตได้ ดังนั้นปัญหาการขาดแคลนอาหารนับวันจะทวีความรุนแรงขึ้นในอนาคต ในประเทศไทยแม้ว่าจะมีปัญหาน้อยกว่าประเทศเพื่อนบ้านอื่น ๆ ในเอเชีย ก็ยังพบสภาพการขาดแคลนอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารประเภทโปรตีน ทั้งนี้เพราะอาหารโปรตีนส่วนใหญ่ได้จากอาหารประเภทเนื้อสัตว์ซึ่งมีราคาแพง ทำให้ปริมาณที่บริโภคไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย นักโภชนาการจึงพยายามทดลองค้นคว้าหาอาหารที่ให้โปรตีนคุณภาพทัดเทียมกับเนื้อสัตว์ และมีราคาไม่สูงมากมาทดแทน ปัจจุบันนี้พืชตระกูลถั่วกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เพราะเป็นพืชที่ให้โปรตีนสูงมาก และมีคุณภาพสูงกว่าโปรตีนจากพืชประเภทอื่น (นารีลักษณ์ สุขกิจ, 2519 : 38) ในบรรดาพืชตระกูลถั่วนี้ ถั่วพูจัดเป็นพืชตระกูลถั่วที่สำคัญชนิดหนึ่ง และใช้ประโยชน์ได้เกือบทุกส่วน ถั่วพูมีชื่อทางภาษาอังกฤษว่า Winged Bean และชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Psophocrarpus palustris (Shri A-Krishnamurthi et al, 1969 : 294) ขณะนี้ยังไม่ทราบว่าถั่วพูมีกี่พันธุ์ เพราะยังอยู่ในระหว่างการทดลองปลูกเพื่อรวบรวมพันธุ์ ทราบแต่เพียงว่ามี 4 – 5 ชนิด (Species) ในสกุล (genus) นี้เป็นพันธุ์ป่า สำหรับรายละเอียดอื่น ๆ ไม่ทราบแน่ชัด เพียงแต่ทราบว่าเคยนิยมปลูกเป็นผักสวนครัวในแถบปาปัวนิวกินี และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งเป็นเขตร้อนและชุ่มชื้น นอกจากนี้ยังพบในประเทศในอเมริกากลาง อเมริกาใต้ คาริบเบียน อาฟริกา เอเชียตะวันตก และ โอเชียนเนีย

ถั่วพูเป็นพืชที่เติบโตเร็วมีระบบรากแผ่กว้าง ที่ปมรากมีแบคทีเรียซึ่งช่วยจับไนโตรเจนจากอากาศให้กลายเป็นไนเตรท จากนั้นพืชจะนำไนเตรทไปใช้ในขบวนการสังเคราะห์โปรตีน

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของถั่วพู Shri A. Krishnamurthi et. al. (1969 : 294) อ้างถึงผลการวิจัยของ Brown, Burkill และ Teik ว่า ถั่วพูเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง มีปริมาณโปรตีนและสารอาหารชนิดอื่นสูง ทั้งในฝักอ่อน ใบ ดอกและเมล็ด หรือแม้แต่ในหัวหรือหน่อ ดังที่แสดงไว้เป็นร้อยละในตารางข้างล่างต่อไปนี้

ตาราง 1 แสดงคุณค่าทางอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู

คุณค่าทางอาหาร	ฝักอ่อน	เมล็ด	ใบ	รากแห้ง
ความชื้น	90.4	8.5	78.9	9.0
โปรตีน	2.9	41.9	6.3	24.6
คาร์โบไฮเดรท	5.8	31.2	7.9	56.1
ไขมัน	0.2	13.1	1.0	1.0
ขี้เถ้า	0.7	5.3	1.8	3.9
กาก	1.3	–	4.1	5.4

ดอกของถั่วพูใช้รับประทานได้ทั้งดิบและสุก ดอกใช้ทำสลัดและทอดน้ำมันรับประทาน มีรสชาดคล้ายเห็ด จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร (National Academy of Science, 1975 : 17) ปรากฏว่ามีความชื้นร้อยละ 84.2 ไขมันร้อยละ 0.9 โปรตีนร้อยละ 5.6

นอกจากนี้ยังพบว่าแป้งที่ทำจากเมล็ดถั่วพูเหมาะสำหรับใช้ทำนมเทียม (Milk Substitute) สำหรับเด็กที่ขาดแคลนอาหารโปรตีนได้เป็นอย่างดี ดังผลการวิจัยของ Cerny, K. Addy, H.A. (1973) ในการทดลองเลี้ยงเด็กที่เป็นโรคขาดโปรตีนด้วยแป้งถั่วพู ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ

สรุปได้ว่าส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูมีปริมาณโปรตีนสูง ถึงแม้ว่าปริมาณจะไม่มากเท่ากับเนื้อสัตว์ แต่ก็ยังมีคุณภาพดีกว่าโปรตีนจากพืชชนิดอื่น ๆ ถึงกระนั้นถั่วพูก็ยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย

ในด้านคุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย ข้อมูลและผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับถั่วพื้นเมืองมีน้อยมาก ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญที่ควรจะศึกษาเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในรูปองค์ประกอบของกรดอมิโน และผลิตผลอื่น ๆ จากถั่วพู เพื่อจะได้ทราบข้อมูลอันจะนำไปใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารโปรตีนในบ้านเรา และอาจนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการอื่น ๆ ต่อไป

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อหาปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพู
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพู
3. เพื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ไปใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการ

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

ผลที่ได้รับจากการศึกษาค้นคว้าเรื่องนี้ ทำให้ทราบถึงปริมาณและชนิดของกรดอมิโนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพู ซึ่งจะนำไปใช้ทดแทนถั่วเหลืองและผลิตผลของถั่วเหลือง หรือถั่วเมล็ดแห้งชนิดอื่น ๆ ในการทำอาหารเสริมโปรตีน เพื่อช่วยแก้ปัญหาการขาดแคลนโปรตีนในปัจจุบันและอนาคต

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาหาปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูดังต่อไปนี้
   1.1 เมล็ด (Seeds)
   1.2 ฝักอ่อน (Immature pods)
   1.3 ใบ (Leaves)
   1.4 ดอก (Flowers)
   1.5 ราก (Tuber root)

2. ศึกษาหาวิธีการทำน้ำนมถั่วพูจากการใช้วิธีการของการทำน้ำนมถั่วเหลือง และหาปริมาณโปรตีนและกรดอมิโนในน้ำนมถั่วพู

3. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า

3.1 Hitachi Perkin-Elmer Amino Acid Analyzer

3.2 Hitachi Spectrophotometer

3.3 Macro-Kjeldahl Apparatus

4. เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าคือ Ion-exchange Chromatographic Technique และ Light Absorption

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

1. สุ่มตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูจากสวนและตามท้องตลาด
2. นำเมล็ดที่สุ่มได้ส่วนหนึ่งทำเป็นน้ำนม
3. วิเคราะห์โดยเครื่องมือดังต่อไปนี้

3.1 Macro-Kjeldahl Apparatus เพื่อหาปริมาณโปรตีนในรูปของอนินทรีย์ ไนโตรเจน (Inorganic Nitrogen)

3.2 Hitachi Perkin-Elmer Amino Acid Analyzer หาปริมาณกรดอมิโนชนิดต่าง ๆ ยกเว้น Tryptophan

3.3 Hitachi Spectrophotometer วิเคราะห์หาปริมาณ Tryptophan

หลักในการวิเคราะห์

การหาปริมาณโปรตีนในอาหารต่าง ๆ มีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมที่สุด (นิตยา สุชาดวาย, ปริญญานิพนธ์ ; 2519 : 6) คือวิธีเคลดาห์ (Kjeldahl's Method) หลักการของวิธีการนี้ คือ การเปลี่ยนไนโตรเจนในอาหารที่มีไนโตรเจนเป็นสารประกอบ (Nitrogen Substance) เป็นเกลือแอมโมเนีย (Amonium Salt) โดยวิธีย่อย (digestion)

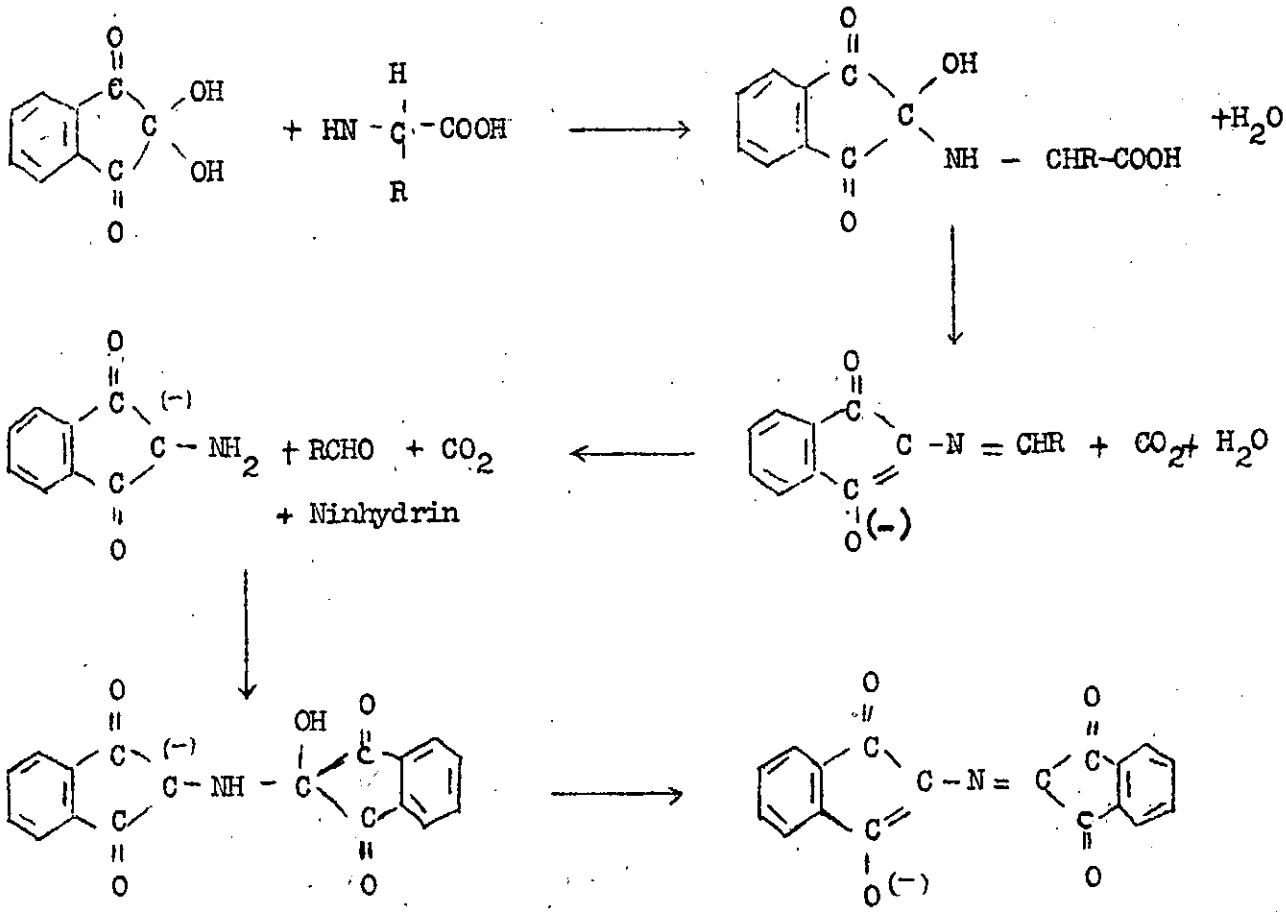
ตัวอย่างอาหารด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น ไนโตรเจนในอาหารจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต $[(NH_4)_2 SO_4]$ จากนั้นทำสารละลายที่ได้ให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เมื่อนำไปกลั่นก็จะเกิดก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ผ่านก๊าซแอมโมเนียที่ได้ลงไปในสารละลายกรดมาตรฐานที่มากเกินพอ และทราบปริมาตรแน่นอน กรดที่เหลือจากการทำปฏิกริยากับแอมโมเนียนำมาไตเตรตด้วยสารละลายด่างมาตรฐาน โดยวิธีการนี้ก็จะทราบปริมาณของก๊าซแอมโมเนียที่เกิดขึ้น และปริมาณของไนโตรเจนที่มีในอาหารได้ และเมื่อคูณด้วยแฟคเตอร์ 6.25 ก็จะเป็นปริมาณของโปรตีนเพียงอย่างเดียว ถ้าต้องการทราบคุณภาพของโปรตีนในอาหารจำเป็นต้องหาปริมาณของกรดอมิโนซึ่งมีขั้นสำคัญของการวิเคราะห์ (ประไพพรรณ คงวัฒนา, ปริญญานิพนธ์ 2518 : 6) คือการแยกและการบอกลักษณะของกรดอมิโนอย่างง่ายจากโปรตีนที่แตกตัว (Hydrolyze) แล้ว จากนั้นจึงนำสารละลายที่ได้จากการย่อยไปวิเคราะห์ด้วยวิธีการต่าง ๆ (Lehninger, 1975 : 86) โดยการตกตะกอน การตกผลึก หรือการกลั่น แต่จากวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวใช้เวลามาก บางครั้งเป็นเดือน จึงมีการปรับปรุงวิธีการแยกกรดอมิโนทางด้านคุณภาพวิเคราะห์ให้ดีขึ้น และได้ผลแน่นอนขึ้น วิธีการที่ใช้แล้วไม่ยุ่งยากและประหยัดเวลา คือ Chromatography (Henrichson, James B, 1970, 12 - 14) ขบวนการนี้คือการทำให้โปรตีนแตกตัวออกเป็นกรดอมิโน – โดยวิธีการย่อยด้วยกรดเกลือ (HCl) ขนาดความเข้มข้น 6 N. จากนั้นจึงนำสารละลายมาแยกโดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของสารเคมีชนิดต่าง ๆ ในสภาวะการณ์ที่กำหนดให้ ซึ่งมีอัตราเร็วในการเคลื่อนตามชนิดของสารเคมีนั้น ๆ อันเป็นผลมาจากตัวกลางซึ่งหมายถึงสารที่กำหนดเป็นสภาวะการณ์มีพลังยึดต่อสารเคมีแต่ละชนิดไม่เท่ากัน และอาศัยหลักความสามารถในการละลายของตัวทำละลายทั้งสองที่ไม่เท่ากัน (สุทธิ ภมรสมิต, ปริญญานิพนธ์ : 2513 : 6) เหตุนี้ทางด้านวิทยาศาสตร์จึงพยายามพัฒนาเทคนิคดังกล่าว กว้างขวางมาก ดังจะเห็นได้จาก

Gardon และคณะ ได้ใช้วิธี Partition Chromatography ในการแยก Phenylalanine, Leucine, Isoleucine, Valine, Alanine, Proline, Tyrosine และ Methionine จากโปรตีน 25 มิลลิกรัม (Gardon and others, 1943 : 79 - 86)

Bull และคณะ ได้ใช้วิธี Paper Chromatography แยกกรดอมิโนที่มีสภาพเป็นกลางแล้ว spray ด้วย ninhydrin ร้อยละ 1 ใน n-butylalcohol : phenol 90 : 10 โดยปริมาตร (Bull and et. al., 1949 : 550 - 553)

Moore และ Stein ใช้วิธี Ion Exchange Chromatography คืออาศัยคุณสมบัติการเป็น Amphoteric ของกรดอมิโน กรดอมิโนจะถูก absorb บน sulfonated polystyrene ion exchange resin จากนั้นจะใช้ buffer solution ที่ pH ต่าง ๆ ล้าง ซึ่งจะทำให้กรดอมิโนแยกออกจากกันได้ (Moore S., Speckman D.H., and Stein W.H., 1958 : 1107- 15)

ปัจจุบันนิยมใช้เครื่อง Amino Acid Analyzer เป็นเครื่องอัตโนมัติ (Instruction Manual for the Model KLA-3B, 1967 : 196) ใช้หลักการของ ion-exchange chromatography กรดอมิโนที่นำมาวิเคราะห์จะถูกแยกโดยการดูดซึมบน Sulfonated polystyrene ion-exchange resin เพราะกรดอมิโนแต่ละตัวจะถูกดูดซึมได้แตกต่างกัน เมื่อเวลาผ่านไปจะทำให้กรดอมิโนที่ผสมกันอยู่ถูกแยกออกบริสุทธิ์ เมื่อล้าง (Elute) ด้วยสารละลาย Sodium Citrate Buffer ที่ pH ต่าง ๆ กัน คือ 3.25, 4.25 และ 5.9 กรดอมิโนจะถูกล้างออกมาตามลำดับ กรดอมิโนที่บริสุทธิ์แต่ละตัวจะเข้าทำปฏิกริยากับสารละลายนินไฮดริน (Ninhydrin) ที่อุณหภูมิ 115° ซ. และจะได้สารสีม่วงดังสมการ



DYDA (Diketo hydrindyliden diketohydrindamin)

ความเข้มของสีที่เกิดจะถูกวัดด้วย photometer ที่ช่วงคลื่น 570 มิลลิไมครอน ยกเว้น proline และ hydroxyproline ใช้ช่วงคลื่นที่ 440 มิลลิไมครอน โดยจะถูกบันทึกบนแผ่นกระดาษ (chart-paper) ในรูป curve สามเหลี่ยม

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในสารตัวอย่างโดยวิธี Macro-Kjeldahl Method นำผลที่ได้คูณด้วยแฟคเตอร์ 6.25 จะเป็นปริมาณโปรตีน

2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอมิโนแต่ละชนิด Curve สามเหลี่ยมต่าง ๆ ที่ได้เมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ curve ของกรดอมิโนมาตราฐาน ก็จะเป็นปริมาณของกรดอมิโนแต่ละชนิด

คำจำกัดความและนิยามคำศัพท์เฉพาะ

1. Absorbent หมายถึงสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในขบวนการ Chromatographic Technique ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารเพื่อการดูดเกาะของสารเคมีชนิดอื่น ๆ ที่จะนำมาแยกออกจากของผสม และทำให้บริสุทธิ์

2. Amino Acid Analyzer หมายถึงเครื่องมือที่มีหลักการทำงานแบบ ion exchange chromatography เป็นเครื่องมืออัตโนมัติใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอมิโน

3. Autoclave หมายถึงเครื่องมือสำหรับย่อย (hydrolysed) สาร-ตัวอย่างให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง โดยใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121° ซ.

4. Column Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบออกจากของผสม อาศัยหลักการแพร่ของสารแต่ละชนิดในตัวกลาง (Absorbent) ที่เหมาะสมกับการแยกสารประกอบแต่ละชนิด ของผสมที่ต้องการแยกจะไหลผ่านตัวกลางด้วยความเร็วที่ไม่เท่ากัน

5. Essential Amino Acids หมายถึงกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย และร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้ หรือสังเคราะห์ได้ไม่เพียงพอ จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร กรดอมิโนที่จำเป็นสำหรับผู้ใหญ่มี 8 ชนิด คือ Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Threonine, Tryptophan และ Valine เด็กที่-

กำลังเจริญเติบโตต้องการกรดอมิโนเพิ่มจากผู้ใหญ่อีก 1 ชนิด คือ Histidine สำหรับสัตว์บางชนิด เช่น ไก่ หนูขาว ต้องการเพิ่มเป็น 10 ชนิด คือ กรดอมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็ก 9 ชนิด รวมกับ Arginine

6. Ion-exchange Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบโดยอาศัยหลักการแลกเปลี่ยนอิออนระหว่างของแข็งกับของเหลว

7. Handy Aspiratory และ Rotary Evaporator หมายถึงเครื่องมือสำหรับระเหย (evaporated) กรดหรือของเหลวบางอย่างที่ไม่ต้องการออกจากสารละลายตัวอย่าง

8. Net Protein Utilization (NPU) หมายถึงร้อยละของไนโตรเจนในอาหารที่สามารถดูดซึมเข้าร่างกายได้อย่างแท้จริง

$$NPU = D \times BV$$

D = Digestibility คือร้อยละของไนโตรเจนในอาหารซึ่งดูดซึมเข้าร่างกาย

BV = Biological Value คือร้อยละของไนโตรเจนที่ดูดซึมเข้าไป และคงอยู่ในร่างกายหลังจากที่หักค่าที่ขับออกมาในปัสสาวะ ผิวหนัง หรืออื่น ๆ แล้ว

9. Protein Efficiency Ratio (PER) หมายถึงน้ำหนักของร่างกายที่เพิ่มขึ้นต่อโปรตีนที่กินเข้าไปหนึ่งกรัม

10. Spectrophotometer หมายถึง เครื่องมือที่ใช้วัดค่าความเข้มของแสงที่ผ่านออกมา (Transmittance) จากสารตัวอย่างที่ช่วงคลื่นต่าง ๆ หรือวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารตัวอย่าง

11. น้ำนมถั่วพู คือน้ำนมที่ทำจากเมล็ดถั่วพูโดยใช้วิธีการเดียวกับการทำน้ำนมจากถั่วเหลือง

12. แฟคเตอร์ 6.25 หมายถึง ค่าตัวเลขที่ใช้เปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากอาหารให้กลายเป็นปริมาณโปรตีน โดยถือว่า โปรตีนทั่วไปในอาหารมีไนโตรเจนอยู่ร้อยละ 16 (ยกเว้นอาหารพวกนม ต้องใช้แฟคเตอร์อื่นแทน)

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการค้นคว้า

ดร. ฉลอง โฉมเฉลา (2520, 1) กล่าวว่า ถั่วพูเป็นพืชพื้นบ้านของไทยที่คนไทยรู้จักดีโดยการนำฝักอ่อนมารับประทาน ภายหลังที่ได้พบว่าถั่วพูมีความสามารถพิเศษในการตรึงธาตุไนโตรเจนจากอากาศ และเปลี่ยนเป็นโปรตีนของส่วนต่าง ๆ ทำให้ส่วนเหล่านั้นมีคุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น นักเกษตรและนักโภชนาการก็ได้เริ่มหันมาสนใจถั่วพู ถั่วพูถิ่นกำเนิดอยู่ในแอฟริกา และได้ถูกนำมายังเอเชียอาคเนย์ และปาปัวนิวกินีในคริสตวรรษที่ 17 และยังคงมีปลูกเป็นพืชส่วนครัวหลังบ้านอยู่ในแถบนี้จนถึงปัจจุบัน โดยมิได้มีการปลูกเป็นการค้าเลย นอกจากในพม่า และปาปัวนิวกินี ถั่วพูสามารถขึ้นได้ในความสูง 2000 ม. ชอบอากาศร้อนชื้นชุ่มชื้น เป็นพืชที่มีข้อดีต่าง ๆ คือ

1. ใช้รับประทานได้แทบทุกส่วนของต้น ตั้งแต่ยอดอ่อน ใบอ่อน ดอก ฝักอ่อน เมล็ดอ่อน เมล็ดแก่ และหัว และแต่ละส่วนก็มีโปรตีนอยู่ในปริมาณมากกว่าพืชอื่น ๆ
2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ดี
3. ช่วยบำรุงดิน
4. ช่วยอนุรักษ์ดิน
5. ปลูกง่ายและขึ้นได้ดีในทุกภาค
6. ให้ผลประโยชน์ตลอดระยะเวลาปลูก
7. ให้ผลผลิตต่อไร่สูง และมีลู่ทางที่จะปลูกเป็นการค้าได้

นารีลักษณ์ ศุขกิจ (2519 : 38 – 39) พบว่าเมล็ดของถั่วพูมีองค์ประกอบซึ่งคล้ายเมล็ดของถั่วเหลือง คือมีโปรตีนเฉลี่ยในเมล็ดถึงร้อยละ 34 (น้ำหนักแห้ง) และปริมาณไขมันร้อยละ 17 สำหรับในเมล็ดถั่วพูแต่ละเมล็ดพบว่ามีโปรตีนร้อยละ 37 และมีไขมันร้อยละ 20 นอกนี้ยังมีไวตามิน เอ และ บี ที่จำเป็นแก่ร่างกาย

Shri A. Krishnamurthi et. al. (1969 : 294) รวบรวมผลการวิจัยของ Brown, Burkill, de Sornay, Padilla, Soliven, Sohonie, Bhandarkar และ

Teik ปรากฏว่าส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูมีคุณค่าทางอาหารซึ่งคิดเป็นร้อยละ ได้ดังนี้

ตาราง 2 แสดงคุณค่าทางโภชนาการในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู

คุณค่าทางอาหาร	ฝักอ่อน	เมล็ด	ใบ	รากแห้ง
ความชื้น	90.4	8.5	78.9	9.0
โปรตีน	2.9	41.9	6.3	24.6
ไขมัน	0.2	13.1	1.0	1.0
คาร์โบไฮเดรท	5.8	31.2	7.9	56.1
กาก	1.3	–	4.1	5.4
ขี้เถ้า	0.7	5.3	1.8	3.9
โปตัสเซียม	205	–	–	–
แคลเซียม (CaO)	63	–	0.37	–
ฟอสฟอรัส (P_2O_5)	37	–	0.12	–
เหล็ก	0.3	–	–	–
โซเดียม	3.1	–	–	–
ไทอามิน	0.24	–	–	–
ไรโบฟลาวิน	0.09	–	–	–
กรดนิโคตินิค	1.2	–	–	–
กรดแอสคอร์บิค	19	–	–	–
ไวตามิน เอ.	595 I.U./100g	–	–	–

นอกจากนี้ Brown (1957 : 28) ยังตรวจสอบหากรดอมิโนอิสระ (Free amino acid) พบว่าประกอบด้วย Serine, Aspartic acid, Glycine, Glutamic acid, Alanine, Tyrosine และกรดอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายทุกชนิด ยกเว้น Histidine

และ Methionine

มีผู้รายงานใน Food Crops D - 2 Vegetable (1968) ว่าเมล็ดแห้งของถั่วพู ประกอบด้วยปริมาณสุทธิของโปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ (Net Protein Utilization) ถึงร้อยละ 37.3 โดยทดลองกับหนูซึ่งกินอาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 10

สถาบันวิทยาศาสตร์ของประเทศสหรัฐอเมริกา (National Academic of Science, 1975) รายงานผลการค้นคว้าถึงองค์ประกอบคุณค่าทางโภชนาการของส่วนประกอบต่าง ๆ ของถั่วพู คิดเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ของตัวอย่างสดไว้ดังนี้

ตารางที่ 3 แสดงคุณค่าทางอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู

	ฝักอ่อน	เมล็ด	ราก	ใบ	ดอก
น้ำ	76.0 – 92.0	6.7 – 24.6	54.9 – 65.2	64.2 – 77.7	84.2
โปรตีน	0.9 – 2.9	29.8 – 37.4	12.2 – 15.0	5.7 – 15.0	5.6
ไขมัน	1.2 – 0.3	15.0 – 20.4	1.5 – 1.1	0.7 – 1.1	0.9
กาก	1.2 – 2.6	5.0 – 12.5	17.0	–	–
ขี้เถ้า	0.4 – 1.9	3.6 – 4.0	0.9	–	–

นอกจากนี้ยังทำการเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดถั่วพูที่หุงต้มแล้ว โดยประเมินในรูปน้ำหนักของร่างกายที่เพิ่มขึ้นต่อโปรตีนที่กินเข้าไปหนึ่งกรัม (Protein Efficiency Ratio หรือ PER) และปริมาณสุทธิของโปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ (Net Protein Utilization หรือ NPU) โดยเปรียบเทียบกับถั่วลิสง (Peanut) นมที่สะกัดครีมออกแล้ว (Skim Milk) ถั่วพูผสมกับข้าวโพด (Winged Bean plus Corn) ถั่วลิสงผสมข้าวโพด (Peanut plus Corn) และถั่วเหลือง (Soya Bean) พบว่าให้ผลต่างกันดังนี้

ตาราง 4 แสดงคุณค่าทางชีวภาพของถั่วพู เปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น ๆ

โปรตีนในส่วนประกอบของชนิดอาหาร	10 % โปรตีน		16 % โปรตีน
	PER	NPU	PER
ถั่วพู	2.14	55.0	2.00
ถั่วลิสง	1.54	46.0	–
นมที่สะกัดครีมออกแล้ว	3.04	73.2	2.37
ถั่วพูผสมข้าวโพด	2.70	65.7	2.20
ถั่วลิสงผสมข้าวโพด	1.92	54.7	1.82
ถั่วเหลือง	2.10	56.0	–

Carry และคณะ (1971) ทำการตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในเมล็ดถั่วพู เปรียบเทียบกับถั่วเหลือง พบว่าองค์ประกอบของกรดอมิโนใกล้เคียงกัน โดยมีน้ำหนักเป็นกรัมต่อ 100 กรัม ของโปรตีน

ตาราง 5 แสดงปริมาณกรดอมิโนในเมล็ดถั่วพู เปรียบเทียบกับถั่วเหลือง

ชนิดของกรดอมิโน	ถั่วพู	ถั่วเหลือง
Cystine	1.6 – 2.6	1.2
Lysine	7.4 – 8.0	6.6
Histidine	2.7	2.5
Arginine	6.5 – 6.6	7.0
Aspartic acid	11.5 – 12.5	8.3
Threonine	4.3 – 4.5	3.9

ตาราง 5 (ต่อ)

ชนิดของกรดอมิโน	ถั่วพู	ถั่วเหลือง
Serine	4.9 – 5.2	5.6
Glutamic acid	15.3 – 15.8	18.5
Proline	6.9 – 7.6	5.4
Glycine	4.3	3.8
Alanine	4.3	4.5
Valine	4.9 – 5.7	5.2
Methionine	1.2	1.1
Isoleucine	4.9 – 5.1	5.8
Leucine	8.6 – 9.2	7.6
Tyrosine	3.2	3.2
Phenylalanine	4.8 – 5.8	4.8
Tryptophan	1.0	1.2

Cerny, K., Addy, H.A. (1973) ทดลองใช้ถั่วพูในการรักษาโรคขาดโปรตีน (Kwashiorkor) ในโรงพยาบาล Princess Marie Louise, Accra ในประเทศ Chana โปรตีนในอาหารที่ใช้เลี้ยงเด็กส่วนใหญ่ทำจากส่วนผสมของถั่วพู 2 ส่วน กับแป้งข้าวโพด 3 ส่วน (Maize flour) แล้วเสริมด้วยนมที่สะกัดครีมออกแล้ว (Skim Milk) เพียงเล็กน้อย แล้วให้อาหารนี้กับเด็กกลุ่มทดลอง ส่วนกลุ่มควบคุมใช้เด็กจำนวน 36 คนเท่ากัน โดยโปรตีนในอาหารของกลุ่มนี้ทำจากนมที่สะกัดครีมออกแล้ว สำหรับอาหารแป้งเป็นอาหารที่ปราศจากโปรตีน จะให้เหมือนกันทั้ง 2 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มยังแบ่งย่อยออกเป็น 2 พวก คือ พวกที่เป็นโรคขาดโปรตีนไม่รุนแรง (Moderate) และพวกที่ขาดโปรตีนรุนแรง ผลการ–

ทดลองพบว่าอัตราการเพิ่มของของน้ำหนักตัวของกลุ่มทดลองจะน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับพวกย่อยในแต่ละกลุ่มพบว่า พวกที่เป็นโรคขาดโปรตีนอย่างรุนแรงจะมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นในแต่ละวันสูงกว่าพวกที่เป็นโรคขาดโปรตีนไม่รุนแรง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ.

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้คือ เมล็ดแก่ ฝักอ่อน ใบ ดอก รากและน้ำนม

1. เมล็ดถั่วพูสุ่มจากท้องตลาดนำมาบดให้ละเอียดเตรียมไว้ทดลอง

2. จากเมล็ดที่สุ่มมานี้ ส่วนหนึ่งจะนำมาทำน้ำนมถั่วพู กรรมวิธีการทำเหมือนการทำน้ำนมถั่วเหลือง นำถั่วมาบุบให้แตก ผักเอาเปลือกบางส่วนออก แช่น้ำค้างคืนเพื่อให้สะดวกแก่การนำเปลือกออกให้หมด รินน้ำออกแช่ด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 80° ซ. แช่ทิ้งไว้ 20 นาที นำไปบดด้วยเครื่องไฟฟ้าในอัตราส่วน น้ำร้อน : ถั่วพู 1 : 1 ต้มให้เดือดและผสมให้เข้ากันดี กรองด้วยผ้าขาวบางก่อย ๆ บีบน้ำนมออกจากกากให้มากที่สุด แล้วใส่ภาชนะที่อบด้วยไอน้ำปิดฝา เตรียมไว้ทำการทดลองต่อไป

3. กลุ่มตัวอย่าง ฝักอ่อน ใบ ดอก ราก สุ่มจากท้องตลาด และจากสวนนำมาล้างแล้วหั่นให้ฝอยทำให้แห้งโดยอบในเตาอบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 70 – 80° ซ. อบค้างคืนไว้ 1 คืน แล้วนำตัวอย่างมาบดให้ละเอียดเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

การดำเนินการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 5 ตอน

1. การหากรดอมิโนต่าง ๆ ยกเว้น Cystine และ Tryptophan
2. การหา Cystine
3. การหา Tryptophan
4. การหาโปรตีนด้วย Macro Kjeldahl Method
5. การหา Moisture ยกเว้นน้ำนม

1. การหากรดอมิโนต่าง ๆ ยกเว้น Cystine และ Tryptophan

1.1 ชั่งสารตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วแต่ละอย่างหนักไม่เกิน 1.0 กรัม ใส่ลงใน Brombelroll Tube เติมกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (6.N.) ลงไป 50 ซี.ซี. ปิดฝาให้แน่น นำไปย่อยใน Autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121° ซ. เป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำสารละลายนั้นมา 25 ซี.ซี. ระเหยเอากรดเกลือออกหมดโดยใช้เครื่อง Handy aspirator และ Rotary evaporator จนเหลือตะกอน ละลายตะกอนที่เหลือด้วยโซเดียมซิเตรท บัฟเฟอร์ (Sodium citrate buffer) pH 2.2 ปรับสารละลายให้มีปริมาตรครบ 50 ซี.ซี. กรองและเก็บน้ำยาที่กรองได้ไว้ทำการวิเคราะห์ต่อไป

1.2 การเตรียมสารละลายนินไฮดริน (Ninhydrin reagent) เตรียมสารละลายนินไฮดรินให้มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 3 ลิตร โดยตวง Methyl cellosolve ปริมาตร 2250 ซี.ซี. ผสมกับ Acetic acid buffer pH 5.51 ปริมาตร 750 ซี.ซี. และนินไฮดริน 60 กรัม ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในสารละลายค่อย ๆ เติม Stannous chloride จำนวน 1140 มิลลิกรัม ผ่านก๊าซไนโตรเจนต่อไปจนสารละลายใส นำเข้าติดตั้งในเครื่องทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงจึงนำมาใช้

1.3 การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

1.3.1 เริ่มให้เครื่อง Amino acid analyzer ทำงานโดยเปิดสวิทช์ต่าง ๆ ดังนี้

Main switch

Heater และ Circulating water bath เพื่อปรับอุณหภูมิของ column ให้คงที่ที่ 55° ซ.

Reaction bath เพื่อให้อุณหภูมิของการเกิดปฏิกริยาอยู่ที่ 115° ซ.

1.3.2 ตั้งเวลาการไหลของนินไฮดริน และโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ 3.25, 4.25 และ 5.9 ตลอดจนการทำงานของระบบวิเคราะห์โดย Programming drum และตั้งลำดับการไหลของสารละลายให้อยู่ในตำแหน่ง Automatic

1.3.3 ดูดสารละลายจากข้อ 1.2 มา 0.5 ซี.ซี. ใส่ใน Column ของเครื่อง ปล่อยให้แห้งด้วยความดันของก๊าซไนโตรเจน ล้างผิวบนของ Column เหนือ Resin ด้วยสารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ pH 2.2 ปริมาตรเท่า ๆ กัน ปล่อยให้แห้งด้วยความดันของก๊าซไนโตรเจนเช่นกัน เติมสารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ pH 3.25 จนเต็มส่วนบนของ Column ปิด Column ด้วย pump 1. ซึ่งเป็นผู้ส่งสารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ทั้ง 3 ชนิด และเปิด pump ของนินไฮดริน เครื่องจะทำงานจนครบ 5 ชั่วโมง 20 นาที จะได้ peak ต่าง ๆ ออกมา นำไปคำนวณหาปริมาณของกรดอมิโนต่าง ๆ โดยเปรียบเทียบกับ peak มาตรฐาน (Standard peak) ของสารละลายกรดอมิโนที่บริสุทธิ์

1.3.4 การคำนวณโดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ curve ของกรดอมิโนแต่ละชนิดในสารตัวอย่างกับพื้นที่ใต้ curve ของกรดอมิโนชนิดเดียวกันกับกรดอมิโนมาตรฐาน

2. การหา Cystine

2.1 การเตรียมสารตัวอย่าง ชั่งตัวอย่าง 0.042 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 25 ซี.ซี. เติมกรด Performic 2 ซี.ซี. ปิดฝานำไปแช่ในตู้เย็นจัดค้างคืนและถ่ายลงใน Bombelroll tube ขนาด 50 ซี.ซี. เติมกรดเกลือเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 3 ซี.ซี. ปิดฝาให้แน่นนำไปย่อยในเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำมาระเหยเอากรดออกหมดด้วยเครื่อง Handy aspirator และ Rotary evaporator นำตะกอนที่เหลือมาละลายด้วยสารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ pH 2.2. ปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 25 ซี.ซี. กรองแล้วเก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ทดลองต่อไป

2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ชั่ง L-cystine 0.125 กรัม ละลายใน NaOH 1 N จำนวนเล็กน้อย เติมน้ำให้ครบ 10 ซี.ซี. แล้วเติมกรด Performic 2 ซี.ซี. ต่อจากนั้นดำเนินการทุกอย่างเหมือนข้อ 2.1

2.3 การวิเคราะห์สารตัวอย่าง pipet สารละลายตัวอย่าง 1 ซี.ซี. ผ่านลงบน column ของเครื่องโดยทำควบคู่ไปกับสารละลายมาตรฐาน วิธีการเหมือนกันทุกประการ peak ที่ได้นำไปคำนวณต่อ

2.4 การคำนวณจาก peak นำไปคำนวณเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ curve ของสารละลายตัวอย่างกับพื้นที่ใต้ curve ของสารละลายมาตรฐาน

3. การหา Tryptophan

3.1 การเตรียมสารละลายต่าง ๆ

3.1.1 สารละลายสำหรับใช้กับสารตัวอย่าง ตวงกรด H_2SO_4 เข้มข้นมา 350 ซี.ซี. น้ำ 350 ซี.ซี. และกรด HNO_3 เข้มข้น 84 ซี.ซี.

3.1.2 สารละลายสำหรับใช้กับสารละลายมาตรฐาน ตวงกรด H_2SO_4 เข้มข้น 98 ซี.ซี. น้ำ 63 ซี.ซี. และกรด HNO_3 เข้มข้น 84 ซี.ซี.

3.2 การเตรียมสารตัวอย่าง ชั่งสารตัวอย่างมา 0.5 กรัม เติมสารละลายข้อ 3.1.1 ลงไป 40 ซี.ซี. นำไปต้มบน Water bath 16 – 18 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิของห้อง แล้วเติมสารละลายกรดข้อ 3.1.1 ปรับให้มีปริมาตรครบ 50 ซี.ซี. กรองเก็บสารละลายที่กรองได้นำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.3 การเตรียม Blank ตวงสารละลายกรดจากข้อ 3.1.1 มา 40 ซี.ซี. ต้มบน Water bath ดำเนินการทุกอย่างเหมือนข้อ 3.2 ทุกประการ

3.4 การเตรียมสารมาตรฐาน ชั่ง **Tryptophan** มาตรฐาน 0.1 กรัม ละลายในน้ำ 100 ซี.ซี. ดูดสารละลายที่เตรียมได้ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 100 ซี.ซี. 5 ใบ โดยใส่สารละลาย tryptophan ปริมาตร 1, 2, 3, 4, 5 ซี.ซี. ตามลำดับ เติมน้ำลงไปปริมาตร 4, 3, 2, 1 และ 0 ซี.ซี. ลงใน flask ตามลำดับ เติมสารละลายข้อ 3.1.2 ลงไป 35 ซี.ซี. จนครบทุกใบ นำไปต้มบน water bath 16 – 18 ชั่วโมง แล้วตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารละลายข้อ 3.1.2 จนปริมาตรครบ 50 ซี.ซี. ทุกใบ กรองเก็บสารละลายไว้เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

3.5 การวิเคราะห์สารตัวอย่าง นำสารละลายข้อ 3.2 และ 3.4 ไปวัดค่า Optical density ด้วยเครื่อง Hitachi spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 440 มิลลิไมครอน โดยปรับ Blank ให้มีค่า Optical density เป็น 0

3.6 การคำนวณ นำค่า Optical density มาคำนวณเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

4. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Macro-Kjeldahl

วิธีการนี้ประกอบด้วยขั้นตอนใหญ่ ๆ 3 ขั้นตอน คือ การย่อย (Digestion) การกลั่น (Distillation) และการไตเตรต (Tritration)

4.1 การย่อยสารตัวอย่าง

4.1.1 ชั่งสารตัวอย่างหนักประมาณ 0.7 – 2 กรัม ใส่ใน Kjeldahl flask

4.1.2 เติม K_2SO_4 4 กรัม $CuSO_4$ 1 กรัม และกรดซัลฟูริคเข้มข้น 25 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ให้สารละลายผสมกัน

4.1.3 flask ในท่าเอียงบน Heater ปรับไฟอ่อน ๆ ให้เดือดช้า ๆ ใน 10 นาทีแรก ค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นกว่าเดิม ให้ความร้อนต่อไปจนกระทั่งสารละลายใส ปรากฏแต่สีฟ้าของ $CuSO_4$ ให้ความร้อนต่อไปอีก 2 ชั่วโมง 30 นาที แล้วจึงปิดสวิทช์ของ Heater ปล่อยให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิของห้อง

4.2 การกลั่น

4.2.1 เติมน้ำกลั่นลงไปใน flask 200 มิลลิลิตร เขย่า flask ให้ตะกอนที่อาจเกิดขึ้นได้ละลายหมด

4.2.2 เติมก้อนสังกะสี (Zine granule) ประมาณกำมือหนึ่งลงใน flask แล้วเติมสารละลาย NaOH 40 % จำนวน 100 มิลลิลิตร นำ flask ไปต่อกับเครื่องกลั่น (Distillation Apparatus) ทันที ให้ปลายของ Condenser ต่อกับสายยางที่เชื่อมต่อกัน adapter ซึ่งจุ่มอยู่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 300 มิลลิลิตร ภายใน flask บรรจุสารละลายกรด (H_2SO_4) มาตราฐาน (0.2N) 25 มิลลิลิตร ซึ่งมี Methyl red indicator 2 – 3 หยด ปรับ heater ให้สารละลายเดือดช้า ๆ อย่างสม่ำเสมอ ระวังมิให้สารละลายใน flask เดือดพุ่งขึ้นมาจนเข้าไปใน Kjeldahl trap ปล่อยให้แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากการกลั่นสารละลายผ่านลงไปใน Erlenmeyer flask ที่บรรจุกรดมาตราฐานจนกระทั่งปริมาตรของสารละลายใน Kjeldhal flask เหลือประมาณ 150 มิลลิลิตร

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ตุยมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ 11 โทร. 3921676, 3915058

4.2.3 นำ Erlenmeyer flask ที่บรรจุกรดมาตราฐานที่เหลือจากการทำปฏิกริยากับแอมโมเนียไปไตเตรตด้วยสารละลายด่างมาตราฐาน 0.1 N NaOH

4.2.4 จากปริมาตรของสารละลายมาตราฐาน 0.1N NaOH ที่ทำปฏิกริยาพอดีกับกรดมาตราฐาน นำไปคำนวณหาปริมาณของโปรตีนโดยใช้สูตร

$$\text{Protein} = N \times 6.25$$

$$N = \frac{\text{Ml.}H_2SO_4 \times (\text{Normal ของ } H_2SO_4 \text{ มาตราฐาน}) \times 14 \times 100}{\text{Wt. of sample} \times 100}$$

5. การหาความชื้น (Moisture) ของตัวอย่างยกเว้นน้ำนม

5.1 นำตัวอย่างมาทำให้มีขนาดเล็กลง และมีขนาดสม่ำเสมอ

5.2 บรรจุลงในภาชนะหาความชื้นที่มีฝาปิดสนิท พร้อมทั้งนำไปชั่งหาน้ำหนักที่ยังสด

5.3 นำภาชนะที่บรรจุตัวอย่างไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 – 100° ซ. อบค้างคืนโดยเปิดฝาครอบออก

5.4 นำฝาครอบปิด แล้วทำให้เย็นใน dissicator นำไปชั่งหาน้ำหนักอีกครั้ง ทำซ้ำหลาย ๆ ครั้งจนได้น้ำหนักจุดทศนิยม 3 ตำแหน่งคงที่ นำไปคำนวณหาร้อยละของความชื้นในตัวอย่างแต่ละชนิด.

72799

บทที่ 4

การวิเคราะห์ข้อมูล และผลการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การหาปริมาณกรดอมิโน ยกเว้น Cystine และ Tryptophan

ข้อมูลที่ปรากฏในรูปของ curve ที่ได้จากเครื่อง Amino Acid Analyzer นำมาคำนวณหาพื้นที่ครึ่งบนของแต่ละ curve โดยเปรียบเทียบกับแต่ละ curve ของสารมาตราฐานโดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

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

M = น้ำหนักของสารตัวอย่าง

H′ = ความสูงของ curve ของกรดอมิโนในสารละลายตัวอย่าง

W′ = ความกว้างของ curve ของกรดอมิโนในสารละลายตัวอย่าง

H = ความสูงของ curve ของกรดอมิโนในสารละลายมาตรฐาน

W = ความกว้างของ curve ของกรดอมิโนในสารละลายมาตรฐาน

M.W. = น้ำหนักโมเลกุลของกรดอมิโนแต่ละชนิด (ไมโครกรัม)

0.25 = ปริมาณกรดอมิโนแต่ละชนิดในสารละลายมาตรฐาน (ไมโครกรัม)

ความกว้างของ curve (W) = 4 (n-1) + ส่วนที่เหลือใต้จุดต่ำเหนือเส้นที่แบ่งครึ่ง curve ทั้งสองข้างของ curve

n = จำนวนจุดต่ำที่อยู่ระหว่าง Space (สีเขียว 4 จุด)

2. การหาปริมาณ Cystine

$$\text{ปริมาณ Cystine} = \frac{H' \times W' \times 50 \times 100}{M \times H \times W \times 1000 \times 1000} \text{ กรัม/100 กรัม}$$

50 = ปริมาณ cystine ในสารละลายมาตรฐาน (ไมโครกรัม)

3. การหาปริมาณ Tryptophan

หาค่า Optical density (O.D.) ของสารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่างโดยเครื่อง Hitachi Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 440 มิลลิ-ไมครอน จากค่า O.D. ที่อ่านได้นำมาคำนวณหาปริมาณ Tryptophan จากสูตร

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

F = มิลลิกรัมต่อค่าเฉลี่ยของ O.D. unit ในสารมาตรฐาน

O.D. unit = O.D. × 1000

W = น้ำหนักของสารตัวอย่าง

การหาค่า F ทำได้ดังนี้

ตาราง 6 ค่ามิลลิกรัมต่อ O.D. unit ของสารมาตรฐาน Tryptophan

สารละลายเลขที่	ปริมาณ Tryptophan (มิลลิกรัม)	O.D. unit	มิลลิกรัมต่อ O.D. unit (F)	ค่าเฉลี่ยของ F
1	1	0.010	10	0.10000
2	2	0.020	20	0.10000
3	3	0.031	31	0.09677
4	4	0.042	42	0.09523
5	5	0.052	52	0.09615

5) 0.48815

0.09763

ผลการทดลอง

ผลการคำนวณร้อยละของความชื้นปริมาณโปรตีนกรดอมิโนและอัตราส่วนของกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายกับไนโตรเจนทั้งหมดในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู และน้ำนมถั่วพูแสดงไว้ในตาราง 7 และ 8

ตาราง 7 ตารางแสดงปริมาณโปรตีน กรดอมิโน และร้อยละ ของความชื้นในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพู
(น้ำหนักที่แสดงเป็นกรัมต่อ 100 กรัม ของสารตัวอย่างอบแห้ง ยกเว้นเมล็ดและน้ำนม)

สารตัวอย่าง 100 กรัม	Moisture ร้อยละ	Protein กรัม	Total amino acid กรัม	Tryptophan กรัม	Isoleucine กรัม	Threonine กรัม	Leucine กรัม	Lysine กรัม	Methionine กรัม	Cystine กรัม	Phenylalanine กรัม	Tyrosine กรัม	Valine กรัม	Arginine กรัม	Histidine กรัม	Alanine กรัม	Aspartic acid กรัม	Glutamic acid กรัม	Glycine กรัม	Proline กรัม	Serine กรัม
เมล็ด	8.5	34.2	29.143	1.024	1.038	1.225	2.211	2.424	0.194	0.660	1.323	1.289	1.119	2.303	0.895	1.135	3.187	4.487	1.230	1.771	1.628
ใบ	81.7	33.9	23.372	1.233	0.848	1.122	1.983	1.631	0.288	0.335	1.281	1.479	1.106	1.503	0.644	1.402	2.379	2.726	1.250	1.073	1.089
ฝักอ่อน	89.3	30.6	16.009	1.015	0.523	0.610	0.991	0.860	0.126	0.214	0.680	0.779	0.655	0.765	0.531	0.690	4.264	1.407	0.577	0.635	0.687
ดอก	91.4	22.2	13.49	1.189	0.432	0.458	0.883	0.665	0.108	0.166	0.776	0.764	0.549	0.557	0.404	0.544	3.282	1.113	0.458	0.603	0.559
ราก	79.6	16.6	14.407	0.801	0.490	0.746	0.945	1.049	0.102	0.452	0.861	0.550	0.680	0.707	0.392	0.512	2.321	1.595	0.597	0.823	0.784
น้ำนม	-	3.411	3.352	0.094	0.113	0.118	0.216	0.251	0.008	0.536	0.127	0.147	0.139	0.176	0.098	0.116	0.316	0.445	0.112	0.173	0.167

ตาราง 8 ตารางแสดงอัตราส่วนระหว่างกรดอมิโนที่จำเป็นกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารตัวอย่าง 100 กรัม

Ratio of Essential animo acids and total nitrogen (E/T)

สารตัวอย่าง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	Protein	Tryptophan	Lysine	Histidine	Arginine	Threonine	Valine	Methionine	Isoleucine	Leucine	Phenylalamine	กรดอมิโนที่จำเป็นทั้งหมด	E/T
เมล็ด	5.472	34.2	1.024	2.424	0.895	2.303	1.225	1.119	0.194	1.038	2.211	1.323	13.756	2.514
ใบ	5.43	33.9	1.233	1.631	0.644	1.503	1.122	1.106	0.288	0.848	1.983	1.281	11.639	2.491
ฝักอ่อน	4.896	30.6	1.015	0.860	0.531	0.765	0.610	0.655	0.126	0.523	0.991	0.680	6.756	1.380
ดอก	3.552	22.2	1.189	0.665	0.404	0.557	0.458	0.549	0.108	0.432	0.883	0.776	6.021	1.695
ราก	2.656	16.6	0.801	1.049	0.392	0.707	0.746	0.680	0.102	0.490	0.945	0.861	6.773	2.550
น้ำนม	0.5456	3.41	0.094	0.251	0.098	0.176	0.118	0.139	0.008	0.113	0.216	0.127	1.340	2.456

ตาราง 9 ตารางแสดงปริมาณโปรตีนและกรดอมิโนในอาหารที่กินได้ 100 กรัม (กองโภชนาการ, ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอมิโนในอาหารไทย, 2507)

สารตัวอย่าง 100 กรัม	Protein กรัม	Total amino acid กรัม	Tryptophan กรัม	Iso-leucine กรัม	Threonine กรัม	Leucine กรัม	Lysine กรัม	Methionine กรัม	Cystine กรัม	Phenylalanine กรัม	Tyrosine กรัม	Valine กรัม	Arginine กรัม	Histidine กรัม	Alanine กรัม	Aspartic acid กรัม	Glutamic acid กรัม	Glycine กรัม	Proline กรัม	Serine กรัม
ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	34.9	38.809	0.526	2.054	1.504	2.466	2.414	0.513	0.678	1.889	1.216	2.005	2.763	0.911	1.571	4.633	7.010	1.595	2.567	2.494
นมถั่วเหลือง	3.4	3.625	0.051	0.175	0.176	0.305	0.269	0.054	0.071	0.195	0.193	0.186	0.302	0.121	0.136	0.428	0.550	0.171	-	0.242

ตาราง 10 แสดงอัตราส่วนระหว่างกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของสารมาตรฐาน (FAO, 1965 : 71)

สารตัวอย่าง	E/T กรัม/กรัม
ไข่ไก่	3.22
นมวัว	3.20
นมคน	3.13
ตับวัว	2.94
หัวใจวัว	2.85
กล้ามเนื้อวัว	2.79
Novy bean	2.79
Corn meal	2.78
Millet (Eleusine Coracana)	2.75
มันฝรั่งทาน	2.70
Pork tenderloin	2.67
ปลา	2.66
ข้าว	2.61
ถั่ว (Peas)	2.59
Soya flour	2.58
ผักชม	2.50
Sesame seed	2.47
Oats	2.30
Rye	2.17
เมล็ดฝ้าย	2.15

ตาราง 10 (ต่อ)

สารตัวอย่าง	E/T กรัม/กรัม
เมล็ดทานตะวัน	2.11
มันสำปะหลัง	1.31

อภิปรายผลการทดลอง

1. ความชื้น

1.1 จากผลการทดลองพบว่าส่วนต่าง ๆ ของถั่วพู ดอก มีปริมาณความชื้นสูงสุด คือร้อยละ 91.4 รองลงมาคือฝักอ่อน ร้อยละ 89.3 ใบร้อยละ 81.7 รากร้อยละ 79.6 และเมล็ดร้อยละ 8.5 ตามลำดับ

1.2 เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ของประเทศสหรัฐ-อเมริกา (National Academic of Science, 1975) พบว่าความชื้นในฝักอ่อนและเมล็ดอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน คือมีค่าร้อยละ 76.0 – 92.0 และในเมล็ดมีค่าร้อยละ 6.7 – 24.6

สำหรับผลการวิจัยในดอกมีค่าร้อยละ 91.4 ใบร้อยละ 81.7 รากร้อยละ 79.6 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับในรายงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าในดอกมีค่าร้อยละ 84.2 ใบร้อยละ 64.2 – 77.7 รากร้อยละ 54.9 – 65.2 จะเห็นได้ว่าผลจากการวิจัยครั้งนี้มีค่าสูงกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอากาศในประเทศไทยมีความชื้นสูงกว่า

2. ปริมาณโปรตีน

2.1 จากการวิเคราะห์พบว่าเมล็ดถั่วพูมีโปรตีนสูงสุด คือร้อยละ 34.2 รองลงมาคือใบร้อยละ 33.9 ฝักอ่อนร้อยละ 30.6 ดอกร้อยละ 22.2 รากร้อยละ 16.6 และน้ำนม 3.41 ตามลำดับ

2.2 เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของกองโภชนาการกรมอนามัย (ตาราง 9, กองโภชนาการ ; 2507) พบว่าค่าใกล้เคียงกัน คือ ถั่วเหลืองมีโปรตีนร้อยละ 34.9 และนมถั่วเหลือง ร้อยละ 3.4

2.3 เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ของประเทศสหรัฐ-อเมริกา พบว่า เมล็ดถั่วพูปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน คือร้อยละ 29.8 – 37.4 และในใบร้อยละ 5.7 – 15.0 ฝักอ่อนร้อยละ 0.9–2.9 ดอกร้อยละ 5.6 และรากร้อยละ 12.2 – 15.0 ซึ่งเมื่อเทียบกับผลการวิจัยครั้งนี้พบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงกว่า ทั้งนี้เพราะในการวิจัย

ใช้สารตัวอย่างที่แห้ง ซึ่งอบค้างคืนที่อุณหภูมิ 70 – 80° ซ. (ยกเว้นในเมล็ดใช้สารตัวอย่างสด) ส่วนรายงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ ประเทศสหรัฐอเมริกา กระทำในสารตัวอย่างสด จึงทำให้ค่าแตกต่างกัน ✓

3. ปริมาณกรดอมิโนทั้งหมด และกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย

3.1 เมล็ดถั่วพูมีปริมาณกรดอมิโนทั้งหมดสูงสุดร้อยละ 29.143 รองลงมาคือใบร้อยละ 23.372 ฝักร้อยละ 16.009 รากร้อยละ 14.407 ดอกร้อยละ 13.49 และน้ำนมร้อยละ 3.352

3.2 สำหรับปริมาณกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายนั้น พบในเมล็ดมากที่สุด คือร้อยละ 13.756 รองลงมาใบมีค่าร้อยละ 11.639 ราก ร้อยละ 6.773 ฝักร้อยละ 6.756 ดอกร้อยละ 6.021 และน้ำนมร้อยละ 1.340

3.3 จากผลการวิเคราะห์พบว่าในสารตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณกรดอมิโนเม็ทไธโอนินต่ำสุด สำหรับกรดแอสปาร์ติค และกลูตามิค มีปริมาณสูงใกล้เคียงกัน

3.4 เมื่อเปรียบเทียบกับไข่ไก่ทั้งฟองซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 12.8 (กองโภชนาการ, ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอมิโนในอาหารไทย : 2507) พบว่า เม็ทไธโอนินในสารตัวอย่างทั้งหมด ต่ำกว่าไข่ไก่ และกรดแอสปาร์ติค ในเมล็ด ใบ ราก มีค่าสูงกว่า ยกเว้นในฝักอ่อน ดอก น้ำนม มีค่าต่ำกว่า ส่วนกรดแอสปาร์ติคในส่วนต่าง ๆ มีค่าสูงกว่าในไข่ไก่ ยกเว้นน้ำนมมีค่าต่ำกว่าในไข่ไก่

4. อัตราส่วนระหว่างกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายกับปริมาณไนโตรเจน (E/T)

4.1 ค่าอัตราส่วน E/T พบว่า รากมีค่ามากที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 2.550 รองลงมา คือ เมล็ด มีค่า 2.514 ใบ 2.491 น้ำนม 2.456 ดอก 1.695 และต่ำสุด คือฝักอ่อนมีค่าเท่ากับ 1.380

4.2 เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วน E/T ของสารมาตรฐานที่ FAO (ตาราง 10) รายงานไว้ พบว่าในเมล็ดของถั่วพูนี้มีอัตราส่วนใกล้เคียงกับถั่วเม็ดกลม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.59 และแป้ง Soya flour 2.58

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันพืชตระกูลถั่วกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เพราะเป็นแหล่งให้โปรตีนสูงมาก ซึ่งสามารถนำมาใช้แทนอาหารโปรตีนในแหล่งที่ขาดแคลนอาหารได้ดี ถั่วพูเป็นพืชตระกูลถั่วพันธุ์หนึ่งที่นิยมปลูกเป็นพืชสวนครัว และเหมาะกับสภาพดินฟ้าอากาศในบ้านเรา ในต่างประเทศจากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารพบว่า ถั่วพูทุกส่วนนับตั้งแต่ ฝัก ใบ ดอก เมล็ด และราก มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งผิดกับถั่วบางชนิดที่เรารับประทานได้เฉพาะเมล็ดเท่านั้น แต่รายละเอียดเกี่ยวกับคุณค่าอาหารของถั่วพูในบ้านเรายังมีน้อยมาก นอกจากนี้เรามักใช้เฉพาะฝักถั่วพูเท่านั้นมาประกอบอาหาร เกษตรกรมักจะทิ้งส่วนอื่น ๆ หลังจากเก็บเกี่ยวฝักแล้ว ดังนั้นการศึกษาเรื่องปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูจึงจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อจะได้นำผลการวิจัยไปประยุกต์ใช้ในด้านอาหารและเกษตรกรรมต่อไป

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

1. ปริมาณความชื้นในฝักอ่อนและเมล็ดของถั่วพูใกล้เคียงกับรายงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ของประเทศสหรัฐอเมริกา แต่ในใบ ดอก และรากมีค่าสูงกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอากาศของบ้านเรามีความชื้นสูงกว่า

2. ปริมาณโปรตีนในทุกส่วนของถั่วพูมีสูงมาก ยกเว้นน้ำนมถั่วพูมีค่าต่ำใกล้เคียงกับนมถั่วเหลือง ทั้งนี้เพราะวิธีการสะกัดโปรตีนโดยใช้น้ำไม่ใช่วิธีที่ดีพอ จึงได้ปริมาณโปรตีนออกมาน้อย และนอกจากนี้เมล็ดถั่วพูมีเปลือกค่อนข้างแข็ง หลังจากบุบให้เมล็ดแตกแล้วต้องแช่น้ำค้างคืน จึงจะแกะเปลือกออก จึงอาจทำให้โปรตีนบางส่วนสูญเสียไปกับน้ำได้ แต่อย่างไรก็ตามส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูและน้ำนมมีปริมาณโปรตีนสูงมากเมื่อเทียบกับพืชอื่น จึงสมควรส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกและใช้ประโยชน์ทุกส่วนอย่างคุ้มค่า แทนที่จะเก็บเกี่ยวแต่เพียงฝักอย่างเดียว และนำส่วนอื่นไปเลี้ยงสัตว์ และควรส่งเสริมให้มีการบริโภคถั่วพูให้มากขึ้นด้วย

3. ปริมาณกรดอมิโนทั้งหมดที่มีในเมล็ดมีค่าสูงสุด รองลงมา คือ ใบ ฝัก ราก ดอก และน้ำนม แต่ปริมาณกรดอมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายมีมากที่สุดใน เมล็ด ใบ ราก ฝักอ่อน ดอก และน้ำนมตามลำดับ

4. กรดอมิโนในเมล็ดถั่วพูมีปริมาณกรดกลูตามิค แอสปาร์ติค อาร์จินีน และ ไลซีน ค่อนข้างสูง ส่วน เม็ทไธโอนีน และ sulfur containing amino acids อื่น ๆ ต่ำ เช่นเดียวกับถั่วเหลือง และถั่วเมล็ดแห้งอื่น แต่มี ทริปโตแฟน มากกว่าถั่วเหลือง เท่าตัว

5. น้ำนมถั่วพูแม้ว่าจะมีปริมาณโปรตีนอยู่ในขั้นที่น่าพอใจ เมื่อเปรียบเทียบกับนมถั่ว-เหลือง แต่พบว่ากลิ่นและรสชาดของน้ำนมถั่วพูยังไม่ชวนให้บริโภค คือมีกลิ่นเหม็นเขียวและรสชาดฝาดเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีปริมาณ Phytohemagglutin อยู่ในเมล็ดค่อนข้างสูง การทำลายกลิ่นอาจแก้โดยการใช้ความร้อนนานกว่าน้ำนมถั่วเหลือง

<u>ข้อเสนอแนะในการทดลอง</u>

1. การระเหยกรดเกลือด้วยเครื่อง Handy Aspiratory และ Rotory Evaporator จนเหลือตะกอน ละลายตะกอนด้วยโซเดียมซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 2.2 แล้วถ่ายสารละลายลงใน Volumetric flask นั้น ควรใช้วิธีละลายตะกอนด้วยบัฟเฟอร์ หลาย ๆ ครั้งจนแน่ในว่าตะกอนจะละลายออกหมดไม่เหลือค้างอยู่ ไม่ควรล้างด้วยบัฟเฟอร์เพียงครั้งเดียว โดยใช้ปริมาตรบัฟเฟอร์ครั้งละมาก ๆ เพราะอาจจะมีตะกอนบางส่วนหลงเหลืออยู่ ทำให้เวลานำไปหาปริมาณกรดอมิโนผิดพลาดไปจากความเป็นจริงได้

2. การระเหยเอากรดเกลือออกควรให้เหลือเฉพาะตะกอนไม่มีสารละลายของกรดเกลือเหลืออยู่ แต่เนื่องจากสารตัวอย่างบางชนิดมีไขมันอยู่เป็นจำนวนมาก เวลาระเหยมักอยู่ปนกับตะกอนจนดูคล้ายกับเป็นสารละลายของกรดเกลือที่ยังระเหยไม่หมด ซึ่งแม้จะระเหยต่อไปเท่าใดปริมาตรก็ไม่ลดลง ทำให้เสียเวลาโดยไม่จำเป็น ดังนั้นควรศึกษาว่าสารตัวอย่างนั้นมีปริมาณไขมันมากน้อยเพียงใด เพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการทดลอง

3. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Macro Kjeldahl Method นี้ สารละลาย-

มาตรฐานของกรด H_2SO_4 และ NaOH ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทดลอง เพื่อให้สารละลายมีความเข้มข้นตามมาตรฐานโดยแท้จริง

4. การอบสารตัวอย่างให้แห้งต้องควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 70 – 80 °ซ. เพราะถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้จะทำให้สารตัวอย่างไหม้ ซึ่งจะเป็นผลทำให้สารตัวอย่างเกิดสีเข้มมาก และจะไปทำให้ค่า Optical density ในการทดลองหาปริมาณของทริปโตเฟนผิดไปจากค่าที่แท้จริง

5. การใส่สารละลายตัวอย่างลงในเครื่อง Amino Acid Analyzer จะต้องทราบว่าสารตัวอย่างนั้นมีปริมาณกรดอมิโนมากน้อยเพียงใด โดยอาจมีวิธีการตรวจหาปริมาณกรดอมิโนโดยประมาณ ทั้งนี้เพื่อจะได้สะดวกในการคำนวณพื้นที่ใต้ curve การหาคร่าว ๆ ทำได้โดยใส่สารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองสองหลอดเติมสารละลายนินไฮดรินหลอดละ 0.1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทั้งสองจนสารละลายเข้ากัน นำเอาไปต้มให้เดือด ทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เทียบสีม่วงเพื่อดูความเข้มข้น ถ้าความเข้มข้นมากใช้สารละลายตัวอย่างเพียง 0.5 มิลลิลิตร ถ้าความเข้มข้นน้อยใช้สารละลายตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร เมื่อผ่านเครื่อง Amino Acid Analyzer

<u>ข้อเสนอแนะสำหรับผู้วิจัยต่อไป</u>

1. ควรศึกษาหาปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในส่วนต่าง ๆ ของถั่วพูแต่ละชนิด (Species) และสกุล (genus) ว่ามีปริมาณกรดอมิโนแตกต่างกันอย่างไรบ้าง ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการส่งเสริมให้ราษฎรปลูกถั่วพูชนิดและสกุลที่มีกรดอมิโนสูง

2. ควรศึกษาถึงอุณหภูมิของน้ำ และเวลาในการแช่ถั่วพู เพื่อให้ได้ปริมาณกรดอมิโนออกมามากที่สุด

3. ควรศึกษาการใช้ประโยชน์ของถั่วพูและน้ำนมถั่วพูโดยนำไปเลี้ยงสัตว์ทดลองเพื่อหาค่า Net Protein Utilization (NPU) และ Protein Efficiency Ratio (PER)

4. ควรศึกษาวิธีการดับกลิ่นและลดรสฝาดในน้ำนมถั่วพูให้สามารถใช้บริโภคได้

5. ควรศึกษาทำรับอาหารที่มีถั่วพูหรือแป้งถั่วพูเป็นส่วนประกอบเพื่อส่งเสริมให้การบริโภคถั่วพูกว้างขวางขึ้น.

บรรณานุกรม

กองโภชนาการ, กรมอนามัย, ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอมิโนในอาหารไทย, กุมภาพันธ์ : 2507.

ฉลวย โฉมเฉลา, สำนักพิมพ์เรื่องถั่วพู, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย, โรงพิมพ์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย, พระนคร, 2520, 48 หน้า.

นารีลักษณ์ ศุขกิจ "ถั่วพู" วารสารส่งเสริมการเกษตร ปีที่ 9 ฉบับที่ 4 เมษายน – พฤษภาคม 2519 หน้า 38 – 39.

นิตยา สุขาถวาย การหาปริมาณและคุณค่าของโปรตีนในข้าวเจ้าและข้าวเหนียวพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศไทย ปริญญานิพนธ์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร 2519, 62 หน้า.

ประไพพรรณ คงวัฒนา การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอมิโนที่จำเป็นในปลายรากข้าวโพดหลังจากแช่ในสารละลายของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ปริญญานิพนธ์ มหาวิทยาลัย–ศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร 2518, 92 หน้า.

สุทธิ ภมรสมิตร การทดลองใช้สารในธรรมชาติสำหรับ Chromatographic Techniques เพื่อการสอนวิชาเคมี ปริญญานิพนธ์ วิทยาลัยวิชาการศึกษา ประสานมิตร 2513, 169 หน้า.

Brown, Handb. Inst. Nutr. Philipp., No.1, 1957, pp. 28.

Bull, H.B., Hahn, J.W. and Baptist, V.H., "Filter Paper Chomatography", J. Am. Chem. Soc., 71, 1947, pp. 550 - 553.

Cerny, K., Addy, H.A. The winged bean (Psophocarpus palustris Desv.) in the treatment of Kwashiorkor, British Journal of Nutrition 29, 1973, pp. 105 - 112.

Cerny, K.M. Kordylas, F. Pospisil, O. Svakensky, and B. Zajic "Nutritive Value of the winged bean (Psophocarpus palustris Desv.)" British Journal of Nutrition, 1971.

"Food Crops. D-2 Vegetables" Ann. Rep. Agr. Res. Stat. Kade, Univ. Ghana 1966/67, p. 51 - 4 (1968)

Gordon, A.H. and others, "Partition Chromatography in the Study of Protien Constituent" Biochem. J. (London), 37, 1943 p. 79 - 86.

Henrickson, James B., Organic Chemistry, McGraw Hill Book Company, New York, 1970, pp. 12 - 14.

Instruction Manual for the Model KLA-3B, Amino Acid Analyzer, Hitachi Berkin-Elmer, December, 1967, pp. 196.

Lehninger L. Albert, Biochemistry Second editor, Worth publishers, inc., New York., 1975, 1104 pp.

Moore S., Speckman, D.H., and Stein, W.H., "Automatic Apparatus for Use in Chromatography" Federation Proe, 17, 1958. pp. 1107-25.

National Academy of Science, The Winged Bean A High-Protien Crop. for The Tropics Washington, D.C. 1975, 41 p.

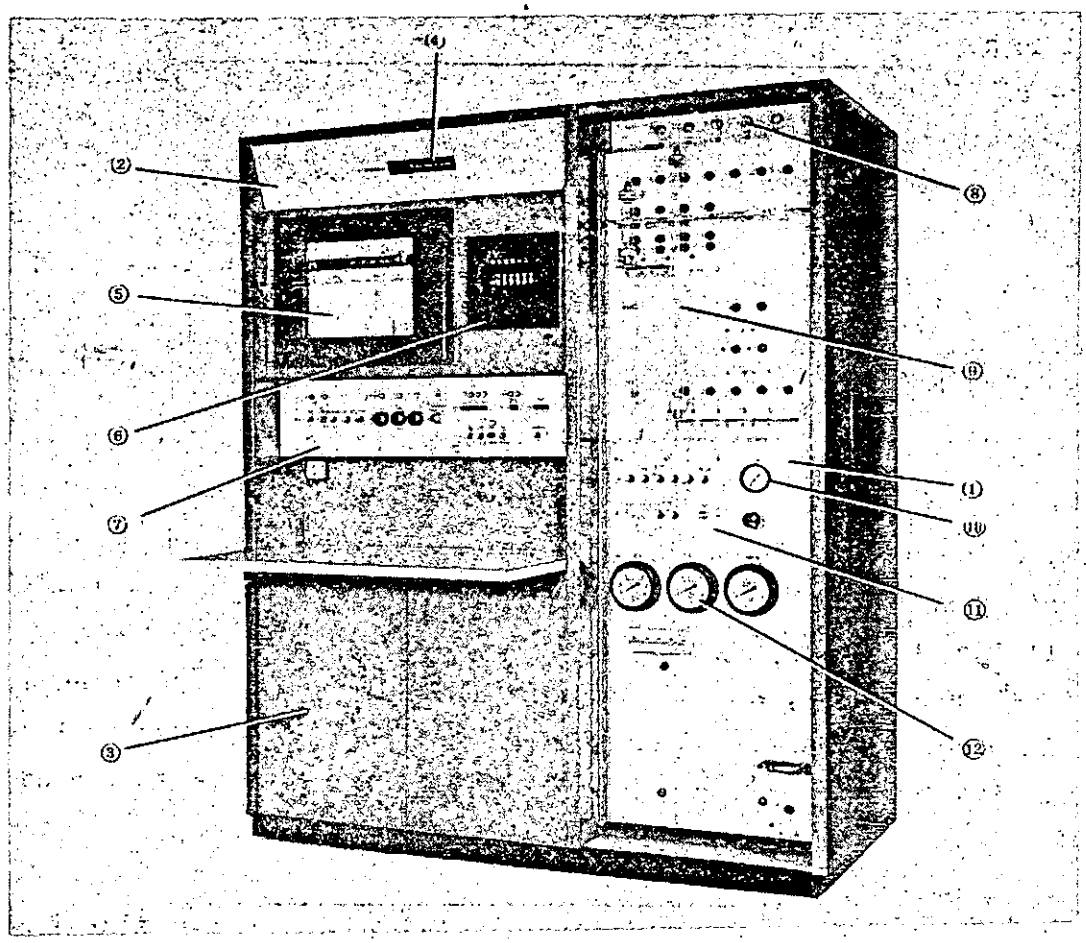
Shri A. Krishnamurthi et. al., The Wealth of India Raw Materials Vol. 8, Publication and Information Directorate CSIR New Delhi India, 1969, pp. 394.

WHO and FAO, "Protien Reguirements", FAO Nutrition Meeting Report Series No. 37, Report of a Joint FAO/WHO Expert Group, Published jointly by FAO and WHO, Rome, p. 71, 1965.

ภาคผนวก

ส่วนต่างๆ ของต้นถั่วพู

รากหรือหัวถั่วพู



1. Column housing
2. Electric control housing
3. Pump housing
4. Name plate
5. Recorder
6. Programming device
7. Electric control device
8. Supply valves
9. Columns
10. Pressure gauge for N_2 gas
11. Tubing manifold
12. Pressure gauges

Fig. 1 Model KLA-3B Amino Acid Analyzer

Aspartic acid

Fumaric

Sorbic

Gallic acid

Glycine

Alanine

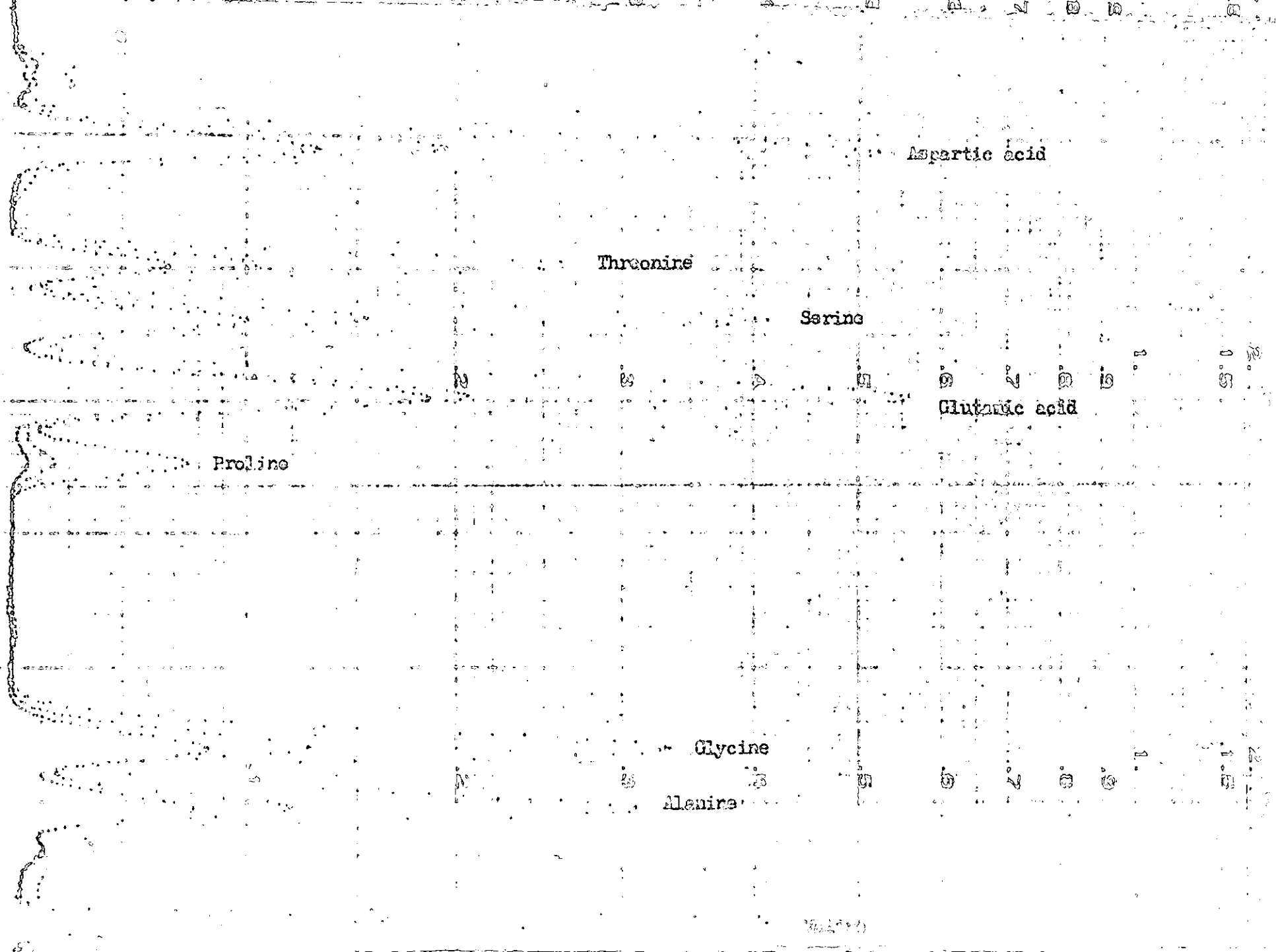
Valine

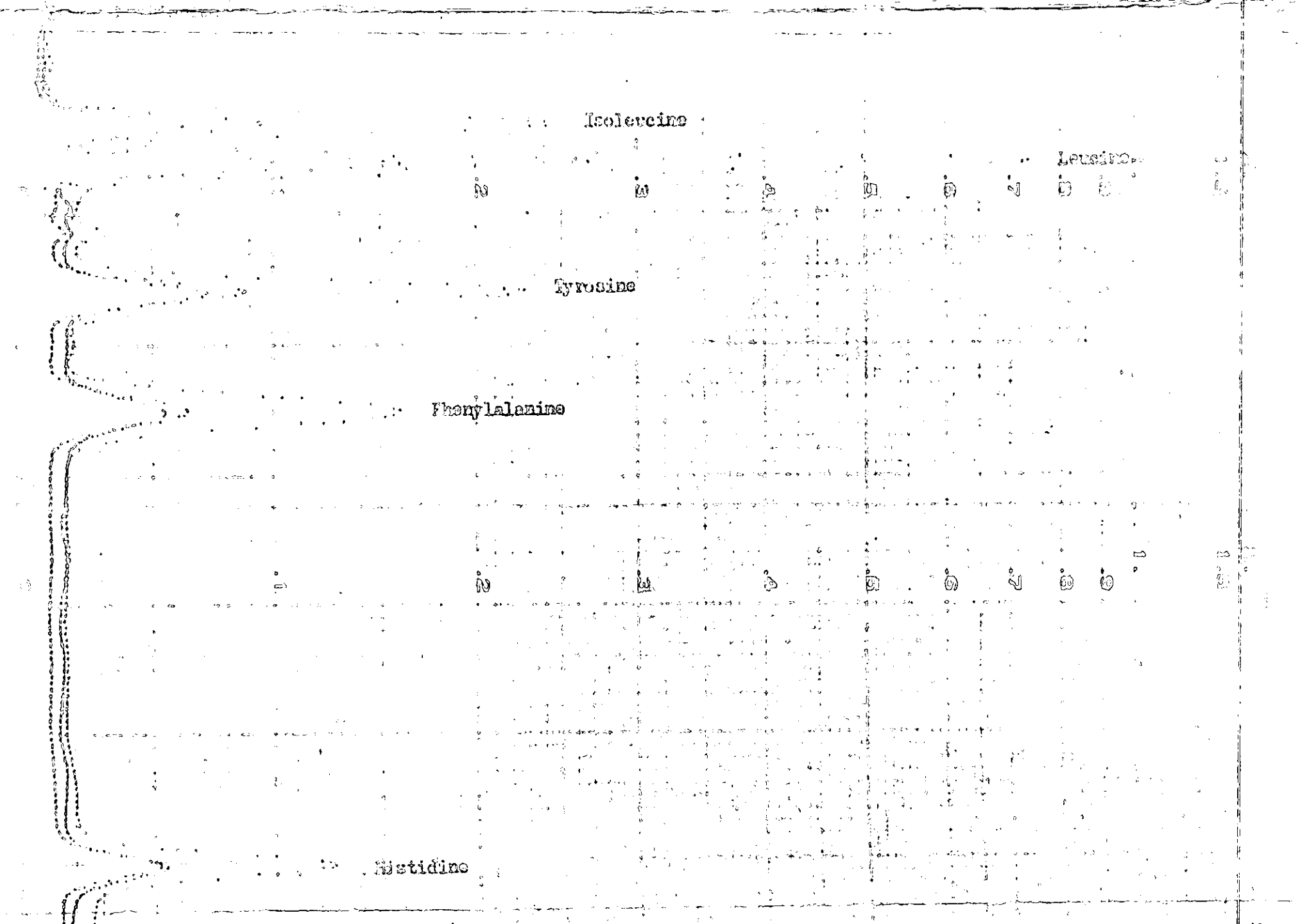
Arizona

Oklahoma

Texas

ไม่ดี


Aspartic acid
Threonine
Serine
Glutamic acid
Proline
Glycine
Alanine


Isoleucine
Leucine
Tyrosine
Phenylalanine
Histidine

Arsenic
Arsenic

ห้ามพิมพ์

Cystine

Arginine