บทที่ 5

วิจารณ์ผลของการวิจัย

การวิเคราะห์หาปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหาร โดยวิธี Agglutination ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้มากในปัจจุบัน (3) แม้ว่าจะไม่ใช่วิธีที่ดีเลิศ เพราะใช้ได้ในขอบเขตจำกัดก็ตาม แต่ก็ให้ Sensitivity และ Specificity ดีพอสมควร ทั้งยังมีข้อดีอื่น ๆ อีก ดังต่อไปนี้คือ

1. วิธีทำง่าย ทำได้สะดวก เพราะอุปกรณ์ที่ใช้ไม่ยุ่งยากนัก
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์มีราคาถูก พอหาได้ในเมืองไทย
3. อ่านผลได้ง่าย และรวดเร็ว ภายใน 1 ถึง 2 ชั่วโมงเท่านั้น
4. ใช้ตัวอย่างสารสกัดโปรตีนในปริมาณน้อยนิด คือเพียง ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ก็ให้ผลได้
5. น้ำยา Phosphate Buffer Saline ที่ใช้สำหรับสกัดโปรตีนจากตัวอย่างนั้น เป็นน้ำยาที่เก็บไว้ใช้ได้นานวัน ไม่ต้องเสียเวลาเตรียมทุก ๆ ครั้งที่ทำการทดลอง

อนึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ เลือกใช้แต่เม็ดเลือดแดงจากเลือดคนเท่านั้น เพราะว่าเม็ดเลือดแดงของคนจะตกลงสู่ก้นหลุมของ Microtitration multi-well plate ได้รวดเร็วกว่าเม็ดเลือดแดงของสัตว์อื่น เช่น เลือดแกะ ดังที่เคยมีนักวิทยาศาสตร์รายงานว่าเคยใช้ทดลองมาแล้ว จึงทำให้อ่านผลการทดลองได้รวดเร็วกว่า (3) ส่วนการที่เลือกใช้เฉพาะเลือดคนหมู่โอ (Blood Group O) เท่านั้น เพราะเหตุผล 2 ข้อคือ นอกจากจะเป็นหมู่เลือดที่หาได้ง่ายที่สุดแล้ว ยังให้ผลการเกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (agglutination) กับฮีแมกกลูตินินในปริมาณที่พอเหมาะ คือไม่มากหรือน้อยเกินไป (48,70) ดังที่ได้กล่าวไว้โดยละเอียดข้างต้น ตามผลการทดลองซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

เลือดคนหมู่โอ ที่ขอมาจากสภากาชาดไทยในแต่ละครั้งประมาณ 25 มิลลิลิตรนั้น บรรจุไว้ในหลอดทดลอง 5 หลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร โดยผสมกับ Alsever's solution

ในปริมาณเท่าตัว แล้วนำมาเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทางสภากาชาดไทยได้ทดลองแล้วว่าเหมาะสมที่สุดที่สามารถเก็บรักษาเลือดที่ได้รับบริจาคมาให้คงสภาพเดิมได้นานกว่าอุณหภูมิอื่น ๆ กล่าวคือถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 4 องศาเซลเซียส เม็ดเลือดแดงก็จะแตกตัว (hemolysis) ได้ แต่ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ก็จะทำให้เม็ดเลือดแดงแข็งตัว (freeze) เวลานำมาใช้ในการทดลองนี้ เม็ดเลือดแดงจะแตก (lyse) ได้เช่นกัน การเก็บรักษาเลือดไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ก็เพื่อรอเวลาสำหรับเตรียมน้ำยา 4% Red Blood Cell Suspension ซึ่งถ้า Alsever's solution ที่ใช้ มิใช่น้ำยาที่ปราศจากเชื้ออย่างแท้จริงแล้ว เม็ดเลือดแดงก็จะแตก (lyse) ในระหว่างที่เก็บไว้ในตู้เย็นได้ ทำให้การทดลองไม่ได้ผล ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกปฏิบัติในการเก็บรักษาเลือดตามคำแนะนำของ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์เบญจะ เพชรคล้าย (3) ซึ่งเป็นหัวหน้าห้องปฏิบัติการอิมมูโนวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ดังต่อไปนี้คือ

1. เก็บเลือดคนหมู่โอ ไว้ใน Alsever's solution ที่ปราศจากเชื้อ ในอัตราส่วนเลือดต่อน้ำยาคือ 1 : 1

2. เก็บเลือดผสมน้ำยาในข้อ 1 ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และจะต้องนำมาใช้เตรียม 4% RBC Suspension ให้หมดภายใน 2 ถึง 14 วัน

3. ล้างเม็ดเลือดแดงด้วย Normal Saline Solution ซ้ำถึง 3 ครั้ง

4. เก็บรักษา 4% RBC Suspension ใน Phosphate Buffer Saline pH 7.2 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการทดลองขั้นต้นเพื่อดู Sensitivity ของการเกิด Agglutination ของเม็ดเลือดแดงหมู่โอของคน ชนิดที่ผ่านกระบวนการทำให้เกิดเป็น Trypsin treated RBC เปรียบเทียบกับชนิดที่เป็น Untreated RBC พบว่า Trypsin treated RBC ทำให้เกิด agglutination ได้ดีกว่า หรือเพิ่ม sensitivity ของ agglutination มากกว่า ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 38 ดังนั้นในการทดลองหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในตัวอย่างอาหารไทยทั้ง 222 รายการ จึงใช้แต่ Trypsinized RBC เท่านั้น

ตารางที่ 38 เปรียบเทียบผลของ Agglutinating Activity จากวิธี Trypsinized RBC และ Untrypsinized RBC

ประเภทอาหาร	ชื่ออาหาร	Hemagglutinating activity(Unit/gm)	
		Trypsinized RBC	Untrypsinized RBC(4)
เมล็ดถั่วดิบแห้ง			
	ถั่วแดงหลวง	120,375 ± 1,390	6,680 ± 680
	ถั่วแป๊ะยี	44,493 ± 1,785	14,400 ± 790
	ถั่วเหลือง	7,236 ± 380	N
	ถั่วลันเตา	6,069 ± 115	430 ± 10
	ถั่วปากอ้า	2,217 ± 108	430 ± 20
ถั่วสด			
	ถั่วพู	12,768 - 46,224	2,700 ± 710
	ถั่วลันเตาเมล็ดสด	299 - 910	N

N = ตรวจไม่พบ

เนื่องจากโปรตีนต่าง ๆ ที่มีในพืชและสัตว์ ส่วนมากมี biological activity สูงสุดในช่วง pH 6.5 ถึง 8.0 (7) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกใช้ Phosphate Buffer Saline ที่มี pH 6.8 เป็นน้ำยาสำหรับสกัดโปรตีนออกจากตัวอย่างอาหาร พร้อมกับกำจัด inactive protein บางตัวที่ไม่ต้องการโดยทำให้ตกตะกอนเสียด้วย ส่วนโปรตีนที่สกัดได้นำมา dialyzed ด้วย Sodium Chloride Solution และ Phosphate Buffer Saline pH 6.8 (48)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหารไทยทั้ง 222 รายการ ดังแสดงผลการวิเคราะห์ไว้ในบทที่ 4 แล้วนั้น มีสาระสำคัญพอสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. ถั่วเหลือง (Soy bean, *Glycine max*)

Liener & Hill (42) รายงานไว้ว่าไม่ว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างถั่วเหลืองหรือผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองจะแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อสกัดโปรตีนด้วย PBS ที่ pH 6.8 แล้วจะได้สารละลายที่มีสารสกัดโปรตีนที่ขุ่น แต่จะไม่มีผลต่อการเกิด agglutination เลย นอกจากนี้ในปี 1953 Bird (30) ยังรายงานว่า Agglutination test ของสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองต่อเลือดคนจะได้ผลดีต่อเมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณฮีแมกกลูตินินในถั่วเหลืองรวมทั้งผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองจึงยึดหลักการของ Liener & Hill และ Bird (1953) คือใช้ PBS ที่ pH 6.8 สำหรับสกัดโปรตีน และทำการทดสอบการเกิด agglutination ในห้องทดลองที่เป็นห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศา-เซลเซียส ซึ่งได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

1.1 ถั่วเหลืองดิบ

เมล็ดถั่วเหลืองดิบจากตลาดในกรุงเทพมหานคร และต่างจังหวัดมีขนาดของเมล็ดแตกต่างกัน เมล็ดที่มีขนาดเล็กที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร และเมล็ดที่ใหญ่ที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ปริมาณฮีแมกกลูตินินที่ตรวจพบเฉลี่ยได้ 7,236 ± 380 Unit/gm และสังเกตพบว่าเมล็ดที่มีขนาดใหญ่จะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าเมล็ดที่มีขนาดเล็ก และเมื่อนำถั่วเหลืองไปแช่น้ำค้างคืนไว้ แล้วนำไปทอดในน้ำมัน จะไม่พบว่ามีฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่เลย แสดงว่าความร้อนจากการทอดสามารถทำลายฮีแมกกลูตินินให้หมดไปได้ เหมือนกับที่เคยมีรายงานไว้แล้วในปี ค.ศ. 1952 โดย Liener & Hill (42) ซึ่งได้ทดลองใช้ความร้อนระดับต่าง ๆ ในการทำลายฮีแมกกลูตินินในเมล็ดถั่วเหลืองดิบ ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 7

ผลจากการทดลองหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในถั่วเหลืองที่แช่น้ำทิ้งไว้ 1 ถึง 4 วัน พบว่ายิ่งแช่น้ำไว้นานวันปริมาณฮีแมกกลูตินินยิ่งลดน้อยลง เช่น พบว่าถั่วเหลืองที่แช่น้ำไว้ 4 วัน จะมีปริมาณลดลงเหลือราวร้อยละ 18 ของปริมาณที่มีอยู่เดิมในถั่วเหลืองดิบ เมื่อถั่วที่แช่น้ำแล้วงอกเป็นต้นอ่อน ปริมาณฮีแมกกลูตินินจะยิ่งลดลงตามอายุของต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้นด้วย เช่น พบว่าถั่วงอกหัวโตที่มีอายุได้ 4 วัน จะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่ราวร้อยละ 9 ของปริมาณที่มีอยู่เดิมในถั่วเหลืองดิบ จึงสรุปได้ว่านอกจากความร้อนจะทำให้ปริมาณฮีแมกกลูตินิน

ลดลงแล้ว การแช่น้ำและการงอกต่างเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้ปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงได้ด้วย ดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 30 เหมือนกับที่ Kakade & Evans (37) เคยรายงานไว้ดังผลการทดลองในตารางที่ 19

1.2 ถั่วงอกหัวโต (Soy bean-sprouted)

ปริมาณฮีแมกกลูตินินที่ตรวจพบในถั่วงอกหัวโตสดที่ซื้อจากตลาดต่าง ๆ 8 แห่งอยู่ระหว่าง 1,790 ถึง 2,356 Unit/gm พบว่าถั่วที่แช่น้ำไว้เป็นระยะเวลานานกว่าจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงมากกว่าถั่วที่แช่น้ำเป็นระยะเวลาสั้นกว่า เพราะการแช่น้ำทำให้ฮีแมกกลูตินินลดน้อยลง เมื่อนำถั่วงอกหัวโตไปลวกในน้ำเดือดนาน 5 นาที ปริมาณฮีแมกกลูตินินจะลดลงเหลือ 456 ถึง 1,281 Unit/gm หรือเทียบเท่าร้อยละ 25 ถึง 50 ของถั่วงอกหัวโตสด แต่ถ้านำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาทีจะพบเพียงตัวอย่างเดียวที่ยังมีฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่ 242 Unit/gm หรือเทียบเท่าร้อยละ 10 ของตัวอย่างถั่วงอกหัวโตสดก่อนผ่านกรรมวิธี ส่วนตัวอย่างอื่น ๆ ฮีแมกกลูตินินถูกทำลายหมด

1.3 น้ำนมถั่วเหลือง (Soy bean milk)

จากน้ำนมถั่วเหลืองซึ่งแบ่งวิเคราะห์เป็น 3 ลักษณะนั้น ผลปรากฏว่า

1.3.1 น้ำนมถั่วเหลืองเตรียมเองซึ่งแบ่งทำ 2 ลักษณะ พบว่า

1.3.1.1 น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่ถั่วเหลืองดิบค้างคืน ตรวจพบฮีแมกกลูตินิน 1 ตัวอย่างจาก 5 ตัวอย่าง มีปริมาณ 514 Unit/100 ml จึงเห็นว่าการแช่น้ำเป็นการทำลายฮีแมกกลูตินิน

1.3.1.2 น้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากการแช่ถั่วเหลืองดิบในน้ำเดือด 80 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินินเลย ทั้งนี้เพราะการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองด้วยวิธีดังกล่าว ฮีแมกกลูตินินถูกความร้อนทำลายไปส่วนหนึ่ง และอีกส่วนหนึ่งถูกทำลายโดยการแช่น้ำ จึงตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินิน

นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการเตรียมตามวิธี 1.3.1.1 จะเข้มข้นกว่าวิธี 1.3.1.2 กล่าวคือ จากวิธีแรก 100 มิลลิลิตรของน้ำนมถั่วเหลืองเมื่อนำไปทำให้แห้งจะได้เนื้อหนัก (Total solid) 4.5 กรัม ในขณะที่น้ำนมถั่วเหลืองจากวิธี 1.3.1.2 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร จะได้เนื้อหนักเพียง 2.4 กรัมเท่านั้น แสดงว่าวิธีการแช่น้ำค้างคืนทำให้โปรตีนในถั่วเหลืองละลายออกมามากกว่า เหมือนผลการทดลองของ Kakade & Evans (37) ซึ่งได้ทดลองกับถั่ว Navy bean ดังผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 19

1.3.2 น้ำนมถั่วเหลืองที่ทำสำเร็จจากตลาด 6 ตัวอย่าง ตรวจพบว่ามีฮีแมกกลูตินินในปริมาณ 616 Unit/100 ml เพียงตัวอย่างเดียว ซึ่งอาจจะเป็นเพราะความร้อนจากการต้มน้ำนมถั่วเหลืองไม่มากพอ ฮีแมกกลูตินินจึงถูกทำลายไม่หมด อย่างไรก็ตามปริมาณฮีแมกกลูตินินที่ตรวจพบนี้มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองดิบก่อนผ่านกรรมวิธี

1.3.3 น้ำนมถั่วเหลืองชนิดบรรจุขวด และบรรจุกล่อง Tetra Pak จำนวน 8 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินินเลย เพราะขบวนการผลิตต้องใช้ความร้อนสูงจากการ Sterilization จึงทำลายฮีแมกกลูตินินให้หมดไปได้

1.3.4 กากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองที่เหลือจากการคั้นเอาน้ำนมถั่วเหลืองออกแล้วพบว่ามีฮีแมกกลูตินินหลงเหลืออยู่ในปริมาณน้อยนิดเพียง 193 Unit/gm ซึ่งเมื่อนำไปนึ่งจนสุกแล้วจะไม่มีฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่เลย

2. ถั่วแขกเมล็ดแห้ง (Kidney bean, *Phaseolus vulgaris*)

ถั่วแขกเมล็ดแห้งจากแหล่งต่าง ๆ มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกันมาก ขณะดิบอยู่มีฮีแมกกลูตินินประมาณ 3,303 ± 73 Unit/gm แต่เมื่อนำไปแช่น้ำค้างคืนแล้วนำไปทอดในน้ำมันมาก ๆ จะไม่มีฮีแมกกลูตินินหลงเหลืออยู่เลย เหมือนกับถั่วแขกทอดที่ซื้อมาจากตลาดต่าง ๆ

3. ถั่วแดงหลวง (Lentil)

ถั่วแดงหลวงจากแหล่งต่าง ๆ มีลักษณะและขนาดของเมล็ดแตกต่างกัน นอกจากจะมีขนาดเล็กใหญ่ต่างกันแล้ว ลักษณะของเมล็ด เช่น สีของเมล็ด ความสมบูรณ์ของเมล็ดและผิวนอก ก็แตกต่างกันด้วย ถั่วแดงหลวงดิบ ๆ มีฮีแมกกลูตินินโดยเฉลี่ยสูงมากคือราว 120,375 ± 1,390 Unit/gm ซึ่งถูกทำลายหมดเมื่อนำไปต้มให้สุกจนนิ่ม

4. ถั่วปากอ้า (Broad bean, *Vicia faba*)

ถั่วปากอ้าเป็นถั่วเมล็ดโตที่มีเปลือกแข็งและเหนียวมาก ก่อนจะทอดต้องนำไปแช่น้ำ 2 คืน เพื่อให้เปลือกและเนื้อนุ่มลง แล้วใช้มีดกรีดเปลือกเป็นร่องลึก ๆ ถั่วปากอ้าดิบ ๆ มีปริมาณฮีแมกกลูตินินโดยเฉลี่ย 2,217 ± 108 Unit/gm ซึ่งจะถูกทำลายหมดเมื่อทอดจนกรอบแล้วแต่ 1 ใน 6 ตัวอย่างถั่วปากอ้าที่ทอดแล้วจาก 6 แหล่ง พบว่ามีฮีแมกกลูตินินหลงเหลืออยู่ราว 498 Unit/gm หรือเทียบเท่าร้อยละ 20 ของปริมาณที่พบในถั่วดิบ ซึ่งสังเกตเห็นตัวอย่างนี้แข็งกว่าตัวอย่างอื่น ๆ แสดงว่าทอดยังไม่สุกดี ความร้อนจึงทำลายฮีแมกกลูตินินไม่หมด

5. ถั่วแป๊ะยี (Field bean, *Dolichos lablab*)

ถั่วแป๊ะยีเป็นถั่วพื้นเมืองที่นิยมปลูกในจังหวัดตากเรื่อยขึ้นไปถึงจังหวัดเชียงใหม่แม่ฮ่องสอน เป็นถั่วเมล็ดแห้งสีขาว เปลือกบาง ก่อนจะนำไปทอดในน้ำมันจะต้องแช่น้ำให้เปลือกและเนื้อในนิ่มก่อน คล้ายกับการทอดถั่วปากอ้า ถั่วแป๊ะยีดิบ ๆ มีฮีแมกกลูตินินโดยเฉลี่ยสูงมากประมาณ 44,493 ± 1,785 Unit/gm ซึ่งเมื่อทอดหรือต้มแล้วจะไม่มีเหลืออยู่เลย

6. ถั่วลันเตา (Green pea, *Pisum sativum*)

ฝักถั่วลันเตาอ่อนที่ใช้กินเป็นผัก ทั้งชนิดฝักเล็กและฝักใหญ่ต่างตรวจไม่พบฮีแมก-กลูตินิน แต่เมล็ดถั่วลันเตาสดมีฮีแมกกลูตินินอยู่ประมาณ 299 ถึง 910 Unit/gm และสังเกตพบว่าเมล็ดถั่วลันเตาสดที่แช่น้ำทิ้งไว้หลาย ๆ วัน จะมีฮีแมกกลูตินินลดลง และต่ำกว่าเมล็ดถั่วสดที่แช่ทิ้งไว้น้อยวันกว่า แต่เมื่อนำไปลวกและต้มนาน 5 นาที จะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงเหลือเพียง 258 Unit/gm และไม่มีเลยตามลำดับ ส่วนเมล็ดถั่วลันเตาแห้ง พบว่ามีฮีแมกกลู-ตินินอยู่ 6,069 ± 115 Unit/gm แสดงว่าปริมาณฮีแมกกลูตินินของถั่วลันเตานั้นมีมากในเมล็ดเมล็ดที่เจริญเต็มที่จะมีปริมาณสูงกว่าเมล็ดที่อ่อนกว่า ผลของการทดลองนี้ตรงกับผลของ

Renkonen (30) ซึ่งรายงานว่าเมล็ดพืชจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินเพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดแก่จัดยิ่งขึ้น

เมื่อนำเมล็ดถั่วลันเตาแห้งไปทอด โดยแช่น้ำไว้ก่อน 1 คืนจะไม่พบฮีแมกกลูตินินเลย ซึ่งได้ผลเหมือนกับการหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในถั่วลันเตาที่ทอดขายตามตลาด ส่วนถั่วอบซึ่งเตรียมจากเมล็ดถั่วลันเตาแห้ง เคลือบด้วยแป้งสาลีปรุงรส จะมีฮีแมกกลูตินินอยู่ระหว่าง 314 ถึง 409 Unit/gm หรือเทียบเท่าร้อยละ 5 ของปริมาณที่พบในเมล็ดถั่วลันเตาแห้งดิบ ๆ

7. ถั่วพู (Four angled bean, *Psophocarpus tetragonolobus*)

ผลการวิเคราะห์ถั่วพูจากแหล่งต่าง ๆ 8 แหล่งซึ่งมีขนาดฝักไม่เท่ากัน บางตัวอย่างฝักโต บางตัวอย่างฝักเล็ก ปริมาณฮีแมกกลูตินินจึงมีค่าต่างกันตั้งแต่ 12,768 ถึง 46,224 Unit/gm พบว่าถั่วพูฝักโตกว่าจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าฝักที่เล็กกว่า เมื่อนำไปลวกในน้ำเดือดปริมาณฮีแมกกลูตินินจะลดลงไปมากเหลือราว 706 ถึง 2,578 Unit/gm หรือเทียบเท่าร้อยละ 5 ของถั่วพูสด แต่ถ้านำไปต้มนาน 5 นาที ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

8. กระถิน (*Leucaena glauca*)

ตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินินในใบกระถิน หรือยอดกระถินเลย แต่พบมากในส่วนฝัก โดยเฉพาะในเมล็ดแก่จะมีฮีแมกกลูตินินสูงระหว่าง 5,549 ถึง 5,908 Unit/gm ในขณะที่พบในส่วนเนื้อฝักที่ไม่มีเมล็ดหรือที่เรียกว่า ฝักกระถินไร้เมล็ดระหว่าง 1,205 ถึง 5,732 Unit/gm แต่เมื่อนำฝักกระถินไปลวกในน้ำร้อน ปริมาณฮีแมกกลูตินินจะลดลงบ้าง แต่ไม่หมด เพราะ Cutin ที่เคลือบฝักจะป้องกันมิให้ความร้อนซึมผ่านสู่ภายในฝัก ต้องต้มนานถึง 5 นาที ฮีแมก-กลูตินินจึงจะถูกทำลายหมด

9. มะขาม (Tamarind, *Tamarindus indicus*)

ใบมะขามอ่อนไม่มีฮีแมกกลูตินินคล้ายใบกระถิน นอกจากนี้เนื้อมะขามล้วนและฝักอ่อนที่ยังไม่มีเมล็ด ก็ไม่มีฮีแมกกลูตินินเช่นกัน แต่เมื่อฝักเจริญขึ้นเมล็ดภายในแก่ขึ้น จะพบว่ามีฮีแมกกลูตินินเพิ่มขึ้น ฮีแมกกลูตินินที่พบในเมล็ดแก่มีปริมาณ 294,400 ± 550 Unit/gm นั้นจะลดลงถ้านำเมล็ดแก่ไปแช่น้ำค้างคืนไว้ก่อนแล้วนำไปคั่ว ฮีแมกกลูตินินจะเหลือเพียง 345 Unit/gm

10. มะขามป้อม (Indian goose berry, *Phyllanthus emblica*)

ตรวจพบฮีแมกกลูตินินในผลสดสูงถึง 15,312 Unit/gm แต่เนื่องจากไม่มีตัวอย่างมะขามป้อมสดเพียงพอ จึงมิได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีแมกกลูตินินในมะขามป้อมดอง เชื่อม หรือแช่อิ่ม

11. ขนุน (Jack fruit, *Artocarpus heterophyllus*)

เนื้อขนุนอ่อนสดที่ได้จากผลอ่อน ซึ่งยังไม่มีเมล็ดขนุนให้แลเห็นอยู่เลย จะตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินิน แต่เมื่อขนุนอ่อนสด ๆ ที่มีเมล็ดขนุนปะปนอยู่ด้วยจะมีฮีแมกกลูตินินอยู่ด้วยราว 2,330 Unit/gm ครั้นเมื่อนำไปลวกในน้ำเดือดฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด ส่วนเมล็ดขนุนแก่ที่ยังดิบอยู่มีปริมาณฮีแมกกลูตินินสูงมาก คือมีอยู่ระหว่าง 456,841 ถึง 652,049 Unit/gm แม้จะนำไปต้มให้สุกในน้ำเดือดนาน 15 นาที ก็ยังมีฮีแมกกลูตินินหลงเหลืออยู่ราว 729 ถึง 118,294 Unit/gm แสดงว่าฮีแมกกลูตินินมีเฉพาะในเมล็ดขนุนเท่านั้น และเมล็ดแก่จะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าเมล็ดอ่อน

12. มะยม (Star goose berry, *Phyllanthus distichas*)

ใบมะยมสดมีปริมาณฮีแมกกลูตินินระหว่าง 1,644 ถึง 2,077 Unit/gm สังเกตพบว่าใบอ่อนจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินน้อยกว่าใบที่แก่กว่า และเมื่อนำไปลวกในน้ำเดือด ปริมาณฮีแมกกลูตินินจะลดลงเหลือ 841 Unit/gm บางตัวอย่างฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด แต่ถ้านำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด ส่วนผลมะยมตรวจพบฮีแมกกลูตินินระหว่าง 2,241 ถึง 4,849 Unit/gm และพบว่าผลที่มีรสเปรี้ยวกว่าจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าด้วย เมื่อนำไปดองในน้ำเกลือ 5 วัน จะตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินิน และเมื่อนำไปเชื่อมในน้ำเชื่อมโดยตั้งไฟเคี่ยวจนเกือบงวด ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

สรุปได้ว่าทั้งใบมะยม และผลมะยมดิบ มีปริมาณฮีแมกกลูตินินอยู่สูง ใบแก่และผลที่มีรสเปรี้ยวมากจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินสูงกว่าใบอ่อน และผลที่เปรี้ยวน้อยกว่า ความร้อนจากการต้ม ลวก และเชื่อมหรือดอง สามารถทำลายฮีแมกกลูตินินให้ลดลงได้

13. มะเขือสีดา (Tomato, *Lycopersicum esculentum*)

ผลสดตรวจพบฮีแมกกลูตินิน มีปริมาณ 1,722 ถึง 3,553 Unit/gm เมื่อนำ

ไปลวกในน้ำเดือด จะตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินิน

14. บร็อคโคลี่ (Broccoli, *Brassia oleracea botrytis asparagoides*)

ขณะสดตรวจพบว่ามีปริมาณฮีแมกกลูตินินทั้งส่วนดอกและลำต้นพอ ๆ กัน คือ ระหว่าง 1,384 ถึง 1,711 Unit/gm เมื่อนำมาหั่นแล้วนำไปลวกในน้ำเดือดหรือนำไปผัด มีตัวอย่างเดียวเท่านั้นที่ยังมีฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่ 91 Unit/gm นอกนั้นถูกทำลายหมด อธิบายได้ว่าอาจเป็นเพราะบร็อคโคลี่เป็นผักที่แข็ง ความร้อนผ่านเข้าภายในไม่สะดวกจึงยังมีฮีแมก-กลูตินินหลงเหลืออยู่เมื่อลวกหรือผัด แต่ถ้านำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

15. กะหล่ำดอก (Cauli flower, *Brassia oleracea*)

ขณะสดตรวจพบฮีแมกกลูตินินมีปริมาณระหว่าง 1,248 ถึง 2,717 Unit/gm เมื่อนำมาหั่นเป็นท่อนแล้วนำไปลวกในน้ำเดือดหรือผัดในน้ำมัน ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด เนื่องจากมีปริมาณฮีแมกกลูตินินไม่มากนัก ความร้อนจากการลวกหรือผัดจึงเพียงพอที่จะทำลายฮีแมกกลูตินินได้หมด

16. ดอกสลิดหรือดอกขจร (Cow slip creeping, *Telosma minor*)

ตรวจพบฮีแมกกลูตินินขณะสด ระหว่าง 18,670 ถึง 63,936 Unit/gm ปริมาณที่ต่างกันมากขึ้นกับปัจจัยหลายประการดังกล่าวแล้วข้างต้น และสังเกตพบว่าถ้าเป็นดอกที่สดมากจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าดอกที่เก็บค้างไว้ ดังนั้นเมื่อนำไปลวกในน้ำเดือดจึงยังมีฮีแมกกลูตินินหลงเหลืออยู่ราว 2,315 ถึง 2,584 Unit/gm ซึ่งขึ้นกับปริมาณที่พบขณะสด กล่าวคือถ้าขณะสดพบฮีแมกกลูตินินมาก เวลาลวกแล้วปริมาณฮีแมกกลูตินินก็จะเหลืออยู่มากกว่าดอกที่มีฮีแมกกลูตินินน้อยขณะสด และการที่ปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงมากเมื่อนำไปลวกก็เนื่องจากดอกสลิดเป็นไม้ดอกขนาดเล็ก กลีบบาง ดังนั้นเวลาลวกความร้อนจึงสามารถซึมผ่านเข้าทำลายฮีแมกกลูตินินได้มาก และเมื่อนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

17. ผักกระโดน (*Careya herbacea*)

ผักกระโดนซึ่งเป็นผักพื้นเมืองของอีสาน ในรูปของผักสดมีปริมาณฮีแมกกลูตินินอยู่ระหว่าง 3,603 ถึง 6,726 Unit/gm และน่าสังเกตว่าใบอ่อนของผักกระโดนมีปริมาณ

ฮีแมกกลูตินินน้อยกว่าใบที่แก่กว่า ส่วนความร้อนจากการลวกผักกระโดน จะทำให้ปริมาณฮีแมก-กลูตินินลดลงเหลืออยู่ราว 450 Unit/gm แต่ถ้าตัวอย่างผักกระโดนที่ใช้มีเพียงใบอ่อน ๆ เมื่อนำไปลวกในน้ำเดือด จะตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินินเลย เหมือนกับเมื่อนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาทีนั่นเอง

18. ผักเม็ก (*Eugenia collinsae*)

เป็นพืชตระกูลเดียวกับชมพู่ ใบเล็กมีกลิ่นหอมคล้ายชมพู่ ใช้เป็นผักจิ้มสด ตรวจพบมีฮีแมกกลูตินินมีปริมาณระหว่าง 10,456 ถึง 34,006 Unit/gm เมื่อนำไปลวกในน้ำเดือด จะยังคงมีฮีแมกกลูตินินเหลือราว 1,677 ถึง 5,344 Unit/gm แม้ใบจะมีขนาดเล็กแต่ผิวใบมีสาร Cutin เคลือบอยู่ ความร้อนจึงแทรกซึมเข้าทำลายฮีแมกกลูตินินไม่หมด แต่ถ้านำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาทีแล้วฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

19. ผักแต้ว (*Cratoxylon formosum*)

ผักแต้วเป็นพืชผักขนาดเล็กที่มีใบบาง เป็นผักพื้นเมืองของภาคอีสาน ซึ่งนิยมบริโภคในรูปของผักสดและผักลวก เมื่อสด ๆ อยู่มีปริมาณฮีแมกกลูตินินระหว่าง 4,700 ถึง 5,218 Unit/gm แต่เมื่อลวกแล้ว ความร้อนจะทำลายฮีแมกกลูตินินให้หมดไป

20. กระท้อน (*Sandoricum indicum*)

ปริมาณฮีแมกกลูตินินที่ตรวจพบในเนื้อกระท้อนโดยเฉลี่ยอยู่ในระหว่าง 803 ถึง 1,981 Unit/gm ซึ่งสังเกตพบว่าเนื้อกระท้อนที่มีรสเปรี้ยวมากกว่ารสหวานจะมีปริมาณฮีแมก-กลูตินินอยู่สูงกว่าด้วยซึ่งคล้ายกับมะยม นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อส่วนที่ติดกับเมล็ด และเมล็ดกระท้อนไม่มีฮีแมกกลูตินินอยู่เลย ซึ่งต่างจากเมล็ดมะขาม เมล็ดขนุน และเมล็ดกระถิน

21. หน่อไม้ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*)

ตรวจพบขณะสดมีปริมาณฮีแมกกลูตินินระหว่าง 1,120 ถึง 1,909 Unit/gm แต่เมื่อนำไปลวกฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด เนื่องจากหั่นชิ้นบาง ๆ ความร้อนจึงแทรกซึมเข้าทำลายฮีแมกกลูตินินได้หมด

22. เห็ดฟาง หรือเห็ดบัว (Chinese or Straw mushroom, *Volvariella volvacea*)

เป็นพืชที่นิยมบริโภคกันมากในปัจจุบัน ตรวจพบฮีแมกกลูตินินขณะสด มีปริมาณระหว่าง 2,997 ถึง 3,226 Unit/gm และเมื่อนำไปลวกในน้ำเดือดฮีแมกกลูตินินยังหลงเหลืออยู่ราว 627 ถึง 735 Unit/gm แต่ถ้านำไปผัดหรือต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที จะตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินิน

23. ข้าวโพด (Maize, *Zea mays*)

ข้าวโพดฝักอ่อนที่ใช้เป็นผัก มีปริมาณฮีแมกกลูตินินระหว่าง 24,099 ถึง 29,321 Unit/gm แต่เมล็ดข้าวโพดแก่ทั้งสดและแห้งพร้อมทั้งซังข้าวโพดฝักแก่ ไม่มีฮีแมก-กลูตินินอยู่เลย เมื่อนำฝักข้าวโพดอ่อนไปลวกในน้ำเดือดยังพบว่ามีฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่ราว 1,090 ถึง 2,052 Unit/gm เนื่องจากความร้อนยังแทรกซึมเข้าไปไม่ทั่วฝักพอที่จะทำลายฮีแมกกลูตินินได้หมด แต่ถ้านำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

24. มันฝรั่ง (Potato, *Solanum tuberosum*)

ตรวจพบฮีแมกกลูตินินขณะดิบ ๆ ราว 492 ถึง 1,859 Unit/gm สังเกตพบว่าหัวมันฝรั่งที่สดกว่าจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าหัวมันที่ค้าง ดังนั้นเมื่อนำมาหั่นเป็นชิ้นแล้วนำไปทอดในน้ำมัน ตัวอย่างที่มีฮีแมกกลูตินินมากจะยังคงมีฮีแมกกลูตินินเหลืออยู่ราวร้อยละ 25 ของมันดิบขณะยังไม่ผ่านกรรมวิธี ส่วนตัวอย่างมันฝรั่งสดที่มีปริมาณฮีแมกกลูตินินน้อย เมื่อนำมาทอดฮีแมกกลูตินินจะถูกทำลายหมด

ส่วนใน Potato chip ตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินินเพราะเป็นมันฝานชิ้นบาง ความร้อนจากการอบ ทอด เพียงพอในการทำลายฮีแมกกลูตินินได้หมด

25. เมล็ดละหุ่ง (Castor bean, *Ricinus communis*)

แม้ว่าจะไม่จัดเมล็ดละหุ่งเป็นอาหาร แต่น้ำมันเมล็ดละหุ่งจัดเป็นยาระบายอย่างแรง ประกอบกับมีเอกสารอ้างอิงถึงว่าเมล็ดละหุ่งมีปริมาณฮีแมกกลูตินินอยู่มากมาย จึงได้ทดลองวิเคราะห์ดูบ้าง พบว่าเมล็ดละหุ่งที่กระเทาะเปลือกออกแล้วบดละเอียด มีปริมาณฮีแมกกลูตินินสูงถึง 47,098 Unit/gm และมิได้ทำการศึกษาผลของความร้อนจากการหุงต้มต่อ

ปริมาณฮีแมกกลูตินินดังที่ทดลองกับพืชที่นำมาใช้เป็นอาหารอื่น ๆ

จากสรุปผลการทดลองหาปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหารไทยทั้ง 222 รายการนั้น ทำให้ได้รับข้อมูลที่น่าสนใจเกี่ยวกับฮีแมกกลูตินิน 6 ประการคือ

1. ความร้อนจากการหุงต้ม สามารถลดปริมาณฮีแมกกลูตินินในอาหารดิบได้

จากผลการทดลองดังกล่าวมา แสดงให้เห็นว่าความร้อนจากการหุงต้มไม่ว่าจะเป็นการลวก ต้ม ทอด คั่ว หรือเชื่อม ต่างมีผลทำให้ปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลง ยิ่งใช้ปริมาณความร้อนสูง ฮีแมกกลูตินินยิ่งถูกทำลายให้หมดไป ซึ่งผลของการทดลองนี้ตรงกันกับที่นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้รายงานไว้ เช่น Liener & Hill (1952) ได้ทำการทดลองในถั่วเหลือง หรือ Wagh et al (1963) ทำการทดลองใน Kidney bean และ Hewett et al (1973) ทำการทดลองใน Navy bean เป็นต้น

ส่วนกลไกที่ความร้อนทำให้ปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงได้นั้น ยังไม่มีผู้ใดอธิบายได้อย่างแจ่มแจ้ง ต่างสันนิษฐานกันว่า ความร้อนทำให้โมเลกุลของฮีแมกกลูตินิน ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนสูญเสียสภาพตามธรรมชาติ (denaturation) ไป มีผลทำให้ activity ลดลงด้วย

2. ผลของการงอกต่อปริมาณฮีแมกกลูตินินในเมล็ดพืช

ผลจากการวิเคราะห์หาปริมาณฮีแมกกลูตินินในเมล็ดงอกดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 30 แล้วนั้น จะเห็นได้ว่าปริมาณฮีแมกกลูตินินลดลงภายหลังการงอก ยิ่งนานวันฮีแมกกลูตินินก็ยิ่งลดน้อยลง เหมือนกับการทดลองของ Kakade & Evans (37) ซึ่งได้ทำการทดลองผลของการงอกต่อปริมาณฮีแมกกลูตินินในเมล็ด Navy bean ซึ่งได้แสดงผลการทดลองไว้ในตารางที่ 19 แล้วนั้น แสดงว่าการงอกยิ่งนานวัน ปริมาณฮีแมกกลูตินินก็ยิ่งลดน้อยลงตามลำดับ เป็นต้น

3. ผลของการแช่น้ำต่อปริมาณฮีแมกกลูตินินในเมล็ดพืช

ผลจากการวิเคราะห์หาปริมาณฮีแมกกลูตินินในเมล็ดถั่วที่แช่น้ำไว้ระยะเวลาต่าง ๆ กัน ดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 30 แล้วนั้น จะเห็นได้ว่าเมล็ดถั่วที่แช่น้ำไว้ยิ่งนานวัน ปริมาณฮีแมกกลูตินินก็ยิ่งลดน้อยลงตามลำดับ เหมือนกับการทดลองของ Sathe & Salunke (67) ซึ่งได้ทำการทดลองในเมล็ด Kidney bean และ Kakade & Evans

(37) ได้ทำการทดลองในเมล็ด Navy bean ดังรายละเอียดผลการทดลองแสดงไว้แล้วในตารางที่ 19 นั้นต่างพบว่า การแช่เมล็ดถั่วยิ่งนานวัน ปริมาณฮีแมกกลูตินินก็ยิ่งลดน้อยลงตามลำดับ

4. ความแก่อ่อนของพืชผักและเมล็ดต่อปริมาณฮีแมกกลูตินิน

ปริมาณฮีแมกกลูตินินในพืชผักและเมล็ดถั่วต่าง ๆ พบว่าพืชที่มีอายุมากกว่าจะมีฮีแมกกลูตินินมากกว่าพืชชนิดเดียวกันที่มีอายุน้อยกว่า เช่น เมล็ดถั่วลันเตา และเมล็ดมะขาม ดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 32 และ 35 จะเห็นได้ว่าถั่วลันเตาเมล็ดแห้งซึ่งเป็นถั่วที่เจริญเต็มที่จะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าถั่วลันเตาเมล็ดสดซึ่งมีอายุอ่อนกว่า และเมล็ดมะขามแก่ก็มีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าเมล็ดมะขามอ่อนในฝักที่ยังไม่แก่จัด เป็นต้น การทดลองนี้เหมือนกับการทดลองของ Mialonier และคณะ ซึ่งได้ทดลองในปี 1973 พบว่าเมล็ดถั่วแห้งที่แก่จัดจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าเมล็ดที่ยังไม่เจริญเต็มที่

5. การกระจายของฮีแมกกลูตินินในส่วนต่าง ๆ ของพืชผัก

จากผลการทดลองหาฮีแมกกลูตินินในส่วนต่าง ๆ ของพืชผัก พบว่าจะพบปริมาณฮีแมกกลูตินินไม่เท่ากันในส่วนต่าง ๆ ของพืช ดังเช่น ผลการทดลองในตารางที่ 34, 35, 36 และ 37 จะเห็นได้ว่าส่วนของพืชบางส่วนจะมีปริมาณฮีแมกกลูตินินสูง ในขณะที่ส่วนอื่น ๆ ของพืชตรวจไม่พบฮีแมกกลูตินินเลย การทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Sabniss & Hart ในปี ค.ศ. 1978 ซึ่งพบฮีแมกกลูตินินในยางของต้นแตงกวา แตงไทย ฟักทอง แต่ไม่พบฮีแมกกลูตินินในเมล็ดของพืชทั้ง 3 ชนิด ส่วน Kilpatrick พบฮีแมกกลูตินินจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะเขือเทศในปริมาณที่แตกต่างดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 แล้ว

6. แหล่งกำเนิดของฮีแมกกลูตินินในพืชตระกูลต่าง ๆ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าฮีแมกกลูตินินพบได้ในพืชตระกูลต่าง ๆ โดยเฉพาะพืชตระกูล Leguminosae ซึ่งพบว่ามีปริมาณฮีแมกกลูตินินมากกว่าตระกูลอื่น ๆ เหมือนกับการค้นพบของ Lansteiner และเพื่อน ในปี ค.ศ. 1908 และนอกจากนี้ยังพบว่าพืชในตระกูลเดียวกัน ก็มีปริมาณฮีแมกกลูตินินแตกต่างกันด้วย เช่น ถั่วชนิดต่าง ๆ เหมือนการทดลองของ de Muelenaere (51) ซึ่งพบว่า ถั่วดิบ 3 ชนิดคือ Soy bean, Natal bean และ Umzumbi bean มีปริมาณฮีแมกกลูตินินต่างกัน ดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 17