



Review Article

Leaf protein: an alternative raw material for future food

โปรตีนจากใบพืช: วัตถุดิบทางเลือกเพื่ออาหารแห่งอนาคต

นักสิทธิ์ ปัญญาใหญ่^{1*}

^{1*}คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ศูนย์แมริม ต.สะลวง อ.แมริม จ.เชียงใหม่ 50330

Article Info

Received 28 March 2022

Revised 17 May 2022

Accepted 26 September 2022

Abstract

Protein is an essential nutrient that the world is paying attention an alternative leaf protein. The protein has begun to be studied and commercialized for health benefits. This review article reports leafy plants are grown worldwide, such as moringa, alfalfa, cassava, kale, spinach, Chaya, mulberry, parsley, cowpea, and corkwood. The leaf protein is detailed in nutrition, food and pharmaceutical function. Currently, the demand for leaf protein has increased because it is classified as alternative raw material in functional foods for health. The development of extraction methods, removal of antinutrients, and food formulation will increase the potential for future food as a substitution protein source for humans.

Keywords: leaf protein, future food, nutrition

บทคัดย่อ

โปรตีนจัดเป็นสารอาหารสำคัญที่โลกกำลังให้ความสนใจโปรตีนทางเลือกจากใบพืช โปรตีนจากใบพืชเริ่มมีการศึกษาและนำไปใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพและในทางการค้า บทความปริทัศน์เรื่องนี้ ใบพืชให้โปรตีนที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ เช่น มะรุม อัลฟัลฟา มันสำปะหลัง เคล ผักโขม ชะยา ใบหม่อน พาสลีย์ ใบถั่วพุ่ม และใบแค ได้นำมาวิเคราะห์คุณค่าโภชนาการ สมบัติทางเทคโนโลยีอาหารและยา ซึ่งปัจจุบันความต้องการโปรตีนจากใบพืชมีมากขึ้นเพราะจัดเป็นวัตถุดิบทางเลือกในอาหารฟังก์ชันเพื่อสุขภาพ การพัฒนาวิธีการสกัด การแยกสารต้านคุณค่าโภชนาการ การนำไปผสมสูตรอาหารจะช่วยเพิ่มศักยภาพในการใช้เป็นแหล่งอาหารในอนาคตทดแทนโปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ สำหรับมนุษย์ได้

คำสำคัญ: โปรตีนจากใบพืช, อาหารแห่งอนาคต, โภชนาการ

1. บทนำ

โปรตีนจัดเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับมนุษย์เพื่อใช้สร้างภูมิคุ้มกัน เสริมการเจริญเติบโต และซ่อมแซมเซลล์ [1] แต่ปัจจุบันปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของมนุษย์ยังเป็นประเด็นที่ภาคการเกษตรและอาหารทั่วโลกให้ความสนใจเพราะการคาดการณ์ในปี ค.ศ. 2040 จำนวนประชากรที่มากถึง 9,000 ล้านคนจะเป็นอุปสรรคในการเข้าถึงแหล่งโปรตีนโดยเฉพาะผู้ยากไร้และเด็กเล็ก [2] นอกจากนี้ผลจากภาวะสงครามและโรคระบาด เช่น การปิดประเทศหรือเมืองใหญ่

ในช่วงโควิด การระบาดโรคสัตว์ จึงทำให้การขนส่งแหล่งโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นํ้านม ไข่ ถั่วเหลือง เกิดภาวะชะงักในการนำเข้าแหล่งโปรตีน ความแห้งแล้งจากการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศโลกร้อนขึ้นส่งผลต่อปริมาณผลผลิตของแหล่งโปรตีน [3] เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อการผลิตโปรตีนระยะยาวที่เสี่ยงต่อโปรตีนที่มีราคาแพงและปัญหาสุขภาพจากการขาดแคลนโปรตีนทำให้ไม่อาจบรรลุเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืนแห่งสหประชาชาติ (United Nations Sustainable Development Goals (SDGs)) เกี่ยวกับไม่มีความอดอยาก (zero

*Corresponding Author. Email: naksit_pan@cmru.ac.th

hunger) และสุขภาพดี ชีวีมีสุข (good health and well-being) รวมทั้ง การดำเนินการด้านภูมิอากาศ (climate action)

โปรตีนจากใบพืชเป็นโปรตีนสำรองเพื่อความมั่นคงทางอาหารในการจัดห่วงโซ่อาหารในแอฟริกาและเอเชีย ซึ่งปัจจุบันโปรตีนจากใบพืชเริ่มเป็นที่นิยมในทั่วโลก โดยมีหลายเหตุผลสนับสนุนโปรตีนจากใบพืชสีเขียวเหล่านี้ [3] ดังนี้

- **หนึ่ง** ลดการผลิตโปรตีนจากเนื้อสัตว์ (animal protein) ที่เน้นการผลิตในระดับมหภาคของประเทศที่พัฒนาไปสู่การผลิตโปรตีนจากพืชแทน (plant-based protein)
- **สอง** การลดการปลดปล่อยแก๊สทำให้โลกร้อน (greenhouse gas emission) ลงไปร้อยละ 14.5 ด้วยการลดการใช้ที่ดินและน้ำในการทำปศุสัตว์ขนาดใหญ่และการปลูกพืชเชิงเดี่ยว [4]
- **สาม** การลดความเสี่ยงจากโรคที่ไม่ติดต่อ เช่น มะเร็ง ความอ้วนที่มีสาเหตุจากการบริโภคอาหารที่มีสารเคมีทางการเกษตร ฮอริโมน และไขมันสัตว์ พบว่า ประชากรโลกร้อยละ 65 กำลังประสบปัญหาสุขภาพสารพิษตกค้างเรื่องนี้ [4]
- **สี่** การปฏิบัติตามหลักสุขภาพสัตว์และศาสนาลดการเบียดเบียนสัตว์ของอิสลาม ฮินดู พุทธ ตอบสนองความต้องการผู้รับประทานมังสวิรัต กังมังสวิรัต เจ เป็นต้น

ในบทความปริทัศน์เกี่ยวกับโปรตีนจากใบพืชเรื่องนี้จะนำเสนอเนื้อหาวิชาการเกี่ยวกับ คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนจากใบพืช การสกัดโปรตีนจากใบพืช ชนิดโปรตีนจากใบพืช โปรตีนจากใบพืชต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ศักยภาพผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนจากใบพืชในตลาดโลก และแนวทางการเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์โปรตีนจากใบพืช ดังต่อไปนี้

2. คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนจากใบพืช

ใบพืชที่พบในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วโลกในตารางที่ 1 อุดมด้วยโปรตีน เช่น ใบถั่วพุ่ม ใบอัลฟัลฟา ใบมะรุม ใบมันสำปะหลังมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 30 โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ใบพืชเหล่านี้ยังอุดมด้วยเส้นใยอาหาร เช่น ใบอัลฟัลฟา ใบชาขามีเส้นใยอาหารมากกว่าร้อยละ 20 โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนแร่ธาตุใบถั่วพุ่มมีโพแทสเซียมมาก (1.34 กรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง 100 กรัม) ใบมะรุมมีเหล็กมาก (51 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง 100 กรัม)

คุณภาพโปรตีนจากใบพืชหากพิจารณาในประเด็นความต้องการโปรตีนของมนุษย์และความสามารถในการย่อยโปรตีนแล้วนำไปใช้ประโยชน์ กล่าวอ้างได้ด้วยค่า **Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score (PDCAAS)** [14] ยกตัวอย่างใบมะรุมมีค่า PDCAAS เท่ากับ 0.41 ในขณะที่โปรตีนจากถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 1 ซึ่งหากมีการผสมโปรตีนจากใบมะรุมกับถั่วและงาจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับโปรตีนจากพืช

กรดอะมิโนที่พบในโปรตีนจากใบพืชเมื่อเปรียบเทียบกับความต้องการกรดอะมิโนของมนุษย์กำหนดโดยการเกษตรและอาหารแห่งสหประชาชาติ และองค์การอนามัยโลก (FAO/WHO) โปรตีนจากใบพืชมีกรดอะมิโนหลายชนิดและมีปริมาณมากกว่าที่กำหนด เช่น ใบชาขามีใบหม่อน อัลฟัลฟา มีกรดอะมิโนจำเป็น (ฮิสทีดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน ทรีโอนีน และวาเลีน) มากกว่าความต้องการของ

มาตรฐานสากลกำหนด อย่างไรก็ตาม โปรตีนพืชทั่วไปมีกรดอะมิโน 3 ชนิด ได้แก่ เมไทโอนีน ไลซีน และ ทรีปโตฟานปริมาณน้อย ทำให้คุณภาพของโปรตีนลดลง [15] ดังนั้น การนำโปรตีนจากใบพืชไปใช้ส่งเสริมการบริโภคในแอฟริกาและเอเชีย [16] ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นและการเติมเมไทโอนีน ทรีปโตฟานบริสุทธิ์หรือผสมโปรตีนสกัดจากใบพืชกับเห็ด งา ถั่ว สาหร่าย จะช่วยให้โปรตีนจากพืชที่มีคุณค่ามากขึ้น ซึ่งคุณภาพของโปรตีนเหล่านี้ขึ้นกับชนิดพืช ความแก่อ่อน และกระบวนการแปรรูปก่อนนำไปบริโภค

ใบพืชที่มีโปรตีนบางชนิด เช่น ใบชาขามี ใบมะรุม และใบมันสำปะหลังมี **สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (antinutrient)** เช่น ไฮยาไนด์ (cyanide), ออกซาเลต (oxalate), ไฟเตต (phytate), แทนนิน (tannin), และ สารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitors) ดังนั้น การใช้ความร้อนด้วย การลวก การนึ่ง การต้ม เป็นวิธีปฏิบัติทั่วไปในการลดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการเหล่านี้ เช่น ใบชาขามีปริมาณไฮยาไนด์ 2.35-4.45 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง การต้มใบชาขานาน 5 นาที ลดไฮยาไนด์ให้ปลอดภัยต่อการบริโภคได้ [20-22]

3. การสกัดโปรตีนจากใบพืช

การสกัดโปรตีนจากใบพืชเป็นเทคนิคในการเพิ่มระดับความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ โดยการควบคุมปัจจัยในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด ความเป็นด่าง เวลา และชนิดของตัวทำละลาย เพื่อให้ได้โปรตีนที่ไม่คั่ง ไม่มีกลิ่น แต่มีการละลายและการย่อยที่ดี สมบัติของโปรตีนที่สำคัญคือ หนึ่ง สมบัติการละลาย เช่น การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม การเชื่อมประสานระหว่างน้ำและน้ำมัน สอง สมบัติเกี่ยวกับไฮโดรโคนามิก เช่น ความหนืด เจล และเนื้อสัมผัส สมบัติเหล่านี้เปลี่ยนแปลงได้จากการแปรรูป การเก็บรักษา และการบริโภค [23, 24]

โปรตีนสกัดจากอัลฟัลฟา ละลายในน้ำหรือสารละลายต่าง จากนั้นให้ความร้อนเพื่อสกัดโปรตีนที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียสก่อนการปั่นเหวี่ยงแยกโปรตีนออกมา [25] การแยกโปรตีนใบหม่อนออกมาโดยการละลายในน้ำ นำส่วนใสมาละลายต่อในสารละลายต่างที่ pH 7.49 จะได้อัลบูมิน (albumin) การสกัดตะกอนต่อด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ และ สกัดต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ จะได้โกลบูลิน (globulin) ที่ pH 7.96 และกลูเทลิน (glutelin) ที่ pH 10.52 ตะกอนที่เหลือนำไปละลายต่อในสารละลายแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 แล้วนำไประเหยเอาแอลกอฮอล์ออกไปจะได้โพรลามิน (prolamin) การทำโปรตีนให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยการทำให้โคอะไลซิส (dialysis) และทำแห้งแบบระเหิด (lyophilization) การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค (ultrasonication) ควบคู่กับการใช้ตัวทำละลายเพื่อให้เซลล์พืชแตกออกจะได้โปรตีนจากใบพืชที่นำไปศึกษาสมบัติหน้าที่ต่อไปได้ [26]

โปรตีนสกัดจากอัลฟัลฟาเข้มข้นมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 107 กิโลดาลตัน มีองค์ประกอบโปรตีนโมเลกุลเล็ก 12 กิโลดาลตัน และ 49 กิโลดาลตัน ที่เรียกชื่อว่า รูบิสโค (RuBisCo) หรือ Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase

ตารางที่ 1 แหล่งโปรตีนจากใบพืชที่ปลูกทั่วโลก

แหล่งโปรตีนจากใบพืช	ภาพประกอบ	ถิ่นกำเนิดของพืช	จุดเด่นของใบพืช	เอกสารอ้างอิง
ใบอัลฟัลฟา (Alfalfa leaves) (<i>Medicago sativa</i> L.)		ยุโรปตะวันออก รัสเซีย อิหร่าน อิรัก ตุรกี อิตาลี ยูโกสลาเวีย	เดิมใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ ปัจจุบันนำมา สกัดโปรตีนผสมในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารของมนุษย์ อุดมด้วยแคลเซียม	[5]
ใบชಾಯา (Chaya leaves) (<i>Cnidioscolus aconitifolius</i> subsp. <i>Aconitifolius</i> Breckon)		เม็กซิโก กัวเตมาลา เปรู	จัดเป็นซูเปอร์ฟู้ด (super food) และสมุนไพร ยางของใบและก้านชಾಯามีเอนไซม์ปาเปนช่วยย่อย โปรตีนกล้ามเนื้อสัตว์ได้ มีกรดไขมันและซาโปนิน	[6]
ใบถั่วพุ่ม (Cowpea leaves) (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.)		แอฟริกา	ใบมีปริมาณโปรตีนมากกว่าส่วนนัท (nut) อุดมด้วย แคลเซียม โพแทสเซียม เหล็ก มีสารประกอบฟีนอลิก และ แคโรทีนอยด์	[7]
ใบเคล (Kale leaves) (<i>Brassica oleracea</i> L.)		ฝรั่งเศส บริเตนใหญ่ สเปน	พืชใบตระกูลบรassicaceae (family Brassicaceae) ใช้เป็นอาหารสัตว์ อาหารมนุษย์	[8]
ใบหม่อน (Mulberry leaves) (<i>Morus alba</i> L.)		จีนเหนือ จีนใต้	ใบเป็นอาหารให้หนอนไหมเพื่อสร้างเส้นใยทอผ้า มีโปรตีนส่วนย่อยที่ต้านอนุมูลอิสระ	[9]
ใบมะรุม (Moringa leaves) (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)		อินเดีย ปากีสถาน	ใบใช้เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางค์ อุดมด้วย แคลเซียม เหล็ก มีกรดไขมัน	[10]
ใบมันสำปะหลัง (Cassava leaves) (<i>Manihot esculenta</i> , Crantz)		บราซิล เอกวาดอร์ โคลัมเบีย เปรู	ใบใช้เป็นแหล่งโปรตีน แต่ยังไม่มีการบริโภค แพร่หลาย มีเหล็ก มีวิตามินซี	[11]
ใบสปีแนช (Spinach leaves) (<i>Spinacia oleracea</i> L.)		คาซัคสถาน เตอร์กเมนิสถาน อุซเบกิสถาน	ใบใช้เป็นอาหารสัตว์ ใบอุดมด้วยโพแทสเซียม มีเหล็ก มีวิตามินซี	[12]
ใบพาสลีย์ (Parsley leaves) (<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nym. ex A.W. Hill)		กรีก โมร็อกโก ยูโกสลาเวีย	ใบใช้เป็นยาแผนโบราณ มีเหล็ก มีสารประกอบฟีนอลิก และน้ำมันหอมระเหย	[13]

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบสัดส่วนกรดอะมิโนในใบพืชที่จัดเป็นแหล่งโปรตีน

กรดอะมิโน	ปริมาณ (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)				
	<i>Moringa oleifera</i>	<i>Cnidioscolus aconitifolius</i>	<i>Morus alba</i>	<i>Medicago sativa</i> L.	FAO/WHO
กรดอะมิโนจำเป็น					
ฮิสทีดีน	0.72	2.60	3.56	1.51	1.9
ไอโซลิวซีน	1.18	4.25	4.74	3.23	2.8
ลิวซีน	1.96	8.74	6.89	6.42	6.6
ไลซีน	1.64	5.05	5.30	3.46	5.8
เมไทโอนีน	0.30	1.35	1.78	1.42	-
ฟีนิลอะลานีน	1.64	4.19	3.34	4.12	-
ทรีโอนีน	1.36	3.70	4.25	3.59	3.4
ทริปโตฟาน	0.49	-	-	-	1.1
วาเลีน	1.41	4.54	5.16	4.25	3.5
กรดอะมิโนไม่จำเป็น					
ไทโรซีน	2.65	3.33	11.42	2.35	-
อะลานีน	3.03	4.60	-	4.83	-
อาร์จินีน	1.78	5.17	4.52	3.94	-
แอสปาราจिन	1.43	8.50	8.26	5.71	-
กรดกลูตามิก	2.53	13.50	-	7.49	-
ไกลซีน	1.53	4.10	5.94	3.43	-
โพรลีน	0.09	3.50	-	4.74	-
ซีรีน	1.09	3.36	4.20	3.54	-
ซิสเทอีน	0.01	1.19	-	0.53	-
อ้างอิง	[17]	[18]	[8]	[4]	[19]

การสกัดโปรตีนพืชจากใบชา ยา ใบมะรุ ม ใบสบิแนช พบ รูบิสโค ที่มีมวลโมเลกุล 40-50 กิโลดาลตัน ซึ่งโปรตีนชนิดนี้จัดเป็นโปรตีนที่มีมากในโลก เป็นเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงและการจับคาร์บอนของใบพืช รูบิสโค นี้มีโครงสร้าง 4 แบบ ได้แก่ I, II, III, และ IV โดยแบบ I พบในพืชร้อยละ 50 มีความสำคัญในด้านโภชนาการและการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร การศึกษาวิจัยในการสกัดรูบิสโคเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ยังมีความท้าทาย [24,27-29] นอกจากนี้โปรตีนอัลบัลบูมินมีการละลายน้ำต่ำสุดที่ pH 4.5 เพราะเป็นจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point) ส่วนโปรตีนจากใบหม่อนเรียงการละลายน้ำได้จากสูงสุดไปหาต่ำสุดดังนี้ อัลบูมิน โกลบูลิน กลูเทลิน และโพรลามีน มีการละลายร้อยละ 74.13, 63.15, 55.59, และ 43.37 ตามลำดับ กลูเทลินมีการดูดซับน้ำและน้ำมันได้สูงสุดเพราะมีความสมดุลระหว่างความเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) และ ไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) , การคลายตัว และโครงสร้างโปรตีน ในขณะที่โครงสร้างโพรลามีนของโปรตีนสกัดจากอัลบัลบูมินที่ pH 4.5 คงตัวเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มากกว่าในสภาวะที่เป็นกลางและต่าง โปรตีนกลูเทลินสกัดจากใบหม่อนช่วยให้โพรลามีนคงตัวมากกว่าโปรตีนโพรลามีน ส่วนโปรตีนโพรลามีนให้อิมัลชันที่คงตัวมากกว่า [24,26]

4. ชนิดโปรตีนจากใบพืช

ชนิดโปรตีนจากพืชผ่านกระบวนการเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นทำได้ 4 รูปแบบ (ภาพที่ 1) ได้แก่

- **หนึ่ง ผงใบพืชแห้ง (Leaf Powder, LP)** แปรรูปโดยการใช้ความร้อนด้วยวิธีการทำแห้ง เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ ตู้อบลมร้อน ตู้อบสุญญากาศ ตู้อบไมโครเวฟ เป็นต้น แล้วจึงนำไปบดเพื่อลดปริมาณความชื้นทำให้ผลิตภัณฑ์เก็บรักษาได้นานขึ้น
- **สอง โปรตีนจากใบพืชเข้มข้น (Leaf Protein Concentrate, LPC)** มีความเข้มข้นร้อยละ 30-80 โดยการนำใบพืชมาสับ คั้นจนได้น้ำ จากนั้นทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบดอัดจนเป็นก้อน ก่อนอบแห้ง [30] การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังให้ผลผลิตต่ำ มีแทนนินสูง และเส้นใยอาหารมาก แต่ปริมาณไซยาไนด์ลดลง การเติมกรดอะมิโนเมไทโอนีน แอนติออกซิแดนซ์ลงไปผสมกับก้อนโปรตีนเข้มข้นสกัดจากใบพืชจากนั้นนำไปทำให้เป็นเม็ด อบแห้งเพื่อเก็บรักษาได้ยาวนาน [31] ปัจจุบันมีเทคโนโลยีเมมเบรนกำจัดแรงคั่วฤดู สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีนในอัลบัลบูมิน รวมทั้ง แคลเซียม เหล็ก เช่นเดียวกับโปรตีนจากใบมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน (ultrafiltration) ทำให้โปรตีนและกรดอะมิโน (ยกเว้นทริปโตฟาน) เพิ่มขึ้น [32] นอกจากนี้การใช้เทคโนโลยีความดันสูง (high pressure technology) ช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ ลดการใช้วัตถุกันเสีย และเพิ่มอายุการเก็บรักษา [33]
- **สาม โปรตีนจากใบพืชไอโซเลต (Leaf Protein Isolate, LPI)** มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 99 โดยการแยกกลูเทลิน

ทริปซิน สารยับยั้งโคโมทริปซินที่ pH 9 จากนั้นปรับ pH เป็น 4 เพื่อการตกตะกอนอัลบูมิน และโกลบูลิน แยกออกมาละลายในสารละลายที่เป็นกลาง ปั่นเหวี่ยง ส่วนที่เหลือให้นำไปทำแห้งแบบประเห็ดจะได้โปรตีนไอโซเลต วิธีการนี้นำไปแยกโปรตีนไขมันสำหรับหลัง พบว่า ได้โปรตีนร้อยละ 40 โปรตีนนี้ย่อยด้วยเอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ได้ร้อยละ 88 [34]

- **ลี โปรตีนจากใบพืชไฮโดรไลเซต (Leaf Protein Hydrolysate, LPH)** การใช้เอนไซม์เพื่อตัดสายพอลิเพปไทด์ให้สั้นลง มีมวลโมเลกุลเล็กลง สามารถละลายน้ำได้ เอนไซม์โปรตีเอส (protease) เหล่านี้ เช่น อัลคาเลส (alcalase) โคโมทริปซิน (chymotrypsin) เพปซิน (pepsin) ทริปซิน (trypsin) ปาเปน (papain) นิวเทรส (neutrase) และ ฟลาโวไซม์ (flavozyme) การศึกษาโปรตีนไฮโดรไลเซตจากใบหม่อนย่อยด้วยนิวเทรสได้ไฮโดรไลเซตมีค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 0.3-6.5 กิโลดาลตัน [26] ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากอัลฟัลฟาและโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากใบมะเขือ (*Solanum macrocarpon* L.) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide radical, ferrous ion, hydroxyl radicals, and enzyme inhibition agents [35,36]

5. โปรตีนจากใบพืชต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

โปรตีนในใบพืชมีผลดีต่อสุขภาพ โปรตีนสกัดจากใบแค (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir.) ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกในอินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย ลดการต้านออกซิเดชันของลิปิดในดีเอ็นเอมากกว่าร้อยละ 80 ขึ้นกับความเข้มข้นของโปรตีน และโปรตีนจากใบแคช่วยต้านเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas eruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม [37] เช่นเดียวกับโปรตีนสกัดเข้มข้นจากใบผักโขม (*Amaranthus hypochondriacus* L.) สามารถย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็กร้อยละ 90 ได้สัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กอายุ 6 เดือนถึง 3 ปี มากกว่าโปรตีนสกัดเข้มข้นจากอัลฟัลฟาและชಾಯานอกจากนี้โปรตีนสกัดจากผักโขมกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ดีต่อสุขภาพในลำไส้เล็ก เช่น *Lactobacillus* and *bifidobacteria* [38] ส่วนใบมะรุมและใบอัญชันมีโปรตีนและธาตุเหล็กซึ่งใช้เป็นอาหารเสริมของเด็กเพื่อป้องกันโรคโลหิตจาง [39,40] ใบชಾಯาใช้เสริมการสร้างน้ำนมแม่ เพราะกระตุ้นการสร้างฮอร์โมน โปรแลคติน (prolactin) ดังนั้นจึงแนะนำหญิงให้นมบุตรรับประทานชಾಯาปรุงสุก 2-3 ครั้งต่อวันในช่วงให้น้ำนมทารก [41]

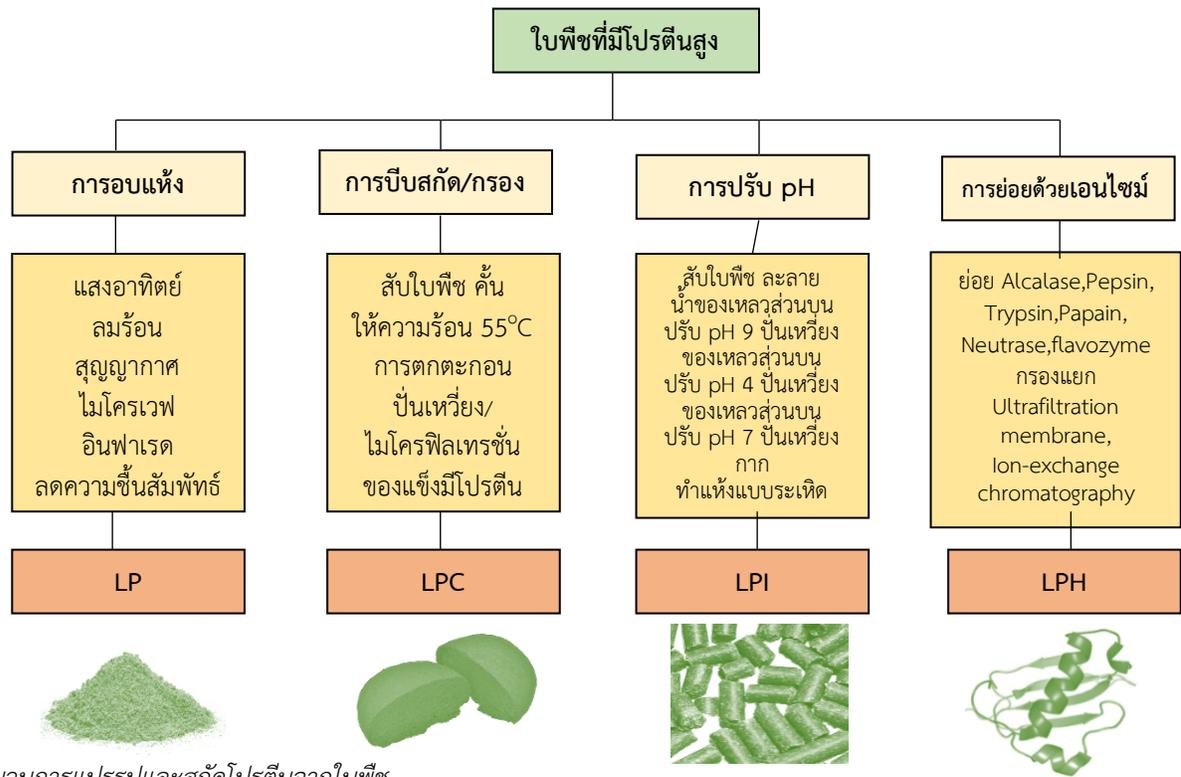
การปลูกพืชใบที่มีโปรตีนสูงเสริมแหล่งโปรตีนทั่วไป (ข้าวสาลี ถั่วเหลือง เนื้อสัตว์ อาหารทะเล นานม) ทำให้แหล่งอาหารเพิ่มขึ้น เพราะกำลังการผลิตโปรตีนจากแหล่งเดิมได้ถึงขีดสุดในพื้นที่เกษตรและท้องทะเล กอปรกับการลดโลกร้อน การสูญเสียหน้าดิน 25 พันล้านตันในแต่ละปี เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีมนุษย์ต้องกลับมาวางแผนการผลิตโปรตีนจากแหล่งใหม่ [42,43] ในระดับชุมชนมีการมีการส่งเสริมการปลูกพืชใบที่มีโปรตีนสูง เช่น ใบมะรุม ใบหม่อน เพื่อเป็นหลักประกันความมั่นคงทางอาหาร ลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรและการลดการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ส่วน

อุตสาหกรรมอาหาร การใช้ประโยชน์จากเศษใบพืช (ใบกะหล่ำ ใบบรอกโคลี ใบผักกาด และใบบีทรูท) เพื่อนำมาสร้างมูลค่าเพิ่ม เพื่อส่งเสริมการบริโภคเป็นอาหารกลางวันในโรงเรียน การบริโภคเพื่อสุขภาพ ขับเคลื่อนเศรษฐกิจ BCG ได้แก่ เศรษฐกิจชีวภาพ (Bioeconomy) ใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular economy) ใช้ประโยชน์ทรัพยากรให้เต็มที่ ลดของเสีย และเศรษฐกิจสีเขียว (Green economy) โดยการบริหารจัดการห่วงโซ่การผลิตโปรตีนจากใบพืชที่มีรูปแบบที่ลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งด้วยการบีบเอาน้ำใบพืชออกจากกากแล้วนำกากนั้นไปทำปุ๋ย ส่วนน้ำสกัดจากใบพืชให้แช่เย็นก่อนนำเข้าโรงงาน นำไปสกัดให้เข้มข้น ไอโซเลต หรือ ไฮโดรไลเซตเพื่อเพิ่มความเข้มข้นโปรตีนและทำให้บริสุทธิ์นำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการต่อไป [44-45]

6. ศักยภาพผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนจากใบพืชในตลาดโลก

การเติมวัตถุดิบใบพืชที่มีโปรตีนสูงลงในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นเรื่องที่มีการศึกษากันมานานเพื่อป้องกันโปรตีนขาดแคลน โดยมีหลักที่ว่า การเสริมโปรตีนจากใบพืชควรอยู่ในรูปที่ร่างกายดูดซึมในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ง่าย ผสมให้เข้ากับส่วนผสมอื่น ๆ ในตำรับอาหารได้ และโปรตีนที่ผสมลงไปไม่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัส ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนจากใบพืชได้แก่

- **ขนมอบ** ผลิตภัณฑ์เช่น โด บิสกิต คุกกี้ ขนมปัง อาหารเข้าสำหรับเด็กและผู้ใหญ่ การเสริมผงมะรุมทำให้ปริมาณโปรตีนที่ให้ประโยชน์ได้ในหนู และเพิ่มร้อยละการย่อยโปรตีน แต่ปริมาณผงมะรุมที่มากกว่าร้อยละ 15 ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสขมและหนูไม่กิน ซึ่งผลการทดสอบนี้มีผลต่อการทดสอบการชิมโดยมนุษย์ที่ให้คะแนนการยอมรับลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณผงมะรุม [46]
- **เนย** การเพิ่มผงมะรุมไม่เกินร้อยละ 1 เพิ่มปริมาณโปรตีนกรดอะมิโนไทโรซีน ลิวซีน เส้นใยอาหาร แร่ธาตุและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แต่การเพิ่มผงมะรุมมากกว่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเขียวและไม่เป็นที่ยอมรับ [47-48]
- **ซูป** การเสริมใบพืชเช่น สปีแนช มะรุม กับวัตถุดิบอื่น ๆ เช่น เห็ด แป้งถั่วทำให้ผลิตภัณฑ์ซูปผสมมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น โดยมีโปรตีนร้อยละ 16 เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่มีโปรตีนร้อยละ 13 รวมทั้งมีเส้นใยอาหาร วิตามินดี โพแทสเซียม แมงกานีส สังกะสี เหล็ก การประเมินทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับชอบมาก [49-51]
- **แอกทิฟเพปไทด์** การใช้เอนไซม์โปรตีเอสย่อยใบสปีแนชจนได้เพปไทด์จากสปีแนชที่มีคุณสมบัติลดความเครียด ความกังวล และเพปไทด์ที่ได้นี้มีมวลโมเลกุลใกล้เคียงกับ รูบิสโค [52] เพปไทด์จากใบหม่อนต้านการแตกของเม็ดเลือดแดง [53-54] ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์รูบิสโคไปผสมในแป้งโดสาลีพบว่าเกิดการสร้างพันธะโควาเลนต์ระหว่างการดูดซับน้ำของโด การผสม และสร้างร่างแหที่แข็งแรงกับกลูเตน [55] ซึ่งจะใช้ทดแทนการเสริมโปรตีนจากใบพืชในรูปแบบผงเพื่อแก้ไขปัญหาเรื่องสี กลิ่น ดังพบในขนมอบ ซูปและเนยได้



ภาพที่ 1 กระบวนการแปรรูปและสกัดโปรตีนจากใบพืช

ปัจจุบันกระแสความต้องการผลิตภัณฑ์จากโปรตีนจากใบพืชมีมากขึ้นเพราะผู้บริโภคเห็นว่าโปรตีนนี้ปราศจากกลูเตน น้ำตาล ไขมัน อิ่มตัว โคเลสเตอรอล รวมทั้งมีพลังงานต่ำกว่า 80 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม และการปลูกวัตถุดิบด้วยการเกษตรอินทรีย์รักษาสีและรสชาติซึ่งแรงขับนี้ทำให้ความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นส่วนประกอบหลักจะทำรายได้ 14.5 พันล้านเหรียญสหรัฐในปี ค.ศ. 2025 [4]

ยกตัวอย่าง ตลาดมะรุมทั่วโลกทำได้ 7.9 พันล้านเหรียญสหรัฐมีแหล่งผลิตภัณฑ์จำหน่ายในรูปแบบอาหารเสริม เช่น ออสเตอเรลลี นิวซีแลนด์ จีน และอินเดีย เพราะมะรุมเป็นที่รู้จักกันว่าเป็น ต้นไม้เพื่อชีวิต (the tree for life) หรือ ต้นไม้แห่งวิตามิน (a vitamin tree) หรือ ต้นไม้แห่งปาฏิหาริย์ (the miracle plant) และ ต้นไม้มหัศจรรย์ (an amazing tree) การนำใบมะรุมไปผสมกับอาหารและเครื่องดื่มในการทำชาสมุนไพร สมูทตี้ สลัด โปรตีนแท่ง โปรตีนน้ำนม ช็อกโกแลตโปรตีนสูง เป็นต้น ส่วนเคลจด์เป็นที่สุดแห่งอาหาร (super food) ในการใช้แปรรูปอาหารว่างที่มีเส้นใยสูง แร่ธาตุ วิตามิน แอนติออกซิแดนท์ เคลจด์แปรรูปโดยการทำให้แห้งแบบระเหิดเป็นที่นิยมในตลาดอเมริกาเหนือทำรายได้ 122.43 พันล้านเหรียญในปี ค.ศ. 2019 [56,57]

ความต้องการโปรตีนจากใบพืชจึงเป็นประเด็นสำคัญในการศึกษาและวิจัย การพัฒนาเทคโนโลยีในการสกัดโปรตีน การทำให้บริสุทธิ์ การปรับปรุงกลิ่น รสชาติของโปรตีนสกัด การศึกษาโครงสร้างในการนำโปรตีนจากพืชไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหาร [58,59] รวมทั้งการให้ข้อมูลสาระที่เหมาะสมกับผู้บริโภคจะเป็นการเพิ่มการยอมรับโปรตีนจากใบพืชทั้งปริมาณและคุณภาพของโปรตีนที่เพียงพอ

กับความต้องการของมนุษย์ในอนาคต ปรับสัดส่วนและรักษาสภาพดูดซึมได้ง่ายตรงตามมาตรฐานที่โภชนาการกำหนด

7. แนวทางความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์โปรตีนจากใบพืช

จากที่กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นว่า โปรตีนจากใบพืชเป็นทางเลือกที่มีความท้าทายการนำไปใช้ประโยชน์มาก เพราะปัจจุบันการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ การเกิดโรคระบาดโควิด-19 และภาวะสงครามทำให้ทุกประเทศต่างจำกัดปริมาณการส่งออกอาหาร การค้นหาแหล่งโปรตีนสำรองสำหรับมนุษย์และสัตว์มากขึ้น ประเทศไทยเป็นป่าฝนร้อนชื้นสามารถปลูกพืชที่มีใบเป็นแหล่งโปรตีนได้หลายชนิด เช่น ใบชา ยา ใบถั่วพุ่ม ใบเคล ใบหม่อน ใบมะรุม ใบมันสำปะหลัง และใบแคได้หลายชนิด ดังนั้นการวิจัยปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในใบพืชเหล่านี้ การสกัดเพื่อนำโปรตีน เช่น รูบิสโค รวมทั้งแอคทีฟเพปไทด์จากใบพืชใหม่ ๆ เพื่อนำไปใช้ส่งเสริมการปลูกเพื่อสร้างความมั่นคงอาหารในชุมชน สร้างรายได้ให้เกษตรกร และสร้างมูลค่าเพิ่มกับอุตสาหกรรมอาหาร นำไปใช้เป็นส่วนผสมวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน ผลิตภัณฑ์เพื่อการดูแลสุขภาพตรงกับความต้องการผู้บริโภคที่เน้นการมีสุขภาพที่ดี

8. สรุป

โปรตีนจากใบพืชเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ ทั้งยังมีสารอาหารอื่น ๆ และแอนติออกซิแดนท์ แม้ว่าโปรตีนจากใบพืชยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่ว ธัญพืช แต่มีใบพืชที่มีโปรตีนสูง เช่น ใบอัลฟัลฟา ใบมะรุม เคล มีจำหน่ายในรูปแบบโปรตีนทางเลือกในขนมอบ เครื่องดื่ม นานมและอาหารฟังก์ชันอื่น ๆ ซึ่งการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับโปรตีนจากใบพืชยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อส่งเสริม

การใช้โปรตีนพืชในการแก้ไขปัญหามลพิษโภชนาการ บทความปริทัศน์เรื่องนี้ได้ให้มุมมองใหม่ ให้รายละเอียดเกี่ยวกับคุณค่าโภชนาการสมบัติหน้าที่โปรตีนจากใบพืช ผลต่อสุขภาพ กระบวนการสกัดโปรตีนจากใบพืชบางชนิดซึ่งเป็นประเด็นศึกษาวิจัยด้านชีววิทยา ชีวเคมี วิทยาศาสตร์การอาหาร โภชนาการ และสิ่งแวดล้อม ที่ท้าทายความสามารถนักวิทยาศาสตร์หลายสาขาวิชาโดยมีเป้าหมายเพิ่มคุณค่าโปรตีนจากใบพืชให้เป็นโปรตีนแหล่งอนาคตเพื่อการบริโภค และรักษาสังแวดล้อมทั่วโลก

เอกสารอ้างอิง

1. Forum for the Future. The Protein Challenge 2040: Shaping the future of food. [Internet]. [cited 2021 Oct 24]. Available from: <https://www.forumforthefuture.org/Handlers/Downloadashx?IDMF=026a4509-ecf6-400a-b176-7e33ad649813>
2. Tower, L. Global coalition set to transform the future of protein production. [Internet]. [cited 2021 Oct 10]. Available from: <https://www.thepoultrysite.com/news/2016/03/global-coalition-set-to-transform-the-future-of-protein-production>
3. Gakpo, J. O. FAO predicts global shortage of protein-rich foods. [Internet]. [cited 2021 Oct 10]. Available from: <https://allianceforscience.cornell.edu/blog/2020/07/fa-o-predicts-global-shortage-of-protein-rich-foods/>
4. Forum for the Future. Shaping the future protein. [Internet]. [cited 2021 Oct 31]. Available from: <https://www.forumforthefuture.org/Handlers/Download.ashx?IDMF=6985b5f7-ee65-4862-893e-53a6355984fb>
5. Apostol, L., Ioraga, S., Mosoiu, C., Racovita, R. C., Nioulae, O. M., and Vlasceanu, G. (2017). Alfalfa concentrate- a rich source of nutrients for use in food products. J. Int Sci Pub. 5.2017;1314-8591.
6. Ford, A. The green deer: Chaya as a potential source of product for the ancient maya. [Internet]. [cited 2021 Oct 24]. Available from: https://www.academia.edu/57898264/The_Green_Deer_Chaya_as_a_Potential_Source_of_Protein_for_the_Ancient_Maya
7. Owade, J. O., Abong, G., Okoth, M., and Mwangi, G. A review of the contribution of cowpea leaves to food and nutrition security in East Africa. Food Sci and Nutr. 2020;8(1):36-47.
8. Samec, D., Urlic, B., and Solopek-Sondi, B. (2019). Kale (*Brassica oleracea var. acephala*) as a superfood: review of the scientific evidence behind the statement. Cri Rev in Food Sci Nutr. 2019;59(15):2411-2422.
9. Sarkhel, S. and Manvi, D. Processing of mulberry leave: a review. Int J Chem Stud. 2020;9(1):859-865.
10. Gopalakrishnan, L., Doriya, K. Kumar, D. S. *Moringa oleifera*: a review on nutritive importance and its medicinal application. Food Sci and Hum Wellness. 2016;5(2):49-56.
11. Latif, S. and Müller, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: A review. Trends Food Sci Technol. 2015;44:147-158.
12. Ronghani, A., and Miri, S. M. Spinach: an important green leafy vegetable and medicinal herbs. [Internet]. [cited 2021 Oct 21]. Available from: The 2nd International Conference on Medicinal Plants, Organic Farming, Natural, and pharmaceutical ingredients. file:///C:/Users/ASUS/Downloads/SpinachAnimportantgreenleafyvegetableandmedicinalherb.pdf
13. Punoševac, M., Radović, J., Leković, A., Kundoković-Vasović, T. A review of botanical characteristics, chemical composition, pharmacological activity, and use of parsley. Arh Farm. 2021;71:177-196.
14. Hughes, G. J., Ryan, D. J., Mukherjee, P., and Schasteen, C. S. Protein Digestibility-Correct Amino Acid Scores (PDCAAS) for soy protein isolates and concentrate: criteria for evaluation. J Agric and Food Chem. 2011;59(23):12707-12712.
15. Le, D. T., Chu, H. D., and Le, N. Q. Improving nutritional quality of plant proteins through genetic engineering. Curr Genomics. 2016;17(3):220-229.
16. Mune, M. A. M., Neobe, E. C., Bassogog, C. B., and Minka, S. R. A comparison on the nutritional quality of proteins from *Moringa oleifera* leaves and seeds. Cogent Food Agric. 2016;2;1,1213618, DOI: 10.1080/23311932.2016.1213618
17. Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., and Muchenje, V. Nutritional characterization of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. Afri J Biotech. 2011;10(60): 12925-12933.
18. Adanlawo, I. G., and Elekofehinti, O. O. Proximate analysis, mineral composition and amino acid composition of *Cnidioscolus aconitifolius* leaf. Adv Food and Energy Secur. 2012;2:17-21.
19. FAO/WHO. Protein quality evaluation. Rome: In Food and Agricultural Organization of the United Nations. 1991.
20. Babolola, J. O., and Alabi, O. O. Effect of processing methods on nutritional composition, phytochemicals, and anti-nutrient properties of Chaya leaf (*Cnidioscolus aconitifolius*). Afri J Food Sci. 2015;9(12): 560-565.
21. Sallau, A. B., Mada, S. B., Ibrahim, S., and Ibrahim, U. Effect of boiling, simmering, blanching on the antinutritional content of *Moringa oleifera* leaves. Int J Food Nutr and Saf. 2012;2(1):1-6.

22. Kuti, J. O. and Kuti, H.O. Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidoscolus* (tree Spinach). *Plant Foods Hum Nutr.* 1999;53:275-283.
23. Tenorio, A. T., Boom, R. M., and Van der Goot, A. J. Understanding leaf membrane protein extraction to develop a food grade process. *Food Chem.* 2017;217: 234-243.
24. Lamsal, B. P., Koegel, R. G., and Gunasekaran, S. Some physicochemical and functional properties of alfalfa soluble leaf proteins. *LWT. Food Sci Technol.* 2007;40(9): 1520-1526.
25. Hojilla-Evangelista, M.P., Selling, G. W., Hatfield, R., and Digman, M. Extracting, composition, and functional properties of dried alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf protein. *J Sci of Food and Agri.* 2017;97(3):882-888.
26. Sun, C., Shan, Y., Tang, X., Han, D., Wu, X., Wu, H., and Hosseini-zhad, M. Effects of enzymatic hydrolysis on physicochemical property and antioxidant activity of mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) leaf protein. *Food Sci and Nutr.* 2021;9(10):5379-5390.
27. Rodrigues, M. M. R., Ojeda, J. C. M., Díaz, M. G., and Allende, D. K. B. Use of Chaya (*Cnidosclous chayamansa*) leaves for nutritional compounds production for human consumption. *J Mex Chem Soc.* 2021;65(1):118-128.
28. Di Stefano, E., Agyei, D., Njoku, E. N., and Udenigwe, C. C. Plant RuBisCo: an underutilized protein for food applications. *J Am Oil Chem Soc.* 2018;95(8): 1063-1074.
29. Zulkifli, Z. A. and Rahmat, Z. Protein antioxidant capacity from *Moringa Oleifera* fresh and commercial leaf. *Biosci Biotechnol Res Asia.* 2020;17(1):155-161.
30. Telek, L. Leaf protein extraction from tropical plants. *Plants: the potentials for extracting protein, medicines, and other useful chemicals- workshop proceeding.* 2008;78-110.
31. Zhang, W., Grimi, N., Jaffrin, M. Y., Ding, L., and Tang, B. A short review on the research progress in alfalfa leaf protein separation technology. *J Chem Technol Biotechnol.* 2017;92(12):2894-2900.
32. Ayole, H. H., Latif, S., Bruins, M., Müller, J. Partitioning of proteins and anti-nutrients in cassava (*Manihot esculenta*) leaf processing fractions after mechanical extraction and ultrafiltration. *Foods.* 2021;10(8):1714: <https://doi.org/10.3390/foods10081714>
33. Šarkhel, S. and Manvi, D. Processing of mulberry leave: a review. *Inter J Chem Stud.* 2020;9(1):859-865.
34. Og, D., and Zf, A. Protein isolation and proximate evaluation of sweet and bitter cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz). *J Natu Sci Res.* 2015;5(17): 108-112.
35. Xie, Z., Huang, J., Xu, X., and Jin, Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chem.* 2008;111(2): 370-376.
36. Famuwagun, A. A., Alashi, A. M., Gbadomasi, S. O., Taiwo, K. A., Oyedele, D., Adebooye, O., and Aluko, R. E. Effect of protease type and peptide size on the in vitro antioxidant, antihypertensive, anti-diabetic activities of eggplant leaf protein hydrolysates. *Foods.* 2021;10(5): 1112. <https://doi.org/10.3390/foods10051112>
37. Zerena, A. S., Gopal, S., Vineeth, R. Antioxidant, antibacterial, and cytoprotective activity of agati leaf protein. *J Anal Methods Chem.* 2014; Article ID 989543, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/989543>
38. Ramírez-Rodrigues, M. M., Metri-Ojeda, J. C., González-Ávila, M., Ruiz-Álvarez, B. E., and Baigts-Allende, D. K. Digestibility and bioaccessibility of leaf protein concentrates and their impact on children gut microbiota. *Waste Biomass Valorization.* 2021; <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01521-y>
39. Shija, A. E., Rumisha, S. F., Oriya, N. M., Kilima, S. P., and Massaga, J. J. Effect of Moringa Oleifera leaf powder supplementation on reducing anemia in children two years in Kisarawe District, Tanzania. *Food Sci Nutri.* 7: 2019;2584-2594.
40. Vilakati, N., Tylor, J. R. N., MacIntyre, U., and Kwger, J. Effects of processing and addition of a cowpea leaf relish on the iron and zinc nutritive value of a ready-to-eat sorghum-cowpea porridge aimed at young children. *LWT.* 2016;78, 3337-3353.
41. Silawati, and Zamzam. The effect of Chaya leaf extract consumption on breast milk production. *Adv Soc Sci Edu Hum Res.* 2020;535:793-795. <https://www.forumforthefuture.org/Handlers/Download.ashx?IDMF=6985b5f7-ee65-4862-893e-53a6355984fb>
42. Sachan, S., Dutta, A., Suri, S., and Tilara, S., Leaf protein concentrates (LPC) for food fortification from unconventional plants of the Himalayas, India. *J Sci Res Rep.* 2018;20(2):1-11.
43. Contreras, M. D. M., Lama-Munoz, A., Guliérrez-Pérez, J. M., Espinola, F., Moya, M., Casho, E. Protein extraction from agri-food residues for integration in biofinery: potential technologies and current status. *Bioresour Tech.* 2019;280:459-477.
44. Lyer, A., Bestwick, C. S., Duncan, S. H., and Rusell, W. R. Invasive plants are a valuable alternate protein source and can contribute to meeting climate change targets.

- Frontier Sustainable Food System. [Internet]. [cited 2021 Oct 21]. Available from: DOI=10.3389/fsufs.2021.575056
45. Tenorio, A. T., Schreuders, F. K. g., Zisopoulous, F. K., Boom, and Van der Goot, A. J. Processing concepts for the use of green leaves as raw materials for food industry. *J Clean Prod.* 2017;164:736-748.
 46. Oyerinka, A. T. and Oyeyinka, S. A. *Moringa oleifera* as a food fortification: Recent trends and prospects. *J Saudi Soc Agri Sci.* 2018;17:127-136.
 47. El-Sayed, S. M. Use of spinach powder as functional ingredients in the manufacturer of UF-Soft cheese. *Heliyon.* 2020;6,e03278.
 48. Hassen, F. A., Enab, A. K., Abdel-Gawaa, M. A., Bayoumi, H. M., Youssef, Y. B. Utilization of *Moringa oleifera* leaves powder in production of soft white cheese. *Inter J Dairy Sci.* 2010;12:137-142.
 49. Salem, A. S., Salama, W. M., Hassanetn, A., Ghandour, H. E. Enhancement of nutritional and biological values of Lobmeh by adding dry leaves of *Moringa oleifera* as innovative dairy products. *World Appl Sci J.* 2013;22: 1594-1602.
 50. Babayeju, A., Gbadebo, C., Gbalowu, M., Otunola, G., Nmom, I., Kayode, R., Toye, A., and Ojo, F. Comparison of organoleptic properties of egusi and efo riro soup blends produced with moringa and spinach leaves. *Food Sci and Qual Manag.* 2014;28:15-18.
 51. Farzana, T., Mohajan, S., Saha, T., Hossain, N., Haque, Z. Functional and nutritional evaluation of healthy vegetable soup powder supplemented with soy flour, mushroom, and moringa leaf. *Food Sci Nutri.* 2017;5: 911-920.
 52. Kinura, S., Uchida, T., Tokuyama, Y., Hosokawa, M., Nakato. J., Kurabayashi, A., Sato, M., Suzuki, H., Kanamoto, R., and Ohimata, K. Identification of rubisco anxiolytic-like peptides (rALPs) by comprehensive analysis of spinach green leaf protein digest. *Biochem and Biophys Res Commun.* 2018;505(4):1050-1056.
 53. Avilés-Gaxiola, S., León-Félix, J., Jiméncz-Nevárez, Y. B., Angulo-Escalante, M. A., Ramos-Páyan, R., Colado-Velázquez III, J., and Heredia, J. B. Antioxidant and anti-inflammatory properties of novel peptides from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *S Afr J Bot.* 2021;141:466-473.
 54. Sun, C. Tang, X., Ren, Y., Wang, E., Shi, L., Wu, X., and Wu, H. Novel antioxidant peptides purified from Mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) leaf protein hydrolysates with hemolysis inhibition ability and cellular antioxidant activity. *J Agri Food Chem.* 2019;67(27):7650-7659.
 55. Docrocq, M., Boire, A., Anton, M., Micard, V., Morel, M. Rubisco: A promoting plant protein to enrich wheat-based food without imparting dough viscoelasticity and protein polymerization. *Food Hydrocoll.* 2020;109: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106101>
 56. Grand View Research. Kale chips Market size, share & trends analysis report by distribution channel (supermarket/hypermarkets, specialty stores, convenience stores), by region, and segment forecasts: 2019-2025. [Internet]. [cited 2021 Oct 11]. Available from: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/kale-chips-market>
 57. NutraScienceLab. (2021). Plant protein market for 2021. [Internet]. [cited 2021 Oct 11]. Available from: <https://www.nutrasciencelabs.com/blog/plant-based-protein-market-trends-opportunities-and-challenges>
 58. Paramita, V. D., Panyoyai, N., and Kasapis, S. Molecular functionality of plant proteins from low-to-high-solid systems with ligand and co-solute. *Inter J Mol Sci.* 2020;21: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/7/2550>
 59. Panyoyai, N. Plant-based proteins: nutrition, structure, functionality, and applications in food industry. *Rajabhat Agri.* 2020;19(1),61-39.