



วิทยานิพนธ์

ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ

**EFFECT OF GAMMA RADIATION ON TRYPSIN INHIBITOR
ACTIVITY OF *Jatropha curcas* SEEDS**

นายศรายุทธ ขัดคำ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (รังสีประยุกต์และไอโซโทป)

ปริญญา

รังสีประยุกต์และไอโซโทป

รังสีประยุกต์และไอโซโทป

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ

Effect of Gamma Radiation on Trypsin Inhibitor Activity of *Jatropha curcas* Seeds

นามผู้วิจัย นายศรายุทธ ชัดคำ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันวิสา สูดประเสริฐ, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์พรณี พักคง, M.S.)

กรรมการ

(อาจารย์เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันวิสา สูดประเสริฐ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... เดือน..... พ.ศ.....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำ

Effect of Gamma Radiation on Trypsin Inhibitor Activity of *Jatropha curcas* Seeds

โดย

นายศรายุทธ ขัดคำ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (รังสีประยุกต์และไอโซโทป)

พ.ศ. 2551

ศรายุทธ ชัดคำ 2551: ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ด
สบู่ดำ ปริณูญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (รังสีประยุกต์และไอโซโทป) สาขารังสีประยุกต์
และไอโซโทป ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป ประชานกรรมการที่ปรึกษา:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันวิสา สุกประเสริฐ, Ph.D. 96 หน้า

สบู่ดำ (*Jatropha curcas*) เป็นพืชที่ให้น้ำมันสูง ซึ่งน้ำมันจากเมล็ดสบู่ดำสามารถนำมาใช้
ผลิตเป็นไบโอดีเซล ส่วนกากเมล็ดสบู่ดำยังประกอบด้วยโปรตีนสูง เหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็น
อาหารสัตว์ แต่ต้องใช้ในปริมาณที่จำกัด เนื่องจากกากเมล็ดสบู่ดำประกอบด้วยสารพิษและสาร
ต้านโภชนาการ เช่น สารยับยั้งทริปซิน งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรม
ของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำจาก 5 แหล่งที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ตัวอย่างที่ 16, 20,
21, 62 และ 65 ซึ่งเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 แหล่งมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.70 ถึง 0.78 กรัม อัตราส่วน
ของเนื้อและเปลือกประมาณ 65:35 นำเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 แหล่ง มาฉายรังสีแกมมาจากต้นกำเนิด
รังสีโคบอลต์-60 อัตรารังสี 0.1748 กิโลเกรย์ต่อนาที ให้ได้ปริมาณรังสี 0, 10, 20, 30 และ 60 กิโล
เกรย์ ก่อนนำมาสกัดแยกน้ำมันด้วย soxhlet apparatus โดยใช้ petroleum ether เป็นสารสกัดน้ำมัน
แล้วนำกากที่ได้มาหากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินด้วยการศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น
(initial rate) โดยได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยา พบว่า pH ที่ใช้ในการสกัดสาร
ยับยั้งทริปซินออกจากตัวอย่างเท่ากับ 10.0 อัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินต่อสารยับยั้ง
ทริปซินที่สกัดได้จากตัวอย่างเท่ากับ 1 ต่อ 6 และทำปฏิกิริยาขึ้นต้นนาน 30 นาที จากการศึกษาผล
ของรังสีต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ พบว่ารังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีตั้งแต่ 10
ถึง 60 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำลงได้เฉลี่ยร้อยละ
11.30±0.81 ถึง 60.29±2.57 ตามลำดับ ในทุกตัวอย่าง โดยไม่มีผลต่อคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีใน
เมล็ดสบู่ดำ และจากการศึกษาโดยการสร้างกราฟของโลนั้เอร์-เบอร์ค พบว่าสารยับยั้งทริปซิน
ในตัวอย่างทั้ง 5 ตัวอย่างเป็นสารยับยั้งประเภทแข่งขัน ดังนั้นการฉายรังสีแกมมาอาจเป็นทางเลือก
หนึ่งที่ช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดสบู่ดำ

Sarayut Khadkum 2008: Effect of Gamma Radiation on Trypsin Inhibitor Activity of *Jatropha curcas* Seeds. Master of Science (Applied Radiation and Isotopes),
Major Field: Applied Radiation and Isotopes, Department of Applied Radiation and Isotopes. Thesis Advisor: Assistant Professor Wanwisa Sudprasert, Ph.D. 96 pages.

Jatropha curcas is non-edible oil crop predominately used to produce biodiesel. The seed cake produced after oil expulsion which is rich in protein can be used as animal feed. Nevertheless, using *Jatropha curcas* seed in animal feeding has a limitation due to its toxic and antinutritional factor such as trypsin inhibitor. The effect of gamma radiation on trypsin inhibitor activity of five accession number (16, 20, 21, 62 and 65) of *Jatropha curcas* seeds from different regions of Thailand was studied. The average seed weight was from 0.70 to 0.78 g. The kernel to shell ratio in seeds was 65:35. The seeds were subjected to gamma irradiation at 0, 10, 20, 30 and 60 kGy, respectively using cobolt-60 gamma radiation with a dose rate of 0.1748 kGy/min. All treated seeds were defatted by using the soxhlet apparatus containing petroleum ether as a solvent. Trypsin inhibitor activity was assayed by measuring the initial rate under the suitable condition. i.e., pH 10.0, the proportion of 1:6 trypsin solution:trypsin inhibitor and 30 min incubation. The study found that gamma radiation at doses of 10 to 60 kGy decreased the trypsin inhibitor activity by 11.30 ± 0.81 to 60.29 ± 2.57 %, respectively. Moreover, gamma radiation did not affect the chemical composition of the sample. Lineweaver-Burk plot indicated that trypsin inhibitor in sample functioned as a competitive inhibition. Gamma irradiation may be chosen as a simple method to improve the quality of *Jatropha curcas* from the nutrition point of view.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วันวิสา สุกประเสริฐ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ และกรุณาตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รศ.พรณี พักคง กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ดร.เกียรติทิพย์ วงศ์โกมล กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และ ดร.จิตุพร กุลอึ้ง ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนสำเร็จการศึกษา และรวมทั้งเจ้าของผลงานวิจัยที่ข้าพเจ้านำมาใช้อ้างอิงประกอบการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ รุ่นพี่และรุ่นน้องนิสิตภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทปทุกท่าน ที่คอยให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวที่ให้การสนับสนุน ให้ความรัก และเป็นกำลังใจตลอดมา

ศรายุทธ ขัดคำ

มีนาคม 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ	(9)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	18
ผลการทดลอง	25
วิจารณ์ผลการทดลอง	43
สรุปผลการทดลอง	47
ข้อเสนอแนะ	48
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	49
ภาคผนวก	54

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างต่าง ๆ	7
2	อัตราส่วนการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นระหว่างสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากเมล็ดสบู่ดำ	22
3	คุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่าง	26
4	ผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น	27
5	ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้น	29
6	ผลของอัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินและสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากตัวอย่างต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้น โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ 0 และ 60 กิโลเกรย์	30
7	ค่า V_{max} ของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ	34
8	K_m ของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ	35
9	ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา	36
10	คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่าง	40
11	คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 16 หลังฉายรังสี	41
ตารางผนวกที่		
1	ความกว้างของเมล็ดสบู่ดำก่อนกระเทาะเปลือก	55
2	ความยาวของเมล็ดสบู่ดำก่อนกระเทาะเปลือก	56
3	ความกว้างของเมล็ดสบู่ดำหลังกระเทาะเปลือก	57
4	ความยาวของเมล็ดสบู่ดำหลังกระเทาะเปลือก	58
5	ผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น	59

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
6 ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นของสาร ยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนูปดำ	60
7 ผลของอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินใน เมล็ดสนูปดำต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มในเมล็ดสนูปดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ ปริมาณรังสี 0 กิโลเกรย์	61
8 ผลของอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินใน เมล็ดสนูปดำต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มในเมล็ดสนูปดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ ปริมาณรังสี 60 กิโลเกรย์	62
9 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความ เข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 1	63
10 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความ เข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 2	64
11 ค่าอัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 3	65
12 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความ เข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 1	66
13 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความ เข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 2	67
14 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความ เข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 3	68
15 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความ เข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 1	69

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
16	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 2	70
17	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 3	71
18	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 1	72
19	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 2	73
20	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 3	74
21	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 1	75
22	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 2	76
23	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 3	77
24	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 1	78
25	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 2	79
26	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 3	80
27	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 1	81
28	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 2	82
29	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 3	83
30	ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 1	84

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
31 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 2	85
32 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 3	86
33 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 1	87
34 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 2	88
35 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 3	89
36 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 1	90
37 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 2	91
38 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 3	92
39 ค่า V_{max} ของกลุ่มควบคุมและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนูปดำที่ผ่านการ ฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ	93
40 ค่า K_m ของกลุ่มควบคุมและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนูปดำที่ผ่านการฉาย รังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ	94
41 ค่าร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างเมล็ดสนูปดำทั้ง 5 ตัวอย่าง ที่ได้จากการการสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ก โดยเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม	95
42 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนูปดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการ ฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ	96

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ต้นสบู่ดำและช่อดอกของเมล็ดสบู่ดำ	5
2	ผลของสบู่ดำมีลักษณะเป็นทรงกลม 1 ผล มี 3 เมล็ด และเมล็ดสบู่ดำกระเพาะเปลือก เนื้อภายในเมล็ดมีสีขาว	5
3	โครงสร้างเรโซแนนซ์ที่เกิดจากการฉายรังสีในกรดกรดไลโนเลอิก	10
4	O_2 ที่มีอยู่ในตัวกลางเข้าทำปฏิกิริยากับ $R^\cdot$ ได้เป็น peroxide radical ($ROO^\cdot$)	10
5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของผลผลิต [P] กับเวลาของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง	12
6	รูปแบบของการยับยั้งแบบแข่งขัน	14
7	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค ที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive) ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่	14
8	รูปแบบการยับยั้งไม่แข่งขันแบบ noncompetitive	15
9	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค ที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (noncompetitive) ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่	15
10	รูปแบบการยับยั้งไม่แข่งขันแบบ uncompetitive	16
11	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค ที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (uncompetitive) ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่	17
12	ปฏิกิริยาของสารละลายทริปซินกับ BAPNA ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นสังเคราะห์	21
13	อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นของสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากเมล็ดสบู่ดำที่ pH ต่าง ๆ	28
14	ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น	29

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	ผลของอัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ด สบู่ดำต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น	31
16	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 16 ที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีต่าง ๆ	32
17	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 20 ที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีต่าง ๆ	32
18	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 21 ที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีต่าง ๆ	33
19	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 62 ที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีต่าง ๆ	33
20	กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 65 ที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีต่าง ๆ	34
21	ร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ด สบู่ดำตัวอย่างที่ 16	36
22	ร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ด สบู่ดำตัวอย่างที่ 20	37
23	ร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ด สบู่ดำตัวอย่างที่ 21	37
24	ร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ด สบู่ดำตัวอย่างที่ 62	38
25	ร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ด สบู่ดำตัวอย่างที่ 65	38
26	ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีทั้ง 5 ตัวอย่าง	39
27	คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่าง	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของตัวอย่างที่ 16 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 10-60 กิโลเกรย์ เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสี	42
29	กราฟแสดงผลของการยับยั้งแบบแข่งขันเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีตัวยับยั้ง	46

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อที่ใช้ในการศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยา

K_m	=	Michalis constant ค่าคงที่มิเคลิส
V	=	Initial velocity อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้น
V_{max}	=	Maximum velocity อัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด
$[S]$	=	ความเข้มข้นสารตั้งต้น

คำอธิบายอักษรย่อสารเคมี

BAPNA=	benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride
DMSO =	dimethylsulfoxide
HCl =	Hydrochloric acid
NaOH =	Sodiumhydroxide

คำอธิบายอักษรย่อหน่วย

kGy	=	Kilogray (กิโลเกรย์)
M	=	Molar (โมลาร์)
mM	=	millimolar (มิลลิโมลาร์)
s	=	second (วินาที)

ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ

Effect of Gamma Radiation on Trypsin Inhibitor Activity of *Jatropha curcas* Seeds

คำนำ

ปัจจุบันประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยล้วนประสบปัญหาการขาดน้ำมันเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อเศรษฐกิจของทุกประเทศ เนื่องจากแนวโน้มของน้ำมันที่ไม่เพียงพอที่จะใช้เป็นเชื้อเพลิงให้คนทั้งโลกในอนาคต จึงเป็นความจำเป็นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะต้องหาแหล่งพลังงานมาทดแทนน้ำมันซึ่งเป็นพลังงานหลักของโลก (รติกร, 2549) เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ (solar energy) พลังงานลม (wind energy) พลังงานชีวมวล (biomass) ก๊าซชีวภาพ (biogas) และที่ได้รับการกล่าวถึงมากที่สุดในปัจจุบันคือ ไบโอดีเซล (biodiesel) (กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร, 2547)

ไบโอดีเซล คือ เชื้อเพลิงที่ได้จากน้ำมันพืชหรือสัตว์ โดยผ่านปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) เกิดเป็น เมทิลเอสเทอร์ หรือเอทิลเอสเทอร์ ซึ่งมีสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล (รติกร, 2549) จึงเป็นเชื้อเพลิงทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมสำหรับประเทศไทย เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม หากนำผลผลิตทางการเกษตร เหล่านี้แปรรูปเป็นน้ำมันไบโอดีเซล เพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน ก็เป็นการลดค่าใช้จ่ายของภาครัฐ ในด้านการนำเข้าเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ วัตถุดิบที่ใช้ในการทำไบโอดีเซล ได้แก่ มะพร้าว ปาล์ม เมล็ดทานตะวัน และสบู่ดำ ซึ่งจัดเป็นพืชที่อยู่ในกระแสมากที่สุด และมีเกษตรกรทั่วประเทศสนใจทำการปลูก ตลอดจนเข้าสู่การผลิต เพื่อนำไปทำน้ำมันไบโอดีเซล สำหรับใช้ในชุมชน (กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร, 2547)

สบู่ดำ (*Jatropha curcas*) เป็นพืชที่สามารถปรับตัวได้ดีในเกือบทุกสภาวะแวดล้อม และให้น้ำมันสูง น้ำมันที่ได้มีคุณสมบัติทางเชื้อเพลิงใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลหลายประการ โดยในประเทศไทยได้มีการทดลองใช้น้ำมันสบู่ดำกับเครื่องยนต์ดีเซลตั้งแต่พุทธศักราช 2523 และพบว่าสามารถใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งยังมีการนำเมล็ดสบู่ดำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอื่น ๆ เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงให้แสงสว่างในครัวเรือน ผลิตสบู่ สารกำจัดแมลง ยาพื้นบ้าน

สำหรับมนุษย์และสัตว์ และใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดสบู่ดำประกอบด้วยโปรตีน และกรดอะมิโนจำเป็น (ยกเว้น lysine) ปริมาณสูง ซึ่งเหมาะสมกับการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น เป็ด ไก่ หมู วัว ควาย และ ปลา แต่ต้องใช้ในปริมาณที่จำกัด เนื่องจากปัญหาที่เกิดจากสารต้านโภชนาการ (antinutrient) ในเมล็ด เช่น สารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor) ซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน ทำให้สัตว์ไม่สามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้อย่างเต็มที่ นอกจากนี้เมล็ดสบู่ดำยังประกอบด้วยสารต้านโภชนาการอื่น ๆ ได้แก่ เลคติน (lectin) ซาโปนิน (saponin) และไฟเตท (phytate) รวมทั้งสารพิษในกลุ่ม phorbol esters อีกด้วย (ระวี, 2548; Aderibrigde, 1997; Makkar, 1998; Wiesenhütter, 2003; Chivandi, 2004) ดังนั้นการลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำจึงเป็นสิ่งสำคัญยิ่ง เพื่อให้สามารถนำเมล็ดสบู่ดำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ โดยทั่วไปสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อน โดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Aderibrigde *et al.*, 1997; Martinaz-Herrera *et al.*, 2006) การคั่วในกะทะ (Makkar *et al.*, 1998) และ การใช้ความร้อนร่วมกับสารเคมี (Chivandi *et al.*, 2004) เป็นต้น นอกจากนี้การฉายรังสีก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง โดยรังสีจะทำให้พันธะของโมเลกุลของสารแตกเป็นโมเลกุลเล็ก มีการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของโมเลกุล (Carsarett, 1968) และมีผลต่อคุณสมบัติของโมเลกุล (Boni-Mitake *et al.*, 2001) ซึ่งการฉายรังสีทำได้ง่าย ใช้เวลาสั้น และรักษาคุณภาพทางโภชนาการไว้ได้ดี โดยมีรายงานพบว่าการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีสูงถึง 150 กิโลเกรย์ในธัญพืชที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ ไม่มีผลต่อโปรตีนรวมและสารที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ แต่สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินบางส่วนหรือทั้งหมดในอาหารได้ (Marcotte and Tibelius, n.d.) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาวิธีการลดความเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากสารต้านโภชนาการในเมล็ดสบู่ดำโดยใช้รังสีแกมมา ซึ่งเน้นการศึกษาผลของรังสีที่มีต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำจากแหล่งที่นิยมปลูกในประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อให้ทราบถึงปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้อาจใช้เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดความเป็นพิษของเมล็ดสบู่ดำ และช่วยให้การใช้ประโยชน์จากเมล็ดสบู่ดำเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำจากแหล่งที่มีการปลูกในประเทศไทย
2. ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสนุ่นดำ
3. ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำ

การตรวจเอกสาร

สบู่ดำเป็นพืชในวงศ์ Euphobiaceae ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับมันสำปะหลัง และยางพารา สบู่ดำมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jatropha curcas* L. ชื่อสามัญคือ physic nut ทั้งนี้คำว่า *Jatropha* มีรากศัพท์มาจากทางการแพทย์ของภาษากรีก 2 คำ คือ *iatrōs* แปลว่า หมอ และ *trophé* แปลว่า อาหาร ส่วนคำว่า *curcas* เป็นชื่อเรียกสบู่ดำบริเวณเมือง Malabar ในประเทศอินเดีย นอกจากนี้สบู่ดำยังมีชื่อเรียกแตกต่างกันมากกว่า 200 ชื่อ เช่น purging nut (อังกฤษ) pourghère, pignon d'Inde (ฝรั่งเศส) purgeernoot (เนเธอร์แลนด์) Purgiernuß, Brechnuß (เยอรมัน) purgueira (โปรตุเกส) fagiola d'India (อิตาลี) yu-lu-tzu (จีน) เป็นต้น สบู่ดำเป็นพืชพื้นเมืองในประเทศเม็กซิโก และประเทศแถบอเมริกากลาง ต่อมามีการเพาะปลูกกันแพร่หลายมากขึ้นในแถบทวีปลาตินอเมริกา ทวีปเอเชียและทวีปแอฟริกา (Heller, 1996) สำหรับในประเทศไทย คาดว่าสบู่ดำถูกนำเข้ามาในช่วงคริสต์ศตวรรษที่ 18 หรือช่วงปลายสมัยกรุงศรีอยุธยา โดยพ่อค้าชาวโปรตุเกสรับซื้อเมล็ดไปคั้นน้ำมันสำหรับทำสบู่ หลังจากนั้นมีการนำไปปลูกแพร่หลายในทุกภาคของประเทศไทย และมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไป (ระวี, 2548) โดยภาคกลางเรียกว่า ต้นสบู่ดำ หรือต้นสบู่ เพราะมีน้ำยางสีขาวคล้ายสบู่ บริเวณลำต้นและกิ่ง ทางภาคเหนือเรียกว่า มะหุ้งฮั่ว ไข่-ฮู่ หรือเกงยู ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า มะเข่า มักเข้า หรือสีหลอด ส่วนภาคใต้เรียกว่า หงส์เทศ และภาษายาวี เรียกว่า ยาเฆาะ เป็นต้น (กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร, 2548)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้นสบู่ดำเป็นพืชที่มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (diploid, $2n = 22$) เป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลาง อาจมีความสูงกว่า 5 เมตร ใบเป็นแบบใบเดี่ยว มีรอยหยักตื้น ๆ ตั้งแต่ 5-7 หยัก กว้างและยาวประมาณ 6-15 เซนติเมตร (ขึ้นกับพันธุ์และความสมบูรณ์ของต้น) กิ่งมีน้ำยาง มีระบบรากแบบรากแก้ว ดอกออกเป็นช่อ บริเวณซอกใบที่ปลายยอด (ภาพที่ 1) โดยมีลักษณะเป็นทรงระฆังคว่ำ จำนวนกลีบดอก 5 กลีบ ขนาดเล็ก สีเขียวแกมเหลือง ดอกสมบูรณ์เพศ หรือดอกกะเทยที่สามารถผสมตัวเองได้ พบในปริมาณน้อย โดยส่วนใหญ่ดอกตัวผู้จะบานหลังจากการบานของดอกตัวเมีย ซึ่งเป็นดอกไม้ไม่สมบูรณ์เพศ จึงต้องมีแมลงช่วยในการผสมพันธุ์ โดยดอกตัวผู้และตัวเมียจะมีความพร้อมสำหรับการผสมพันธุ์ในช่วงกลางคืน ซึ่งเป็นช่วงที่มีความหวานและกลิ่นหอม (Heller, 1996) โดยระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกถึงผลแก่ประมาณ 60 วัน (ผลแก่

ไม่พร้อมกัน) ผลมีลักษณะเป็นทรงกลม เปลือกหนา เมื่อผลแก่จะมีสีเหลือง เมล็ดมีสีดำ ปลาย
เมล็ดมีจุดสีขาว และเนื้อภายในเมล็ดมีสีขาว (ภาพที่ 2) (กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร, 2548)



ก.



ข.

ภาพที่ 1 ก. ต้นสบู่ดำ ข. ช่อดอกของเมล็ดสบู่ดำ

ที่มา: กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร (2548)



ก.



ข.

ภาพที่ 2 ก. ผลของสบู่ดำมีลักษณะเป็นทรงกลม
ข. เมล็ดสบู่ดำกระเทาะเปลือก เนื้อภายในเมล็ดมีสีขาว

ที่มา: กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร (2548)

เนื้อเมล็ด (kernel) ประกอบด้วยน้ำมันถึงร้อยละ 50-60 โดยน้ำมันมีส่วนประกอบของกลุ่มสารเคมีหลายชนิด เช่น palmitic acid, linoleic acids, ricinoleic acids, oleic acid, stearic acid และ crotonoleic acids (ระวี, 2548) และยังประกอบด้วยสารในกลุ่ม campesterol, stigmasterol, β -sitosterol, Δ^5 -avenasterol และ Δ^7 -stigmasterol ซึ่งเป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืชไขมัน (Akintayo, 2004) นอกจากนี้เนื้อในของเมล็ดสบู่ดำที่สกัดน้ำมันออกแล้วยังมีปริมาณของเส้นใยธรรมชาติร้อยละ 3.5-6.1 (Makkar *et al.*, 1997) และกรดอะมิโนจำเป็น (ยกเว้น lysine) ประมาณร้อยละ 50-62 (Martinez-Herrera *et al.*, 2006)

การใช้ประโยชน์เมล็ดสบู่ดำ

เนื่องจากสบู่ดำเป็นพืชที่มีคุณสมบัติให้น้ำมันและโปรตีนสูง (Makkar *et al.*, 1998) จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมากมาย โดยน้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดสบู่ดำมีคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น ช่วยหล่อลื่นเครื่องยนต์ดีเซลและสามารถนำมาใช้ทดแทนน้ำมันดีเซลได้ นอกจากนี้ยังใช้เป็นเชื้อเพลิงภายในบ้านสำหรับให้แสงสว่าง เพราะมีคุณสมบัติคล้ายน้ำมันก๊าด แต่คุณสมบัติการเผาไหม้ไม่ดีเมื่อเทียบกับน้ำมันก๊าด และน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดสบู่ดำมีค่า saponification value สูงซึ่งเหมาะสมกับการใช้ผลิตสบู่ จึงมีการนำมาผลิตสบู่กันอย่างกว้างขวางในประเทศอินเดียและประเทศต่าง ๆ นอกจากนี้น้ำมันที่ได้จากเมล็ดสบู่ดำยังมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อและรักษาการอักเสบของผิวหนัง รักษาโรคปวดข้อ บำรุงรากผมให้แข็งแรงและใช้เป็นยาแก้ท้องผูกและยาถ่ายพยาธิในสัตว์ โดยมี การผสมเมล็ดสบู่ดำกับอาหารในปริมาณ 0.0025 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหารเพื่อใช้เป็นยาถ่ายท้องในแพะ ในปัจจุบันยังมีการนำเมล็ดสบู่ดำมาผลิตเป็นยาใช้ภายนอก เพื่อรักษาโรคผิวหนัง รักษาโรคปวดข้อและใช้เป็นยาทาแผลสัตว์เลี้ยงอีกด้วย (Abdel Gadir *et al.*, 2003; Wiesenhütter, 2003)

นอกจากนี้สารบางชนิดที่สกัดได้จากเมล็ดสบู่ดำยังสามารถใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ เช่น ใช้ลดการเข้าทำลายของหนอนเจาะต้นข้าว ควบคุมแมลงในฝ้าย มันฝรั่ง ข้าวโพด (Heller, 1996) ส่วนเนื้อเมล็ดที่เหลือจากการสกัดน้ำมันมีปริมาณโปรตีนสูง จึงเหมาะสำหรับการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น เป็ด ไก่ หมู วัว ควาย และ ปลา แต่ต้องใช้ในปริมาณที่จำกัด เนื่องจากปัญหาความเป็นพิษและสารต้านโภชนาการ (Aderibrigde *et al.*, 1997)

สารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor)

แม้ว่าเมล็ดสับดูดำจะให้คุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยโปรตีน แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส (Chivandi *et al.*, 2004) แต่เนื่องจากเมล็ดสับดูดำประกอบด้วยสารต้านโภชนาการ ประเภทสารยับยั้งทริปซิน ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม proteinase inhibitor (Siddhuraju *et al.*, 2002a) สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการย่อยโปรตีน (proteolytic) ที่มีเอนไซม์ทริปซินเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เอนไซม์ทริปซินเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อการย่อยโปรตีนในสัตว์หลาย ชนิด รวมถึงมนุษย์ (Clarke and Wiseman, 2005) จัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม proteinase หรือ proteolytic enzyme ที่มีคุณสมบัติในการสลายพันธะเปปไทด์ (-CO-NH-) ด้วยน้ำ (ปราณี, 2547) ดังนั้นสารยับยั้งทริปซินจึงมีผลทำให้สัตว์ที่บริโภคไม่สามารถย่อยหรือใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้อย่างเต็มที่ ในขณะที่เดียวกันยังเป็นเหตุให้ตับอ่อนหลังเอนไซม์ทริปซินมากกว่าปกติ ทำให้ร่างกายต้องการกรดอะมิโนมากขึ้น มีผลทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์ลดลง (Siddhuraju *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังพบสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิมา (lima beans) รวมไปถึงโอวอมิวคอยด์ (ovomucoid) ในไข่ขาว และตับอ่อนของวัว (bovine pancreas) ซึ่งมีคุณสมบัติแตกต่างกันดังตารางที่ 1 ดังนั้นการนำเมล็ดสับดูดำมาใช้เป็นอาหารสัตว์จึงจำเป็นต้องลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินให้เหลือน้อยที่สุด

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างต่าง ๆ

ตัวอย่าง	น้ำหนักโมเลกุล	ความสามารถในการยับยั้ง
ถั่วลิมา (lima beans)	8-10 kDa	2.2 เท่าโดยน้ำหนัก
ถั่วเหลือง (soybeans)	20.7-22.3 kDa	1.2 เท่าโดยน้ำหนัก
ตับอ่อนของวัว (bovine pancreas)	6.5 kDa	2.5 เท่าโดยน้ำหนัก
โอวอมิวคอยด์ (ovomucoid) ในไข่ขาว	8-10 kDa	1.2 เท่าโดยน้ำหนัก

ที่มา: Frattali and Steiner (2008)

การลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูดำ

การลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูดำสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อน โดยการนึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (ความชื้นร้อยละ 67) นาน 30 นาที อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส (ความชื้นร้อยละ 80) นาน 30 นาที และที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที ทำให้ปริมาณสารยับยั้งทริปซินจากเดิมที่มีอยู่ในเมล็ดประมาณ 19-21 มิลลิกรัมต่อกรัมของเมล็ด ลดลงเหลือประมาณ 5-4 มิลลิกรัมต่อกรัมของเมล็ด (Aderibigbe *et al.*, 1997) หรือการนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที (Martinez - Herrera *et al.*, 2006) และการคั่วในกระทะนาน 15 นาที สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินได้ทั้งหมด (Makkar *et al.*, 1998) นอกจากนี้การลดกิจกรรมสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูดำยังสามารถทำได้โดยการใช้ความร้อนร่วมกับสารเคมี ด้วยวิธีการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทานอล จากนั้นนึ่งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 2 บรรยากาศ นาน 10 นาที (Chivandi *et al.*, 2004) นอกจากการใช้ความร้อนหรือการใช้ความร้อนร่วมกับสารเคมีแล้ว การฉายรังสีก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูดำ

ผลของรังสีต่อสารชีวโมเลกุล

รังสี (radiation) เป็นพลังงานรูปหนึ่งที่ปล่อยออกมาจากแหล่งกำเนิด แล้วเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง ซึ่งพลังงานที่ปลดปล่อยออกไปอาจอยู่ในรูปของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) หรือลำของอนุภาค (particle หรือ corpuscular radiation) ขึ้นกับคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของรังสี โดยรังสีอาจถ่ายเทพลังงานโดยตรงให้กับสารชีวโมเลกุล แล้วก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโมเลกุล เรียกว่า การกระทำโดยตรง (direct action) หรือ รังสีอาจถ่ายเทพลังงานให้กับโมเลกุล ทำให้อิเล็กตรอนของอะตอมหลุดออก เกิดเป็นโมเลกุลที่มีประจุไฟฟ้า เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งมีความไวในการทำปฏิกิริยาทางเคมี ไปทำปฏิกิริยากับสารชีวเคมี ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุล เรียกว่า การกระทำโดยอ้อม (indirect action) รังสีอาจทำให้เกิดความเสียหายในสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เป็นต้น (Casarett, 1968; Hall *et al.*, 1994; Siddhuraja *et al.*, 2002a)

ผลของรังสีต่อโปรตีน

โปรตีนเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญมากของร่างกาย โดยมีโปรตีนหลายชนิดหน้าที่เป็นโครงสร้างของเซลล์ เป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมี เป็นฮอร์โมนบางชนิด เพื่อควบคุมการทำงานของระบบอวัยวะต่าง ๆ เป็นสารที่ใช้ในการเคลื่อนย้ายสารต่าง เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยสายของกรดอะมิโน อาจอยู่ในรูปร่างที่เป็นเส้นหรือเป็นก้อนกลม เมื่อโปรตีนได้รับรังสีจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น การเกิด polymerization การเกิด cross-linking ของโมเลกุลโปรตีน การขาดของสายโพลีเปปไทด์ การหลุดออกของหมู่ฟังก์ชันจากของกรดอะมิโน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจทำให้ความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุล ความสามารถในการละลายน้ำ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และ/หรือหน้าที่ของโปรตีน (Casarett, 1968; Mathon *et al.*, 1993)

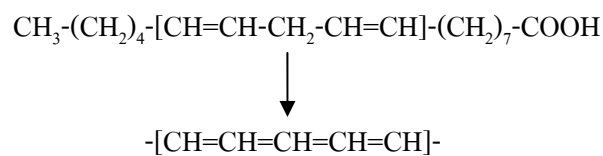
ผลของรังสีต่อคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตหรือแซคคาไรด์ (saccharides) คือ สารประกอบที่ประกอบด้วย แอลดีไฮด์ (aldehyde) หรือ คีโตน (ketone) ที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) คาร์โบไฮเดรตมีทั้งชนิดที่ประกอบด้วยคาร์บอน 5 ตัว หรือ 6 ตัว เรียกว่า โมโนแซคคาไรด์ เช่น กลูโคสและฟรุกโทส หรือโมโนแซคคาไรด์ 2 โมเลกุลเชื่อมต่อกัน เรียกว่า ไดแซคคาไรด์ หรือหลาย ๆ โมเลกุลมาต่อเชื่อมกันเป็นโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีหน้าที่มีต่าง ๆ เช่น ไกลโคเจน และแป้งเป็นตัวสะสมอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างเซลล์ (เซลล์โลสในเซลล์พืช และไคติน ในเซลล์สัตว์) (Mathon *et al.*, 1993) ซึ่งผลของรังสีต่อโพลีแซคคาไรด์อาจทำให้เกิด degradation, chain breaking หรือ polymerization (Casarett, 1968)

ผลของรังสีต่อไขมัน

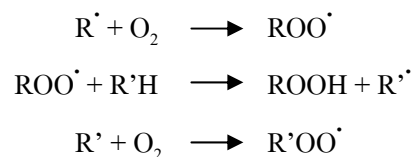
ไขมันประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โมเลกุลของไขมัน ประกอบด้วย กรีเซอริน 1 โมเลกุล และกรดไขมัน 3 โมเลกุล ซึ่งอาจเป็นกรดไขมันชนิดเดียวกันหรือต่างกันได้ ไขมันมีหลายชนิด แต่ว่าชนิดของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบ ไขมันมีหน้าที่สำคัญคือ ให้ความอบอุ่นแก่ร่างกาย และเป็นองค์ประกอบของเยื่อชีวภาพต่าง ๆ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้ม mitochondria, endoplasmic reticulum และ lysosomes ทั้งนี้รังสีจะมีผลต่อไขมันโดยเฉพาะอย่างยิ่ง

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) เช่น กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) โดยรังสีจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ($\text{HO}^\cdot$, $\text{H}^\cdot$, $\text{HO}_2^\cdot$) แล้วอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ดึงเอา H ที่อยู่ระหว่างพันธะคู่ออก เกิดเป็นโครงสร้างเรโซแนนท์ (resonant structure) (ภาพที่ 3) ได้เป็น organic free radical ($\text{R}^\cdot$) ซึ่งอาจทำให้เกิดกระบวนการ lipid peroxidation คือกระบวนการที่ $\text{R}^\cdot$ ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับ O_2 ที่มีอยู่ในตัวกลางได้เป็น peroxide radical ($\text{ROO}^\cdot$) จากนั้นจะไปทำปฏิกิริยากับ RH อื่น ๆ ได้เป็น hydroperoxide radicals (ROOH) ซึ่งไม่เสถียรและแตกตัวให้สารต่าง ๆ รวมทั้งเกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นและทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (ภาพที่ 4) (Casarett, 1968; Mathon *et al.*, 1993)



ภาพที่ 3 โครงสร้างเรโซแนนท์ที่เกิดจากการฉายรังสีในกรดกรดไลโนเลอิก

ที่มา: Casarett (1968)



ภาพที่ 4 O_2 ที่มีอยู่ในตัวกลางเข้าทำปฏิกิริยากับ organic free radical ($\text{R}^\cdot$) ได้เป็น peroxide radical ($\text{ROO}^\cdot$) และเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

ที่มา: Casarett (1968)

ผลของรังสีต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน

มีข้อสันนิษฐานว่ารังสีและ/หรืออนุมูลอิสระจะไปทำลายพันธะไดซัลไฟด์ (-S-S-) ของสารยับยั้งทริปซิน ซึ่งเป็นพันธะที่ไวต่อรังสี ทำให้กิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินลดลง (Lee, 1962; El-Shibawi, 1984; Siddhuraja *et al.*, 2002a) โดยมีรายงานพบว่าการฉายรังสีสามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินได้ เช่น การฉายรังสีในเมล็ดถั่วปากอ้าปริมาณ 2.5, 5, 7.5 และ 10 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินลงได้ร้อยละ 4.5, 6.7, 8.5 และ 9.2 ตามลำดับ (Al-Kaisey *et al.*, 2003) การฉายรังสีเมล็ดถั่วเหลืองปริมาณ 5, 10, 15, 30 และ 60 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมยับยั้งทริปซินลงได้ร้อยละ 41.8, 54.5, 56.3, 62.7 และ 72.5 ตามลำดับ (Frag, 1998) และการฉายรังสีดอกคำฝอยปริมาณน้อยกว่า 1 กิโลเกรย์ สามารถลดปริมาณสารยับยั้งทริปซินได้เช่นกัน (Marcotte and Tibelius, n.d.) สำหรับในเมล็ดสบู่ดำก็มีรายงานการศึกษาผลของรังสีแกมมาเช่นกัน โดยทำการศึกษาในเมล็ดสบู่ดำจากประเทศเม็กซิโก พบว่าการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 10 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินได้เพียงเล็กน้อย ประมาณร้อยละ 10 ในตัวอย่างเมล็ดสบู่ดำจาก Pueblillo ในขณะที่ปริมาณรังสีดังกล่าวไม่มีผลต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำจาก Castillo de Teayo, Coatzacoalcos และ Yauatepec (Martinez-Herrera *et al.*, 2006)

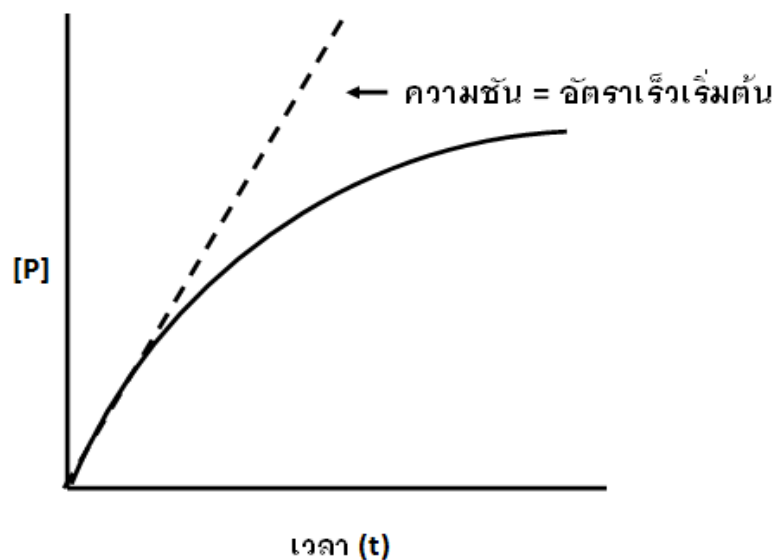
ข้อดีของการฉายรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น

การลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำโดยวิธีการฉายรังสีมีข้อดีกว่าวิธีอื่นหลายประการ เช่น การฉายรังสีทำได้ง่าย ใช้เวลาน้อย และรักษาค่าทางโภชนาการไว้ได้ดี โดยมี การทดสอบคุณค่าทางโภชนาการและความเป็นพิษในอาหารสัตว์ที่ผ่านการฉายรังสี เช่น ข้าวสาลีที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณ 0.2-2 กิโลเกรย์ พบว่าไม่เป็นอันตรายต่อหนูและไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตหรือการสืบพันธุ์ในหนู (Hickman *et al.*, 1964; Fifield *et al.*, 1967) นอกจากนี้ยังพบว่าการฉายรังสีข้าวสาลีที่ปริมาณ 5-50 กิโลเกรย์ มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีน และฟอสฟอรัสที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยไก่ที่ได้รับอาหารฉายรังสีเป็นเวลา 1 สัปดาห์ มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น และคุณค่าทางโภชนาการในเนื้อไก่เพิ่มมากขึ้น (Moran *et al.*, 1968) ขณะที่การลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินด้วยความร้อนมีผลต่อปริมาณของกรดอะมิโนและคุณภาพของสารอาหาร โดยมีรายงานว่าหนูที่บริโภคธัญพืชที่ผ่านการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง (Hayakawa *et al.*, 1985) และการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ

ที่อุณหภูมิ 102 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที มีผลต่อโครงสร้างของโปรตีนในอาหาร (Provansal *et al.*, 1975) นอกจากนี้การใช้สารเคมีที่เป็นตัวทำลายที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น กรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ยังมีผลต่อสารโภชนาการในอาหาร (Siddhuraju *et al.*, 2002a)

การศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินด้วยวิธีวัดอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

อัตราปฏิกิริยาเริ่มต้น (initial velocity (V)) คือ อัตราเร็วของปฏิกิริยาเมื่อเวลา $t=0$ ซึ่งวัดค่าได้จากความชันของเส้นโค้งที่ได้จากการเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ต่อเวลา ดังภาพที่ 5 โดยเมื่อเริ่มเกิดปฏิกิริยาขึ้นใหม่ ๆ (ที่ $t=0$) อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะมีค่าคงที่ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ซึ่งเป็นอัตราเร็วเริ่มต้น เมื่อปล่อยเวลาให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะลดลง อันเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (substrate) ลดลง หรือมีผลิตภัณฑ์เกิดมากขึ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาแบบผันกลับ ดังนั้นค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นจะเป็นค่าอัตราเร็วที่เกิดภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นและเอนไซม์ที่ทราบค่าได้แน่นอน และมีค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์เท่ากับศูนย์ (พัชรา, 2543)



ภาพที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ [P] กับเวลาของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง (เส้นทึบ) ค่าความชันของเส้นตรงที่ลากสัมผัสเส้นโค้งที่เวลา $t = 0$ (เส้นประ) เป็นอัตราปฏิกิริยาเริ่มต้น (V)

ที่มา: พัชรา (2543)

ซึ่งจากหลักการดังกล่าวจึงมีการนำไปประยุกต์ใช้ในการหากิจกรรมของตัวยับยั้งเอนไซม์ โดยใช้เอนไซม์และสารตั้งต้นที่ทราบค่า ทำปฏิกิริยากับตัวยับยั้ง จากนั้นวัดอัตราเริ่มต้นของปฏิกิริยา เช่น

Djeridane *et al.* (2008) ศึกษาผลการยับยั้ง porcine liver carboxylesterase จาก phenolic ที่สกัดได้จากต้น *Deverra Scoporia* โดยใช้ p-nitrophenyl acetate เป็นสารตั้งต้น ที่ความเข้มข้น 0.2 0.5 และ 1 mM แล้ววัด p-nitrophenol (ผลิตภัณฑ์) ที่เกิดขึ้นทุก 15 วินาที เพื่อหาอัตราปฏิกิริยาเริ่มต้น

Zhang *et al.* (2007) ศึกษาผลของ phenol ต่อเอนไซม์ β -N-acytl-D-glucosaminides ในสัตว์ทะเลซึ่งมีผลต่อการย่อย โดยใช้ p-nitrophenyl-N-acetyl- β -d-glucosaminidase เป็นสารตั้งต้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.25, 0.33, 0.40, 0.45 และ 0.50 mM)

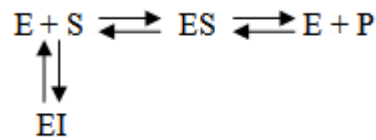
Gao *et al.* (2008) ศึกษาการยับยั้งของสาร methanolic ที่สกัดได้จากใบของต้นเสนียด (*Adhatoda Vasica*) ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ sucrase โดยใช้ sucrose เป็นสารตั้งต้น

Han *et al.* (2008) ศึกษาผลของการยับยั้งของ 4-chlorosalicylic acid ต่อ tyrosinase ในเห็ด โดยใช้ tyrosine เป็นสารตั้งต้น

ทั้งนี้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นที่วัดได้สามารถนำไปวิเคราะห์ข้อมูลเชิงทางจลนพลศาสตร์ ด้วยการสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค (Lineweaver-Burk Plot) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $1/V$ และ $1/[S]$ โดยเป็นกราฟที่นิยมใช้ในการวิจัย เนื่องจากแยกตัวแปรต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน (พัชรา, 2543) นอกจากนี้ยังสามารถแยกประเภทของตัวยับยั้งได้จากรูปลักษณะของกราฟ ยกตัวอย่างเช่น

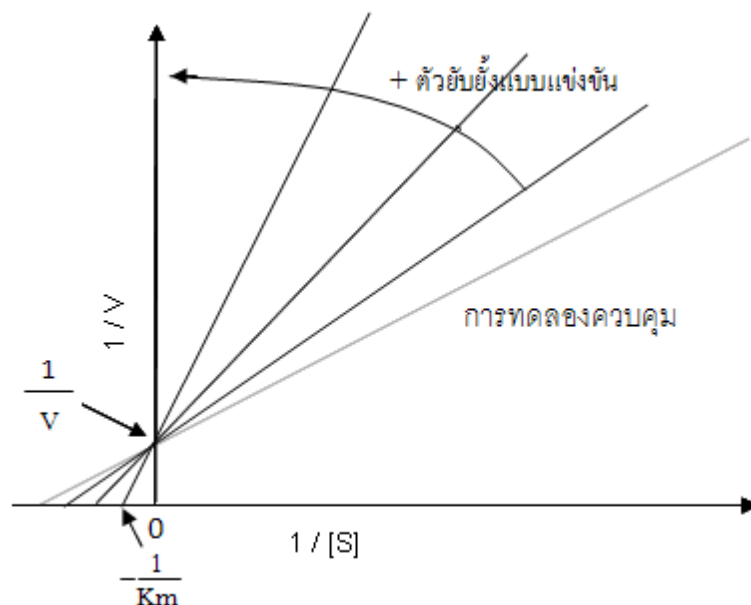
- ตัวยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive Inhibitor) แข่งขันเป็นสารที่จับกับเอนไซม์อิสระ (E) แล้วทำให้เอนไซม์ไม่สามารถจับกับสารตั้งต้นได้ หรือในทางตรงกันข้าม เอนไซม์ที่มีสารตั้งต้นจับอยู่แล้ว (ES) จะไม่สามารถจับกับสารยับยั้งได้เช่นกัน (ภาพที่ 6) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวยับยั้งจับกับเอนไซม์ที่ตำแหน่งเดียวกันกับที่สารตั้งต้นจับ หรือจับคนละตำแหน่งกับสารตั้งต้นแต่การจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์เป็นผลให้เอนไซม์ไม่สามารถจับกับสารตั้งต้นได้ ดังนั้นเมื่อเพิ่มความ

เข้มข้นของสารตั้งต้น ปริมาณการยับยั้งจะลดลง เมื่อนำมาสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กจะมีลักษณะดังภาพที่ 7 (พัชรา, 2543; Zollner, 1993; Prince and Steven, 1999)



ภาพที่ 6 รูปแบบของการยับยั้งแบบแข่งขัน

ที่มา: พัชรา (2543)

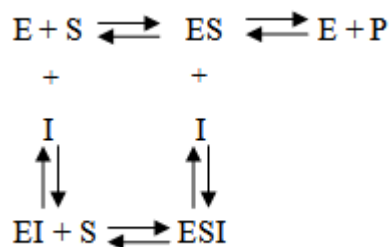


ภาพที่ 7 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ก ที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบแข่งขันที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่

ที่มา: พัชรา (2543)

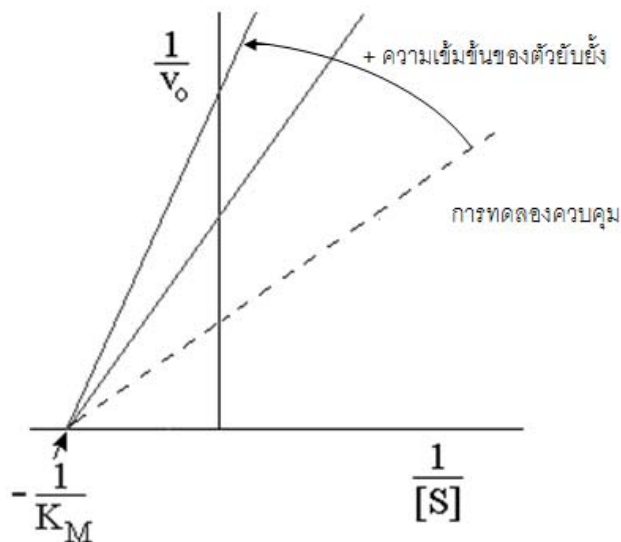
- ตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันชนิด noncompetitive (noncompetitive inhibitor) ตัวยับยั้งประเภทนี้ไม่มีอิทธิพลต่อการจับกันของสารตั้งต้นกับเอนไซม์ กล่าวคือตัวยับยั้งสามารถจับได้ทั้งเอนไซม์อิสระ (E) และสารประกอบเอนไซม์กับสารตั้งต้น (ES) และสารตั้งต้นก็สามารถจับได้ทั้งเอนไซม์อิสระ (E) และสารประกอบเอนไซม์กับตัวยับยั้งเช่นกัน (EI) แต่สารประกอบเชิงซ้อนที่

เกิดขึ้น ESI ที่เกิดขึ้น จะไม่สามารถเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้ (ภาพที่ 8) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์จะทำให้หมู่เร่ง (catalytic group) ไม่อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยา เมื่อนำมาสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์กจะมีลักษณะดังภาพที่ 9 (พัชรา, 2543; Zollner, 1993; Prince and Steven, 1999)



ภาพที่ 8 รูปแบบการยับยั้งแบบไม่แข่งขันชนิด noncompetitive

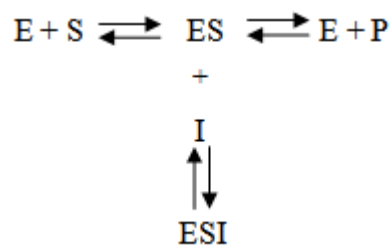
ที่มา: พัชรา (2543)



ภาพที่ 9 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ก ที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันชนิด noncompetitive ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่

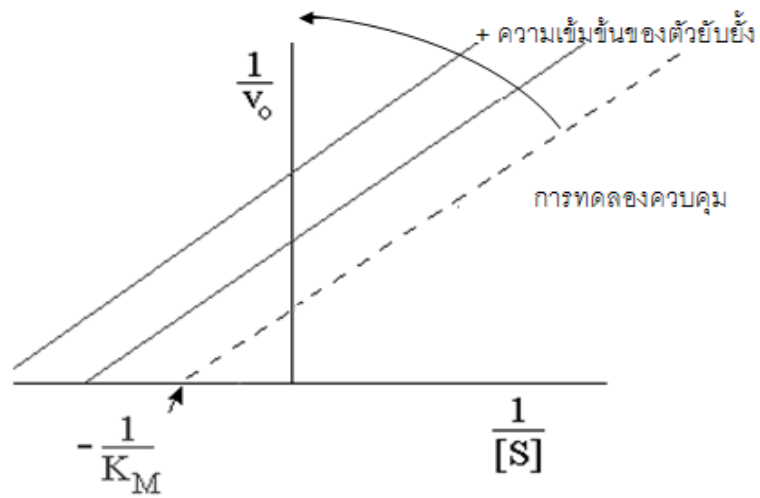
ที่มา: พัชรา (2543)

- ตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันชนิด uncompetitive (uncompetitive inhibitor) ตัวยับยั้งประเภทนี้จะไม่สามารถจับกับเอนไซม์อิสระ (E) แต่จะจับกับสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์กับสารตั้งต้น (EI) เกิดเป็น ESI ซึ่งไม่สามารถเกิดเป็นผลผลิตได้ (ภาพที่ 10) ซึ่งการจับของตัวยับยั้งจะเกิดขึ้นเมื่อสารตั้งต้นจับกับเอนไซม์แล้วทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนตัวยับยั้งสามารถเข้าจับได้ โดยตัวยับยั้งจะไม่แข่งขันกับสารตั้งต้นในการเข้าที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา (active site) ของเอนไซม์ ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นจึงไม่มีผลต่อปริมาณของการยับยั้ง เมื่อนำมาสร้างกราฟของไลน์วัวร์-เบอร์คจะมีลักษณะดังภาพที่ 11 (พัชรา, 2543; Zollner, 1993; Prince and Steven, 1999)



ภาพที่ 10 รูปแบบการยับยั้งแบบไม่แข่งขันชนิด uncompetitive

ที่มา: พัทธา (2543)



ภาพที่ 11 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค ที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันชนิด uncompetitive ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่

ที่มา: พัชร (2543)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เวอร์เนียร์
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องฉายรังสีแกมมา รุ่น Gamma Cell 220 มี โคบอลต์-60 เป็นต้นกำเนิดรังสี
4. UV-Spectrophotometer รุ่น GENESYS™ 20 ของบริษัท Geneq Inc.
5. Soxhlet apparatus ยี่ห้อ Gerhardt Laboratory System
6. เครื่อง homogenizer (ultra-turrax T8) ของบริษัท IKA Labortechnik
7. pH meter รุ่น 225 ของบริษัท Denver Instrument
8. เครื่องปั่นแยก รุ่น MSC 080 CR ของบริษัท Sanyo
9. เครื่องบดตัวอย่าง รุ่น Z TDA 71MR ยี่ห้อ Gy-Ro Mil
10. เครื่องแก้วที่ใช้ในการทดสอบกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน
11. สารเคมี

11.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดน้ำมัน

- petroleum ether ของบริษัท Labscan

11.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน

- BAPNA (benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride) ของ

บริษัท Sigma

- crystalline bovine trypsin ของบริษัท Sigma
- Tris Base ของบริษัท Riedel de Haën
- DMSO (dimethylsulfoxide) ของบริษัท Sigma
- NaOH ของบริษัท Merck
- HCl ของบริษัท Merck

วิธีการ

1. ตัวอย่างเมล็ดสับุดำ

ตัวอย่างเมล็ดสับุดำที่ใช้ในการทดลอง ประกอบด้วยเมล็ดสับุดำจาก 5 แหล่งที่มีการปลูกในประเทศไทยดังนี้

- บ้านโนนกอ ต.หนองแวง อ.นิคมคำสร้อย จ.มุกดาหาร (ตัวอย่างที่ 16)
- บ้านคอนปอแดง ต.ยางตลาด อ.บางตลาด จ.กาฬสินธุ์ (ตัวอย่างที่ 20)
- บ้านโพธิ์ไทร อ.คอนตาล จ.มุกดาหาร (ตัวอย่างที่ 21)
- บ้านน้ำจำ ต.หลวงใต้ อ.งาว จ.ลำปาง (ตัวอย่างที่ 62)
- บ้านสันบุญเรือง ต.แม่สวะ อ.สบปราบ จ.ลำปาง (ตัวอย่างที่ 65)

2. การศึกษาสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสับุดำ

ลุ่มเมล็ดสับุดำทั้ง 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 เมล็ด ทำการชั่งน้ำหนักและวัดขนาดของเมล็ดสับุดำ โดยวัดความกว้างและความยาวของเมล็ดก่อนและหลังกระเทาะเปลือก เพื่อหาความกว้าง ความยาวและน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยก่อนและหลังกระเทาะเปลือก เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของคุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสับุดำในแหล่งที่นิยมปลูกในประเทศไทย

3. การฉายรังสีเมล็ดสับุดำ

นำตัวอย่างเมล็ดสับุดำที่กระเทาะเปลือกทั้ง 5 ตัวอย่างไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0, 10, 20, 30 และ 60 กิโลเกรย์ ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Gamma Cell 220 ของสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ อัตรารังสี 0.1748 กิโลเกรย์ต่อนาที

4. การเตรียมตัวอย่างสบู่น้ำดำ

เตรียมตัวอย่างเมล็ดสบู่ดำเพื่อทำการศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน โดยนำเมล็ดสบู่ดำมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาสกัดน้ำมันด้วย soxhlet apparatus โดยใช้ petroleum ether เป็นสารสกัด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

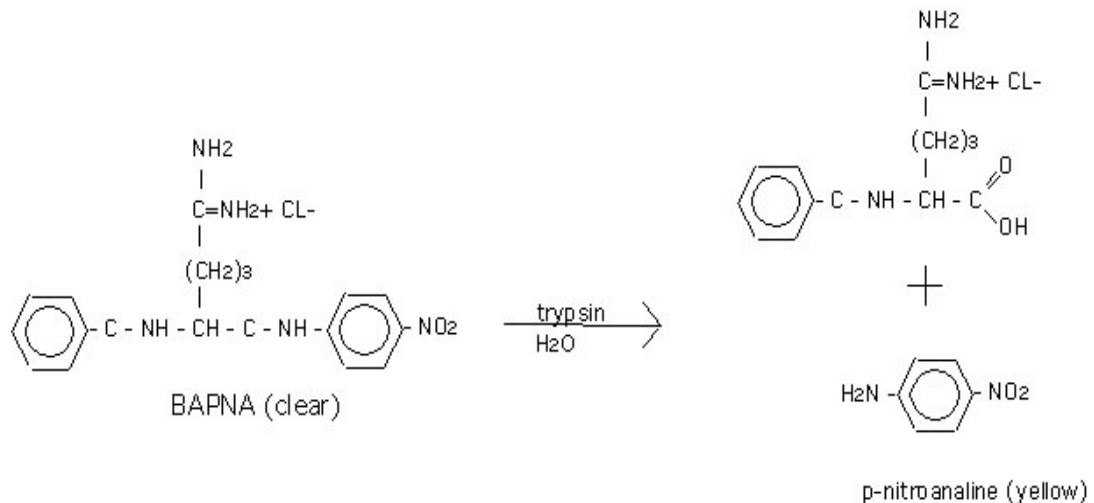
5. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมกับการวัดอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

5.1 ศึกษาผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

5.1.1 สกัดสารยับยั้งทริปซินจากตัวอย่างเมล็ดสบู่ดำโดยใช้ 0.01 N NaOH 25 มิลลิเมตร ต่อตัวอย่าง 0.5 กรัม ผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วย homogenizer ที่ 20,000 รอบต่อนาที นาน 2.5 นาที จากนั้นปรับ pH ของตัวอย่างให้มีค่าเท่ากับ 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0 และ 10.5 ด้วย 1 M HCl แล้วผสมให้เข้ากันต่อด้วย homogenizer ที่ 20,000 รอบต่อนาที นาน 2.5 นาที จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 3,500 g นาน 15 นาที แล้วเก็บสารละลายใสด้านบนไปวิเคราะห์กิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินต่อไป

5.1.2 วัดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างด้วยการวัดอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น โดยใช้สารละลายทริปซิน (crystalline bovine trypsin 1 มิลลิกรัม ละลายใน 1 mM HCl 1 มิลลิเมตร) ทำปฏิกิริยาขึ้นต้นกับสารที่สกัดได้จากตัวอย่างในอัตราส่วน สารละลายทริปซิน:สารที่สกัดได้จากตัวอย่าง 1:1 เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ BAPNA ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1.25 mM (ในสารละลาย DMSO ร้อยละ 5 โดยปริมาตร และ 0.2 M tris buffer pH 8) ปริมาตร 1 มิลลิเมตร หลักการคือ สารละลายทริปซินที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นกับสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาระหว่าง BAPNA กับน้ำ ได้สารละลายสีเหลืองของ p-nitroaniline ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร (ภาพที่ 12) แล้ววัดความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ทุก 2 วินาทีตั้งแต่วินาทีแรกเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนต่อทุก 30 วินาทีจนครบ 5 นาที แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลา โดยพิจารณา

ความชันของเส้นตรงที่ลากตัดจุด (0,0) และสัมพันธ์กับเส้นโค้งของกราฟ เพื่อหาอัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้น (V) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 12 ปฏิกิริยาของ BAPNA กับน้ำโดยมีสารละลายทริปซินเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้สารละลายสีเหลืองของ p-nitroaniline ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

ที่มา: Gatterdam (2007)

5.2 ศึกษาเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้น (pre-incubate)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 5.1 แต่ปรับ pH ในขั้นตอนการสกัดสารยับยั้งทริปซินออกจากตัวอย่างให้มีค่าเท่ากับ 10.0 และเวลาในการทำปฏิกิริยาขั้นต้นเท่ากับ 0, 10, 20, 30, 45 และ 60 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.3 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ

การทดลองนี้ทำการเลือกตัวอย่างที่คาดว่าจะมีกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินมากที่สุด (ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสี) และตัวอย่างที่มีกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินน้อยที่สุด (ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 60 กิโลเกรย์) โดยสกัดสารยับยั้งทริปซินออกจากตัวอย่างที่ pH 10.0 เวลา

ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้น 30 นาที และใช้อัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินต่อสารสกัดจากตัวอย่างดังตารางที่ 2 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 2 อัตราส่วนการทำปฏิกิริยาขั้นต้นระหว่างสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากเมล็ดสับดูดำ

อัตราส่วน สารละลายทริปซิน: สารสกัดจากตัวอย่าง	สารละลายทริปซิน (มิลลิลิตร)	สารสกัดจาก ตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
1:1	10	10	100
1:2	10	20	90
1:3	10	30	80
1:4	10	40	70
1:5	10	50	60
1:6	10	60	50
1:7	10	70	40
1:8	10	80	30
1:9	10	90	20
1:10	10	100	10

6. การศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูดำ

6.1 สกัดสารยับยั้งทริปซินจากตัวอย่างตามวิธีการในข้อ 5.1.1 โดยปรับ pH ในการทำปฏิกิริยาให้ได้ 10.0

6.2 วัดกิจกรรมสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างตามวิธีการในข้อ 5.1.2 โดยเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายทริปซินจากเดิม 10 เท่า (crystalline bovine trypsin 10 มิลลิกรัม ละลายใน 1 mM HCl 1 มิลลิลิตร) และใช้อัตราส่วนสารละลายทริปซิน:สารที่สกัดได้จากตัวอย่าง 1:6 เวลาทำปฏิกิริยา 30 นาที (โดยใช้น้ำกลั่นผสมกับสารละลายทริปซินในอัตราเดียวกันเป็นกลุ่มควบคุม (control)) จากนั้นผสมสารละลายที่ได้กับ BAPNA ความเข้มข้นต่าง ๆ (1.25, 1.125, 1.00, 0.875, 0.750, 0.625, 0.500, 0.375, 0.250 และ 0.125 mM) แล้ววัดความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสง

ของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer ทุก 2 วินาทีตั้งแต่วินาทีแรก เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนต่อทุก 30 วินาทีจนครบ 5 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

6.3 นำค่าการดูดกลืนแสงที่เวลาต่าง ๆ มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงต่อเวลา แล้วหาอัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้น (V) ของกราฟที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ($[S]$) โดยพิจารณาความชันของกราฟเส้นตรงที่ตัดจุด (0,0) และสัมพันธ์กับเส้นโค้งของกราฟ นำค่า V ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างและปริมาณรังสีเดียวกันมาสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค (สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า $1/V$ และค่า $1/[S]$) ค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด (maximum velocity; V_{max} คือ อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดเมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นสูงมากจนไม่มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา) โดยคำนวณได้จากส่วนกลับของจุดตัดแกน y ของเส้นกราฟที่สร้างขึ้นแต่ละเส้น และค่าคงที่ของมิเคลิส (Michaelis constant; K_m คือ ค่าความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาลดลงครึ่งหนึ่งของอัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด) พิจารณาจากส่วนกลับของจุดตัดแกน x ของเส้นกราฟที่สร้างขึ้นแต่ละเส้น เพื่อใช้พิจารณาประเภทของสารยับยั้งทรูปซิน

6.4 ประเมินกิจกรรมของสารยับยั้งทรูปซินในเมล็ดสนุ่นดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ โดยหาความชันของเส้นกราฟที่ได้จากการสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค แล้วหาค่าความแตกต่างของความชันระหว่างความชันของตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ กับความชันของกลุ่มควบคุม นำมาคำนวณร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทรูปซินในเมล็ดสนุ่นดำที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่าง ๆ ในแต่ละตัวอย่าง (โดยให้ค่าความแตกต่างระหว่างความชันของตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสีกับความชันของกลุ่มควบคุมมีค่าร้อยละของกิจกรรมของสารยับยั้งทรูปซินเท่ากับ 100)

6.5 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีกับกิจกรรมของสารยับยั้งทรูปซินในเมล็ดสนุ่นดำแต่ละตัวอย่าง เพื่อศึกษาแนวโน้มของปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการลดกิจกรรมสารยับยั้งทรูปซินในเมล็ดสนุ่นดำ

7. การศึกษาองค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำ

วิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีในเมล็ดสบู่ดำ ได้แก่ ร้อยละ โปรตีนรวม (crude protein) ใยอาหาร (crude fiber) ไขมัน เถ้า และ ความชื้น โดยส่งตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวที่กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. สถานที่ทำการทดลอง

8.1 ห้องปฏิบัติการ ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

8.2 ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

9. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง มิถุนายน 2549

สิ้นสุดการทดลอง กรกฎาคม 2550

ผลการทดลอง

1. คุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสบู่ดำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดสบู่ดำ 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 เมล็ด มาศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพพื้นฐาน (ตารางที่ 3) พบว่าความกว้างและความยาวของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยตัวอย่างเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 20 มีความกว้างของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกมากที่สุด (11.43 ± 0.42 และ 9.21 ± 0.34 มิลลิเมตร ตามลำดับ) และเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 16 มีความยาวของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกมากที่สุด (18.85 ± 0.53 และ 15.50 ± 0.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยของเมล็ดสบู่ทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกทั้ง 5 ตัวอย่างมีน้ำหนักที่ใกล้เคียงกัน (0.70 - 0.78 และ 0.46 - 0.51 กรัม ตามลำดับ) รวมไปถึงอัตราส่วนร้อยละของเนื้อและเปลือกโดยน้ำหนัก (ร้อยละ 64.68 - 65.75 และ 33.77 - 34.94 ตามลำดับ)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสับคำทั้ง 5 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	เมล็ดก่อนกระเทาะเปลือก			เมล็ดหลังกระเทาะเปลือก			น้ำหนัก เปลือกต่อ เมล็ดเฉลี่ย (กรัม)	ร้อยละของ เนื้อโดย น้ำหนัก	ร้อยละของ เปลือกโดย น้ำหนัก
	ความยาว เฉลี่ย (มม.)	ความกว้าง เฉลี่ย (มม.)	น้ำหนัก เฉลี่ย (กรัม)	ความยาว เฉลี่ย (มม.)	ความกว้าง เฉลี่ย (มม.)	น้ำหนัก เฉลี่ย (กรัม)			
16	18.85±0.53 ^a	11.39±0.34 ^a	0.78	15.50±0.35 ^a	9.10±0.38 ^a	0.51	0.27	64.96	34.91
20	18.27±0.76 ^b	11.43±0.42 ^a	0.78	15.24±0.49 ^a	9.21±0.34 ^{ab}	0.50	0.27	64.86	34.94
21	18.02±0.98 ^{bc}	11.06±0.48 ^b	0.72	15.20±0.65 ^b	8.73±0.59 ^{ab}	0.47	0.25	65.28	34.49
62	17.67±1.03 ^c	11.10±0.29 ^b	0.71	14.89±0.83 ^b	8.59±0.38 ^{bc}	0.47	0.24	65.23	33.77
65	17.55±0.50 ^c	10.89±0.38 ^b	0.70	14.81±0.50 ^b	8.70±0.47 ^c	0.46	0.24	65.75	34.24

วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) จำนวน 20 ตัวอย่าง ($n=20$)

2. สถานะที่เหมาะสมกับการศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

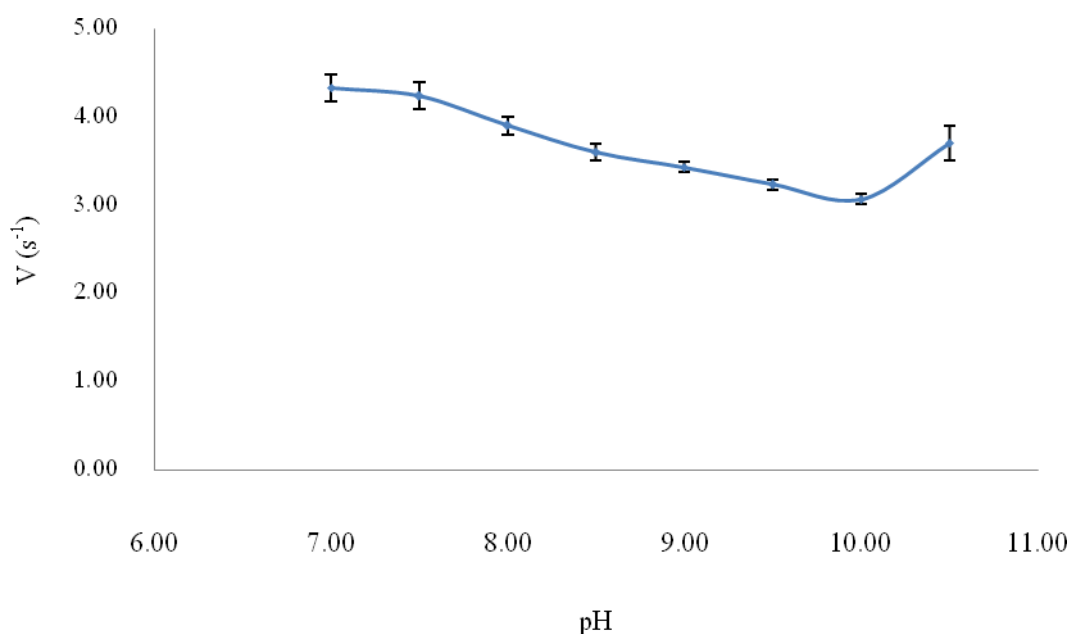
2.1 ผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

จากการศึกษาผลของ pH ต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น โดยการปรับ pH ในขั้นตอนการสกัดสารยับยั้งทริปซินจากตัวอย่างให้เท่ากับ 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0 และ 10.5 พบว่าอัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น และต่ำที่สุดที่ pH เท่ากับ 10.0 และอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อ pH มากกว่า 10.0 (ตารางที่ 4 และภาพที่ 13)

ตารางที่ 4 ผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

pH	V (s ⁻¹)
7.00	4.33±0.15 ^a
7.50	4.23±0.15 ^a
8.00	3.90±0.10 ^b
8.50	3.60±0.10 ^{cd}
9.00	3.43±0.06 ^{de}
9.50	3.23±0.06 ^{ef}
10.00	3.07±0.06 ^f
10.50	3.70±0.20 ^{bc}

วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05) จำนวน 3 ซ้ำ (n=3)



ภาพที่ 13 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นของสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากเมล็ดสบู่ดำที่ pH ต่าง ๆ

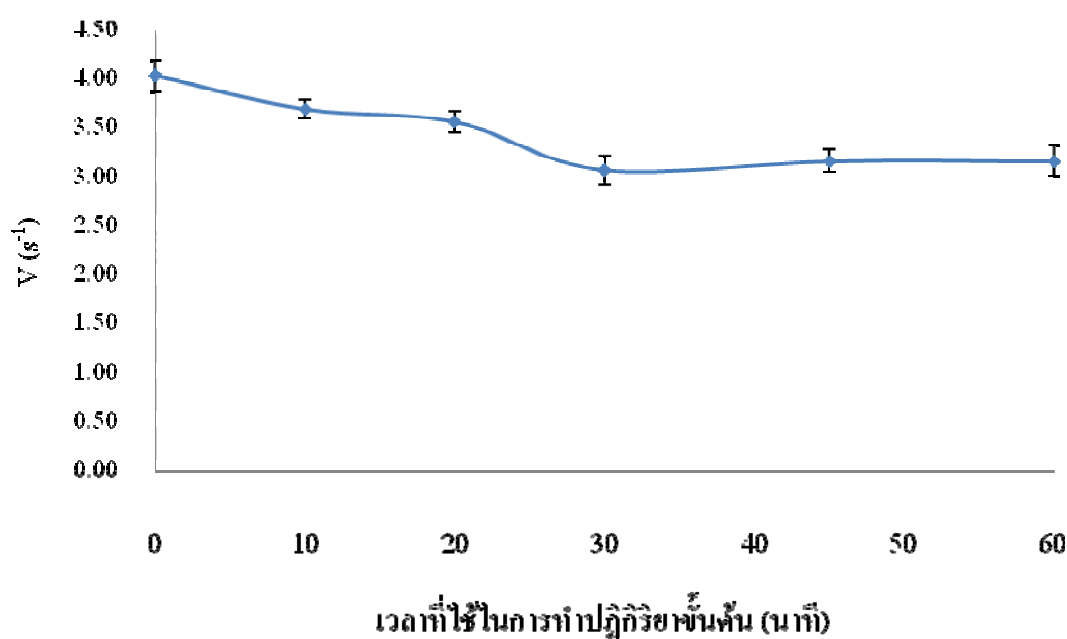
2.2 ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้น (pre-incubate) ต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

เมื่อสกัดสารยับยั้งทริปซินออกจากตัวอย่างโดยใช้ pH เท่ากับ 10.0 และใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาขั้นต้นเท่ากับ 0, 10, 20, 30, 45 และ 60 นาที พบว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นมีค่าลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้นเพิ่มมากขึ้นจาก 0 ถึง 30 นาที จากนั้นอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเริ่มคงที่ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 14)

ตารางที่ 5 ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขึ้นต้น (นาที)	V (s ⁻¹)
0	4.03±0.15 ^a
10	3.70±0.10 ^b
20	3.57±0.11 ^b
30	3.07±0.15 ^c
45	3.17±0.11 ^c
60	3.17±0.15 ^c

วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05) จำนวน 3 ซ้ำ (n=3)



ภาพที่ 14 ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขึ้นต้นต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

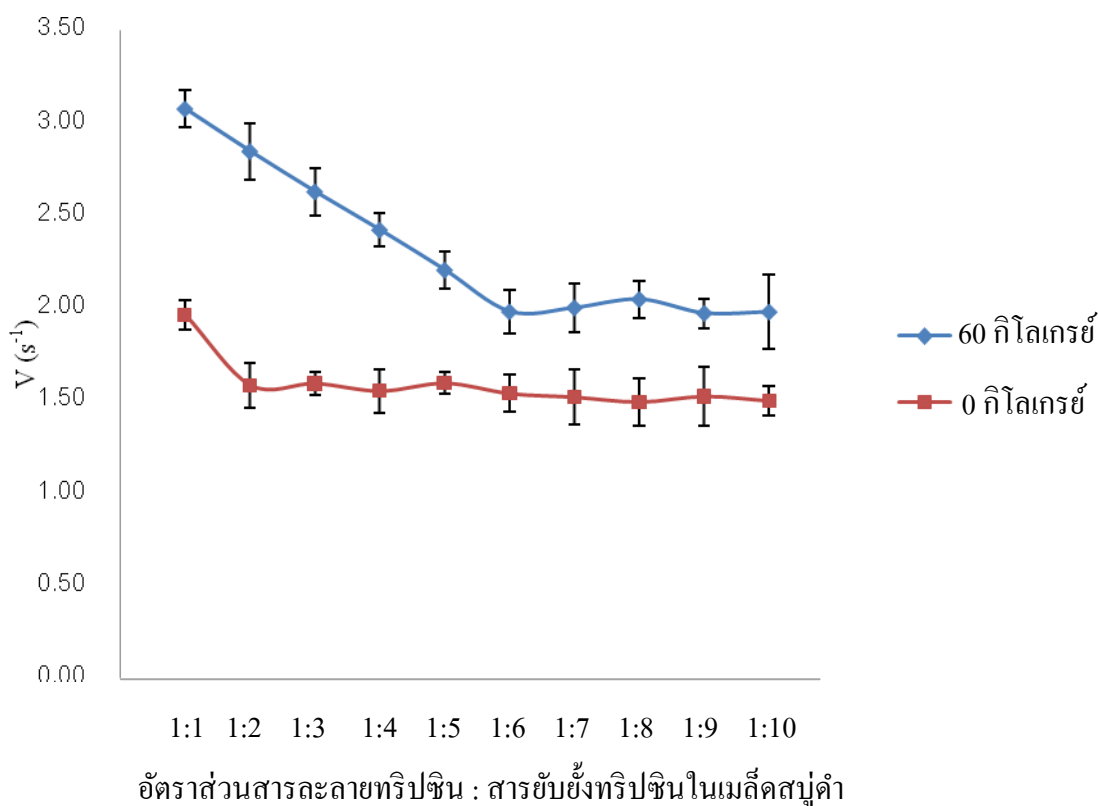
2.3 ผลของอัตราส่วนของสารละลายทริปซินต่อสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

เมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินต่อสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากตัวอย่างต่าง ๆ ตั้งแต่ 1:1 ถึง 1:10 พบว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นจะมีค่าลดลง และเริ่มมีค่าคงที่ที่อัตราส่วน 1:2 ในตัวอย่างที่คาดว่ามีความเข้มข้นของสารยับยั้งทริปซินมากที่สุด (0 กิโลเกรย์) และที่อัตราส่วน 1:6 ในตัวอย่างที่คาดว่ามีความเข้มข้นของสารยับยั้งทริปซินน้อยที่สุด (60 กิโลเกรย์) (ตารางที่ 6 และภาพที่ 15)

ตารางที่ 6 ผลของอัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินและสารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากตัวอย่างต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดสนุ่นดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ 0 และ 60 กิโลเกรย์

อัตราส่วน สารละลายทริปซิน:สารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากตัวอย่าง	V (s ⁻¹)	
	60 กิโลเกรย์	0 กิโลเกรย์
1:1	3.07±0.10 ^a	1.96±0.08 ^a
1:2	2.84±0.15 ^b	1.58±0.12 ^b
1:3	2.63±0.13 ^c	1.59±0.06 ^b
1:4	2.42±0.09 ^d	1.55±0.12 ^b
1:5	2.20±0.10 ^c	1.59±0.06 ^b
1:6	1.98±0.12 ^c	1.54±0.10 ^b
1:7	2.00±0.13 ^c	1.52±0.15 ^b
1:8	2.05±0.10 ^c	1.49±0.13 ^b
1:9	1.97±0.08 ^c	1.52±0.16 ^b
1:10	1.98±0.20 ^c	1.50±0.08 ^b

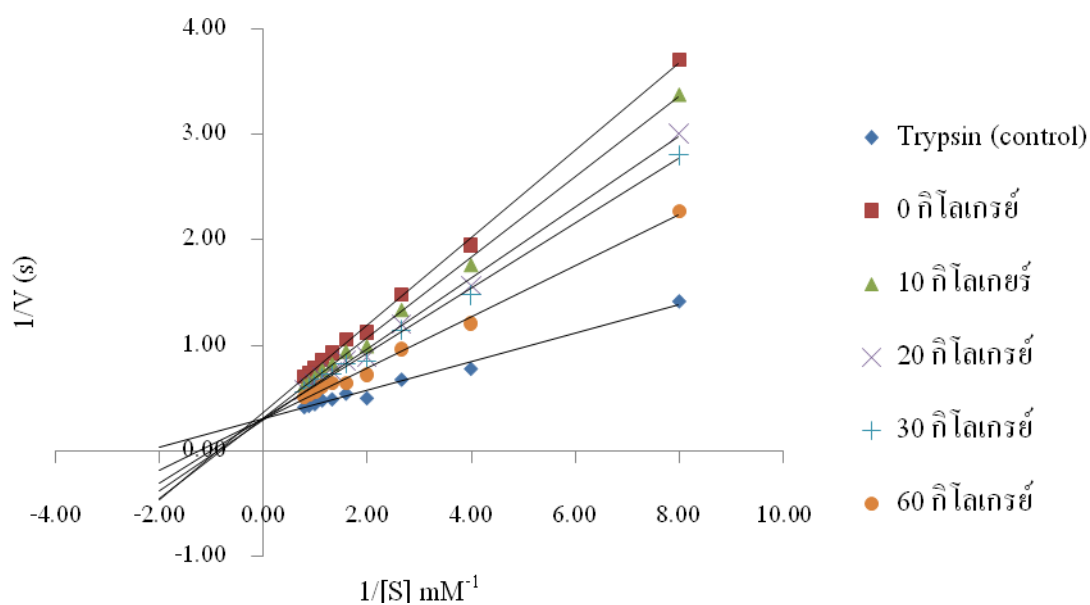
วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05) จำนวน 3 ซ้ำ (n=3)



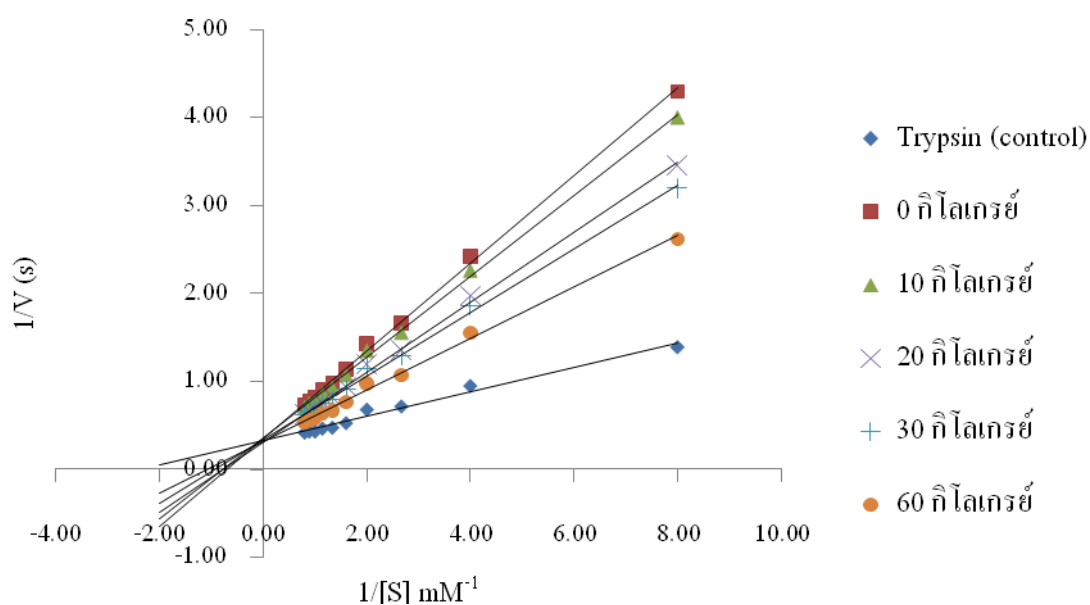
ภาพที่ 15 ผลของอัตราส่วนระหว่างสารละลายทริปซินและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

3. ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำ

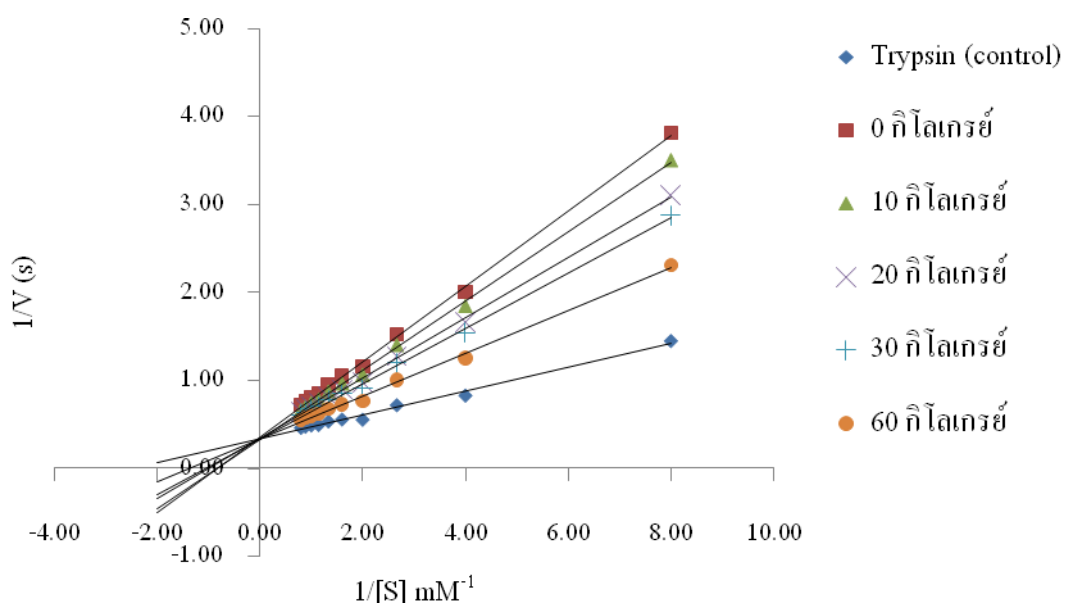
ผลการศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ เมื่อนำค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการศึกษาที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ กันมาสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ก พบว่ากราฟที่ได้ทั้ง 5 ตัวอย่าง (ภาพที่ 16-20) มีลักษณะของกราฟที่เหมือนกัน และยังพบว่าค่า V_{max} ของกิจกรรมสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีรวมถึงกลุ่มควบคุม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) แต่ค่า K_m ลดลงอย่างต่อเนื่องตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบในตัวอย่างเดียวกัน (ตารางที่ 8)



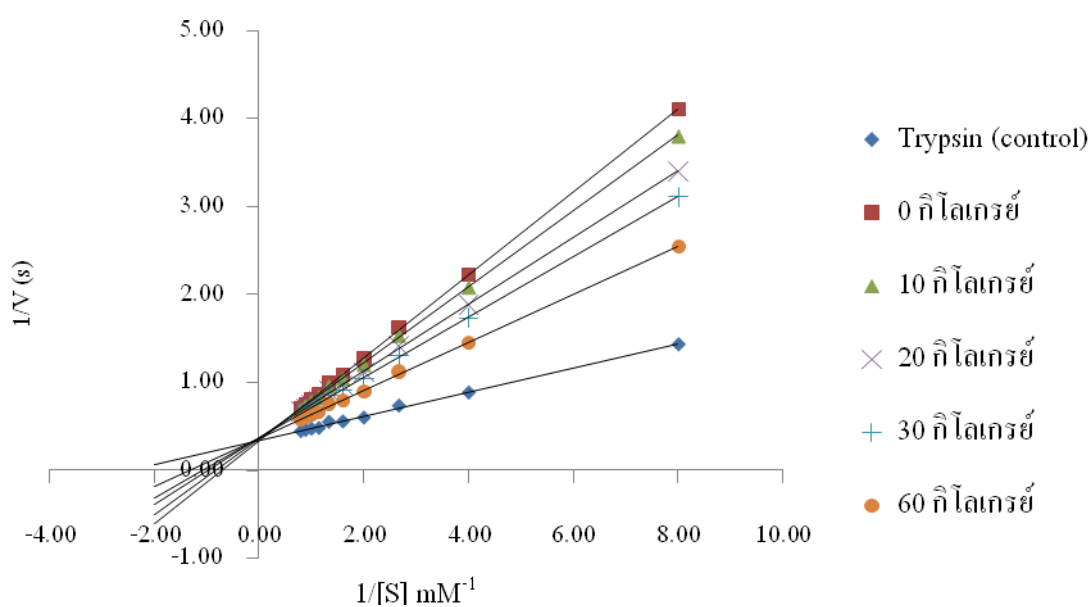
ภาพที่ 16 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์คของเมล็ดสนับดำตัวอย่างที่ 16 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่าง ๆ



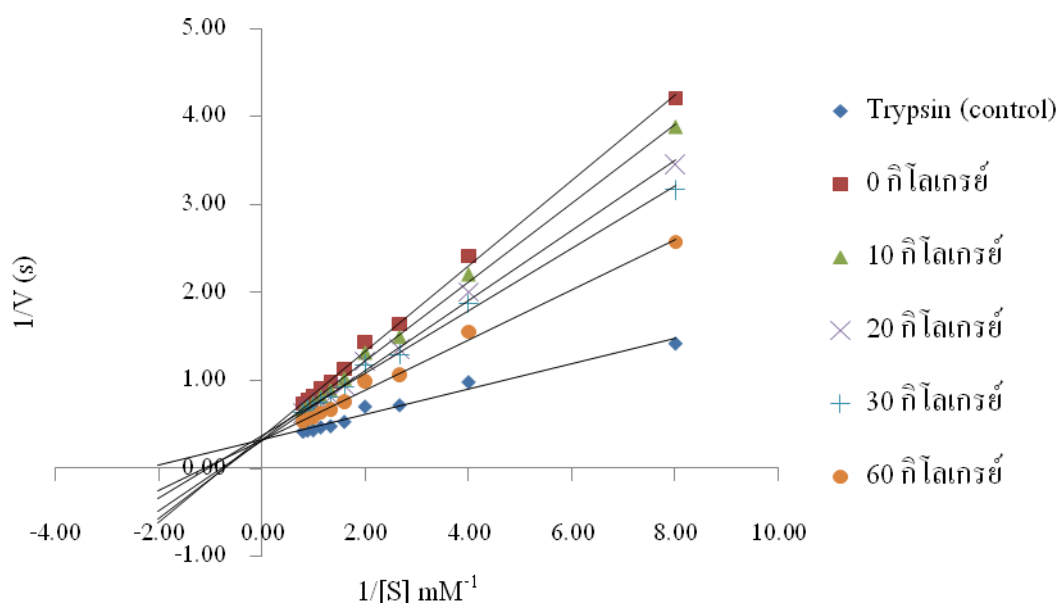
ภาพที่ 17 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์คของเมล็ดสนับดำตัวอย่างที่ 20 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่าง ๆ



ภาพที่ 18 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์คของเมสตีคสบู้ดตัวอย่างที่ 21 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่างๆ



ภาพที่ 19 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์คของเมสตีคสบู้ดตัวอย่างที่ 62 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่างๆ



ภาพที่ 20 กราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์คของเมสตีคสบู่ดำตัวอย่างที่ 65 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตารางที่ 7 ค่า V_{max} ของเมสตีคสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตัวอย่าง	$V_{max} (s^{-1})$					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
16	3.36±0.04	2.96±0.15	3.38±0.26	3.32±0.22	3.15±0.15	3.34±0.13
20	3.03±0.18	2.79±0.33	2.69±0.15	2.99±0.29	2.89±0.12	3.02±0.26
21	3.52±0.80	3.36±0.56	3.92±1.58	3.70±1.09	3.64±1.20	3.67±1.01
62	3.00±0.17	2.85±0.19	3.14±0.50	3.26±0.74	3.03±0.57	2.86±0.08
65	3.27±0.16	3.05±0.48	3.41±0.66	3.22±0.04	2.82±0.35	3.34±0.34

วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) จำนวน 3 ซ้ำ ($n=3$)

ตารางที่ 8 ค่า Km ของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตัวอย่าง	Km (mM)					
	กลุ่มควบคุม	0	10	20	30	60
		กิโกลเกรย์	กิโกลเกรย์	กิโกลเกรย์	กิโกลเกรย์	กิโกลเกรย์
16	0.46±0.02 ^a	1.24±0.08 ^d	1.30±0.16 ^d	1.12±0.11 ^{cd}	0.98±0.07 ^c	0.81±0.01 ^b
20	0.42±0.03 ^a	1.41±0.23 ^d	1.24±0.09 ^{cd}	1.20±0.14 ^{cd}	1.05±0.07 ^{bc}	0.88±0.09 ^b
21	0.49±0.11 ^a	1.43±0.22 ^b	1.54±0.60 ^b	1.27±0.37 ^b	1.15±0.38 ^b	0.90±0.25 ^b
62	0.42±0.04 ^a	1.26±0.16 ^c	1.27±0.22 ^c	1.17±0.28 ^c	0.99±0.21 ^c	0.74±0.04 ^b
65	0.47±0.02 ^a	1.44±0.19 ^c	1.51±0.28 ^c	1.26±0.01 ^c	0.99±0.11 ^b	0.94±0.10 ^b

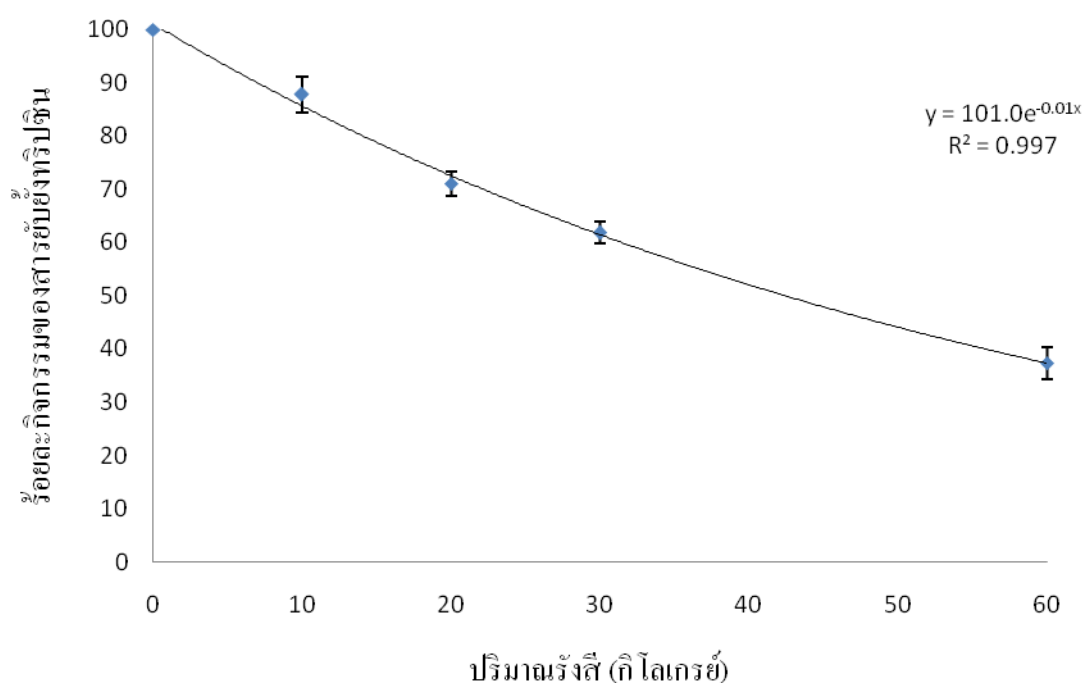
วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) จำนวน 3 ซ้ำ ($n=3$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าความชื้นที่ได้จากการสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์คที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ พบว่ากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9 และภาพที่ 26) โดยเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสี 60 กิโกลเกรย์ มีกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินน้อยที่สุด (ร้อยละ 37.40-42.42) และตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสี 10 กิโกลเกรย์มีกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินมากที่สุด (ร้อยละ 87.80-90.03) เมื่อเปรียบเทียบในตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีทั้ง 5 ตัวอย่าง สรุปได้ว่าปริมาณรังสี 60 กิโกลเกรย์สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำได้มากที่สุด และปริมาณรังสี 10 กิโกลเกรย์สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินได้น้อยที่สุด (ตารางที่ 9 และภาพที่ 21-25)

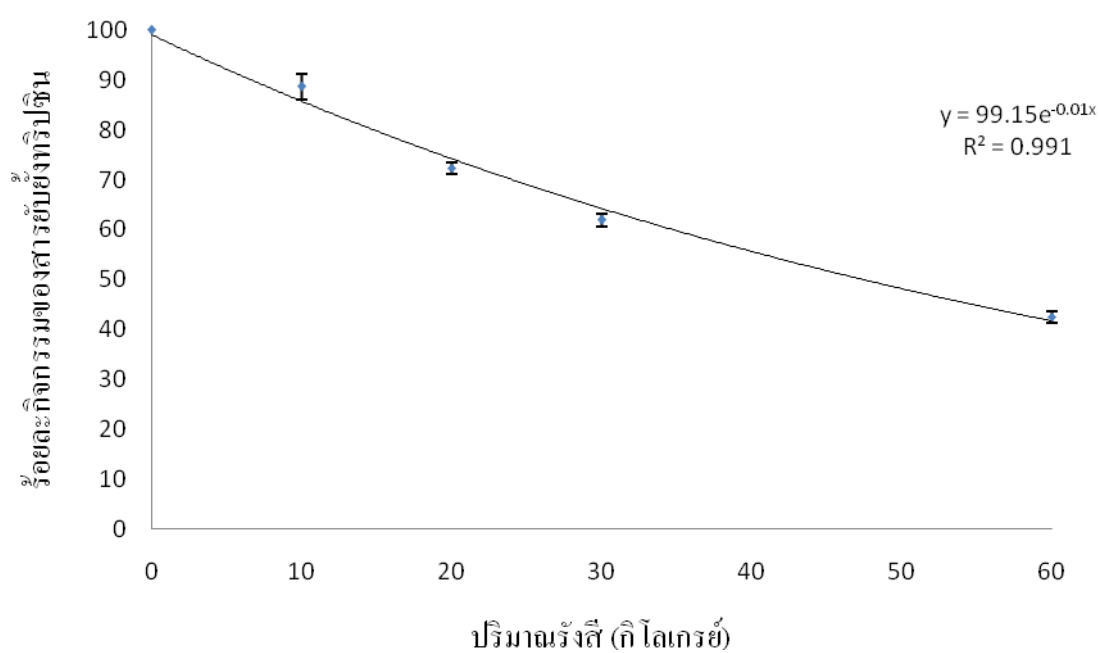
ตารางที่ 9 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน			
	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
16	87.80±3.40 ^c	71.05±2.34 ^d	61.84±2.13 ^c	37.40±2.99 ^{ab}
20	88.64±2.47 ^e	72.27±1.10 ^d	61.92±1.21 ^c	42.48±1.14 ^b
21	88.52±1.83 ^e	71.35±2.52 ^d	61.77±2.29 ^c	36.85±1.85 ^a
62	88.49±2.98 ^e	73.57±2.78 ^d	61.80±2.25 ^c	40.16±1.19 ^{ab}
65	90.03±2.22 ^e	74.39±1.33 ^d	62.60±2.01 ^c	41.97±1.64 ^{ab}

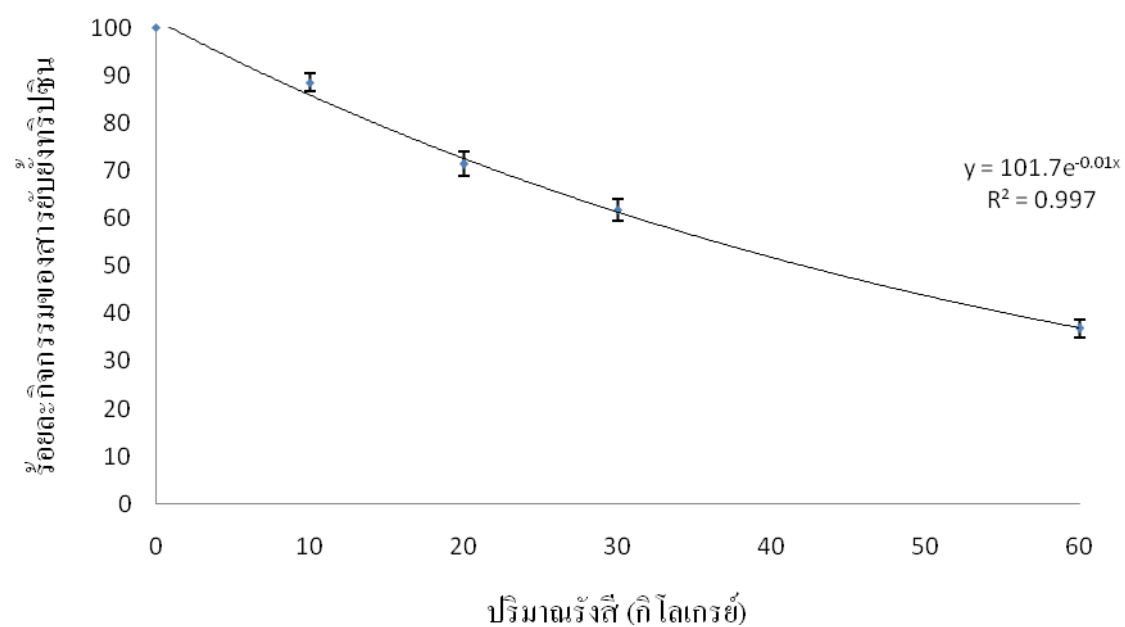
วิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) จำนวน 3 ซ้ำ ($n=3$)



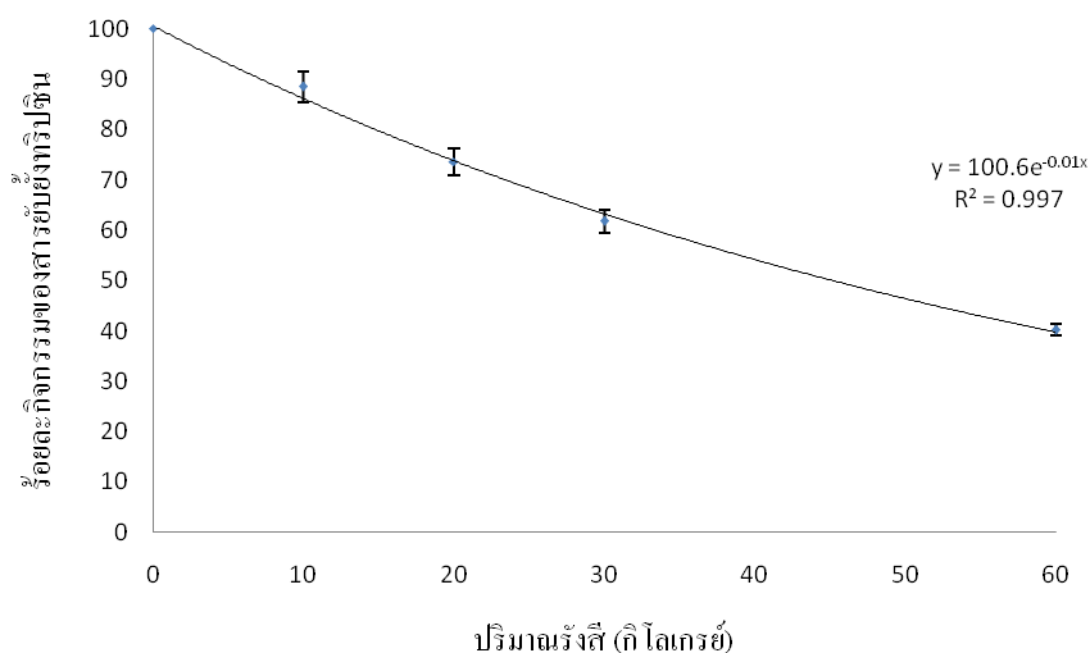
ภาพที่ 21 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 16



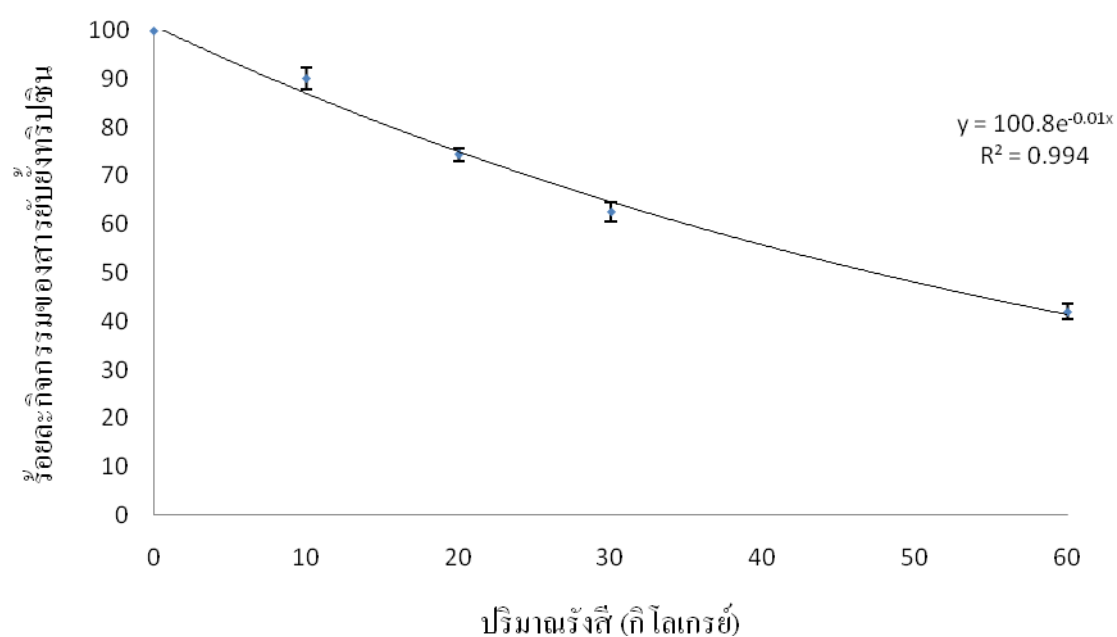
ภาพที่ 22 ร้อยละการรอดของต้นกล้าที่ยังมีชีวิตที่ปริมาณปุ๋ยต่าง ๆ ของเมล็ดสนูปดำตัวอย่างที่ 20



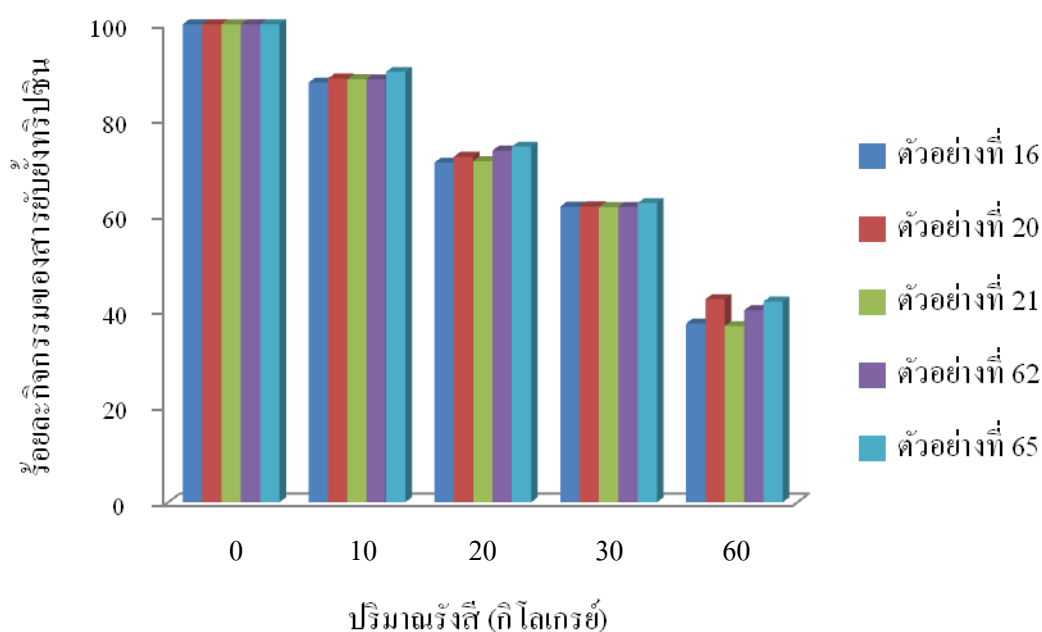
ภาพที่ 23 ร้อยละการรอดของต้นกล้าที่ยังมีชีวิตที่ปริมาณปุ๋ยต่าง ๆ ของเมล็ดสนูปดำตัวอย่างที่ 21



ภาพที่ 24 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ดสนูปดำตัวอย่างที่ 62



ภาพที่ 25 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ของเมล็ดสนูปดำตัวอย่างที่ 65



ภาพที่ 26 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูดำที่ผ่านการฉายรังสีทั้ง 5 ตัวอย่าง

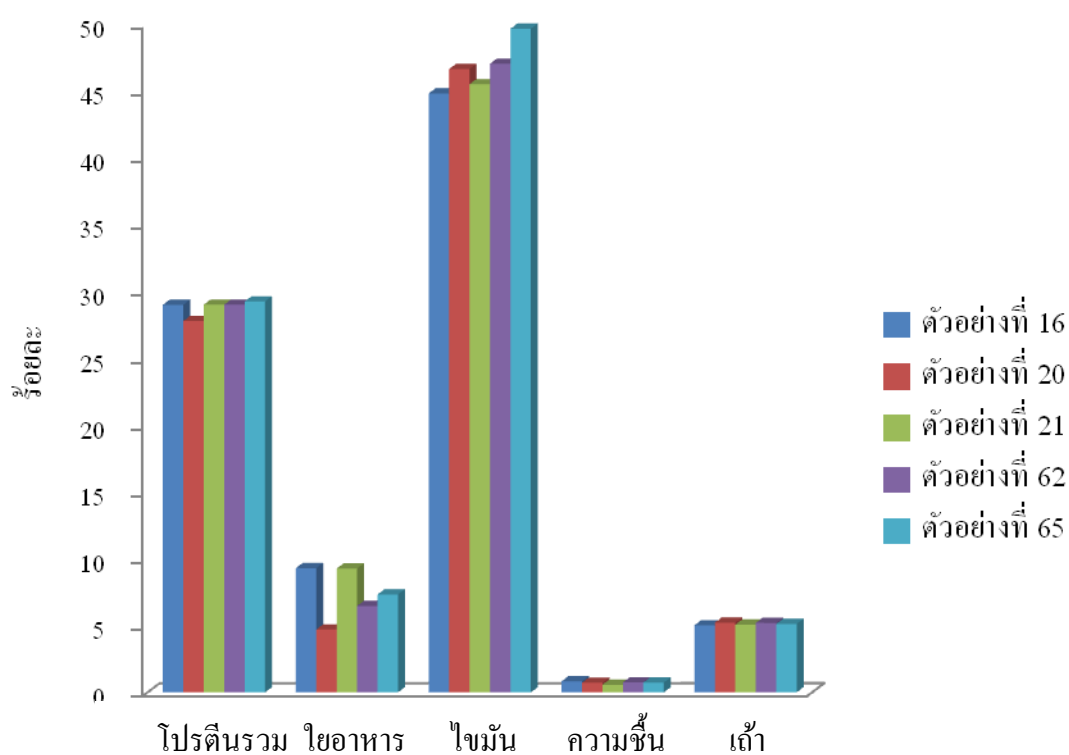
3. คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสับดูดำทั้งก่อนและหลังฉายรังสี

3.1 คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสับดูดำก่อนฉายรังสี

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีในเมล็ดสับดูดำทั้ง 5 ตัวอย่าง พบว่าประกอบด้วยไขมันในปริมาณสูงถึงร้อยละ 44.83-49.67 โปรตีนรวมร้อยละ 27.79-29.26 โยอาหาร ร้อยละ 4.70-9.30 เถ้าร้อยละ 5.07-5.22 และความชื้นร้อยละ 0.57-0.83 (ตารางที่ 10 และภาพที่ 27) เมื่อพิจารณาคูสมบัติทางเคมีของเมล็ดสับดูดำทั้ง 5 ตัวอย่าง จะเห็นได้ว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ด้วยเหตุนี้จึงเลือกเมล็ดสับดูดำเพียงตัวอย่างเดียวได้แก่ตัวอย่างที่ 16 เพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีต่อไป

ตารางที่ 10 คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ร้อยละ				
	โปรตีนรวม	ใยอาหาร	ไขมัน	ความชื้น	เถ้า
16	29.01	9.30	44.83	0.83	5.02
20	27.79	4.70	46.65	0.72	5.22
21	29.02	9.27	45.52	0.57	5.07
62	29.02	6.47	47.05	0.75	5.20
65	29.26	7.33	49.67	0.73	5.12



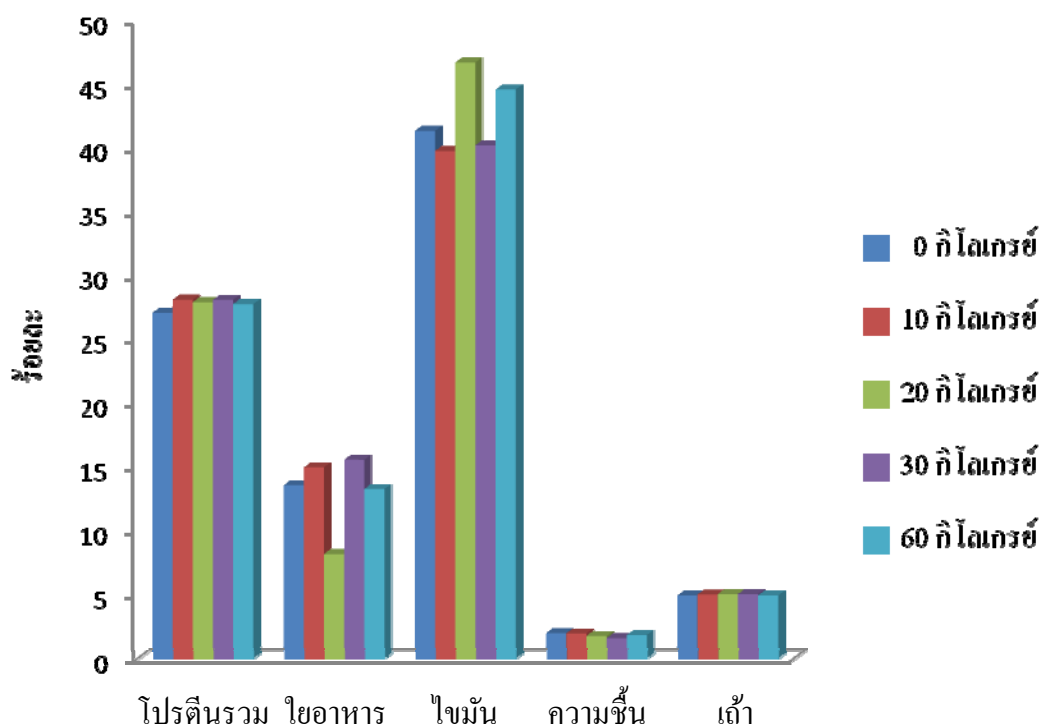
ภาพที่ 27 คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่าง

3.2 คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำหลังฉายรังสี

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีในเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 16 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีในช่วง 10-60 กิโลเกรย์ มีคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีไม่แตกต่างกันมากนักและมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (0 กิโลเกรย์) โดยมีค่าร้อยละของโปรตีนรวม ไขมัน ไชอาหาร ไขมัน ความชื้น และเถ้า อยู่ในช่วง 27.08-28.11, 8.15-15.55, 39.77-46.72, 1.55-1.95 และ 4.90-5.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 11 และภาพที่ 28)

ตารางที่ 11 คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำตัวอย่างที่ 16 หลังฉายรังสี

ปริมาณรังสี (กิโลเกรย์)	ร้อยละ				
	โปรตีนรวม	ไขมัน	ไขมัน	ความชื้น	เถ้า
0	27.08	13.55	41.35	1.95	4.90
10	28.11	14.95	39.77	1.92	4.97
20	27.91	8.15	46.72	1.72	5.00
30	28.09	15.55	40.22	1.55	5.00
60	27.76	13.25	44.60	1.80	4.90



ภาพที่ 28 คุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของตัวอย่างที่ 16 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 10-60 กิโลกรัม เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (0 กิโลกรัม)

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. คุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีในเมล็ดสับดูดำ

จากผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสับดูดำทั้ง 5 ตัวอย่าง พบว่ามีคุณสมบัติทางกายภาพแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีความกว้างของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกอยู่ในช่วง 17.55-18.85 และ 14.81-15.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ ความยาวของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกอยู่ในช่วง 10.89-11.43 และ 8.57-9.21 มิลลิเมตร ตามลำดับ น้ำหนักเมล็ดก่อนกระเทาะเปลือกอยู่ในช่วง 0.70-0.78 กรัม น้ำหนักเมล็ดหลังกระเทาะเปลือกอยู่ในช่วง 0.46-0.51 กรัม และร้อยละของเนื้อโดยน้ำหนักในช่วง 64.86-65.75 ซึ่งคุณสมบัติทางกายภาพดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกับเมล็ดสับดูดำจาก Castillo de Teayo, Pueblillo และ Coatzacoalcos ใน Veracruz state ประเทศเม็กซิโก โดยมีความกว้างของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกอยู่ในช่วง 8.4-9.5 และ 7.2-7.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ ความยาวของเมล็ดทั้งก่อนและหลังกระเทาะเปลือกอยู่ในช่วง 17.0-18.7 และ 15.1-16.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ น้ำหนักเมล็ดอยู่ในช่วง 0.64-0.71 กรัม น้ำหนักเมล็ดหลังกระเทาะเปลือก 0.43-0.48 กรัม และอัตราส่วนของเนื้อต่อเมล็ดในช่วงร้อยละ 68.19-68.34 (Martinez-Herrera *et al.*, 2006) สำหรับร้อยละของเนื้อโดยน้ำหนักในเมล็ดสับดูดำที่ทำการศึกษายังมีค่าใกล้เคียงกับเมล็ดสับดูดำจาก Papantla (ร้อยละ 63.5) ในประเทศเม็กซิโก จาก Kitui (ร้อยละ 62.2) ในประเทศเคนยา และจาก Cotonou (ร้อยละ 64.0) ในสาธารณรัฐเบนิน แต่แตกต่างจากเมล็ดสับดูดำจาก Kangra (ร้อยละ 53.9) ประเทศอินเดีย และจาก Nyankplala (ร้อยละ 55.1) ในประเทศกานา นอกจากนี้ น้ำหนักของเมล็ดสับดูดำที่ทำการศึกษายังมีค่าใกล้เคียงกับเมล็ดสับดูดำจาก Quintana Roo state (0.74 กรัม) ในประเทศเม็กซิโก (Makkar *et al.*, 1998) จาก Cape verde (0.69 กรัม) ในประเทศนิการากัวจาก Nasik (0.70 กรัม) ในประเทศอินเดีย และจาก Cotonou (0.76 กรัม) ในสาธารณรัฐเบนิน แต่แตกต่างจากเมล็ดสับดูดำจากหลายแห่ง เช่น เมล็ดสับดูดำจาก Mambo (0.50 กรัม) ในทานซาเนีย จาก Managua (0.86-0.89 กรัม) ประเทศนิการากัว จาก Ife (0.53 กรัม) ในประเทศไนจีเรีย (Makkar *et al.*, 1997) และจาก Capoverde (0.86 กรัม) ในประเทศเม็กซิโก (Aderibigbe *et al.*, 1997) เป็นต้น

ส่วนการศึกษาค้นสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสับดูดำทั้ง 5 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีค่าร้อยละโปรตีนรวมอยู่ในช่วง 27.79-29.26 ซึ่งใกล้เคียงกับเมล็ดสับดูดำจาก Quintana Roo State (ร้อยละ 27-30) ในประเทศเม็กซิโก (Makkar *et al.*, 1998) และมีค่า

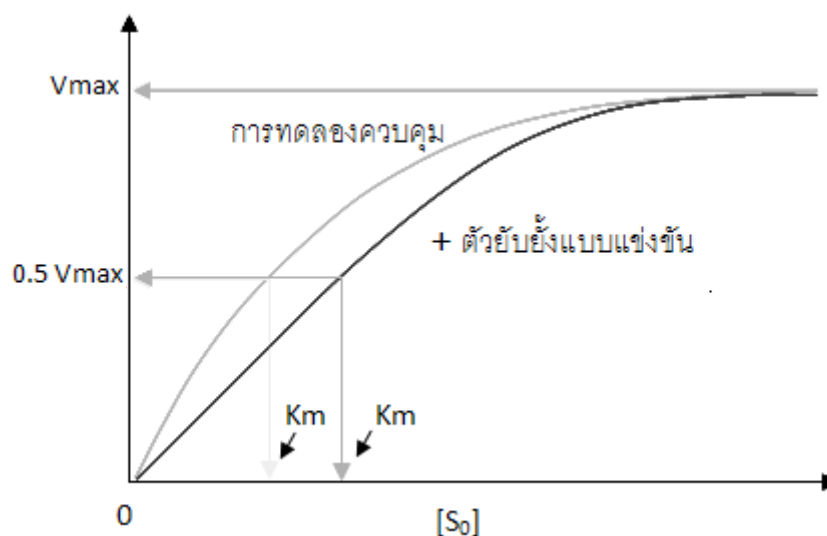
แตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดจาก Castillo de teayo, Pueblillo, Coatzacoalcos, Yautepee (ร้อยละ 31-34.5) (Martinez-Herrera *et al.*, 2006) และ Papantla (ร้อยละ 58.5) (Makkar *et al.*, 1998) ในประเทศเม็กซิโก รวมไปถึงค่าเฉลี่ยโปรตีนรวม (ร้อยละ 26) ของเมล็ดสับดูดำ 18 แหล่งจากทวีปแอฟริกาตะวันออกและตะวันตก อเมริกาเหนือ อเมริกากลาง และทวีปเอเชีย (Makkar *et al.*, 1997) ส่วนค่าร้อยละไขมันในเมล็ดสับดูดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ทำการศึกษา (ร้อยละ 44.83-49.67) มีค่าน้อยกว่าเมล็ดสับดูดำจาก Quintana Roo State (ร้อยละ 55-62), (Makkar *et al.*, 1998) Castillo de teayo, Pueblillo, Coatzacoalcos และ Yautepee (ร้อยละ 55.3-57.7) ในประเทศเม็กซิโก (Martinez-Herrera *et al.*, 2006) และทั้ง 18 แหล่งที่ Makkar *et al.* (1997) ได้ทำการศึกษา (ร้อยละ 53) นอกจากนี้ร้อยละใยอาหาร เถ้า และความชื้น (ร้อยละ 4.70-9.30, 5.07-5.22 และ 0.57-0.83 ตามลำดับ) ในเมล็ดสับดูดำที่ทำการศึกษา มีค่าแตกต่างกันไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดสับดูดำจาก Castillo de teayo, Pueblillo, Coatzacoalcos, Yautepe (ใยอาหารร้อยละ 2.8-3.4 เถ้าร้อยละ 3.8-5.1 และความชื้นร้อยละ 4.6-5.5) และ Papantla (เถ้าร้อยละ 4.3 ความชื้นร้อยละ 5.8) (Makkar *et al.*, 1998; Martinez-Herrera *et al.*, 2006) รวมถึงค่าเฉลี่ยจากการศึกษาตัวอย่าง 18 แห่ง (เถ้าร้อยละ 3.4-5.0) ของ Makkar *et al.* (1997) อีกด้วย

2. ผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมสารยับยั้งทริปซินและคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีในเมล็ดสับดูดำ

การศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินและคุณสมบัติทางพื้นฐานทางเคมีในเมล็ดสับดูดำ พบว่ารังสีแกมมามีผลต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน โดยเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มมากขึ้นกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินจะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Farag (1998) ที่ทำการศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในถั่วเหลือง (*Glycine max* L. 'Crawford') ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 5, 15, 30, และ 60 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินลงได้ร้อยละ 41.8, 56.3, 62.7 และ 72.5 ตามลำดับ และการศึกษาของ Al-Kaisey *et al.* (2003) พบว่าการฉายรังสีถั่วปากอ้าที่ปริมาณรังสี 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินลงได้ร้อยละ 4.5, 6.7, 8.5 และ 9.5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในเมล็ดโสน 3 ชนิด (*Sesbania aculeata*, *S. rostrata* และ *S. cannabina*) และถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 2, 4 และ 8 กิโลเกรย์ พบว่าสามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินลงได้โดยเฉลี่ยร้อยละ 11.19, 28.59 และ 37.60 ตามลำดับ (Siddhuraja *et al.*, 2002b) โดยสันนิษฐานว่ารังสีอาจจะทำลายพันธะไดซัลไฟด์ (-S-S-) ของสารยับยั้งทริปซิน (El-Shibawi, 1984; Siddhuraja *et al.*, 2002a) ซึ่งเป็นพันธะที่ไวต่อรังสี (Lee, 1962)

เมื่อนำค่าร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ มาสร้างสมการเส้นแนวโน้ม พบว่ากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างทั้ง 5 ตัวอย่างมีแนวโน้มการลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้นเป็นแบบฟังก์ชันเลขชี้กำลัง (exponential function) ตามสมการ $y = 101.0e^{-0.01x}$, $y = 99.15e^{-0.01x}$, $y = 101.7e^{-0.01x}$, $y = 100.6e^{-0.01x}$ และ $y = 100.8e^{-0.01x}$ สำหรับตัวอย่างที่ 16, 20, 21, 62 และ 65 ตามลำดับ เมื่อ y เท่ากับร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน และ x เท่ากับปริมาณรังสีในหน่วยกิโลเกรย์ โดยมีค่าความสัมพันธ์แบบเชิงเส้นกำลังสอง (R^2) เท่ากับ 0.997, 0.991, 0.997, 0.997 และ 0.994 ตามลำดับ (ภาพที่ 21-25) และเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ฉายรังสี พบว่าการฉายรังสีไม่มีผลต่อคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีของเมล็ดสบู่ดำ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการฉายรังสีในถั่วปากอ้า ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) เมล็ดโสน (*Sesbania aculeata*, *S. rostrata* และ *S. cannabina*) ที่ปริมาณรังสีในช่วง 10 กิโลเกรย์ (Al-Kaisey *et al.*, 2003; El-Niely, 1996; Siddhuraja *et al.*, 2002b) และถั่วเหลืองที่ผ่านการฉายรังสีสูงถึง 60 กิโลเกรย์ (Frag, 1998) รวมไปถึงธัญพืชที่ผ่านการฉายรังสีสูงถึง 150 กิโลเกรย์ ซึ่งพบว่าไม่มีผลต่อปริมาณของโปรตีนรวม (Marcotte and Tibelius, n.d.)

จากการศึกษากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำ โดยการศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างกราฟของโลว์วีเวอร์-เบอร์ค โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างในกลุ่มเดียวกันที่มีค่ากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินต่างกันเมื่อผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ พบว่าลักษณะกราฟที่ได้ทั้ง 5 ตัวอย่างมีลักษณะเดียวกัน (ภาพที่ 16-20) มีค่า K_m ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม และพบว่า V_{max} มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลดังกล่าวสรุปได้ว่าสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ทำการศึกษาเป็นสารยับยั้งประเภทแข่งขัน เช่นเดียวกันทั้ง 5 ตัวอย่าง เนื่องจากเมื่อตัวยับยั้ง (สารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากตัวอย่าง) และเอนไซม์ (สารละลายทริปซิน) มีค่าคงที่ค่าหนึ่ง แต่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดลง จะทำให้ตัวยับยั้งสามารถแข่งขันกับสารตั้งต้นในการเข้าจับกับเอนไซม์ได้เป็นอย่างดี ทำให้การยับยั้งเกิดได้สูง (อัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้นลดลง) แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นให้สูงขึ้นจะทำให้ตัวยับยั้งจับกับเอนไซม์ยากขึ้น ผลคือปริมาณการยับยั้งลดลง (อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้น) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นให้สูงขึ้นไปจนทำให้มีโมเลกุลของสารตั้งต้นอยู่มากกว่าโมเลกุลของตัวยับยั้งมาก ๆ จะทำให้มีการยับยั้งเกิดขึ้นน้อยมาก นั่นคือ V_{max} ของปฏิกิริยาไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ค่า K_m เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 29) และเมื่อนำไปสร้างกราฟของโลว์วีเวอร์-เบอร์คจะได้กราฟดังภาพที่ 7 ซึ่งแสดงถึงอิทธิพลของตัวยับยั้งแบบแข่งขัน (พัชรา, 2543)



ภาพที่ 29 กราฟแสดงผลของการยับยั้งแบบแข่งขันเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่มีตัวยับยั้ง

ที่มา: พัชรา (2543)

เนื่องจากการศึกษาในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของรังสีในปริมาณรังสีสูงถึง 60 กิโลเกรย์ ซึ่งยังไม่มีการศึกษาในเมล็ดสนุ่นดำ ในขณะที่มีรายงานผลของรังสี 25 กิโลเกรย์ ในถั่วเหลืองและ ธัญพืชที่ใช้เป็นอาหารนก รวมถึงอาหารปลาและอาหารหมูที่ผ่านการฉายรังสีที่ 50 กิโลเกรย์ รวม ไปถึงข้าวสาลีและฟางข้าวที่ปริมาณรังสี 250-750 กิโลเกรย์ ที่ใช้เป็นอาหารแกะ ซึ่งไม่มีผลต่อสัตว์ ที่บริโภค เช่น อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการบริโภคและคุณค่าทางอาหาร แม้ว่าจากผล การศึกษาในงานวิจัยนี้ซึ่งพบว่ารังสีแกมมาสามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำ ลงได้ และไม่มีผลต่อคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมี แต่การฉายรังสีอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทาง โครงสร้างทางเคมีในสาร โภชนาการบางชนิด เช่น ไขมันและใยอาหาร (Marcotte and Tibelius, n.d.) ดังนั้นการนำเมล็ดสนุ่นดำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ยังต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ เช่น อัตราการ เจริญเติบโต คุณค่าทางอาหาร ปริมาณการบริโภค ของสัตว์ รวมไปถึงสารต้านโภชนาการอื่นใน เมล็ดสนุ่นดำ ได้แก่ ซาโปนิน ฟิเตท เลคติน และสารในกลุ่ม phorbol esters ที่อยู่ในเมล็ดสนุ่นดำ อีกด้วย

สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานทางกายภาพและทางเคมี รวมถึงกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูคำทั้งก่อนและหลังการฉายรังสีสามารถสรุปได้ ดังนี้

1. เมล็ดสับดูคำทั้ง 5 ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทดลองมีคุณสมบัติพื้นฐานทางกายภาพแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีไม่แตกต่างกันมากนัก
2. สภาวะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์กิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูคำด้วยวิธีการศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น มีดังนี้ pH ในการสกัดสารยับยั้งทริปซินจากตัวอย่างเท่ากับ 10.00 ทำปฏิกิริยาเริ่มต้นในอัตราส่วนสารละลายทริปซินต่อสารยับยั้งทริปซินที่สกัดได้จากเมล็ดสับดูคำเท่ากับ 1 ต่อ 6 และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาเริ่มต้นมากกว่าหรือเท่ากับ 30 นาที
3. สารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูคำทั้ง 5 ตัวอย่าง มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน ประเภทผันกลับได้ แบบแข่งขัน เมื่อพิจารณาจากลักษณะที่ได้จากการสร้างกราฟของไลน์วัวร์-เบอร์ค และค่า K_m ที่มีการเปลี่ยนแปลงในขณะที่ค่า V_{max} ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเมล็ดสับดูคำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ในตัวอย่างเดียวกัน
4. กิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูคำที่ผ่านการฉายรังสีมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูคำที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มมากขึ้นกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินจะมีค่าลดลง โดยเมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินต่อปริมาณรังสี พบว่ากิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินมีแนวโน้มการลดลงเป็นแบบฟังก์ชันเลขชี้กำลังเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น
5. การฉายรังสีเมล็ดสับดูคำที่ปริมาณรังสี 10-60 กิโลเกรย์ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีพื้นฐานของเมล็ดสับดูคำ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดสับดูคำที่ไม่ผ่านการฉายรังสี จากการทดลองพบว่ารังสีแกมมาปริมาณ 60 กิโลเกรย์ สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินลงเหลือเพียงร้อยละ 37.40-42.42 ดังนั้นการฉายรังสีแกมมาจึงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถลดกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสับดูคำ โดยไม่มีผลต่อคุณสมบัติทางพื้นฐานเคมี จึงน่าจะพิจารณาเป็นทางเลือกหนึ่ง เพื่อใช้ปรับปรุงคุณภาพทางโภชนาการของเมล็ดสับดูคำต่อไป

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน ซึ่งเป็นสารต้านโภชนาการในเมล็ดสบู่ดำเพียงชนิดเดียว แต่ในเมล็ดสบู่ดำยังประกอบสารพิษในกลุ่ม phorbol esters และสารต้านโภชนาการ เช่น ซาโปนิน ไฟเตท และ เลคติน ดังนั้นจึงควรศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อสารพิษและสารต้านโภชนาการอื่น ๆ รวมถึงศึกษาวิธีการลดความเป็นพิษในเมล็ดสบู่ดำด้วยการฉายรังสีร่วมกับวิธีอื่น ๆ เช่น การใช้ความร้อน และการใช้ความร้อนร่วมกับสารเคมี เพื่อหาวิธีการลดความเป็นพิษจากเมล็ดสบู่ดำที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดต่อไป

ในการนำกากเมล็ดสบู่ดำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ ควรศึกษาเพิ่มเติมด้านอื่น ๆ เช่น ประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนในสัตว์ที่บริโภครวม ผลกระทบต่อสัตว์ที่บริโภครวม อัตราการเจริญเติบโต คุณค่าทางอาหาร ปริมาณการบริโภครวมของสัตว์ที่บริโภครวม รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของคุณสมบัติทางเคมีพื้นฐานที่อาจจะเกิดขึ้น เช่น การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน การเกิด peroxide ของไขมัน เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้ทราบปริมาณของกากเมล็ดสบู่ดำที่เหมาะสมกับสัตว์แต่ละประเภท

นอกจากนี้ยังควรศึกษาคูณสมบัติต่าง ๆ ของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำเพิ่มเติม เพื่อให้ทราบถึงชนิดและปริมาณของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำอีกด้วย

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. **ไบโอดีเซล น้ำมันเชื้อเพลิงจากพืช.**

แหล่งที่มา: <http://roiet.doe.go.th/atsamat/>, 29 มกราคม 2551

_____. 2548. **สบู่ดำ.** กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร ส่วนส่งเสริมและเผยแพร่. กรุงเทพฯ

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร.** สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

พัชรา วีระกะลัส. 2543. **เอนไซม์.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

รติกร อลงกรณ์โชติกุล. 2549. **ไบโอดีเซล.** แหล่งที่มา: http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/cp_3_2549_biodiesel.pdf, 29 มกราคม 2551

ระวี เจียรวิภา. 2548. **สบู่ดำ พืชพลังงานทดแทนที่มีศักยภาพ.** แหล่งที่มา: <http://www.doa.go.th/web-itc/library/agriculture.htm>, 3 พฤศจิกายน 2548.

Abdel Gadir, W.S., T.O. Onsa, W.E.M. Ali, S.M.A. El Badwi and S.E.I. Adam. 2003.

Comparative toxicity of *Croton macrostachys*, *Jatropha curcas* and *Piper abyssinica* seeds in Nubian goats. **Small Rumin. Res.** 48: 61–67.

Aderibrigde, A.O., C.O.L.E. Johnson., H.P.S. Makkar., K. Becker and N. Foidl. 1997. Chemical composition and effect of heat on organic matter- and nitrogen-degradability and some antinutritional components of *Jatropha* meal. **Anim. Feed Sci. Technol.** 67: 223–243.

Akintayo, E.T. 2004. Characteristics and composition of *Parkia biglobbosa* And *Jatropha curcas* oils and cakes. **Bioresour. Technol.** 92: 307–310.

Al-Kaisey, M.T., A.H. Alwan, M.H. Mohammad and A.H. Saeed. 2003. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad bean. **Radiat. Phys. Chem.** 67: 493–496.

- Boni-Mitake, M., H. Costa, P.J. Spencer, V.S. Vassilieff and J.R. Rogero. 2001. Effect of ^{60}Co Gamma radiation on crotamine. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 34: 1531-1538.
- Casarett A.P. 1968. **Radiation Biology**. Prentice-Hall, New Jersey.
- Chivandi, E., J.P. Mtimuni., J.S. Read and S.M. Makuza. 2004. Effect of Processing Method on Phorbol Esters Concentration, Total Phenolics, Trypsin Inhibitor Activity and the Proximate Composition of the Zimbabwean *Jatropha Curcas* Provenance: A Potential Livestock Feed. **Pak. J. Biol. Sci.** 7 (6): 1001-1005.
- Clarke, E. and J. Wiseman. 2005. Effects of variability in trypsin inhibitor content of soya bean meals on true and apparent ileal digestibility of amino acids and pancreas size in broiler chicks. **Anim. Feed Sci. Technol.** 121:125-138.
- Djeridane, A., J.M. Brunel., N. Vidal., M. Yousfi., E.H. Ajandouz and P. Stocker. 2008. Inhibitor of Porcine Liver carboxylesterase by a new flavones glucoside isolated from *Deverra scoparia*. **Chem. Biol. Interact.** 172: 22-26.
- El-Niely, H.F.G., 1996. **Chemical constituents and digestibility of broad beans subjected to Irradiation treatment**. M.Sc. Thesis. Ain Shams University.
- El-Shibawi, K. M. S. 1984. **Biochemical changes in protein of some food stuffs by ionising radiation**. M.S. thesis, Cairo University.
- Farag, M.D.H. 1998. The nutritive value for chicks of full - fat soybeans irradiated at up to 60 kGy. **Anim. Feed Sci. Technol.** 73: 319-328.
- Frattali, V. and Steiner, R. 2008. **Trypsin inhibitor**. Available Source: http://en.wikipedia.org/wiki/Trypsin_inhibitor, May 6, 2008.

- Fifield, C. C., Golumbia, C. and Pearson, J. L. 1967. Effects of irradiation on the biochemical storage and bread making properties of wheat. **Cereal Sci.** 12: 253–257.
- Gao, H., Y.N. Huang, B. Gao, P. Li, C. Inagaki and J. Kawabata. 2008. Inhibitory of effect on α -glucosidase by *Adhatoda vasica* Nees. **Food Chem.** 108: 965-972.
- Gatterdam, Volker. 2007. **BAPNA assay zur Aktivitätsbestimmung von Trypsin.** แหล่งที่มา: http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:BAPNA_assay.jpg, 25 มีนาคม 2551.
- Han, P., C.Q. Chen, C.L. Zhang, K.K. Song, H.T. Zhou and Q.X. Chen. 2008. Inhibitory effect of 4-chlorosacalicylic acid on mushroom tyrosinase and its antimicrobial activities. **Food Chem.** 107: 797-803.
- Hall, E.J., D. Phil., D.Sc., and F.A.C.R. 1994. **Radiobiology for the Radiologist.** 4th. J.B. Lippincott Company. Philadelphia.
- Hayakawa, S., H. Suzuki, T. Hayashi and K. Kawashima. 1985. Effect of gamma-irradiation on the nutritive value of domestic animal feeds. **Reports of Natural Food Research Institute.** 46: 109–113.
- Heller, J. 1996. **Physic nut: Jatropha curcas L.** International Plant Genetic Resources Institute. Rome
- Hickman, J. R., D. L. A. Mclean and F. J. Ley. 1964. Rat feeding studies on wheat treated with gamma irradiation. 1. Reproduction. **Food Cos. Toxicol.** 2: 15–20.
- Lee, C. C. 1962. Electron paramagnetic resonance (EPR) and packing studies on g-irradiation flour. **Cereal Chem.** 39: 147–155.

- Makkar, H.P.S., K. Becker., F. Sporer and M. Wink. 1997. Studies on Nutritive Potential and Toxic Constituent oh Different Provenances of *Jatropha curcas*. **J. Agric. Food. Chem.** 45: 3152-3157.
- Makkar, H.P.S., K. Becker and B. Schmook.1998. Edible provenances of *Jatropha curcas* From Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in Seed. **Plant Foods Hum. Nutr.** 52: 31–36.
- Marcotte, M. and C. Tibelius. n.d. **Irradiation of Animal Feeds**. แหล่งที่มา: <http://dev.archermalmo.com/ibaguardion/pdf/feed.pdf>, 19 พฤษภาคม 2549.
- Martinez-Herrera, J., P. Siddhuraju, G. Francis, G. Davila-Ortiz and K. Becker. 2006. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. **Food Chem.** 96: 80–86.
- Maton, A., J. Hopkins, C.W. McLaughlin, S. Johnson, M.Q. Warner, D. LaHart and J.D. Wright. 1993. **Human Biology and Health**. Prentice Hall. New Jersey.
- Moran, E. T., J. D. Summers, and H. S. Blayley. 1968. Effect of cobalt 60 gamma irradiation on the utilisation of energy, protein, and phosphorus from wheat bran by the chicken. **Cereal Chem.** 45: 469–479.
- Price, N. and L. Stevens. 1999. **Fundamentals of Enzymology**. Oxford University Press Inc. New York.
- Provansal, M.M.P., J. A. Cug and J. Cheftel. 1975. Chemical and nutritional modifications of sunflower proteins due to alkaline processing Formation of amino acid cross-links and isomerization of lysine residues. **J. Agric. Food. Chem.** 23: 938–943.

- Siddhuraju, P., H.P.S. Makkar and K. Becker. 2002a. The effect of ionising radiation on Antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chem.** 78: 187-205.
- Siddhuraju, P., O. Osoniyi, H.P.S. Makkar and K. Beck. 2002b. Effect of soaking and ionizing radiation on Various antinutritional factors of seeds from different species of an unconventional legume, *Sesbania* and a common legume, green gram (*Vigna radiate*). **Food Chem.** 79: 272-281.
- Wiesenhütter, J. 2003. **Use of the Physic Nut (*Jatropha curcas L.*) to Combat Desertification and Reduce Poverty.** แหล่งที่มา: http://www.underutilized-species.org/documents/use_of_jatropha_curcas_en.pdf, 3 มีนาคม 2549.
- Zhang, J.P., Y.W. Yan, J.J. Xie, Q. Wang and Q.X. Chen. 2007. Inhibitory kinetics of Phenol the Enzyme activity of β -N-acetyl-D-glucosamidnase From green crab (*Scylla serrata*). **Int. J. Biol. Macromol.** 40: 139-143.
- Zollner, H. 1993. **Handbook of Enzyme Inhibitors.** VHC. Weinheim.

ภาคผนวก

1. ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดสนุ่นดำ

ตารางผนวกที่ 1 ความกว้างของเมล็ดสนุ่นดำก่อนกระเพาะเปลือก

เมล็ด	ความกว้างของเมล็ดสนุ่นดำก่อนกระเพาะเปลือก (มม.)				
	16	20	21	62	65
1	10.84	11.68	10.62	11.08	10.48
2	11.46	11.98	11.38	11.10	11.24
3	11.04	11.98	10.80	11.50	10.70
4	10.88	11.90	11.10	11.04	10.48
5	11.18	11.20	11.40	10.68	10.82
6	12.00	11.14	11.14	10.78	11.78
7	11.60	11.48	10.80	11.10	11.34
8	11.40	11.74	11.92	10.68	10.56
9	11.40	11.26	11.30	10.94	10.64
10	11.56	10.90	10.48	11.66	11.08
11	11.40	12.22	11.88	11.22	10.78
12	11.08	12.06	10.10	11.54	10.30
13	11.00	11.50	11.52	11.44	10.46
14	11.52	11.26	11.28	11.10	10.80
15	11.50	11.00	11.00	11.00	11.00
16	12.16	10.90	11.30	11.32	11.12
17	11.52	11.32	10.82	10.80	11.42
18	11.18	11.00	10.96	11.18	10.70
19	11.40	11.04	10.22	11.14	11.28
20	11.60	11.08	11.10	10.64	10.74
ค่าเฉลี่ย	11.39	11.43	11.06	11.10	10.89
SD.	0.34	0.42	0.48	0.29	0.38

ตารางผนวกที่ 2 ความยาวของเมล็ดสนับดำก่อนกระเพาะเปลือก

เมล็ด	ความยาวของเมล็ดสนับดำก่อนกระเพาะเปลือก (มม.)				
	16	20	21	62	65
1	17.60	19.00	16.54	19.40	17.44
2	18.84	19.24	17.82	18.58	17.62
3	19.90	19.36	17.74	17.96	17.60
4	18.38	19.02	18.56	19.02	16.50
5	18.48	18.16	19.12	17.00	17.32
6	18.90	17.80	18.16	15.90	19.00
7	19.40	17.76	18.24	17.80	17.22
8	19.00	18.58	18.94	16.82	17.64
9	18.88	17.80	19.36	17.52	17.50
10	18.98	17.62	16.94	17.40	17.30
11	18.98	19.88	20.10	16.82	17.34
12	18.10	19.12	17.08	17.46	16.88
13	18.48	18.00	17.38	18.66	17.78
14	19.10	18.34	17.86	19.00	18.10
15	19.40	18.28	18.60	15.76	17.82
16	18.42	17.50	18.08	18.66	17.48
17	19.36	17.74	17.56	17.80	17.64
18	19.24	17.54	17.22	17.74	17.10
19	18.44	17.36	16.32	17.78	18.00
20	19.08	17.32	18.84	16.36	17.66
ค่าเฉลี่ย	18.85	18.27	18.02	17.67	17.55
SD.	0.53	0.76	0.98	1.03	0.50

ตารางผนวกที่ 3 ความกว้างของเมล็ดสนุ่นดำหลังกระเทาะเปลือก

เมล็ด	ความกว้างของเมล็ดสนุ่นดำหลังกระเทาะเปลือก (มม.)				
	16	20	21	62	65
1	9.28	9.38	8.86	9.10	8.18
2	9.26	9.58	7.72	9.00	9.48
3	9.00	9.64	8.28	8.84	9.02
4	8.00	9.38	8.62	8.36	8.72
5	8.82	9.04	9.24	8.44	8.28
6	9.42	8.90	8.70	9.12	8.88
7	9.40	8.92	9.00	8.42	9.62
8	9.00	9.32	9.72	8.58	8.42
9	8.86	9.28	8.68	8.24	8.16
10	9.54	8.78	8.64	7.92	9.52
11	9.18	9.92	9.50	8.52	8.84
12	8.74	9.80	8.72	9.22	8.16
13	8.92	9.32	9.80	8.82	8.24
14	8.90	8.80	8.88	8.56	8.68
15	9.16	8.96	8.00	8.00	8.62
16	9.90	8.70	9.02	8.64	8.74
17	9.32	9.22	8.01	8.34	8.96
18	9.18	9.00	8.32	8.88	8.28
19	9.00	9.18	7.80	8.84	9.00
20	9.06	9.00	9.08	8.00	8.26
ค่าเฉลี่ย	9.10	9.21	8.73	8.59	8.70
SD.	0.38	0.34	0.59	0.38	0.47

ตารางผนวกที่ 4_ ความยาวของเมล็ดสนุ่นดำหลังกระเพาะเปลือก

เมล็ด	ความยาวของเมล็ดสนุ่นดำหลังกระเพาะเปลือก (มม.)				
	16	20	21	62	65
1	15.10	15.62	14.58	16.00	14.46
2	15.92	15.90	14.52	15.50	14.88
3	15.98	16.04	15.34	14.90	14.80
4	15.04	15.82	15.82	16.22	14.66
5	15.44	15.40	16.06	15.54	14.54
6	15.20	14.72	15.06	13.68	14.32
7	15.80	15.10	15.60	15.00	16.64
8	15.60	15.48	15.56	13.94	14.92
9	15.76	14.98	16.04	14.52	14.60
10	15.56	14.90	14.46	14.90	14.62
11	15.00	16.18	16.44	14.66	14.16
12	15.12	15.76	14.80	14.82	14.40
13	15.10	14.64	14.84	15.50	14.90
14	15.66	15.18	15.50	15.78	15.12
15	15.70	14.90	15.62	13.88	15.00
16	15.14	14.72	15.30	15.20	15.12
17	15.76	14.66	15.04	14.32	14.68
18	16.16	14.84	14.10	14.76	14.68
19	15.40	15.00	14.14	15.60	15.00
20	15.56	14.98	15.26	13.00	14.62
ค่าเฉลี่ย	15.50	15.24	15.20	14.89	14.81
SD.	0.35	0.49	0.65	0.83	0.50

2. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมกับการทดลอง

2.1 ผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

ตารางผนวกที่ 5 ผลของ pH ของปฏิกิริยาการสกัดต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

pH	V(s ⁻¹)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
7.0	4.30	4.20	4.50
7.5	4.20	4.10	4.40
8.0	3.90	4.00	3.80
8.5	3.50	3.60	3.70
9.0	3.40	3.40	3.50
9.5	3.30	3.20	3.20
10.0	3.10	3.00	3.10
10.5	3.90	3.50	3.70

2.2 เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้น (pre-incubate) ต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

ตารางผนวกที่ 6 ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้นต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นของ
สารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสนุ่นดำ

เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต้น (นาที)	V(s ⁻¹)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	4.00	4.20	3.90
10	3.70	3.80	3.60
20	3.50	3.70	3.50
30	3.10	3.20	2.90
45	3.30	3.10	3.10
60	3.20	3.30	3.00

2.3 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินในเมล็ด
สบู่ดำต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเริ่มต้น

ตารางผนวกที่ 7 ผลของอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินในเมล็ด
สบู่ดำต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 0
กิโลเกรย์

อัตราส่วน สารละลายทริปซิน : สารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากเมล็ดสบู่ดำ	V(s ⁻¹)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
1:1	3.06	3.18	2.98
1:2	2.85	2.98	2.74
1:3	2.63	2.76	2.50
1:4	2.43	2.50	2.32
1:5	2.20	2.30	2.10
1:6	2.00	2.10	1.85
1:7	2.00	2.13	1.87
1:8	2.05	2.15	1.95
1:9	1.98	2.05	1.89
1:10	1.98	2.19	1.78

ตารางผนวกที่ 8 ผลของอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายทริปซินกับสารยับยั้งทริปซินในเมล็ด
 สบู่ดำต่ออัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 60
 กิโลเกรย์

อัตราส่วน สารละลายทริปซิน : สารยับยั้งทริปซินที่สกัดจากเมล็ดสบู่ดำ	V(s ⁻¹)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
1:1	1.97	2.04	1.88
1:2	1.57	1.70	1.46
1:3	1.58	1.65	1.53
1:4	1.54	1.67	1.43
1:5	1.60	1.65	1.53
1:6	1.55	1.64	1.44
1:7	1.53	1.67	1.37
1:8	1.48	1.62	1.36
1:9	1.53	1.68	1.36
1:10	1.51	1.58	1.42

3. ผลการศึกษาผลของรังสีต่อกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินทั้ง 5 ตัวอย่าง

ตารางผนวกที่ 9 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 1

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.709	0.270	0.296	0.333	0.357	0.442
0.250	1.288	0.514	0.568	0.640	0.678	0.829
0.375	1.481	0.677	0.750	0.835	0.874	1.035
0.500	2.000	0.895	1.011	1.123	1.174	1.382
0.625	1.840	0.952	1.065	1.170	1.210	1.561
0.750	2.043	1.086	1.221	1.337	1.377	1.561
0.875	2.083	1.166	1.310	1.426	1.463	1.635
1.000	2.250	1.276	1.442	1.569	1.605	1.784
1.125	2.333	1.355	1.536	1.666	1.697	1.874
1.250	2.402	1.428	1.622	1.755	1.781	1.952

ตารางผนวกที่ 10 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 2

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.709	0.273	0.303	0.338	0.361	0.464
0.250	1.288	0.522	0.578	0.640	0.679	0.874
0.375	1.481	0.693	0.759	0.827	0.869	1.092
0.500	2.000	0.922	1.017	1.103	1.155	1.464
0.625	1.840	0.982	1.069	1.144	1.186	1.474
0.750	2.043	1.127	1.223	1.302	1.342	1.657
0.875	2.083	1.213	1.309	1.382	1.419	1.736
1.000	2.250	1.333	1.530	1.517	1.550	1.897
1.125	2.333	1.421	1.439	1.603	1.635	2.000
1.250	2.402	1.500	1.612	1.683	1.711	2.083

ตารางผนวกที่ 11 ค่าอัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 3

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.708	0.266	0.286	0.322	0.344	0.426
0.250	1.173	0.487	0.533	0.596	0.623	0.752
0.375	1.454	0.666	0.725	0.806	0.825	0.976
0.500	1.783	0.855	0.941	1.049	1.058	1.243
0.625	1.937	0.988	1.097	1.214	1.208	1.397
0.750	2.000	1.074	1.191	1.039	1.286	1.463
0.875	2.272	1.250	1.399	1.544	1.500	1.707
1.000	2.312	1.325	1.487	1.640	1.578	1.778
1.125	2.397	1.414	1.567	1.750	1.673	1.872
1.250	2.472	1.491	1.696	1.857	1.757	1.955

ตารางผนวกที่ 12 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 20 ชั่วโมงที่ 1

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.718	0.233	0.250	0.289	0.313	0.382
0.250	1.052	0.413	0.442	0.507	0.538	0.641
0.375	1.396	0.602	0.643	0.738	0.779	0.928
0.500	1.470	0.700	0.739	0.839	0.874	1.017
0.625	1.899	0.882	0.931	1.070	1.111	1.297
0.750	2.107	1.018	1.067	1.231	1.267	1.474
0.875	2.155	1.105	1.155	1.327	1.358	1.567
1.000	2.324	1.219	1.268	1.464	1.488	1.717
1.125	2.324	1.281	1.326	1.528	1.545	1.765
1.250	2.391	1.358	1.402	1.616	1.625	1.850

ตารางผนวกที่ 13 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 2

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.718	0.222	0.243	0.277	0.303	0.374
0.250	1.052	0.399	0.426	0.485	0.522	0.631
0.375	1.487	0.583	0.618	0.708	0.754	0.915
0.500	1.470	0.684	0.713	0.807	0.850	1.000
0.625	1.899	0.867	0.896	1.027	1.078	1.283
0.750	2.107	1.000	1.027	1.178	1.231	1.460
0.875	2.155	1.095	1.112	1.272	1.321	1.553
1.000	2.324	1.213	1.223	1.401	1.448	1.702
1.125	2.391	1.277	1.279	1.464	1.506	1.750
1.250	2.324	1.359	1.352	1.547	1.583	1.838

ตารางผนวกที่ 14 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 3

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.685	0.234	0.250	0.285	0.312	0.374
0.250	1.147	0.432	0.466	0.527	0.573	0.673
0.375	1.380	0.586	0.629	0.705	0.761	0.877
0.500	1.543	0.717	0.764	0.850	0.916	1.039
0.625	1.851	0.872	0.927	1.036	1.117	1.259
0.750	1.854	0.949	1.008	1.115	1.195	1.329
0.875	1.949	1.040	1.097	1.216	1.299	1.434
1.000	1.960	1.098	1.156	1.274	1.358	1.484
1.125	2.089	1.189	1.250	1.377	1.463	1.600
1.250	2.146	1.254	1.315	1.448	1.542	1.670

ตารางผนวกที่ 15 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 1

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.689	0.262	0.285	0.322	0.348	0.434
0.250	1.210	0.500	0.541	0.605	0.650	0.799
0.375	1.396	0.658	0.714	0.787	0.839	1.000
0.500	1.818	0.863	0.941	1.034	1.103	1.310
0.625	1.807	0.956	1.039	1.125	1.192	1.380
0.750	1.882	1.058	1.149	1.231	1.302	1.482
0.875	2.041	1.178	1.281	1.365	1.440	1.632
1.000	2.060	1.245	1.350	1.430	1.506	1.685
1.125	2.125	1.321	1.434	1.511	1.587	1.764
1.250	2.183	1.392	1.511	1.585	1.663	1.837

ตารางผนวกที่ 16 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 2

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.689	0.261	0.281	0.322	0.343	0.437
0.250	1.205	0.500	0.530	0.606	0.637	0.803
0.375	1.416	0.676	0.706	0.799	0.827	1.020
0.500	1.818	0.888	0.919	1.045	1.073	1.326
0.625	1.837	1.000	1.023	1.151	1.170	1.416
0.750	1.931	1.119	1.134	1.273	1.281	1.536
0.875	2.083	1.250	1.259	1.412	1.411	1.684
1.000	2.121	1.337	1.334	1.487	1.480	1.750
1.125	2.192	1.426	1.417	1.581	1.562	1.839
1.250	2.252	1.511	1.490	1.662	1.634	1.916

ตารางผนวกที่ 17 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 3

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.765	0.282	0.306	0.343	0.371	0.466
0.250	1.181	0.509	0.577	0.610	0.652	0.796
0.375	1.724	0.743	0.837	0.907	0.972	1.181
0.500	1.739	0.865	0.978	1.042	1.107	1.297
0.625	2.302	1.102	1.280	1.354	1.445	1.702
0.750	2.561	1.266	1.409	1.564	1.666	1.940
0.875	2.688	1.391	1.658	1.718	1.825	2.100
1.000	2.892	1.530	1.847	1.897	2.014	2.297
1.125	2.958	1.625	1.974	2.012	2.130	2.405
1.250	3.069	1.727	2.122	2.144	2.266	2.538

ตารางผนวกที่ 18 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 1

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.696	0.244	0.263	0.294	0.322	0.394
0.250	1.125	0.451	0.480	0.532	0.578	0.692
0.375	1.353	0.618	0.651	0.708	0.765	0.897
0.500	1.658	0.794	0.829	0.897	0.965	1.125
0.625	1.788	0.925	0.957	1.028	1.100	1.265
0.750	1.802	1.016	1.042	1.107	1.177	1.333
0.875	2.062	1.173	1.197	1.270	1.350	1.530
1.000	2.096	1.252	1.273	1.342	1.421	1.596
1.125	2.166	1.342	1.354	1.421	1.500	1.676
1.250	2.225	1.422	1.430	1.492	1.574	1.750

ตารางผนวกที่ 19 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 2

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.696	0.269	0.297	0.329	0.355	0.430
0.250	1.125	0.487	0.541	0.594	0.627	0.750
0.375	1.353	0.658	0.724	0.790	0.820	0.958
0.500	1.658	0.837	0.922	1.000	1.030	1.202
0.625	1.788	0.961	1.060	1.145	1.162	1.343
0.750	1.802	1.042	1.143	1.227	1.234	1.407
0.875	2.062	1.193	1.316	1.414	1.411	1.615
1.000	2.096	1.264	1.392	1.488	1.477	1.678
1.125	2.166	1.342	1.477	1.577	1.555	1.759
1.250	2.225	1.413	1.557	1.656	1.625	1.830

ตารางผนวกที่ 20 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 3

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.698	0.265	0.285	0.319	0.348	0.416
0.250	1.041	0.465	0.511	0.563	0.602	0.685
0.375	1.464	0.674	0.744	0.833	0.880	0.976
0.500	1.470	0.774	0.858	0.949	0.987	1.061
0.625	1.880	0.972	1.097	1.225	1.272	1.339
0.750	2.090	1.115	1.270	1.421	1.464	1.511
0.875	2.141	1.203	1.377	1.537	1.574	1.593
1.000	2.314	1.322	1.531	1.711	1.742	1.736
1.125	2.315	1.380	1.602	1.784	1.805	1.775
1.250	2.384	1.457	1.701	1.894	1.906	1.852

ตารางผนวกที่ 21 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 1

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.703	0.238	0.258	0.289	0.316	0.390
0.250	1.020	0.416	0.454	0.500	0.534	0.645
0.375	1.396	0.612	0.670	0.739	0.774	0.946
0.500	1.428	0.700	0.760	0.826	0.850	1.015
0.625	1.902	0.894	0.980	1.071	1.091	1.324
0.750	2.100	1.026	1.125	1.226	1.234	1.500
0.875	2.166	1.117	1.226	1.328	1.324	1.598
1.000	2.325	1.226	1.348	1.457	1.440	1.743
1.125	2.344	1.291	1.418	1.528	1.500	1.802
1.250	2.416	1.367	1.500	1.617	1.573	1.887

ตารางผนวกที่ 22 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 2

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.712	0.242	0.263	0.297	0.328	0.399
0.250	1.020	0.421	0.457	0.511	0.558	0.653
0.375	1.500	0.619	0.673	0.756	0.823	0.960
0.500	1.428	0.703	0.756	0.842	0.901	1.019
0.625	1.921	0.902	0.979	1.097	1.178	1.337
0.750	2.100	1.028	1.114	1.250	1.337	1.500
0.875	2.189	1.125	1.216	1.361	1.447	1.606
1.000	2.325	1.225	1.324	1.482	1.574	1.734
1.125	2.367	1.295	1.399	1.565	1.651	1.803
1.250	2.439	1.372	1.480	1.654	1.741	1.887

ตารางผนวกที่ 23 อัตราเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนต่อเวลาที่ความเข้มข้นสารตั้งต้นต่าง ๆ ในตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 3

[S] mM	V(s ⁻¹)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
0.125	0.694	0.250	0.265	0.294	0.321	0.393
0.250	1.202	0.476	0.511	0.550	0.602	0.732
0.375	1.469	0.658	0.707	0.750	0.810	0.972
0.500	1.660	0.815	0.877	0.909	0.981	1.170
0.625	2.041	1.017	1.101	1.125	1.218	1.457
0.750	2.043	1.114	1.208	1.216	1.308	1.545
0.875	2.163	1.235	1.342	1.336	1.433	1.686
1.000	2.174	1.312	1.425	1.403	1.500	1.750
1.125	2.342	1.440	1.574	1.534	1.640	1.914
1.250	2.416	1.534	1.677	1.619	1.730	2.012

ตารางผนวกที่ 24 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 1

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (s)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.410	3.704	3.378	3.003	2.801	2.262
4.00	0.776	1.946	1.761	1.563	1.475	1.206
2.67	0.675	1.477	1.333	1.198	1.144	0.966
2.00	0.500	1.117	0.989	0.890	0.852	0.724
1.60	0.543	1.050	0.939	0.855	0.826	0.641
1.33	0.489	0.921	0.819	0.748	0.726	0.641
1.14	0.480	0.858	0.763	0.701	0.684	0.612
1.00	0.444	0.784	0.693	0.637	0.623	0.561
0.89	0.429	0.738	0.651	0.600	0.589	0.534
0.80	0.416	0.700	0.617	0.570	0.561	0.512

ตารางผนวกที่ 25 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 2

$1/[S]$ (mM) 1)	$1/V$ (s)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.410	3.663	3.300	2.959	2.770	2.155
4.00	0.776	1.916	1.730	1.563	1.473	1.144
2.67	0.675	1.443	1.318	1.209	1.151	0.916
2.00	0.500	1.085	0.983	0.907	0.866	0.683
1.60	0.543	1.018	0.935	0.874	0.843	0.678
1.33	0.489	0.887	0.818	0.768	0.745	0.604
1.14	0.480	0.824	0.764	0.724	0.705	0.576
1.00	0.444	0.750	0.654	0.659	0.645	0.527
0.89	0.429	0.704	0.695	0.624	0.612	0.500
0.80	0.416	0.667	0.620	0.594	0.584	0.480

ตารางผนวกที่ 26 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 16 ซ้ำที่ 3

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (s)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.412	3.759	3.497	3.106	2.907	2.347
4.00	0.853	2.053	1.876	1.678	1.605	1.330
2.67	0.688	1.502	1.379	1.241	1.212	1.025
2.00	0.561	1.170	1.063	0.953	0.945	0.805
1.60	0.516	1.012	0.912	0.824	0.828	0.716
1.33	0.500	0.931	0.840	0.962	0.778	0.684
1.14	0.440	0.800	0.715	0.648	0.667	0.586
1.00	0.433	0.755	0.672	0.610	0.634	0.562
0.89	0.417	0.707	0.638	0.571	0.598	0.534
0.80	0.405	0.671	0.590	0.539	0.569	0.512

ตารางผนวกที่ 27 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 1

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (s)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.393	4.292	4.000	3.460	3.195	2.618
4.00	0.951	2.421	2.262	1.972	1.859	1.560
2.67	0.716	1.661	1.555	1.355	1.284	1.078
2.00	0.680	1.429	1.353	1.192	1.144	0.983
1.60	0.527	1.134	1.074	0.935	0.900	0.771
1.33	0.475	0.982	0.937	0.812	0.789	0.678
1.14	0.464	0.905	0.866	0.754	0.736	0.638
1.00	0.430	0.820	0.789	0.683	0.672	0.582
0.89	0.430	0.781	0.754	0.654	0.647	0.567
0.80	0.418	0.736	0.713	0.619	0.615	0.541

ตารางผนวกที่ 28 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 2

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (s)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.393	4.505	4.115	3.610	3.300	2.674
4.00	0.951	2.506	2.347	2.062	1.916	1.585
2.67	0.672	1.715	1.618	1.412	1.326	1.093
2.00	0.680	1.462	1.403	1.239	1.176	1.000
1.60	0.527	1.153	1.116	0.974	0.928	0.779
1.33	0.475	1.000	0.974	0.849	0.812	0.685
1.14	0.464	0.913	0.899	0.786	0.757	0.644
1.00	0.430	0.824	0.818	0.714	0.691	0.588
0.89	0.418	0.783	0.782	0.683	0.664	0.571
0.80	0.430	0.736	0.740	0.646	0.632	0.544

ตารางผนวกที่ 29 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 20 ซ้ำที่ 3

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.460	4.274	4.000	3.509	3.205	2.674
4.00	0.872	2.315	2.146	1.898	1.745	1.486
2.67	0.725	1.706	1.590	1.418	1.314	1.140
2.00	0.648	1.395	1.309	1.176	1.092	0.962
1.60	0.540	1.147	1.079	0.965	0.895	0.794
1.33	0.539	1.054	0.992	0.897	0.837	0.752
1.14	0.513	0.962	0.912	0.822	0.770	0.697
1.00	0.510	0.911	0.865	0.785	0.736	0.674
0.89	0.479	0.841	0.800	0.726	0.684	0.625
0.80	0.466	0.797	0.760	0.691	0.649	0.599

ตารางผนวกที่ 30 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 1

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.451	3.817	3.509	3.106	2.874	2.304
4.00	0.826	2.000	1.848	1.653	1.538	1.252
2.67	0.716	1.520	1.401	1.271	1.192	1.000
2.00	0.550	1.159	1.063	0.967	0.907	0.763
1.60	0.553	1.046	0.962	0.889	0.839	0.725
1.33	0.531	0.945	0.870	0.812	0.768	0.675
1.14	0.490	0.849	0.781	0.733	0.694	0.613
1.00	0.485	0.803	0.741	0.699	0.664	0.593
0.89	0.471	0.757	0.697	0.662	0.630	0.567
0.80	0.458	0.718	0.662	0.631	0.601	0.544

ตารางผนวกที่ 31 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 2

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.451	3.831	3.559	3.106	2.915	2.288
4.00	0.830	2.000	1.887	1.650	1.570	1.245
2.67	0.706	1.479	1.416	1.252	1.209	0.980
2.00	0.550	1.126	1.088	0.957	0.932	0.754
1.60	0.544	1.000	0.978	0.869	0.855	0.706
1.33	0.518	0.894	0.882	0.786	0.781	0.651
1.14	0.480	0.800	0.794	0.708	0.709	0.594
1.00	0.471	0.748	0.750	0.672	0.676	0.571
0.89	0.456	0.701	0.706	0.633	0.640	0.544
0.80	0.444	0.662	0.671	0.602	0.612	0.522

ตารางผนวกที่ 32 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 21 ซ้ำที่ 3

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.307	3.546	3.268	2.915	2.695	2.146
4.00	0.847	1.965	1.733	1.639	1.534	1.256
2.67	0.580	1.346	1.195	1.103	1.029	0.847
2.00	0.575	1.156	1.022	0.960	0.903	0.771
1.60	0.434	0.907	0.781	0.739	0.692	0.588
1.33	0.390	0.790	0.710	0.639	0.600	0.515
1.14	0.372	0.719	0.603	0.582	0.548	0.476
1.00	0.346	0.654	0.541	0.527	0.497	0.435
0.89	0.338	0.615	0.507	0.497	0.469	0.416
0.80	0.326	0.579	0.471	0.466	0.441	0.394

ตารางผนวกที่ 33 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 1

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.437	4.098	3.802	3.401	3.106	2.538
4.00	0.889	2.217	2.083	1.880	1.730	1.445
2.67	0.739	1.618	1.536	1.412	1.307	1.115
2.00	0.603	1.259	1.206	1.115	1.036	0.889
1.60	0.559	1.081	1.045	0.973	0.909	0.791
1.33	0.555	0.984	0.960	0.903	0.850	0.750
1.14	0.485	0.853	0.835	0.787	0.741	0.654
1.00	0.477	0.799	0.786	0.745	0.704	0.627
0.89	0.462	0.745	0.739	0.704	0.667	0.597
0.80	0.449	0.703	0.699	0.670	0.635	0.571

ตารางผนวกที่ 34 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 2

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.437	3.717	3.367	3.040	2.817	2.326
4.00	0.889	2.053	1.848	1.684	1.595	1.333
2.67	0.739	1.520	1.381	1.266	1.220	1.044
2.00	0.603	1.195	1.085	1.000	0.971	0.832
1.60	0.559	1.041	0.943	0.873	0.861	0.745
1.33	0.555	0.960	0.875	0.815	0.810	0.711
1.14	0.485	0.838	0.760	0.707	0.709	0.619
1.00	0.477	0.791	0.718	0.672	0.677	0.596
0.89	0.462	0.745	0.677	0.634	0.643	0.569
0.80	0.449	0.708	0.642	0.604	0.615	0.546

ตารางผนวกที่ 35 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 62 ซ้ำที่ 3

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.433	3.774	3.509	3.135	2.874	2.404
4.00	0.961	2.151	1.957	1.776	1.661	1.460
2.67	0.683	1.484	1.344	1.200	1.136	1.025
2.00	0.680	1.292	1.166	1.054	1.013	0.943
1.60	0.532	1.029	0.912	0.816	0.786	0.747
1.33	0.478	0.897	0.787	0.704	0.683	0.662
1.14	0.467	0.831	0.726	0.651	0.635	0.628
1.00	0.432	0.756	0.653	0.584	0.574	0.576
0.89	0.432	0.725	0.624	0.561	0.554	0.563
0.80	0.419	0.686	0.588	0.528	0.525	0.540

ตารางผนวกที่ 36 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 1

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.422	4.202	3.876	3.460	3.165	2.564
4.00	0.980	2.404	2.203	2.000	1.873	1.550
2.67	0.716	1.634	1.493	1.353	1.292	1.057
2.00	0.700	1.429	1.316	1.211	1.176	0.985
1.60	0.526	1.119	1.020	0.934	0.917	0.755
1.33	0.476	0.975	0.889	0.816	0.810	0.667
1.14	0.462	0.895	0.816	0.753	0.755	0.626
1.00	0.430	0.816	0.742	0.686	0.694	0.574
0.89	0.427	0.775	0.705	0.654	0.667	0.555
0.80	0.414	0.732	0.667	0.618	0.636	0.530

ตารางผนวกที่ 37 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 2

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.404	4.132	3.802	3.367	3.049	2.506
4.00	0.980	2.375	2.188	1.957	1.792	1.531
2.67	0.667	1.616	1.486	1.323	1.215	1.042
2.00	0.700	1.422	1.323	1.188	1.110	0.981
1.60	0.521	1.109	1.021	0.912	0.849	0.748
1.33	0.476	0.973	0.898	0.800	0.748	0.667
1.14	0.457	0.889	0.822	0.735	0.691	0.623
1.00	0.430	0.816	0.755	0.675	0.635	0.577
0.89	0.422	0.772	0.715	0.639	0.606	0.555
0.80	0.410	0.729	0.676	0.605	0.574	0.530

ตารางผนวกที่ 38 ค่า $1/V$ และ $1/[S]$ ของตัวอย่างที่ 65 ซ้ำที่ 3

$1/[S]$ (mM^{-1})	$1/V$ (S)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
8.00	1.441	4.000	3.774	3.401	3.115	2.545
4.00	0.832	2.101	1.957	1.818	1.661	1.366
2.67	0.681	1.520	1.414	1.333	1.235	1.029
2.00	0.602	1.227	1.140	1.100	1.019	0.855
1.60	0.490	0.983	0.908	0.889	0.821	0.686
1.33	0.489	0.898	0.828	0.822	0.765	0.647
1.14	0.462	0.810	0.745	0.749	0.698	0.593
1.00	0.460	0.762	0.702	0.713	0.667	0.571
0.89	0.427	0.694	0.635	0.652	0.610	0.522
0.80	0.414	0.652	0.596	0.618	0.578	0.497

4. ค่า V_{max} และค่า K_m ของกลุ่มควบคุมและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตารางผนวกที่ 39 ค่า V_{max} ของกลุ่มควบคุมและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตัวอย่าง/ ซ้ำ	$V_{max} (s^{-1})$					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
16 ซ้ำ 1	0.300	0.359	0.302	0.292	0.306	0.300
16 ซ้ำ 2	0.300	0.328	0.317	0.325	0.335	0.288
16 ซ้ำ 3	0.294	0.329	0.273	0.288	0.313	0.312
20 ซ้ำ 1	0.321	0.349	0.352	0.31	0.335	0.316
20 ซ้ำ 2	0.318	0.324	0.373	0.324	0.342	0.314
20 ซ้ำ 3	0.354	0.411	0.394	0.375	0.364	0.368
21 ซ้ำ 1	0.333	0.358	0.330	0.340	0.334	0.334
21 ซ้ำ 2	0.320	0.296	0.336	0.311	0.343	0.313
21 ซ้ำ 3	0.225	0.256	0.174	0.202	0.199	0.207
62 ซ้ำ 1	0.344	0.330	0.359	0.37	0.365	0.358
62 ซ้ำ 2	0.344	0.376	0.343	0.337	0.375	0.353
62 ซ้ำ 3	0.313	0.349	0.269	0.244	0.271	0.339
65 ซ้ำ 1	0.316	0.357	0.318	0.314	0.366	0.314
65 ซ้ำ 2	0.313	0.365	0.341	0.311	0.312	0.323
65 ซ้ำ 3	0.290	0.278	0.240	0.306	0.395	0.268

ตารางผนวกที่ 40 ค่า Km ของกลุ่มควบคุมและสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำที่ผ่านการฉายรังสี
ปริมาณรังสีต่างๆ

ตัวอย่าง/ ซ้ำ	Km (mM)					
	กลุ่มควบคุม	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
16 ซ้ำ 1	2.24	0.87	0.80	0.87	0.99	1.25
16 ซ้ำ 2	2.24	0.79	0.86	1.00	1.12	1.26
16 ซ้ำ 3	2.10	0.77	0.68	0.82	0.97	1.22
20 ซ้ำ 1	2.31	0.70	0.77	0.78	0.93	1.08
20 ซ้ำ 2	2.29	0.62	0.79	0.78	0.91	1.05
20 ซ้ำ 3	2.60	0.85	0.88	0.96	1.03	1.29
21 ซ้ำ 1	2.45	0.84	0.84	0.99	1.06	1.38
21 ซ้ำ 2	2.32	0.68	0.84	0.90	1.08	1.28
21 ซ้ำ 3	1.62	0.62	0.45	0.59	0.63	0.84
62 ซ้ำ 1	2.51	0.70	0.83	0.98	1.07	1.31
62 ซ้ำ 2	2.51	0.90	0.91	1.00	1.23	1.44
62 ซ้ำ 3	2.17	0.81	0.66	0.67	0.82	1.29
65 ซ้ำ 1	2.19	0.74	0.71	0.79	1.03	1.10
65 ซ้ำ 2	2.20	0.77	0.78	0.80	0.90	1.16
65 ซ้ำ 3	2.06	0.60	0.55	0.80	1.13	0.95

ตารางผนวกที่ 41 ค่าร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในตัวอย่างเมล็ดสนุ่นดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ได้จากการสร้างกราฟของไลน์วีเวอร์-เบอร์ค โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตัวอย่าง/ซ้ำ	กิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน				
	0 กิโลเกรย์	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
16 ซ้ำ 1	0.279	0.246	0.200	0.174	0.107
16 ซ้ำ 2	0.279	0.235	0.191	0.166	0.095
16 ซ้ำ 3	0.289	0.263	0.211	0.184	0.115
20 ซ้ำ 1	0.358	0.321	0.259	0.223	0.153
20 ซ้ำ 2	0.388	0.333	0.276	0.235	0.16
20 ซ้ำ 3	0.345	0.312	0.253	0.217	0.150
21 ซ้ำ 1	0.292	0.257	0.206	0.178	0.106
21 ซ้ำ 2	0.300	0.261	0.208	0.18	0.106
21 ซ้ำ 3	0.275	0.249	0.204	0.177	0.107
62 ซ้ำ 1	0.334	0.294	0.242	0.205	0.136
62 ซ้ำ 2	0.281	0.241	0.201	0.168	0.109
62 ซ้ำ 3	0.288	0.264	0.221	0.185	0.118
65 ซ้ำ 1	0.342	0.305	0.254	0.211	0.142
65 ซ้ำ 2	0.335	0.296	0.245	0.205	0.136
65 ซ้ำ 3	0.322	0.298	0.244	0.209	0.141

ตารางผนวกที่ 42 ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซินในเมล็ดสบู่ดำทั้ง 5 ตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณรังสีต่าง ๆ

ตัวอย่าง/ซ้ำ	ร้อยละกิจกรรมของสารยับยั้งทริปซิน			
	10 กิโลเกรย์	20 กิโลเกรย์	30 กิโลเกรย์	60 กิโลเกรย์
16 ซ้ำ 1	11.83	28.32	37.63	61.65
16 ซ้ำ 2	15.77	31.54	40.50	65.95
16 ซ้ำ 3	9.00	26.99	36.33	60.21
20 ซ้ำ 1	10.34	27.65	37.71	57.26
20 ซ้ำ 2	14.18	28.87	39.43	58.76
20 ซ้ำ 3	9.57	26.67	37.10	56.52
21 ซ้ำ 1	11.99	29.45	39.04	63.70
21 ซ้ำ 2	13.00	30.67	40.00	64.67
21 ซ้ำ 3	9.45	25.82	35.64	61.09
62 ซ้ำ 1	11.98	27.54	38.62	59.28
62 ซ้ำ 2	14.23	28.47	40.21	61.21
62 ซ้ำ 3	8.33	23.26	35.76	59.03
65 ซ้ำ 1	10.82	25.73	38.30	58.48
65 ซ้ำ 2	11.64	26.87	38.81	59.40
65 ซ้ำ 3	7.45	24.22	35.09	56.21

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล

นายศรายุทธ ขัดคำ

วัน เดือน ปี ที่เกิด

8 พฤษภาคม 2526

สถานที่เกิด

อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ประวัติการศึกษา

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขารังสีประยุกต์และ
ไอโซโทป(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์