

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ผู้สูงอายุเป็นประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดภาวะทุพโภชนาการ จากข้อมูลแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 10 ระบุอย่างชัดเจนถึงแนวโน้มที่ประเทศไทยจะเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุใน 20 ปีข้างหน้า โดยระบุว่าประชากรวัยเด็กมีสัดส่วนลดลงอย่างรวดเร็วจากร้อยละ 24.3 ในปี พ.ศ. 2543 เป็นร้อยละ 20.2 ในปี พ.ศ. 2558 ประชากรวัยทำงานยังคงมีสัดส่วนสูงอย่างต่อเนื่องจากร้อยละ 65.9 ในปี พ.ศ. 2543 และสูงสุดในปี พ.ศ. 2552 คือร้อยละ 67.1 ก่อนจะลดลงเป็นร้อยละ 66.0 ในปี พ.ศ. 2558 สำหรับประชากรวัยสูงอายุมีสัดส่วนสูงขึ้นเป็นลำดับจากร้อยละ 9.5 ในปี พ.ศ. 2543 เป็นร้อยละ 13.8 ในปี พ.ศ. 2558 ผู้สูงอายุมักเกิดปัญหาทางสุขภาพหลายๆ ด้านพร้อมกัน โรคที่พบได้บ่อยในผู้สูงอายุ มีทั้งโรคที่เกิดขึ้นทางร่างกาย และจากปัญหาทางจิตใจ ได้แก่ โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหัวใจขาดเลือด โรคความดันโลหิตสูง โรคไขมันในเลือดสูง โรคข้อเสื่อม โรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เช่น ท้องอืด หรือท้องผูก โรคทางประสาทตา เช่น โรคต้อหิน หรือ ต้อกระจก โรคสมองเสื่อม โรคอัลไซเมอร์ และอาการวิตกกังวล นอนไม่หลับ เป็นต้น โดยสาเหตุสำคัญมาจากความเสื่อมทั้งด้านร่างกายและจิตใจ รวมถึงการดูแลสุขภาพที่ไม่เหมาะสม ที่ส่งผลให้ผู้สูงอายุมักขาดสารอาหารในระดับที่ทำให้เกิดภาวะทุพโภชนาการได้ง่าย แม้ว่าผู้สูงอายุจะมีความต้องการอาหารในปริมาณที่ลดลงจากวัยหนุ่มสาว แต่จำเป็นต้องได้รับสารอาหารอย่างเพียงพอเพื่อซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และสร้างความต้านทานโรค เนื่องจากเมื่ออายุเข้าสู่วัยสูงอายุจะมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางร่างกาย สังคม และเศรษฐกิจ เช่น การรับรู้สารอาหารได้น้อยลง การเสื่อมของระบบย่อยและดูดซึมอาหารของผู้สูงอายุ อีกทั้งผู้สูงอายุที่มีโรคประจำตัว อาจจะเป็นอุปสรรคในการไปหาซื้ออาหารข้างนอก หรือแม้แต่การจะประกอบอาหารด้วยตนเอง ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดำรงชีวิต เช่น การมีข้อจำกัดจากสภาพทางเศรษฐกิจ เนื่องจากไม่มีรายได้หรือมีรายได้ลดลงที่ต้องใช้จ่ายเงินอย่างระมัดระวัง อีกทั้งการที่ต้องอยู่บ้านคนเดียวขาดการติดต่อกับสังคมภายนอก การมีกิจกรรมในชีวิตประจำวันหรือการพบปะสังสรรค์ทางสังคมน้อยลง ที่มีผลต่อสภาพทางจิตใจ ทำให้เบื่ออาหาร ตลอดจนการเลือกรับประทานอาหารโดยไม่คำนึงถึงประเภทที่หลากหลาย และของสารอาหารที่ควรได้รับครบถ้วน หรือไม่ครบถ้วนมากเกินไป ผู้สูงอายุจึงมีโอกาที่จะบริโภคโปรตีนไม่เพียงพอไม่ครบตามความต้องการหรือมีคุณภาพไม่ดีพอในขณะที่มีโอกาสที่จะขาดวิตามินแทบทุกชนิดและได้รับเกลือแร่โดยเฉพาะแคลเซียมและเหล็กไม่เพียงพอ ผู้สูงอายุ จึงมักขาดสารอาหารในระดับที่ทำให้เกิดภาวะทุพโภชนาการได้ง่าย (สุเทพ และ จันทนา, 2552; [http:// www.bangkokhealth.com](http://www.bangkokhealth.com)) นอกจากนี้สำนักงานสถิติแห่งชาติ (2549) พบว่าการเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Not contagious disease) เป็นสาเหตุการตายของประชากรจำนวน 198,953 คน หรือคิดเป็นร้อยละ 51.3 ของจำนวนผู้เสียชีวิตทั้งหมด โดยเฉพาะการเป็นโรคมะเร็งและโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุการตายของประชากรจำนวน 62,890 และ 62,827 คน ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นสัดส่วนเท่ากับที่ร้อยละ 16.2 ของจำนวนผู้เสียชีวิตทั้งหมด รายงานจากองค์การอนามัยโลกเมื่อเร็วๆ นี้ระบุว่าภาวะเจ็บป่วย ตาย และความพิการที่เป็นผลมาจากโรควิถีชีวิตเป็นเรื่องสำคัญในปัจจุบัน และมีสัดส่วนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง โดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนาที่พบว่าเป็นสาเหตุการตายของประชากรถึงร้อยละ 66 ของการตายทั้งหมด โดยเป็นผลจากการบริโภคอาหารที่ไม่เหมาะสม และการขาดการออกกำลังกายหรือกิจกรรมทางกาย (Physical inactivity) และระบุว่าภาวะโรค (Burden of Disease)

เช่น ความดันโลหิตสูง และคอเลสเตอรอลสูง ในประชากรก่อให้เกิดความสูญเสียสุขภาพ และกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของโลก เพราะก่อให้เกิดภาวะค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงกับสังคม

งา (*Sesamum indicum* L.) เป็นพืชน้ำมันชนิดหนึ่งมีรายงานการผลิตเมล็ดงาทั่วโลกปี 2012 คิดเป็น 4,167,150 ตัน ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 737,890 ตัน พบว่าประเทศพม่าผลิตงาได้ 620,000 ตัน รองลงมาเป็นประเทศไทย ผลิตงาได้ 50,000 ตัน และ ประเทศ ส.ป.ป. ลาวผลิตได้ 13,890 ตัน (FAOSTAT., 2012) สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรรายงานในปี 2555 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูก 340,640 ไร่ ได้ผลผลิต 37,470 ตัน และมูลค่าผลผลิต 975 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ในปัจจุบันมีความต้องการงาเพื่อใช้ในการบริโภคภายในประเทศและส่งออกเพิ่มขึ้น งานนอกจากนำมาสกัดน้ำมันงาออกแล้วยังนิยมนำมาใช้ประกอบอาหารและทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอีกด้วย การสกัดน้ำมันงานิยมสกัดด้วยการบีบอัด ซึ่งได้มีการพัฒนาเครื่องบีบงาขึ้นโดยใช้เป็นระบบไฮดรอลิกและระบบเกลียวอัดโดยไม่ใช้ความร้อนเพื่อให้ได้น้ำมันงาบริสุทธิ์ (virgin oil) กากงาเป็นวัสดุเหลือใช้จากการสกัดน้ำมันงา การใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่ยังใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ ซึ่งกากงายังมีคุณค่าทางอาหารที่สูงโดยมีองค์ประกอบทางเคมีคือ ความชื้นร้อยละ 7.92 ไขมันร้อยละ 27.83 โปรตีน ร้อยละ 30.56 เยื่อใย ร้อยละ 6.22 เถ้าร้อยละ 5.27 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 25.14 (Onsaard, 2012) นอกจากนี้มีการศึกษาการนำกากงาหลังการบีบน้ำมันมาย่อยต่อให้ได้โปรตีนไฮโดรเสทเพื่อพัฒนาให้ได้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ Kanu *et al.*, (2009) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่เตรียมจากกากงาด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีสมบัติเชิงหน้าที่ดีหลายประการ Taha & Ibrahim (2002) รายงานว่าสมบัติเชิงหน้าที่ของเปปไทด์ของงามีความสัมพันธ์กับระดับการย่อย ในขณะที่ Nakano *et al.*, (2006) รายงานว่าเปปไทด์ 6 ชนิดจากโปรตีนงา เช่น Leu-Val-Tyr, Leu-Gln-Pro และ Leu-Lys-Tyr มีสมบัติต้านกิจกรรมเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน angiotensin และยังมีประสิทธิภาพลดความดันในหนูที่มีความดันโลหิตสูงด้วย (Kanu *et al.*, 2009; Nakano *et al.*, 2006 ; Taha *et al.*, 2002) ดังนั้นการผลิตงาไฮโดรไลเสทจากกากงาหลังการบีบน้ำมันและคัดเลือกงาไฮโดรไลเสทที่มีสมบัติทางชีวภาพ เช่น ด้านการต้านออกซิเดชัน ด้านการลดความดันโลหิต จะเป็นเทคโนโลยีที่เป็นที่ต้องการ ทั้งนี้เพื่อใช้ประโยชน์จากเศษเหลือของอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันงาและตอบสนองกับความต้องการอาหารเพื่อสุขภาพของผู้บริโภคในปัจจุบัน

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการผลิตงาไฮโดรไลเสทจากกากงาหลังการบีบน้ำมันและคัดเลือกให้ได้งาไฮโดรไลเสทที่มีสมบัติทางชีวภาพในด้านการต้านออกซิเดชัน และด้านการลดความดันโลหิต

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การผลิตงาไฮโดรไลเสทที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในงาไฮโดรไลเสทจากกากงา ประกอบด้วย 2 ส่วน

ส่วนที่ 1. การศึกษางาไฮโดรไลเสทที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากกากงาหลังการบีบน้ำมัน ใช้ตัวอย่างกากงาที่เตรียมโดยการสกัดน้ำมันที่เหลือออกด้วยเฮกเซน

- ตัวอย่างกากงาที่ใช้ในการทดลองจำนวน 3 พันธุ์คือ งาดำพันธุ์ มก 18, งาขาวพันธุ์พื้นเมือง และงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1
- การเตรียมตัวอย่างกากงาก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตงาไฮโดรไลเสทโดยการสกัดน้ำมันที่เหลือออกด้วยเฮกเซนเพื่อให้ได้แป้งงา (defatted sesame meal) จำนวน 3 ชนิดคือ แป้งงาดำ แป้งงาแดง และแป้งงาขาว

- ตัวอย่างแป้งงาทั้งสามชนิด นำมา Pre-treatment ด้วยการปรับพีเอช 8 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 30 นาที ก่อนนำไปทำการย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase™ เข้มข้น 10 ระดับคือร้อยละ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00
- ตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทของกากงาที่ระดับการย่อยต่างๆ

ส่วนที่ 2 ศึกษางาไฮโดรไลเสทที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากกากงาที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันออกด้วยเฮกเซน

- ตัวอย่างกากงาที่ใช้ในการทดลองจำนวน 2 ชนิดคือ
 1. กากงาดำจากโรงงานบีบน้ำมันงา (ไม่ระบุสายพันธุ์) บริษัทยูเนี่ยนฟูดอินดัสตรี จำกัด จังหวัดนครปฐม
 2. กากงาดำพันธุ์ มก 18 จากศูนย์การเรียนรู้และพัฒนาางาเชิงเกษตรอุตสาหกรรมครัวเรือน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- การเตรียมตัวอย่างกากงาก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตงาไฮโดรไลเสทที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันที่เหลือออกด้วยเฮกเซน
- การเตรียมตัวอย่างงาไฮโดรไลเสท จำนวน 6 ตัวอย่าง จาก 2 แหล่งผลิต คือ กากงาดำจากโรงงานบีบน้ำมันงา (IS)
 1. ไฮโดรไลเสทกากงาด้วยพีเอชและความร้อน (HIS)
 2. ไฮโดรไลเสทกากงาด้วย อัลคาเลส (HISA)
 3. ไฮโดรไลเสทกากงาด้วย เซลลูเลส และ อัลคาเลส (HISCA)
 กากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้และพัฒนาางาเชิงเกษตรอุตสาหกรรมครัวเรือน (AS)
 4. ไฮโดรไลเสทกากงาด้วยพีเอชและความร้อน (HAS)
 5. ไฮโดรไลเสทกากงาด้วยอัลคาเลส (HASA)
 6. ไฮโดรไลเสทกากงาด้วยเซลลูเลส และอัลคาเลส (HASCA)
- ตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทของกากงา

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 งา (Sesame)

งา มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Sesamum indicum* L. อยู่ใน Order Tubiflorea วงศ์ Pedaliaceae เจริญเติบโตได้ดีในอากาศร้อนและแดดจัด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประมาณ 27 ถึง 30 องศาเซลเซียส เกษตรกรนิยมปลูกงาก่อนและหลังการ ทำนาหรือหลังจากการเก็บเกี่ยวพืชหลัก การปลูกงามีทั้งในสภาพไร่และสภาพนา ขึ้นอยู่กับสภาพพื้นที่ของแต่ละท้องถิ่น (อภิชาติ, 2547) งาเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งของประเทศไทย และมีแนวโน้มที่จะทวีความสำคัญขึ้นทุกปี เนื่องจากเป็นพืชที่มีศักยภาพในการผลิต และการตลาดสูง สามารถปลูกขึ้นง่าย ลงทุนน้อย ทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี (สมจินตนาและอิสระ, 2549) สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรรายงานว่าในปี 2555 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูก 340,640 ไร่ ได้ผลผลิต 37,470 ตัน และมูลค่าผลผลิต 975 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555)

งาที่ปลูกในประเทศไทยมีทั้งพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงจากหน่วยงานของรัฐซึ่งแบ่งตามสีของเมล็ดงาได้ 3 ชนิดดังนี้ (วาสนา, 2550)

- งาดำ เป็นงาพื้นเมือง 2 พันธุ์ คือ งาดำพันธุ์บุรีรัมย์และงาดำพันธุ์นครสวรรค์เป็นพันธุ์ปรับปรุง 3 พันธุ์ คือ งาดำพันธุ์ มก.18 งาดำพันธุ์ มข.2 และงาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3
- งาขาว เป็นพันธุ์พื้นเมือง 4 พันธุ์ คือ พันธุ์เมืองเลย พันธุ์เชียงใหม่ พันธุ์ชัยบาดาล หรือซบสมอทอดและพันธุ์แม่ฮ่องสอนเป็นพันธุ์ปรับปรุง 6 พันธุ์ คือ งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 งาขาวพันธุ์สารคาม 60 งาขาวพันธุ์ มข.1 งาขาวพันธุ์ มก.19 งาขาวพันธุ์ มก.20 และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2
- งาแดง หรือที่เรียกทั่วไปว่างาเกษตรได้แก่ พันธุ์พื้นเมืองพิษณุโลก พันธุ์พื้นเมืองสุโขทัย งาแดงดำซบสมอทอด และงาแดงอุบลราชธานี

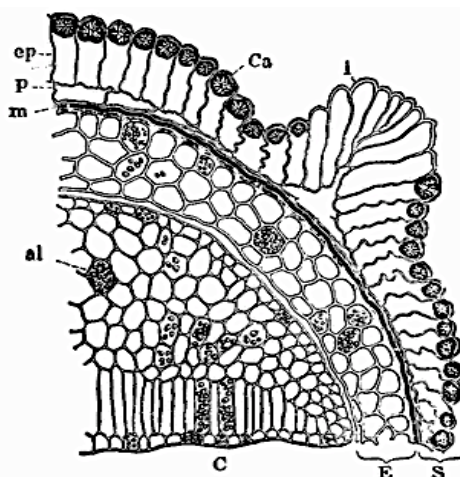


ภาพที่ 1 ต้นงา

ที่มา : <http://kanchanapisek.or.th/kp6/index.php>

2.2 โครงสร้างของเมล็ดงา

เมล็ดงา (Sesame seed) มีรูปร่างรูปไข่และเล็กน้ำหนัก 1000 เมล็ดเท่ากับ 2 ถึง 4 กรัม ทางพฤกษศาสตร์เมล็ดงาประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกหุ้มเมล็ด (Seed coat) ส่วนสะสมอาหารคือใบเลี้ยง (Cotyledon) และคัพภะ (Embryo) (วาสนา, 2550) เมล็ดงามีหลายสีขึ้นอยู่กับพันธุ์สีขาและสีดำ ผิวมัน กลิ่นและรสของเมล็ดงาคล้ายกับถั่ว โดยมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบสำคัญในเมล็ด (Onsaard, 2012) การศึกษาโครงสร้างของเมล็ดงา (Histological structure) โดยตัดเมล็ดตามขวางเพื่อศึกษาเนื้อเยื่อในส่วนต่างๆของเมล็ดงาประกอบด้วย 3 ส่วน (วาสนา, 2550) แสดงดังภาพที่ 2 สเปอร์มาเดิร์ม (Spermaderm) เป็นส่วนที่ประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงตัวตามยาวเป็นชั้นเดียวและมีแคลเซียมออกซาเลตอยู่ปลายเซลล์ แต่ละเซลล์มีรงควัตถุทำให้เปลือกงามีสีต่างๆ เป็นส่วนนอกสุดของเมล็ดงามีแร่ธาตุและเส้นใยเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ เอนโดสเปิร์ม (Endosperm) เป็นส่วนที่ประกอบด้วยชั้นของเซลล์ที่มีผนังเซลล์ 2 ถึง 3 ชั้นเอนโดสเปิร์มเป็นแหล่งสะสมอาหารให้ต้นอ่อน ใบเลี้ยง (Cotyledon) เป็นแหล่งสะสมอาหารเช่นเดียวกับเอนโดสเปิร์ม โดยทั้งเอนโดสเปิร์ม และใบเลี้ยงมีน้ำมันและโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก (Carter *et al.*, 1961)



ภาพที่ 2 โครงสร้างเมล็ดงาตัดขวาง (S คือ สเปอร์มาเดิร์ม, E คือ เอนโดสเปิร์ม, C คือ ใบเลี้ยง)
ที่มา : Carter *et al.* (1961)

2.3 คุณค่าทางอาหารของเมล็ดงา

งาเป็นพืชที่มีคุณค่าและประโยชน์มากมาย เมล็ดงาเป็นแหล่งของน้ำมันและโปรตีนที่สำคัญในอุตสาหกรรมน้ำมันงา การสกัดน้ำมันงาส่วนใหญ่จะใช้สารละลายอินทรีย์หรือใช้เครื่องมือการบีบน้ำมัน จาก การสกัดน้ำมันจะได้กากงา ผลิตภัณฑ์กากงาจะแบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ กากงาจากเมล็ดงาทั้งหมด กากงาจากเมล็ดงาที่ผ่านการขัด กากงาจากเมล็ดงาทั้งหมดที่ผ่านการกำจัดน้ำมันและกากงาจากเมล็ดงาที่ผ่านการขัด และผ่านการกำจัดน้ำมัน กากงาหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่ากากงาล้าง คือ เมล็ดงาที่แยกเปลือกออก ทำให้เมล็ดงามีสีขาวนวลรับประทานและไม่มีรสขม เปลือกงาซึ่งมีแคลเซียมออกซาเลต และเยื่อใย สูงถูกกำจัดออกไป (กรมวิชาการเกษตร, 2009) อย่างไรก็ตามกากงาจากเมล็ดงาที่กะเทาะเปลือก ส่งผลทำให้ปริมาณกรดออกซาลิก (Oxalic acid) ลดลง เนื่องจากกรด Oxalic ส่วนใหญ่อยู่ในส่วนเปลือกเมล็ดงา ในเมล็ดงาทั้งเมล็ดและเมล็ดงาที่กะเทาะเปลือกมีองค์ประกอบทางเคมีคือน้ำมัน ร้อยละ 49 ถึง 53 โปรตีน ร้อยละ 18

คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 17 ถึง 21 และเถ้าร้อยละ 5 นอกจากนี้ในเมล็ดงายังอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการได้แก่ แคลเซียม (Calcium; Ca) ฟอสฟอรัส (Phosphorus; P) และเหล็ก (Iron; Fe) โดยเฉพาะแคลเซียม มีมากกว่านมวัวถึง 6 เท่า และยังประกอบไปด้วยวิตามินเอ วิตามินบี 2 และวิตามินบี 3 ดังตารางที่ 1 (Salunkhe *et al*, 1992) เช่นเดียวกับ Onsaard (2012) รายงานองค์ประกอบทางเคมีของกากงาประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 7.92 ไขมันร้อยละ 27.83 โปรตีน ร้อยละ 30.56 เยื่อใย ร้อยละ 6.22 เถ้าร้อยละ 5.27 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 25.14 เมื่อเปรียบเทียบการสกัดโปรตีนงาและการสกัดโปรตีนถั่วเหลือง จะพบว่า โปรตีนงา (94.79 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) มีปริมาณสูงกว่าโปรตีนถั่วเหลือง (86.13 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) (L'pez, ., 20003; Onsaard, 2012)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงา

Constituent	Whole seeds	Dehulled seeds
Moisture (%)	5.4	5.5
Protein (%)	18.6	18.3
Fat (%)	49.1	53.4
Total carbohydrate (%)	21.6	17.6
Crude fiber (%)	6.3	2.4
Ash (%)	5.3	5.3
Energy (Cal/100g)	563	582
Calcium (mg/100g)	1160	110
Phosphorus (mg/100g)	616	592
Iron (mg/100g)	10.5	2.4
Vitamin A (IU)	30	-
Thiamin (mg/100g)	0.98	0.18
Riboflavin (mg/100g)	0.24	0.13
Niacin (mg/100g)	5.4	5.4

ที่มา : Salunkhe *et al*. (1992)

จากองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงา พบว่าเมล็ดงาเป็นพืชอาหารที่ให้พลังงานสูงมีปริมาณน้ำมันระหว่างร้อยละ 42 ถึง 54 องค์ประกอบสำคัญในน้ำมันงา คือ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) น้อยกว่าร้อยละ 20 โดยส่วนใหญ่เป็นกรดปาล์มมิติก (Palmitic) ร้อยละ 7.9 ถึง 12 รองลงมาเป็นกรดสเตียริก (Stearic) ร้อยละ 4.8 ถึง 6.1 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่าร้อยละ 80 ประกอบด้วย กรดโอเลอิก (Oleic acid) ร้อยละ 35.9 ถึง 42.3 และกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) ร้อยละ 41.5 ถึง 47.9 (Hwang, 2005) ถึงแม้ว่ากรดโอเลอิกไม่ใช่กรดไขมันที่จำเป็น แต่ก็เป็กรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกายช่วยป้องกันไม่ให้ระดับคอเรสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากงาจะให้กรดไขมันที่มีประโยชน์แล้วในเมล็ดงายังมีสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย (กัลยารัตน์, 2551) โปรตีนในเมล็ดงามีอยู่ระหว่างร้อยละ 16 ถึง 33 ปริมาณของกรดอะมิโนอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ กรดอะมิโนในงาจะมีปริมาณไลซีน (Lysine) ต่ำ แต่เมทไธโอนีน (Methionine) ซีสเทอีน (Cysteine) อาร์จินีน (Arginine)

และลูซีน (Leucine) สูง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต ในเมล็ดงามีประมาณร้อยละ 18 ถึง 20 ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 5 มี กลูโคส และฟรุคโตส ในปริมาณน้อย (วาสนา, 2550)

2.4 โปรตีนงา (Sesame proteins)

คุณลักษณะโปรตีนงา (Characteristic of sesame protein)

การจำแนกโปรตีนงาขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด (Osborne sequential extraction) และความสามารถในการละลาย งามแบ่งตามความสามารถในการละลายได้เป็น 4 ชนิดคือ อัลบูมิน (Albumins) ละลายในน้ำ โกลบูลิน (Globulins) ละลายในเกลือ โปรลามิน (Prolamins) ละลายในแอลกอฮอล์หรือน้ำ และกลูเตลิน (Glutelins) ละลายในกรดหรือด่าง (Onsaard, 2012) โปรตีนงาประกอบไปด้วยโปรตีนกลุ่มใหญ่ 2 กลุ่มคือ 11S Globulin หรือ α -Globulin และ 2S Albumin หรือ β -Globulin ซึ่งสามารถแยกได้โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) โดยวิธีนี้จะทำให้ได้ 11S Globulin 7S Globulin และ 2S Albumin ร้อยละ 93 ถึง 97 ของโปรตีนจากงาทั้งหมด และมี 13S Globulin ถึงร้อยละ 70 (Achouri *et al.*, 2012) มีการแยก 13S Globulin จากโปรตีนงาโดยการใช้วิธี DEAE-Sephadex column chromatography ที่ pH ในช่วง 5.5 ถึง 6.5 และ 8.5 ถึง 9.5 พบว่ามีโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 30.5 ถึง 33.5 KDa และ 20 ถึง 24.5 KDa (Okubo *et al.*, 1979) โปรตีนในงาส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ไม่ละลายในน้ำคือโปรตีน 11S Globulin มีมากถึงร้อยละ 60 ถึง 70 ของโปรตีนทั้งหมด (López *et al.*, 2003) และยัง ประกอบด้วย Albumin ร้อยละ 8.6 Prolamin ร้อยละ 1.4 และ Glutelin ร้อยละ 7 และมีกรดอะมิโน Methionine สูงถึงร้อยละ 3.7 Latif & Anwar (2011) รายงานว่าในโปรตีนงามี Methionine สูงถึงร้อยละ 3.2

ในเมล็ดงามีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 ซึ่งโปรตีนในงามีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย ครบทุกชนิด โดยเฉพาะ Methionine และ Tryptophan ปกติร่างกายคนเราต้องการกรดอะมิโน 22 ตัวและร่างกายเราผลิตได้เองอยู่แล้ว 19 ตัว อีก 9 ตัว ร่างกายเราผลิตเองไม่ได้จึงต้องได้รับจากอาหาร เท่านั้น เรียกว่ากรดอะมิโนจำเป็น (Essential amino acids) และใน 9 ตัวนี้มี 2 ตัวนอกจากจะจำเป็นต่อร่างกายแล้ว ในพืชผักชนิดอื่นยังมีปริมาณน้อย จะมีมากเฉพาะในเมล็ดงา คือ Methionine และ Tryptophan (กัลยารัตน์, 2551) องค์ประกอบของกรดอะมิโนในแบ่งงา แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในแป้งงา

ชนิดกรดอะมิโน	ปริมาณ (กรัม / 16 กรัม N)			
	Anilakumar <i>et al.</i> , 2010	Onsaard, 2012	Olagunju and Ifesan, 2013	FAO/WHO, 1991 ¹
กรดอะมิโนที่จำเป็น				
Histidine	2.7	2.3	2.01	2.4
Isoleucine	4.0-4.2	4.1	3.66	4.2
Leucine	-	7.1	5.99	4.8
Lysine	2.6-2.7	3.8	3.38	4.2
Methionine	-	3.7	2.25	2.2
Phenylalanine	-	6.0	4.14	2.8
Threonine	3.1-3.7	4.0	3.11	2.6
Tryptophan	1.3-1.5	-	-	1.4
Valine	3.9-4.6	4.7	3.84	4.2
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น	-			
Arginine	1.20	9.3	5.79	2.0
Alanine	-	5.1	2.93	-
Aspartate	-	7.3	9.35	-
Cystine	-	2.2	1.18	-
Glutamate	-	14.0	15.59	-
Glycine	-	7.3	4.11	-
Hydroxyproline	-	-	-	-
Proline	-	-	3.00	-
Serine	-	4.0	3.43	-
Tyrosine	-	5.1	2.26	-
Methionine + Cystine	2.8-4.8	-	-	-
Phenylalanine + Tyrosine	6.4-9.6	-	-	-

หมายเหตุ : ¹ แหล่งที่มา RDA จาก FAO/WHO (1991); Anilakumar *et al.* (2010) ; Onsaard (2012) และ Olagunju and Ifesan (2013)

RDA คือ ปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้รับประทานแต่ละวัน (Recommended Daily Allowance)

2.5 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนงา (Functional properties of sesame protein)

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนทั่วไปที่สำคัญคือ ความสามารถในการละลาย (Solubility) ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมัน (Water and Oil retention capacity) ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัว (Emulsion capacity and Stability) ซึ่งมีอิทธิพลต่อกระบวนการผลิต และการเก็บรักษา (Moure *et al.*, 2006) ความสามารถในการละลายของโปรตีนงาจะขึ้นกับค่าพีเอช โปรตีนละลายได้ร้อยละ 2.2 ที่พีเอช 4 แต่ความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอช 2 (ร้อยละ 6.6) และพีเอช 10 (ร้อยละ 13.1) (Inyang & Iduh, 1996) มีการศึกษาการละลายของโปรตีนงา พบว่ามีความสามารถละลายได้ 1.5 เท่า มากกว่าโปรตีนจากถั่วเหลืองที่พีเอช 2 ถึง 4 (L'opez *et al.*, 2003) มีรายงานการวิจัยของ Khalid *et al.* (2003) รายงานว่าความสามารถในการละลายในไตรเจนต่ำสุดของ

โปรตีนงาที่ร้อยละ 12 เมื่อพีเอชเท่ากับ 5 และละลายได้สูงสุดที่ร้อยละ 90 เมื่อพีเอชเท่ากับ 3 ค่าการละลายของโปรตีนงาต่ำสุดที่พีเอช เท่ากับ 5 ที่ซึ่งใกล้เคียงกับจุดไอโซอิเล็กทริก (pI) ของโปรตีนงา การละลายของโปรตีนงาจะเพิ่มขึ้น เมื่อมีค่าพีเอชต่ำกว่าหรือสูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก (Khaild *et al.*, 2003; Onsard *et al.*, 2010) ในงานวิจัยของ วราทิพย์ (2552) พบว่าโปรตีนสามารถละลายได้ดีทั้งในสภาวะที่เป็นกรดและด่างโดยพบว่าที่พีเอช 10 มีการละลายร้อยละ 85.79 และที่พีเอช 2 การละลายร้อยละ 70.92 ส่วนค่าความเป็นกรดด่างที่มีการละลายน้อยที่สุดอยู่ คือ พีเอช 4 (ร้อยละ 14.76) เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละการละลายของโปรตีนเริ่มต้น

วราทิพย์ (2552) รายงานว่าโปรตีนที่สกัดได้จากงาดำมีสมบัติการอุ้มน้ำสูงกว่าโปรตีนจากข้าวโอ๊ต แต่ Achouri *et al.*, (2012) พบว่าสมบัติการอุ้มน้ำและสมบัติการอุ้มน้ำมันของโปรตีนงาที่สกัดด้วยสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 มีค่าต่ำกว่าโปรตีนถั่วเหลือง Onsaard *et al.*, (2010) รายงานว่าการสกัดโปรตีนจากงาดำด้วยสารละลายด่างที่พีเอช 9 และ 11 พบว่าสมบัติการอุ้มน้ำของโปรตีนงาที่ได้มีค่าน้อยกว่าโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลือง เช่นเดียวกับ Khalid *et al.*, (2003); Kanu *et al.*, (2007) และ Tomotake *et al.*, (2002) รายงานว่าสมบัติการอุ้มน้ำมันของโปรตีนงามีค่าน้อยกว่าแป้งถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนจากเมล็ดบัควีท (Buckwheat) แต่มีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับแป้งถั่วชิกพี (Cheakpea) และ เคซีน (Casein)

วราทิพย์ (2552) ทดสอบสมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนงาดำโดยทำการวัดค่า Emulsifying activity index (EAI) มีค่าสูงสุดที่พีเอช 10 มีค่า EAI เท่ากับ 49.92 ตารางเมตรต่อกรัมโปรตีน และมีค่าต่ำสุดที่พีเอช 4 มีค่า EAI เท่ากับ 14.40 ตารางเมตรต่อกรัมโปรตีน ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับโปรตีนจากข้าวโอ๊ตที่มีค่า EAI เท่ากับ 49.9 ตารางเมตรต่อกรัมโปรตีน (Mirmoghtadaie *et al.*, 2009) แต่ยังมีรายงานว่าโปรตีนงาที่สกัดด้วยสารละลายด่างที่พีเอช 11 มีค่า EAI สูงกว่าโปรตีนจากถั่วเหลือง (Onsaard *et al.*, 2010) และ Cano-Medina *et al.*, (2011) พบว่าโปรตีนงามีค่า EAI สูงที่พีเอชสูงกว่า 9 และมีค่า EAI ต่ำที่พีเอช 4.6

Khalid *et al.*, (2003) ศึกษาผลของค่าความเป็นกรดด่าง และความเข้มข้นของเกลือต่อสารละลายและสมบัติเชิงหน้าที่ของงา พบว่าโปรตีนจากงามีค่าร้อยละความคงตัวของอิมัลชัน (% Emulsifying stability index, %ESI) ร้อยละ 62 ที่พีเอชเท่ากับ 10 และวราทิพย์ (2552) พบว่า โปรตีนที่สกัดได้จากงาดำจะมีค่า ESI ร้อยละ 84.43 ที่พีเอชเท่ากับ 10

2.6 การไฮโดรไลสเททกาดำด้วยเอนไซม์ (Enzyme hydrolysis of sesame meal)

การไฮโดรไลสเททกาดำด้วยเอนไซม์เป็นวิธีที่ได้รับความนิยม เนื่องจากการย่อยด้วยเอนไซม์ใช้สภาวะที่ไม่รุนแรง (mild condition) เมื่อเปรียบเทียบการย่อยด้วยกรด นอกจากนี้ยังให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นและรสชาติที่ดี เหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในอาหารซึ่งเอนไซม์ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสเททมีหลายชนิดทั้ง endopeptidase และ exopeptidase ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ทางการค้า ได้แก่ Flavourzyme® Alcalase® และ Neutrase®

Liu & Chiang (2008) รายงานค่าการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis; DH) น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน DPPH radical scavenging และกิจกรรมการไฟบริโนไลติกของโปรตีนไฮโดรไลสเททกาดำว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสเททกาดำด้วยเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์โบรมิเลน ระยะเวลาการย่อย 120 และ 240 นาที จะให้ค่าการย่อยสลายมากกว่าร้อยละ 20 โปรตีนไฮโดรไลสเททกาดำที่ย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซินจะมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay) เพิ่มขึ้นเมื่อ

ระยะเวลาการย่อยนานขึ้น แต่งาไฮโดรไลเซทกากงาที่ย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่ำร้อยละ 1.78 โปรตีนไฮโดรไลเซทกากงาด้วยเอนไซม์ทริปซินนาน 30 นาที ขนาดน้ำหนักโมเลกุลส่วนใหญ่ร้อยละ 95 มีขนาดโมเลกุลโปรตีนน้อยกว่า 50 กิโลดาลตัน โดยน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนส่วนใหญ่มีขนาดโมเลกุล 28 กิโลดาลตัน นอกจากนี้การทดสอบ fibrinolytic activity พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงาที่ย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซินสามารถพื้นที่เคลียร์โซนต่อการเกิด thrombin-clotted enzyme-induce fibrin plates แสดงให้เห็นว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงาด้วยเอนไซม์ทริปซินช่วยลดขบวนการละลายลิ่มเลือด

รัชฎาภรณ์ และคณะ (2553) รายงานคุณลักษณะโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงาที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (%w/w ของกากงา) ระยะเวลาการย่อย 0.5 3 6 18 และ 24 ชม ที่พีเอช 6 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 10 ย่อยสลาย 12 ชม เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงา ซึ่งให้ค่าการย่อยสลายร้อยละ 51.82 ผลผลิตที่ได้ร้อยละ 45.27 ปริมาณเกลือร้อยละ 2.2 และโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงามีสีน้ำตาลอ่อนมีค่า L^* a^* และ b^* เป็น 56.41 2.8 และ 15.25 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบกลิ่นรสที่สำคัญ ได้แก่ furfural, benzaldehyde, benzeneacetaldehyde, caproic acid และ nonanoic acid

รัชฎาภรณ์ และคณะ (2554) ศึกษาศักยภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงาที่ไฮโดรไลซ์ด้วยกรด โดยทดลองใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 1 และ 6 นอร์มัล ระยะเวลาการย่อย 12 และ 24 ชม พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทกากงาที่ไฮโดรไลซ์ด้วยกรดความเข้มข้น 6 นอร์มัล ย่อยสลายนาน 24 ชม มีปริมาณแคลเซียมสูงสุด 161.89 มก./100 ก. ส่วนปริมาณออกซาเลตจากทุกสภาวะการย่อยไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่การย่อยสลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มัล ระยะเวลา 12 ชม เป็นสภาวะที่ให้ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงเท่ากับร้อยละ 82.25 และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1,539.32 มก. GAE/ตัวอย่าง 100 ก. และสามารถยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้ร้อยละ 86-94 นาน 7 วัน

Das *et al.* (2012) ศึกษากิจกรรมการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคของเปปไทด์งา ทดลองย่อยโปรตีนงาด้วยเอนไซม์โปรติเอส (Protease A Amano 2G'; *Aspergillus oryzae* E.C.3.4.24.39, activity 20,000 U/g) เพื่อให้ได้เปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลโปรตีน 5, 2, 1 กิโลดาลตัน จากนั้นนำไปตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค พบว่าเปปไทด์งาขนาดน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 1 กิโลดาลตันสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas aeruginosa*) ดีกว่าแบคทีเรียบวก (*Bacillus subtilis*)

บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย

วัตถุดิบ ประกอบด้วย

1. งามที่นำมาใช้ในการทดลองจำนวน 3 พันธุ์คือ งามดำพันธุ์ มก 18 งามขาว พันธุ์พื้นเมือง และงามแดง พันธุ์อุบลราชธานี 1 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์การเรียนรู้และพัฒนาางเชิงเกษตร อุตสาหกรรมครัวเรือน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
2. ากงามดำที่ซื้อจากบริษัท ยูเนียนฟูดอินดัสตรี จำกัด อำเภอสามพราณ จังหวัดนครปฐม
3. เอนไซม์เซลลูเลส เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Y&L Biotech CO.LTD ประเทศจีน Batch No: YL-HB-WK130802 มีค่าแอกทิวิตีเท่ากับ 20,000 U/g
4. เอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase™) 2.4 L จาก Bacillus licheniformis บริษัท SIGMA-ALDRICH ประเทศสหรัฐอเมริกา มีค่าแอกทิวิตีเท่ากับ ≥ 2.4 U/g

วัสดุอุปกรณ์ ประกอบด้วย

1. ตู้อบแบบสุญญากาศ ยี่ห้อ WTB Binder รุ่น VD 115 S/N940048 ประเทศเยอรมัน
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert S/NE601.0265 รุ่น BE600 ประเทศเยอรมัน
3. เครื่องบด ยี่ห้อ Moulinex รุ่น 643 ประเทศเม็กซิโก
4. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Libra รุ่น S12 UV/Visible ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. ตู้บลมร้อน ยี่ห้อ Binder รุ่น FED240-M ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องทำแห้งแบบระเหิด ยี่ห้อ Heto Lab Equipment รุ่น FD 8 ประเทศเดนมาร์ก
7. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ New Brunswick Scientific รุ่น Innova ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP2215 ประเทศเยอรมัน
9. เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำ ยี่ห้อ Universal รุ่น 32R ประเทศ สหรัฐอเมริกา
10. เครื่อง Mini protein 3 cells ยี่ห้อ BIO-RAD ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. ตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช ยี่ห้อ RETSCH ประเทศเยอรมัน
12. เครื่องกวนแม่เหล็ก ยี่ห้อ VORTEX-2GENIE รุ่น G56OE ประเทศไทย

วิธีการดำเนินการวิจัย

ส่วนที่ 1 ศึกษาางไฮโดรไลสที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากากางาหลังการบิบน้ำมัน ใช้ตัวอย่างากางาที่เตรียมโดยการสกัดไขมันออกจากด้วยเฮกเซน

1.1 การเตรียมตัวอย่างากางา

การเตรียมากางาจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ งามดำพันธุ์มก 18 งามขาวพันธุ์พื้นเมือง และงามแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 โดยการนำเมล็ดงาล้างทำความสะอาด 3-4 ครั้ง ทำแห้งด้วยระบบพลังงานแสงอาทิตย์ประมาณ 5 วัน สุ่มตัวอย่างงาเริ่มต้นประมาณ 5 กิโลกรัม นำมาสกัดน้ำมันงาด้วยวิธีบิบน้ำมันด้วยเครื่องบิบน้ำมัน (ภาพที่ 3) เก็บตัวอย่างน้ำมันและากางาที่ได้จากการสกัดน้ำมันมาชั่งน้ำหนัก และนำากางาที่

บีบได้ไปบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับการวิเคราะห์และการทดลองต่อไป



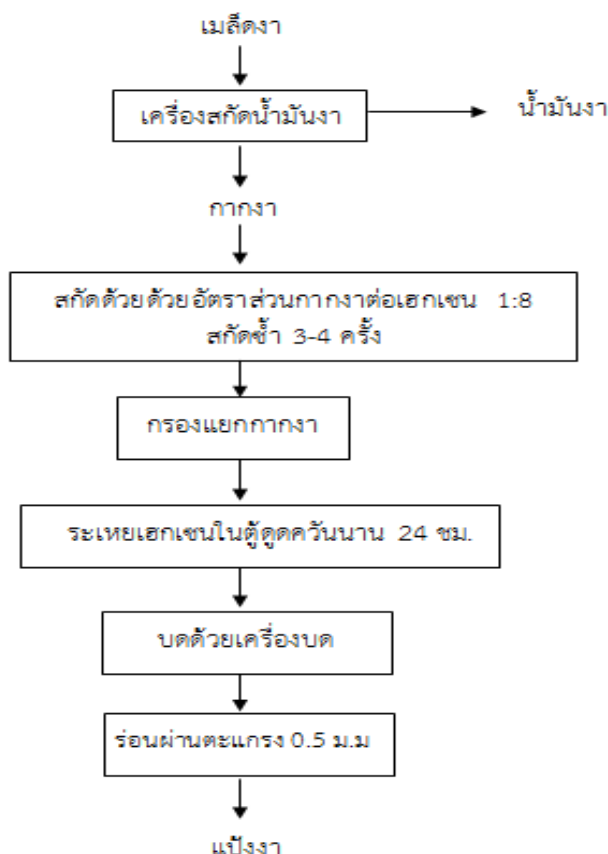
ภาพที่ 3 เครื่องบีบน้ำมันงา

1.2 การเตรียมตัวอย่างแป้งงา

การเตรียมแป้งงาโดยการสกัดน้ำมันส่วนเกินออกจากกากงาด้วยเฮกเซนโดยใช้อัตราส่วนกากงาเริ่มต้นต่อเฮกเซน 1:8 (w/v) ใช้กากงาเริ่มต้น 100 กรัม สกัดด้วยเฮกเซนที่ความเร็วรอบ 520 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกรองด้วยผ้าขาวบาง 3 ชั้น เพื่อเก็บส่วนของกากงา แล้วทำการสกัดซ้ำ 4 รอบ จากนั้นทำการแผ่กากงาในถาดและวางไว้ในตู้ดูดควัน 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดเฮกเซนส่วนเกินออก จากนั้นนำกากงาที่ได้ไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มม. บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับการวิเคราะห์และการทดลองต่อไป (ภาพที่ 4)

1.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของเมล็ดงา กากงา และแป้งงา

ทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดงา กากงา และแป้งงา ไปวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย (A.O.A.C., 1995)



ภาพที่ 4 กระบวนการเตรียมแป้งงา

1.4 การเตรียมตัวอย่างงาไฮโดรไลเสท

ละลายแป้งงาที่เตรียมไว้ด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 8 อัตราส่วน 1:9 และปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องโฮมจีไนเซอร์ นาน 1 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 30 นาที แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase™ เข้มข้น 10 ระดับคือร้อยละ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที จากนั้นหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 5 นาที กรองผ่านผ้าขาวบางแล้วเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยง 3,000×g ด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายมากรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No. 41) แล้ว นำส่วนใสที่กรองได้ไปตรวจวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

1.4.1 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ทั้งหมด (Lowry *et al.*, 1951) เพื่อคำนวณร้อยละของผลผลิตโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเสท (Protein recovery)

1.4.2 วิเคราะห์ระดับการย่อยโปรตีน (Degree of hydrolysis) (Hoyle and Merritt, 1994)

คัดเลือกปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากปริมาณโปรตีนที่ละลายได้และอัตราการย่อย เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์สมบัติชีวภาพต่อไป

1.5 สมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทของกากงาที่ระดับการย่อยต่างๆ

1.5.1 สมบัติต้านออกซิเดชัน ได้แก่

1.5.1.1 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ DPPH (Orhan *et al.*, 2007)

1.5.1.2 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ ABTS (Re *et al.*, 1999)

1.5.1.3 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Superoxide radical (Udenigwe *et al.*, 2009)

1.5.1.4 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Hydroxyl radical (Zhang *et al.*, 2009)

1.5.1.5 ความสามารถรีดิวซ์ (Reducing power) (Yildirim *et al.*, 2001)

1.5.1.6 ความสามารถจับอออนของโลหะ (Metal chelating activity) (Decker and Welch, 1990)

1.5.1.7 ความสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนลิก (linoleic acid autoxidation) (Bougatef *et al.*, 2010)

1.5.2 สมบัติทางชีวภาพด้านลดความดันโลหิตการต้านกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน AngiotensinI (Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory ability) (Cushman and Cheung, 1971)

ดำเนินการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ยของผลวิเคราะห์ต่างๆ คำนวณความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้วย ANOVA แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยการวิเคราะห์สถิติด้วย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนที่ 2 ศึกษาหาไฮโดรไลเซสที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากกากงา (ที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันออก)

2.1 การเตรียมตัวอย่างกากงา

เตรียมกากงาดำจำนวน 2 ชนิดคือ 1). กากงาดำ (ไม่ระบุงสายพันธุ์) จากโรงงานบีบน้ำมันงา (บริษัท ยูเนียนฟู๊ดอินดัสตรี จำกัด อำเภอสามพราณ จังหวัดนครปฐม) และ 2). กากงาดำพันธุ์ มก 18 จากศูนย์การเรียนรู้และพัฒนาางาเชิงเกษตรอุตสาหกรรมครัวเรือน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี นำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มม. ทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดงา กากงา และแป้งงาไปวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย (A.O.A.C., 1995)

2.2 การเตรียมตัวอย่างงาไฮโดรไลเซส

ตัวอย่างงาไฮโดรไลเซสที่เตรียมได้จาก 2 แหล่งผลิต แสดงสัญลักษณ์ดังนี้

2.2.1). กากงาดำจากโรงงานบีบน้ำมันงา

2.2.1.1 ไฮโดรไลเซสกากงาดำด้วยฟิเอชและความร้อน (HIS)

2.2.1.2 ไฮโดรไลเซสกากงาดำด้วย อัลคาเลส (HISA)

2.2.1.3 ไฮโดรไลเซสกากงาดำด้วย เซลลูเลส และ อัลคาเลส (HISCA)

2.2.2). กากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้และพัฒนาางาเชิงเกษตรอุตสาหกรรมครัวเรือน

2.2.2.1 ไฮโดรไลเซสกากงาดำด้วยฟิเอชและความร้อน (HAS)

2.2.2.2 ไฮโดรไลเซสกากงาดำด้วย อัลคาเลส (HASA)

2.2.2.3 ไฮโดรไลเซสกากงาดำด้วย เซลลูเลส และ อัลคาเลส (HASCA)

การเตรียมตัวอย่าง HIS และ HAS

ผสมกากงาดำจาก 2 แหล่ง ใน 0.2 M phosphate buffer pH 8 อัตราส่วน 1:9 และปั่นละเอียดด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์นาน 1 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 30 นาที นำมา

กรองด้วยผ้าขาวบาง ปั่นเหวี่ยงที่ 3000xg เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายส่วนใสที่ได้จากการกรองคือตัวอย่าง HIS และ HAS เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมตัวอย่าง HISA และ HASA

ผสมกากาดำจาก 2 แหล่ง ใน 0.2 M phosphate buffer pH 8 อัตราส่วน 1:9 ปั่นละเอียดด้วยเครื่องโฮมจีในเซอรันาน 1 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 30 นาที ปรับพีเอช 8 แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 60 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนเพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ 100 °C นาน 5 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000xg เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายส่วนใสที่ได้จากการกรอง คือตัวอย่าง HISA และ HASA เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมตัวอย่าง HISCA และ HASCA

ผสมกากาดำจาก 2 แหล่ง ใน 0.2 M phosphate buffer pH 8 อัตราส่วน 1:9 และปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องโฮมจีในเซอรันาน 1 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 30 นาที ปรับพีเอช 8 แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 30 นาที จากนั้นปรับพีเอชของกากาให้เท่ากับ 8 แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นระยะเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนเพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ 100 °C เป็นเวลา 5 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง ปั่นเหวี่ยงที่ 3000xg นาน 20 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายส่วนใสที่ได้จากการกรอง คือตัวอย่าง HISCA และ HASCA เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

นำตัวอย่างส่วนใสทั้ง 6 ตัวอย่าง HIS, HAS, HISA, HASA, HISCA และ HASCA ตรวจวิเคราะห์ดังนี้

- ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ทั้งหมด (Lowry *et al.*, 1951) เพื่อคำนวณร้อยละของผลผลิตโปรตีนในงาไฮโดรไลเสท (Protein recovery)
- วิเคราะห์ระดับการย่อยโปรตีน (Degree of hydrolysis) (Hoyle *et al.*, 1994)
- ปริมาณแอลฟาอะมิโน (α -amino acid)

2.3 สมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทของกากา

นำตัวอย่างงาไฮโดรไลเสททั้ง 6 ตัวอย่าง คือ HIS, HAS, HISA, HASA, HISCA และ HASCA มาศึกษาสมบัติทางชีวภาพดังนี้

2.3.1 สมบัติต้านออกซิเดชัน

- 2.3.1.1 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ DPPH (Orhan *et al.*, 2007)
- 2.3.1.2 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ ABTS (Re *et al.*, 1999)
- 2.3.1.3 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Superoxide radical (Udenigwe *et al.*, 2009)
- 2.3.1.4 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Hydroxyl radical (Zhang *et al.*, 2009)
- 2.3.1.5 ความสามารถรีดิวซ์ (Reducing power) (Yildirim *et al.*, 2001)

2.3.1.6 ความสามารถจับอออนของโลหะ (Metal chelating activity) (Decker & Welch, 1990)

2.3.1.7 ความสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนลิก (linoleic acid autoxidation) (Bougatef *et al.*, 2010)

2.3.2 สมบัติทางชีวภาพด้านลดความดันโลหิตการต้านกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน AngiotensinI (Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory ability) (Cushman *et al.*, 1971)

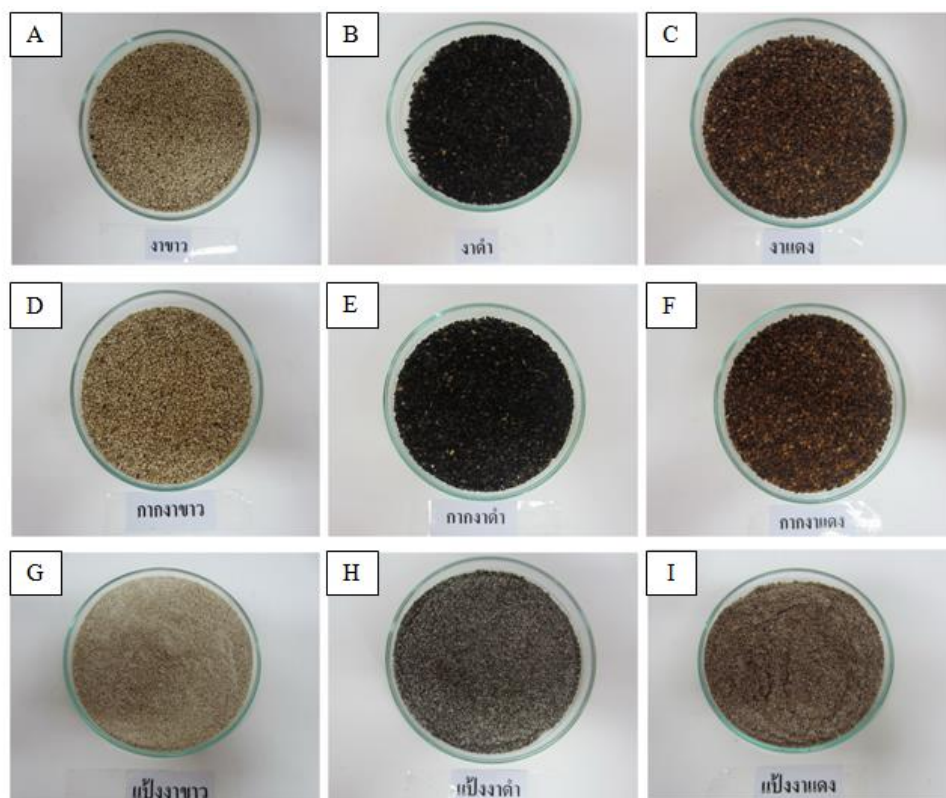
ดำเนินการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ยของผลวิเคราะห์ต่างๆ คำนวณความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้วย ANOVA แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยการวิเคราะห์สถิติด้วย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกตัวอย่างงาไฮโดรไลเสทที่มีสมบัติทางชีวภาพดีที่สุด

บทที่ 4 ผลการวิจัย

ส่วนที่ 1 ผลการศึกษาทางไฮโดรไลเซสที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากกากงาหลังการบีบน้ำมัน ใช้ตัวอย่างกากงาที่เตรียมโดยการสกัดไขมันออกจากด้วยเฮกเซน

1.1 ผลผลิตจากกระบวนการสกัดน้ำมันงา

จากการทดลองการเตรียมกากงาและแป้งงาจากเมล็ดงาจำนวน 3 พันธุ์คือ งาดำพันธุ์ มก 18 งาขาวพันธุ์พื้นเมือง และงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 (ภาพที่ 5A-I) พบว่ากากงาที่ได้ภายหลังจากการบีบน้ำมันออกจากด้วยเครื่องบีบสกัด ผลผลิตกากงาขาวมีค่าสูงสุด (ร้อยละ 73.42) รองลงมาคือกากงาแดง (ร้อยละ 70.34) และกากงาดำ (ร้อยละ 70.01) จากนั้นเมื่อนำกากงาที่ได้ไปผลิตแป้งงาด้วยการนำไปสกัดน้ำมันที่เหลือออกจากด้วยเฮกเซน บดและร่อน พบว่าผลผลิตแป้งงาจากกากงาขาวสูงสุด (ร้อยละ 77.33) รองลงมาคือกากงาแดง (ร้อยละ 71.52) และกากงาดำ (ร้อยละ 71.52) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเมล็ดงาขาวที่เป็นส่วนนอกสุดของเมล็ดงา ชั้นสเปอร์มาเดิร์ม (Spermaiderm) มีความแข็งแรงน้อยกว่าเมล็ดงาดำและงาแดง จึงมีผลทำให้น้ำมันภายในเมล็ดงาขาวออกมาได้ง่ายกว่าเมล็ดงาดำและงาแดง เมื่อถูกแรงบีบจากเครื่องบีบสกัด และเมื่อนำไปสกัดน้ำมันที่เหลือออกจากด้วยเฮกเซนจึงมีผลให้ได้ผลผลิตแป้งงาขาว มากกว่าแป้งงาดำและแดง



ภาพที่ 5 เมล็ดงา กากงา และแป้งงา (A: เมล็ดงาขาว B: เมล็ดงาดำ C: เมล็ดงาแดง D: กากงาขาว E: กากงาดำ F: กากงาแดง G: แป้งงาขาว H: แป้งงาดำ และ I: แป้งงาแดง)

1.2 องค์ประกอบเคมีของเมล็ดงา กากงาและแป้งงา

ทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดงา กากงา และ แป้งงามาวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี แสดงผลดังตารางที่ 4 พบว่าโปรตีนงาขาว (ร้อยละ 25.22) สูงกว่างาแดง (ร้อยละ 20.85) และงาดำ (ร้อยละ 13.55) แต่ปริมาณไขมันของงาแดง (ร้อยละ 52.75) สูงกว่างาขาว (ร้อยละ 49.23) และงาดำ (ร้อยละ 47.33) เมื่อทำการวิเคราะห์โปรตีนของกากงา พบว่าปริมาณโปรตีนกากงาขาวสูงสุด (ร้อยละ 31.64) รองลงมาคือ กากงาแดง (ร้อยละ 27.27) และกากงาดำ (ร้อยละ 18.92) ผลการทดลองสอดคล้องกับโปรตีนแป้งงาคือ โปรตีนแป้งงาขาว (ร้อยละ 40.48) มีปริมาณสูงสุด รองลงมาคือแป้งงาดำ (ร้อยละ 39.23) และแป้งงาแดง (ร้อยละ 37.60) เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้พบว่าสอดคล้องกับ Tunde-Akintunde *et al.* (2012) รายงานว่าเมล็ดงามีองค์ประกอบทางเคมี คือ น้ำมันร้อยละ 42 ถึง 54 โปรตีนร้อยละ 22 ถึง 25 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 20 ถึง 25 และเถ้าร้อยละ 4 ถึง 6 นอกจากนี้ Nzikou *et al.* (2009) รายงานว่า เมล็ดงาที่เจริญเติบโตในแถบแอฟริคามีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกัน คือ น้ำมันร้อยละ 54 โปรตีนร้อยละ 20 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 13.4 และเถ้าร้อยละ 3.7 โดยองค์ประกอบทางเคมีจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของเมล็ดงา ดังนั้นจึงเห็นได้ว่ากากและแป้งงาที่ได้ภายหลังจากการบีบน้ำมันเป็นแหล่งสำคัญของโปรตีนเพื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการนำไปผลิตเป็นงาไฮโดรไลเสทต่อไป

ตารางที่ 3 ผลผลิตแป้งงา กากงา และน้ำมันงาจากการสกัดจากเมล็ดงาดำ เมล็ดงาแดงและเมล็ดงาขาว

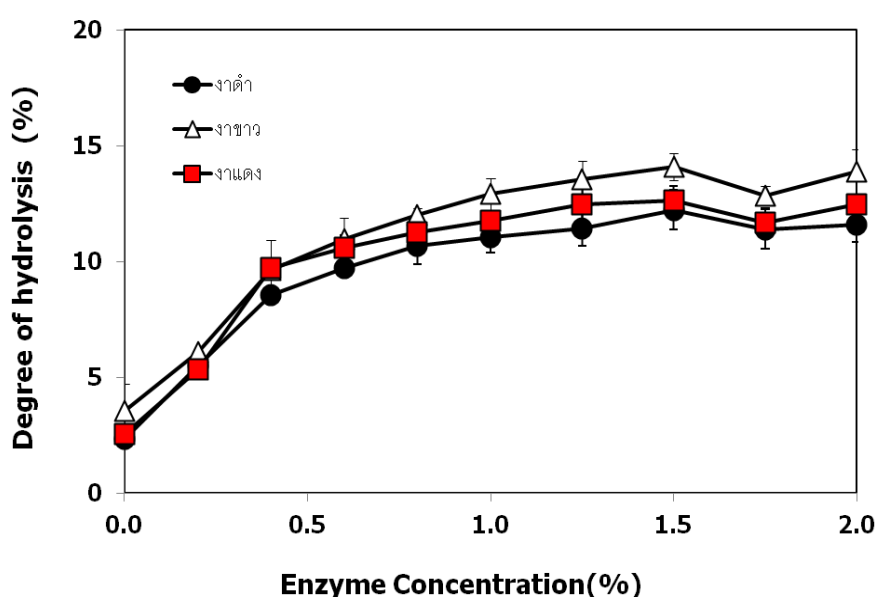
ตัวอย่าง	ผลผลิต (กิโลกรัม)								
	งาดำ			งาแดง			งาขาว		
เมล็ดงา	5.00±0.10	100%	-	5.00±0.10	100%	-	5.00±0.10	100%	-
น้ำมันงา	1.33±0.09	26.56±0.02%	-	1.31±0.13	26.28±0.03%	-	1.18±0.00	23.66±0.23%	-
กากงา	3.51±0.11	70.01±0.02%	100%	3.52±0.04	70.34±0.01%	100%	3.67±0.03	73.42±0.55%	100%
แป้งงา	2.51±0.16	-	71.52±0.05%	2.71±0.21	-	71.52±0.06%	2.83±0.07	-	77.33±0.09%

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงา กากงา และแป้งงาของงาดำ งาแดง และงาขาว

องค์ประกอบทางเคมี	เมล็ดงา			กากงา			แป้งงา		
	งาดำ	งาแดง	งาขาว	งาดำ	งาแดง	งาขาว	งาดำ	งาแดง	งาขาว
ความชื้น	18.51 ± 0.04	4.85 ± 0.16	4.66 ± 0.22	7.14 ± 0.79	4.47±0.41	4.60±0.45	4.18 ± 0.05	6.18 ± 1.18	5.17 ± 1.34
โปรตีน	13.55 ± 0.16	20.85 ± 0.42	25.22 ± 1.06	18.92 ± 0.14	27.27 ± 0.36	31.64 ± 0.29	39.23±0.40	37.60±2.43	40.48 ±1.20
ไขมัน	47.33 ± 1.14	52.75 ± 2.37	49.23 ± 0.46	22.24 ± 1.22	37.30 ± 2.65	15.07 ± 0.08	2.02 ± 0.26	8.18 ±1.44	5.05 ± 0.91
เถ้า	5.37 ± 0.24	4.61 ± 0.14	3.57 ± 0.13	7.59 ± 0.49	7.77 ± 0.63	5.30 ± 0.26	9.28 ± 0.56	6.51 ± 0.55	6.49 ± 0.44
เยื่อใย	5.72 ± 1.13	11.12 ± 2.20	17.04 ± 1.53	5.93 ± 1.69	10.31 ± 1.41	6.17 ± 0.70	3.83 ± 1.03	9.85 ± 2.41	8.70 ± 0.58
คาร์โบไฮเดรต	15.66 ± 6.14	16.95 ± 1.06	17.43 ± 0.62	43.19±7.06	21.9 ± 4.74	42.66 ± 4.87	49.07 ± 3.11	41.52 ± 1.31	42.62 ± 1.12

1.3 งาไฮโดรไลเสทจากกากงาหลังการบีบน้ำมัน

ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์ต่อระดับการย่อยโปรตีน (Degree of hydrolysis ; DH) จากกากงาทั้ง 3 ชนิด ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสTM (ภาพที่ 6) พบว่าระดับการย่อยของโปรตีนจากงาทั้งสามชนิด มีระดับการย่อยสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์สูงขึ้นจากร้อยละ 0 ถึง 0.6 ของปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง หลังจากนั้นระดับการย่อยสูงขึ้นเล็กน้อยและคงที่ จากผลการทดลองจะสังเกตเห็นว่างาขาวมีระดับการย่อยสูงกว่างาแดงและงาดำทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ สารตั้งต้นโปรตีนเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์และระดับการย่อย (van der Ven *et al.*, 2002) ทั้งนี้ระดับการย่อยใช้เป็นค่าที่บอกจำนวนพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ และยังช่วยควบคุมให้ได้โพลิเปปไทด์ที่มีขนาดเหมาะสม



ภาพที่ 6 ระดับการย่อย (Degree of hydrolysis ; DH) ของกากงาดำ กากงาขาว และกากงาแดงที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสTM เข้มข้นปริมาณ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00 กรัมต่อโปรตีน 100 กรัม ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที

ปริมาณผลผลิตร้อยละของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว ที่ระดับการย่อยต่างกันมีค่าในช่วงร้อยละ 19.43-31.61, 30.27-33.17 และ 32.39-35.16 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) จากผลการทดลองข้างต้นเลือกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสTM ที่ใช้ในการย่อยโปรตีนจากกากงาทั้งสามชนิดคือร้อยละ 0, 0.2, 0.6 และ 2.0 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที ซึ่งมีค่าระดับการย่อยร้อยละ (% Degree of hydrolysis; DH) 2, 5, 10 และ 12 เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์สมบัติชีวภาพต่อไป

ตารางที่ 5 ระดับการย่อยของงาดำ (HBSP) งาแดง (HRSP) และงาขาว (HWSP) และปริมาณผลผลิตของ
 งามไโดโรไลสจากกากงาทั้งสามชนิดที่ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส™ เข้มข้นร้อยละ 0, 0.2, 0.6
 และ 2.00 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที

Sample	Enzyme concentration (%)	Degree of hydrolysis (%)	Yield (%)
งาดำ			
HBSP	0	2.33 ± 0.20	31.61 ± 2.47
HBSP02	0.2	5.49 ± 0.38	19.43 ± 0.18
HBSP06	0.6	9.71 ± 0.28	24.80 ± 0.20
HBSP20	2.00	11.60 ± 0.77	25.79 ± 0.25
งาแดง			
HRSP	0	2.54 ± 0.21	32.08 ± 2.47
HRSP02	0.2	5.34 ± 0.30	30.27 ± 2.18
HRSP06	0.6	10.58 ± 0.53	33.17 ± 1.09
HRSP20	2.00	12.48 ± 0.22	33.05 ± 0.44
งาขาว			
HWSP	0	3.56 ± 1.16	35.16 ± 1.47
HWSP02	0.2	6.07 ± 0.12	32.38 ± 1.76
HWSP06	0.6	10.98 ± 0.89	33.89 ± 1.58
HWSP20	2.00	13.88 ± 0.99	32.99 ± 1.92

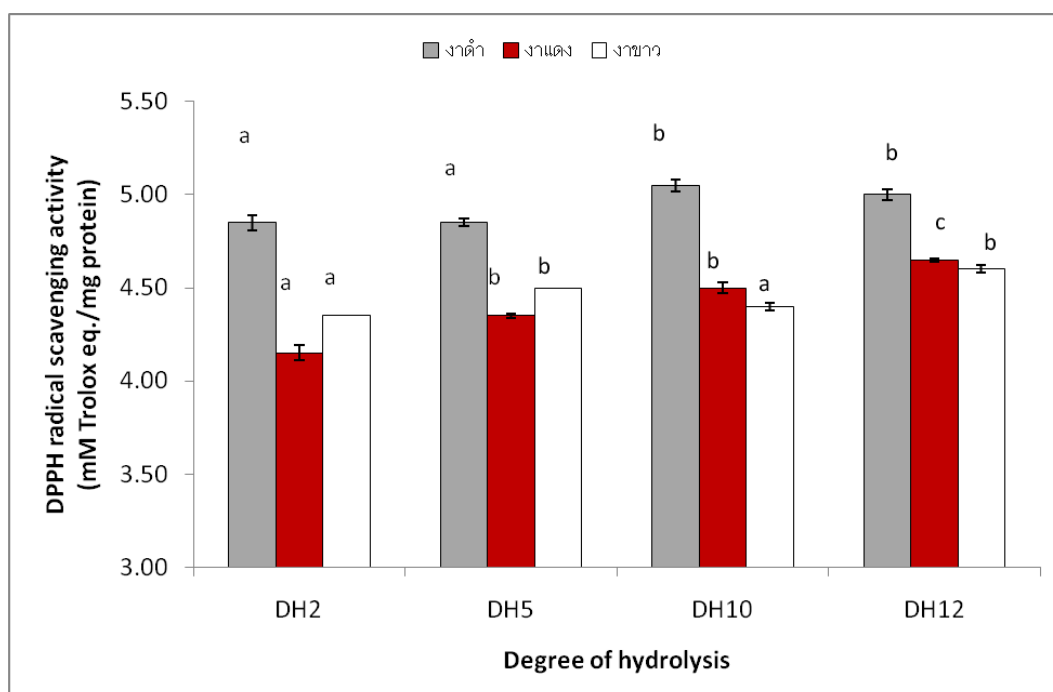
หมายเหตุ

1. HBSP หมายถึง งาดำปรับพีเอช 8 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 30 นาที
 HBSP02, HBSP06 และ HBSP20 หมายถึง HBSP นำมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส™
 เข้มข้นร้อยละ 0.2 0.6 และ 2.00 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที
2. HRSP หมายถึง งาแดงปรับพีเอช 8 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 30 นาที
 HRSP02, HRSP06 และ HRSP20 หมายถึง HRSP นำมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส™
 เข้มข้นร้อยละ 0.2 0.6 และ 2.00 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที
3. HWSP หมายถึง งาขาวปรับพีเอช 8 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 30 นาที
 HWSP02, HWSP06 และ HWSP20 หมายถึง HWSP นำมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส™
 เข้มข้นร้อยละ 0.2 0.6 และ 2.00 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 60 นาที

1.4 สมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทของกากงา

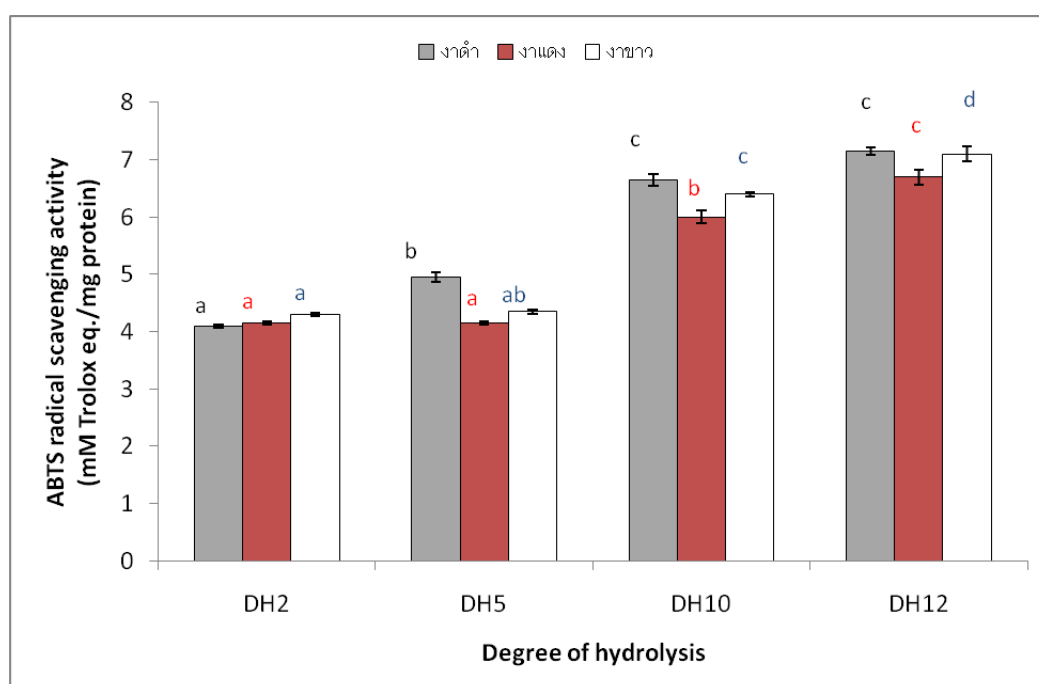
ศึกษาสมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ต่างๆ ที่มีค่า Degree of hydrolysis (DH) เท่ากับ 2 5 10 และ 12 มาวิเคราะห์สมบัติต้านออกซิเดชันจำนวน 7 วิธีคือ 1) ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) 2) ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid; ABTS) 3) ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) 4) ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$) 5) ความสามารถรีดิวซ์ (Reducing power) 6) ความสามารถจับไอออนของโลหะ (Metal chelating activity) และ 7) ความสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนลิก (linoleic acid autoxidation)

ผลของความสามารถต้านอนุมูล DPPH $^{\cdot}$ ของงาไฮโดรไลเสท พบว่างาไฮโดรไลเสทของกากงามีแนวโน้มของฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) (ภาพที่ 7) ระดับการย่อยมีความสำคัญต่อความยาวของสายโพลีเปปไทด์ เปปไทด์สายสั้นจะมีหมู่ปลายสายด้าน C จากหมู่คาร์บอกซิล ($-COOH$) และ N จากหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ในโครงสร้างที่มีความอิสระมากขึ้น ส่งผลต่อค่าความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของสายเปปไทด์ จากการศึกษาของ Wang *et al.* (2009) พบว่าเปปไทด์และกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acid) ที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH $^{\cdot}$ สูง เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH $^{\cdot}$ ของงาไฮโดรไลเสทของกากงาทั้งสามชนิดทุกระดับการย่อย พบว่า งาไฮโดรไลเสทของกากงาดำมีค่าสูงกว่าค่าดังกล่าวของกากงาแดงและกากงาขาว ($p < 0.05$)



ภาพที่ 7 ความสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH $^{\cdot}$ ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาวที่ระดับการย่อยร้อยละ 2 5 10 และ 12

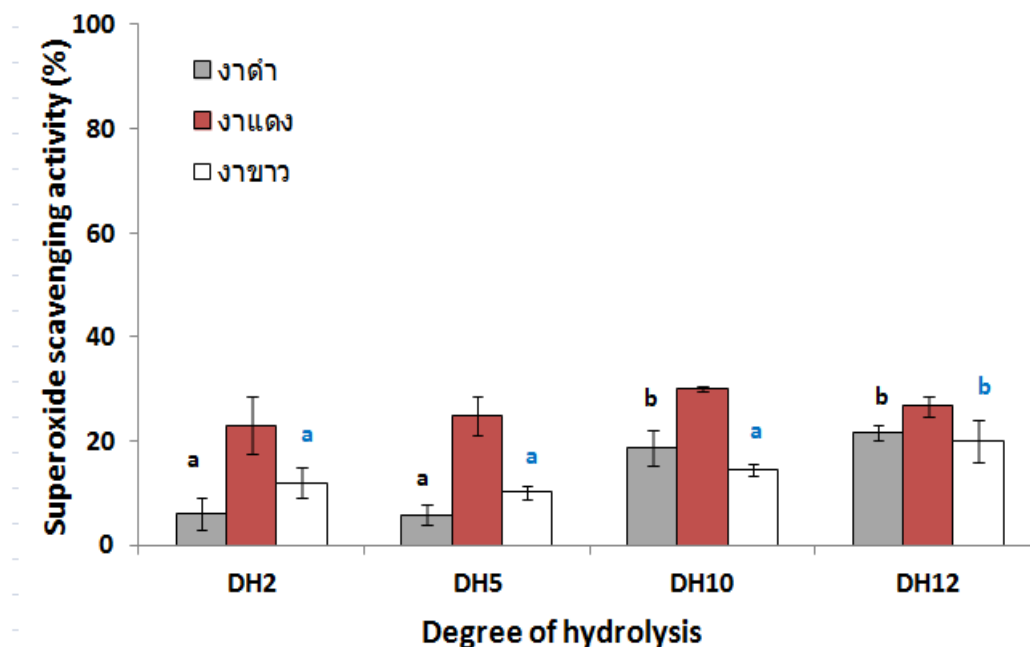
ผลการทดสอบความสามารถต้านอนุมูล $ABTS^{+}$ ของงาไฮโดรไลสของกากงา พบว่างาไฮโดรไลสของกากทั้งสามชนิดจะมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ เพิ่มขึ้นเมื่อระดับการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8) โดยที่งาไฮโดรไลสของกากงาขาวที่ระดับ DH12 แสดงการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ร้อยละ 58.45) แต่งาไฮโดรไลสของกากงาดำและกากงาแดงที่ระดับการย่อย DH10 และ DH12 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการออกฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และ $ABTS^{+}$ ของงาไฮโดรไลสของกากงา พบว่า กากงามีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ ได้สูงกว่า โดยเฉพาะไฮโดรไลสของกากงาดำ และที่ระดับ DH 10 และ 12 ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Tang *et al.*, (2010) ซึ่งรายงานว่าความสามารถต้านอนุมูล $ABTS^{+}$ ของโปรตีนซินไฮโดรไลส (zein hydrolyzate) มีค่าสูงกว่าความสามารถต้านอนุมูล $DPPH^{\bullet}$



ภาพที่ 8 ความสามารถยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+}$ ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว ที่ระดับการย่อยร้อยละ 2 5 10 และ 12

ผลความสามารถต้านอนุมูล Superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$) ของงาไฮโดรไลสของกากงา พบว่างาไฮโดรไลสของกากงาดำและกากงาขาวมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ เพิ่มขึ้นเมื่อระดับการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 9) โดยเฉพาะตัวอย่างงาไฮโดรไลสของกากงาดำที่ระดับ DH10 และ DH12 มีฤทธิ์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าเมื่อเทียบกับ DH2 และ DH5 แต่อย่างไรก็ตามงาไฮโดรไลสของกากงาดำที่ระดับ DH10 และ DH12 แสดงการเป็นสารต้านอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่งาไฮโดรไลสของกากงาขาวที่ระดับ DH12 มีความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ สูงสุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ระดับ DH อื่นๆ แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ ตามระดับการย่อยโปรตีนของงาไฮโดรไลสจากงาดำและงาขาวเป็นไปในแนวทางเดียวกับความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และ $ABTS^{+}$ Moure *et al.* (2006) รายงานการว่าความสามารถต้านอนุมูล Superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$) ในตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลสเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนดังกล่าวลดลง เปปไทด์จากโปรตีนเคซีนไฮโดรไลสมีคุณสมบัติความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ และสมบัติต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (Suetsuna *et al.*,

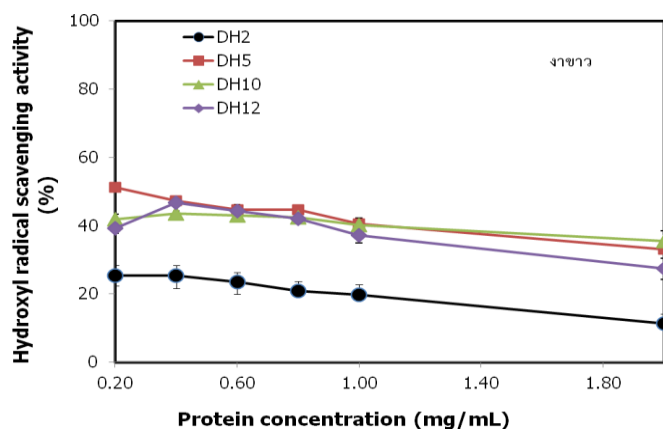
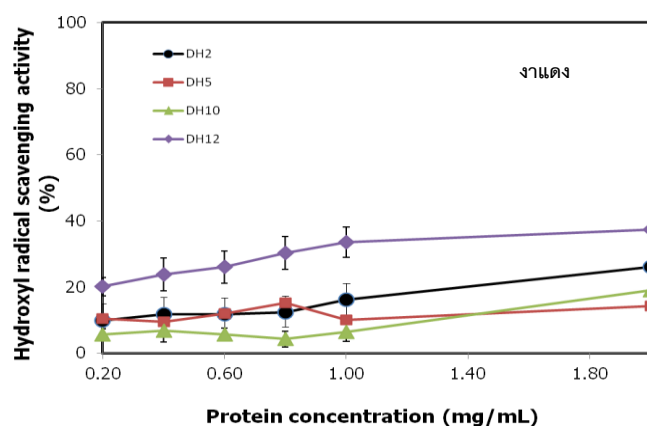
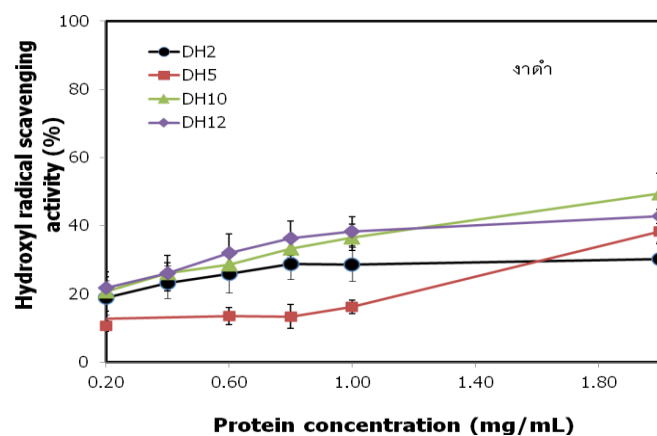
2000) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างงาไฮโดรไลเสทของกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว พบว่างาไฮโดรไลเสทของกากงาแดง มีความสามารถในการต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ สูงที่สุด แม้ว่าจะระดับการย่อยโปรตีนไม่มีผลต่อความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดง



ภาพที่ 9 ความสามารถยับยั้งอนุมูล Superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาวที่ระดับการย่อยร้อยละ 2 5 10 และ 12 และความเข้มข้น 0.2 mg/ml

การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Hydroxyl radical scavenging activity เป็นการทดสอบความสามารถการยับยั้งอนุมูล $\cdot OH$ ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงา โดยการสังเคราะห์ $\cdot OH$ จากน้ำตาล deoxyribose ทำปฏิกิริยากับ Thibarbituric acid (TBA) และ Thichloroacetic acid (TCA) เกิดสีชมพู และเมื่องาไฮโดรไลเสทจากกากงาสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ สีชมพูจะจางลงซึ่งตรวจสอบด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ผลการทดลองพบว่าความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ ของงาไฮโดรไลเสทของกากงาดำและกากงาแดงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 0.2-2 mg/ml แต่ตัวอย่างไฮโดรไลเสทของกากงาขาวให้ผลการยับยั้งตรงกันข้าม นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระดับ DH เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 10) งาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำที่ระดับการย่อย DH10 และ 12 ที่ความเข้มข้น 2 mg/ml มีความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ เท่ากับร้อยละ 50 และ 43 ตามลำดับ ส่วนงาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงที่ระดับการย่อย DH12 ที่ความเข้มข้น 2 mg/ml จะมีความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ เท่ากับร้อยละ 38 ขณะที่งาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาวที่ระดับการย่อย DH5-12 จะมีความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ เท่ากับร้อยละ 27-35 ซึ่งจะเห็นได้ว่าความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ แตกต่างกันตามชนิดและระดับการย่อยโปรตีนของงาไฮโดรไลเสท งาไฮโดรไลเสทจากใบอัลฟาฟา (alfalfa leaf) ที่ความเข้มข้นโปรตีน 1.2 mg/ml มีความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ ร้อยละ 80 (Xie *et al.*, 2008) งาไฮโดรไลเสทจากเศษปลา Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) เข้มข้น 53.6 M มีความสามารถยับยั้ง $\cdot OH$ ร้อยละ 35 (Je *et al.*, 2004) ผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าความสามารถการยับยั้งอนุมูล $\cdot OH$ ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ > งาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดง > งาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาว ตามลำดับ และ

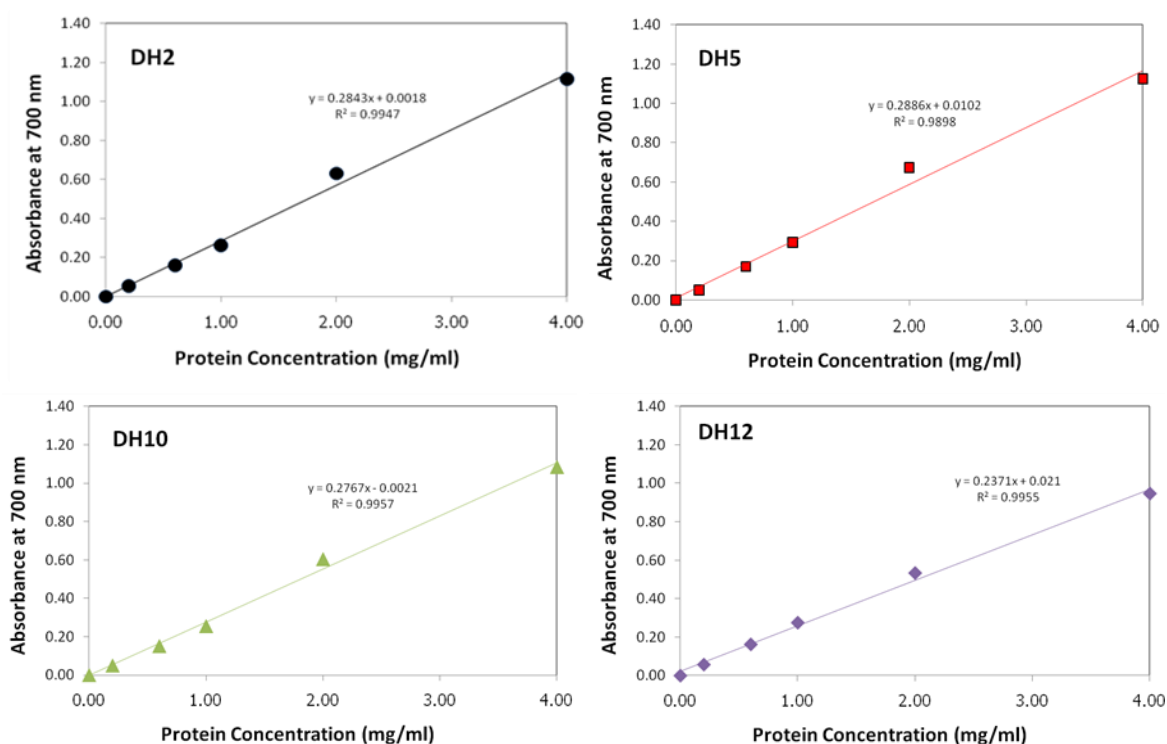
ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $\cdot\text{OH}$ ขึ้นอยู่กับชนิดของกากงาและระดับการย่อยของโปรตีนของงาไฮโดรไลเสท



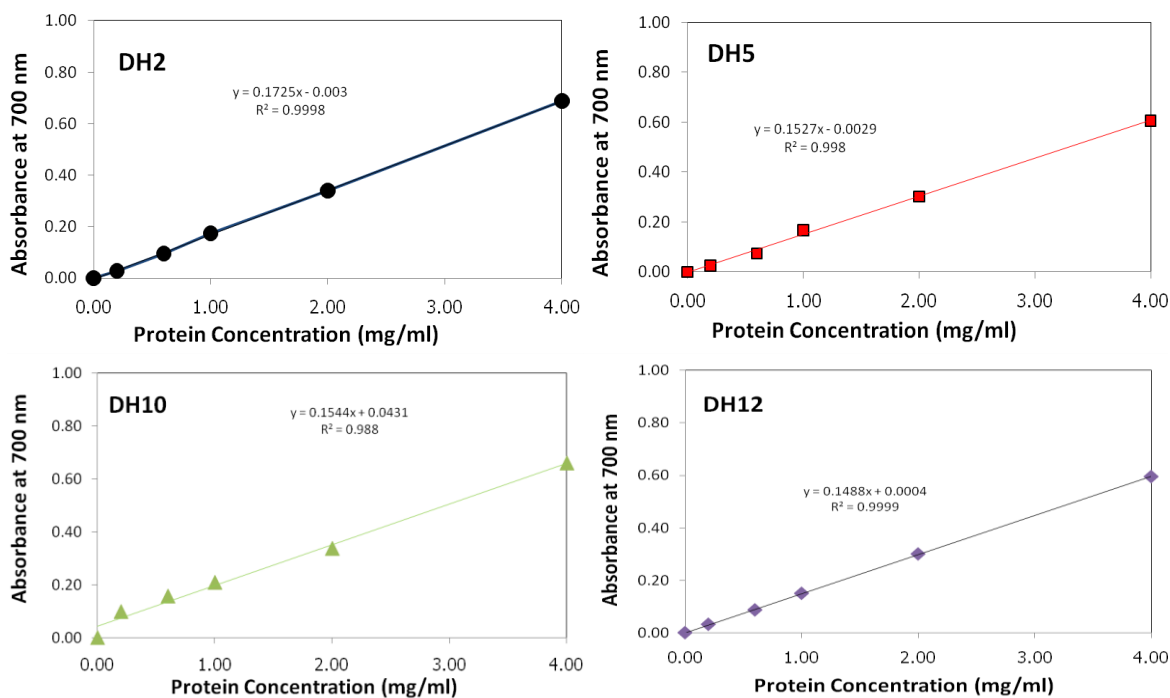
ภาพที่ 10 ความสามารถยับยั้งอนุมูล Hydroxyl radical ($\text{OH}\cdot$) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาวที่ระดับการย่อยร้อยละ 2, 5, 10 และ 12 และความเข้มข้น 0.2 mg/ml

ผลการทดสอบความสามารถรีดิวซ์ (Reducing power) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงา โดยศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์หรือตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัวจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$ เป็น $\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$ ทำให้เกิดสีน้ำตาลที่เข้มข้น สามารถตรวจวัดการรีดิวซ์ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร งาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำที่ DH2

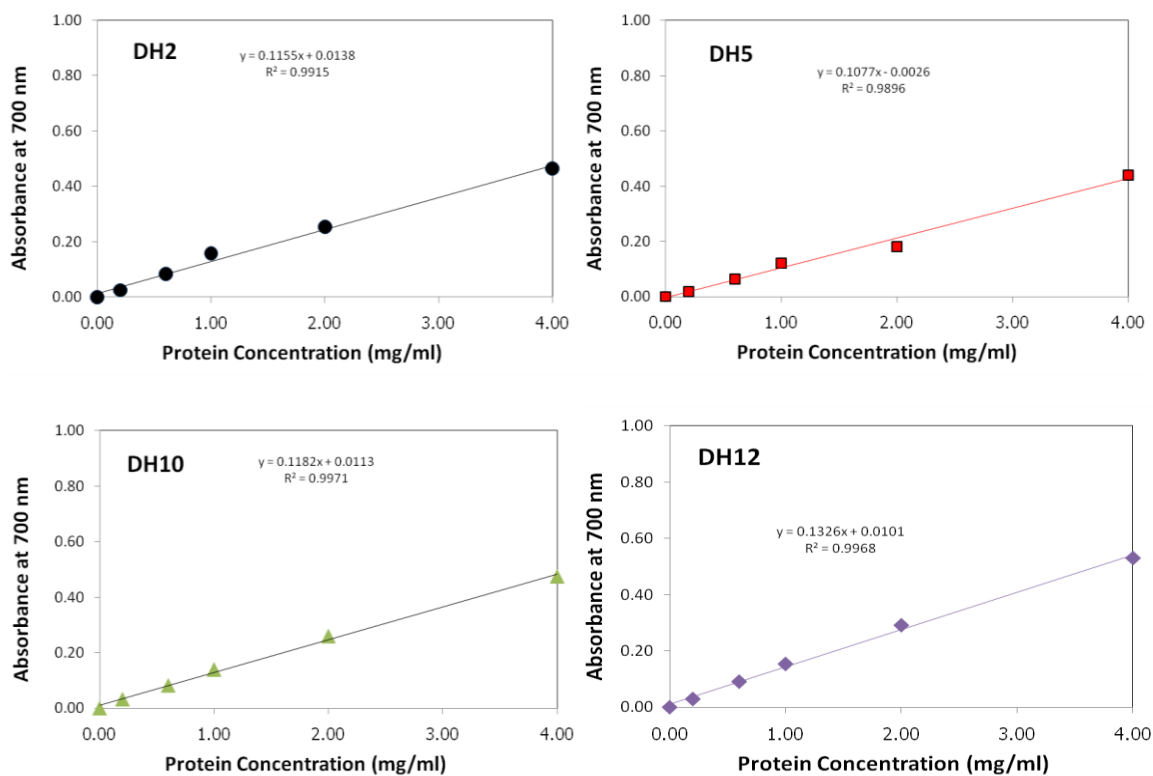
5 10 และ 12 ช่วงความเข้มข้น 0-4 mg/ml ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้คือ 0-1.116, 0-1.126, 0-1.085 และ 0-0.947 ตามลำดับ (ภาพที่ 11) ส่วนงาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงที่ DH2 5 10 และ 12 ช่วงความเข้มข้น 0-4 mg/ml ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้คือ 0-0.688, 0-0.606, 0-0.661 และ 0-0.595 ตามลำดับ (ภาพที่ 12) งาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาวที่ DH2 5 10 และ 12 ช่วงความเข้มข้น 0-4 mg/ml ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้คือ 0-0.465, 0-0.440, 0-0.476 และ 0-0.530 ตามลำดับ (ภาพที่ 13) และสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้น 0-0.1 mg/ml มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0-0.1913 (ภาพที่ 14) ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของโปรตีนงาไฮโดรไลเสทมีอิทธิพลต่อความสามารถในการรีดิวซ์เช่นเดียวกับอิทธิพลด้านความเข้มข้นสารมาตรฐาน Gallic acid มีรายงานวิจัยว่าความเข้มข้นของโปรตีนมีอิทธิพลต่อความสามารถรีดิวซ์ของโปรตีนไฮโดรไลเสท (Cumby *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2010) เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเป็นสารรีดิวซ์ระหว่างงาไฮโดรไลเสทจากกากงาทั้งสามชนิดที่ DH2 5 10 และ 12 กับสารมาตรฐาน Gallic acid ในรูป Gallic acid equivalent antioxidant capacity (GAE) พบว่างาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำที่ DH2 5 10 และ 12 มีค่าเท่ากับ 11.98, 12.37, 11.67 และ 10.00 mg Gallic acid/g ของตัวอย่าง ส่วนงาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงที่ DH2 5 10 และ 12 มีค่าเท่ากับ 7.20, 6.38, 7.10 และ 6.25 mg Gallic acid/g ของตัวอย่าง และงาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาวที่ DH 2 5 10 และ 12 มีค่าเท่ากับ 4.99, 4.50, 5.08 และ 5.68 mg Gallic acid/g ของตัวอย่าง ดังนั้นสรุปได้ว่าความสามารถในการเป็นสารรีดิวซ์ (Reducing power) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ > งาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดง > งาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาว ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} (ภาพที่ 8) และความสามารถยับยั้งอนุมูล OH[•] (ภาพที่ 10)



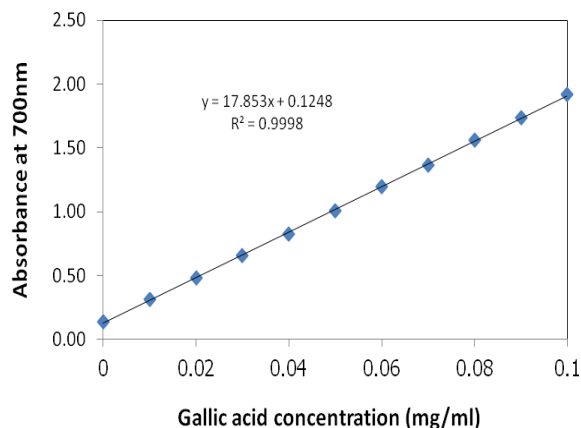
ภาพที่ 11 ความสามารถออกฤทธิ์เป็นตัว Reducing power ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำที่ระดับการย่อยร้อยละ 2, 5, 10 และ 12 และความเข้มข้น 0.2-4 mg/ml



ภาพที่ 12 ความสามารถออกฤทธิ์เป็นตัว Reducing power ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงที่ระดับการย่อยร้อยละ 2, 5, 10 และ 12 และความเข้มข้น 0.2-4 mg/ml



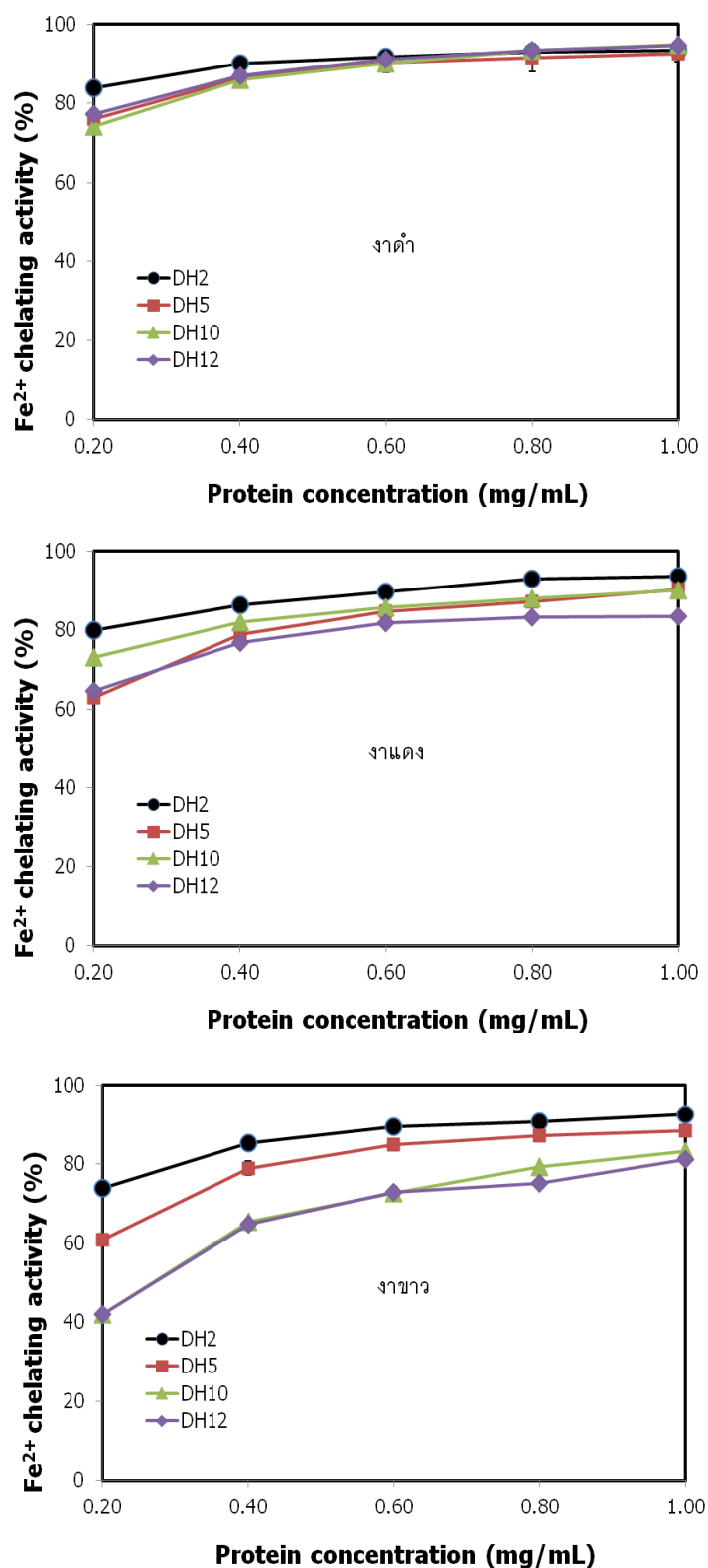
ภาพที่ 13 ความสามารถออกฤทธิ์เป็นตัว Reducing power ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาวที่ระดับการย่อยร้อยละ 2, 5, 10 และ 12 และความเข้มข้น 0.2-4 mg/ml



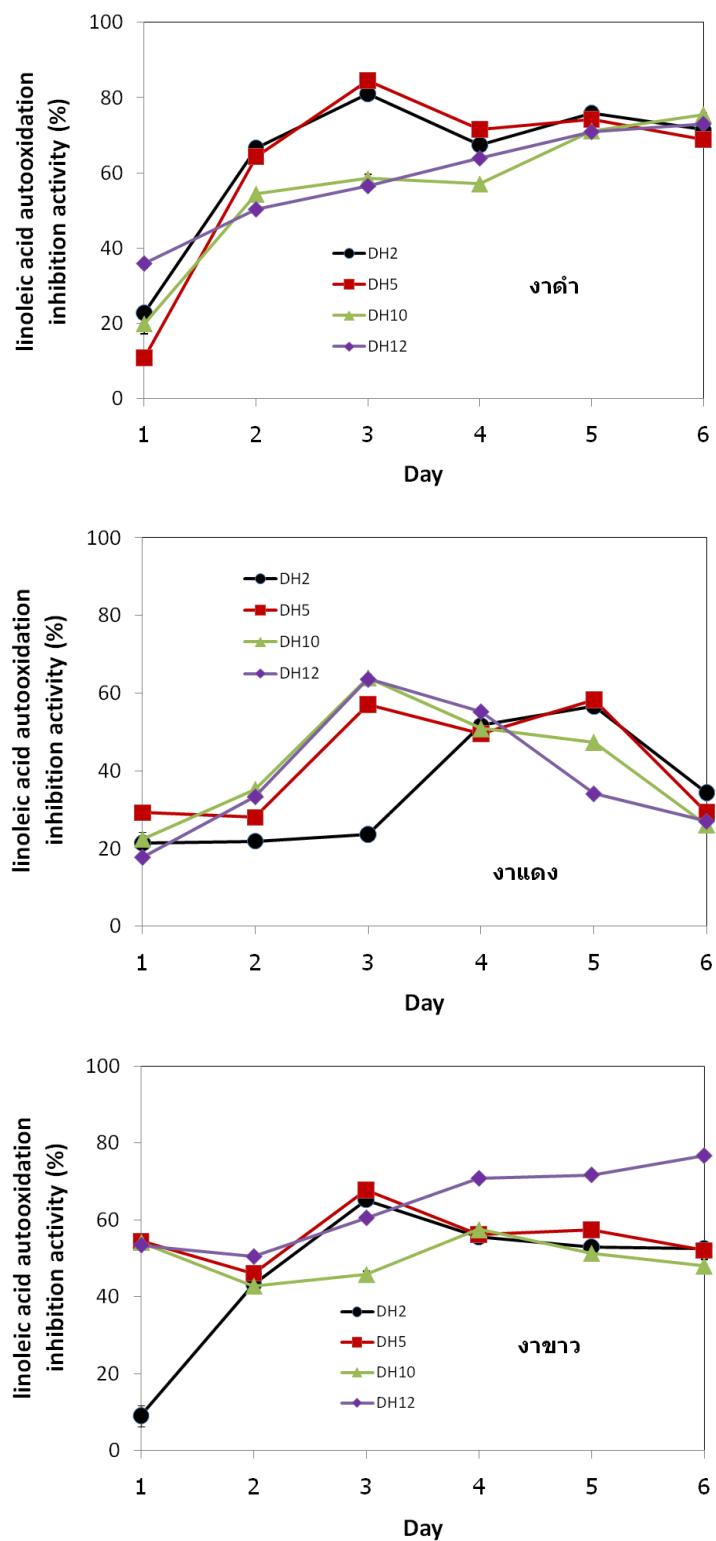
ภาพที่ 14 ความสามารถออกฤทธิ์เป็นตัว Reducing power ของ Gallic acid ที่ความเข้มข้น 0-0.1 mg/ml

ผลการทดสอบความสามารถจับไอออนของโลหะ (Metal chelating activity) ของงาไฮโดรไลสจากกากงา ทำการทดสอบจากปฏิกิริยาทางเคมีของสาร Ferrozine ที่เติมลงไปจะจับ Fe^{2+} แล้วอยู่ในรูป Ferrozine- Fe^{2+} complex ให้สีแดง เมื่องาไฮโดรไลสจากกากงามีความสามารถจับ Fe^{2+} ทำให้สีแดงของ Ferrozine- Fe^{2+} complex ลดลง สังเกตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร จากการทดลองพบว่างาไฮโดรไลสจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว พบว่าความสามารถจับไอออนของโลหะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นจาก 0 – 1 mg/ml (ภาพที่ 15) นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถจับไอออนโลหะของงาทั้งสามชนิดลดลงเมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น ความสามารถในการจับโลหะของโปรตีนขึ้นอยู่กับโครงสร้างและความยาวของสายเปปไทด์ ซึ่งเปปไทด์และ/หรือกรดอะมิโนแสดงสมบัติในการเป็นสารจับโลหะ (Chelating agent) โดยสามารถจับกับโลหะที่มีประจุบวก เช่น เหล็ก สังกะสี เป็นต้น (ยงยุทธ, 2551) ที่ระดับการย่อย DH2 ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml งาไฮโดรไลสจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว มีความสามารถยับยั้งโลหะไอออนสูงที่สุดคือ ร้อยละ 95, 94 และ 93 ตามลำดับ

ผลการทดสอบความสามารถต้านการเกิด linoleic acid autoxidation ของงาไฮโดรไลสจากกากงาที่ความเข้มข้น 1 mg/ml นาน 1-6 วัน พบว่างาไฮโดรไลสจากกากงาทั้งสามชนิดช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งงาไฮโดรไลสจากกากงาดำ DH2 และ 5 สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา linoleic acid autoxidation ได้สูงสุดที่ร้อยละ 81 และ 84 เวลา 3 วัน ส่วนงาไฮโดรไลสจากกากงาแดง DH12 สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา linoleic acid autoxidation ได้สูงสุดที่ร้อยละ 64 เวลา 3 วัน และ งาไฮโดรไลสจากกากงาขาว DH12 สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา linoleic acid autoxidation ได้สูงสุดที่ร้อยละ 77 เวลา 6 วัน ดังภาพที่ 16-18 แสดงให้เห็นว่างาไฮโดรไลสที่ DH ต่ำ มีความสามารถในการต้านการเกิด linoleic acid autoxidation ได้สูงกว่า



ภาพที่ 15 ความสามารถออกฤทธิ์เป็นตัว Metal chelating activity ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว ที่ความเข้มข้น 0.2-1.0 mg/ml



ภาพที่ 16 ความสามารถต้านการเกิด linoleic acid autooxidation ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ กากงาแดง และกากงาขาว ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1 mg/ml นาน 1-6 วัน

สรุปผลการทดลอง

สมบัติต้านอนุมูลอิสระของงาไฮโดรไลเสทขึ้นอยู่กับชนิดของกากงาและระดับการย่อย สมบัติต้านอนุมูล DPPH[•] ABTS^{•+} Superoxide radical (O₂⁻) และ สมบัติ Reducing power ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาทั้ง 3 ชนิด มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น ขณะที่ Metal chelating และ สมบัติต้านอนุมูล Hydroxyl radical (OH[•]) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาวมีค่าลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้น งาไฮโดรไลเสทแต่ละชนิดมีคุณสมบัติเฉพาะในการต้านออกซิเดชัน งาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงมีสมบัติยับยั้ง Superoxide radical (O₂⁻) สูง ขณะที่งาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH[•] ABTS^{•+} OH[•] ความสามารถรีดิวซ์ และความสามารถจับโลหะสูงกว่างาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงและงาขาว ดังนั้นงาไฮโดรไลเสทจากกากดำจึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจในการทำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

ส่วนที่ 2 เรื่องผลการศึกษาหาไฮโดรไลสที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากกากงา (ที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันออก)

2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของกากงาหลังการบีบน้ำมัน

จากผลการทดลองในส่วนที่ 1 พบว่ากากงาดำที่ผ่านการไฮโดรไลสแล้วมีสมบัติยับยั้งอนุมูล DPPH[•] OH[•] ความสามารถรีดิวซ์ และความสามารถจับโลหะสูงกว่า ส่วนสมบัติการยับยั้งอนุมูล ABTS^{•+} ใกล้เคียงกับงาไฮโดรไลสจากกากงาแดงและงาขาว ดังนั้นการทดลองส่วนที่ 2 จึงเลือกใช้เฉพาะกากงาดำมาเป็นวัตถุดิบ โดยใช้กากงาดำที่ได้ภายหลังจากการบีบน้ำมันจาก 2 แหล่ง คือ 1. กากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรม (IS) และ 2. กากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี (AS)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างกากงาดำหลังการบีบน้ำมัน 2 ตัวอย่าง ได้แก่ กากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรม และกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ แสดงดังตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างกากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรมมีปริมาณโปรตีนสูงกว่า (ร้อยละ 43.67) และปริมาณไขมัน (ร้อยละ 16.41) ต่ำกว่ากากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ ส่วนปริมาณเยื่อใยและปริมาณคาร์โบไฮเดรตของกากงาดำทั้งสองแหล่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ดีในการบีบน้ำมันออกจากงาดำของโรงงานอุตสาหกรรมจึงส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในกากงาสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากเครื่องบีบน้ำมันของโรงงานที่ใช้เป็นแบบ เครื่องบีบอัดด้วยสกรู (screw press) และเป็นเครื่องจักรขนาดใหญ่ กำลังผลิตและแรงบีบอัดค่อนข้างสูง แต่เครื่องบีบน้ำมันของศูนย์การเรียนรู้ฯ ใช้เป็นแบบเครื่องบีบอัดไฮดรอลิกเพรส (Hydraulic press) เป็นเครื่องจักรต้นแบบขนาดเล็ก กำลังผลิตและแรงบีบอัดต่ำ จึงเป็นผลให้ปริมาณน้ำมันงาที่เหลือในกากงาค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกากงาจากโรงงาน นอกจากความแตกต่างของเครื่องที่ใช้ในการบีบน้ำมันจะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของกากงาแล้ว ชนิดของพันธุ์งา การปลูก สิ่งแวดล้อมและการกลั่นกรอง ยังมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงาอีกด้วย (Salunkhe *et al.*, 1992) จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากงาทั้งสองแหล่ง คือ กากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรม และกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ ภายหลังการบีบน้ำมัน ยังคงมีปริมาณโปรตีนที่สูง ร้อยละ 43.67 และ 38.64 ตามลำดับ ดังนั้นกากงาดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตงาไฮโดรไลสจากกากงาได้

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของกากงาดำ

องค์ประกอบทางเคมี	กากงาดำ (โรงงานอุตสาหกรรม)	กากงาดำ (ศูนย์การเรียนรู้ฯ ม.อุบลราชธานี)
ความชื้น ^{ns}	7.25±0.15	6.67±0.58
โปรตีน	43.67±0.47 ^b	38.64±0.11 ^a
ไขมัน	16.41±0.38 ^a	22.01±1.40 ^b
เถ้า	11.95±0.04 ^a	7.36±0.27 ^b
เยื่อใย ^{ns}	15.43±3.30	7.25±1.39
คาร์โบไฮเดรต ^{ns}	20.59±0.71	26.16±1.07

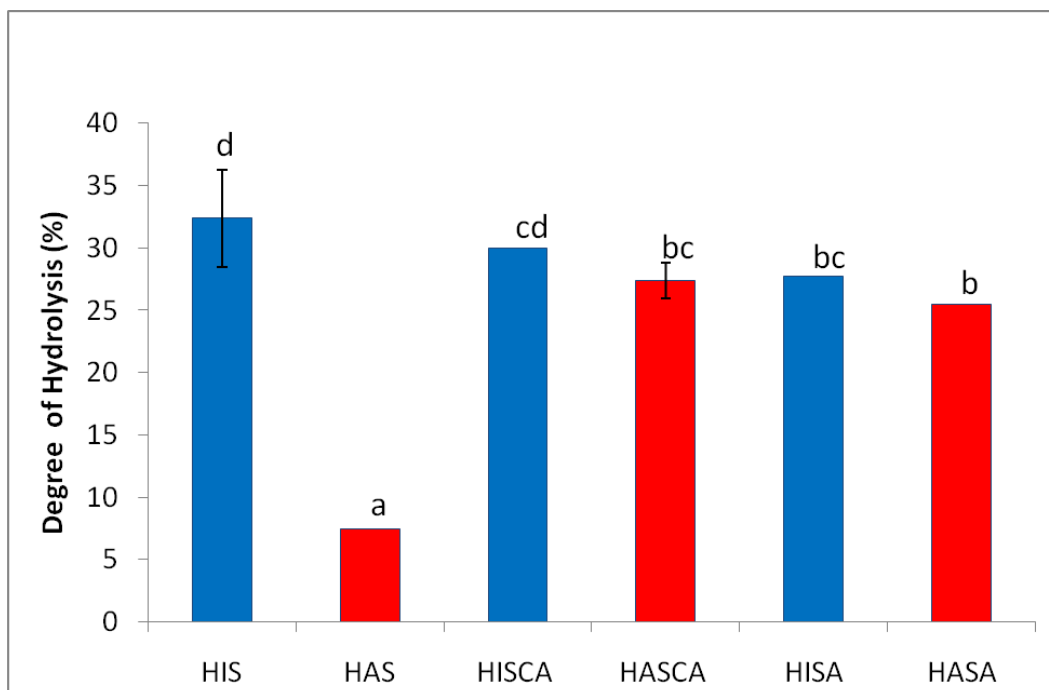
หมายเหตุ ^{ns} แสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{ab} ที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2.2 ระดับการย่อยและผลผลิตของงาไฮโดรไลเสท

การผลิตงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำภายหลังการบีบน้ำมันจาก 2 แหล่ง คือ กากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรม และกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ โดยกากงาดำดังกล่าวไม่ได้นำมาผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันที่หลงเหลือในกากงาดำด้วยเฮกเซน ด้วยเหตุผลด้านการทำลายโครงสร้างโปรตีนระหว่างการสกัดไขมัน และเหตุผลด้านความปลอดภัยต่อสุขภาพ ทดลองนำกากงาไปย่อยด้วยวิธีการย่อยที่แตกต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ 1. การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที 2. การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ปรับ pH 8 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 55 °ซ นาน 30 นาที ย่อยต่อด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 60 นาที และ 3. ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ปรับพีเอช 8 ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 60 นาที

ผลการทดลองพบว่า ระดับการย่อยของงาไฮโดรไลเสทขึ้นอยู่กับวิธีการย่อยและชนิดของกากงาดำ (ภาพที่ 17) งาไฮโดรไลเสทของศูนย์การเรียนรู้ฯ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ ที่ pH 8 เป็นเวลา 30 นาที (HAS) มีระดับการย่อยต่ำสุด และต่ำกว่าไฮโดรไลเสทจากโรงงานอุตสาหกรรม ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ pH 8 เป็นเวลา 30 นาที (HIS) ซึ่งใช้วิธีการย่อยเหมือนกัน ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่าง HAS มีปริมาณไขมันสูงกว่าตัวอย่าง HIS (ตารางที่ 6) ส่งผลให้เกิดสารละลายที่มีลักษณะคล้ายอิมัลชันในระหว่างการย่อย ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของน้ำและไขมันโดยมีโปรตีนทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์จึงมีผลต่อขั้นตอนการย่อย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณแอลฟาอะมิโน (α -amino acid) พบว่า HIS มีปริมาณแอลฟาอะมิโนสูงกว่า HAS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 18) แม้ว่าผลผลิตของ HAS และ HIS จะไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 6) การปรับพีเอชของตัวอย่าง HAS ให้เป็น pH 8 แล้วย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเอนไซม์อัลคาเลส (HASCA) หรือ การย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสอย่างเดียว (HASA) สามารถช่วยลดปัญหาการเกิดอิมัลชันที่รบกวนการย่อยและส่งเสริมการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ซึ่งจะสังเกตได้จากระดับการย่อยที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวอย่างกากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรม และกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับอัลคาเลส (HISCA และ HASCA ตามลำดับ) หรือย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสอย่างเดียว (HISA และ HASA ตามลำดับ) มีระดับการย่อยไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามตัวอย่าง HASCA และ HASA ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด ($p < 0.05$, ตารางที่ 7) แต่เมื่อพิจารณาปริมาณแอลฟาอะมิโน ซึ่งบ่งบอกถึงการย่อยสลายโปรตีนโดยกิจกรรมของเอนไซม์ พบว่า การย่อยโปรตีนด้วยการใช้เอนไซม์ร่วมด้วยส่งผลให้ปริมาณแอลฟาอะมิโนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, ภาพที่ 18) อย่างไรก็ตามการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับอัลคาเลส หรือการย่อยอัลคาเลส อย่างเดียวไม่มีต่อการเพิ่มปริมาณแอลฟาอะมิโน แต่ชนิดของกากงาจากแหล่งต่างๆ มีอิทธิพลต่อการย่อยของเอนไซม์ระหว่างการผลิตกากงาไฮโดรไลเสททั้งนี้ น่าจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบเคมีของโปรตีน



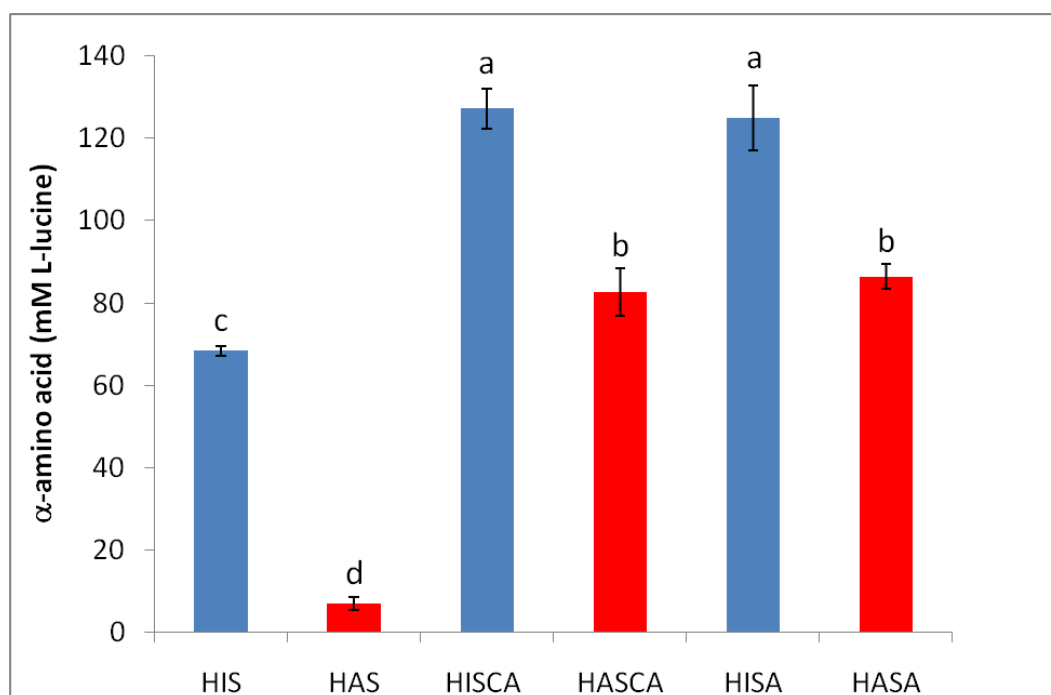
ภาพที่ 17 ระดับการย่อยของกากงาดำ

- HIS : ไฮโดรไลสเททากงาโรงงานอุตสาหกรรมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
- HAS : ไฮโดรไลสเททากงาศูนย์การเรียนรู้ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
- HISCA : ไฮโดรไลสเททากงาโรงงานอุตสาหกรรมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ปรับ pH 8 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 55 °ซ นาน 30 นาที ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส เข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 60 นาที
- HASCA : ไฮโดรไลสเททากงาศูนย์การเรียนรู้ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ปรับ pH 8 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 55 °ซ นาน 30 นาที ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส เข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 60 นาที
- HISA : ไฮโดรไลสเททากงาโรงงานอุตสาหกรรมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ปรับพีเอช 8 ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส เข้มข้นร้อยละ 1 อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 60 นาที
- HASA : ไฮโดรไลสเททากงาศูนย์การเรียนรู้ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับพีเอชของ กากงาให้เท่ากับ 8 แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส เข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 60 นาที

ตารางที่ 7 ระดับการย่อยและปริมาณผลผลิตของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรม และกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ ที่ผ่านกระบวนการย่อยแบบต่างๆ

Sample ¹	Degree of hydrolysis (%)	Yield (%)
HIS	32.37±3.89 ^d	41.06±4.21 ^a
HAS	7.46±1.44 ^a	34.79±11.77 ^a
HISCA	29.95±1.37 ^{cd}	57.60±7.15 ^{cb}
HASCA	27.39±0.00 ^{bc}	67.69±10.01 ^c
HISA	27.73±2.14 ^{bc}	47.62±0.59 ^{ab}
HASA	25.43±0.69 ^b	64.49±10.52 ^c

หมายเหตุ: ¹ ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับกับภาพที่ 17
^{a b c d} ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95



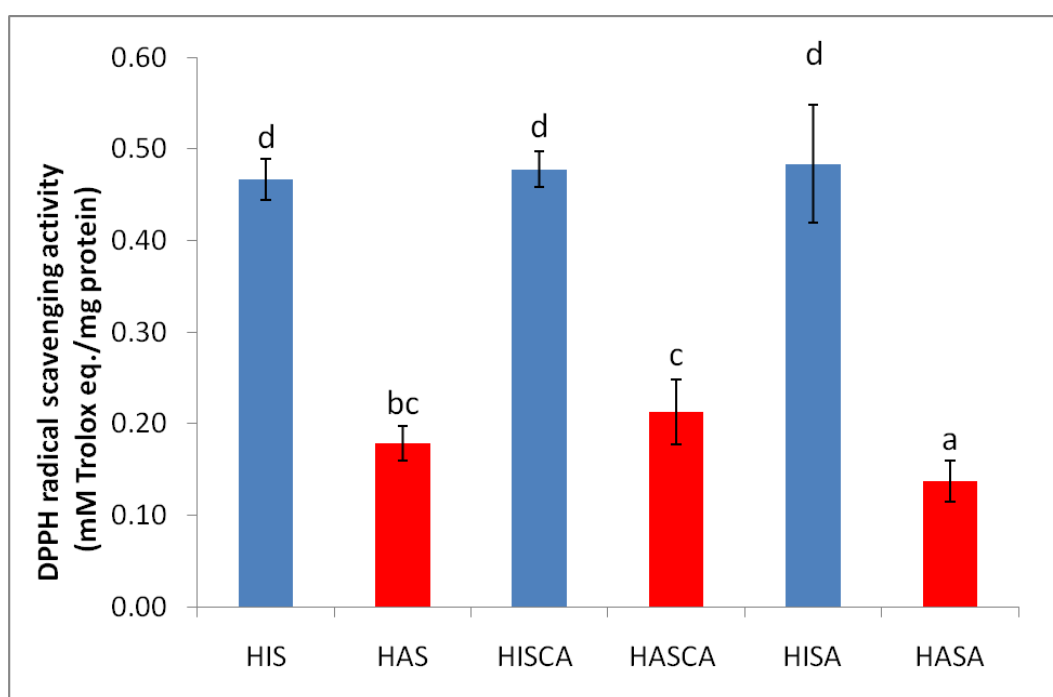
ภาพที่ 18 แอลฟาอะมิโน (α-amino acid) ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำ

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับกับภาพที่ 17

2.3 สมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลสของกากงา

ตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลส ได้แก่ 1. ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) 2. ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid; ABTS) 3. ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Superoxide radical (O_2^-) 4. ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของ Hydroxyl radical ($OH^\bullet$) 5. ความสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนลินิก (linoleic acid autoxidation) 6. ความสามารถรีดิวซ์ (Reducing power) และ 7. ความสามารถจับโลหะ (Metal chelating) แสดงผลดังภาพที่ 19-27

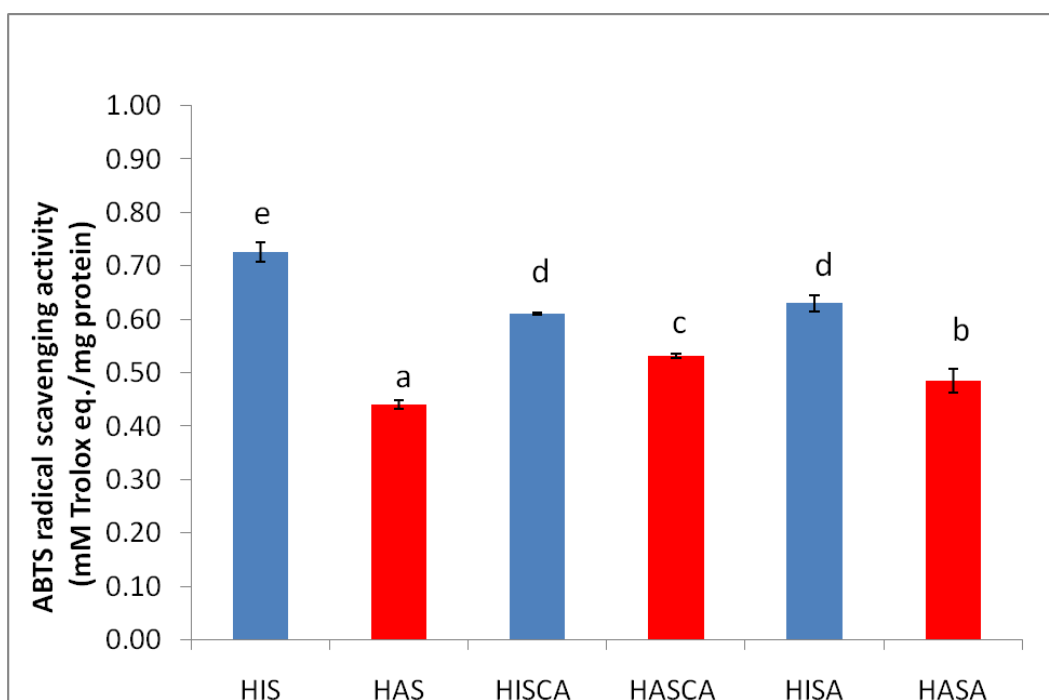
ผลการทดสอบความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] เป็นวิธีการตรวจสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยอาศัย DPPH[•] ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีสีม่วงและมีความเสถียรในตัวทำละลายเมทานอล สามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant; AH) จะทำปฏิกิริยากับ DPPH[•] ซึ่ง DPPH[•] จะถูกรีดิวซ์ด้วย AH กลายเป็น DPPH-H (นิตยา, 2550) งามาไฮโดรไลสจากกากงาดำทุกตัวอย่างมีสมบัติยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] งามาไฮโดรไลสของกากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ผ่านการย่อยทุกวิธี (HIS, HISCA และ HISA) มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] สูงกว่างามาไฮโดรไลสของกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ (HAS, HASCA และ HASA) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 19) ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] ซึ่งจัดเป็นอนุมูลอิสระชนิดไม่มีขั้ว (hydrophobic free radical) ขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของเปปไทด์สายสั้นที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการย่อย Wang *et al.* (2009) รายงานว่าเปปไทด์และกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำสูง (hydrophobic amino acid) ที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ Neutrase มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH[•] สูง ผลการทดลองนี้อาจกล่าวได้ว่าเปปไทด์สายสั้นที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมทั้ง 3 วิธีมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH[•] เนื่องจากมีสมบัติไม่ชอบน้ำสูงกว่างามาไฮโดรไลสจากศูนย์การเรียนรู้



ภาพที่ 19 ความสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH[•] ของงามาไฮโดรไลสจากกากงาดำ
หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

ผลการทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ของงามาไฮโดรไลสจากกากงาดำ พบว่า งามาไฮโดรไลสจากกากงาดำทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} (ภาพที่ 20) งามาไฮโดรไลส HIS ตัวอย่างมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} สูงกว่างามาไฮโดรไลสของศูนย์การเรียนรู้ ($p < 0.05$) งามาไฮโดรไลส HISCA และ HISA มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ไม่

แตกต่างกันสอดคล้องผลระดับการย่อยและปริมาณแอลฟาอะมิโน เมื่อพิจารณาความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH[•] กับ ABTS^{•+} ของงาไฮโดรไลส พบว่างาไฮโดรไลสทุกตัวอย่าง มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} สูงกว่าความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH[•] โดยเฉพาะไฮโดรไลสของกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ฯ ความแตกต่างระหว่างความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] และ ABTS^{•+} น่าจะขึ้นอยู่กับชนิดของอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ความสามารถในการละลายและการกระจายตัวในสารละลายตัวกลางที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา และสมบัติของเปปไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระ DPPH[•] มีข้อจำกัดเมื่อใช้สำหรับการวัดสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่ม hydrophilic antioxidant เนื่องจาก DPPH[•] ละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ ในขณะที่ ABTS เป็นอนุมูลที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์จึงสามารถตรวจวัดได้ทั้งสารในกลุ่ม hydrophobic และ hydrophilic antioxidant (Tang *et al.*, 2010) แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] และ ABTS^{•+} ของงาไฮโดรไลสทุกตัวอย่างมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก

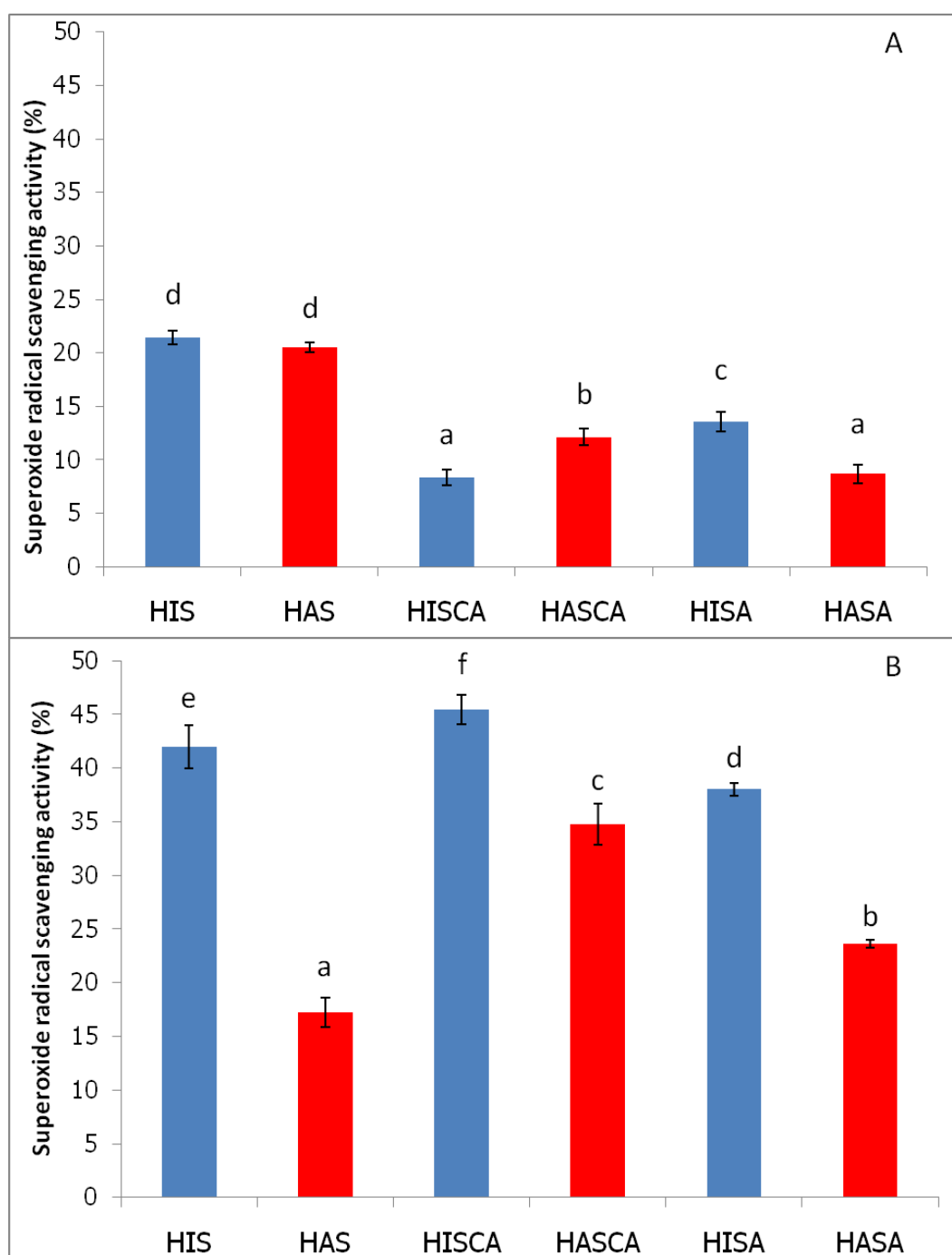


ภาพที่ 20 ความสามารถยับยั้งอนุมูล ABTS^{•+} ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำ

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

ผลความสามารถต้านอนุมูล Superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) ของงาไฮโดรไลสของกากงาดำ พบว่า งาไฮโดรไลสของกากงาดำแสดงสมบัติการต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ และสมบัติดังกล่าวมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของกากงาและวิธีการย่อยโปรตีน (ภาพที่ 21) ความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนงาไฮโดรไลสเพิ่มขึ้นจาก 5 mg/ml เป็น 7 mg/ml ซึ่งความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ดังกล่าวเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยร้อยละ 23 ยกเว้นตัวอย่าง HAS เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Wang *et al.* (2012) รายงานการเพิ่มขึ้นของความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ประมาณร้อยละ 70 เมื่อปริมาณโปรตีนของเปปไทด์จากโปรตีนไฮโดรไลสจาก *Sphyrna lewini* muscle เพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 0.25 mg/ml ความสามารถต้านอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ของงาไฮโดรไลสทุกตัวอย่างที่ความเข้มข้น 7 mg/ml (ภาพที่ 21B) มี

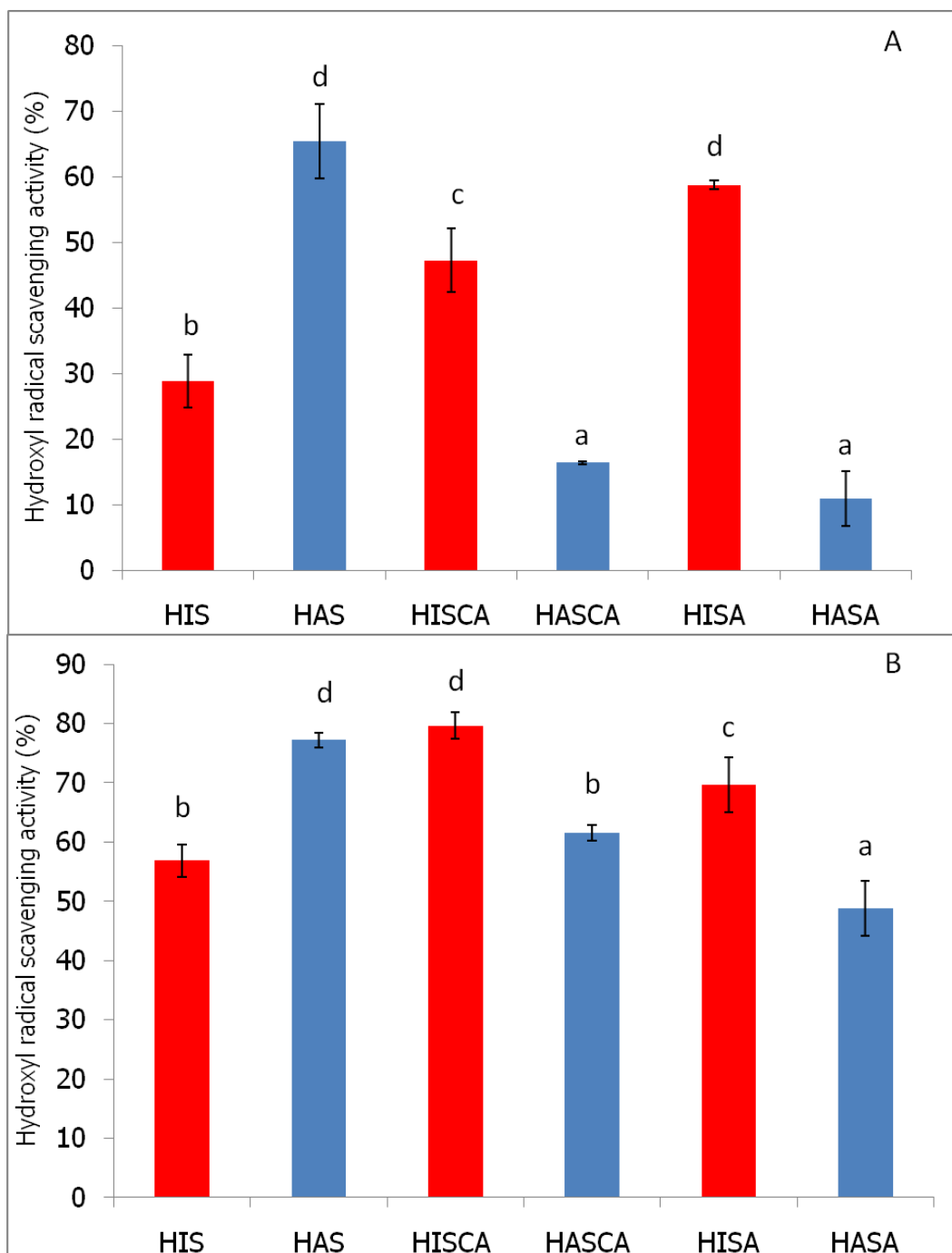
แนวโน้มไปในทางเดียวกันกับความสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH[•] และ ABTS^{•+} Wang *et al.* (2012) รายงานความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างความสามารถต้านอนุมูล O₂^{•-} กับความสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH[•] และ ABTS^{•+} ของเปปไทด์จากโปรตีนไฮโดรไลเสทจาก *Sphyrna lewinii* muscle และ Suetsuan *et al.* (2000) รายงานความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างความสามารถต้านอนุมูล O₂^{•-} กับความสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH[•] ของเปปไทด์จากเคซีนไฮโดรไลเสท



ภาพที่ 21 ความสามารถยับยั้งอนุมูล Superoxide radical (O₂^{•-}) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ ที่ความเข้มข้นของโปรตีน 5 mg/ml (A) และ 7 mg/ml (B)

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

ผลการทดสอบความสามารถยับยั้งอนุมูล Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำทั้ง 2 แหล่งได้แก่ กากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรมและกากงาดำจากศูนย์การเรียนรู้ที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยความร้อน การใช้เอนไซม์ อัลคาเลส ร่วมกับ เซลลูเลส และการใช้เอนไซม์อัลคาเลส ชนิดเดียว แสดงดังภาพที่ 22

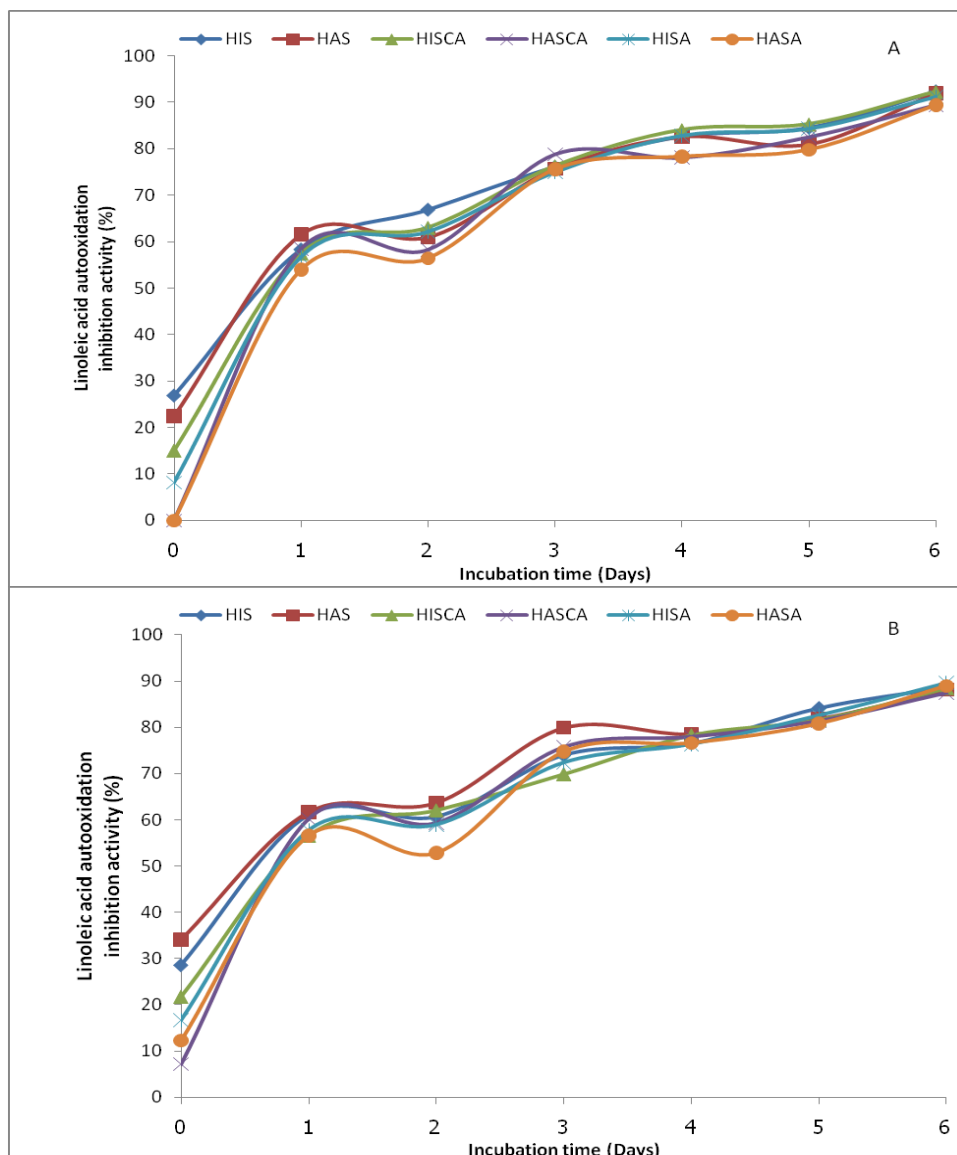


ภาพที่ 22 ความสามารถยับยั้งอนุมูล Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำที่ความเข้มข้นของโปรตีน 5 mg/ml (A) และ 10 mg/ml (B)

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

ผลการทดลองพบว่างาไฮโดรไลสในทุกตัวอย่างแสดงความสามารถยับยั้งอนุมูล $\cdot\text{OH}$ ความสามารถยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 5 เป็น 10 mg/ml สอดคล้องกับการรายงานของ Wang *et al.* (2012) และ Xie *et al.* (2008) ที่ว่าความสามารถยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ ของเปปไทด์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองนี้อาจกล่าวได้ว่าความสามารถยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ ของงาไฮโดรไลสเพิ่มขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีน สำหรับตัวอย่างกากงาดำที่ใช้เพียงความร้อนในการย่อย พบว่าตัวอย่าง HIS ให้ค่าการยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ ต่ำกว่า HAS ขณะที่ตัวอย่างกากงาจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเซลล์ูลเลส (HISCA) และการใช้เอนไซม์อัลคาเลส (HISA) มีค่าการยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ สูงกว่างาไฮโดรไลสจากกากงาดำของศูนย์การเรียนรู้ที่ใช้สภาวะการย่อยเดียวกัน ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ ของตัวอย่างงาไฮโดรไลสของกากงาดำขึ้นอยู่กับขนาดและลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนสายสั้น ผลแอลฟาอะมิโน (ภาพที่ 18) ผลการทดลองนี้สามารถยืนยันได้ว่างาไฮโดรไลสมีขนาดสายโปรตีนสั้นลงเมื่อใช้เอนไซม์ช่วยในการย่อยเปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนอย่างเดียว ซึ่งผลดังกล่าวนี้ยังสามารถกล่าวได้ว่าค่าการยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ ของงาไฮโดรไลสจากโรงงานอุตสาหกรรมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อโปรตีนมีระดับการย่อยเพิ่มขึ้นขณะที่ผลของงาไฮโดรไลสจากศูนย์การเรียนรู้ให้ผลในทางตรงกันข้าม นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการยับยั้ง $\cdot\text{OH}$ ของตัวอย่างงาไฮโดรไลสของกากงาดำเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลสเพิ่มขึ้นจาก 5 mg/ml เป็น 10 mg/ml (ภาพที่ 22) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลสส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้ง $\cdot\text{OH}$

ผลการทดสอบความสามารถด้านการเกิด linoleic acid autoxidation ของงาไฮโดรไลสจากกากงาที่ความเข้มข้น 5 และ 10 mg/ml นาน 0-6 วัน (ภาพที่ 23A และ 23B) พบว่างาไฮโดรไลสจากกากงาทุกตัวอย่างแสดงสมบัติป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยสมบัติดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนภายหลังการบ่ม 1 วัน และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 6 วัน งาไฮโดรไลสจากกากงาดำมีความสามารถในการยับยั้ง linoleic acid autoxidation โดยเฉลี่ยร้อยละ 88 ในวันที่ 6 ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Pownall *et al.*, (2010) รายงานความสามารถในการยับยั้ง linoleic acid autoxidation ของเปปไทด์จากโปรตีนไฮโดรไลสจาก pea seed Alashi *et al.* (2014) รายงานความสามารถด้านการเกิด linoleic acid oxidation ของ glutathione ตลอดระยะเวลา 7 วัน โดยเฉพาะวันที่ 5 และ วันที่ 7 ที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้ร้อยละ 98 สังเกตจากการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรซึ่งแสดงถึงการลดลงของ peroxide formation และยังรายงานว่โปรตีนไฮโดรไลสจากคาโนลามีความสามารถในการยับยั้งการเกิด linoleic acid oxidation ร้อยละ 82 เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามสมบัติด้านการเกิด linoleic acid oxidation ของโปรตีนไฮโดรไลสจากคาโนลาลดลงเมื่อเทียบระหว่างการเก็บวันที่ 2 และ 5 (Alashi *et al.*, 2014) เช่นเดียวกับสมบัติด้านการเกิด linoleic acid oxidation ของ โปรตีนไฮโดรไลสจาก wheat gluten เข้มข้น 4 mg/ml ที่ลดลงภายหลังการบ่ม 3 วัน (Zhu *et al.*, 2011) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสมบัติด้านการเกิด linoleic acid autoxidation ของกากงาไฮโดรไลสมีความคงตัวและสามารถทำหน้าที่ในการรีดิวซ์ linoleic peroxy radical ได้ตลอดการบ่ม 6 วัน

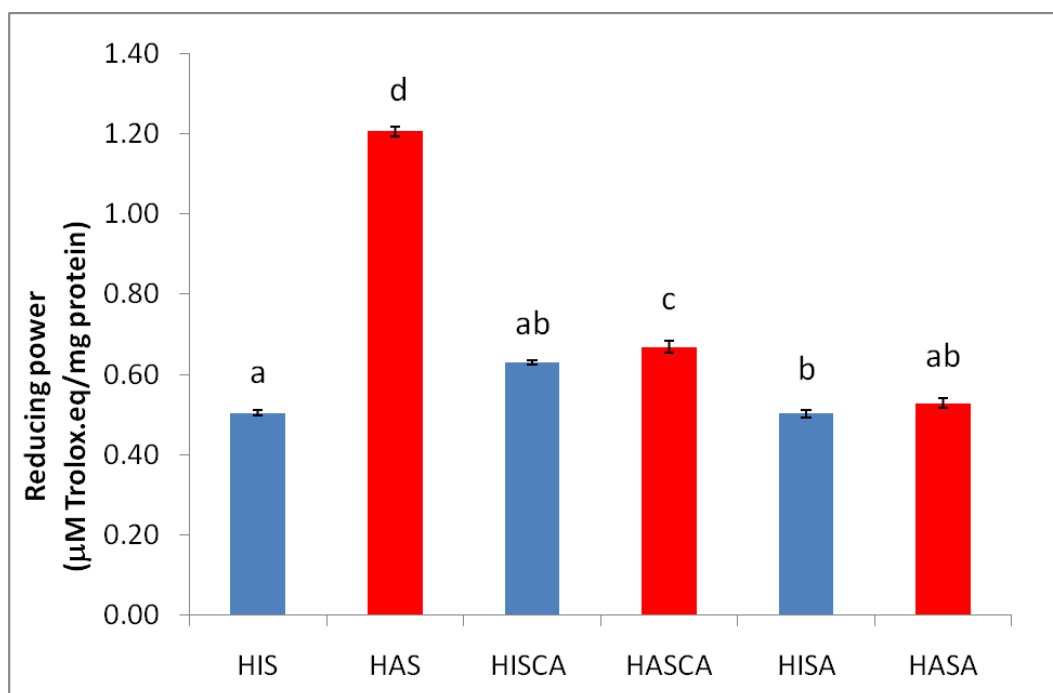


ภาพที่ 23 ความสามารถต้านการเกิด Linoleic acid autooxidation ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำที่ความเข้มข้นของโปรตีน 5 mg/ml (A) และ 10 (B) mg/ml

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

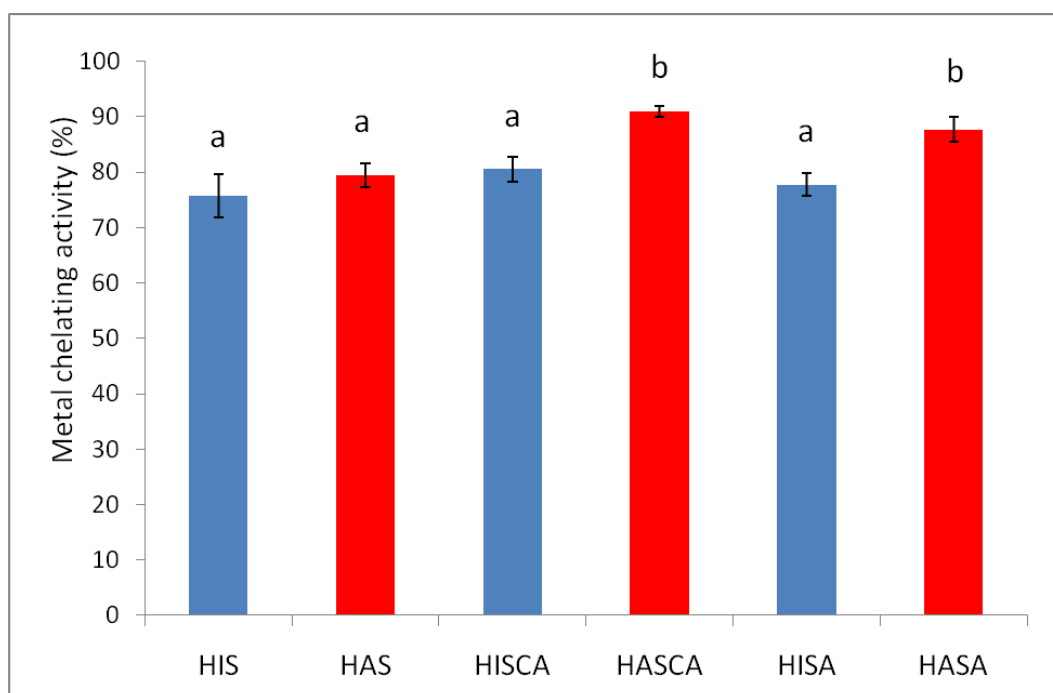
ผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำพบว่า งาไฮโดรไลเสทของกากงาจากศูนย์การเรียนรู้ทำให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที (HAS) มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงสุด รองลงมาคือวิธีการย่อยโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับอัลคาเลส (HASCA) และ ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (HASA) ตามลำดับ (ภาพที่ 24) ส่วนงาไฮโดรไลเสทของกากงาจากโรงงานอุตสาหกรรมทุกตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์ต่ำกว่า 0.4 μM Trolox eq./mg protein ซึ่งหากสังเกตได้จากการการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตรพบว่าตัวอย่างดังกล่าวที่ความเข้มข้น 10 mg protein มีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.152-0.310 ขณะที่ Zhue *et al.* (2009) รายงานการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตรของโปรตีนข้าวสาลีไฮโดรไลเสทเข้มข้น 10 mg protein ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีค่ามากกว่า 0.4 แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการรีดิวซ์ของงาไฮโดรไลเสทมีค่าใกล้เคียงกับโปรตีน

ฮีมโกลบินไฮโดรไลสที่มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.08-0.25 (Chang *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการรีดิวซ์งาไฮโดรไลสแสดงความสัมพันธ์เชิงลบกับผลการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] (ภาพที่ 19) และ ABTS^{•+} (ภาพที่ 20) แต่สมบัติการรีดิวซ์ของงาไฮโดรไลสทุกตัวอย่างมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับค่าการยับยั้ง [•]OH (ภาพที่ 22) ความสามารถในการรีดิวซ์ขึ้นอยู่กับระดับการย่อยโปรตีน (Chang *et al.*, 2007) ซึ่งผลการทดลองนี้มีนัยว่าระดับการย่อยซึ่งส่งผลต่อขนาดและลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนสายสั้นส่งผลต่อสมบัติการรีดิวซ์



ภาพที่ 24 ความสามารถออกฤทธิ์เป็นตัว Reducing power ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำ
หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

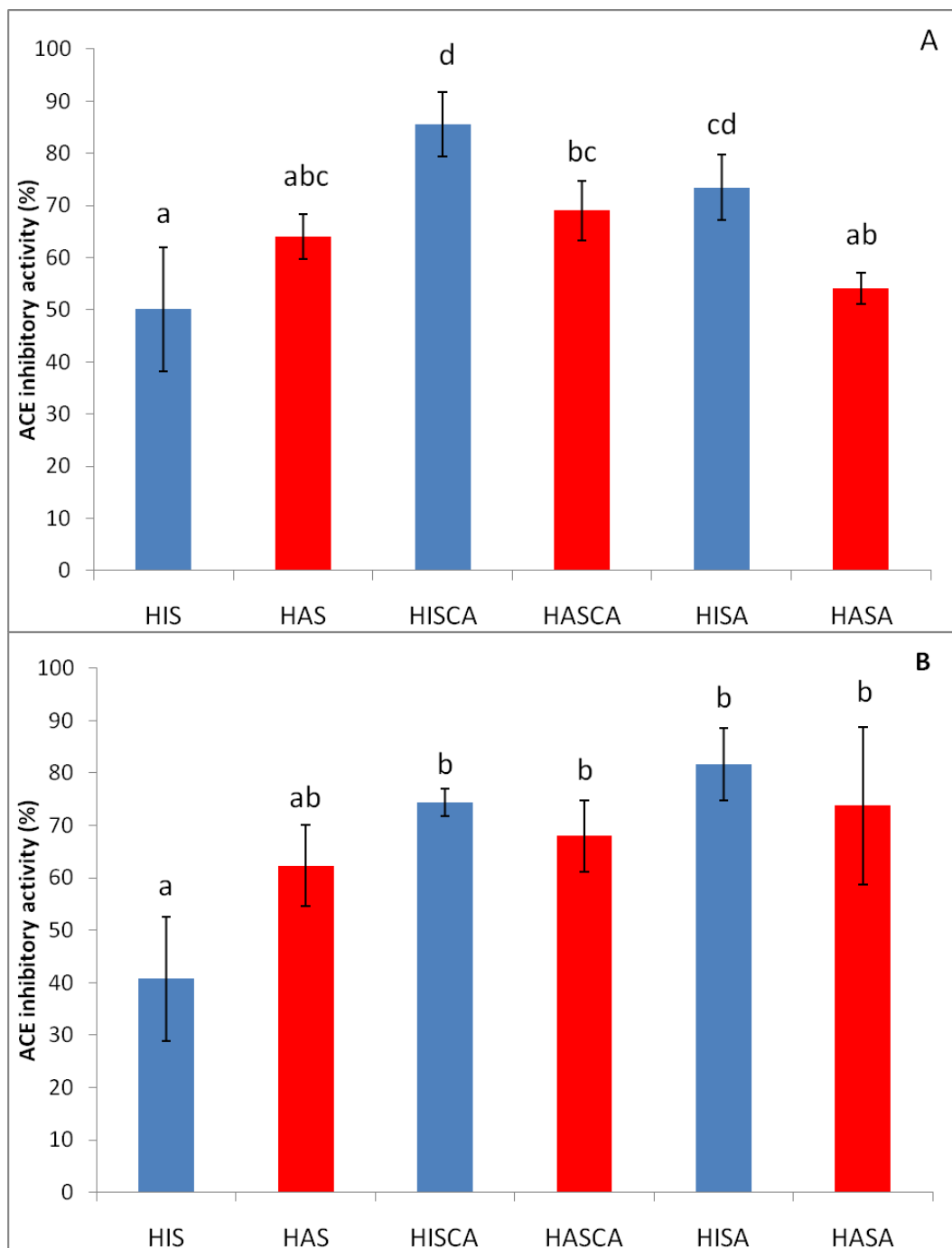
ผลการทดสอบความสามารถจับไอออนของโลหะ (Metal chelating activity) ของงาไฮโดรไลสจากกากงา พบว่า งาไฮโดรไลสจากกากงาดำของศูนย์เรียนรู้งา (HASCA และ HASA) มีความสามารถในการจับไอออนของโลหะสูงสุด ($p < 0.05$) ขณะที่ความสามารถดังกล่าวของตัวอย่างอื่นๆไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 25) อย่างไรก็ตามงาไฮโดรไลสจากกากงาทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ในการจับไอออนของโลหะสูงกว่าร้อยละ 75 เมื่อใช้ความเข้มข้นของโปรตีน 0.5 mg/ml ในการทดสอบความสามารถดังกล่าว Xie *et al.*, (2008) รายงานความสามารถในการจับไอออนของโลหะของโปรตีนไฮโดรไลสจาก alfalfa leaf ร้อยละ 65 ที่ความเข้มข้นโปรตีน 0.5 mg/ml



ภาพที่ 25 Metal chelating activity (%) ของงาไฮโดรไลสจากกากงาดำ ที่ความเข้มข้นของโปรตีน 5 mg/ml

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) ของงาไฮโดรไลสจากกากงาแสดงดังภาพที่ 26 ผลการวิเคราะห์พบว่างาไฮโดรไลสมีความสามารถในการยับยั้ง ACE ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งและสภาวะการย่อยกากงา งาไฮโดรไลสของกากงาจากโรงงานอุตสาหกรรมมีแนวโน้มในการยับยั้ง ACE สูงกว่างาไฮโดรไลสของกากงาจากศูนย์การเรียนรู้ และงาไฮโดรไลสที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเอนไซม์อัลคาเลส และการใช้เอนไซม์อัลคาเลส อย่างเดียวให้แนวโน้มการยับยั้ง ACE สูงกว่าตัวอย่างงาที่ผ่านการให้ความร้อน โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับระดับการย่อยและปริมาณแอลฟาอะมิโน (ภาพที่ 17 และ 18) Zhang *et al.* (2013) รายงานว่าการยับยั้ง ACE ของคอลลาเจนไฮโดรไลสขึ้นอยู่กับระดับการย่อยและสภาวะการย่อยด้วยเอนไซม์ ผลการยับยั้ง ACE ของคอลลาเจนไฮโดรไลสเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสูงขึ้นและพบการยับยั้ง ACE สูงสุดเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส เปรียบเทียบกับเอนไซม์ collagenase, proteinase K, pepsin, trypsin และ thermolysin จากผลการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่างาไฮโดรไลสมีความสามารถในการยับยั้ง ACE จึงมีความเป็นไปได้ที่งาไฮโดรไลสช่วยลดความดันโลหิตสูง (Hypertension)



ภาพที่ 26 ACE inhibitory activity (%) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำ ที่ความเข้มข้นของโปรตีน 5 mg/ml (A) และ 10 (B) mg/ml

หมายเหตุ: ความหมายของตัวอย่างกากงาดำแสดงเช่นเดียวกับภาพที่ 17

สรุปผลการวิจัย

ผลการย่อยงาไฮโดรไลเซสของกากงาดำจากสองแหล่งมีระดับการย่อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวิธีการย่อยและองค์ประกอบทางเคมีของกากงา พบว่างาไฮโดรไลเซสของกากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีระดับการย่อยและปริมาณแอลฟาอะมิโนสูงกว่างาไฮโดรไลเซสของศูนย์การเรียนรู้ฯ นอกจากนี้ยังพบว่างาไฮโดรไลเซสจากกากงาจะมีสมบัติการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] และ ABTS^{•+} Superoxide radical (O₂⁻) Hydroxyl radical (OH[•]) และสมบัติ Reducing power อีกทั้งยังพบว่างาไฮโดรไลเซสจากกากงาดำทั้งสองแหล่งมีสมบัติการต้านการเกิด Linoleic acid autoxidation และมีสมบัติ metal chelating activity สูงกว่าร้อยละ 75 งาไฮโดรไลเซสมีความสามารถในการยับยั้ง ACE มากกว่าร้อยละ 50 เมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งดังกล่าวไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของโปรตีน การย่อยด้วยเอนไซม์เซลล์ูเลสร่วมกับอัลคาเลส ส่งเสริมให้งาไฮโดรไลเซสมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้ง ACE สูงกว่างาไฮโดรไลเซสที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสอย่างเดียว

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

สมบัติต้านอนุมูลอิสระของงาไฮโดรไลเสทขึ้นอยู่กับชนิดของกากงาและระดับการย่อย สมบัติต้านอนุมูล DPPH[•] ABTS^{•+} Superoxide radical (O₂⁻) สมบัติ Reducing power และ Metal chelating activity ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาทั้ง 3 ชนิด มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น ขณะที่ Hydroxyl radical (OH[•]) ของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาขาวมีค่าลดลงเมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น งาไฮโดรไลเสทแต่ละชนิดมีคุณสมบัติเฉพาะในการต้านออกซิเดชัน งาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงมีสมบัติยับยั้ง Superoxide radical (O₂⁻) สูง ขณะที่งาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH[•] OH[•] ความสามารถรีดิวซ์ และความสามารถจับโลหะสูงกว่างาไฮโดรไลเสทจากกากงาแดงและงาขาว แต่มีความสามารถต้านอนุมูล ABTS^{•+} ใกล้เคียงกับงาไฮโดรไลเสทอีก 2 ชนิด ดังนั้นงาไฮโดรไลเสทจากกากดำจึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจในการทำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

จากการศึกษาสมบัติทางชีวภาพของงาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำจากสองแหล่งผลิต คือ กากงาจากโรงงานบีบสกัดน้ำมันงา และ กากงาจากศูนย์เรียนรู้ฯ ที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันส่วนที่เหลือด้วยเฮกเซน แล้วนำมาให้ความร้อน หรือ ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับอัลคาเลส หรือ ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส เพียงอย่างเดียว พบว่างาไฮโดรไลเสทของกากงาดำจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีระดับการย่อยและปริมาณแอลฟาอะมิโนสูงกว่างาไฮโดรไลเสทของศูนย์การเรียนรู้ฯ นอกจากนี้ยังพบว่างาไฮโดรไลเสทจากกากงาทั้งสองแหล่งจะมีสมบัติการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH[•] และ ABTS^{•+} Superoxide radical (O₂⁻) Hydroxyl radical (OH[•]) และสมบัติ Reducing power อีกทั้งยังพบว่างาไฮโดรไลเสทจากกากงาดำทั้งสองแหล่งมีสมบัติการต้านการเกิด Linoleic acid autoxidation และมีสมบัติ metal chelating activity สูง ดังนั้นจะเห็นได้ว่างาไฮโดรไลเสทของกากงาดำมีสมบัติทางชีวภาพที่ดี จึงมีศักยภาพที่จะนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพต่อไป

บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง

- กัลยารัตน์ หมิ่นวณิชกุล. 2551. แนวทางการผลิตงาเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ. ศูนย์วิจัยพืชไร่
อุบลราชธานี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4.
- ปิยนุช วังศิลาบัตร และคณะ. 2548. “การพัฒนาเส้นสปาเกตตีอบแห้งจากแป้งข้าวหอม
มะลิ”. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. : 435-443.
- ปิยามาศ มหาบุญญานนท์. 2546. “คุณลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างภายในของ
พาสต้าข้าวเจ้าที่ได้จากการอัดฟองโดยใช้ข้าวพันธุ์ต่างๆ”. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตร์บัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ยงยุทธ เฉลิมชาติ. 2551. สารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย. แหล่งที่มา: <http://archive.lib.cmu.ac.th>,
20 ตุลาคม 2554.
- รัชฎาภรณ์ คะประสพ, ณัฏฐา เล่ากุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2553. คุณลักษณะของโปรตีน
ไฮโดรไลเซตจากงาที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอส. ว. วิทย. กษ. 41(3/1)(พิเศษ):
685-688.
- รัชฎาภรณ์ คะประสพ, ณัฏฐา เล่ากุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2554. ศักยภาพการเป็นสารต้าน
อนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากงาที่ไฮโดรไลซ์ด้วยกรด. ว. วิทย. กษ. 42(2)(พิเศษ): 417-
420.
- สมจินตนา ทুমแสง และอิสระ พุทธสีมา. 2549. “งา”, ศูนย์วิจัยพืชไร่ สำนักวิจัยและ
พัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 กรมวิชาการเกษตร.
<http://oard3.doa.go.th/agriculture/pdfdata/3k3UpCFTue104346.pdf>. ธันวาคม, 2556.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี ๒๕๕๕.
กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. <http://www.oae.go.th>. ธันวาคม, 2556.
- สุเทพ อาชานันท์กุล และจันทนาอาชานันท์. 2552. <http://www.bangkokhealth.com>
- วาสนา วงศ์ใหญ่. 2550. “งา”, พจนานุกรม การปลูก ปรับปรุงพันธุ์ และการใช้ประโยชน์
ภาคพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วราทิพย์ วงษ์เอี่ยม. 2552. “การเสริมคุณค่าแป้งข้าวเจ้าด้วยโปรตีนที่สกัดจากงาดำ”. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อภิชาติ เกิดผล. 2547. “การปลูกงา”, สำนักส่งเสริมและฝึกอบรมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
<http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/rice/nga2.pdf>. มกราคม, 2557.
- เอกสิทธิ์ อ่อนสอาด. 2553. การผลิตคุณลักษณะและการนำไปใช้ประโยชน์ของแป้งจากงาหลังการ
สกัดน้ำมันออก. สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2532. ข้าวสาลี: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการ
อาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis of AOAC international. Washington, DC:
Association of Official Analytical Chemists.

- Achouri, A., Nail, V., & Boye, J. I. 2012. Sesame protein isolate: Fractionation, secondary structure and functional properties. *Food Research International*, 46(1), 360-369.
- Alashi, A. M., Blanchard, C. L., Mailer, R. J., Agboola, S. O., Mawson, A. J., He, R., Girgih, A., & Aluko, R. E. 2014. Antioxidant properties of Australian canola meal protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 146(0), 500-506.
- Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L. L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., & Nasri, M. 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chem*, 118(3), 559-565.
- Cano-Medina, A., Jim'nez-Islas, H., Dendooven, L., Herrera, R. P. n., Gonz'alez-Alatorre, G., & Escamilla-Silva, E. M. 2011. Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International*, 44(3), 684-692.
- Carter, F., Cirino, V., & Allen, L. 1961. Effect of processing on the composition of sesame seed and meal. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 38(3), 148-150.
- Chang, C.-Y., Wu, K.-C., & Chiang, S.-H. 2007. Antioxidant properties and protein compositions of porcine haemoglobin hydrolysates. *Food Chemistry*, 100(4), 1537-1543.
- Cumby, N., Zhong, Y., Naczki, M., & Shahidi, F. 2008. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 109(1), 144-148.
- Cushman, D. W., & Cheung, H. S. 1971. Concentrations of angiotensin-converting enzyme in tissues of the rat. *Biochim Biophys Acta*, 250, 261-265.
- Das, R., Dutta, A., & Bhattacharjee, C. 2012. Preparation of sesame peptide and evaluation of antibacterial activity on typical pathogens. *Food Chemistry*, 131(4), 1504-1509.
- Decker, E. A., & Welch, B. 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *J Agr Food Chem*, 38(3), 674-677.
- FAOSTAT. 2012. Sesame seed. In: Food and Agriculture Organization of The United Nation. FAO Statistics Division 2011.
- Hoyle, N. T., & Merritt, H. J. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59(1), 76-79.
- Inyang, U. E., & Iduh, A. O. 1996. Influence of pH and salt concentration on protein solubility, emulsifying and foaming properties of sesame protein concentrate. *Journal of the American Oil Chemists™ Society*, 73(12), 1663-1667.
- Je, J.-Y., Park, P.-J., Kwon, J. Y., & Kim, S.-K. 2004. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7842-7845.

- Kanu, P. J., Kanu, J. B., Sandy, E. H., Kandeh, J. B. A., Mornya, P. M. P., & Huiming, Z. 2009. Optimization of enzymatic hydrolysis of defatted sesame flour by different proteases and their effect on the functional properties of the resulting protein hydrolysate. *American Journal of Food Technology*, 4(6), 226-240.
- Kanu, P. J., Kerui, Z., Ming, Z. H., Haifeng, Q., Kanu, J. B., & Kexue, Z. 2007. Sesame protein 11: Functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) protein isolate as influenced by pH, Temperature, Time and Ratio of Flour to water during its production. *Asian Journal of Biochemistry*, 2(5), 289-301.
- Khalid, E. K., Babiker, E. E., & El Tinay, A. H. 2003. Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry*, 82(3), 361-366.
- L'pez, G., Flores, I., G'lvez, A., Quirasco, M., & Farr's, A. 2003. Development of a liquid nutritional supplement using a *Sesamum indicum* L. protein isolate. *LWT - Food Science and Technology*, 36(1), 67-74.
- Latif, S., & Anwar, F. 2011. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chemistry*, 125(2), 679-684.
- Liu, B.-L., & Chiang, P.-S. 2008. Production of hydrolysate with antioxidative activity and functional properties by enzymatic hydrolysis of defatted sesame (*Sesamum indicum* L.). *International Journal of Applied Science and Engineering*, 6(2), 73-83.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Mirmoghtadaie, L., Kadivar, M., & Shahedi, M. 2009. Effects of cross-linking and acetylation on oat starch properties. *Food Chemistry*, 116(3), 709-713.
- Mourea, A., Sineirob, J., Domínguez, H., & Parajó, J. C. 2006. Functionality of oilseed protein products: A review. *Food Research International*, 39(9), 945-963.
- Nakano, D., Ogura, K., Miyakoshi, M., Ishii, F., Kawanishi, H., Kurumazuka, D., Kwak, C. J., Ikemura, K., Takaoka, M., Moriguchi, S., Iino, T., Kusumoto, A., Asami, S., Shibata, H., Kiso, Y., & Matsumura, Y. 2006. Antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from a sesame protein hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70(5), 1118-1126.
- Nakano, D., Ogura, K., Miyakoshi, M., Ishii, F., Kawanishi, H., Kurumazuka, D., Kwak, C. J., Ikemura, K., Takaoka, M., Moriguchi, S., Iino, T., Kusumoto, A., Asami, S., Shibata, H., Kiso, Y., & Matsumura, Y. 2006. Antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from a sesame protein hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70(5), 1118-1126.

- Nzikou, J. M., Matos, L., Bouanga-Kalou, G., Ndangui, C. B., Pambou-Tobi, N. P. G., Kimbonguila, A., Silou, T., Linder, M., & Desobry, S. 2009. Chemical composition on the seeds and oil of sesame (*Sesamum indicum* L.) grown in Congo-Brazzaville. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 1(1), 6-11.
- Okubo, K., Nishimura, N., & Shibasaki, K. 1979. Separation of the 13S globulin in sesame seeds into two groups of Acidic and Basic Cereal Chemistry, 56(4), 317-320.
- Onsaard, E. 2012. Sesame protein. *International Food Research*, 19(4), 1287-1295.
- Onsaard, E., Pomsamud, P., & Audtum, P. 2010. Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *Asian Journal Food Agro-Industry*, 3(4), 420-431.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G. I., Kan, Y. K., Konuklugil, B., Sener, B., & Iqbal Choudhary, M. 2007. Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chem*, 103(4), 1247-1254.
- Pownall, T. L., Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. 2011. Effects of cationic property on the in vitro antioxidant activities of pea protein hydrolysate fractions. *Food Research International*, 44(4), 1069-1074.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Salunkhe, D. K., Chavan, J. K., Adsule, R. N., & Kadam, S. S. 1992. *World oilseeds: chemistry, technology, and utilization*. New York: Springer.
- Suetsuna, K., Ukeda, H., & Ochi, H. 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *The Journal of nutritional biochemistry*, 11(3), 128-131.
- Taha, F. S., & Ibrahim, M. A. 2002. Effect of degree of hydrolysis on the functional properties of some oilseed proteins. *Grasas y Aceites*, 53(3), 273-281.
- Tang, X., He, Z., Dai, Y., Xiong, Y. L., Xie, M., & Chen, J. 2010. Peptide Fractionation and Free Radical Scavenging Activity of Zein Hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 587-593.
- Tomotake, H., Shimaoka, I., Kayashita, J., Nakajoh, M., & Kato, N. 2002. Physicochemical and functional properties of Buckwheat protein product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 2125-2129.
- Tunde-Akintunde, T. Y., & Akintunde, B. O. 2004. Some physical properties of sesame seed. *Biosystems Engineering*, 88(1), 127-129.
- Udenigwe, C. C., Lu, Y.-L., Han, C.-H., Hou, W.-C., & Aluko, R. E. 2009. Flaxseed protein-derived peptide fractions: Antioxidant properties and inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in murine macrophages. *Food Chem*, 116(1), 277-284.

- van der Ven, C., Muresan, S., Gruppen, H., de Bont, D. B. A., Merck, K. B., & Voragen, A. G. J. 2002. FTIR spectra of whey and casein hydrolysates in relation to their functional properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6943-6950.
- Wang, B., Li, Z.-R., Chi, C.-F., Zhang, Q.-H., & Luo, H.-Y. 2012. Preparation and evaluation of antioxidant peptides from ethanol-soluble proteins hydrolysate of *Sphyrna lewini* muscle. *Peptides*, 36(2), 240-250.
- Wang, G., Li, X., & Wang, Z. 2009. APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Research*, 37, 933-937.
- Xie, Z., Huang, J., Xu, X., & Jin, Z. 2008. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 111(2), 370-376.
- Yildirim, A., Ahmet, M., & Ayse Aydan, K. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex Crispus* L. extracts. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49(8), 4083-4089.
- Zhang, J., Zhang, H., Wang, L., Guo, X., Wang, X., & Yao, H. 2009. Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysate: identification of the active peptide. *Eur Food Res Technol*, 229(4), 709-719.
- Zhu, K.-X., Su, C.-Y., Guo, X.-N., Peng, W., & Zhou, H.-M. 2011. Influence of ultrasound during wheat gluten hydrolysis on the antioxidant activities of the resulting hydrolysate. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(5), 1053-1059.