หาสภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากโปรตีนรำข้าวหอมมะลิ 105 ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทางการค้า Protex 6L เพื่อให้ค่าตอบสนองคือ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Radical scavenging activity, RSA) และปริมาณผลผลิตสูงสุดโดยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง มี 2 ขั้นตอน คือ (1) คัดเลือกปัจจัยของสภาวะการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีผลสำคัญต่อค่า RSA โดยใช้แผนการทดลอง Fractional Factorial Design (FFD) ศึกษา 4 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนน้ำต่อโปรตีนรำข้าว (W/RP) (2-6 โดยน้ำหนัก) เอนไซม์ต่อสับสเตรท (E/S) (ร้อยละ 1-5 โดยน้ำหนักโปรตีนรำข้าว) เวลา (t) (2-6 ชม.) และอุณหภูมิ (T) (50-60°ซ) กำหนดให้ pH คงที่ที่ 8.0 พบว่า W/RP เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อค่า RSA ($p \leq 0.05$) ขั้นตอนที่ 2 หาสภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง โดยศึกษา 2 ปัจจัยได้แก่ pH (x_1) (7.5-8.5) และ W/RP (x_2) (3-5 โดยน้ำหนัก) กำหนดให้ปัจจัยอื่นคงที่ (E/S=ร้อยละ 3, t=4 ชม และ T=55°ซ) ใช้แผนการทดลอง Central Composite Design (CCD) ที่ให้ค่าตอบสนองคือ RSA (Y_1) ระดับการย่อยสลาย (Y_2) และ ปริมาณผลผลิต (Y_3) จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการถดถอยเชิงพหุ พบว่าสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนองและปัจจัยคือ $Y_1 = 26.98 - 5.44x_1^2 - 3.22x_2^2$ ($R^2 = 0.8155$); $Y_2 = 17.35 - 0.42x_2 - 0.83x_1^2 - 0.94x_2^2$ ($R^2 = 0.8970$) และ $Y_3 = 30.48 - 2.14x_1^2 - 0.80x_2^2$ ($R^2 = 0.8952$) สภาวะเหมาะสมที่ให้ค่า RSA สูงสุด คือ pH = 7.94 และ W/RP = 3.93 ให้ค่า RSA เท่ากับร้อยละ 27.08 ระดับการย่อยสลายเท่ากับร้อยละ 17.36 และ ปริมาณผลผลิตเท่ากับร้อยละ 30.45 เมื่อทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองโดยทดลองผลิตที่ 4 สภาวะไฮโดรไลซิส พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงว่าแบบจำลองที่ได้สามารถนำไปใช้เพื่อหาสภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทเพื่อให้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดได้ จากนั้นนำโปรตีนรำข้าวไฮโดรไลเสทมาแยกส่วนด้วยอัลตราฟิลเทรชั่นเมมเบรนที่มีขนาด (molecular weight cut off; MWCO) 50 10 และ 5 กิโลดาลตัน ซึ่งแยกได้ 4 ส่วน คือ มากกว่า 50 (RBPH-I) 10-50 (RBPH-II) 5-10 (RBPH-III) และต่ำกว่า 5 กิโลดาลตัน (RBPH-IV) นำไปศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชัน พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจากรำข้าวหอมมะลิที่แยกได้มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH$^{\bullet}$ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเทียบกับ Trolox (TEAC) และความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อน้ำหนักโมเลกุลลดลง จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความสามารถในการลดสารอนุมูลอิสระได้มากกว่าเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

Optimal conditions for rice bran (Jasmine 105) protein hydrolysates production using a commercial enzyme, Protex 6L, were determined to obtain maximal radical scavenging activity (RSA) and yield using Response Surface Methodology (RSM). Two-step processes were performed as follows: (1) selection of important parameters with respect to RSA of protein hydrolysates using Fractional Factorial Design (FFD). Four parameters including water to rice bran protein ratio (W/RP) (2-6 w/w), enzyme-substrate ratio (E/S) (1-5 w% of rice bran protein), time (t) (2-6 h), and temperature (T) (50-60°C) of hydrolysis conditions were studied while pH was fixed at 8.0. It was found that W/RP was more significant than other factors ($p \leq 0.05$). And (2) RSM was applied to optimize protein hydrolysis process with two parameters of pH (x_1; 7.5-8.5) and W/RP (x_2; 3-5 w/w). Other parameters were set as follows: E/S=3%, t=4 h and T=55°C. Central Composite Design (CCD) was performed and three responses; RSA (Y_1), degree of hydrolysis (Y_2) and yield (Y_3) were investigated. Multiple regression analysis showed that relationships between responses and independent variables could be represented by models: $Y_1 = 26.98 - 5.44x_1^2 - 3.22x_2^2$ ($R^2 = 0.8155$); $Y_2 = 17.35 - 0.42x_2 - 0.83x_1^2 - 0.94x_2^2$ ($R^2 = 0.8970$) and $Y_3 = 30.48 - 2.14x_1^2 - 0.80x_2^2$ ($R^2 = 0.8952$). The Optimum condition for rice bran protein hydrolysis in order to maximize the RSA is at pH = 7.94 and W/RP = 3.93. At this condition, RSA of 27.08%, DH of 17.36% and yield of 30.45% were obtained. Four hydrolysis conditions were performed to validate the model. No significant difference ($p>0.05$) between true values and predicted values were observed. Rice bran protein hydrolysate (RBPH) was fractionated using ultrafiltration (UF) membrane with molecular weight cut-offs of 50, 10 and 5 kDa. The RBPHs were separated into four major types according to their sizes including >50 kDa (RBPH-I), 10-50 kDa (RBPH-II), 5-10 kDa (RBPH-III) and <5 kDa (RBPH-IV). Antioxidant activities of the RBPH fractions were determined. The lower the molecular weight peptides in the protein fractions, the higher ($p<0.05$) the $DPPH^{\bullet}$ radical scavenging activity, the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), and the Fe^{2+} chelating ability were observed. The results indicate that low molecular weight peptides possess higher antioxidant capacity and ACE inhibitory activity than high molecular weight peptides.