

## บทคัดย่อ

**ชื่อโครงการวิจัย** การทำบริสุทธิ์และการจำแนกคุณลักษณะสารยับยั้งเอนไซม์ย่อยโปรตีน  
จากเมล็ดถั่วเขียว  
Purification and characterization of proteinase inhibitor from mung bean  
seed

**ชื่อผู้วิจัย** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ

อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93110

โทรศัพท์/โทรสาร 074-693996

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท การวิจัยประยุกต์ ประจำปี พ.ศ. 2553 จำนวนเงิน 300,000 บาท  
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ วันที่ 1 มกราคม 2553 ถึง วันที่ 31 ธันวาคม 2553

---

จากการศึกษาการสกัดและการจำแนกคุณลักษณะของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน  
จากเมล็ดถั่วเขียวที่เจริญในประเทศไทย พบว่า น้ำกลั่นเป็นตัวสกัดที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสาร  
ยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการกำจัดไขมัน ( $P < 0.05$ ) เวลาในการสกัดมีผลอย่างมี  
นัยสำคัญทางสถิติต่อการสกัดสารยับยั้ง ( $P < 0.05$ ) โดยพบว่าเวลาในการสกัด 2 ชั่วโมงเป็นเวลา  
ที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากเมล็ดถั่วเขียว สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน  
จากเมล็ดถั่วเขียวสามารถทำบริสุทธิ์โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10  
นาที ตามด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความอิ่มตัว ร้อยละ 30-65 และการใช้  
เจลฟิลเตรชัน ชนิด Sephadex G-50 โดยสารยับยั้งมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 13.51 เท่าและได้ผลผลิต  
ร้อยละ 30.25 สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 14 กิโลดาลตัน เมื่อทำการ  
ตรวจสอบโดย SDS-PAGE และ inhibitory activity staining อย่างไรก็ตามสารยับยั้งที่ผ่านการทำ  
บริสุทธิ์ไม่มีกิจกรรมภายใต้สภาวะรีดิวซิง (สภาวะที่มี  $\beta$ ME) สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่ผ่านการ  
ทำบริสุทธิ์มีความต้านต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 50 นาที และมีความ  
คงตัวต่อพีเอชในช่วงกว้าง โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0-3 ไม่มีผลต่อกิจกรรมของ  
สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่ผ่านการทำบริสุทธิ์จากเมล็ดถั่วเขียว

Trypsin inhibitor from mung bean (*Vigna radiata* (L.)R. Wilczek) seeds grown in Thailand was extracted and characterized. Optimal extraction was attained by shaking the defatted mung bean seed powder in distilled water ( $P < 0.05$ ). The extraction time affected the inhibitor recovery significantly ( $P < 0.05$ ). The extraction time of 2 h was optimum for recovery of trypsin inhibitor from mung bean seeds. Trypsin inhibitor from mung bean seeds was purified by heat-treatment at 90°C for 10 min, followed by ammonium sulfate precipitation with 30-65% saturation and gel filtration on Sephadex G-50. It was purified to 13.51-fold with a yield of 30.25%. Molecular weight distribution and inhibitory activity staining showed that the purified trypsin inhibitor had the molecular weight of 14 kDa. However, the purified inhibitor had no activity under reducing condition ( $\beta$ ME). The purified inhibitor was heat stable up to 50 min at 90°C. The inhibitory activity was retained over a wide pH range. NaCl, at 0-3% concentration, did not influence the inhibitory activity of purified trypsin inhibitor from mung bean seeds.

---

คำสำคัญ: โปรตีนเอส สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน การจำแนกคุณลักษณะ การทำบริสุทธิ์

**Keywords:** Proteinase, Trypsin inhibitor, Characterization, Purification