



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน
จากข้าวสังข์หยดและสมบัติทางชีวเคมี

**Optimum extraction and recovery of trypsin inhibitor from Sangyod rice
and its biochemical characteristics**

ศราวุธ เหมหมัด

รองศาสตราจารย์ ดร. สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า

ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยทักษิณ งบประมาณเงินรายได้
ประเภททุนวิจัยยุทธศาสตร์
ประจำปี พ.ศ. 2558

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน
จากข้าวสังข์หยดและสมบัติทางชีวเคมี

Optimum extraction and recovery of trypsin inhibitor from Sangyod rice
and its biochemical characteristics

ศราวุธ เหมหมัด

รองศาสตราจารย์ ดร. สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน

ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยทักษิณ งบประมาณเงินรายได้

ประเภททุนวิจัยยุทธศาสตร์

ประจำปี พ.ศ. 2558

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยทักษิณ สำหรับเงินอุดหนุน โครงการวิจัยเรื่อง “สถานะที่เหมาะสมในการสกัดและการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดและสมบัติทางชีวเคมี” จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2558 ขอขอบพระคุณ คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ สำหรับการวิจัยครั้งนี้

ศราวุธ เหมหมัด

หัวหน้าโครงการวิจัย

บทคัดย่อ

จากการสกัดและการจำแนกคุณลักษณะของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดกลีบและข้าวสังข์หยดข้อมมือ พบว่า สารสกัดจากข้าวสังข์หยดทั้งสองชนิดที่ผ่านการกำจัดไขมันมีกิจกรรมการยับยั้งจำเพาะที่สูงกว่าข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านการกำจัดไขมัน การสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดทั้งสองชนิดด้วยสารละลาย Tris-HCl ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.0 ภายใต้สภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เป็นสารสกัดที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น ๆ ที่ทำการทดสอบ ($p < 0.05$) เวลาในการสกัดมีผลต่อการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบว่าที่เวลา 45 นาที เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดทั้งสองชนิด นอกจากนี้จากการทำบริสุทธิ์บางส่วนสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินโดยวิธีการให้ความร้อน พบว่าการให้ความร้อนสารสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำบริสุทธิ์บางส่วนสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดกลีบและข้าวสังข์หยดข้อมมือ สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำบริสุทธิ์โดยการให้ความร้อนมีความคงตัวต่อความร้อนในช่วงอุณหภูมิไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส และทนต่อพีเอชในช่วงกว้าง (2-11) อย่างไรก็ตามกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ทริปซินลดลงเมื่อบ่มสารสกัดด้วยสารละลายโลหะไอออนชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที กิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์เอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยดทั้งสองชนิดลดลงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น (ร้อยละ 0-3) อย่างไรก็ตามกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินเหลืออยู่มากกว่าร้อยละ 80 ในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 ดังนั้นสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินที่ผ่านการทำบริสุทธิ์จากข้าวสังข์หยดทั้งสองชนิดสามารถใช้เป็นสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนในซูริมิโดยเฉพาะซูริมิที่เกิดการอ่อนตัวโดยเอนไซม์ทริปซินหรือเอนไซม์ที่มีลักษณะคล้ายเอนไซม์ทริปซิน

คำสำคัญ: สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน ข้าวสังข์หยด เอนไซม์โปรตีน การสกัด

Abstract

Trypsin inhibitors from brown Sangyod rice and coarse Sangyod rice were extracted and characterized. Trypsin inhibitors extracted from defatted brown Sangyod rice and coarse Sangyod rice showed the higher specific inhibitory activity than extracted from origin Sangyod rice. Extraction of Sangyod rice with 10 mM Tris-HCl (pH 7.0) containing 0.5 M NaCl rendered a higher recovery of trypsin inhibitor than other extractants tested ($p < 0.05$). The extraction time affected the inhibitor recovery significantly ($p < 0.05$). The extraction time of 45 min was optimum for recovery of trypsin inhibitors from both Sangyod rice. Partial purification of trypsin inhibitor from brown Sangyod rice and coarse Sangyod rice was achieved by heat-treatment at 70 °C for 10 min. The partially purified inhibitors were heat stable up to 70 °C and over a broad pH range (2-11). However, the activities were partially lost when trypsin inhibitors were incubated with metal ions at ambient temperature for 30 min. Activity of both trypsin inhibitors decreased with increasing NaCl concentration (0-3%). However, more than 80% of trypsin inhibitory activity remained in the presence of 3% NaCl. Hence, the purified trypsin inhibitors from both Sangyod rice can be used as a promising proteinase inhibitor in surimi, especially those suffering caused by trypsin or trypsin-like serine proteinase.

Keywords: Trypsin inhibitor, Sangyod rice, Proteinase, Isolation

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูปภาพ.....	ฅ
บทที่ 1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
- ข้าวสังข์หยด.....	4
- โปรีติเอส.....	5
- เอนไซม์ทริปซิน.....	6
บทที่ 3 วิธีการดำเนินวิจัย.....	13
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	19
1. ผลของการกำจัดไขมันต่อการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยด.....	19
2. ศึกษาการสกัดและการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน.....	20
3. ศึกษาการทำบริสุทธิ์บางส่วน of สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสังข์หยด.....	26
4. ศึกษาคุณลักษณะของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน.....	28
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	36
เอกสารอ้างอิง.....	37
ประวัติผู้เขียน.....	52

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	
ผลของการทำบริสุทธิ์บางส่วนต่อกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ ทริปซินจากข้าวสาลีหยดกลิ้งและข้าวสาลีหยดซ้อมมือ.....	27

สารบัญรูปภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	โครงสร้างปฐมภูมิของโบวินทริปซินเอน.....	6
ภาพที่ 2	ลักษณะและตำแหน่งการจับตัวของสับสเตรทและเอนไซม์แอลฟาไคโมทริปซินและอีลาสเตส.....	8
ภาพที่ 3	ผลของการกำจัดไขมันต่อการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	20
ภาพที่ 4	ผลของสารสกัดชนิดต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพการสกัดและการเก็บเกี่ยวสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	22
ภาพที่ 5	ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	24
ภาพที่ 6	ผลของระยะเวลาต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	26
ภาพที่ 7	ผลของความคงตัวต่อความร้อนต่อกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	30
ภาพที่ 8	ผลของความคงตัวต่อพีเอชต่อกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	32
ภาพที่ 9	ผลของโลหะต่อกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	34
ภาพที่ 10	ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อกิจกรรมของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจากข้าวสาลีหดยคดและข้าวสาลีหดยคดห้อมมือ.....	35