เอนไซม์ในรำข้าว

RICE BRAN ENZYMES

โดย

น.ส.ไพเราะ ทิพยทัศน์ วท.บ. (เกียรตินิยมอันดับสอง) ๒๕๐๗

002209

วิทยานิพนธ์
เป็นส่วนประกอบการศึกษาตามระเบียบปริญญามหาบัณฑิต
ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย
แผนกวิชาเคมี (สาขาชีวเคมี)

พ.ศ. ๒๕๑๐

I16816985

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้เป็นส่วนประกอบการศึกษาตามระเบียบปริญญามหาบัณฑิต

แถม นิละนิธิ

....
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

.... กรรมการ

ประไพศรี เปล่งวิทยา .... กรรมการ

อาจารย์ผู้ควบคุมงานวิจัย อาจารย์ ดร.กำจัด มงคลกุล

วันที่...6...เดือน...พฤษภาคม... พ.ศ...2510...

บทคัดย่อ

ปัญหาในอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันรำ ซึ่งเป็นน้ำมันที่สกัดจากรำข้าว คือ ถ้าเก็บรำไว้นาน จะสกัดได้น้ำมันปริมาณน้อยลง เนื่องจากมีเอนไซม์ในรำข้าว เป็นตัวไฮโดรไลส์น้ำมันรำ ออกเป็นกรดไขมันอิสระ เอนไซม์ดังกล่าว คือเอสเทอเรส และไลเปส สำหรับเอสเทอเรสศึกษาโดยใช้ p- Nitrophenyl acetate เป็น substrate วัดสีที่เกิดจาก p- Nitrophenol ด้วย spectrophotometer ที่ ๔๐๐ mμ เอนไซม์นี้ถูกสกัดได้ง่ายด้วยน้ำ มี activity สูง เสถียรมากที่อุณหภูมิต่ำ ๆ สลายได้ง่ายถ้าอุณหภูมิเพิ่มสูง มีค่า optimum pH ประมาณ ๗.๔ ขึ้นไป, activity ลดลงอย่างรวดเร็วในสภาพ pH ต่ำ ๆ , ค่า optimum substrate concentration ประมาณ ๐.๖๖mM , ค่า Michaelis - Menten constant (Km) ประมาณ ๕.๐ X ๑๐$^{-๕}$โมลาร์, อาจมีหมู่ -SH เป็น active site ไอออนของพวก ปรอท, อาเซไนต์ , ไทโอไซยาเนต และฟลูออไรด์ จะห้ามปฏิกริยาได้ดี แต่ไอออนของพวก ซัลเฟต, ไซยาไนด์, แคลเซียม และแมกนิเซียม ไม่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกริยาเปลี่ยน, เมื่อใช้ iodoacetamide เป็นตัวห้ามปฏิกริยา พบว่าเป็นชนิด non - competitive ซึ่งมีค่า Ki ประมาณ ๐.๓ X ๑๐$^{-๕}$โมลาร์. สำหรับไลเปสศึกษาได้โดยใช้ olive oil emulsion เป็น substrate วัด activity ได้โดยไตเตรตกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตราฐาน, เอนไซม์นี้ถูกสกัดได้ด้วยน้ำ, การ homo - genize และแช่รำช่วยให้สกัดเอนไซม์ได้มากขึ้น แต่ activity ที่ได้ก็ยังน้อย, มีค่า optimum pH ประมาณ ๖ - ๗ , optimum substrate concentration ประมาณ ๒ % (v/v) ของ olive oil emulsion, ค่า Michaelis - Menten constant (Km) ประมาณ ๐.๑๖ ถูกห้ามปฏิกริยาได้ด้วย iodoacetamide และ mercuric chloride และมีแคลเซียมเป็นตัวเร่งปฏิกริยาที่ดี, จากสมบัติต่าง ๆ เหล่านี้ อาจนำไปดัดแปลงใช้เป็นวิธีเก็บรักษารำได้ เช่น โดยการอบรำ, การล้างรำด้วยน้ำ, การแช่รำด้วยกรดแก่เจือจาง หรือการใช้ตัวห้ามปฏิกริยาที่มีประสิทธิภาพสูง ซึ่งอาจนำบางวิธีไปใช้แก้ปัญหาในอุตสาหกรรมน้ำมันรำได้.

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ท่านอาจารย์ ดร.กำจัด มงคลกุล อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ซึ่งได้ แนะนำ ชี้แจง ทุกสิ่งทุกอย่างในการวิจัยด้วยความกรุณาตลอดมา

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย, สภาวิจัย และบริษัทการบินไทย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยเรื่องนี้.

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ .... ค

คำขอบคุณ .... ง

สารบาญ .... จ

รายการตารางประกอบ .... ช

รายการภาพประกอบ .... ซ

บทนำ ๑

วัสดุที่ใช้และวิธีทำ

ชนิดและลักษณะของรำ ๕

สารเคมีที่ใช้ ๕

การสกัดเอนไซม์เอสเทอเรส ๖

การสกัดเอนไซม์ไลเปส ๖

การวัด activity ของเอนไซม์เอสเทอเรส ๖

การวัด activity ของเอนไซม์ไลเปส ๘

ผลของการทดลอง

<u>การศึกษาเกี่ยวกับเอสเทอเรส</u>

ผลของการแช่น้ำ และการ homogenization -
ในการสกัดเอสเทอเรสออกจากรำ ๑๐

ความเสถียรของเอสเทอเรสที่อุณหภูมิต่าง ๆ ๑๔

ผลของ pH ต่อเอสเทอเรส ๑๖

ผลของความเข้มข้นของ substrate ต่อเอสเทอเรส. ๑๗

ผลของตัวห้ามปฏิกริยา ๒๓

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาเกี่ยวกับไลเปส หน้า

สภาพต่าง ๆ ในการสกัดไลเปสจากรำ ๒๘

ผลของ pH ต่อไลเปส ๒๘

ผลของความเข้มข้นของ substrate ต่อไลเปส ๓๑

ผลของตัวเร่งและตัวห้ามปฏิกิริยา ๓๔

วิจารณ์ผลของการทดลอง ๓๕

สรุปผลของการทดลอง ๔๓

บรรณานุกรม ๔๕

จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่ ๑ ..... แสดงผลการ homogenize การแช่รำในการสกัดเอสเทอเรสออกจากรำ ๑๑

ตารางที่ ๒ ..... แสดงปริมาณเอสเทอเรสที่สกัดได้ จากการแช่รำที่เวลาต่าง ๆ กัน ๑๒

ตารางที่ ๓ ..... แสดงปริมาณเอสเทอเรสจากรำ โดยใช้น้ำสกัดหลาย ๆ ครั้ง ๑๒

ตารางที่ ๔ ..... แสดงการสูญเสียเอนไซม์ที่เก็บไว้ ในสภาพต่าง ๆ กัน ๑๔

ตารางที่ ๕ ..... แสดงผลของตัวห้ามเอนไซม์เอสเทอเรส ๒๔

ตารางที่ ๖ ..... ผลของการสกัดไลเปสด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ๒๙

ตารางที่ ๗ ..... แสดงผลของการ homogenization และการแช่รำในการสกัดไลเปสจากรำ ๒๙

ตารางที่ ๘ ..... แสดงผลของตัวเร่งและตัวห้ามปฏิกิริยาของไลเปส ๓๔

รายการภาพประกอบ

หน้า

รูปที่ ๑ .... แสดง activity ของเอสเทอเรสที่สกัดจากรำข้าวเก่า และรำข้าวใหม่ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ๑๗

รูปที่ ๒ .... แสดงความเสถียรของเอสเทอเรส ที่อุณหภูมิสูง ๆ ในเวลาต่าง ๆ กัน ๑๕

รูปที่ ๓ .... p- Nitrophenol curve ๑๘

รูปที่ ๔ .... แสดงผลของ pH ต่อเอสเทอเรส ๑๙

รูปที่ ๕ .... แสดงการเสีย esterase activity เมื่อแช่ใน buffer pH ต่าง ๆ ด้วยระยะเวลาต่าง ๆ กัน ๒๐

รูปที่ ๖ .... ผลของความเข้มข้นของ substrate ต่อเอสเทอเรส ๒๑

รูปที่ ๗ .... แสดงการหา Km ของเอสเทอเรส โดยใช้ Lineweaver and Burk's plot ๒๒

รูปที่ ๘ .... แสดงการหา Ki ของเอสเทอเรส เมื่อมี iodoacetamide เป็นตัวห้ามปฏิกริยาโดยใช้ Lineweaver and Burk's plot ๒๗

รูปที่ ๙ .... แสดงผลของ pH ต่อ lipase activity ๓๐

รูปที่ ๑๐ ... แสดงผลของความเข้มข้นของ substrate ต่อไลเปส ๓๒

รูปที่ ๑๑ ... แสดงการหา Km ของไลเปส โดยใช้ Lineweaver and Burk's plot ๓๓