

Thesis Title : The Study of Trypsin Inhibitor in Thai-Common Used Raw Vegetables..

Name : Miss Pornsri Ruengsinavit.

Thesis For : Master of Science in Biochemistry.  
Chiang Mai University.

#### Abstract.

Forty- four species of raw vegetables from Chiang Mai market were determined for trypsin inhibitor activity. Sixteen species of them contained trypsin inhibitor, i.e. eleven species of dicotyledonae, three of monocotyledonae, one of fungi and one of fern.

Eleven species of dicotyledonae were Cabbage, Cha-om, Egg - plant, Garden pea, Hyacinth bean, Indian almond, Lead-tree, Mung bean-sprout, Sa-tor, Winged bean and Yard long bean. Three of monocotyledonae were Onion, Plantain-flower and Welsh onion. One of fungi was common mushroom and fern was Phak-kood. There was no trypsin inhibitor in algae.

The trypsin inhibitors from soybean, Lead-tree and common mushroom were isolated and purified. The molecular weights of trypsin inhibitors from soybean, Lead-tree and common mushroom were calculated to be approximately 14,500 , 22,800 and 16,000, respectively, as indicated by Sephadex G-100 chromatography; and approximately 14,700 , 24,500 and 16,000 respectively, as indicated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

The soybean trypsin inhibitor was quite stable over a wide range of pH 1 to 10 when incubated at 37°C for 24 hours. After exposed to 50°C for 40 minutes, the activity was slightly decreased but it remained 26% of its activity under heat treatment at 90°C for 40 minutes in highly alkaline condition.

The trypsin inhibitor from Lead-tree was less stable than the soybean trypsin inhibitor. It remained 85% of its activity when incubated at 37°C for 24 hours under highly alkaline condition. After exposed to 50°C for 40 minutes, it remained 82-92% of inhibitor activity. And the inhibitor was completely destroyed when heat at 90°C for 10 minutes.

The trypsin inhibitor from common mushroom was more thermolabile than the inhibitors from soybean and Lead-tree. It remained 50% of inhibitor activity under basic pH at 37°C for 24 hours. On the other hand, it remained 34-69% of inhibitor activity at 50°C for 40 minutes. And the inhibitor was completely destroyed when incubated at 90°C for 10 minutes at both acidic and basic pHs.

The alternation of trypsin inhibitor activity of mung bean-sprout during germination and boiling had been determined. The trypsin inhibitor of mung bean-sprout was decreased during 48 hours of germination. After that, it was increased up to 7<sup>th</sup> day and the activity decreased again. After 4<sup>th</sup> day, the trypsin inhibitor activity in leaves were higher than in cotyledons. The trypsin inhibitor activity was decreased relatively to the boiling time. It remained 29% of inhibitor activity when boiled for 5 minutes. However, the inhibitor activity was completely destroyed after boiling for 60 minutes.

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : การศึกษาสารยับยั้งทรिพซินในผักสดที่คนไทยใช้กิน เป็นประจำ  
 ชื่อ ผู้เขียน : นางสาว ทศศรี เรืองศิลป์สุวิทย์  
 วิทยานิพนธ์ : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี)  
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2527.

### บทคัดย่อ

ผลของการวัดปริมาณสารยับยั้งทริพซินในผักสด 44 ชนิด พบว่ามีเพียง 16 ชนิด เท่านั้นที่มีสารยับยั้งทริพซิน ผักสดทั้ง 16 ชนิด ประกอบด้วย พืชใบเลี้ยงคู่ 11 ชนิด พืชใบเลี้ยงเดี่ยว 3 ชนิด เห็ดและเหิร์น พบอย่างละ 1 ชนิด

พืชใบเลี้ยงคู่ 11 ชนิด ที่มีสารยับยั้งทริพซิน ได้แก่ กล่ำปดี่, ชะอม, มะเขือเปราะ, ถั่วลิสงเตา, ถั่วแปบ, ใบชูกวาง, ใบกระถิน, ถั่วงอก, สะตอ, ถั่วพุด และถั่วฝักยาว พืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่พบสารยับยั้งทริพซิน ได้แก่ ต้นหอม, หอมหัวใหญ่ และหัวปลี พืชชั้นต่ำ ได้แก่ เห็ดฟางและผักกูด แต่ไม่พบสารยับยั้งทริพซินในพวกสาหร่าย

ผลการเตรียมสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลือง, ใบกระถิน และเห็ดฟางได้บริสุทธิ์ โดยใช้ Sephadex G-100 และ Sephadex G-50 ตามลำดับ พบว่าเมื่อใช้ Sephadex G-100 สารยับยั้งทริพซินแต่ละชนิดแสดงความบริสุทธิ์ โดยมี peak เดียว และน้ำหนักโมเลกุลของสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลือง, ใบกระถินและเห็ดฟาง เป็น 14,500, 22,800 และ 16,000 ตามลำดับ เมื่อนำตัวยับยั้งแต่ละตัวมาทำ SDS-polyacrylamide gel electrophoresis ปรากฏว่ามี band เดียว และสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลือง, ใบกระถิน, และเห็ดฟาง มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 14,700, 24,500 และ 16,000 ตามลำดับ

สารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลือง มีความทนทานต่อความเป็นกรด-ด่างสูงมากที่ 97°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่อได้รับความร้อนที่ 50°C เป็นเวลา 40 นาที ความสามารถในการยับยั้งลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 40 นาที ปรากฏว่าความสามารถ

ในการยับยั้งเชื้อ 26%

สารยับยั้งทริพซินจากใบกระถิน มีความทนทานต่อความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลือง โดยมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ 85% เมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นด่างมากกว่าที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 40 นาที จะมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ 82-92%

สารยับยั้งทริพซินจากเห็ดฟาง มีความทนต่อความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลืองและใบกระถิน โดยมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ 50% เมื่ออยู่ในภาวะเป็นด่างมากที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และความสามารถในการยับยั้งเชื้อ 34-69% เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 40 นาที

สารยับยั้งทริพซินจากใบกระถินและเห็ดฟาง จะถูกทำลายหมดเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 10 นาที

ผลการทดลองพบว่าสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลืองลดลงในช่วง 2 วันแรกของการงอกของถั่ว หลังจากนั้นจะเพิ่มปริมาณขึ้นจนถึงวันที่ 7 และจะลดลงอีกจนถึงวันที่ 10 ปริมาณของสารยับยั้งทริพซินในส่วนของใบจะมีมากกว่าในส่วนของ cotyledon เมื่อทำการต้มถั่วในน้ำเดือดปรากฏว่าสารยับยั้งทริพซินถูกทำลายไปตามเวลาที่ใช้และถูกทำลายหมดเมื่อต้มนาน 60 นาที