ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการสกัดน้ำมัน

Bioactive activities of peptides extracted from Khao Dowk Mali 105 defatted rice bran

กุลรภัส วชิรศิริ* โศรดา วัลภา สินี ศิริคูณ และ ยุทธศักดิ์ สุบการี

ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ (ศนอ.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ปทุมธานี 12120

Kulraphat Wachirasiri*, Sorada Wanlapa, Sinee Siricoon and Yuttasak Subkaree

Expert Centre of Innovative Health Food (InnoFood), Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Pathum Thani 12120

Received: 29 March 2022/ Revised: 12 May 2022/ Accepted: 18 May 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือที่ได้จากอุตสาหกรรมน้ำมันรำข้าว เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวเตรียมด้วยกระบวนการย่อยกากรำข้าวโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสปริมาณร้อยละ 0.875 เอนไซม์ต่อรำข้าวแห้ง เพปไทด์ไฮโดรไลเซท ที่ผลิตได้นำมาศึกษาชนิดและปริมาณกรดอะมิโน (amino acids profile) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) และความสามารถในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) ผลการทดลองพบว่า เพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่อยู่ในรูปเพปไทด์สายสั้น (short polypeptide) ร้อยละ 27.66 มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) (IC_{50} = 1.15 mg/mL) และสามารถรีดิวส์เฟอร์ริก (FRAP) 157.12 ไมโครโมล Fe^{2+} ต่อกรัม นอกจากนี้เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านการอักเสบด้วยการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบชนิด Tumor necrosis factor-α (TNF-α), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-1β (IL-1β) และ Nitric oxide (NO) ได้ร้อยละ 49.07, 34.66, 44.98 และ 41.13 ตามลำดับของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบด้วย Lipopolysaccharide (LPS) เพียงอย่างเดียว ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารฟังก์ชัน (functional food) หรืออาจนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้ในอนาคต

คำสำคัญ: รำข้าว เพปไทด์ไฮโดรไลเซท ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

Corresponding author: kulraphat@tistr.or.th

Abstract

The aim of this research was to study the antioxidant and anti-inflammatory activities of peptide hydrolyzate from defatted Khao Dawk Mali 105 rice bran (DFRB), which is agricultural waste from the rice bran oil industry. Peptide hydrolysate from DFRB was obtained by enzymatic hydrolysis by Alcalase (0.875%). Amino acid profile, ability of antioxidant and anti-inflammatory activity of peptide hydrolysate were evaluated. The DFRB peptide hydrolysate (DFRBH) consisted of 27.66% of amino acids in the form of short polypeptides. It had ability to scavenge DPPH radical (IC_{50} = 1.15 mg/mL) and reduce ferric ion (FRAP) (157.12 μmol Fe^{2+}/g). The anti-inflammatory by inhibition the production of pro-inflammatory mediators, tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1β (IL-1β) and nitric oxide (NO) of of DFRBH aqueous solution at 5% concentration were 49.07%, 34.66%, 44.98% and 41.13% of lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. These results suggested that DFRBH could potentially be used as ingredient for functional food and therapeutic agent against oxidant and inflammatory diseases.

Keywords: Rice bran, Peptide hydrolysate, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสารที่ไม่เสถียร เนื่องจากขาดอิเล็กตรอนสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงส่งผลให้โมเลกุลข้างเคียงเกิดความไม่เสถียร และทำปฏิกิริยาต่อเป็นลูกโซ่ ปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์และเกิดโรคเสื่อมต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคข้ออักเสบ โรคหอบหืด โรคเบาหวาน โรคไต และโรคตาเสื่อม เป็นต้น [1] การอักเสบเป็นกลไกการตอบสนองทางชีวภาพของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันร่างกายที่เกิดจากการบาดเจ็บเนื้อเยื่อ การบุกรุกของเชื้อโรคหรือสารเคมีต่างๆ [2] ในระหว่างการบาดเจ็บและการบุกรุกของเชื้อโรคจะมีการหลั่งสารก่ออักเสบหลายชนิด เช่น TNF-α, IL-1, IL-5, IL-6, IL-1β และ NO เป็นต้น สารเหล่านี้ถูกหลั่งออกมาเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ดี การหลั่งสารในปริมาณมากเกินไป และการหลั่งสารแบบเรื้อรังจะนำไปสู่การก่อโรคหลายชนิด เช่น โรคลำไส้อักเสบ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคหอบหืด โรคมะเร็ง โรคเบาหวานและโรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น [2] การอักเสบแบบเรื้อรังมีผลทำให้อนุมูลอิสระถูกผลิตขึ้นเป็นจำนวนมากส่งผลทำให้การอักเสบเกิดมากขึ้น [1] อนุมูลอิสระออกซิเจน (Reactive Oxygen Species; ROS) สามารถเพิ่มการอักเสบโดยการกระตุ้นการปล่อยสารก่ออักเสบด้วยการเพิ่มเซลล์แมคโครฟาจ (Macrophage) ตรงตำแหน่งที่มีการอักเสบซึ่งส่งผลให้มีการอักเสบต่อเนื่องและเรื้อรัง [2] วงจรนี้จะทำลายระบบต่างๆ ในร่างกาย [1] ด้วยเหตุนี้การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านการอักเสบจึงเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีในการค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นอาหารฟังก์ชันหรือนำไปใช้ในทางการแพทย์สำหรับป้องกันโรคต่างๆ [2] เพปไทด์ไฮโดรไลเซท (Peptide Hydrolysate) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีนโมเลกุลขนาดใหญ่ให้มีขนาดโมเลกุลเล็กมีประสิทธิภาพในต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ปัจจุบันได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเพราะมีความปลอดภัยและไม่มีรายงานผลข้างเคียงเมื่อบริโภคปริมาณสูงและต่อเนื่อง เพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ด้วยการให้และรับโปรตอนหรืออิเล็กตรอน การล้อมจับกับโลหะหนัก และควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-Reduction) หรือ

ปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction) [1] นอกจากนี้ยังสามารถต้านการอักเสบได้โดยการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบเช่น TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO เป็นต้น [2, 3] อย่างไรก็ดีปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท คือ ชนิดและแหล่งที่มาของวัตถุดิบตลอดจนกระบวนการผลิตเพปไทด์ไฮโดรไลเซท เนื่องจากชนิดและแหล่งที่มาของวัตถุดิบมีผลต่อคุณภาพโปรตีนโดยรวมของวัตถุดิบ ในขณะที่กระบวนการผลิตมีผลกระทบส่วนใหญ่ต่อลำดับ ขนาดของกรดอะมิโนและสมบัติทางกายภาพอื่นๆ เช่น ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility) ความสามารถในการเกิดโฟม (foaming capacity) ของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้ งานวิจัยนี้เลือกใช้รำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว (defatted rice bran) ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันรำข้าวมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเพปไทด์ไฮโดรไลเซท เนื่องจากมีปริมาณมากไม่ขึ้นอยู่กับฤดูกาล ราคาวัตถุดิบต่ำ มีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูง ปริมาณไขมันต่ำ ไม่มีสารที่ก่อให้เกิดการแพ้ (food allergen) [4] และผลจากจากการสืบค้นเอกสารพบว่า รำข้าว ข้าวและธัญพืชที่นำมาผลิตเป็นเพปไทด์มีความสามารถและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบได้ [2, 5-7] แต่ประสิทธิภาพและฤทธิ์ที่เกิดขึ้นนั้นมีปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบกระบวนการผลิตเพปไทด์เป็นหลัก ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านฤทธิ์อนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทตลอดจนชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้จากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว โดยเพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่นำมาศึกษานี้ผ่านกระบวนการผลิตด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis)

วิธีดำเนินการวิจัย

รำข้าวและเอนไซม์

รำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว (defatted rice bran) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท โคราชโรงสียงสงวน จำกัด เก็บรักษาไว้ในถุงพลาสติกชนิด LDPE (Low density polyethylene) แบบมีซิป ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส เอนไซม์ที่ใช้เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนทางการค้าชนิด Alcalase 2.4 FG ยี่ห้อ Brenntag สั่งซื้อจากบริษัท Brenntag Ingredients (Thailand) Public Company Limited

การผลิตเพปไทด์ไฮโดรไลเซท

ชั่งรำข้าวปริมาณ 20.0 กรัมแห้งต่อน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร ปรับพีเอชส่วนผสมเป็น 8.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ จากนั้นเติมเอนไซม์อัลคาเลสปริมาณร้อยละ 0.875 เอนไซม์ต่อรำข้าวแห้ง นำไปบ่มในเครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับพีเอชของสารที่ได้ให้เป็น 7.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6.0 โมลาร์ กำจัดตะกอนแขวนลอยและกากรำข้าวที่เหลือด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้ไปทำแห้งด้วยวิธี การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ที่อุณหภูมิขาเข้า - ขาออก 90/180 องศาเซลเซียส เก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ได้ในถุงซิปล๊อคที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท

การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดทำโดยการชั่งเพปไทด์ไฮโดรไลเซทลงในหลอดทดลองแล้วเติม 6N HCl ปริมาณ 5 mL จากนั้นให้ความร้อนโดยใช้ heating block ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง เติมสารมาตรฐานลงไปในสารละลายที่ย่อยได้และเจือจางด้วย deionized water กรองสารละลายด้วยแมมเบรนขนาด 0.45 μm แล้วผสมสารละลายที่ผ่านการกรองกับ AccQ-Fluor derivatization buffer และ AccQ-Fluor derivatization reagent เพื่อทำให้เป็นสารอนุพันธ์จากนั้น

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ด้วย heating block ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระทำโดยการผสมเพปไทด์ไฮโดรไลเซทกับกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1N จากนั้นเติมสารมาตรฐานและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น กรองสารละลายด้วย Cellulose acetate membrane ขนาด 0.22 µm สารละลายที่ได้นำมาผสมกับ AccQ-Fluor derivatization buffer และ AccQ-Fluor derivatization reagent เพื่อทำให้เป็นสารอนุพันธ์ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ด้วย heating block ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC นำตัวอย่างที่เตรียมไว้จากข้างต้นไปวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (total amino acid) และปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (Free amino acid) ด้วยเครื่อง HPLC (Waters Alliance 2695) โดยใช้ detector ชนิด Jasco FP2020 fluorescence Detector (EX: 250, EM: 395 nm) และคอลัมน์ชนิด Poroshell C18 (4.6*100 mm, 2.7µm) ดำเนินการด้วยสภาวะที่มีอัตราการไหล 1.2 mL/min อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ชะล้างด้วย sodium acetate buffer/acetonitrile/water และ derivatization reagent เป็น waters AccQ-Fluor Reagent เทียบผลที่ได้กับกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท

การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging assay)

การวิเคราะห์การกำจัดอนุมูลอิสระ (DPPH) ประยุกต์จากงานวิจัยของ Chen และคณะ [8] โดยการดูดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.02 M, pH 6.0) ปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตรปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร และเติมตัวอย่างปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณปริมาณการกำจัดอนุมูลอิสระ ตามสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{A control} - \text{A sample})}{\text{Acontrol}} \times 100 \qquad (1)$$

โดยที่ : A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของ 0.2 mM DPPH และ A sample คือค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ของ 0.2 mM DPPH ผสมกับตัวอย่าง

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidant power; FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ประยุกต์จาก Thamnarathip และคณะ [9] เตรียมโดยการปิเปตสารละลาย FRAP ปริมาณ 3,000 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank และใช้สารละลาย $FeSO_4.7H_2O$ (ความเข้มข้น 100 – 1400 µM) เป็นสารมาตรฐาน คำนวณผลที่ได้ให้แสดงออกมาในรูป ไมโครโมล Fe^{2+} ต่อกรัม สำหรับสารละลาย FRAP ให้เตรียมเมื่อต้องการใช้โดยการผสมสารละลาย acetate buffer (300 mM, pH 3.6) กับสารละลาย TPTZ (10 mM) และสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ (20 mM) ในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 โดยปริมาตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปใช้

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO

ทำการเลี้ยงแมคโครฟาจ RAW 264.7 ปริมาณ $1x10^5$ cells/well ในสภาวะที่มีการกระตุ้นด้วย Lipopolysaccharide (LPS) ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร่วมกับเพปไทด์ไฮโดรไลเซทความเข้มข้น 25 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละ 5 เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายไปวิเคราะห์ปริมาณสารก่ออักเสบชนิด TNF-α, IL-6 และ IL-1β โดยวิธี sandwich enzyme-linked immunosorbent assay ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป ELISA MAX™ Deluxe Set และวิเคราะห์หาปริมาณ nitrite โดยวิธี Griess assay ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป (griess reagent system) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร รายงานผลปริมาณสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6 และ IL-1β ที่ได้เป็น พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร (pg/mL) ปริมาณ NO รายงานผลที่ได้เป็นไมโครโมลต่อลิตร (μmol/L)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (replication) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีทเมนท์โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DRMT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Statistic (Version 19.0) แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท

เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมดร้อยละ 29.33 แบ่งเป็นกรดอะมิโนที่อยู่ในรูปเพปไทด์สายสั้น (short polypeptide) ร้อยละ 27.66 และกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ร้อยละ 1.68 (ตารางที่ 1) เพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้มีกรดอะมิโนโดยส่วนใหญ่อยู่ในรูปเพปไทด์สายสั้นมากกว่ากรดอะมิโนอิสระ ส่งผลให้เพปไทด์ไฮโดรไลเซทมีสมบัติทางชีวภาพสูง เนื่องจากกรดอะมิโนในรูปเพปไทด์สายสั้นมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) แก่อนุมูลอิสระได้ดีกว่ากรดอะมิโนอิสระ [5, 10] อย่างไรก็ดีกรดอะมิโนอิสระซึ่งเป็นองค์ประกอบในเพปไทด์ไฮโดรไลเซท อันได้แก่ กรดอะมิโนชอบน้ำ (มีขั้ว) (hydrophilic amino acid) ได้แก่ กรดกลูตามิก กรดแอสปาร์ติก อาร์จินีน และไลซีน และกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำ (ไม่มีขั้ว) (hydrophobic amino acid) ได้แก่ ลิวซีน อะลานีน วาลีน ไกลซีน ฟีนิลอะลานีน โพรลีน และไอโซลิวซีน (ตารางที่ 1 และ 2) กรดอะมิโนทั้ง 2 กลุ่มมีหมู่ R โซ่ข้างที่แตกต่างกันทำให้เพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถเข้าถึงอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีทั้งในสภาวะที่มีขั้วและไม่มีขั้ว [11, 12] นอกจากนี้การมีประจุบวกหรือประจุลบของกรดอะมิโนสามารถส่งเสริมประสิทธิภาพในการล้อมจับไอออนโลหะหนักของเพปไทด์ได้ โดยกรดอะมิโนที่มีประจุดังกล่าวได้แก่ อาร์จินีน ไลซีน ฮิสติดีน กรดกลูตามิก และกรดแอสปาร์ติก [11] นอกเหนือจากนี้กรดอะมิโนที่มีหมู่พิเศษ หมู่อิมิดาโซล (Imidazole) หมู่แอโรมาติก (Aromatic) อันได้แก่ ฮิสติดีน ฟีนิลอะลานีน และไทโรซีน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง โดยการล้อมจับกับไอออนของโลหะ ออกซิเจน และกำจัดไฮดรอกซิล แม้ว่าจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย [13]

นอกจากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการอักเสบแล้วยังพบว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นี้ ยังประกอบไปด้วยกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) หลายชนิด ได้แก่ อาร์จินีน ลิวซีน วาลีน ไลซีน ฟีนิลอะลานีน ธรีโอนีน ไอโซลิวซีน และฮิสติดีน ที่มีส่วนช่วยเสริมสร้างกล้ามเนื้อ กระตุ้นระบบการเผาผลาญ ซ่อมแซมเนื้อเยื่อและกระตุ้นการทำงานของสมองและเซลล์ประสาท

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอะมิโนของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ได้จากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

Peptide composition	Contents (mg/100 mg)
Total amino acid	29.33
Short polypeptide	27.66
Free amino acid	1.68
Hydrophobic amino acid	12.07
Hydrophilic amino acid	12.32
Neutral amino acid	4.94
Essential amino acid	13.27
Non-Essential amino acid	16.06

ตารางที่ 2 ชนิดกรดอะมิโนของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

Amino acids	Contents (mg/100 mg)
Glutamic acid (Glu)	5.07
Aspartic acid (Asp)	2.96
Arginine (Arg)	2.59
Leucine (Leu)	2.27
Alanine (Ala)	2.18
Valine (Val)	1.83
Glycine (Gly)	1.81
Serine (Ser)	1.72
Lysine (Lys)	1.70
Phenylalanine (Phe)	1.43
Proline (Pro)	1.43
Threonine (Thr)	1.41
Isoleucine (Ile)	1.12
Histidine (His)	0.92
Tyrosine (Tyr)	0.89

ฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประเมินจากความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวส์เฟอร์ริก (FRAP) สำหรับการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้สาร 2,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) ซึ่งมีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ตรงตำแหน่งไนโตรเจนเป็นสารตั้งต้น เพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดนี้จะให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) แก่อนุมูลอิสระ DPPH ทำให้อนุมูลอิสระ DPPH มีความเสถียร ในขณะที่เพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่สูญเสียไฮโดรเจนจะเกิดเป็นสารที่มีความว่องไว ($R^{\cdot}$) สามารถไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH โมเลกุลอื่นๆ ถัดไปได้ [11] ผลการศึกษาพบว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 45.84 ± 2.60 (IC_{50} = 1.15 mg/mL) ซึ่งสูงกว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากถั่วลิสง 3 เท่า [8] ความสามารถในการรีดิวส์เฟอร์ริก (FRAP) ทำการศึกษาโดยใช้สารตั้งต้นเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}-TPTZ) เพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดนี้จะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}-TPTZ) กลายเป็นเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีความเสถียร [11] ผลการศึกษาพบว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถรีดิวส์เฟอร์ริก (FRAP) ได้ 157.12 ± 1.72 ไมโครโมล Fe^{2+} ต่อกรัม ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีโครงสร้างที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) แก่อนุมูลอิสระ DPPH และมีโครงสร้างที่สามารถให้อิเล็กตรอน (e^-) แก่เฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}-TPTZ) ทำให้สามารถหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ [11]

กรดอะมิโนจัดเป็นโครงสร้างสำคัญที่มีผลต่อความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) และให้อิเล็กตรอน (e^-) แก่อนุมูลอิสระของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท [2, 11] กรดอะมิโนไม่ชอบน้ำมีความสำคัญอย่างมากต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท การศึกษาของ Mendis และคณะ [14] และ Inkanuwat และคณะ [15] พบว่ากรดอะมิโนไม่ชอบน้ำ ได้แก่ ลิวซีน อะลานีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน และ โพรลีน มีความสามารถสูงในการต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sonklin และคณะ [11] ซึ่งพบว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากโปรตีนถั่วเขียวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, FRAP, superoxide radical และ metal chelation เนื่องจากมีกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำปริมาณสูง กรดอะมิโนไม่ชอบน้ำเหล่านี้สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) และให้อิเล็กตรอน (e^-) แก่อนุมูลอิสระได้ดีทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร อีกทั้งช่วยให้เพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถเข้าถึงอนุมูลอิสระในสภาวะที่ไม่มีขั้วได้ง่ายขึ้น เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำสูงและมีจำนวนหลายชนิด [11] สำหรับกรดอะมิโนชอบน้ำ ได้แก่ กรดกลูตามิก และ กรดแอสปาร์ติก ซึ่งพบปริมาณมากในเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และมีปริมาณใกล้เคียงกับเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากแหล่งธัญพืชอื่นๆ เช่น เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ [16] เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากโปรตีนถั่วเขียว [11] และเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากกากทานตะวัน [10] (ตารางที่ 3) กรดอะมิโนสองชนิดนี้ไม่มีรายงานข้อมูลความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) และให้อิเล็กตรอน (e^-) แต่มีการรายงานความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้โดยการล้อมจับประจุของไอออนโลหะทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร [11] สอดคล้องกับรายงานของ Sonklin และคณะ [11] ซึ่งพบว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากโปรตีนถั่วเขียวมีความสามารถในการยับยั้งไอออนของโลหะเพราะมีกรดอะมิโนกรดกลูตามิกและกรดแอสปาร์ติกเป็นองค์ประกอบสูง

ตารางที่ 3 กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลักของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากวัตถุดิบต่างๆ

Peptide hydrolysate	Highest amino acid	Antioxidant activity	Ref.
Rice bran protein hydrolysate	Glutamic acid, Aspartic acid, Arginine, Leucine, Alanine	DPPH, FRAP	งานวิจัยนี้
Rice protein hydrolysate	Glutamic acid, Aspartic acid, Leucine, Arginine, Alanine	DPPH, ABTS, ORAC	Chen และคณะ [12]
Riceberry bran protein hydrolysate	Glutamic acid, Aspartic acid, Arginine, Leucine, Alanine	DPPH, FRAP	Jangmesin และคณะ [16]
Mungbean meal protein hydrolysate	Glutamic acid, Aspartic acid, Lysine, Arginine, Leucine	DPPH, FRAP, Superoxide, Metal chelation	Sonklin และคณะ [11]
Sunflower protein hydrolysate	Glutamic acid, Aspartic acid, Arginine, Leucine, Glycine	DPPH, ABTS	พัสตราภรณ์ และคณะ [10]
Rice bran protein hydrolysate (Fraction)	Leucine, Histidine, Tryptophan, Tyrosine	DPPH, ABTS	Saisavoey และคณะ [2]

ความสามารถในการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO

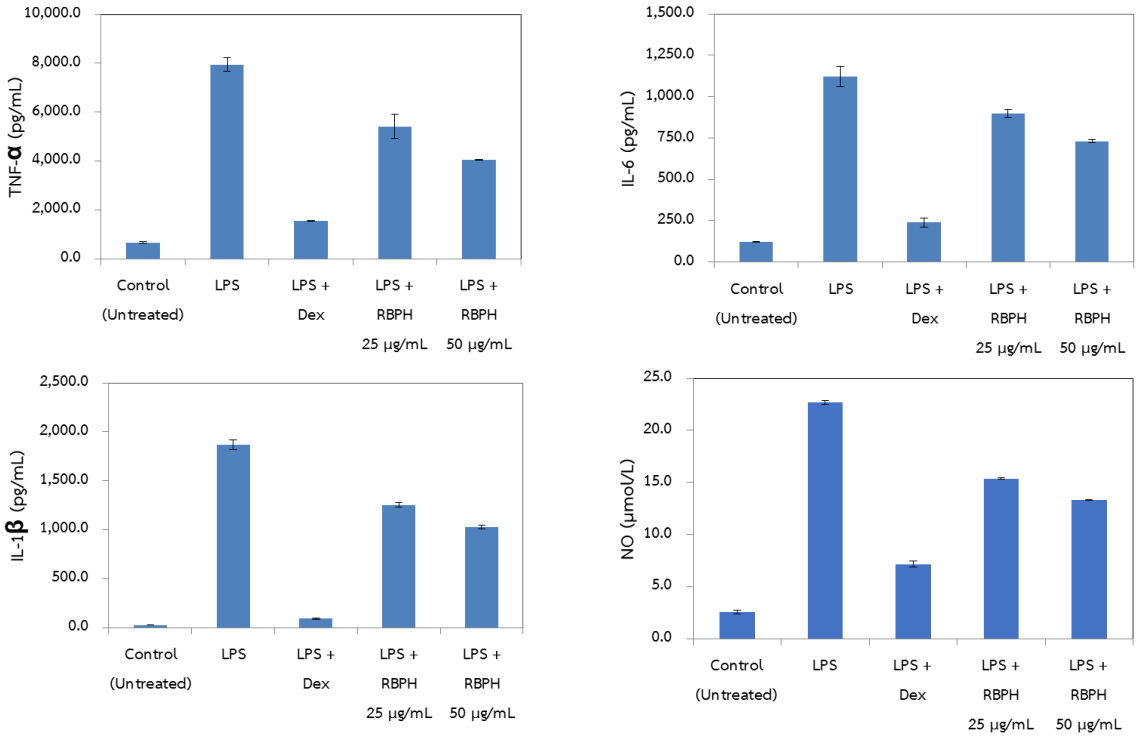
เพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ด้วยการยับยั้งกลไกการทำงานของ Nuclear Factor-kappa B (NF-kB) และเอนไซม์ inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) เป็นหลัก ซึ่งสามารถยับยั้งได้ทั้งในระดับเอนไซม์ โปรตีนและ mRNA [3] โดยกลไกการทำงาน NF-kB จะควบคุมการสังเคราะห์และการหลั่งสารก่ออักเสบชนิด TNF-α, IL-6 และ IL-1β [3] สารก่ออักเสบชนิด Nitric oxide (NO) ผลิตจากแอล–อาร์จินีนด้วยกลุ่มเอนไซม์ Nitric oxide synthase (NOS) ซึ่งประกอบด้วย neuronal NOS (nNOS), inducible NOS (iNOS) และ endothelial NOS (eNOS) โดยเอนไซม์ iNOS จะเป็นเอนไซม์หลักในการควบคุมการผลิต NO [3, 17] และสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6 และ IL-1β สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ iNOS ได้ด้วย [2, 3] เพปไทด์ไฮโดรไลเซทสามารถยับยั้งการผลิต NO ได้โดยการยับยั้งการแสดงออกของ mRNA และ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ iNOS [2, 3]

ผลการศึกษาความสามารถในการต้านการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 พบว่า ในสภาวะการเลี้ยงเซลล์ที่มีการเติมเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะทำให้เซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่กระตุ้นด้วย Lipopolysaccharide (LPS) เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 1) ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Saisavoey และคณะ [2], Chaijaroen [5], Phantuwong และคณะ [6] และ Chanput และ Lawyer [7] ซึ่งพบว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวสามารถยับยั้งการผลิต TNF-α, IL-6,

IL-1β และ NO ได้ โดยความสามารถในการต้านการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของเพปไทด์ไฮโดรไลเซท ผลการศึกษาของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวที่ผลิตได้ที่ระดับความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ได้ร้อยละ 31.89, 19.82, 32.86 และ 32.18 ตามลำดับและความสามารถในการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 49.07, 34.66, 44.98 และ 41.13 เมื่อเพปไทด์ไฮโดรไลเซทมีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

การใช้ยาต้านอักเสบชนิด Dexamethasone ที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งสารก่ออักเสบ TNF-α ได้ร้อยละ 80.69 โดยเพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสารก่ออักเสบเทียบเท่ากับประสิทธิภาพยาร้อยละ 60 ของความเข้มข้นยาที่ใช้และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากธัญพืชอื่นๆ พบว่า เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวหอมมะลิ 105 ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสารก่ออักเสบได้ดีกว่าเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวสังข์หยดที่ความเข้มข้น 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสามารถยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบชนิด TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ได้เพียงร้อยละ 9.37– 29.20, 35.56–54.55, 45.58–71.96 และ 23.05–71.63 ตามลำดับ [6] ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวที่ได้จากการศึกษาของ Chaijaroen [5] พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการผลิต NO ของเพปไทด์จากรำข้าวที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพต่ำกว่าร้อยละ 9 เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ชนิดของกรดอะมิโนมีส่วนสำคัญที่ทำให้เพปไทด์ไฮโดรไลเซทมีความสามารถต้านการอักเสบได้โดยการยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO หรือยับยั้งกลไกการทำงานของ NF-kB และ iNOS [17, 18] เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประกอบด้วยกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำหลายชนิด อีกทั้งมีกรดอะมิโนที่มีประจุบวกที่สามารถต้านการอักเสบได้ดี [15] อันได้แก่ กรดอะมิโนอาร์จินีน ลิวซีน ไกลซีน และฮิสติดีน เป็นต้น สำหรับกรดอะมิโนกรดกลูตามิกและกรดแอสปาร์ติก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่พบในปริมาณมากในเพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ยังไม่มีข้อมูลความสามารถในการต้านการอักเสบโดยตรง อย่างไรก็ดีสารอนุพันธ์ หรือ เอไมด์ (amide) ของกรดอะมิโนกรด กลูตามิก และกรดแอสปาร์ติก คือ กลูตามีนและแอสปาราจีน สามารถต้านการอักเสบได้ [17, 18] โดยสามารถยับยั้งการอักเสบโดยการระงับการผลิตสารก่ออักเสบไซโตไคน์ การทำงานของเอนไซม์ IKK และการสลายตัวของ IkB และสามารถหยุดการ Phosphorylation ของกลไก NF-kB ตลอดจนยับยั้งการทำงานของ MAPK [17] กรดอะมิโนกลูตามีนที่รวมอยู่กับอาร์จินีนสามารถลดการผลิต TNF-α และสารก่ออักเสบไซโตไคน์อื่นได้ [18] เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากถั่วลูพินมีกรดอะมิโนกลูตามิก + กลูตามีน กรดแอสปาร์ติก + แอสปาราจีน อาร์จินีน ลิวซีนและซีรีนปริมาณสูง สามารถยับยั้งการผลิต TNF-α, IL-1β, IL-10 ได้ดี [19]



ภาพที่ 1 การผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ในสภาวะที่มีเพปไทด์ไฮโดรไลเซท (RBPH) 25 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยาต้านอักเสบชนิด Dexamethasone (Dex); a, b, c คือความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ one-way ANOVA ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DRMT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 การยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ในสภาวะที่มีเพปไทด์ไฮโดรไลเซท 25 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยาต้านอักเสบชนิด Dexamethasone (Dex)

Pro-inflammatory mediators	Inhibition (%)		
	Dexamethasone (Dex) 0.5 μg/mL	Peptide hydrolysate 25 μg/ml	Peptide hydrolysate 50 μg/ml
TNF-α	80.69 ± 0.44 [c]	31.89 ± 3.75 [a]	49.07 ± 1.68 [b]
IL-6	78.57 ± 3.64 [c]	19.82 ± 2.21 [a]	34.66 ± 2.75 [b]
IL-1β	95.19 ± 0.44 [c]	32.86 ± 0.57 [a]	44.98 ± 0.59 [b]
NO	68.42 ± 1.61 [c]	32.18 ± 0.13 [a]	41.13 ± 0.64 [b]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน a, b และ c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่อยู่ในรูปเพปไทด์สายสั้นซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) แก่อนุมูลอิสระได้ดีกว่ากรดอะมิโนอิสระถึงร้อยละ 27.66 อย่างไรก็ดีกรดอะมิโนอิสระที่เป็นองค์ประกอบในเพปไทด์ที่ผลิตได้นั้นมีหลายชนิดตลอดจนมีปริมาณสัดส่วนที่เหมาะสมทำให้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการอักเสบได้ดีเช่นกัน โดยกรดอะมิโนสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอม (H^+) และให้อิเล็กตรอน (e^-) แก่อนุมูลอิสระได้ กรดอะมิโนที่มีหมู่สำคัญ ได้แก่ กรดอะมิโน ฮิสติดีน ฟีนิลอะลานีนและไทโรซีน ถึงแม้จะมีในปริมาณน้อยแต่มีประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ กรดกลูตามิก และกรดแอสปาร์ติกเป็นกรดอะมิโนที่มีปริมาณมากที่สุดในเพปไทด์ ไฮโดรไลเซทที่ได้จากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้ แม้ว่าไม่มีรายงานความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP แต่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้โดยการล้อมจับประจุของไอออนโลหะทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรได้ [11] และสารอนุพันธ์ หรือเอไมด์ (Amide) ของกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้ซึ่งได้แก่ กลูตามีน และ แอสปาราจีน สามารถต้านการอักเสบได้ [17-19]

การศึกษาและวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการอักเสบของเพปไทด์ไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้จากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าเพปไทด์สามารถยับยั้งการผลิตสารก่ออักเสบ TNF-α, IL-6, IL-1β และ NO ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยยับยั้งกลไกการทำงานของ NF-kB และ iNOS ได้ทั้งในระดับเอนไซม์ โปรตีนและ mRNA เพปไทด์ที่ผลิตได้ดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับเพปไทด์ที่ผลิตได้จากธัญพืชอื่นๆ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งสารก่ออักเสบชนิด TNF-α ระหว่างเพปไทด์ไฮโดรไลเซทกับยาต้านการอักเสบ DEX แล้วพบว่าเพปไทด์มีประสิทธิภาพเป็นร้อยละ 60 ของยาต้านการอักเสบ

เพปไทด์ไฮโดรไลเซทจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นอกจากจะมีกรดอะมิโนที่มีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพแล้วยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดที่มีส่วนช่วยส่งเสริมสุขภาพและบำรุงการทำงานของสมองและเซลล์ประสาท รำข้าวจัดเป็นส่วนประกอบอาหารที่ไม่มีสารก่อภูมิแพ้ (Allergen) สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย อีกทั้งการนำรำข้าวมาใช้ประโยชน์นอกจากจะเป็นการลดปริมาณวัสดุเศษเหลือทิ้งทางการเกษตร ลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมแล้วยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบสร้างรายได้แก่ผู้ประกอบการและเกษตรกรได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท โคราชโรงสียงสงวน จำกัด ที่ให้การสนับสนุนรำข้าวเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Biswas S, Das R, Banerjee ER. Role of free radicals in human inflammatory diseases: review. AIMS Biophys 2017;4(4):596-614.
2. Saisavoey T, Sangtanoo P, Reamtong O, Karnchanatat A. Antioxidant and anti-inflammatory effects of defatted rice bran (*Oryza sativa* L.) protein hydrolysates on RAW 264.7 macrophage cells. J Food Biochem 2016;40(6):731-40.
3. Heo SY, Ko SC, Jung WK. The pepsinolytic hydrolysate from *Johnius belengerii* frame inhibited LPS-stimulated production of pro-inflammatory mediators via the inactivating of JNK and NF-kB pathways in RAW 264.7 macrophages. Fish Aquatic Sci 2018;21(14):1-8.
4. Amagliani L, O'Regan J, Kelly AL, O'Mahony JA. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. Trends Food Sci Technol 2017;64:1–12.

5. Chaijaroen T. Functional and biological properties of enzymatic hydrolysate from defatted rice bran by using partial purified Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Viscera extract. Ph.D. Thesis, Prince of Songkla University. Songkla; 2015.
6. Phantuwong N, Thongraung C, Yupanqui CT. Enzymatic hydrolysis on protein and β-glucan content of Sang-yod rice bran hydrolysates and their anti-inflammatory activity on RAW 264.7 cells. Funct Foods Health Dis 2017;7(12):958-71.
7. Chanput W, Lawyer R. The potential of fractionated rice bran protein hydrolysates as antioxidative and anti-inflammatory agents. J Nutr Sci Vitaminol 2020;66:349–55.
8. Chen G, Zhao L, Zhao L, Cong T, Bao S. In Vitro Study on Antioxidant activities of peanut protein hydrolysate. J Sci Food Agric 2007;87:357–62.
9. Thamnarathip P, Jangchud K, Nitisinprasert S, Vardhanabhuti B. Identification of peptide molecular weight from rice bran protein hydrolysate with high antioxidant activity. J Cereal Sci 2016;69:329-35.
10. พัสตราภรณ์ ทองอิ่มพงษ์, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น, สุรพงษ์ พินิจกลาง, เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์. สมบัติต้านอนุมูลอิสระและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากกากทานตะวันที่ไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์โบรมิเลนและ Flavourzyme®. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 2559;39(4):565–83.
11. Sonklin C, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. Assessment of antioxidant properties of membrane ultrafiltration peptides from mungbean meal protein hydrolysates. PeerJ 2018;6(e5337):1–20.
12. Chen HJ, Dai FJ, Chen CY, Fan SL, Zheng JH, Huang YC, et al. Evaluating the antioxidants, whitening and antiaging properties of rice protein hydrolysates. Molecules 2021;26(12): 3605.
13. Hernandez-Ledesma B, Miralles B, Amigo L, Ramos M, Recio I. Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk. J Sci Food Agric 2005;85(6):1041–8.
14. Mendis E, Rajapakse N, Kim SK. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. J Agric Food Chem 2005;53(3):581–7.
15. Inkanuwat A, Sukaboon R, Reamtong O, Asawanonda P, Pattaratanakun A, Saisavoey T, Sangtanoo P, Karnchanatat A. Nitric oxide synthesis inhibition and anti-inflammatory effect of polypeptide isolated from chicken feather meal in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. Food Technol Biotechnol 2019;57(2):200-12.

16. Jangmesin K, Rimkeeree H, Tadakittisarn S. Enzymatic optimization of riceberry bran protein hydrolysate extraction and characterization. Curr Appl Sci Technol 2017;17(2):200–23.
17. Lim EWT, Leach ST, Lemberg DA, Day AS. A Brief overview of nutrient anti-inflammatory molecules and their in vitro and in vivo activity. J Nutri Med Diet Care 2016;2(2):1-7.
18. He F, Wu C, Li P, Li N, Zhang D, Zhu Q, Ren W, Peng Y. Functions and signaling pathways of amino acids in intestinal inflammation. BioMed Res Int 2018;9171905:1-13.
19. Montserrat-de la Paz S, Villanueva A, Pedroche J, Millan F, Martin ME, Millan-Linares MC. Antioxidant and anti-Inflammatory properties of bioavailable protein hydrolysates from lupin-derived agri-waste. Biomolecules 2021;11(10): 1458.