

ปัทมกร ส่างสวัสดิ์ : เปปไทด์ที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพจากการย่อยในระบบย่อยอาหารจำลอง
เนื้อไก่ปรุงสุก (BIOACTIVE PEPTIDES DERIVED FROM *IN VITRO*
GASTROINTESTINAL DIGESTION OF COOKED CHICKEN MEAT) อาจารย์ที่ปรึกษา :
รองศาสตราจารย์ ดร. จิรวัดน์ ยงสวัสดิ์กุล, 193 หน้า.

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของสภาวะการให้ความร้อนต่อกิจกรรมการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเปปไทด์ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยเนื้อไก่ในระบบย่อยอาหารจำลอง ตลอดจนระบุลำดับกรดอะมิโนของเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่เปลี่ยนรูปแองจิโอเทนซิน หรือเอซีอี (Angiotensin converting enzyme, ACE) ในส่วนของโปรตีนที่ถูกย่อยแล้ว (digest) และศึกษาความสามารถในซึมผ่านเซลล์มะเร็งลำไส้ (Caco-2) ของเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อย ออกไก่เนื้อโคราช (Kc) และไก่เนื้อทางการค้า (Br) ที่ถูกทำให้สุกที่สภาวะต่างๆ คือ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 (H-0.5) และ 24 ชั่วโมง (H-24) และ การให้ความร้อนภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 (AC-15) และ 60 นาที (AC-60) จากนั้นย่อยต่อด้วยระบบย่อยอาหารจำลอง ผลการทดลองพบว่า เปปไทด์ที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอซีอีเกิดขึ้นหลังการย่อย Kc และ Br ที่ได้รับความร้อนภายใต้สภาวะ H-0.5 ส่งผลให้ได้เปปไทด์ที่มีสมบัติจับโลหะ (metal chelating) และยับยั้งเอซีอีสูงสุด ในขณะที่เปปไทด์ที่ได้จากการย่อยเนื้อไก่ภายใต้สภาวะ AC-15 แสดงความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน และมีฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระสูงสุด เปปไทด์รุ่นใหม่ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอซีอีได้สูงสุดคือ KPLLCS, ELFTT และ KPLL ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.36 6.35 และ 11.98 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ โดย ELFTT และ KPLL มีความทนทานต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์พลาสมิน

ความสามารถการซึมผ่านเซลล์ Caco-2 ซึ่งเทียบเคียงได้กับเซลล์ลำไส้เล็ก ของเปปไทด์ส่วนที่ผ่านอัลตราฟิลเตรชันขนาดเมมเบรน 1 กิโลดาลตัน จากตัวอย่างที่เกิดจากการย่อยในระบบย่อยอาหารจำลองของตัวอย่าง Kc/H-0.5 และ Kc/AC-60 พบว่า ตัวอย่าง Kc/H-0.5 แสดงความสามารถในการซึมผ่านไปได้และแสดงฤทธิ์การยับยั้งเอซีอีสูงกว่าส่วนของเปปไทด์จาก Kc/AC-60 ในบรรดาเปปไทด์ที่ซึมผ่านจากตัวอย่าง Kc/H-0.5 นั้น พบ 9 เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอซีอีโดยที่ APP เป็นท่อนเปปไทด์จากไมโอซินและแสดงค่าการยับยั้งเอซีอีได้สูงที่สุด ด้วยค่า K_i เท่ากับ 0.93 ไมโครโมลาร์

KPLLCS และ KPLL มีความไวต่อการย่อยสลายด้วยโปรตีเอส ที่ผิวเซลล์ของลำไส้เล็ก (brush border peptidases) ในขณะที่ ELFTT ถูกย่อยเพียงเล็กน้อยแต่ไม่สามารถซึมผ่านได้ เปปไทด์ที่ซึมผ่านไปได้สูงสุดคือ KPLL ซึ่งแสดงค่าการยับยั้งเอซีอีได้สูงที่สุด โดยที่ KPLL บางส่วนถูกย่อยเป็น KP และ LL ก่อนการซึมผ่านผนังลำไส้ (apical) และเปปไทด์ทั้งสามสามารถซึมผ่านไปได้และแสดงค่า K_i เท่ากับ 0.09 3.86 และ 56.74 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเปปไทด์ที่ได้รับจากการย่อยไก่เนื้อโคราชสูงจะขึ้นอยู่กับวิธีการให้ความร้อน การให้ความร้อนระดับปานกลางที่สภาวะ H-0.5 กับอกไก่เนื้อโคราชส่งผลให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ของเปปไทด์เกิดจากการย่อยอาหารในสภาวะจำลอง เปปไทด์ที่แสดงกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์สามารถซึมผ่านไปได้และมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการซึมผ่าน นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการแล้ว อกไก่เนื้อโคราชที่ถูกทำให้สุกภายใต้สภาวะเหมาะสมยังแสดงกิจกรรมทางชีวภาพอีกด้วย



สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อนักศึกษา Papungkorn Sangsarnad
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา RS CBS

PAPUNG KORN SANGSAWAD : BIOACTIVE PEPTIDES DERIVED
FROM *IN VITRO* GASTROINTESTINAL DIGESTION OF COOKED
CHICKEN MEAT. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. JIRAWAT
YONGSAWADIGUL, Ph. D., 193 PP.

MUSCLE PROTEIN/POUTRY/GASTROINTESTINAL DIGESTION/BIOACTIVE
PEPTIDE/ANTIOXIDANT/ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME/
PERMEABILITY

The objectives of this study were to investigate the effect of thermal treatments on bioactivities of peptides generated from *in vitro* gastrointestinal (GI) digestion of cooked chicken meats and to identify the angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides presented in digests, and to determine their permeability through Caco-2 cell monolayer model. Breast of Korat chicken (Kc) and commercial broiler (Br) were cooked under various conditions, namely heated at 70°C for 30 min (H-0.5) and 24 h (H-24), autoclaved (AC) at 121°C for 15 min (AC-15) and 60 min (AC-60), and then subjected to *in vitro* GI digestion. Antioxidant and ACE inhibitory peptides were released upon *in vitro* GI digestion of both KC and Br. H-0.5 promoted metal chelating and ACE inhibitory activity of digest, while AC-15 enhanced FRAP value and cytoprotective effect. Novel potent ACE inhibitor peptides were identified to be KPLLCS, ELFTT, and KPLL with IC₅₀ of 0.37, 6.35, and 11.98 µM, respectively, while ELFTT and KPLL were resistant to hydrolysis of plasmin.

Permeability of Kc/H-0.5 and Kc/AC-60 digests permeated through a 1-kDa ultrafiltration membrane was investigated using monolayers of human colorectal

carcinoma cell line (Caco-2) cells. Permeate of Kc/H-0.5 digest revealed higher permeability and ACE inhibitory activity than did the Kc/AC-60 counterpart. Among transported peptides of Kc/H-70 digest, nine peptides showed ACE inhibitory activity, and a tripeptide, APP, derived from myosin, exhibited the highest ACE inhibition with the K_i value of 0.93 μ M.

KPLLCS and KPLL were susceptible to hydrolysis by brush border peptidases, while ELFTT was slightly hydrolyzed but could not be transported. The transported peptides of KPLL showed the highest ACE inhibitory. KPLL was partially hydrolyzed to KP and LL in the apical side. KPLL, KP and LL, were transported across Caco-2 cells with the K_i values of 0.09, 3.86, and 56.74 mM, respectively.

These results revealed that the bioactivity of GI digests derived from cooked Korat chicken muscles would greatly depend on the applied thermal treatment. Mild thermal treatment at 70°C for 30 min of Kc improved antioxidant and ACE inhibitory activity of digest. ACE inhibitory peptides can be transported and structural changes occurred during permeation. Besides the nutritional value of cooked chicken, optimally cooked Kc breast also provided multifunctional health benefits.

School of Food Technology

Academic Year 2016

Student's Signature Papungkorn Sangsarnad

Advisor's Signature RS cds