ประชิต อยู่หว่าง : คุณสมบัติเคมีและต้านออกซิเดชันของอะราบิโนไซแลนไฮโดรไลเซท จากรำข้าว (CHEMICAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ARABINOXYLAN HYDROLYSATES FROM RICE BRAN) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันทา ทองทา, 108 หน้า.

การศึกษาอะราบิโนไซแลนส่วนที่ไม่สามารถสกัดด้วยน้ำจากรำข้าว (WUAX) ด้วยเอนไซม์ไซลาเนส (*Bacillus subtilis* endoxylanase GHF 11) กระทำโดยนำรำข้าวปราศจากไขมันผ่านการกำจัดสตาร์ชและโปรตีนออกด้วยเอนไซม์ จากการศึกษาปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสกัด คือ การให้ความร้อนด้วยออโตเครฟ ปริมาณเอนไซม์และเวลาในการย่อย พบว่าการให้ความร้อนโดยออโตเคฟที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ก่อนนำมาย่อยด้วยไซลาเนสจำนวน 5 ยูนิต/กรัม เป็นเวลา 4 ชั่วโมงให้ผลผลิตสูงสุดเป็นปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 9.14 เปอร์เซ็นต์ การตกตะกอนอะราบิโนไซแลนจาก WUAX ด้วยเอทานอลสามารถแยกออกเป็น 3 แฟรกชัน คือ แฟรกชันที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้น 0-60 เปอร์เซ็นต์ (F60) 60-90 เปอร์เซ็นต์ (F6090) และมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (F90)

การให้ความร้อนโดยออโตเคฟเพิ่มปริมาณฟีนอลลิกยึดเหนี่ยวรวมและลดปริมาณฟีนอลลิกอิสระในรำข้าว และกรดฟีนอลิกหลักที่พบคือกรดเฟอรูลิกชนิดยึดเหนี่ยว การวิเคราะห์อะราบิโนไซแลนที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเอทานอล พบว่าทุกแฟรกชันยกเว้น F90 มีกรดฟีนอลลิกชนิดยึดเหนี่ยวมากกว่ากรดฟีนอลลิกชนิดอิสระ F6090 มีปริมาณกรดฟีนอลิกมากที่สุดตามด้วย F60 และ F90 โดย F60 และ F6090 มีกรดเฟอรูลิกเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วน F90 มีปริมาณกรดเฟอรูลิกและกรดคูมาริกใกล้เคียงกัน การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของ F60 F6090 และ F90 ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบแยกขนาด พบว่ามีค่าเท่ากับ 5.786×10^{4}, 4.137×10^{4} และ 1.525×10^{3} กรัม/โมล ตามลำดับ การวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธีเมทาโนไลซิส (methanolysis) พบว่าน้ำตาลหลักใน F60 และ F6090 คือไซโลสและอะราบิโนส โดยปริมาณอะราบิโนไซแลนของทั้งสองแฟรกชันมีค่าเท่ากับ 70.3 และ 73.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนน้ำตาลหลักที่พบใน F90 คือ กลูโคสและไซโลส การศึกษาโครงสร้างของทั้งสามแฟรกชันพบน้ำตาลอะราบิโนสที่ส่วนกิ่งเชื่อมกับน้ำตาลไซโลสด้วยพันธะ α-1,3 เป็นส่วนใหญ่และมีปริมาณประมาณ 29-33 เปอร์เซ็นต์โมล

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) พบว่า F6090 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 389.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อันดับรองลงมาคือ F60 และ F90 การทดสอบคุณสมบัติรีดักชันด้วยวิธี Ferric reducing ability power assay (FRAP) แสดงผลที่มีแนวโน้มเดียวกันคือ F6090 และ F60 มีประสิทธิภาพสูงกว่า F90 การทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์ HepG2 ด้วยวิธี DCFH DA assay

พบว่า F60 F6090 และ F90 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 5, 10, และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ทั้งสามแฟรกชันมีความเป็นพิษต่อเซลล์ HepG2 ที่แตกต่างกัน F60 มีความเป็นพิษต่ำ (12-35%) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 50-2,500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน F6090 ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 500-12,500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่กลับมีผลส่งเสริมการเจริญของเซลล์ ส่วน F90 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้น 5,000-11,500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8,132 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

PRACHIT YUWHANG : CHEMICAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ARABINOXYLAN HYDROLYSATES FROM RICE BRAN. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SUNANTA TONGTA, Ph.D. 108 PP.

RICE BRAN/ARABINOXYLANS/ENZYME-EXTRACTED ARABINOXYLANS/ PHENOLIC ACID/FERURIC ACID/ANTIOXIDANT ACTIVITY/CELL-BASE DCFH DA ASSAY

The extraction of water-unextractable arabinoxylans (WUAX) from rice bran with *Bacillus subtilis* endoxylanase GHF 11 was studied. Removal of starch and proteins from defatted rice bran was conducted by enzymatic treatment. The important factors affecting extraction, namely autoclave condition, enzyme concentration, and incubation time were optimized. The autoclave of destrach and deprotein rice bran (DSDPB) at 121 °C for 4 h before hydrolysis with 5 Unit endoxylanase for 4 h provided the highest yield of 9.14% total sugars. Ethanol precipitation could fractionate the rice bran WUAX into 3 fractions: 0-60% ethanol (F60), 60-90% ethanol (F6090), and above 90% ethanol (F90).

The autoclave treatment increased the total bound phenolic and decreased the total free phenolic contents of DSDPB. The major phenolic acid of all autoclaved DSDPB fractions, except F90, was bound ferulic acid. The analysis of ethanol-fractionation of WUAX showed that F6090 fraction had the highest phenolic acid content followed by F60 and F90. F60 and F6090 fractions contained mostly bound ferulic acid, while F90 had comparable amounts of ferulic acid and coumaric acid. The molecular weights of F60, F6090 and F90, determined by HPSEC-MALLS, were

5.786×10^4, 4.137×10^4, and 1.525×10^3 g/mol, respectively. The sugar analysis by methanolysis method revealed that the major monosaccharides of F60 and F6090 fractions were xylose and arabinose in which arabinoxylans of both fractions were 70.3 and 73.8%, respectively. In addition, the majority of sugars found in F90 were glucose and xylose. Structural characterization of all three fractions of WUAX indicated that the majority of the arabinose residues were α-1, 3-linked to monosubstituted xylose and was about 29-33 % molar ratio

The study of scavenging against 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals revealed that F6090 fraction exhibited the highest antioxidant activity ($p<0.05$) with an EC_{50} value of 389.5 μg/mL, followed by F60 and F90. The F6090 and F60 fractions also possessed higher total reducing power in the FRAP assay than that of F90. In the cell-based antioxidant assay with HepG2 using DCFH DA probe, the most effective concentrations of F60, F6090 and F90 in scavenging intracellular ROS were 5, 10 and 10 μg/mL, respectively. The cytotoxicity against HepG2 of these fractions was varied. F60 fraction only slightly induced cell death (12-35%) at the concentration range of 50-2,500 μg/mL. At 500 to 12,500 μg/mL, F6090 fraction had no cytotoxic effect but could slightly enhance the growth of HepG2 cells. F90 fraction exhibited the most potent cytotoxic activity against the HepG2 with the IC_{50} of 8,132 μg/mL.

School of Food Technology

Academic Year 2013

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____