

ผิง จาง : กระบวนการผลิตและทำบริสุทธิ์กลูโคซามีนและเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง
แองจิโอเทนซินวันคอนเวอร์ติงเอนไซม์จากเห็ดห้าชนิด (PRODUCTION AND
PURIFICATION OF GLUCOSAMINE AND ANGIOTENSIN-I CONVERTING
ENZYME (ACE) INHIBITORY PEPTIDES FROM FIVE MUSHROOMS)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.มานชญ์ สุธีรวัฒนานนท์, 285 หน้า.

เห็ดเป็นอาหารที่มีการบริโภคมานานหลายศตวรรษ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อ
ผลิตทำบริสุทธิ์ และยืนยันสารกลูโคซามีนและเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เอซีอีจากเห็ด 5 ชนิด
คือ เห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดฟาง (*Volvariella
volvacea*) เห็ดชิตาเกะ (*Lentinus edodes*) และเห็ดหูหนูดำ (*Auricularia auricular*) ในการศึกษาพบว่า
กรดซัลฟูริกมีประสิทธิภาพสูงกว่ากรดเกลือในการผลิตกลูโคซามีน โดยสภาวะที่เหมาะสมในการ
ผลิตกลูโคซามีนคือสภาวะที่อัตราส่วนของเห็ดต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5.67 โมลาร์ เท่ากับ 1:10 โดย
มวลต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและเวลา 4.03 ชั่วโมง ปริมาณกลูโคซามีนที่ผลิตได้
ขึ้นอยู่กับปริมาณไคตินที่อยู่ในเห็ดและชนิดของกรดที่ใช้ในการย่อย โดยจลนพลศาสตร์ของการย่อย
เป็นจัดเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ที่มีพลังงานกระตุ้นอยู่ระหว่าง 15.91-203.55 กิโลจูลต่อโมล จาก
การศึกษาพบว่า เห็ดฟางให้ร้อยละผลได้กลูโคซามีนมากที่สุด (56.81 ± 3.57 มิลลิกรัมต่อกรัม) และ
พลังงานกระตุ้นต่ำที่สุด (42.76 กิโลจูลต่อโมล) หลังจากนั้นเห็ดที่ย่อยด้วยกรดแล้วมาตกตะกอนเปปไทด์
ด้วยเอทานอล แล้วนำมาผ่านกระบวนการกรองอัลตราฟิลเทรชัน ปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้น 2 เท่า
ไฮโดรไลเซตจากเห็ดนางฟ้าแสดงกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์เอซีอีสูงสุด (IC_{50} 64.111 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร) และประสิทธิภาพการยับยั้งเพิ่มขึ้น 69-175 เท่า หลังจากการทำบริสุทธิ์เปปไทด์ด้วยการทำ
บริสุทธิ์แบบ 4 ขั้นตอน ประกอบด้วย การกำจัดสี การตกตะกอน การแยกด้วยโครมาโตกราฟีแบบ
ไอออนและเจลฟิลเทรชัน เปปไทด์ที่ได้คงตัวต่อความร้อน สภาพกรด/ด่าง และกระบวนการย่อยด้วย
เอนไซม์ gastrointestinal proteases ทั้งนี้พบเปปไทด์ชนิด ASPYAFGL MLCSTTF และ LASLFGNDP
ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์เอซีอีสูงด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.1080 0.1524 และ 0.2491
ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าไฮโดรไลเซตจากเห็ดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมีกลูโค
ซามีนและเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เอซีอี สามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับอาหาร
สุขภาพสำหรับป้องกันและรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมและโรคความดันโลหิตสูงได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2559

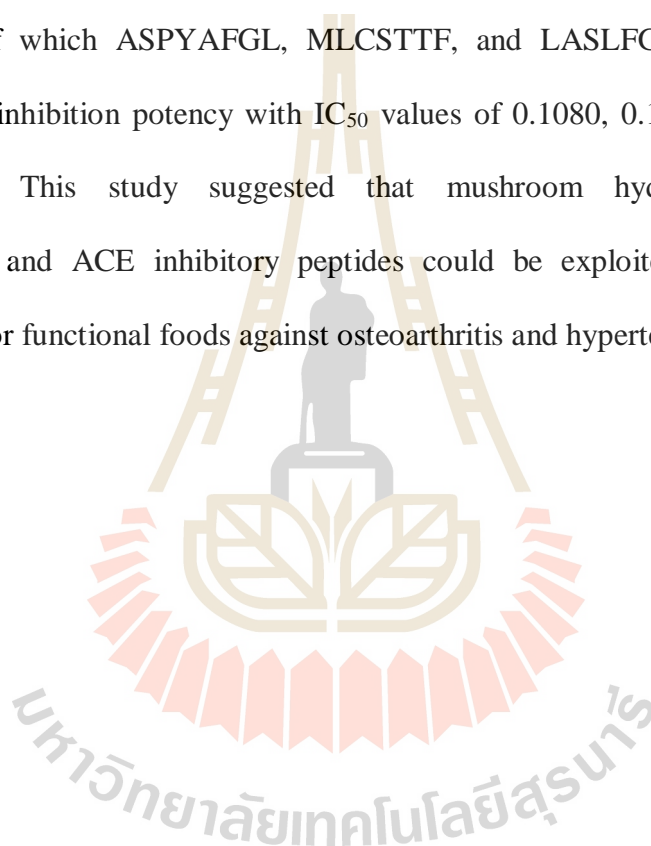
ลายมือชื่อนักศึกษา Pin Zhang
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [Signature]

PIN ZHANG : PRODUCTION AND PURIFICATION OF GLUCOSAMINE
AND ANGIOTENSIN-I CONVERTING ENZYME (ACE) INHIBITORY
PEPTIDES FROM FIVE MUSHROOMS. THESIS ADVISOR : ASSOC.
PROF. MANOTE SUTHEERAWATTANANONDA, Ph.D., 285 PP.

GLUCOSAMINE/ACE INHIBITORY PEPTIDES/MUSHROOM/ACID
HYDROLYSIS/PRODUCTION/PURIFICATION

Mushrooms have been consumed as nutritional foods for many centuries. The objectives of this study were to produce, purify and identify glucosamine and ACE inhibitory peptides from five mushrooms, including the enoki mushroom (*Flammulina velutipes*), oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), straw mushroom (*Volvariella volvacea*), shiitake (*Lentinus edodes*) and wood ear mushroom (*Auricularia auricular*). Sulfuric acid was more effective than hydrochloric acid for glucosamine production. The optimum conditions were identified as follows: ratio of raw material to acid volume, 1:10 (w/v); sulfuric acid, 5.67 M; hydrolysis temperature, 100°C; and time, 4.03 h. In addition, the glucosamine yield was found to be dependent on the chitin contents of the raw materials and the type of acid used. Hydrolysis kinetics were fitted with a first-order reaction model with activation energies ranging from 15.91 to 203.55 kJ/mol. Enoki mushroom was the easiest to hydrolyze, while the wood ear mushroom needed a longer time for glucosamine to be liberated. Among the five mushrooms, straw mushroom had the highest glucosamine yield (56.81±3.57 mg/g) and the relatively low activation energy (42.76 kJ/mol) suggested that sulfuric acid hydrolysis of the straw mushroom could be suitable for future industrial application

for glucosamine production. Glucosamine was enriched 2-fold in the ethanol-soluble fraction after ultrafiltration and ethanol precipitation. Oyster mushroom hydrolysate showed the maximum ACE inhibitory activity (IC_{50} , 64.111 mg/mL). The potent ACE inhibitory peptides after purification were increased 69-175 fold by a four-step purification procedure. All of the purified peptides showed satisfactory stability against heat, pH and in vitro gastrointestinal digestion. Thirteen novel peptides were identified, of which ASPYAFGL, MLCSTTF, and LASLFGNDP were found to exhibit high inhibition potency with IC_{50} values of 0.1080, 0.1524, and 0.2491 μ M, respectively. This study suggested that mushroom hydrolysates containing glucosamine and ACE inhibitory peptides could be exploited as multifunctional ingredients for functional foods against osteoarthritis and hypertension.



School of Food Technology

Academic Year 2016

Student's Signature Pin Zhang

Advisor's Signature [Signature]