



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

### โครงการ

การจำแนกชนิดโปรตีนองค์ประกอบของ  
ข้าวธัญสิรินและหอมล้านนา

Identification of Protein Component in  
Thanyasirin and Hom Lanna Rices

โดย

ณัฐชัย เทียงบุญธรรม

อภิชาติ กาญจนทัต

กันยายน พ.ศ.2557

## บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

**ชื่อโครงการ** การจำแนกชนิดโปรตีนองค์ประกอบในข้าวธัญสิรินและหอมล้านนา

**คณะนักวิจัยและสังกัด**

1 ผศ.ดร.ณัฐชัย เทียงบุญธรรม สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

2 ผศ.ดร.อภิชาติ กาญจนทัต

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ระยะเวลาที่ทำการวิจัย** จำนวน 2 ปีระหว่าง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ.

2557

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. เพื่อตรวจสอบยืนยันและเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่แท้จริงในเมล็ดข้าวพันธุ์ธัญสิริน และหอมล้านนา (กับข้าวพันธุ์กข 6 และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105)
2. เพื่อตรวจสอบชนิดของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดข้าวพันธุ์ธัญสิริน หอมล้านนา
3. เพื่อตรวจสอบสัดส่วนของกรดไขมันองค์ประกอบในไขมันที่สกัดได้จากรำข้าวที่ทดสอบ

**ขอบเขตของการวิจัย**

ได้สกัดโปรตีนจากรำข้าว 4 สายพันธุ์ (ข้าวเจ้าหอมมะลิ 105 ข้าวเหนียว กข6 ข้าวเจ้าหอมล้านนา และข้าวเหนียวธัญสิริน) นำมาตรวจสอบชนิดและปริมาณโปรตีน ทั้งที่เป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้และโปรตีนทั้งหมด (total protein) นอกจากนี้ ยังตรวจสอบองค์ประกอบของกรดไขมันในรำข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์นี้อีกด้วย

**วิธีการวิจัย**

นำข้าวเปลือกพันธุ์ที่ต้องการทดสอบมาสี แล้วเก็บรำข้าวมากำจัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ จากนั้นนำรำไปสกัดโปรตีนด้วยตัวทำละลายหลายชนิดและในสภาวะต่าง ๆ กัน นำโปรตีนที่สกัดได้มากำจัดสิ่งเจือปน และปรับสภาวะให้เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์แต่ละวิธี ใช้เทคนิค SDS-PAGE ในการแยกและวิเคราะห์ชนิดของโปรตีน ผลที่ได้จะถูกมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยในเอกสารอ้างอิงเพื่อยืนยันชนิดของโปรตีนแต่ละแถบ ในอีกทางหนึ่ง นำโปรตีนที่เตรียมได้มาแยก

ด้วย HPLC แล้วนำแต่ละ peak มาวิเคราะห์ด้วย Mass spectrophotometer ส่วนน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าว จะถูกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วย GC และ GC-MS

### ผลการวิจัย

รำข้าวทั้งสี่สายพันธุ์มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดอยู่ในช่วง 12.94-12.97% แต่รำข้าวพันธุ์หอมล้านนามีโปรตีนที่ละลายน้ำได้มากที่สุด (3.45%) เมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์อื่นที่ทดสอบ (1.64-1.67%) รำข้าวพันธุ์ที่ทดสอบทุกชนิดประกอบด้วยโปรตีนหลัก 3 ชนิด ได้แก่ โปรตีนตั้งต้นของกลูเตลิน กลูเตลินและโปรลามีเนน โดยมีปริมาณใกล้เคียงกัน ขณะที่รำข้าวพันธุ์อื่นที่ทดสอบมีโปรตีนโมเลกุลเล็ก (<18 kDa) ซึ่งเชื่อว่าเป็นเอนไซม์ อัลบูมิน และอัลฟาลอบูลินมากกว่ารำข้าวพันธุ์หอมล้านนาอย่างชัดเจน ปริมาณไขมันในรำข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน (5.07-5.76 กรัม/ข้าว 100 กรัม)

### วิจารณ์

เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 และ กข 6 ที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบแล้ว จะเห็นว่า ข้าวพันธุ์หอมล้านนามีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ สูงกว่าข้าวพันธุ์อื่นที่ทดสอบ ขณะที่ข้าวพันธุ์ธัญสิรินมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างจากในข้าวพันธุ์กข 6 จากวิธีการที่ใช้วิเคราะห์ (SDS-PAGE) โปรตีนในข้าวทั้ง 4 พันธุ์มีรูปแบบเหมือนกัน ในแง่ของกรดไขมันภาพรวมแล้ว ข้าวเจ้าทั้งสองพันธุ์ (หอมล้านนาและหอมมะลิ 105) ที่นำมาวิเคราะห์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่า ขณะที่มีการกรดไขมันอิ่มตัวต่ำกว่าข้าวเหนียวที่นำมาวิเคราะห์ (ธัญสิรินและกข 6) เล็กน้อยในภาพรวมแล้ว ชนิดของกรดไขมันในรำข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์มีรูปแบบคล้ายกัน และปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

### สรุปและข้อเสนอแนะ

ได้ข้อมูลชนิดและปริมาณโปรตีนและไขมันในข้าวพันธุ์หอมล้านนาและธัญสิรินอย่างครบถ้วน ข้อมูลเหล่านี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลส่งเสริมการขายข้าวพันธุ์หอมล้านนาได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ ยังมีความละเอียดไม่มากพอที่จะแยกแยะโปรตีนที่มีปริมาณเล็กน้อยได้ จึงควรมีการขยายผลศึกษาโปรตีนกลุ่มนี้ต่อไป

**คำสำคัญ** ธัญสิริน หอมล้านนา โปรตีนในข้าว

## EXECUTIVE SUMMARY

**Project Title :** Identification of protein component in Thanyasirin and Hom Lanna rices

**Investigators :**

- |  |             |
|--|-------------|
| 1. Asst. Prof. Nathachai Tiengburatnatam | ATRI, RMUTL |
| 2. Asst. Prof. Apichart Kanjanatat       | IBGE, CU    |

**Project Period :** 2 years, from October 2012- September 2014

**Objectives :**

1. To determine confirmatively actual protein amounts in Thanyasirin and Hom Lanna grains (compare to Kokho 6 and Hom Mali 105)
2. To determine the types of protein component in Thanyasirin and Hom Lanna grains
3. To determine the fatty acid ration in lipid components of extracted test rice brans

**Scope of Research :**

Extracted proteins from 4 rice varieties (Hom mali 105, Kokho 6, Hom Lanna and Thanyasirin) were determined for their types and amounts, both soluble protein and total protein. In addition, the fatty acid compositions of lipid in all 4 rice brans were also determined.

**Methodology :**

The test rice grains were milled and the collected brans were defatted with petroleum ether before taking to conduct protein extraction by various solutions and conditions. The obtained protein was then purified and adjusted to suitable condition for each analyzing. SDS-PAGE technique was used to separate and analyze protein type in this study. The results were compared to previous work in order to confirm the type of protein in each band. Alternatively, prepared protein was separated by HPLC and each

peak was carried to analyze by Mass spectrophotometer. Finally, the defatted lipid was conducted to analyzed for fatty acid composition by GC and GC-MS.

#### **Results :**

All 4 rice brans contain 12.94-12.97% total protein but Hom Lanna bran contains highest soluble protein (3.45%) compared to the other ones (1.64-1.67%). All test rice brans mainly composed of 3 protein types such as glutelin precursor, glutelin and prolamin with nearly the same amount. All other rice brans contain obviously larger amount of small molecule protein (<18 kDa) which was believed to be enzymes, albumins and alpha-globulin than that found in Hom Lanna. Lipid contents were comparable in all 4 rice brans (5.07-5.76 g/100 g rice)

#### **Discussion :**

In comparison, with Hom Mali 105 and Kokho 6 were used as standard, it can be realized that Hom Lanna rice contains highest soluble protein while Thanyasirin contains comparable total protein to Kokho 6. From technique used to analyze (SDS-PAGE), the protein profiles were the same for all 4 rices. In overview of fatty acid profile, both test rices (Hom Lanna and Hom Mali 105) contain slightly higher unsaturated fatty acid and slightly lower saturated fatty acid than both sticky test rices (Thanyasirin and Kokho 6). However, the fatty acid profiles and the amount of individual fatty acid were nearly the same for all 4 test rices.

#### **Conclusion and Suggestions :**

The information about types and amounts of protein in Hom Lanna and Thanyasirin rices were completely obtained. This information can be useful in Hom Lanna rice marketing promotion. However, the analytical technique used in this study seems to give inadequate resolution in trace amount protein separation so that it needs to extend the study to this protein group in future.

**Keywords :** Thanyasirin            Hom Lanna            Rice protein

# การจำแนกชนิดโปรตีนองค์ประกอบของข้าวธัญสิรินและหอมล้านนา

ณัฐชัย เทียงบุญธรรม อภิชาติ กาญจนทัต

## บทคัดย่อ

ข้าวเจ้าพันธุ์หอมล้านนาและข้าวเหนียวพันธุ์ธัญสิรินเป็นข้าวที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมาใหม่ ข้อมูลด้านโภชนาการยังคงมีน้อย งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาบริบทของโปรตีนในเมล็ดข้าวทั้งสองสายพันธุ์นี้ เปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์หอมมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 โดยศึกษาในส่วนของรำข้าวเป็นหลัก เนื่องจากเป็นส่วนที่มีโปรตีนมากที่สุด ได้ทดสอบวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่า การสกัดด้วย 1 M NaOH ในสัดส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:5 (โดยปริมาตร) เป็นเวลา 45 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (เขย่า) เป็นสภาวะที่ให้ปริมาณโปรตีนเหมาะสมที่สุด หลังจากแยกโปรตีนที่สกัดได้ด้วย SDS-PAGE แล้ว ผลวิเคราะห์พบว่า รำจากข้าวทั้งสองชนิดที่ทดสอบมีโปรตีนหลักสามชนิด ได้แก่ โปรตีนตั้งต้นของกลูเตลิน กลูเตลินและโปรลามีน รวมถึงโปรตีนโมเลกุลเล็กกว่า 18 kDa ที่อาจเป็นเอนไซม์ กลอบบูลินและอัลบูมินอื่น ๆ ด้วย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการกำจัดไขมันในรำข้าวอีกด้วย ผลการศึกษาสรุปได้ว่า ข้าวพันธุ์หอมล้านนามีโปรตีนที่ละลายน้ำได้สูงกว่าข้าวทุกพันธุ์ที่ศึกษาราว 2 เท่า ส่วนปริมาณไขมันโดยภาพรวมไม่แตกต่างกัน แต่ข้าวเจ้าทั้งสองพันธุ์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่าข้าวเหนียวทั้งสองพันธุ์เล็กน้อย

**คำสำคัญ** หอมล้านนา ธัญสิริน โปรตีนจากรำข้าว

# Identification of Protein Component in Thanyasirin and Hom Lanna Rices

Nathachai Tiengburanatam and Apichart Kanjanatat

## ABSTRACT

The Hom Lanna and Thanyasirin are newly developed rice varieties and involved nutritional information is still lacked. The objective of this study is to investigate protein context in both cultivar grains as well as to compare the protein contents to Hom Mali 105 rice and Kokho 6 sticky rice. Most of this study deal with rice bran since such part possesses highest protein content of the grain. Various protein extracting conditions were test and the one that gave maximum protein amount is 1M NaOH in proportion of the bran: extracting solution as 1:5 (by volume) during 45 minutes at ambient temperatures (with shaking). After the extracted proteins were applied in SDS-PAGE separation, it was found that all four rice brans contain mainly three protein; glutelin precursor, glutelin and prolamin. Result also indicates a little amount of small molecular protein, lower than 18kDa in size, which could possibly be enzymes, globulin and albumin. In addition, the lipid composition, sideline from bran defatting was also determined. It can be concluded that the Hom Lanna rice possesses nearly two times more soluble protein than the others. Moreover, although the lipid compositions were not different among test cultivars in overview, but the unsaturated fatty acid contents in two rice grains seem to be slightly higher than those of two sticky rice grains.

**Keywords:** Hom Lanna    Thanyasirin    Rice protein