



AUG 1992

TRYPSIN INHIBITING EFFECT AND
POSSIBLE FORMATION OF NITROSO COMPOUND
OF CONVENTIONAL THAI MUSHROOMS

NARANIN MARKMAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

ธกษณนทนาการ

๒๓

นันทน นานน

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1992

19297

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ทริพซิน และการเกิด
สารประกอบไนโตรโซในเห็ดไทย

ผู้วิจัย นรานินทร์ มารคแมน

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ปรีชา กลิ่นเกษร, Ph.D.
แก้ว กังสดาลอำไพ, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 12 พฤษภาคม พ.ศ. 2535

บทคัดย่อ

สารสกัดจากเห็ดบริโภาคได้ 21 ชนิด คือเห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) เห็ดโคน (*Termitomyces fuliginosus*) เห็ดระโงกเหลือง (*Amanita vaginata*) เห็ดยานางหิ (*Agrocybe cylindacea*) เห็ดตับเต่า (*Boletus edulis*) เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เห็ดตะไคล (*Russula delica*) เห็ดขอนขาว (*Clitocybe sp.*) เห็ดหอม (*Lentinus edodes*) เห็ดนางรมทอง (*Pleurotus citrinopileatus*) เห็ดนางรมขาว (*Pleurotus cornucopiae*) เห็ดเป่าอื้อ (*Pleurotus cystidiosus*) เห็ดนางรมภูฐาน (*Pleurotus eous*) เห็ดนางนวล (*Pleurotus flabellatus*) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor caju*) เห็ดตีนแรด (*Tricholoma crassum*) เห็ดขม้น้อย (*Craterellus sp.*) เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) เห็ดหูหนูขนาดอกน้ำตาล (*Auricularia polytricha*) และเห็ดเผาะบรรจุกระป๋อง (canned, *Astreaus sp.*) ถูกนำมาศึกษาในหลอดทดลอง ถึงการปรากฏของสารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทริพซิน (TI) โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ p-nitroaniline ที่ปลดปล่อยออกมาจากสารตั้งต้น N-benzoyl-DL-arginin-p-nitroanilide (BAPA) ที่ถูกย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ทริพซิน ผลการทดลองพบเห็ดเพียง 3 ชนิด คือเห็ดโคน เห็ดฟาง และเห็ดตีนแรด เท่านั้น ที่ปรากฏสารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทริพซิน

อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซินในเห็ดฟาง แม้จะมีค่า 9.67 TVI ต่อมิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง และมีค่าสูงกว่าเห็ดทั้งสองชนิด แต่ก็ยังนับว่ามีค่าต่ำกว่า สารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซิน ในถั่วเหลืองมาก

ในการทดสอบ ผลของความร้อนต่อการทำลายสารยับยั้งกิจกรรม ของเอ็นไซม์ ทรีพซิน ในเห็ดสกัด สารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซิน จากเห็ดฟาง มีความไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนมากกว่าสารยับยั้งจากถั่วเหลือง ความร้อนที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ เหลือเพียง ร้อยละ 23.68 สารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซินจาก เห็ดฟาง เห็ดตีนแรด เห็ดโคน และถั่วเหลือง จะถูกทำลาย เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 121 ° ซ ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 30 นาที เป็นที่น่าสนใจว่าสารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซิน จากเห็ดโคน และเห็ดตีนแรด มีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมการยับยั้งใกล้เคียงกัน

สารสกัดจากเห็ดทุกชนิดเมื่อทำปฏิกิริยา nitrosation กับเกลือไนไตรท์ ที่ pH 3.0-3.5 อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะเกิดสารประกอบไนโตรโซ โดยคำนวณเทียบสมมูลเป็นปริมาณไนโตรโซมอร์โฟลีน (NMOR) มีค่าระหว่าง 0.66-59.09 มิลลิกรัม ต่อกกรัมน้ำหนักเห็ดสด ปริมาณสมมูลไนโตรโซมอร์โฟลีนสูงสุดพบในเห็ดหลินจือ และต่ำสุดพบในเห็ดหูหนูขนาดออกน้ำตาล

ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในเห็ด 12 ชนิด มีค่าต่ำระหว่าง 0.40-2.64 ไมโครโมล ต่อกกรัมน้ำหนักเห็ดสด และ 3.48-45.50 นาโนโมล ต่อกกรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ

ผลการศึกษาแสดงว่า มีเห็ดเพียงบางชนิดเท่านั้น ที่ปรากฏสารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซิน แต่เห็ดทุกชนิด มีสารก่อให้เกิดสารประกอบไนโตรโซ ได้ทั้งสิ้น เมื่อทำปฏิกิริยา nitrosation ที่สภาวะกรด ดังนั้นการบริโภคเห็ดสุก และหลีกเลี่ยงอาหารอื่นที่ใช้ไนไตรท์เป็นสารกันเสีย ย่อมช่วยให้ผู้บริโภคปลอดภัยจากการรับสารยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ทรีพซิน และการเกิดสารประกอบไนโตรโซได้

Thesis Title Trypsin Inhibiting Effect and
Possible Formation of Nitroso Compound
of Conventional Thai Mushrooms.

Name Naranin Markman

Degree Master of Science (Environmental Biology)

Thesis Supervisory Committee

 Preecha Klingsorn, Ph.D.
 Kaew Kangsadalampai, Ph.D.

Date of Graduation 12 May B.E. 2535 (1992)

Abstract

The extracts of twenty one edible mushrooms namely, *Agaricus bisporus* (Lang) Sing (เห็ดกระดุม), *Termitomyces fuliginosus* (Heim) (เห็ดโคน), *Amanita vaginata* (Fr.) (เห็ดขิงกลิ้ง), *Agrocybe cylindacea* Quel var *fulva* Gill (เห็ดขานาหัง), *Boletus edulis* (Bull.) (เห็ดตับเต่า), *Volvariella volvacea* (เห็ดฟาง), *Russula delica* (Fr.) (เห็ดตะไคล), *Clitocybe* sp. (เห็ดขอนขาว), *Lentinus edodes* (เห็ดหอม), *Pleurotus citrinopileatus* (Vass.) Sing (เห็ดนางรมทอง), *Pleurotus cornucopiae* (Pers) Rolland (เห็ดนางรมขาว), *Pleurotus cystidiosus* (เห็ดเป่าอื้อ), *Pleurotus eous* (เห็ดนางรมภูฐาน), *Pleurotus flabellatus* (เห็ดนางรวล), *Pleurotus sajor caju* (Fr.) Sing (เห็ดนางฟ้า), *Tricholoma crassum* (Bert.) Sacc (เห็ดตีนแรด), *Craterellus* sp. (เห็ดขม้น้อย), *Ganoderma lucidum* (เห็ดหลินจือ), *Schizophyllum commune* (เห็ดแครง), *Auricularia polytricha* (เห็ดหูหนูขนาดอกน้ำตาล) and canned *Astreaus* sp. (เห็ดเผาะ) were studied on the apparent

in vitro trypsin inhibitor (TI) activity. The determination on p-nitroaniline after hydrolysis of substrate, N-benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride (BAPA) with trypsin was performed. The results showed that only three mushroom species of *Termitomyces fuliginosus* (เห็ดโคน) *Volvariella volvacea* (เห็ดฟาง) and *Tricholoma crassum* (เห็ดตีนแมว) had antitryptic activity. However, TI presence in *Volvariella volvacea* (เห็ดฟาง) was 9.67 TUI/mg dry wt which provided higher activity than that of the other two mushrooms with very low activity compared with soybean trypsin inhibitor (SBTI).

The effects of heat treatment on the destruction of TI in the aqueous extracts of mushroom were studied. TI of *Volvariella volvacea* (เห็ดฟาง) was more thermostable than the inhibitors of soybean. The inhibitory activity remained 23.68% after heated at 37°C for 24 hours. The TI of *Volvariella volvacea* (เห็ดฟาง), *Termitomyces fuliginosus* (เห็ดโคน), *Tricholoma crassum* (เห็ดตีนแมว) and soybean were almost completely destroyed after autoclaved at 121°C, 15 lb/in² for 30 minutes. Interestingly, destruction pattern of trypsin inhibitor activities of *Termitomyces fuliginosus* (เห็ดโคน) and *Tricholoma crassum* (เห็ดตีนแมว) were nearly the same.

All mushroom extracts produced considerable amount of N-nitroso compound (calculated as N-nitroso morpholine (NMOR)) after being nitrosated with exogeneous

nitrite at pH 3.0-3.5 and 37°C for 4 hours. The range were between 0.66 to 59.09 nmol/gram wet wt whereas the highest amount was found in the extract of *Ganoderma lucidum* (เห็ดหลินจือ) and the lowest of *Auricularia polytricha* (เห็ดหูหนูขนาดอกน้ำตาล).

The nitrate and nitrite contents in twelve mushrooms were 0.40-2.64 μ mol/gram wet wt and 3.48-45.50 nmol/gram wet wt, respectively.

The results from concomitant study demonstrated that some mushrooms had antitryptic activities. All species contained possible N-nitroso compound precursors after nitrosated in acidic condition. Therefore, the consumption of cooked mushroom and with an avoidance of nitrite-cured food might be good to health.