

# ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับสกัดโปรตีนในเมล็ดพืชไร่ในการบ่งชี้ความบริสุทธิ์และพันธุ์ของพืชไร่โดยใช้เทคนิค Ultra-thin Layer Isoelectric Focusing Appropriate Solvent for the Extraction of Seed Protein Indicating Purity and Variety of Certain Field Crop Using Ultra-thin Layer Isoelectric Focusing

ธัญมาศ นิยมญาติ<sup>1</sup>, นงลักษณ์ เทียนเสรี<sup>1</sup> และ สอนิชัย จันทร์เปรม<sup>1\*</sup>  
*Tanyamart Niyomyart<sup>1</sup>, Nongluk Teinseree<sup>1</sup> and Sontichai Chanprame<sup>1\*</sup>*

## ABSTRACT

The newly developed Ultra-thin Layer Isoelectric Focusing Technique has become popular for the analysis of seed protein specifically indicating purity and variety of field crops. However, the most appropriate solvent for the extraction of seed proteins is essential and needs to be identified. The objective of this research was to find out the most appropriate solvent for protein extraction of from the seeds of sunflower, groundnut and sesame varieties. Three different solvents, water, 4 M urea and 3.8 mM phosphate buffer, were tested. The extracted seed storage protein was separated in polyacrylamide gel with a pH-gradient of the matrix ranges from 2-9 at 8°C with 2500 v. The results indicated that water was the most suitable solvent for seed storage protein extraction and identification in sunflower. In groundnut, all three tested solvents did not show any differences in protein extraction from the seeds of 6 varieties tested. In sesame, water was the most suitable solvent for seed storage protein extraction. For hybrid seed purity testing, water was the most suitable solvent for seed storage protein extraction and identification in sunflower and sesame. It was also found that at least 6 seeds of sesame were needed for protein extraction and varietal identification.

**Key words:** seed storage protein, seed purity test, isoelectric point, variety test, solvent

## บทคัดย่อ

ได้ทดลองแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน 4 พันธุ์ ถั่วลิสง 6 พันธุ์ และงา 2 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค ultrathin-layer isoelectric focusing (UTLIEF) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบความบริสุทธิ์และชนิดของเมล็ดพันธุ์ พืชไร่เศรษฐกิจบางชนิด ใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ น้ำ

---

<sup>1</sup>ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140, Thailand.

\*Corresponding author : Tel.0-3435-1887, Fax. 0-3428-1266, E-mail address: [agrstc@ku.ac.th](mailto:agrstc@ku.ac.th)

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 3.8 มิลลิโมลาร์ และยูเรียความเข้มข้น 4 โมลาร์ แล้วนำมาแยกแอมโปรตีนด้วยเทคนิค UTALIEF โดยใช้เจล pH 2-9 อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ความต่างศักย์ไฟฟ้า 2500 โวลต์ พบว่าในเมล็ดทานตะวัน น้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำไปใช้ในการสกัดและแยกโปรตีน ในเมล็ดถั่วลิสง นั้นพบว่าตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ได้ ในเมล็ดงาพบว่า น้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำไปใช้ในการสกัดโปรตีนและแยกสายพันธุ์ เมื่อตรวจสอบความเป็นลักษณะของเมล็ดพันธุ์ พบว่า น้ำเป็นตัวทำละลายที่มีความเหมาะสมที่ใช้ในการสกัดโปรตีนและตรวจสอบในเมล็ดทานตะวันและเมล็ดงา และเมื่อทดสอบจำนวนเมล็ดงาที่ต้องใช้ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ พบว่าต้องใช้เมล็ดงาอย่างน้อยที่สุด 6 เมล็ด จึงจะเพียงพอสำหรับการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์

**คำสำคัญ:** โปรตีนสะสมในเมล็ด การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ด isoelectric การตรวจสอบพันธุ์  
ตัวทำละลาย