บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

1. สารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางกล้วย

1.1 ปริมาณสารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางกล้วย แต่ละต้นในสภาพแวดล้อมเดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน

1.2 ในขั้นตอนการตกตะกอนน้ำยางกล้วย ไม่สามารถตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต แต่สามารถใช้เอทธานอล 95% ตกตะกอน โดยพบว่าส่วนใสเป็นส่วนที่มีกิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส ในขณะที่ส่วนตะกอนไม่มีกิจกรรมการยับยั้ง

1.3 สารยับยั้งอะไมเลสไม่แสดงรูปแบบโปรตีนใน Native-PAGE

1.4 สารยับยั้งอะไมเลสมีลักษณะเฉพาะตัวดังนี้

- เกิดปฏิกิริยากับ ferric chloride ให้สีม่วง
- เกิดปฏิกิริยากับ sodium hydrogencarbonate ให้ฟองก๊าซ
- เกิดปฏิกิริยากับสารละลายโฟลินในขั้นตอนการหาปริมาณฟีโนลิค
- มีรูปแบบสเปคตรัมแบบ Bathochromic shift เมื่อเติมด่างในสารละลาย
- มีหมู่ฟังก์ชันนัล benzene ring, O-H, C=C, C-C, C-H และ C-O เมื่อศึกษาด้วยรังสีอินฟราเรด
- มีค่าการการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ใน TLC ใกล้เคียงกับ gallic acid

1.5 สารยับยั้งอะไมเลสน่าจะเป็นสารประกอบฟีโนลิคที่มีหน่วยย่อยเป็น gallic acid

2. สารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางมะละกอ

2.1 ปริมาณสารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางมะละกอ แต่ละต้นในสภาพแวดล้อมเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกัน

2.2 สารยับยั้งที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75 มีความบริสุทธิ์ขึ้น 1.66 เท่าของสารสกัดเริ่มต้น และได้ผลผลิต(yield) 55.51 %

2.3 สามารถตรวจกิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสใน Starch-PAGE เมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีนจะได้แถบสีน้ำเงิน ที่มีขนาดประมาณ 60 kDa

2.4 สารยับยั้งอะไมเลสที่บริสุทธิ์มีแถบโปรตีนแถบเดียวใน Native-PAGE แต่มี 3และ 2 แถบ ใน SDS-PAGE สำหรับตัวอย่างที่ผสมและไม่ผสม mercaptoethanol ตามลำดับแสดงว่าหน่วยย่อย ของโปรตีน AI มีพันธะ disulfide ในการยึดจับกัน

2.5 สารยับยั้งอะไมเลสน่าจะเป็นไกลโคโปรตีน เนื่องจากเคลื่อนที่ในคอลัมน์ Sephadex ได้ช้า ทำให้การคำนวณขนาดโมเลกุลของโปรตีนด้วยวิธี Gel filtration จากคอลัมน์ Sephadex G-75 ได้เพียง 24,380 Da ซึ่งเล็กกว่าน้ำหนักโมเลกุลรวมที่หาจาก SDS-PAGE คือ 55,295 Da ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย ขนาด 23,857 Da 16,723 Da และ 14,715 Da

3. สารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางพารา (C-serum)

3.1 ปริมาณสารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางพารา (C-serum) แต่ละต้นในสภาพแวดล้อมเดียวกันมีค่าไม่แตกต่างกันใน 3 ต้น จาก 4 ต้นที่เก็บตัวอย่าง

3.2 สารยับยั้งที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-25 มีความบริสุทธิ์ขึ้น 31.38 เท่า ของสารสกัดเริ่มต้น และได้ผลผลิต 22.75 %

3.3 สารยับยั้งอะไมเลสที่บริสุทธิ์มีแถบโปรตีนเพียงแถบเดียวใน Native-PAGE และ SDS-PAGE ทั้งตัวอย่างที่ผสมและไม่ผสม mercaptoethanol แสดงว่าไม่มีพันธะ disulfide

3.4 สารยับยั้งอะไมเลสน่าจะเป็นไกลโคโปรตีนเนื่องจากเคลื่อนที่ในคอลัมน์ Sephadex ได้ช้า ทำให้การคำนวณขนาดโมเลกุลของโปรตีนด้วยวิธี Gel filtration จากคอลัมน์ Sephadex G-75 ได้เพียง 1,200 Da ซึ่งเล็กกว่าน้ำหนักโมเลกุลรวมที่หาจาก SDS-PAGE คือ 366,990 Da ประกอบด้วย 6 หน่วยย่อย ขนาด 61,165 Da

4. เปรียบเทียบขนาดโมเลกุลของสารยับยั้งอะไมเลสในตัวอย่างกับโปรตีนยับยั้งอะไมเลสที่ก่อภูมิแพ้ในข้าวสาลี

โปรตีนก่อภูมิแพ้ในข้าวสาลีมีขนาด 13 ถึง 16 kDa ใกล้เคียงกับสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอ ที่มีขนาด 24 Da 17Da และ 15 Da แต่มีขนาดเล็กกว่าสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพารา ที่มีขนาด 61 kDa

5. ข้อเสนอแนะ

5.1 การทำบริสุทธิ์น้ำยางมะละกอ และน้ำยางพารา เพื่อศึกษาวิจัยถึงคุณสมบัติต่างๆของ AI ควรใช้ระบบการจำแนกแบบอื่นที่มีศักยภาพในการจำแนกได้ชัดเจน และเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนที่มากขึ้นกว่านี้

5.2 น้ำยางกล้วยควรมีการศึกษาเพิ่มเติมว่า AI เป็นสารประกอบฟีโนลิค กลุ่มใดที่แน่ชัด

5.3 โปรตีน AI จากน้ำยางมะละกอ และน้ำยางพารา ควรทำการศึกษาลำดับกรดอะมิโน คุณสมบัติทางชีวเคมีต่างๆต่อไป เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับ AI จากพืชอื่นๆที่มีรายงานไว้แล้ว ตลอดจนเพื่อประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้งานด้านอาหาร การเกษตร หรืออุตสาหกรรมต่อไป