

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(10)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(12)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	15
2 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	16
สารเคมี	16
อุปกรณ์	17
วิธีการทดลอง	18
3 ผลการทดลอง	40
4 วิเคราะห์ผลการทดลอง	81
5 สรุปและข้อเสนอแนะ	89
บรรณานุกรม	92
ภาคผนวก	100
ประวัติผู้เขียน	109

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. กลุ่มโปรตีนยับยั้งที่พบในพืชชั้นสูง	4
2. Pathogenesis related protein (PRs) ที่พบในพืชชั้นสูง	11
3. Non pathogenesis related protein (non-PRs) ที่พบในพืชชั้นสูง	12
4. กิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของส่วนใบที่ได้จากการตกตะกอนสารสกัดน้ำยางกล้วยด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	41
5. เปรียบเทียบกิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอที่เก็บผสมสารต่าง ๆ	53
6. กิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของตะกอนโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ร้อยละความอิ่มตัวต่าง ๆ	54
7. ผลการทำริสุทรีซ์ขั้นตอนต่าง ๆ ของสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอ	57
8. เปรียบเทียบวิธีการเตรียมน้ำยางพาราทั้ง 3 วิธี	66
9. กิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของตะกอนโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ร้อยละความอิ่มตัวต่าง ๆ	67
10. ผลการทำริสุทรีซ์ขั้นตอนต่าง ๆ ของสารยับยั้งอะไมเลสจาก C-serum ของน้ำยางพารา	70
11. เปรียบเทียบปริมาณตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งอะไมเลสที่ 50 % (IC ₅₀)	87
12. แสดงขนาดโมเลกุลสารยับยั้งอะไมเลสที่ก่อกัมแพ้ในข้าวสาลีและบาร์เลย์	88

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1. แสดงการเก็บตัวอย่างน้ำยางกล้วยเพื่อใช้ศึกษา	18
2. กราฟแสดงการหาความเข้มข้นของสารยับยั้งอะไมเลสที่ให้ค่าการยับยั้ง 50% (IC ₅₀) และปริมาณโปรตีนของสารยับยั้งอะไมเลสที่ IC ₅₀	20
3. แสดงการเก็บน้ำยางมะละกอเพื่อนำน้ำยางไปศึกษา	30
4. แสดงการเก็บตัวอย่างน้ำยางพาราเพื่อใช้ศึกษา	34
5. การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางกล้วยโดยคอลัมน์ Sephadex G-75	44
6. การหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสจาก น้ำยางกล้วย ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75	45
7. แสดงแบบแผนโปรตีนในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ (Native-PAGE) ที่ 10% เจล ของชั้นตอนต่าง ๆ ในการทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางกล้วย	46
8. แสดงการเกิดปฏิกิริยากับสารละลาย FeCl ₃ และ NaHCO ₃ ของสารตัวอย่างและ สารมาตรฐาน gallic acid และ tannin	47
9. แสดงรูปแบบการดูดกลืนแสงของตัวอย่างในช่วงความยาวคลื่น 200 – 500 นาโนเมตร	48
10. อินฟราเรดสเปกตรัมของตัวอย่าง B _{G-75} และ สารสกัดไฮโดรไลสของ B _{G-75} hydrolysate จากน้ำยางกล้วยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid และ tannin ที่ช่วงความยาวคลื่น 400 – 4000 ซม ⁻¹	50
11. การจำแนกสารตัวอย่าง B _{G-75} hydrolysate โดยวิธี TLC	52
12. การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอโดยคอลัมน์ Sephadex G-75	58
13. การหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสจาก น้ำยางมะละกอ ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75	59
14. กราฟมาตรฐานน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอ ที่ผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75	60
15. แบบแผนโปรตีนในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ (Native-PAGE) ที่ 10% เจล ของชั้นตอนต่างๆในการทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจาก น้ำยางมะละกอ	62

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
16. แบบแผนโปรตีนใน โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ (Native-PAGE) และแบบ Starch-PAGE	63
17. แบบแผนโปรตีนของสารยับยั้งอะไมเลส (AI) จากน้ำยางมะละกอ ในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบแปลงสภาพที่ความเข้มข้นเจล 14-17 %	64
18. กราฟมาตรฐานการหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอ โดยโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบแปลงสภาพที่ความเข้มข้นเจล 14-17 %	65
19. การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพาราโดยคอลัมน์ Sephadex G-75	71
20. การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพาราโดยคอลัมน์ Sephadex G-25	72
21. การหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสจาก C-serum ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75	73
22. กราฟมาตรฐานน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสจาก C-serum ที่ผ่านคอลัมน์Sephadex G-75	74
23. แบบแผนโปรตีนใน โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ (Native-PAGE) ที่ 10% เจล ของชั้นตอนต่าง ๆ ในการทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพารา	75
24. แบบแผนโปรตีนใน โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ และแบบ Starch-PAGE ของสารละลาย C _{G-25}	76
25. แบบแผนโปรตีนของสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพาราในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ ที่ 10% เจล	78
26. แบบแผนโปรตีนของสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพาราในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบแปลงและไม่แปลงสภาพ	79
27. กราฟมาตรฐานน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสโดยโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบแปลงสภาพที่ความเข้มข้นเจล 14-17 %	80
28. แสดงการแยกชั้นของน้ำยางพาราหลังจากเซนตริฟิวจ์	85

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

AD	= Atopic dermatitis
AI	= Amylase inhibitor
°C	= Degree Celcius
CM protein	= Chloroform/methanol soluble protein
EDTA	= Ethylenediaminetetra-acetic acid
g	= Gram
HeV	= Hevein
HPLC	= High performance liquid chromatography
HWM	= High molecular weight
K_{av}	= Distribution coefficient
kDa	= Kilodalton
LWM	= Low molecular weight
M	= Molar
MMTS	= Methyl methanethio sulfonate
mg	= Milligram
min	= Minute
mL	= Millilitre
mM	= Millimolar
MS	= Mass spectrometer
NMR	= Nuclear magnetic resonance
PAGE	= Polyacrylamide gel electropgoresis
PBS	= Phosphate buffer saline
pH	= - Log hydrogen ion concentration
PRs	= Pathogenesis related protein
R_f	= Relative mobility
SDS	= Sodium dodecyl sulphate

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ (ต่อ)

TEMED	= N',N',N',N'-tetramethylethylenediamine
TLC	= Thin layer chromatography
Tris	= Tris (hydroxymethyl) aminomethane
v/v	= ปริมาตรโดยปริมาตร
w/v	= น้ำหนักโดยปริมาตร
µg	= Microgram
µL	= Microlitre
%	= percent
ชม.	= ชั่วโมง
ซม.	= เซนติเมตร
°ซ	= องศาเซลเซียส
มก.	= มิลลิกรัม
มล.	= มิลลิลิตร