

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(13)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	22
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	23
วัสดุ	23
อุปกรณ์	25
วิธีการ	27
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	52
4. สรุป	100
เอกสารอ้างอิง	102
ภาคผนวก	110
ประวัติผู้เขียน	113

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	โครงสร้างกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ของ AI ตามแหล่งต่างๆ	4
2	ข้อมูลการซื้อตัวอย่างเมล็ดเนียงนก	27
3	ขั้นตอนการหากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของสารตัวอย่าง	28
4	ผลของร้อยละความอิ่มตัวผลึกแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่ากิจกรรมการยับยั้ง และค่าการยับยั้งจำเพาะของสารยับยั้งอะไมเลส	67
5	การเปรียบเทียบเวลาในการไดอะไลซ์แอมโมเนียมซัลเฟตออกจากโปรตีน	67
6	ผลการสกัดและทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากเมล็ดเนียงนก 100 กรัม ในขั้นตอนต่างๆ	71
7	ค่ากิจกรรมการยับยั้งและค่ากิจกรรมการยับยั้งจำเพาะของอะไมเลสที่สกัดจากมอดแป้งสาลี และด้วงถั่วเขียว	97
8	ร้อยละการยับยั้งของสารยับยั้งจากแหล่งต่างๆ ในการยับยั้งอะไมเลสที่สกัดจากมอดแป้งสาลี และถั่วเขียว	97
A.1	ส่วนประกอบของเจล (7%) ดัดแปลงวิธีจาก Davis (1964)	110
A.2	ส่วนประกอบของเจล (4-10%) ดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970)	111
A.3	ส่วนประกอบของเจล Starch-PAGE (10%) ดัดแปลงวิธีจาก Davis (1964)	112

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของเมล็ดและฝักของเนียงนก	21
2	กราฟระหว่าง log ความเข้มข้นสารตัวอย่าง กับร้อยละการยับยั้งอะไมเลส	31
3	ไดอะแกรมการทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากเมล็ดเนียงนกในขั้นตอนต่างๆ	40
4	ร้อยละการยับยั้งอะไมเลส ของสารสกัดตัวอย่าง ที่ค่า log ความเข้มข้น (กรัม/มล.) ของสารสกัด (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ)	54
5	กราฟแท่งเปรียบเทียบค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส/มิลลิกรัม ตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งร้อยละ 50 ของตัวอย่างรุ่นต่างๆ	57
6	ร้อยละการยับยั้งอะไมเลสของสารสกัดตัวอย่างรุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 3 กับค่า Log 10 ความเข้มข้นสารสกัดต่างๆ ตลอด 3 เดือน	60
7	กราฟเปรียบเทียบค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส/มิลลิกรัมตัวอย่าง และมิลลิกรัมโปรตีน / มิลลิกรัมตัวอย่าง ที่ให้ค่าการยับยั้งร้อยละ 50 ของตัวอย่างสารสกัดของ รุ่น 1 และรุ่น 3 ตลอด 3 เดือน	61
8	กราฟร้อยละการยับยั้งอะไมเลส กับค่า Log 10 ความเข้มข้นสารสกัดต่างๆ ตลอด 3 เดือน ของสารสกัด กับสารสกัดจากเมล็ดในวันทดลอง	64
9	กราฟแท่งเปรียบเทียบค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส / มิลลิกรัม ตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งร้อยละ 50 ของตัวอย่างรุ่น 3 (เมล็ด) ตลอด 3 เดือน	65

10	การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลส โดยคอลัมน์ CM-cellulose	72
11	การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลส โดยคอลัมน์ Sephadex G-75	73
12	การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลส โดยคอลัมน์ Hydroxyapatite	74
13	แบบแผนโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ ที่ 7% เจล	78
14	แบบแผนโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบแปลงสภาพที่ 4-10% เจล	79
15	แบบแผนการตรวจกิจกรรมสารยับยั้งอะไมเลสด้วยโพลีอะคริลาไมด์ เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ Starch-PAGE ที่ 10% เจล	80
16	การหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสที่ผ่านการทำ บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ CM-cellulose โดยคอลัมน์ Sephadex G-75	83
17	การหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสที่ผ่านการทำ บริสุทธิ์จากคอลัมน์ CM-cellulose โดยคอลัมน์ Sephadex G-75 จากกราฟมาตรฐาน	84
18	การหาน้ำหนักโมเลกุลรวมของสารยับยั้งอะไมเลสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ จากคอลัมน์ Hydroxyapatite โดยโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส แบบ ไม่แปลงสภาพที่ 7% เจลจากกราฟมาตรฐาน	85
19	การหาน้ำหนักโมเลกุลย่อยของสารยับยั้งอะไมเลสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ จากคอลัมน์ Hydroxyapatite โดยโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส แบบแปลงสภาพที่ 4-10% เจล จากกราฟมาตรฐาน	86
20	ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บสารยับยั้งอะไมเลสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์แล้ว นาน 1 สัปดาห์	89
21	ผลของอุณหภูมิต่อค่ากิจกรรมการยับยั้งของสารยับยั้งอะไมเลสของ สารสกัด และสารยับยั้งอะไมเลสที่ทำบริสุทธิ์แล้ว	90

- 22 ผลของ pH ต่อค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของสารสกัด และสารยับยั้งอะไมเลสที่ทำบริสุทธิ์แล้ว โดยทดสอบที่ pH ต่างๆ คือ 5.0, 6.0, 6.8, 7.0, 8.0 และ 9.0 93
- 23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $1/V$ ที่เวลา 3 นาที และ $1/S$ กับผลความเข้มข้นของสารยับยั้งอะไมเลสที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสบริสุทธิ์จากเมล็ดเนียงนก 94
- 24 แสดงผลการทดสอบความสามารถของสารสกัดเมล็ดเนียงนก, สารยับยั้งที่ทำบริสุทธิ์จากเมล็ดเนียงนก, สารสกัดเมล็ดถั่วแดง และ สารยับยั้งที่ทำบริสุทธิ์จากเมล็ดถั่วแดง ในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากมอดแบ่งสาลี 98
- 25 แสดงผลการทดสอบความสามารถของสารสกัดเมล็ดเนียงนก, สารยับยั้งที่ทำบริสุทธิ์จากเมล็ดเนียงนก, สารสกัดเมล็ดถั่วแดง และ สารยับยั้งที่ทำบริสุทธิ์จากเมล็ดถั่วแดง ในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากด้วงถั่วเขียว 99

ตัวย่อและสัญลักษณ์

ชม.	=	ชั่วโมง
°ศ	=	องศาเซลเซียส
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
A	=	absorbance
BSA	=	bovine serum albumin
°C	=	degree Celcius
CM-cellulose	=	carboxymethyl-cellulose
kDa	=	kilodalton
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
g	=	gram
HMW	=	high molecular weight
K_{av}	=	distribution coefficient
K_m	=	Michaelis-Constant
LMW	=	low molecular weight
M	=	molar
M.W.	=	molecular weight
mA	=	milliampere
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	millilitre
mM	=	millimolar
M_r	=	apparent molecular weight

nm	=	nanometer
ND-PAGE	=	non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis
O.D.	=	optical density
PAGE	=	polyacrylamide gel electrophoresis
PBS	=	phosphate buffer saline
PMSF	=	phenylmethylsulfonyl fluoride
PPE	=	partially purified enzyme
pH	=	-log hydrogen ion concentration
pI	=	isoelectric pH
R_f	=	relative mobility
SDS	=	sodium dodecyl sulphate
SDS-PAGE	=	sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis
TBS	=	tris buffer saline
TCA	=	trichloroacetic acid
TEMED	=	N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine
Tris	=	tris (hydroxymethyl) aminomethane
V_{max}	=	maximum velocity
μg	=	microgram
μl	=	microlitre
μmole	=	micromole
%	=	percent
α	=	alpha
β	=	beta
v/v	=	โดยปริมาตร
w/v	=	น้ำหนักโดยปริมาตร