บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

ส่วนที่ 1 น้ำยางกล้วย

จากการเปรียบเทียบกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำยางกล้วยทั้ง 4 ต้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ากล้วยแต่ละต้นสร้างน้ำยางซึ่งมีสารยับยั้งอะไมเลสในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะต้นกล้วยดังกล่าวปลูกในสภาพแวดล้อมเดียวกัน แต่หากเก็บน้ำยางกล้วยที่อยู่ในสภาพแวดล้อมต่างกันปริมาณสารยับยั้งอาจแปรผันไปได้ นอกจากนี้ฤดูกาลยังมีผลต่อปริมาณสารยับยั้งอะไมเลสอีกด้วย เพราะในฤดูฝนสามารถเก็บน้ำยาง กล้วยได้มาก ได้น้ำยางค่อนข้างใสและเหลว ปริมาณสารยับยั้งอะไมเลสที่ได้ (ค่าการยับยั้งประมาณ ร้อยละ 30) น้อยกว่าน้ำยางกล้วยที่เก็บในฤดูแล้ง (ค่าการยับยั้งประมาณร้อยละ 100)

เมื่อนำน้ำยางกล้วยมาตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าไม่เกิดตะกอนขึ้น ทั้งที่มีปริมาณโปรตีนมาก เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Lowry ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในน้ำยางกล้วยมีสารรบกวนการเกิดสีของปฏิกิริยาจากสารละลาย Folin phenol reagent จากการศึกษาของ Smith (1982) พบว่าสารรบกวนดังกล่าวส่วนมากจะเป็นสารประกอบฟีโนลิค ดังนั้นในน้ำยางกล้วยที่ศึกษาอาจมีปริมาณสารประกอบฟีโนลิคอยู่มาก แต่มีปริมาณโปรตีนอยู่น้อย ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Valderrama (2006) ที่รายงานว่าในกล้วยประกอบด้วย tannin สารประกอบฟีโนลิค ปริมาณมาก แต่จะมีเส้นใยและโปรตีนในปริมาณน้อย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า tannin สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสได้ (Kandra และคณะ 2004; Correia และคณะ 2004; McCue และคณะ 2004; Ali และคณะ 2006) เมื่อไม่สามารถตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตจึงใช้เอทธานอลตกตะกอนแทน พบว่าตะกอนที่เกิดขึ้นไม่มีกิจกรรมการยับยั้ง แต่พบกิจกรรมการยับยั้งอยู่ในส่วนใสแทน จึงนำส่วนใสมาทำบริสุทธิ์ต่อไป

การสกัดสารประกอบฟีโนลิคจากพืช มีรายงานการใช้เอทธานอลในการสกัด โดย Nawaz และคณะ (2006) ที่ใช้เอทธานอลสกัดสารประกอบฟีโนลิคจากเมล็ดองุ่น

ในขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ทำโดยนำส่วนใสจากน้ำยางกล้วยที่ตกตะกอนด้วยเอทธานอลมาผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 พบว่าสารยับยั้งอะไมเลสมีปริมาตรชะเท่ากับ blue dextran (66 มล.) ซึ่งแสดงว่าสารยับยั้งมีขนาดใหญ่กว่าความสามารถในการแยกของคอลัมน์ Sephadex G-75 คือมีขนาดใหญ่กว่า 70 kDa เมื่อนำสารยับยั้งที่ผ่านคอลัมน์ดังกล่าวมาตรวจสอบความบริสุทธิ์

ด้วย Native –PAGE หลังย้อมเจลด้วยซิลเวอร์ ไม่พบแถบโปรตีน แต่ปรากฏแถบสีน้ำตาลขึ้นแทน ซึ่งลักษณะดังกล่าวไม่ใช่สารที่เป็นโปรตีน (http://www.Users.Muohio.Edu/hagermae/tannin.pdf) ดัง นั้นการศึกษาต่อไปจึงเน้นถึงสารยับยั้งอะไมเลสที่ไม่เป็นโปรตีน

การทดสอบตัวอย่าง B_{G-75} และสารสกัดอีเทอร์ของ B_{G-75} hydrolysate กับ ferric chloride พบว่าเกิดผลบวกกับตัวอย่างทั้งสอง คือสารละลายตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน-ดำ และม่วง ตามลำดับ สีที่เกิดขึ้นเป็นสารเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบฟีโนลิคและ ferric ion เกิดสารที่มีสีเฉพาะขึ้นดังกล่าว (Banerjee และ Haldar 1950) สารตัวอย่าง B_{G-75} และสารสกัดอีเทอร์ของ B_{G-75} hydrolysate ยังเกิดปฏิกิริยากับ $NaHCO_3$ ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสนับสนุนการมีหมู่ –COOH ในตัวอย่าง

เมื่อนำตัวอย่าง B_{G-75} และสารสกัดอีเทอร์ของ B_{G-75} hydrolysate ไปทดสอบการดูดกลืนแสง พบว่าสามารถดูดกลืนแสงในช่วง UV ได้ดี ดังนั้นสารตัวอย่างทั้งสองอาจมีโครงสร้าง aromatic เป็นองค์ประกอบ และเมื่อเติม 6 M NaOH ในตัวอย่างจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสเปคตรัมเป็นแบบ Bathochromic shift ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบพวกฟีโนลิค (Harborne 1973)

ผลการศึกษาหมู่ฟังก์ชันนัลด้วยรังสีอินฟราเรดพบว่าตัวอย่าง B_{G-75} และสารสกัดอีเทอร์ของ B_{G-75} hydrolysate มีหมู่ benzene ring ที่มีหมู่แทนที่ (1600-2000 ซม$^{-1}$), O-H stretching (3200-3400 ซม$^{-1}$), C=C stretching (1500-1600 ซม$^{-1}$), C-C stretching (1450, 1500, 1580 และ 1600 ซม$^{-1}$), C-H bending (700-880 ซม$^{-1}$), และ C-O stretching (1230 และ 1310-1410 ซม$^{-1}$) ตามลำดับ ซึ่งหมู่ฟังก์ชันนัลในช่วงคลื่นที่ตรวจพบดังกล่าว เป็นองค์ประกอบโครงสร้างของสารกลุ่มฟีโนลิคโดยทั่วไป

พีคของตัวอย่าง B_{G-75} มีปริมาณค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับพีคของตัวอย่างสารสกัดอีเทอร์ของ B_{G-75} hydrolysate อาจเป็นเพราะตัวอย่าง B_{G-75} ยังไม่ถูกย่อยด้วย 2M HCl ดังนั้นด้วยโครงสร้างที่ซับซ้อนจึงแสดงรายละเอียดของหมู่ฟังก์ชันนัล องค์ประกอบได้ไม่ชัดเจน

จากการแยกสารสกัดอีเทอร์ของ B_{G-75} hydrolysate ด้วยวิธี TLC หลังจากพ่นสารละลายโฟลินพบ จุดการเคลื่อนที่ของตัวอย่างในระบบที่ 1 ที่มีค่า R_f = 0.05 และในระบบที่ 2 มีค่า R_f = 0.15 ซึ่งค่าดังกล่าวสอดคล้องกับจุดการเคลื่อนที่ของ gallic acid ที่มีค่า R_f ในระบบที่ 1 = 0.05 และในระบบที่ 2 = 0.20 ตามลำดับ หลังจากนำแผ่น TLC ไปอังไอแอมโมเนีย พบว่าปรากฏจุดการเคลื่อนที่เพิ่มอีก 1 จุด มีค่า R_f = 0.3 ซึ่งไม่ตรงกับสารมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ

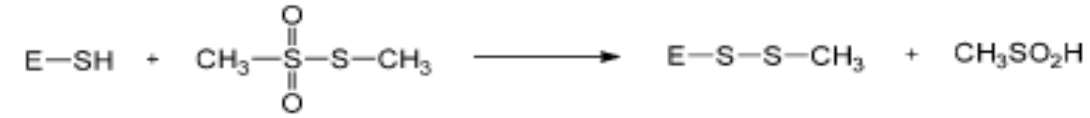
จากผลการทดสอบตัวอย่างสรุปได้ดังนี้

- การเกิดปฏิกิริยากับ ferric chloride ได้สารละลายสีน้ำเงิน-ดำ และม่วง
- เกิดปฏิกิริยากับ sodium hydrogen carbonate ได้ก๊าซ CO_2
- เกิดการเปลี่ยนแปลงสเปคตรัมแบบ Bathochromic shift เมื่อเติมด่างในตัวอย่าง
- มีหมู่ฟังก์ชันนัล benzene ring, O-H, C-O, C=C, C-C และ C-H
- มีค่า R_f ในแผ่น TLC ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน gallic acid

จากผลทั้งหมดอาจกล่าวได้ว่า สารยับยั้งอะไมเลสในตัวอย่างน้ำยางกล้วยเป็นสารประกอบฟีโนลิค ที่มี gallic acid เป็นองค์ประกอบหนึ่งในโครงสร้าง

ส่วนที่ 2 น้ำยางมะละกอ

น้ำยางมะละกอเป็นแหล่งของเอนไซม์หลายชนิด โดยเฉพาะเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน (proteinases) เมื่อน้ำยางเริ่มไหลออกมาจะย่อยโปรตีนตัวอื่นๆในน้ำยาง และกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวของน้ำยางมะละกอ (Moutim และคณะ 1999) ดังนั้นเพื่อคัดเลือกวิธีการเตรียมน้ำยางมะละกอเพื่อให้ได้กิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสสูงที่สุด จึงมีการศึกษาในข้อ 2.1 โดยเปรียบเทียบผลของสารต่างๆที่เติมลงไปในน้ำยางขณะเก็บเพื่อดูค่าการยับยั้ง สารที่เติมลงไปมีดังนี้ 1) methyl methanethiosulfonate (MMTS) เช่นการศึกษาของ Azarkan และคณะ (2004) ที่เติม MMTS ลงไปในน้ำยางมะละกอเพื่อป้องกันเอนไซม์เกิด oxidation กับอากาศ ป้องกันการย่อยตัวเอง (autolysis) นอกจากนี้ยังป้องกันการสลายตัวของโปรตีนตัวอื่นๆด้วย ปฏิกิริยาของ MMTS เกิดขึ้นดังสมการ



Cysteine proteinases MMTS Blocked proteinases

2) บัฟเฟอร์ A และ 3) น้ำกลั่น เมื่อนำน้ำยางมะละกอมาหากิจกรรมการยับยั้งพบว่าน้ำยางมะละกอที่ผสมน้ำกลั่นจะให้ค่าการยับยั้งสูงที่สุด (ร้อยละ 30.70) จึงเลือกวิธีดังกล่าวเพื่อเก็บน้ำยางศึกษาต่อไป เหตุผลหนึ่งที่ไม่เลือกการเก็บน้ำยางมะละกอผสมกับ MMTS นอกจากได้น้ำยางที่มีกิจกรรมการยับยั้งน้อยแล้ว ยังพบว่าสาร MMTS มีค่าการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสด้วย (ค่าการยับยั้งประมาณร้อยละ 15)

ในการศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสของน้ำยางมะละกอ 4 ต้นพบว่าให้ค่าการยับยั้งไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมของต้นมะละกอเหมือนกันปริมาณสารต่างๆในน้ำยางแต่ละต้นจึงใกล้เคียงกัน จึงรวมน้ำยางจาก 4 ต้นดังกล่าวมาหาร้อยละเกลือแอมโน

เนียมซัลเฟตที่เหมาะสม พบว่าที่ร้อยละความอิ่มตัว 20 จะเกิดตะกอนขึ้นน้อยมากและไม่มีกิจกรรมการยับยั้ง ส่วนที่ร้อยละ 80 จะได้ค่าการยับยั้งจำเพาะสูงสุด (0.30 AI unit/mg. protein)

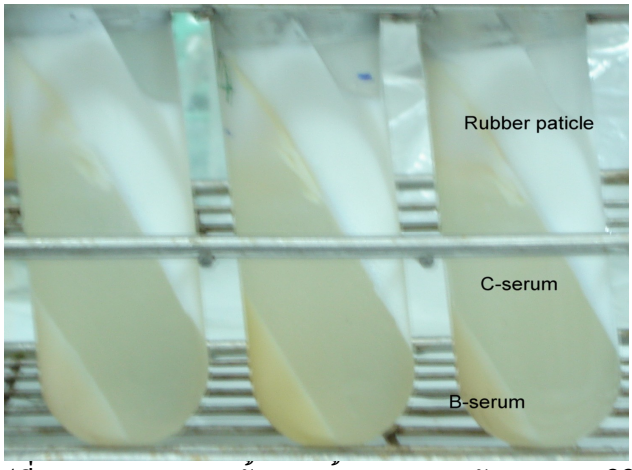
การทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสด้วยคอลัมน์ Sephadex G-75 พบว่าโปรตีนยับยั้งอะไมเลสถูกชะออกมาในพีคแรกมีขนาด 24,380 Da เมื่อนำสารยับยั้งอะไมเลสในพีคแรกไปดูแบบแผนโปรตีนด้วย Native-PAGE พบแถบโปรตีนจำนวนมากที่มีขนาดเล็กกว่า 66 kDa ไปจนถึงใหญ่กว่า 230 kDa ดังผลการศึกษาของ Moutim และคณะ (1999) ที่พบว่าแบบแผนโปรตีนใน SDS-PAGE ของน้ำยางมะละกอมีขนาดตั้งแต่ 12 kDa ไปจนถึง ขนาดใหญ่กว่า 38.5 kDa

เมื่อทดสอบด้วย Starch-PAGE พบว่าปรากฏแถบสีน้ำเงินของสารยับยั้งอะไมเลสตรงตำแหน่งประมาณ 60 kDa ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับสารที่ผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 หลอดที่ 50 (จากสารยับยั้งอะไมเลสในโปรตีนพีคแรก) นอกจากนี้สารที่ผ่านคอลัมน์หลอดที่ 50 ยังแสดงแถบโปรตีนเพียงแถบเดียวใน Native-PAGE ด้วย เมื่อนำสารดังกล่าวหาขนาดโมเลกุลหน่วยย่อยด้วย SDS-PAGE พบว่าตัวอย่างที่ไม่ผสม Mercaptoethanol จะปรากฏแถบโปรตีน 2 แถบ ขนาดประมาณ 23,857 Da และ 55,185 Da ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่างที่ผสม Mercaptoethanol จะแสดงแถบโปรตีน 3 แถบ ขนาด 23,857 Da 16,723 Da และ 14,715 Da ตามลำดับ ผลดังกล่าวแสดงถึงการมีพันธะ disulfide ระหว่างหน่วยย่อยของโปรตีน

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของสารยับยั้งอะไมเลสจากวิธีเจลฟิลเตรชั่น คือ 24,380 Da และผลจาก SDS-PAGE แบบผสม Mercaptoethanol ซึ่งมีขนาด 23,857 Da 16,723 Da และ 14,715 Da ถ้าสารยับยั้งดังกล่าวะมี 3 หน่วยย่อย น้ำหนักโมเลกุลรวมจะมีค่า 55,295 Da ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าผลจากเจลฟิลเตรชั่น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าโปรตีนยับยั้งอะไมเลสนี้เป็นสารกลุ่มไกลโคโปรตีน โดยมีส่วนของน้ำตาลในโมเลกุลที่สามารถเกิดพันธะกับอนุภาค Sephadex ในคอลัมน์ทำให้หน่วงการเคลื่อนที่ของโปรตีน เมื่อคำนวณขนาดของโปรตีนจึงมีขนาดเล็กกว่าความเป็นจริง แต่อย่างไรก็ตามน้ำหนักโมเลกุลรวมของหน่วยย่อยดังกล่าวมีขนาดใกล้เคียงกับแถบโปรตีนใน Native-PAGE และ Starch-PAGE ที่มีน้ำหนักประมาณ 60 kDa

ส่วนที่ 3 น้ำยางพารา

น้ำยางพาราหลังจากเซนตริฟิวจ์จะแยกเป็น 3 ส่วนหลักๆ คือ ส่วนอนุภาคเนื้อยาง ส่วน C-serum และส่วน B-serum ดังรูปที่ 28



รูปที่ 28 แสดงการแยกชั้นของน้ำยางพาราหลังจากเซนตริฟิวจ์

ในแต่ละชั้นที่แยกจะมีโปรตีนชนิดต่างๆอยู่เป็นจำนวนมากดังนี้ ชั้นเนื้อยางประมาณร้อยละ 25 ชั้น C-serum มีประมาณร้อยละ 43 ชั้น B-serum ประมาณร้อยละ 32 (Yeang และคณะ 2002) ดังนั้นการศึกษานี้จึงสนใจศึกษาโปรตีนใน C-serum เพราะเป็นส่วนที่มีโปรตีนปริมาณมากที่สุด และสะดวกต่อการศึกษา

เพื่อคัดเลือกวิธีการเตรียมน้ำยางพาราที่ให้ C-serum ที่มีกิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสสูงที่สุด จึงมีการศึกษาการเก็บน้ำยางพาราในสภาพที่มีสารต่างๆ ดังนี้

1) น้ำยางพาราที่ไม่เติมสารใด ๆ ลงไป

2) Glycerinated buffer (ไม่เติม glycerol ในขั้นตอนสุดท้าย) ซึ่งสารดังกล่าวเติมลงไปเพื่อป้องกันการแตกสลายของโปรตีน ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของ proteolytic enzymes ในน้ำยางพาราเอง (Akasawa และคณะ 1995)

3) Glycerinated buffer ที่เติม glycerol ในขั้นตอนสุดท้าย

ผลพบว่าน้ำยางพาราที่ไม่เติมสารใด ๆ มีค่าการยับยั้งอะไมเลสสูงที่สุด (ค่าการยับยั้งประมาณร้อยละ 70) จึงเลือกวิธีดังกล่าวใช้เตรียมน้ำยางเพื่อศึกษาต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบค่าการยับยั้งจำเพาะจาก C-serum ที่ได้จากน้ำยางพารา 4 ต้นพบว่าต้นที่ 1 (ค่าการยับยั้งจำเพาะ 0.848 AI unit/mg protein) มีค่าสูงที่สุดซึ่งแตกต่างกับ ต้นที่ 2 (0.638)

ต้นที่ 3 (0.697) และ ต้นที่ 4 (0.704) ตามลำดับ ความแตกต่างดังกล่าวอาจเกี่ยวข้องกับสภาพความสมบูรณ์ของต้นยาง การได้รับปุ๋ยเคมี และประสิทธิภาพในการดูดซึมของแต่ละต้น

เมื่อรวมน้ำยาง จาก 3 ต้นที่มีกิจกรรมการยับยั้งใกล้เคียงกัน เพื่อนำมาตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าที่ร้อยละความอิ่มตัว 20 ได้ตะกอนโปรตีนปริมาณน้อยมากและไม่พบกิจกรรมการยับยั้ง ส่วนร้อยละความอิ่มตัว 80 ได้ตะกอนที่มีค่าการยับยั้งจำเพาะสูงที่สุด

ในขั้นตอนการทำบริสุทธิ์สารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางพารา พบว่าหลังผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 สารยับยั้งอะไมเลสถูกชะที่ปริมาตรชะเท่ากับ potassium dichromate (150 มล.) เมื่อหาขนาดโดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานพบว่ามีขนาด 1,200 Da ส่วนแบบแผนโปรตีนใน Native – PAGE พบโปรตีนปะปนอยู่จำนวนมาก ตั้งแต่เล็กกว่า 66 ไปจนถึงใหญ่กว่า 400 kDa ดังนั้นจึงนำตัวอย่างดังกล่าวไปทำบริสุทธิ์ต่อด้วยคอลัมน์ Sephadex G-25 ที่มีความสามารถแยกโปรตีนในช่วง 1000-5000 Da และคาดหวังว่าโปรตีนที่มีขนาดใหญ่เกิน 5000 Da จะแยกออกมาจากโปรตีนยับยั้งอะไมเลสที่สนใจ แต่ผลการทดลองพบว่าสารยับยั้งอะไมเลสออกมาในพีคแรกซึ่งยังอยู่ในช่วงแยกของคอลัมน์ซึ่งไม่เป็นตามที่หวังไว้ เมื่อดูแบบแผนโปรตีนพบว่าแถบโปรตีนลดลง แต่ยังมีโปรตีนขนาดใหญ่ปะปน ผลดังกล่าวอาจเป็นเพราะโปรตีนเหล่านี้มีโครงสร้างเป็นไกลโคโปรตีน ซึ่งสามารถจับกับอนุภาค Sephadex ได้ทำให้เกิดการหน่วงการเคลื่อนที่ส่งผลให้โปรตีนดังกล่าวผ่านคอลัมน์ช้า ดังนั้นจึงไม่ถูกชะออกที่ปริมาตรวอยด์ของคอลัมน์ Sephadex G-25

เมื่อนำสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ Sephadex G-25 (C_{G-25}) ดูแบบแผนโปรตีนด้วย Native-PAGE และทดสอบกิจกรรมการยับยั้งด้วย Starch-PAGE พบว่ายังไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าแถบโปรตีนใดเป็นสารยับยั้งอะไมเลส ดังนั้นจึงนำเอนไซม์อะไมเลสบ่มกับสารละลาย C_{G-25} แล้วแยกสารประกอบอะไมเลสกับสารยับยั้งอะไมเลส (AI-amylase complex) ด้วย Sephadex G-25 เก็บสารประกอบอะไมเลสกับสารยับยั้งอะไมเลสที่ออกที่ปริมาตรวอยด์ไปทำ Native-PAGE แยกอะไมเลสจาก AI เช่น ปิยวรรณ สิทธิพงศ์ (2548) เทียบกับตัวอย่างอะไมเลส และ C_{G-25} ตัดแถบโปรตีนของสารยับยั้งอะไมเลส ขนาด 350 kDa ไปหาขนาดโปรตีนหน่วยย่อยด้วย SDS-PAGE พบว่ามีแถบโปรตีนขนาด 61,165 Da เพียงแถบเดียวทั้งตัวอย่างที่ผสมและไม่ผสม Mercaptoethanol ผลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าโปรตีนหน่วยย่อยดังกล่าวไม่มีพันธะ disulfide

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของสารยับยั้งอะไมเลสจากวิธีเจลฟิลเตรชั่น คือ 1,200 Da และผลจาก SDS-PAGE ขนาด 61,165 Da พบว่าหน่วยย่อยมีขนาดใหญ่กว่าโปรตีนสภาพธรรมชาติที่หาขนาดด้วยเจลฟิลเตรชั่น อาจเป็นไปได้ว่าโปรตีนดังกล่าวเป็นไกลโคโปรตีนซึ่งสามารถจับกับอนุภาค Sephadex ได้ดังที่กล่าวแล้วข้างต้น การจับกันดังกล่าวทำให้การเคลื่อนที่ผ่าน

อนุภาค Sephadex ช้าลง ขนาดโมเลกุลที่คำนวณได้จึงเล็กกว่าความเป็นจริง อย่างไรก็ตามถ้านำขนาดสารยับยั้งอะไมเลสในสภาพธรรมชาติจาก Native-PAGE ซึ่งมีค่า 350 kDa มาเปรียบเทียบกับขนาดของโปรตีนหน่วยย่อย อาจจะสรุปได้ว่า สารยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางพารามี 6 หน่วยย่อยที่มีขนาด 61,165 Da ดังนั้นจะมีน้ำหนักโมเลกุลรวมเป็น 366,990 Da

สารยับยั้งอะไมเลสที่แยกได้จากการจับกับเอนไซม์อะไมเลสดังกล่าวไม่น่าจะมีอะไมเลสเจือปนเพราะเมื่อนำมาหาขนาดด้วย SDS-PAGE พบแถบโปรตีนขนาด 61,165 Da เพียงแถบเดียวซึ่งใหญ่กว่าขนาดของเอนไซม์อะไมเลสที่มีรายงานว่ามีขนาด 50-57 kDa (Wong 1995; Brena และคณะ 1996; Fisher และคณะ 2006)

เปรียบเทียบศักยภาพของสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางกล้วย มะละกอ และยางพารา

จากตารางที่ 11 พบว่าน้ำยางของพืชมีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย (salivary amylase) จากมากไปน้อยดังนี้ น้ำยางกล้วย > น้ำยางมะละกอ > น้ำยางพารา ตามลำดับ เนื่องจากใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยกว่าในการยับยั้ง

เมื่อผ่านกระบวนการทำบริสุทธิ์ของแต่ละพืชพบว่าสารที่ได้มีศักยภาพในการยับยั้งอะไมเลส จากมากไปน้อยดังนี้ $B_{G-75} > C_{G-25} > P_{G-75}$ ตามลำดับ

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งอะไมเลสที่ 50 % (IC_{50})

Sample	IC_{50}	
	mg. latex	mL latex
Banana latex	10.710	0.011
Papaya latex*	705.000	0.705
Rubber latex	2905.150	2.995
Banana Purified AI (B_{G-75})	2.140	0.002
Papaya Purified AI (P_{G-75})*	106.090	0.106
Rubber Purified AI (C_{G-25})	15.520	0.016

* คำนวณจากค่าการยับยั้งอะไมเลสที่ 40 % (IC_{40}) ด้วยการเทียบบัญญัติไตรยางค์

เปรียบเทียบขนาดโมเลกุลสารยับยั้งอะไมเลสในพืชตัวอย่างกับสารยับยั้งอะไมเลสที่ก่อภูมิแพ้ในข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์

โปรตีนยับยั้งอะไมเลสที่ก่อภูมิแพ้มีรายงานจากข้าวสาลีหลายชนิดดังตารางที่ 12 โปรตีนยับยั้งอะไมเลสที่ก่อภูมิแพ้นั้นมีขนาดในช่วงตั้งแต่ 13 ถึง 16 kDa มีขนาดใกล้เคียงกับโปรตีนยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางมะละกอที่มี 3 หน่วยย่อย ขนาด 15, 17 และ 24 kDa แต่เล็กกว่าโปรตีนยับยั้งอะไมเลสในน้ำยางพารา (60 kDa) อย่างไรก็ตามโปรตีนในน้ำยางพาราที่มีขนาดใกล้เคียงกันนี้มีรายงานว่าเป็นโปรตีนก่อภูมิแพ้ ประกอบด้วยโปรตีนชนิด Hev b1 (58 kDa) Hev b4 (57 kDa) และ Hev b9 (51 kDa) (Yeang และคณะ 2002)

ส่วนสารยับยั้งอะไมเลสจากน้ำยางกล้วยซึ่งคาดว่าเป็นสารประกอบฟีโนลิคนั้นยังไม่เคยมีรายงานการก่อภูมิแพ้ของสารประกอบกลุ่มนี้

ตารางที่ 12 แสดงขนาดโมเลกุลของสารยับยั้งอะไมเลสที่ก่อภูมิแพ้ในข้าวสาลีและบาร์เลย์

ชนิดข้าว	ขนาด (kDa)	วิธีหาขนาด	อ้างอิง
ข้าวสาลี *Triticum aestivum*	16	SDS-PAGE	Sanchez-Monge และคณะ 1992
	15	SDS-PAGE	James และคณะ 1997
	13, 14	SDS-PAGE	Amano และคณะ 1998
	13	Mass spectrometer	Amano และคณะ 1998
Triticum durum	14	SDS-PAGE	Kusaba-Nakayama และคณะ 2000
Triticum turgidum	16	SDS-PAGE	Sanchez-Monge และคณะ 1992
ข้าวบาร์เลย์ *Hordeum vulgare*	16	SDS-PAGE	Sanchez-Monge และคณะ 1992