



รายงานโครงการวิจัย

เรื่อง

สารยับยั้งอะไมเลสในเมล็ดเนียงนก เนียง สะตอ และเหรีียง

Amylase Inhibitor in Seeds of Archidendron clypearia,

Archidendron jiringa(Jack)Nielson, *Parkia speciosa*, and *Parkia timoriana*

ผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ.ดร.อโนชา ตั้งโพธิธรรม

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โดยทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ประเภททั่วไปประจำปี 2543

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ธพ

QK896 963 29.11.61

219662

บทคัดย่อ

สารยับยั้งอะไมเลส เป็นสารประเภทไกลโคโปรตีนที่พบได้ในเมล็ดธัญพืช และถั่วหลายชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และแมลงโดยไม่มีผลต่ออะไมเลสในพืช ปัจจุบันเน้นการใช้ประโยชน์สารยับยั้งอะไมเลสใน 2 แนวทางคือ การสร้างพืชให้มีสารนี้สูงเพื่อด้านแมลงศัตรูพืชในทางการเกษตร และการลดน้ำตาลในเลือดในทางการแพทย์ การนำไปสู่ประโยชน์ทั้ง 2 ด้าน จำเป็นต้องทราบปริมาณเฉลี่ยของสารยับยั้งอะไมเลสที่มีในพืชที่ใช้บริโภคทั่วไปโดยไม่ก่อโทษ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการปรับสมดุล เมื่อนำไปใช้ประโยชน์โดยไม่ก่อผลเชิงลบแก่สุขภาพในแง่ของการยับยั้งการใช้คาร์โบไฮเดรตแหล่งพลังงานของร่างกาย ขณะนี้ข้อมูลปริมาณสารยับยั้งอะไมเลสในพืชยังไม่หลากหลายทั้งในแง่ชนิดของพืช และแหล่งปลูก เพื่อเพิ่มเติมข้อมูลในส่วนที่ขาดอยู่ การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาว่า เนียงนก เนียง สะตอข้าว สะตอดาน และเหียง พืชท้องถิ่นภาคใต้ของประเทศไทย มีสารยับยั้งอะไมเลสอยู่เช่นกลุ่มพืชตระกูลถั่วอื่น ๆ ที่มีรายงานไว้หรือไม่ และถ้ามี มีอยู่ในปริมาณเท่าใด ในการศึกษาเตรียมสารสกัดตัวอย่างพืชโดยวิธีของ Pueyo and Delgado-Salinas 1997 และวิธีของ Grant *et al.* 1995 (ซึ่งใช้ความร้อน 70°ซ ในการสกัด) ตรวจค่าการยับยั้งกิจกรรมอะไมเลสของสารสกัดพืชตัวอย่างที่ 37°ซ เวลา 3 นาที โดยใช้น้ำแป้ง 2% เป็นสับสเตรท ภายหลังจากบ่มสารสกัดพืชกับเอนไซม์อะไมเลส 0.6 หน่วยกิจกรรมที่ 37°ซ นาน 30 นาที ผลการศึกษาพบว่า ค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส / มิลลิกรัมตัวอย่างพืชสด ของสารสกัดพืชตัวอย่าง 2 รุ่น เมื่อสกัดโดยวิธีของ Pueyo and Delgado-Salinas 1997 ให้ค่าดังนี้ เปลือกเนียง 2.25 หน่วย เปลือกสะตอข้าว และเปลือกสะตอดาน 1.25 หน่วย เมล็ดเนียงนก 0.23 และเมื่อสกัดโดยวิธี Grant *et al.* 1995 ให้ค่าดังนี้ เปลือกเนียง 0.88 หน่วย เปลือกสะตอข้าว และเปลือกสะตอดาน 0.63 หน่วย และเมล็ดเนียงนก ไม่พบ ผลที่ได้ยังแสดงว่า สารยับยั้งอะไมเลสในเปลือกเนียง เปลือกสะตอข้าว และเปลือกสะตอดานน่าจะมีทั้งชนิดทนความร้อน และไม่ทนความร้อน สารสกัดจากวิธี Pueyo and Delgado-Salinas 1997 จึงให้ค่าการยับยั้งอะไมเลสมากกว่าสารสกัดจากวิธี Grant *et al.* 1995 ส่วนเมล็ดเนียงนก น่าจะมีเฉพาะชนิดที่ไม่ทนต่อความร้อน จึงไม่พบค่าการยับยั้งอะไมเลสในสารสกัดจากวิธี Grant *et al.* 1995 ส่วนเมล็ดเนียง เมล็ดสะตอข้าว เมล็ดสะตอดาน และเมล็ดเหียง ไม่พบสารยับยั้งอะไมเลส ในสารสกัดจากทั้ง 2 วิธี การศึกษาความคงตัวเมื่อเก็บสารสกัดที่ -20°ซ นาน 3 เดือน พบว่าค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส / มิลลิกรัมตัวอย่างพืชสด ลดลงอย่างต่อเนื่องในทุกตัวอย่าง โดยเฉพาะในเดือนที่ 3 สารสกัดเตรียมโดยวิธีของ Pueyo and Delgado-Salinas 1997 มีค่าความชันเฉลี่ยค่ากิจกรรมการยับยั้งอะไมเลส / มิลลิกรัมตัวอย่างพืชสด ลดลงน้อยกว่าวิธีของ Grant *et al.* 1995 ผลการวิจัยนี้เป็นฐานข้อมูลระดับสารยับยั้งอะไมเลสสำหรับพืชในเขตร้อนชื้น เพิ่มเติมจากข้อมูลของเมล็ดพืชอื่น ๆ ที่ได้รับการวิจัยไว้ และจะเป็นแนวทางการศึกษาสู่ระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อนำมาไปสู่การพัฒนาประโยชน์ที่กล่าวข้างต้นทั้ง 2 แนวทางจากพืชท้องถิ่นที่มีฤทธิ์สูง

ABSTRACT

Amylase inhibitor (AI), a glycoprotein, found in various cereals and beans can inhibit α -amylase of mammals and insects, but not plants. At present most research on AI has been focussed on two areas of application: making transgenic plants containing high amounts of AI as antifeedant agent for agriculture application and using AI as a hypoglycemic agent for medical application. Important to the success of both applications is knowledge of the average amounts of AI in various commonly consumed plants and vegetables. Such knowledge will help to ensure the use of AI without causing any negative benefit to health via the use of carbohydrate as energy source. Data on the amounts of AI are incomplete in various kinds and in different areas of plantation. This research aimed to determine the existence of α -amylase inhibitor in Nieng Nok (*Archidendron clypearia*), Nieng (*Archidendron jiringa* (Jack) Nielson), Staw Khao and Staw Dhan varieties (*Parkia speciosa*), and Rieng (*Parkia timoriana*), local leguminous plants of southern Thailand. Crude extracts of plant samples were prepared by the method of Pueyo and Delgado-Salinas 1997 and Grant *et al.* 1995. The latter method used heat at 70°C in the extraction process. Determination of α -amylase inhibitory activity was performed at 37°C, 3 minutes using 2% starch solution as substrate, after the incubation of amylase at 0.6 units activity with plant extract. Results of the study showed amylase inhibitory activity per milligram of fresh plant sample extracted by the method of Pueyo and Delgado-Salinas 1997 as follows: 2.25 units for the pod wall of Nieng, 1.25 units for the pod wall of Staw Khao and Staw Dhan, and 0.23 units for the seed of Nieng Nok. Using the method of Grant *et al.* 1995 the values were: 0.88 units for the pod wall of Nieng, 0.63 units for the pod wall of Staw Khao and Staw Dhan, and undetectable for the seed of Nieng Nok. All these values were from the average of 2 sample lots. Pod wall of Nieng, Staw Khao and Staw Dhan may contain two kinds of AI, heat stable and heat labile, since the method of Pueyo and Delgado-Salinas 1997 gave higher inhibitory activity than the method of Grant. Nieng Nok may contain only heat labile type, so AI was not found in the extract of Grant's method. No AI activity was found in the seeds of Nieng, Staw Khao, Staw Dhan or Rieng extracted by either method. Study on the stability of all extracts kept at -20°C for 3 months showed deterioration of AI activity throughout the period especially at the third month. The extracts prepared by the method of Pueyo and Delgado-Salinas 1997 showed less deterioration (lower average slope values of AI inhibitory activity) than those prepared by the method of Grant. Results of this study provided database of AI inhibitory activity for some tropical plants that have not been previously reported. These data will be used for further graduate studies in both areas of application.