บทที่ 4

สรุปผลการวิจัย

ในการ purify ตัวยับยั้ง α-Amylase จากหัวเผือก ซึ่งสามารถยับยั้งมิให้ α-Amylase ย่อยแป้งได้นั้น ได้ทำการ purify โดยวิธี aqueous extract, ammonium sulfate fractionation, dialysis, heat treatment, DEAE-Cellulose และ Sephadex G-100 Chromatography ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ได้ความบริสุทธิ์ (purification) 77.14 เท่า และ recovery (yield) 27.5 %

การยับยั้ง α-Amylase ขึ้นอยู่กับระยะเวลา, อุณหภูมิ, pH ในการทำปฏิกริยาระหว่างเอ็นไซม์กับตัวยับยั้ง การให้เอ็นไซม์กับตัวยับยั้ง preincubate ด้วยกันก่อนจึงเติมสับสเตรทลงไป ยิ่งใช้เวลานานยิ่งมีโอกาสให้การยับยั้งดีขึ้น และจากการทดลองที่อุณหภูมิ 25° และ 37° ซ ปรากฏว่าการยับยั้งเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 37° ซ ดีกว่า 25° ซ สำหรับ pH ที่ทำให้เกิดการยับยั้งดีที่สุดคือ pH ประมาณ 7.0 และตัวยับยั้งที่สกัดได้เป็น nondialyzable และค่อนข้างจะทนต่อความร้อน (Thermostable) คือหลังจาก heat ที่ 90° ซ เป็นเวลา 10 นาที แล้วการยับยั้งยังคงมีอยู่แต่ลดลงจากเดิมประมาณ 30 % เช่นเดียวกับ α-Amylase inhibitor ที่สกัดจากถั่วแดงหลวง (4)

ผลของอิออนของโลหะต่อการทำงานของตัวยับยั้งไม่เด่นชัดนัก สำหรับสารประกอบอย่างอื่นคือ EDTA, 1,10-Phenanthrolin และ β-Mercaptoethanol ไม่ทำให้การยับยั้งของเอ็นไซม์เปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะกรณี chelating agent คือ EDTA และ 1,10-phenanthrolin แสดงว่าการทำงานของตัวยับยั้งจากหัวเผือกไม่ต้องใช้พวกอิออนของโลหะ ส่วน β-Mercaptoethanol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นไปได้ที่ตัวยับยั้งที่สกัดได้ไม่มี disulfide bridge อยู่ในโมเลกุล เพราะสารดังกล่าวสามารถ cleavage disulfide bridge ให้เป็น Sulfhydryl form ได้

บทบาทของ α-Amylase inhibitor ในพืชอาจจะทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันพืชจากแมลงโดยการ inhibit α-Amylase ของแมลงได้ (4)

สำหรับประโยชน์ในทางประยุกต์ อาจใช้เป็นประโยชน์ในทางการแพทย์สำหรับรักษาโรค hyperglycaemia โดยเฉพาะคนไข้ที่เป็นโรคเบาหวาน

อย่างไรก็ตามในการวิจัยครั้งนี้ยังศึกษา ไม่ค่อยสมบูรณ์มากนัก เพราะต้องใช้เวลาอีกมากจึงจะสมบูรณ์ได้ ในการทดลองความบริสุทธิ์ของตัวยับยั้งด้วย polyacrylamide gel electrophoresis ไม่ปรากฏแถบ (band) ให้เห็น อาจเป็นไปได้ที่สารที่สกัดได้มีปริมาณน้อย และมีความเข้มข้นน้อยคือ ในการเก็บตัวยับยั้งขั้นสุดท้ายได้เพียง 32 มล. และเข้มข้นเพียง 0.155 มก./มล. เท่านั้น และสีที่ย้อมอาจไม่ sensitive (ใช้ Amido black) หรือตัวยับยั้งอาจเป็น glycoprotein ซึ่งต้องใช้สีย้อมชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีการทดลองอีกมากมายที่น่าสนใจเช่น

1. ทดสอบดูว่า inhibitor เป็น glycoprotein หรือไม่
2. ความจำเพาะของ inhibitor
3. น้ำหนักโมเลกุลของ inhibitor
4. ผลของสับสเตรทต่อปฏิกริยาของ α-Amylase กับ inhibitor
5. เป็น competitive หรือ noncompetitive inhibitor

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved