

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษานี้ได้แยกบริสุทธิ์ฮีโมโกลบินจากเลือดจระเข้สายพันธุ์ไทย โดยใช้ Column sephadex G-50 ซึ่งสามารถแยกโปรตีนได้ peak ใหญ่ๆ 1 peak จากนั้นนำมาตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าสามารถแยกบริสุทธิ์ฮีโมโกลบินได้โดยพบแถบของโปรตีนหลักที่คาดว่าจะเป็ นฮีโมโกลบินที่มีขนาดเท่ากับ 15 kDa และ 14 kDa ซึ่งคาดว่าเป็นสายแอลฟาฮีโมโกลบิน และสายเบต้าฮีโมโกลบินตามลำดับ จากผลการทดลองแยกบริสุทธิ์ด้วย SDS-PAGE แสดงให้เห็นว่าฮีโมโกลบินที่ทำการสกัดนั้นมีความบริสุทธิ์ ดังนั้นจึงนำฮีโมโกลบินที่ทำการสกัดได้ไปทำให้แห้งโดยใช้เทคนิค lyophilized เพื่อนำไปทดสอบในขั้นต่อไปโดยไม่ต้องผ่าน gel filtration chromatography ซึ่งขั้นตอนนี้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม จากนั้นนำส่วนของฮีโมโกลบินไปศึกษาคุณสมบัติการด้านเชื้อแบคทีเรียทั้งส่วน intact hemoglobin, unfold hemoglobin ที่มีการให้ความร้อนที่ 40 °C และ 50 °C ที่เวลาต่างๆ และ fragmented hemoglobin ทำการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.05 M โดยเทคนิค disc diffusion assay จากผลการทดลองพบว่า fragmented hemoglobin มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดโดยสามารถยับยั้งเชื้อได้ 9 สายพันธุ์ จากนั้นนำ fragmented hemoglobin ไปทำการแยกบริสุทธิ์ด้วย RP-HPLC โดยใช้คอลัมน์ C4 พบว่าสามารถแยกเปปไทด์ได้ 6 peak จากนั้นเก็บทั้ง 6 peak ไปทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียพบว่า peak ที่ 3 สามารถทำลายเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ bovine hemoglobin ที่ทำการย่อยด้วย pepsin (Nedjar-Arroume et al., 2008) ที่พบว่ามีเปปไทด์เกิดขึ้นและสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ และจากผลการศึกษาผลของเปปไทด์ peak ที่ 3 ต่อเซลล์แบคทีเรียด้วยกล้อง SEM พบว่ามีกลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่คล้ายคลึงกับ Leucrocine I และ Leucrocine II (สุภาวดี และคณะ 2552) และสัมพันธ์กับพลาสมาของจระเข้สายพันธุ์ไทย (Preecharram et al., 2008) จากนั้นนำทั้งส่วน intact hemoglobin และ fragmented hemoglobin ไปทำการขึ้นรูปอัดเม็ดทั้งหมด 5 สูตร พบว่าสูตรที่ 2 ที่ใช้ PVP (K30) โดยใช้น้ำในการละลายมีคุณสมบัติเหมาะสมในการขึ้นรูปอัดเม็ด และสูตรที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อดีที่สุดคือสูตรที่ 4 เพราะมีส่วนผสมของ fragmented hemoglobin การศึกษาทั้งหมดนี้ชี้ให้เห็นว่า ฮีโมโกลบินจระเข้สายพันธุ์ไทยน่าจะมีคุณสมบัติสามารถนำมาอัดเม็ด เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมสุขภาพต่อไปในอนาคต