

การตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส

ตัวอย่างสาร: สารมาตรฐาน EGCG

รายละเอียดของตัวอย่าง: ผงแห้งสีขาวขุ่น

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 20 พฤศจิกายน 2567

วิธีทดสอบ Colorimetric assay

ขั้นตอนการเตรียมสารทดสอบ

ชั่งตัวอย่างทดสอบปริมาณ 10 mg จากนั้นเติมตัวทำละลายน้ำ 1 mL ปั่นให้เข้ากันและกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 mm เพื่อให้ได้สารทดสอบที่ความเข้มข้น 10 mg/mL

ขั้นตอนการทดสอบ

1. ทำการเติม Tris-HCl, pH 8.0 ปริมาตร 10 μ L ลงใน 96 well plates
2. เติมเอนไซม์ปริมาณ 2.5 μ L ลงใน 96 well plates
3. เติมสารทดสอบปริมาณตามต้องการ จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที
4. เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการเติมสารตั้งต้นลงใน 96 well plates ปริมาตร 1 μ L
5. บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาทีในที่มืด
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 nm ด้วย Microplate reader
7. นำค่าที่ได้มาแทนค่าในสูตรเพื่อหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสโดยใช้สูตรดังนี้

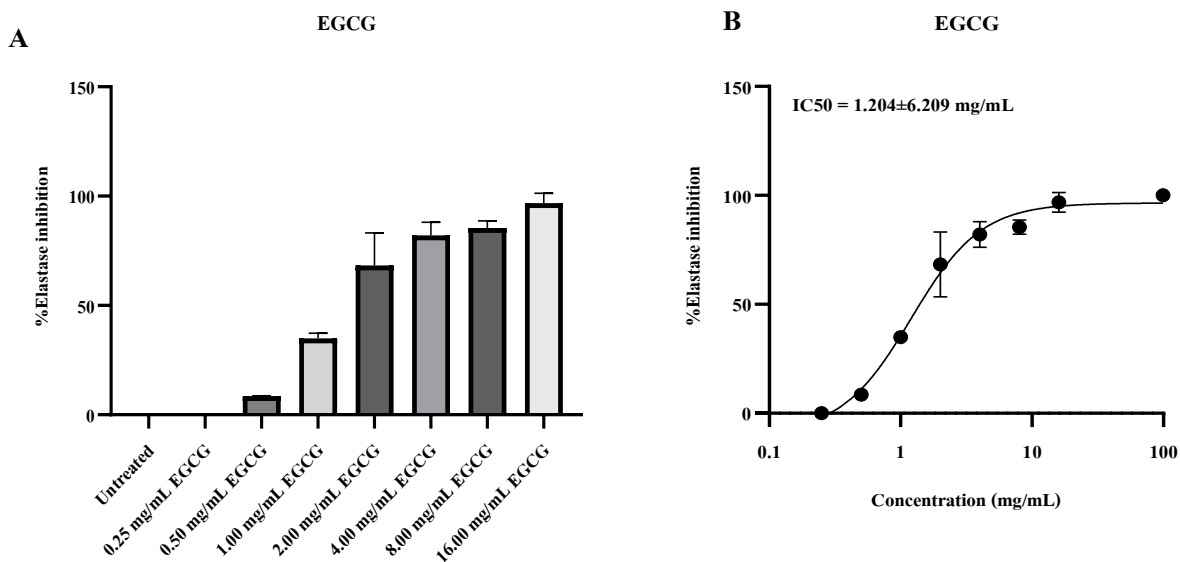
$$\text{ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ (\%)} = ((\text{Absควบคุม} - \text{Absสารทดสอบ}) / \text{Absควบคุม}) \times 100$$

*Abs คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดด้วย Microplate reader

ผลการทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส (Elastase) ถูกทดสอบด้วยวิธี Colorimetric assay เพื่อประเมินศักยภาพของสารมาตรฐาน EGCG ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเตส และจากผลการทดสอบพบว่า สารมาตรฐาน EGCG ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00 และ 16.00 mg/mL สามารถยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสได้ 0.00 ± 1.14 , 8.56 ± 0.07 , 34.94 ± 2.39 , 68.31 ± 14.89 , 82.12 ± 5.91 , 85.47 ± 3.24 และ

96.78±4.49% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 50% อยู่ที่ 1.204±6.209 mg/mL ดังแสดงในรูปที่ 1A-B



รูปที่ 1 แสดงร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเตส (Elastase) (A) และร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 50% (IC50) (B) เมื่อทดสอบกับสารมาตรฐาน EGCG ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00 และ 16.00 mg/mL ตามลำดับ

สรุปผลการทดสอบ

สารมาตรฐาน EGCG มีศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเตส (Elastase)