# บทที่ 5
# อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

## 5.1 อภิปรายผลการวิจัย

จากการแยกสกัดสารเปปไทด์จากต่อมไซนัสของกุ้งกุลาดำจำนวน 1,000 ต่อม ด้วยสารละลายเมทานอล-กรดอะซิติก-น้ำ ในอัตราส่วน 90:1:9 และนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการ RP-HPLC สามารถแยกเปปไทด์บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการ RP-HPLC เพียง 2-3 ขั้นตอน โดยพบว่าเปปไทด์บริสุทธิ์ส่วนใหญ่แยกได้ในกระบวนการ RP-HPLC ขั้นตอนที่ 2 มีรายงานการศึกษาการแยกและการทำให้บริสุทธิ์สารนิวโรเปปไทด์ของสัตว์พวกครัสตาเซียนหลายชนิด จากตารางที่ 2.1 จะเห็นว่ามีการตรวจพบสารนิวโรเปปไทด์แต่ละชนิดมีจำนวนรูปแบบแตกต่างกันออกไป โดยส่วนใหญ่ในการแยกบริสุทธิ์ของสารนิวโรเปปไทด์จากก้านตาของสัตวกลุ่มครัสตาเซียนมักจะใช้เฉพาะต่อมไซนัสมากกว่าการใช้ส่วนทั้งหมดของก้านตา ถึงแม้ว่าการใช้เฉพาะต่อมไซนัสจะใช้เวลาค่อนข้างมากในการตัดและรวบรวมต่อมไซนัสจนได้จำนวนที่ต้องการ แต่ปริมาณตาที่ใช้จะน้อยกว่า นอกจากนี้ยังช่วยลดขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ เนื่องจากมีการปนเปื้อนน้อยลง และลดการสูญหายของเปปไทด์ในระหว่างการทำให้บริสุทธิ์จึงทำให้ได้ปริมาณของสารเปปไทด์บริสุทธิ์มากขึ้น

หลังจากการทำให้เปปไทด์บริสุทธิ์แล้วมักจะตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของนิวโรเปปไทด์ด้วยวิธี Biological assay และติดตามสารนิวโรเปปไทด์ในระหว่างขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธี Radioimmunoassay ซึ่งเป็นวิธีการที่ยุ่งยาก สิ้นเปลือง และสาระเคมีราคาแพง ทำให้ไม่สามารถใช้วิธีนี้ติดตามสารเปปไทด์หลายรูปแบบในครั้งเดียวกันได้ ต่างจากการติดตามโดยใช้วิธี Dot-ELISA (Sithigorngul, Stretton and Cowden,1991) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี และสามารถรู้ผลภายใน 24 ชั่วโมง โดยมีความไวในการตรวจสอบเทียบเท่ากับวิธี RIA แต่ไม่มีอันตรายเพราะไม่ต้องใช้สารกัมมันตรังสี จึงสามารถใช้วิธีนี้ในการติดตามสารเปปไทด์ในระหว่างการทำให้บริสุทธิ์ได้หลายรูปแบบในเวลาเดียวกัน ในการทดลองครั้งนี้จะนำเปปไทด์ที่แยกได้จากแต่ละขั้นตอนของการทำให้บริสุทธิ์ไปวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ MALDI-TOF MS เพื่อดูว่ามีสารอื่นปนเปื้อนในเปปไทด์หรือไม่ วิธีนี้มีข้อดีคือ สามารถเตรียมหลาย ๆ ตัวอย่างได้พร้อม ๆ กัน ทำให้การวิเคราะห์สะดวก รวดเร็ว มีความไว (sensitivity) สูง จึงสามารถใช้กับสารที่มีปริมาณน้อยได้ดี เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบที่ซับซ้อน (compiex mixture) หรือสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Siuzdak,1996)

จากการทดลองยังมีแฟรคชั่นที่ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีที่ใช้ทดสอบบางแฟรคชั่นที่ไม่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ เนื่องจากมีปริมาณเปปไทด์น้อยมากจนไม่สามารถนำไปทำในขั้นตอนต่อไปได้จึงควรเพิ่มจำนวนต่อมไซนัสที่นำมาสกัดให้มากขึ้น บางแฟรคชั่นมีปริมาณของเปปไทด์น้อยลงในแต่ละขั้นตอนของการแยกบริสุทธิ์ ซึ่งอาจเกิดจากการสูญหายของเปปไทด์ในระหว่างการทำให้บริสุทธิ์จนยากที่จะตรวจสอบโดยวิธี Dot-ELISA ได้ (สังเกตจากความเข้มสีของจุดจางมาก) แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองเมื่อนำแฟรคชั่นที่พบเปปไทด์ไปผ่านการทำให้บริสุทธิ์มากขึ้น ความเข้มสีของจุดของสารเปปไทด์ที่ตรวจสอบด้วยวิธี Dot-ELISA จะลดลง จนต้องใช้ปริมาณของสารตัวอย่างในการตรวจสอบเพิ่มขึ้น เพื่อจะได้เห็นความเข้มสีของจุดเปปไทด์ได้ชัดเจน ซึ่งความเข้มสีของจุดที่จางลงนี้น่าจะเกิดจากการสูญหายของเปปไทด์ในส่วนด้านข้างของพีค และสูญเสียเปปไทด์จากการแบ่งสารละลายบางส่วนไปตรวจหาชนิดและน้ำหนักโมเลกุลของสารเปปไทด์ในระหว่างขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ และจากการตรวจดูลักษณะของแมสสเปกตรัมที่ได้จากตัวอย่างในแฟรคชั่นที่คาดว่าแยกสารเปปไทด์ได้บริสุทธิ์ พบว่าบางแฟรคชั่นให้พีคที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกันประมาณ 23, 38 หรือ 16 ดาลตัน จึงคาดว่าในระหว่างการแยกให้บริสุทธิ์อาจมีหมู่โซเดียมและโปแตสเซียมมาจับ หรือเกิดการออกซิเดชั่นของกรดอะมิโนบางตัว อาจทำให้เปปไทด์มีคุณสมบัติในการจับกับแอนติบอดีเปลี่ยนไป จึงต้องเพิ่มปริมาณของสารตัวอย่างในการตรวจสอบเพิ่มขึ้นในการทำให้บริสุทธิ์ของแต่ละขั้นตอน ส่วนสารเปปไทด์บางแฟรคชั่นที่ยังไม่บริสุทธิ์ เนื่องมาจากยังมีส่วนที่คาบเกี่ยวกับสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในแฟรคชั่น ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าอาจจะมีสารเปปไทด์อีกหลายรูปแบบที่ยังไม่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้

จากการทดลองมีบางแฟรคชั่นที่ให้ผลบวกกับแอนติบอดี 2 ชนิด คือ PDH และ PP6 และ FMRFamide และ CHH โดยผลการทดลองของ SGP35, SGP36 และ SGP38 พบว่าบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสมีการติดสีเข้มในทุกแฟรคชั่นเมื่อทดสอบกับแอนติบอดี FMRFamide และ CHH ส่วน SGP42.34 และ SGP45.35 มีการติดสีเมื่อทดสอบกับแอนติบอดี PDH และ PP6 ทั้งนี้อาจเกิดจาก background เนื่องจากการใช้วิธี Dot-ELISA นี้เป็นวิธีที่ประมาณด้วยสายตาโดยดูจากความเข้มของสีจุด ซึ่งไม่ละเอียดพอ ทำให้มีความผิดพลาดในการประมาณค่าได้มาก

ส่วนเปปไทด์บริสุทธิ์บางตัวอย่าง (unknown) ที่ไม่ให้ผลบวกกับแอนติบอดีที่ใช้ทดสอบน่าจะเป็นเปปไทด์ที่มีรูปแบบแตกต่างไปจากเปปไทด์ในรายงานที่พบมา ซึ่งเป็นข้อดีของการศึกษาการทำให้บริสุทธิ์สารเปปไทด์ในครั้งนี้ เนื่องจากการตรวจสอบโดยใช้วิธีการทดสอบทางภูมิคุ้มกันจำเป็นต้องใช้แอนติบอดี ซึ่งมีความจำเพาะต่อเปปไทด์ตัวที่ทราบโครงสร้างแล้ว แต่จากการ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยดูจากโครมาโตแกรมของกระบวนการ RP-HPLC และแมสสเปกตรัมของ MALDI-TOF MS ในการศึกษาครั้งนี้คาดว่าน่าจะสามารถแยกเปปไทด์บริสุทธิ์ตัวใหม่ได้ เนื่องจากไม่สามารถจับกับแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเปปไทด์ที่ทราบโครงสร้างแล้ว

สำหรับรายงานเกี่ยวกับสารนิวโรเปปไทด์ของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ซึ่งได้ศึกษาการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของสารคล้าย CCK (ธิดา อมร, 2541) และสารคล้าย FMRF amide (จีรศักดิ์ ผู้ปลื้ม, 2541) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้ทำให้ทราบว่ามีเพียงสารคล้าย PDH (น้ำหนักโมเลกุล 1,915.6-1,944.8 ดาลตัน) เท่านั้นที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับสารคล้าย CKK (น้ำหนักโมเลกุล 1,914.1-1,941.5 ดาลตัน) โดยสารคล้าย PDH และสารคล้าย CKK ถูกชะออกมาที่ความเข้มข้นของประมาณ 53-55% ของสารละลาย 80% acetonitrile ใน 0.1% TFA ในกระบวนการ RP-HPLC ขั้นตอนที่ 1 และ 48-53% ของสารละลาย 80% acetonitrile ใน 0.1% HFBA ในขั้นตอนที่ 2 การที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากเซลล์ประสาทที่พบสารคล้าย CCK ทั้งหมดจะพบสารคล้าย PDH ด้วย (วีระวรรณ สิทธิกรกุล และคณะ,2537)

ส่วนสารคล้าย FMRFamide จากรายงานของ จีรศักดิ์ ผู้ปลื้ม ซึ่งแยกสกัดจากส่วนทั้งหมดของก้านตาได้สารเปปไทด์ 18 แฟรคชั่น เมื่อเปรียบเทียบกับสารคล้าย FMRFamide ที่ได้จากการทดลองนี้ 13 แฟรคชั่น พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน จึงคาดว่าจะมีลำดับกรดอะมิโนแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากสารเปปไทด์ที่ได้นั้นมาจากส่วนของ ganglion อื่นๆ ที่ไม่ใช่ sinus gland เช่น บริเวณ lamina ganglionaris, บริเวณรอบ ๆ medulla externa เป็นต้น ทั้งนี้เพราะจากการตรวจหาสารคล้าย FMRFamide ในก้านตาของกุ้งกุลาดำโดยปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันพบว่ามีเซลล์ประสาทในบริเวณต่าง ๆ จำนวนมากและจำนวนแปรปรวนสูงในแต่ละก้านตา ที่ให้ผลบวกต่อแอนติบอดี (วีระวรรณ สิทธิกรกุล และคณะ, 2537) นอกจากนั้นการใช้ส่วนทั้งหมดของก้านตาในการสกัด ยังทำให้ต้องใช้ขั้นตอนในการทำให้บริสุทธิ์มากถึง 5-7 ขั้นตอน จึงอาจเกิดการสูญหายของเปปไทด์ในระหว่างขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ได้

จากรายงานการศึกษาในระดับโมเลกุลโดยการโคลนยีน และวิเคราะห์โครงสร้างของยีนของสารคล้าย CHH (Chen, Cheng and Huang,1998) และสารเปปไทด์ในตระกูล CHH/MIH/GIH (Udomkit and others,2000) จากกุ้งกุลาดำ เมื่อนำกรดอะมิโนของเปปไทด์เหล่านี้มาหาน้ำหนักโมเลกุลแล้วเปรียบเทียบกับผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าไม่มีเปปไทด์ตัวใดมีค่าน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกัน ดังนั้นคาดว่าเปปไทด์ที่ได้มีลำดับกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน

ในรายงานการศึกษาลำดับกรดอะมิโนของ CHH จากกุ้งคุรุมา *Penaeus japonicus* (Yang, Aida and Nagasawa,1995) พบว่า 5 พีคหลัก มีน้ำหนักโมเลกุล 8,368, 8,487, 8,353, 8,328 และ 8,314 ดาลตัน ซึ่งใกล้เคียงกับผลการทดลองในครั้งนี้ โดยสารคล้าย CHH ได้แก่ SGP46.39, SGP47.39 และ SGP47.40.24 มีน้ำหนักโมเลกุล 8,351.6, 8,355.3 และ 8,353.4 ดาลตัน และ SGP49.41.27 - SGP49.41.30 มีน้ำหนักโมเลกุล 8,310.6 - 8,313.8 ดาลตัน และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษา CHH ในกุ้งก้ามกราม (Sithigorngul and others,1999) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 8,538.1 ดาลตัน พบว่า SGP40.40.32 มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกัน คือ 8,538.7 ดาลตัน

## 5.2 สรุปผลการวิจัย

จากการนำสารสกัดจากต่อมไซนัสของกุ้งกุลาดำจำนวน 1,000 ต่อม มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการ RP-HPLC 2-3 ขั้นตอน โดยใช้คอลัมน์ C18, C8 และ Cyano และระบบตัวทำละลาย 2 ระบบ คือ acetonitrile / trifluoroacetic acid และ acetonitrile / heptafluorobutyric acid และใช้วิธีดูจากโครมาโตแกรมที่ 215 นาโนเมตร และ Dot-ELISA เพื่อการติดตามสารเปปไทด์ในระหว่างการทำให้บริสุทธิ์ พบว่า จากแฟรคชั่น 29 แฟรคชั่น ที่ได้จาก RP-HPLC ในขั้นตอนที่ 1 สามารถทำเปปไทด์ให้บริสุทธิ์ได้ 99 แฟรคชั่น ซึ่งจากการตรวจหาน้ำหนักโมเลกุลโดย MALDI-TOF MS พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 932.6 - 9,103.1 ดาลตัน สารเปปไทด์ที่ได้นี้บางแฟรคชั่นอาจเป็นรูปแบบเดียวกัน เพราะมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นจึงคาดว่าจะได้เปปไทด์บริสุทธิ์รูปแบบต่าง ๆ กันอย่างน้อย 59 รูปแบบ โดยเป็นสารคล้าย FMRFamide 11 รูปแบบ (ตารางที่ 5.1), สารคล้าย CHH 10 รูปแบบ (ตารางที่ 5.2), สารคล้าย CHH และ FMRFamide 7 รูปแบบ (ตารางที่ 5.3), สารคล้าย PDH 7 รูปแบบ (ตารางที่ 5.4), สารคล้าย PP6 1 รูปแบบ, สารคล้าย PDH และ PP6 1 รูปแบบ (ตารางที่ 5.5) และ สาร unknown 22 รูปแบบ (ตารางที่ 5.6)

**ตารางที่ 5.1** สารคล้าย FMRFamide

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP30.41 | 1621.8 | 2 |
| SGP31.32 | 1833.0 | 2 |
| SGP31.33 | 1303.2 | 2 |
| SGP32.30 ] | 1562.2 | 50 |
| SGP32.31 ] | 1895.5 | 44 |
| SGP33.24 ] | 1461.8 | 6 |
| SGP33.30 ] | 1560.2 | 18 |
| SGP33.31 ] | 1892.7 | 8 |
| SGP33.39 | 3001.5 | 95 |
| SGP34.28 | 2034.2 | 100 |
| SGP34.30 | 2517.2 | 20 |
| SGP3722 | 1075.6, 1098.0❖ | 4 |
| SGP38.47 | 5838.8 | 2 |

❖ อนุพันธ์ของเปปไทด์ที่มีโซเดียม ($Na^+$)

] คู่ของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

**ตารางที่ 5.2** สารคล้าย CHH

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP19.29 | 1340.8 | 445 |
| SGP20.29 | 1342.1 | 85 |
| SGP40.40.32 | $4273.3^{+}$, $8538.7^{+}$ | 55 |
| SGP40.40.33 | $4274.8^{+}$, $8540.5^{+}$ | 35 |
| SGP40.40.34 | $4272.9^{+}$, $8544.5^{+}$ | 10 |
| SGP40.41 | $4271.6^{+}$, $8523.0^{+}$ | 40 |
| SGP41.39 | $4265.8^{+}$, $8522.8^{+}$ | 260 |
| SGP41.40 | $4259.3^{+}$, $8508.2^{+}$ | 200 |
| SGP41.41 | $4259.0^{+}$, $8507.6^{+}$ | 70 |
| SGP41.42 | $4270.2^{+}$, $8533.7^{+}$ | 10 |
| SGP42.39 | $3836.2^{+}$, $7656.7^{+}$ | 47 |
| SGP42.41 | $4267.6^{+}$, $8530.2^{+}$ | 8 |
| SGP46.39 | $4179.5^{+}$, $8351.6^{+}$ | 290 |
| SGP47.39 | $4181.3^{+}$, $8355.3^{+}$ | 320 |
| SGP47.40.22 | $3960.4^{+}$, $7913.3^{+}$ | 8 |
| SGP47.40.24 | $4180.9^{+}$, $8353.4^{+}$ | 50 |
| SGP48.39.26 | $4114.9^{+}$, $8220.6^{+}$ | 140 |
| SGP48.39.27 | $4116.0^{+}$, $8221.4^{+}$ | 140 |
| SGP48.41.29 | $4183.8^{+}$, $8321.0^{+}$ | 180 |
| SGP48.41.30 | $4162.4^{+}$, $8309.3^{+}$ | 10 |
| SGP48.41.31 | $4156.3^{+}$, $8290.9^{+}$ | 65 |
| SGP48.45 | $4446.2^{+}$, $8891.8^{+}$ | 90 |
| SGP49.39.26 | $4114.9^{+}$, $8220.0^{+}$ | 210 |
| SGP49.39.27 | $4115.6^{+}$, $8221.9^{+}$ | 25 |
| SGP49.39.28 | $4118.5^{+}$, $8232.8^{+}$ | 5 |

**ตารางที่ 5.2** สารคล้าย CHH (ต่อ)

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP49.41.27 ┐ | 4176.1$^{2+}$, 8310.6$^{+}$ | 120 |
| SGP49.41.28 > | 4161.0$^{2+}$, 8311.3$^{+}$ | 120 |
| SGP49.41.29 | 4172.2$^{2+}$, 8313.8$^{+}$ | 50 |
| SGP49.41.30 ┘ | 4163.4$^{2+}$, 8311.4$^{+}$ | 50 |
| SGP51.41 | 3550.7 | 15 |

$^{+}$ โมเลคิวลาร์ไอออน

$^{2+}$ โมเลคิวลาร์ไอออนที่มีประจุ 2+

┐ คู่ของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

> กลุ่มของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

**ตารางที่ 5.3** สารคล้าย CHH และ FMRFamide

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP35.20 | 1695.7 | 14 |
| SGP35.24 | 1679.1 | 14 |
| SGP35.39 | 2415.9$^{2+}$, 4829.5$^{+}$ | 5 |
| SGP36.36 ┐ | 5985.1 | 15 |
| SGP36.37 ┘ | 5985.2 | 15 |
| SGP36.41 ┐ | 5493.5 | 30 |
| SGP36.42 ┘ | 2770.2$^{2+}$, 5491.8$^{+}$ | 20 |
| SGP38.43 | 4390.2$^{2+}$, 8747.8$^{+}$ | 34 |
| SGP38.44 | 4276.5$^{2+}$, 8536.5$^{+}$ | 4 |

✚ โมเลคิวลาร์ไอออน

✣ โมเลคิวลาร์ไอออนที่มีประจุ 2+

] คู่ของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

} กลุ่มของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

**ตารางที่ 5.4** สารคล้าย PDH

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP28.34 | 1444.1, 1466.4❖ | 170 |
| SGP28.35 | 1443.8 | 10 |
| SGP28.36 | 1444.5 | 8 |
| SGP38.29 | 1706.4 | 9 |
| SGP39.29 | 1946.1 | 10 |
| SGP40.23 | 1946.9 | 26 |
| SGP43.22 | 1944.8 | 2 |
| SGP45.23 | 1933.2 | 15 |
| SGP45.24 | 1933.2 | 15 |
| SGP45.27 | 1915.6 | 40 |
| SGP45.28 | 1915.8 | 40 |
| SGP46.29 | 1545.9 | 8 |
| SGP47.31 | 1047.3 | 2 |
| SGP50.34 | 3288.4 | 18 |
| SGP51.34 | 3284.5 | 35 |

❖ อนุพันธ์ของเปปไทด์ที่มีโซเดียม ($Na^+$)

] คู่ของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

} กลุ่มของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

**ตารางที่ 5.5** สารคล้าย PDH และ PP6

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) | Identification |
|---|---|---|---|
| SGP50.37 | 3460.5$^{+}$, 6897.7$^{+}$ | 300 | PP6 |
| SGP50.38 | 6900.1 | 50 | PP6 |
| SGP51.38 | 6906.3 | 15 | PP6 |
| SGP42.34 | 3289.8 | 4 | PDH,PP6 |
| SGP45.35 | 3284.6 | 10 | PDH,PP6 |

$^{+}$ โมเลคิวลาร์ไอออน

$^{+}$ โมเลคิวลาร์ไอออนที่มีประจุ 2+

] คู่ของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

} กลุ่มของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

**ตารางที่ 5.6** สาร Unknown

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP19.36 | 1477.0 | 6 |
| SGP19.42 | 2170.4 | 20 |
| SGP19.46 | 3290.4 | 15 |
| SGP20.48 | 3211.0 | 12 |
| SGP21.34 | 1410.0 | 1 |
| SGP21.38 | 1255.8 | 10 |
| SGP21.39 | 2287.4 | 4 |
| SGP23.31 | 932.6 | 8 |
| SGP23.41 | 5937.3 | 6 |

**ตารางที่ 5.6** สาร Unknown (ต่อ)

| Peptide | Molecular weight (dalton) | Peak hight (mV) |
|---|---|---|
| SGP25.36 | 1396.2 | 85 |
| SGP26.45 | 4572.0✣, 9103.1✚ | 115 |
| SGP30.35 ⌐ | 1131.0, 1153.4❖ | 200 |
| SGP31.24 \| | 1680.4 | 40 |
| SGP31.25 ⌐ | 1130.6, 1152.9❖ | 30 |
| SGP34.22 | 1405.6, 1444.0✣ | 22 |
| SGP37.24 ⌐ | 1690.8 | 25 |
| SGP37.25 ⌐ \| | 1691.8 | 3 |
| SGP37.32 \| | 4468.1 | 10 |
| SGP37.39 \| | 2416.9✣, 4831.7✚ | 26 |
| SGP38.25 ⌐ | 1694.3 | 4 |
| SGP42.36 | 2383.2✣, 4762.9✚ | 65 |
| SGP42.37 | 5189.2 | 5 |
| SGP43.40 | 3924.3✣, 7832.7✚ | 65 |
| SGP47.36 ⌐ | 3520.7✣, 7033.8✚ | 700 |
| SGP47.37 > | 3519.7✣, 7032.6✚ | 400 |
| SGP47.38 ⌐ | 3532.5✣, 7058.3✚ | 40 |
| SGP49.38 | 3456.9✣, 6909.1✚ | 25 |

✚ โมเลคิวลาร์ไอออน

✣ โมเลคิวลาร์ไอออนที่มีประจุ 2+

❖ อนุพันธ์ของเปปไทด์ที่มีโซเดียม ($Na^+$)

✣ อนุพันธ์ของเปปไทด์ที่มีโปแตสเซียม ($K^+$)

⌐ คู่ของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

> กลุ่มของแฟรคชั่นที่คาดว่าจะเป็นเปปไทด์รูปแบบเดียวกัน

## 5.3 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้ จึงเป็นแนวทางในการแยกสกัดสารเปปไทด์รูปแบบต่าง ๆ จากต่อมไซนัสและทราบขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์โดยที่สารยังคง activity อยู่ได้ ซึ่งจะทำให้การแยกสกัดสารเปปไทด์รูปแบบอื่น ๆ ทำได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูงขึ้น รวมทั้งสามารถจำแนกชนิดของเปปไทด์ส่วนใหญ่ที่มีแอนติบอดีได้

ดังนั้นการพิสูจน์ทราบถึงรูปแบบต่าง ๆ ของสารเปปไทด์จะสามารถนำไปสู่การหาลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน อันเป็นพื้นฐานสำคัญในการศึกษาบทบาทของสารเปปไทด์เหล่านี้ที่มีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและการดำรงชีวิตของกุ้งกุลาดำ อันอาจเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำต่อไปได้ นอกจากนี้การทราบถึงโครงสร้างของสารเปปไทด์จากต่อมไซนัสของกุ้งกุลาดำรูปแบบต่าง ๆ ยังเป็นพื้นฐานในการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ถอดรหัสให้สารเปปไทด์เหล่านี้ รวมทั้งการศึกษาถึงบทบาทการทำงานของสารเปปไทด์แต่ละชนิดที่มีรูปแบบต่าง ๆ ว่ามีบทบาทแตกต่างกันหรือไม่ และการที่มีเปปไทด์คล้าย ๆ กันเป็นจำนวนหลาย ๆ รูปแบบ มีความสำคัญอย่างไร ซึ่งนอกจากจะให้ความรู้ในแง่วิวัฒนาการของยีนของสารเปปไทด์แล้วยังจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์เปปไทด์รูปแบบต่าง ๆ และการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี เพื่อศึกษาถึงบทบาททางสรีรวิทยาของเปปไทด์ต่อไป