การลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วย ด้วยเอนไซม์ปาเปนในระบบปิด

DEPROTEINIZATION IN CUP-LUMP PARA RUBBER BY ADDING THE PAPAIN ENZYME IN THE CLOSED SYSTEM

กนกวรรณ คงสม

เพชร เนติปัญญา

สัณฐิติ รุ่งฤทธิ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วย ด้วยเอนไซม์ปาเปนในระบบปิด

DEPROTEINIZATION IN CUP-LUMP PARA RUBBER BY ADDING THE PAPAIN ENZYME IN THE CLOSED SYSTEM

T149481

กนกวรรณ คงสม
เพชร เนติปัญญา
สัณฐิติ รุ่งฤทธิ์

b 12884844
i
เลขหมู่
เลขทะเบียน 149481
รับเมื่อ วัน เดือน ปี 8 มี.ค. 2561

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEPROTEINIZATION IN CUP-LUMP PARA RUBBER BY ADDING THE PAPAIN ENZYME IN THE CLOSED SYSTEM

KANOKWAN KONGSOM
PHET NETIPANYA
SANTHITI RUNGRIT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (ENVIRONMENT CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยด้วยเอนไซม์ปาเปนในระบบปิด Deproteinization in the Cup-lump Para Rubber by Adding the Papain Enzyme in the Closed System
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนกวรรณ คงสม รหัสนักศึกษา 56050665 นายเพชร เนติปัญญา รหัสนักศึกษา 56050734 นายสัณฐิติ รุ่งฤทธิ์ รหัสนักศึกษา 56050766
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ธิปชัย วัฒนวิจารณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ. ดร. สุวรรณี จรรยาพูน ประธานกรรมการ	
ดร. เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการ	
ดร. ธิปชัย วัฒนวิจารณ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยด้วยเอนไซม์ปาเปนในระบบปิด
Deproteinization in the Cup-lump Para Rubber by Adding the Papain Enzyme in the Closed System

ชื่อนักศึกษา
นางสาวกนกวรรณ คงสม รหัสนักศึกษา 56050665
นายเพชร เนติปัญญา รหัสนักศึกษา 56050734
นายสัณฐิติ รุ่งฤทธิ์ รหัสนักศึกษา 56050766

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา เคมี
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2559
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ธิปชัย วัฒนวิจารณ์

บทคัดย่อ

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากน้ำยางพาราอาจก่อให้เกิดการแพ้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ ซึ่งเกิดจากการแพ้โปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงได้ทำการศึกษาการลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยด้วยเอนไซน์ในสภาวะปิด โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีแบรดฟอร์ด สำหรับในห้องปฏิบัติการจะทดสอบด้วยการเติมเอนไซน์ปาเปน พบว่า ชุดทดสอบที่เติมเอมไซน์ปาเปน ปริมาตร 600 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 1,071.43 ยูนิต/มิลลิลิตร) สามารถลดความเข้มข้นของปริมาณโปรตีนได้มากที่สุด คิดเป็น 12 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุมสภาวะเปิด ส่วนการทดสอบในพื้นที่จริง โดยการเติมเอนไซม์ปาเปน ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ก่อนทำการกรีดยางพาราและหลังทำการกรีดยางพารา สามารถลดความเข้มข้นของโปรตีนได้ 8 % และ 37 % ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมสภาวะเปิด จะเห็นได้ว่า การใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนหลังการกรีดยางพาราสามารถลดความเข้มข้นได้มากกว่าก่อนการกรีดยางพารา เนื่องจากหลังกรีดยางพาราสามารถเกิดการปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยเอนไซน์ปาเปนได้อย่างทั่วถึง สรุปได้ว่า สามารถลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยและได้ยางพาราก้อนถ้วยที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ

คำสำคัญ : การลดปริมาณโปรตีนในยางพารา, โปรตีนในน้ำยางพารา, ยางก้อนถ้วย, เอนไซน์ปาเปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Deproteinization in the Cup-lump Para Rubber by Adding the Papain Enzyme in the Closed System
Students	Miss Kanokwan Kongsom Student ID 56050665
	Mr. Phet Netipanya Student ID 56050734
	Mr. Santhiti Rungrit Student ID 56050766
Degree	Bachelor of Science (Environment Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2559
Advisor	Dr. Tipachai Vatanavicharn

Abstract

The present, products containing natural rubber latex (NRL) may cause allergic reactions by using these products. This is caused by allergies to proteins in NRL. Therefore, this special project has studied the deproteinization in the cup-lump para rubber by adding the papain enzyme in the closed system. Concentration protein was analyzed using by Bradford method. In laboratory, assay by adding papain enzyme 600 µL (1,071.43 unit/mL) was able the most reduced the protein concentration of 12% compared to control set (opened system). Field test that assay by adding the papain enzyme 3 mL both after and before rubber tapping were able to reduced the protein concentration calculated of 8% and 37% respectively compared with control set (opened system). For addition, adding the papain enzyme before rubber tapping was able to reduced the protein concentration more than after rubber tapping because the papain enzyme that added before rubber tapping can hydrolysis protein more thorough. In conclusion, the cup-lump para rubber was partially deproteinized and produce the low protein cup-lump para was produced.

Keyword : Deproteinization in para rubber, Protein in para rubber latex, Cup Lump, Papain enzyme

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษครั้งนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือความอนุเคราะห์ คำแนะนำ ตลอดจนกำลังใจที่ดีและเป็นประโยชน์จากบุคคลหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ ดร.ธิปชัย วัฒนวิจารณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่คอยให้คำปรึกษาคำแนะนำที่มีประโยชน์เป็นอย่างมาก คอยดูแลเอาใจใส่ รวมทั้งให้กำลังใจมาตลอดระยะเวลาที่ทำวิจัยและคอยตรวจสอบ ติชมผลงานในการจัดทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุวรรณี จรรยาพูนและดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ และได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องการตรวจทาน แก้ไข ตลอดจนคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ให้โครงงานพิเศษมีความถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่คอยอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์และสถานที่ในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่คอยชี้แนะอบรมสั่งสอน ให้คำปรึกษาให้กำลังใจที่ดีและให้ความอุปการะมาโดยตลอดมา ตลอดทั้งเพื่อนๆที่รักที่ให้กำลังใจที่ดีในทุกๆเรื่องซึ่งคอยให้ความช่วยเหลือ จนสามารถทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นอกจากนี้ยังมีบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลืออีกหลายท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือสำหรับการจัดทำโครงงานพิเศษซึ่งมิได้กล่าวในที่นี้ ทางผู้จัดทำจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

กนกวรรณ คงสม
เพชร เนติปัญญา
สัณฐิติ รุ่งฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ยางพารา 3
2.1.1 ประวัติความเป็นมาของยางพารา 3
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 4
2.1.3 พันธุ์ยางพารา 6
2.1.4 ยางพาราต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย 8
2.2 น้ำยางพารา 8
2.3 โปรตีนในยางพารา 9
2.3.1 ชนิดโปรตีนที่ตรวจพบในยางพารา 10
2.3.2 โปรตีนสารกระตุ้นการแพ้ในน้ำยาง 12
2.3.3 ปัญหาการเกิดอาการแพ้โปรตีนจากยางพารา 13
2.3.4 การแพ้โปรตีนจากยางพารา 16
2.3.5 การกำจัดโปรตีนในน้ำยางพารา 16
2.4 เอนไซน์ 17
2.4.1 เอนไซม์โปรติเอส 17
2.4.2 เอนไซม์ปาเปน 19
2.4.3 กลุ่มโปรตีนของเอนไซม์ปาเปน 19
2.4.4 ฟังก์ชันของเอนไซม์ปาเปน 20
2.4.5 ประโยชน์ของเอนไซม์ปาเปน 20
2.4.6 การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ปาเปนในภาคอุตสาหกรรม 21
2.4.7 การสูญเสียสภาพโปรตีนจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 21
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 22
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ 27
3.1.1 สารเคมี 27
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ 27
3.2 การเก็บน้ำยางพาราและรักษาสภาพน้ำยางพารา 28
3.3 การลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ 28
3.4 การลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ในยางพาราก้อนถ้วยจากน้ำยางพาราสดจากต้น 29
3.4.1 การสุ่มตัวอย่างประชากรต้นยางพารา 29
3.4.2 ลดปริมาณโปรตีนจากต้นยางพารา โดยการใส่สารสารเคมีก่อนทำการกรีดยางพารา 29
3.4.3 ลดปริมาณโปรตีนจากต้นยางพารา โดยการใส่สารสารเคมีหลังทำการกรีดยางพารา 30
3.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในยางพาราก้อนถ้วยด้วยวิธีแบรดฟอร์ด 30
3.5.1 การทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้นโปรตีนจากสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin: BSA) 30
3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัม 30
3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในก้อนยางพารา 31
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 32
4.1 ผลการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในห้องปฏิบัติการ 32
4.2 ผลการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในพื้นที่ 35
4.2.1 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนน้ำซีรัมและเนื้อยางในยางพาราก้อนถ้วย โดยใส่สารเคมีก่อนกรีดยางพารา 35
4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนน้ำซีรัมและเนื้อยางในยางพาราก้อนถ้วย โดยใส่สารเคมีหลังกรีดยางพารา 36
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 39
5.1 สรุปผลการวิจัย 39
5.2 ข้อเสนอแนะ 40
เอกสารอ้างอิง 41
ภาคผนวก 45
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี 46
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐานความเข้มข้นโปรตีน BSA 48
ภาคผนวก ค ผลการทดสอบทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab 16 Statistical 49
ภาคผนวก ง ผลการทดลองหาค่าความเข้มข้นโปรตีนในตัวอย่าง 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ข้อมูลผลิตผลทางการเกษตรของยางพารา โดยมีเนื้อที่ที่สามารถกรีดได้, ผลผลิตและผลผลิตต่อเนื้อที่ที่สามารถกรีดได้ของยางพารา ในปี พ.ศ. 2555-2557 4

ตารางที่ 2.2 ข้อมูลพันธ์ยางที่แนะนำให้ปลูก โดยจำแนกตามวัตถุประสงค์ของการปลูกเพื่อผลผลิตที่ต้องการ 7

ตารางที่ 2.3 สารอินทรีย์ที่ไม่ใช่ส่วนเนื้อยางในน้ำยาง โดยแสดงค่าความเข้มข้นโดยประมาณในหน่วย กรัมต่อ 100 กรัมยางพารา (g/100 g latex) 11

ตารางที่ 2.4 โปรตีนสารกระตุ้นในน้ำยางพาราและผลิตภัณฑ์ยาง 12

ตารางที่ 2.5 โปรตีนในกลุ่ม Pathogenesis-related ที่เป็นสารกระตุ้น และแหล่งที่พบ 13

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติ 14

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างผู้ป่วยที่เกิดการแพ้ยางธรรมชาติ 14

ตารางที่ ค-1.1 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ 49

ตารางที่ ค-1.2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ 49

ตารางที่ ค-1.3 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ 50

ตารางที่ ค-1.4 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ 50

ตารางที่ ค-2.1 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 51

ตารางที่ ค-2.2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 51

ตารางที่ ค-2.3 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 51

ตารางที่ ค-2.4 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 52

ตารางที่ ค-2.5 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2.6 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 52
ตารางที่ ค-2.7 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 53
ตารางที่ ค-2.8 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง 53
ตารางที่ ง-1.1 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ 54
ตารางที่ ง-1.2 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ 54
ตารางที่ ง-2.1 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางก่อนกรีดยางพารา 55
ตารางที่ ง-2.2 ค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางก่อนกรีดยางพารา 55
ตารางที่ ง-2.3 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางหลังกรีดยางพารา 56
ตารางที่ ง-2.4 ค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางหลังกรีดยางพารา 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ภาพแสดงชาวอินเดียนแดงชนเผ่าพื้นเมืองทำรองเท้าจากยางพาราดิบ 3
รูปที่ 2.2 ภาพแสดงลักษณะของยางพารา 5
รูปที่ 2.3 โครงสร้างแบบริบบิ้นของปาเปนจากมะละกอ *Carica papaya* 20
รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสพันธะเปปไทด์ของโปรตีน 22
รูปที่ 2.5 แสดงขั้นตอนกระบวนการย่อย (a) การใช้เอนไซม์บำบัด (Enzymatic treatment) และ (b) การชะล้างด้วยสารลดแรงตึงผิว (Surfactant washing) หรือการบำบัดทางกายภาพ (Physical treatment) 24
รูปที่ 4.1 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ 33
รูปที่ 4.2 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนเนื้อยางในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ 34
รูปที่ 4.3 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัมของตัวอย่างที่ใส่สารเคมีทิ้งไว้ในถ้วยรองน้ำยางก่อนทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ 36
รูปที่ 4.4 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในก้อนยางของตัวอย่างที่ใส่สารเคมีทิ้งไว้ในถ้วยรองน้ำยางก่อนทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ 36
รูปที่ 4.5 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัมของตัวอย่างที่ใส่สารเคมีในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ 37
รูปที่ 4.6 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในก้อนยางของตัวอย่างที่ใส่สารเคมีในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ 38
รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน Bovine serum albumin ช่วงความเข้มข้น 50-200 µg/mL 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
µm	ไมโครเมตร
2DE	การแยกโปรตีนด้วยวิธีโปรทีโอมิกซ์
AHA	Alpha hydroxyl acid
AVROS	พันธ์ยางจาก Algemene vereniging Rubberplanters Oostkust Sunatra
BALB/c	หนูทดลองสายพันธ์ภาวะเผือก
BPM	พันธ์ยางจาก Balai Penelitian Perkebunan, Sungei Putih, Medan
BSA	Bovine serum albumin
BWB	สารละลายแบรดฟอร์ดบัฟเฟอร์ (Bradford Working Buffer)
cm	เซนติเมตร
CTAB	Cetyltrimethyl ammonium bromide
DEP	Di-isopropyl-phosphofluoride
DPNR	ยางธรรมชาติที่กำจัดโปรตีนออก (Deproteinised or Deproteinized natural rubber)
EC	Enzyme Commission
EDTA	Ethylene diamine tetra-acetic acid
ET-NRL	ยางพาราธรรมชาติที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ (Enzyme-treated-NRL)
FW Complex	อนุภาคเฟรย์-วิสลิ่ง (Frey–Wyssling complex)
g	กรัม
H_2SO_4	Sulfuric acid
HA	น้ำยางพาราข้นชนิดแอมโมเนียสูง (High ammonia)
HCl	Hydrochloric acid
Hev	โปรตีนเฮวามีน (Hevamine)
IgE	การแพ้ที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (IgE-mediated)
kDa	กิโลดาลตัน
KOH	Potassium hydroxide
LTP	Lipid transfer protein
LTP	โปรตีนกลุ่ม Lipid transfer protein
M	Molar
mg	มิลลิกรัม
ml	มิลลิลิตร
MnSOD	โปรตีนกลุ่ม Manganese superoxide dismutase
NaOH	Sodium hydroxide
NK cell	การกระตุ้นเซลล์เพชฌฆาต (Natural killer cell)
NR particle	อนุภาคเนื้อยาง (Natural rubber particle)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

NRL	ยางพาราธรรมชาติ (Natural rubber latex)
°C	องศาเซลเซียส
PB	พันธ์ยางจาก Prang Besar
pH	ค่าความเป็นกรดเบส (Potential of Hydrogen ion)
pI	จุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point)
PR	พันธ์ยางจากสาธารณรัฐอินโดนีเซีย Proefstation voor Rubber
PR-proteins	โปรตีนสารกระตุ้นการแพ้ในน้ำยาง (Pathogenesis-related proteins)
RRIC	พันธ์ยางจากสถาบันวิจัยยางของประเทศศรีลังกา (Rubber Research Institute of India)
RRII	พันธ์ยางจากสถาบันวิจัยยางของประเทศอินเดีย (Rubber Research Institute of India)
RRIM	พันธ์ยางจากสถาบันวิจัยยางของประเทศมาเลเซีย (Rubber Research Institute of Malaysia)
RRIT	พันธ์ยางจากสถาบันวิจัยยางของประเทศไทย (Rubber Research Institute of Thailand)
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	การแยกโปรตีนตามขนาดโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า
SYS	วิธีการเลือกหน่วยตัวอย่างแบบมีระบบ (Systematic sampling)
TCA	Trichloroacetic acid
T-cell	เซลล์ทีเฮลเปอร์
TERIC(N_{10})	สารประกอบช่วยลดแรงตึงผิวของบริษัท TERIC ชนิด N10
TNBS	Trinitrobenzene Sulfonic acid
Tris-HCl	Tris hydrochloride buffer
Unit/mL	หน่วยเอนไซม์และแอกติวิตีจำเพาะของเอนไซม์มาตรฐานต่อมิลลิลิตรสารละลาย
Untreated NRL	ยางพาราที่ไม่ผ่านการบำบัด (Untreated NRL)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่สามารถสร้างรายได้เข้าประเทศได้ปีละหลายแสนล้านบาทและมีเนื้อที่ปลูกยางพารามากเป็นอันดับสองของโลกรองจากประเทศอินโดนีเซีย โดยมีเกษตรกรที่ปลูกยางพารารวมทั้งประเทศประมาณ 6 ล้านคน หรือประมาณ 10% ของประชากรทั้งประเทศ [1] ซึ่งน้ำยางจากต้นยางพารา (*Hevea brasiliensis*) ที่มีลักษณะของเหลวสีขาวหรือสีครีมหรือสีขาวปนเหลือง ข่นข้นคล้ายนม ซึ่งมีองค์ประกอบด้วยน้ำ 64%, เนื้อยาง 33%, สารกลุ่มโปรตีน 1-1.2%, สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรท 1% และเถ้า 1% ซึ่งเมื่อตรวจวัดสารกลุ่มโปรตีนที่พบในน้ำยางพารา พบว่าจะมีกลุ่มโปรตีนของ pathogenesis-related proteins (PR-protein) ได้แก่ “ß-1,3-Glucanases”, “Chitinases”, “Lipid transfer protein (LTP)”, “Hevamine; Hev b1, b2, b3, b4, b5”, “enolase” และ “MnSOD” ที่เป็นสารกระตุ้นที่จะทำให้เกิดอาการแพ้ต่าง ๆ เช่น เป็นผื่น ลมพิษ หอบหืด รวมไปจนถึงภาวะช็อกซึ่งอาจทำให้เสียชีวิตได้ โดยจะทำให้ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์จำนวนหนึ่งเกิดอาการแพ้จากการใช้ผลิตภัณฑ์จากยางพารา เช่น ถุงมือยาง , ถุงยางอนามัย, สายยางยืด, จุกนมเด็ก เป็นต้น

จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับปริมาณโปรตีนในน้ำยางพารา ซึ่งสามารถลดหรือกำจัดปริมาณโปรตีนที่ก่อให้เกิดอาการภูมิแพ้ออกจากน้ำยางพารา โดยได้มีการเติมเอนไซม์โปรติเอส คือ ปาเปน (papain) ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีนและเป็นเอนไซม์ประเภทไฮโดรเลส (hydrolase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีน โดยจะตัดพันธะเปปไทด์ของพอลิเพปไทด์ได้เป็นเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ [2] ที่สามารถแบ่งออกตามกลไกการทำงานได้เป็น 4 ประเภท คือ “serine protease”, “cysteine protease”, “metal-containing protease” และ “aspartic protease” [3] ซึ่งเอนไซม์ปาเปนจัดอยู่ในกลไกการทำงาน cysteine protease ที่จัดเป็น neutral protease มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในช่วง pH = 5.0-9.0 ซึ่งสามารถสกัดได้จากพืช เช่น มะละกอ และจุลินทรีย์บางชนิด เป็นต้น และสามารถหาได้ง่าย

ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงได้ดำเนินการลดหรือกำจัดปริมาณโปรตีน ด้วยการนำโปรตีนออกจากน้ำยางพารา (deproteinization) โดยใช้เอมไซน์ปาเปนในการศึกษาคุณสมบัตินำมาใช้ในการลดหรือกำจดโปรตีนที่เหมาะสม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อภาคการเกษตรและอุตสาหกรรมยางพารา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยด้วยเอนไซม์ปาเปนในระบบปิด

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ศึกษาการใช้เอนไซม์ปาเปนในการลดปริมาณปริมาณโปรตีนในน้ำยางพารา

2) ตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่ลดลงในยางพารา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ลดปริมาณโปรตีนในน้ำยางพาราและได้น้ำยางพาราที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ยางพารา

2.1.1 ประวัติความเป็นมาของยางพารา

ยางพารา (*Hevea brazilliensis* Müell.-Arg.) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในลุ่มแม่น้ำอะเมซอนของทวีปอเมริกา ซึ่งชาวอินเดียนแดงชนเผ่าพื้นเมืองได้รู้ถึงประโยชน์ของยางและนำมาใช้ในการทำผ้ากันน้ำกันฝน ทำรองเท้าและขวดยาง เป็นต้น โดยชาวยุโรปคนแรกที่เป็นคนค้นพบยางพารา คือ คริสโตเฟอร์ โคลัมบัส (Christopher Columbus) จากการที่โคลัมบัสได้สำรวจทวีปอเมริกา ครั้งที่ 2 (พ.ศ. 2036-2039) ได้สังเกตเห็นชาวเมืองเกาะไฮติ (Haiti) ใช้ลูกบอลยางสำหรับเล่นเกมส์ต่างๆ

รูปที่ 2.1 ภาพแสดงชาวอินเดียนแดงชนเผ่าพื้นเมืองทำรองเท้าจากยางพาราดิบ [4]

ชาวยุโรปจึงได้ทำการสำรวจ ศึกษากรรมวิธีการผลิตและคุณประโยชน์ของยาง จึงได้นำตัวอย่างก้อนยางไปทำการวิเคราะห์ นับเป็นเหตุการณ์ที่ทำให้ชาวยุโรปได้เห็นและเริ่มรู้จักยาง จนกระทั่งได้มีการนำยางไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย มีปริมาณความต้องการใช้ยางเพิ่มขึ้นจนไม่พอกับความต้องการ จึงได้หาทางไปปลูกยังแหล่งอื่นๆ โดยเฉพาะในทวีปเอเชียซึ่งมีภูมิอากาศคล้ายคลึงกัน

อังกฤษเป็นผู้ริเริ่มเอายางพารามาปลูกในเอเชียเป็นครั้งแรก เมื่อ พ.ศ. 2416 ที่เมืองกัตตา ประเทศอินเดีย จำนวน 6 ต้น โดยเซอร์คลีเมนส์ มาร์คแฮม (Sir Clements Markham) แต่ไม่ประสบความสำเร็จ

เมื่อ พ.ศ. 2420 อังกฤษได้นำยางพาราปลูกในสวนพฤกษชาติสิงคโปร์จำนวน 13 ต้น และในกัวลากังซา รัฐเปรัค ประเทศมาเลเซีย จำนวน 9 ต้น ซึ่งเป็นรากฐานที่ทำให้มีการทำสวนยางเป็นอาชีพในภูมิภาคนี้ จนเป็นแหล่งผลิตยางธรรมชาติแหล่งใหญ่ของโลกในปัจจุบัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับในประเทศไทย พระยารัษฎานุประดิษฐ์ มหิศรภักดี (คอซิมบี้ ณ ระนอง) ในสมัยดำรงตำแหน่งผู้ราชการเมืองตรัง ได้เป็นผู้นำต้นยางจากประเทศมาเลเซีย เข้ามาปลูกที่อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง ใน พ.ศ. 2442-2444 แล้วได้ชักชวนราษฎรดำเนินรอยตาม ถัดมาใน พ.ศ. 2454 หลวงราชไมตรี (ปูม ปุณศรี) ได้นำต้นยางจากมาเลเซีย ไปปลูกสวนยางที่จังหวัดจันทบุรี [5-7] จากนั้นเป็นต้นมาเนื้อที่ปลูกยางพาราของประเทศไทยได้ขยายตัวอย่างรวดเร็ว [8]

ตารางที่ 2.1 ข้อมูลผลิตผลทางการเกษตรของยางพารา โดยมีเนื้อที่ที่สามารถกรีดได้, ผลผลิตและผลผลิตต่อเนื้อที่ที่สามารถกรีดได้ของยางพารา ในปี พ.ศ. 2555-2557 [9]

จังหวัด	เนื้อที่กรีดได้ (ล้านไร่)			ผลผลิต (ล้านตัน)			ผลผลิต/เนื้อที่กรีด (กิโลกรัม)		
	2555	2556	2557	2555	2556	2557	2555	2556	2557
รวมทั้งประเทศ	15.599	16.462	18.223	4.098	4.305	4.566	263	262	251
ภาคเหนือ	0.303	0.454	0.564	0.063	0.088	0.098	210	195	175
ภาคอีสาน	2.220	2.498	2.914	0.473	0.556	0.629	213	223	216
ภาคกลาง	1.815	1.940	2.077	0.470	0.491	0.514	259	253	248
ภาคใต้	11.259	11.569	12.667	3.090	3.168	3.323	274	274	262

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ยางพาราเป็นพืชยืนต้นขนาดใหญ่ มีอายุยืนยาวหลายสิบปี ปัจจุบันมีต้นยางพาราที่มีอายุมากๆ ในป่าลุ่มแม่น้ำอเมซอนเป็นจำนวนมาก ต้นที่เจริญเติบโตในประเทศบราซิลและในประเทศข้างเคียง ลำต้นวัดโดยรอบได้กว่า 3-5 เมตร ถ้าเป็นต้นที่สมบูรณ์และอยู่ในที่ที่ระบายน้ำได้ดี จะมีความสูงถึง 40 เมตร แต่ต้นที่ปลูกในทวีปเอเชียจะเล็กลงมาก ลำต้นของต้นที่ปลูกด้วยเมล็ดจะโตประมาณ 1-2 เมตร และถ้าเป็นต้นติดตา ลำต้นจะโตไม่เกิน 1 เมตร ส่วนความสูงก็ ลดลงเหลือเพียงประมาณ 15-20 เมตรเท่านั้น ต้นยางมีเปลือกที่น้ำยางจะไหลออกได้ หนาประมาณ 6.5-15 มิลลิเมตร ทรงต้นที่สมบูรณ์มักจะสูง ชะลูด กิ่งแยกมักแยกตั้งขึ้นไปประมาณ 45 องศาจากลำต้น ใบมักจะรวมเป็นพุ่มที่ส่วนปลายของกิ่ง แต่ละก้านใบแยกออกเป็น 3 ใบ แต่ละใบใน 3 ใบกว้างประมาณ 5-10 เซนติเมตร และยาวประมาณ 10-20 เซนติเมตร ในทางพฤกษศาสตร์ได้จัดให้ต้นยางพาราอยู่ในวงศ์ยูฟอร์เบียซีอี (Family Euphorbiaceae) ในสกุลฮีเวีย (Genus *Hevea*) ชนิดบราซิไลเอ็นซิส (Species *brasiliensis*) ต้นยางฮีเวีย มีประมาณ 20 ชนิด แต่ปรากฏว่า ฮีเวียบราซิไลเอ็นซิส (*Hevea brasiliensis*) เป็นชนิดที่ให้น้ำยางมากที่สุด และเนื้อยางก็มีคุณสมบัติทางวิทยาศาสตร์ดีกว่ายางชนิดอื่นๆ จึงปลูกกันแต่พันธุ์ฮีเวียบราซิไลเอ็นซิส เท่านั้น [10]

ลักษณะของยางพารา

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) : *Hevea brasiliensis* Müell.Arg.

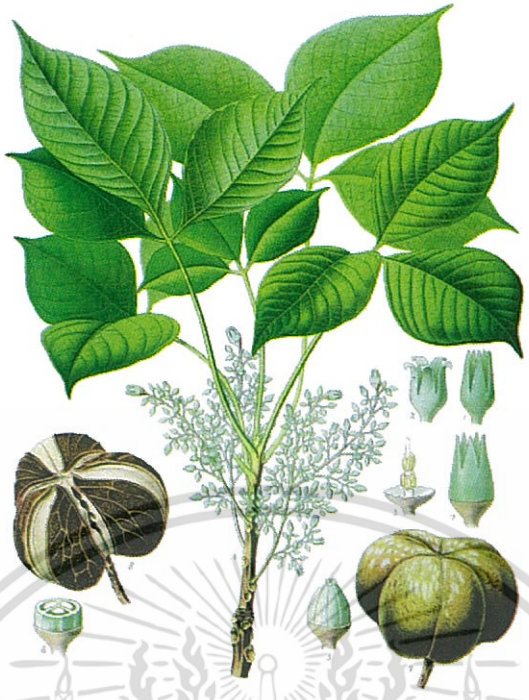
ชื่อสามัญ (Common name) : Para rubber, Rubber tree

วงศ์ (Family) : Euphorbiaceae

สกุล (Genus) : *Hevea*

ชนิด (Species) : *brasiliensis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 ภาพแสดงลักษณะของยางพารา [5]

ราก (root) เป็นระบบรากแก้ว (tap root system) ทั้งหมด 3 ประเภท คือ

1. รากแก้ว (tap root) มีขนาดใหญ่ไม่ยาวมาก ประมาณ 1.5-2.5 เมตร ทำหน้าที่ยึดลำต้นเป็นส่วนใหญ่

2. รากแขนง (lateral root) แตกออกจากรากแก้ว แผ่ออกไปไกลรอบทรงพุ่มของต้นยาง ทำหน้าที่ยึดลำต้นและดูดซึมธาตุอาหารและน้ำ

3. รากฝอย (fibrous root) เป็นรากที่แตกออกจากรากแขนงแผ่กระจายทั่วไปบริเวณทรงพุ่ม อยู่หนาแน่นมากบริเวณผิวดินและลึกลงไปไม่เกิน 30 เซนติเมตร ทำหน้าที่ดูดซึมธาตุอาหารและน้ำไปเลี้ยงส่วนต่างๆของต้นยาง

ลำต้น (stem) เป็นส่วนสำคัญเนื่องจากเป็นส่วนที่จะต้องเก็บเกี่ยวผลผลิตในรูปของน้ำยางพาราสด ต้นยางพาราเป็นไม้เนื้ออ่อน เนื้อไม้สีขาวปนเหลือง ลำต้นของยางพาราประกอบด้วยส่วนสำคัญๆ 3 ส่วน คือ

1. เนื้อไม้ (wood) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อไม้แข็ง (pith) ที่จะอยู่ในกลางลำต้นและส่วนที่เป็นไม้เนื้ออ่อน (wood) จะอยู่ถัดมาจากกลางลำต้น

2. เยื่อเจริญ (cambium) เป็นเยื่อบางๆ อยู่โดยรอบเนื้อไม้ มีหน้าที่สร้างความเจริญเติบโตให้กับต้นยาง

3. เปลือกไม้ (bark) อยู่ถัดจากเยื่อเจริญออกมาด้านนอกสุด เป็นส่วนที่มีความสำคัญเพราะท่อน้ำยางจะอยู่ในส่วนนี้ โดยเปลือกยางพาราจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ

เปลือกชั้นใน (soft bark zone) อยู่ติดกับเยื่อเจริญเป็นส่วนที่มีท่อน้ำยางเรียงตัวกันอยู่มาก เปลือกชั้นนี้จมีความอ่อนนุ่มเนื่องจากไม่มี stone cell อยู่เลย ความหนาของเปลือกค่อนข้างบาง หรือประมาณ 20–30% ของความหนาของเปลือกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลือกชั้นกลาง (hard bark zone) เป็นส่วนอยู่ถัดจากเปลือกชั้นในออกมากทางด้านนอก เป็นชั้นที่เยื่อเจริญสร้างขึ้นก่อนแล้วถูกดันออกมา เปลือกชั้นนี้จะมี stone cell ที่ทำให้เปลือกยางพาราแข็ง ท่อน้ำยางมีน้อย มีความหนาประมาณ 70-80% ของความหนาของเปลือกทั้งหมด

เปลือกชั้นนอก (cork) อยู่ด้านนอกสุด มีสีน้ำตาลตกกระ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ทำหน้าที่ห่อหุ้มป้องกันรักษาความชื้นให้แก่ส่วนของเปลือกที่อยู่ถัดเข้าไปข้างใน ส่วนนี้ไม่มีท่อน้ำยางอยู่

ใบ (leaf) ใบยางเป็นใบประกอบ (compound leaf) โดยทั่วไป 1 ก้านใบ (petiole) จะมีใบย่อย (leaf let) 3-5 ใบ ใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน ซึ่งมีหน้าที่หลักในการสังเคราะห์แสง หายใจและคายน้ำ ใบยางจะแตกออกมาเป็นชั้นๆ เรียกว่า ฉัตร (whorl) โดยปกติยางจะผลัดใบในฤดูแล้งทุกปี

ดอก (flower) ดอกยางทำหน้าที่ผสมพันธุ์ จะออกดอกตามปลายกิ่งของยางหลังจากที่ต้นยางผลัดใบ โดยออกพร้อมๆกับใบอ่อนที่แตกออกมาใหม่ ดอกมีลักษณะเป็นช่อแบบ panicle หรือ compound raceme แต่ละช่อมีหลายกิ่ง ซึ่งจะมีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในช่อเดียวกัน ซึ่งมีดอกตัวผู้มากกว่าดอกตัวเมีย ปกติยางจะออกดอกปีละ 2 ครั้ง ประมาณในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงมิถุนายนและในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม

ผล (fruit) ผลยางที่เกิดจากการผสมเกสรของตัวผู้และตัวเมีย ซึ่งจะเป็นการผสมแบบเปิด โดยผลยางจะมี 3 พู ในแต่ละพูมีเมล็ดอยู่ภายใน ผลอ่อนจะมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแข็ง โดยจะโตเต็มที่ประมาณ 2 เดือนครึ่งถึง 3 เดือน เมื่อแก่จัดผลจะแตกและร่วงหล่นลงมาเอง

เมล็ด (seed) เมล็ดยางมีสีน้ำคล้ายสีตาลลายขาวคล้ายสีของเมล็ดละหุ่ง มีขนาดยาวประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5-2.5 เซนติเมตร หนักประมาณ 3-6 กรัม ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ เปลือกเมล็ด (seed coat), เอ็นโดสเปอร์ม (endosperm) และต้นอ่อน (embryo) โดยเปลือกจะทำหน้าที่ป้องกันเอ็นโดสเปอร์มและต้นอ่อนไม่ให้ได้รับอันตรายจากสภาพแวดล้อมและในส่วนของต้นอ่อนจะประกอบไปด้วยใบเลี้ยง ปลายรากและยอดอ่อน [7]

2.1.3 พันธุ์ยางพารา

หลักในการเลือกใช้พันธุ์ยาง เนื่องจากผลผลิตของน้ำยางหรือเนื้อไม้ที่ได้จากการปลูกยางจะขึ้นกับปัจจัย 3 ประการ คือ พันธุ์, สภาพแวดล้อม และการปรับตัวของพันธุ์เข้ากับสภาพแวดล้อมนั้นๆ ดังนั้นการตัดสินใจเลือกปลูกยาง ใช้หลักการว่า จะต้องเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดและมีความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในพื้นที่ของเกษตรกรผู้ปลูก ซึ่งควรมีการพิจารณาตามขั้นตอน ดังนี้

1. พิจารณาว่าพื้นที่ปลูก มีสภาพแวดล้อมใดที่ไม่เหมาะสม เป็นข้อจำกัดที่สามารถแก้ไขได้หรือไม่ และส่งผลกระทบต่อการให้ผลผลิตมากน้อยเพียงใด เช่น เป็น พื้นที่ที่มีการระบาดของโรคใดรุนแรง พื้นที่ที่มีลมแรง หรือพื้นที่มีความลาดชันสูง หน้าดินตื้น เป็นต้น

2. พิจารณาลักษณะประจำพันธุ์แต่ละพันธุ์ จากเอกสารคำแนะนำพันธุ์ยางของสถาบันวิจัยยาง โดยเฉพาะลักษณะที่อ่อนแอต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นข้อจำกัด แล้วเลือกพันธุ์ที่สามารถปลูกในพื้นที่นั้นๆ ได้

3. ลำดับที่ของพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง จากเอกสารคำแนะนำพันธุ์ยาง แล้วเลือกพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุด ถือว่าเป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่ดังกล่าว [11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ยางพาราเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับในการปลูกหรือทำสวนยางพารา ซึ่งพันธุ์ยางแต่ละพันธุ์ก็มีลักษณะและคุณสมบัติ ตลอดจนข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกันไป ดังนั้นพันธุ์ยางที่แนะนำให้ปลูกออกเป็น 3 กลุ่ม เพื่อให้เกษตรกรเลือกพันธุ์ตามวัตถุประสงค์ของการปลูก คือ

กลุ่ม 1 พันธุ์ยางผลผลิตน้ำยางสูง เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตน้ำยางสูงเป็นหลัก สำหรับการปลูกที่เน้นผลผลิตน้ำยาง

กลุ่ม 2 พันธุ์ยางผลผลิตน้ำยางและเนื้อไม้สูง เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตในน้ำยางสูง และปริมาตรเนื้อไม้ส่วนลำต้นสูง เป็นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตได้ดี ลักษณะลำต้นตรง

กลุ่ม 3 พันธุ์ยางผลผลิตเนื้อไม้สูง เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตปริมาตรเนื้อไม้ส่วนลำต้นสูงมากเป็นหลัก เป็นพันธุ์ที่มี การเจริญเติบโตดีมาก ลักษณะลำต้นตรง ผลผลิตน้ำยางจะอยู่ในระดับต่ำกว่าพันธุ์ยางในกลุ่มที่ 1 และ 2

และในแต่กลุ่มที่แนะนำให้ปลูกตามวัตถุประสงค์ จะแบ่งออกเป็น 2 ชั้น ตามรายละเอียดข้อมูลดังนี้

พันธุ์ยางชั้น 1 แนะนำให้ปลูกโดยไม่จำกัดเนื้อที่ปลูก พันธุ์ยางในชั้นนี้ได้ผ่านการทดลองและศึกษาลักษณะต่างๆ อย่างละเอียด

พันธุ์ยางชั้น 2 แนะนำให้ปลูกโดยจำกัดเนื้อที่ปลูก โดยปลูกได้ไม่เกิน 30% ของเนื้อที่ปลูกยางที่ถือครอง แต่ละพันธุ์ควรปลูกไม่น้อยกว่า 7 ไร่ พันธุ์ยางในชั้นนี้อยู่ระหว่างการศึกษาลักษณะบางประการเพิ่มเติม เกษตรกรที่มีจะเลือกปลูกพันธุ์ยางชั้นนี้ ควรรับคำแนะนำจากสถาบันวิจัยยาง [11]

ตารางที่ 2.2 ข้อมูลพันธ์ยางที่แนะนำให้ปลูก โดยจำแนกตามวัตถุประสงค์ของการปลูกเพื่อผลผลิตที่ต้องการ [11]

กลุ่ม 1 : พันธุ์ยางผลผลิตน้ำยางสูง				
พันธุ์ยางชั้น 1	RRIT 251	RRIT 226	BPM 24	RRIM 600
พันธุ์ยางชั้น 2	RRIT 209	RRIT 214	RRIT 218	RRIT 225
	RRIT 250	RRIT 319	RRIT 405	RRIT 406
	RRIC 100	RRIC 101	PR 302	PR 305
	Haiken 2			

กลุ่ม 2 : พันธุ์ยางผลผลิตน้ำยางและเนื้อไม้สูง				
พันธุ์ยางชั้น 1	PB 235	PB 255	PB 260	RRIC 110
พันธุ์ยางชั้น 2	RRIT 312	RRIT 325	RRIT 404	RRIT 407
	RRIT 409	RRIC 121		

กลุ่ม 3 : พันธุ์ยางผลผลิตเนื้อไม้สูง				
พันธุ์ยางชั้น 1	RRIT 50	AVROS 2037	BPM 1	
พันธุ์ยางชั้น 2	RRIT 401	RRIT 403	RRII 118	RRII 203

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ยางพาราต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย

ยางพาราถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สาคัญที่สามารถทำรายได้เข้าประเทศไทยได้ปีละหลายแสนล้านบาท มีเกษตรกรที่ปลูกยางพารารวมทั้งประเทศประมาณ 6 ล้านคน หรือประมาณ 10% ของประชากรทั้งประเทศ ในปี พ.ศ. 2557 และปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยมีเนื้อที่ปลูกยางพาราประมาณ 17.73 ล้านไร่ และ 18 ล้านไร่ ได้ผลผลิต 4.20 ล้านตัน และ 4.43 ล้านตัน ซึ่งมีเนื้อที่ปลูกยางพารามากเป็นอันดับสองของโลกรองจากประเทศอินโดนีเซีย แต่อย่างไรก็ตามมีการส่งออกยางพาราเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยในปี พ.ศ. 2557 และปี พ.ศ. 2558 มีปริมาณส่งออกรวมทั้งสิ้น 3,770,649 เมตริกตัน และ 3,749,456 เมตริกตัน และมีมูลค่าการส่งออกทั้งสิ้น 193,749.21 ล้านบาท และ 170,418.73 ล้านบาท ตามลำดับ [12]

ขณะที่ความต้องการใช้ยางพาราในประเทศ ในปี พ.ศ. 2557 และปี พ.ศ. 2558 มีการใช้เพียง 541,003 ตัน และ 582,000 ตัน ซึ่งถ้าคำนวณแล้วจะพบว่า การใช้ยางพาราในประเทศประมาณ 13% จากผลผลิตที่ผลิตได้ทั้งหมด โดยใช้ในอุตสาหกรรมยางล้อ ถุงมือยาง ยางยืดยางรัดของและอุตสาหกรรมอื่นๆ ซึ่งถ้าคิดเป็นร้อยละของการใช้ยางพาราในอุตสาหกรรมต่างๆ ของปี พ.ศ. 2558 จะพบว่า ใช้ในอุตสาหกรรมยางล้อ 66% ถุงมือยาง 12.16% ยางยืด 14% ยางรัดของ 2.83% และอุตสาหกรรมอื่นๆ 5%

จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าจากปริมาณการส่งออกรวมและมูลค่าการส่งออกรวมของยางพาราในปี พ.ศ. 2557 และปี พ.ศ. 2558 มีแนวโน้มที่ลดลง อาจมีสาเหตุจากผลผลิตยางพาราล้นตลาด เนื่องจากได้มีการเพิ่มพื้นที่ในการเพาะปลูกยางพาราทำให้เกิดกลไกของราคาสินค้าขึ้นอยู่กับอุปสงค์และอุปทานของสินค้า นอกจากนี้ยังมีความผันผวนของเศรษฐกิจโลกและประเทศคู่ค้ายางพารารายใหญ่ของไทย ได้แก่ ประเทศจีน มีภาวะเศรษฐกิจที่ชะลอตัวลง แต่อย่างไรก็ตามคุณภาพยางพาราของประเทศไทยยังได้เปรียบคู่แข่ง เนื่องจากมีความยืดหยุ่นสูงกว่าและเป็นที่ยอมรับของตลาดมากกว่า รวมทั้งเหมาะแก่การนำไปใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ยางได้หลากหลายประเภท แต่ในอนาคต ถ้าคู่แข่งทางการค้าโดยเฉพาะประเทศเวียดนามสามารถขยายการผลิตและพัฒนาคุณภาพยางได้ดีขึ้นอย่างต่อเนื่อง ก็จะส่งผลกระทบต่อระดับการแข่งขันของไทยในตลาดจีนได้ [9]

2.2 น้ำยางพารา

น้ำยางพารา เป็นของเหลวสีขาวถึงขาวปนเหลือง ข่นข้น อยู่ในท่อน้ำยางซึ่งเรียงตัวกันอยู่ในส่วนเปลือกของต้นยางพารา การที่จะเอาน้ำยางออกจากต้นยางจะต้องใช้มีดกรีดยางเพื่อตัดท่อน้ำยางให้ขาดออกจากกัน ในน้ำยางจะมีส่วนประกอบหลักที่สำคัญอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยาง (เนื้อยางแห้ง) และส่วนที่ไม่ใช่ยาง

น้ำยางพารา มีความหนาแน่น 0.98 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ pH = 6.8 เมื่อตรวจดูในห้องปฏิบัติการจะพบว่า มีอนุภาคขนาดต่างๆ กันแขวนอยู่ในของเหลว อนุภาคเหล่านี้จะมีประจุเป็นลบ ผลักกันอยู่ตลอดเวลา ทำให้อนุภาคเหล่านั้น แขวนลอยและคงสภาพเป็นน้ำยางอยู่ได้จนกว่าจะมีสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่างๆ มารบกวนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะทำให้น้ำยางเสียเสถียรภาพและจับตัวกันเป็นก้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำยางพาราประกอบด้วยปริมาณของแข็งทั้งหมด 22-48%, ปริมาณเนื้อยางแห้ง 25-45%, ปริมาณโปรตีน 1.5%, ปริมาณเรซิน 2%, ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 1% และปริมาณสารอนินทรีย์ 0.5% ในส่วนประกอบของน้ำยาง สามารถแบ่งออกเป็นส่วนสำคัญได้ 2 ส่วนคือ

1. ส่วนที่เป็นเนื้อยาง ประมาณ 35% เป็นอนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในน้ำยาง ซึ่งสารประเภทสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอน โดยมีเนื้อยางมีความหนาแน่น 0.92 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.002-0.003 ไมครอน ไม่ละลายน้ำรูปทรงมีทั้งทรงกลมและทรงรี ในสภาพของน้ำยางจะถูกห่อหุ้มด้วยชั้นของสารจำพวกไขมันและสารจำพวกโปรตีนในเนื้อยางแห้ง (dry Rubber Content) ประกอบด้วยยาง (hydrocarbon) 86%, น้ำ (การกระจายอยู่ใน hydrocarbon) 10%, สารพวกไขมัน 3%, สารพวกโปรตีน 1%, โลหะบางชนิด เช่น แมกนีเซียม โปแตสเซียม และทองแดงประมาณ 0.5%

2. ส่วนที่ไม่ใช่ยาง ประมาณ 65% ส่วนนี้ประกอบด้วย ส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำหรือที่เรียกว่า ซีรัม (serum) และส่วนของลูตอยด์ (lutoid) และสารอื่น

2.1. ส่วนที่เป็นน้ำหรือเรียกว่า ซีรัม (serum) มีความหนาแน่น ประมาณ 1.02 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ประกอบด้วยสารพวกคาร์โบไฮเดรต และกรดอะมิโน

2.2. ส่วนของลูตอยด์ (lutoid) และสารอื่น

ลูตอยด์เป็นอนุภาคกลม มีเยื่อบางหุ้มอยู่ ลูตอยด์ขนาดใหญ่กว่าอนุภาคของยางมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-5 ไมครอน ภายในเยื่อบาง ประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่า บี-ซีรัม ที่มีส่วนของสารละลาย กรด เกลือ โปรตีน น้ำตาล และโพลีฟิ นอลอ๊อกซิเดส ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ยางมีสีคล้ำ เมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศของเหลวในลูตอยด์ มี pH = 5.5 ลูตอยด์จะบวมพองและแตกออกเมื่อเติมน้ำลงไปในน้ำยาง เป็นผลให้ยางมีความหนืดเพิ่มขึ้นในการกรีดยาง เมื่อน้ำยางไหลออกได้สักครู่ความเข้มข้นของน้ำยางในท่อน้ำยางจะเจือจางลง เป็นผลให้ลูตอยด์เกิดการพองตัวและแตกออกทำให้น้ำยางจับตัวอุดท่อน้ำยางและน้ำยางหยุดไหล

สารอื่นๆ หรือที่เรียกว่า อนุภาคเฟรย์-วิสลิ่ง (Frey-wyssling complex) เป็นอนุภาคที่มีสีเหลืองเข้มซึ่งมีสีเหลืองเข้มจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของสารคาโรตินอย (carotiniod) ที่ประกอบอยู่ขนาดใหญ่กว่าอนุภาคของยางและมีความหนาแน่นมากกว่ายาง เล็กน้อยน้ำยางมีส่วนประกอบของไขมันรวมอยู่ด้วย

2.3 โปรตีนในยางพารา

เนื่องจากในน้ำยางพารามีโปรตีนหลายชนิดเป็นส่วนประกอบ ซึ่งในโปรตีนเหล่านั้น พบว่ายังมีโปรตีนที่จัดเป็นโปรตีนที่เป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้และถูกจัดให้เป็นโปรตีนในกลุ่ม Pathogenesis-related proteins (PR-proteins) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่พืชเกิดสภาวะเครียดการติดเชื้อโรค เกิดสภาพพยาธิวิทยา หรือการกระตุ้นจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต ปัจจุบันมีการแยกโปรตีนที่คล้ายกับโปรตีน PR-proteins ได้ คือ PR-proteins family 2, 3, 4, 5, 8, 10 และ 14 ซึ่งเป็นโปรตีนโมเลกุลขนาดเล็ก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5-70 กิโลดาลตัน ยิ่งไปกว่านั้น 15% ของโปรตีนสารกระตุ้นนี้ถูกพบว่าเป็นโปรตีนในกลุ่มแอนติออกซิเดนซ์โปรตีน เช่น Superoxide dismutase และ Peroxidase ข้อมูลจากการวิจัยเหล่านี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำมาใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ในการค้นคว้า เพื่อพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยางชนิดต่างๆ เพื่อแก้ปัญหาการแพ้ยางพารา ตลอดจนการปรับปรุงพันธุ์ยางพารา นอกจากนี้ PR-proteins แอนติออกซิเดนซ์โปรตีน และ Latex allergens activated protein ในน้ำยางพาราจะถูกศึกษาและจำแนกต่อไป ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในทางอาหาร การเกษตร ทางการแพทย์ได้

2.3.1. ชนิดโปรตีนที่ตรวจพบในยางพารา

ในน้ำยางพารามีส่วนประกอบหลักอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยาง (เนื้อยางแห้ง) ประมาณ 35% และส่วนที่ไม่ใช่ยาง โดยส่วนที่ไม่ใช่ยางนี้มีส่วนที่เป็นน้ำหรือที่เรียกว่าซีรัม และส่วนที่เป็นลูตอยด์ (lutoid) ส่วนที่ไม่ใช่ยาง พบว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบประมาณ 1% (ตารางที่ 2.3) จากการสกัดและวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนในน้ำยางพาราโดยมีรายงานการแยกโปรตีนในน้ำยางพาราสดด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (ultracentrifugation) และการแยกโปรตีนตามขนาดโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) [13-15] สามารถแบ่งโปรตีนได้เป็น 4 กลุ่มดังนี้ คือ

1. โปรตีนในกลุ่มสร้างน้ำยาง (Biosynthesis of polyisoprene) ได้แก่ Hevamine; Hev b1, 3 และ 7

2. โปรตีนในกลุ่มที่เกี่ยวกับการจับตัวกันของอนุภาคในน้ำยางได้แก่ Hevamine; Hev b6

3. โปรตีนในกลุ่ม Pathogenesis-related (PR)-protein ได้แก่ β-1,3-Glucanases, Chitinases, Lipid transfer protein (LTP), Hevamine; Hev b1, b2, b3, b4, b5, enolase และ MnSOD โปรตีนในกลุ่มนี้จะถูกสร้างเมื่อมีสิ่งกระตุ้นจากความเครียดทางด้านกายภาพและเคมีการติดเชื้อโรค บาดแผล สิ่งแวดล้อมภายนอก รวมถึงระยะการพัฒนาของพืชอีกด้วย

4. โปรตีนในกลุ่มแอนติออกซิเดนซ์ ได้แก่ Superoxide dismutase และ Peroxidase

โปรตีนในกลุ่มของ PR-protein [16] เช่น โปรตีน Chitinases ชนิด Endochitinase เป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืชต่างๆ นอกจากนี้ยังย่อยสลายไคตินได้ผลิตภัณฑ์เป็นไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โมเลกุลใหญ่ขนาด 5-7 โมเลกุล ซึ่งมีประโยชน์ทางการแพทย์ใช้ในการรักษาโรคข้อกระดูกเสื่อม เป็นสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulation) ยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (tumor suppression) และการกระตุ้นเซลล์เพชฌฆาต หรือ Natural killer cell (NK cell) และอีกกลุ่มได้แก่ กลุ่มของแอนติออกซิเดนซ์ เช่น Manganese superoxide dismutase (MnSOD) และ Peroxidase เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 สารอินทรีย์ที่ไม่ใช่ส่วนเนื้อยางในน้ำยาง โดยแสดงค่าความเข้มข้นโดยประมาณในหน่วย กรัมต่อ 100 กรัมยางพารา (g/100 g latex) [17]

น้ำยางพาราสด							
ชั้นบนส่วนเนื้อยาง (Rubber Phase)		อนุภาคเฟรย์-วิสลิ่ง (FW Complex)	น้ำซีรัม (Serum)		ชั้นล่างสุด (Bottom Fraction)	
Proteins	*0.26*	Carotenoids	*Proteins*	*0.46*	*Proteins*	*0.28*
Phospholipids	0.43-0.50	Plastochromanol	Total cyclitols	0.3-0.8	Total cyclitols	0.2-0.3
Pigments	0.15	Phospholipid	Sucrose	0.1-0.3	Sucrose	0.06-0.08
Sterol esters		Glycolipids	Glucose	0.01	Glucose	0.03
Fatty acid esters		(mainly sterol glucosides,	Glutathione	0.01	Phospholipids	0.04-0.05
Waxes		free and esterified)	Free amino acid	0.08	Glycolipids	0.02
Triglycerides	0.38		Ascorbic acid	0.02	Pigments	
Sterols, mainly β-sitosterol	0.11		Other organic acids		Sterol esters	
Free fatty acids	0.07		Nitrogenous bases	0.04	Fatty acid esters	
Tocotrienols			Ribonucleic acids	0.02	Waxes	
Phenolic compounds	0.06		Deoxyribonucleic acids		Triglycerides	002
Diglycerides	0.05		Mononucleotides	0.02	Sterols	0.04
Monoglycerides					Free fatty acids	0.05
Alcohols					Tocotrienols	
Furanoid fatty acid					Phenolic compounds	0.01
(esterified as triglyceride)					Diglycerides	0.01
					Monoglycerides	
					Alcohols	
					Trigoneline	0.007
					Ergothioneine	0-0.05
					Plantoquinone	
					Ubiquinone	

โปรตีนส่วนใหญ่ที่พบในน้ำยาง เป็นโปรตีนสารกระตุ้นที่ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ จากการใช้ผลิตภัณฑ์ยาง [18-19] เช่น ถุงมือยาง ถุงยางอนามัย จุกนมเด็ก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบสารที่มีส่วนประกอบ น้ำตาล แอลกอฮอล์และสารแอลฟาไฮดรอกซิเอซีฟ (AHA) เป็นต้น ปัจจุบันได้มีการพัฒนาน้ำยางพาราใช้เป็นส่วนประกอบในเวชสำอางเพื่อลดริ้วรอยชะลอความชรา ลดความหมองคล้ำให้หน้าขาวใสเนียนขึ้นภายในสองถึงสามสัปดาห์

จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา มีการนำเทคนิคทางด้านโปรทีโอมิกซ์ มาใช้ในการแยกโปรตีนและใช้เทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunoblotting) เพื่อตรวจหาโปรตีนสารกระตุ้น (allergen) [20-21] ในน้ำยางพาราสดและผลิตภัณฑ์จากยางพารา ที่ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ การแยกโปรตีนด้วยวิธีโปรทีโอมิกซ์ (2DE) ใช้หลักความแตกต่างทั้งน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของโปรตีนแต่ละชนิด ทำให้สามารถแยกโปรตีนทั้งหมดได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ การศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการแยกโปรตีนในน้ำยางพาราพันธุ์ RRIT 251 และ RRIM 600 ด้วยวิธี SDS-PAGE และ 2-DE จากการศึกษาพบว่า มีความยากในการสกัดโปรตีนทั้งหมดจากน้ำยางทั้งสองชนิด และเมื่อนำมาแยกโปรตีน พบว่า แถบโปรตีนและจุดของโปรตีนที่แยกได้มีจำนวนน้อย ปัญหานี้เนื่องจากความหนืดของน้ำยางทำให้สกัดโปรตีนทั้งหมดได้น้อยอาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า วิธีการสกัดโปรตีนทั้งหมดจากน้ำยางพารายังไม่เหมาะสมซึ่งควรได้รับการปรับปรุงให้สามารถสกัดโปรตีนได้มากขึ้นต่อไป [22]

2.3.2 โปรตีนสารกระตุ้นการแพ้ในน้ำยาง (Natural Rubber Latex Allergen)

มีการศึกษาโปรตีนที่อยู่ในน้ำยาง ที่เป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ ในกลุ่มของผู้ใช้งานหรือทำงานที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ยาง เช่น ถุงมือยาง สามารถแบ่งโปรตีนตามขนาดโมเลกุลได้ตั้งแต่โปรตีนขนาด 4.7-115 กิโลดาลตัน ได้แก่ โปรตีน Hevein; Hev 1-13 (ตารางที่ 2.4) [23]

ตารางที่ 2.4 โปรตีนสารกระตุ้นในน้ำยางพาราและผลิตภัณฑ์ยาง [23]

ชื่อดั้งเดิม (Original name)	ชื่อเรียกตามระบบ	มวลโมเลกุล (กิโลดาลตัล)
Rubber elongation factor (REF)	Hev b 1	14.6
ß -1,3-glucanase	Hev b 2	34-36
23-27 kD Rubber particle protein	Hev b 3	23-27
Microhelix protein complex	Hev b 4	100-115
Acid C-serum protein	Hev b 5	16
Prohevein	Hev b 6.1	20
Hevein	Hev b 6.2	4.7
Prohevein C-domain	Hev b 6.3	14
Patatin-like protein	Hev b 7	42.9
Larex profi ling	Hev b 8	13.9
Enolase	Hev b 9	47.7, 47.5
Manganese-Superoxide-Dismutase	Hev b 10	22.9
Class I Chitinase	Hev b 11	32
Lipid transfer protein	Hev b 12	9
Esterase	Hev b 13	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยโปรตีน Hev b1, b2, b3, b4, b5, b6.1, 6.2 เป็นแอนติเจนหลัก นอกจากโปรตีนสารกระตุ้นดังกล่าวแล้ว ยังพบว่า 25% ของโปรตีนในกลุ่ม PR-protein ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ โดยการถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นในน้ำยางพาราเมื่อมีภาวะเครียด (stress), การติดเชื้อก่อโรค (pathogen attack) และการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม และจากการศึกษาโครงสร้าง และลำดับของกรดอะมิโนของPR-protein สามารถแบ่งโปรตีนกลุ่มนี้ได้เป็น 7 families ได้แก่ PR–2, PR–3, PR–4, PR–5, PR–8, PR–10 และ PR–14 ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะพบได้ในพืชทั่วไป (ตารางที่ 2.5) [24]

ตารางที่ 2.5 โปรตีนในกลุ่ม Pathogenesis-related (PR-protein) ที่เป็นสารกระตุ้นและแหล่งที่พบ

ชนิดโปรตีน	ชื่อโปรตีน	แหล่งที่พบ
PR-2	β-1,3-glucanases	ยางพาราจากต้น *H. Brasiiiensis* และ กล้วย
PR-3	Class I chitinases	ยางพาราจากต้น *H. brasiiiensis* อะโวคาโด เกาลัดและกล้วย
PR-4	Chitinases	ยางพาราจากต้น *H. Brasiiiensis* และหัวผักกาด
PR-5	TLPs	เชอรี่ แอปเปิ้ล พริกหยวก และ ไม้จำพวกยมหอมภูเขา
PR-8	Class III chitinases	ยางพาราจากต้น *H. Brasiiiensis*
PR- 10	โปรตีนที่มีการทำงานของเอนไซม์ที่ไม่รู้จัก	เบิร์ช ฮาเซล เอลเดอร์ ฮอร์นบีม เกาลัด แอปเปิ้ล ผักชีฝรั่ง เชอร์รี่ พีช แอปริคอต ลูกแพร์ แครอท และ มันฝรั่ง
PR-14	LTPs	ยางพาราจากต้น *H. brasiiiensis* พีช แอปเปิ้ล ถั่วเหลือง แอปริคอต พลัม เชอรี่ บาร์เล่ห์ เกาลัด เฮเซลนัท วอลนัท ragweed โกศจุฬาลัมพาไทย หน่อไม้ฝรั่ง องุ่น ข้าวโพด และมะกอก

และยังพบไลโซไซม (lysozyme) ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่ม Plant defense-related protein มีคุณสมบัติคล้ายกับไลโซไซมจากผลไม้ เป็นโปรตีนสารกระตุ้นอีกชนิดหนึ่งที่พบในน้ำยางและผลิตภัณฑ์ยาง เช่น ถุงมือยาง เป็นต้น [25] แม้ประเทศไทยจะเป็นผู้ผลิตยางธรรมชาติมากเป็นอันดับต้นของโลก แต่ส่งออกในรูปของผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติได้เพียง 10% ซึ่งหนึ่งในสามของมูลค่าส่งออกผลิตภัณฑ์ก็คือ ถุงมือยาง และเนื่องจากน้ำยางพาราจะมีโปรตีนหลายชนิดผสมอยู่ โปรตีนในยางธรรมชาติจะทำให้ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์จำนวนหนึ่งเกิดอาการแพ้ เช่น เป็นผื่น ลมพิษ หอบหืด ไปจนถึงภาวะช็อก ซึ่งอาจทำให้ผู้ใช้เสียชีวิตได้ เพราะฉะนั้นสิ่งสำคัญที่จะต้องแก้ปัญหาให้ได้คือ การลดโปรตีนที่เป็นโปรตีนกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ ซึ่งอาจจะเปลี่ยนไปใช้ถุงมือยางสังเคราะห์ที่มีความยืดหยุ่นและกระชับน้อยกว่าแทน

2.3.3 ปัญหาการเกิดอาการแพ้โปรตีนจากยางพารา

ยางพารา (Para rubber tree, *Hevea brasiliensis*) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ปัจจุบันยางธรรมชาติ (natural rubber latex) ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวัสดุอุปกรณ์ต่างๆมากมายหลายชนิดเพื่อใช้ในชีวิตประจำวันซึ่งได้แก่ เครื่องมือเครื่องใช้ในทางด้านการแพทย์ อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลชนิดต่างๆ ตลอดจนวัสดุที่ใช้ในสำนักงานและบ้านเรือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั่วไป (ตารางที่ 2.6) การใช้ผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติที่เพิ่มขึ้นในปัจจุบัน ทำให้คนทั่วไปมีโอกาสสัมผัสกับยางพารามากขึ้นด้วย ปัญหาต่อสุขภาพที่มีรายงานมากขึ้นเรื่อยๆ คือ การแพ้ยางพารา

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติ [26]

อุปกรณ์ฉุกเฉิน	เครื่องวัดความดันโลหิต, อุปกรณ์ช่วยฟังปอดและหัวใจ, ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง, ที่ครอบปากและจมูก, ท่อช่วยหายใจ, อุปกรณ์ห้ามเลือกทูนิเก้, หลอดให้สารน้ำทางหลอดเลือดดำ, หลอดฉีดยาแบบใช้แล้วทิ้ง, แผ่นกระตุ้นไฟฟ้า
อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล	ถุงมือ, หน้ากากอนามัย, แว่นตาป้องกันตา, หน้ากากกันเชื้อโรค, ผ้ายางกันเปื้อน
เครื่องใช้สำนักงาน	ยางรัด, ยางลบ
อุปกรณ์พยาบาล	หน้ากากรมยาสลบ, สายท่อ, ท่อระบายน้ำบาดแผล, สายฉีด, ซองใส่ยา, แผ่นยาง
อุปกรณ์ในครัวเรือน	ยางรถยนต์, ที่จับรถจักรยานยนต์และจักรยาน, แว่นตาว่ายน้ำ, รองเท้ายาง, ถุงมือยาง, ขวดน้ำกันความร้อน, ถุงยางอนามัย, ลูกบอล, จุกขวดนม

ถุงมือก็เป็นผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เราใช้เพื่อป้องกันไม่ให้มือต้องสัมผัสกับสิ่งสกปรกหรือเชื้อโรคชนิดต่างๆ ท่านทราบหรือไม่ว่าถุงมือเหล่านี้ สามารถก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้ใช้ พวกที่ทำงานทางการแพทย์จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดอาการแพ้มากกว่า ซึ่งอาการแพ้ดังกล่าวมีตั้งแต่อาการแพ้เล็กน้อย เช่น มีผื่นคันไปจนถึงก่อให้เกิดอาการช็อคได้ อย่างไรก็ตาม โดยรวมแล้วอาการแพ้รุนแรงมักเกิดเฉพาะกลุ่มคนที่สัมผัสกับยางธรรมชาติเป็นเวลานานเท่านั้น มีการรายงานกรณีตัวอย่างเกี่ยวกับอาการแพ้ที่เกิดจากการใช้ถุงมือ ซึ่งจะพบว่าส่วนมาก เป็นบุคลากรทางด้านการแพทย์และเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 2.7) การศึกษาพบว่าประมาณ 1-6% ของประชากรอเมริกันทั่วไป และ 8-12% ของผู้ที่สัมผัสกับยาง (latex) เป็นประจำได้รับการ การไวต่อสาร (sensitized) ซึ่งสารนั้นคือยางแล้ว และ 54% ของกลุ่มคนที่ sensitized แล้วมีอาการหรืออาการแสดงของหืดที่เกิดจากยาง (latex asthma) ซึ่งคิดเป็น 2-5% ของประชากรอเมริกันทั้งหมด

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างผู้ป่วยที่เกิดการแพ้ยางธรรมชาติ [26]

รายที่ 1	เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีอาการหอบหืดหลังจากใส่ถุงมือยางเพื่อทำการตรวจเลือด ในช่วงแรกอาการหอบหืด จะเกิดเฉพาะเมื่อสัมผัสถูกถุงมือยางเท่านั้น ต่อมาเจ้าหน้าที่ผู้นี้จะมีอาการแม้สัมผัสกับชิ้นส่วนของยาง (latex particle) ในอากาศ
รายที่ 2	หญิงอายุ 33 ปี ทำงานในบริษัทเวชภัณฑ์ทางการแพทย์ เธอมีหน้าที่ตรวจสอบถุงมือยางที่เคลือบด้วยแป้งข้าวโพดมา7ปี 6เดือนก่อนเริ่มมีอาการไอ แน่นหน้าอก และปอด มีเสียงวี๊ดเป็นระยะ ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหอบหืดจากการทำงาน (occupational asthma) อาการของเธอจะเริ่มเมื่อทำงานได้ 10 นาที และจะแย่ลงจนกระทั่งเลิกงานไป 90 นาที อาการเหล่านี้หายดีเมื่อหยุดพักร้อน 12 วัน แต่กลับมาเป็นอีกในวันแรกที่กลับเข้าทำงาน
รายที่ 3	ผดุงครรภ์ผู้หนึ่ง ในช่วงแรกมีอาการผื่นคัน คัดจมูกและเคืองตา ภายใน 1 ปีเริ่มมีอาการหอบหืด 2 ปีต่อมาเกิดช็อคขณะที่ใส่ถุงมือยาง ช่วงหลังมีอาการหายใจลำบาก เนื่องจากมีอนุภาคของยางปะปนในอากาศ ในที่สุดไม่สามารถกลับไปทำงานเดิมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายที่ 4	แพทย์ผู้หนึ่งเดิมมีปัญหาเป็นโรคภูมิแพ้ คือ มีน้ำมูกและผื่นแพ้ที่มือทั้งสองข้าง เมื่ออากาศเปลี่ยน เกิดมีอาการน้ำมูกไหลอย่างรุนแรง หายใจลำบาก และหัวใจหยุดเต้นภายในไม่กี่นาทีหลังจากที่สวมถุงมือยาง แต่ได้รับการกู้ชีพขึ้นได้
รายที่ 5	พยาบาลไอซียู ซึ่งมีประวัติเดิมของโรคภูมิแพ้คือ มีน้ำมูก คันในตา หอบหืดและมีผื่นแพ้ เกิดอาการหอบหืดรุนแรง จากการแพ้ยางจนต้องได้รับการรักษาในห้องฉุกเฉิน 3 ครั้ง ครั้งที่ 4 เกิดอาการช็อคเมื่อใส่ถุงมือยางเพื่อจะทำงาน แต่ได้รับการกู้ชีพขึ้นได้

จากการศึกษาพบว่าปัญหาการแพ้เกิดขึ้นกับผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติไม่ได้เกิดจากยางสังเคราะห์ (synthetic rubber) ทั้งนี้เชื่อว่าทั้งสารเคมีที่ผสมลงไปในขั้นตอนการผลิตและโปรตีน บางชนิดที่อยู่ในยางพาราเอง เป็นสาเหตุของอาการแพ้ที่เกิดขึ้น อาการแพ้ดังกล่าวนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดคือ

1. Irritant contact dermatitis เป็นการแพ้ที่พบได้บ่อย โดยเฉพาะในกรณีที่ใช้ถุงมือเป็นประจำ ผิวหนังบริเวณที่สัมผัส จะเกิดอาการระคายเคือง แห้ง และคัน

2. Allergic contact dermatitis (delayed hypersensitivity) การแพ้ชนิดนี้เกิดจากสารเคมีที่ใช้ผสมลงไปในขั้นตอนการผลิต อาการจะเกิดขึ้นใน 24-48 ชั่วโมงหลังสัมผัส อาการที่เกิดขึ้นได้แก่ มีผื่นคัน ซึ่งต่อไปอาจจะเป็นตุ่มพองและ ขยายวงกว้างกว่าบริเวณที่สัมผัส

3. Latex allergy (immediate hypersensitivity) เป็นการแพ้ชนิดที่อันตราย เชื่อว่าเกิดจากการกระตุ้นของโปรตีนที่อยู่ในยางพาราเอง อาการจะเกิดเร็วในเวลาเป็นนาทีถึงชั่วโมง เริ่มจากการมีผิวหนังแดงๆ หรือผื่นคล้ายลมพิษ คัน บางรายมีผลต่อระบบทางเดินหายใจคือ มีน้ำมูกไหล ไอจาม ระคายเคืองในคอ ในรายที่รุนแรงจะมีอาการหายใจลำบาก หอบหืด และช็อคได้ ซึ่งอาการแพ้ที่เกิดขึ้นจะเหมือนการได้รับพิษจากผึ้งต่อย

ในแง่ของการรักษามักเป็นการรักษาตามอาการคือ ผิวหนังบริเวณที่สัมผัสควรใช้สบู่อ่อนและล้างด้วยน้ำปริมาณมากๆ ให้ยาแก้แพ้หรือยาต้านฮีสตามีน (Antihistamine) รับประทานหรือฉีดในกรณีที่เป็นมาก บริเวณผิวหนังที่เป็นผื่นคันให้ทาด้วยครีมที่ประกอบด้วยยาคอร์ติโคสเตียรอยด์เฉพาะที่ (Topical corticosteroid) ในรายที่มีอาการรุนแรงคือ มีอาการหอบหืด หรือ ช็อค ให้ทำการรักษาเหมือนหอบหืดและภาวะช็อคทั่วๆไป

การป้องกันจะให้ผลดีกว่าในกรณีที่ทราบแน่ชัดว่ามีอาการแพ้ยางธรรมชาติ ซึ่งจะทราบได้จากประวัติการสัมผัสกับผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติร่วมกับการทำ Skin test และสำหรับผู้ที่สงสัยว่าตนเองแพ้ยางธรรมชาติ ควรปรึกษาแพทย์เพื่อทำการทดสอบให้แน่ชัด สำหรับแนวทางการป้องกันมีดังนี้

1. หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับยางธรรมชาติเช่น ใช้ถุงมือที่ผลิตจากยางสังเคราะห์ แต่ในกรณีที่จำเป็นต้องใช้ถุงมือจากยางธรรมชาติ ไม่ควรใช้น้ำมันหรือโลชั่นทามือเพราะน้ำมันจะทำลายส่วนที่ป้องกันการซึกผ่าน (barrier integrity) ของถุงมือทำให้โอกาสสัมผัสกับโปรตีนจากยางธรรมชาติมีมากขึ้น ก่อให้เกิดอาการแพ้ได้ง่ายขึ้นด้วย นอกจากนี้หลังจากถอดถุงมือแล้วให้ล้างมือด้วยสบู่อ่อนๆ และเช็ดให้แห้ง

2. ควรตระหนักถึงอาการจากการแพ้ยางธรรมชาติด้วย ถ้ามีอาการต่อไปนี้คือ ผิวหนังแดง มีผื่นขึ้น คัน หรือผื่นลมพิษ มีน้ำมูกไหล หายใจลำบาก หรือหอบหืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ในคนงานที่ต้องสัมผัสกับยางธรรมชาติ ควรมีการให้ความรู้ในการป้องกัน และมีการเปลี่ยนตัวกรองระบายอากาศ (ventilation filter) และถุงสูญญากาศ (vacuum bag) ในพื้นที่ที่มีการใช้ยางธรรมชาติเป็นวัตถุดิบการผลิต [26]

2.3.4 การแพ้โปรตีนจากยางพารา

การแพ้ยางหรือหารแพ้โปรตีนจากยางพารา หมายถึง การแพ้ยางพาราที่นำมาทำเป็นเครื่องใช้ต่างๆ ในบ้าน เช่น รองเท้า ถุงยางอนามัย ลูกโป่ง ตุ๊กตา ยางรถยนต์ และนำมาใช้ทางการแพทย์มากมาย เช่น ถุงมือ สายยาง สายน้ำเกลือ การแพ้ยางพารามีได้หลายรูปแบบ เช่น แพ้จากการสัมผัสเช่นผื่นแพ้สายรองเท้า สายยางรัดขอบกางเกงใน หรือบางรายได้หายใจเอาชิ้นส่วนเล็กๆทำให้เกิดภูมิแพ้ บางรายเป็นแบบหอบหืด ชนิดที่รุนแรงอาจจะเป็นภูมิแพ้อย่างเฉียบพลัน (anaphylaxis) หากสงสัยว่าแพ้ยางพารา สามารถทราบได้โดยการทดสอบทางผิวหนังและตรวจเลือด การแพ้ยางอาจจะแพ้จากเนื้อยางหรือแพ้สารที่ผสมอยู่

บุคคลที่มีความเสี่ยงต่อการแพ้ยาง คือ บุคคลที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ยางพาราเป็นวัตถุดิบ เช่น บุคคลากรทางแพทย์ที่ต้องใช้เครื่องมือที่ทำจากยาง (เช่น ถุงมือ สายยาง หมวก เป็นต้น), ผู้ที่ทำงานในอุตสาหกรรมเกี่ยวกับยาง, ผู้ที่ได้รับการผ่าตัดบ่อย, ผู้ที่เป็นโรคทางประสาทไขสันหลัง หรือต้องคาท่อปัสสาวะเรื้อรัง และผู้ที่สวมถุงยาง โดยตำแหน่งซึ่งอาจจะเกิดการแพ้ยางพาราธรรมชาตินั้น อาจเกิดจากการสัมผัสทางผิวหนัง เช่นการสวมถุงมือ ถุงยางอนามัย, จากเยื่อเมือก เช่นการอมถุงยาง ท่อสำหรับสวนอุจาระ, จากทางลมหายใจ เช่นฝุ่นจากถุงมือหรือเครื่องมือ หรือเข้าทางหลอดเลือดจากสายน้ำเกลือ ซึ่งกลไกการเกิดการแพ้ มีด้วยกัน 3 วิธีคือ

1. IgE reactionอาการแพ้ที่เกิดทันที อาการเกิดตรงตำแหน่งที่สัมผัส เช่น ผิวหนัง, ตา, ปอด อาการแพ้จะเหมือนกับการแพ้สารชนิดอื่น

2. T-cell-reaction อาการแพ้ที่เกิดช้าๆ อาการเกิดเฉพาะที่ทำให้เกิดผื่นแพ้บริเวณที่สัมผัส (contact dermatitis) มักจะเกิดจากสารที่ผสมในยาง

3. Irritant reaction เกิดจากระคายเคืองไม่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน เกิดจากการที่ต้องเจอน้ำ หรือสบู่หรือผงซักฟอกบ่อยๆ มีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดการแพ้ยาง

กลไกการได้รับสารภูมิแพ้นั้น ร่างกายจะได้รับสารภูมิแพ้โดยทางลมหายใจเนื่องจากโปรตีนของถุงมือลอยไปตามลม, ผ่านทางผิวหนังร่างกายได้สารภูมิแพ้เนื่องจากเหงื่อละลายสารภูมิแพ้ และผิวหนังดูดซึมสารภูมิแพ้นั้น นอกจากนั้นผิวหนังที่อักเสบอยู่เก่าเมื่อใส่ถุงมือจะทำให้เกิดการดูดซึมดียิ่งขึ้น เมื่อร่างกายได้รับสารภูมิแพ้ที่อยู่ในยาง ทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อโปรตีนของยาง เมื่อได้รับสารโปรตีนจึงเกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ หรือร่างกายได้สารภูมิแพ้ทางเส้นเลือดเนื่องจากปนเปื้อนทางสายน้ำเกลือ จะรู้ได้อย่างไรว่าแพ้ยาง มีประวัติภูมิแพ้ในครอบครัว เช่นแพ้อาหารแพ้อากาศ ประวัติสัมผัสกับยาง เช่นการผ่าตัดหลายครั้ง หรือใช้อุปกรณ์ที่มียางแล้วแพ้ ทำงานเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ยาง มีอาการของภูมิแพ้เช่น ผื่นสัมผัส น้ำมูกไหล หอบหืด [27]

2.3.5 การกำจัดโปรตีนในน้ำยางพารา (Deproteinised natural rubber)

การกำจัดหรือแยกโปรตีนออกจากน้ำยางพาราสดก่อนนำไปใช้ในกระบวนการผลิต เพื่อกำจัดโปรตีนที่ก่อให้เกิดอาการภูมิแพ้ในมนุษย์ ซึ่งเดิมจะใช้การปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดโปรตีนทิ้งไป แต่ภายหลังพบว่า มีโปรตีนที่อยู่ในเนื้อยางไม่สามารถถูกกำจัดทิ้งไปโดยวิธีนี้ จึงได้มีการเติมเอ็นไซม์โปรติเอสลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ในน้ำยางพาราสด ให้โปรตีนถูกย่อยสลายอยู่ในเซรุ่ม แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกโปรตีนทิ้งไป [28] โดยการคัดเลือกโปรติเอสจากหอยเชอรี่ผลมะเดื่อ น้ำสับปะรด ยางมะละกอ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เชื้อรา *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae* ผลการศึกษาพบว่า โปรติเอสจากเชื้อ *B. subtilis* สามารถกำจัดโปรตีนในน้ำยางพาราสดได้ดีที่สุด และยังพบว่าโปรติเอสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนสามารถกำจัดโปรตีนในน้ำยางพาราสดได้ดีกว่าโปรติเอสที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ มีรายงานการศึกษาการกำจัดโปรตีนด้วยชนิดและประสิทธิภาพของเอ็นไซม์ การเลือกใช้สารถนอมน้ำยาง โดยเลือกใช้เอ็นไซม์ที่ผลิตในประเทศไทยได้แก่ เอ็นไซม์ปาเปน และโบรมิเลน จากผลการทดลองพบว่าเอ็นไซม์ปาเปนอาจไม่สามารถใช้กับน้ำยางพาราสดที่ต้องการผลิตเป็นน้ำยางข้นได้ [29]

2.4 เอมไซน์ (enzyme)

เอนไซม์ เป็นสารอินทรีย์จำพวกโปรตีน มีส่วนน้อยที่เป็นกรดไรโบนิวคลีอิก ซึ่งชื่อเอนไซม์นั้นจะลงท้ายด้วย –ase โดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา โดยจำแนกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ ออกซิโดรีดักเตส ทรานสะเฟอเรส ไฮโดรเลส ไลเอส ไอโซเมอเรส และ ไลเกส ซึ่งเอนไซม์ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีน้ำหนักโมโลกุลสูง และยังมีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นในปฏิกิริยาที่เข้าไปเร่งสูงมาก โดยเอนไซม์หลายชนิดสามารถทำงานได้ด้วยตัวเองซึ่งใช้สมบัติของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโมเลกุล แต่บางชนิดจำเป็นต้องใช้ โคแฟกเตอร์ โคเอนไซม์หมู่พร็อสเทติก จึงจะสามารถทำงานได้ เอนไซม์บางส่วนอาจอยู่ในรูปที่ยังไม่สามารถทำงานได้และจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่พร้อมทำงานได้ต่อเมื่อร่างกายต้องการ ส่วนมากจะเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยสลาย การทำงานเอนไซม์ในแง่พลังงานจะทำให้มีการใช้พลังงานลดลง ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ขึ้นกับปัจจัยที่หลากหลาย ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเข้มข้นของสับสเตรต สารยับยั้งและโคแฟกเตอร์โคเอนไซม์ การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ขึ้นกับ การสร้างเอนไซม์ในรูปที่ทำงานไม่ได้ การดัดแปรแบบโควาเลนต์ ผลผลิตสุดท้าย และโปรตีนควบคุม นอกจากนี้ ตัวยับยั้งเอนไซม์แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ตัวยับยั้งแบบผันกลับไม่ได้และตัวยับยั้งแบบผันกลับได้ ส่วนเอนไซม์ที่ความสำคัญต่อโภชนศาสตร์ เช่น อะไมเลส β-galactozidase เซลยูเลส และเฮไมเซลยูเลส โปรติเอส กลูโคส ออกซิเดส คาลาเตส และลิโพออกซิจิเนส เป็นต้น

2.4.1 เอนไซม์โปรติเอส

โปรติเอส (protease) อาจเรียกว่า เปปติเดส (peptidase) หรือโปรติเนส (proteinase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์โปรตีน (hydrolysis of protein) โดยโปรติเอสจะเข้าไปตัดที่พันธะเปปไทด์ในโปรตีน ให้กลายเป็นพอลิเปปไทด์หรือพอลิเมอร์ของกรดอะมิโนได้เป็นเปปไทด์ที่สายสั้นลง หรืออาจเรียกชื่อตามความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนได้ว่า โปรตีโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzymes) โปรติเอสสามารถพบได้ในทั้ง สัตว์ พืช และจุลินทรีย์ เอนไซม์โปรติเอสเข้ามามีบทบาทในกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวาง ทั้งในระดับอุตสาหกรรมซึ่งนิยมใช้เอนไซม์ในการดัดแปรโปรตีนมากกว่าการใช้สารเคมี เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิด ให้ผลในการย่อยสลายที่แตกต่างกันและมีความจำเพาะต่อสับสเตรทสูง สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรงและไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการได้ นอกจากนี้ เอนไซม์โปรติเอสสามารถแบ่งเป็นประเภทต่างๆ ได้หลายแบบ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149481

การแบ่งตามลักษณะการตัดสายยาวของพอลิเปปไทด์ ได้เป็น 2 แบบ คือ

1. เอกซ์โซเปปติเดส (exopeptidases) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยพันธะเปปไทด์ส่วนด้านปลายโซ่ของโมเลกุล เรียกตามด้านการตัดพันธะ โดยถ้าเป็นการตัดพันธะทางปลายด้านกลุ่มอะมิโน เรียกว่า aminopeptidase และถ้าเป็นการตัดพันธะทางปลายด้านกลุ่มคาร์บอกซิล เรียกว่า carboxypeptidase

2. เอ็นโดเปปติเดส (endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในโซ่โมเลกุลของโปรตีนได้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ เอ็นโดเปปติเดสมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนสูง เนื่องจากมีความจำเพาะต่อสับเสตรทที่เป็นเปปไทด์โมเลกุลใหญ่หลายชนิด ทำให้สามารถย่อยโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว [30]

การแบ่งตามกลไกการทำงานของเอนไซม์ ได้เป็น 4 ประเภท ดังนี้

1. เซรีนโปรติเอส (serine protease) เอนไซม์กลุ่มนี้จัดเป็น alkalli protease มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในช่วง pH = 7.0-11.0 เป็นพวกเอนโดเปปติเดสมีอนุมูลซีรีล (seryl residue) และหมู่ อมิดาโซล (imidazole) อยู่ที่บริเวณเร่ง ถูกยับยั้งโดย DEP (di-isopropyl-phosphofluoride) ซึ่งทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล ของอนุมูลเซริลในบริเวณเร่งของเอนไซม์ ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ elastase, thrombin และ trypsin เป็นต้น

2. ซัลไฟดิลโปรติเอส (sulfydryl protease) หรือซิสเตอีนโปรติเอส (cysteine protease) เอนไซม์กลุ่มนี้จัดเป็น neutral protease มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในช่วง pH = 6.0-7.5 เป็นพวกเอนโดเปปติเดสมีอนุมูลซัลไฟดริลอยู่ที่บริเวณเร่ง ถูกยับยั้งโดยสารที่เรียกว่า sulfhydryl reagents ซึ่งจะทำให้อนุมูลซัลไฟดริลที่บริเวณเร่งได้รับความกระทบกระเทือนและอาจสูญเสียแอคติวิตีไปในที่สุด เอนไซม์กลุ่มนี้จะเป็นเอนไซม์ที่สกัดได้จากพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์บางชนิด ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ bromelain และ papain เป็นต้น

3. เมทัลโลโปรติเอส (metal-containing protease) เอนไซม์กลุ่มนี้จัดเป็น neutral protease มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมคือ pH = 7.8 เป็นพวกเอกซ์โซเปบติเดส เอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็นโปรติเอสที่มีอิออนและโลหะรวมอยู่ในโมเลกุลเอนไซม์หรือร่วมในปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน โดยจะอยู่ในลักษณะโคแฟกเตอร์ ถูกยับยั้งด้วยสารจับอิออนของโลหะ (metal chelating agent) เช่น 1,10-phenanthroline และ EDTA เป็นต้น ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ carboxypeptidase A, carboxypeptidase B, carnosinase และ prolidase เป็นต้น

4. แอสปาติกโปรติเอส (aspartic protease) เอนไซม์กลุ่มนี้จัดเป็น carboxyl protease และ acid protease มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในช่วง pH = 2-4 มีหมู่คาร์บอกซิลจากอนุมูลกรดแอสปาติค 2 อนุมูลอยู่ในบริเวณเร่งถูกยับยั้งโดย pepstatin เอนไซม์ส่วนใหญ่ในกลุ่มนี้เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ เช่น pepsin และ rennin เป็นต้น

นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมยังนิยมใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยสลายโปรตีน โดยเอนไซม์เหล่านี้ส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนแตกต่างกัน ตัวอย่างเอนไซม์ทางการค้า เช่น

1. Alcalase® เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Bacillus licheniformi* ทำหน้าที่เป็นเอนโดเปปติเดสมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 55-60 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในช่วง pH = 8-8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Flavourzyme® เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Aspergillus oryzae* ทำหน้าที่เป็นทั้งเอนโดเปปติเดส และเอกโซเปปติเดส ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้ไม่มีรสขม มีอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 50 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง pH = 5-7

3. Neutrase® เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ชนิด *Bacillus amyloliquefaciens* ทำหน้าที่เป็นเอนโดเปปติเดสมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 45-55 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง pH = 5.5-7 [31]

2.4.2 เอนไซม์ปาเปน

เอนไซม์ปาเปน หรือปาเปน (papain) เป็นเอนไซม์ที่พบมากในยางมะละกอในส่วนใบ ก้าน และผลดิบ ซึ่งใช้ในการกรีดเอายางมะละกอ เพื่อสกัดปาเปน สายพันธุ์มะละกอที่สามารถผลิตน้ำยางสดได้สูงคือ สายพันธุ์จาปาดา และแขกดา ปาเปนเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม โปรติเอส (protease) ที่มีรหัส EC number คือ EC 3.4.22.2 เป็น proteolytic enzyme สามารถย่อยโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงได้อาจเรียกว่าเป็น vegetable pepsin ปาเปนจัดอยู่ในกลุ่มโปรตีนที่มีกิจกรรมหลากหลาย ซึ่งทำหน้าที่ได้ทั้งเป็น เอนโดเพปทิเดส อะมิโนเพปทิเดส ไดเพปทิดิลเพปทิเดส และยังถือว่าเป็นเอนไซม์ที่มีกิจกรรมทั้งเอกโซและเอนโดเพปทิเดสอีกด้วย [32]

เอนไซม์ปาเปนเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในยางมะละกอซึ่งปกติจะประกอบด้วยส่วนต่างๆ ที่มีฤทธิ์เป็น proteolytic enzyme อยู่ 4 ชนิด คือ papain, chymopapain A และ B และ papaya peptidase A โดย chymopapain เป็นเอนไซม์ที่พบมากที่สุดในยางมะละกอ รองลงมาคือ Papain ซึ่งมีประมาณต่ำกว่า 10% และ papaya peptidase A มีปริมาณน้อยที่สุด เอนไซม์ chymopapain มีความอยู่ตัว ทนความร้อนและทนต่อสภาพกรดได้ดี และเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เนื้อมีความนุ่ม [33]

2.4.3 กลุ่มโปรตีนของเอนไซม์ปาเปน

เอนไซม์ปาเปนจัดอยู่ในกลุ่มโปรตีนที่มีกิจกรรมหลากหลาย รวมไปถึง เอนโดเพปทิเดส อะมิโนเพปทิเดส ไดเพปทิดิลเพปทิเดส และเอนไซม์ที่มีกิจกรรมทั้งเอกโซและเอนโดเพปทิเดส สมาชิกของโปรตีนกลุ่มนี้พบได้ทั่วไปอย่างกว้างขวาง เช่น ในแบคิวโลไวรัส ยูแบคทีเรีย ยีสต์ รวมทั้งโพรโทซัว พืช และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมทั้งหมด โปรตีนเหล่านี้ปกติจะเป็นตัวแบ่งแยกในรูปไลโซโซมหรือสารคัดหลั่งและตัวย่อยสลายโปรตีนของโพรเพปไทด์ ซึ่งจำเป็นต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ถึงแม้ว่าบลีโอไมซินไฮโดรเลสจะเป็นน้ำในเซลล์ของเห็ดราและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ซิสทีอีนโพรทีเอสต่างๆ ที่คล้ายเอนไซม์ปาเปนถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นหลักจากโพรเอนไซม์ที่ไร้ฤทธิ์หรือไซโมเจน (Zymogen) ด้วยบริเวณโพรเพปไทด์ปลายเอ็น กระบวนการที่ทำให้เกิดฤทธิ์ของเอนไซม์เหล่านี้รวมไปถึงการขจัดบริเวณโพรเพปไทด์ ซึ่งมีการทำงานหลากหลายทั้งภายในและภายนอก (in vivo & in vitro) บริเวณเริ่มแรกเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อให้การพับทบของเอนไซม์ที่สังเคราะห์ใหม่เป็นไปอย่างถูกต้อง เพื่อให้ขอบเขตเพปทิเดสไร้ฤทธิ์ และเพื่อรักษาเสถียรภาพของเอนไซม์ที่ต้านทานการแผลงโครงสร้างเมื่อสภาพพีเอชเปลี่ยนจากกลางไปเป็นเบส กรดอะมิโนที่เป็นเศษตกค้างอยู่ภายในบริเวณเริ่มแรกจะถูกถ่ายออกไปยังชั้นเยื่อหุ้มของมัน และจะมีบทบาทในการส่งถ่ายโพรเอนไซม์ไปยังไลโซโซม คุณลักษณะที่โดดเด่นที่สุดของโพรเพปไทด์ คือ ความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คล้ายกัน และโพรเพปไทด์เจาะจงบางชนิดจะแสดงสมรรถนะการเลือกอย่างสูงเพื่อยับยั้งเพปทิเดสจากที่ที่มันถูกสร้างขึ้นมา

โครงสร้างของเอนไซม์ปาเปน โปรตีนที่เป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ปาเปนประกอบขึ้นจากกรดอะมิโนที่เป็นเศษตกค้าง 345 โมเลกุล ซึ่งประกอบด้วยลำดับสัญญาณ (1-18) โพรเพปไทด์ (19-133) และเพปไทด์สมบูรณ์ (134-345) จำนวนของกรดอะมิโนขึ้นอยู่กับเพปไทด์สมบูรณ์ โปรตีนนี้เสถียรด้วยพันธะไดซัลไฟด์สามพันธะ โครงสร้างสามมิติของมันประกอบด้วยขอบเขตโครงสร้างสองแบบต่างกันโดยมีร่องเว้าระหว่างกลาง ร่องเว้านี้เป็นตำแหน่งออกฤทธิ์ที่บรรจุแคแทไลติกไดแอด ซึ่งถูกทำให้เหมือนแคแทไลติกไทรแอดของไคโมทริปซิน แคแทไลติกไดแอดดังกล่าวสร้างขึ้นจากกรดอะมิโนสองชนิดได้แก่ ซิสทีอีน-25 และ ฮิสทิดีน-159 เคยมีข้อสันนิษฐานว่า แอสพาร์เทต-158 มีบทบาทการทำงานคล้ายกับแอสพาร์เทตที่อยู่ในแคแทไลติกไทรแอดของเซรีนโพรทีเอส แต่ต่อมาก็พิสูจน์แล้วว่าผิด ถึงกระนั้นก็ตาม แอสพาร์เทต-158 ก็ดูเหมือนว่าไม่ได้มีบทบาทอะไร [34]

รูปที่ 2.3 โครงสร้างแบบริบบิ้นของปาเปนจากมะละกอ *Carica papaya* [34]

2.4.4 ฟังก์ชันของเอนไซม์ปาเปน

กลไกทำลายพันธะเปปไทด์เกี่ยวพันธ์กับการสูญเสียโปรตอนหรือการดึงโปรตอนของ ซีสเทอีน-25 โดยการกระทำของ ฮีสทิดีน-159.แอสปาเตท-175 ช่วยปรับทิศทางวงแหวนอิมิดาโซลของฮีสทิดีน-159 เพื่ออนุญาตให้เกิดการสูญเสียโปรตรอนไป จากนั้น ซีสเทอีน-25 จึงทำปฏิกิริยา Nucleophilic กับคาร์บอนของหมู่คาร์บอนิล ที่แกนเปปไทด์หลัก, อะมิโนตัวสุดท้ายที่สามารถหลุดได้ของเปปไทด์ และสร้างพันธะโควาเลนต์ระหว่างหมู่ acyl กับเอนไซม์ เอนไซม์ถูกดึงหมู่ acyl ออกโดยโมเลกุลน้ำ และนำโปรตรอนตัวสุดท้ายที่หมู่คาร์บอกซีของเปปไทด์ออกด้วย พาเพอินเป็นเอนไซม์ที่ค่อนข้างต้านทานความร้อนได้, ช่วงอุณหภูมิที่ดีที่สุดคือ 60-70 องศาเซลเซียส เอนไซม์ปาเปนชอบยึดติดอยู่กับพวก อาร์จินีนหรือไลซีนซึ่งเป็นพวกไม่ชอบน้ำมากกว่าอะมิโนชนิดอื่นๆที่ไม่ชอบน้ำเช่นกัน

2.4.5 ประโยชน์ของเอนไซม์ปาเปน

ประโยชน์ของมันคือทำลายเส้นใยที่มีเนื้อเหนียวและถูกนำมาใช้เป็นพันๆ ปีในท้องถิ่นทางภาคใต้ของอเมริกาเอนไซม์ปาเปนในรูปแบบของผงเมื่อนำมาผสมกับน้ำ สามารถทำเป็นยารักษาแผลได้ที่บ้าน เวลาที่โดนเหล็กในจากผึ้ง แตน หรือยุงกัดและบาดแผลจากปลากระเบน จะไปทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนในสารพิษ เอนไซม์ปาเปนสามารถแยกเซลล์ออกจากขั้นตอนแรกของการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื้อเยื่อที่มีขนาดเล็ก ซึ่งสามารถใช้เวลา 10 นาทีในการย่อยสลาย extracellular matrix ของโมเลกุลที่จับตัวกันไว้แน่น แล้วหลังจาก 10 นาทีต่อมา เนื้อเยื่อจะมีการซ่อมแซมตัวเองป้องกันจากการถูกย่อยสลายจากเอนไซม์ปาเปน เนื้อเยื่อจะถูกบดละเอียดอย่างรวดเร็วโดยผ่าน pasteur pipette จนเป็นเซลล์เดียว นอกจากนี้สามารถนำไปใช้เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ของไวรัส เอนไซม์ accuzyme นำไปใช้ในการล้างแผลที่มีเนื้อเยื่อตายได้ เราสามารถพบว่าเอนไซม์ปาเปนเป็นส่วนผสมในยาสีฟัน ซึ่งทำให้ฟันขาว อย่างไรก็ตามเอนไซม์ปาเปนที่อยู่ในยาสีฟัน มีผลในการทำให้ฟันขาวน้อยมาก เพราะปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนในยาสีฟัน มีอยู่ต่ำมากและเอนไซม์ปาเปนจะถูกเจือจางอย่างรวดเร็วด้วยน้ำลายของคนเรา การใช้ผลิตภัณฑ์ไวท์เทนนิ่งอาจจะต้องใช้เวลาหลายเดือนในการที่จะทำให้ฟันขาวอย่างเห็นได้ชัด พาเพอินยังเป็นส่วนผสมหลักของ papacarie ซึ่งเป็นเจลที่ใช้ใน chemochemical เพื่อรักษาโรคฟันผุ [34]

2.4.6 การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ปาเปนในภาคอุตสาหกรรม

1. ภาคอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และเครื่องดื่มอื่นๆ ใช้เอนไซม์เพื่อทำให้ใส (clearification) สำหรับเบียร์ ไวน์และเครื่องดื่มอื่นๆ โดยเอนไซม์ปาเปนจะทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนโมเลกุลใหญ่ที่แขวนลอยในผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดตะกอนขุ่น ให้มีโมเลกุลที่เล็กลงจนได้สารละลายใส ไม่ขุ่น

2. ภาคอุตสาหกรรมอาหาร ใช้เอนไซม์เพื่อทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderizer) โดยเมื่อเก็บไว้นานจะช่วยย่อยเนื้อสัตว์ที่เหนียวให้นุ่ม เปื่อย ทำให้ง่ายต่อการนำมาปรุงสุก (cooking) [34]

3. ภาคอุตสาหกรรมยาและการแพทย์ โดยใช้เป็นองค์ประกอบของยาที่ช่วยในการย่อยอาหาร นอกจากนี้ ยังประยุกต์นำมาใช้ในการช่วยรักษาแผลติดเชื้อได้ เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนมีคุณสมบัติให้เลือดแข็งตัว และยังสามารถใช้ฆ่าพยาธิในลำไส้ได้ด้วย [33]

4. ภาคอุตสาหกรรมฟอกหนัง โดยผสมเอนไซม์ปาเปนในน้ำยาแช่หนัง จะทำให้หนังเรียบนุ่ม ใช้ปาเปนฟอกไหมให้หมดเมือก และผลิตกระดาษ [35]

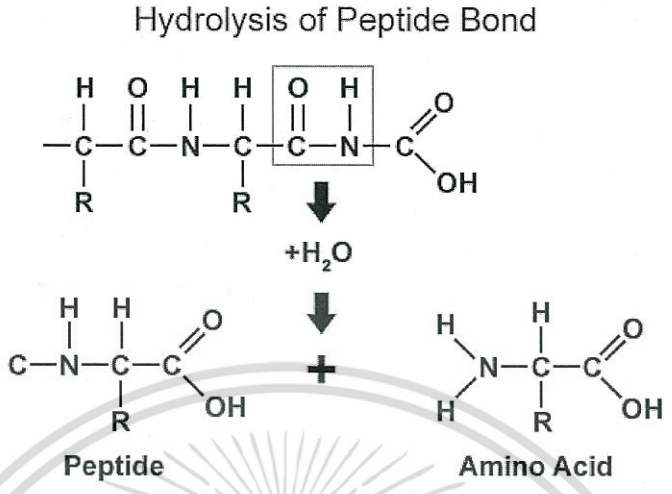
2.4.7 การสูญเสียสภาพโปรตีนจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

สารโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยางทั้งหมด สามารถแบ่งได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่ โปรตีนที่ห่อหุ้มอยู่ผิวรอบนอกอนุภาคยาง 25% โปรตีนที่อยู่ในชั้นน้ำ 50% และโปรตีนที่ปะปนอยู่ในส่วนของสารลูทอยด์มีอยู่ 25% (ตารางที่ 2.3) ที่อยู่บริเวณผิวของอนุภาคยางนี้จะมีส่วนประกอบของกำมะถัน (cystine disulphide linkage) อยู่ประมาณ 5% ดังนั้นขณะที่น้ำยางเสียสภาพจะเกิดการบูดเน่า โดยโปรตีนในส่วนนี้จะสลายตัวให้สารประกอบพวกไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสารเมอแคปแทน (mercaptan) จึงทำให้เกิดกลิ่นเหม็นขึ้น ส่วนโปรตีนและกรดอะมิโนที่อยู่ในซีรั่มของน้ำยางเป็นโปรตีนประเภทอัลฟากลูโบลิน ซึ่งมีความว่องไวตรงผิวของโมเลกุล (surface active) มีจุดไอโซอิเล็กตริก (isoelectric point, pI) หลายค่า ซึ่งจุดไอโซอิเล็กตริกคือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ประจุสุทธิของกรดอะมิโนมีค่าเท่ากับศูนย์ เนื่องจากประจุบวกและประจุลบของกรดอะมิโนมีปริมาณเท่ากันพอดี โปรตีนที่มีค่า pI สูงนั้นจะทำให้สามารถสลายตัวให้ประจุบวกได้ดี เป็นเหตุให้น้ำยางเสียสภาพ

การสูญเสียสภาพของน้ำยางที่เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สลายโปรตีน เรียกว่า โกแอกกูเลส (coagulase) เมื่อสารนี้ทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ห่อหุ้มผิวนอกของอนุภาคยางจนเกิดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สลายตัวไป ทำให้ผิวของอนุภาคยางเกิดการเสียสภาพอนุภาคยางเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน โปรตีนสามารถเกิดการไฮโดรไลซิสกลายเป็นพอลิเปปไทด์และกรดอะมิโน (รูปที่ 2.4) [36]



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสพันธะเปปไทด์ของโปรตีน [36]

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิชุดา (2556) ทำการจากการศึกษาวิจัยในเรื่องเกี่ยวกับโปรตีนในน้ำยางพารา แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของโปรตีนกลุ่มที่เป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ โปรตีนแอนติออกซิเดนซ์ และ โปรตีน PR-protein ซึ่งนำมาใช้ เป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการค้นคว้า พัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ยางชนิดต่างๆ ให้ลดโปรตีนสารกระตุ้น และสามารถนำโปรตีนบางชนิดมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นเวชภัณฑ์ เวชสำอาง หรืออาจพบโปรตีนบางตัวที่มีฤทธิ์ต้านทานโรคที่เกิดกับต้นยางพารา และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ทางการแพทย์ หรือการเกษตรต่อไปได้ และยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถศึกษาต่อในเชิงลึกและสามารถนำเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลมาใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ยางพาราหรือปรับปรุงคุณภาพ ตลอดจนผลิตภัณฑ์ต่างๆของยางพาราต่อไปได้ [37]

Hoffmann (2002) ทำการศึกษาโปรตีนเกี่ยวกับการก่อโรคภูมิแพ้ พบว่าโรคภูมิแพ้ประเภทที่ 1 เป็นโรคสำคัญที่มีผลต่อประชากรประมาณ 25% ในประเทศอุตสาหกรรมบริเวณซีกโลกเหนือ ผู้ป่วยที่แพ้จะมีการสร้างแอนติบอดี้ IgE เฉพาะหลังจากสูดดมหรือบริโภคสารก่อภูมิแพ้จากพืชถูกบันทึกในข้อมูลของ The International Union of Immunological Societies ว่ามี 25% ของโปรตีนเกี่ยวกับการก่อโรคภูมิแพ้ (PR-proteins) ศึกษาพบว่าโปรตีนกลุ่มนี้จะถูกกระตุ้นเนื่องจากสภาวะเครียด (stress) โดยเชื้อโรคเข้าทำลาย (pathogen attack) และโดยสิ่งเร้าจากสิ่งแวดล้อมภายนอก (abiotic stimuli) ซึ่งสารก่อภูมิแพ้จากพืชถูกระบุให้อยู่ในประเภทของ PR-protein ประเภท 2, 3, 4, 5, 8, 10 และ 14 พบว่ายางพาราเป็นพืชที่มีโปรตีนก่อโรคภูมิแพ้หลายชนิด [23]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิคม และสมเกียรติ (2558) ทำการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารที่ใช้ผลิตยางก้อนถ้วยที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของยางก้อนถ้วย โดยทดลองด้วยสารทดลองในการช่วยในการจับตัวกันเป็นก้อนทั้ง 6 ชนิด พบว่าชนิดของสารที่ใช้ผลิตยางก้อนถ้วย มีผลทำให้น้ำหนักสดของยางก้อนถ้วย เปอร์เซ็นต์เนื้อยางแห้งของยางก้อนถ้วย ระยะเวลาแข็งตัว ปริมาณของ serum และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของ serum มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดย น้ำสารส้มผสมกรดตราเสือขวดแก้ว มีเปอร์เซ็นต์เนื้อยางแห้งของยางก้อนถ้วยสูงสุดคือ 70 % กรด formic ทำให้น้ำยางแข็งตัวเร็วที่สุดคือ 16 วินาที ส่วนกรดตราเสือขวดแก้ว กรดตราเสือขวดพลาสติก และน้ำสารส้มผสมกรดตราเสือขวดแก้ว ทั้งสามอย่างนี้มีผลทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของ serum ต่ำสุดเท่ากัน คือ 3 นอกจากนี้แล้วชนิดของสารที่ใช้ผลิตยางก้อนถ้วย ยังมีผลทำให้น้ำหนักแห้งของยางก้อนถ้วย โดยน้ำสารส้มผสมกรดตราเสือขวดแก้ว มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของยางก้อนสูงสุดคือ 230.0 กรัมต่อก้อน สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของทั้งหกชนิดไม่มีความแตกต่างกัน [38]

Anthony et al. (2002) ศึกษาแบคทีเรียที่มีโปรติเอสในการใช้บำบัดยางธรรมชาติน้ำยางเพื่อประยุกต์ใช้เป็นสารภูมิคุ้มกันขั้นต้นในโมเดลหนูที่เกิดการแพ้ ซึ่งมีจุดประสงค์ในการตรวจสอบว่ายางพาราธรรมชาติที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ (ET-NRL) จะเกิดอาการแพ้ได้น้อยกว่ายางพาราที่ไม่ผ่านการบำบัด (Untreated NRL) โดยศึกษาผ่าน โมเดลหนู BALB/c หลายซ้ำ โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังด้วย เฟสน้ำแอมโมเนีย NRL หรือ ET-NRL ผลที่ได้คือ หนูที่ผ่านการฉีดสาร NRL จะผลิตแอนติบอดี้ IgE ซึ่งจะทำการต่อต้าน NRL และ ET-NRL แสดงให้เห็นว่าการบำบัดด้วยโปรตีเอสไม่สามารถทำลายสารแอนติบอดี้ IgE ได้อย่างสมบูรณ์ และหนูที่ผ่านการฉีดสาร ET-NRL จะไม่สร้างแอนติบอดี้ IgE ซึ่งจะไม่เกิดอาการแพ้ทั้ง NRL และ ET-NRL [39]

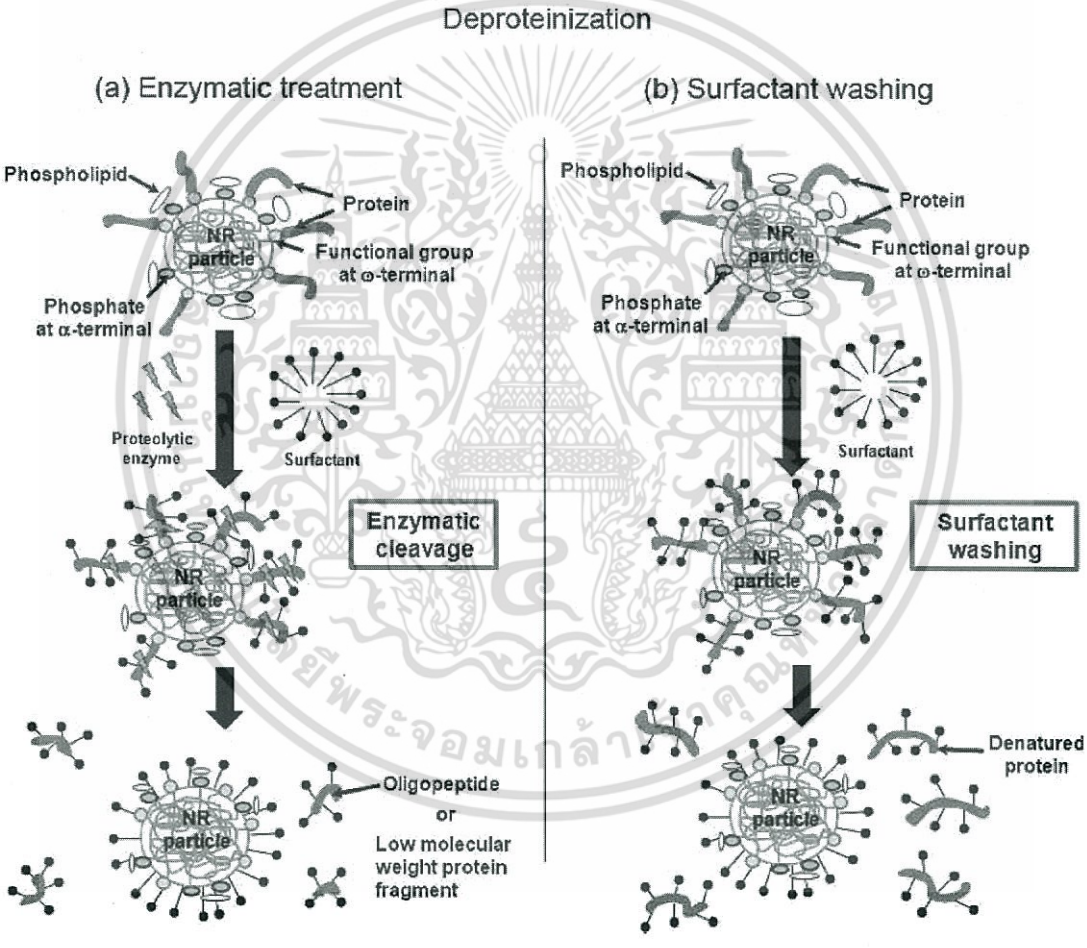
Sussman *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างและการทำงานของโปรตีนภูมิแพ้ยางพารา โดยโรคภูมิแพ้ยางพาราธรรมชาติเป็นผลมาจากการสัมผัสกับโปรตีนจากพืช *Hevea brasiliensis* โรคภูมิแพ้ยางพาราจะพบได้ในกลุ่มผู้ประกอบอาชีพด้านอาชีวอนามัยหรือกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงในการสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากยางพารา รวมทั้งกลุ่มคนในอุตสาหกรรมยางพารา เด็กที่มีความบกพร่องของไขสันหลัง และบุคคลที่มีอาการภูมิแพ้ โดย International Allergen Nomenclature Committee พบว่าโปรตีนจากน้ำยางพาราที่เป็นสาเหตุการแพ้ [13]

สุพัฒน์ ติยสถาพร (2545) ทำการศึกษาความชุกของการมีปฏิกิริยาภูมิแพ้ทางผิวหนังต่อยางพาราในบุคลากรทางการแพทย์ที่มีการใช้ถุงมือยางและมีหรือไม่มีประวัติแพ้ยางพารา พบว่าความชุกของการมีปฏิกิริยาภูมิแพ้ทางผิวหนังต่อยางพารา และโอกาสการเกิดปฏิกริยาข้ามกลุ่มต่อขนุน มะละกอ กล้วย ในบุคลากรทางการแพ้ที่มีประวัติสัมผัสถุงมือและมีประวัติแพ้หรือไม่มีประวัติการแพ้ยางพารา อาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษา 169 คนจากโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และคณะทันตแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นพยาบาล 45.5% ทันตแพทย์ 18.9% แพทย์ 7.7% และอื่น ๆ 27.9% มีชายและหญิงเป็นสัดส่วน 26:143 อายุเฉลี่ย 33.93±9.66 ปี และอาสาสมัครมีโรคประจำตัวคือภูมิแพ้จมูกอักเสบ 20.7% โรคภูมิแพ้ผิวหนังอักเสบ 14.2% โรคหอบหืด 5.9% โรคลมพิษเรื้อรัง 1.2% สรุปการศึกษาวิจัยนี้พบว่าโรคภูมิแพ้ในอาสาสมัครการวิจัยนี้เหมือนประชากรทั่วไปของไทย มีการแพ้ยางพาราประมาณ 6% และ 2% มีปฏิกิริยาภูมิแพ้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางผิวหนังต่อยางพารา และ ไม่พบว่ามีการแพ้ผลไม้ 3 ชนิดในบุคลากรทางการแพทย์ 2 คนที่มีปฏิกิริยาภูมิแพ้ทางผิวหนังต่อยางพารา [40]

Kanjanee *et al.* (2010) ทำการศึกษาวิธีการย่อยสลายโปรตีนทั้ง 3 วิธี ได้แก่ การทำซาพอนนิฟิเคชัน (saponification) การชะล้างด้วยสารลดแรงตึงผิว (surfactant washing) และการใช้เอนไซม์บำบัด (enzymatic treatment) เพื่อสังเกตผลกระทบต่อคุณสมบัติของยางพาราธรรมชาติ ศึกษาโดยใช้ยางพาราที่มีมวลโมเลกุลต่ำๆ ซึ่งกระบวนการการชะล้างด้วยสารลดแรงตึงผิวส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติของยางพาราอย่างมาก การทำซาพอนนิฟิเคชันผลลัพธ์จากการทดลองยังคงไม่ชัดเจนต้องทำการศึกษาต่อไป และการใช้เอนไซม์บำบัดนั้นสามารถลดขนาดของโปรตีนให้เล็กลงและยังคงคุณสมบัติของยางพาราไว้ได้ [41]



รูปที่ 2.5 แสดงขั้นตอนกระบวนการย่อย (a) การใช้เอนไซม์บำบัด (enzymatic treatment) และ (b) การชะล้างด้วยสารลดแรงตึงผิว (surfactant washing) หรือการบำบัดทางกายภาพ (physical treatment) [41]

ชโนวิทก์ (2541) ทำการศึกษาการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติโดยใช้สารลดแรงตึงผิวภายใต้ความดัน พบว่า การใช้สารลดแรงตึงผิว (KOH NaOH HCl H_2SO_4 SDS CTAB และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TERIC(N_{10})) ภายใต้ความดันและปรับสภาพความเป็นกรด-เบสเพื่อชะละลายโปรตีน นั้นสามารถลดปริมาณโปรตีนได้ระดับหนึ่ง โดย SDS สามารถลดปริมาณโปรตีนได้มากที่สุด โดยสามารถลดลงได้ 98.7% จากปริมาณโปรตีนเริ่มต้น (1575 mg/g) และความดันในสภาวะที่มีการกวนขณะชะละลาย พบว่า เมื่อเพิ่มความดันเป็น 40 บาร์ สามารถลดปริมาณโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับการชะละลายภายใต้บรรยากาศถึง 1.6 เท่า การทดลองชะละลายในโรงงานผลิตถุงมือยางด้วย SDS ในขั้นตอนก่อนและหลังทำให้ทำให้ถุงมือยางสุก ยืนยันการลดปริมาณโปรตีนได้มากกว่าน้ำ 1.7 เท่า [42]

วิราสิณี และนพพล (2556) ทำการศึกษาเอนไซม์ปาเปน พบว่าเอนไซม์ปาเปน เป็นเอนไซม์ที่พบมากในยางมะละกอในส่วนใบ ก้าน และผลดิบ การสกัดปาเปน สายพันธุ์มะละกอที่สามารถผลิตน้ำยางสดได้สูงคือ สายพันธุ์จาปาดา และแขกดา ปาเปนเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม โปรติเอส (protease) ที่มีรหัส EC number คือ EC 3.4.22.2 เป็น proteolytic enzyme สามารถย่อยโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงได้อาจเรียกว่าเป็น vegetable pepsin ปาเปนจัดอยู่ในกลุ่มโปรตีนที่มีกิจกรรมหลากหลาย รวมไปถึง เอนโดเพปทิเดส อะมิโนเพปทิเดส ไดเพปทิดิลเพปทิเดส และเอนไซม์ที่มีกิจกรรมทั้งเอกโซและเอนโดเพปทิเดส [9]

พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา (2546) ทำการศึกษาเอนไซม์ปาเปน พบว่ามีการนำเอนไซม์ปาเปนมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร คือ ใช้ด้านการทำให้ใส (clearification) สำหรับ เบียร์ ไวน์ และเครื่องดื่มอื่นๆ โดยปาเปนจะทำหน้าที่ย่อยโปรตีนโมเลกุลใหญ่ที่แขวนลอยในผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดตะกอนขุ่น ให้มีโมเลกุลเล็กลงได้สารละลายใส ไม่ขุ่นเมื่อเก็บรักษาไว้นาน หรือที่อุณหภูมิต่ำ และใช้ด้านการทำให้เนื้อนุ่ม (meat tenderizer) ช่วยย่อยเนื้อสัตว์ที่เหนียวให้นุ่ม เปื่อยเมื่อนำมาปรุงสุก (cooking) ได้ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเอนไซม์ปาเปนจะทำงานได้ดีขึ้น ที่อุณหภูมิสูง แต่ถ้าสูงกว่า 80 องศาเซลเซียส ปาเปนจะหยุดทำงาน (inactivate) เนื่องจากโปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติ (protein denaturation) [32]

พรรษา และกฤษณา (2543) ศึกษาการใช้เอ็นไซม์ในการลดโปรตีนในน้ำยางเพื่อการผลิตน้ำยางข้น พบว่า เอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โบมีเลน ที่ระดับ 0, 0.05, 0.1 และ 0.15% ต่อน้ำยางสด เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่ 40 องศาเซลเซียส แล้ววัดปริมาณไนโตรเจนในเนื้อยาง ที่เก็บไว้ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดทุกระดับสามารถทำให้โปรตีนในน้ำยางสดลดลงได้ โดยเอนไซม์ปาเปนระดับ 0.1% ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณโปรตีนจาก 0.52% เป็น 0.40% แต่เอนไซม์ปาเปนทำให้ความคงตัวขององน้ำยางลดลงมาก อาจมีปัญหาในการนำไปปั่นแยกเป็นน้ำยางข้น [43]

วรรณพ (2534) ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการขจัดโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติโดยเอนไซม์ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการขจัดโปรตีนออกจากน้ำยางข้น 60% และน้ำยางสดโดยใช้เอนไซม์สองชนิดคือ ปาเปน และอัลคาเลศ มีศักยภาพสูงในการลดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในยางได้ 70-75% ของปริมาณเริ่มต้น น้ำยางข้น 60% เป็นสารตั้งต้นที่ดีกว่าน้ำยางสดเนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจนตั้งต้นต่ำคงที่และให้ผลผลิตที่มีคุณสมบัติของยางดิบเป็นที่น่าพอใจ จากการศึกษาลักษณะการสุกของยางผสมสารเคมีโดยสูตรยางที่ใช้ทำยางพื้นรองเท้าเปรียบเทียบยาง DPNR กับยางควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าไม่มีความแตกต่างกันโดยไม่ขึ้นอยู่กับชนิดและพันธุ์ของน้ำยางเริ่มต้น และพบว่ายางที่มีไนโตรเจนต่ำ (<0.12 g%) มีแนวโน้มที่จะมีอัตราการสุกเร็วกว่ายางที่มีไนโตรเจนมาก โดยปริมาณไนโตรเจน 0.12 g% เป็นปริมาณมากที่สุดที่จะเอื้อต่อการมีอัตราการสุกสูง จากการศึกษาสมบัติ ทางฟิสิกส์ของยางวัลคาไนซ์ พบว่ายาง DPNR จะมีค่าแรงดึงและเปอร์เซนต์ การยืดตัวสูงขึ้น ในขณะที่มีค่าความแข็งและค่าโมดูลัส 300% ลดลง เมื่อเทียบกับยางที่ไม่ได้สกัดโปรตีนออก [44]

พรรณสุนันท์ เจียรรุ่งแสง (2543) ทำการศึกษาการลดปริมาณโปรตีนของยางธรรมชาติโดยโปรตีเอสร่วมกับพลังงานไมโครเวฟ พบว่า พลังงานไมโครเวฟช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของปาเปนในการลดปริมาณโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติโดยสามารถลดปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในช่วงขนาดโมเลกุล 14-30 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนแอลเลอเจนทำให้ได้ยางโปรตีนแอลเลอเจนต่ำที่ปลอดภัยสำหรับกลุ่มผู้ป่วยภูมิแพ้และกลุ่มบุคคลากรที่ทำงานในโรงพยาบาลที่ใช้ผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติ [45]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. Ammonia, Analytical grade บริษัท Qrec ประเทศนิวซีแลนด์
2. Formic acid, Analytical grade บริษัท Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
3. Hydrochloric, Analytical grade บริษัท Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
4. Tris-base, Analytical grade บริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. Bovine serum albumin (BSA), Analytical grade บริษัท ACROS organic ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Sodium chloride, Analytical grade บริษัท Carlo Erbareagent ประเทศอิตาลี
7. Ethanol, Analytical grade องค์การสุรา กรมสรรพสามิต
8. Methanol, Analytical grade บริษัท Carlo Erbareagent ประเทศอิตาลี
9. Phosphoric acid, Analytical grade บริษัท Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
10. Glacial acetic acid, Analytical grade บริษัท Qrec ประเทศนิวซีแลนด์
11. Coomassie Brilliant Blue G 250, Analytical grade บริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา
12. Distilled water
13. Papain, Bacteriological grade บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ถ้วยพลาสติกพร้อมฝาปิด ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ทนความร้อนได้ 60 องศาเซลเซียส
2. ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
3. กระบอกตวง ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์ ขนาด 30, 250 และ 1,000 มิลลิลิตร
5. ไมโครปิเปต ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร
6. ทิปส์สำหรับไมโครปิเปต ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร
7. หลอดเซ็นติฟิวจ์ (Centifuge tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร
8. ลูกยาง
9. พาราฟิล์ม
10. หลอดหยด
11. แท่งแม่เหล็ก (Megnatic bar)
12. กระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์
13. รางรองน้ำยางพารา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14. ถ้วยรองน้ำยางพารา
15. เครื่องปั่นกวน
16. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
17. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
18. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer)
19. เครื่องโฮโมจีไนซ์ (Homogenizer)
20. เครื่องปั่นเหวี่ยงสารตกตะกอน (Centrifuge)
21. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
22. ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ

3.2 การเก็บน้ำยางพาราและรักษาสภาพน้ำยางพารา

1. เก็บน้ำยางพาราที่ได้จากสวนยางพารา

เก็บน้ำยางพาราสดที่ถูกเก็บจากสวนยางพาราในจังหวัดสตูล ซึ่งน้ำยางพาราสดจะสูญเสียสภาพภายในเวลาเพียง 4–6 ชั่วโมง ดังนั้นการนำน้ำยางพารามาทดสอบในห้องปฏิบัติการ จึงต้องทำการรักษาสภาพน้ำยางพาราสด โดยเฉพาะเรื่องความสะอาดที่จะต้องป้องกันไม่ให้มีแบคทีเรียจุลินทรีย์เข้าสู่น้ำยางและป้องกันการสูญเสียสภาพของน้ำยางพาราโดยเร็วที่สุด ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้วิธีการรักษาสภาพน้ำยางพาราโดยการใส่สารละลายแอมโมเนีย

2. วิธีการรักษาสภาพน้ำยางพาราโดยการใส่สารละลายแอมโมเนีย

การรักษาสภาพน้ำยางพาราสดที่ได้จากสวนยางพารา ด้วยการทำน้ำยางพาราสดให้เป็นน้ำยางพาราข้นชนิดแอมโมเนียสูง (High ammonia; HA) โดยการเติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 2 % ในอัตราส่วน 0.7 % ต่อน้ำหนักกรัมยาง โดยในน้ำยางพาราสด 1 ลิตร ใช้สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 2 % ปริมาตร 70 มิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาสภาพน้ำยางให้อยู่ได้นานขึ้น

3.3 การลดปริมาณโปรตีนในยางก้อนถ้วยด้วยสารละลายเอนไซม์ ในห้องปฏิบัติการ

1. นำน้ำยางพาราที่เก็บรักษาสภาพด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 2% ไปปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวนสารที่ความเร็ว 1,400 รอบต่อนาที โดยทำการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างทุกๆ 30 นาที ด้วยกระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์ เพื่อตรวจสอบค่าความเป็นกรดเป็นด่างจนกว่าจะลดลงเหลือ pH = 8 (ถ้าหากปั่นกวนน้ำยางพารานานเกิน 3 ชั่วโมง แล้วไม่ได้ pH = 8 ให้ดมกลิ่น ถ้ายังมีกลิ่นแอมโมเนียให้ปั่นต่อจนกว่ากลิ่นจะหายไป แต่ถ้าดมแล้วไม่มีกลิ่นถือว่าใช้ได้)

2. นำน้ำยางพาราที่ปั่นกวนไล่แอมโมเนียแล้ว มาใส่ในถ้วยพลาสติก ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จำนวน 8 ถ้วย โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดทดสอบ

- ชุดที่ 1 “ชุดควบคุม” จำนวน 2 ถ้วย โดยใส่กรดฟอร์มิกเข้มข้น 3% ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นเปิดฝา 1 ถ้วย (ชุดควบคุมในสภาวะเปิด) และปิดฝาทิ้งไว้ 1 ถ้วย (ชุดควบคุมในสภาวะปิด)

- ชุดที่ 2 “ชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์” จำนวน 3 ถ้วย โดยใส่สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาณ 150, 300 และ 600 ไมโครลิตร ตามลำดับ และคนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นใส่กรดฟอร์มิกเข้มข้น 3% ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและปิดฝา ทั้ง 3 ถ้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ชุดที่ 3 “ชุดทดสอบสารละลายเอนไซม์” จำนวน 3 ถ้วย โดยใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปน เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 150, 300 และ 600 ไมโครลิตร ตามลำดับ และคนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นใส่กรดฟอร์มิกเข้มข้น 3% ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและปิดฝา ทั้ง 3 ถ้วย

3. นำถ้วยชุดทดลองยางพาราทั้ง 8 ถ้วย ไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองจำนวนทั้งหมด 5 ซ้ำ

3.4 การลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยด้วยสารละลายเอนไซน์ ในพื้นที่จริง

3.4.1 การสุ่มตัวอย่างประชากรต้นยางพารา

1. ศึกษาบริเวณพื้นที่รอบสวนยางพารา โดยการคัดเลือกต้นยางพาราที่มีอายุเฉลี่ยใกล้กัน จากนั้นวัดปริมาตรน้ำยางพาราในถ้วยรองน้ำยางพารา ที่รองน้ำยางพาราตั้งแต่เริ่มต้นกรีดยางจนน้ำยางพาราหยุดไหล ดังนั้นจึงได้ใช้ตัวอย่างต้นยางพาราจากสวนยางพารา จังหวัดสตูล ในพื้นที่ขนาด 50 ไร่ โดยใน 1 ไร่มีต้นยางพาราจำนวน 70-80 ต้น โดยทำเครื่องหมายแสดงรหัสในแต่ละต้น ทำการหาค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำยางที่ได้ต่อต้น

2. ทำการสุ่มต้นยางพาราเพื่อนำมาใช้ในการทดสอบการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายเอนไซม์ โดยใช้วิธีการเลือกหน่วยตัวอย่างแบบมีระบบ (Systematic sampling: SYS) ซึ่งการสุ่มจะแบ่งประชากรออกเป็นช่วงๆที่เท่ากัน อาจใช้ช่วงจากสัดส่วนของขนาดกลุ่มตัวอย่างและประชากร แล้วสุ่มประชากรหน่วยแรกและหน่วยต่อๆไป โดยต้นยางพาราที่สุ่มทั้งหมด 28 ต้น

3. เปลี่ยนถ้วยรองน้ำยางพาราเป็นถ้วยใหม่และทำเครื่องหมายสำหรับการทดลองให้กับต้นยางพาราที่ทดสอบ โดยต้นยางพาราที่ทดสอบ 28 ต้นนั้น แบ่งออกได้เป็นทั้งหมด 7 ซ้ำ ซึ่งใน 1 ซ้ำ การทดลองจะประกอบด้วย 4 ถ้วย คือ “ถ้วยชุดควบคุมที่สภาวะเปิด (Open)”, “ถ้วยชุดควบคุมที่สภาวะปิด (Close)”, “ถ้วยชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์ที่สภาวะปิด (Buffer)” และ “ถ้วยชุดทดสอบสารละลายเอนไซม์ที่สภาวะปิด (Enzyme)”

3.4.2 การลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายเอนไซน์ก่อนการกรีดยางพารา ในพื้นที่จริง

1. คำนวณปริมาตรสารเคมีที่ใส่ในถ้วยยางพาราจากค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำยางพาราต่อต้นยางพารา

2. ใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปน ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในถ้วยชุดทดสอบสารละลายเอนไซม์ที่สภาวะปิด (Enzyme) และใส่สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในถ้วยชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์ที่สภาวะปิด (Buffer) จากนั้นนำพลาสติกห่ออาหารมาคลุมถ้วยชุดควบคุมที่สภาวะปิด (Close), ถ้วยชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์ที่สภาวะปิด (Buffer) และถ้วยชุดทดสอบสารละลายเอนไซม์ที่สภาวะปิด (Enzyme) โดยให้เหลือช่องว่างสำหรับให้น้ำยางพาราไหลได้อย่างสะดวก

3. กรีดยางพาราให้น้ำยางพาราหยดลงมาในถ้วย ทำการทิ้งไว้ 3-4 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำยางพาราจะหยุดไหล

4. เติมกรดฟอร์มิกเข้มข้น 3% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในทุกถ้วยชุดทดลองจากนั้นบ่มทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง และนำมาเก็บไว้ในถุงพลาสติกซิปล็อก เพื่อนำไปวัดค่าความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำซีรัมและก้อนยางพารา เช่นเดียวกันกับวิธีการหาค่าความเข้มข้นโปรตีนของสารตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายเอนไซน์หลังการกรีดยางพารา ในพื้นที่จริง

1. นำพลาสติกห่ออาหารมาคลุม "ถ้วยชุดควบคุมที่สภาวะปิด (Close)", "ถ้วยชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์ที่สภาวะปิด (Buffer)" และ "ถ้วยชุดทดสอบสารละลายเอนไซม์ที่สภาวะปิด (Enzyme)" โดยให้เหลือช่องว่างสำหรับให้น้ำยางพาราไหลได้อย่างสะดวก กรีดยางพาราให้น้ำยางหยดลงมาในถ้วย แล้วทำการทิ้งไว้ 3-4 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำยางพาราจะหยุดไหล

2. ทำการคำนวณปริมาตรสารเคมีที่ใส่ในถ้วยยางพาราจากปริมาตรน้ำยางพาราที่ได้ในแต่ละถ้วย โดยทำการแบ่งชุดการทดลองที่ได้เป็น 7 ชุดโดยในแต่ชุดการทดลองทำการหาค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำยางพารา เพื่อหาปริมาตรสารเคมีที่เหมาะสมในแต่ละชุดการทดลอง

3. หลังจากน้ำยางพาราหยุดไหล ทำการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปน ลงใน "ถ้วยชุดทดสอบสารละลายเอนไซม์ที่สภาวะปิด (Enzyme)" และทำการใส่สารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ ลงใน "ถ้วยชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์ที่สภาวะปิด (Buffer)" ในอัตราส่วนที่คำนวณไว้ในแต่ละชุดการทดลอง คนสารให้เข้ากันและทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที

4. เติมกรดฟอร์มิกเข้มข้น 3% ในอัตราส่วนที่คำนวณไว้ในแต่ละชุดการทดลองในทุกถ้วยชุดทดสอบจากนั้นบ่มทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง และนำมาเก็บไว้ในถุงพลาสติกซิปล็อก เพื่อนำไปวัดค่าความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำซีรัมและก้อนยางพารา เช่นเดียวกันกับวิธีการหาค่าความเข้มข้นโปรตีนของสารตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในยางพาราก้อนถ้วยด้วยวิธีแบรดฟอร์ด

3.5.1 การทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้นโปรตีนจากสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin: BSA)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin: BSA) เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Stock solution) (ภาคผนวก ก)

2. ศึกษาหากราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโบวินซีรัมอัลบูมิน Bovine serum albumin (BSA) โดยเจือจางสารละลาย stock solution เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก)

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายแบรดฟอร์ดเวิร์คกิ้งบัฟเฟอร์ (Bradford Working Buffer: BWB) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA)

3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัม

1. แยกน้ำซีรัมออกจากก้อนยางพาราและหาปริมาตรของน้ำซีรัมที่ได้ โดยใช้กระบอกตวงแล้วจดบันทึกปริมาตรของน้ำซีรัมที่ได้และลักษณะทางกายภาพของน้ำซีรัม

2. นำน้ำซีรัมมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 โดยใช้น้ำซีรัม 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายแบรดฟอร์ดเวิร์คกิ้งบัฟเฟอร์ (BWB) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร

4. นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณโปรตีนจากกราฟของสารละลายมาตรฐานของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA)

3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในก้อนยางพารา

1. นำก้อนยางพาราที่แยกน้ำซีรัมแล้ว นำไปล้างสิ่งสกปรกออกด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งสักพักและนำมาชั่งน้ำหนักก้อนยางพาราที่ได้ โดยจดบันทึกน้ำหนักและและลักษณะทางกายภาพของก้อนยางพารา

2. ตัดชิ้นก้อนยางพาราให้เป็นชิ้นละเอียดและชั่งตัวอย่างชิ้นยางพาราให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.500 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่แช่ไว้ในน้ำแข็ง

3. เติมสารละลาย Tris–HCl ค่า pH=7.5 ที่ผสมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ปริมาณ 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปโฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 1 นาที (ระวังอย่าให้เกิดความร้อน) จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และนำสารละลายส่วนใสหลังจากการปั่นเหวี่ยงไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

4. ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายแบรดฟอร์ดเวิร์คกิ้งบัฟเฟอร์ (BWB) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณโปรตีนจากกราฟของสารละลายมาตรฐานของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน (BSA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในห้องปฏิบัติการ

จากข้อมูลสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการนำเอนไซม์ปาเปนมาใช้ลดปริมาณโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อ Casein พบว่า แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ปาเปนที่สภาวะเหมาะสม คือ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และค่า pH = 5.0 ตามงานวิจัยที่ทำการศึกษาแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ปาเปนที่เหมาะสม เช่น Hoover และ Kokes [46] เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดี คือ มีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระและการแตกของพันธะเพปไทด์ออกมามากกว่าพีเอชอื่นๆที่ทำการศึกษา

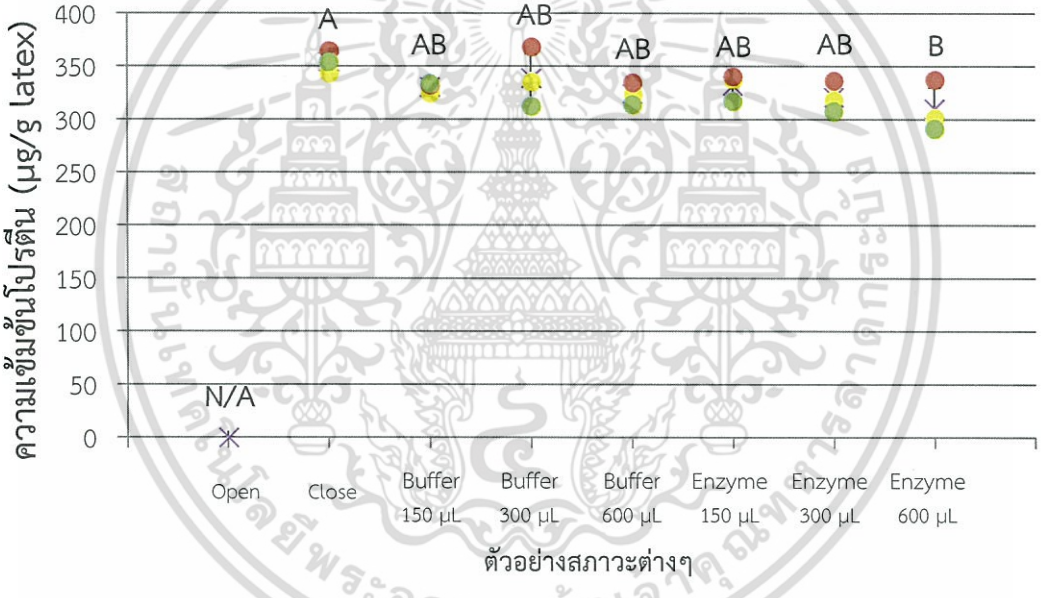
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วย โดยใช้ตัวอย่าง 8 ตัวอย่าง คือ “ชุดควบคุมในสภาวะเปิด(Open)”, “ชุดควบคุมในสภาวะปิด(Close)”, “ชุดควบคุมสารละลายบัฟเฟอร์ในสภาวะปิด(Buffer)” ที่ปริมาตรแตกต่างกัน 3 ปริมาตร ต่อปริมาตรน้ำยาง 15 มิลลิลิตร และ “ชุดทดสอบเอนไซม์ปาเปนในสภาวะปิด(Enzyme)” ที่ปริมาตรแตกต่างกัน 3 ปริมาตร ต่อปริมาตรน้ำยาง 15 มิลลิลิตร โดยปริมาตรเอนไซม์ปาเปนที่ใช้ นำมาคำนวณความเข้มข้นได้ คือ 0 (ชุดควบคุม), 275.23, 545.45, 1,071.43 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

การศึกษาหาปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัมจากยางพาราก้อนถ้วยด้วยวิธี Bradford protein assay ซึ่งนำมาคำนวณค่าความเข้มข้นโปรตีนจากสมการแนวโน้มเส้นตรง $y = 0.0037x$ และแสดงความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ $R^2 = 0.981$ (ภาคผนวก ข) ที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรกับค่าความเข้มข้นโปรตีนของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินที่ความเข้มข้นระหว่าง 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากการศึกษาที่สภาวะแตกต่างกัน คือ “Close”, “Buffer 150 µL”, “Buffer 300 µL”, “Buffer 600 µL”, “Enzyme 150 µL”, “Enzyme 300 µL”, “Enzyme 600 µL” ต่อปริมาตรน้ำยาง 15 มิลลิลิตร (“Open” ไม่สามารถนำน้ำซีรัมมาวัดได้เนื่องจากระเหยออกไปจนหมดจากการเปิดฝาถ้วยในสภาวะเปิด) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ 354.21, 330.41, 338.93, 324.29, 332.01, 321.07 และ 310.30 กรัมต่อกรัมยางพาราตามลำดับ (รูปที่ 4.1) จากผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่า ปริมาณโปรตีนชุดทดสอบเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่น้อยกว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมเอนไซม์ปาเปน แสดงความสัมพันธ์ในการลดลงของปริมาณโปรตีนลดลงตามความเข้มข้นเอนไซม์ปาเปนที่เติมลงไป โดยการเติมเอนไซม์ปาเปน 600 ไมโครลิตร (1,071.43 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) มีปริมาณโปรตีนลดลงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธีการทางสถิติ One-Way ANOVA ทดสอบโดยวิธี Fisher-Hayter test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ภาคผนวก ค) พบว่า มีตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างกันอย่างมีนัยสำคัญคือ ค่าปริมาณโปรตีนใน “ชุดควบคุมในสภาวะปิด (Close)” มีปริมาณโปรตีนเหลือมากที่สุด และ “ชุดทดสอบเอนไซม์ปาเปน 600 ไมโครลิตร” หรือที่ความเข้มข้น 1,071.43 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (“Enzyme 600 µL”) มีปริมาณโปรตีนเหลือน้อยที่สุด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่สำหรับชุดทดสอบอื่นๆ นั้นเมื่อมาเปรียบเทียบกันแล้วไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ซึ่งจากผลการทดลองนี้ พบว่าไม่สามารถนำน้ำในส่วนซีรัมมาวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นโปรตีนได้ เนื่องจากปริมาณน้ำซีรัมในถ้วย “ชุดควบคุมในสภาวะเปิด (Open)” นั้นระเหยออกจนหมด จึงไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถนำค่าความเข้มข้นโปรตีนในชุดควบคุมในสภาวะเปิดมาอภิปรายผลได้ ในส่วนของการวิเคราะห์ความเข้มข้นโปรตีนในน้ำซีรัมนั้น จึงเปรียบเทียบได้เพียงปัจจัยของเอนไซม์ที่เป็นตัวทำปฏิกิริยาที่มีผลต่อการลดโปรตีนในสภาวะปิดได้เท่านั้น พบว่า ค่าความเข้มข้นโปรตีนของชุดควบคุมในสภาวะปิดนั้น มีค่าสูงกว่าตัวทดสอบอื่นๆเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการลดลงของความเข้มข้นโปรตีนกับชุดทดสอบ “Enzyme 600 µL” นั้น พบว่า ชุดทดสอบ “Enzyme 600 µL” สามารถลดปริมาณโปรตีนได้ประมาณ 12% จากชุดควบคุมในสภาวะปิด ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการใช้เอนไซม์ปาเปนในการลดปริมาณโปรตีนในยางพารา อย่างไรก็ตามการใส่สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์นั้น ให้ผลไม่แตกต่างกันกับการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนที่ปริมาตร 150 กับ 300 ไมโครลิตร ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เกิดจากสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ทั้งสามปริมาตรและสารละลายเอนไซม์ปาเปนที่ปริมาตร 150 กับ 300 ไมโครลิตร ไปเร่งปฏิกิริยานั้นมีความสามารถในการช่วยให้เกิดการย่อยสลายสายโปรตีนได้เท่ากับการใส่สารละลายเอนไซม์ 600 ไมโครลิตร

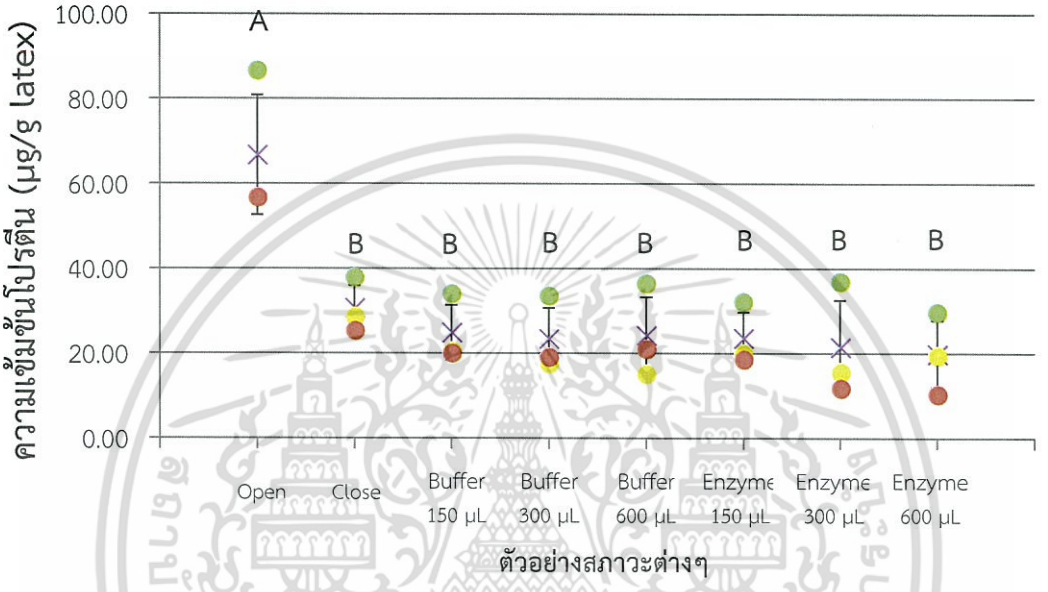


รูปที่ 4.1 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ

ทำการศึกษาหาปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยด้วยวิธี Bradford protein assay ที่สภาวะแตกต่างกัน คือ “Open”, “Close”, “Buffer 150 µL”, “Buffer 300 µL”, “Buffer 600 µL”, “Enzyme 150 µL”, “Enzyme 300 µL”, “Enzyme 600 µL” ต่อปริมาตรน้ำยาง 15 มิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ 66.73, 30.69, 24.90, 23.46, 24.26, 23.62, 21.53 และ 19.92 ไมโครลิตรต่อกรัมยางพารา ตามลำดับ (รูปที่ 4.2) จากผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่าในสภาวะปิดของชุดควบคุมและชุดทดสอบมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าชุดควบคุมสภาวะเปิดอย่างเห็นได้ชัดและเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธีการทางสถิติ One-Way ANOVA ทดสอบโดยวิธี Fisher-Hayter test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า สภาวะปิดของชุดควบคุมและชุดทดสอบมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าชุดควบคุมสภาวะเปิดซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มข้นโปรตีนในก้อนยางชุดควบคุมในสภาวะเปิดมีค่าที่สูงกว่าตัวอย่างอื่นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพในการลดปริมาณโปรตีนในยางพาราด้วยในสภาวะปิด พบว่า “ชุดควบคุมในสภาวะปิด” สามารถลดปริมาณโปรตีนได้ประมาณ 54% และชุดทดสอบ “Enzyme 600 µL” ในสภาวะปิด สามารถลดปริมาณโปรตีนได้ประมาณ 70% จากชุดควบคุมในสภาวะเปิด แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างถ้วยตัวอย่างในสภาวะปิดทั้ง 7 ถ้วยแล้วนั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4.2 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนเนื้อยางในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ

เนื่องจาก การแยกส่วนประกอบสารอินทรีย์ที่ไม่ใช่ส่วนเนื้อยาง จากหนังสือ Natural rubber : biology, cultivation, and technology ของ Sethuraj and Mathew, 1992 [17] ได้จำแนกชั้นน้ำยางพาราสดได้เป็น 4 ส่วน ซึ่งส่วนซีรัมในน้ำยางพาราเป็นส่วนที่พบโปรตีนมากที่สุดประมาณ 50% ของน้ำยางพารา ซึ่งในชุดควบคุมในสภาวะเปิดจะเกิดการระเหยของน้ำออกจนหมด จึงมีความเป็นไปได้ว่าโปรตีนส่วนของซีรัมนั้น อาจจะติดตามพื้นผิวโดยรอบของก้อนยางส่งผลให้ก้อนยางมีสีเหลืองจนถึงน้ำตาลและทำให้ค่าความเข้มข้นโปรตีนที่วัดได้มีค่าสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆในสภาวะปิดทั้งหมดนั้นที่ยังคงมีน้ำซีรัมแยกชั้นไว้อย่างชัดเจนและไม่ระเหยไป และจากงานวิจัยของ Kanjanee *et. al*, 2010 [41] และ ชโนวิทก์, 2541 [42] ที่ทำการศึกษาวิธีการลดปริมาณย่อยสลายโปรตีนที่ส่งผลกระทบต่อยางพารานั้น พบว่า การชะล้างด้วยน้ำสามารถทำให้โมเลกุลของโปรตีนหลุดออกมาจากเนื้อยางพาราได้ ซึ่งในการทดลองได้ทำการล้างก้อนยางด้วยน้ำสะอาดก่อนจะนำมาทดสอบค่าความเข้มข้นโปรตีนเสมอ จึงมีความเป็นไปได้ว่าการใช้น้ำล้างทำคามสะอาดก้อนยางก่อนทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนนั้น อาจทำให้ปริมาณโปรตีนนก้อนยางพารามีค่าลดลง จึงทำให้ค่าความเข้มข้นโปรตีนในชุดควบคุมในสภาวะเปิดมีค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางที่วัดสูง ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับตัวอย่างอื่นๆทุกตัว และในงานวิจัยนั้นยังกล่าวอีกว่า เมื่อนำเอนไซม์เข้ามาเป็นตัวเร่งในการทำปฏิกิริยาในการตัดสายโซ่พันธะเปปไทด์ให้โปรตีนเสียสภาพโดยทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกลายเป็นกรดอะมิโนและพอลิเปปไทด์ จึงทำให้ค่าความเข้มข้นโปรตีนที่วัดได้ในตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บำบัดเพื่อย่อยสลายโปรตีนทั้งสามความเข้มข้น มีค่าความเข้มข้นโปรตีนลดลงไปตามอัตราปริมาณสารละลายเอนไซม์ปาเปนที่ใส่ลงไป

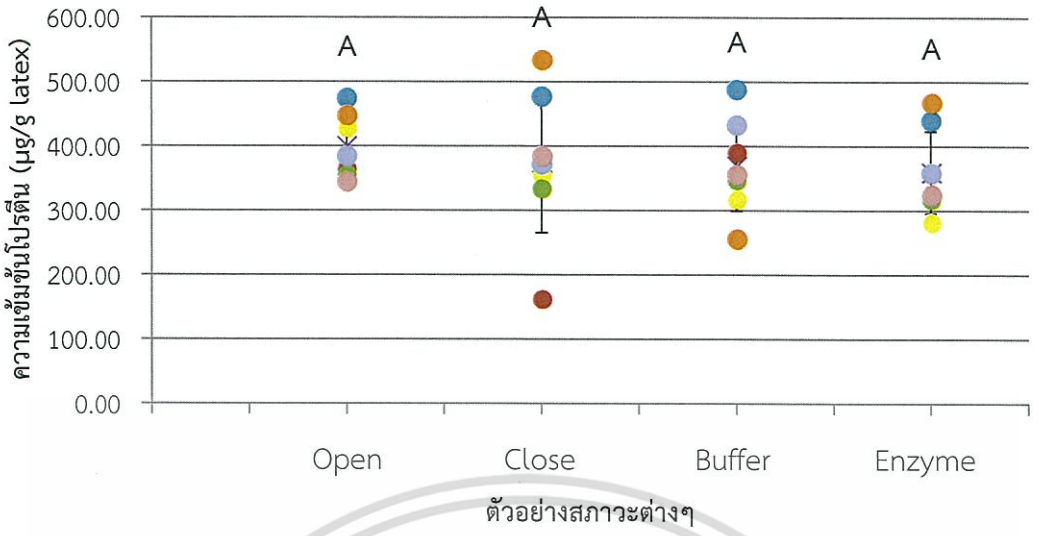
4.2 ผลการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในพื้นที่

การศึกษาในพื้นที่ ใช้วิธีการศึกษาโดยอ้างอิงกระบวนการทำงานของชาวบ้านในพื้นที่เป็นหลัก เช่น วิธีการใส่กรดและปริมาณกรด, เวลาที่กรีดและเก็บก้อนยาง, สภาวะแวดล้อมของต้นยางพารา เป็นต้น โดยในการทดลองนี้จะควบคุมปัจจัยในการทดลอง คือ ระยะเวลาในการเริ่มกรีด-เก็บน้ำยาง รวมกัน 3 ชั่วโมง อายุต้นยางพารา 25±3 ต้น พันธ์ต้นยางพารา BPM 24 และเนื่องจากไม่สามารถควบคุมปัจจัยบางปัจจัยให้เป็นไปตามการทดลองในห้องปฏิบัติการได้ เช่น ปริมาณของน้ำยางที่กรีดได้ในแต่ละต้น อุณหภูมิ 24-25 องศาเซลเซียส ความชื้น 73-76% ความดันบรรยากาศ 1,009 เฮกโตปาสคาล โดยถือว่าเป็นการจำลองสถานการณ์ในกรณีถ้าชาวบ้านจะนำไปใช้ได้จริง โดยทำการทดสอบในสภาวะที่แตกต่างกัน คือ “ชุดควบคุมในสภาวะเปิด (Open)”, “ชุดควบคุมในสภาวะปิด (Close)”, “ชุดควบคุมโดยใส่สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ในสภาวะปิด (Buffer)” และ “ชุดทดสอบโดยใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนในสภาวะปิด (Enzyme)” โดยการทดสอบนี้นั้นจะไม่สามารถทำการควบคุมปัจจัยปริมาตรน้ำยางที่กรีดได้

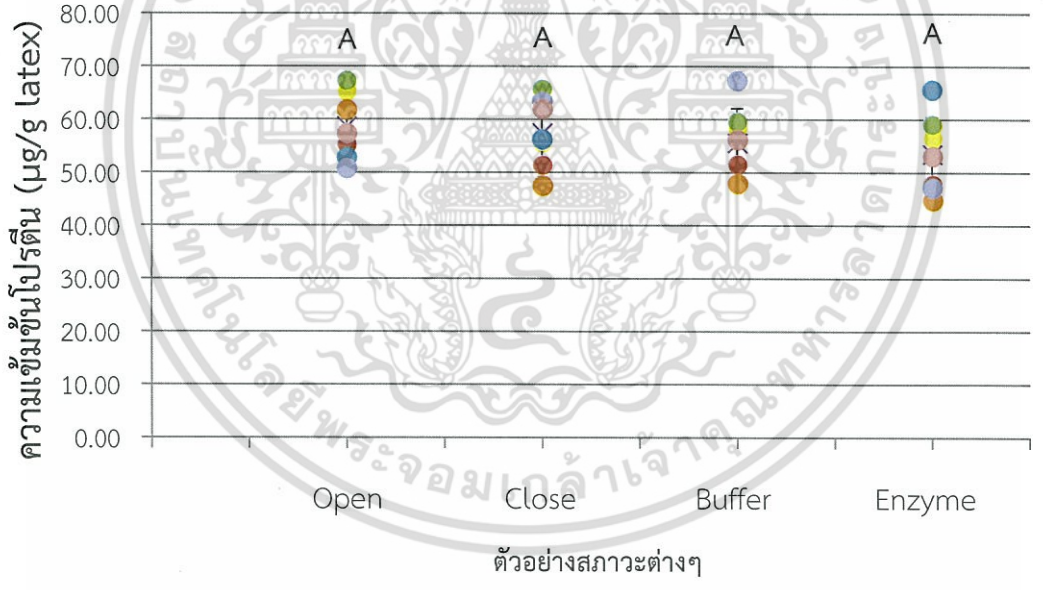
4.2.1 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนน้ำซีรัมและเนื้อยางในยางพาราก้อนถ้วย โดยใส่สารเอนไซม์ปาเปนก่อนกรีดยางพารา

การศึกษาการลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะปิด โดยใช้วิธีการใส่สารเอนไซม์ปาเปนไว้ในถ้วยรองน้ำยางก่อนทำการกรีดยาง พบว่า ค่าความเข้มข้นของโปรตีนซีรัมที่วัดได้ในแต่ละชุดการทดลองในสภาวะที่แตกต่างกัน คือ “Open”, “Close”, “Buffer” และ “Enzyme” วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ 400.34, 384.89, 370.17 และ 359.93 ไมโครลิตรต่อกรัมยางพารา ตามลำดับ (รูปที่ 4.3) ค่าความเข้มข้นของโปรตีนก้อนยางวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ 58.73, 57.49, 55.65 และ 53.56 ไมโครลิตรต่อกรัมยางพารา ตามลำดับ (รูปที่ 4.4) และจากการทดสอบเปรียบเทียบด้วยวิธีการทางสถิติ One-Way ANOVA ทดสอบโดยวิธี Fisher-Hayter test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งน้ำซีรัมและก้อนยาง พบว่า ค่าความเข้มข้นโปรตีนของน้ำซีรัมและก้อนยางนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มแล้วอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือ กลุ่ม A (ภาคผนวก ค) ซึ่งถ้าเทียบกับการทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว พบว่าค่าความเข้มข้นโปรตีนของพื้นที่จริงนั้น มีค่าที่สูงกว่าค่าในห้องปฏิบัติการซึ่งเท่ากับว่าความเข้มข้นโปรตีนแทบจะไม่ลดลงเลย เนื่องจากการทดลองในพื้นที่จริงนั้น ไม่สามารถทำให้อยู่ในสภาวะปิดได้อย่างสมบูรณ์ได้เนื่องจากในพื้นที่จริงต้องมีการกรีดให้น้ำยางไหลสู่ถ้วยรองตลอดเวลา จึงต้องทำการเว้นพื้นที่ไว้สำหรับน้ำยางพาราที่จะหยดลงมาจากรางรองน้ำยาง และการทดสอบด้วยการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนก่อนทำการกรีดยางพารานั้น จะทำให้สารละลายที่ใส่อยู่เฉพาะที่ก้นถ้วยรองเมื่อน้ำยางพาราไหลลงมาในถ้วยจะสามารถสัมผัสกับสารได้ทั่วถึง ทำให้การทดลองลดปริมาณโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนอาจจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ไม่ทั่วน้ำยางพารา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัมของตัวอย่างที่ใส่สารเอนไซม์ปาเปนทิ้งไว้ในถ้วยรองน้ำยางก่อนทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ



รูปที่ 4.4 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในก้อนยางของตัวอย่างที่ใส่สารเอนไซม์ปาเปนทิ้งไว้ในถ้วยรองน้ำยางก่อนทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ

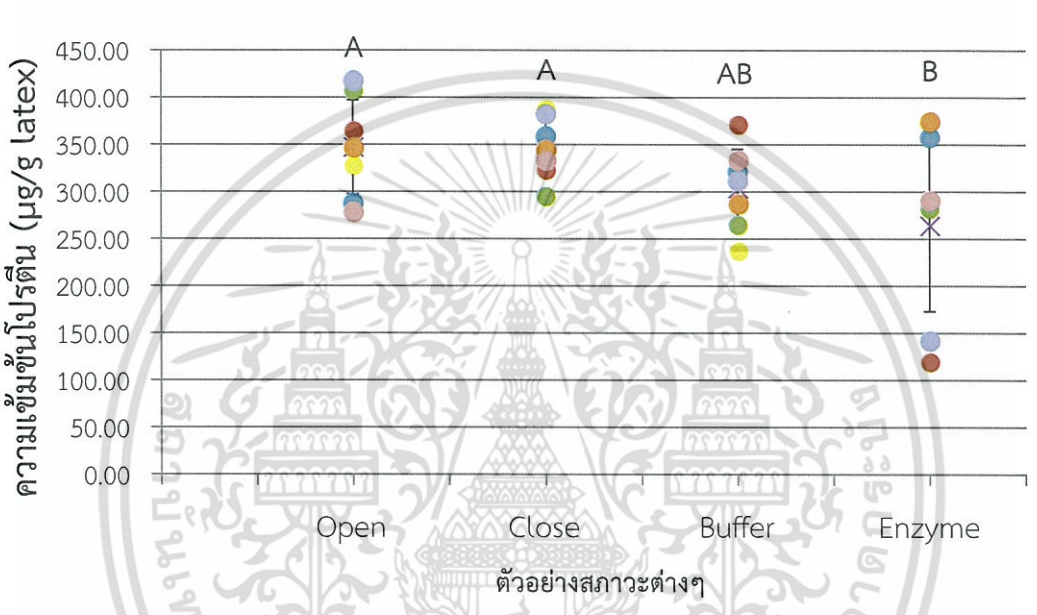
4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนน้ำซีรัมและเนื้อยางในยางพาราก้อนถ้วย โดยใส่สารเอนไซม์ปาเปนหลังกรีดยางพารา

การศึกษาการลดปริมาณโปรตีนในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะปิด โดยใช้วิธีการใส่สารเอนไซม์ปาเปนไว้ในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยาง พบว่า ค่าความเข้มข้นของโปรตีนที่วัดได้ในแต่ละชุดการทดลองเมื่อนำมาทดสอบเปรียบเทียบด้วยวิธีการทางสถิติ One-Way ANOVA ทดสอบโดยวิธี Fisher-Hayter test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งน้ำซีรัมและก้อนยาง พบว่า ค่าความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นโปรตีนที่วิเคราะห์ได้นั้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มพบว่ามีอย่างน้อยหนึ่งตัวอย่างที่แตกต่างกัน

คำนวณค่าความเข้มข้นของโปรตีนในซีรัมของตัวอย่างที่ใส่สารเอนไซม์ปาเปนทิ้งไว้ในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยาง โดยทดลองกับชุดการทดลอง 4 ตัวอย่าง คือ “Open”, “Close”, “Buffer” และ “Enzyme” ได้ค่าความเข้มข้น คือ 347.30, 346.49, 303.93 และ 264.31 ไมโครลิตรต่อกรัมยางพารา ตามลำดับ (รูปที่ 4.5) เมื่อทดสอบการจัดกลุ่มด้วยวิธี Fisher-Hayter test พบว่า ตัวอย่าง “Close” และ “Open” จัดอยู่ในกลุ่ม A, “Buffer” จัดอยู่ระหว่างกลุ่ม A-B และตัวอย่าง “Enzyme” จัดอยู่ในกลุ่ม B (ภาคผนวก ค)



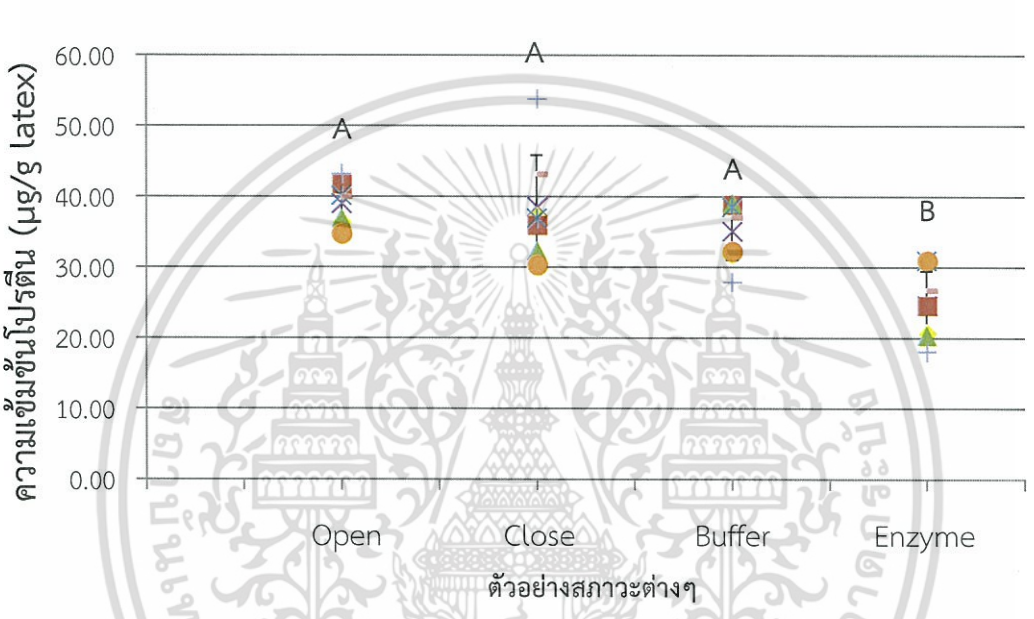
รูปที่ 4.5 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในน้ำซีรัมของตัวอย่างที่ใส่สารเอนไซม์ปาเปนในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ

โดยจากผลการทดลองค่าความเข้มข้นโปรตีนในน้ำซีรัม แสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มข้นโปรตีนในชุดควบคุมในสภาวะเปิดและสภาวะปิดนั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ มีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมแบบปิดของชุดการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งแสดงว่า ชุดควบคุมในสภาวะเปิดในพื้นที่จริงนั้น มีค่าเทียบเท่ากับชุดควบคุมในสภาวะปิดในห้องปฏิบัติการ ซึ่งข้อแตกต่างระหว่างการทดลองในห้องปฏิบัติการกับพื้นที่จริงนั้น คือ การที่ในห้องปฏิบัติการชุดควบคุมน้ำระเหยออกจากถ้วยจนหมด ในขณะที่พื้นที่จริงยังมีน้ำซีรัมเหลืออยู่ในถ้วย เนื่องมาจากน้ำในส่วนซีรัมของชุดควบคุมในสภาวะเปิดไม่ได้ระเหยออกจากถ้วย เนื่องมาจากทำการเก็บตัวอย่างไว้ในถุงซิปก่อนที่น้ำซีรัมนั้นจะระเหยออกจนหมด ปัญหามาจากระยะเวลาที่ลงไปทำการทดลองในพื้นที่จริงมีเวลาที่จำกัดจึงไม่สามารถทิ้งไว้ให้ครบ 24 ชั่วโมง ตามแบบการทดลองในห้องปฏิบัติการได้ ค่าชุดควบคุมในสภาวะเปิดที่ได้นั้นจึงมีค่าไม่แตกต่างกันกับค่าชุดควบคุมในสภาวะปิด และยังมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมในสภาวะปิดในห้องปฏิบัติการอีก แต่ชุดทดสอบเอนไซม์นั้นแตกต่างกับชุดควบคุมในสภาวะเปิดและในสภาวะปิดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเมื่อนำมาคำนวณประสิทธิภาพในการลดลงของโปรตีน พบว่า ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์นั้นสามารถลดความเข้มข้นโปรตีนได้ประมาณ 24% จากชุดควบคุมในสภาวะเปิด ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปน

คำนวณค่าความเข้มข้นของโปรตีนในก้อนยางของตัวอย่างที่ใส่เอนไซม์ปาเปนทิ้งไว้ในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยาง โดยทดลองกับตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง คือ “Open”, “Close”, “Buffer” และ “Enzyme” ได้ค่าความเข้มข้น คือ 39.072, 38.589, 35.142 และ 24.697 ไมโครลิตรต่อกรัมยางพารา ตามลำดับ (รูปที่ 4.6) เมื่อทดสอบการจัดกลุ่มด้วยวิธี Fisher-Hayter test พบว่า ทั้งตัวอย่าง “Open”, “Close” และ “Buffer” จัดอยู่ในกลุ่ม A และตัวอย่าง “Enzyme” จัดอยู่ในกลุ่ม B (ภาคผนวก ง)



รูปที่ 4.6 กราฟจุดแสดงค่าปริมาณโปรตีนในก้อนยางของตัวอย่างที่ใส่สารเอนไซม์ปาเปนในถ้วยรองน้ำยางหลังทำการกรีดยางในสภาวะต่างๆ

โดยจากผลการทดลองค่าความเข้มข้นโปรตีนในก้อนยาง แสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มข้นโปรตีนในชุดควบคุมในสภาวะเปิด, ในสภาวะปิดและบัฟเฟอร์นั้น มีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุมในสภาวะปิดของชุดการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งแสดงว่า ชุดควบคุมในสภาวะเปิดในพื้นที่จริงนั้น มีค่าเทียบเท่ากับชุดควบคุมในสภาวะปิดในห้องปฏิบัติการ อาจเป็นเพราะก้อนยางที่เก็บหลังครบกำหนดเวลายังมีน้ำซีรัมเหลืออยู่ ไม่ได้ระเหยออกไปในถ้วยรองน้ำยางชุดควบคุมในสภาวะเปิดลักษณะก้อนยางมีสีขาวและมีเศษกิ่งไม้ ใบไม้ในถ้วยเล็กน้อย ในขณะที่ชุดควบคุมในสภาวะเปิดในห้องปฏิบัติการนั้น น้ำซีรัมระเหยออกจนหมดและก้อนยางมีสีเหลืองอมน้ำตาล ซึ่งขั้นตอนที่จะล้างโปรตีนออกจากก้อนยางจะทำให้ล้างน้ำซีรัมที่อยู่ตามก้อนยางออกไปด้วย จึงเป็นผลทำให้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดควบคุมในสภาวะเปิด, ในสภาวะปิดและบัฟเฟอร์ ในขณะที่ชุดทดเอนไซม์นั้น พบว่า แตกต่างอย่างนัยสำคัญกับชุดควบคุมในสภาวะเปิด, ในสภาวะปิดและบัฟเฟอร์ ซึ่งสามารถลดความเข้มข้นโปรตีนได้ประมาณ 37% จากชุดควบคุมในสภาวะเปิด เนื่องจากการเติมสารเอนไซม์หลังการกรีดยางจะสามารถคนให้ผสมกับน้ำยางพาราได้ทั่วถึงมากกว่า ทำให้ปฏิกิริยาได้ดีกว่าชุดการทดลองใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพารา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาลดปริมาณโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนในสภาวะปิด สำหรับห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นว่า ในสภาวะเปิดนั้นน้ำส่วนซีรัมจะระเหยออกจนหมดและในสภาวะปิดทำให้ส่วนที่เป็นน้ำของซีรัมไม่ระเหยออกไป จึงทำให้ส่วนของโปรตีนในซีรัมที่ไม่ได้ระเหยไปกับน้ำติดอยู่บนผิวของก้อนยางที่ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่ถ้าน้ำซีรัมไม่ระเหยออกไปจะสามารถนำไปล้างทำความสะอาดให้โปรตีนหลุดออกไปได้มากขึ้นกว่าเดิม ซึ่งในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนซีรัมพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะตัวอย่างระหว่างชุดควบคุมแบบปิดกับชุดทดสอบใส่เอนไซม์ปริมาตร 600 ไมโครลิตร หรือที่ความเข้มข้นเอนไซม์ปาเปน 1,071.43 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นโปรตีนในก้อนยางพาราด้วยการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นเอนไซม์ปาเปน 1,071.43 ยูนิตต่อมิลลิลิตรร่วมกับการควบคุมให้อยู่ในสภาวะปิด สามารถลดค่าความเข้มข้นโปรตีนได้ประมาณ 12% ในขณะที่การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนก้อนยางพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดควบคุมในสภาวะเปิดกับชุดควบคุมในสภาวะปิดทั้งไม่ใส่สารเร่งปฏิกิริยาและใส่สารเร่งปฏิกิริยา โดยพบว่าประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นโปรตีนในก้อนยางพาราด้วยการควบคุมให้อยู่ในสภาวะปิด สามารถลดค่าความเข้มข้นโปรตีนได้ประมาณ 54% ในขณะที่ถ้าใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นเอนไซม์ปาเปน 1,071.43 ยูนิตต่อมิลลิลิตรร่วมกับการควบคุมให้อยู่ในสภาวะปิด จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการลดค่าความเข้มข้นโปรตีนได้ประมาณ 70%

การศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในพื้นที่ ทำการทดสอบทั้งหมด 2 วิธี ได้แก่ วิธีการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนก่อนทำการกรีดยางพาราและวิธีการใส่สารลายเอนไซม์ปาเปนหลังทำการกรีดยางพารา โดยพบว่า วิธีการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนก่อนทำการกรีดยางพาราไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่วิธีการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนหลังทำการกรีดยางพารา พบว่ามีชุดควบคุมในสภาวะเปิด, ชุดควบคุมในสภาวะปิดและชุดควบคุมบัฟเฟอร์ ไม่มีความแตกต่างระหว่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับชุดทดสอบใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องมาจากการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนก่อนการกรีดจะทำให้น้ำยางพาราที่ไหลลงไม่สามารถสัมผัสกับสารละลายเอนไซม์ปาเปนได้ทั่วถึงกว่าการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนก่อนทำการกรีดยางพารา ซึ่งเมื่อนำมาคำนวณหาประสิทธิภาพในการลดปริมาณโปรตีนของการใช้สารละลายเอนไซม์ปาเปนร่วมกับสภาวะปิดโดยวิธีการใส่สารละลายเอนไซม์ปาเปนหลังทำการกรีดยางพารา แต่พบว่า จะสามารถลดความเข้มข้นโปรตีนในส่วนของซีรัมได้ประมาณ 24% และลดความเข้มข้นโปรตีนในส่วนของก้อนยางได้ประมาณ 37% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมแบบเปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางพารา ณ ห้องปฏิบัติการ ควรใช้เครื่องปั่นตัวอย่างความเร็วสูง เพื่อใช้ในการบดตัวอย่างก้อนยางให้ละเอียดมากขึ้น

2. ควรมีการทดสอบโปรตีนที่ก่อให้เกิดการแพ้ ในน้ำยางพาราที่มีการลดปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายเอมไซน์ปาเปนในสภาวะปิด

3. ควรทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของก่อนยางพาราหลังลดปริมาณโปรตีนในสภาวะปิดด้วย เพื่อจะได้ทราบถึงผลกระทบของ สารละลายที่ใส่ลงไป ได้แก่ เอนไซม์ปาเปน, สารละลายบัฟเฟอร์ และกรดฟอร์มิก ว่ามีผลต่อคุณภาพของยางหรือไม่

4. ในการทดลองพื้นที่จริง ควรนำน้ำยางพาราที่ได้หลังจากการกรีดยางมาทำการเฉลี่ยให้แต่ละถ้วยมีปริมาตรที่เท่ากัน เพื่อคำนวณหาอัตราส่วนปริมาตรที่เหมาะสมในการใส่สารเอนไซม์ปาเปน, สารละลายบัฟเฟอร์ และกรดฟอร์มิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2557. **เทียบฟอร์มคู่แข่งยางพาราไทย: ความท้าทายที่ต้องเร่งปรับตัวสู่ปลายน้ำ เพื่อก้าวสู่เวทีโลกอย่างยั่งยืน**. [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.kasikornresearch.com/th/k-econanalysis/pages/ViewSummary.aspx?docid=

[2] วิชุดา จันทร์ข้างแรม. 2556. "โปรตีนในน้ำยางพารา." วารสารวิจัย มข. 18(6) : 996-1002.

[3] คลังปัญญามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2553. **ถั่วหรั่ง.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2010/8972/6/Chapter2.pdf

[4] เครือข่ายกาญจนาภิเษก. 2560. **ยางพาราพัฒนาโลก.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=3&chap=4page=t3-4-infodetail01.html

[5] สุทัศน์ ภูมิวิจิตรชัย. 2547. **ยางพารา.** กรุงเทพฯ : ศูนย์ส่งเสริมการปลูกและฝึกอบรมการเกษตร.

[6] เอกชัย พฤกษ์อำไพ. 2547. **คู่มือยางพารา.** กรุงเทพฯ : เพ็ท-แพล้น พับลิชชิ่ง.

[7] พูนผล ธรรมวัช. ม.ป.ป.. **ยางพารา.** ม.ป.ท. : เซาท์เทิร์นรับเบอร์

[8] สวีณา พลพืชน์. 2559. **บทความวิชาการ (Hot Issue): ยางพารา.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://library2.parliament.go.th/ebook/e_hotissue.html

[9] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. **ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร: พืชสวน: ยางพารา.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.oae.go.th/production.html

[10] ศราวุธ โคตรวงษา. 2557. **ยางพารา (Caoutchouc).** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://iloveistoyou.blogspot.com/2014/03/caoutchouc-caoutchouc.html

[11] สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 2560. **พันธุ์ยางที่แนะนำให้ปลูก.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/para/controller/01-02-03.php

[12] สถาบันวิจัยยาง. 2560. **สถิติยาง.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.rubberthai.com/statistic/stat_index.htm

[13] Sussman, G.L. Donald H. Beezhold, D.H. and Kurup, V.P. 2002. "Allergens and natural rubber proteins." J Allergy Clin Immunol. 110(2) : 33-39.

[14] Moir GEJ. 1959. "Ultracentrifugation and staining of Heavein latex." Nature. 184 : 1626-28.

[15] Perrella, F.W. and Gaspari, A.A. 2002. "Natural rubber latex protein reduction with an emphasis on enzyme treatment." Method. 2002(27) : 77-86.

[16] Churngchow, N. Suntaro, A. and Wittisuwannakul, R. 1995. "beta-1,3-Glucanase isozymes from the latex of *Hevea brasiliensis*." Phytochemistry. 39 : 505-509.

[17] Sethuraj, M.R. and Mathew, N.M. 1992. **Natural rubber : biology, cultivation, and technology.** Amsterdam : ELESEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[18] Palosuo, T. 1997. "Latex allergens." Rev fr Allergol. 37(8) : 1184-1187.

[19] Meade, B.J. Weissman, D.N. and Beezhold, D.H. 2002. "Latex allergy: past and present." International Immunopharmacology. 2 : 225-238.

[20] Posch, A. Chen, Z. Wheeler, C. Dunn, M.J. Raulf-Heimsoth, M. and Baur, X. 1996. "Characterization and identifi cation of latex allergens by two-dimensional electrophoresis and protein microsequencing." J Allergy Clin Immunol. 99(3) : 385-395.

[21] Singh, A.P. Wi, S.G. Chung, G.C. Kim, Y.S. and Kang, H. 2003. "The micromorphology and protein characterization of rubber particles in Ficus carica, Ficus benghalensis and Hevea brasiliensis." J Exp Bot. l54(384): 985-992.

[22] Jankangram, W. 2012. "Protein separation of para rubber latex (*Hevea brasiliensis*) by using proteomics." Science Journal Ubonratchathani University. 2 (Jan-Dec) : 1-12.

[23] Hoffmann-Sommergruber, K. 2002. "Pathogenesisrelated (PR)-proteins identifi ed as allergens." Biochemical Society Transactions. 30 : 930-938.

[24] Yagami, T. Sato, M. Nakamura, A. and Shono, M. 1995. "One of the rubber latex allergens is a lysozyme." J Allergy Clinical Immunology. November : 676-686.

[25] Yagami, T. Sato, M. Nakamura, A. Komiyama, T. Kitagawa, K. Akasawa, A. and Ikezawa, Z. 1998. "Plant defense-related enzymes as latex antigen." J Allergy Clinical Immunology. March : 379-385.

[26] ศูนย์พิษวิทยารามาธิบดี คณะแพทย์ศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล. 2541. **การแพ้ผลิตภัณฑ์จากยางพารา.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://med.mahidol.ac.th/poisoncenter/th/bulletin/bul98/v6n3/Rubber

[27] ทีมงานสยามเฮลท์ดอทเน็ต. 2557. **แพ้ยางพารา.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.siamhealth.net/public_html/Disease/allergy/latex.htm

[28] Wongputisinum, P. 2007. "Protease selection for deproteinization of latex." Small Project on Rubber. 2 : 134.

[29] พรรษา อดุลยธรรม และกฤษณา คงศิลป์. 2543. "อุตสาหกรรมยาง." ข่าวสถาบันวิจัยยาง. 15(8 ส.ค. 43) : 13-15.

[30] ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[31] Whitaker JR. 1994. **Principles of Enzymology for the Food Sciences.** 2nd edn. New York : Marcel Dekker.

[32] พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2546. ปาเปน. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1081/papain-ปาเปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[33] คณะนักวิจัย บริษัทกลุ่มแอดวานซ์ รีเสิร์ช จำกัด. 2551. "การผลิตเอนไซม์ปาเปนเพื่อใช้ในอุตสาหกรรม." การเชื่อมโยงข้อมูลในการสร้างแนวคิดการเลือกผลิตภัณฑ์ใหม่. กันยายน 2551 : 1-20

[34] วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2560. พาเพอิน. [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://th.wikipedia.org/wiki/พาเพอิน

[35] ภิญโญ พานิชพันธ์, พิณทิพ รื่นวงษา และนางสาววัชรี เกษพิชัยณรงค์. 2560. พืชและรา. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/enzyme/chapter6/ch6t1_3.html

[36] Smita Pandit. 2016. [Online]. Pepsin Enzyme: Structure, Function, and Important Facts. Available : http://www.buzzle.com/articles/pepsin-enzyme-structure-function-and-important-facts.html

[37] วิชุดา จันทร์ข้างแรม. 2556. "โปรตีนในน้ำยางพารา." วารสารวิจัย มข. 18(6) : 996-1002.

[38] นิคม ศรีหะมงคล และสมเกียรติ กสิกรานันท์. 2558. "การเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารที่ใช้ผลิตยางก้อนถ้วยที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของยางก้อนถ้วย." แก่นเกษตร. 43 ฉบับพิเศษ 1 : 629-634.

[39] Anthony, et al. 2002. "Bacterial Protease Treatment of Natural Rubber Latex Alters Its Primary Immunogenicity in a Mouse Model of Sensitization." Clinical Immunology. 105 : 9–16.

[40] สุพัฒน์ ติยสถาพร. 2545. "ความชุกของการมีปฏิกิริยาภูมิแพ้ทางผิวหนังต่อยางพาราในบุคลากรทางการแพทย์ที่มีการใช้ถุงมือยางและมีหรือไม่มีประวัติแพ้ยางพารา." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาอายุรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[41] Kanjanee, N. Jitladda, T.S. Chee, C.H. 2010. "Effect of Deproteinized Methods on the Proteins and Properties of Natural Rubber Latex during Storage." Macromolecular Symposia. 288 : 95–103.

[42] ชโนวิทก์ ตู้บรรเทิง. 2541. "การชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติโดยใช้สารลดแรงตึงผิวภายใต้ความดัน." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[43] พรรษา อดุลยธรรม และกฤษณา คงศิลป์. 2543. "การใช้เอนไซม์ในการลดโปรตีนในน้ำยางเพื่อการผลิตน้ำยางข้น." หน้า 302. ใน กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยยาง. **บทคัดย่องานวิจัยและพัฒนายางพาราปี 2537-2546.** กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยยาง.

[44] วรรณพ วิเศษสงวน. 2534. "สภาวะที่เหมาะสมในการขจัดโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติโดยเอนไซม์." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[45] พรรณสุนันท์ เจียรรุ่งแสง. 2543. "การลดปริมาณโปรตีนของยางธรรมชาติโดยโปรตีเอสร่วมกับพลังงานไมโครเวฟ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[46] Hoover, S.R. and Kokes, E.L.C. 1947. "Effect of pH upon proteolysis by papain." Journal of Biological Chemistry. 167 : 199-207.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

ก-1 การเตรียมสารเคมีสำหรับการใช้ลดปริมาณโปรตีนในสภาวะห้องปฏิบัติการ

1.1 สารละลายแอมโมเนีย ความเข้มข้น 2%

เตรียมโดยเจือจางสารละลายแอมโมเนีย ความเข้มข้น 30% จำนวน 16.67 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร

1.2 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1 M acetate buffer) (อ้างโดย Stool and Blanchard, 1990)

สารละลาย A : สารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (เตรียมจากกรดอะซิติก 11.55 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร)

สารละลาย B : สารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (เตรียมจากสารละลายโซเดียมอะซิเตต 27.22 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร)

ผสมสารละลาย A และ B ในอัตราส่วน สารละลาย A ปริมาตร 14.8 มิลลิลิตร และ สารละลาย B ปริมาตร 35.2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1 M acetate buffer) pH 5.0 เพื่อใช้สำหรับปรับสภาพเอนไซม์ปาเปน

1.3 สารละลายกรดฟอร์มิก ความเข้มข้น 3%

เตรียมโดยเจือจางสารละลายกรดฟอร์มิก ความเข้มข้น 85% จำนวน 8.82 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร

1.4 สารละลายเอนไซม์ปาเปน (Papain stock solution)

เตรียมโดยชั่งสารเอนไซม์ปาเปน 1.00 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH = 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์ปาเปน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-2 การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีของแบรดฟอร์ด (Bradford method)

2.1 สารละลายทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ตามวิธีของ Bates and Bower, 1956

สารละลาย A : สารละลาย Tris (hydroxymethyl) aminomethane ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (เตรียมโดยชั่งสาร Tris 6.06 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร)

สารละลาย B : สารละลายไฮโดรคลอลิก ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (เตรียมโดยปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 4.2 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร)

ผสมสารละลาย A และ B ในอัตราส่วน สารละลาย A ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และ สารละลาย B ปริมาตร 38.5 มิลลิลิตร สารละลายทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ค่า pH = 7.5

2.2 สารละลายแบรดฟอร์ดเข้มข้น (Bradford stock solution)

เตรียมโดยชั่งสาร Coomassie Brilliant Blue G-250 จำนวน 350 มิลลิกรัม ละลายในกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 86% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง (27±3 องศาเซลเซียส)

2.3 สารละลาย Bradford working buffer (BWB)

ผสมสาร Bradford stock solution ปริมาตร 30 มิลลิลิตร, กรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 86% ปริมาตร 30 มิลลิลิตร, สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95% ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น ปริมาตร 425 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง (27±3 องศาเซลเซียส)

ก-3 การเตรียมสารเคมีสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานโปรตีน BSA

3.1 สารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin เข้มข้น (BSA stock solution)

เตรียมโดยชั่งสารโบวิซีรัมอัลบูมิน 0.1 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยสารละลาย Tris-HCl buffer pH = 7.5 จะได้สารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 สารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

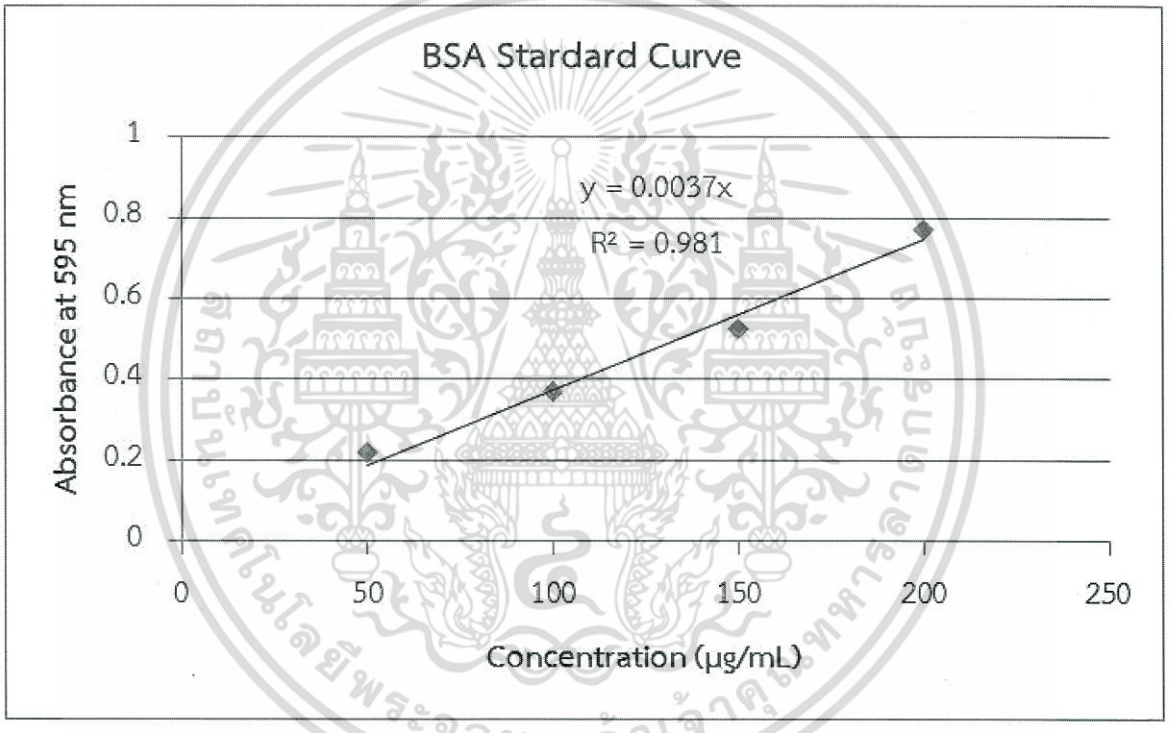
เตรียมโดยปิเปตสารละลาย BSA stock solution ปริมาตร 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานความเข้มข้นโปรตีน BSA

การศึกษาปริมาณโปรตีนในสารละลาย Bovine serum albumin ก้อนถ้วยด้วยวิธี Bradford protein assay โดยใช้กราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน Bovine serum albumin ช่วงความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่าสมการแนวโน้มเส้นตรง y = 0.0037x และแสดงความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ R^2 = 0.981



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน Bovine serum albumin ช่วงความเข้มข้น 50-200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการทดสอบทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab 16 Statistical

ค-1 การทดสอบการจัดกลุ่มและความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ของชุดการทดลองการศึกษาลดค่าความเข้มข้นโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในห้องปฏิบัติการ

ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ ค-1.1 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ

Source	DF	SS	MS	F	P
Sample	6	3,512	585	2.06	0.125
Error	14	3,986	285		
Total	20	7,498			

One-way ANOVA: Concentrations of protein in serum latex versus Sample Name

S = 16.87 R-Sq = 46.84% R-Sq (adj) = 24.05%

ตารางที่ ค-1.2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ

Level	N	Mean	Grouping	
Close	3	354.21	A	
Buffer 150	3	330.41	A	B
Buffer 300	3	338.93	A	B
Buffer 600	3	324.29	A	B
Enzyme 150	3	332.01	A	B
Enzyme 300	3	321.07	A	B
Enzyme 600	3	310.30		B

Grouping Information Using Fisher Method

Fisher 95% Individual Confidence Interval

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ ค-1.3 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ

Source	DF	SS	MS	F	P
Sample	7	4,988	713	6.11	0.001
Error	16	1,865	117		
Total	23	6,853			

One-way ANOVA: Concentrations of protein in rubber latex versus Sample Name

S = 10.80 R-Sq = 72.78% R-Sq (adj) = 60.87%

ตารางที่ ค-1.4 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการ

Level	N	Mean	Grouping	
Open	3	66.73	A	
Close	3	30.69		B
Buffer 150	3	24.90		B
Buffer 300	3	23.46		B
Buffer 600	3	24.26		B
Enzyme 150	3	23.62		B
Enzyme 300	3	21.53		B
Enzyme 600	3	19.92		B

Grouping Information Using Fisher Method

Fisher 95% Individual Confidence Intervals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค-2 การทดสอบการจัดกลุ่มและความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ของชุดการทดลองการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในพื้นที่จริง

ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

ตารางที่ ค-2.1 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Source	DF	SS	MS	F	P
Sample	3	6,208	2,070	0.31	0.819
Error	24	161,260	6,719		
Total	27	167,469			

One-way ANOVA: Concentrations of protein in serum latex versus Sample Name

S = 81.97 R-Sq = 3.71% R-Sq (adj) = 0.00%

ตารางที่ ค-2.2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Level	N	Mean	Grouping
Open	7	400.34	A
Close	7	374.50	A
Buffer	7	370.16	A
Enzyme	7	359.93	A

Grouping Information Using Fisher Method

Fisher 95% Individual Confidence Intervals

ค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

ตารางที่ ค-2.3 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Source	DF	SS	MS	F	P
Sample	3	106.7	35.6	0.75	0.532
Error	24	1,133.1	47.2		
Total	27	1,239.8			

One-way ANOVA: Concentrations of protein in rubber latex versus Sample Name

S = 6.871 R-Sq = 8.61% R-Sq(adj) = 0.00%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2.4 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีก่อนการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Level	N	Mean	Grouping
Open	7	58.733	A
Close	7	57.492	A
Buffer	7	55.654	A
Enzyme	7	53.562	A

Grouping Information Using Fisher Method

Fisher 95% Individual Confidence Intervals

ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

ตารางที่ ค-2.5 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Source	DF	SS	MS	F	P
Sample	3	33,082	11,027	2.81	0.061
Error	24	94,330	3,930		
Total	27	127,413			

One-way ANOVA: Concentrations of protein in serum latex versus Sample Name

S = 62.69 R-Sq = 25.96% R-Sq(adj) = 16.71%

ตารางที่ ค-2.6 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Level	N	Mean	Grouping	
Open	7	347.30	A	
Close	7	346.49	A	
Buffer	7	303.93	A	B
Enzyme	7	264.31		B

Grouping Information Using Fisher Method

Fisher 95% Individual Confidence Intervals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

ตารางที่ ค-2.7 ค่าทางสถิติด้วยวิธีทำตาราง ANOVA ทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Source	DF	SS	MS	F	P
Sample	3	938.6	312.9	10.65	0.000
Error	24	704.7	29.4		
Total	27	1,643.3			

One-way ANOVA: Concentrations of protein in rubber latex versus Sample Name

S = 5.419 R-Sq = 57.12% R-Sq (adj) = 51.75%

ตารางที่ ค-2.8 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนและการจัดกลุ่มทางสถิติของค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยที่ทดสอบด้วยการใส่สารเคมีหลังการกรีดยางพาราในพื้นที่จริง

Level	N	Mean	Grouping	
Open	7	39.072	A	
Close	7	38.589	A	
Buffer	7	35.142	A	
Enzyme	7	24.697		B

Grouping Information Using Fisher Method

Fisher 95% Individual Confidence Intervals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการทดลองหาค่าความเข้มข้นโปรตีนในตัวอย่าง

ง-1 ค่าความเข้มข้นโปรตีนของชุดการทดลองการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ ง-1.1 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ

ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนในแต่ละครั้ง (µg/g latex)			S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Open	*ไม่สามารถวัดค่าได้เนื่องจากไม่มีน้ำซีรัม*			
Close	343.92	364.67	354.05	8.47
Buffer 150 µL	325.10	332.34	333.78	3.80
Buffer 300 µL	335.71	368.53	312.55	22.97
Buffer 600 µL	324.13	334.75	314.00	8.47
Enzyme 150 µL	338.13	340.54	317.37	10.40
Enzyme 300 µL	318.82	336.68	307.72	11.93
Enzyme 600 µL	301.93	337.64	291.31	19.82

ตารางที่ ง-1.2 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยในสภาวะต่างๆ

ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีนในแต่ละครั้ง (µg/g latex)			S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Open	56.76	56.76	86.68	14.10
Close	28.76	25.39	37.93	5.30
Buffer 150 µL	20.56	20.08	34.07	6.48
Buffer 300 µL	17.66	19.11	33.59	7.19
Buffer 600 µL	15.25	21.04	36.49	8.97
Enzyme 150 µL	20.08	18.63	32.14	6.06
Enzyme 300 µL	15.73	11.87	36.97	11.04
Enzyme 600 µL	19.59	10.42	29.73	7.89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-2 ค่าความเข้มข้นโปรตีนของชุดการทดลองการศึกษาลดปริมาณโปรตีนโดยเอนไซม์ภายใต้สภาวะปิดในพื้นที่จริง

ตารางที่ ง-2.1 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางก่อนกรีดยางพารา

ลำดับของต้นยางพารา	ตัวอย่างในสภาวะต่างๆ			
	Open	Close	Buffer	Enzyme
1	428.38	356.47	318.18	282.38
2	364.51	162.45	390.73	326.79
3	356.31	333.94	347.62	317.86
4	345.21	384.78	356.47	324.86
5	474.71	477.12	488.22	440.28
6	448.33	534.56	256.72	468.44
7	384.94	372.15	433.20	358.88
S.D.	46.67	109.02	70.31	63.63

ตารางที่ ง-2.2 ค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางก่อนกรีดยางพารา

ลำดับของต้นยางพารา	ตัวอย่างในสภาวะต่างๆ			
	Open	Close	Buffer	Enzyme
1	65.44	55.79	58.53	56.76
2	55.31	51.45	51.61	47.91
3	67.37	65.77	59.65	59.17
4	57.40	62.07	56.27	53.22
5	52.90	56.27	48.07	65.69
6	61.90	47.59	48.07	44.93
7	50.80	63.51	67.37	47.27
S.D.	5.86	6.15	5.47	6.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2.3 ค่าความเข้มข้นโปรตีนน้ำซีรัมในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางหลังกรีดยางพารา

ลำดับของต้นยางพารา	ตัวอย่างในสภาวะต่างๆ			
	Open	Close	Buffer	Enzyme
1	328.15	388.00	237.58	282.30
2	364.67	323.17	371.43	119.66
3	407.30	295.17	264.93	282.30
4	278.28	333.30	333.62	290.99
5	287.77	358.88	321.07	357.92
6	346.98	344.40	287.29	374.97
7	417.92	382.53	311.58	142.02
S.D.	50.09	50.55	41.39	91.22

ตารางที่ ง-2.4 ค่าความเข้มข้นโปรตีนก้อนยางในยางพาราก้อนถ้วยโดยใส่สารเคมีลงภาชนะรองน้ำยางหลังกรีดยางพารา

ลำดับของต้นยางพารา	ตัวอย่างในสภาวะต่างๆ			
	Open	Close	Buffer	Enzyme
1	36.49	37.29	31.98	20.80
2	41.80	36.00	38.90	24.66
3	36.97	32.38	39.14	20.40
4	40.03	43.24	37.13	26.83
5	40.19	36.97	38.58	31.02
6	34.80	30.37	32.30	31.02
7	43.24	53.86	27.96	18.15
S.D.	2.84	7.29	4.06	4.80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง