

บทที่ 5

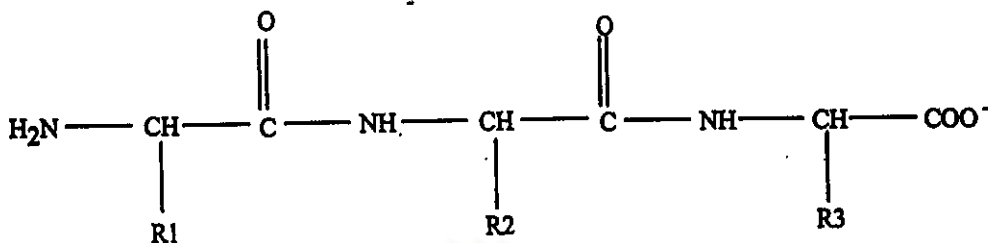
วิเคราะห์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากการชะละลายโปรตีนจากงูมีย่างธรรมชาติโดยการใช้สารลดแรงตึงผิวภายใต้ความดัน โดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ได้แก่ ความเป็นกรด-เบสของสารที่ใช้ในการชะละลาย ค่าแรงตึงผิวของสารที่ใช้ในการชะละลาย ความดันที่ใช้ในการชะละลาย และความสามารถของการชะละลายในขั้นตอน pre curing-leaching ,post curing-leaching และ pre+post curing-leaching ที่มีต่อการชะละลายโปรตีนออกจากงูมีย่างธรรมชาติสามารถทำการวิเคราะห์ได้ดังต่อไปนี้

1 วิเคราะห์ผลการศึกษากการชะละลายโปรตีนออกจากงูมีย่างธรรมชาติด้วยสารละลายกรด, เบส และสารลดแรงตึงผิว

1.1 ผลของความเป็นเบสต่อการชะละลายโปรตีนจากงูมีย่างธรรมชาติ

จากรูปที่ 4.2 ปริมาณโปรตีนที่เหลือในงูมีย่างหลังจากผ่านการชะละลายด้วยเบส(NaOHและKOH) โดยแปร pH ของน้ำชะละลาย ณ จุดหนึ่ง พบว่าในภาวะการชะละลายโปรตีนด้วยสารละลายเบสที่ค่า pH สูง จะมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในงูมีย่างธรรมชาติน้อยกว่าภาวะการชะละลายโปรตีนด้วยสารละลายเบสที่ค่า pH ต่ำ แสดงให้เห็นปริมาณเบสที่มากขึ้นจะละลายโปรตีนได้มากขึ้นด้วย สืบเนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายโมเลกุลมาต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์ เมื่ออยู่ในภาวะที่ค่า pH สูง carboxyl group จะอยู่ในรูปของ carboxyl group ionized ดังรูปที่ 5.1 ทำให้เกิดการผลักกันของโมเลกุลของโปรตีนและมีไฮดรอกไซด์ไอออน (OH⁻) จากการแตกตัวของเบสประกอบกับ carboxyl group ทำให้โมเลกุลของโปรตีนสามารถหลุดออกจากผิวของงูมีย่างและละลายอยู่ในสารละลายได้ ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่เหลือในงูมีย่างลดลง



รูปที่ 5.1 โมเลกุลของโปรตีนเมื่ออยู่ในภาวะที่มีค่า pH สูง

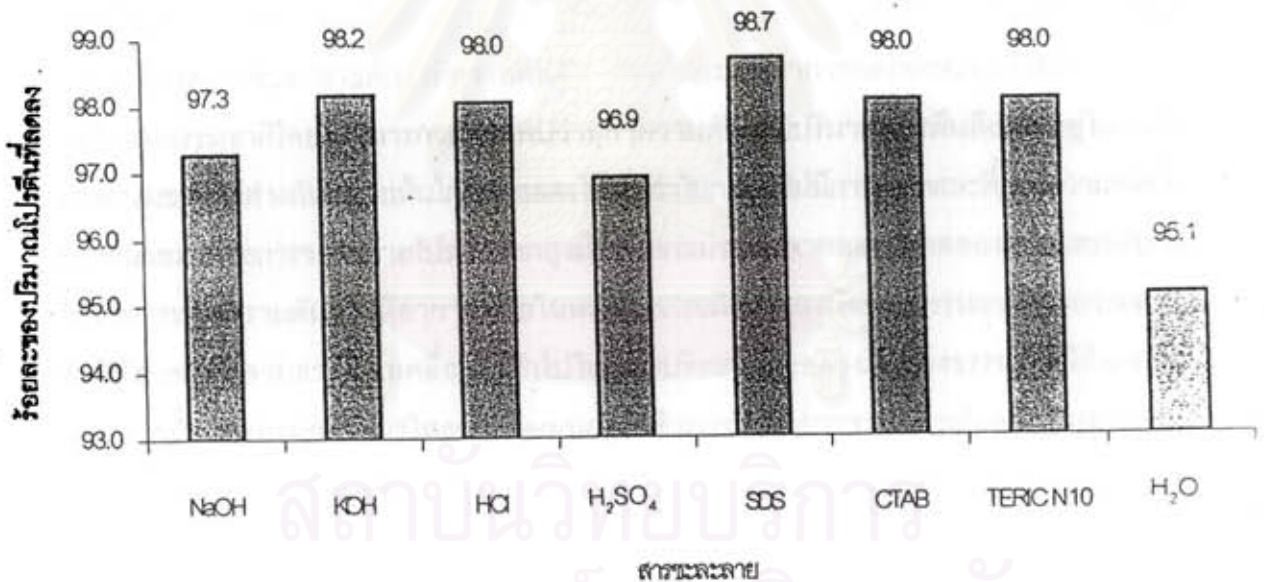
1.2 ผลของความเป็นกรดต่อการชะละลายโปรตีนในถุงมืออย่างธรรมชาติ

การชะละลายโปรตีนจากถุงมืออย่างธรรมชาติด้วยสารละลายกรด (HCl และ H₂SO₄) เมื่อนำถุงมืออย่างที่ผ่านการชะละลายที่ค่า pH ต่างๆ กัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมืออย่างธรรมชาติ แสดงได้ดังรูปที่ 4.3 พบว่าในภาวะการชะละลายโปรตีนด้วยสารละลายกรดที่ pH ต่ำ จะมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมืออย่างธรรมชาติน้อยกว่าภาวะการชะละลายโปรตีนด้วยสารละลายกรดที่ pH สูงกว่า แสดงให้เห็นว่าปริมาณกรดที่มากขึ้นช่วยในการชะละลายของโปรตีนออกมาสู่สารละลายได้มากขึ้น สืบเนื่องจากกรดเกิดการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน(H⁺) ซึ่งทำหน้าที่ตกตะกอนโปรตีน โดยภาวะการชะละลายที่ pH ต่ำ จะมีจำนวน H⁺ มากกว่า pH สูง ส่งผลมีการดึงโปรตีนด้านที่มีกลุ่ม amine จนทำให้โปรตีนถูกชะละลายออกจากถุงมืออย่างได้ดีขึ้น ทำให้ปริมาณโปรตีนบริเวณผิวถุงมืออย่างธรรมชาติลดลง

1.3 ผลของค่าแรงตึงผิวต่อการชะละลายโปรตีนจากถุงมืออย่างธรรมชาติ

สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ที่ทำการศึกษามี 3 ชนิด คือ sodium dodecyl sulphate (SDS) เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทแอนไอออนิก, cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทแคทไอออนิก และ nonylphenol ethoxylate (TERIC N₁₀) เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทนอนไอออนิก ได้ทดลองชะละลายโปรตีนจากถุงมืออย่างธรรมชาติด้วยสารละลายที่ค่าแรงตึงผิวต่างๆ กัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมืออย่างธรรมชาติ แสดงได้ดังรูปที่ 4.4 พบว่า เมื่อใช้น้ำที่มีค่าแรงตึงผิวต่ำในการชะละลายโปรตีนจากถุงมืออย่าง พบว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมืออย่างธรรมชาติน้อยกว่าการชะละลายโปรตีนจากถุงมืออย่างโดยใช้น้ำที่มีค่าแรงตึงผิวสูง แสดงให้เห็นว่าสารละลายที่มีค่าแรงตึงผิวต่ำจะลดค่า contact angle ทำให้น้ำเปียกผิวภายในหลุมที่อยู่ในผิวของถุงมืออย่างได้มากขึ้น ส่งผลให้สามารถ

ชะละลายโปรตีนได้ดีขึ้น และจากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการชะละลายโปรตีนในถุงมือยางธรรมชาติด้วย SDS ดีกว่า CTAB เนื่องจากโปรตีนบางโมเลกุลที่ผิวถุงมือยาง เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวเป็นสารที่มีประจุ (COO^-) โดย SDS ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทแอนไอออนิกมีผลในการผลึกโมเลกุลของโปรตีนและเข้าแทนที่โมเลกุลโปรตีนที่ผิวถุงมือยางและถูกชะละลายออกจากผิวของถุงมือยางธรรมชาติ ส่วน CTAB ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทแคตไอออนิกจะไปตกตะกอนโปรตีนโดยการจับโมเลกุลโปรตีน ส่งผลให้การเปียกผิวลดลงการเข้าแทนที่โปรตีนก็ลดลงด้วย การชะละลายโปรตีนออกจากถุงมือยางธรรมชาติโดยสารละลายลดแรงตึงผิว SDS จึงดีกว่า CTAB และในกรณี TERIC N₁₀ มีประสิทธิภาพในการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติได้น้อยกว่าการใช้ SDS และ CTAB เนื่องจากว่า TERIC N₁₀ ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทนอนไอออนิกจะไม่มีผลของความมีประจุเข้าช่วยในการชะละลาย ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติได้น้อยกว่าการใช้ SDS และ CTAB ตามลำดับ



รูปที่ 5.2 แสดงถึงร้อยละของปริมาณโปรตีนที่ลดลง เมื่อใช้สารชะละลายกรด เบส และสารลดแรงตึงผิว ณ ความเข้มข้นที่ชะละลายที่ดีที่สุด

จากรูปที่ 5.2 สามารถวิเคราะห์ผลการทดลองโดยศึกษาถึงร้อยละของปริมาณโปรตีนที่ลดลง การวิเคราะห์นี้จะบอกถึงประสิทธิภาพของการใช้สารละลายแต่ละประเภทที่ทำการศึกษา โดยแสดงถึงร้อยละของปริมาณโปรตีนที่ลดลง เมื่อใช้สารละลาย KOH, NaOH, HCl, H_2SO_4 , SDS, CTAB, และ TERIC N_{10} ณ ความเข้มข้นที่ละลายที่ดีที่สุด เปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนเริ่มต้น (1575 ไมโครกรัม/กรัมของตัวอย่าง) เมื่อพิจารณาพบว่าสารละลายโปรตีนออกจากถุงมือยางธรรมชาติด้วยสารละลาย SDS มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด จึงได้เลือกสารละลาย SDS ทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2 ผลของความดันต่อการละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติ ณ อุณหภูมิห้อง

ทำการทดลองการละลายโดยน้ำและ SDS (ค่าแรงดึงผิว 32 ไดนามิเมตร หรือความเข้มข้น 1.73 กรัม/ลิตร) ที่ความดันเกจ 0, 10, 20, 30 และ 40 บาร์ ในภาวะที่มีการกวนความเร็วรอบ 225 รอบ/นาที และไม่มีกวน ผลของการทดลองแสดงเป็นปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ ดังในรูปที่ 4.5 พบว่ากรณีที่มีการกวนเมื่อความดันสูงขึ้นปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมือยางธรรมชาติจะมีค่าลดลงมากขึ้นด้วย แสดงให้เห็นว่าการละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติที่ความดันสูงจะมีประสิทธิภาพการละลายดีกว่าที่ความดันต่ำ ส่วนในกรณีที่ทำการศึกษาการละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติโดยไม่มีกวนนั้น พบว่าทุกๆความดันจะมีปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมือยางธรรมชาติไม่ต่างกันอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นว่าในกรณีที่ไม่มีการกวนขณะที่เพิ่มความดันนั้นส่งผลน้อยมากต่อการละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติ จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้ว่าการเพิ่มความดันทำให้อากาศภายในหลุมบริเวณผิวของถุงมือยางธรรมชาติเกิดการหดตัว ทำให้ตัวละลายสามารถเคลื่อนที่เข้าไปในหลุมบริเวณผิวของถุงมือยางธรรมชาติได้มากขึ้น นอกจากนั้นการกวนจะมีการไหลวน (eddies) เข้ามาช่วยในการละลายโดยการไหลวนจะมีหลายขนาด ซึ่งจะมีช่วงขนาดหนึ่งที่เหมาะสมการละลายโปรตีนออกจากถุงมือยางธรรมชาติ ส่งผลให้สามารถละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติได้ดียิ่งขึ้น ในกรณีของการละลายด้วยสารละลาย SDS เมื่อเพิ่มความดันเป็น 40 บาร์จะลดปริมาณโปรตีนลงไปอีกร้อยละ 54 โดยปริมาณโปรตีนที่เหลือในถุงมือยางวัดได้ 21 $\mu\text{g/g}$ ซึ่งค่าที่ต่ำขนาดนี้ถือว่าไม่มีโปรตีนพอที่จะวัดได้ในถุงมือยาง (วิธี modify Lowry มีขอบเขตปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ถึงประมาณ 50 $\mu\text{g/g}$)

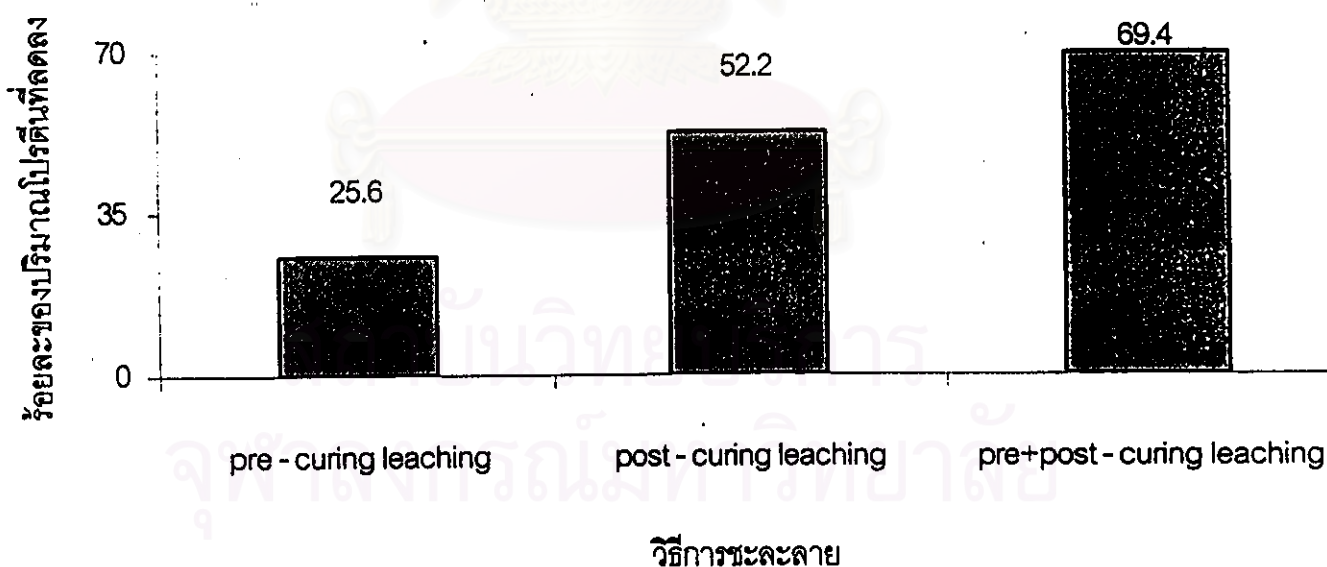
เมื่อเทียบกับความดันเกจ 0 บาร์ กรณีผลการละลายในภาวะไม่มีกวนขณะละลาย ตัวละลายสามารถเคลื่อนที่เข้าไปในหลุมบริเวณผิวของถุงมือยางธรรมชาติได้แต่ไม่มีผลของการไหลวนเข้ามาช่วยในการละลาย จึงมีผลให้สามารถละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติได้ในปริมาณต่ำ ซึ่งเกิดจากเวลาที่ใช้ในการทดลองอาจจะน้อยเกินไปที่จะเห็นผลของความดันต่อการละลายในภาวะที่ไม่มีกวนขณะละลาย

3 วิเคราะห์ผลการศึกษากการชะละลายโปรตีนออกจากถุงมือยางธรรมชาติในชั้น

ตอน pre - curing leaching post - curing leaching และ pre+post - curing leaching

จากรูปที่ 4.6 ปริมาณโปรตีนที่เหลือในถุงมือยางหลังผ่านการชะละลายชั้นตอน pre - curing leaching ,post - curing leaching และ pre+post - curing leaching ด้วยสารละลายลดแรงตึงผิว SDS (ค่าแรงตึงผิว 32 ไดน์/เซนติเมตร) พบว่าปริมาณโปรตีนที่เหลือจากชั้นตอน pre+post - curing leaching จะน้อยกว่า ชั้นตอน post - curing leaching และ pre - curing leaching ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าโปรตีนถูกชะละลายออกมาในลักษณะที่ต่างกัน โดยในชั้นตอน pre - curing เป็นการชะละลาย wet gel โปรตีนจึงถูกชะละลายออกมาส่วนหนึ่ง เมื่อมีการอบน้ำจะพาโปรตีนภายในเนื้อเยื่อเคลือบออกมาอีก เมื่ออบจนยางสุกแล้ว การชะละลายในช่วงที่เป็น post - curing จึงเป็นการชะละลายโปรตีนที่อยู่ผิวทั้งหมด

การชะละลายทั้ง pre - curing และ post - curing จะช่วยลดโปรตีนได้มาก เพราะการชะละลายขณะเป็น wet gel จะช่วยให้เหลือโปรตีนที่ผิวน้อยลง ทำให้โปรตีนที่อยู่ในเนื้อเยื่อลึกลงไปสามารถเคลื่อนออกมาที่ผิวนอกมากยิ่งขึ้น และถูกชะละลายออกได้ในขั้น post - curing ส่งผลให้ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายที่ติดอยู่ที่ผิวยางจะต่ำกว่า เมื่อถุงมือยางแห้งจึงเหลือโปรตีนน้อยกว่า



รูปที่ 5.3 แสดงถึงร้อยละของปริมาณโปรตีนที่ลดลง เมื่อทำการชะละลายด้วยสารละลาย SDS (ค่าแรงตึงผิว 32 ไดน์/เซนติเมตร) ในชั้นตอนต่างๆที่ทำการศึกษา

รูปที่ 5.3 แสดงถึงร้อยละของปริมาณโปรตีนที่ลดลง เมื่อทำการชะละลายด้วยสารละลาย SDS ในขั้นตอนต่างๆที่ทำการศึกษา เปรียบเทียบกับการชะละลายด้วยน้ำในขั้นตอน pre+post - curing leaching, พบว่า ขั้นตอน pre+post - curing leaching ,post - curing leaching และ pre - curing leaching สามารถลดปริมาณโปรตีนได้ร้อยละ 69.4, 52.6 และ 25.6 ตามลำดับ

การวิเคราะห์เปรียบกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลงานของ รายการ	K. Makuuchi (2539)	สุพะไชย์ จินดาภูมิกุล (2540)	ชโนวิทท์ ตูบรเวิง (2541)
ตัวแปรที่ใช้ในการ ศึกษา	รังสีแกมมาหรือลำ อิเล็กตรอนจาก low energy electron beam machine	อุณหภูมิ เวลา อัตราการขยายตัวของถุง มือยาง	กรด-เบส สารลดแรงตึงผิว ความดัน ภาวะการกวนและไม่ กวนขณะชะละลาย การชะละลายก่อนและ หลังการทำให้ยางสุก
วัตถุดิบ	น้ำยางสด น้ำยางข้นประเภท HA- Latex	ถุงมือยางธรรมชาติ	ถุงมือยางธรรมชาติ
วิธีวิเคราะห์หาปริมาณ โปรตีน	BCA(Bi Cinchoninic Acid)	Modify Lowry	Modify Lowry
ปริมาณโปรตีนที่คง เหลือในผลิตภัณฑ์	ปราศจากโปรตีนที่ ละลายน้ำได้ใน ผลิตภัณฑ์	สามารถชะละลายโปรตีน ออกจากถุงมือยางได้สูงแต่ ไม่ได้แสดงปริมาณโปรตีน ที่คงเหลือในผลิตภัณฑ์ ถุงมือยาง	ในภาวะที่ดีที่สุด พบว่า สามารถชะละลาย โปรตีนในถุงมือยาง ธรรมชาติคงเหลือ ประมาณ 20 ไมโครกรัม/กรัมถุงมือ

			ยาง
ข้อคิดเห็น	มีชั้นตอนยุ่งยากเนื่องจากเมื่อน้ำยางฉายรังสีจากนั้นเจือจางด้วยน้ำและ centrifuge อีกครั้งหนึ่ง ทำให้เวลาในการผลิตและต้นทุนสูง การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้ยาก อีกทั้งรังสีแกมมาอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน หากการควบคุมและป้องกันไม่ดีพอขณะปฏิบัติงาน	จากการศึกษามีความเป็นไปได้ในกรณี อุณหภูมิและเวลา สำหรับประยุกต์ในอุตสาหกรรม แต่กรณีการขยายผลของถุงมือยางในขณะชะละลายเป็นไปได้อย่างที่จะประยุกต์ในอุตสาหกรรม	กรณีการใช้กรด-เบส, สารลดแรงตึงผิว, ภาวะการกวนและไม่กวน ขณะชะละลาย และการชะละลายก่อนและหลังการทำให้ยางสุก สามารถประยุกต์ในอุตสาหกรรม เพราะไม่ต้องเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิตมาก ส่วนผลของความดันอาจประยุกต์ในอุตสาหกรรมได้ยาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย