บทที่3

การดำเนินการวิจัย

การศึกษาการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติ โดยสารลดแรงตึงผิวภายใต้ความดันเป็นการศึกษาความสามารถในการชะละลายโปรตีนออกจากถุงมือยางธรรมชาติ โดยการนำถุงมือยางที่ชะละลายด้วยสารละลายที่มีสารลดแรงตึงผิวแล้วไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในถุงมือยาง และพิจารณาปริมาณโปรตีนที่ลดลงได้ด้วยวิธีการชะละลายลักษณะนี้

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องปฏิกรณ์เคมี (reactor) ทำจากเหล็กปลอดสนิม มีความจุ 0.275 ลิตร ประกอบด้วยท่อ 2 ชั้น ชั้นในสำหรับเติมสารละลายลดแรงตึงผิว ชั้นนอกสำหรับใส่น้ำหล่อร้อน-เย็น เพื่อควบคุมอุณหภูมิ โดยมีช่องเสียบเทอร์โมมิเตอร์เพื่อวัดอุณหภูมิเครื่องปฏิกรณ์เคมี แสดงดังรูป 3.1
2. UV-Spectrophotometer รุ่น Model 7800 เป็นชนิด Double Beam / Single Beam Grating Monochromator ของบริษัท Jasco
3. Shaker ของภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. Centrifuge High Speed รุ่น 201 บริษัท Sigma
5. Tensiometer (เครื่องวัดแรงตึงผิว) เครื่องมือที่ใช้เป็น Digital Tensiometer รุ่น K10 ST ของบริษัท Kross
6. pH Meter รุ่น CG840 ของบริษัท Schott
7. Vortex-2 ของบริษัท Scientific Industries

ตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. ถุงมือยาง ของบริษัท สุรเสนา จำกัด
2. sodium hydroxide ของบริษัท Ajax Chemicals
3. sulfuric acid 98% w/w Sp.gr. 1.84 ของบริษัท BDH
4. potassium hydroxide ของ Merck
5. hydrochloric acid 37% w/w Sp.gr. 1.18 ของบริษัท BDH

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. sodium dodecyl sulphate (SDS) ของบริษัท Henkel เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทแอนไอออนิก โดยส่วนหัวมีประจุลบของกลุ่มซัลเฟต และส่วนหางประกอบด้วยคาร์บอน 12 ตัว

7. cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) ของบริษัทโรนูแรงค์ (Rhone Poulenc) เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทแคทไอออนิก โดยส่วนหัวมีประจุบวก

8. nonylphenol ethoxylate (TERIC NP_{10}) เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทนอนไอออนิก ของบริษัท ไอซีไอ ประเทศออสเตรเลีย

9. สารมาตรฐานโปรตีน Bovine serum albumin ของบริษัท Fluka

10. sodium deoxycholate (DOC) ของบริษัท Fluka

11. trichloroacetic acid (TCA) ของบริษัท Fluka

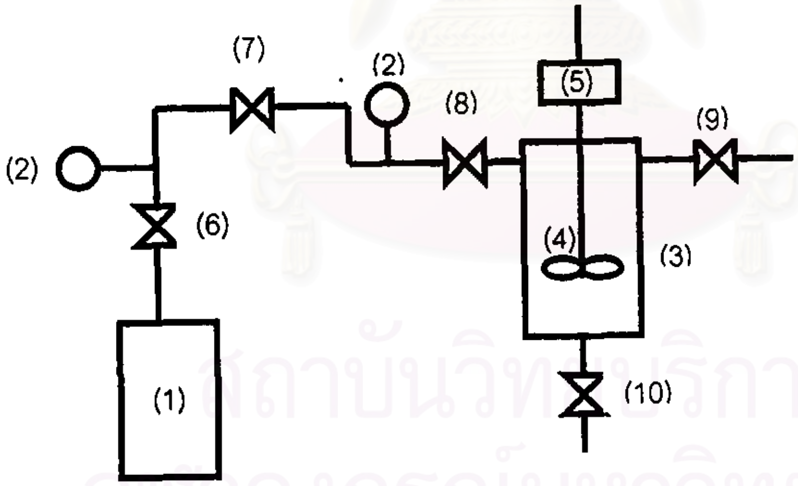
12. phosphotungstic acid (PTC) ของบริษัท Fluka

13. folin reagent ของบริษัท Merck

14. sodium carbonate anhydrous ของบริษัท Fluka

15. copper sulphate ของบริษัท Fluka

16. sodium citrate ของบริษัท Ajax Chemicals



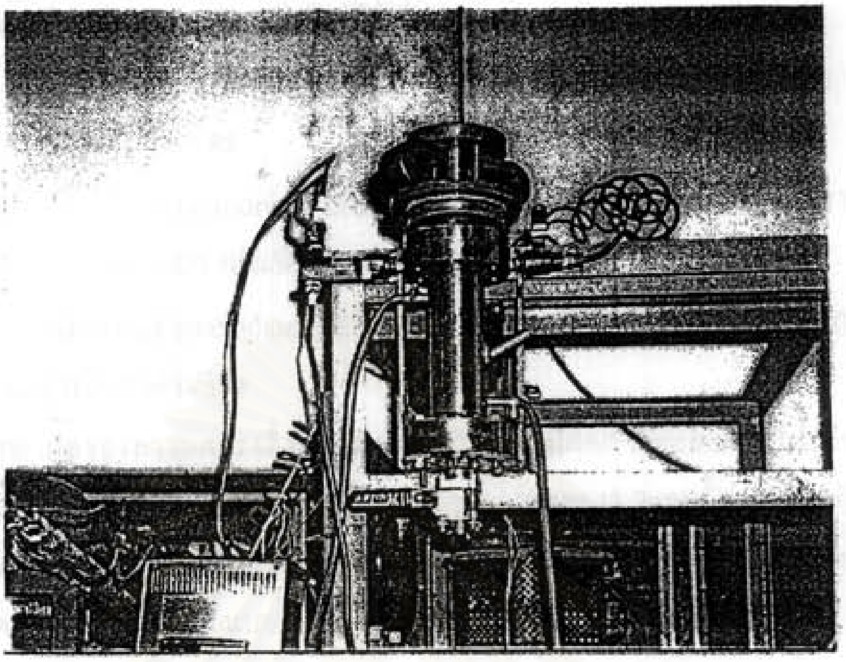
(1) ถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (2) เกจวัดความดัน

(3) เครื่องปฏิกรณ์ (4) ใบพัดกวน

(5) มอเตอร์ (6-10) วาล์ว

รูปที่ 3.1 แผนผังอุปกรณ์ชะละลายโปรตีนออกจากถุงมือยางกรณีศึกษาผลของความดัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.2 เครื่องปฏิกรณ์เคมี

หัวข้อที่ทำการทดลอง

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ
   1.1 สร้างกราฟมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบหาปริมาณโปรตีน
   1.2 การหา % Recovery เพื่อทดสอบความถูกต้องของข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน
2. วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนเริ่มต้นในถุงมือยางที่ใช้เป็นตัวอย่างในงานวิจัย
3. ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆต่อการชะละลายโปรตีน
   3.1 ศึกษาผลของความเป็นกรด-เบสต่อการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติโดย กรด-เบส ที่ใช้ได้แก่
   - sodium hydroxide (NaOH) ศึกษาที่ความเข้มข้น 1, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} โมลาร์
   - sulfuric acid (H_2SO_4) ศึกษาที่ความเข้มข้น 1.84×10^{-1}, 1.84×10^{-2}, 1.84×10^{-3} และ 1.84×10^{-4} โมลาร์
   - potassium hydroxide (KOH) ศึกษาที่ความเข้มข้น 1, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} โมลาร์
   - hydrochloric acid (HCl) ศึกษาที่ความเข้มข้น 1.2×10^{-1}, 1.2×10^{-2}, 1.2×10^{-3} และ 1.2×10^{-4} โมลาร์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ศึกษาผลของการลดแรงตึงผิวต่อการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติโดยสารลดแรงตึงผิวโดยสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ได้แก่

- sodium dodecyl sulphate (SDS) **ที่ความเข้มข้น 1.730, 0.865, 0.433, 0.216 และ0.108 กรัม/ลิตร**
- cetytrimethyl ammonium bromide (CTAB) **ที่ความเข้มข้น 0.339, 0.170, 0.085, 0.042 และ 0.021 กรัม/ลิตร**
- nonylphenol ethoxylate (TERIC N_{10}) **ที่ความเข้มข้น 0.050, 0.025, 0.013, 0.006 และ 0.003 กรัม/ลิตร**

3.3 ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวภายใต้ความดันที่มีต่อการชะละลายโปรตีนจากถุงมือยางธรรมชาติโดยเลือกสารที่เหมาะสมจากการทดลอง3.2และน้ำกลั่นโดยศึกษาผลของความดันเกจที่ 0, 10 , 20, 30 และ40 บาร์ ณ.ภาวะที่มีการกวนและไม่มีการกวน

3.4 ทดสอบการชะละลายแบบต่างๆ ในกระบวนการผลิตถุงมือยางธรรมชาติ

- pre – curing leaching(ขั้นตอนการชะละลายก่อนการทำให้ยางสุก)
- post – curing leaching(ขั้นตอนการชะละลายหลังการทำให้ยางสุก)
- pre+post – curing leaching(ขั้นตอนการชะละลายก่อนและหลังการทำให้ยางสุก)

วิธีทดลอง

1. การทดลองหาสภาพกรด-เบส และสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการชะละลายโปรตีน

นำถุงมือยาง 1 ข้างโดยตัดชิ้นยางบริเวณฝ่ามือของถุงมือยางเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 7 × 7 เซนติเมตร จะได้ชิ้นตัวอย่างจำนวน2ชิ้น นำไปใส่ภาชนะซึ่งบรรจุสารละลายปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในภาวะที่ต้องการศึกษา (รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 3.1 และ3.2) วัดความเป็นกรด-เบส(pH)ของสารละลายกรณีสารละลายที่ศึกษาเป็นกรดหรือเบส และวัดค่าแรงตึงผิวของสารละลายกรณีสารละลายที่ศึกษาเป็นสารลดแรงตึงผิว จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง shaker เป็นเวลานาน 20 นาที ทำการชะละลายด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง shaker เป็นเวลานาน 5 นาที นำชิ้นยางที่ได้ตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในชิ้นยางโดยวิธี modified Lowry

2. การทดลองชะละลายโปรตีนภายใต้ความดัน

นำถุงมือยาง 1 ข้าง โดยตัดชิ้นยางบริเวณฝ่ามือของถุงมือยางเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 7 × 7 เซนติเมตร จะได้ชิ้นตัวอย่างจำนวน 2 ชิ้น นำไปใส่ในเครื่องปฏิกรณ์(3) ซึ่งบรรจุสารที่ใช้ในการชะละลายที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่1 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการเพิ่มความดันเกจ (0, 10, 20,

30 และ40 บาร์) โดยเปิดวาล์ว(6), (7) และ(8) จนได้ความดันที่ต้องการ จากนั้นเปิดมอเตอร์(5) เพื่อหมุนใบพัด(4)กรณีศึกษาการกวนสารละลายในเครื่องปฏิกรณ์ (ปิดมอเตอร์กรณีศึกษาภาวะไม่มีการกวน) เป็นเวลานาน 20 นาที จากนั้นปิดมอเตอร์และเปิดวาล์ว (9) และ(10) นำชิ้นยางใส่ภาชนะและเติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง shaker เป็นเวลานาน 5 นาที นำชิ้นยางที่ได้ตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในชิ้นยางโดยวิธี modified Lowry

3. ทดลองการชะละลายแบบ pre - curing leachingและ post - curing leaching

ในโรงงานผลิตถุงมือยางจะมีการชะละลายถุงมือยางหลังจากที่จุ่มแบบลงในน้ำยางข้นแล้ว เรียกว่า "pre - curing leaching" จากนั้นถุงมือที่ติดอยู่บนแบบจะผ่านการทำให้ยางสุกภายในเตาอบแบบอุโมงค์ทำงานแบบต่อเนื่อง เมื่อแบบและถุงมือผ่านขั้นตอนการทำให้ยางสุกแล้วจะผ่านการชะละลายอีกครั้ง เรียกว่า "post - curing leaching"

การทดลองขั้นตอนนี้ทำที่โรงงานผลิตถุงมือยาง โดยใช้สารละลายที่เตรียมขึ้นแทนน้ำโดยเติมสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ในถังชะละลายที่ต้องการศึกษา pre - curing leaching , post - curing leaching และ pre+post - curing leaching ทำการกวนจนสารลดแรงตึงผิวละลายหมด จากนั้นทำการเปิดเครื่องเพื่อผลิตถุงมือยางธรรมชาติ เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย