



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการสลายตัวของสารชีวโมเลกุลที่มีผลต่อความเสถียรเชิงกล
ของน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยง

โดย ผศ.ดร.วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐกรรม และคณะ

ธันวาคม 2554

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการสลายตัวของสารชีวโมเลกุลที่มีผลต่อความเสถียรเชิงกลของน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยงจะเกิดขึ้นมิได้หากขาดการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ทั้งในด้านการสนับสนุนทุนวิจัย และการให้คำแนะนำ คณะผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบคุณทุกท่าน โดยเฉพาะ อาจารย์วรภรณ์ จรรย์ชัยกุล ผู้อำนวยการโครงการวิจัยแห่งชาติ: ยางพารา ฝายอุตสาหกรรม เจ้าหน้าที่ฝ่ายสนับสนุนของฝายอุตสาหกรรม คุณปิยนันท์ บุญประเสริฐ คุณจิตติมา พิกุลทอง และคุณมนัญญา ชูพยัคฆ์

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี หน่วยงานต้นสังกัด ที่ให้การสนับสนุนด้านวัสดุอุปกรณ์ และสาธารณูปโภค

สุดท้ายขอขอบคุณทีมงานทุกท่านได้แก่ นางสาวลัดดาวัลย์ คำเด่น และอาจารย์อุไรวรรณ ชุนจันทร์ ที่ได้ทุ่มเทกันอย่างเต็มที่จนงานวิจัยแล้วเสร็จ

ผศ.ดร.วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐกรรม

หัวหน้าโครงการฯ

บทสรุปย่อรายงานสำหรับผู้บริหาร

ชื่อโครงการ การสลายตัวของสารชีวโมเลกุลที่มีผลต่อความเสถียรเชิงกลของน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยง

(The degradation of biomolecules that affects on mechanical stability of natural rubber (*Hevea brasiliensis*) latex after centrifugation)

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานต้นสังกัด และที่อยู่

ชื่อ-สกุล: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิไลรัตน์ ชีวะเศรษฐกรรม

หน่วยงาน: หน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์และสิ่งแวดล้อม

แผนกวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

ที่อยู่: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี อ.เมือง จ.ปัตตานี 94000

โทรศัพท์/โทรสาร 073-313930-45 ext.1988/073-335130

E-mail address: cwilai@bunga.pn.psu.ac.th, wilairat.psupattani@gmail.com

นักศึกษา/ผู้ร่วมวิจัย 1) นางสาวลัดดาวัลย์ คำเด่น

2) อาจารย์อุไรวรรณ ขุนจันทร์

งบประมาณทั้งโครงการ: 750,376 บาท (RDG5150057)

ระยะเวลาดำเนินการ 12 เดือน ตั้งแต่วันที่ 15 สิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึง 14 สิงหาคม พ.ศ. 2552

ปัญหาที่ทำวิจัยและความสำคัญ

จากการตรวจสอบเอกสารที่ผ่านมาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำยางโดยเฉพาะสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน ไขมัน ส่วนใหญ่ไม่ค่อยมีการรายงานถึงรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ และมักรายงานผลโดยไม่มีการระบุความน่าเชื่อถือของวิธีด้านความแม่นยำและความเที่ยง ทำให้ตัดสินใจยากกว่าข้อมูลที่ได้มีความน่าเชื่อถือแค่ไหนและสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ได้ในระดับใด ในการศึกษาครั้งนี้ได้พยายามรวบรวมข้อมูลและพัฒนาวิธีการตรวจสอบและวิธีการวิเคราะห์ ทำให้ได้วิธีการในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยางด้านสารชีวโมเลกุล ซึ่งสามารถนำวิธีที่พัฒนาได้ไปเผยแพร่เพื่อให้ผู้ประกอบการได้มีแนวทางและวิธีการที่น่าเชื่อถือในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยาง

วัตถุประสงค์

- 1) ติดตามภาพรวมของการสลายตัวของสารชีวโมเลกุลหลัก ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และการโบไฮเดรต ในน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยง จนกระทั่งน้ำยางมีค่าความเสถียร

เชิงกลองที่ โดยตรวจคิดตามปริมาณไขมันรวม โปรตีนรวม และคาร์โบไฮเดรตรวม และ สารชีวโมเลกุลขนาดเล็กที่เกิดจากการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ได้แก่ กรดไขมัน โปรตีนที่สามารถสกัดได้ และน้ำตาลรีดิวซ์

- 2) ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีมาตรฐานที่มีอยู่แล้วสำหรับการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลหลัก ทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก ในข้อ 1 ในน้ำยางธรรมชาติ รวมทั้งพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในแต่ละกลุ่มในกรณีที่ยังไม่มีวิธีการวิเคราะห์สารเหล่านั้นสำหรับน้ำยาง

ผลการดำเนินงานและสรุปผลการวิจัย

จากการตรวจสอบเอกสารที่ผ่านมาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำยางโดยเฉพาะ สารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน ไขมัน ส่วนใหญ่ไม่ค่อยมีการรายงานถึงรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ และมักรายงานผลโดยไม่มีการระบุความน่าเชื่อถือของวิธีด้านความแม่นยำและความเที่ยง ทำให้ตัดสินใจยากกว่าข้อมูลมีความน่าเชื่อถือแค่ไหนและสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ได้ในระดับใด ในการศึกษาได้พยายามรวบรวมข้อมูลและพัฒนาวิธีการตรวจสอบและวิธีการวิเคราะห์ทำให้ได้ วิธีการในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยางด้านสารชีวโมเลกุล ซึ่งสามารถนำวิธีที่พัฒนาได้ไปเผยแพร่ เพื่อให้ผู้ประกอบการได้มีแนวทางและวิธีการที่น่าเชื่อถือในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยาง โดย การศึกษาแบ่งออกเป็นสองส่วนคือช่วงแรกเป็นการพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลและส่วนที่สองเป็นการติดตามการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของสารชีวโมเลกุลในน้ำยาง

1. การพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล

จากการพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในตัวอย่างน้ำยาง โดยศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธี จากค่าความเที่ยงใช้ร้อยละของการกู้คืนและค่าความแม่นยำใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนพบความน่าเชื่อถืออยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ สามารถนำไปใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในตัวอย่างน้ำยางได้ โดยมีข้อสรุปดังนี้

1.1 การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด

1) ไลปิดทั้งหมด

ในเบื้องต้นของการพัฒนาวิธีนี้ ผู้วิจัยได้ส่งจดหมายอิเล็กทรอนิกส์สอบถามเจ้าหน้าที่ของสถาบัน RRIM (Rubber Research Institute of Malaysia) ถึงวิธีการวิเคราะห์ไลปิดหรือไขมันในน้ำยาง แต่ได้รับทราบว่าทาง RRIM ยังไม่มีวิธีและกำลังสนใจที่จะศึกษา และแจ้งความประสงค์ให้ทราบว่าหากงานวิจัยนี้แล้วเสร็จทาง RRIM ใคร่ขอทราบวิธีการที่พัฒนาขึ้นด้วย

งานวิจัยนี้จึงได้ดำเนินการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไลโปดทั้งหมดโดยวิธีสกัดแบบชอกห์เลต โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ferraz และคณะ (2006) พบสถานะที่เหมาะสมที่สุดคือใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยใช้เวลาในการสกัดถึงตัวอย่างละ 8 ชั่วโมง การสกัดจึงจะเกิดสมบูรณ์พบสามารถสกัดไลโปดออกจากรูปร่างได้ร้อยละ 72-85 อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ไลโปดหรือไขมันโดยวิธีนี้ผู้วิเคราะห์ต้องมีทักษะในการวิเคราะห์ดีเป็นอย่างยิ่งจึงจะสามารถมีผลของการวิเคราะห์ความเที่ยงที่ยอมรับได้ ในการพัฒนาวิธีนี้ใช้เวลาไปทั้งสิ้นเป็นเวลานานกว่าวิธีอื่น ๆ ในการศึกษาครั้งนี้จึงไม่นำมาใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณไลโปดทั้งหมดในน้ำยาง

2) ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม

จากการตรวจสอบและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม หรือที่เรียกว่า สบู่ พบเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ทำให้เห็นสัญญาณที่ชัดเจนที่สามารถบ่งบอกได้ถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันที่เป็นสบู่ในน้ำยางได้โดยตรง โดยความแม่นยำของวิธียังอยู่ที่ระดับที่ต่ำกว่าร้อยละ 75 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างดีมากสำหรับการวิเคราะห์กรดไขมัน และอยู่ในระดับเดียวกับการวิเคราะห์กรดไขมันของงานวิจัยที่เคยมีมา ทั้งนี้เนื่องจากธรรมชาติของกรดไขมันที่มีมักจะเกาะติดกับอนุภาค หรือผิววัสดุต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดีสามารถสกัดออกมาได้ยาก

1.2 การวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน

การรายงานปริมาณโปรตีนในน้ำยางควรมีการระบุว่าเป็นโปรตีนที่วิเคราะห์เป็นโปรตีนทั้งหมด หรือ โปรตีนที่สกัดได้ หรือโปรตีนที่มีขนาดเฉพาะ เช่น โปรตีนที่สามารถผ่านเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร หากไม่ระบุจะนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกันไม่ได้

นอกจากนี้การรายงานปริมาณโปรตีนควรรายงานในรูปของกรัมของไนโตรเจน แทนกรัมของโปรตีน เนื่องจากการรายงานปริมาณโปรตีนต้องนำปริมาณไนโตรเจนมาคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 ซึ่งแฟกเตอร์ 6.25 นิยมใช้ในการบ่งบอกโปรตีนที่เป็นสารอาหารประเภทโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างจากชนิดของโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยาง

อีกประการหนึ่งโปรตีนที่ใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยาง ควรเลือกโปรตีนที่มีขนาดใกล้เคียงกับโปรตีนในน้ำยางมากที่สุด ตัวอย่างเช่น ควรเลือกใช้โปรตีนโอวัลบูมินเป็นโปรตีนจากไข่ไก่ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 45 kDa ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยางธรรมชาติ มากกว่าการใช้โปรตีนจากซีรัมสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Bovine serum albumin) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลถึง 66 kDa หรือในอนาคตควรมีการพัฒนาวิธีที่ใช้โปรตีนที่มาจากพืช แทนการใช้โปรตีนที่มาจากสัตว์ เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยาง

สำหรับผลการพัฒนาการวิเคราะห์โปรตีน สามารถสรุปได้ดังนี้

1) โพรตีนทั้งหมดในรูปเจลคาห์ลในโตรเจน

การวิเคราะห์โพรตีนทั้งหมดในรูปในโตรเจนด้วยวิธีเจลคาห์ล พบความน่าเชื่อถือของวิธีอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ โดยค่าความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 90.76 ± 3.94 และ 4.34 ± 1.68 ตามลำดับ วิธีการวิเคราะห์ในการศึกษานี้ยังมีรายละเอียดของวิธีการที่จะตรวจสอบถึงการย่อย

2) โพรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์

จากการตรวจสอบเอกสารการศึกษาที่เคยมีมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยการทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์ ไม่พบการรายงานยืนยันการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธี และเมื่อทำการศึกษการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยาง โดยดัดแปลงวิธีวิเคราะห์โปรตีนในผลิตภัณฑ์ยางพารา คือ วิธี MS 1392: 1008 และวิธี ISO 12243: 2003 พบวิธี ISO 12243: 2003 มีการใช้สารซึ่งมีราคาแพงมากคือ *N*-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-amino-ethanesulfonic acid hemisodium salt (TES) ในขณะที่ความน่าเชื่อถือของวิธีทั้งสองอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และอยู่ในระดับเดียวกัน โดยค่าความแม่นยำของวิธี MS 1392: 1008 และวิธี ISO 12243: 2003 เท่ากับร้อยละ 93.86 ± 1.03 และ 87.76 ± 4.93 ตามลำดับ และความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 7.67 ± 3.43 และ 10.02 ± 4.26 ตามลำดับ เนื่องจากวิธี MS 1392: 1008 มีความยุ่งยากน้อยกว่าและไม่มีการใช้สาร TES รวมทั้งมีการใช้โปรตีนที่มีขนาดเล็กกว่าคือโอวัลบูมินเป็นสารมาตรฐาน ทำให้มีความน่าสนใจนำมาใช้มากกว่า

อนึ่งในการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โปรตีน ควรมีการระบุประเภทของโปรตีน เช่น ปริมาณในโตรเจนทั้งหมด เช่นกรณีของวิธีเจลคาห์ลซึ่งบอกรวมปริมาณโปรตีน แอมโมเนีย และสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ หรือปริมาณโปรตีนทั้งหมด หรือโปรตีนขนาดเล็กกว่า $0.45 \mu\text{m}$ โดยการกรองผ่านเยื่อกรองในลอนขนาด $0.45 \mu\text{m}$ ทั้งนี้เพื่อให้สามารถตรวจสอบเปรียบเทียบผลจากแต่ละวิธีได้

3) โพรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโน

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการไฮโดรไลซ์โปรตีนด้วยกรด และทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนด้วยนินไฮดริน โดยใช้กรดแอสปาร์ติกเป็นตัวแทนของกรดอะมิโนทั้งหมด พบวิธีวิเคราะห์ทำได้ค่อนข้างง่าย ไม่ยุ่งยาก มีความจำเพาะต่อโปรตีนสูงกว่าวิธีเจลคาห์ล เนื่องจากตรวจวัดสัญญาณที่เกิดจากกรดอะมิโนซึ่งเป็นส่วนย่อยโดยตรงของโปรตีน สารที่ใช้มีราคาถูกกว่าวิธี ISO 12243: 2003 และพบความน่าเชื่อถือของวิธีมีความน่าเชื่อถือสูงโดยมีค่าความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 95.91 ± 2.58 และ 9.64 ± 2.58 ตามลำดับ

4) กรดอะมิโน

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนโดยดัดแปลงวิธีนินไฮดริน พบวิธีมีการใช้สารที่มีราคาถูก เวลาค้น และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการโปรตีนในรูปแบบอื่น ๆ พบว่าวิธีนินไฮดรินไม่ยุ่งยากและไม่ต้องใช้ทักษะและความชำนาญเท่ากับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลดาคัล เมื่อตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีพบมีความน่าเชื่อถือสูง โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 104.67 ± 0.07 และ 4.03 ± 0.43 ตามลำดับ

1.3 การวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต

1) คาร์โบไฮเดรต

ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต พบวิธีที่ใช้กรด-3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิกในการเตรียมสารอนุพันธ์ ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตในน้ำยาง ทั้งนี้เนื่องจากสารชนิดนี้ จะเกิดการเสียสภาพได้หากมีกรดอื่น ๆ ที่เกิดจากการใช้ในการเตรียมชีรัมของตัวอย่างน้ำยาง ดังนั้นวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริกจึงมีความเหมาะสมมากกว่าเนื่องจากไม่เสียสภาพในสถานะที่มีกรด เมื่อศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธี พบว่าความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้คือ เท่ากับร้อยละ 99.36 ± 2.89 และ 2.91 ± 0.12 ตามลำดับ

2) น้ำตาล

ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่อยู่ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ พบวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริกมีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างน้ำยาง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้สารเคมีน้อยและราคาถูก อีกทั้งใช้เวลาน้อยในการวิเคราะห์ต่อหนึ่งตัวอย่าง เมื่อตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีพบวิธีมีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 102.46 ± 0.44 และ 0.42 ± 0.04 ตามลำดับ

2. การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับของสารชีวโมเลกุลแต่ละชนิดเพื่อดูความสัมพันธ์กับค่าความเสถียรเชิงกล โดยได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพบางประการควบคู่ไปกับการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล โดยศึกษาในตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากโรงงานใน 3 จังหวัด คือ สงขลา พัทลุง และชลบุรี พบผลการศึกษาดังนี้

2.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางเคมีและกายภาพ

1) ปริมาณเนื้อยางแห้ง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณเนื้อยางแห้งทั้งในน้ำยางสดและชั้นใน ทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

2) ปริมาณของแข็งทั้งหมด

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณของแข็งทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้นในทุกตัวอย่าง โดยในน้ำยางสดมีปริมาณน้อยกว่าน้ำยางข้น

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเนื้อยางแห้งและปริมาณของแข็งทั้งหมดกับค่าความเสถียรเชิงกล ไม่พบปริมาณเนื้อยางแห้งหรือปริมาณของแข็งทั้งหมดมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

3) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้นในทุกตัวอย่าง โดยในน้ำยางสดมีค่าต่ำกว่าน้ำยางข้นยกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางสดมีค่าเท่ากับน้ำยางข้น เนื่องจากการเติมแอมโมเนียในปริมาณที่เท่ากัน

4) ค่าความเป็นด่าง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าความเป็นด่างมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางข้น โดยในน้ำยางสดมีค่าน้อยกว่าน้ำยางข้นยกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดมีค่าเท่ากับน้ำยางข้นซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่าง และพบว่าตัวอย่างน้ำยางสองจากสามโรงงานมีค่าความเป็นด่างมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล โดยพบว่าเมื่อค่าความเป็นด่างมีแนวโน้มลดลงค่าความเสถียรเชิงกลจะเพิ่มขึ้น

5) ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นค่าที่บอกถึงปริมาณของกรดไขมันที่อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียม พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในน้ำยางสดและมีแนวโน้มคงที่ในน้ำยางข้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางข้นยกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่าอยู่ในช่วงเดียวกันทั้งในน้ำยางสดและชั้น สอดคล้องกับค่าความเป็นด่าง และพบว่าค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำยางจากทั้งสามโรงงานมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล นั่นคือ เมื่อค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลจะเพิ่มขึ้น

6) ค่ากรดไขมันระเหยได้

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่ากรดไขมันระเหยได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในน้ำยางสดและมีแนวโน้มคงที่ในน้ำยางข้น ยกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่ากรดไขมันระเหยได้มีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางข้น และพบตัวอย่างน้ำยาง

สองจากสามโรงงานมีค่ากรดไขมันระเหยได้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล โดยเมื่อกรดไขมันระเหยได้เพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลก็มีค่าเพิ่มขึ้น

7) ค่าการนำไฟฟ้า

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าการนำไฟฟ้ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งในน้ำยางสดและชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น สอดคล้องกับค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และค่ากรดไขมันระเหยได้ และพบว่าตัวอย่างน้ำยางจากโรงงานเดียวมีค่าการนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

เมื่อดูในภาพรวมของผลจากการวิเคราะห์หากผู้ประกอบการต้องการทราบแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความเสถียรเชิงกล ควรเสนอแนะให้ผู้ประกอบการใช้วิธีวัดการนำไฟฟ้า ร่วมกับการวัดค่าความเป็นด่าง และการหาค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ในการตรวจคุณภาพน้ำยางเบื้องต้น เนื่องจากสะดวกและรวดเร็ว ของวิธีตามลำดับ แต่ในกรณีที่สัญญาณของการนำไฟฟ้าไม่มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลง เนื่องจากสารโมเลกุลเล็กที่เพิ่มขึ้นมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ ค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นค่าที่นำไปใช้ในการติดตามแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความเสถียรเชิงกลมากที่สุด เนื่องจากข้อมูลจากน้ำยางของทั้งสามโรงงานที่ศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์กับค่าความเสถียรเชิงกล

2.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล

2.2.1 การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด

1) ไลปิดทั้งหมด

เนื่องจากการวิเคราะห์ไลปิดทั้งหมดโดยวิธีสกัดแบบซอกซ์เลต ต้องใช้เวลาในการสกัดอย่างน้อยตัวอย่างละ 8 ชั่วโมง จึงจะสามารถสกัดไลปิดทั้งหมดออกจากน้ำยางได้สมบูรณ์ อีกทั้งต้องใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่สูง ก่อให้เกิดของเสียจากห้องปฏิบัติการในปริมาณมาก ในการศึกษาจึงไม่ได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงไปพร้อม ๆ กับสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ

2) ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม

แม้ว่าปริมาณกรดไขมันที่รายงานในการศึกษานี้ดูเหมือนมีแนวโน้มคงที่ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้เป็นเพียงกรดไขมันที่สามารถตรวจวัดได้ หรือเป็นเพียงปริมาณของกรดไขมันบางส่วนเท่านั้น ยังมีกรดไขมันอีกหลายชนิดที่มีค่าต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจวัด ซึ่งเมื่อนำมารวมกันก็จะมีปริมาณอยู่ในระดับหนึ่ง อีกทั้งยังพบฟิสิกส์ของสารหรือกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีขนาดของสัญญาณสูงกว่ากรดไขมันทุกชนิด อยู่ระหว่างฟิสิกส์สัญญาณของเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 และ 18 ตัว แต่ในการศึกษานี้ไม่มีสารมาตรฐานที่มีฟิสิกส์สัญญาณตรงกับฟิสิกส์สัญญาณดังกล่าว ทำให้ไม่สามารถรายงานรวมความเข้มข้นของสารชนิดนี้ได้ เมื่อยังไม่สามารถรายงาน

ปริมาณรวมของกรดไขมันจึงทำให้ยังไม่อาจสรุปได้ว่ากรดไขมันจะมีหรือไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็สามารใช้ในการบอกชนิดและปริมาณของกรดไขมันได้ชัดเจนกว่าทุกวิธีที่เคยมีการรายงานกรดไขมันในตัวอย่างน้ำยางพารา โดยจะสามารถเห็นได้ว่าในตัวอย่างน้ำยางสดพบกรดปาล์มมิติก (C16) และกรดออกตะเดคาโนอิก (C18) ในปริมาณสูง ในขณะที่ในน้ำยางชั้นหลังโรงงานเติมสบู่อลด จะปรากฏสัญญาณของกรดลอริก (C12) เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน

2.2.2 การวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน

1) โปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาห์ลในโตรเจน

พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้นในทุกตัวอย่าง โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น และพบว่าปริมาณโปรตีนในระดับนี้ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

2) โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์ พบว่าผลที่ได้มีปริมาณน้อยกว่ามากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ตรวจวัดโดยวิธีเจลดาห์ลและวิธีของกรดอะมิโน ซึ่งอาจเกิดเนื่องมาจากการย่อยโปรตีนที่ยังไม่สมบูรณ์ จึงไม่ได้รายงานการติดตามการเปลี่ยนแปลงไปพร้อม ๆ กับสารชีวโมเลกุลอื่น

3) โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาดัวยกรดอะมิโน

พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นโปรตีนทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น สอดคล้องกับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลดาห์ลและไม่พบว่าโปรตีนในระดับที่ตรวจพบได้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

เมื่อศึกษาอิทธิพลของสารชีวโมเลกุลต่อค่าความเสถียรเชิงกลในน้ำยางชั้น พบว่าโปรตีนจะมีอิทธิพลต่อค่าความเสถียรเชิงกลน้อยกว่ากรดไขมันกว่าพันเท่า จึงทำให้ไม่สามารถตรวจวัดระดับความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนที่ตรวจวัดได้กับค่าความเสถียรเชิงกล

4) กรดอะมิโน

จากการติดตามปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำยาง ณ เวลาใด ๆ โดยวิธีนินไฮดริน พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณกรดอะมิโนมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น และไม่พบว่ากรดอะมิโนมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

2.2.3 การวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต

1) คาร์โบไฮเดรต

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางข้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางข้น และไม่พบว่าคาร์โบไฮเดรตมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

2) น้ำตาล

ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณน้ำตาลมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางข้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางข้น และไม่พบว่าน้ำตาลมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล สอดคล้องกับคาร์โบไฮเดรต

แม้ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลแต่ละชนิด ส่วนใหญ่จะไม่แสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล แต่ผลจากการศึกษาสมบัติที่เกิดจากสารชีวโมเลกุล ก็สามารถใช้ในการบ่งบอกความสัมพันธ์กับค่าความเสถียรเชิงกลได้ เช่น ค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณกรดไขมันอิสระที่อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียมที่มีเพิ่มขึ้น อันน่าจะเนื่องมาจากการสลายตัวของกรดไขมันที่เดิมอาจอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ หรือฟอสโฟไลปิด และผลจากการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมัน และให้เห็นว่ากรดไขมันที่เพิ่มขึ้น ไม่ได้เป็นชนิดที่มีคาร์บอน 12, 16 หรือ 18 ตัว แต่น่าจะมีขนาดใกล้เคียงกับกรดไขมัน ที่มีคาร์บอน 16 หรือ 18 ตัว โดยอาจเป็นกรดโอเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอนแบบ 18:1 หรือกรดไขมันฟิวรานอยด์ซึ่ง Lie Ken Jie และ Sinha (1981) รายงานไว้ว่ากรดไขมันในส่วนของ triacylglycerol fraction ของน้ำยางพารา ประกอบด้วยกรดไขมันฟิวรานอยด์ถึง 97% โดยกรดไขมันฟิวรานอยด์ที่พบเป็นแบบที่มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม อย่างไรก็ตามหากศึกษาจากขนาดของสัญญาณงานวิจัยนี้คาดว่าน่าจะมีกรดไขมันชนิดนี้น้อยกว่า 90%

นอกจากนี้ผู้ประกอบการยังสามารถนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปใช้ในการวิเคราะห์ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต หากมีเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งสารเหล่านี้ถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะข้อเสนอแนะของการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยางโดยวิธีนินไฮดรินก่อนที่จะนำน้ำยางไปเตรียมเป็นถุงมือยาง หรือถุงยางอนามัย อีกทั้งยังมีข้อมูลที่สามารถตรวจสอบได้ถึง การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธี โดยเฉพาะด้านความแม่นยำและความเที่ยงให้ผู้ประกอบการได้ใช้ศึกษาเปรียบเทียบ

ข้อเสนอแนะที่คาดว่าจะวิจัยเพิ่มเติมและวิธีการที่ควรพัฒนาต่อยอดสู่ภาคปฏิบัติจริง

- 1) ควรมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไลปิดทั้งหมดที่ไม่ยุ่งยาก รวดเร็วและต้นทุนไม่สูงเกินไป เพื่อให้โรงงานได้ใช้จริง เพื่อใช้ตรวจสอบปริมาณไลปิดทั้งหมดซึ่งมีผลต่อค่าความเสถียรเชิงกลของ นํ้ายางวิธีที่นิยมใช้กันคือการสกัดด้วยซอกซ์เลต เป็นวิธีที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน และราคาต่อการวิเคราะห์สูง
- 2) ควรประชาสัมพันธ์ให้บริษัทฯ ที่มีงบประมาณในการควบคุมคุณภาพนํ้ายางและผลิตภัณฑ์ เช่น ถูยางอนามัย ได้รับทราบว่าจากงานวิจัยนี้บริษัทสามารถมีวิธีในการตรวจสอบชนิดและปริมาณของ กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม ซึ่งจะส่งผลกระทบต่ออายุของถูยางอนามัย เพื่อป้องกันการสูญเสียผลิตภัณฑ์
- 3) เกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในนํ้ายางควรมีการประชาสัมพันธ์ให้ทราบว่า
 - การรายงานปริมาณโปรตีนในนํ้ายางควมมีการระบุว่าเป็นโปรตีนที่วิเคราะห์เป็น โปรตีนทั้งหมด หรือ โปรตีนที่สกัดได้ หรือโปรตีนที่มีขนาดเฉพาะ เช่นโปรตีนที่สามารถผ่านเยื่อกรองที่มี ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร หากไม่ระบุจะนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกันไม่ได้
 - ในการรายงานปริมาณโปรตีนควรรายงานในรูปของกรัมของไนโตรเจน แทน กรัมของ โปรตีน เนื่องจากการรายงานปริมาณโปรตีนต้องนำปริมาณไนโตรเจนมาคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 ซึ่ง แฟกเตอร์ 6.25 นิยมใช้ในการบ่งบอกโปรตีนที่เป็นสารอาหารประเภทโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็น กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างจากชนิดของโปรตีนที่มีอยู่ในนํ้ายาง
 - โปรตีนที่ใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์โปรตีนในนํ้ายาง ควรเลือกโปรตีนที่มี ขนาดใกล้เคียงกับโปรตีนในนํ้ายางมากที่สุด ตัวอย่างเช่น ควรเลือกใช้โปรตีนโอวัลบูมินเป็นโปรตีน จากไข่ไก่ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 45 kDa ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีอยู่ในนํ้ายาง ธรรมชาติ มากกว่าการใช้โปรตีนจากซีรัมสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Bovine serum albumin) ซึ่งมีน้ำหนัก โมเลกุลถึง 66 kDa หรือในอนาคตควรมีการพัฒนาวิธีที่ใช้โปรตีนที่มาจากพืชแทนการใช้โปรตีน ที่มาจากสัตว์ เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์โปรตีนในนํ้ายาง
- 4) เกี่ยวกับวิธีการรวดเร็วในการตรวจสอบคุณภาพของนํ้ายาง ควรมีการประชาสัมพันธ์ให้ ผู้ประกอบการใช้วิธีวัดการนำไฟฟ้าร่วมกับการวัดค่าความเป็นด่าง และการหาค่าเลข โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ในการตรวจสอบคุณภาพนํ้ายางเบื้องต้น เนื่องจากสะดวกและรวดเร็ว แต่ใน กรณีที่สัญญาณของการนำไฟฟ้าไม่มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลง เนื่องจากสารโมเลกุลเล็กที่เพิ่มขึ้นมีค่า การนำไฟฟ้าต่ำ ค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นค่าที่น่าใช้ในการติดตามแนวโน้มของการ

เปลี่ยนค่าความเสถียรเชิงกลมากที่สุด เนื่องจากข้อมูลจากน้ำยางของทั้งสามโรงงานที่ศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์กับค่าความเสถียรเชิงกล

5) ควรมีการประชาสัมพันธ์ให้ผู้ประกอบการด้านผลิตภัณฑ์ได้รับทราบว่า หากผู้ประกอบการต้องการทราบปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งสารเหล่านี้ถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ ซึ่งจะส่งผลต่อไปยังค่ากรดไขมันที่ระเหยได้และความเสถียรของน้ำยาง ผู้ประกอบการสามารถทำได้โดยใช้เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ซึ่งมีราคาตั้งแต่สองหมื่นบาทขึ้นไป

6) ควรมีการประชาสัมพันธ์ให้ผู้ประกอบการได้รับทราบถึงวิธีการตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยงตามหลักการของวิธีการวิเคราะห์ ทั้งนี้เพื่อลดความสูญเสียอันเนื่องมาจากการดำเนินการจากข้อมูลที่ไม่ถูกต้อง ตัวอย่าง เช่น ผู้ผลิตน้ำยางข้นไม่เคยตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยได้ ทำให้ค่าที่ได้ไม่ตรงกับบริษัทฯ ที่ซื้อน้ำยางข้นไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์

บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบเอกสารที่ผ่านมาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำยาง โดยเฉพาะสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน ไขมัน ส่วนใหญ่ไม่ค่อยมีการรายงานถึงรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ และมีรายงานผลโดยไม่มีการระบุความน่าเชื่อถือของวิธีด้านความแม่นยำและความเที่ยง ทำให้ตัดสินได้ยากว่าข้อมูลมีความน่าเชื่อถือแค่ไหน ในการศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์และศึกษาวิธีการตรวจสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นทำให้ได้วิธีการในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยางด้านปริมาณสารชีวโมเลกุล ซึ่งสามารถนำวิธีที่พัฒนาได้ไปเผยแพร่เพื่อให้ผู้ประกอบการได้มีแนวทางและวิธีการที่น่าเชื่อถือในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยาง โดยการศึกษาแบ่งออกเป็นสองส่วนคือช่วงแรกเป็นการพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลได้แก่ โลปิด โปรตีน กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลรีดิวซ์และส่วนที่สองเป็นการติดตามการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของสารชีวโมเลกุลดังกล่าวในน้ำยาง ผลการพัฒนาวิธีที่สำคัญได้แก่วิธีการวิเคราะห์กรดไขมันสายโซ่ยาวในน้ำยางธรรมชาติสดซึ่งเป็นวิธีการแรกที่สามารถบอกได้ถึงชนิดและปริมาณในระดับที่ใกล้เคียงกับที่มีอยู่จริงในน้ำยางธรรมชาติเนื่องจากไม่ต้องผ่านขั้นตอนหลาย ๆ ขั้นตอนอาจทำให้เกิดการสูญเสียกรดไขมัน รวมทั้งวิธีการวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีสเปกโตรเมตรี แทนการวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิคเจลคาท์ซึ่งยุ่งยากและเครื่องมือมีราคาแพง รวมทั้งพัฒนาวิธีการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตด้วยวิธีสเปกโตรเมตรีเช่นเดียวกัน แม้ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลแต่ละชนิด ส่วนใหญ่จะไม่แสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล แต่ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะทำให้ผู้ประกอบการสามารถเข้าใจมากขึ้นถึงผลที่เกิดจากสารชีวโมเลกุลต่อสมบัติต่าง ๆ ของน้ำยางธรรมชาติ

Abstract

According to literature reviews on the topics which are related to latex quality determination, especially biomolecules *i.e.* protein and lipid; it was found that most of the study rarely mentioned about the detail of the method that can be used by the latex factory. Moreover, most of the study hardly mention about the accuracy and precision of the method. Therefore, it is hard to determine how the method is reliable were the method. In this study, the methods for latex quality study about biomolecule content which have been developed and the reliability of the method have been assessed. These methods can be transferred to the user to be used for testing latex quality. This study has been divided into two parts, the first part is about method development and validation for the determination of lipid, protein, amino acid, carbohydrate and reducing sugar. The second part is about monitoring the type and quantity of those biomolecules in latex. The most important developed methods are the determination of long chain fatty acids that can give the information about the type and quantity which is close to the true value level contained in natural rubber latex, since the method does not consist of several steps which may cause the losing of fatty acid. The method for protein analysis by means of spectrometry was also established for protein analysis as an alternative method for the complicated and expensive instrument kjeldahl method. Moreover carbohydrate determination method by means of spectrometry has also been developed. Although the monitoring of most of the biomolecule type and contents in the natural rubber latex did not show any significant difference related to the mechanical stability, the results from the study could help the latex factory to understand more about the effects of biomolecules on different properties of natural rubber latex.

สารบัญ

หัวข้อ	เรื่อง	หน้า
1	บทนำ	1
1.1	ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2	วัตถุประสงค์	3
2	ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1	ทฤษฎี	4
2.1.1	ความเสถียรของน้ำยาง	4
2.1.2	สารชีวโมเลกุลในน้ำยางธรรมชาติ	4
2.1.2.1	ไลปิด	5
2.1.2.2	โปรตีน	6
2.1.2.3	คาร์โบไฮเดรต	7
2.1.3	ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้อง	8
2.1.3.1	การสกัดแบบซอกซ์เลต	8
2.1.3.2	ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน	9
2.1.3.3	ปฏิกิริยาการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี เจลดาคัล	11
2.1.3.4	ปฏิกิริยาลาวรี	11
2.1.3.5	ปฏิกิริยานินไฮดริน	12
2.1.3.6	ปฏิกิริยาฟีนอล-กรดซัลฟิวริก	13
2.2	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
2.2.1	การวิเคราะห์ไลปิด	14
2.2.2	การวิเคราะห์โปรตีน	16
2.2.3	การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต	19
3	วิธีการศึกษา	20
3.1	การเก็บตัวอย่างน้ำยาง	20
3.2	การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล	22
3.2.1	การศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำยาง	22
3.2.1.1	การจับตัวด้วยกรด	23
3.2.1.2	การจับตัวด้วยเกลือ	23
3.2.2	การศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์	24

	3.2.2.1 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบไลปิด	24
	3.2.2.2 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน	26
	3.2.2.3 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต	30
3.3	การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยาง	32
3.3.1	การติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นบางประการ	33
3.3.2	การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล	33
	3.3.2.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของไลปิด	34
	3.3.2.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน	33
	3.3.2.3 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต	34
3.4	การศึกษาอิทธิพลของสารชีวโมเลกุลต่อความเสถียรเชิงกล	34
4	ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา	35
4.1	ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล	35
4.1.1	ผลการศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างซีรัมน้ำยาง	35
4.1.2	ผลการศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์	37
4.2	ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยาง	54
4.2.1	ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพ	54
	4.2.1.1 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเนื้อเยื่อแห้ง	54
	4.2.1.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมด	58
	4.2.1.3 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง	62
	4.2.1.4 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นด่าง	66
	4.2.1.5 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	71
	4.2.1.6 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่ากรดไขมันที่ระเหยได้	76
	4.2.1.7 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้า	81

	4.2.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล	86
	4.2.2.1 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของไลปิด	86
	4.2.2.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน	91
	4.2.2.3 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต	103
4.3	ผลของสารชีวโมเลกุลต่อความเสถียรเชิงกลในน้ำยางธรรมชาติ	111
5	สรุปผลการศึกษา	
5.1	การพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล	112
	5.1.1 การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด	112
	5.1.2 การวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน	113
	5.1.3 การวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต	114
5.2	การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล	115
	5.2.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางเคมีและกายภาพ	115
	5.2.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล	117
	5.2.2.1 การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด	117
	5.2.2.2 การวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน	117
	5.2.2.3 การวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต	118

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

การนำน้ำยางธรรมชาติไปใช้ในโรงงานต้องผ่านหลายขั้นตอน เริ่มจากการนำน้ำยางสดจากสวน (Field latex) ส่งไปโรงงานผลิตน้ำยางข้น (Concentrated latex) เมื่อได้น้ำยางข้นแล้วจึงส่งต่อไปยังโรงงานขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ ปกติการนำน้ำยางข้นไปขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์มักจะต้องเก็บน้ำยางหลังการปั่นเหวี่ยงไว้อย่างน้อย 1 เดือน (วราภรณ์, 2549) เพื่อให้ถึงระยะเวลาน้ำยางมีค่าความเสถียรเชิงกล (Mechanical Stability Time, MST) ตามที่ต้องการ มาตรฐานน้ำยางข้นกำหนดให้น้ำยางข้นมีค่าความเสถียรเชิงกล เท่ากับ 650 วินาที (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ที่ผ่านมาได้มีการเติมสบูลงในน้ำยางเพื่อให้ได้ค่าความเสถียรเชิงกลตามต้องการ (ชัยอรุณ, 2527) แต่จากการพบปะกับผู้ประกอบการขนาดกลางและขนาดเล็ก ในการประชุมถ่ายทอดเทคโนโลยีของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ครั้งที่ 1 ภายใต้ชื่อโครงการ BRIDGE (Bring research & innovation to development gathering event) เมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม พ.ศ. 2550 ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ พบว่าผู้ประกอบการยังมีข้อสงสัยว่า แม้จะเติมสบูลงไปแล้ว แต่ก็ยังไม่สามารถนำน้ำยางไปขึ้นรูปได้ ยังคงต้องรออีกระยะหนึ่งเช่นเดิม จึงมีข้อสงสัยว่านอกเหนือจากสบูลงแล้วที่มีผลต่อค่าความเสถียรเชิงกล แล้วจะมีอิทธิพลจากสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ อีกหรือไม่อย่างไร

จากการที่ค่าความเสถียรเชิงกลมีค่าเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากสารประกอบไลปิดจะถูกไฮโดรไลซ์กลายเป็นกรดไขมัน เช่น กรดสเตียริกและกรดโอเลอิก เป็นต้น ซึ่งจะไปมีผลทำให้น้ำยางมีค่าความเสถียรเชิงกลเพิ่มขึ้นแล้ว โปรตีนที่ถูกสลายด้วยเอนไซม์โกแอกกูเลส (Coagulase) ทำให้เกิดสารซึ่งทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ห่อหุ้มผิวของอนุภาคยางเกิดการสลายตัว ทำให้ผิวของอนุภาคยางเกิดการเสียสภาพ (Blackley, 1997) ส่วนคาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acid; VFAs) ส่วนใหญ่เป็นกรดฟอร์มิก กรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิก กรดเหล่านี้จะทำให้น้ำยางเกิดการจับตัวเป็นก้อน (Galli และคณะ, 2002) จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าในน้ำยางธรรมชาติประกอบด้วย ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 0.10-1.00, 1.00-3.00 และ 1.00-1.50 โดยน้ำหนักน้ำยาง ตามลำดับ ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 องค์ประกอบของน้ำยางธรรมชาติ

	Percent by Weight			
	Nithi-utai	Blackley	Cacioli	Resing
	(1987)	(1997)	(1997)	(2000)
Total Solid Content	36	27-48	-	41.5
Dry Rubber Content	33	25-45	34	36
Amino Acid and N-Bases	-	-	-	0.3
Neutral lipids	-	-	0.1-0.5	1
Protein	1-1.5	-	2-3	1.6
Phospholipids	-	-	-	0.6
Inositols-Cabohydrates	-	-	-	1.5
Sugar	1	1	-	-
Water	to 100	to 100	55-65	58.5
Ashes	1	1-1.5	-	-
Salts (mainly K, P and Mg)	-	-	-	0.5

งานวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่ตรวจไม่พบรายงานใดมีรายละเอียดที่ชัดเจนเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์และการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ รวมทั้งตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงในคราวเดียวกันของสารชีวโมเลกุลหลัก ๆ ที่อาจเกี่ยวข้องต่อความเสถียรของน้ำยาง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาสารชีวโมเลกุลในน้ำยางธรรมชาติก่อนและหลังการปั่นเหวี่ยงทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงรูปแบบและปริมาณของสารชีวโมเลกุลหลักในน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยงจนกระทั่งน้ำยางมีค่าความเสถียรเชิงกลคงที่

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ติดตามภาพรวมของการสลายตัวของสารชีวโมเลกุลหลัก ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ในน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยง จนกระทั่งน้ำยางมีค่าความเสถียรเชิงกลคงที่ โดยตรวจติดตามปริมาณไขมันรวม โปรตีนรวม และคาร์โบไฮเดรตรวม และสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กที่เกิดจากการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ ได้แก่ กรดไขมัน โปรตีนที่สามารถสกัดได้ และน้ำตาลรีดิวซ์

1.2.2 ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีมาตรฐานที่มีอยู่แล้วสำหรับการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลหลักทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก ในข้อ 1 ในน้ำยางธรรมชาติ รวมทั้งพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในแต่ละกลุ่มในกรณีที่ยังไม่มีวิธีการวิเคราะห์สารเหล่านั้นสำหรับน้ำยาง

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี

2.1.1 ความเสถียรของน้ำยาง

ความเสถียรของน้ำยาง คือ การที่น้ำยางสามารถรักษาสภาพการเป็นคอลลอยด์ได้ เนื่องจากโปรตีนที่ผิวอนุภาคยางและประจุลบของหมู่คาร์บอกซิเลต (Carboxylate, RCOO^-) ซึ่งโปรตีนในน้ำยางบางส่วนจะถูกดูดซับอยู่ที่ผิวอนุภาคยาง รวมตัวเป็นชั้นหรือเปลือกห่อหุ้ม (Hydrate protein envelope) อนุภาคยางไว้ ทำให้อนุภาคยางไม่รวมตัวกัน ส่วนประจุลบจะก่อให้เกิดการผลักกันระหว่างอนุภาคยางทำให้น้ำยางคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ได้ ดังนั้นเมื่อมีการทำลายชั้นโปรตีนที่ห่อหุ้มอนุภาคยางและ/หรืออนุภาคของคาร์บอกซิเลตจะทำให้น้ำยางเกิดการเสถียรภาพ (Blackley, 1997) การติดตามการสูญเสียสภาพของน้ำยางทำได้หลายวิธี เช่น การวัดความหนืดของน้ำยางที่เปลี่ยนไปตามกาลเวลา การถือเอาเวลาที่น้ำยางจับตัวกันเป็นก้อน และการวัดความเสถียรเชิงกล เป็นต้น ซึ่งการวัดความเสถียรเชิงกลเป็นวิธีหลักที่ใช้ติดตามการสูญเสียสภาพของน้ำยาง เนื่องจากใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ โดยความเสถียรเชิงกล (Mechanical Stability Time, MST) หมายถึงระยะเวลา (วินาที) ที่น้ำยางมีความเสถียรต่ออิทธิพลทางกล ค่าความเสถียรเชิงกล เป็นสมบัติที่บ่งบอกถึงความเสถียรของน้ำยางต่อการเคลื่อนย้าย การกวน การปั๊ม หรือการกระทำทางกลโดยวิธีอื่น ๆ (วรารักษ์, 2549)

2.1.2 สารชีวโมเลกุลในน้ำยางธรรมชาติ

น้ำยางมีส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยางประมาณ 35% และส่วนที่ไม่ใช่เนื้อยางประมาณ 65% ดังตารางที่ 1.1

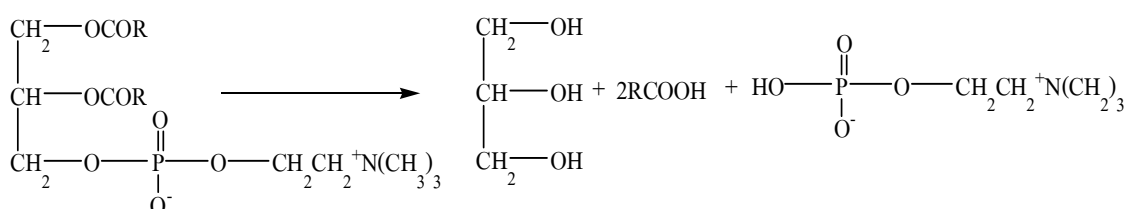
1) ส่วนที่เป็นเนื้อยางซึ่งเป็นอนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในน้ำยางเป็นสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอน มีความหนาแน่น 0.92 g/mL เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.02-0.03 μm ไม่ละลายน้ำ รูปทรงมีทั้งทรงกลมและทรงรีคล้ายลูกแพร์ ในสภาพน้ำยางสดเนื้อยางจะถูกห่อหุ้มด้วยชั้นของสารกลุ่มไขมันและโปรตีน

2) ส่วนที่ไม่ใช่เนื้อยางมีองค์ประกอบแรกเป็นส่วนที่เป็นน้ำหรือซีรัม (Serum) มีความหนาแน่นประมาณ 1.02 g/mL ประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดอะมิโน สำหรับองค์ประกอบส่วนที่สองคือ ส่วนของลูทอยด์เป็นอนุภาคกลมมีเยื่อหุ้มอยู่ขนาดใหญ่กว่าอนุภาคของยาง มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-5 μm ภายในเยื่อหุ้มประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่า

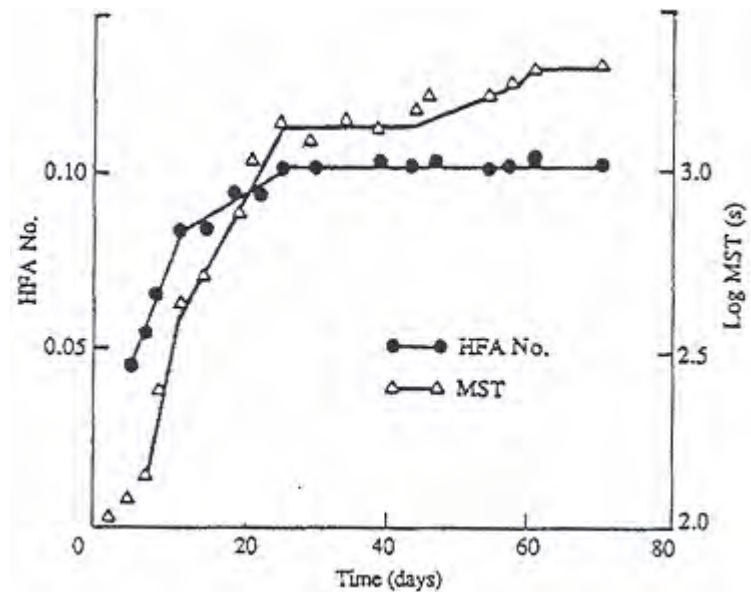
บี-ซีรัม (B-serum) ซึ่งมีสารละลายกรด กลีเซอ โปรตีน น้ำตาล และเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสอยู่ ส่วนนี้เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้มีน้ำขุ่นเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ของเหลวในลูทอยด์มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 5.5 ลูทอยด์จะบวมพองและแตกออก เมื่อเติมน้ำลงไปให้น้ำขุ่นเป็นผลให้น้ำขุ่นมีความหนืดเพิ่มขึ้น (บุญธรรม, 2530)

2.1.2.1 ไลปิด (Lipids)

ไลปิดในน้ำขุ่นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกอยู่ระหว่างผิวของอนุภาคยางและโปรตีน ส่วนใหญ่เป็นสารพวกฟอสโฟไลปิดชนิดแอลฟาเลซิทีน (α -Lecithin) ทำหน้าที่ยึดโปรตีนให้เกาะอยู่บนผิวอนุภาคยาง ส่วนที่สองอยู่ในซีรัม โดยในสถานะที่น้ำขุ่นเป็นค่า เช่น มีแอมโมเนียอยู่ประมาณร้อยละ 0.6 ขึ้นไป ฟอสโฟไลปิดจะถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาว (Long chain fatty acid) ได้แก่ กรดสเตียริกและกรดโอเลอิก เป็นต้น ดังรูปที่ 2.1 ซึ่งจะรวมตัวกับแอมโมเนียแล้วเกิดเป็นเกลือของกรดไขมัน โดยเกลือของกรดไขมันที่เกิดขึ้นนี้จะถูกดูดซับอยู่รอบผิวของอนุภาคยางส่งผลให้น้ำขุ่นมีความเสถียรเพิ่มขึ้น กรณีที่แอมโมเนียมีปริมาณน้อย (ประมาณร้อยละ 0.2) การไฮโดรไลซิสจะเกิดขึ้นน้อย การเพิ่มความเสถียรของน้ำขุ่นจึงจำเป็นต้องเพิ่มสบู่หรือสารอื่นที่ช่วยในการเก็บรักษาน้ำขุ่นลงไป (บุญธรรม, 2530) จากงานวิจัยของวรารักษ์ (2549) ได้มีการศึกษาผลของการเติมเกลือของกรดไขมันลงในน้ำขุ่นขึ้นเพื่อให้ได้ค่าความเสถียรเชิงกลตามต้องการ พบว่าน้ำขุ่นขึ้นที่เตรียมใหม่ ๆ จะมีค่าความเสถียรเชิงกลต่ำ และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 2-3 สัปดาห์แรกหลังการผลิต เมื่อเก็บไว้นาน ๆ จะมีค่าคงที่ การเพิ่มค่าความเสถียรเชิงกลนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของสบู่ของกรดไขมันโซยาว (High fatty acid soap) ที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสของสารไลปิด (ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม phospholipids และ glycolipids) ในขณะที่เก็บน้ำขุ่นขึ้น ดังรูปที่ 2.2 เห็นได้ว่าเวลาเพิ่มขึ้นจำนวน natural HFA soap จะเพิ่มขึ้นและจะคงที่ภายในเวลาประมาณ 3-8 สัปดาห์ โดย natural HFA soap จะถูกดูดซับที่ผิวอนุภาคยางทำให้ประจุลบรอบอนุภาคยางเพิ่มขึ้น ทำให้แรงผลักระหว่างอนุภาคยางเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความเสถียรของน้ำขุ่นเพิ่มขึ้น



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสของฟอสโฟไลปิด (Blackley, 1997)

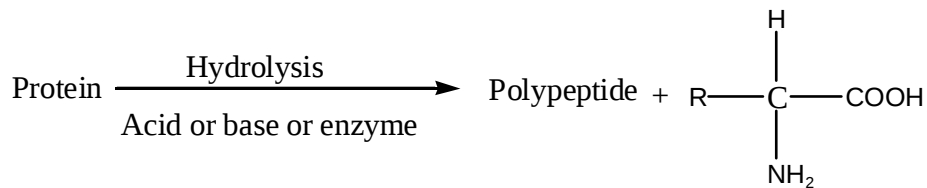


รูปที่ 2.2 ผลของ natural HFA soaps ต่อค่า MST ของน้ำยางขึ้นสายพันธุ์ RRIM 701 (วารสาร, 2549)

2.1.2.2 โปรตีน (Proteins)

สารโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยางทั้งหมด สามารถแบ่งได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่ โปรตีนที่ห่อหุ้มอยู่ผิวรอบนอกอนุภาคยางร้อยละ 25 โปรตีนที่อยู่ในชั้นน้ำร้อยละ 50 และโปรตีนที่ปะปนอยู่ในส่วนของสารลู่ทอยด์มีอยู่ร้อยละ 25 (สุรศักดิ์, 2532) สำหรับโปรตีนที่อยู่บริเวณผิวของอนุภาคยางมีส่วนประกอบของกำมะถัน (Cystine disulphide linkage) อยู่ประมาณร้อยละ 5 ดังนั้นขณะที่น้ำยางเสียสภาพเกิดการบดเน่า โปรตีนในส่วนนี้จะสลายตัวให้สารประกอบพวกไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสารเมอแคปแทน (Mercaptan) จึงทำให้เกิดกลิ่นเหม็นขึ้น ส่วนโปรตีนและกรดอะมิโนที่อยู่ในซีรัมของน้ำยางเป็นโปรตีนประเภทอัลฟาไกลูโบลิน ซึ่งมีความว่องไวตรงผิวของโมเลกุล (Surface active) มีจุดไอโซอิเล็กตริก (Isoelectric point, pI) หลายค่า ซึ่งจุดไอโซอิเล็กตริกคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ประจุสุทธิของกรดอะมิโนมีค่าเท่ากับศูนย์ เนื่องจากประจุบวกและประจุลบของกรดอะมิโนมีปริมาณเท่ากันพอดี โปรตีนที่มีค่า pI สูงสามารถสลายตัวให้ประจุบวกได้ เป็นเหตุให้น้ำยางเสียสภาพ

การสูญเสียสภาพของน้ำยางอาจเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สลายโปรตีน เรียกว่า โกลเอกกูเลส เมื่อสารนี้ทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ห่อหุ้มผิวนอกของอนุภาคยางจนเกิดการสลายตัวไป ทำให้ผิวของอนุภาคยางเกิดการเสียสภาพอนุภาคยางเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน โปรตีนสามารถเกิดการไฮโดรไลซิสกลายเป็นพอลิเปปไทด์และกรดอะมิโน ดังรูปที่ 2.3

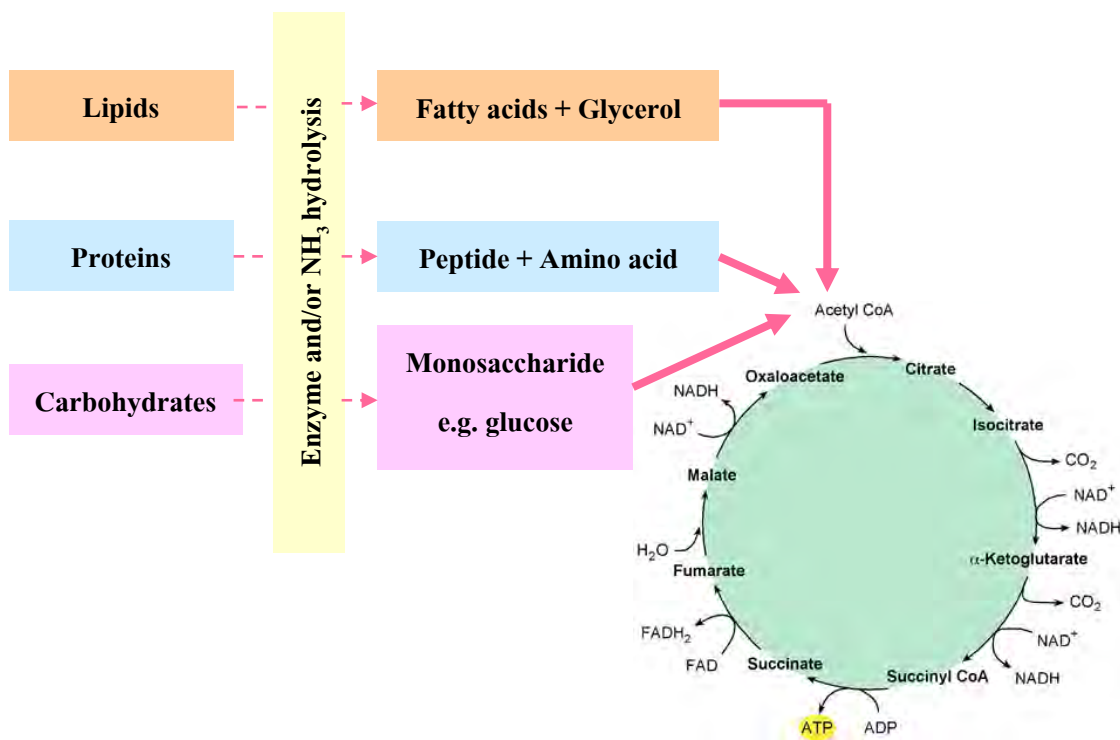


รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีน (Blackley, 1997)

2.1.2.3 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates)

สารคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ที่พบในน้ำยางธรรมชาติเป็นพวก 1-เมทิลลิโนซิลิทอล (1-methylinositol) หรือที่เรียกว่า คิวบราซิทอล (Quebrachitol) มีอยู่ประมาณร้อยละ 1 ในน้ำยาง และยังมีคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น ๆ อีกประมาณเล็กน้อย ได้แก่ กลูโคส ซูโครส กาแลกโตส และ ฟรุคโตส เป็นต้น โดยคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้มีผลต่อสมบัติของน้ำยางเพียงเล็กน้อย กล่าวคือ หากมีการรักษาสภาพน้ำยางไม่ดีพอ ทำให้คาร์โบไฮเดรตถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acids, VFAs) กรดไขมันที่ระเหยได้ที่เคยมีรายงานพบในน้ำยางได้แก่ กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดมาลิก (Malic acid) กรดซักซินิก (Succinic acid) และกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ซึ่งกรดเหล่านี้มีผลทำให้น้ำยางเสียสภาพ เกี่ยวกับเรื่องนี้ Galli และคณะ (2002) พบว่าน้ำยางชั้นที่ไม่มีการรักษาสภาพที่ดีพอจะมีปริมาณกรดซักซินิกในอัตราส่วนที่สูงกว่ากรดมาลิก และได้เสนอให้ใช้อัตราส่วนของปริมาณกรดซักซินิกต่อกรดมาลิก (Succinic acid to malic acid ratio) เป็นดัชนีในการบอกสภาพการรักษาชั้น โดยหากอัตราส่วนดังกล่าวสูงกว่า 0.60 แสดงถึงน้ำยางชั้นไม่มีการรักษาสภาพที่ดีพอ

จากข้อมูลข้างต้นที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าสารชีวโมเลกุลที่มีอยู่ในน้ำยางธรรมชาติมีผลต่อความเสถียรเชิงกล เนื่องจากเมื่อสารเหล่านี้ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยจุลินทรีย์และ/หรือเอนไซม์ที่เติมลงไป ในน้ำยาง สารเหล่านี้ก็จะเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Kreb's cycle) หรือวัฏจักรกรดซิตริก (Citric acid cycle) หรือ วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิก (Tricarboxylic acid, TCA) ของจุลินทรีย์กลายเป็นกรดไขมัน ๆ ดังรูปที่ 2.4

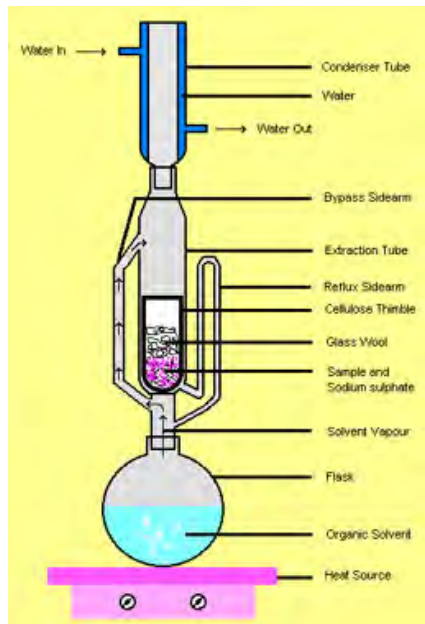


รูปที่ 2.4 สารชีวโมเลกุลถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหยได้เมื่อผ่านวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก

2.1.3 ปฏิกริยาเคมีที่เกี่ยวข้อง

2.1.3.1 การสกัดแบบซอกซ์เลต

การสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) เป็นการสกัดแบบต่อเนื่องโดยอาศัยตัวทำละลาย (Solvent) ช่วยละลายเอาสารที่ต้องการออกมาจากตัวอย่าง การสกัดแบบนี้ต้องใช้เวลานานและสิ้นเปลืองตัวทำละลาย โดยทั่วไปนิยมใช้กับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง เช่น การสกัดไขมันจากเมล็ดฝ้าย ธัญพืช และชิ้นยางธรรมชาติ เป็นต้น ลักษณะของเครื่องมือแสดงดังรูปที่ 2.5 หลักการทำงานของเครื่องสกัดแบบซอกซ์เลตคือ เมื่อให้ความร้อนไอของตัวทำละลายออกจากขวดก้นกลม (Round bottom flask) จะลอยขึ้นไปตามแขน (Bypass sidearm) แล้วกลั่นตัวตกลงมาผ่านสารที่ต้องการสกัดซึ่งอยู่ในภาชนะเซลล์ูโลสที่เรียกว่า ธิมเบิล (Cellulose thimble) พร้อมทั้งสกัดเอาสารที่ต้องการออกจากตัวอย่างจนตัวทำละลายเต็มธิมเบิลแล้วจึงไหลออกมาตามแขนของชุดรีฟลักซ์ (Reflux sidearm) ซึ่งทำหน้าที่ไซฟอนเอาตัวทำละลายลงมาสู่ขวดก้นกลมอีกครั้ง การสกัดจะวนเวียนอยู่เช่นนี้เรื่อย ๆ โดยตัวทำละลายที่ระเหยขึ้นไปผ่านแขน (Bypass sidearm) นั้นเป็นตัวทำละลายที่บริสุทธิ์ (วัลลี, 2532)

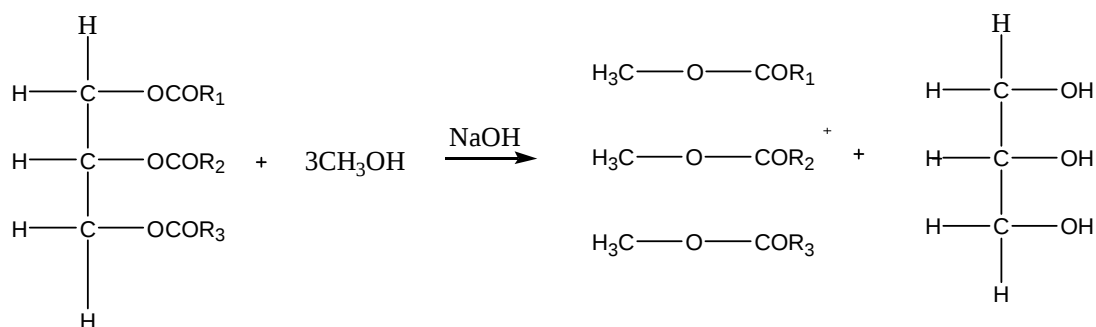


รูปที่ 2.5 เครื่องมือสกัดไขมันแบบซอกซ์เลต

(<http://whale.wheelock.edu/bwcontaminants/analysis.html>, 2553)

2.1.3.2 ปฏิกริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน

ปฏิกริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Transesterification reaction) เป็นปฏิกริยาเคมีระหว่างไตรกลีเซอไรด์ของไขมันหรือน้ำมันกับแอลกอฮอล์ แล้วก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์แอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมันและกลีเซอรอล โดยทางทฤษฎีมวลสารสัมพันธ์ของปฏิกริยาเคลื่อนย้ายหมู่เกิดเอสเทอร์สมบูรณ์ต้องประกอบด้วยอัตราส่วนโมลของสารตั้งต้นเท่ากับ 3:1 ระหว่างแอลกอฮอล์กับกลีเซอไรด์ แต่ในทางปฏิบัติพบว่าปฏิกริยานี้อยู่ในสมดุลและสามารถผันกลับได้ ดังนั้นถ้าต้องการผลิตภัณฑ์แอลคิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมากขึ้นต้องเพิ่มจำนวนโมลของแอลกอฮอล์มากขึ้นด้วยเพื่อผลักดันให้สภาวะสมดุลเคลื่อนเข้าใกล้ผลิตภัณฑ์มากที่สุด ปฏิกริยาเคลื่อนย้ายหมู่ของเอสเทอร์สามารถเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกริยาด้วยตัวเร่งปฏิกริยาต่าง เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Ma และ Hanna, 1999) ทั้งนี้เนื่องจากสามารถเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกริยาได้ที่อุณหภูมิและความดันต่ำ ได้ผลผลิตมาก ผลข้างเคียงและเวลาการผลิตน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับตัวเร่งปฏิกริยาที่เป็นกรด ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมัน

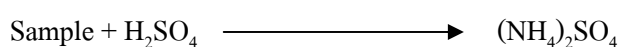
ตารางที่ 2.1 กรดไขมันที่พบในธรรมชาติ (ดาวัลย์, 2548)

สัญลักษณ์	ชื่อตามระบบ	ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
กรดไขมันอิ่มตัว			
C12:0	Dodecanoic acid	Lauric acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
C14:0	Tetradecanoic acid	Myristic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
C16:0	Hexadecanoic acid	Palmitic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
C18:0	Octadecanoic acid	Stearic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
C20:0	Eicosanoic acid	Arachidic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
C22:0	Docosanoic acid	Behenic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$
C24:0	Tetracosanoic acid	Lignoceric acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$
กรดไขมันไม่อิ่มตัว			
C16:1	9-Hexadecenoic acid	Palmitoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
C18:1	9-Octadecenoic acid	Oleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
C18:2	9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
C18:3	9,12,15-Octadecatrienoic acid	α -Linoleic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
C18:3	6,9,12-Octadecatrienoic acid	γ -Linoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
C20:4	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	Arachidonic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
C20:5	5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid	EPA	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
C24:1	15-Tetracosenoic acid	Nervonic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$

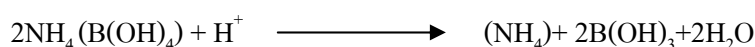
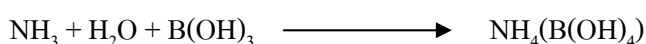
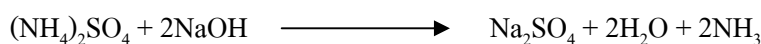
2.1.3.3 ปฏิบัติการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีเจลดาล์

เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจึงทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีเจลดาล์ (Total kjeldahl nitrogen analysis) ซึ่งเป็นวิธีทั่วไปที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในรูปของไนโตรเจน

ขั้นตอนแรกตัวอย่างจะถูกย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ทองแดง โปรท หรือซิลิเนียม และเติมเกลือโซเดียม หรือโพแทสเซียม เพื่อเพิ่มอุณหภูมิของปฏิกิริยา หลังจากการย่อยแล้วไนโตรเจนจะถูกจับอยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตดังสมการ

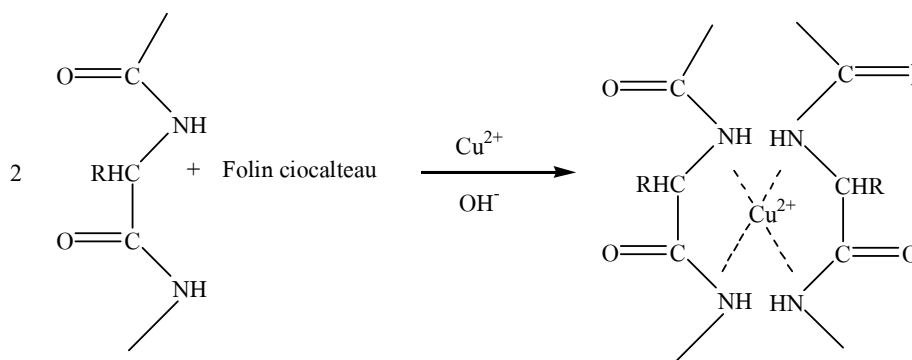


แอมโมเนียมซัลเฟตจะทำปฏิกิริยากับสารละลายด่างที่มากเกินไปจนเกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย และถูกไล่ออกมาในระหว่างการกลั่น และแก๊สแอมโมเนียจะถูกจับด้วยกรดบอริก จากนั้นนำไปไทเทรตกับกรดที่ทราบความเข้มข้น (Harris, 1948)



2.1.3.4 ปฏิบัติการลาวรี

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาวรี (Lowry method) เป็นการพัฒนามาจากวิธีไบยูเรต (Biuret) ทำให้ได้ความไว (Sensitivity) มากขึ้น สามารถวัดได้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนต่ำๆ ลงไปถึง $5 \mu\text{g/mL}$ โดยมีหลักการกว้าง ๆ คือ ปลายไนโตรเจนที่อยู่ทีพันธะเปปไทด์จะจับตัวกับไอออนของทองแดง (Cu^{2+}) ภายใต้สภาวะที่เป็นด่างทำให้ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน (Lowry, 1951) จากหลักการข้างต้นคาดว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นน่าจะเป็นดังรูปที่ 2.7

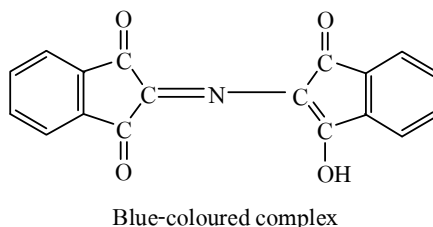
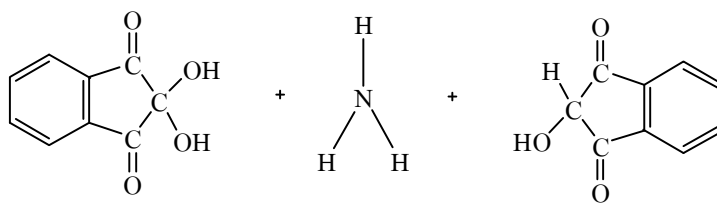
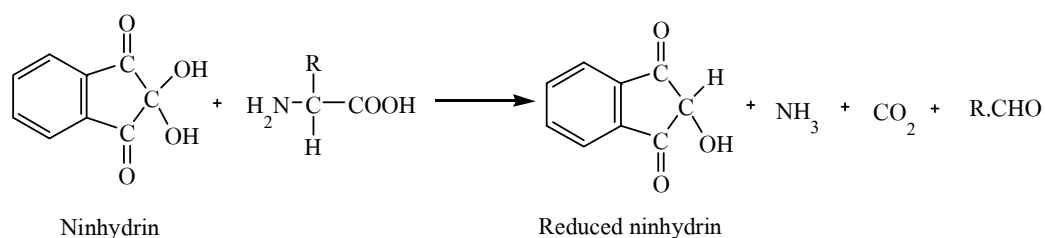


รูปที่ 2.7 ปฏิบัติการลาวรี

วิธีลารวีมีความว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) สำหรับค่า pH ของสารละลายที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 10-10.5 สารที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธีนี้ เช่น อนุพันธ์ของกรดอะมิโนบางชนิด ยา ไขมัน น้ำตาล กลีโกล เป็นต้น วิธีนี้มีสารรบกวน (Interfering substances) หลายชนิด เช่น ไอออนของแอมโมเนีย สารพวกฟีนอลิก กลีเซอรอล น้ำตาลต่างๆ เช่น กลูโคสและซูโครส เป็นต้น ควรกำจัดหรือเจือจางก่อนทำการวิเคราะห์ (Lowry, 1951)

2.1.3.5 ปฏิกริยานินไฮดริน

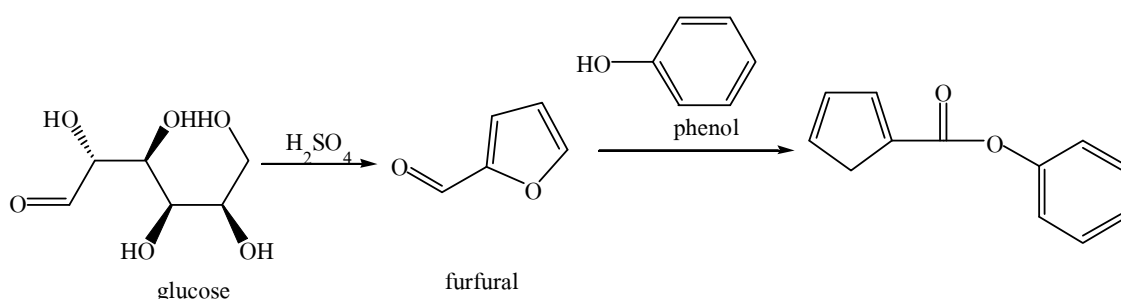
หมู่ฟังก์ชันของกรดอะมิโนและโปรตีนสามารถตรวจสอบได้โดยปฏิกิริยาทางเคมี ได้แก่ การทดสอบนินไฮดริน (Ninhydrin test) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบหมู่แอลฟา-อะมิโน โดยการรีดิวซ์นินไฮดรินแล้วนินไฮดรินที่ถูกรีดิวซ์จะทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินอีกหนึ่งโมเลกุล เมื่อให้ความร้อนในสภาวะที่เป็นกรด (pH 3-4) ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีม่วงคราม (Blue-purple) ปฏิกิริยาแสดง ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 ปฏิกริยานินไฮดริน

2.1.3.6 ปฏิกริยาฟีนอล-กรดซัลฟิวริก

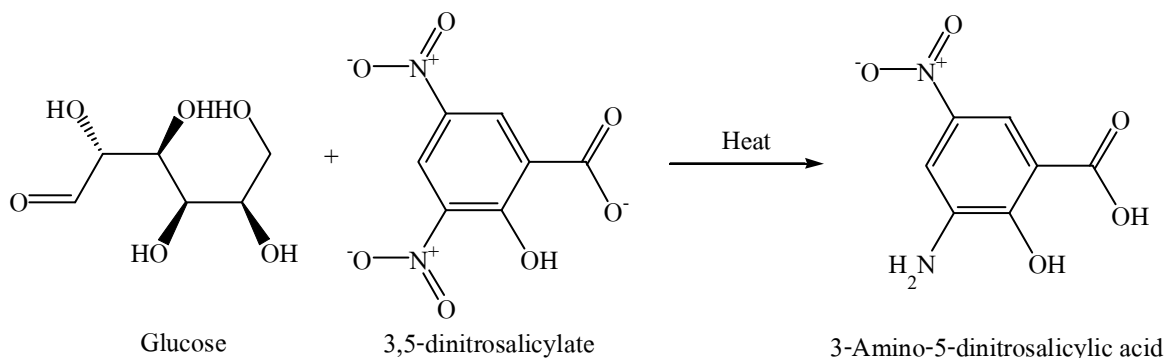
การหาปริมาณน้ำตาลทั้งที่มีอยู่เดิมและที่ได้จากการย่อยสารประกอบคาร์โบไฮเดรต สามารถทำได้ด้วยปฏิกิริยาฟีนอล-กรดซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric acid reaction) โดยขั้นแรก น้ำตาลทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกแล้วเกิดเป็นสารประกอบเฟอฟูรัลและอนุพันธ์ต่าง ๆ ของสารประกอบเฟอฟูรัล (มนตรี, 2530) สารประกอบที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะสามารถรวมกันกับสารฟีนอลเกิดเป็นอนุพันธ์ของเอสเทอร์ (Fryhle, 2003) ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 480-490 นาโนเมตร จากข้อมูลข้างต้นคาดว่าปฏิกิริยาของวิธีการนี้น่าจะได้ดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาของวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก (ดัดแปลงจาก มนตรี, 2530 และ Fryhle, 2003)

2.1.3.7 ปฏิกิริยาของกรด-3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก

วิธี กรด-3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-dinitrosalicylic acid, DNS) เป็นวิธีที่ใช้ในการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ในตัวอย่างสารที่สกัดมาได้ โดยสารละลาย DNS ซึ่งมีหมู่ไนโตร 2 หมู่ มีลักษณะสีเหลือง เมื่อหมู่ไนโตร 1 หมู่ถูกรีดิวซ์โดยหมู่แอลดีไฮด์ของน้ำตาลโดยมีความร้อนและสารละลายต่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะทำให้สารละลาย 3,5-dinitrosalicylate กลายเป็น 3-amino-5-nitrosalicylic acid ที่มีสีส้ม-แดง (มนตรี, 2530) ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 520-540 นาโนเมตร จากข้อมูลข้างต้นคาดว่าปฏิกิริยาของวิธีการนี้ได้สมการดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยาของวิธี DNS (Plummer, 1967)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การวิเคราะห์ไลปิด

Dupont และคณะ (1976) ได้ทำการแยก Intact lutoids จากน้ำยางพารา (*Hevea brasiliensis*) และทำให้บริสุทธิ์โดย Sucrose density gradient พบไลปิดของเยื่อหุ้มอนุภาคลูทอยด์ (lutoid membranes) ส่วนใหญ่กว่า 80% ประกอบด้วยกรดฟอสฟาติก (Phosphatidic acid) และไม่พบองค์ประกอบของไนโตรเจนฟอสโฟไลปิด (Nitrogen phospholipids) สำหรับกรดไขมันของเยื่อหุ้มลูทอยด์ที่ตรวจพบ ได้แก่ C14, C16, C18:0, C18:1, C18:2 และ C18:3

Pendle และ Gorton (1985) ศึกษาผลของสบูของกรดไขมันต่อความเสถียรของน้ำยาง พบสบูของกรดไขมันซึ่งสามารถเพิ่มความเสถียรของน้ำยางได้ เนื่องจากที่ผิวของอนุภาคยางมีการดูดซึมสบูของกรดไขมัน ทำให้ประจุที่ผิวของอนุภาคยางเพิ่มขึ้น ความเสถียรของอนุภาคยางจึงเพิ่มขึ้นด้วย โดยใช้สบูที่มีความยาวโซ่คาร์บอนที่เหมาะสม คือจำนวนคาร์บอน 10-12 ตัว

Browse และคณะ (1986) ศึกษาวิธีการวิเคราะห์หากรดไขมันในใบพืชที่มีน้ำมันโดยนำเนื้อเยื่อพืชสดมาเติมเมทานอลิกไฮโดรคลอริกและสกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สารที่ได้แยกเป็น 2 ชั้น แล้วดูดชั้นบนซึ่งเป็นชั้นของเอสเทอร์ของกรดไขมันฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

Garcés และ Mancha (1992) ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันและกรดไขมันแล้วเตรียมเป็นเมทิลเอสเทอร์จากเนื้อเยื่อพืชสดแบบขั้นตอนเดียว โดยนำเนื้อเยื่อพืชสด คือ เมล็ดทานตะวัน ใบอ่อนของผักโขม และผลมะกอก มาให้ความร้อนพร้อมกับตัวทำละลายผสม ซึ่งประกอบด้วย เมทานอล: เฮกเซน: เบนซีน: 2,2-ไดเมทอกซีโพรเพน: กรดซัลฟิวริก ที่อัตราส่วน 37: 36: 20: 5: 2 โดยปริมาตร เมทานอล: โทลูอีน: 2,2-ไดเมทอกซีโพรเพน: กรดซัลฟิวริก ที่อัตราส่วน 39: 34: 20: 5: 2 โดยปริมาตร และ เมทานอล: เฮกเซน: เตตระไฮโดรฟูแรน: 2,2-ไดเมทอกซีโพรเพน: กรดซัลฟิวริก ที่อัตราส่วน 31: 42: 20: 5: 2 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สำหรับเนื้อเยื่อพืชสดและ 1 ชั่วโมง สำหรับน้ำมัน จากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สารที่ได้แยกเป็น 2 ชั้น ดูดชั้นบนซึ่งเป็นชั้นของเอสเทอร์ของกรดไขมันฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี พบวิธีนี้สามารถใช้ได้กับเมล็ด ใบและผล ที่มีทั้งน้ำและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

Kawahara และคณะ (2000) ศึกษาลักษณะของกรดไขมันที่เชื่อมต่อกับยางธรรมชาติและบทบาทของกรดไขมันที่เชื่อมต่อกับอนุภาคยาง พบน้ำยางจากต้นยางพาราประกอบด้วยกรดไขมันโซ่ยาว 2 กลุ่ม คือ กรดไขมันที่เชื่อมต่อกับปลายโซ่ของโมเลกุลของยางและกรดไขมันอิสระ ในส่วนของน้ำยาง ได้ทำการศึกษาส่วนประกอบและบทบาทของกรดไขมันโดยใช้เทคนิคโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์แก๊สโครมาโทกราฟี และดีฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริเมตรี พบว่าเป็นกรดไขมัน

กลุ่มเดียวกัน ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว คือ C_{10} - C_{22} และทำการศึกษาผลของกรดไขมันต่อพฤติกรรมการตกผลึกของโมเลกุลของยาง โดยนำกรดไขมัน เช่น เดคาโนอิก (C_{10}) ไมริสโทอิก (C_{14}) และสเตียโรอิก (C_{18}) ทำปฏิกิริยาไฮโดรโบเรชันร่วมกับปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันด้วย แอซิลคลอไรด์กับซิส-1,4-พอลิไอโซพรีนสังเคราะห์ (ไออาร์) ที่ตำแหน่ง 3,4-ไอโซเมอร์ิก พบผลของกรดไขมันที่เชื่อมต่อสามารถไปเร่งพฤติกรรมการตกผลึกของโมเลกุลยางแบบจำลองและยางธรรมชาติ โดยยางไออาร์ที่เชื่อมต่อกับกรดไขมันกลุ่มไมริสโทอิก จะเกิดการตกผลึกอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ -25°C โดยมีลักษณะเหมือนกับการผสมกรดปาล์มดิกลงไป

Lie Ken Jie และ Sinha (1981) ศึกษาพบว่ากรดไขมันในส่วนของไตรกลีเซอรอลภายในน้ำยางธรรมชาติประกอบด้วยกรดฟอรานอยด์ 97%

Meher และคณะ (2006) ศึกษาปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันของน้ำมันการานจา (*Pongamia pinata*) ด้วยเมทานอลสำหรับการผลิตไบโอดีเซล ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาประกอบด้วย ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา อัตราส่วนโดยโมลของแอลกอฮอล์ และอัตราเร็วของการผสม เพื่อให้การผลิตเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันการานจามีประสิทธิภาพดีที่สุด การตรวจสอบคุณภาพของเมทิลเอสเทอร์ในปฏิกิริยาการผสมโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (^1H NMR) การเตรียมเมทิลเอสเทอร์จากการานจาได้ร้อยละของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 97-98

Ruiz-Lopez และคณะ (2003) ศึกษาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล และกรดไขมันในเนื้อเยื่อพืชในขั้นตอนเดียว โดยนำเนื้อเยื่อพืช คือ เมล็ดทานตะวัน เมล็ดถั่วเหลือง ผลมะกอก และผลโอ๊ก มาสกัดไตรกลีเซอไรด์ (Triacylglycerides, TAG) ก่อนด้วยตัวทำละลายผสม คือ 33.3% โซเดียมคลอไรด์ ในเมทานอล และ 66.6% เฮปเทน โดยปริมาตร แล้วเตรียมเป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (Fatty acid methyl esters, FAMES) โดยให้ความร้อนพร้อมกับตัวทำละลายผสม ซึ่งประกอบด้วย เมทานอล: โทลูอิน: ไดเมทอกซีโพรเพน: กรดซัลฟิวริก ที่อัตราส่วน 39: 34: 20: 5 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สารที่ได้แยกเป็น 2 ชั้น ดูดชั้นบนซึ่งเป็นชั้นของเอสเทอร์ของกรดไขมันฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี และพบว่าการสกัด TAG เกิดไม่สมบูรณ์ในตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนสูง แต่สามารถใช้ได้กับตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

Qian และคณะ (2008) ได้ทำการทดลองหาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในเมล็ดฝ้าย โดยอาศัยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา วิธีการนี้เป็นวิธีการแบบสั้น ๆ โดยการไฮโดรไลซิสเมล็ดฝ้ายด้วยเมทานอลในโซเดียมไฮดรอกไซด์และรีฟลักซ์เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นของแข็งไปล้างด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และวางให้แห้งที่อุณหภูมิ

ห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำส่วนที่ได้ไปสกัดด้วยเฮกเซนโดยใช้การสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) จะได้ส่วนที่เป็นน้ำมันออกมา

Lilitchan และคณะ (2008) ได้ทำการสกัดไขมันทั้งหมดจากรำข้าวโดยใช้การสกัดแบบซอกซ์เลตซึ่งใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย และทำการสกัดเป็นเวลานาน 16 ชั่วโมง ที่ 2-3 หยดต่อวินาที จากนั้นนำตัวทำละลายที่ได้ไประเหยออก ส่วนที่เหลือนำไปอบที่อุณหภูมิ 100°C วางให้เย็นและชั่งน้ำหนัก พบปริมาณร้อยละไขมันทั้งหมดเท่ากับ 21.30 ± 0.38 โดยน้ำหนักตัวอย่าง

วิลรัตน์ และคณะ (2549) พัฒนาวิธีการเตรียมเอสเทอร์แบบขั้นตอนเดียว เพื่อใช้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสบู่หรือกรดไขมันที่มีอยู่เดิมในน้ำยางธรรมชาติสด ตรวจพบเอสเทอร์ของกรดเฮกซานอิก (C6) กรดออกทานอิก (C8) กรดปาล์มมิก (C16) และกรดออกตะเดคาโนอิก (18) ในปริมาณ 0.05-0.09, 0.06-0.11, 0.04-0.07 และ 0.08-0.11 กรัมต่อหนึ่งร้อยกรัมตัวอย่างน้ำยางตามลำดับ

2.2.2 การวิเคราะห์โปรตีน

Leowus และคณะ (1986) ศึกษาการแยกเอนไซม์ L-myo-inositol-1-phosphate synthase ที่อยู่ในซีรัมของน้ำยางพารา และสามารถแยกเอนไซม์นี้ออกจากน้ำยางได้โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

Siler และ Cornish (1995) ศึกษาโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ สายพันธุ์ PB 206 โดยวิธีการเจือจางน้ำยางในน้ำที่อัตราส่วน 1:9 โดยปริมาตร แล้วตกตะกอนด้วยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และใช้โปรตีนไข่ขาวเป็นสารละลายมาตรฐาน จากนั้นวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตริวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 nm พบปริมาณโปรตีน 2.5-1.5 $\mu\text{g/g}$ น้ำยาง และมีร้อยละของการกักตุนในช่วง 93.20-104.80

Subroto และคณะ (2001) ศึกษาชนิดและปริมาณของโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ (*Hevea brasiliensis*) ในส่วนของลูทอยด์ (Lutoid) โดยวิเคราะห์ด้วยวิธีเอนไซม์ พบ microhelical protein, 1,3- β -glucanase, hevamine, hevein precursor, hevein precursor (C-terminal domain) และ hevein ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 55, 35, 25, 19, 14 และ 5 kDa ตามลำดับ

Rogero และคณะ (2003) สกัดโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติในส่วนซีรัมที่ผ่านการฉายรังสี (แกมมา) โคบอลต์-60 และสกัดด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 โดยใช้โปรตีนซีรัมจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Bovine serum albumin, BSA) เป็นสารละลายมาตรฐาน และวิเคราะห์โดยใช้เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 562 nm พบปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ 0.11 mg/g น้ำยาง

Prelló และคณะ (2004) ศึกษา myo-inositol ในตัวอย่างน้ำลายและปัสสาวะ โดยเตรียมสารตัวอย่างผ่าน anion-exchange resin แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ Aminex HPX-87C ซึ่งมีหมู่ ammonium เป็นตัวดึง myo-inositol และใช้ milli-Q water เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบ myo-inositol มีความเข้มข้นเท่ากับ 138 และ 461 $\mu\text{g/L}$ ตามลำดับ

Parra และคณะ (2005) วิเคราะห์โปรตีนที่ละลายน้ำในถุงมือที่ทำจากน้ำยางธรรมชาติโดยการวัดค่าในชั้นน้ำยางธรรมชาติด้วยรังสี (แกมมา) โคบอลต์-60 จากนั้นเติมพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง และใช้โปรตีนโอวัลบูมินความเข้มข้น 0.1% เป็นสารละลายมาตรฐาน วิเคราะห์โดยใช้เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 280 nm พบมีโปรตีนที่ละลายน้ำได้ 0.409 mg/g และยังพบอีกว่าการฉายรังสีมีผลให้ปริมาณสารสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้นแต่การเติมพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ตามด้วยการปั่นเหวี่ยงให้ปริมาณสารสกัดโปรตีนลดลง

Kolarich และคณะ (2006) ศึกษาชนิดของสารที่ทำให้เกิดโรคภูมิแพ้ที่ผิวหนัง ซึ่งพบอยู่ในน้ำยางพารา คือ Lecithinase homolog (Hev. b4) จากส่วน บี-ซีรัม มีองค์ประกอบที่เป็น glycosylated protein และ carbohydrate moiety ในปริมาณสูง ซึ่งเมื่อทั้งสองส่วนนี้มารวมตัวกันจะก่อให้เกิด Immunoglobulin E (IgE) เมื่อสวมใส่ผลิตภัณฑ์พวกถุงมือที่ทำจากยางพาราจึงทำให้เกิดอาการแพ้

Wititsuwannakul และคณะ (2007) ศึกษาโปรตีนที่มีลักษณะคล้ายเลกติน (Hevea latex lectin-like protein, HLL) ในส่วนของลูทอยด์ในน้ำยางธรรมชาติสายพันธุ์ RRIM 600 โดยปั่นแยกด้วยเครื่องอัลตราเซนตริฟิวจ์ ที่แรงเหวี่ยง $49,000\times g$ เป็นเวลา 45 นาที นำส่วนกันหอด (ลูทอยด์) ล้างด้วย Tris-buffer saline (TBS) จากนั้นสกัดด้วย Triton X-100 แล้วปั่นแยกเอาส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเจลไฟฟ้าเทรชัน พบ HLL มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 17 kDa

Saby และคณะ (1999) วิเคราะห์ส่วนของเหลวของยางมะม่วงในตัวอย่างยางมะม่วงอินเดียโดยการปั่นเหวี่ยงที่ 3000×g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แยกได้เป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นของเหลวและส่วนที่ไม่เป็นของเหลว นำส่วนที่เป็นของเหลวเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C สกัดด้วย diethyl ether ตรวจวัดด้วย GC-MS พบสารที่ให้กลิ่นซึ่งมีองค์ประกอบของโมโนเทอร์ปีน (Monoterpenes) ocimene และ limonene

Saby และคณะ (2003) วิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในตัวอย่างยางมะม่วง (Sap mango) โดยปั่นเหวี่ยงที่ 3000×g จากนั้นนำส่วนใสมาตกตะกอนด้วย 70% แอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และปั่นเหวี่ยงที่ 2000×g จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและน้ำตาลอิสระด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric acid) โดยใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Bradford วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) ในเอทานอล 80% เป็นสารมาตรฐาน และวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดส พบปริมาณโปรตีน 2.0-3.5 mg/ml น้ำตาลอิสระ 0.45 mg glucose equivalent/mg กรดฟีนอลิกทั้งหมด 0.049-0.127 mg/ml และการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 147-214 U/mg protein และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส 401-561 U/mg protein

Sansatsadeekul และ Sakdapipanich (2005) ศึกษาที่มาของสมบัติกอยลอยด์ของอนุภาคยางธรรมชาติพบว่าโปรตีนและฟอสฟอลิปิดได้ห่อหุ้มอนุภาคของน้ำยางไว้แล้วย่อยโปรตีนด้วย 0.04% proteolytic enzyme วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) พบว่าน้ำยางสดมีโปรตีน 4.30% น้ำยางข้นมีโปรตีน 0.96% และโปรตีนที่สามารถสกัดได้จากอนุภาคยางมีขนาด 14.5 และ 29 kDa

พร้อมศักดิ์ (2550) เปรียบเทียบวิธีการทดสอบมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำจากผลิตภัณฑ์ที่เตรียมจากน้ำยางธรรมชาติ เนื่องจากค่าที่วิเคราะห์ได้แต่ละวิธีทดสอบมาตรฐานมีความแตกต่างกัน และมีข้อได้เปรียบเกี่ยวกับผลการทดสอบที่ได้ว่ามีความถูกต้องแม่นยำเพียงใด โดยเปรียบเทียบวิธีการทดสอบมาตรฐาน 5 วิธี ได้แก่ ASTM D5712-95 ASTM D5712-99 MS 1392-1998 EN 455-3: 2000 และ ISO 12243: 2003 พบว่า วิธีทดสอบมาตรฐาน ISO 12243: 2003 และ MS 1392-1998 มีความไวต่อโปรตีนมากที่สุด

2.2.3 การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

Hullar และคณะ (1966) ศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในน้ำยางที่มีการเติมแอมโมเนียลงไปเพื่อรักษาสภาพของน้ำยาง โดยใช้การแยกแบบโครมาโทกราฟีซึ่งใช้เฟสอยู่กับที่เป็นผงถ่านมะพร้าว แล้วนำสารที่แยกได้ ไปวิเคราะห์หาชนิดของคาร์โบไฮเดรต พบ 1-O-methyl-L-inositol (quebrachitol), L-inositol, myo-inositol, 1-O- α -D-galactopyranosyl-D-myo-inositol (galactosinol), O- α -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 1)-D-glyceritol (digalactosylglyceritol) และ raffinose

Galli และคณะ (2002) ศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ที่ระเหยได้ ซึ่งเกิดจากกระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในน้ำยางโดยแบคทีเรีย ในส่วนชีรั่มจากตัวอย่างน้ำยางธรรมชาติ โดยเตรียมตัวอย่างแบบการจับตัวเป็นก้อน (Coagulation) ด้วยกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 10% โดยปริมาตร และวิเคราะห์ตัวอย่างที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค Capillary electrophoresis พบน้ำยางที่ไม่เติมสารแอมโมเนียเพื่อรักษาสภาพจะมีปริมาณของกรดซัคซินิกสูงแต่มีกรดมาลิกต่ำ และเสนอให้ใช้สัดส่วนของกรดซัคซินิกต่อกรดมาลิก เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพของน้ำยาง ถ้าค่าสัดส่วนที่ออกมามีค่าน้อยกว่า 0.6 แสดงว่ามีการรักษาสภาพน้ำยางที่ดี

Lefebvre และคณะ (2002) ศึกษาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้แก่ กลูโคส มอลโทส และฟรุคโทส ในระหว่างการหมักแป้งด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้เครื่องตรวจวัดชนิดหักเหแสง พบกลูโคส มอลโทส ฟรุคโทส และซูโครส ปริมาณ 1.2, 2.5 และ 1.2 g/100 g ตัวอย่าง ตามลำดับ

Ni และคณะ (2003) ศึกษากลูโคส ฟรุคโทส และแลคโทส ในตัวอย่างอาหารโดยใช้เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี ที่ถูกพัฒนาขึ้นมา โดยใช้สาร potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) เป็นสารออกซิแดนซ์ ร่วมกับ 1.5 M NaOH ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่อุณหภูมิ 80°C แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm พบความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกลูโคส ฟรุคโทส และแลคโทส ในช่วงความเข้มข้น 2.96-66.7, 3.21-67.1 และ 4.66-101 mg/L ลำดับ

Guignard และคณะ (2005) ทดลองหาชนิดของคาร์โบไฮเดรตในในตัวอย่างใบพลีอบปรา (*Populus euphratica*) โดยวิธีการสกัดด้วยเอทานอล 80% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 3000 $\times$ g อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนที่สกัดได้ไประเหยแบบลดความดัน และเจือจางด้วยน้ำ 1 mL กรองผ่านกระดาษกรอง 0.45 μ m แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิค high-performance anion-exchange chromatography ร่วมกับ electrospray mass spectroscopy พบน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโทส กาแลกโตส

บทที่ 3

วิธีการศึกษา

3.1 การเก็บตัวอย่างน้ำยาง

การผลิตน้ำยางขึ้นจากน้ำยางสดโดยวิธีการปั่นเหวี่ยงมีขั้นตอนการผลิต ดังรูปที่ 3.1 น้ำยางสดจากสวนยางต้องมีการเติมสารเคมีรักษาสภาพน้ำยางป้องกันน้ำยางจับตัว เมื่อน้ำยางสดเข้าโรงงานผลิตน้ำยางขึ้น จะกรองผ่านตะแกรงกรองขนาด 40-80 เมช ลงสู่ถังรวมและนำตัวอย่างน้ำยางมาทดสอบหาปริมาณเนื้อยางแห้ง หลังจากนั้นผ่านแก๊สแอมโมเนียสู่น้ำยางในปริมาณไม่ต่ำกว่า 0.4% ของน้ำหนักน้ำยาง นอกจากนี้ยังมีการเติมสบู่อะมโมเนียมลอเรตในอัตราส่วนร้อยละ 0.02-0.05 โดยน้ำหนักน้ำยาง เพื่อเร่งความเร็วของน้ำยาง และอาจทำการเติมสารเติมแต่งเมทิลไทูเรมไดซัลไฟด์ (Tetramethyl-thiuram disulfide, TMTD) ร่วมกับสังกะสีออกไซด์ (Zinc oxide, ZnO) เพื่อรักษาสภาพน้ำยางและป้องกันการย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำยาง โดยจะใช้ ZnO และ TMTD ในอัตราส่วนเท่ากัน ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ประมาณร้อยละ 0.025 โดยน้ำหนักน้ำยาง ตั้งทิ้งไว้หนึ่งวันเพื่อให้สิ่งแปลกปลอมตกตะกอนแยกตัวออกจากน้ำยาง นำน้ำยางมาทดสอบหาปริมาณแมกนีเซียม หากน้ำยางมีปริมาณแมกนีเซียมสูงมากกว่า 50 ppm ต้องเติมสารไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Diammonium hydrogen phosphate, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) เพื่อตกตะกอนโลหะแมกนีเซียม ตะกอนเหล่านี้จะถูกแยกออกจากน้ำยาง (เมื่อปั่นเป็นน้ำยางขึ้นแล้วควรมีแมกนีเซียมไม่เกิน 20 ppm) หลังจากนั้นนำน้ำยางไปปั่นเหวี่ยงได้น้ำยางขึ้นชนิด 60% เก็บรักษาสภาพด้วยแอมโมเนีย 0.7% เรียกน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูง (High ammonia, HA) ถ้าใช้แอมโมเนีย 0.2% ร่วมกับสารช่วยรักษาน้ำยางอื่นเช่น TMTD และ ZnO เรียกว่าน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียต่ำ (Low ammonia, LA)



รับน้ำยางสด



กรองสิ่งสกปรก



ปั่นเหวี่ยง



บ่อพักน้ำยางสด



แท่งเก็บน้ำยางขึ้น



วิเคราะห์สมบัติต่างๆ



รูปที่ 3.1 กระบวนการผลิตน้ำยาง

การศึกษานี้ได้ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ชนิด ได้แก่

1) น้ำยางสด หมายถึง น้ำยางซึ่งโรงงานรับซื้อจากชาวสวนมาเก็บไว้ในบ่อเก็บน้ำยางสดขนาด 12-80 ตัน โดยจะสุ่มเก็บจากบ่อใดบ่อหนึ่งในวันที่ทำการเก็บน้ำยางขึ้นได้เต็มบ่อ โดยปกติใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน จึงจะรวบรวมน้ำยางได้เต็มบ่อ ในขั้นตอนนี้ทางโรงงานส่วนใหญ่จะทำการเติมแอมโมเนียในปริมาณน้อยประมาณ 0.20-0.40% ยกเว้นน้ำยางจากจังหวัดชลบุรีที่เติมในระดับ 0.70%

2) น้ำยางข้น หมายถึง น้ำยางหลังจากการปั่นเหวี่ยงและทางโรงงานได้ทำการเติมสารเคมีเพื่อรักษาสภาพเรียบร้อยแล้ว

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดแรกสำหรับการศึกษาการพัฒนาวิธีโดยใช้ตัวอย่างจากจังหวัดสงขลา ชุดที่สองสำหรับการติดตามการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลที่มีต่อความเสถียรเชิงกลใช้ตัวอย่างน้ำยางสดและข้นชนิดแอมโมเนียสูงจาก 3 จังหวัดคือ สงขลา พัทลุง และชลบุรี และน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียต่ำจาก 3 จังหวัดคือ สงขลา พัทลุง และตรัง ซึ่งแต่ละโรงงานจากทุกจังหวัดมีกระบวนการผลิตที่ใกล้เคียงกัน

3.2 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล

หากทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำยางด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำยางได้โดยตรง เนื่องจากอนุภาคยางจะไปบดบังแสงที่จะถูกดูดกลืนทำให้ค่าที่วิเคราะห์ได้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง ดังนั้นต้องเตรียมน้ำยางให้อยู่ในรูปของซีรัมก่อน โดยได้ทำการศึกษาวิธีการเตรียมซีรัม โดยการจับตัวก้อนยางด้วยวิธีทางกายภาพและการใช้สารเคมีชนิดต่าง ๆ ทั้งนี้เพื่อให้ได้ซีรัมที่ไม่มีสารจับตัวเนื้อยที่รบกวนวิธีการวิเคราะห์

3.2.1 การศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำยาง

เบื้องต้นได้ทำการศึกษาการจับตัวเนื้อยด้วยวิธีการทางกายภาพ ทั้งนี้เพื่อพยายามศึกษาหาวิธีที่ไม่มีการใช้สารเคมีใด ๆ ที่อาจรบกวนวิธีการวิเคราะห์ จากนั้นได้ทำการศึกษาการจับตัวน้ำยางด้วยสารเคมีคือกรดอ่อน สารประกอบประเภทเกลือ และแอลกอฮอล์ โดยมีรายละเอียดของวิธีการศึกษาดังนี้

1) การแช่แข็ง (Freezing) ที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Subroto และคณะ (2001) ซึ่งใช้กับตัวอย่างน้ำยางธรรมชาติ

2) การให้ความร้อน (Heating) ที่อุณหภูมิ $70\pm 5^{\circ}\text{C}$ จนกระทั่งเนื้อยจับตัวกันเป็นก้อน ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Whitby และ Greenberg (1941) ซึ่งใช้กับตัวอย่างน้ำยางธรรมชาติ

3) การไดอะไลซิส (Dialysis) คัดแปลงมาจากวิธีของ Saby และคณะ (2003) เป็นวิธีที่ใช้กับตัวอย่างยางมะม่วงซึ่งมีลักษณะคล้ายกับน้ำยางธรรมชาติ โดยการนำน้ำยาง 1.00xx g บรรจุลงในถุงไดอะไลซิสขนาด 12,000-14,000 Da (CelluSep, USA) ที่ตัดให้มีความยาว 5 cm เชไขในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่น 800 mL วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยวางบนเครื่องกวนแบบใช้แท่งแม่เหล็กตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

4) การจับตัวเนื้อยางด้วยสารเคมี (Chemical coagulation) ซึ่งเป็นวิธีการแยกเนื้อยางออกจากซีรัม โดยให้ประจุบวกของสารเคมีที่เติมลงไปจับกับประจุลบที่อยู่รอบผิวอนุภาคยาง ทำให้ยางจับตัวกันเป็นก้อนแยกออกจากซีรัมได้ การศึกษานี้ได้ศึกษาสารเคมี 3 ประเภท ได้แก่ สารละลายกรดอ่อน สารละลายเกลือ และแอลกอฮอล์ ในการจับตัวด้วยแอลกอฮอล์ใช้เมทานอลในการจับตัว โดยคัดแปลงมาจากวิธีของ Whitby และ Greenberg (1941) พบซีรัมที่ได้มีปริมาณน้อยมากเนื่องจากเมทานอลระเหยได้ง่าย แต่การจับตัวเนื้อยางด้วยกรดและเกลือได้ปริมาณซีรัมที่เพียงพอในการนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลจึงเลือกใช้วิธีการจับด้วยเนื้อยางด้วยกรดและเกลือ ซึ่งมีรายละเอียดของวิธีการดังนี้

3.2.1.1 การจับตัวด้วยกรด

ในการศึกษาการจับตัวเนื้อยางด้วยกรด (Acid coagulation) เลือกศึกษาโดยใช้กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 2% โดยปริมาตร ($2\%CH_3COOH$) คัดแปลงมาจากวิธีของ Galli และคณะ (2002) ซึ่งใช้กับตัวอย่างน้ำยางธรรมชาติ โดยมีวิธีการทดลอง ดังนี้

- 1) ชั่งน้ำยาง 2.5000 g ใส่ในถ้วยกระเบื้อง
- 2) ก่อย ๆ หยด $2\%CH_3COOH$ ปริมาตร 5 mL ลงที่ผิวหน้าของน้ำยาง (เขย่าถ้วยกระเบื้องเบา ๆ ด้วยมือขณะที่หยดกรด)
- 3) น้ำยางจะจับตัวเป็นก้อนและแยกออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยาง และส่วนที่เป็นซีรัม ใช้แท่งแก้วกดเนื้อยางเพื่อให้ซีรัมออกมาให้มากที่สุด
- 4) กรองซีรัมด้วยชุดกรองแบบลดความดันผ่านเยื่อกรองไนลอน (Nylon membrane) ขนาด $0.45\ \mu m$ ใช้น้ำกลั่นกลั้วเยื่อกรองเพื่อให้ซีรัมไหลลงสู่ขวดวัดปริมาตรทั้งหมด
- 5) วัดความขุ่นของซีรัมด้วยเครื่องวัดความขุ่น เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการจับตัวเนื้อยางด้วย $2\%CH_3COOH$
- 6) ปรับปริมาตรซีรัมที่กรองได้ด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 mL

3.2.1.2 การจับตัวด้วยเกลือ

การศึกษาการจับตัวเนื้อยางด้วยเกลือ (Salt coagulation) เลือกใช้แคลเซียมคลอไรด์

ความเข้มข้นร้อยละ 2% โดยปริมาตร (2%CaCl₂) วิธีการเตรียมเหมือนกับการจับตัว 2%CH₃COOH แต่เปลี่ยนจาก 2%CH₃COOH เป็น 2%CaCl₂

หมายเหตุ: เตรียมซีรัมใหม่ทุกครั้งที่ทำกรวิเคราะห์

3.2.2 การศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์

ในการพัฒนาวิธีการทดลองโดยการนำวิธีมาตรฐานที่มีอยู่แล้วหรือวิธีอื่น ๆ ที่เป็นที่นิยมใช้ในตัวอย่างอื่น ๆ มาใช้กับตัวอย่างน้ำยาง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาว่าวิธีมีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับที่ยอมรับได้หรือไม่ โดยทั่วไปนิยมศึกษาค่าความแม่นยำ (Accuracy) โดยดูจากร้อยละการกู้คืน (%Recovery) และค่าความเที่ยง (Precision) โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of variation, % CV) ดังนี้

3.2.2.1 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบไลปิด

การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด ทำการวิเคราะห์ในสองรูปแบบ ได้แก่ ปริมาณไลปิดทั้งหมด (Total lipids) ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเท่ากับ 12-24 อะตอม ดังนี้

3.2.2.1.1 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไลปิดทั้งหมด

ปริมาณไลปิดทั้งหมดวิเคราะห์โดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Ferraz และคณะ (2004) ซึ่งศึกษาปริมาณกรดไขมันในซีรัมจากเลือดของคน (human serum) ดังนี้

- 1) ชั่งตัวอย่างน้ำยางประมาณ 1.00xx g ลงในกรวยที่ทำจากเซลลูโลส (Cellulose thimble) และต่อเข้ากับชุดสกัดซอกซ์เลตที่มีขวดก้นกลมขนาด 250 mL เดิมเสกเซนเป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 200 mL

- 2) สกัดที่อุณหภูมิประมาณ 80 °C เป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง

- 3) วางขวดก้นกลมให้เย็นแล้วนำไประเหยเฮกเซนออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator

- 4) อบขวดก้นกลมที่อุณหภูมิ 100°C และชั่งน้ำหนักจนมีน้ำหนักคงที่

3.2.2.1.2 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

การศึกษาชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 8-24 อะตอม เป็นวิธีการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียว (Single-step transesterification) คือ การรวมเอาการสกัด การไฮโดรไลส์ และการทำให้กรดไขมันกลายเป็นเอสเทอร์เข้ามาอยู่ในขั้นตอนเดียวร่วมกับเทคนิค GC-FID ตามวิธีของวิลสัน และคณะ (2549) ในการศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีนี้

ได้ศึกษาในสารมาตรฐาน และในตัวอย่างน้ำยาง มีขั้นตอน ดังนี้

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

- 1) เตรียมสารละลายกรดไขมันมาตรฐานเข้มข้น 10,000 ppm ดังภาคผนวก ก
- 2) ศึกษาหากราฟมาตรฐานของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมาตรฐาน โดยการเจือจางจากสารละลายกรดไขมันมาตรฐานเข้มข้น 10,000 µg/mL ให้ได้ความเข้มข้น 40, 80 และ 120 µg/mL ดังตารางที่ ก-1 (ภาคผนวก ก) ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิด
- 3) เตรียมสารละลายผสม 2 M Methanolic HCl: Heptane: DMP: 0.1 M H₂SO₄ ในอัตราส่วน 1.500: 1.500: 0.330: 0.132 mL ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม เป็นเวลา 1 นาที
- 4) นำสารละลายผสมในข้อ 3) เติมนลงในข้อ 2) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมเป็นเวลา 3 นาที
- 5) นำไปเป่าไล่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 1 นาที แล้วรีบปิดฝาหลอดทันที
- 6) นำไปวางให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 75±5°C ในภาชนะที่บรรจุกลีเซอรินเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 7) วางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
- 8) คูดสารละลายส่วนใสชั้นบน (ชั้นเอสเทอร์ในสารละลายเฮปเทน) ใส่ใน vial ปิดฝา เก็บในตู้เย็นขณะรอการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ
- 9) นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ซึ่งมีสภาวะของเครื่อง ดังนี้

Name: Hewlett Packard HP 6890 series GC system

Column: Shimadzu CBP-5, 5% Methyl siloxane, 320°C Max, Capillary 25.0 m × 220 µm × 0.25 µm ID

Injector: 250°C, He (carrier gas 70.5 mL/min)

Detector: FID (Flame Ionization Detector), H₂ (35 mL/min) and Air (400 mL/min)

Temperature 300°C

Oven Temperature Program: Initial 75°C hold 1 min increase 25°C/min to 200°C hold 1 min increase 25 °C/min to 300°C hold 5 min

Injection volume: 4 µL

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

วิธีนี้สามารถนำน้ำยางมาใช้โดยไม่จำเป็นต้องเตรียมให้อยู่ในรูปของซีรัม แต่ควรเจือจางน้ำยางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก เพื่อป้องกันการหนืดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่เตรียมได้ วิธีการทำเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐาน แต่ใช้น้ำยางที่เจือจางแล้ว

0.1xxx g แทนสารละลายมาตรฐาน และในขั้นตอนการให้ความร้อนเพิ่มเวลาเป็น 2 ชั่วโมง ส่วนขั้นตอนอื่น ๆ ดำเนินการเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน

3.2.2.2 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน

ในการศึกษาปริมาณโปรตีนในน้ำยางโดยทั่วไป ไม่ค่อยมีการระบุกลุ่มของโปรตีนที่ทำการวิเคราะห์ ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบผลจากการวิเคราะห์ด้วยกันได้ ในการศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์สารประกอบโปรตีนสองกลุ่มด้วยกัน คือ โปรตีนที่มีขนาดเล็กกว่า $0.45\ \mu\text{m}$ และอีกกลุ่มคือโปรตีนที่อยู่ในรูปของกรดอะมิโนอิสระ ณ เวลาใด ๆ เพื่อใช้ในการตรวจติดตามการสลายตัวของโปรตีนที่อาจเกิดขึ้น โดยกระบวนการไฮโดรไลซิส หรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำยางหากน้ำยางถูกเก็บไว้เป็นระยะเวลานาน โดยทำการศึกษาวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน 4 รูปแบบ ได้แก่ การวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจน (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) การวิเคราะห์ในรูปโปรตีนทั้งหมด (Total proteins) ที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า $0.45\ \mu\text{m}$ โดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์และการทำปฏิกิริยาด้วยกรดอะมิโน และวิเคราะห์ในรูปกรดอะมิโน (Amino acids) ในน้ำยางตั้งแต่เริ่มต้นจนมีค่าความเสถียรเชิงกลคงที่ ซึ่งมีวิธีการทดลองดังนี้

3.2.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจน

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีของเจลดาคัล เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธี ASTM D 3533-90 (2003) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้อยู่กับตัวอย่างน้ำยางธรรมชาติและสามารถวิเคราะห์ในน้ำยางสังเคราะห์และกาวได้ด้วย มีรายละเอียดดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างหนัก 0.1xxx g ใส่ในหลอดย่อยไนโตรเจน เดิมเม็ดแก้ว (Glass bead) และตัวเร่งปฏิกิริยา ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: K_2SO_4 ที่อัตราส่วน 7.5: 1.0 โดยมวล) จำนวน 0.2xxx g และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ($\text{Conc. H}_2\text{SO}_4$) 15 mL

2) นำไปย่อยด้วยชุดย่อยไนโตรเจน (Teactor Digestion) ที่อุณหภูมิ 375°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนได้สารละลายสีเขียวหรือสารละลายใสไม่มีสี ถ้าเป็นสีเหลืองอ่อนแสดงว่าการย่อยยังเกิดไม่สมบูรณ์ให้ทำการย่อยต่อ

3) ปิเปตสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร ($4\% \text{H}_3\text{BO}_3$) 2.5 mL ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL

4) เติมน้ำกลั่นในหลอดย่อยโปรตีน 7.5 mL นำไปกลั่นหาปริมาณไนโตรเจนโดยปลายคอนเดนเซอร์จมอยู่ในสารละลาย $4\% \text{H}_3\text{BO}_3$ เพื่อจับแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้น

5) นำสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยมวลต่อปริมาตร ($40\% \text{NaOH}$) 80 mL หรือมากกว่าเติมลงไปช้า ๆ เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาที่รุนแรง จนกระทั่งเกิดสารละลายสีเขียวไหม้ ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาของแก๊สแอมโมเนียกับกรดบอริก กลั่นจนครบ

4 นาที

6) นำสารละลายที่กลั่นได้ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.01 M H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู

7) ทำการวิเคราะห์สารละลายแบลงค์เช่นเดียวกับวิธีข้างต้นแต่ไม่เติมตัวอย่าง แล้วคำนวณหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างจากสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V_1 - V_2) \times M \times 0.014}{W}$$

V_1 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 เข้มข้น 0.01 M ที่ใช้ไทเทรตสารละลายตัวอย่าง (mL)

V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 เข้มข้น 0.01 M ที่ใช้ไทเทรตสารละลาย Blank (mL)

M = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 (mol/L)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (g)

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน} \times 6.25$$

3.2.2.2.1 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์

การศึกษานี้ได้เลือกใช้วิธีทดสอบมาตรฐาน 2 วิธี ได้แก่ วิธี MS 1932: 1998 และวิธี ISO 12243: 2003 โดยมีรายละเอียดของวิธีการดังนี้

1) วิธี MS 1392: 1998

ทำการศึกษากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติที่มีชื่อว่า Test Method for The Analysis of Extractable Protein in Natural Rubber Products (MS 1392: 1998) มีวิธีการดังนี้

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโปรตีนอัลบูมินจากซีรัมสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Bovine Serum Albumin, BSA) ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/mL}$

2) เจือจางสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 200, 100, 10, 55, 25, 12.5 และ 6.25 $\mu\text{g/mL}$ จากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/mL}$

3) ไปเปิดสารละลายโปรตีนแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 4 mL ใส่ในหลอดทดลอง

ขนาด 10 mL จากนั้นเติมสารรีเอเจนต์ C วิธีแสดงในภาคผนวก ก ปริมาตร 1.5 mL ผสมให้เข้ากันดี วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที

4) เติมสารรีเอเจนต์ D ซึ่งเตรียมจากการเจือจาง 2 N Folin reagent (Ajax finechem, Australia) ด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 72:28 โดยปริมาตร ปริมาณ 0.1 mL ในแต่ละหลอด ผสมด้วยเครื่องผสมวางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

5) เตรียมสารละลายแบลนด์ โดยใช้ 0.2 M NaOH แทนสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

6) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 750 nm

8) นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับ ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (แกน x)

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยาง เตรียมตัวอย่างตามวิธีในข้อ 3.2.1.1 และไปเปิดซีรัมที่เตรียมได้ 4 mL ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 mL ทำการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐาน

2) วิธี ISO 12243: 2003

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยใช้วิธีมาตรฐานในการหาปริมาณโปรตีนในถุงมือยางคือ วิธี Medical gloves made from natural rubber latex–Determination of water– extractable protein using the modified Lowry method (ISO 12243:2003) มีวิธีการดังนี้

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโปรตีนอัลบูมินจากไข่ขาว (Ovalbumin) ความเข้มข้น 1,000 ppm

2) เจือจางสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 400, 200, 100, 50 และ 25 $\mu\text{g/mL}$ จากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/mL}$

3) ไปเปิดสารละลายโปรตีนแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 4 mL ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 mL จำนวน 5 หลอด จากนั้นเติมสารรีเอเจนต์ C ปริมาตร 1.5 mL ผสมให้เข้ากันดีวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที

4) เติมสารรีเอเจนต์ D 1.5 mL ในแต่ละหลอด ผสมด้วยเครื่องผสม วางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายสีม่วง

5) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 750 นาโนเมตร

6) เตรียมสารละลายบัลลังก์ โดยใช้ 0.1 M (*N*-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-amino-ethanesulfonic acid hemisodium salt) (TES) แทนสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

7) นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (แกน x)

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยาง เตรียมตัวอย่างตามวิธีในข้อ 3.2.1.1 วิธีการวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐาน

3.2.2.2.3 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยากโรคอะมิโน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการย่อยโปรตีนให้กลายเป็นกรดอะมิโนและทำปฏิกิริยากโรคอะมิโนด้วยนินไฮดริน (Ninhydrin) โดยดัดแปลงมาจากวิธีที่วิเคราะห์กับกรดอะมิโนมาตรฐานของ Sun และคณะ (2006) ซึ่งเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีนินไฮดรินโดยศึกษากับกรดอะมิโนมาตรฐาน ในระบบปิดซึ่งมีวิธีการดังนี้

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

เนื่องจากการรายงานว่าพบกรดอะมิโนชนิดกรดแอสปาร์ติกในน้ำยางธรรมชาติ (Whitby and Greenberg, 1941) และมีการใช้กรดอะมิโนนี้เป็นสารมาตรฐานในรายงานต่าง ๆ การศึกษานี้จึงเลือกใช้กรดแอสปาร์ติกเป็นกรดอะมิโนมาตรฐานโดยทำการเตรียมสารละลายกรดแอสปาร์ติกมาตรฐานในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 2%

1) ไปเปิดสารละลายกรดแอสปาร์ติกในกรดอะซิติกเข้มข้น 2% ความเข้มข้น 10-50 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 1.00 mL ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิดขนาด 10.00 mL เติมสารละลายนินไฮดริน 1 mL

2) วางหลอดทดลองในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวางให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง

3) เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 5 mL ผสมให้เข้ากันดีด้วยเครื่องผสม (Vortex mixer) เป็นเวลา 15 วินาที จะได้สารละลายสีม่วงคราม

4) นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

ทำเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐาน แต่เปลี่ยนจากสารละลายมาตรฐานเป็นซีรัม

น้ำยางที่ได้จากการจับตัวด้วย 2%CH₃COOH และได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซ์โปรตีนให้กลายเป็นกรดอะมิโน 2 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิและเวลา

ข.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

1) นำซีรัมที่เตรียมได้โดยการจับตัวด้วย 2%CH₃COOH จากข้อ 3.2.1.1 ปริมาตร 1 mL ปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น

2) ไปเปิดซีรัมจากข้อ 1) ปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 mL ปิดฝาหลอดนำไปวางในอ่างน้ำที่มีอุณหภูมิ 30, 40, 50, 60 และ 70°C เป็นเวลา 30 นาที

3) ทำเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐานแต่ใช้ 2%CH₃COOH เป็นสารละลายแบลงค์

ข.2 เวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

1) นำซีรัมที่เตรียมได้โดยการจับตัวด้วย 2%CH₃COOH จากข้อ 3.2.1.1 ปริมาตร 1 mL ปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น

2) ไปเปิดซีรัมจากข้อ 1) ปริมาตร 1 mL ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 mL ปิดฝาหลอดนำไปวางในอ่างน้ำที่มีอุณหภูมิ 65±70°C เป็นเวลา 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 นาที

3) ทำเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐานแต่ใช้ 2%CH₃COOH เป็นสารละลายแบลงค์

3.2.2.2.4 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ ณ เวลาใด ๆ

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดด้วยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโน แต่ใช้สารละลายกรดแอสปาร์ติกที่ละลายใน 2%CaCl₂ และใช้ 2%CaCl₂ เป็นสารละลายแบลงค์

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

การศึกษาในตัวอย่างน้ำยางใช้วิธีการเช่นเดียวกับการศึกษากราฟมาตรฐานแต่ใช้ซีรัมที่เตรียมได้จากการจับตัวด้วย 2% CaCl₂ แทน

3.2.2.3 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต

การศึกษาปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะทำการวิเคราะห์ 2 รูปแบบด้วยกันคือ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้อยู่ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในน้ำยาง ณ เวลาใด ๆ และทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric acid method) และวิธีกรด-3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-

Dinitrosalicylic acid, DNS method) มีรายละเอียดดังนี้

3.2.2.3.1 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดได้ศึกษา 2 วิธี ได้แก่ วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริกและวิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก หรือที่นิยมเรียกว่า วิธี DNS

1) วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก

วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริกซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Dubois และคณะ (1956) โดยวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส การศึกษานี้ใช้กลูโคสเป็นตัวแทนในการศึกษา

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

การศึกษากราฟมาตรฐานด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก ได้ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสใน 2%CH₃COOH มีขั้นตอนดังนี้

1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสใน 2%CH₃COOH ความเข้มข้น 100 mg/L จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 10, 20, 40, 50 และ 80 mg/L จากสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 mg/L

2) ไปเปิดสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0-80 mg/L ปริมาตร 1.0 mL ใส่ในหลอดทดลอง เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5.0 mL ตามด้วยสารละลายฟีนอล 1.0 mL วางไว้ในอุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 485 nm

3) นำข้อมูลที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐานโดยเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (แกน x)

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

การศึกษ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในน้ำยางโดยใช้วิธีที่เตรียมได้โดยการจับตัวด้วย 2%CH₃COOH วิธีการวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐานและใช้ 2%CH₃COOH เป็นสารละลายเบลงค์

2) วิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก

วิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิกเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Miller (1959)

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสโดยใช้ 2%CH₃COOH เป็นตัวทำละลายความเข้มข้น 1.0 g/L แล้วเตรียมให้ได้ความเข้มข้นในช่วง 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 g/L

2) ไปเปิดสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 g/L ปริมาตร 1.0 mL ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS 1.0 mL ให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือด 5 นาที แห่หลอดในอ่างน้ำเย็น 5 นาที เติมน้ำกลั่น 10 mL วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 520 nm

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

การศึกษาในน้ำยางโดยใช้ซีรัมที่เตรียมได้โดยการจับตัวด้วย 2%CH₃COOH วิธีการวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐานและใช้ 2%CH₃COOH เป็นสารละลายเบส

3.3.2.3.2 ความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ก. การศึกษากราฟมาตรฐาน

ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดแต่ใช้ 2%CaCl₂ แทน 2%CH₃COOH

ข. การศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดแต่ใช้ 2%CaCl₂ แทน 2%CH₃COOH

3.3 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยาง

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงและน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำ โดยใช้ตัวอย่างน้ำยางจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสงขลา พัทลุง และ ชลบุรี และจังหวัดสงขลา พัทลุง และตรัง ตามลำดับ เพื่อให้ง่ายต่อการเข้าใจต่อไปจะใช้สัญลักษณ์แทนตัวอย่าง ดังนี้

SKFL หมายถึง น้ำยางสดจาก จ. สงขลา

PLHA หมายถึง น้ำยางชั้นจาก จ. พัทลุง

CBFL หมายถึง น้ำยางสดจาก จ. ชลบุรี

PLFL หมายถึง น้ำยางสดจาก จ. พัทลุง

TRLA หมายถึง น้ำยางชั้นจาก จ. ตรัง

การศึกษานี้ได้ทำการติดตามทั้งในตัวอย่างน้ำยางสดและน้ำยางชั้นเป็นระยะเวลา 49 วัน โดยวิเคราะห์ทุก ๆ 7 วัน ซึ่งการทำการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในแต่ละครั้งได้ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นทุกครั้ง

3.3.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นบางประการ

ได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นบางประการที่ได้ทำการวิเคราะห์ในการศึกษานี้เพื่อแสดงความสัมพันธ์ของข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ โดยวิธีการทั้งหมดเป็นวิธีมาตรฐานที่อ้างอิงใน Blackley (1997) ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นที่ทำการศึกษา

สมบัติทางเคมีและกายภาพเบื้องต้นที่ทำการศึกษา	วิธี
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	pH meter
ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity, EC)	Conductivity meter
ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity)	ISO 126: 1995
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid contents, TSC)	ISO 124: 1997
ปริมาณเนื้อยางแห้ง (Dry rubber contents, DRC)	ISO 126: 1972
ค่ากรดไขมันที่ระเหยได้ (Volatile fatty acid number, VFA no.)	ISO 506: 1992
ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide number, KOH no.)	ISO 127: 1995
ค่าความเสถียรเชิงกล (Mechanical stability time, MST)	ISO 35: 1989

3.3.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล

3.3.2.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของไลปิด

1) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของไลปิดทั้งหมด ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.1 ข้อ 1)

2) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของชนิดและปริมาณของกรดไขมัน ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.1 ข้อ 2) ข้อ ข

3.3.2.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน

1) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไลโนโตรเจน ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.2 ข้อ 1)

2) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์ ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.2 ข้อ 2) ข้อ ข

3) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยากรดอะมิโนทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.3.2.2 ข้อ 3) ข้อ ข

4) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโน ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.2 ข้อ 4) ข้อ ข

3.3.2.3 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต

1) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.3 ข้อ 1) ข้อ ข

2) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ในข้อ 3.2.2.3 ข้อ 2) ข้อ ข

3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารชีวโมเลกุลต่อความเสถียรเชิงกล

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารชีวโมเลกุลต่อความเสถียรเชิงกลในน้ำยาง โดยทำการแยกเติมสารชีวโมเลกุล ได้แก่ ไลปิด โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ลงในน้ำยางและนำไปวิเคราะห์ค่าความเสถียรเชิงกล ทำการทดลองในวันเดียวกัน จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

- 1) ชั่งตัวอย่างน้ำยางขึ้น 100.00 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL
- 2) เติมสารชีวโมเลกุลสามประเภทได้แก่ไลปิดใช้กรดลอริก โปรตีนใช้โอวัลบูมิน (Ovalbumin) และคาร์โบไฮเดรตใช้กลูโคส เป็นตัวแทน เติมที่ปริมาณ 0.02, 0.04 และ 0.06 g
- 3) กวนของผสมดังกล่าวด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) เป็นเวลาชุดละ 10 นาที
- 4) ทำการวิเคราะห์ค่าความเสถียรเชิงกลตามวิธีมาตรฐานในตารางที่ 3.2

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบไลปิด โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต เพื่อใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลที่มีผลต่อค่าความเสถียรเชิงกลในน้ำยางธรรมชาติ เนื่องจากในปัจจุบันการวิเคราะห์ปัจจัยหลาย ๆ ปัจจัยในน้ำยางยังไม่มีวิธีการวิเคราะห์โดยตรง เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต กรดไขมัน และบางปัจจัยไม่มีรายงานวิธีการศึกษาหาความแม่นยำและความเที่ยงที่เหมาะสมทำให้สถานประกอบการไม่มีวิธีการในการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธี ซึ่งจากการศึกษาได้ผลการศึกษาดังนี้

4.1 ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล

4.1.1 ผลการศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างซีรัมน้ำยาง

ในเบื้องต้นได้ทำการศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างซีรัมน้ำยางด้วยวิธีการจับตัวทางกายภาพ ได้แก่ การแช่แข็ง การให้ความร้อน และการใช้ถุงโคอะไลซิส พบทั้ง 3 วิธีไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในน้ำยาง ทั้งนี้เนื่องจากการแช่แข็งน้ำยางสดและชั้นจับตัวกันเป็นก้อนแข็งแต่ซีรัมแยกออกมาน้อยมาก หลังจากวางไว้ที่อุณหภูมิห้องปรากฏว่าน้ำยางกลับสู่สภาพเดิม การจับตัวด้วยความร้อนสามารถจับตัวได้แต่ได้สัดส่วนของซีรัมน้อย ต้องใช้น้ำยางปริมาณสูงจึงจะได้ซีรัมในปริมาณที่เพียงพอที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ และการใช้ถุงโคอะไลซิสพบว่าสามารถนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารชีวโมเลกุลได้ แต่ค่าที่วิเคราะห์ได้มีค่ามากเนื่องจากซีรัมถูกเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ใช้ในการแช่ถุงโคอะไลซ์ อีกทั้งราคาของถุงที่ใช้ในการโคอะไลซิสมีราคาแพง

หลังจากการศึกษาเบื้องต้นแล้ว จึงได้ทำการศึกษาการเตรียมซีรัมโดยวิธีการจับตัวด้วยสารเคมี ได้แก่ การจับตัวด้วยกรด การจับตัวด้วยเกลือและการจับตัวด้วยแอลกอฮอล์ แต่เนื่องจากการจับตัวด้วยแอลกอฮอล์ต้องใช้ปริมาณแอลกอฮอล์มากและใช้เวลานานกว่าที่เนื้อยางจะจับตัวและได้สัดส่วนของซีรัมน้อย ต้องใช้น้ำยางปริมาณสูงจึงจะเพียงพอที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างเช่นต้องใช้ปริมาณเมทานอล 15 mL ต่อน้ำยาง 2.5 g จึงจะได้ซีรัมประมาณ 1-2 mL อีกทั้งแอลกอฮอล์สามารถระเหยได้ง่าย จึงไม่เลือกวิธีนี้สำหรับการศึกษานี้

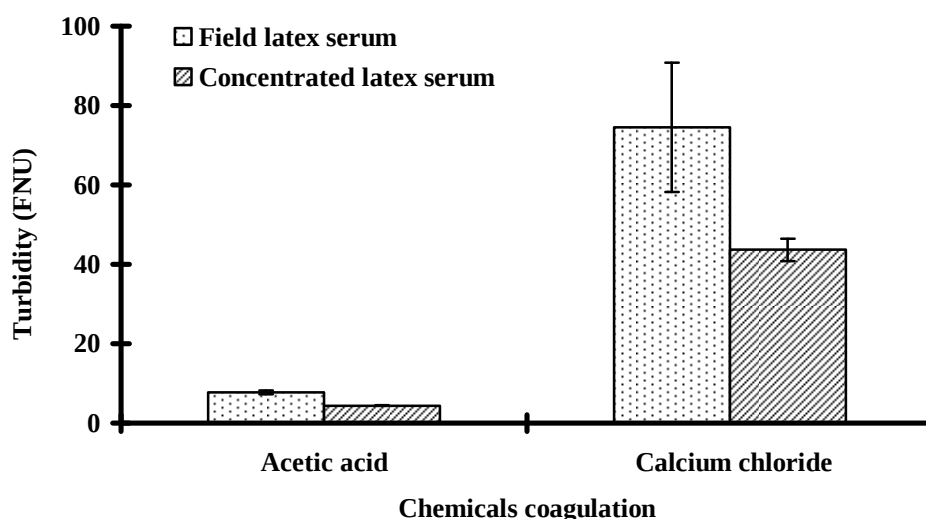
ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการจับตัวเนื้อเยื่อเฉพาะวิธีการจับตัวด้วยกรดและการจับตัวด้วยเกลือ พบผลการศึกษาดังนี้

จากการศึกษาการจับตัวอนุภาคยางด้วยสารเคมี พบตัวอย่างน้ำยางที่เก็บมาใหม่จะจับตัวได้ยากกว่าตัวอย่างที่เก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของกรดไขมันระเหยได้ที่อาจมีเพิ่มขึ้นหลังเก็บน้ำยางไว้ระยะหนึ่ง ทำให้ง่ายจับตัวได้เร็วขึ้น

จากการจับตัวด้วยกรดอะซิติก พบซีรัมที่ได้จากน้ำยางข้นมีค่าความขุ่นน้อยกว่าในน้ำยางสด โดยมีค่าความขุ่นเท่ากับ 4.43 ± 0.07 และ 7.73 ± 0.47 FNU ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงการจับตัวอนุภาคยางในน้ำยางข้นเกิดขึ้นได้ดีกว่าในน้ำยางสด ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำยางข้นมีการเติมสารเคมีในปริมาณที่สูงกว่าอยู่แล้วเช่น แอมโมเนีย และมีปริมาณน้ำน้อยกว่าทำให้กรดไม่ถูกเจือจางเหมือนในกรณีน้ำยางสด

จากการเตรียมซีรัมด้วยวิธีการจับตัวด้วยเกลือแคลเซียมคลอไรด์ พบในซีรัมที่ได้จากน้ำยางข้นมีค่าความขุ่นน้อยกว่าน้ำยางสดเช่นเดียวกับการจับตัวด้วยกรด โดยมีค่าเท่ากับ 43.65 ± 2.86 และ 74.57 ± 16.30 FNU ตามลำดับ

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการจับตัวเนื้อเยื่อของทั้งสองวิธี โดย One way ANOVA พบในซีรัมที่ได้จากการจับตัวด้วยกรดมีความขุ่นน้อยกว่าซีรัมที่ได้จากการจับตัวด้วยเกลือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$) ดังรูปที่ 4.1 จึงสรุปได้ว่ากรดมีประสิทธิภาพในการจับตัวเนื้อเยื่อได้ดีกว่าเกลือ



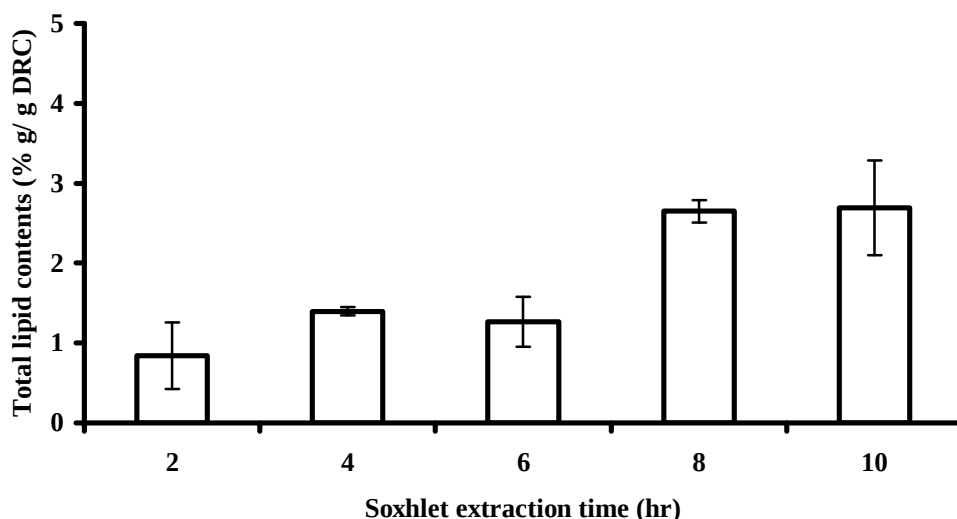
รูปที่ 4.1 ประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการจับตัวเนื้อเยื่อ

4.1.2 ผลการศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์

4.1.2.1 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบไลปิด

4.1.2.1.1 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไลปิดทั้งหมด

ผลการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไลปิดทั้งหมดในตัวอย่างน้ำยางชัน โดยการสกัดด้วยชุดสกัดแบบซอกซ์ฮ์เลต ตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Ferraz และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง พบที่เวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการสกัด น้ำยางยังมีลักษณะเป็นแบบกึ่งของเหลว คือมีส่วนหนึ่งเป็นวุ้นใส ส่วนหนึ่งเป็นของเหลวอยู่ในรูปของน้ำยาง ซึ่งคาดว่า การสกัดยังไม่สมบูรณ์ ส่วนที่ 8 และ 10 ชั่วโมง น้ำยางมีลักษณะเป็นวุ้นใสทั้งหมด คาดว่าจะเป็นลักษณะที่การสกัดเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จึงเลือกศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีเฉพาะที่เวลา 8 และ 10 ชั่วโมง พบที่ทั้งสองเวลาให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยไลปิดทั้งหมดในน้ำยางสดอยู่ในช่วง 2.65 ± 0.14 และ $2.69 \pm 0.59\%$ g/g DRC (n=3) ตามลำดับ ปริมาณที่พบสอดคล้องกับรายงานอื่น ๆ ที่เคยรายงานในน้ำยางสดประมาณ 2.72% g/g DRC หรือ 1.6% w/v latex (Nair, 2000 และ Resing, 2000) เมื่อวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือของวิธีที่เวลาทั้งสองโดยดูจากค่าความแม่นยำโดยค่าร้อยละของการกู้คืน พบอยู่ในระดับเดียวกันในช่วงร้อยละ 84.58 ± 1.75 และ 73.54 ± 1.59 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.2 ดังนั้นการศึกษานี้เลือกที่ 8 ชั่วโมง เนื่องจากใช้เวลาน้อยกว่า



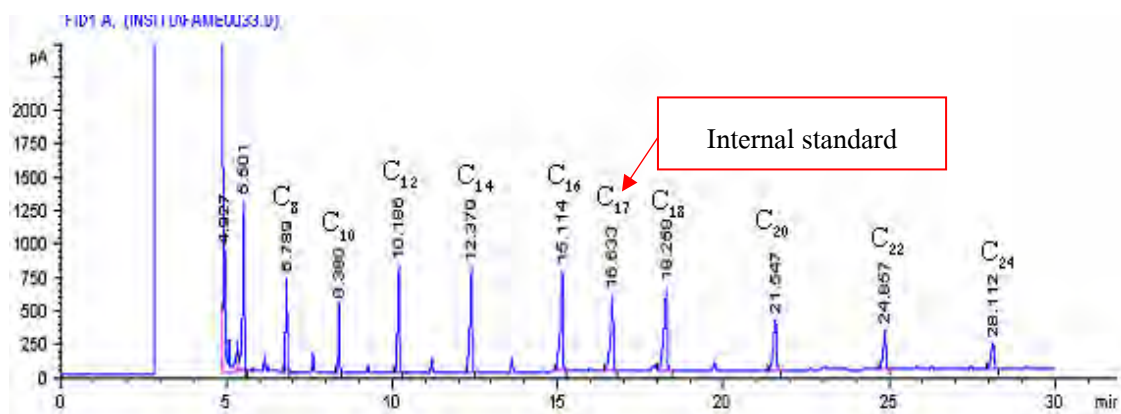
รูปที่ 4.2 เวลาที่เหมาะสมในการสกัดไลปิดทั้งหมด

อย่างไรก็ตามโดยธรรมชาติของเทคนิคซึ่งอาศัยการซึ่งที่ต้องการความละเอียดถึงเทคนิคตำแหน่งที่ 4 ก่อนและหลังการระเหยตัวทำละลาย ทำให้ค่าที่ได้มีความแปรปรวนของการวิเคราะห์สูง อีกทั้งต้องใช้ทักษะและความชำนาญสูงในการวิเคราะห์ รวมทั้งใช้เวลานาน ใช้ตัวทำละลาย และวัสดุอุปกรณ์มีราคาสูง ในการศึกษาจึงไม่ได้ใช้วิธีการสกัดด้วยชอกห์เลตในการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณไลปิดทั้งหมด ของตัวอย่างน้ำยางสดและชั้นที่เก็บไว้ที่เวลาต่าง ๆ หลังการปั่นเหวี่ยง

4.1.2.1.2 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

1) ผลการศึกษากาแฟมาตรฐาน

การตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่อยู่ในรูปของสบู่ โดยใช้สารละลายกรดไขมันมาตรฐานผสมซึ่งประกอบด้วย Octanoic acid (C_8) Decanoic acid (C_{10}) Lauric acid (C_{12}) Tetradecanoic acid (C_{14}) Palmitic acid (C_{16}) Octadecanoic acid (C_{18}) Eicosanoic acid (C_{20}) Docosanoic acid (C_{22}) Lignoceric acid (C_{24}) และใช้ Heptadecanoic acid (C_{17}) เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) โดยการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียว (วิลรัตน์ และคณะ, 2549) แล้วนำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยมีสัญญาณของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยที่สุดไปยังมากที่สุด ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 โครมาโทแกรมของกรดไขมันมาตรฐานเข้มข้น 80 ppm วิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID

จากการศึกษาหากราฟมาตรฐานของของกรดไขมันหลังการเตรียมให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ของเมทิลเอสเทอร์ พบสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณที่ได้กับความเข้มข้นของกรดไขมันเป็นเส้นตรงที่ยอมรับได้ ของกรดไขมันชนิด C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18} , C_{20} , C_{22} และ C_{24} ดังแสดงในรูปที่ 4.4 ถึง 4.6 โดยมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ในช่วง 0.02-0.06 ppm (ตารางที่ 4.1) สำหรับค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์โดยวิธีนี้มีค่าร้อยละของการกู้คืนอยู่ในช่วงร้อยละ

48.17±0.04 - 51.84±5.56 สำหรับความแม่นยำโดยร้อยละของการกู้คืนของการวิเคราะห์ไขมัน โดยทั่วไปมักมีระดับต่ำกว่า 100% ทั้งนี้เนื่องจากธรรมชาติของกรดไขมันจะเกาะติดกับอนุภาคต่างๆ ได้ดี ตัวอย่างเช่น จากงานของ Giacometti และคณะ (2002) ร้อยละของการกู้คืนของการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์การในน้ำมันพืชมีค่าเท่ากับ 66.75

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลด้านการวิเคราะห์สารมาตรฐานของกรดไขมัน

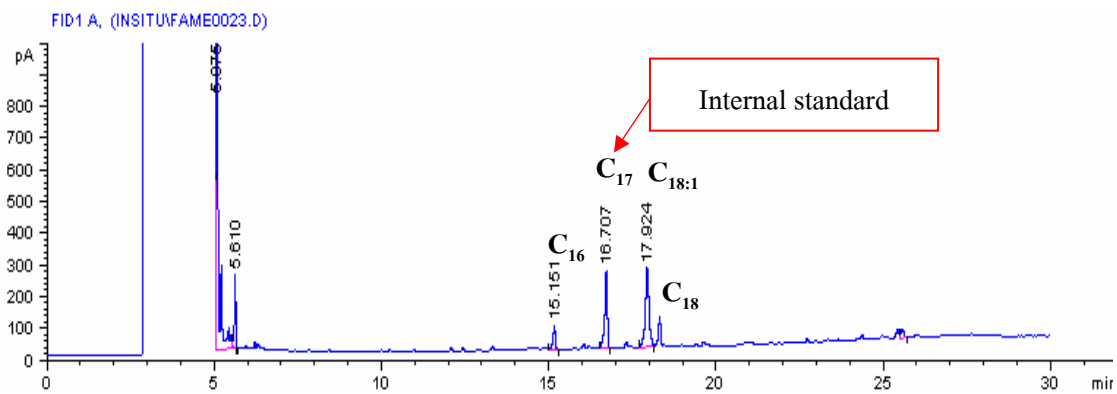
Fatty acid	Regression equation	Correlation coefficient (r^2)	Detection limit (ppm)
C12	$y = 0.0059x + 0.1733$	0.9962	0.03
C14	$y = 0.0066x + 0.09$	0.9905	0.02
C16	$y = 0.0086x + 0.0767$	0.9966	0.02
C18	$y = 0.009x + 0.09$	0.9908	0.02
C20	$y = 0.0059x + 0.1267$	0.9998	0.03
C22	$y = 0.006x + 0.0433$	0.9908	0.03
C24	$y = 0.0046x + 0.0367$	0.9998	0.03

Note: y = Peak area of fatty acid methyl ester/Peak area of C17 methyl ester

2) ผลการศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

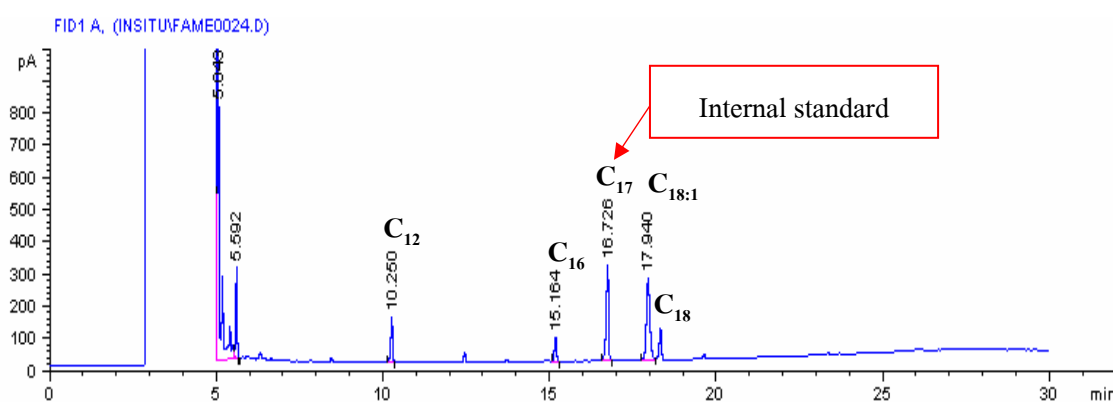
ในการศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำยางสดโดยการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียว พบกรดไขมันส่วนใหญ่มีสัญญาณอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) ดังตารางที่ 4.1 ในน้ำยางสดจากการเก็บตัวอย่างสามครั้งจากโรงงานเดียวกัน สามารถตรวจพบกรดไขมัน 2 ชนิด ได้แก่ C16 และ C18 ที่ระดับ 0.35±0.01 และ 0.51±0.01 % g/g DRC ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบสัญญาณที่มีขนาดสูงสุดของเอสเทอร์ชนิดหนึ่งระหว่างพีคสัญญาณของ C17 และ C18 แต่ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นกรดไขมันชนิดใด โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ได้แสดงดังรูปที่ 4.4

อย่างไรก็ตามเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์อีกครั้งด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่มีตัวตรวจวัดแบบแมสสเปกโตรเมตรีพบว่าพีคสัญญาณดังกล่าวเป็นกรดโอเลอิก (C18:1 fatty acid)



รูปที่ 4.4 โครมาโทแกรมของเอสเทอร์ในน้ำยางสดวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID

สำหรับกรดไขมันในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง พบ C₁₂, C₁₆ และ C₁₈ ดังรูปที่ 4.5 โดยพบในช่วง 0.14 ± 0.01 , 0.26 ± 0.01 และ 0.21 ± 0.01 % g/g DRC ตามลำดับ



รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมของเอสเทอร์ของกรดไขมันในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง
ด้วยเทคนิค GC-FID

4.1.2.2 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน

ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติจะแบ่งออกเป็น 4 แบบ ได้แก่ การวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดในรูปของไนโตรเจนโดยวิธีของเจดดาห์ล การวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของฟันทะเปปไทด์ โดยดัดแปลงวิธีวิเคราะห์โปรตีนในผลิตภัณฑ์ยางพารา คือวิธี MS 1392: 1998 และวิธี ISO 12243: 2003 การวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดโดยการไฮโดรไลซ์โปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนและการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่มีอยู่เดิม ณ เวลาใด ๆ ด้วยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีนินไฮดริน พบผลการศึกษา ดังนี้

ก. ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปเจดดาห์ลไนโตรเจน

ได้ทำการศึกษาปริมาณน้ำยางเพื่อให้ได้ระดับโปรตีนที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเจดดาห์ล โดยทำการศึกษาปริมาณโปรตีนในช่วง 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 และ 5.00 g และใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้นในปริมาณเท่ากันคือ 15 mL พบหากใช้ปริมาณน้ำยางมากกว่า 0.50 g ปริมาณกรดที่ใช้ไม่พอต่อการย่อย และใช้เวลาในการย่อยนานกว่า 3 ชั่วโมง น้ำยางมีลักษณะไหม้ เป็นถ้ำสีดำเกาะติดที่หลอดย่อย ไม่สามารถนำไปกลั่นต่อได้ ส่วนน้ำยางในปริมาณ 0.10 และ 0.25 g สามารถย่อยได้สมบูรณ์ได้สารละลายใส แต่ที่ 0.25 g จะใช้เวลานานกว่า 0.10 g ดังนั้นในการศึกษานี้ เลือกใช้น้ำยาง 0.10 g ปริมาณกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 15 mL และย่อยที่อุณหภูมิ 375°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในขั้นตอนการกลั่นพบว่าหากเติมสารละลาย 40% NaOH ในปริมาณน้อยเกินไปจะไม่สามารถไทเทรตได้ ต้องใช้ด่างในปริมาณที่มากเกินไปโดยดูจากสีของสารละลาย ถ้าสารละลายเป็นสีเขียวไหม้หรือบางครั้งจะเป็นสีฟ้าอ่อน แสดงว่ามากเกินไป สามารถนำสารละลายที่ได้ไปกลั่นและไทเทรตได้

จากการศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีโดยใช้สารละลายมาตรฐานโปรตีน BSA พบความแม่นยำของวิธีโดยดูจากร้อยละของการกู้คืนเท่ากับร้อยละ 90.76±3.94 และค่าความเที่ยงโดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนเท่ากับร้อยละ 4.34±1.68

ในน้ำยางชั้นพบปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปเจดดาห์ลไนโตรเจนที่ 0.69±0.08% g N/g DRC หรือคิดเป็นปริมาณโปรตีนหลังคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 จะได้เป็น 4.31±0.08% g/g DRC มีค่าสูงกว่าข้อมูลที่เคยรายงานในน้ำยางสดประมาณ 2 เท่า คือ 1-1.5% g/g latex หรือประมาณ 1.70-2.55% g/g DRC (บุญธรรม, 2527 และ Blackley, 1997) อย่างไรก็ตามรายงานดังกล่าวไม่ได้ระบุวิธีการวิเคราะห์ และไม่มีข้อมูลยืนยันการตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธี

นอกจากนี้การรายงานปริมาณโปรตีนทั้งหมดด้วยวิธีเจดดาห์ลโดยทั่วไปจะนำเอาแฟกเตอร์ 6.25 มาคูณร้อยละของอะตอมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ ซึ่งแฟกเตอร์ 6.25 เป็นค่าที่ใช้ในการบ่งบอกโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อสัตว์ เมื่อนำมาใช้ในการคำนวณโปรตีนในน้ำยางค่าที่ได้

ไม่น่าจะเป็นตัวแทนที่เหมาะสม ควรมีการศึกษาหาแฟกเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับโปรตีนในน้ำยาง หรือจากพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับน้ำยาง ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้รายงานปริมาณโปรตีนในรูปของ ปริมาณไนโตรเจนทั้งนี้เพื่อให้สามารถใช้ตรวจสอบความสอดคล้องของปริมาณโปรตีนที่ได้จาก วิธีการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์และการทำปฏิกิริยาของโปรตีนในรูปของกรดอะมิโน

ข. ผลการศึกษาวิธีวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์

จากการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดของทั้งสองวิธี พบผลดังนี้

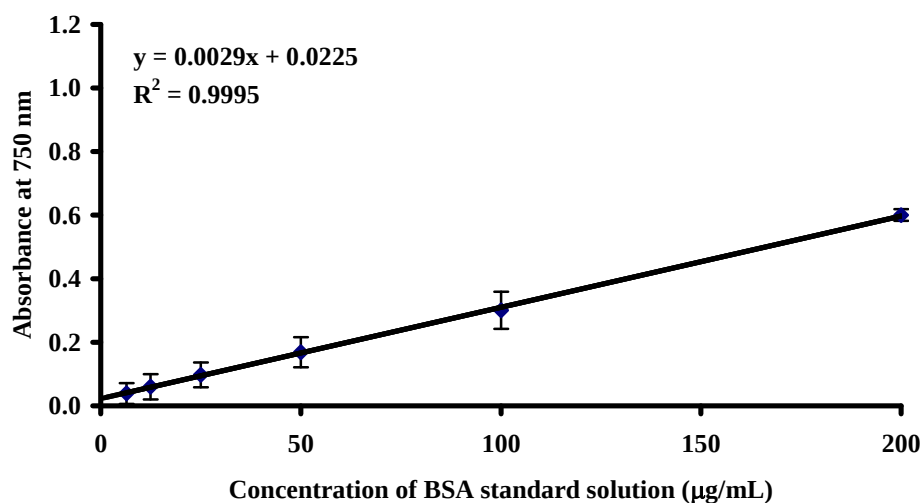
ก) วิธี MS 1392: 1998

จากการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยวิธี MS 1392: 1998 ซึ่งเป็น วิธีทดสอบมาตรฐานที่ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำยาง เช่น ถู่มือแพทย์ ถูยางอนามัย และเครื่อง เล่นกีฬาบางชนิด เป็นต้น มาใช้กับน้ำยางธรรมชาติ พบผลการศึกษาดังนี้

1) ผลการศึกษากฎมาตรฐาน

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานโปรตีน BSA ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/mL}$ ไปทำปฏิกิริยาฟอร์ม สีและวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 735-770 นาโนเมตร พบที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 750 นาโนเมตร สารเชิงซ้อนของโปรตีนที่เตรียมได้มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด (λ_{max})

เมื่อวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโปรตีน BSA โดยวิธี MS 1392: 1998 แล้ววัดค่าการ ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ได้กราฟมาตรฐานที่มี ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง อยู่ในช่วงความเข้มข้น 6.25-100 $\mu\text{g/mL}$ ค่าสมการเส้นตรงที่ได้ $y = 0.0029x + 0.0225$ และ $R^2 = 0.9995$ ดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน BSA

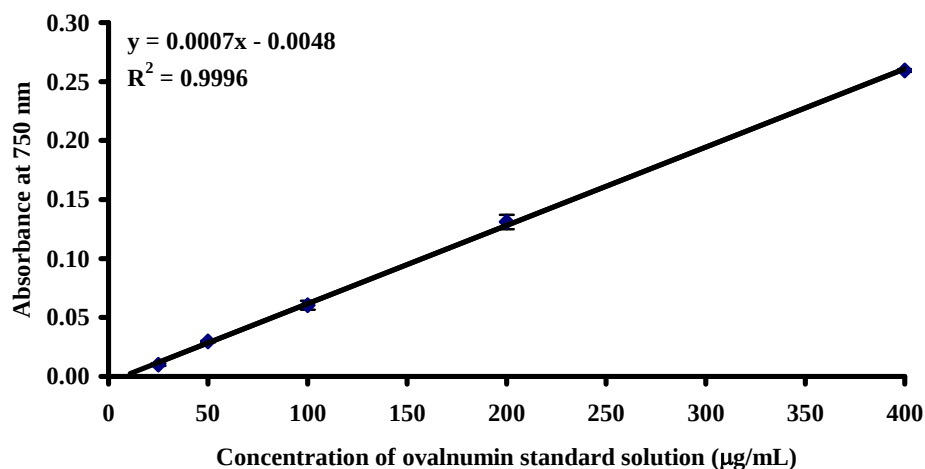
2) ผลการศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

จากการศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางด้วยวิธี MS 1392: 1998 พบปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางขึ้นพบอยู่ในช่วง 0.27 ± 0.04 %g/g DRC โดยค่าความเที่ยงและความแม่นยำเท่ากับร้อยละ 7.67 ± 3.43 และ 93.86 ± 1.03 ตามลำดับ และพบขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ $15.09 \mu\text{g/mL}$

ii. วิธี ISO 12243: 2003

1) การศึกษากราฟมาตรฐาน

จากการศึกษากราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโปรตีนโอวัลบูมิน โดยวิธี ISO 12243: 2003 ซึ่งเป็นวิธีทดสอบมาตรฐานที่ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำยางเช่นเดียวกับวิธี MS 1392: 1998 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 735-770 นาโนเมตร พบที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ได้กราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 25-400 $\mu\text{g/mL}$ ค่าสมการเส้นตรงที่ได้ $y = 0.0007x + 0.0048$ และ $R^2 = 0.996$ ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโอวัลบูมินโดยวิธี ISO 12243: 2003

อย่างไรก็ตามเนื่องจากวิธี ISO 12243: 2003 ต้องใช้สารละลายบัฟเฟอร์ (*N*-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-amino-ethanesulfonic acid hemisodium salt, TES) ซึ่งเป็นสารที่มีราคาแพง การศึกษานี้ได้เลือกใช้วิธี MS 1392: 1998 ในการติดตามปริมาณโปรตีนน้ำยาง

2) ผลการศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

จากการศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางด้วยวิธี ISO 12243: 2003 พบมีค่าความแม่นยำโดยร้อยละของการกู้คืนและความเที่ยงโดยค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวนเท่ากับ 87.76 ± 4.93 และ 10.02 ± 4.26 ตามลำดับ และขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ $19.16 \mu\text{g/mL}$ และปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากการเก็บตัวอย่างสามครั้งจากโรงงานเดียวกัน อยู่ในช่วง $0.21 \pm 0.03\%$ g/g DRC

เนื่องจากวิธีในการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำยางชั้นโดยการทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์ และวัดการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี ได้ศึกษา 2 วิธีด้วยกัน คือวิธี MS 1392: 1998 และ ISO 12243: 2003 โดยหาปริมาณโปรตีนในน้ำยางชั้นโดยศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์พบว่า การวิเคราะห์โดยวิธี MS 1392:1998 มีความน่าเชื่อถือในระดับเดียวกับการวิเคราะห์โดยวิธี ISO 12243: 2003 คือ มีค่าความแม่นยำโดยร้อยละของการกู้คืนและความเที่ยงโดยค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวนเท่ากับ 93.86 ± 1.03 และ 7.67 ± 3.43 ตามลำดับ และขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ $15.10 \mu\text{g/mL}$

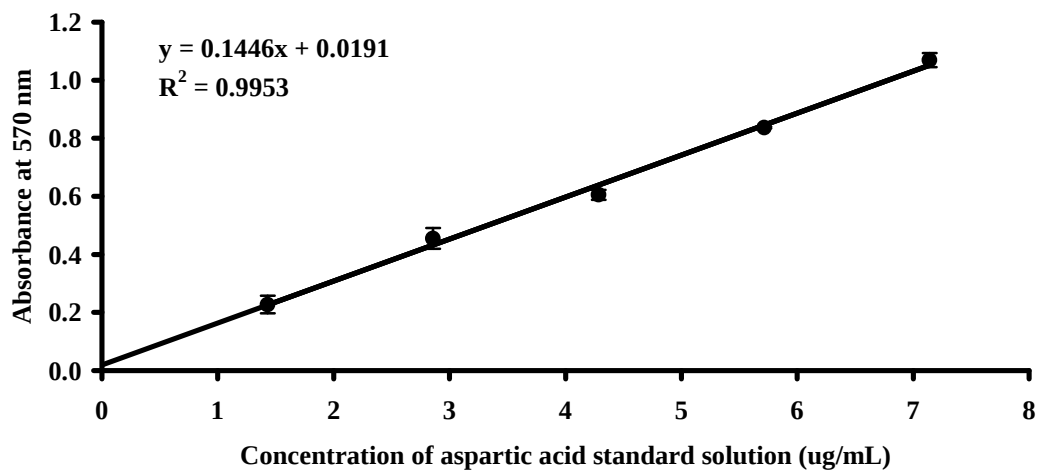
ค.ผลการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโน

ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดและทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโนโดยปฏิกิริยานินไฮดริน พบผลการศึกษาดังนี้

1) ผลการศึกษากฎมาตรฐาน

ในขั้นแรกทำการศึกษาหาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสารประกอบเชิงซ้อนของกรดอะมิโนหลังทำปฏิกิริยากับนินไฮดริน (Plummer, 1987) จากนั้นตรวจสอบช่วงความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแอสปาร์ติกความเข้มข้น $20 \mu\text{g/mL}$ เป็นตัวแทนของกรดอะมิโนในน้ำยาง วิเคราะห์การดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 550-590 นาโนเมตร พบที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

จากการวิเคราะห์กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแอสปาร์ติก พบวิธีนินไฮดรินสามารถวิเคราะห์กรดอะมิโนได้ที่ช่วงความเข้มข้นต่ำในช่วง $1.0-7.0 \mu\text{g/mL}$ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าวิธีที่ทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์ ค่าความสัมพันธ์ของสมการเส้นตรงที่ได้ $y = 0.1446x + 0.0191$ และ $R^2 = 0.9953$ ดังแสดงในรูปที่ 4.8

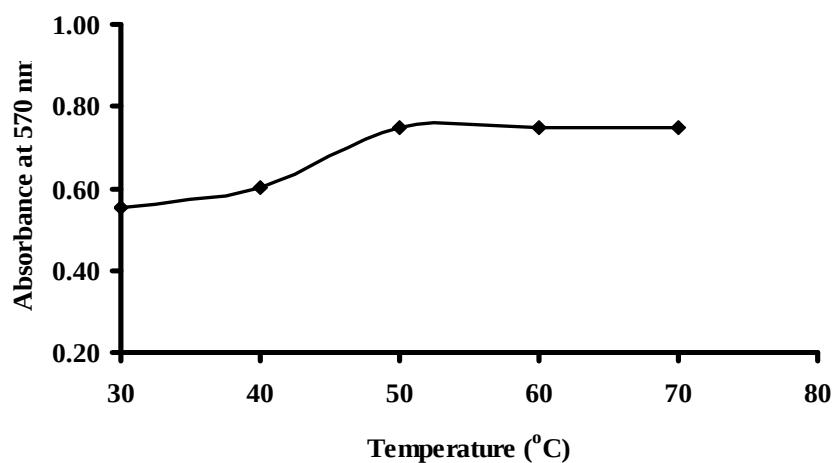


รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสปาร์ติกใน 2%CH₃COOH

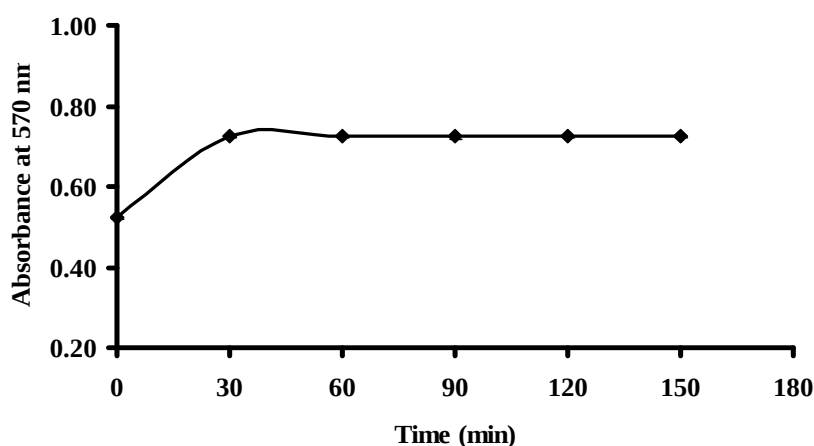
เมื่อศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีโดยใช้โปรตีนโอวัลบูมิน พบค่าความแม่นยำและค่าความเที่ยงอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้เท่ากับ 95.91 ± 2.58 และ 9.64 ± 2.58 ตามลำดับ โดยขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ $1.18 \text{ } \mu\text{g/mL}$ ซึ่งอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าวิธีที่ใช้การทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์ถึงประมาณ 10 เท่า

2) ผลการศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาดูกลินแอสกับกรดอะมิโนร่วมกับการไฮโดรไลซ์โปรตีนให้กลายเป็นกรดอะมิโน แล้วฟอร์มสีด้วยสารละลายนินไฮดริน ได้ทำการทดลองหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ซึ่งมีตัวอย่างน้ำยางซึ่งการสลายพันธะโพลีเปปไทด์ด้วยกรดอะมิโนโดยใช้ความร้อนที่เหมาะสมให้กลายเป็นกรดอะมิโนแล้วหาปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดโดยวิธีนินไฮดรินซึ่งได้ผลดังรูปที่ 4.12 โดยพบที่อุณหภูมิ $50-70^{\circ}\text{C}$ ค่าการดูกลินแอสกึ่งที่แสดงว่าอุณหภูมิในช่วงนี้สามารถสลายพันธะโพลีเปปไทด์ได้สูงสุดจากโปรตีนโมเลกุลใหญ่เหลือเพียงกรดอะมิโน ดังนั้นการศึกษากการไฮโดรไลซ์โพลีเปปไทด์ได้เลือกศึกษาที่อุณหภูมิ 60°C เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีนในรูปกรดอะมิโน จากนั้นทำการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ที่อุณหภูมิ 60°C พบว่าที่เวลา 30-60 นาทีมีค่าการดูกลินแอสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วการสลายพันธะโพลีเปปไทด์ยังเกิดไม่สมบูรณ์ ในขณะที่เวลา 60-150 นาที ค่าการดูกลินแอสจะคงที่แสดงว่าโปรตีนโมเลกุลใหญ่ได้ถูกสลายเป็นกรดอะมิโนได้สูงสุด ดังรูปที่ 4.9 จึงใช้เวลาการไฮโดรไลซ์ที่ 60 นาที อุณหภูมิ 70°C ในการหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปของกรดอะมิโนต่อไป



รูปที่ 4.9 ผลของอุณหภูมิต่อการไฮโดรไลซ์โปรตีนในซีรัมตัวอย่างน้ำยางด้วยกรดอะซิติก



รูปที่ 4.10 ผลการศึกษาระยะเวลาการไฮโดรไลซ์ในซีรัมตัวอย่างน้ำยางด้วยกรดอะซิติก

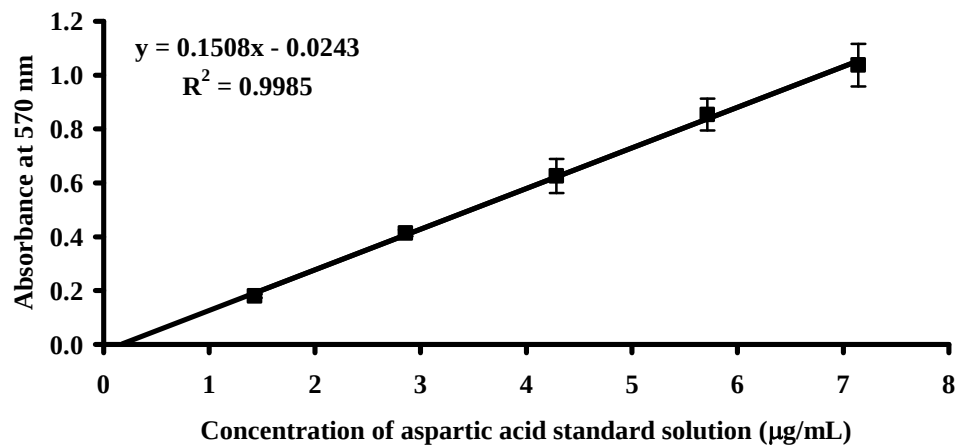
จากการศึกษาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปกรดอะมิโนด้วยวิธีนินไฮดรินในตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง พบปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงอยู่ในช่วง $3.67 \pm 0.07\%$ g/g DRC (n=3)

4.1.2.2.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน

การศึกษาปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ ณ เวลาใด ๆ ได้ทำการเตรียมซีรัมน้ำยางด้วย $2\% \text{CaCl}_2$ แทนการใช้ $2\% \text{CH}_3\text{COOH}$ เพื่อป้องกันการเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนอันเนื่องมาจากการสลายตัวโปรตีนด้วยกรด เพื่อจะได้ทราบถึงส่วนต่างระหว่างปริมาณโปรตีนที่อยู่ในรูปของโมเลกุลใหญ่และที่มีอยู่แล้วในรูปของกรดอะมิโน ณ เวลาใด ๆ

1) ผลการศึกษากราฟมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์สารละลายกรดแอสปาร์ติกมาตรฐานในสารละลาย 2%CaCl₂ เพื่อใช้ในการหาปริมาณกรดอะมิโน พบค่าความสัมพันธ์ของสมการเส้นตรงที่ได้ $y = 0.1508x - 0.0243$ และ $R^2 = 0.9985$ ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสปาร์ติกละลายใน 2%CaCl₂

จากการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีพบค่าความแม่นยำและค่าความเที่ยงอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้เท่ากับ 104.67 ± 0.07 และ 4.03 ± 0.43 ตามลำดับ และขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.83 μg/mL

2) ผลการศึกษาปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างน้ำยาง

ในการศึกษาโดยวิธีนี้จะสามารถบอกได้ถึงปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่อยู่ในรูปโมเลกุลใหญ่และในรูปกรดอะมิโนที่มีอยู่เดิม ณ เวลาใด ๆ เพื่อใช้ติดตามการสลายตัวของโปรตีนในน้ำยาง

จากการศึกษาปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ ณ เวลาใด ๆ ในน้ำยางด้วยวิธีนินไฮดริน พบปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง $1.60 \pm 0.03\%$ g/g DRC หรือพบกรดอะมิโนคิดเป็นร้อยละ 43.59 ของโปรตีนทั้งหมด

4.1.2.3 ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณสารประกอบคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางธรรมชาติน่าจะเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพและประสิทธิภาพของการเก็บรักษาน้ำยางได้อีกประการหนึ่ง ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำยางสามารถใช้สารประกอบคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งอาหารได้ ในการศึกษานี้จะทำการหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยการย่อยให้อยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยการใช้กลูโคสเป็นสารละลาย

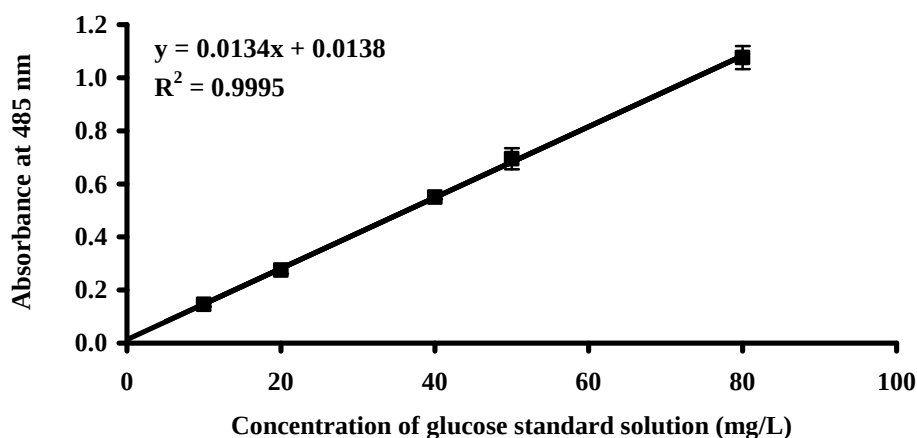
มาตรฐาน วิธีที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ วิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก (Dubois และคณะ, 1956, Gerchakov และ Hatcher, 2008, Cuesta และคณะ 2003 และ Masuko และคณะ, 2005) และวิธี 3,5-กรดไนโตรซาลิไซลิก (Miller, 1959) จึงได้นำวิธีการทั้งสองมาศึกษาเพื่อพัฒนาใช้กับน้ำยางธรรมชาติ

4.1.2.3.1 ผลการศึกษาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

ก. ผลการศึกษาวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก

1) ผลการศึกษากาฟมาตรฐาน

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ทำปฏิกิริยาตามวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก แล้วมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 485 นาโนเมตร ที่ให้สัญญาณเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 10-80 mg/L ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dubois และคณะ (1956) และ Cuesta และคณะ (2003) ได้สมการเส้นตรง $y = 0.0134x + 0.0138$ และค่า R^2 เท่ากับ 0.9998 ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์กลูโคสด้วยวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก

2) ผลการศึกษาในน้ำยาง

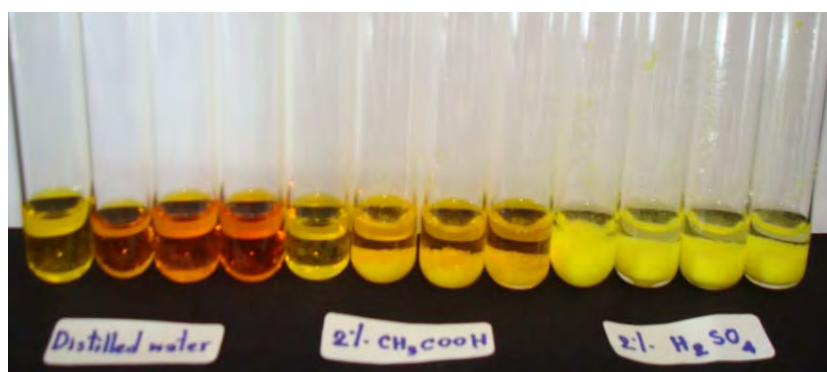
จากการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดเล็กกว่า $0.45 \mu\text{m}$ ในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงหลังผ่านการกรองด้วยเชือกกรอง โดยทำการย่อยคาร์โบไฮเดรตด้วยกรดอะซิติกให้อยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเล็ก จากนั้นจึงวิเคราะห์น้ำตาลโมเลกุลเล็กที่อยู่ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก พบปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางชั้นอยู่ในช่วงร้อยละ $0.84 \pm 0.01\%$ g/g DRC ซึ่งใกล้เคียงกับที่เคยมีการรายงาน ซึ่งพบปริมาณน้ำตาลในน้ำยางธรรมชาติอยู่ในช่วง 1.00-

1.50% w/w (บุญธรรมและคณะ, 2530; Blackley, 1997 และ Resing, 2000) อย่างไรก็ตามค่าที่เคยมีการรายงานไม่ได้ระบุวิธีและค่าการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีที่จะทำให้โรงงานนำไปใช้ในการศึกษานี้พบความน่าเชื่อถือของวิธีสูง โดยค่าความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 99.36 ± 2.89 และ 2.91 ± 0.54 ตามลำดับ และค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ $2.65 \mu\text{g/mL}$

4.1.2.3.2 ผลการศึกษาวิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก

1) ผลการศึกษากฎมาตรฐาน

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ในแต่ละตัวกลางที่เป็นน้ำกลั่นและสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 2% มาทำปฏิกิริยาตามวิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-Dinitrosalicylic acid, DNS) พบสารเคมีเกิดการตกตะกอนในสารละลายตัวกลางที่เป็นกรดความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ทั้งสองได้แก่ กรดอะซิติก และกรดซัลฟิวริก ในขณะที่ตัวกลางที่เป็นน้ำไม่มีตะกอน ดังแสดงในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 ลักษณะของสารละลายมาตรฐานกลูโคสเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลาย DNS ในตัวกลางชนิดต่าง ๆ

จากผลการทดลองดังกล่าวทำให้สามารถสรุปได้ว่าการศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางธรรมชาติในครั้งนี้เลือกใช้วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก เนื่องจากไม่มีปัญหาการเกิดตะกอนในการทำปฏิกิริยาเหมือนในกรณีวิธี DNS ซึ่งไม่สามารถนำมาใช้ได้เนื่องจากในการเตรียมซีรัมจากน้ำยาง มีขั้นตอนการใช้กรดในการจับตัวน้ำยาง ซึ่งอาจทำให้สาร DNS เสียสภาพได้ จึงควรหลีกเลี่ยงการใช้สารตัวนี้ในกรณีการหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางธรรมชาติที่มีการใช้กรดเป็นสารจับตัวน้ำยาง

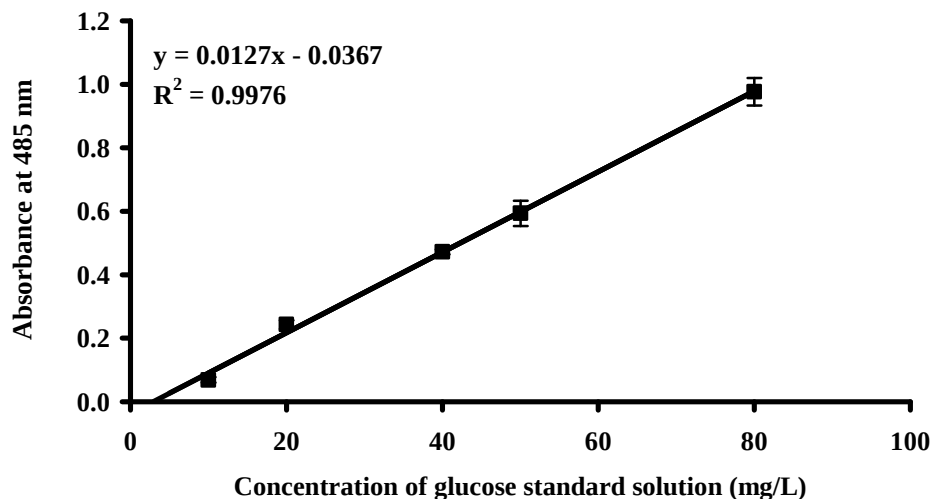
2) ผลการศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

จากผลการศึกษากราฟมาตรฐานพบวิธีนี้ไม่เหมาะกับการวิเคราะห์ในน้ำยาง จึงไม่ได้ใช้
ทำการศึกษาต่อในตัวอย่างน้ำยาง

ข. ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1) ผลการศึกษากราฟมาตรฐาน

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสที่ละลายใน 2%CaCl₂ และวิเคราะห์ด้วยวิธี
DNS พบมีความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของกลูโคสเป็นสมการเส้นตรง
 $y = 0.0127x - 0.0367$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9976 ดังรูปที่ 4.14



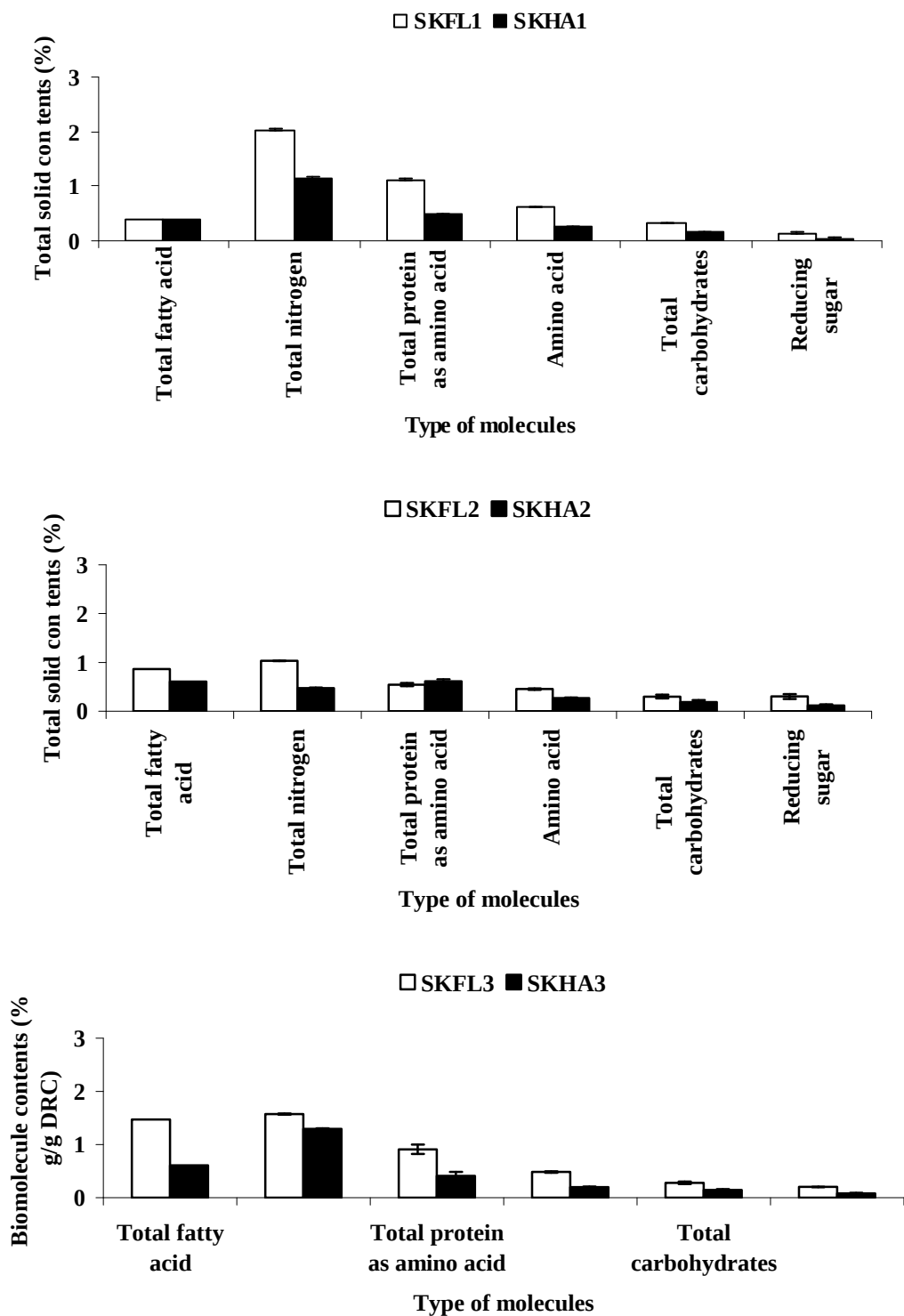
รูปที่ 4.14 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2) ผลการศึกษาในตัวอย่างน้ำยาง

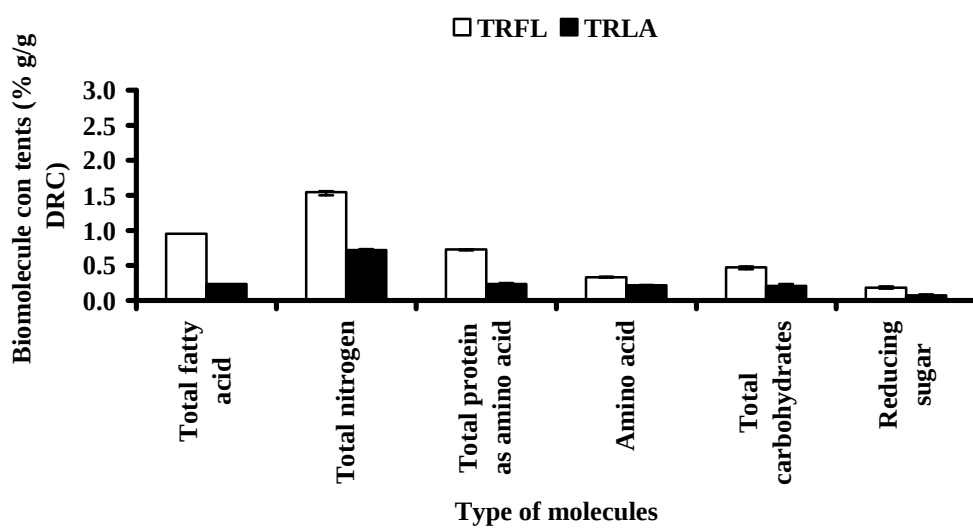
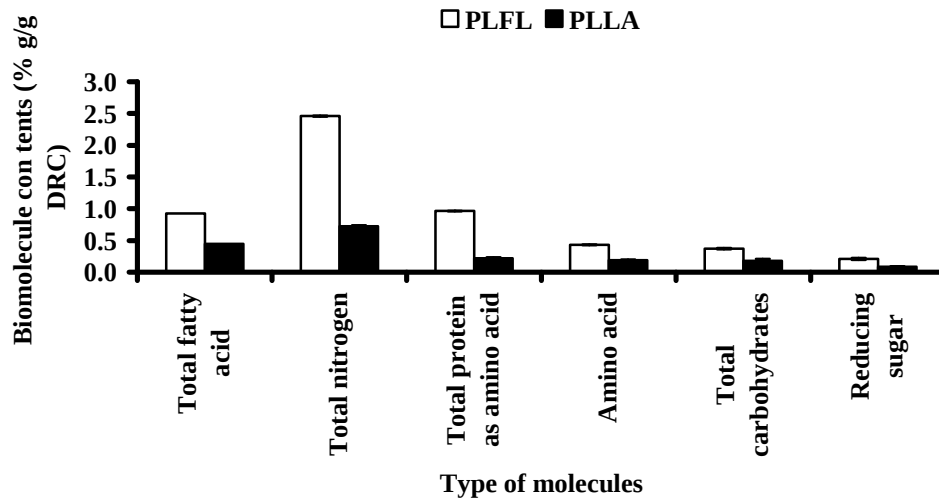
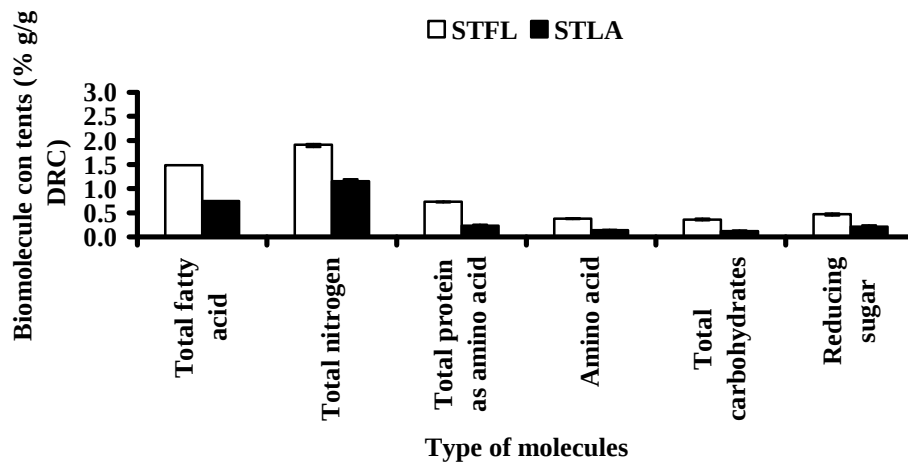
จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่แล้ว ณ เวลาใด ๆ ในน้ำยางชั้น โดยการ
จับตัวเนื้อมีด้วย 2% CaCl₂ แทนการใช้กรดทั้งนี้ เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารคาร์โบไฮเดรต
โมเลกุลใหญ่ แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก พบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำยางชั้น
อยู่ในช่วง $0.49 \pm 0.06\%$ g/g DRC ในการศึกษาพบความน่าเชื่อถือของวิธี ดังนี้ ค่าความแม่นยำโดย
ร้อยละของการกู้คืนและค่าความเที่ยงโดยค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนเท่ากับร้อยละ
 102.46 ± 0.44 และ 0.42 ± 0.04 ตามลำดับ และค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ $5.14 \mu\text{g/mL}$

จากผลการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในน้ำยางสดและน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจาก
สามโรงงาน อาจสรุปภาพรวมได้ว่าหลังการปั่นเหวี่ยงน้ำยางสดเพื่อเอาส่วนที่เป็นน้ำออกไป
บางส่วน ส่งผลให้ปริมาณของสารชีวโมเลกุลในน้ำยางชั้นมีระดับลดลงกว่าในน้ำยางสด โดย

ปริมาณกรดไขมันที่ตรวจวัดได้ลดลง 21.18-58.73% โปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาห์ลในโตรเจนลดลง 17.74-50-53% โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาด้วยกรดอะมิโนลดลง 17.75-67.28% กรดอะมิโนลดลง 54.29-61.97% คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดลดลง 10.24-78.98% และน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงมากที่สุดคืออยู่ในช่วง 60.64-83.21% ทั้งนี้จะเนื่องมาจากน้ำตาลรีดิวซ์มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าสารประกอบประเภทอื่น ๆ และมีความมีขั้วสูงกว่าจึงสามารถละลายในน้ำได้ดีกว่า จึงถูกแยกออกไปกับส่วนที่เป็นน้ำหลังการปั่นเหวี่ยง ดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 การลดลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยางธรรมชาติก่อนและหลังการปั่นเหวี่ยงและเตรียมเป็นน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูง ตัวอย่างจากโรงงานเดียวกันครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.20 การลดลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยางธรรมชาติหลังการปั่นเหวี่ยง (n=3)
ตัวอย่างจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

4.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในน้ำยาง

ได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพควบคู่กับการติดตามการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุล เพื่อศึกษาความสัมพันธ์กับค่าความเสถียรเชิงกลในน้ำยางธรรมชาติ โดยทำการศึกษาใน 3 ลักษณะ ได้แก่ ตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากโรงงานเดียวกันโดยเก็บตัวอย่างจำนวนสามครั้ง ตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจาก 3 โรงงานโดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรี และตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำจากจาก 3 โรงงานโดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรัง ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดได้ทำการติดตามทุก ๆ 7 วัน เป็นระยะเวลากว่า 1 เดือน พบผลการศึกษาดังนี้

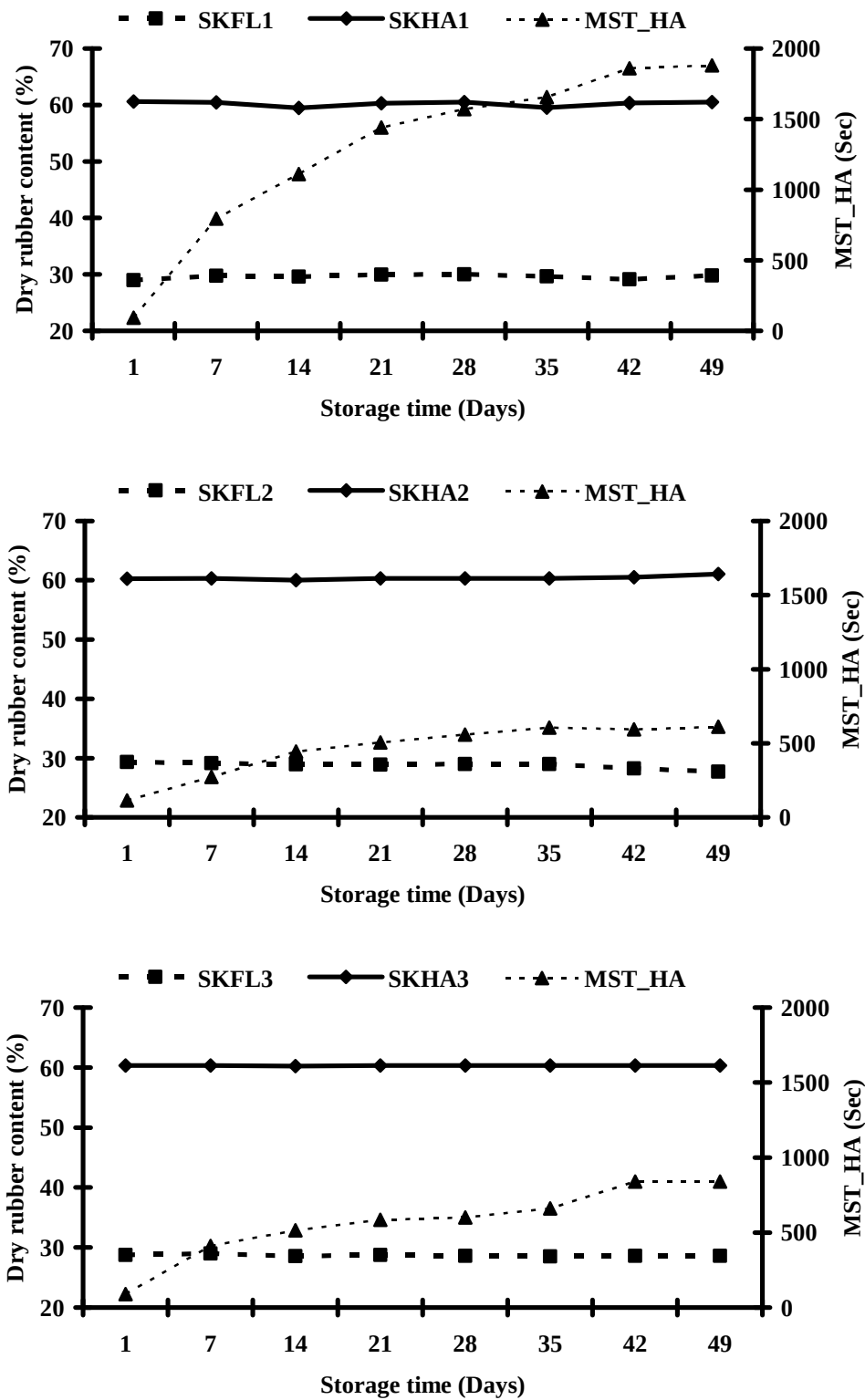
4.2.1 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพ

4.2.1.1 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเนื้อยางแห้ง

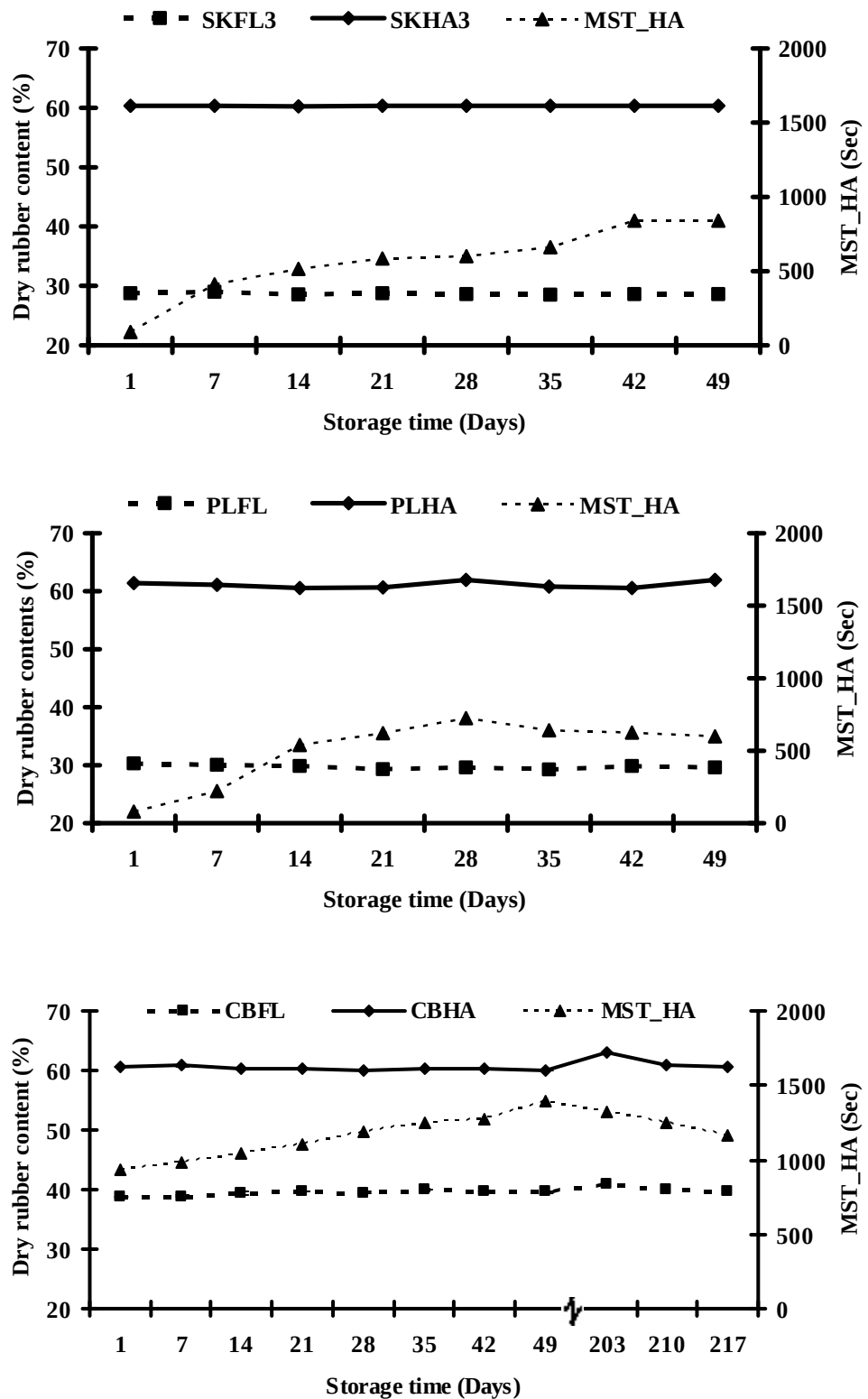
จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเนื้อยางแห้งของน้ำยางจากโรงงานเดียวกันพบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นปริมาณเนื้อยางแห้งในน้ำยางสดมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อทดสอบข้อมูลทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังรูปที่ 4.21 โดยในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณเนื้อยางแห้งอยู่ในช่วง 28.96-30.01, 27.73-29.36 และ 28.49-28.98% g/g น้ำยาง ตามลำดับ โดยปริมาณเนื้อยางแห้งมีความสอดคล้องกับปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณเนื้อยางแห้งที่พบอยู่ในช่วงเดียวกับที่เคยมีการรายงานไว้คือที่ร้อยละ 25-45 (Blackley, 1997; Resing, 2000; Nair, 2000 และบุญธรรม, 2530) ขณะที่ในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงที่เก็บจากโรงงานเดียวกันจำนวน 3 ครั้ง มีปริมาณเนื้อยางแห้งมีแนวโน้มคงที่ในช่วงร้อยละ 59.48-60.60, 60.04-61.07 และ 60.22-60.35% g/g น้ำยาง ตามลำดับ

เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาในน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.22 ปริมาณเนื้อยางแห้งในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา และพัทลุงอยู่ในช่วงเดียวกัน ในขณะที่จังหวัดชลบุรีมีค่าสูงสุด โดยมีค่าปริมาณเนื้อยางแห้งของน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีอยู่ที่ร้อยละ 28.49-28.98, 29.27-30.29 และ 38.82-41.00% g/g น้ำยาง ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางชั้นจากทั้งสามจังหวัดพบอยู่ในช่วงเดียวกันที่ร้อยละ 60.22-60.35%, 60.56-61.94 และ 60.09-63.00% g/g น้ำยาง ตามลำดับ

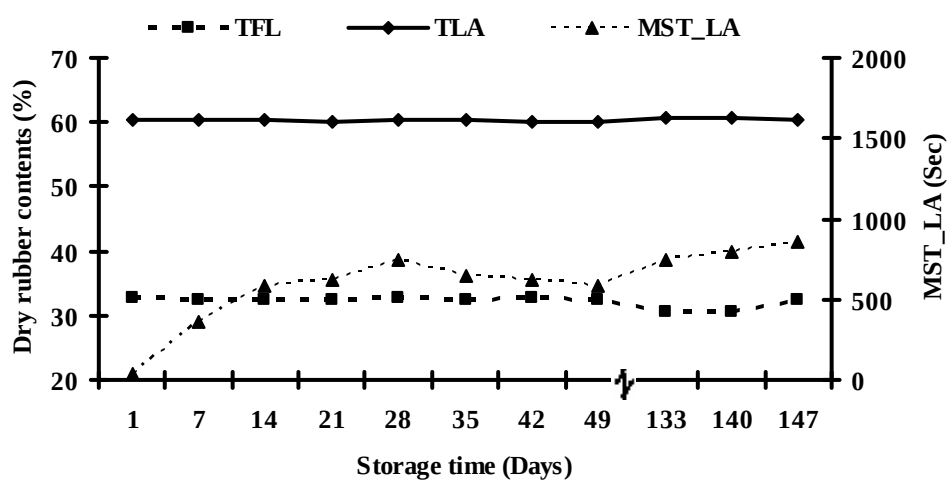
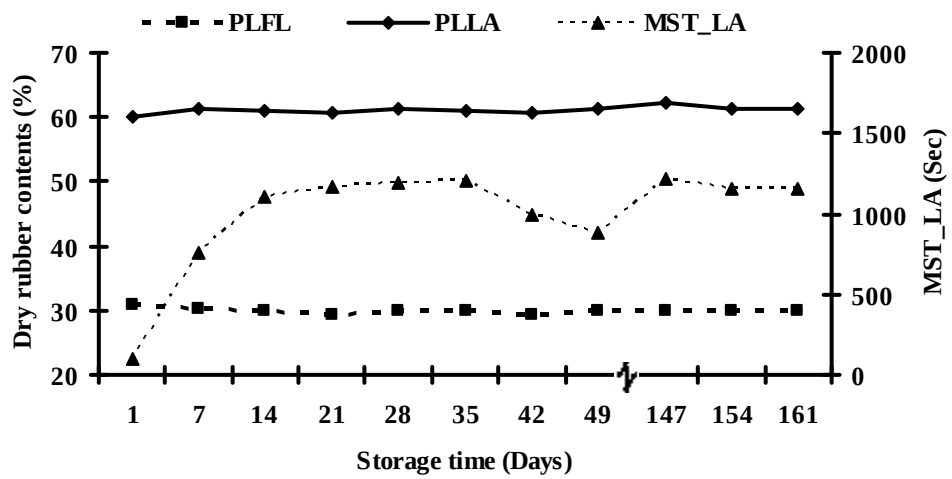
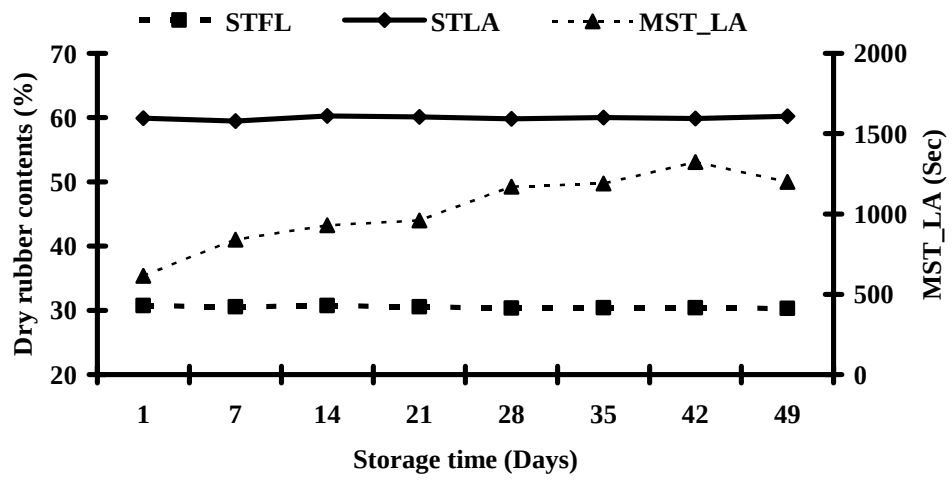
การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.23 โดยในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังมีปริมาณเนื้อยางแห้งอยู่ในช่วงร้อยละ 30.30-30.74, 29.27-30.74 และ 32.60-32.66% g/g น้ำยาง ตามลำดับ และในน้ำยางชั้นพบอยู่ในช่วงร้อยละ 59.43-60.24, 59.92-62.34 และ 60.03-60.63% g/g น้ำยาง ตามลำดับ



รูปที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเนื้อยางแห้งในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน)
ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.22 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเนื้อยางแห้งของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน)
พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเนื้อยางแห้งของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน)
พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

แม้ว่าระดับปริมาณเนื้อยางแห้งเมื่อเก็บน้ำยางไว้จะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์กับความเสถียรเชิงกลไม่พบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

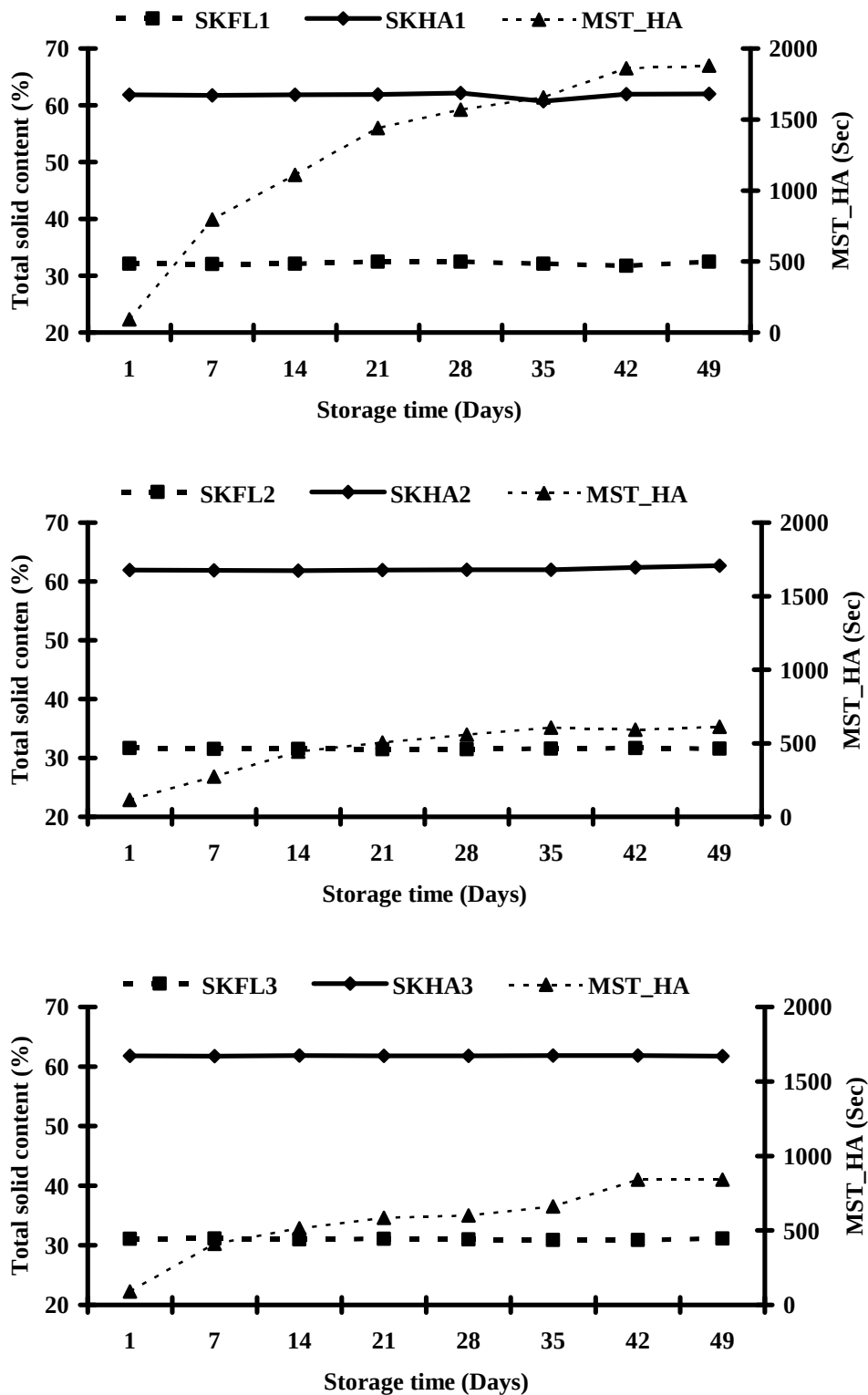
4.2.1.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมด

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยางสดมีแนวโน้มลดลงซึ่งน่าจะมีผลมาจากการลดลงของปริมาณเนื้อยางแห้ง แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังรูปที่ 4.24 โดยในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 31.73-32.48, 31.48-31.66 และ 30.91-31.15% g/g TSC ตามลำดับ ค่าที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เคยรายงานในน้ำยางสดอยู่ในช่วงร้อยละ 27-48 (Blackley, 1997; Resing, 2000 และบุญธรรม, 2530) ในขณะที่น้ำยางข้นมีแนวโน้มคงที่ในช่วงร้อยละ 60.70-62.15, 61.83-62.66 และ 61.75-61.83% ตามลำดับ

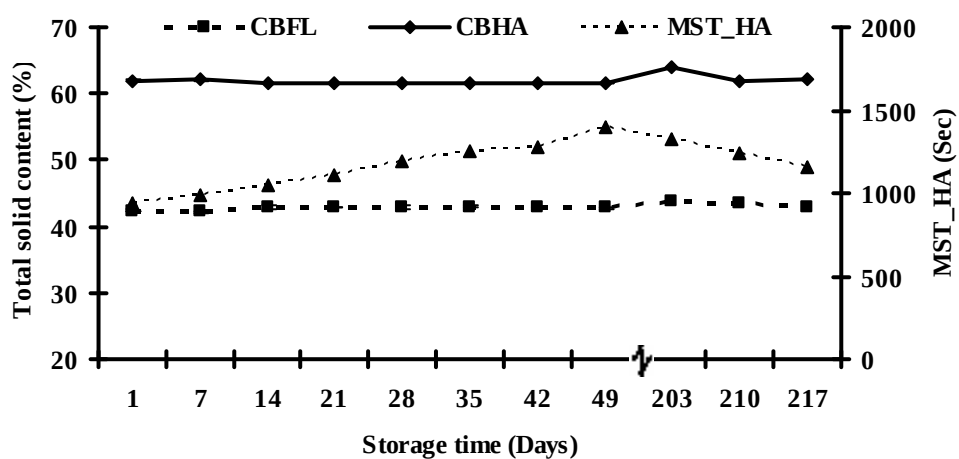
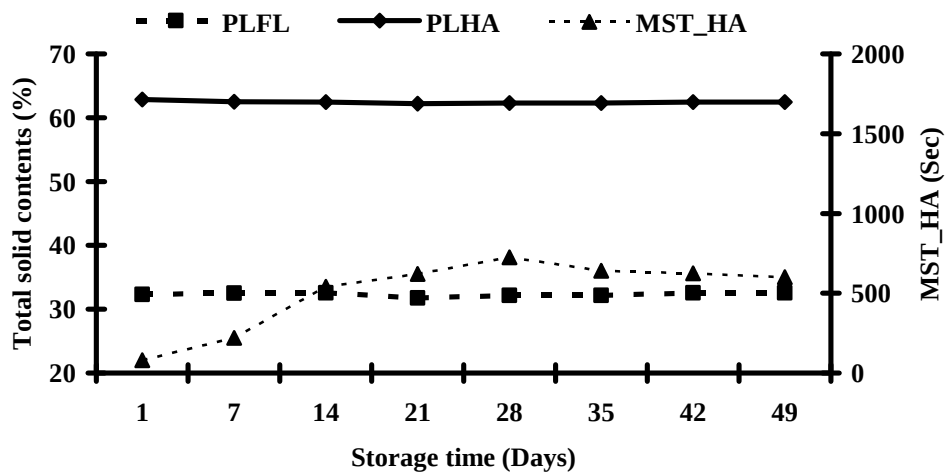
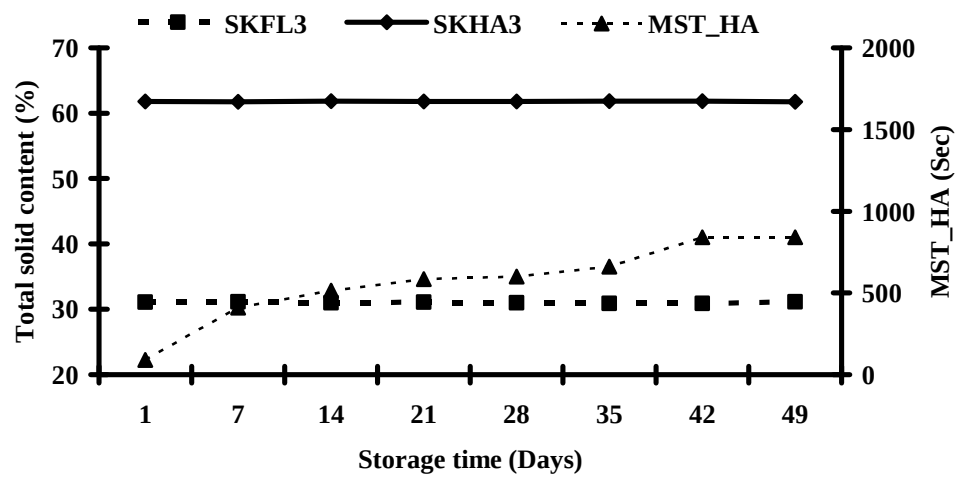
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างจากโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.25 ปริมาณของแข็งทั้งหมดจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรี อยู่ที่ย่อยละ 30.91-31.15%, 31.79-32.54 และ 42.19-43.81% ตามลำดับ ค่าที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เคยรายงานอยู่ในช่วงร้อยละ 27-48 (Blackley, 1997; Resing, 2000 และบุญธรรม, 2530) ส่วนในน้ำยางข้นจากทั้งสามจังหวัดพบอยู่ในช่วงเดียวกันที่ย่อยละ 61.75-61.83%, 62.19-62.86 และ 61.49-64.05% ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.26 โดยปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วงร้อยละ 33.18-38.96, 32.33-32.85 และ 32.12-35.52% ตามลำดับ และในน้ำยางข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 61.48-61.80, 62.49-63.75 และ 61.40-62.77% ตามลำดับ โดยปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยางสดมีน้อยกว่าน้ำยางข้น ค่าที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เคยรายงานในน้ำยางสดอยู่ในช่วงร้อยละ 27-48 (Blackley, 1997; Resing, 2000 และบุญธรรม, 2530) ปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าปริมาณเนื้อยางแห้งเพราะ เนื้อยางแห้งเป็นเพียงส่วนของอนุภาคยางไม่รวมของแข็งอื่น ๆ เช่น พวกโลหะ

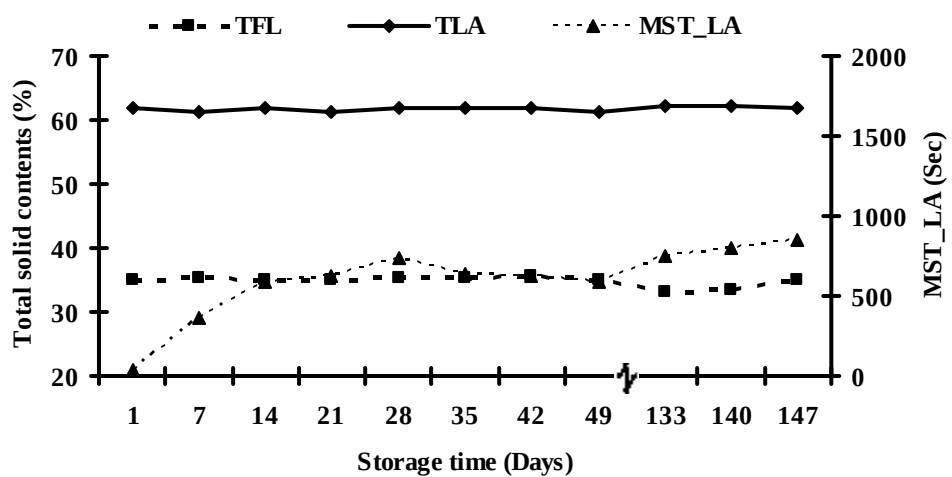
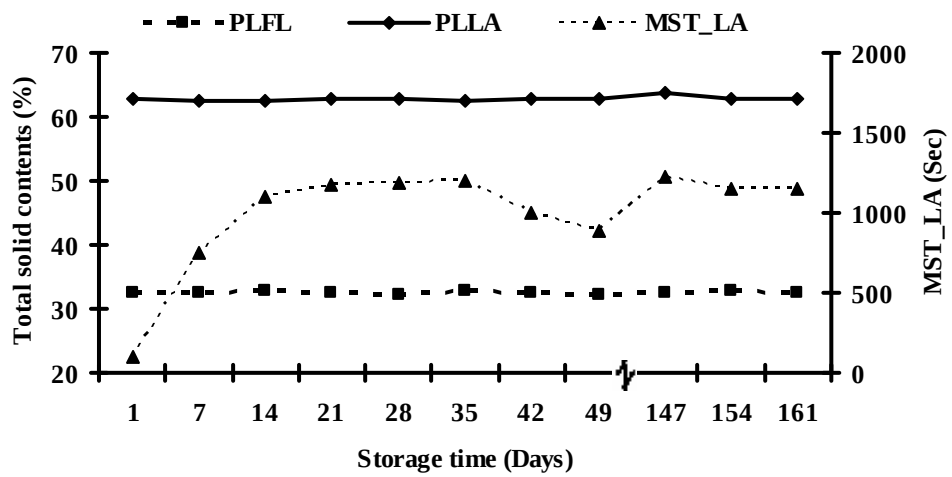
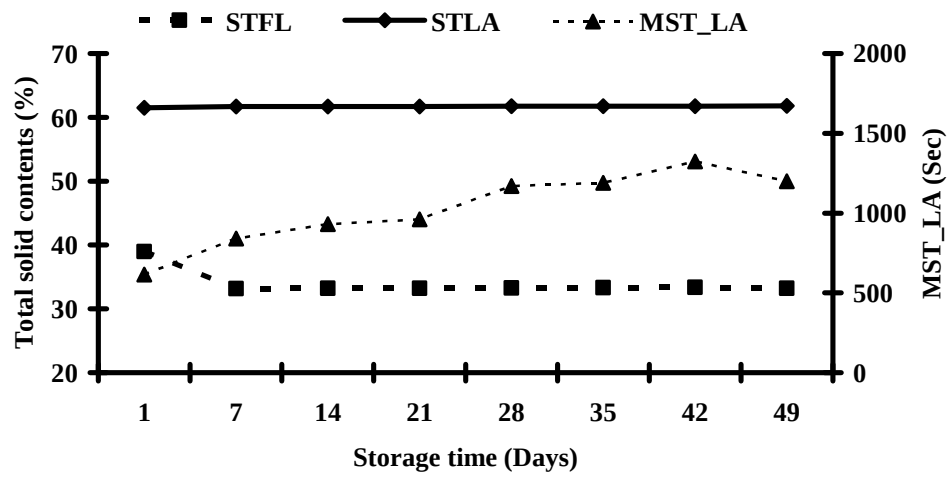
และเมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดกับความเสถียรเชิงกลไม่พบความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 4.24 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน)
ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.25 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน)
พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

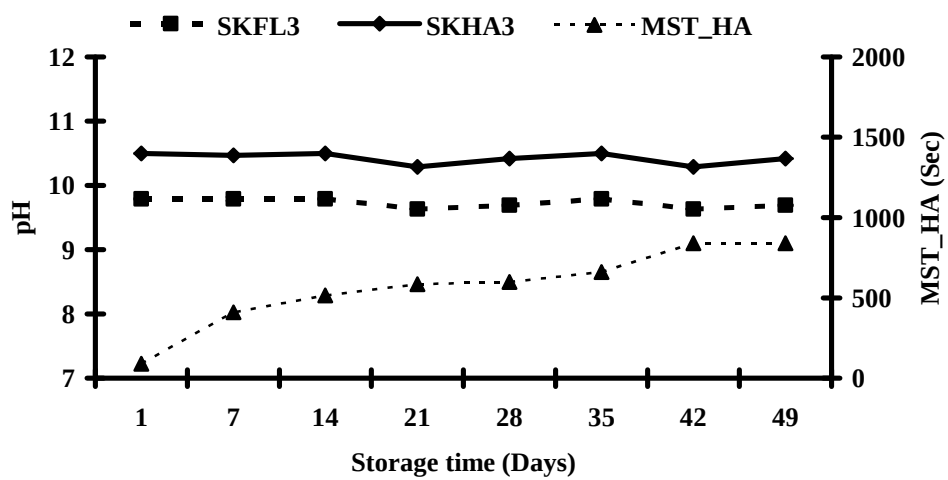
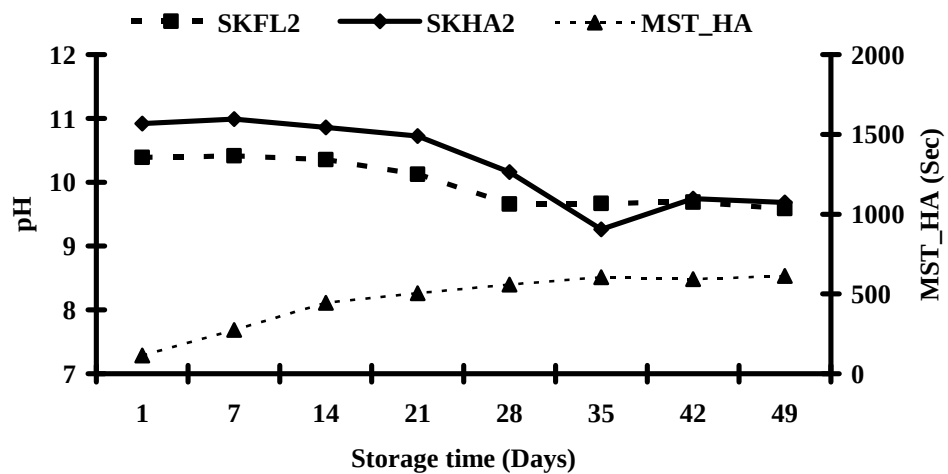
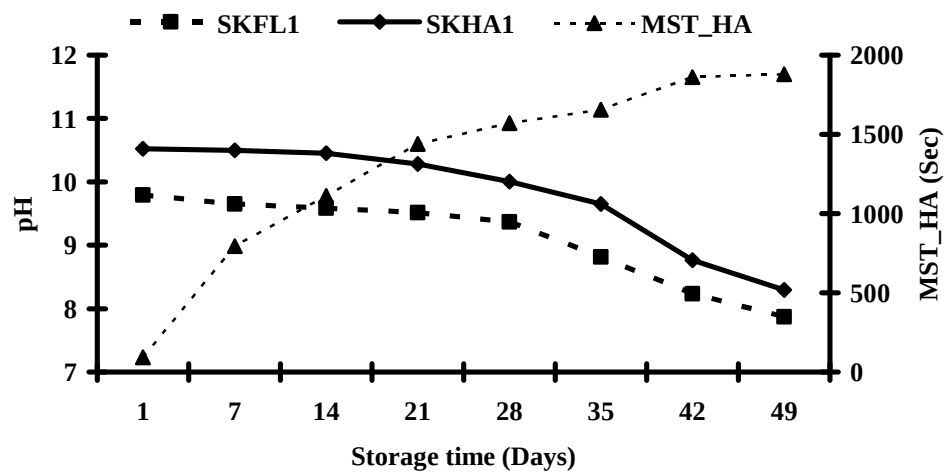
สำหรับปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่เนื้อยางในน้ำยางสด สามารถศึกษาได้จากค่าความแตกต่างระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดและปริมาณเนื้อยางแห้ง พบผลจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีอยู่ในช่วง 2.17-2.55, 2.01-2.93 และ 3.06-3.44% ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางข้นอยู่ในช่วง 1.23-2.35, 0.35-1.89 และ 0.25-1.50% ตามลำดับ โดยทั่วไปค่าที่ได้ในน้ำยางสดไม่ควรเกิน 3% และในน้ำยางข้นไม่เกิน 2% (วารกรณ์, 2525)

4.2.1.3 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

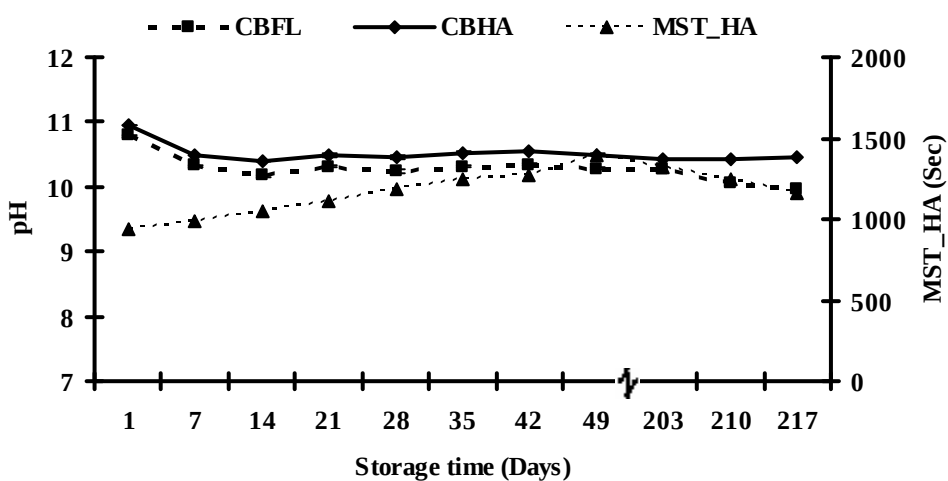
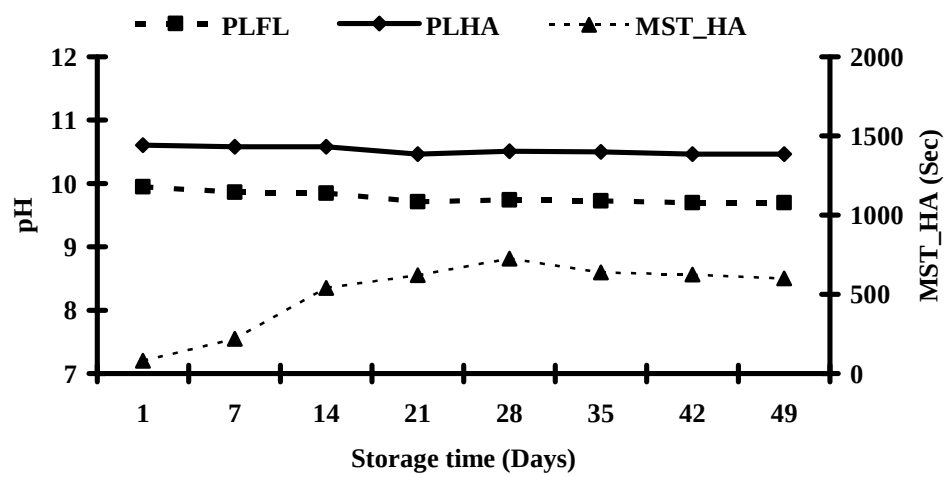
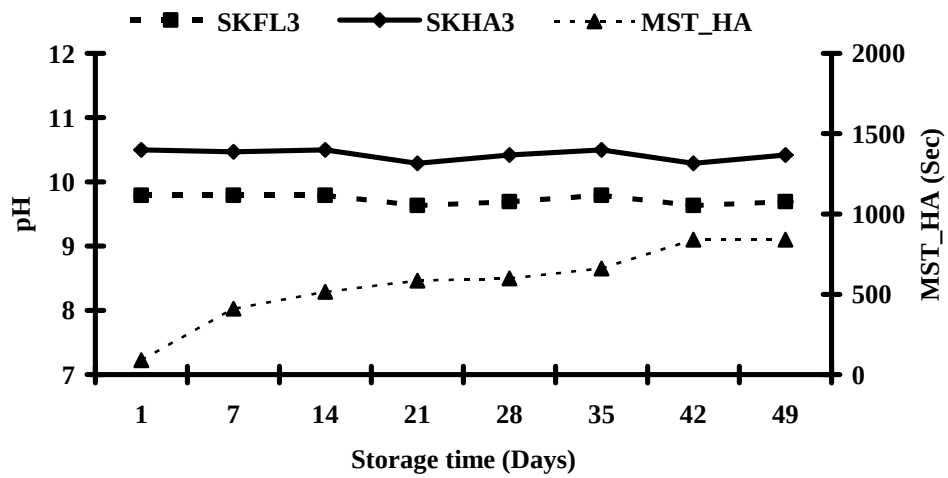
จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยางจากโรงงานเดียวกันพบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางข้นในทุกตัวอย่าง อย่างไรก็ตามแต่เมื่อทดสอบข้อมูลทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังรูปที่ 4.27

ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางสดครั้งที่ 1 และ 2 มีแนวโน้มลดลง ส่วนครั้งที่ 3 มีแนวโน้มคงที่ในช่วง 7.87-9.79, 9.95-10.41 และ 9.63-9.79 ตามลำดับ และในน้ำยางข้นอยู่ในช่วง 8.30-10.52, 9.26-10.99 และ 9.63-9.79 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำยางครั้งที่ 1 และ 2 ได้ทำการเก็บตัวอย่างในภาชนะขนาดใหญ่เมื่อทำการเปิดใช้หลาย ๆ ครั้งอาจส่งผลให้แอมโมเนียระเหยออกมากทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง แต่ในครั้งที่ 3 นั้นได้ทำการแบ่งน้ำยางใส่ในขวดขนาดเล็กเพื่อใช้แต่ละครั้งทำให้ปริมาณแอมโมเนียระเหยออกได้น้อย ในน้ำยางสดมีค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าน้ำยางข้น ทั้งนี้เนื่องจากภายหลังจากการกรีดน้ำยางชาวสวนจะเติมแอมโมเนียในปริมาณน้อย ๆ ประมาณ 0.20 %w/v ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงที่เป็นด่าง และหลังการผลิตเป็นน้ำยางข้นมีการเติมแอมโมเนียลงไปปริมาณที่มากขึ้นถึงประมาณ 0.40-0.70 %w/v เพื่อรักษาสภาพน้ำยางทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางข้นมากกว่าน้ำยางสด

เมื่อทำการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงานพบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.28 ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีมีอยู่ในช่วง 9.63-9.79, 9.70-9.95 และ 9.98-10.78 ตามลำดับ และในน้ำยางข้นอยู่ในช่วง 9.63-9.79, 10.46-10.60 และ 10.40-10.95 ตามลำดับ

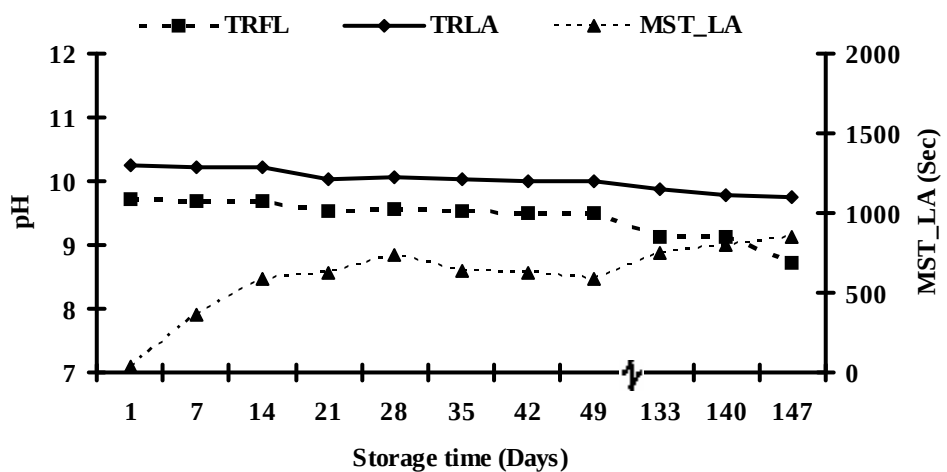
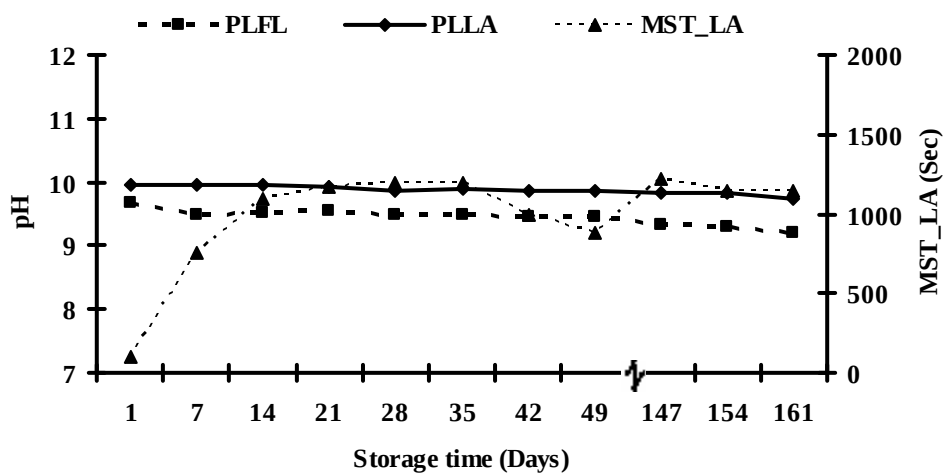
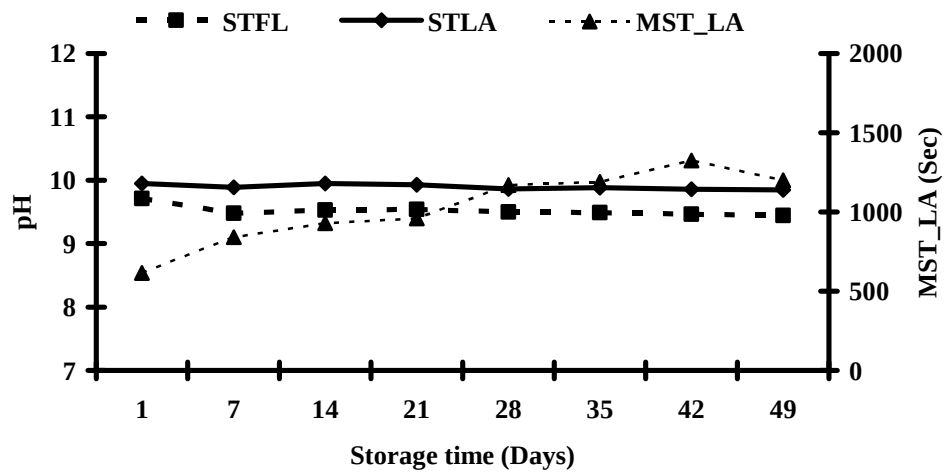


รูปที่ 4.27 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.28 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน)

พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.29 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็พบผลเช่นเดียวกับน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.29 ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังมีอยู่ในช่วง 9.44-9.71, 9.21-9.66 และ 8.73-9.71 ตามลำดับ และในน้ำยางชั้นอยู่ในช่วง 9.85-9.95, 9.72-9.97 และ 9.76-10.25 ตามลำดับ น้ำยางสดมีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ต่างกับในน้ำยางชั้น เนื่องจากน้ำยางชั้นเป็นน้ำยางชนิดแอมโมเนียต่ำ หลังการผลิตเป็นน้ำยางชั้นมีการเติมแอมโมเนียลงไป ปริมาณที่มากขึ้นประมาณ 0.30% w/v และมีการเติมสารเคมีอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น TMTD และ/หรือ ZnO เป็นต้น

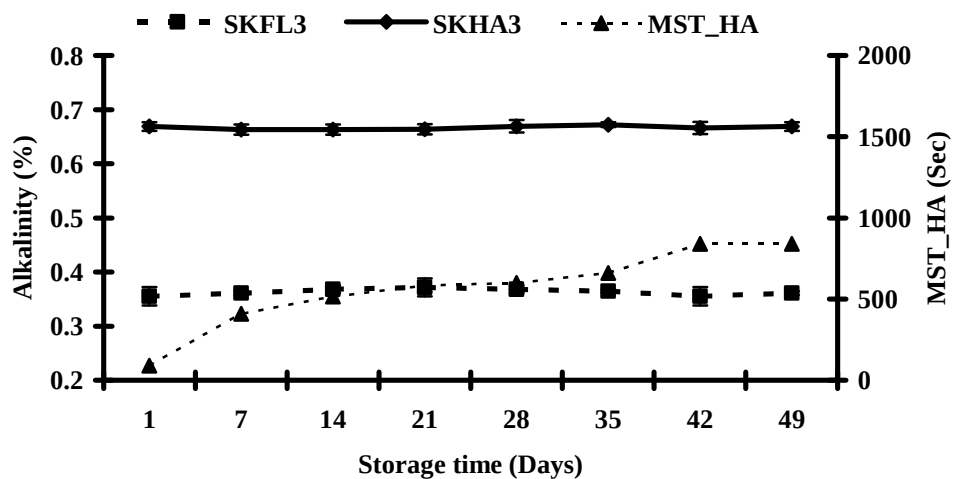
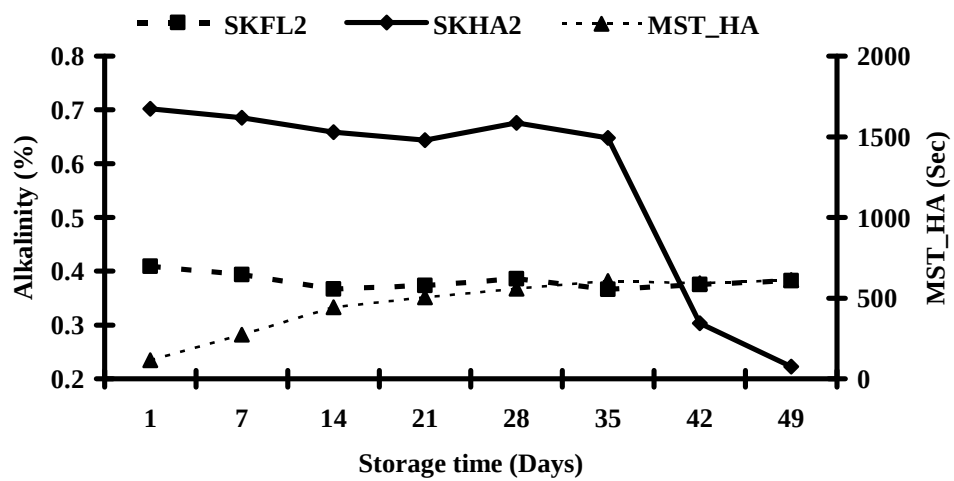
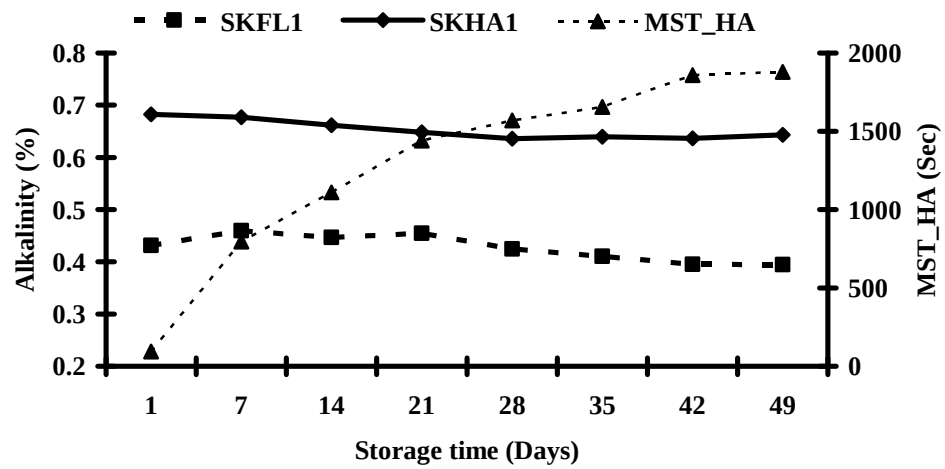
เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาง กับ ความเสถียรเชิงกล ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองปัจจัยนี้

4.2.1.4 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นด่าง

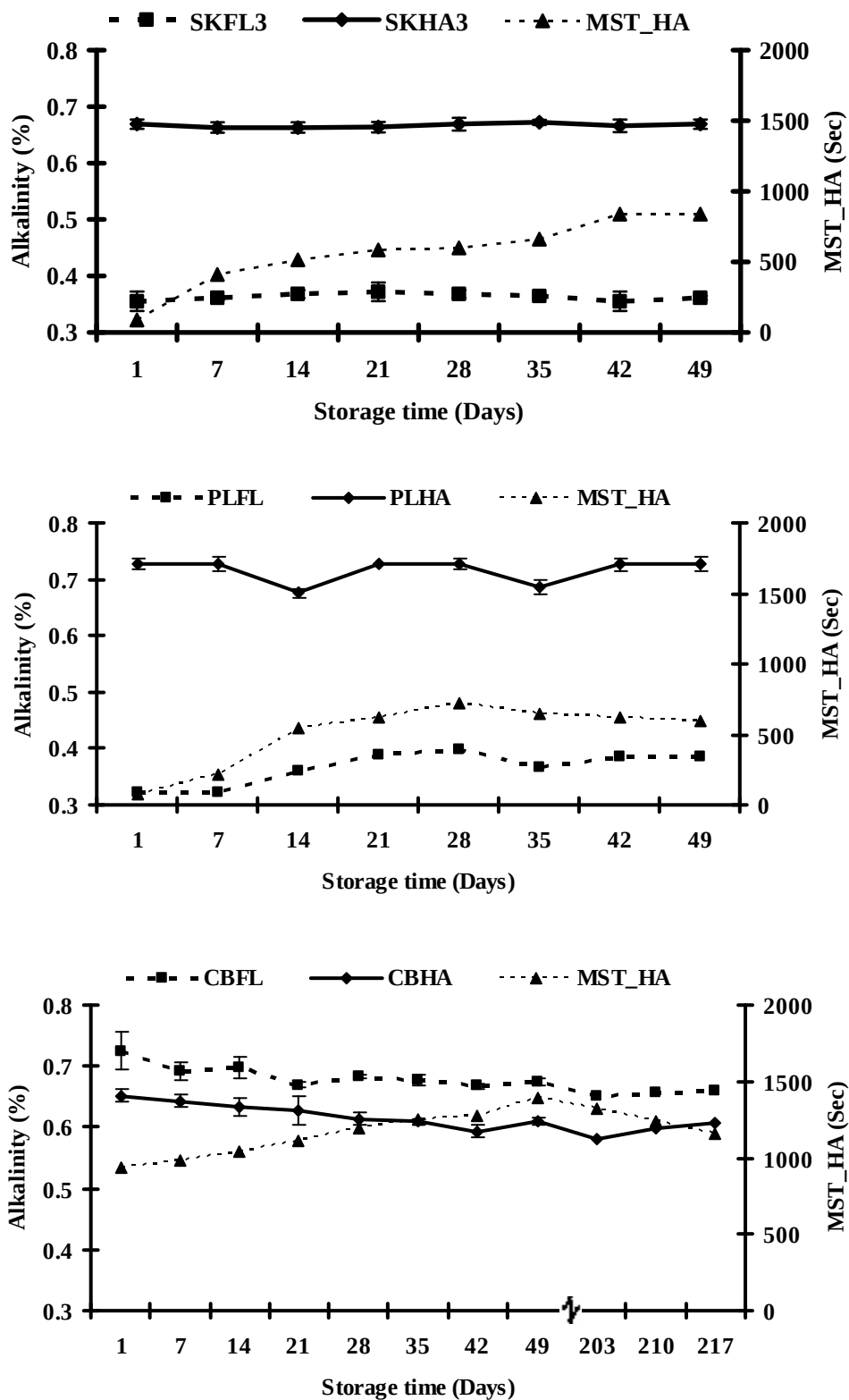
จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าความเป็นด่างมีแนวโน้มลดลงทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางชั้น แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังรูปที่ 4.30 โดยค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดครั้งที่ 1 2 และ 3 อยู่ในช่วงร้อยละ 0.39-0.45, 0.37-0.41 และ 0.36-0.37% NH_3/g น้ำยางตามลำดับ และในน้ำยางชั้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.64-0.68, 0.22-0.70 และ 0.66-0.67% NH_3/g น้ำยางตามลำดับ ซึ่งค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดมีค่าน้อยกว่าน้ำยางชั้นสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่าง

เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ค่าความเป็นด่างเป็นผลที่มาจากปัจจัยหลักคือ แอมโมเนีย ในการศึกษาแบ่งตัวอย่างน้ำยางเก็บในภาชนะขนาดเล็กคือ ขนาด 1 ลิตร เมื่อเขย่าและเปิดขวดทุกอาทิตย์อาจทำให้แอมโมเนียส่วนหนึ่งสูญหายไป ดังรูปที่ 4.31 ค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา และพัทลุงอยู่ในช่วงเดียวกัน ขณะที่ในน้ำยางสดจากจังหวัดชลบุรีมีค่าสูงสุดคือ ร้อยละ 0.36-0.37, 0.32-0.40 และ 0.65-0.73% NH_3/g น้ำยาง ตามลำดับ และในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากจังหวัดสงขลาและพัทลุงมีค่าความเป็นด่างอยู่ในช่วงเดียวกัน ส่วนในจังหวัดชลบุรีมีค่าต่ำสุดคือ ร้อยละ 0.66-0.67, 0.68-0.73 และ 0.58-0.65% NH_3/g น้ำยาง ตามลำดับ และค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดมีค่าน้อยกว่าน้ำยางชั้น ยกเว้นน้ำยางสดจากจังหวัดชลบุรีที่มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับน้ำยางชั้น สอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่าง

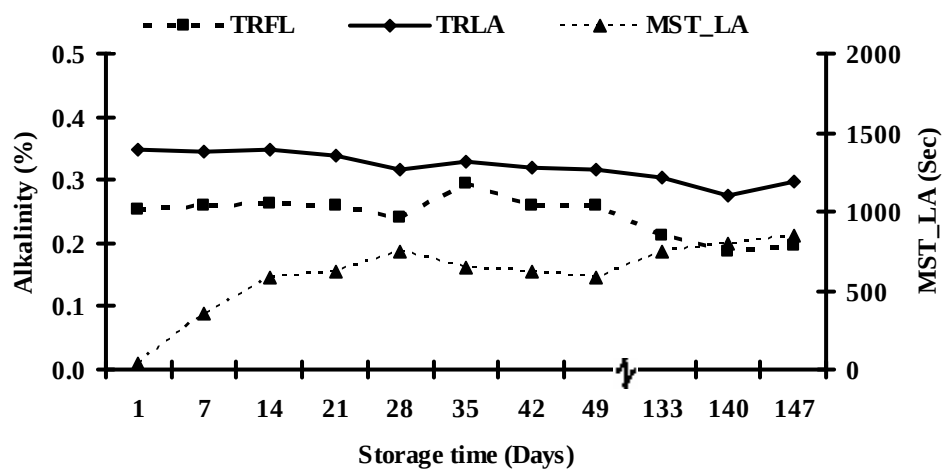
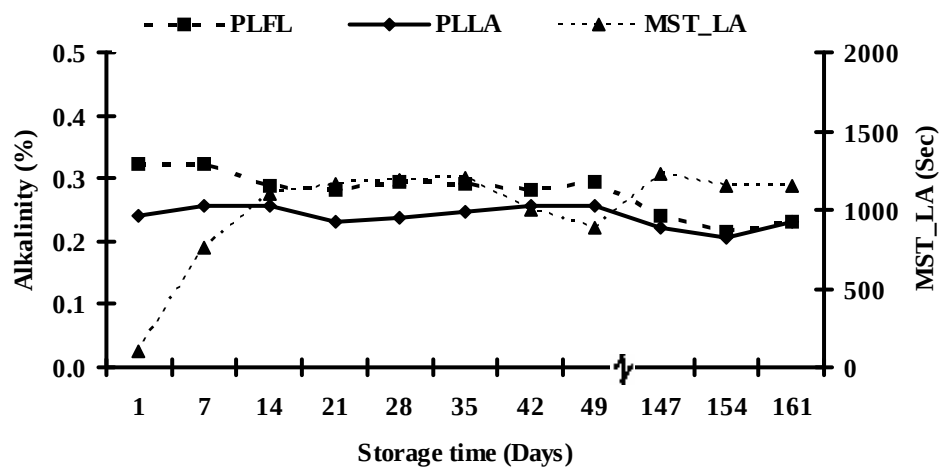
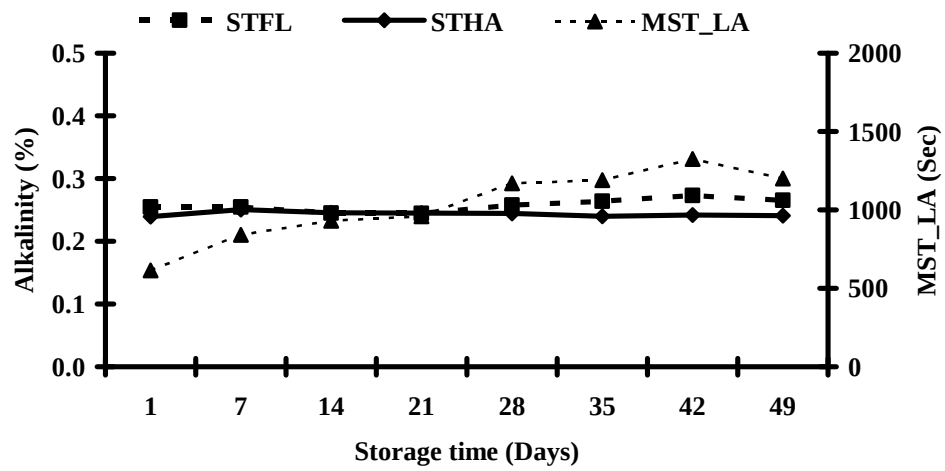
การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.32 ค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดอยู่ที่ช่วงร้อยละ 0.24-0.27, 0.22-0.32 และ 0.19-0.29% NH_3/g น้ำยาง ตามลำดับ ในน้ำยางชั้นจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และตรังอยู่ในช่วง ร้อยละ 0.24-0.25, 0.21-0.26 และ 0.27-0.35% NH_3/g น้ำยาง ตามลำดับ



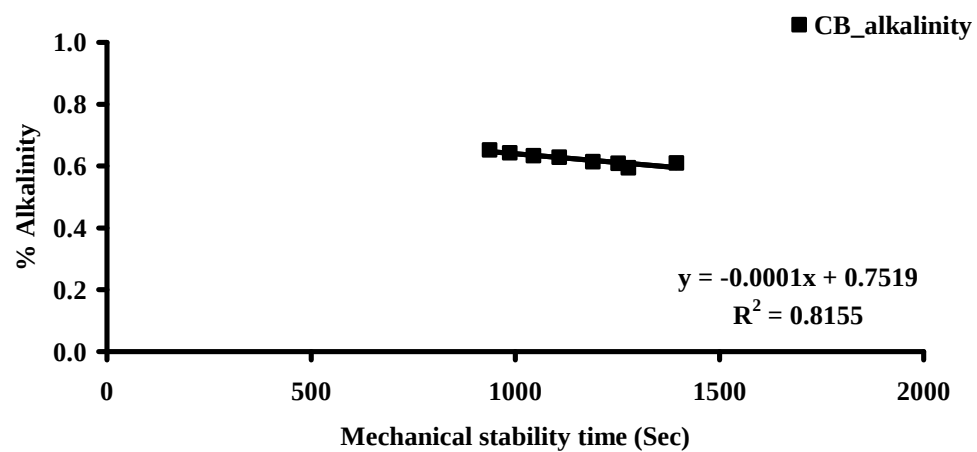
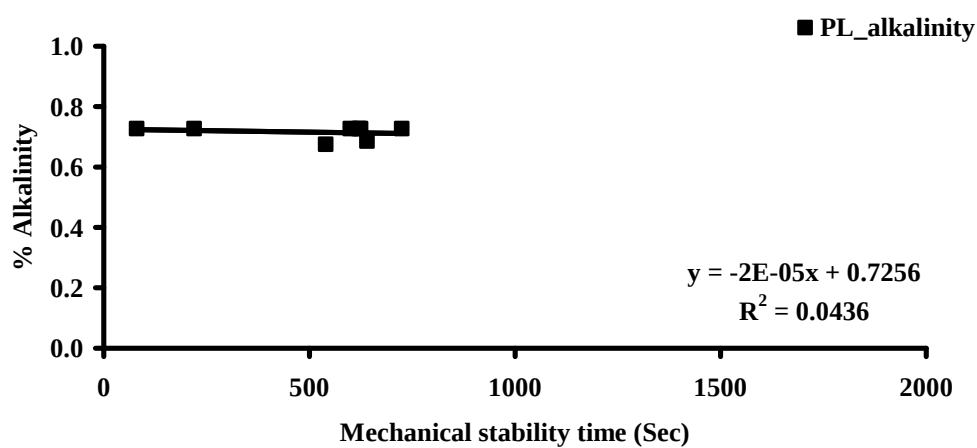
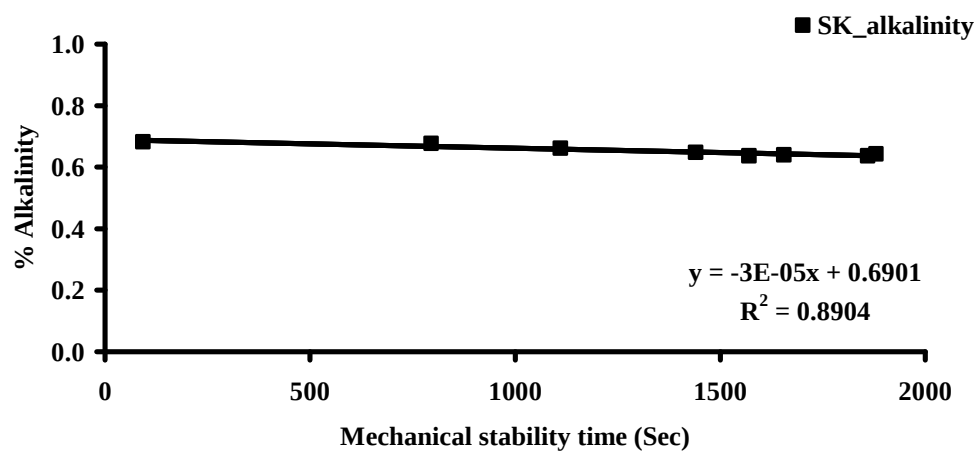
รูปที่ 4.30 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นด่างในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน)
ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.31 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นด่างของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.32 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นด่างของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)



รูปที่ 4.33 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเสถียรเชิงกลกับค่าความเป็นด่างในน้ำยางจากจังหวัด
สงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของค่าความเป็นด่างของน้ำยากับค่าความเสถียรเชิงกลพบว่าน้ำยากจาก 2 ใน 3 สาม โรงงานมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 4.33

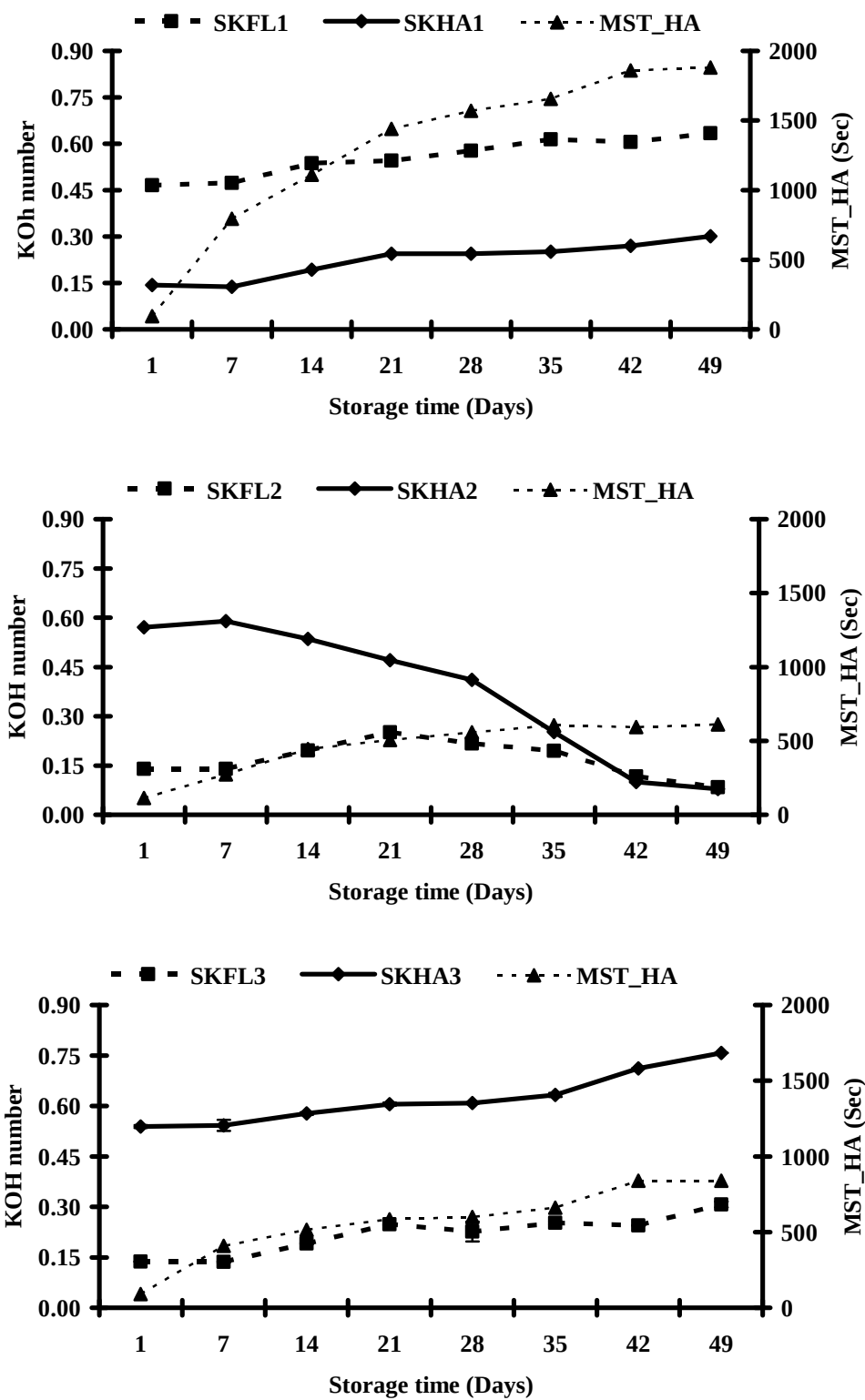
4.2.1.5 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำยากจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยากเพิ่มขึ้นค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในตัวอย่างเก็บจากโรงงานในครั้งที่ 1 และ 3 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากการไฮโดรไลสสารกลุ่มไขมันที่มีอยู่ในน้ำยากโดยจุลินทรีย์และแอมโมเนียบางส่วน ในขณะที่ครั้งที่ 2 มีแนวโน้มลดลง ดังรูปที่ 4.34 โดยค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำยากสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.473-0.634, 0.084-0.251 และ 0.137-0.307 ตามลำดับ และในน้ำยากขึ้นอยู่ในช่วง 0.138-0.301, 0.079-0.589 และ 0.539-0.757 ตามลำดับ

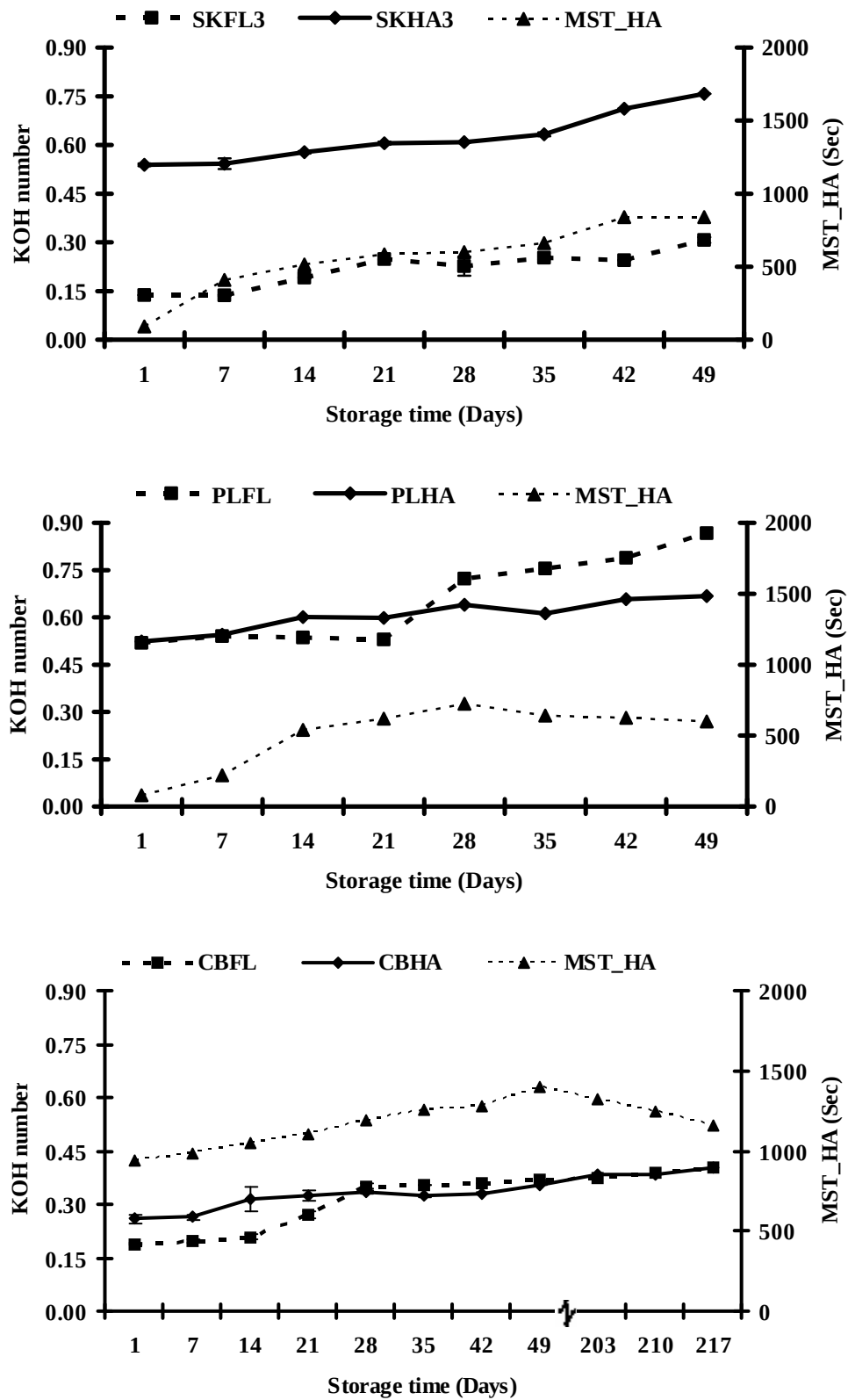
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยากขึ้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.35 ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำยากสดจากจังหวัดสงขลาและชลบุรีอยู่ในช่วงเดียวกัน ส่วนจังหวัดพัทลุงมีปริมาณมากที่สุดคือ 0.137-0.307, 0.188-0.404 และ 0.519-0.867 ตามลำดับ และในน้ำยากขึ้นจากจังหวัดสงขลาและพัทลุงอยู่ในช่วงเดียวกัน ส่วนจังหวัดชลบุรีมีปริมาณต่ำสุดคือ 0.539-0.757, 0.523-0.668 และ 0.259-0.404 ตามลำดับ สอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างและค่าความเป็นด่าง เนื่องจากค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์บ่งบอกถึงปริมาณของกรดไขมันเฉพาะที่จับอยู่กับแอมโมเนียไอออนเท่านั้น ไม่รวมถึงกรดไขมันที่จับอยู่กับโลหะต่าง ๆ ดังนั้นเมื่อมีกรดไขมันดังกล่าวมากก็จะต้องใช้โพแทสเซียมจับกับกรดไขมันที่อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียมมากขึ้นด้วย และพบในน้ำยากสดมีค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่าในน้ำยากขึ้น

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยากขึ้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยากขึ้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.36 ในน้ำยากชนิดแอมโมเนียต่ำในน้ำยากสดไม่สามารถวิเคราะห์ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ได้เนื่องจากเมื่อคำนวณค่าร้อยละของแอมโมเนียบนชั้นน้ำแล้วคำนวณปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์พบว่าได้ค่าติดลบ ส่วนในน้ำยากขึ้นจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.431-0.636, 0.431-0.894 และ 0.633-0.890 ตามลำดับ

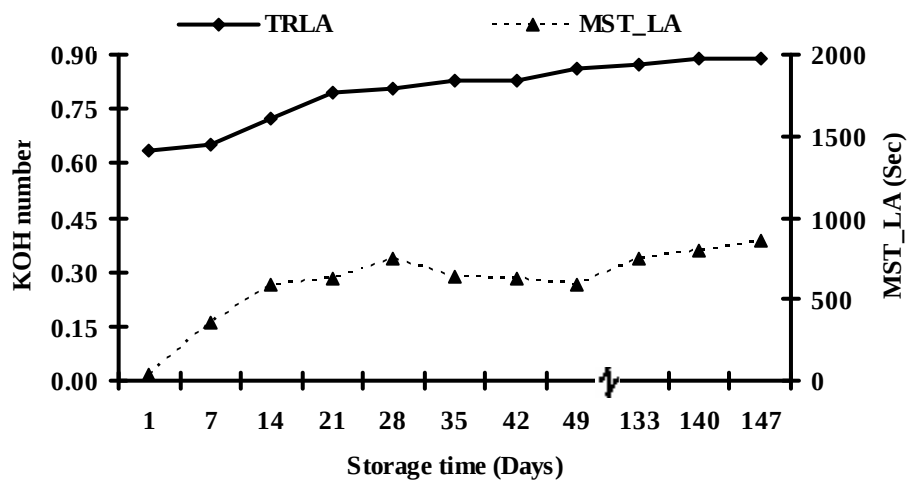
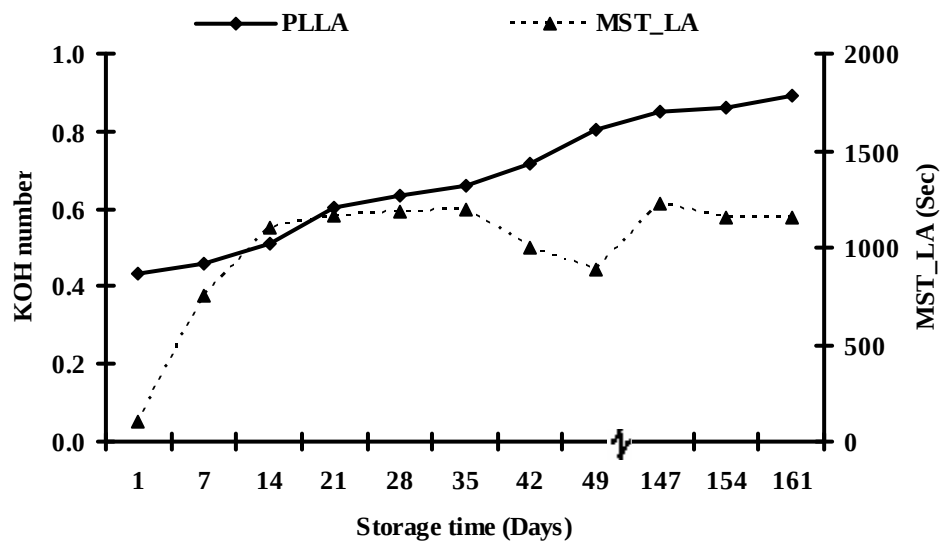
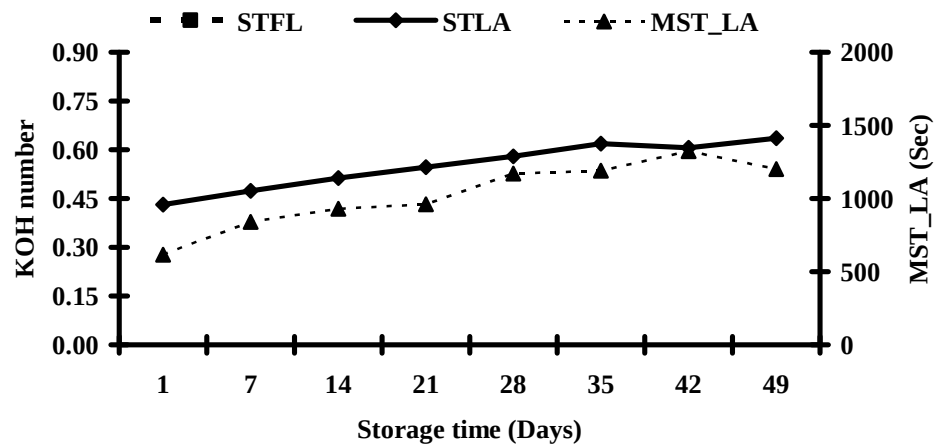
จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์กับค่าความเสถียรเชิงกลพบมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทิศทางเดียวกันกับค่าความเสถียรเชิงกล กล่าวคือค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลเพิ่มขึ้น โดยมีค่า R^2 สูงกว่า 0.7 ดังรูปที่ 4.37



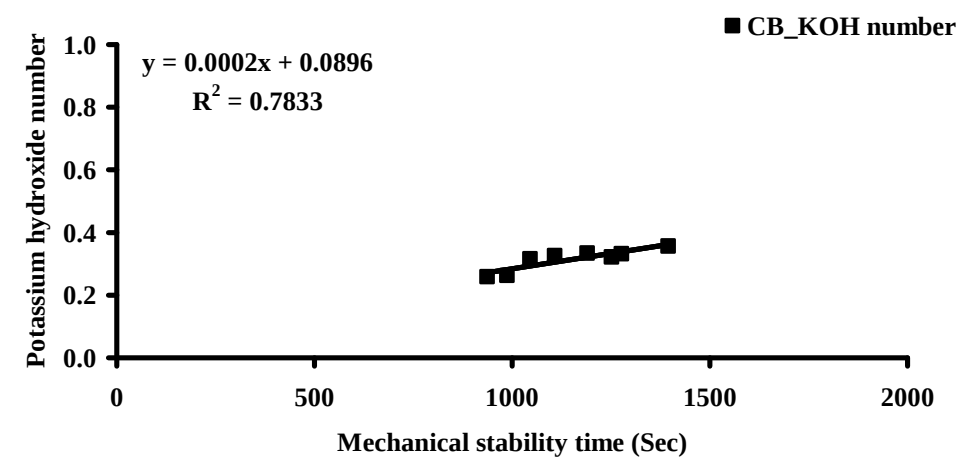
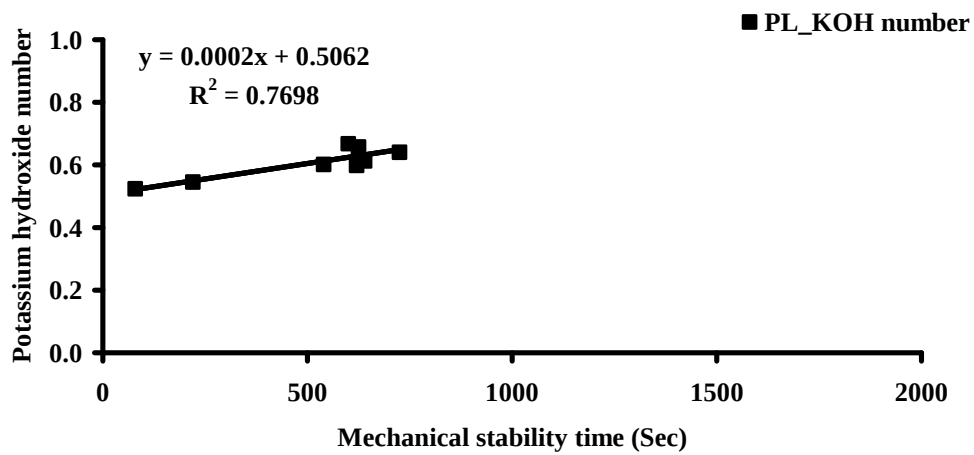
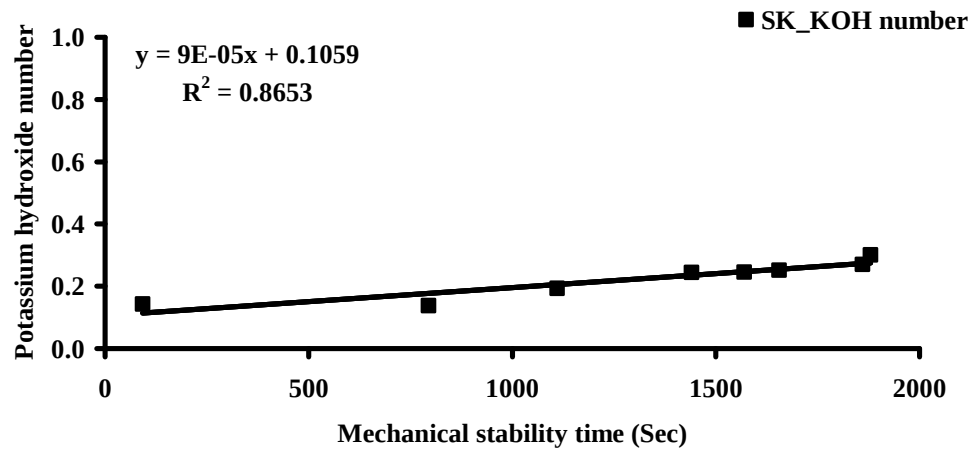
รูปที่ 4.34 การเปลี่ยนแปลงของค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำยางสดและ HA จากจังหวัดสงขลา ครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.35 การเปลี่ยนแปลงของค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำยางสดและ HA จากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.36 การเปลี่ยนแปลงของค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำยางข้น LA จากจังหวัด
สุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)



รูปที่ 4.37 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเสถียรเชิงกลกับค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำยางจาก
 จังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)

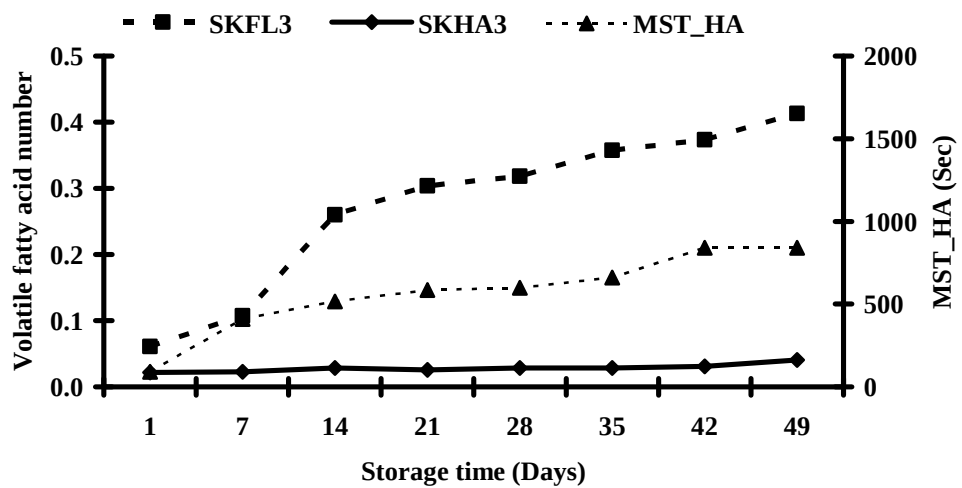
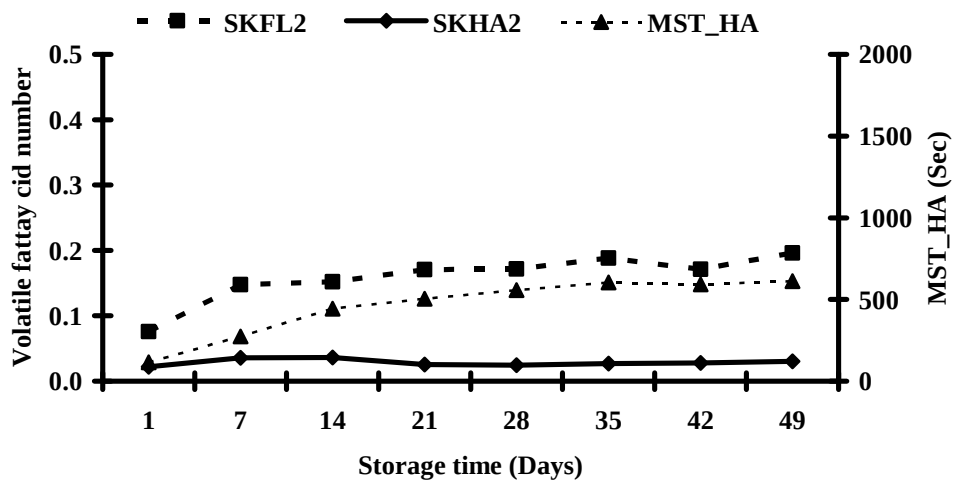
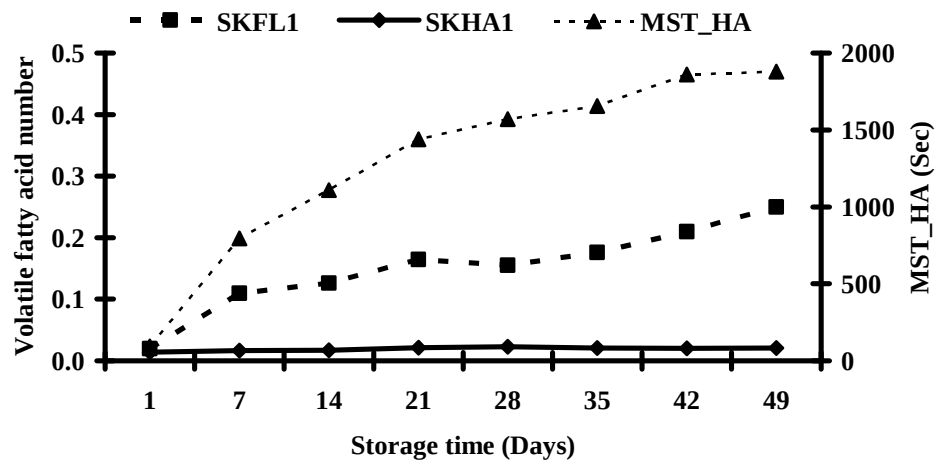
4.2.1.6 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่ากรดไขมันที่ระเหยได้

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ (Volatile fatty acid, VFA) ของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำยางสดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากในน้ำยางสดซึ่งมีการเติมแอมโมเนียเพียงเล็กน้อยจุลินทรีย์จึงยังสามารถเจริญเติบโตได้และมีการไฮโดรไลซ์สารพวกไลปิด โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตทำให้เกิดกรดไขมันระเหยได้ขึ้น ดังรูปที่ 4.38 โดยปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.020-0.250, 0.076-0.196 และ 0.061-0.413 ตามลำดับ สำหรับในน้ำยางข้นปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้มีแนวโน้มคงที่ เนื่องจากหลังกระบวนการผลิตน้ำยางข้นทางโรงงานได้ทำการเติมแอมโมเนียในระดับความเข้มข้นสูงคือ ในช่วงประมาณ 0.60-0.70% ทำให้สามารถช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้เพิ่มขึ้น โดยในน้ำยางข้นครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีค่ากรดไขมันที่ระเหยได้ในช่วง 0.014-0.023, 0.022-0.036 และ 0.022-0.041 ตามลำดับ

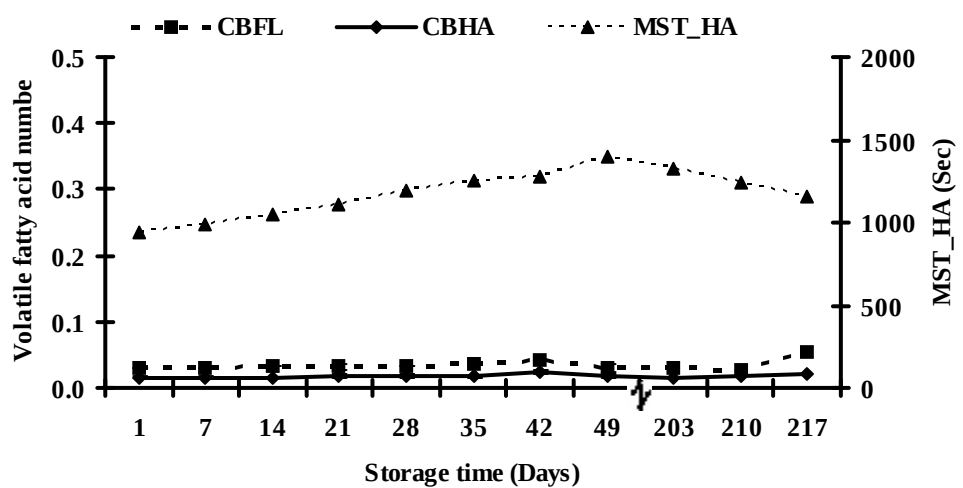
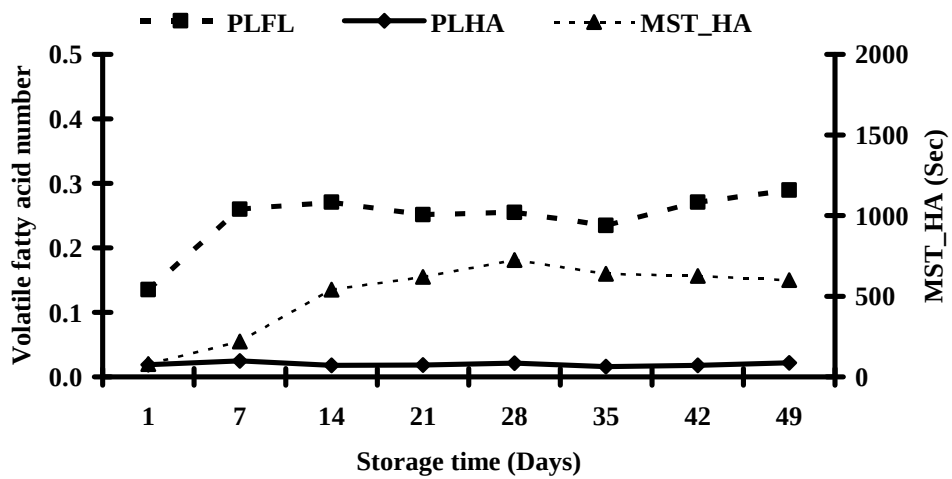
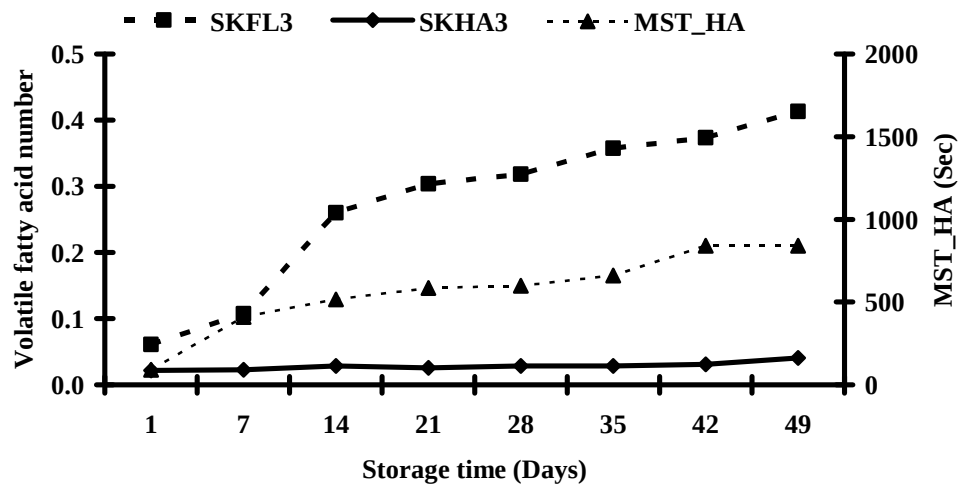
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.39 ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำยางสดจากจังหวัดพัทลุงสูงกว่าสงขลาและชลบุรีคือ อยู่ในช่วง 0.061-0.413, 0.136-0.289 และ 0.028-0.054 ตามลำดับ สอดคล้องกับค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ สำหรับในน้ำยางข้นอยู่ในระดับเดียวกันทุกจังหวัดคือ อยู่ในช่วง 0.022-0.041, 0.016-0.025 และ 0.016-0.024 ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้สอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความเป็นด่าง และค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ นั่นคือเมื่อน้ำยางมีค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าความเป็นด่างน้อย เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันระเหยเพิ่มขึ้นและส่งผลให้ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.40 โดยค่ากรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วง 0.059-0.078, 0.193-0.930 และ 0.093-0.378 ตามลำดับ ในน้ำยางข้นของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วงร้อยละ 0.018-0.040, 0.022-0.034 และ 0.022-0.071 ตามลำดับ

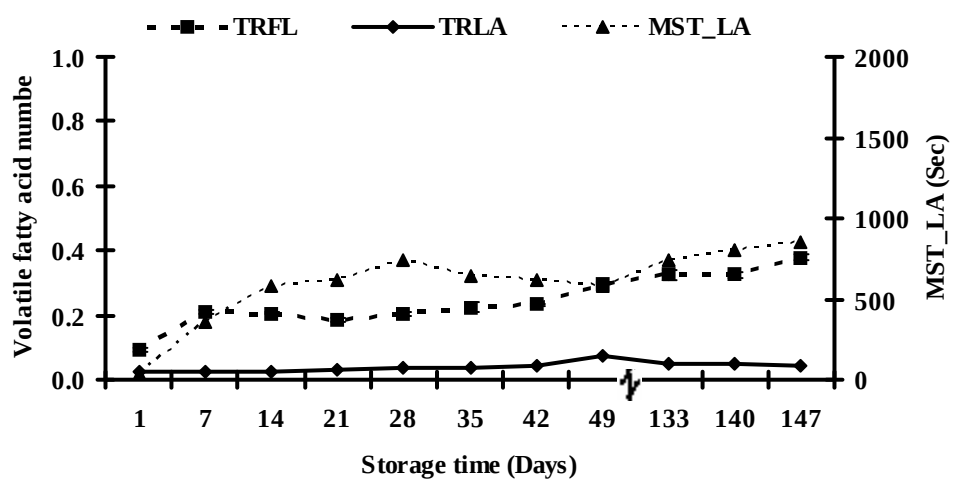
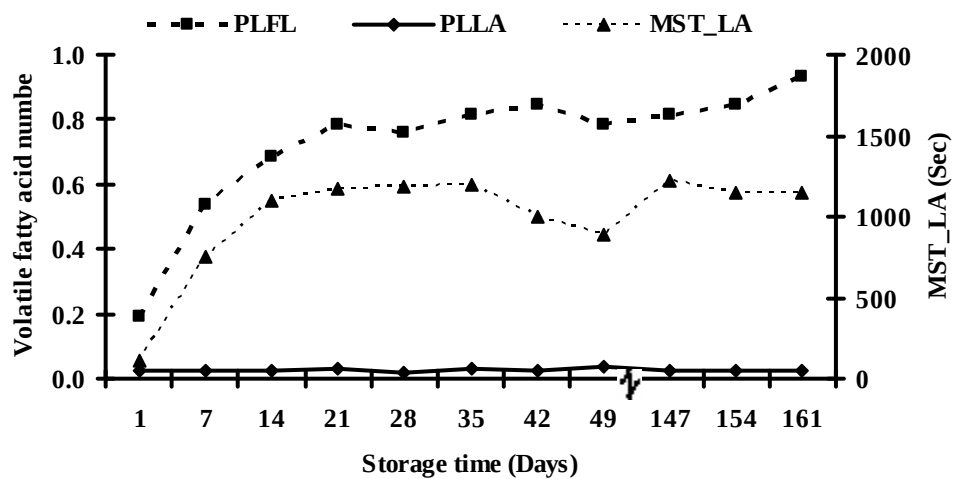
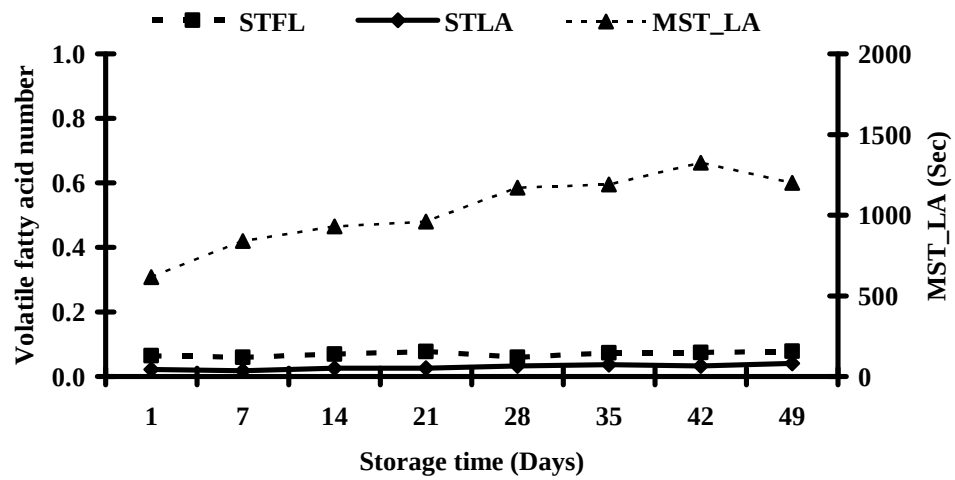
จากการศึกษาความสัมพันธ์ของค่ากรดไขมันระเหยได้กับค่าความเสถียรเชิงกลพบตัวอย่างน้ำยางจากจังหวัดสงขลาที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทิศทางเดียวกันกับค่าความเสถียรเชิงกล กล่าวคือค่ากรดไขมันระเหยได้เพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.41



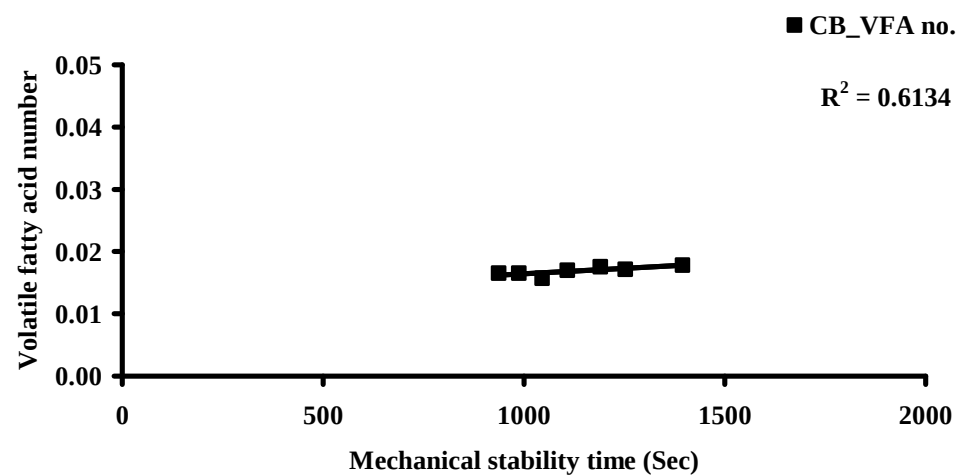
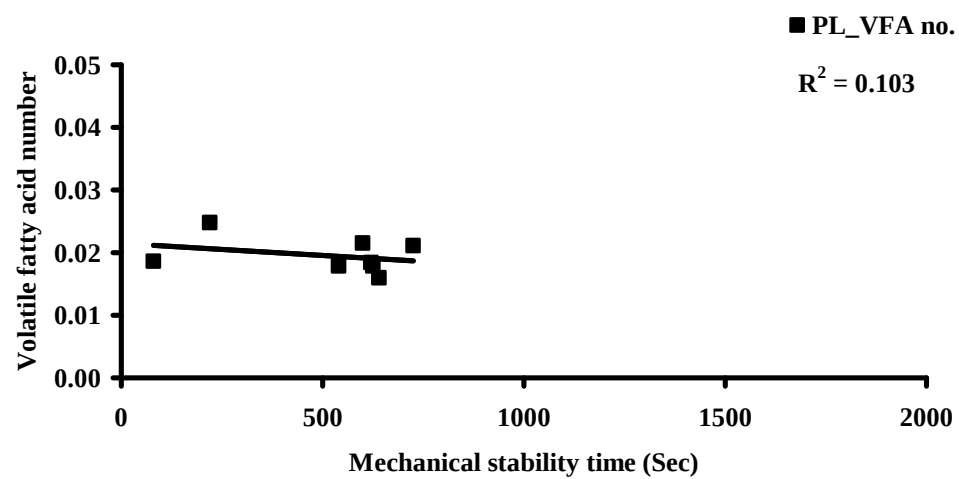
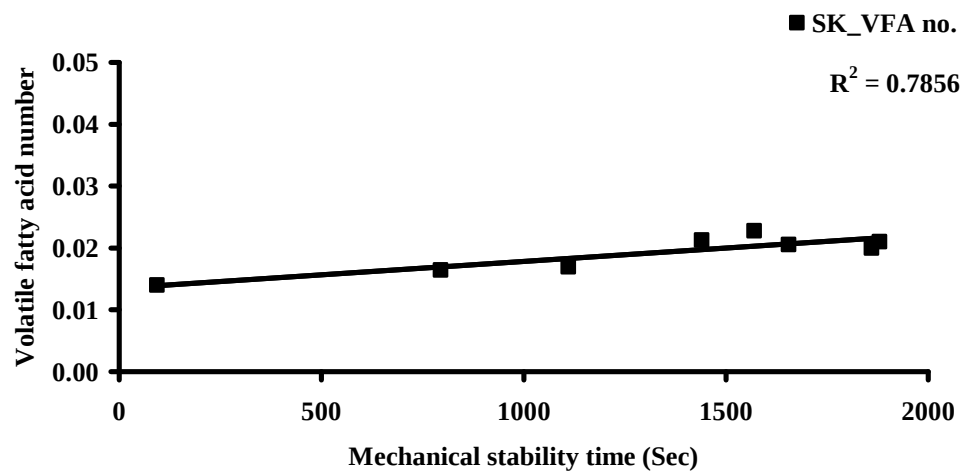
รูปที่ 4.38 การเปลี่ยนแปลงของค่ากรดไขมันระเหยได้ในน้ำยางจากจังหวัดสงขลา
ครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.39 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันระเหยได้ของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.40 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันระเหยได้ของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน)
พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)



รูปที่ 4.41 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเสถียรเชิงกลกับค่ากรดไขมันระเหยได้ในน้ำยางจาก
จังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)

4.2.1.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้า

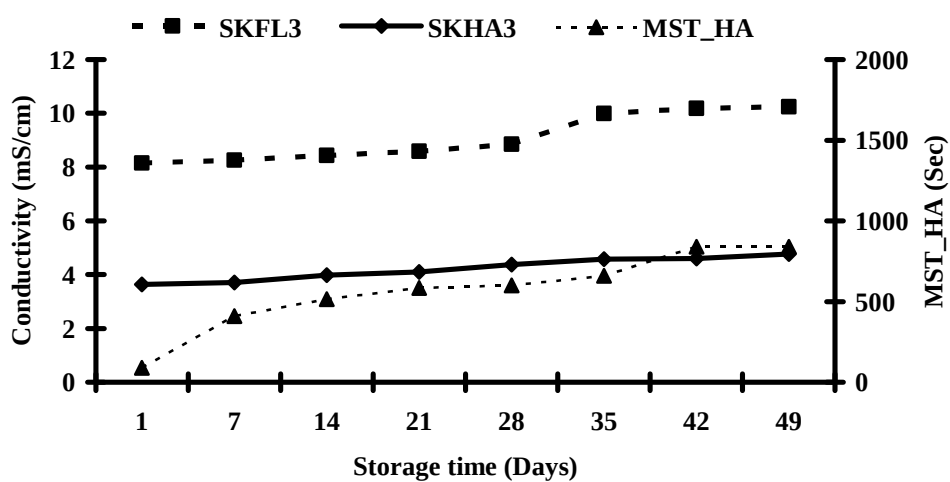
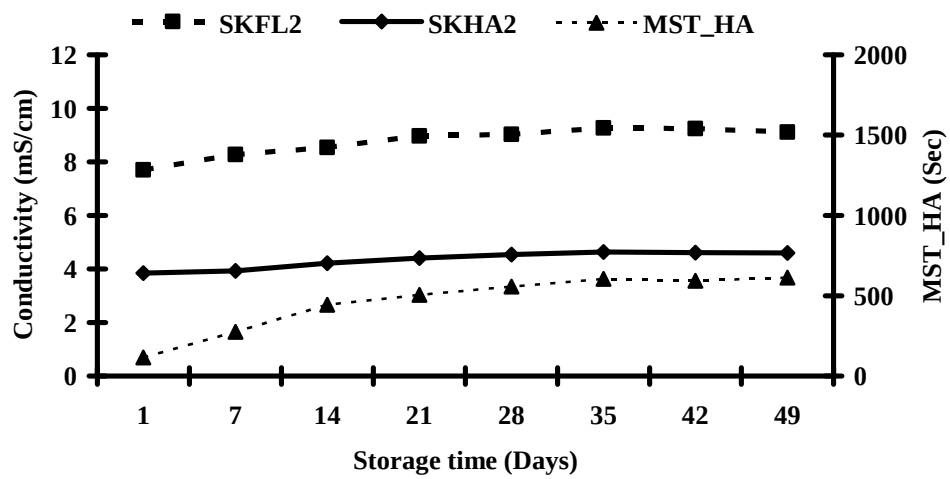
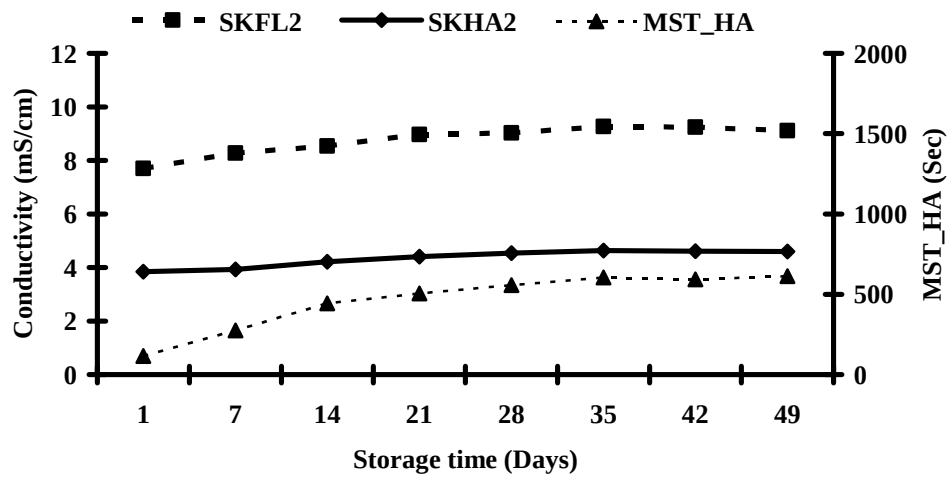
จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้า ของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าการนำไฟฟ้าในน้ำยางสดและชั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.45 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสลายตัวของสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่โดยจุลินทรีย์หรือต่างไปเป็นสารขนาดเล็กที่นำไฟฟ้าได้ โดยค่าการนำไฟฟ้าในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 พบอยู่ในช่วง 1.87-3.30, 7.70-9.26 และ 8.15-10.24 mS/cm ตามลำดับ และในน้ำยางชั้นอยู่ในช่วง 0.83-1.75, 3.85-4.63 และ 3.63-4.76 mS/cm ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้าสอดคล้องกับที่เคยมีรายงานไว้โดย Blackley (1997) อ้างถึงใน Philpott และ Sekar (1953) ซึ่งพบน้ำยางสดเมื่อทำการเก็บน้ำยางไว้ 8 วันค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นจาก 0.56 เป็น 1.16 S/m ในขณะที่ในน้ำยางชั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 0.60 เป็น 0.76 S/m ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำยางชั้นมีการเติมสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในปริมาณที่สูงกว่าน้ำยางสด

เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.46 โดยค่าการนำไฟฟ้าในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลาและพัทลุงสูงกว่าจังหวัดชลบุรีคือ พบอยู่ในช่วง 8.15-10.24, 9.65-10.71 และ 5.99-7.26 mS/cm ตามลำดับ และในน้ำยางชั้นค่าการนำไฟฟ้าในจังหวัดสงขลาและพัทลุงอยู่ในช่วงเดียวกันและสูงกว่าในน้ำยางจากจังหวัดชลบุรีคือ อยู่ในช่วง 3.63-4.76, 3.64-4.73 และ 2.94-3.41 mS/cm ตามลำดับ

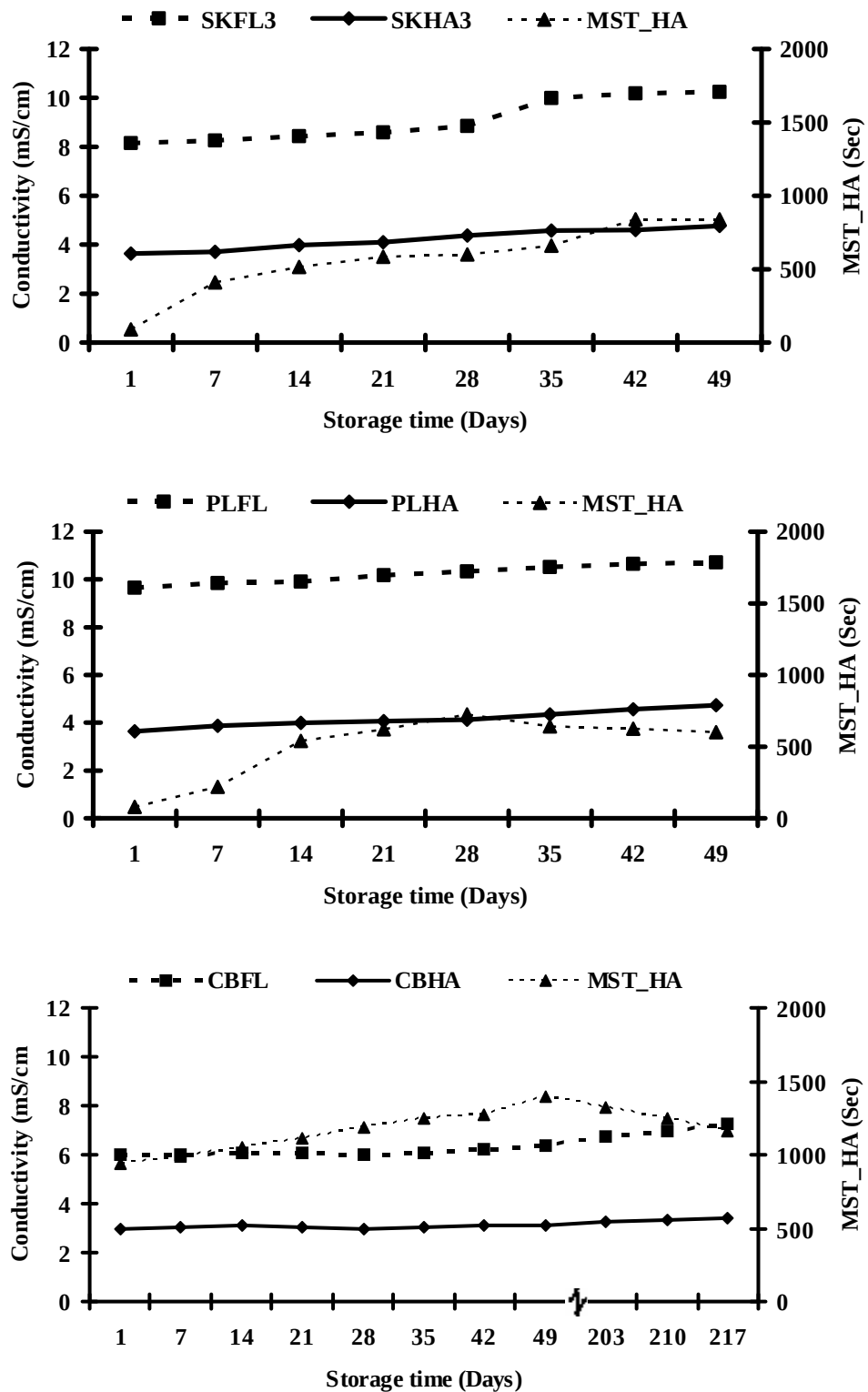
การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.47 ค่าการนำไฟฟ้าในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังพบอยู่ในช่วง 6.93-9.11, 8.43-13.21 และ 8.42-13.28 mS/cm ตามลำดับ และในน้ำยางชั้นอยู่ในช่วง 4.04-4.50, 3.64-4.50 และ 3.84-5.27 mS/cm ตามลำดับ

ในน้ำยางสดมีค่าการนำไฟฟ้ามากกว่าน้ำยางชั้น เนื่องจากขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงน้ำยางสดเพื่อผลิตเป็นน้ำยางชั้นซึ่งใช้ความเร็วรอบในช่วง 6,500-7,000 rpm การลดลงดังกล่าวน่าจะมาจากอนุภาคที่นำไฟฟ้าที่สามารถละลายน้ำได้บางส่วนถูกปั่นออกไปกับน้ำ

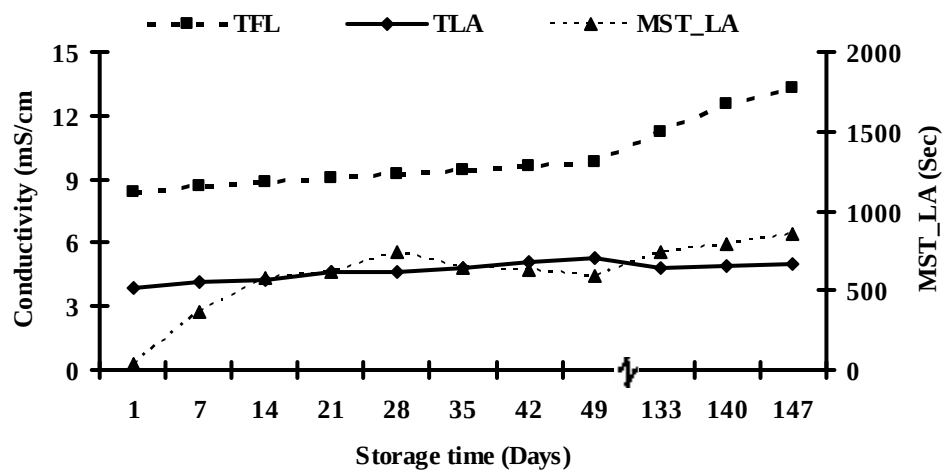
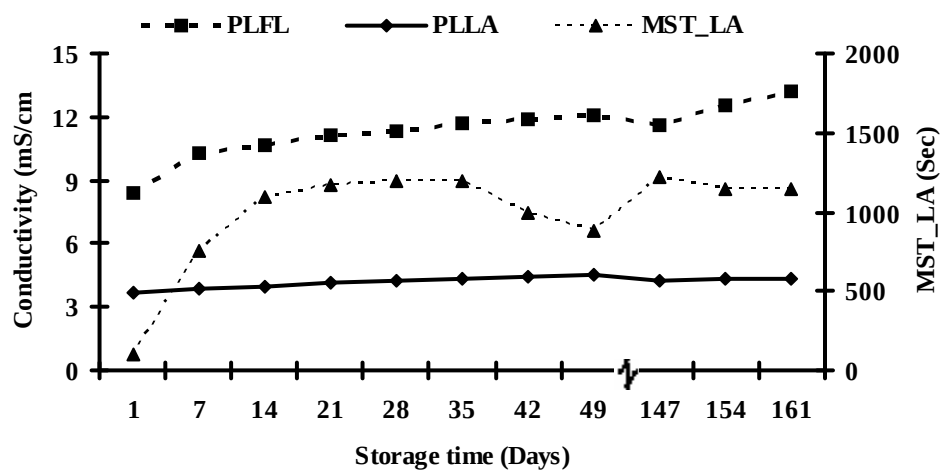
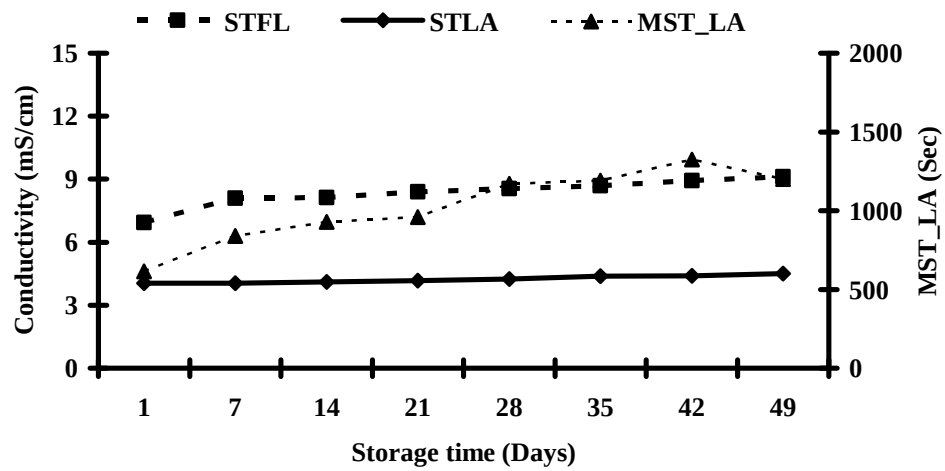
จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้ากับค่าความเสถียรเชิงกล ตรวจพบว่าระดับของค่าการนำไฟฟ้าที่ตรวจวัดได้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความเสถียรเชิงกล ดังรูปที่ 4.48 นั่นคือเมื่อค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และนอกจากนี้ยังพบว่าค่าการนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และค่ากรดไขมันระเหยได้ นั่นคือ ค่าการนำไฟฟ้ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และค่ากรดไขมันระเหยได้มีค่าเพิ่มขึ้น



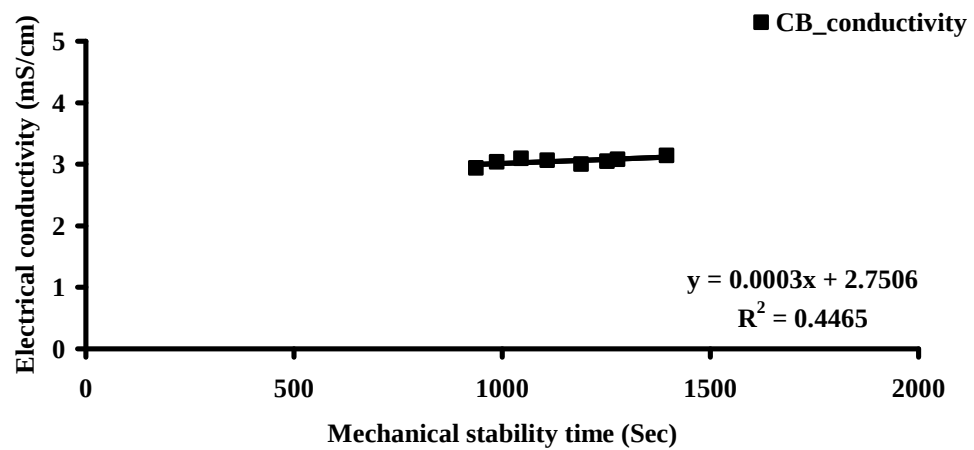
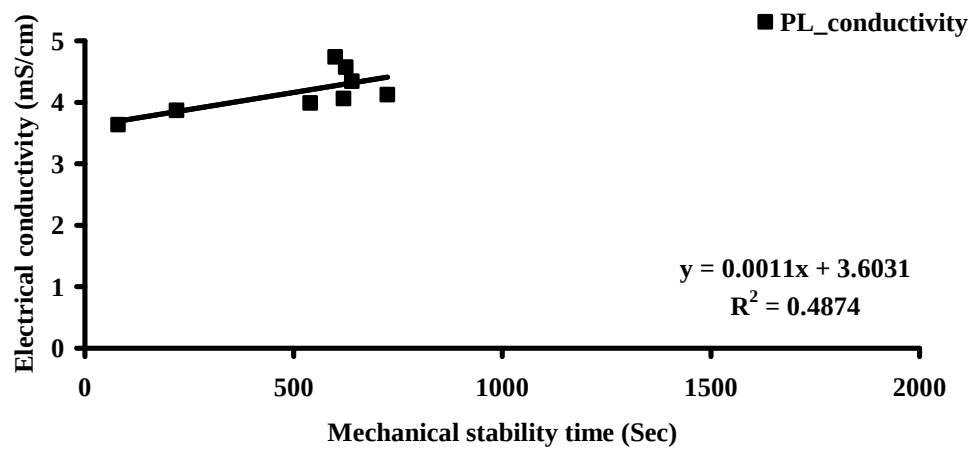
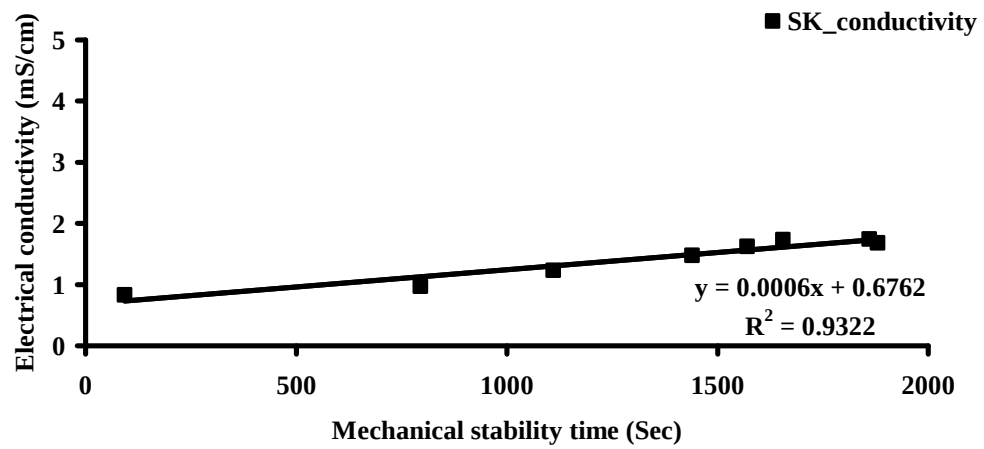
รูปที่ 4.42 การเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้าในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน)
ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.43 การเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้าของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.44 การเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้าของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน)
พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)



รูปที่ 4.45 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเสถียรเชิงกลกับค่าการนำไฟฟ้าในน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)

4.2.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล

ได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล เพื่อศึกษาความสัมพันธ์กับค่าความเสถียรเชิงกลในน้ำยางธรรมชาติ โดยทำการศึกษาใน 3 ลักษณะ ได้แก่ ตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากโรงงานเดียวกัน โดยเก็บตัวอย่างจำนวนสามครั้ง ตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจาก 3 โรงงาน โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรี และตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำจาก 3 โรงงาน โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรัง ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดได้ทำการติดตามทุก ๆ 7 วัน เป็นระยะเวลากว่า 1 เดือน พบผลการศึกษาดังนี้

4.2.2.1 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของไลปิด

1) ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของไลปิดทั้งหมด

เนื่องจากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไลปิดทั้งหมดโดยวิธีสกัดแบบซอกซ์เลต พบว่าการสกัดด้วยวิธีนี้ต้องใช้ทักษะและความชำนาญสูง อีกทั้งใช้เวลาในการสกัดอย่างน้อยตัวอย่างละ 8 ชั่วโมง และของเสียที่เกิดจากการสกัดคือ เฮกเซนมีปริมาณสูง ในขั้นตอนการพัฒนาวิธีใช้เวลานานกว่าการพัฒนาวิธีอื่น ๆ เป็นระยะเวลากว่า 3 เดือน ทั้งนี้เนื่องจากการวิเคราะห์ต้องดำเนินการจนกระทั่งมีค่าความแม่นยำในช่วงที่ยอมรับได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงไม่ได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไขมันทั้งหมดโดยวิธีสกัดแบบซอกซ์เลต

2) การติดตามการเปลี่ยนแปลงของชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

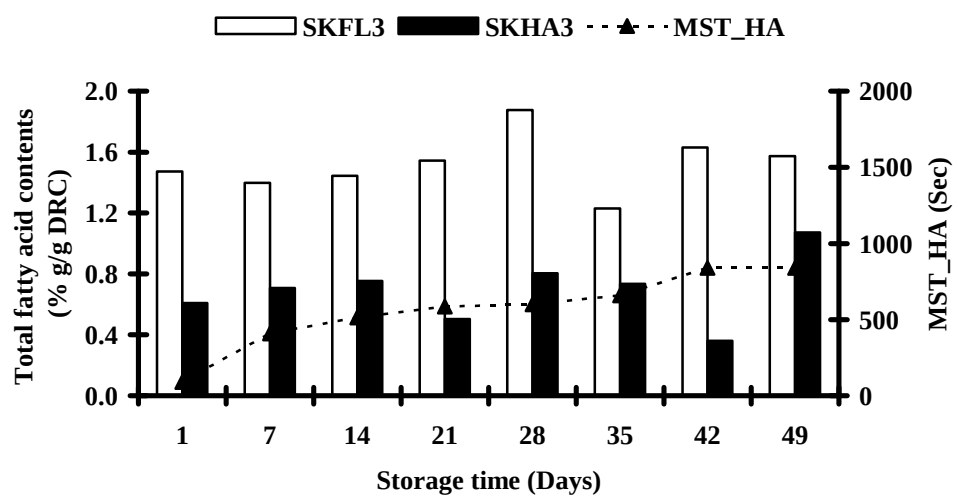
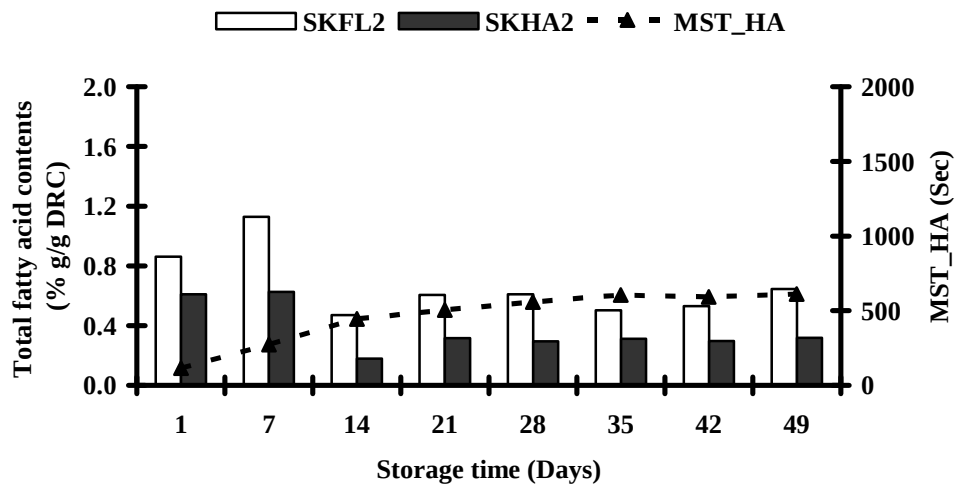
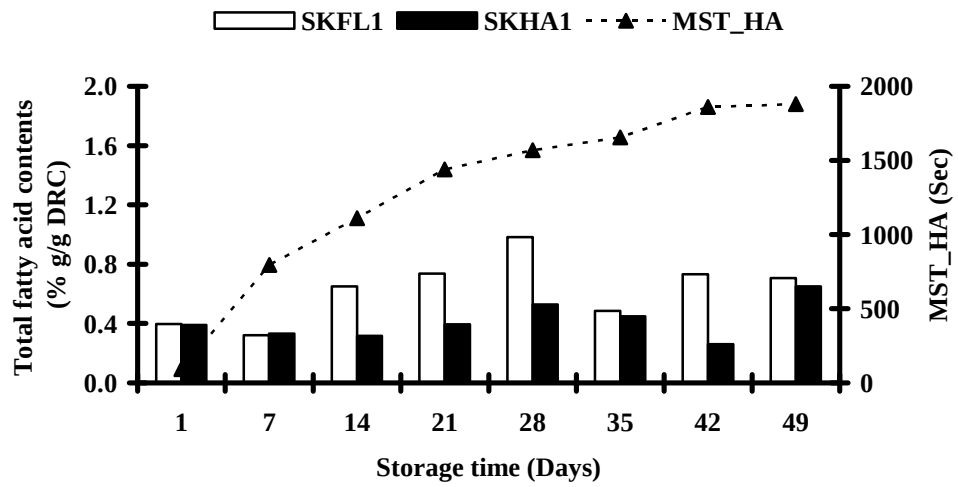
จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของชนิดและปริมาณของกรดไขมันของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน โดยวิธีการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันแบบขั้นตอนเดียวร่วมกับเทคนิค GC-FID และรายงานผลในรูปกรดไขมันในน้ำยาง พบการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้สามารถบอกสัญญาณที่จำเพาะของกรดไขมันแต่ละชนิดได้ รูปที่ 4.46 พบปริมาณกรดไขมันมีแนวโน้มคงที่ โดยปริมาณของกรดไขมันในน้ำยางสดจากโรงงานเดียวกัน ครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.04-0.12, 0.14-0.33 และ 0.35-0.54 g/g น้ำยาง หรือ 0.32-0.98, 0.47-1.13 และ 1.23-1.88% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง อยู่ในช่วง 0.05-0.13, 0.11-0.38 และ 0.22-0.65 g/g น้ำยาง หรือ 0.26-0.65, 0.18-0.63 และ 1.23-1.88% g/g DRC ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เคยรายงานไว้ เช่น ไลปิดในน้ำยางสด 1.6% w/v น้ำยาง (Nair, 2000 และ Resing, 2000) กรดไขมันในน้ำยางสดและชั้น 0.17 และ 0.46% g/g น้ำยาง (คำนวณโดยใช้มวลโมเลกุลของกรดลอริกจากค่าที่รายงานไว้โดย Sansatsadekul และ Sakdapipanich, 2005 ที่ 28.10 และ 38.50 mmol/kg เนื้อยาง ตามลำดับ) และพบในระดับที่สูงกว่าที่ Kawahara และคณะ (2000) รายงานไว้ในรูปของกรดไขมันทั้งหมดที่ต่อกับส่วนปลายของสายโซ่ยาว (Total linked fatty acid) โดยสกัดจากน้ำยางโปรตีนต่ำเท่ากับ 4.93 mmol/kg หรือเท่ากับ 0.99 mg/g น้ำยาง

อย่างไรก็ตามเนื่องจากกรดไขมันบางชนิดมีระดับต่ำกว่าระดับที่สามารถตรวจวัดได้ อีกทั้งไม่มีกรดไขมันมาตรฐานของฟิสิกส์ที่เพิ่มขึ้นในปริมาณที่สูงระหว่างเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 และ 18 อะตอม ทำให้ระดับการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันรวมที่ตรวจวัดได้ ยังไม่แสดงการบ่งชี้ที่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของสมบัติอื่น ๆ ของน้ำยางอันเนื่องมาจากกรดไขมัน

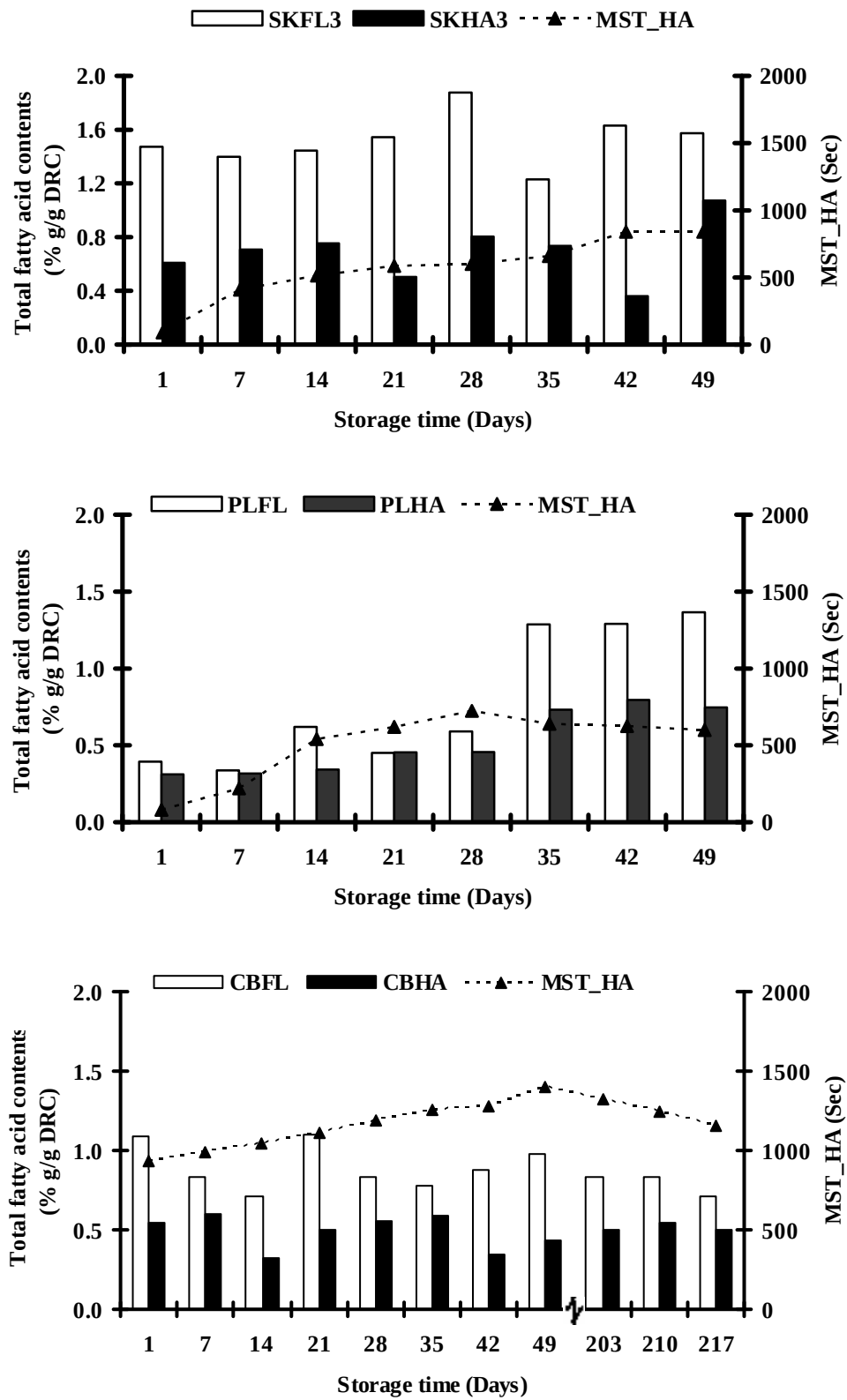
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.47 โดยปริมาณของกรดไขมันในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 0.35-0.54, 0.10-0.40 และ 0.28-0.44 g/g น้ำยาง 1.23-1.88, 0.34-1.37 และ 0.71-1.10% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางชั้นจังหวัดสงขลา มีค่าต่ำสุด ส่วนน้ำยางจากจังหวัด พัทลุงและชลบุรีมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันที่ร้อยละ 0.22-0.65, 0.19-0.48 และ 0.19-0.36 g/g น้ำยาง หรือ 1.23-1.88, 0.31-0.79 และ 0.32-0.60% g/g DRC ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เคยรายงานไว้

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4. โดยปริมาณของกรดไขมันทั้งหมดในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วง 0.42-0.54, 0.95-1.69 และ 0.22-0.53% g/g น้ำยาง หรือ 1.39-1.77, 0.93-1.69 และ 0.67-1.64% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางชั้นอยู่ในช่วง 0.31-0.49, 0.45-0.73 และ 0.12-0.42 g/g น้ำยาง หรือ 0.51-0.82, 0.45-0.43 และ 0.20-0.70% g/g DRC ตามลำดับ

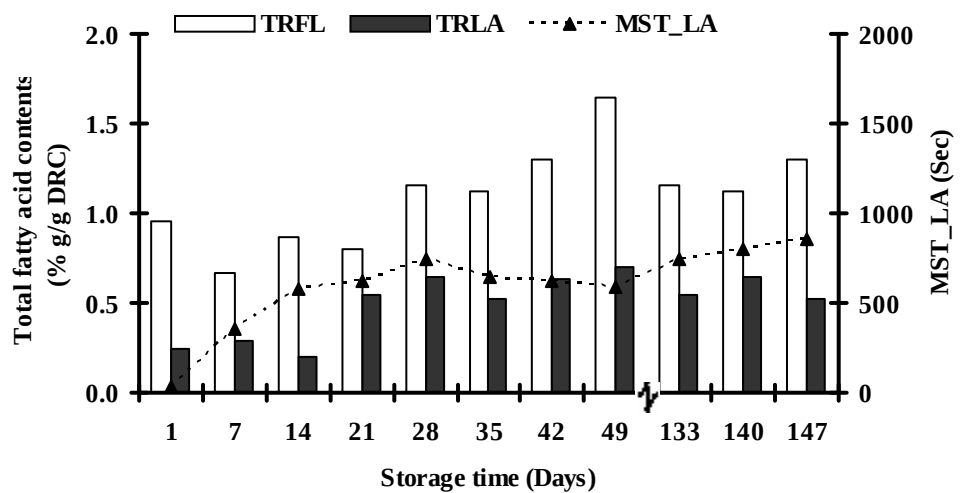
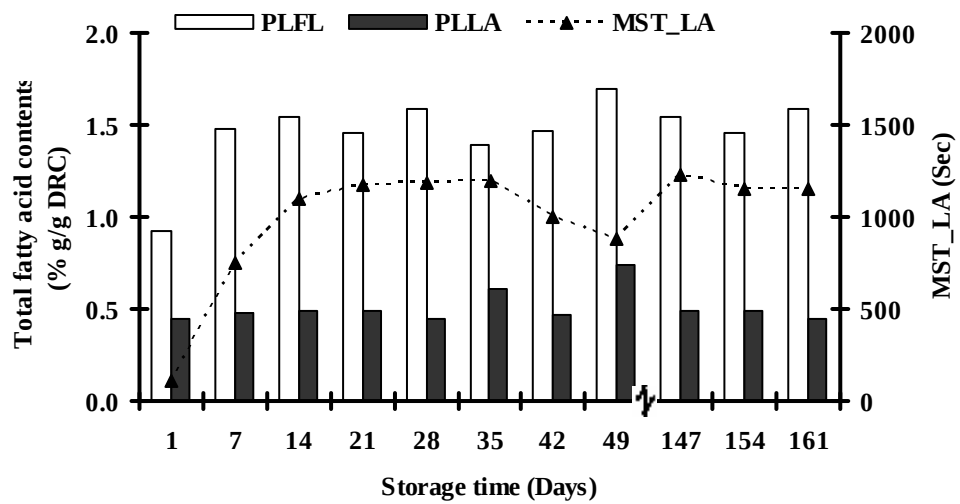
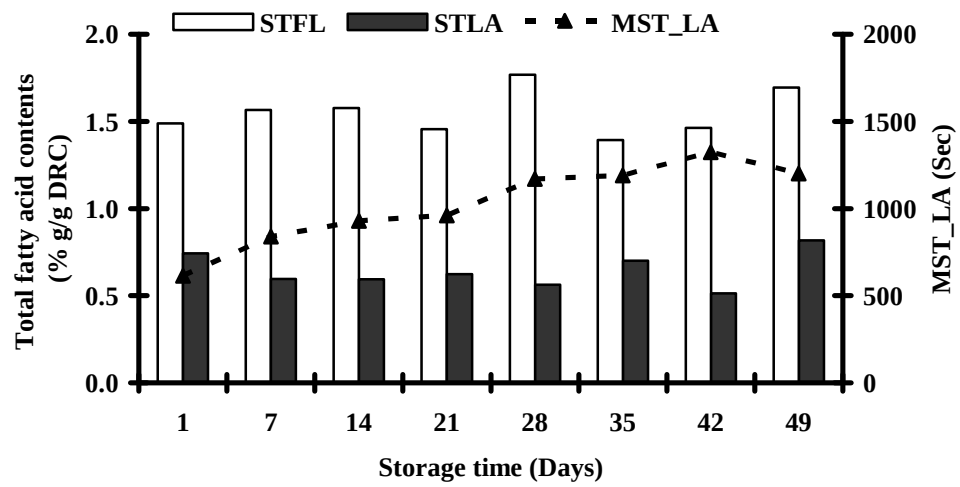
เมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างระดับกรดไขมันทั้งหมดที่ตรวจวัดได้กับค่าความเสถียรเชิงกลของน้ำยาง ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 4.46 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันทั้งหมดในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน)
ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.47 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันที่ตรวจวัดได้ของตัวอย่างน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.48 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันทั้งหมดของตัวอย่างน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

4.2.2.2 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนได้ทำการศึกษาในสี่รูปแบบ ได้แก่ โปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจน โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์ โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาดัวยกรดอะมิโน และปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ ณ เวลาใด ๆ พบผลการศึกษาดังนี้

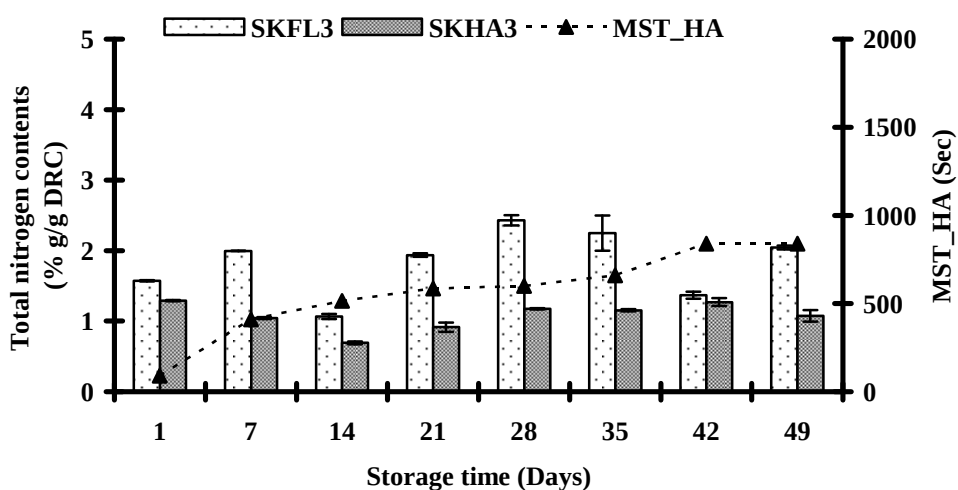
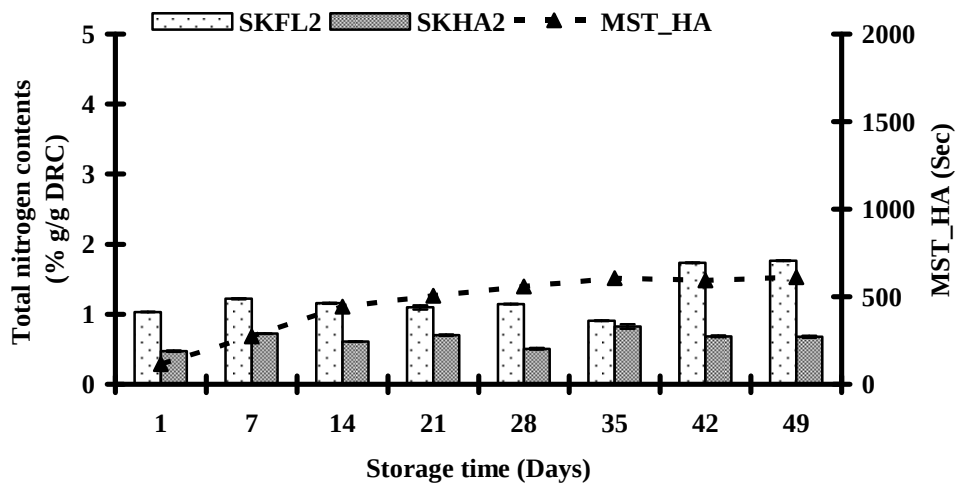
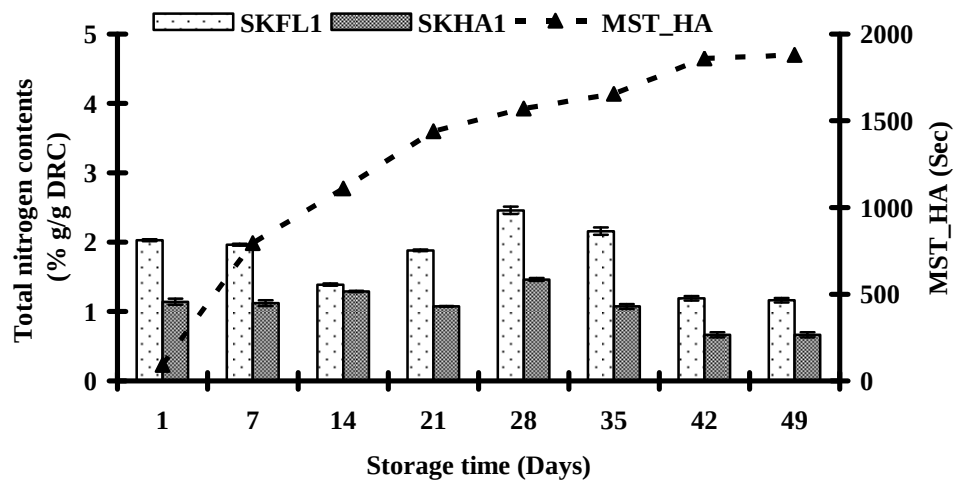
1) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจน

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจนของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่งน้ำยางสดและขึ้นทั้งสามครั้งมีแนวโน้มคงที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังรูปที่ 4.49 โดยปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปไนโตรเจนในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.35-0.74, 0.26-0.49 และ 0.30-0.70% g N/g น้ำยาง หรือ 1.16-2.46, 0.91-1.77 และ 1.06-2.43% gN/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.40-0.89, 0.29-0.50 และ 0.42-0.78%gN/g น้ำยาง หรือ 0.66-1.64, 0.47-0.83 และ 0.69-1.29% gN/g DRC ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่รายงานอยู่ในช่วง 0.28- 0.68% g/g latex (Sansatsadeekul และ Sakdapipanich, 2005 และ Sakdapipanich, 2007)

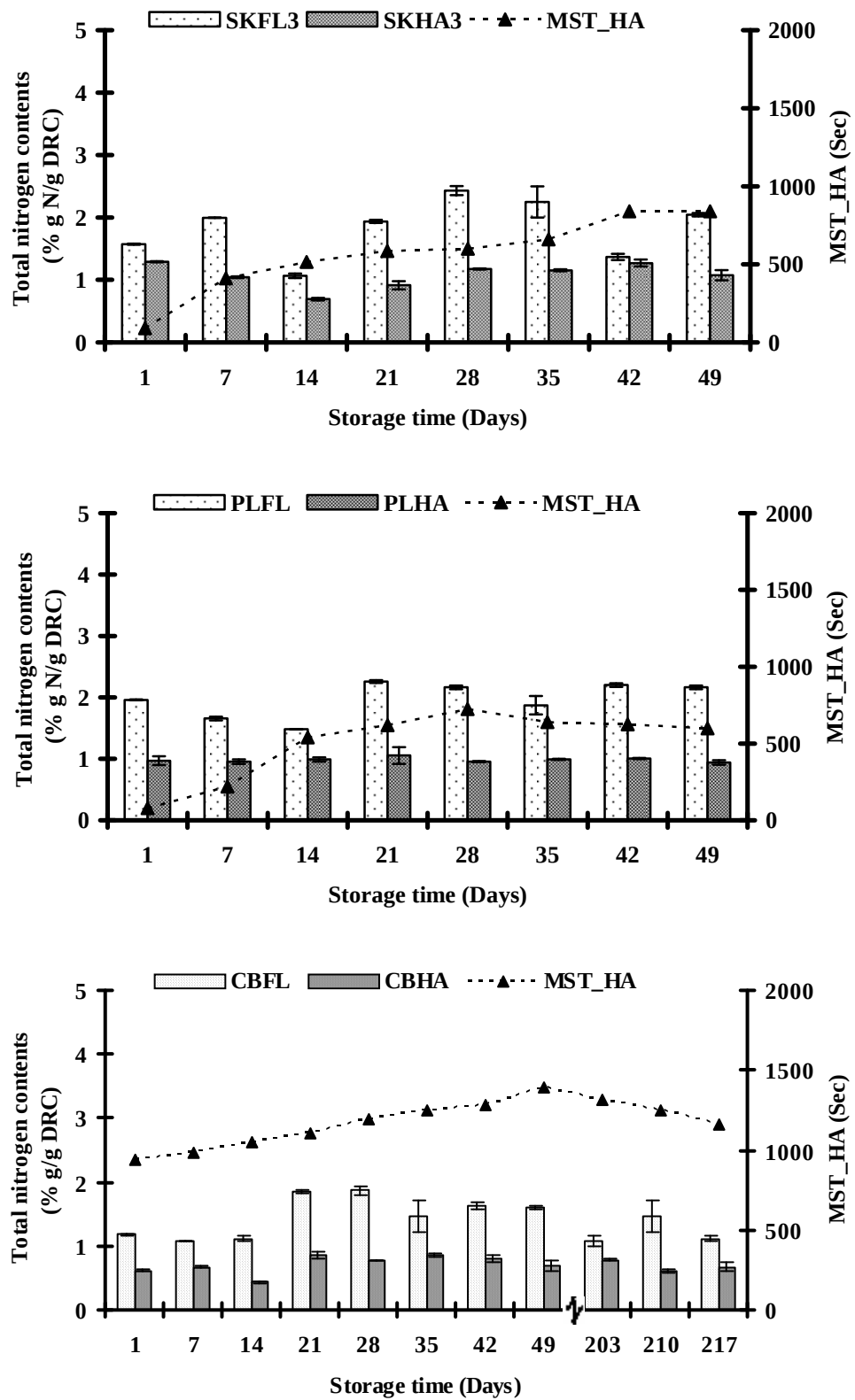
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.50 ทั้งนี้วิธีเจลดาคัลไนโตรเจนที่ใช้กรดเข้มข้นในการย่อยสารอินทรีย์ทั้งหมด ดังนั้นแม้ว่าโปรตีนจะสลายตัวกลายเป็นสายเปปไทด์สั้น ๆ หรือกรดอะมิโนบางส่วน แต่จำนวนไนโตรเจนก็ยังคงที่ ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปไนโตรเจนในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีอยู่ในช่วงร้อยละ 0.30-0.70, 0.44-0.66 และ 0.42-0.74 %gN/g น้ำยาง หรือ 1.37-2.43, 1.48-2.26 และ 1.07-1.27% g N/g DRC ตามลำดับ และในน้ำยางขึ้นมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.42-0.78, 0.58-0.64 และ 0.26-0.52 %gN/g น้ำยาง หรือ 1.06-2.43, 0.94-1.05 และ 0.43-0.86% g N/g DRC ตามลำดับ โดยปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปไนโตรเจนในน้ำยางสดมีมากกว่าน้ำยางขึ้นสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.51 โดยปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรูปไนโตรเจนของน้ำยางสดจากจังหวัด สุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วง 0.35-0.47, 0.54-0.90 และ 0.49-0.54%gN/g น้ำยาง หรือ 1.14-2.43, 1.85-2.98 และ 1.51-1.66% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.40-0.89, 0.44-0.61 และ 0.38-0.53%gN/g น้ำยาง หรือ 0.67-1.48, 0.74-1.00 และ 0.63-0.88% g/g DRC ตามลำดับ

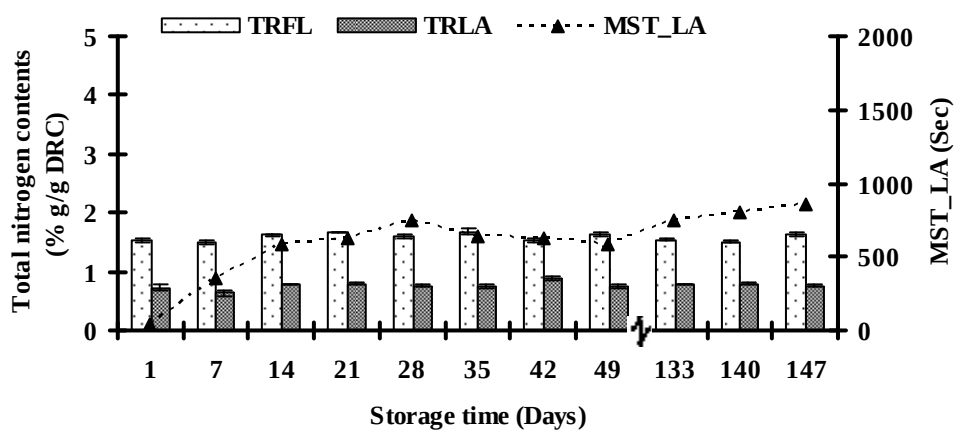
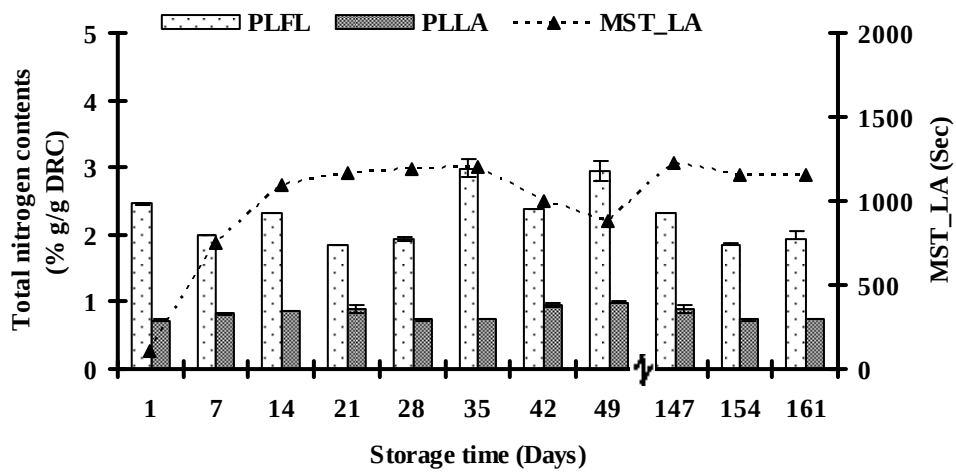
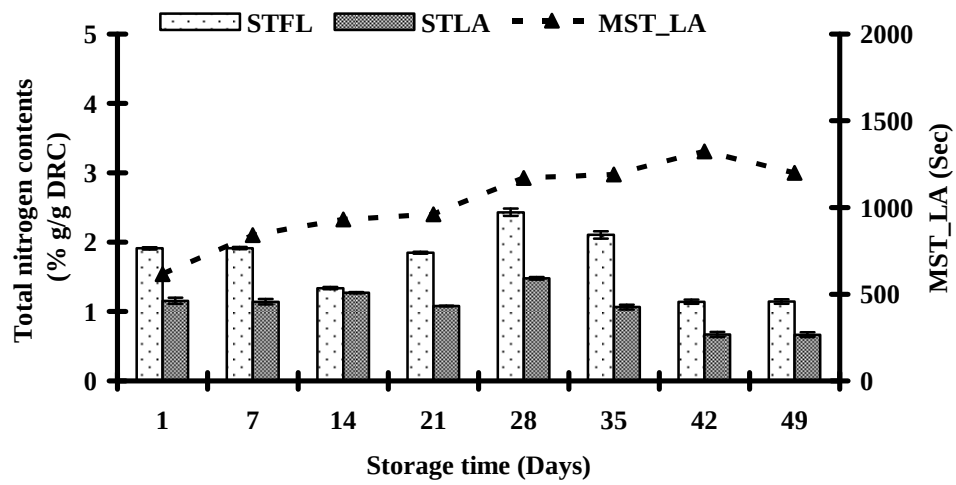
เมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างระหว่างการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนกับค่าความเสถียรเชิงกลของน้ำยาง ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 4.49 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาห์ไนโตรเจนในน้ำยางจากจังหวัดสงขลา ครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.50 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาห์ลในโตรเจนของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.51 การเปลี่ยนแปลงของไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

2) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์

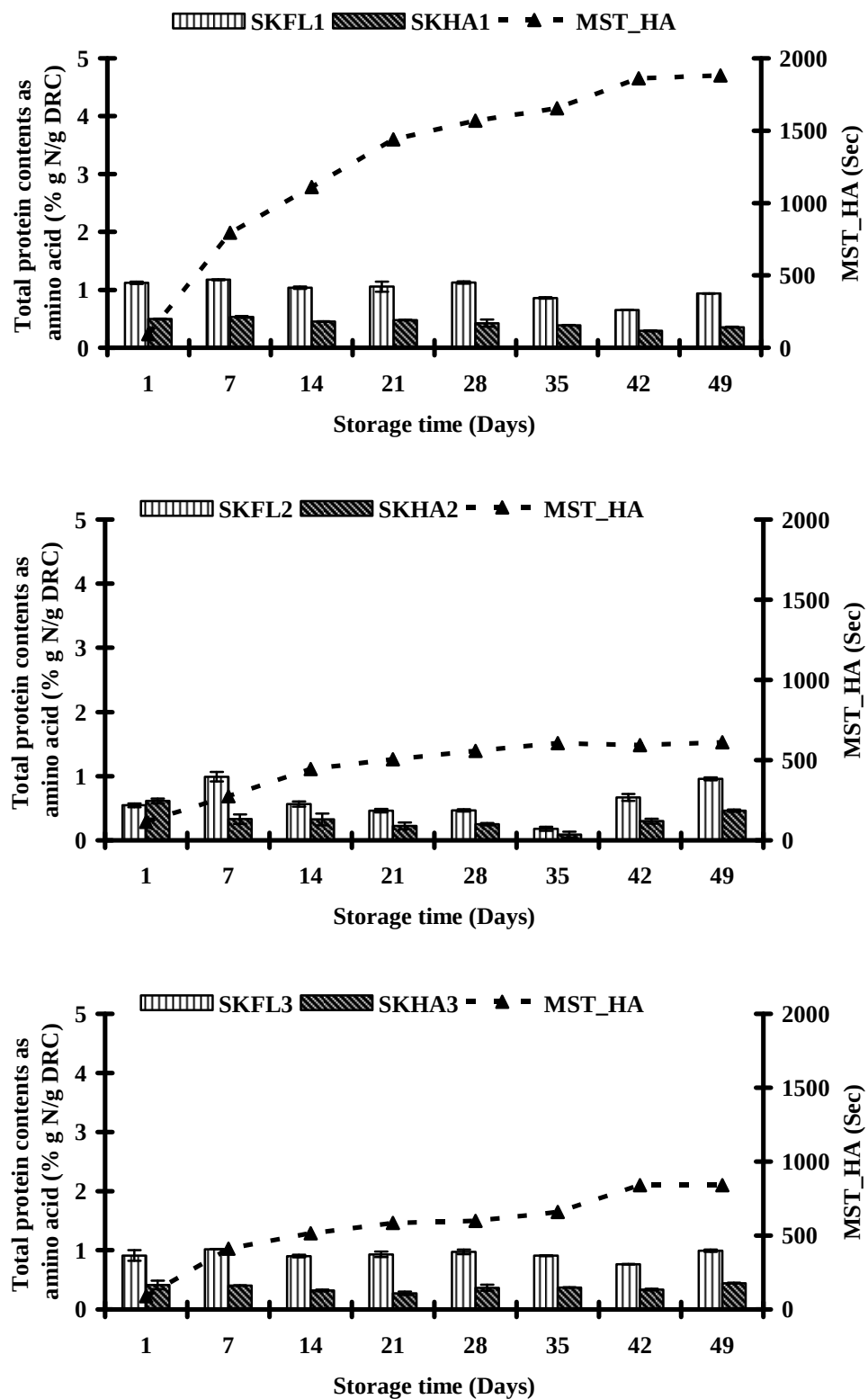
เนื่องจากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์ ต้องทำการย่อยสลายพันธะของพอลิเปปไทด์ด้วยต่าง ในการศึกษานี้พบว่าได้ปริมาณโปรตีนในระดับที่ต่ำกว่าวิธีเจลดาล์และวิธีนินไฮดริน คาดว่าน่าจะมีผลมาจากการย่อยที่ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงไม่ได้รายงานผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์

3) ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโน

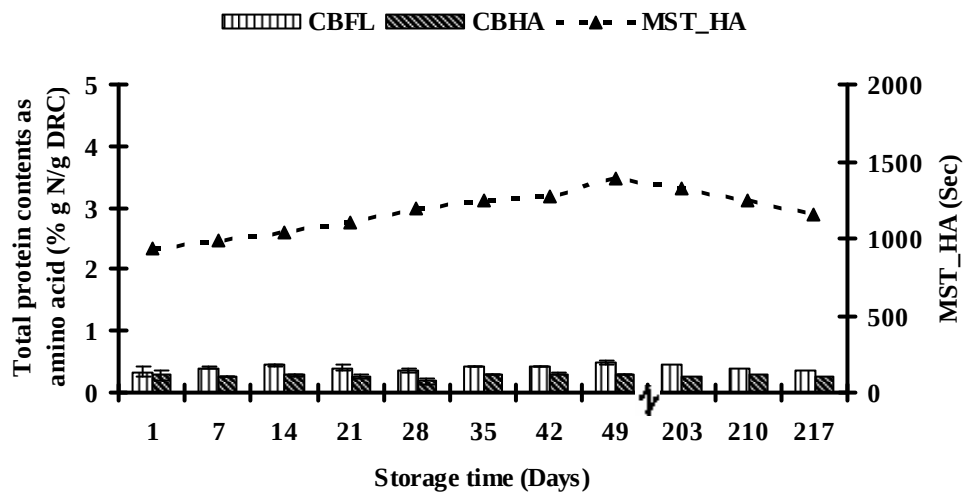
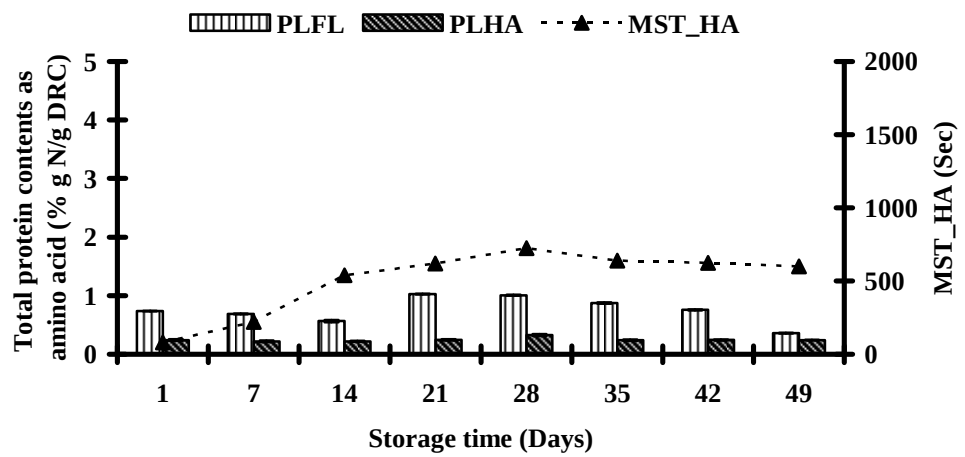
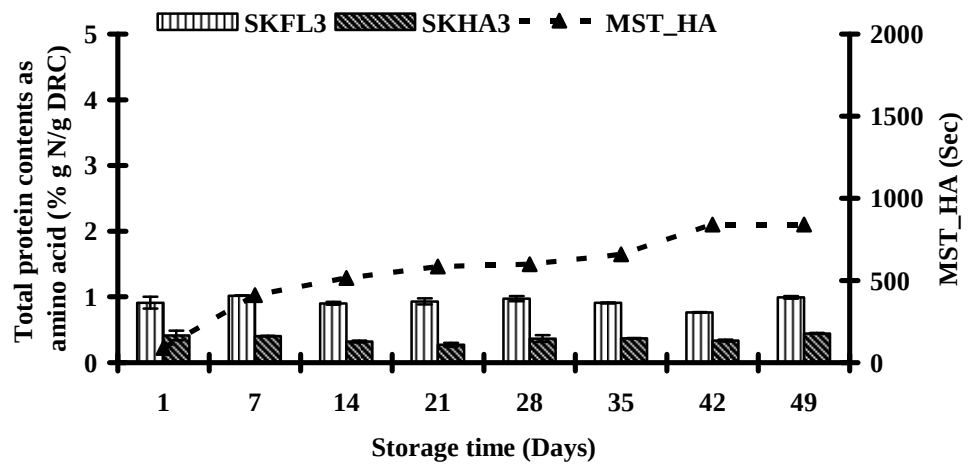
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยย่อยโปรตีนทั้งหมดให้อยู่ในรูปของกรดอะมิโนแล้วทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนหลังทำปฏิกิริยาดัวยนินไฮดรินของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางทั้งสามครั้งที่เก็บตัวอย่างมีแนวโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.52 ซึ่งปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.19-0.35, 0.05-0.29 และ 0.20-0.29%gN/g น้ำยาง หรือ 0.65-1.18, 0.18-0.99 และ 0.76-1.02% gN/g DRC ตามลำดับ ซึ่งหากคูณค่าที่ได้ด้วยแฟกเตอร์ 6.25 เพื่อเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนให้เป็นปริมาณโปรตีน ก็จะได้ค่าที่สอดคล้องกับค่าที่เคยมีรายงานไว้ประมาณ 4.76%g/g DRC (Whitby and Greenberg, 1941) ส่วนในตัวอย่างน้ำยางขึ้นอยู่ที่ร้อยละ 0.18-0.32, 0.05-0.37 และ 0.16-0.27%gN/g น้ำยาง หรือ 0.29-0.53, 0.09-0.61 และ 0.27-0.44% gN/g DRC ตามลำดับ

เมื่อทำการศึกษาน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.53 โดยปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีอยู่ที่ร้อยละ 0.20-0.29, 0.17-0.30 และ 0.13-0.19%gN/g น้ำยาง หรือ 0.76-1.02, 0.36-1.03 และ 0.34-0.49% g N/g DRC ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.16-0.27, 0.15-0.20 และ 0.11-0.18%gN/g น้ำยาง หรือ 0.32-0.44, 0.22-0.33 และ 0.18-0.30% g N/g DRC ตามลำดับ

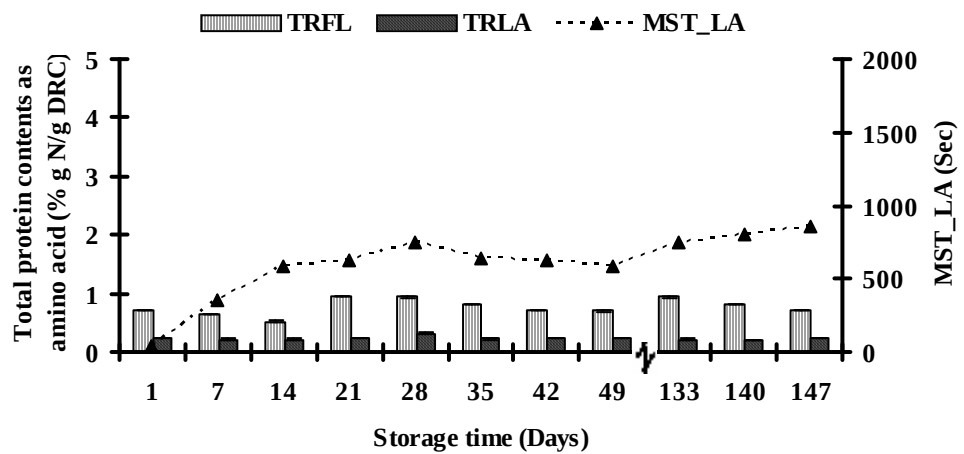
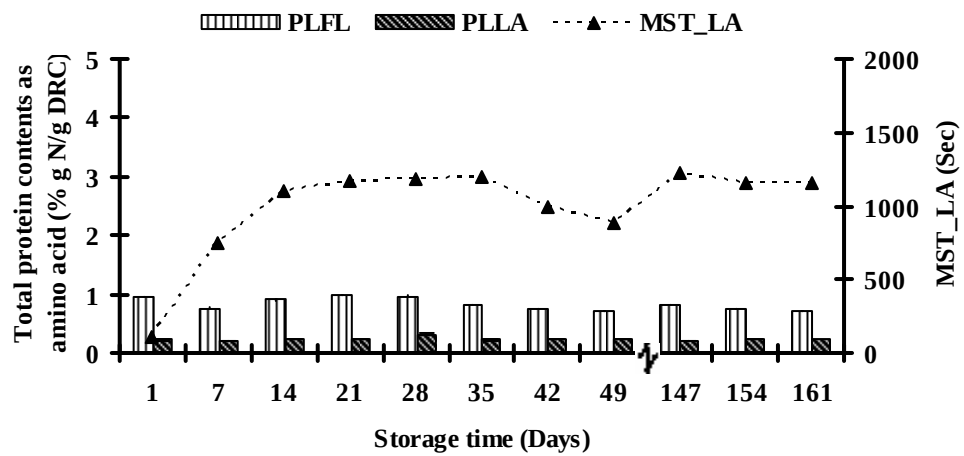
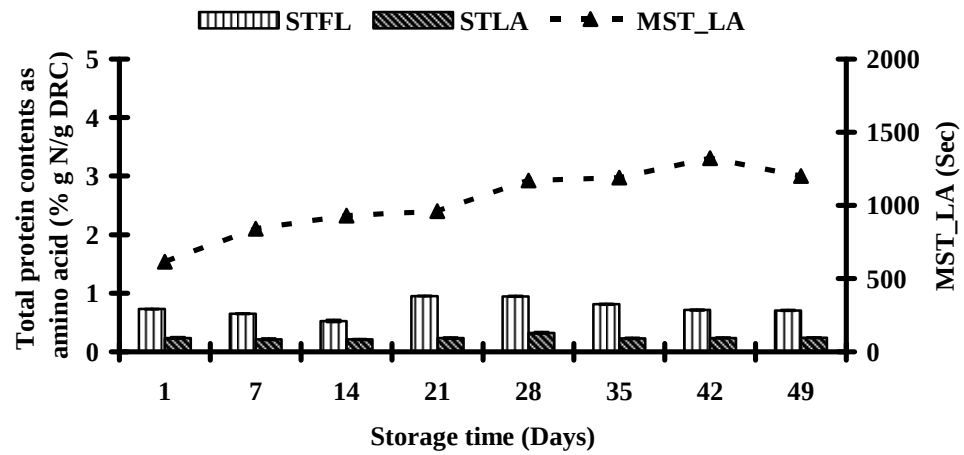
การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.54 โดยปริมาณโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุงและตรังอยู่ในช่วง 0.16-0.29, 0.21-0.30 และ 0.16-0.29%gN/g น้ำยาง หรือ 0.53-0.95, 0.72-0.99 และ 0.53-0.95% gN/g DRC ในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.13-0.19, 0.13-0.19 และ 0.13-0.19%gN/g น้ำยาง หรือ 0.21-0.32, 0.21-0.32 และ 0.21-0.32%gN/g DRC ตามลำดับ



รูปที่ 4.52 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโนในน้ำยางจาก
จังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.53 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโนของน้ำยางจาก
จังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.54 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโนของน้ำยางจาก
จังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้โดยวิธีย่อยโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน พบในตัวอย่างเดียวกัน มีปริมาณต่ำกว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลดาคัล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีนี้ มีความจำเพาะต่อโปรตีนมากกว่าการวิเคราะห์โดยวิธีเจลดาคัลซึ่งไม่สามารถแยกบอกปริมาณของ ไนโตรเจนส่วนที่มาจากการเติม TMTD หรือที่มาจากแอมโมเนียที่มีอยู่ในน้ำยางได้

เมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลในโตรเจนกับความ เสถียรเชิงกลไม่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

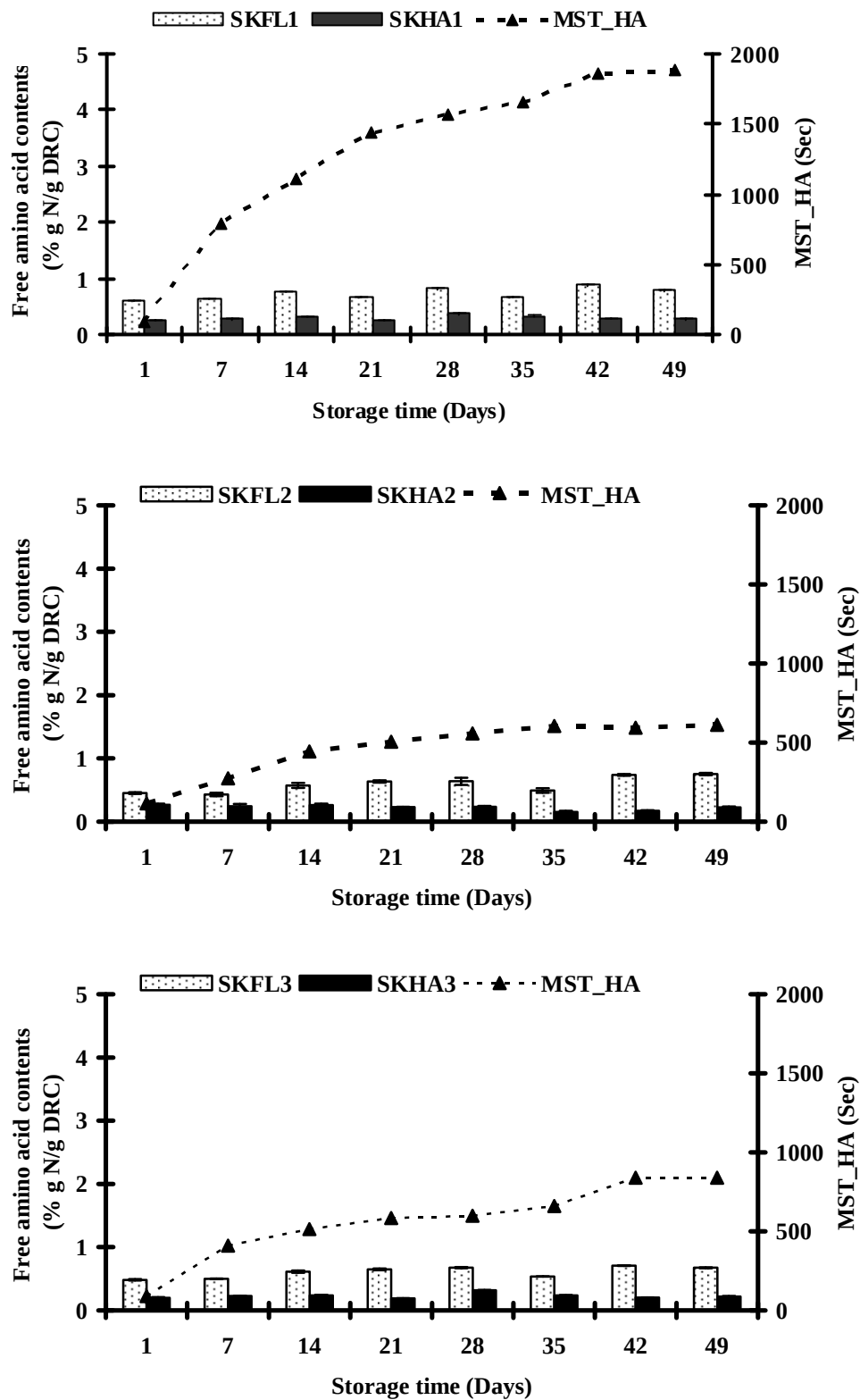
4) ปริมาณกรดอะมิโน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในตัวอย่างน้ำยางจากโรงงาน เดียวกัน พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณกรดอะมิโนมีแนวโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.55 โดย ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.18-0.26, 0.13-0.29 และ 0.14-0.19%gN/g น้ำยาง หรือ 0.61-0.88, 0.43-0.75 และ 0.48-0.71%gN/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.15-0.23, 0.09-0.16 และ 0.11-0.19 %gN/g น้ำยาง หรือ 0.25-0.38, 0.15-0.27 และ 0.19-0.32gN/g DRC ตามลำดับ ค่าที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าที่เคยมีการรายงานไว้นั้นคือ ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำยางสดมี ประมาณ 0.17% g/g DRC (Blackley, 1997) และ 0.82% g/g DRC (Regero และคณะ, 2003)

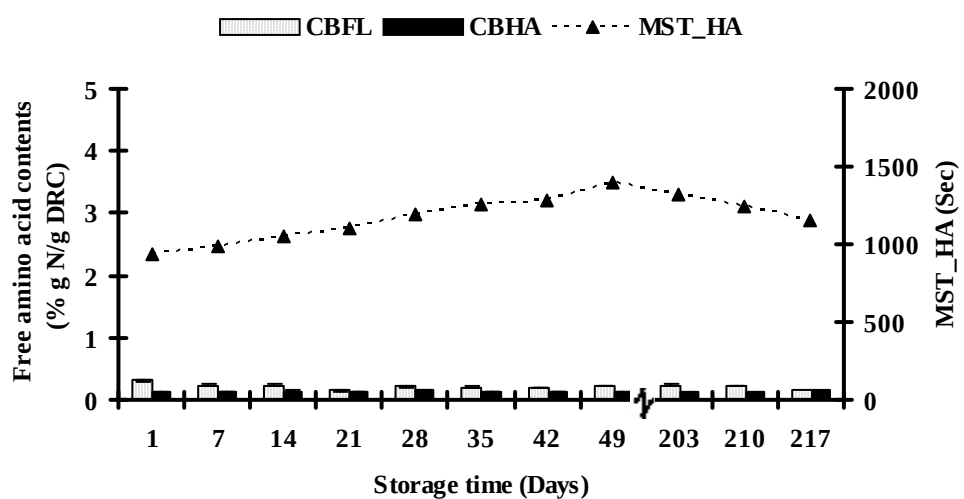
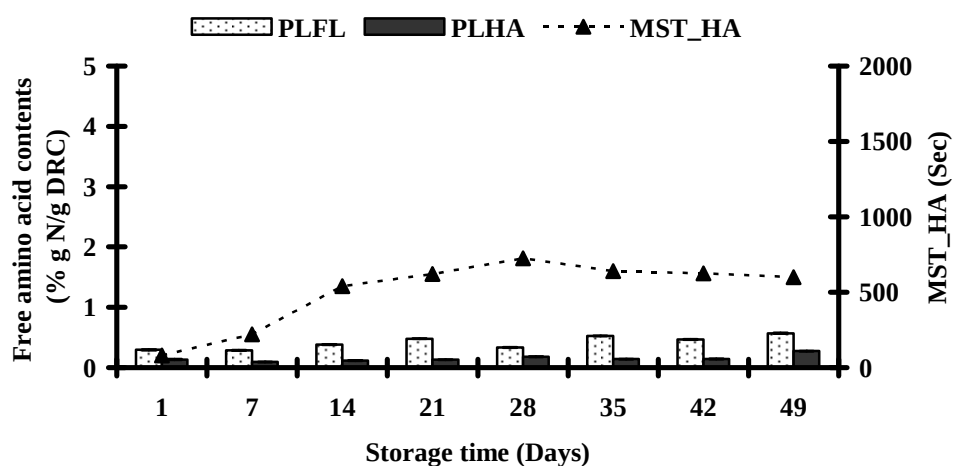
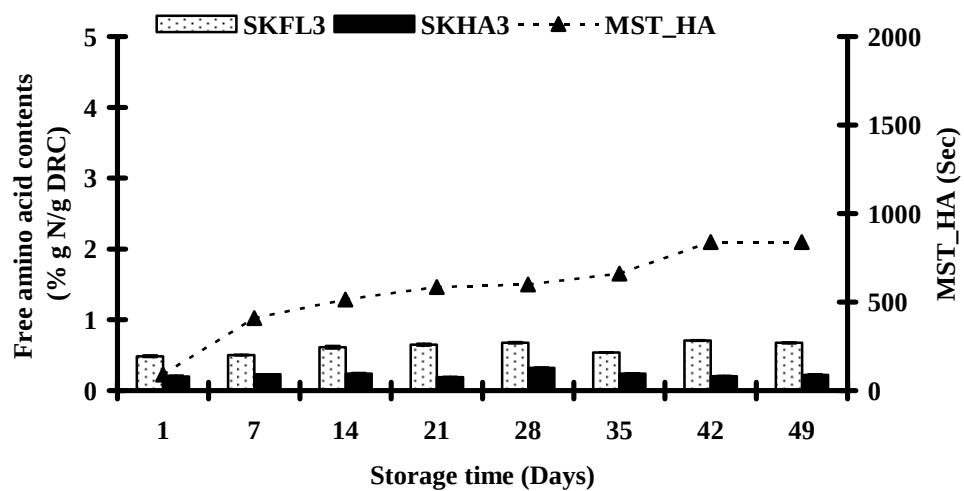
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับ ตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.56 ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา พัทลุงและ ชลบุรีอยู่ในช่วงร้อยละ 0.14-0.19, 0.09-0.17 และ 0.06-0.12%gN/g น้ำยาง หรือ 0.48-0.71, 0.28-0.57 และ 0.15-0.30% g N/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.11-0.19, 0.06-0.11 และ 0.07-0.09%gN/g น้ำยาง หรือ 0.19-0.32, 0.09-0.33 และ 0.12-0.15% g N /g DRC ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางขึ้นชนิด แอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.57 ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ ในช่วง 0.10-0.17, 0.10-0.18 และ 0.10-0.17% g N/g น้ำยาง หรือ 0.33-0.55, 0.33-0.59 และ 0.32-0.56% gN/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.06-0.11, 0.08-0.12 และ 0.07-0.13% g N/g น้ำยาง หรือ 0.10-0.19, 0.13-0.19 และ 0.12-0.22% g N/g DRC ตามลำดับ

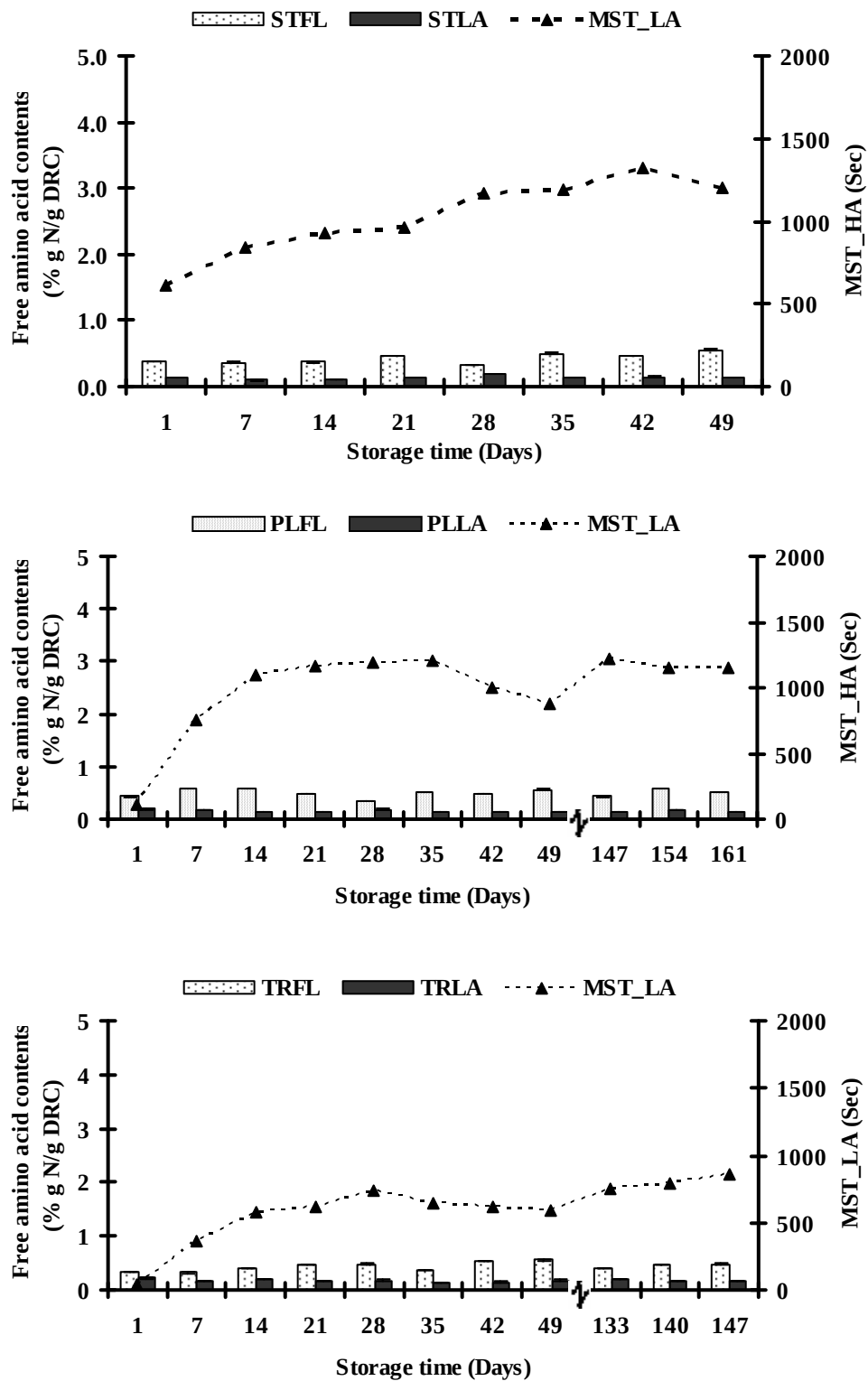
ในระหว่างการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติระหว่างปริมาณกรดอะมิโนกับค่าความเสถียรเชิงกล



รูปที่ 4.55 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.56 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.57 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

4.2.2.3 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยาง ได้ศึกษาใน 2 รูปแบบ ได้แก่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ ณ เวลาใด ๆ พบผลการศึกษาดังนี้

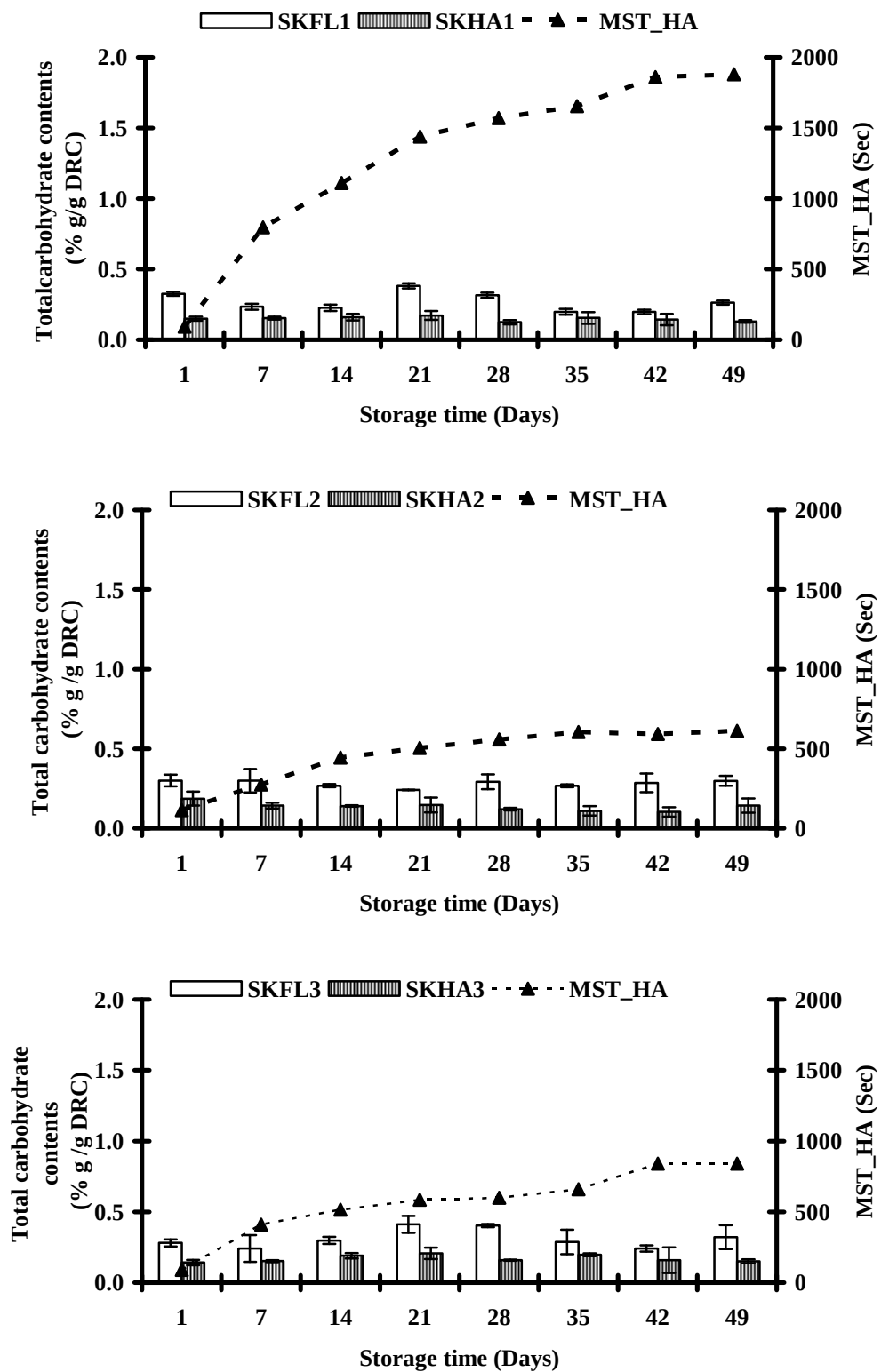
1) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรต

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากโรงงานเดียวกัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้น ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างที่เก็บทั้งสามครั้งมีแนวโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.58 โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.07-0.11, 0.07-0.09 และ 0.06-0.12% g/g น้ำยาง หรือ 0.17-0.33, 0.21-0.26 และ 0.21-0.36% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.09-0.10, 0.09-0.11 และ 0.09-0.12% g/g น้ำยาง หรือ 0.11-0.15, 0.09-0.16 และ 0.12-0.18% g/g DRC ตามลำดับ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ตรวจพบในน้ำยางมีปริมาณต่ำกว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เคยมีรายงานซึ่งอยู่ในช่วง 1.00-1.50% g/g น้ำยาง (บุญธรรม, 1987; Mellstrom, 1994; Blackley, 1997 and Resing, 2000)

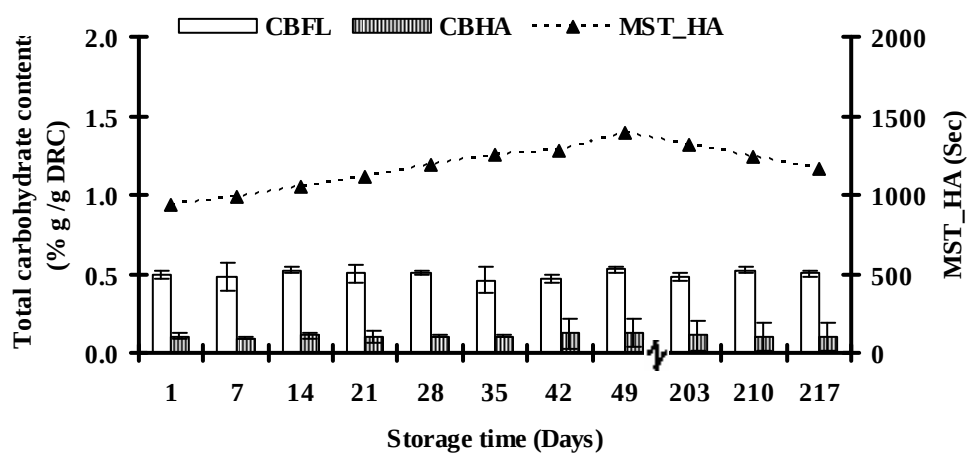
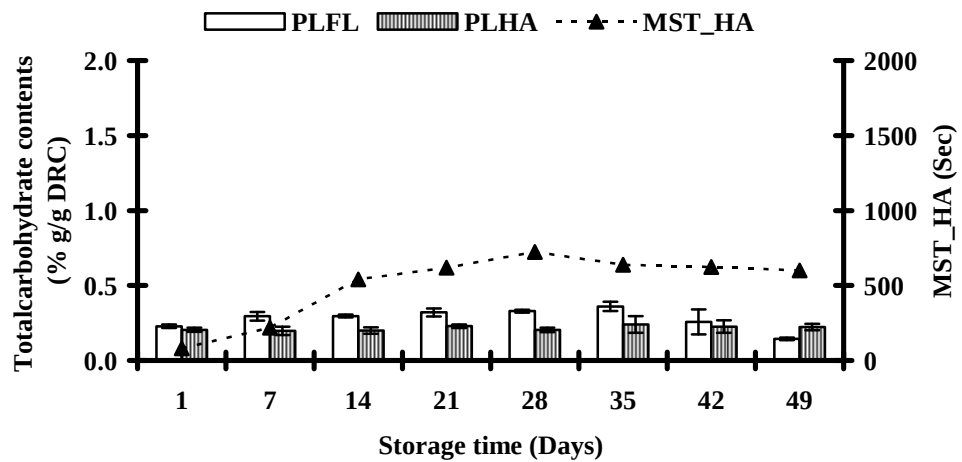
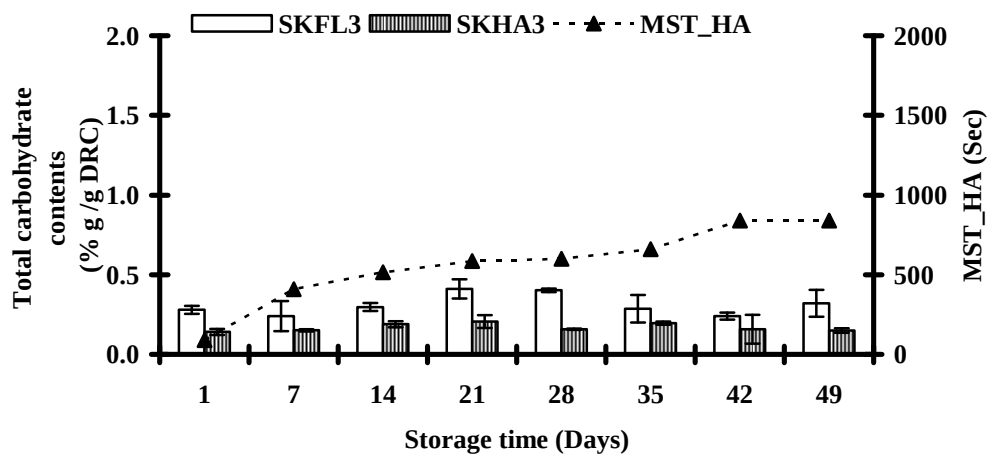
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.59 โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางสดจากจังหวัดสงขลา ชลบุรี และพัทลุงอยู่ในช่วงร้อยละ 0.06-0.12, 0.07-0.11 และ 0.18-0.21% g/g น้ำยาง หรือ 0.21-0.36, 0.13-0.31 และ 0.40-0.46% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.09-0.12, 0.12-0.15 และ 0.06-0.08% g/g น้ำยาง หรือ 0.12-0.18, 0.17-0.21 และ 0.08-0.11% g/g DRC ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางขึ้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.60 โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วง 0.08-0.15, 0.08-0.13 และ 0.09-0.15% g/g น้ำยาง หรือ 0.22-0.41, 0.23-0.38 และ 0.25-0.41% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นในตัวอย่างจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังอยู่ในช่วง 0.12-0.15, 0.11-0.15 และ 0.11-0.15% g/g น้ำยาง หรือ 0.17-0.21, 0.16-0.21 และ 0.16-0.21% g/g DRC ตามลำดับ

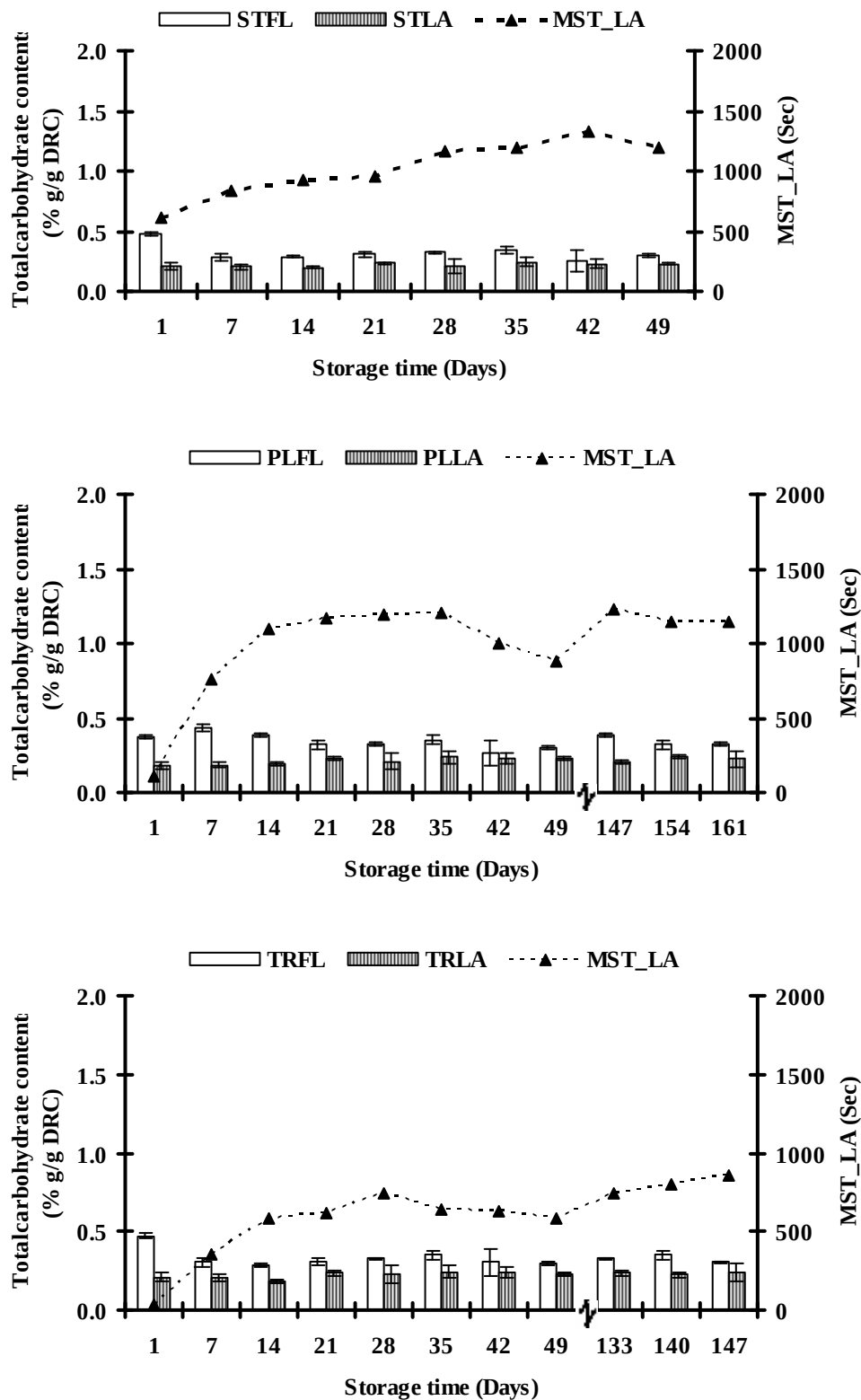
การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตก็เช่นเดียวกับโปรตีน คืออยู่ในระดับที่ยังตรวจไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเสถียรเชิงกล



รูปที่ 4.57 การเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.58 การเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)



รูปที่ 4.59 การเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน) พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

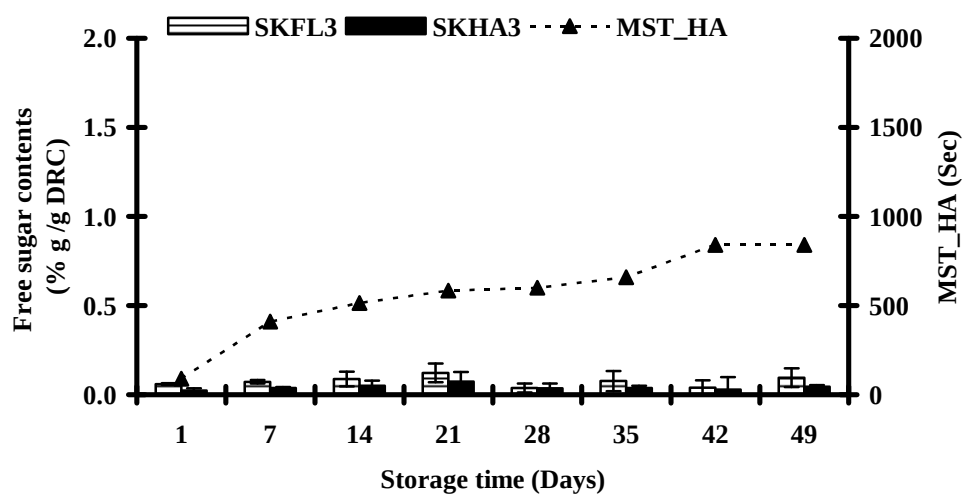
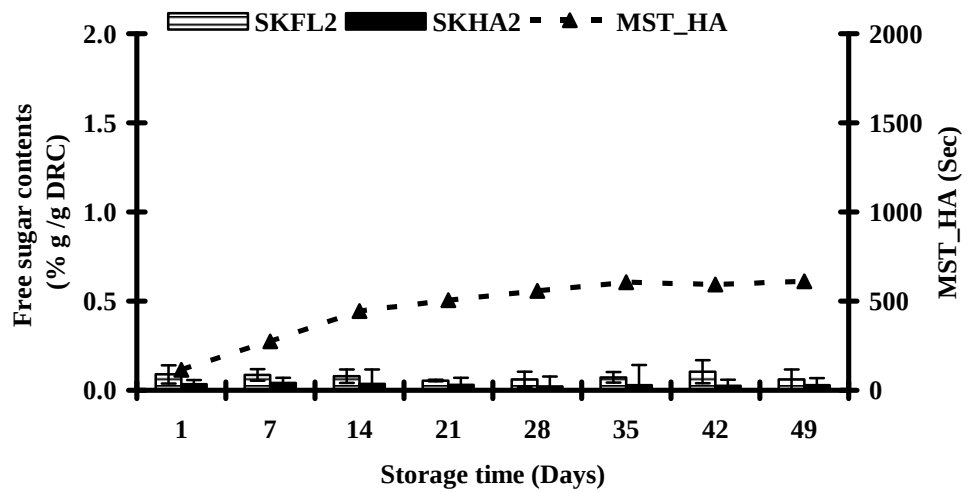
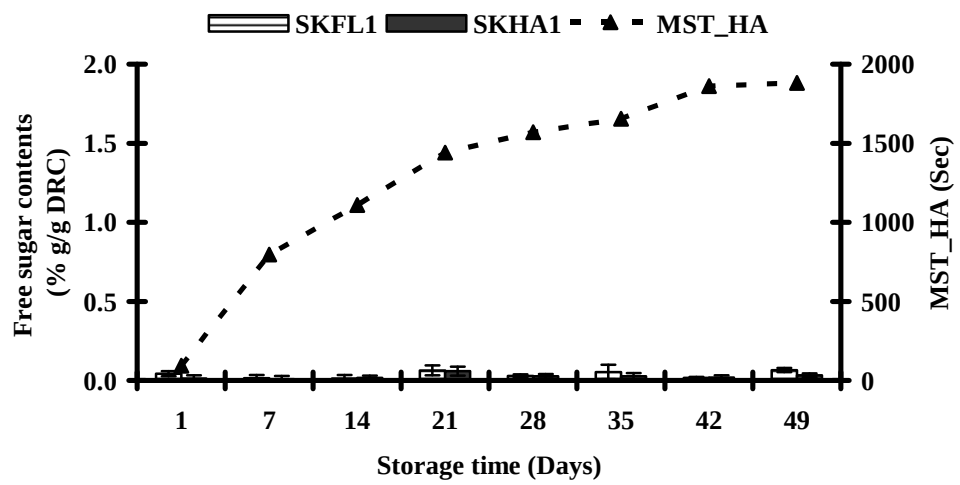
2) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาล

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำยางจากโรงงานเดียวกัน พบเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างไม่เก็บทั้งสามครั้ง มีแนวโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.60 โดยปริมาณน้ำตาลในน้ำยางสดครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ในช่วง 0.01-0.07, 0.05-0.10 และ 0.03-0.12% g/g น้ำยาง หรือ 0.02-0.11, 0.09-0.18 และ 0.06-0.21% g/g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วง 0.02-0.12, 0.06-0.09 และ 0.05-0.15% g/g น้ำยาง หรือ 0.01-0.10, 0.04-0.07 และ 0.04-0.12% g/g DRC ตามลำดับ สอดคล้องกับค่าที่เคยมีรายงานในน้ำยางสดอยู่ในช่วง 0.20% g/g latex (Perrella และคณะ, 2002) ส่วน Smith (1954) รายงานในรูปของน้ำตาล Myoinositol เท่ากับ 0.02% g/g latex

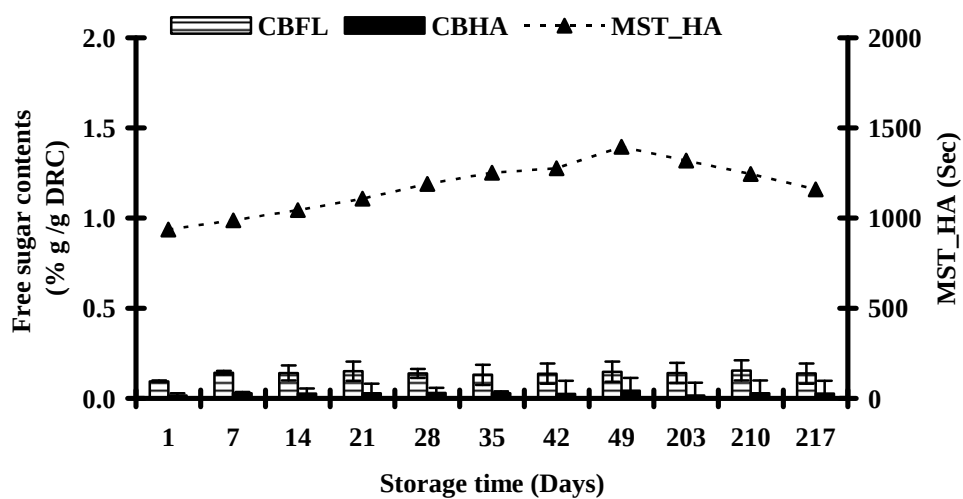
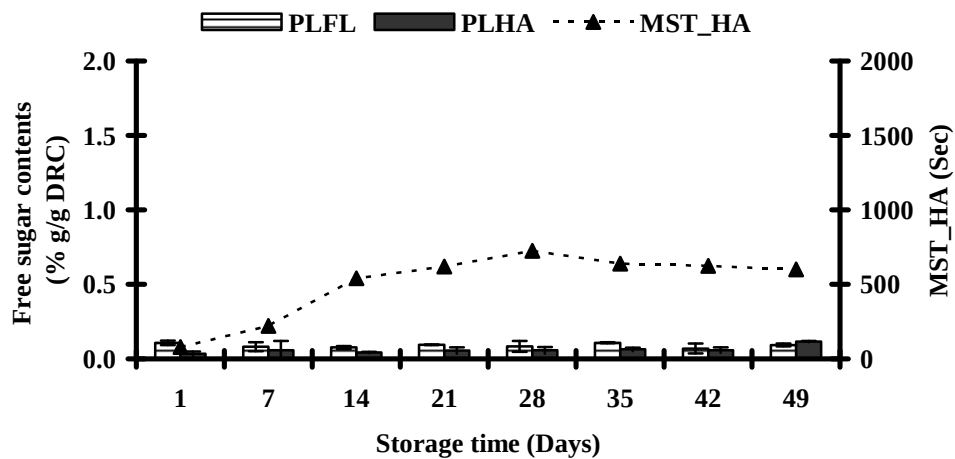
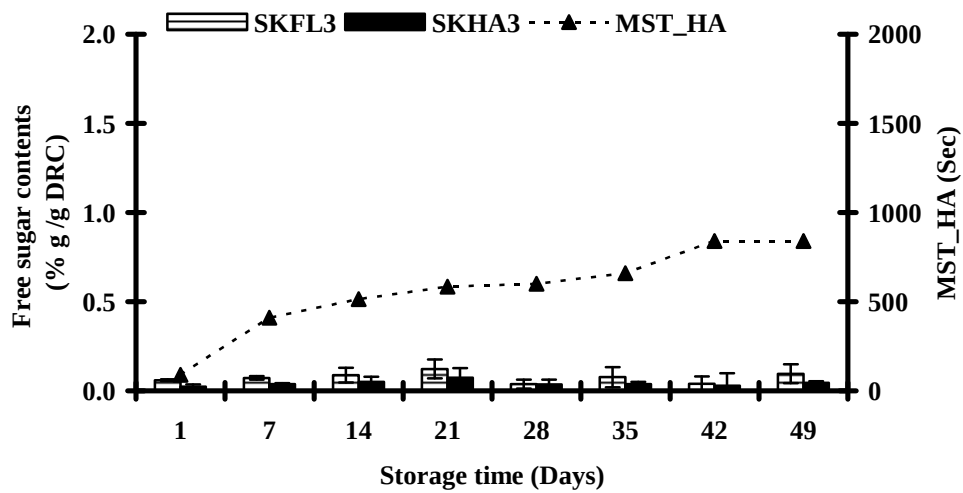
เมื่อทำการศึกษาในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากสามโรงงาน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับตัวอย่างในโรงงานเดียวกัน ดังรูปที่ 4.61 โดยปริมาณน้ำตาลในน้ำยางจากจังหวัดสงขลา พัทลุง และชลบุรีอยู่ในช่วงร้อยละ 0.03-0.12, 0.07-0.11 และ 0.12-0.21% g/g น้ำยาง หรือ 0.06-0.21, 0.12-0.18 และ 0.03-0.07% g /g DRC ตามลำดับ ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.05-0.15, 0.07-0.13 และ 0.03-0.09% g/g น้ำยาง หรือ 0.04-0.12, 0.06-0.20 และ 0.16-0.26% g/g DRC ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงในน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำก็ให้ผลเช่นเดียวกับน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง ดังรูปที่ 4.62 โดยปริมาณน้ำตาลในน้ำยางสดจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พัทลุง และตรังโดยอยู่ในช่วง 0.07-0.11, 0.06-0.10 และ 0.06-0.11% g/g น้ำยาง หรือ 0.11-0.18, 0.10-0.17 และ 0.09-0.18% g/g DRC ส่วนในน้ำยางขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.07-0.13, 0.05-0.08 และ 0.04-0.09% g/g น้ำยาง หรือ 0.06-0.11, 0.04-0.07 และ 0.04-0.08% g/g DRC ตามลำดับ

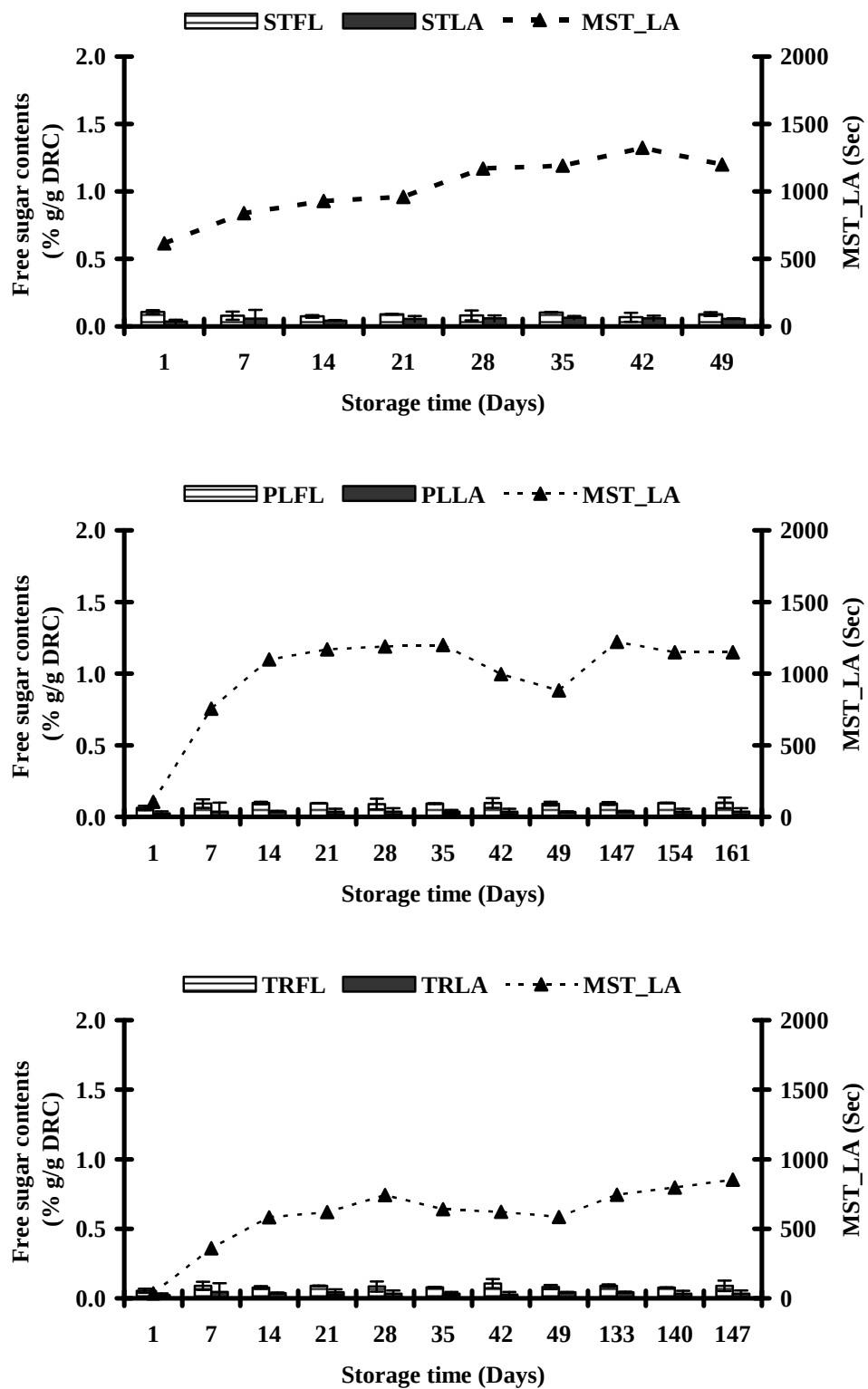
ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กับค่าความเสถียรเชิงกล



รูปที่ 4.60 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในน้ำยางจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 (บน) ครั้งที่ 2 (กลาง) และครั้งที่ 3 (ล่าง)



รูปที่ 4.61 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลของน้ำยางจากจังหวัดสงขลา (บน) พัทลุง (กลาง) และชลบุรี (ล่าง)

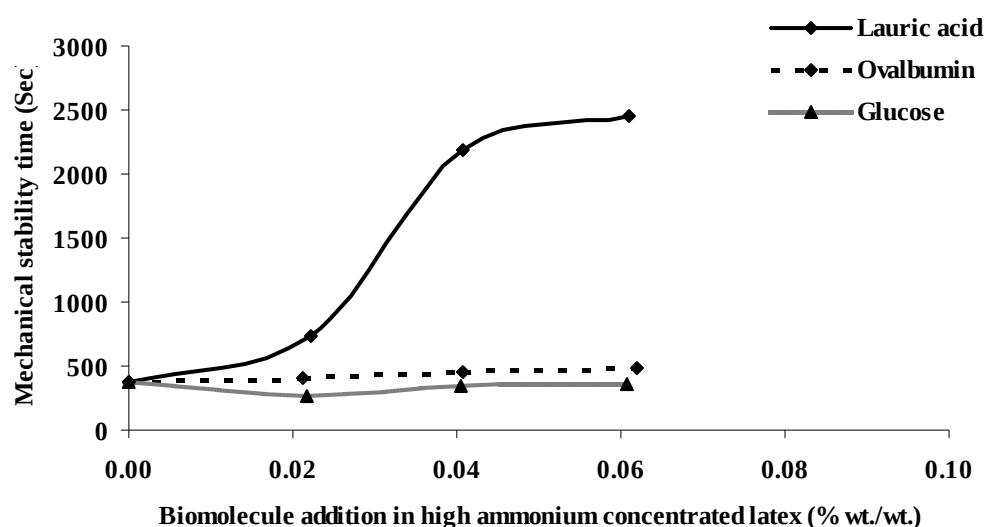


รูปที่ 4.62 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลอิสระทั้งหมดของน้ำยางจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (บน)
พัทลุง (กลาง) และตรัง (ล่าง)

แม้ว่าผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล จะไม่ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความเสถียรเชิงกล แต่ข้อมูลที่ได้ก็ยังมีประโยชน์เป็นอย่างยิ่งสำหรับผู้ประกอบการที่จะมีวิธีที่มีการตรวจสอบความน่าเชื่อถือด้านความมั่นคงและความเที่ยงตามหลักการทางเคมีวิเคราะห์ และที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือผู้ประกอบการที่เกี่ยวข้องจะได้มีข้อมูลระดับของสารชีวโมเลกุลที่ควรจะมีอยู่ในน้ำยาง เพื่อใช้เป็นระดับค่าที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของน้ำยางที่ปัจจุบันอาจมีปัญหาเพิ่มขึ้นจากการเติมสารปลอมปนใด ๆ ลงในน้ำยางเพื่อผลประโยชน์ทางการค้า

4.3 ผลของสารชีวโมเลกุลต่อความเสถียรเชิงกลในน้ำยางธรรมชาติ

จากการศึกษาผลของสารชีวโมเลกุลต่อความเสถียรเชิงกลในน้ำยางธรรมชาติ โดยใช้สารมาตรฐานกรดไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ กรดลอริก โอวัลบูมิน และกลูโคส โดยเติมสารดังกล่าวในรูปของแข็งลงในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูง พบที่ความเข้มข้นของสารชีวโมเลกุล 0.05% w/v กรดลอริกจะส่งผลกระทบต่อเพิ่มขึ้นของค่า MST สูงกว่าการเติมโอวัลบูมิน และกลูโคสกว่า 5 เท่า ดังรูปที่ 4.63 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของชัยอรุณ (2527) และ วราภรณ์ (2549) ได้ศึกษาผลของสารละลายกรดลอริกต่อความเสถียรเชิงกลในน้ำยางข้น พบว่าเมื่อปริมาณกรดลอริกเพิ่มขึ้นค่า MST มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และพบว่าการเพิ่มขึ้นของค่า MST จากงานวิจัยดังกล่าวอยู่ในช่วงเดียวกันกับผลการศึกษาที่ได้จากงานวิจัยนี้



รูปที่ 4.63 อิทธิพลของสารชีวโมเลกุลต่อค่าความเสถียรเชิงกลในน้ำยางข้นชนิดแอมโมเนียสูง

5. สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำยางที่ผ่านมา ส่วนใหญ่พบว่าไม่ค่อยมีการรายงานถึงรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ และมักรายงานผลโดยไม่มีการระบุความน่าเชื่อถือของวิธีด้านความแม่นยำและความเที่ยง ในการศึกษานี้ได้พยายามรวบรวมข้อมูลและพัฒนาวิธีการตรวจสอบและวิธีการวิเคราะห์ทำให้ได้วิธีการในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยางด้านสารชีวโมเลกุล ซึ่งสามารถนำวิธีที่พัฒนาได้ไปเผยแพร่เพื่อให้ผู้ประกอบการได้มีแนวทางและวิธีการที่น่าเชื่อถือในการตรวจสอบคุณภาพน้ำยาง

5.1 การพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล

จากการพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในตัวอย่างน้ำยาง โดยศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธี จากค่าความเที่ยงใช้ร้อยละของการกู้คืนและค่าความแม่นยำใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนพบความน่าเชื่อถืออยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ สามารถนำไปใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในตัวอย่างน้ำยางได้ ดังนี้

5.1.1 การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด

1) ไลปิดทั้งหมด

ในเบื้องต้นของการพัฒนาวิธีนี้ ผู้วิจัยได้ส่งจดหมายอิเล็กทรอนิกส์สอบถามเจ้าหน้าที่ของสถาบัน RRIM (Rubber Research Institute of Malaysia) ถึงวิธีการวิเคราะห์ไลปิดหรือไขมันในน้ำยาง แต่ได้รับทราบว่าทาง RRIM ยังไม่มีวิธีและกำลังสนใจที่จะศึกษา และแจ้งความประสงค์ให้ทราบว่าหากงานวิจัยนี้แล้วเสร็จทาง RRIM ใคร่ขอทราบวิธีการที่พัฒนาขึ้นด้วย

งานวิจัยนี้จึงได้ดำเนินการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไลปิดทั้งหมดโดยวิธีสกัดแบบชอกห์เลต โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ferraz และคณะ (2006) พบสถานะที่เหมาะสมที่สุดคือใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยใช้เวลาในการสกัดถึงตัวอย่างละ 8 ชั่วโมง การสกัดจึงจะเกิดสมบูรณ์พบสามารถสกัดไลปิดออกจากน้ำยางได้ร้อยละ 72-85 อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ไลปิดหรือไขมันโดยวิธีนี้ผู้วิเคราะห์ต้องมีทักษะในการวิเคราะห์ดีเป็นอย่างยิ่งจึงจะสามารถมีผลของการวิเคราะห์ความเที่ยงที่ยอมรับได้ ในการพัฒนาวิธีนี้ใช้เวลาไปทั้งสิ้นเป็นเวลานานกว่าวิธีอื่น ๆ

2) ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม

จากการตรวจสอบและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม หรือที่เรียกว่า สบู่ พบเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ทำให้เห็นสัญญาณที่ชัดเจนที่สามารถบ่งบอกได้ถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันที่เป็นสบู่ในน้ำยางได้โดยตรง โดยความแม่นยำของวิธียังอยู่ที่ระดับที่ต่ำกว่าร้อยละ 75 ซึ่งอยู่ในระดับเดียวกับการวิเคราะห์กรดไขมัน

ของงานวิจัยที่เคยมีมา ทั้งนี้เนื่องจากธรรมชาติของกรดไขมันที่มักจะเกาะติดกับอนุภาค หรือผิววัสดุต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี

5.1.2 การวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน

การรายงานปริมาณโปรตีนในน้ำยาควรมีการระบุว่าโปรตีนที่วิเคราะห์เป็นโปรตีนทั้งหมด หรือ โปรตีนที่สกัดได้ หรือโปรตีนที่มีขนาดเฉพาะ เช่นโปรตีนที่สามารถผ่านเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

นอกจากนี้การรายงานปริมาณโปรตีนควรรายงานในรูปของกรัมของไนโตรเจน แทนกรัมของโปรตีน เนื่องจากการรายงานปริมาณโปรตีนต้องนำปริมาณไนโตรเจนมาคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 ซึ่งแฟกเตอร์ 6.25 นิยมใช้ในการบ่งบอกโปรตีนที่เป็นสารอาหารประเภทโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างจากชนิดของโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยา

อีกประการหนึ่งโปรตีนที่ใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยา ควรเลือกโปรตีนที่มีขนาดใกล้เคียงกับโปรตีนในน้ำยามากที่สุด ตัวอย่างเช่น ควรเลือกใช้โปรตีนโอวัลบูมินเป็นโปรตีนจากไข่ไก่ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 45 kDa ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยาธรรมชาติ มากกว่าการใช้โปรตีนจากซีรัมสัตว์เคี้ยวเอื้องซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลถึง 66 kDa หรือในอนาคตควรมีการพัฒนาวิธีที่ใช้โปรตีนที่มาจากพืชแทนการใช้โปรตีนที่มาจากสัตว์

สำหรับผลการพัฒนาการวิเคราะห์โปรตีน สามารถสรุปได้ดังนี้

1) โปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจน

การวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดในรูปไนโตรเจนด้วยวิธีเจลดาคัล พบความน่าเชื่อถือของวิธีอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ โดยค่าความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 90.76 ± 3.94 และ 4.34 ± 1.68 ตามลำดับ วิธีการวิเคราะห์ในการศึกษานี้ยังมีรายละเอียดของวิธีการที่จะตรวจสอบถึงการย่อย

2) โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์

จากการตรวจสอบเอกสารการศึกษาที่เคยมีมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยการทำปฏิกิริยาของพันธะเปปไทด์ ไม่พบการรายงานยืนยันการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธี และเมื่อทำการศึกษการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยา โดยดัดแปลงวิธีวิเคราะห์โปรตีนในผลิตภัณฑ์อาหารคือ วิธี MS 1392: 1008 และวิธี ISO 12243: 2003 พบวิธี ISO 12243: 2003 มีการใช้สารซึ่งมีราคาแพงมากคือ *N*-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-amino-ethanesulfonic acid

hemisodium salt (TES) ในขณะที่ความน่าเชื่อถือของวิธีทั้งสองอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และอยู่ในระดับเดียวกัน โดยค่าความแม่นยำของวิธี MS 1392: 1008 และวิธี ISO 12243: 2003 เท่ากับร้อยละ 93.86 ± 1.03 และ 87.76 ± 4.93 ตามลำดับ และความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 7.67 ± 3.43 และ 10.02 ± 4.26 ตามลำดับ เนื่องจากวิธี MS 1392: 1008 มีความยุ่งยากน้อยกว่าและไม่มีการใช้สาร TES รวมทั้งมีการใช้โปรตีนที่มีขนาดเล็กกว่าคือโอวัลบูมินเป็นสารมาตรฐาน ทำให้มีความน่าสนใจนำมาใช้มากกว่า

หนึ่งในการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โปรตีน ควรมีการระบุประเภทของโปรตีน เช่น ปริมาณในโตรเจนทั้งหมด เช่นกรณีของวิธีเจลดาคัลซึ่งบอกรวมปริมาณโปรตีน แอมโมเนีย และ สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ หรือปริมาณโปรตีนทั้งหมด หรือโปรตีนขนาดเล็กกว่า $0.45 \mu\text{m}$ โดยการกรองผ่านเยื่อกรองในลอนขนาด $0.45 \mu\text{m}$ ทั้งนี้เพื่อให้สามารถตรวจสอบเปรียบเทียบผลจากแต่ละวิธีได้

3) โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโน

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการไฮโดรไลซ์โปรตีนด้วยกรด และทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนด้วยนินไฮดริน โดยใช้กรดแอสปาร์ติกเป็นตัวแทนของกรดอะมิโนทั้งหมด พบวิธีวิเคราะห์ทำได้ค่อนข้างง่าย ไม่ยุ่งยาก มีความจำเพาะต่อโปรตีนสูงกว่าวิธีเจลดาคัล เนื่องจากตรวจวัดสัญญาณที่เกิดจากกรดอะมิโนซึ่งเป็นส่วนย่อยโดยตรงของโปรตีน สารที่ใช้มีราคาถูกกว่าวิธี ISO 12243: 2003 และพบความน่าเชื่อถือของวิธีมีความน่าเชื่อถือสูงโดยมีค่าความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 95.91 ± 2.58 และ 9.64 ± 2.58 ตามลำดับ

4) กรดอะมิโน

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนโดยดัดแปลงวิธีนินไฮดริน พบวิธีมีการใช้สารที่มีราคาถูก เวลาน้อย และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์โปรตีนในรูปแบบอื่น ๆ พบว่าวิธีนินไฮดรินไม่ยุ่งยากและไม่ต้องใช้ทักษะและความชำนาญเท่ากับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลดาคัล เมื่อตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีพบมีความน่าเชื่อถือสูง โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงเท่ากับร้อยละ 104.67 ± 0.07 และ 4.03 ± 0.43 ตามลำดับ

5.1.3 การวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต

1) คาร์โบไฮเดรต

ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต พบวิธีที่ใช้กรด-3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิกในการเตรียมสารอนุพันธ์ ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตในน้ำยาง ทั้งนี้เนื่องจากสารชนิดนี้ จะเกิดการเสียสภาพได้หากมีกรดอื่น ๆ ที่เกิดจากการใช้ในการเตรียมชีรัมของ

ตัวอย่างน้ำยาง ดังนั้นวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริกจึงมีความเหมาะสมมากกว่าเนื่องจากไม่เสียสภาพในสถานะที่มีกรด เมื่อศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธี พบว่าความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้คือ เท่ากับร้อยละ 99.36 ± 2.89 และ 2.91 ± 0.12 ตามลำดับ

2) น้ำตาล

ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่อยู่ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ พบวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริกมีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างน้ำยาง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้สารเคมีน้อยและราคาถูก อีกทั้งใช้เวลาน้อยในการวิเคราะห์ต่อหนึ่งตัวอย่าง เมื่อตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีพบวิธีมีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยมีความแม่นยำและความเที่ยง เท่ากับร้อยละ 102.46 ± 0.44 และ 0.42 ± 0.04 ตามลำดับ

5.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับของสารชีวโมเลกุลแต่ละชนิดเพื่อดูความสัมพันธ์กับค่าความเสถียรเชิงกล โดยได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพบางประการควบคู่ไปกับการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล โดยศึกษาในตัวอย่างน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูงจากโรงงานใน 3 จังหวัด คือ สงขลา พัทลุง และชลบุรี พบผลการศึกษาดังนี้

5.2.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางเคมีและกายภาพ

1) ปริมาณเนื้อยางแห้ง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณเนื้อยางแห้งทั้งในน้ำยางสดและชั้นใน ทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

2) ปริมาณของแข็งทั้งหมด

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณของแข็งทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้นใน ทุกตัวอย่าง โดยในน้ำยางสดมีปริมาณน้อยกว่าน้ำยางชั้น

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเนื้อยางแห้งและปริมาณของแข็งทั้งหมดกับค่าความเสถียรเชิงกล ไม่พบปริมาณเนื้อยางแห้งหรือปริมาณของแข็งทั้งหมดมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

3) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้นในทุกอย่าง โดยในน้ำยางสดมีค่าต่ำกว่าน้ำยางชั้นนอกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำยางสดมีค่าเท่ากับน้ำยางชั้น เนื่องจากมีการเติมแอมโมเนียในปริมาณที่เท่ากัน

4) ค่าความเป็นด่าง

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าความเป็นด่างมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่าน้อยกว่าน้ำยางชั้นนอกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่าความเป็นด่างในน้ำยางสดมีค่าเท่ากับน้ำยางชั้น ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่าง และพบว่าตัวอย่างน้ำยางสองจากสามโรงงานมีค่าความเป็นด่างมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล โดยพบว่าเมื่อค่าความเป็นด่างมีแนวโน้มลดลงค่าความเสถียรเชิงกลจะเพิ่มขึ้น

5) ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

ค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นค่าที่บอกถึงปริมาณของกรดไขมันที่อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียม พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในน้ำยางสดและมีแนวโน้มคงที่ในน้ำยางชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้นนอกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่าอยู่ในช่วงเดียวกันทั้งในน้ำยางสดและชั้น สอดคล้องกับค่าความเป็นด่าง และพบว่าค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำยางจากทั้งสามโรงงานมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล นั่นคือ เมื่อค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลจะเพิ่มขึ้น

6) ค่ากรดไขมันระเหยได้

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่ากรดไขมันระเหยได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในน้ำยางสดและมีแนวโน้มคงที่ในน้ำยางชั้น นอกเว้นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรีที่ค่ากรดไขมันระเหยได้มีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น และพบตัวอย่างน้ำยางสองจากสามโรงงานมีค่ากรดไขมันระเหยได้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล โดยเมื่อกรดไขมันระเหยได้เพิ่มขึ้นค่าความเสถียรเชิงกลก็มีค่าเพิ่มขึ้น

7) ค่าการนำไฟฟ้า

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นค่าการนำไฟฟ้ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งในน้ำยางสดและชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น สอดคล้องกับค่าโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และค่ากรดไขมันระเหยได้ และพบว่าตัวอย่างน้ำยางจากโรงงานเดียวมีค่าการนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

เมื่อดูในภาพรวมของผลจากการวิเคราะห์หากผู้ประกอบการต้องการทราบแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความเสถียรเชิงกล ควรเสนอแนะให้ผู้ประกอบการใช้วิธีวัดการนำไฟฟ้า ร่วมกับการวัดค่าความเป็นด่าง และการหาค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ในการตรวจคุณภาพน้ำ ยางเบื้องต้น เนื่องจากสะดวกและรวดเร็ว ของวิธีตามลำดับ แต่ในกรณีที่สัญญาณของการนำไฟฟ้า ไม่มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลง เนื่องจากสาร โมเลกุลเล็กที่เพิ่มขึ้นมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ ค่าเลข โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นค่าที่นำไปใช้ในการติดตามแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความเสถียรเชิงกล มากที่สุด เนื่องจากข้อมูลจากน้ำยางของทั้งสามโรงงานที่ศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์กับค่าความเสถียรเชิงกล

5.2.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุล

5.2.2.1 การวิเคราะห์สารประกอบไลปิด

1) ไลปิดทั้งหมด

เนื่องจากการวิเคราะห์ไลปิดทั้งหมดโดยวิธีสกัดแบบซอกซ์เลต ต้องใช้เวลาในการสกัด อย่างน้อยตัวอย่างละ 8 ชั่วโมง จึงจะสามารถสกัดไลปิดทั้งหมดออกจากรายางได้สมบูรณ์ อีกทั้ง ต้องใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่สูง ก่อให้เกิดของเสียจากห้องปฏิบัติการในปริมาณมาก ใน การศึกษานี้จึงไม่ได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงไปพร้อม ๆ กับสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ

2) ชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 8-24 อะตอม

แม้ว่าปริมาณกรดไขมันที่รายงานในการศึกษานี้ดูเหมือนมีแนวโน้มคงที่ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้เป็นเพียงกรดไขมันที่สามารถตรวจวัดได้ หรือเป็นเพียงปริมาณของกรดไขมัน บางส่วนเท่านั้น ยังมีกรดไขมันอีกหลายชนิดที่มีค่าต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจวัด ซึ่งเมื่อนำมา รวมกันก็จะมีปริมาณอยู่ในระดับหนึ่ง อีกทั้งยังพบฟิคของสารหรือกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีขนาด ของสัญญาณสูงกว่ากรดไขมันทุกชนิด อยู่ระหว่างฟิคสัญญาณของเอสเทอร์ของกรดไขมันที่มี คาร์บอน 16 และ 18 ตัว แต่ในการศึกษานี้ไม่มีสารมาตรฐานที่มีฟิคสัญญาณตรงกับฟิคสัญญาณ ดังกล่าว ทำให้ไม่สามารถรายงานรวมความเข้มข้นของสารชนิดนี้ได้ เมื่อยังไม่สามารถรายงาน ปริมาณรวมของกรดไขมันจึงทำให้ยังไม่อาจสรุปได้ว่ากรดไขมันจะมีหรือไม่มีความสัมพันธ์อย่างมี นัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็สามารถใช้ในการบอกชนิดและปริมาณของกรดไขมันได้ชัดเจน กว่าทุกวิธีที่เคยมีการรายงานกรดไขมันในตัวอย่างน้ำยางพารา โดยจะสามารถเห็นได้ว่าในตัวอย่าง น้ำยางสดพบกรดปาล์มมิติก (C16) และกรดออกตะเดคาโนอิก (C18) ในปริมาณสูง ในขณะที่ในน้ำ ยางชั้นหลังโรงงานเดิมสบู่ออร์เท จะปรากฏสัญญาณของกรดลอริก (C12) เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน

5.2.2.2 การวิเคราะห์สารประกอบโปรตีน

1) โปรตีนทั้งหมดในรูปเจลดาคัลไนโตรเจน

พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้นในทุกตัวอย่าง โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น และพบว่าปริมาณโปรตีนในระดับนี้ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

2) โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาที่พันธะเปปไทด์ พบว่าผลที่ได้มีปริมาณน้อยกว่ามากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ตรวจวัดโดยวิธีเจลดาคัลและวิธีของกรดอะมิโน ซึ่งอาจเกิดเนื่องมาจากการย่อยโปรตีนที่ยังไม่สมบูรณ์ จึงไม่ได้รายงานการติดตามการเปลี่ยนแปลงไปพร้อม ๆ กับสารชีวโมเลกุลอื่น

3) โปรตีนทั้งหมดโดยการทำปฏิกิริยาคู่กรดอะมิโน

พบว่าเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นโปรตีนทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น สอดคล้องกับการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลดาคัลและไม่พบว่าโปรตีนในระดับที่ตรวจพบได้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

เมื่อศึกษาอิทธิพลของสารชีวโมเลกุลต่อค่าความเสถียรเชิงกลในน้ำยางชั้น พบว่าโปรตีนจะมีอิทธิพลต่อค่าความเสถียรเชิงกลน้อยกว่ากรดไขมันกว่าพันธะ ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดระดับความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนที่ตรวจวัดได้กับค่าความเสถียรเชิงกล

4) กรดอะมิโน

จากการติดตามปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำยาง ณ เวลาใด ๆ โดยวิธีนินไฮดริน พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณกรดอะมิโนมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น และไม่พบว่ากรดอะมิโนมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

5.2.2.3 การวิเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต

1) คาร์โบไฮเดรต

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางชั้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางชั้น และไม่พบว่าคาร์โบไฮเดรตมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล

2) น้ำตาล

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก พบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาน้ำยางเพิ่มขึ้นปริมาณน้ำตาลมีแนวโน้มคงที่ทั้งในน้ำยางสดและน้ำยางข้น โดยในน้ำยางสดมีค่ามากกว่าน้ำยางข้น และไม่พบว่าน้ำตาลมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกลสอดคล้องกับการโพลีไฮเดรต

แม้ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลแต่ละชนิด ส่วนใหญ่จะไม่แสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเสถียรเชิงกล แต่ผลจากการศึกษาสมบัติที่เกิดจากสารชีวโมเลกุล ก็สามารถใช้ในการบ่งบอกความสัมพันธ์กับค่าความเสถียรเชิงกลได้ เช่น ค่าเลขโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณกรดไขมันอิสระที่อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียมที่มีเพิ่มขึ้น อันน่าจะเนื่องมาจากการสลายตัวของกรดไขมันที่เดิมอาจอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ หรือฟอสโฟไลปิด และผลจากการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมัน และให้เห็นว่ากรดไขมันที่เพิ่มขึ้น ไม่ได้เป็นชนิดที่มีคาร์บอน 12, 16 หรือ 18 ตัว แต่น่าจะมีขนาดใกล้เคียงกับกรดไขมัน ที่มีคาร์บอน 16 หรือ 18 ตัว โดยอาจเป็นกรดโอเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอนแบบ 18:1 หรือกรดไขมันพิวรานอยด์ซึ่ง Lie Ken Jie และ Sinha (1981) รายงานไว้ว่ากรดไขมันในส่วนของ triacylglycerol fraction ของน้ำยางพารา ประกอบด้วยกรดไขมันพิวรานอยด์ถึง 97% โดยกรดไขมันพิวรานอยด์ที่พบเป็นแบบที่มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม อย่างไรก็ตามหากศึกษาจากขนาดของสัญญาณงานวิจัยนี้คาดว่าน่าจะมีกรดไขมันชนิดนี้น้อยกว่า 90%

นอกจากนี้ผู้ประกอบการยังสามารถนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปใช้ในการวิเคราะห์ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต หากมีเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งสารเหล่านี้ถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะข้อเสนอแนะของการวิเคราะห์โปรตีนในน้ำยางโดยวิธีนินไฮดรินก่อนที่จะนำน้ำยางไปเตรียมเป็นถุงมือยาง หรือถุงยางอนามัย อีกทั้งยังมีข้อมูลที่สามารถตรวจสอบได้ถึง การตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธี โดยเฉพาะด้านความแม่นยำและความเที่ยงให้ผู้ประกอบการได้ใช้ศึกษาเปรียบเทียบ