



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาการยึดติดของกาวยางพาราด้วยพลาสมา

รหัสโครงการ RDG5750098

โดย ดร.พีไลวรรณ พรประสิทธิ์ และคณะ

“งานวิจัยยังไม่เสร็จสมบูรณ์ โปรดอย่านำไปใช้อ้างอิง”

สัญญาเลขที่ RDG5750098

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาการยึดติดของกาวยางพาราด้วยพลาสติก

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. อ.ดร.พีไลวรรณ พรประสิทธิ์

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. ผศ.ดร.ปิยรัตน์ นิมมานพิภักดิ์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช.-สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทสรุปของผู้บริหาร

(Executive Summary)

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย)

การพัฒนาการยึดติดของกาวยางพาราด้วยพลาสมา

(ภาษาอังกฤษ)

Development of Natural Rubber Adhesive by Plasma Treatment

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

ชื่อ-สกุล อาจารย์ ดร.พิไลวรรณ พรประสิทธิ์

หน่วยงาน สาขาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ที่อยู่ 63 หมู่ 4 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

โทรศัพท์ 081-9879843

Email address dphilaiwan@yahoo.com, philaiwan@mju.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย ผศ.ดร.ปิยรัตน์ นิมมานพิภักดิ์

ระยะเวลาดำเนินงาน 18 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2557 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2559

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

มีการใช้ยางธรรมชาติมาทำเป็นกาวมาหลายศตวรรษ กาวจากน้ำยางธรรมชาตินิยมใช้ในการยึดติดสิ่งทอเพื่อใช้งานต่างๆ เช่นการติดขอบพรม การติดหนังกับหนัง และการติดผ้ากับผ้า นอกจากนั้นยังใช้ในการติดกระดาษกับหนังและเชื่อมวัสดุที่ผิวมีรูพรุนเข้าด้วยกัน กาวจากน้ำยางธรรมชาติดีกว่ากาวจากสารละลายเนื่องจากต้นทุนต่ำกว่า ไม่ติดไฟ ไม่มีสารละลายที่เป็นพิษ และทนต่อการบ่มแรงได้ดีกว่า ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตกาวจากน้ำยางธรรมชาตินั้นจะมีสารปรับปรุงการยึดติด (Adhesion modifiers) ซึ่งปัจจุบันที่ใช้กันได้แก่ เคซีน แป้ง เมทิลเมทาคริเลต เรซินอลฟอร์มาลดีไฮด์เรซิน โดยปกติสารยึดติดที่ใช้ในเทปกาวจะทำจาก พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (พีวีเอ) หรือยางธรรมชาติ ซึ่งอาจก่อให้เกิดการแพ้ได้ เนื่องจากการใช้ตัวทำละลาย หรือ มีโปรตีนอยู่ในยางธรรมชาติ ในงานวิจัยนี้จึงสนใจนำน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ มาใช้ทำกาว และทำการปรับปรุงคุณภาพสมบัติการยึดติดด้วยการบำบัดด้วยพลาสมา ซึ่งกลไกในการช่วยปรับปรุงการยึดติดของกาว

ด้วยพลาสมานั้น สามารถมีได้หลายกลไก เช่น (1) เป็นการทำความสะอาดพื้นผิวโดยเป็นการกำจัดสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำออกจากพื้นผิว (2) ทำให้เกิดการเชื่อมโยง หรือตัดขาดของสายโซ่ (3) เกิดดีไฮโดรจีเนชัน (dehydrogenation) (4) เกิดหมู่ที่ทำงานได้อิสระบนพื้นผิว หรือ (5) มีการปรับปรุงโครงสร้างเคมีที่พื้นผิว

วัตถุประสงค์ เพื่อทำการวางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และเพิ่มสมบัติการยึดติดของกาวยางด้วยการบำบัดด้วยพลาสมา

ผลการดำเนินงาน

ทำการเตรียมเอนไซม์โปรติเอสจากการเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* (MR10) พบว่าได้เอนไซม์โปรติเอสที่กิจกรรมเอนไซม์ 221 unit/ml จากนั้นนำเอนไซม์โปรติเอสที่เตรียมได้ปริมาณ 600 unit ต่อน้ำยางชัน 100 ml ไปใช้ย่อยโปรตีนภูมิแพ้ในน้ำยางชัน เพื่อให้ได้น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) จากทดสอบไม่พบโปรตีนภูมิแพ้จาก DPNR เมื่อทำการหาโปรตีนภูมิแพ้ด้วยวิธี Western blot

นำ DPNR มาเคลือบบนสไลด์ เพื่อหาสภาวะในการบำบัดพลาสมา โดยมีการแปรชนิดของก๊าซที่ใช้บำบัด ได้แก่ Ar gas กับ Ar/O₂ gas พบว่าระบบที่มีการใช้ Ar/O₂ gas หมู่ฟังก์ชัน C-C, C-H เพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ 80 วินาทีจะมีหมู่ลดลง ซึ่งพบว่าสัมพันธ์แบบผกผันกับหมู่ C-O-C, C-O-H ซึ่งเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลาการบำบัด 80 วินาที และการเกิด air bubble ในภาพ SEM นอกจากนี้ พบว่าหมู่ C-N และ O-C=O นั้นจะมีปริมาณที่ลดลงตามเวลาการบำบัดพลาสมาที่เพิ่มขึ้น ขณะที่หมู่ C=O มีปริมาณลดลงที่ 20-60 วินาที และเพิ่มขึ้นที่ 80 วินาที ก่อนจะลดลงอีกครั้ง

จากนั้นนำ DPNR และกาวจาก DPNR มาเคลือบลงบนผ้าก๊อชใยสังเคราะห์ เพื่อทำเป็นเทปกาว ก่อนนำไปบำบัดพลาสมาโดยใช้ Ar/O₂ gas กำลังในการบำบัดขึ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร ในส่วนนี้จะเป็นการบำบัดแบบต่อเนื่อง โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตร และนำไปทดสอบหาหมู่ฟังก์ชันด้วย XPS วิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วย SEM การยึดติดและความต้านทานแรงดึง รวมถึงการทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้นในกระต่าย พบว่า เมื่อบำบัดเทปกาวด้วยพลาสมาแล้วหลังการบำบัดด้วยพลาสมา หมู่ C-C, C-H ลดลง แต่หมู่ C-O-C เพิ่มขึ้น (เทียบกับกาวยางที่ไม่ผ่านการบำบัด) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเทปกาวทางการค้าพบว่า หมู่ C-O-C มีปริมาณสูงกว่าตัวอย่างอยู่มาก พื้นผิวของผ้าก๊อชที่เคลือบกาวยางหลังการบำบัดพลาสมา จะมีลักษณะขรุขระมากกว่าก่อนบำบัด พื้นผิวของ DPNR-T (น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา) มีความขรุขระมากที่สุด ตามมาด้วย DPNR-GT (กาวน้ำ

ยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา) พลาสมาทำให้พื้นผิวของกาวยางขรุขระขึ้น ส่งผลให้มีค่าการยึดติดสูงขึ้น มีการเปลี่ยนแปลงค่าแรงดึงขาดเพียงเล็กน้อย ทำการวิเคราะห์ยางธรรมชาติที่ใช้เตรียมกาวยาง ไม่พบโปรตีนภูมิแพ้ นอกจากนี้ยังไม่พบการระคายเคืองเมื่อนำไปทดสอบกับผิวของกระต่าย

สรุปผลการวิจัย

ทำการเตรียมน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส ทำการวิเคราะห์ยางธรรมชาติที่เตรียมได้ ไม่พบโปรตีนภูมิแพ้ หลังจากนั้นทำการบำบัดผิวของยางน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ด้วยพลาสมา ที่ใช้ก๊าซผสมระหว่างอาร์กอนและออกซิเจนโดยแปรเวลาในการบำบัด พบว่าเมื่อเพิ่มบำบัดพื้นผิวยางที่ระยะ 80 วินาที จะพบหมู่เอเทอร์เพิ่มขึ้น และมีผิวหน้าขรุขระเพิ่มขึ้นจากผิวยางที่ไม่ผ่านการบำบัด ต่อมาได้เคลือบน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ลงบนผ้าก๊อชก่อนนำไปบำบัดด้วยพลาสมา (Flow rate ของ Ar เท่ากับ 4 ลิตรต่อนาที /Flow rate ของ O₂ เท่ากับ 36 มิลลิลิตรต่อนาที) กำลังในการบำบัดขึ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตรพบว่าระบบที่ใช้ทำให้มีหมู่เอเทอร์เพิ่มขึ้น มีความขรุขระของพื้นผิวมากขึ้น จึงส่งผลให้มีค่าการยึดติดสูงขึ้นเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชิ้นทดสอบผ้าก๊อชที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดผิวด้วยพลาสมา แต่เมื่อเทียบกับเทปกาวทางการค้าพบว่าชิ้นทดสอบมีค่าต่ำกว่าเทปกาวทางการค้ามาก เนื่องจากหมู่เอเทอร์ที่สูงกว่ามาก ในการวิจัยนี้ไม่สามารถทำการเพิ่มระยะเวลาการบำบัดผิวขึ้นงาน (ผ้าก๊อช) ได้อีกเนื่องจากเกิดการไหม้ของผ้าก๊อชเมื่อระยะเวลาในการบำบัดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังไม่พบการแพ้เมื่อนำไปทดสอบกับผิวของกระต่าย

งานวิจัยนี้ยังไม่สามารถเตรียมขึ้นตัวอย่างให้มีแรงดึงลอกเท่าเทปกาวทางการค้าได้ แต่สามารถใช้เทปกาวนี้ในกรณีที่ไม่ต้องการแรงดึงลอกมาก และใช้สำหรับผู้ที่มีการแพ้โปรตีนในน้ำยางธรรมชาติได้

ผลงานวิชาการ

นำเสนอในงานประชุมวิชาการ “Eighth International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (MBE8)” ระหว่างวันที่ 22-24 มิถุนายน 2558 ณ Tower Hall Funabori, Tokyo, Japan

ผลงานวิชาการที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

บทความวิจัยระดับชาติหรือนานาชาติ หัวข้อ “Surface morphology and chemistry alternation of natural rubber using low temperature plasma treatment”

บทคัดย่อ

ศึกษาการนำน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) มาใช้เป็นกาว และเพิ่มการยึดติดของกาวด้วยการบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมา เริ่มจากเตรียมน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) ที่ผลิตขึ้นโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* (MR10) กวนน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้มาเคลือบลงบนกระจก และผ้าก๊อชใยสังเคราะห์ ทำการบำบัด DPNR ที่เคลือบลงบนวัสดุดังกล่าวด้วยพลาสมา โดยมีการแปรกำลัง เวลา และองค์ประกอบของก๊าซ นำ DPNR ที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์หาโปรตีนภูมิแพ้ชนิด Rubber elongation factor (REF) ด้วยเทคนิค Western blot ทำการศึกษาพื้นผิวของ DPNR หลังการบำบัดด้วยเครื่องวิเคราะห์ผิววัสดุ FTIR, XPS และ SEM นำเทปกาวที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์แรงดึงขาด และแรงดึงลอก และนำเทปกาวตัวอย่างไปทดสอบความระคายเคืองผิว จากการทดลองพบว่า น้ำยางธรรมชาติปราศจากภูมิแพ้ที่เตรียมโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสนี้ ปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ชนิด REF สภาวะที่เหมาะสมของพลาสมาในการบำบัดพื้นผิว DPNR บนกระจก คือ ใช้ก๊าซผสมระหว่างอาร์กอนและออกซิเจนที่ อัตราการไหล 4 ลิตรต่อนาที และ 36 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ ใช้กำลัง 20 วัตต์ ระยะห่าง 5 มิลลิเมตร ใช้เวลา 80 วินาที และสภาวะที่ใช้บำบัดพื้นผิว DPNR บนผ้าก๊อช คือก๊าซผสมระหว่างอาร์กอนและออกซิเจนที่ อัตราการไหลเท่ากันใช้กำลัง 20 วัตต์ ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตร จากการวิเคราะห์พื้นผิว DPNR ที่บำบัด และไม่บำบัดด้วยพลาสมา พบว่า เทคนิค FTIR ไม่สามารถให้ผลการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนได้ แต่จาก XPS พบปริมาณหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นสูงสุดที่การบำบัด 80 วินาที และในกรณีเทปกาวตัวอย่างพบว่ามีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเทปกาวที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมา จาก SEM พบว่ามีพื้นผิวขรุขระเพิ่มขึ้น มีอนุภาคทรงกลมที่ภายในเป็นอากาศเกิดขึ้น การที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้น มีความขรุขระของพื้นผิวมากขึ้น จึงส่งผลให้มีค่าการยึดติดสูงขึ้นเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชิ้นทดสอบผ้าก๊อชที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมา แต่เมื่อเทียบกับเทปกาวทางการค้าพบว่าชิ้นทดสอบมีค่าต่ำกว่าเทปกาวทางการค้ามาก เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลที่สูงกว่ามาก นอกจากนี้ยังไม่พบการแพ้เมื่อนำไปทดสอบกับผิวของกระต่าย

Abstract

Non-allergic Natural Rubber (DPNR) was used as adhesive and improved the adhesion by plasma treatment. DPNR was produced using Protease from bacterium *Bacillus subtilis* (MR10). Rubber elongation factor (REF); an allergic protein in rubber latex, was also analyzed by Western blot technique. DPNR latex was cast on glass plate and gauze pad then dried at room temperature. Plasma power, plasma treatment time and composition of the gas mixture were considered. The plasma modified surfaces were analyzed by attenuated total reflection-infrared spectroscopy; X-ray photoelectron spectroscopy and scanning electron microscopy. The gauze pad coated was prepared for breaking load and peel testing. The skin irritation was also tested. The result showed DPNR produced by *Bacillus subtilis* (MR10) protease was free of allergen REF. The argon–oxygen gas mixture at flow rate 4 L/min and 36 mL/min was optimum condition for DPNR on glass sample with power of 20W, distance between source and sample at 5 mm for 80 sec. The treatment condition of DPNR on gauze pad was used at the same flow rate of gas mixture and power. But the distance between source and sample was changed to 10 mm with treatment rate at 2 min 50 sec per 10 cm. For the surface study, FTIR spectrum of all the samples showed almost the same fingerprint. However, XPS can successfully be used to analyze the chemical modification. Changing of surface composition was mainly ascribed to the formation of ether linkage on the modified surfaces. For SEM, surface roughness change and spherical air bubble formation was observed. The adhesion of DPNR was slightly increased when using plasma treatment due to an increase of ether linkage and surface roughness. Adhesion of the treated DPNR was lower than that of the commercial due to the lower of ether linkage number. Furthermore, the primary irritated on rabbit skin was not found.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำหรับทุนวิจัย ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

ขอขอบคุณสาขาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับสถานที่และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ รศ. ดร. อีรวรรณ บุญญวรรณ และเจ้าหน้าที่ประจำหน่วยพลาสมา ภาควิชาฟิสิกส์และวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับคำแนะนำ ตลอดจนความสะดวกสบายในการใช้เครื่องมือ จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

ดร. พิไลวรรณ พรประสิทธิ์

25 กุมภาพันธ์ 2559

สารบัญ

	หน้า
บทสรุปของผู้บริหาร	I
บทคัดย่อ	V
Abstract	VI
กิตติกรรมประกาศ	VII
สารบัญ	VIII
สารบัญตาราง	X
สารบัญภาพ	XI
เนื้อหางานวิจัย	1
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์	1
2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 น้ำยางปราศจากโปรตีนภูมิแพ้	2
2.2 การบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมา	2
2.3 กาว	4
2.4 การทบทวนวรรณกรรม	5
3. วิธีการทดลอง	7
3.1 การเตรียมเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i>	9
3.2 การวัดกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะ	10
3.3 การเตรียมน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้	11
3.4 การทดสอบหาโปรตีนภูมิแพ้ด้วยวิธี Western blot	11
3.5 เตรียมกาวจากธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้	13
3.6 เตรียมบำบัดน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ด้วยพลาสมา	13
3.7 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกาวด้วย FTIR	14
3.8 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกาวด้วย XPS	14
3.9 วิเคราะห์สัณฐานวิทยา ด้วย SEM	15
3.10 ทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น (Primary irritation test)	15
ในกระต่าย	
3.11 การทดสอบความติดแน่น	17
3.12 การทดสอบแรงดึงขาด	17

	หน้า
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	18
4.1 การวัดกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะ	18
4.2 ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยาง	19
4.3 การทดสอบหาโปรตีนภูมิแพ้ด้วยวิธี Western blot	20
4.4 ทดสอบหมู่ฟังก์ชันของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ กาวยาง และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา	21
4.5 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกาวยางด้วย X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)	24
4.6 วิเคราะห์สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	29
4.7 ทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น (Primary irritation test) ในกระต่าย	33
4.8 ทดสอบความติดแน่น และการทดสอบแรงดึงขาด	35
5. สรุปผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	40
บทคัดย่อเพื่อเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการ	40
กิจกรรมที่เสนอในข้อโครงการและกิจกรรมที่ทำจริง	41
วิเคราะห์ต้นทุน	42
ผลการทดสอบด้วยเทคนิค XPS	43

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ตัวอย่างสภาวะของระบบพลาสมา PECVD	3
3.1	สูตรการจากน้ำยาง	13
3.2	Draize scoring system	16
4.1	ค่าการดูดกลืนแสง และปริมาณเอโนไซม์โปรตีนที่เตรียมได้	18
4.2	%Total solid content ของน้ำยางชั้น น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีน ภูมิแพ้	19
4.3	ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย FTIR ของแผ่นฟิล์มธรรมชาติ (NR) และ ฟิล์มยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR)	22
4.4	หมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏเมื่อบำบัดฟิล์มยางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจาก โปรตีนภูมิแพ้	25
4.5	หมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏเมื่อบำบัดฟิล์มยางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจาก โปรตีนภูมิแพ้ บนผ้าก๊อซ	28
4.6	ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่าย	34
4.7	ค่าแรงดึงขาด และแรงดึงลอกของตัวอย่างเทปขาวชนิดต่างๆ	35

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ไดอะแกรมแสดงการทำงานของเทคนิคพลาสมา PECVD (plasma enhanced chemical vapor deposition)	3
2.2	ระบบพลาสมา RF CCP สำหรับเทคนิค PECVD ขณะดิสชาร์จจากอาร์กอน	3
3.1	ตำแหน่งของสารทดสอบที่แปะบนหลังกระดาษ	16
4.1	แผนฟลอม X-ray ที่ตรวจพบโปรตีนภูมิแพชนิด REF หลังจากวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Dot blot	20
4.2	FTIR สเปกตรัมของฟิล์มยางธรรมชาติ (NR) น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR)	21
4.3	FTIR สเปกตรัมของฟิล์มยางธรรมชาติ (NR) น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา กำลัง 10 W ด้วย Ar gas ระยะห่าง 10 mm โดยแปรเวลาในการบำบัด	23
4.4	FTIR สเปกตรัมของฟิล์ม น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา กำลัง 20 W ด้วย Ar/O ₂ gas ระยะห่าง 5 mm ที่เวลา 2 นาที	23
4.5	ตัวอย่างฟิล์มยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้เพื่อเตรียมบำบัดด้วยพลาสมาที่เวลาต่างๆ	24
4.6	หมูฟิงก์ชันที่ปรากฏที่ผิวยางที่เวลาต่างๆ (ใช้ก๊าซ Ar/O ₂ กำลังในการบำบัด ชิ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 5 mm)	27
4.7	สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ และยางธรรมชาติโปรตีนต่ำที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาที่กำลัง 10 W ด้วย Ar gas ระยะห่าง 10 mm แปรเวลาในการบำบัด (กำลังขยาย 500 เท่า)	30
4.8	สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติโปรตีนต่ำที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาที่กำลัง 20 W ด้วย Ar/O ₂ gas ระยะห่าง 5 mm แปรเวลาในการบำบัด (กำลังขยาย 3,000 และ 500 เท่า)	31
4.9	สัณฐานวิทยาของผ้าก๊อซที่เคลือบกาวยาง (a) DPNR (b) DPNR-T (c) DPNR-G (d) DPNR-GT (e) LANR (f) LANR-T (g) LANR-G (h) LANR-GT (i) commercial	32
4.10	ลักษณะของผิวหนังกระดาษหลังทดสอบด้วยสารทดสอบต่างๆ เมื่อผ่านไป 72 ชม.	34

บทที่ 1

บทนำ

หลักการและเหตุผล

การจากน้ำยางธรรมชาตินิยมใช้ในการยึดติดสิ่งทอเพื่อใช้ในงานต่างๆ เช่น การติดขอบพรม การติดหนังกับหนัง และการติดผ้ากับผ้า นอกจากนั้นยังใช้ในการติดกระดาษกับหนังและเชื่อมวัสดุที่ผิวมีรูพรุนเข้าด้วยกัน การจากน้ำยางธรรมชาติดีกว่าการจากสารละลายเนื่องจากต้นทุนต่ำกว่า ไม่ติดไฟ ไม่มีสารละลายที่เป็นพิษ และทนต่อการบ่มแรงได้ดีกว่า ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตการจากน้ำยางธรรมชาตินั้นจะมีสารปรับปรุงการยึดติด (adhesion modifiers) ซึ่งปัจจุบันที่ใช้กันได้แก่ เคซีน แป้ง เมทิลเมทาคริเลต เรโซซินอลฟอร์มาลดีไฮด์เรซิน โดยในการใช้เทปการที่มีน้ำยางธรรมชาติเป็นสารยึดติดกับผิวหนังของมนุษย์ หรือสัตว์ นั้น พบว่าผู้ใช้งานบางคนเกิดอาการแพ้โปรตีนในยาง จึงสนใจน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (Non-allergic Natural Rubber; DPNR) มาใช้เป็น การ โดยเพิ่มสมบัติการยึดติดด้วยการบำบัดด้วยพลาสมา (plasma treatment) ซึ่งกลไกในการช่วยปรับปรุงการยึดติดของการด้วยพลาสมานั้น สามารถมีได้หลายกลไก (Hollahan, 1974) เช่น (1) เป็นการทำความสะอาดพื้นผิวโดยเป็นการกำจัดสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำออกจากพื้นผิว (2) ทำให้เกิดการเชื่อมโยง หรือตัดขาดของสายโซ่ (3) เกิดดีไฮโดรจีเนชัน (dehydrogenation) (4) เกิดหมู่ที่ทำงานได้อิสระบนพื้นผิว หรือ (5) มีการปรับปรุงโครงสร้างเคมีที่พื้นผิว

ดังนั้นจึงสนใจใช้น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพรร่วมกับพลาสมา เพื่อใช้เตรียมการยางที่ไม่ก่อให้เกิดการแพ้แก่ผู้ใช้งาน และมีการยึดติดที่ดีด้วยการบำบัดด้วยพลาสมา โดยคาดหวังว่า การบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมานั้น จะทำให้เกิดหมู่ที่ทำงานได้อิสระบนพื้นผิว เกิดหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเพิ่มการยึดติดได้ และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองกับผิวหนัง

วัตถุประสงค์

เพื่อทำการจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และเพิ่มสมบัติการยึดติดของการยางด้วยการบำบัดด้วยพลาสมา

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาเทปกาวจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ โดยใช้น้ำยางที่มีการกำจัดโปรตีนภูมิแพ้ ออกเพื่อเป็นการลดความเสี่ยงจากการแพ้โปรตีนของผู้ใช้งานเทปกาว และ พัฒนาการยึดติดของเทปกาวโดยการบำบัดด้วยพลาสมา

2.1 น้ำยางปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

การกำจัดโปรตีนในน้ำยางในงานวิจัยนี้เลือกใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteases) เข้าช่วยในการกำจัดโปรตีนในน้ำยางเพราะสามารถย่อยโปรตีนได้ทั้งในส่วน serum และ rubber phase โดยโปรติเอสที่ได้รับความนิยมนำมาใช้นั้น ได้แก่ ปาเปน (papain) จากมะละกอ โปรมิเลน (bromelain) จากสับปะรด (พรรษา และ กฤษณา, 2543) โปรติเอสจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR25 รวมทั้งการใช้โปรติเอสที่มีการผลิตในทางการค้าจากบริษัทต่างประเทศ เช่น บริษัท KaO เป็นต้น (Klinklaet al., 2003; Sakakiet al., 1995 อ้างโดย ไพโรจน์ และ พรสิทธิ์, 2540)

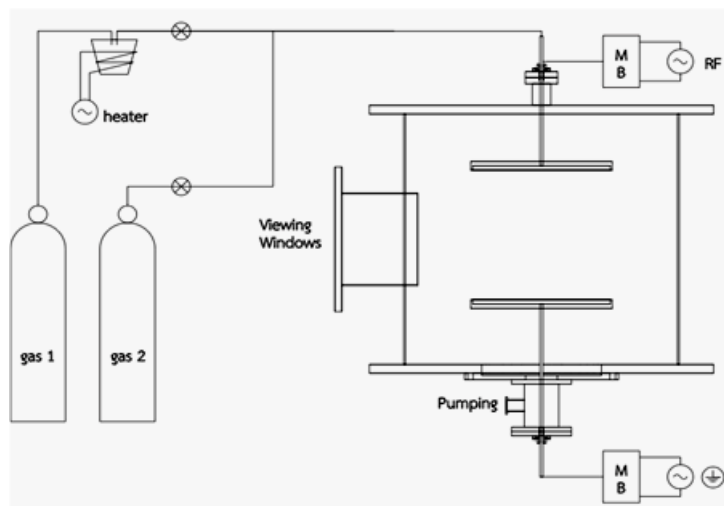
2.2 การบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมา

จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการใช้พลาสมาเพื่อบำบัดพื้นผิวของพอลิเมอร์โดยปฏิกิริยาหลักคือเกี่ยวกับฟรีเรดิคอลหรือไอออน (Hollahan, 1974) ซึ่งการบำบัดพื้นผิวของพอลิเมอร์นั้น จะอยู่ในรูปการทำความสะอาด เพื่อการกัด หรือ เพื่อปรับปรุงทางเคมี อย่างไรก็ตามการบำบัดดังกล่าวจะส่งผลเพียง 2-3 มิลลิเมตรจากผิวเท่านั้น จึงกล่าวได้ว่าเป็นการปรับปรุงระดับพื้นผิว โดยการบำบัดด้วยพลาสมาจากการใช้ก๊าซแตกต่างกันพบว่าเกิดพันธะที่แตกต่างกันด้วย

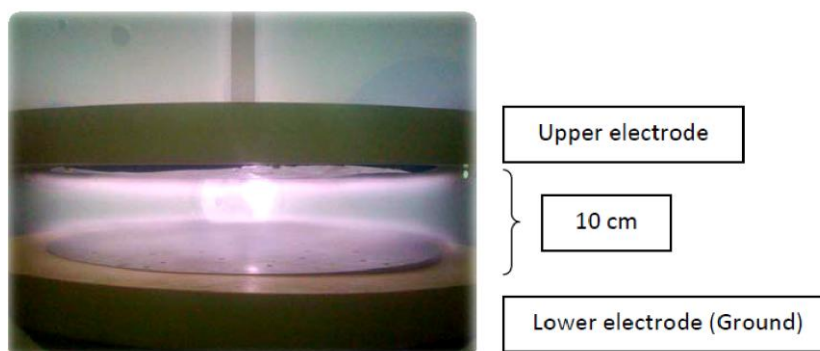
กระบวนการดัดแปรผิววัสดุพอลิเมอร์ที่เอื้อต่อการเกิดปฏิกิริยา ประกอบด้วยขั้นตอนการกระตุ้นผิววัสดุด้วยตัวหมู่ฟังก์ชันเคมีที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดี (Active sites) อาทิ $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-SH$ หรือ $-CH=CH_2$ ก่อนแล้วจึงทำการตรึง/ติดด้วยโมเลกุลต่างๆ (grafting)

เทคนิคพลาสมา PECVD (Plasma enhanced chemical vapor deposition) โดยใช้ระบบพลาสมาความดันต่ำ เทคนิค RF capacitively coupled plasma ความถี่ 13.56 MHz ณ ศูนย์วิจัยฟิสิกส์พลาสมาและลำอนุภาค คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยสามารถใช้ก๊าซ

อาร์กอน (Ar) ก๊าซผสม Ar/O₂ Ar/H₂ ก๊าซอะเซทิลีน (C₂H₂) และก๊าซแอมโมเนีย (NH₃) หรือไฮโดรเจนอื่นๆที่ต้องการได้ ดังแสดงดังภาพที่ 2.1 และ 2.2



ภาพที่ 2.1 ไดอะแกรมแสดงการทำงานของเทคนิคพลาสมา PECVD (plasma enhanced chemical vapor deposition)



ภาพที่ 2.2 ระบบพลาสมา RF CCP สำหรับเทคนิค PECVD ขณะดีสชาร์จก๊าซอาร์กอน

ตารางที่ 2.1 แสดงตัวอย่างสภาวะของระบบพลาสมา PECVD

Parameters	Conditions
Base pressure	About 8.0×10^{-3} Torr
Deposition pressure	1.0×10^{-1} Torr
RF, 13.56 MHz power	20-150 W
Temperature	Room temperature
Distance between top electrode and substrate	10 cm
Mixed gas (10%NH ₃ + C ₂ H ₂)	1.0×10^{-1} Torr
Treatment time	10 min

2.3 กาว

แบ่งตามลักษณะการใช้งาน

2.3.1 สารละลายกาว (Solvent adhesive)

เป็นกาวที่ใช้กันมากในอุตสาหกรรมยางรถยนต์ สายพาน เพราะข้อได้เปรียบของกาวชนิดนี้คือมีการเปียกผิวที่ดี (Wetting) มีการเซตตัวเร็ว ทนทานต่อน้ำ และสามารถปรับปรุงให้เกิดพันธะที่แข็งแรงได้ แต่การใช้กาวชนิดนี้ต้องระมัดระวังเป็นพิเศษในเรื่องอันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากตัวทำละลายที่เป็นสารระเหยง่ายซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ใช้งานหากมีการสูดดม และการเป็นสารที่ไวไฟจึงต้องระมัดระวังในการเก็บให้เหมาะสม ตัวอย่างกาวชนิดนี้ได้แก่ สารละลายกาวยางธรรมชาติ กาวพอลิเอไมด์ เป็นต้น

2.3.2 Hot melt adhesive

กาวชนิดนี้โดยปกติแล้วอยู่ในรูปของแข็ง สามารถใช้งานได้โดยการใช้ความร้อนซึ่งจะทำให้กาวหลอม นิยมใช้ในอุตสาหกรรมที่ต้องการให้กระบวนการผลิตที่ต้องการความรวดเร็ว เพราะกาวชนิดนี้ เมื่อเย็นจะเซตตัวได้เร็ว แต่มีข้อเสีย คือ ใช้ในงานที่ละเอียดและมีพื้นที่ผิวมาก ๆ ไม่ได้ ติดเฉพาะผิวที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ตัวอย่างวัสดุที่ใช้ผลิตกาวชนิดนี้ ได้แก่ ไนลอน (Nylon) พอลิเอสเตอร์ พอลิเอทิลีน ไวนิลอะซิเตท เป็นต้น

2.3.3 Reactive adhesive

กาวชนิดนี้เป็นกาวที่สามารถเกิดการพอลิเมอไรเซชันได้ โดยที่ข้อดีของกาวชนิดนี้คือ มีการเซตตัวที่เร็วมากที่อุณหภูมิห้องเมื่อเปรียบเทียบกับกาว hot melt ดังนั้นในการเก็บรักษากาวชนิดนี้จึงเป็นปัญหาสำคัญ อีกทั้งยังมีราคาแพง ตัวอย่างกาวชนิดนี้ได้แก่ กาวอีพอกซีเรซิน กาวอะคริลิก กาวไฮโซไซยาเนต เป็นต้น

2.3.4 กาวอิมัลชัน (Emulsion adhesive)

เป็นกาวที่เตรียมอยู่ในรูปน้ำยาง มีข้อดีคือ ราคาถูก การผลิตไม่ยุ่งยาก สามารถใช้งานกับวัสดุที่พื้นผิวเป็นรูพรุน เช่น ไม้ กระดาษ พื้นปูนที่หยาบ เนื่องจากกาวชนิดนี้มีส่วนประกอบที่เป็นน้ำอยู่ ซึ่งจะซึมเข้าไปในเนื้อวัสดุที่ทำได้ง่าย แต่การที่ส่วนประกอบของกาวมีน้ำอยู่จะทำให้เซตตัวช้า และข้อด้อยที่สำคัญคือ มีอายุการเก็บที่สั้น ตัวอย่างวัสดุที่ใช้ผลิตกาวชนิดนี้ได้แก่ น้ำยางพอลิไวนิลอะซิเตท น้ำยางธรรมชาติ เป็นต้น

2.3.5 Pressure sensitive adhesive

เป็นกาวที่เตรียมอยู่ในรูปเทปกาว (Tape) ซึ่งจะเคลือบลงบนเซลโลเฟน พอลิเอทิลีน พอลิไวนิลคลอไรด์ เป็นต้น ปัจจุบันนี้นิยมใช้กันมากทางการแพทย์ด้านการผ่าตัด โดยวัสดุที่นิยมนำมาใช้ผลิตกาวชนิดนี้คือยางธรรมชาติ

2.4 การทบทวนวรรณกรรม (Literature review)

Comyn และคณะ (1996) ได้ทำการบำบัดผิวของ polyetheretherketone (PEEK) ด้วยพลาสมาในระบบที่มีก๊าซออกซิเจน อากาศ และแอมโมเนีย เพื่อปรับปรุงการยึดติดกับฟิล์มอีพอกไซด์ โดยที่สมบัติของพื้นผิวที่ผ่านการบำบัดแล้วสามารถเก็บได้ที่สภาวะห้องปฏิบัติการได้มากถึง 90 วัน โดยไม่สูญเสียสมบัติการยึดติด จาก X-ray photoelectron spectroscopy พบว่าการบำบัดด้วยพลาสมาได้เพิ่มปริมาณออกซิเจน ไนโตรเจน หมู่ -OH และ -CO- บนพื้นผิวของ PEEK

ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ และคณะ (2009) ได้ทำการเตรียมยางธรรมชาติโปรตีนต่ำจากการย่อยสลายน้ำยางธรรมชาติโดยเอนไซม์ KAP 4.3G ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมยางธรรมชาติโปรตีนต่ำที่มีหมู่ปลายคาร์บอนิลจากการตัดสายโซ่โมเลกุลยางธรรมชาติโปรตีนต่ำด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตร่วมกับโพพานานที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วรีดิวซ์ยางธรรมชาติโปรตีนต่ำที่มีหมู่ปลายคาร์บอนิลเป็นยางธรรมชาติโปรตีนต่ำที่มีหมู่ปลายไฮดรอกซิลด้วย 1%(w/v) โซเดียมบอโรไฮไดรต์ในเตตระไฮโดรฟิวแรนที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำที่มีหมู่ปลายไฮดรอกซิลไปผสมกับ น้ำ silicone surfactant, Dabco33 LV และ Diethanolamine เพื่อเตรียมเป็นโฟมพอลิยูรีเทน โดยโฟมมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งอ่อนนุ่ม

Basak และคณะ (2011) ได้ทำการปรับปรุงคุณสมบัติการยึดติดระหว่างพื้นผิวของยาง ethylene propylene diene terpolymer (EPDM) กับยางธรรมชาติด้วยการใช้ low pressure argon/oxygen plasma จากการศึกษาพบว่าเมื่อมีการบำบัดพื้นผิวด้วยพลาสมาทั้ง EPDM และยางธรรมชาติ พบว่าพื้นผิวมีความหยาบมาก ถึงส่งผลให้ค่าความต้านทานการลอกสูงขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวที่เกิดขึ้นวิเคราะห์ได้จากการเกิดหมู่ฟังก์ชัน C-O และ -C=O ที่พื้นผิว

ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน และคณะ (2011) ได้ผลิตน้ำยางพาราโปรตีนต่ำโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* (MR10) เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด โปรตีนที่ละลายได้ด้วยวิธี Kjeldahl และ Modified Lowry's method ตามลำดับ และวิเคราะห์โปรตีนภูมิแพชนิด Rubber elongation factor (REF) ด้วยเทคนิค Western blot ผลการทดลองพบว่า การเติมโปรติ

เอสทำให้ปริมาณโปรตีนทั้งหมดและโปรตีนที่ละลายได้ในส่วนเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น แต่พบว่าโปรตีนจากเชื้อ MR10 สามารถกำจัดโปรตีน REF ในน้ำยางพาราได้ สามารถยืนยันได้ว่าน้ำยางพาราโปรตีนต่ำที่เตรียมโดยโปรตีนจากเชื้อ *B. subtilis* (MR10) นี้ ปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ชนิด REF แม้ว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดของเนื้อเยื่อจะเพิ่มขึ้นก็ตาม

Pichayakorn และคณะ (2012) ได้ศึกษาสมบัติการยึดติดของพอลิเมอร์ผสมระหว่างน้ำยางธรรมชาติสกัดโปรตีน (DNRL) กับพอลิเมอร์ตัวอื่นได้แก่ hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC), methyl cellulose (MC), sodium carboxymethyl cellulose (SCMC), poly(vinyl alcohol) (PVA), poloxamer 407, และ sodium alginate เพื่อนำฟิล์มพอลิเมอร์ผสมที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์และทางเภสัช มีการใช้ dibutyl phthalate (DBP), diethyl phthalate, dibutyl sebacate, triethyl citrate, and glycerin (GLY) เป็น พลาสติกไซเซอร์ เพื่อเพิ่มสมบัติความเป็นอียาสติก และสมบัติการยึดติด จากการทดลองพบว่า สมบัติทางกล และทางกายภาพของ DNRL ผสมกับ HPMC หรือ PVA และ DBP หรือ GLY ให้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติที่สอดคล้องงานทางการแพทย์ และเภสัช เช่นการนำส่งยา

Riyajan และคณะ (2013) ได้ทำการพัฒนาการยึดติดแบบ Pressure sensitive adhesive (PSA) จากยางธรรมชาติอีพอกซีไดซ์ โดยเตรียมจากน้ำยางskim (epoxidized skim rubber: E-LPSR) ซึ่งผสมกับ poly(vinyl alcohol) (PVA) จากการศึกษาพบว่าที่ PVA 20 phr จะให้ค่าการยึดติดดีที่สุด

Warunee Ariyawiriyanan และคณะ (2013) ได้ทำการเตรียมน้ำยางสกัดโปรตีนโดยบ่มด้วยยูเรีย 0.1% ในระบบที่มีสารลดแรงตึงผิว ทดลองที่อุณหภูมิห้อง จากการทดลองพบว่าปริมาณโปรตีนลดลงเหลือเพียง 0.05% จากน้ำยางชั้นที่มีปริมาณโปรตีนที่ 0.45% ความต้านทานแรงดึงของฟิล์มยาง DPNR มีค่าสูงกว่าฟิล์มยาง HA-NR และสามารถทำการปรับปรุงสมบัติของยาง DPNR ได้โดยผสมกับสารเคลือบพอลิเมอร์ (polymer coating)

Azura และคณะ (2014) ได้ศึกษาผลของสารปรับปรุงกันยึดติด (tackifiers) ที่ได้จากธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้นต่อความเหนียว คุณสมบัติการยึดติด และความเสถียรต่อความร้อนของ styrene-grafted natural rubber (SNR) กับ น้ำยาง deproteinized natural rubber (DPNR) โดยสารปรับปรุงกันยึดติด ที่ใช้ในการทดลองได้แก่ coumarone-indene (CI), gum rosin และ petro resin (PR) จากการทดลองพบว่า SNR/PR and DPNR/PR ให้ค่าความเหนียวสูงสุด และพบว่า

การเพิ่มขึ้นของ CI จะให้ค่าความต้านทานการลอกสูงขึ้น ทั้งระบบของยาง SNR และDPNR นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของ CI จะทำให้เพิ่มความต้านทานความร้อนของ SNR ขึ้นด้วย

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. เชื้อจุลินทรีย์

Bacillus subtilis (MR10)

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient broth (NB)

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Casein medium

3. น้ำยางข้น

บริษัทไทยรับเบอร์ลาเทคส์กรุ๊ป จำกัด ชนิด LA-TZ

4. สารเคมี

	เกรด	ยี่ห้อ
Tris HCL	AR	Chem Cruz
NaCl	99%	ACI Labscan
Tween 20	96%	Ajax Finechem
non fat milk	AR	MERCK
Methanol	AR	MERCK
Glycine	99%	AjaxFinechem
Sodium dodecyl sulphate (SDS)	90%	RANKEM
Casein from bovine milk	Technical	SIGMA
K ₂ HPO ₄	99%	Ajax Finechem
KH ₂ PO ₄	99%	Ajax Finechem
Trichloroacetic acid (CCl ₃ COOH)	AR	MERCK

	เกรด	ยี่ห้อ
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	99.8%	Ajax Finechem
Folin-ciocalteau reagent	AR	MERCK
Acetone	98%	Reagent
Hev b1 Ab (Rubber Elongation Factor ,REF)	-	Pierce
Goat anti-mouse IgG HRP	-	Pierce

5. อุปกรณ์

	รุ่น	ยี่ห้อ
เครื่องเขย่าชนิดแบบควบคุมอุณหภูมิได้		RATEK
ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar airflow)	No.0008	MICROTECH
ตู้อบเชื้อจุลินทรีย์ (Incubator)	IN30	MEMERT
เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิแบบตั้งโต๊ะ	UNIVERSAL	HETTICH
	320 R	ZENTRIFUGER
เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	GENESYS 5	SPECTRONIC
เครื่องกวนสารแบบใช้ความร้อน (Hot plate stirrer)		CLIFTON
		CERASTIR
ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	MUA Tender	BINDER
เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)	G560E	VORTEX GENIC 2
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	PL602-L	METTLER
		TOLEDO
อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	WNB22	MEMMERT
เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer)		DURA-DRY μ P
ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 ml		PYREX
หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube) ขนาด 50 ml		CORNING
ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)		PYREX

	รุ่น	ยี่ห้อ
PVDF membrane	LC2002	Thermo Scientific™
ขวดดูแรน (Laboratory bottle) ขนาด 500 ml, 1000 ml		DURAN
กระบอกตวง (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 ml, 500 ml, 1000 ml		PYREX
หลอดทดลอง (Test tube)		PYREX
จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)		PYREX
Fourier Transform-Infra Red Spectroscopy- Microscope (FTIR-Microscope)	Nicolet™ 6700	Thermo Scientific™
ระบบผลิตพลาสมาระบบความดันต่ำ (low pressure plasma: LPP)		
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	JSM-5910LV	JEOL
เครื่องวิเคราะห์ผิววัสดุ XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy)	AXIS ULTRA ^{DLD}	KRATOS ANALYTICAL

วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Bacillus subtilis*

เพาะเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* (MR10) ในอาหารเหลว Nutrient broth (NB) ปริมาณ 150 ml เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 rpm อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เก็บสารละลายส่วนใส นำไปตกตะกอนโปรตีนด้วยอะซีโตน ให้มีเปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัวที่ร้อยละ 85 กวนทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมงอย่างต่อเนื่อง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเก็บตะกอนโปรตีนที่ 10,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 นาที นำตะกอนโปรตีนที่ได้ละลายกลับในสารละลาย 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 ปริมาตร 15 ml นำสารละลายเอนไซม์ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง โปรติเอสผงที่ได้ให้นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C หากต้องการนำมาใช้ก็จะทำการละลายกลับด้วยสารละลาย

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 mM pH 7.0 ในอัตราส่วน 1 กรัมต่อ 50 ml ทำการวิเคราะห์กิจกรรมของโปรตีนด้วยวิธีการที่อ้างอิงจาก Chantawannakul และคณะ (2002) และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ด้วยวิธี Lowry's method และคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะ

3.2 การวัดกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสและคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะ

เอนไซม์โปรตีนเอสทั้งที่เตรียมได้ จะมีการวัดปริมาณในรูปของค่ากิจกรรมโดยวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Chantawannakul และคณะ (2002) โดยใช้ Casein from bovine milk เป็นสับสเตรทวิธีการทำได้โดยเตรียมสารละลายผสม 4 หลอดได้แก่

หลอดที่ 1 (ES): สารละลายเอนไซม์ปริมาณ 1 ml + สารละลาย Casein from bovine milk เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ปริมาณ 1 ml

หลอดที่ 2 (EB): สารละลายเอนไซม์ปริมาณ 1 ml + 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 ปริมาณ 1 ml

หลอดที่ 3 (SB): สารละลาย Casein from bovine milk เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ปริมาณ 1 ml + 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 ปริมาณ 1 ml

หลอดที่ 4 (BB): 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 ปริมาณ 2 ml

นำสารแต่ละหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย 0.4 M Trichloroacetic acid 2 ml แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็ว 8,000 rpm 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใสมา 0.5 ml เติม 0.4 M Na_2CO_3 2.5 ml และ Folin – Ciocalteu phenol reagent 0.5 ml ทิ้งไว้ 30 นาทีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณของกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นจากการย่อยของเอนไซม์โปรตีนเอส โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ tyrosine ที่เตรียมไว้แล้ว ทำการคำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส โดย 1 ยูนิตของเอนไซม์โปรตีนเอส คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ปลดปล่อย tyrosine ออกมา 1 ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่วิเคราะห์ และค่ากิจกรรมจำเพาะ (Specific activity) ของเอนไซม์คำนวณจากค่ากิจกรรมของโปรตีนเอส (unit/ml)หารด้วยปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ (mg/ml)

3.3 การเตรียมน้ำยารธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

อ้างอิงจากงานวิจัย RDG5450045 (เรื่องการวิเคราะห์โปรตีนภูมิแพ้ในน้ำยางโปรตีนต่ำ โดยไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน และคณะ) พบว่าใช้เอนไซม์โปรติเอส 300 unit ต่อปริมาณเนื้อยาง 100 กรัม ในกรณีน้ำยางสด (มีเนื้อยางอยู่ประมาณ 30%) โดยในงานวิจัยนี้ได้ใช้น้ำยางชั้นที่มีเนื้อยางอยู่ 60% ดังนั้นจึงทำการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่ 300 unit ต่อปริมาณเนื้อยาง 100 กรัม (ในน้ำยางชั้น 60% DRC) ผสมเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนจะได้น้ำยารธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้น้ำยารธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ไปทดสอบหาโปรตีนภูมิแพ้ต่อไป

3.4 การทดสอบหาโปรตีนภูมิแพ้ด้วยวิธี Western blot

การเตรียมสารเคมี

1. เตรียม 10x Electrode (Running Buffer) pH 8.3

Tris base 30.3 g

Glycine 144.0 g

SDS 10.0 g

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 ml

2. เตรียม Transfer Buffer 10x (เย็นตลอด)

Tris base 15.15 g

Glycine 72.0 g

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 ml

3. เตรียม Transfer Buffer 1x

เอา Transfer Buffer 10x มา 50 ml แล้วเติม methanol 100 ml จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 ml

4. เตรียม TBS Buffer

TBS Buffer ประกอบด้วย 10 mM Tris HCL pH 7.5 และ 150 mM NaCl

5. เตรียม TBST

TBST ประกอบด้วย 0.01% Tween 20 ใน TBS Buffer (10 μ l / 100 ml)

6. เตรียม 4% non fat milk

ชั่ง non fat milk มา 4 g ละลายใน TBS Buffer ปริมาตร 100 ml

Dot blot method

1. นำ PVDF membrane แช่ลงใน เมทานอล 20 ml อย่างน้อย 5 นาที หลังจากนั้นแช่ใน transfer buffer อย่างน้อย 15 นาที
2. นำน้ำยาล้าง LA-NR และ DPNR ตัวอย่างละ 2 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่น PVDF membrane และรอจนแห้ง
3. นำ membrane มาล้างด้วย TBS Buffer นาน 10 นาที 2 ครั้ง (10-15 ml)
4. นำแผ่น membrane บ่มใน 4% non-fat milk ที่ละลายใน TBS buffer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. นำแผ่น membrane บ่มกับ antibody (1:10,000 dilutions in 4% non-fat milk) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
6. ล้าง Blot 3 ครั้งๆละ 15 นาที ใน TBST และล้างด้วย TBS Buffer อีก 5 นาที
7. นำแผ่น membrane บ่มกับ secondary antibody (1:10,000 dilutions in 4% non-fat milk) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
8. ล้าง Blot 3 ครั้งๆละ 15 นาที ใน TBST และล้างด้วย TBS Buffer อีก 5 นาที
9. ทำปฏิกิริยา antigen – antibody โดยใช้ chemiluminescence detection kit (Pierce, super signal Chemiluminescence) 5 นาที
10. ประกอบฟิล์ม

ขั้นตอนประกบฟิล์ม

1. เตรียมสารเคมีโดยผสมน้ำกลั่นกับ Fixer ในอัตราส่วน 4:1 และผสมน้ำกลั่นกับ Developer ในอัตราส่วน 4:1
2. ทำการประกบฟิล์มในที่มืดเป็นเวลา 5 , 10 นาที 1 ชั่วโมง และ Over night แล้วล้างฟิล์ม
3. ล้างฟิล์มโดยการแช่ฟิล์มในสารละลาย Developer เป็นเวลา 30 วินาที และแช่ในสารละลาย Fixer เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นล้างด้วยน้ำอย่างรวดเร็ว
4. ผึ่งฟิล์มให้แห้ง
5. บันทึกผลการทดลอง

3.5 เตรียมกาวจากธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

จากคำแนะนำของผู้ทรงคุณวุฒิได้ให้ทำการทดลองโดยใช้น้ำยางปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ในการทำการกาวโดยตรง ดังนั้นในการเตรียมตัวอย่างส่วนแรก (3.5.1) จะเป็นการ casted film กาวยางลงบนแผ่นสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนนำไปบำบัดด้วยพลาสมา (3.5.2) เมื่อได้ผลจากข้อ 5.1 ทางผู้วิจัยได้พิจารณาว่าควรจะมีการเพิ่มสารเพื่อให้มีหมู่ฟังก์ชันเพิ่มขึ้นเมื่อมีการบำบัดด้วยพลาสมา จึงทำการเตรียมน้ำยางด้วยสูตรดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 สูตรกาวจากน้ำยาง

สูตร	phr
น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้	100
10% Poly(vinyl alcohol)	10
Glycerin	10

จากนั้นทำการวิเคราะห์กาวยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ด้วย การ casted film ลงบนผ้าก๊อชใยสังเคราะห์ เพื่อหาหมู่ฟังก์ชันด้วย XPS ก่อนจะนำผ้าก๊อชเคลือบกาวไปบำบัดด้วยพลาสมาและนำไปทดสอบการยึดติด และความต้านทานแรงดึง

3.6 เตรียมบำบัดน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ด้วยพลาสมา

กระบวนการดัดแปรผิววัสดุพอลิเมอร์ที่เนื่องต่อการเกิดปฏิกิริยาประกอบด้วยขั้นตอนการกระตุ้นผิววัสดุนั้นๆ ให้มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ตามด้วยการเกิดหมู่ฟังก์ชันเคมี ขึ้นกับระบบพลาสมาที่ใช้ในการบำบัด ดังนั้นจึงต้องทำการแปรการบำบัดขึ้นงานด้วยพลาสมาดังนี้

- (1) ชนิดของก๊าซ เช่น O_2 หรือ Ar หรือทำการแปรสัดส่วนของก๊าซ 2 ชนิดนี้
- (2) Radio frequency power แปรกำลังในการบำบัดขึ้นงาน
- (3) Exposure time แปรเวลาในการบำบัดขึ้นงาน

ในงานวิจัยส่วนแรก จึงทำการ (3.6.1) Casted ฟิล์มยางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ อบในตู้อบที่อุณหภูมิ $40^{\circ}C$ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จนฟิล์มแห้ง ก่อนนำไปบำบัดด้วยพลาสมาโดยปรับกระบวนการดังนี้

- a. ใช้ก๊าซ Ar กำลังในการบำบัดชิ้นงานที่ 10 W ระยะห่าง 10 mm และแปรเวลาในการบำบัดชิ้นงาน เป็นที่เวลา 5, 10, 15 และ 20 วินาที
- b. ใช้ก๊าซ Ar/O₂ กำลังในการบำบัดชิ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 5 mm และแปรเวลาในการบำบัดชิ้นงาน เป็นที่ เวลา 20, 30, 60, 80 และ 120 วินาที

เทคนิคพลาสมา PECVD (plasma enhanced chemical vapor deposition) โดยใช้ระบบพลาสมาความดันต่ำ เทคนิค RF capacitively coupled plasma ความถี่ 13.56 MHz

(3.6.2) นำน้ำยางและกาวจากน้ำยางปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่เตรียมได้มา cast ลงบนผ้าก๊อชใยสังเคราะห์ เพื่อเตรียมไปบำบัดด้วยพลาสมา ตัวอย่างมีขนาดกว้าง·ยาว เท่ากับ 2.5·10 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 20 ชิ้น ใช้สภาวะในการบำบัด ดังนี้ ใช้ก๊าซ Ar/O₂ (Flow rate ของ Ar เท่ากับ 4 ลิตรต่อนาที /Flow rate ของ O₂ เท่ากับ 36 มิลลิลิตรต่อนาที) กำลังในการบำบัดชิ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร ในส่วนนี้จะเป็นการบำบัดแบบต่อเนื่อง โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตร (มีข้อจำกัดของเครื่องมือ และถ้าใช้ความเร็วในการบำบัดน้อยกว่านี้ จะทำให้ผ้าก๊อชไหม้)

3.7 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกาวยาง ด้วย Fourier Transform-Infrared Spectroscopy-Microscope (FTIR-Microscope)

นำฟิล์มยางจากข้อ (5a) และ (5b) มาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FTIR ที่เลขคลื่นตั้งแต่ 4000-400 cm⁻¹ ทดลอง 2 ซ้ำ

3.8 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกาวยางด้วย X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)

นำฟิล์มยางมาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค XPS ตามสภาวะดังนี้ (ทดลอง 2 ซ้ำ)

XPS Spectrum Lens Mode: Hybrid

Resolution: Pass energy 20 Iris(Aper):slot(Slot)

Acqn. Time(s): 181 Sweeps: 3 Anode:Mono(Al (Mono))(150 W)

Step(meV): 100.0

Dwell Time(ms): 261 Charge Neutraliser :On

3.9 วิเคราะห์สัณฐานวิทยา ด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

นำฟิล์มยางจากข้อ (5.1) (5.2) และเทปกาวจากข้อ (6.1) (6.2) มา coated ด้วยทอง ก่อนทำการวิเคราะห์พื้นผิวของแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 500 และ 3,000 เท่า

3.10 ทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น (Primary irritation test) ในกระต่าย

สารที่นำมาทดสอบ

1. 1.5% SLS (Sodium lauryl sulfate) ; positive control
2. น้ำกลั่น (DI water) ; negative control
3. DPNR glue
4. DPNR glue treat
5. LANR glue
6. LANR glue treat
7. DPNR rubber
8. DPNR rubber treat
9. LANR rubber
10. LANR rubber treat

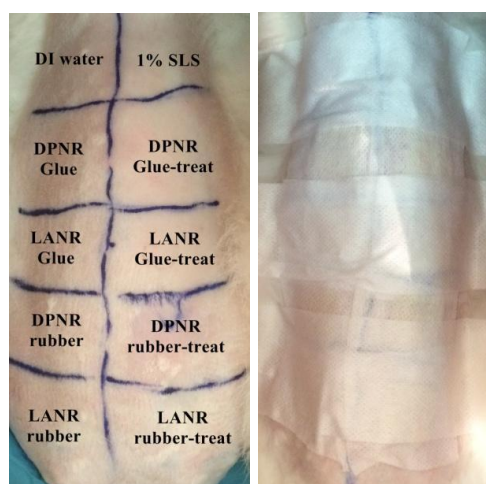
วิธีการทดสอบ

1. คัดเลือกกระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์ที่มีสุขภาพแข็งแรงดีและไม่เคยผ่านการทดสอบมาก่อน เพศผู้ จำนวน 3 ตัว ที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 2-3 กิโลกรัม นำมาโกนขนบริเวณหลังของกระต่ายออก แล้วพักไว้ 24 ชั่วโมง
2. แบ่งบริเวณแผ่นหลังกระต่ายเป็นช่องขนาด 2.5 x 2.5 cm สำหรับทดสอบสารทดสอบแต่ละชนิด
3. นำผ้าก๊อชที่ชุบสารทดสอบปริมาตร 0.5 ml หรือ ตัดแผ่นทดสอบให้ได้ขนาด 2.5 x 2.5 cm และปิดทับผ้าก๊อชให้สนิทด้วย 3M Transpore™ medical tape เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจสอบลักษณะของผิวหนัง ณ เวลาที่ 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากนำแผ่นแปะออก เพื่อ

พิจารณาการระคายเคืองจากอาการแดง และอาการบวม โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุม แล้ว ประเมินผลความระคายเคืองของผิวหนังกระต่าย ใช้เกณฑ์การประเมิน Primary Dermal Irritation Index (PDII) โดยใช้ Draize scoring system ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 Draize scoring system

Erythema and eschar formation	Score
Very slight erythema (barely perceptible)	1
Well-defined erythema	2
Moderate-to-severe erythema	3
Severe erythema to slight eschar formation	4
Total possible erythema score	4
Edema formation	
Very slight edema (barely perceptible)	1
Slight edema	2
Moderate edema	3
Severe edema	4
Total possible edema score	4
Total possible score for primary irritation	8



ภาพที่ 3.1 ตำแหน่งของสารทดสอบที่แปะบนหลังกระต่าย

3.11 การทดสอบความติดแน่น ตาม มอก. 318-2552 ปลาสเตอร์แบบม้วน: ผ้าเคลือบ กาวซิงก์ออกไซด์ วิธีที่ 2

ทำความสะอาดแผ่นเหล็กกล้าไร้สนิมด้วยสำลีชุบโทลูอิน แล้วแขวนหรือตั้งไว้ใน บรรยากาศที่อิมมัวด้วยไอโทลูอิน เป็นเวลา 5 นาที ติดขึ้นทดสอบ ขนาดกว้าง 2.5 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร ด้านที่มีกาวลงบนกลางแผ่นเหล็กกล้าไร้สนิมตามแนวยาว ใช้ลูกกลิ้งทับขึ้นทดสอบ 4 ครั้ง ด้วยอัตราเร็วประมาณ 60 เซนติเมตรต่อนาที นำตัวอย่างไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ (25 ± 2) องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ (65 ± 5) เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นใช้เครื่องทดสอบความต้านทาน แรงดึง ลอกขึ้นทดสอบออกจากแผ่นเหล็กกล้าไร้สนิม โดยให้ขึ้นทดสอบทำมุม 180 องศา กับแผ่น เหล็กกล้าไร้สนิม ด้วยอัตราเร็วสม่ำเสมอในช่วง 270-330 มิลลิเมตรต่อนาที บันทึกแรงที่ใช้ในการ ลอกขึ้นทดสอบได้เป็นระยะ 25 มิลลิเมตรแรก และที่ทุกๆ ระยะ 30 มิลลิเมตรคำนวณหาค่าเฉลี่ยจาก ค่าที่บันทึกไว้ 6 ครั้งของขึ้นทดสอบแต่ละชิ้น และคำนวณหาค่าแรงที่ใช้ในการลอกขึ้นทดสอบจากทุก ตัวอย่างเป็น นิเวศน์ต่อความกว้าง 1 เซนติเมตร

3.12 การทดสอบแรงดึงขาด มอก. 318-2552 ปลาสเตอร์แบบม้วน: ผ้าเคลือบกาวซิงก์ ออกไซด์ ตาม ชนิด substrate

ยึดขึ้นทดสอบ ขนาดกว้าง 2.5 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร ด้วยปากจับทั้งสอง ให้แน่น โดยให้ระยะห่างระหว่างปากจับเป็น 100 มิลลิเมตร ดึงขึ้นทดสอบด้วยอัตราเร็ว (300 ± 30) มิลลิเมตรต่อนาที จนกระทั่งขึ้นทดสอบขาด บันทึกค่าแรงดึง แล้วคำนวณหาแรงดึงขาดเป็นนิเวศน์ต่อ ความกว้าง 1 เซนติเมตร ถ้าขึ้นทดสอบหลุดหรือขาดภายในบริเวณห่างจากปากจับ 10 มิลลิเมตร ให้ เปลี่ยนขึ้นทดสอบและทดสอบใหม่

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เตรียมเอนไซม์โปรติเอส เตรียมน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (Deproteinized Natural Rubber; DPNR) โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส (อ้างตามงานวิจัย RDG5450045) และทำการเตรียมกาวยางตามสูตรดังตารางที่ 3.1 จากนั้นทำการวิเคราะห์สมบัติต่างๆ

4.1 การวัดกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะ

เอนไซม์โปรติเอสทั้งที่เตรียมได้ นำมาวัดกิจกรรมเอนไซม์ ได้ผลดังตาราง 4.1

ตาราง 4.1 ค่าการดูดกลืนแสง และปริมาณเอนไซม์โปรติเอสที่เตรียมได้

Set	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm			total/50ml	Proteins (unit/ml)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	
1	ES	0.246	-	0.2460	59335
	EB	0.081	0.086	0.0835	
	SB	0.080	0.399	0.2395	
2	ES	0.181	0.210	0.1955	4954
	EB	0.039	0.073	0.0560	
	SB	0.014	0.007	0.0107	
3	ES	1.535	1.476	1.5055	7876.32
	EB	0.132	0.133	0.0731	
	SB	0.110	0.195	0.1522	

จากการทดลองได้เอนไซม์โปรติเอสรวมทั้งหมด (total) 12,830.32 unit/58 ml เอนไซม์โปรติเอสนี้เตรียมได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (MR10) ทางผู้วิจัยได้นำมาใช้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกตะกอนโปรตีนเพียงอย่างเดียว แต่ในงานวิจัยที่ได้อ้างอิงมา (ไพโรจน์, 2554) ได้

ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกตะกอนโปรตีน และไดอะไลซิสด้วย จึงทำให้กิจกรรมเอนไซม์ของผู้วิจัยได้ต่ำกว่างานวิจัยที่อ้างอิง อย่างไรก็ตาม ด้วยชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ขั้นตอนการเตรียมรวมถึงชนิดของซับสเตรท (Casein from bovine milk) ที่ใช้ในการหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ที่เหมือนกันกับงานวิจัยที่ได้อ้างอิงมา จึงสามารถสรุปได้ว่า ได้เอนไซม์โปรติเอสเดียวกันกับนักวิจัยอ้างอิงจริง

4.2 ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยาง

ทำการเตรียมน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ ดังในบทที่ 3 หัวข้อที่ 3.3 จากนั้นทำการหาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำยาง ได้ผลดังตาราง 4.2

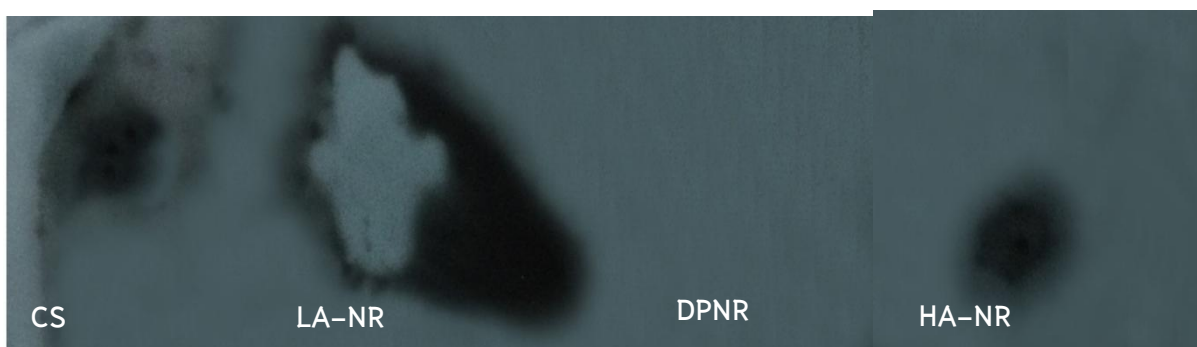
ตาราง 4.2 %Total solid content ของน้ำยางชั้น น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

ชนิด	น้ำหนัก Plate (g)W1	น้ำหนักน้ำยางก่อน อบ (g)W2	น้ำหนักน้ำ ยาง+Plate หลังอบ (g)W3	%TSC
น้ำยาง	33.6127	2.3947	35.0643	60.61
ธรรมชาติ	44.6834	2.4601	46.1704	60.44
ปราศจาก โปรตีนภูมิแพ้	34.4993	2.4848	36.0048	60.58
น้ำยางชั้น	33.6136	2.2955	35.0594	62.98
	34.4984	2.0647	35.7997	63.02
	44.6837	2.3037	46.1354	63.01

จากเปอร์เซ็นต์ของแข็งในน้ำยาง พบว่า เมื่อเติมเอนไซม์โปรติเอสลงไปในน้ำยางเพื่อย่อยโปรตีนไปเป็นเวลา 5 ชั่วโมงแล้วนั้น พบว่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งในน้ำยางลดลงไปประมาณ 4.7 % เมื่อใช้เอนไซม์โปรติเอสเพื่อกำจัดโปรตีนภูมิแพ้ โดยเอนไซม์โปรติเอสจะไปยังอยู่ที่พันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้ส่วนที่เป็นโปรตีนภูมิแพ้หายไป แต่ยังคงเหลือโปรตีนส่วนอื่น จึงทำให้ยังพบไนโตรเจนอยู่ (ไพโรจน์ และ พรสิทธิ์, 2540)

4.3 การทดสอบหาโปรตีนภูมิแพ้ด้วยวิธี Western blot

การวิเคราะห์โปรตีนภูมิแพ้ด้วยเทคนิค Western blot มีหลักการคือ ทำการตรึงโปรตีนผสมไว้บนเมมเบรน จากนั้นนำไปบ่มร่วมกับแอนติบอดีที่มีความจำเพาะกับโปรตีนภูมิแพ้ ซึ่งแอนติบอดีดังกล่าวตรงเข้าจับกับโปรตีนภูมิแพ้ชนิดนั้นๆ เท่านั้น จากนั้นนำไปบ่มอีกครั้งร่วมกับแอนติบอดีชนิดที่สองซึ่งจำเพาะกับแอนติบอดีชนิดแรก โดยแอนติบอดีชนิดที่สองนี้จะมีเอนไซม์ Horseradish peroxidase (HRP) ติดอยู่ เอนไซม์ดังกล่าวสามารถทำปฏิกิริยากับสับสเตรทเฉพาะทำให้เกิดสีหรือเรืองแสงได้ เมื่อนำเมมเบรนนี้ไปประกบบนฟิล์ม x-ray แล้ว ฟิล์มนั้นก็จะมีปรากฏแถบสีดำขึ้น ณ ตำแหน่งของโปรตีนภูมิแพ้ชนิดนั้นๆ เทคนิคนี้มีข้อดีนอกจากการระบุโปรตีนแต่ละชนิดได้อย่างเฉพาะเจาะจงและแม่นยำแล้ว Tomazic-Jezic และ Lucas (2002) ยังกล่าวอีกว่าเป็นวิธีที่มีความไวในการตรวจวัดที่สูง แม้จะมีโปรตีนในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม



ภาพที่ 4.1 แผ่นฟลอม X-ray ที่ตรวจพบโปรตีนภูมิแพ้ชนิด REF หลังจากวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Dot blot

หมายเหตุ CS คือ ซีรัมของน้ำยางที่ไม่ได้เติมโปรตีนเอส

LA-NR คือ ซีรัมของน้ำยางธรรมชาติชนิดแอมโมเนียต่ำ

DPNR คือ ซีรัมของน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผลิตด้วยโปรตีนโปรตีนเอส

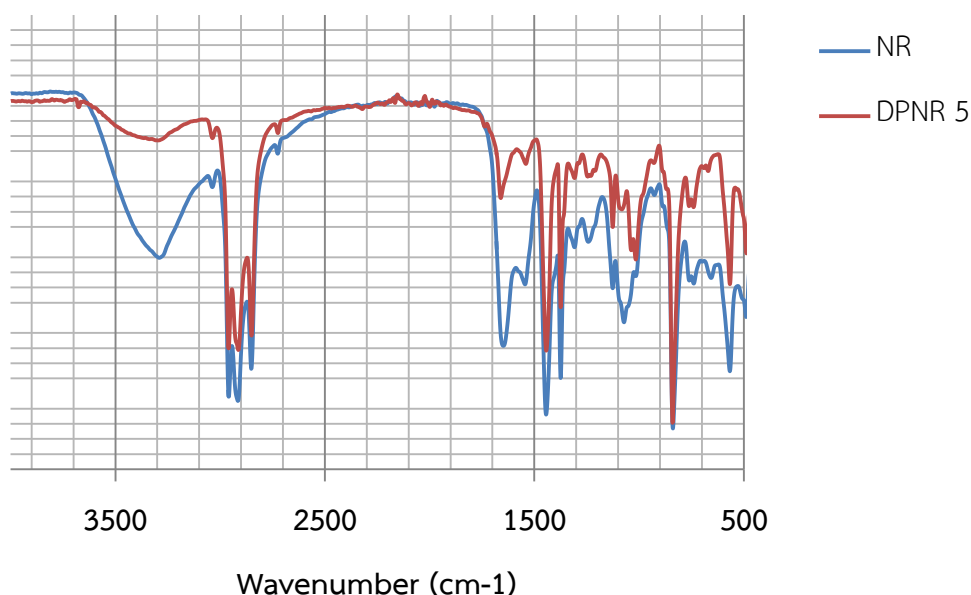
HA-NR คือ ซีรัมของน้ำยางธรรมชาติชนิดแอมโมเนียสูง

โปรตีนภูมิแพ้ชนิดที่เลือกมาทำการวิเคราะห์คือ Rubber elongation factor (REF) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบว่ายืดเกาะอยู่บนอนุภาคเนื้อยาง ขั้นตอนได้มีการทดสอบการมีอยู่ของโปรตีนดังกล่าวด้วยเทคนิคที่เรียกว่า Dot blot ซึ่งเป็นการหยดตัวอย่างลงบนแผ่น PVDF โดยตรง จากนั้นจึงบ่มร่วมกับ

แอนติบอดี ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 4.1 ซึ่งพบว่าตัวอย่างที่ตรวจพบว่ามีโปรตีน REF คือ ซีรัมของน้ำยางที่ไม่ได้เติมโปรตีนเอส (CS) น้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียต่ำ (LA-NR) และน้ำยางชั้นชนิดแอมโมเนียสูง (HA-NR) ในขณะที่ไม่พบโปรตีนภูมิแพ้ชนิด REF ในน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่เตรียมด้วยการเติมเอนไซม์โปรตีนเอส

4.4 ทดสอบหมู่ฟังก์ชันของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ กาวยาง และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา

ทำการเตรียมฟิล์มจากยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาจากนั้นนำไปวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย ATR-FTIR ได้ผลดังภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.3



ภาพที่ 4.2 FTIR สเปกตรัมของฟิล์มยางธรรมชาติ (NR) และน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR)

จากภาพที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมของน้ำยางธรรมชาติโดยจะเห็นที่เลขคลื่นที่ 873 cm^{-1} แสดง $=\text{CH}$ out of plane bending และที่เลขคลื่น 1240 cm^{-1} แสดงถึง O-P-O asymmetric stretching ของฟอสโฟลิปิดในอนุภาคยาง การดูดกลืนที่เกิดที่เลขคลื่น 1375 cm^{-1} (CH_2 deformation), 1394 cm^{-1} 1432 cm^{-1} และ 1494 cm^{-1} แสดงถึง CH_2 deformation ที่เลขคลื่น 1647 cm^{-1} แสดงถึง C=C stretching ของ cis-1,4-polyisoprene นอกจากนี้ยังพบการ

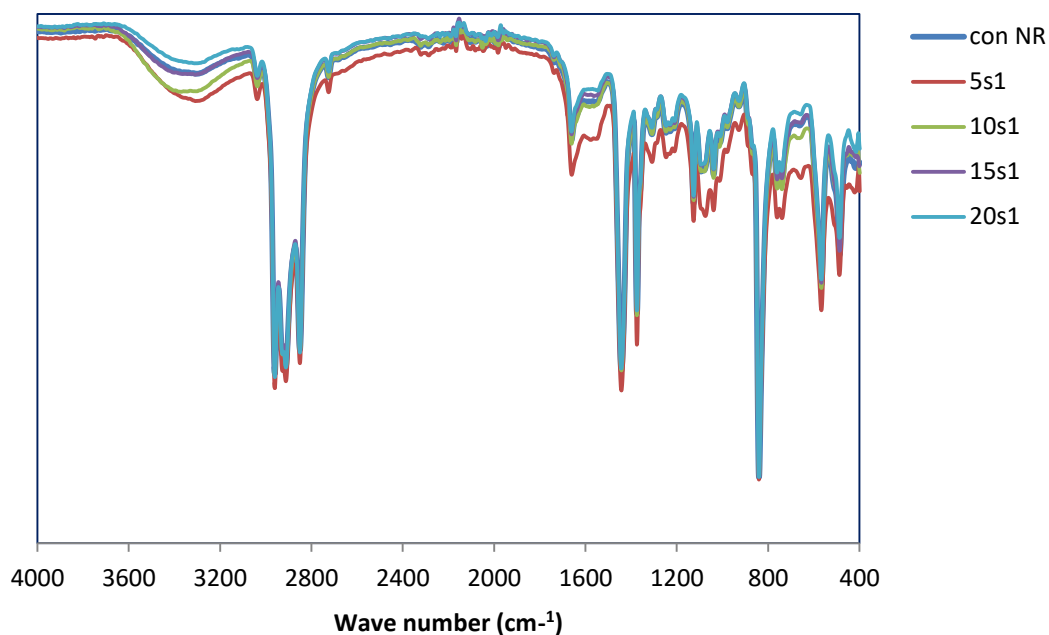
สั้นของ CH_2 symmetric stretching ในช่วง 2852 cm^{-1} - 2925 cm^{-1} รวมถึง CH_3 asymmetric stretching ที่ 2961 cm^{-1} (Patricia B. A. , et al. 2014) สามารถสรุปหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญได้ดังตาราง 4.3

ตาราง 4.3 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย FTIR ของแผ่นฟิล์มธรรมชาติ (NR) และฟิล์มยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) (Patricia B. A., et al. 2014)

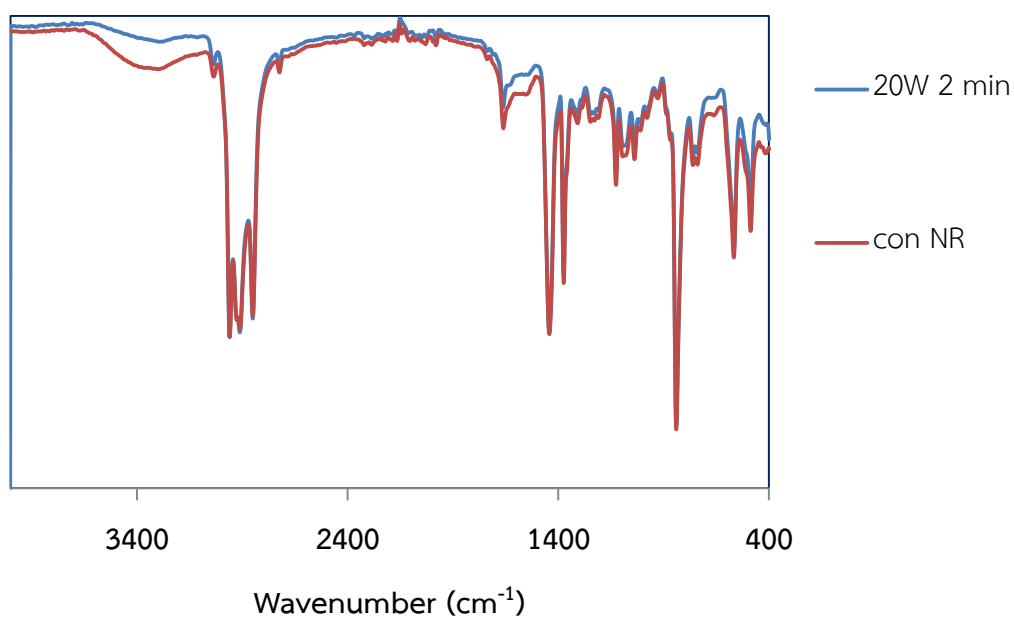
Wave Number (cm^{-1})	Assignment
2961	CH_3 asymmetric stretching
2852 -2925	CH_2 symmetric stretching
1647	C=C stretching
1375, 1394 , 1432 , 1494	CH_2 deformation
1240	O-P-O asymmetric stretching
873	=CH out of plane bending

จากนั้นทำการบำบัดแผ่นยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ ด้วย Ar gas ที่กำลัง 10 w ระยะห่าง 10 mm แปรเวลาในการ treat ที่ 5, 10, 15 และ 20 วินาที ได้ผลดังภาพที่ 4.3

จาก FTIR สเปกตรัมไม่พบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันที่พื้นผิว จากการบำบัดที่ได้เพิ่มเวลาในการบำบัดจนถึง 20 วินาที จึงเพิ่มกำลังในการบำบัดเป็น 20 W ด้วย Ar/O_2 gas ที่ระยะห่าง 5 mm เป็นเวลา 2 นาที ได้ผลดังภาพที่ 4.4 พบว่า หมู่ฟังก์ชันไม่เปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 4.3 FTIR สเปกตรัมของฟิล์มยางธรรมชาติ (NR) และน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา กำลัง 10 W ด้วย Ar gas ระยะห่าง 10 mm โดยแปรเวลาในการบำบัด



ภาพที่ 4.4 FTIR สเปกตรัมของฟิล์ม น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ (DPNR) ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา กำลัง 20 W ด้วย Ar/O₂ gas ระยะห่าง 5 mm ที่เวลา 2 นาที

จากผลการทดลองข้างต้นเทคนิค FT-IR นี้ไม่สามารถบอกได้ถึงการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันได้อย่างชัดเจน สันนิษฐานได้ว่าอาจไม่มีหมู่ฟังก์ชันใหม่เกิดขึ้นในกรณีนี้ หรืออาจเกิดขึ้นในปริมาณน้อยมาก เพื่ออภิปรายในประเด็นดังกล่าวให้ชัดเจนยิ่งขึ้น ผู้วิจัยจึงได้ประยุกต์ใช้ XPS ในการศึกษาการเกิดหมู่ฟังก์ชันที่พื้นผิว ซึ่งจะอภิปรายในหัวข้อถัดไป

4.5 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกาวยางด้วย X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)

Casted พิล์มยางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จนฟิล์มแห้ง แสดงดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ตัวอย่างฟิล์มยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้เพื่อเตรียมบำบัดด้วยพลาสมาที่เวลาต่างๆ

ในการเตรียมการบำบัดได้ใช้ก๊าซ Ar/O_2 กำลังในการบำบัดขึ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 5 mm และแปรเวลาในการบำบัดขึ้นงาน เป็นที่ เวลา 20, 30, 60, 80 และ 120 วินาที ได้ผลดังตารางที่ 4.4

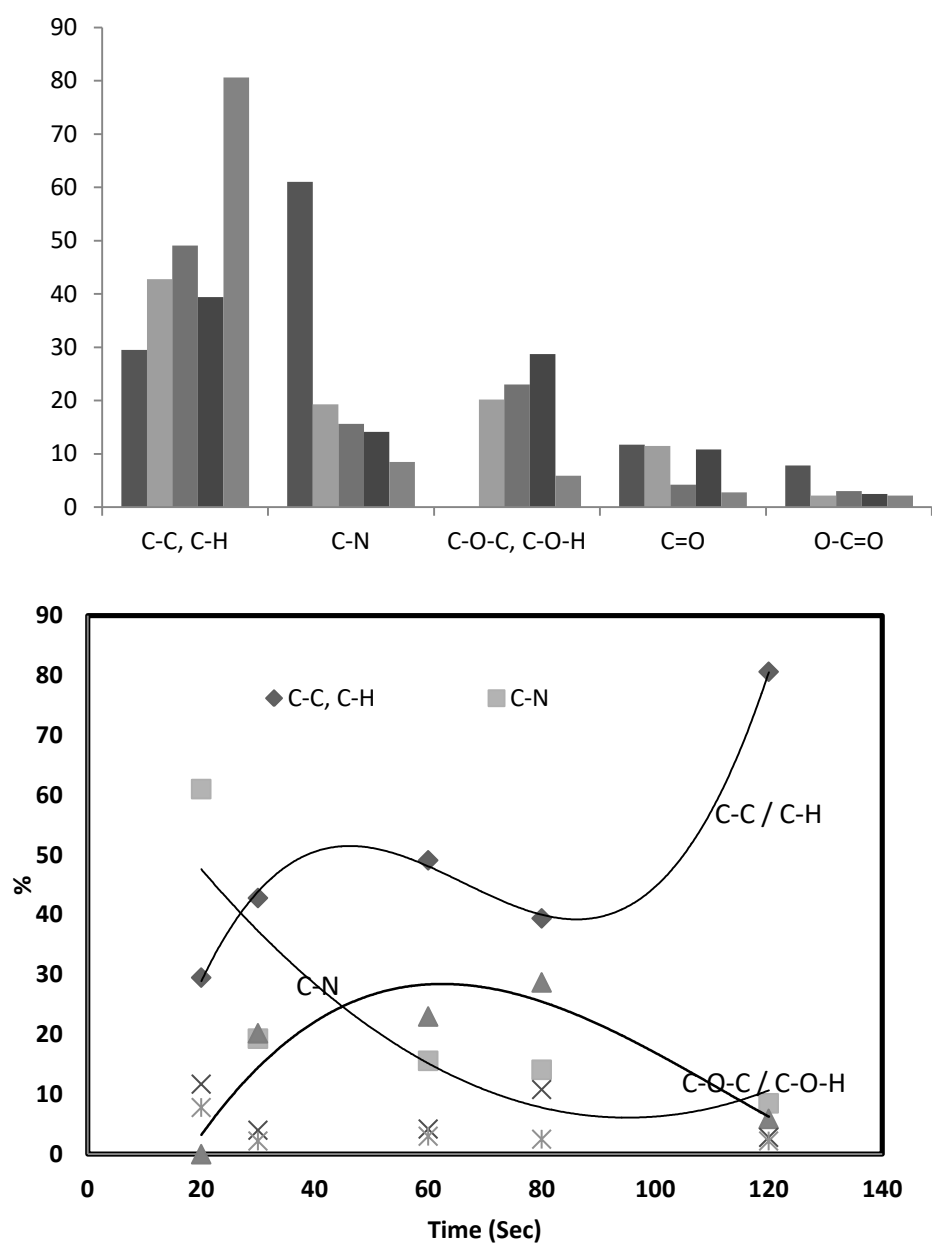
ตารางที่ 4.4 หมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏเมื่อบำบัดฟิล์มยางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

Time (s)	Binding energy (eV)	Area	%	Functional group
20	284.83	8196.4	29.5	C-C, C-H
	286.05	14156.8	61	C-N
	287.47	3240.5	11.7	C=O
	288.92	Element	7.8	O-C=O
30	284.94	2383.6	42.8	C-C, C-H
	285.6	1072.5	19.3	C-N
	286.54	1122.1	20.2	C-O-C, C-O-H
	288.31	641.4	11.5	C=O
	289.17	121.4	2.2	O-C=O
60	285.04	155578.3	49.1	C-C, C-H
	285.7	4955.1	15.6	C-N
	286.55	7307.5	23	C-O-C, C-O-H
	288.32	1319	4.2	C=O
	289.09	940.5	3	O-C=O
80	284.94	12139.9	39.4	C-C, C-H
	285.72	4335.4	14.1	C-N
	286.53	8836.4	28.7	C-O-C, C-O-H
	288.36	3320.2	10.8	C=O
	289.3	778	2.5	O-C=O
120	285	27197.6	80.6	C-C, C-H
	286.11	2861.7	8.5	C-N
	286.84	1993.2	5.9	C-O-C, C-O-H
	288.04	944.6	2.8	C=O
	289.01	734.3	2.2	O-C=O

จากสเปกตรัมที่ได้ เมื่อนำข้อมูลมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการบำบัดพลาสมากับหมู่ฟังก์ชันที่เปลี่ยนไปได้ดังภาพที่ 4.6 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า หมู่ฟังก์ชัน C-C, C-H เพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ 80 วินาทีจะมีหมู่นี้ลดลง ซึ่งพบว่าสัมพันธ์แบบผกผันกับหมู่ C-O-C, C-O-H ซึ่งเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลาการบำบัด 80 วินาที เนื่องจากพลาสมาไปกระตุ้นให้เกิด พันธะระหว่างยางกับออกซิเจนในก๊าซที่ให้ไป ทำให้เกิดเป็นออกซิเจนแรดดิคัล ก่อนทำปฏิกิริยากับคาร์บอนหรือไฮโดรเจนทำให้เกิด หมู่ C-O-C, C-O-H และการเกิด air bubble ในภาพ SEM ที่จะอธิบายเพิ่มเติมในหัวข้อถัดไป

นอกจากนี้ พบว่าหมู่ C-N และ O-C=O นั้นจะมีปริมาณที่ลดลงตามเวลาการบำบัดพลาสมาที่เพิ่มขึ้น ขณะที่หมู่ C=O มีปริมาณลดลงที่ 20-60 วินาที และเพิ่มขึ้นที่ 80 วินาที ก่อนจะลดลงอีกครั้ง ทั้งนี้ไนโตรเจนที่พบมาจากโปรตีนที่ผิวของอนุภาคยาง เมื่อใช้เอนไซม์โปรติเอสเพื่อกำจัดโปรตีน ภูมิแพ้ โดยเอนไซม์โปรติเอสจะไปย่อยที่พันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้ส่วนที่เป็นโปรตีนภูมิแพ้หายไป แต่ยังคงเหลือโปรตีนส่วนอื่น จึงทำให้ยังพบไนโตรเจนอยู่ (ไฟโรจน์ และ พรสิทธิ์, 2540)

นำตัวอย่างผ้าก๊อซที่เคลือบกายางที่ไม่ได้บำบัด และบำบัดพลาสมามาทดสอบหาหมู่ฟังก์ชันได้ค่าดังตารางที่ 4.5 โดยใช้สภาวะในการทดลองดังนี้ ใช้ก๊าซ Ar/O₂ (Flow rate ของ Ar เท่ากับ 4 ลิตรต่อนาที /Flow rate ของ O₂ เท่ากับ 36 มิลลิลิตรต่อนาที) กำลังในการบำบัดขึ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร ในส่วนนี้จะเป็นการบำบัดแบบต่อเนื่อง โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตร



ภาพที่ 4.6 หมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏที่ผิวยางที่เวลาต่างๆ (ใช้ก๊าซ Ar/O₂ กำลังในการบำบัดชิ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 5 mm)

ตารางที่ 4.5 หมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏเมื่อบำบัดฟิล์มยางจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ บน ผ่าก๊อซ

หมู่ฟังก์ชัน	ชนิดของตัวอย่าง						
	DPNR-G	DPNR-GT	LANR-G	LANR-GT	DPNR	DPNR-T	Commercial
C-C, C-H	81.3	80.5	64.6	51.2	82.6	69	34.1
C-O-C	6.3	7.1	7.5	12.7	6.6	6.8	31.7

หมายเหตุ DPNR-G คือ กาวจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้
 DPNR-GT คือ กาวจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา
 LANR-G คือ กาวน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำ
 LANR-GT คือ กาวน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา
 DPNR คือ น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้
 DPNR-T คือ น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา
 Commercial คือ เทปกาวยางการค้ายี่ห้อ BSN

จากตารางที่ 4.5 พบว่าทุกกรณีหลังการบำบัดด้วยพลาสมา หมู่ C-C, C-H ลดลง แต่หมู่ C-O-C เพิ่มขึ้น เนื่องจากพลาสมาไปกระตุ้นให้เกิด พันธะระหว่างยางกับออกซิเจนในก๊าซที่ให้ไป ทำให้เกิดเป็นออกซิเจนแรดิคัล ก่อนทำปฏิกิริยากับคาร์บอนหรือไฮโดรเจนทำให้เกิด หมู่ C-O-C, C-O-H อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเทปกาวยางการค้าพบว่า หมู่ C-O-C มีปริมาณสูงกว่าตัวอย่างอยู่มาก ทั้งนี้ หากเปรียบเทียบกาวน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำกับกาวจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ พบว่าการใช้การบำบัดด้วยพลาสมา ส่งผลให้กาวน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำมีหมู่ C-O-C ที่สูงขึ้นได้มากกว่า

เมื่อพิจารณาระหว่างน้ำยาง DPNR กับ กลุ่มกาว (DPNR-G, LANR-G) พบว่ากลุ่มกาวมี สัดส่วนหมู่ C-O-C, C-O-H มากกว่าน้ำยาง เนื่องจากในสูตรกาวมีการเติมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มี หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และกลีเซอรอลลงไป เมื่อผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาแล้วจะเกิดหมู่ ออกซิเจนแรดิคัล (-O•) และเกิดหมู่คาร์บอนิล (-C=O) เพิ่มขึ้น

4.6 วิเคราะห์สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

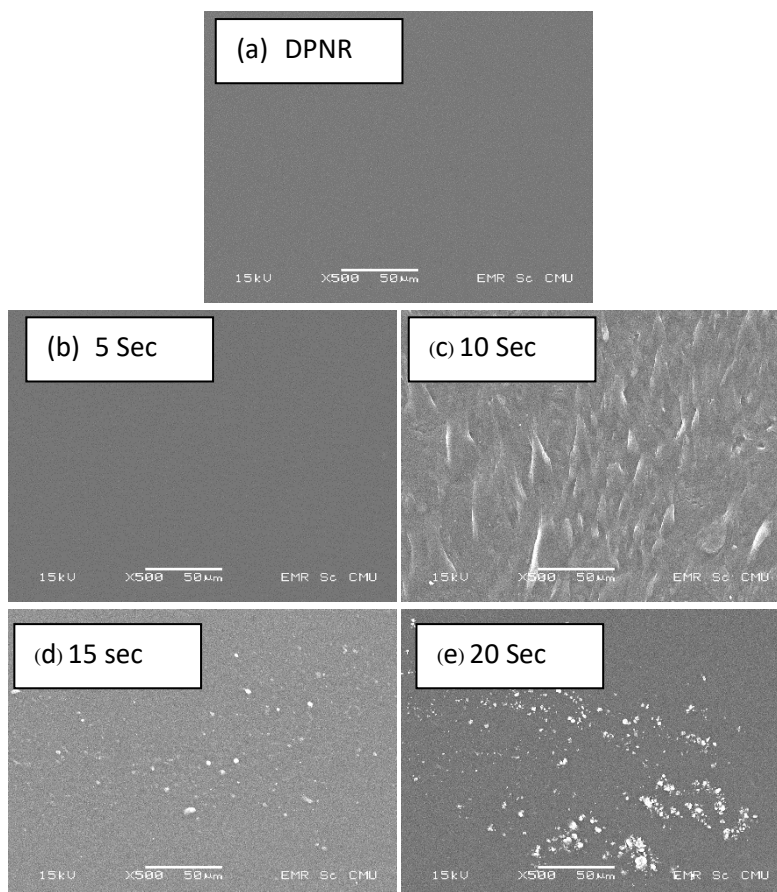
- 1) สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาที่กำลัง 10 W ด้วย Ar gas ระยะห่าง 10 mm แปรเวลาในการบำบัด ได้ผลดังภาพที่ 4.7
- 2) สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาที่กำลัง 20 W ด้วย Ar/O₂ gas ระยะห่าง 5 mm แปรเวลาในการบำบัด ได้ผลดังภาพที่ 4.8
- 3) สัณฐานวิทยาของผ้าก๊อซที่เคลือบกายยางที่ไม่ได้บำบัด และบำบัดพลาสมา โดยใช้สภาวะในการทดลองดังนี้ ใช้ก๊าซ Ar/O₂ (Flow rate ของ Ar เท่ากับ 4 ลิตรต่อนาที /Flow rate ของ O₂ เท่ากับ 36 มิลลิลิตรต่อนาที) กำลังในการบำบัดขึ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร ในส่วนนี้จะเป็นการบำบัดแบบต่อเนื่อง โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที่ 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตร ได้ผลดังภาพที่ 4.9

พิจารณาจากภาพที่ 4.7 พบว่า ที่ 10 วินาที จะเริ่มเห็นรอยบนพื้นผิวของยาง ที่ 15 วินาที จะเห็นเป็นจุดขาวๆ บนพื้นผิว สรุปได้ว่า เมื่อบำบัดแผ่นยางด้วย Ar gas กำลัง 10 W จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันยาง แต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่พื้นผิวของยาง

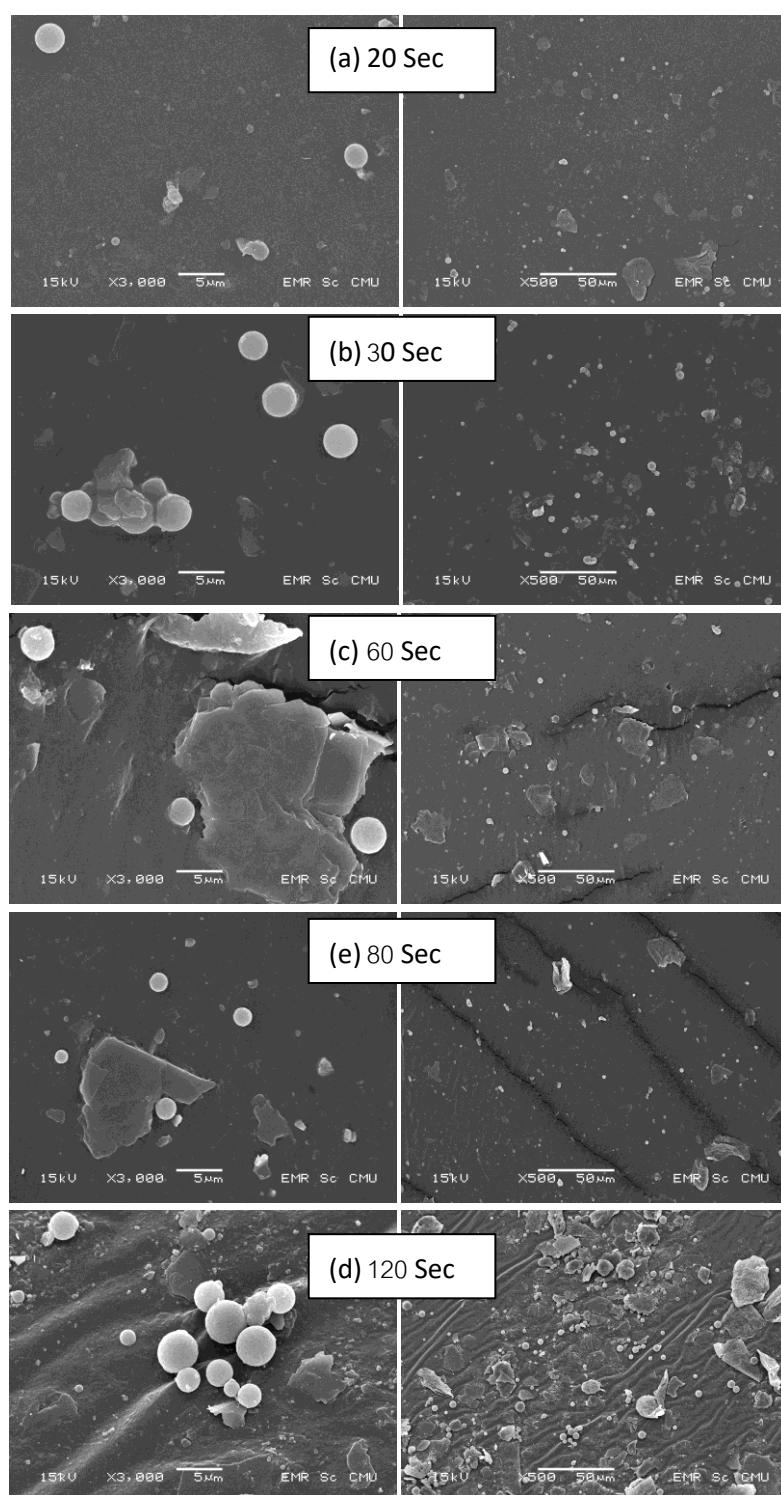
จึงทำการเพิ่มกำลังในการบำบัดด้วยพลาสมา รวมถึงเพิ่มก๊าซออกซิเจนเข้าไปร่วมในการบำบัดด้วย โดยลดระยะห่างระหว่าง Source กับผิวของฟิล์ม การบำบัดลงจาก 10 mm เป็น 5 mm ได้ผลสัณฐานวิทยาดังภาพที่ 4.8

จากภาพที่ 4.8 พบว่าหลังการอาบพลาสมาได้อนุภาคทรงกลมขนาดถึงประมาณ 1 ไมครอน สำหรับการบำบัดที่เวลา 20 วินาที พบขนาดอนุภาคประมาณ 5 ไมครอนที่เวลา 30 วินาที มีการกระจุกตัวบางบริเวณสำหรับกรณี 1 นาทีพบว่าได้อนุภาคสูงกว่า 5 ไมครอน พื้นผิวเริ่มมีความขรุขระ ที่ 80 วินาที พื้นผิวขรุขระมาก และพบรอยแตก เมื่อเพิ่มเวลาในการบำบัดเป็น 2 นาที พบว่าพื้นผิวที่กำลังขยาย 3000 เท่า มีลักษณะเป็นคลื่นและมีอนุภาคทรงกลมกระจายอยู่เป็นจำนวนมาก คาดว่า ยางเกิดการฟอร์มโครงสร้างคาร์บอนขึ้นในลักษณะที่สันนิษฐานได้น่าจะเป็นทรงกลมนาโน

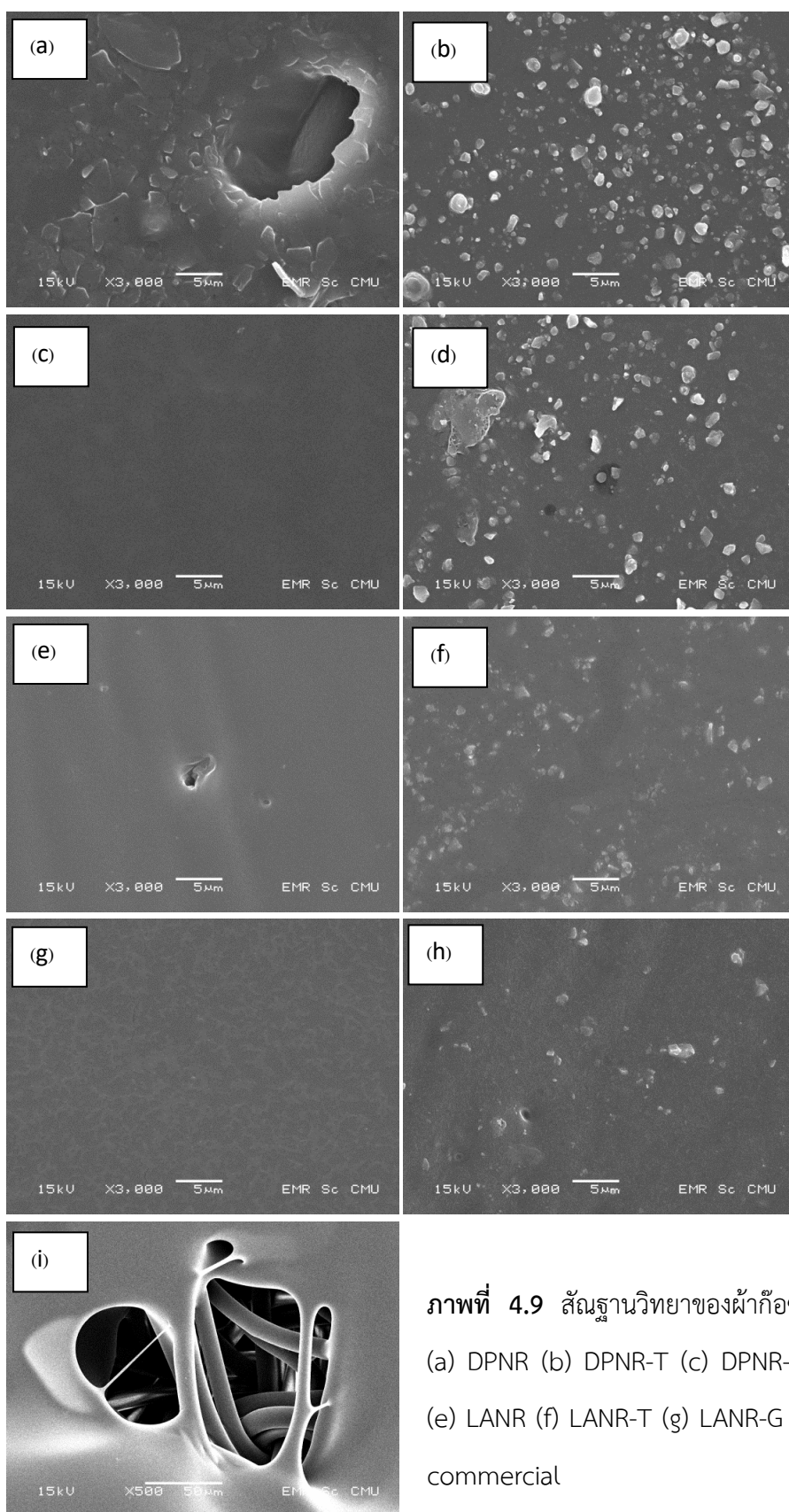
โดยภายในจะเป็นอากาศ ซึ่งพบได้เวลาพ่นเจ็ทพลาสมาบนผิวพอลิเมอร์ด้วยสภาวะคล้ายๆ กันนี้ตามที่รายงานโดย Haïdopoulos และคณะ (2007) และ Grundmeier และคณะ (2004) ดังแสดงผลใน XPS ที่ปรากฏหมู่ C-C มากขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการบำบัดพลาสมามากขึ้น



ภาพที่ 4.7 สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ และยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาที่กำลัง 10 W ด้วย Ar gas ระยะห่าง 10 mm แปรเวลาในการบำบัด (กำลังขยาย 500 เท่า)



ภาพที่ 4.8 สัณฐานวิทยาของยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาที่กำลัง 20 W ด้วย Ar/O₂ gas ระยะห่าง 5 mm แปรเวลาในการบำบัด (กำลังขยาย 3,000 และ 500 เท่า)



ภาพที่ 4.9 สัณฐานวิทยาของผ้าก๊อชที่เคลือบกาวยาง
 (a) DPNR (b) DPNR-T (c) DPNR-G (d) DPNR-GT
 (e) LANR (f) LANR-T (g) LANR-G (h) LANR-GT (i)
 commercial

หมายเหตุ DPNR-G คือ กาวจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

DPNR-GT คือ กาวจากน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา

LANR-G คือ กาวน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำ

LANR-GT คือ กาวน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา

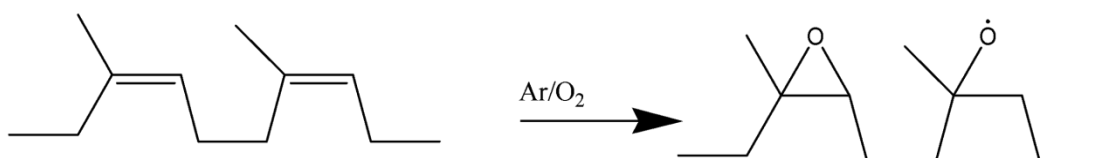
DPNR คือ น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้

DPNR-T คือ น้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา

Commercial คือ เทปกาวทางการค้าชื่อ BSN

จากภาพที่ 4.9 พบว่า พื้นผิวของผ้าก๊อซที่เคลือบกาวยางหลังการบำบัดพลาสมา จะมีลักษณะขรุขระมากกว่าก่อนบำบัด พื้นผิวของ DPNR-T มีความขรุขระมากที่สุด ตามมาด้วย DPNR-GT LANR-T และ LANR-GT ตามลำดับ แสดงว่า พลาสมาทำให้พื้นผิวทางกายภาพของกาวยางขรุขระขึ้น หากเปรียบเทียบจะพบว่าการบำบัดด้วยพลาสมาช่วยเพิ่มความขรุขระของน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ได้มากกว่าน้ำยางธรรมชาติแอมโมเนียต่ำ และเพิ่มความขรุขระในกรณีของน้ำยางธรรมชาติได้มากกว่ากาวน้ำยาง ตามลำดับ

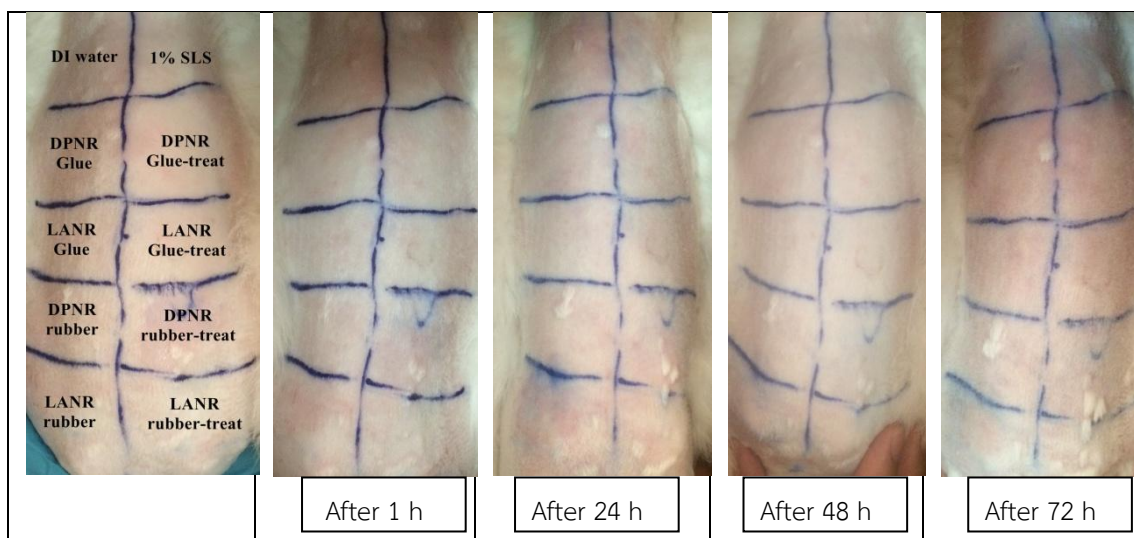
โดยคาดว่าจะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีบางส่วนด้วย ทั้งนี้ กลไกการเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลภายหลังการบำบัดด้วยพลาสมาที่ได้ศึกษาด้วย X-ray Photoelectron Spectroscopy ในหัวข้อที่ 4.5 ว่าการบำบัดด้วยพลาสมาจะทำให้เกิดหมู่ $-C-O-C$ เกิดขึ้น ซึ่งอาจเกิดในลักษณะที่คล้าย epoxidized natural rubber หรืออาจเกิดเป็น $O\cdot$ ที่สามารถเกิดพันธะต่อกับออกซิเจนอื่นได้อีก เป็นไปดังแสดง



4.7 ทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น (Primary irritation test) ในกระต่าย

จากการทดสอบ และ ประเมินผลโดย Draize scoring system พบว่า สารทดสอบทั้งหมดไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองที่ผิวหนังกระต่าย ในขณะที่ 1% SLS ซึ่งเป็น positive control

ก่อให้เกิดความระคายเคืองเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชม. เนื่องจากเกิดรอยแดงที่ผิวหนังกระต่ายเล็กน้อย ดังแสดงดังภาพที่ 4.10 และตาราง 4.7



ภาพที่ 4.10 ลักษณะของผิวหนังกระต่ายหลังทดสอบด้วยสารทดสอบต่างๆ เมื่อผ่านไป 72 ชม.

ตาราง 4.6 ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่าย

Test substances	PII value	Classification of skin reaction
DI water	0.00	Non-irritation
1%SLS	1.00	Slightly irritation
DPNR glue	0.00	Non-irritation
DPNR glue treat	0.00	Non-irritation
LANR glue	0.00	Non-irritation
LANR glue treat	0.00	Non-irritation
DPNR rubber	0.00	Non-irritation
DPNR rubber treat	0.00	Non-irritation
LANR rubber	0.00	Non-irritation
LANR rubber treat	0.00	Non-irritation

4.8 ทดสอบความตืดแน่น และทดสอบแรงดึงขาด

ตาม มอก. 318-2552 พลาสติกแบบม้วน: ผ้าเคลือบกาวยิงก้ออกไซด์ ได้ผลการทดลองดังตาราง 4.7

ตาราง 4.7 ค่าแรงดึงขาด และแรงดึงลอกของตัวอย่างเทปกาวชนิดต่างๆ

ชนิดเทปกาว	แรงดึงขาด (N/ความกว้าง 1 cm)	SD	% เปลี่ยนแปลง	แรงดึงลอก (N/ความกว้าง 1 cm)	SD	% เปลี่ยนแปลง
LANR	22.47	1.44	3.071	0.064	0.0107	32.812
LANR-T	23.16	3.14		0.085	0.0998	
DPNR	21.06	3.03	4.274	0.050	0.0211	42.000
DPNR-T	21.96	2.42		0.071	0.0407	
LANR-G	22.14	1.41	1.942	0.017	0.0142	-5.882
LANR-GT	22.57	1.80		0.016	0.0073	
DPNR-G	20.76	0.74	2.505	0.037	0.0056	-21.622
DPNR-GT	21.28	2.77		0.029	0.0290	
Commercial	34.64	1.53	-	1.137	0.0514	-
เทปกาวตามมาตรฐาน มอก.318-2552	ไม่น้อยกว่า 40	-	-	ไม่น้อยกว่า 2	-	-

จากตาราง 4.4, 4.5, 4.7 และภาพ 4.6, 4.8, 4.9 แสดงให้เห็นว่า เมื่อทำการบำบัดพื้นผิวของเทปกาวที่เคลือบด้วย DPNR LANR LANR-G และ DPNR-G แล้ว ให้ค่าแรงดึงขาดที่สูงขึ้น คิดเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนเพียง 3-4% เพราะแรงดึงขาดขึ้นอยู่กับชนิดของ substrate ที่เป็นเพียงผ้าก๊อช และความหนาของกาว อย่างไรก็ตามพบว่าชิ้นงานตัวอย่างในทุกกระบวนรวมถึงตัวอย่างทางการค้ามีค่าแรงดึงขาดไม่ผ่านตามมาตรฐาน มอก.318-2552 ในส่วนแรงดึงลอกนั้นพบว่าในส่วนที่เป็น DPNR

LANR นั้น เมื่อทำการบำบัดพลาสมาจะให้ค่าแรงดึงลอกสูงขึ้นคิดเป็น 42% และ 32% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจาก SEM ที่ให้พื้นผิวขรุขระมากขึ้น และ XPS ที่มีหมู่ C-O-C สูงขึ้น แสดงถึงความสามารถในการพัฒนาสมบัติของเทปกาชชนิดต่างๆ จากการปรับปรุงทางกายภาพและทางเคมี จึงทำให้ค่าแรงดึงลอกสูงขึ้น แต่เมื่อเทียบกับเทปกาชทางการค้าพบว่าการแรงดึงลอกยังต่ำกว่าอยู่มาก ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณหมู่ฟังก์ชัน C-O-C ของเทปกาชทางการค้ามีอยู่กว่า 31% ในขณะที่เทปกาชตัวอย่างที่ผ่านการบำบัดด้วยพลาสมา มีหมู่ C-O-C เพียง 7% จึงส่งผลให้แรงดึงลอกต่ำกว่า

เมื่อเปรียบเทียบผลแรงดึงลอกระหว่างกลุ่มน้ำยางข้น (LANR, LANR-T, DPNR, DPNR-T) มีค่าสูงกว่ากลุ่มกาช (LANR-G, LANR-GT, DPNR-G, DPNR-GT) ทั้งนี้เนื่องจาก เมื่อพิจารณาปริมาณของแข็งที่อยู่ในน้ำยางพบว่า ในกลุ่มน้ำยางข้นมีปริมาณของแข็งอยู่ระหว่าง 60-63% ในขณะที่กลุ่มกาชมีปริมาณของแข็งอยู่ที่ 43% ดังนั้นในปริมาตรที่เท่ากันของกาชเมื่อเคลือบลง Substrate จึงทำให้มีปริมาณเนื้อสารอยู่ไม่เท่ากัน ส่งผลให้แรงดึงลอกของกลุ่มกาชต่ำกว่า

เมื่อพิจารณา LANR-G และ DPNR-G เมื่อถูกบำบัดด้วย plasma ทำให้แรงยึดติดลดลง เนื่องจากในสูตรกาชมีการเติมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และกลีเซอรอลลงไปโดยคาดหวังว่าเมื่อผ่านการบำบัดด้วยพลาสมาแล้วจะเกิดหมู่ออกซิเจนแรดดิคัล (-O) และเกิดหมู่คาร์บอนิล (-C=O) เพิ่มขึ้น ซึ่งยืนยันได้จาก ตารางที่ 4.5 โดยน่าจะทำให้ค่าแรงดึงลอกเพิ่มขึ้น แต่ผลแรงดึงกลับลดลง ส่วนหนึ่งอาจเป็นไปได้ว่าปริมาณเนื้อสารในปริมาตรที่เท่ากันมีค่าต่ำ จึงทำให้ส่วนที่เคลือบกับผ้ามีน้อย (เนื้อกาชมีน้อย) เมื่อทดสอบแรงดึงลอกจึงได้ค่าต่ำ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ทำการเตรียมน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส ทำการวิเคราะห์ยางธรรมชาติที่เตรียมได้ ไม่พบโปรตีนภูมิแพ้ หลังจากนั้นทำการบำบัดผิวของยางน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ด้วยพลาสมา ที่ใช้ก๊าซผสมระหว่างอาร์กอนและออกซิเจนโดยแปรเวลาในการบำบัด พบว่าเมื่อเพิ่มบำบัดพื้นผิวอยู่ที่ระยะ 80 วินาที จะพบหมู่เอเทอร์เพิ่มขึ้น และมีผิวหน้าขรุขระเพิ่มขึ้นจากผิวยางที่ไม่ผ่านการบำบัด ต่อมาได้เคลือบน้ำยางธรรมชาติปราศจากโปรตีนภูมิแพ้ลงบนผ้าก๊อซก่อนนำไปบำบัดด้วยพลาสมา (Flow rate ของ Ar เท่ากับ 4 ลิตรต่อนาที /Flow rate ของ O₂ เท่ากับ 36 มิลลิลิตรต่อนาที) กำลังในการบำบัดขึ้นงานที่ 20 W ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร โดยมีความเร็วในการบำบัดอยู่ที่ 2 นาที 50 วินาทีต่อระยะทาง 10 เซนติเมตรพบว่าระบบที่ใช้ทำให้มีหมู่เอเทอร์เพิ่มขึ้น มีความขรุขระของพื้นผิวมากขึ้น จึงส่งผลให้มีค่าการยึดติดสูงขึ้นเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชิ้นทดสอบผ้าก๊อซที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดผิวด้วยพลาสมา แต่เมื่อเทียบกับเทปกาวทางการค้าพบว่าชิ้นทดสอบมีค่าต่ำกว่าเทปกาวทางการค้ามาก เนื่องจากหมู่เอเทอร์ที่สูงกว่ามาก ในการวิจัยนี้ไม่สามารถทำการเพิ่มระยะเวลาการบำบัดผิวขึ้นงาน (ผ้าก๊อซ) ได้อีกเนื่องจากเกิดการไหม้ของผ้าก๊อซเมื่อระยะเวลาในการบำบัดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังไม่พบการแพ้เมื่อนำไปทดสอบกับผิวของกระต่าย

เอกสารอ้างอิง

1. Ariyawiriyana W., Nuinu J., Sae-heng K., Kawahara S. The Mechanical Properties of Vulcanized Deproteinized Natural Rubber. Energy Procedia 2013; 34: 728 – 733.
2. Azura A.R., Lee X.M., Misman M.A. Effect of natural and synthetic tackifiers on viscosities, adhesion properties and thermal stability of SNR and DPNR solution adhesives. Journal of Adhesion Science and Technology 2014; 28(7): 637–652.
3. Basak G.C., Bandyapadhyay A., Neogi S., Bhowmick A.K. Surface modification of argon/oxygen plasma treated vulcanized ethylene propylene diene polymethylene surfaces for improved adhesion with natural rubber. Applied Surface Science 2011; 257: 2891-2904.
4. Chantawannakul, P., Oncharoen, A., Klanbut, K., Chukeatirote., and Lumyong, S. Characterization of protease of *Bacillus subtilis* strain 38 isolated from traditionally fermented soybean in Northern Thailand. ScienceAsia 2002; 28: 241-245.
5. Comyn J., Mascia L., Xiao G., Parker B.M. Plasma-treatment of polyetheretherketone (PEEK) for adhesive bonding. Int. J. Adhesion and Adhesives 1996; 16: 97-104
6. Hollahan, J.R. and Bell, A.T. 'Techniques and Applications of Plasma Chemistry', John Wiley, New York, 1974
7. Kang H., M. Y. Kang, and K. H. Han. Identification of natural rubber and characterization of rubber biosynthetic activity in fig tree. American Society of Plant Biologists. 2000; 123(3): 1133-1142.
8. Klinklai, W., Kawahara, S., Mizumo, T., Yoshizawa, M., Sakdapipanich, J.T., Isono, Y., and Ohno, H. 2003. Depolymerization and ionic conductivity of

- enzymatically deproteinized natural rubber having epoxy group. *European polymer Journal* 39:1707-1712
9. Pichayakorn W., Suksaeree J., Boonme P., Taweepreda W., Ritthide G. C. Preparation of Deproteinized Natural Rubber Latex and Properties of Films Formed by Itself and Several Adhesive Polymer Blends. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2012; 51: 13393-13404.
 10. Riyajan S., Phuapewkeaw N., Maneechay S., Kowalczyk A. An emulsion from green epoxidized skim rubber blended with poly (vinyl alcohol) for use as a bioadhesive. *International Journal of Adhesion & Adhesives* 2013; 45: 84–89.
 11. ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ และกิตติยาภรณ์ เตยแก้ว 2552. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ยางโปรตีนต่ำเหลวที่มีหมู่ปลายไฮดรอกซิลจากการดัดสลายน้ำยางโปรตีนต่ำและการประยุกต์ใช้ในการทำโฟม พอลิยูรีเทน. โครงการวิจัยแห่งชาติ: ยางพารา สกว.
 12. ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน ช่อทิพา สกุศลสิงหาโรจน์ ปรียะชน วงศ์แปง และอัครารัตน์ คล่องแคล่ว 2554. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. การวิเคราะห์โปรตีนภูมิแพ้ในน้ำยางโปรตีนต่ำ. โครงการวิจัยแห่งชาติ: ยางพารา สกว.
 13. HAÏDOPOULOS, M., MIRABELLA, F., HORGNIES, M., VOLCKE, C., THIRY, P.A., ROUXHET, P. and PIREAUX, J.-J. Morphology of polystyrene films deposited by RF plasma, *Journal of Microscopy* 2007; 228: 227–239
 14. Grundmeier, G., Thiemann, P., Carpentier, J., Shirtcliffe, N., Stratmann, M. Tailoring of the morphology and chemical composition of thin organosilane microwave plasma polymer layers on metal substrates. *Thin Solid Films* 2004; 446: 61–71.
 15. Patricia B. A., Felipe A. B. Karoline M. R, Matheus C. R. Mi. Larisa B. A Paulo N. L. F. Bruno C. D, Rondinelli D. H. Evaluation of Sodium Diclofenac Release Using Natural Rubber Latex as Carrier. *Materials Research*. 2014; 17(Suppl. 1): 146-152.

ภาคผนวก

- บทความเพื่อเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการ “Eighth International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (MBE8)” ระหว่างวันที่ 22-24 มิถุนายน 2558 ณ Tower Hall Funabori, Tokyo, Japan

ตารางแสดงกิจกรรมที่เสนอในข้อโครงการและกิจกรรมที่ทำจริง

กิจกรรมหลัก	เดือนที่					
	1-3	4-6	7-9	10-12	13-15	16-18
เตรียมน้ำยาง ธรรมชาติปราศจาก โปรตีนภูมิแพ้และ วิเคราะห์	 					
เตรียมกาวจาก น้ำยางธรรมชาติ ปราศจากโปรตีน ภูมิแพ้	 					
เตรียมชิ้นตัวอย่าง เพื่อเตรียมบำบัดด้วย พลาสมา		 				
บำบัดพื้นผิวชิ้น ตัวอย่างด้วยพลาสมา		 				
ทดสอบผิวของกาว ยาที่ผ่านการบำบัด ด้วยพลาสมา		 				
ทดสอบ ความสามารถในการ ยึดติดของชิ้นงาน		 				
วิเคราะห์ผลการ ทดลอง				 		



กิจกรรมที่เสนอในข้อโครงการ



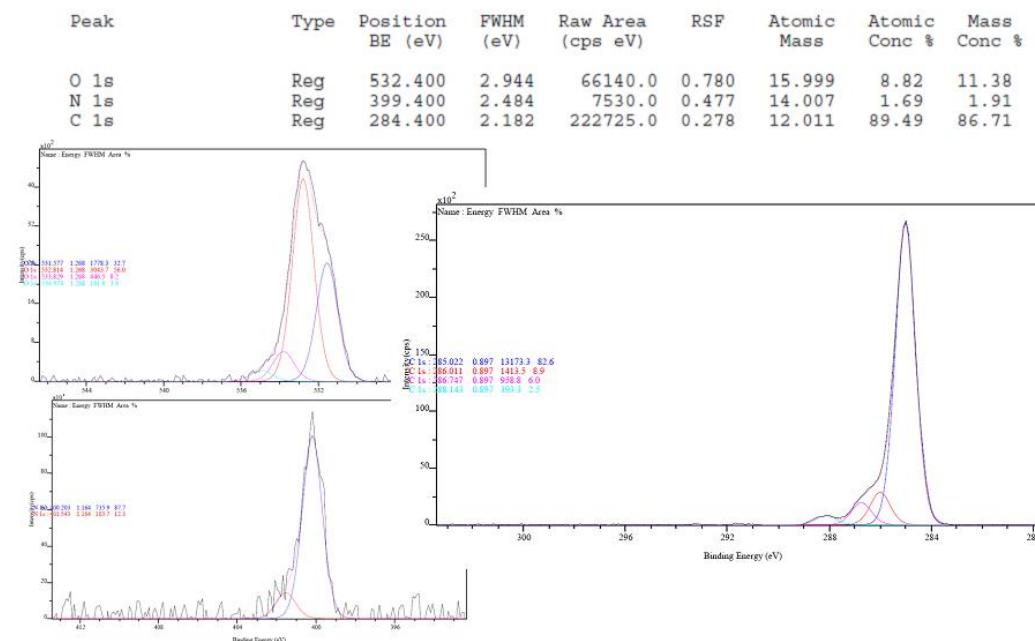
กิจกรรมที่ทำจริง

วิเคราะห์ต้นทุน

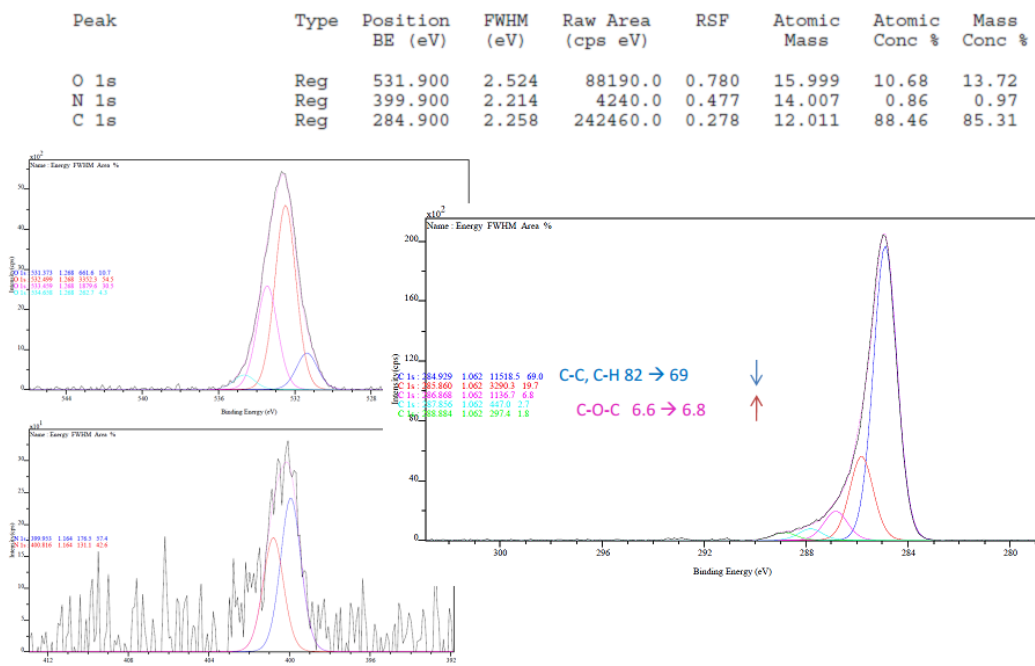
เทพกาวทางการค้า		เทพกาวจากการทดลอง	
ยี่ห้อ BSN			
รุ่น Fixomull Stretch			
ขนาด	10 ซม. • 10 ม.	ขนาด	2.5 ซม. • 10 ซม.
ราคา	546 บาท	ราคา	แก๊ส 8 บาท
		(คิดค่าผ้า น้ำยาง	น้ำยาง 0.081 บาท
		แก๊ส)	ผ้า 0.24 บาท
			รวม 8.321 บาท
ราคาต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่	0.0546 บาท/ตร.ซม.	ราคาต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่	0.3328 บาท/ตร.ซม.

ผลการทดสอบพื้นผิวด้วย XPS

DPNR



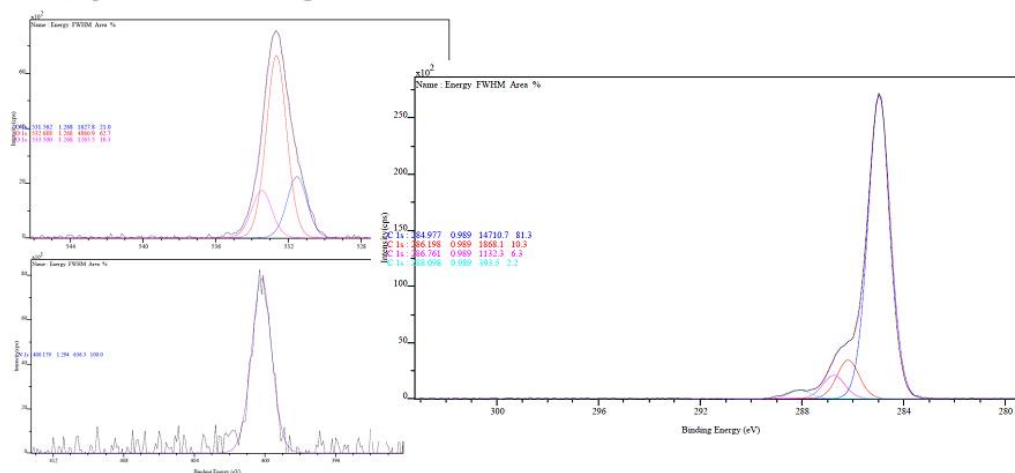
DPNR-T



DPNR Glue

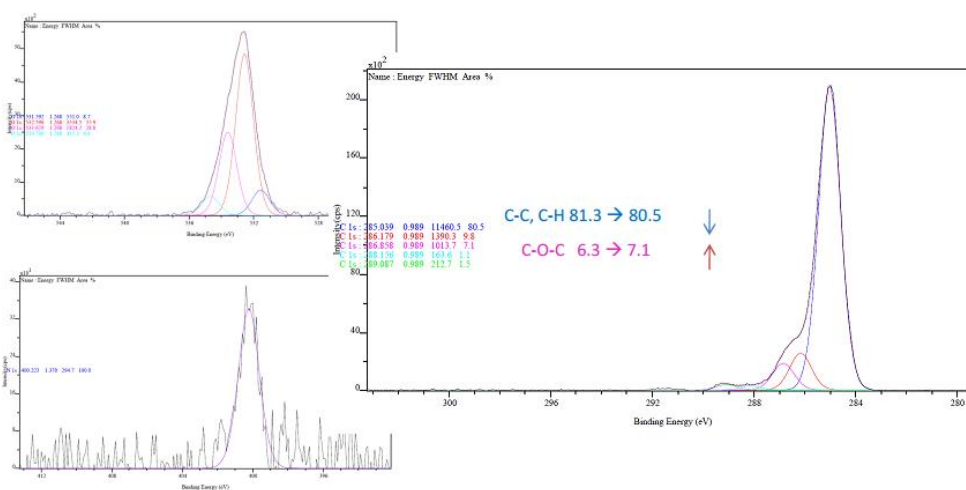
DPNR-G

Peak	Type	Position BE (eV)	FWHM (eV)	Raw Area (cps eV)	RSF	Atomic Mass	Atomic Conc %	Mass Conc %
Zn 2p	Reg	1022.200	2.514	26640.0	5.589	65.387	0.38	1.96
O 1s	Reg	532.200	2.447	106415.0	0.780	15.999	12.07	15.07
N 1s	Reg	399.200	2.495	8900.0	0.477	14.007	1.70	1.86
C 1s	Reg	285.200	2.358	249935.0	0.278	12.011	85.42	80.07
P 2p	Reg	133.200	2.378	2250.0	0.486	30.974	0.43	1.05



DPNR-GT

Peak	Type	Position BE (eV)	FWHM (eV)	Raw Area (cps eV)	RSF	Atomic Mass	Atomic Conc %	Mass Conc %
O 1s	Reg	532.200	2.560	95365.0	0.780	15.999	12.53	15.72
N 1s	Reg	400.200	2.335	5800.0	0.477	14.007	1.28	1.41
C 1s	Reg	285.200	2.308	214425.0	0.278	12.011	84.87	79.97
Si 2p	Reg	102.200	2.045	4080.0	0.328	28.086	1.32	2.90



Commercial

Peak	Type	Position BE (eV)	FWHM (eV)	Raw Area (cps eV)	RSF	Atomic Mass	Atomic Conc %	Mass Conc %
O 1s	Reg	532.800	3.092	108170.0	0.780	15.999	14.80	18.44
C 1s	Reg	284.800	2.678	203080.0	0.278	12.011	83.73	78.34
Si 2p	Reg	102.800	2.873	4370.0	0.328	28.086	1.47	3.22

