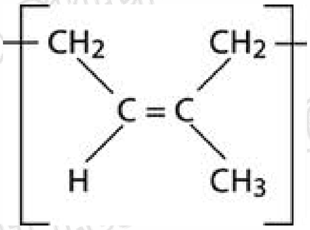
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับปัญหาการวิจัย

2.1.1 น้ำยางธรรมชาติ

น้ำยาง (Latex) ได้จากท่อลำเลียงในส่วนเปลือกของต้นยางพารา (*Hevea brasiliensis*) สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการทำผลิตภัณฑ์ยางชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภทตั้งแต่อุตสาหกรรมหนัก เช่น การผลิตยางรถยนต์ ไปจนถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในครัวเรือน น้ำยางธรรมชาติเป็นคอลลอยด์ของพอลิไอโซพรีน มีสูตรโมเลกุลคือ C_5H_8 และมีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น *cis*-1,4-polyisoprene ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของโมเลกุลยางธรรมชาติ

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของน้ำยางธรรมชาติ (บุญธรรม, 2530)

ส่วนประกอบ	% โดยน้ำหนัก
สารที่เป็นของแข็งทั้งหมด	27-48
เนื้อยางแห้ง	25-45
สารพวกโปรตีน	1-1.5
สารพวกเรซิน	1-2.5
ขี้เถ้า	สูงถึง 1
น้ำตาล	1
น้ำ	ส่วนที่เหลือจนครบ 100

ส่วนประกอบในน้ำยางจากต้นยางพารา ดังแสดงในตารางที่ 2.1 น้ำยางพารามีความหนาแน่นประมาณ 0.92 โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ ๆ ดังนี้

1) ส่วนที่เป็นเนื้อยาง มีประมาณร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก เป็นอนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ เป็นสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอน เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.03-0.02 ไมครอน ไม่ละลายน้ำ รูปทรงมีทั้งทรงกลมและทรงรีคล้ายลูกแพร์ (Blackley, 1997) ในสภาพน้ำยางสดเนื้อยางจะถูกห่อหุ้มด้วยชั้นของสารกลุ่มไขมันและโปรตีน (Blackley, 1997)

2) ส่วนที่ไม่ใช่ยาง มีประมาณร้อยละ 65 ของน้ำยาง ประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำหรือซีรั่ม (Serum) มีความหนาแน่นประมาณ 1.02 ประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดอะมิโน (Blackley, 1997) และองค์ประกอบส่วนที่สองคือ ส่วนลูทอยด์และสารอื่น ลูทอยด์เป็นอนุภาคกลม มีเยื่อบางห่อหุ้มอยู่ขนาดใหญ่กว่าอนุภาคของยาง มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-10 ไมครอน (Blackley, 1997) ภายในเยื่อบางประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่า บี-ซีรั่ม ซึ่งมีสารพวกพอลิฟีนอล โปรตีน และเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสอยู่ โดยส่วนนี้สามารถทำให้น้ำยางมีสีคล้ำเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ดังตารางที่ 1.1 ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการนำน้ำยางไ ปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ต้องการยางสีอ่อนหรือผลิตภัณฑ์ที่คำนึงถึงสีสันของผลิตภัณฑ์

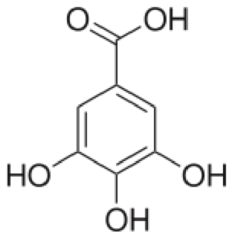
Prince of Songkla University Pattani Campus

2.1.2 สารที่ทำให้เกิดสีคล้ำในน้ำยางธรรมชาติ

องค์ประกอบที่มาของสีคล้ำในน้ำยางธรรมชาติ เกิดจากองค์ประกอบหลัก ๆ ได้แก่ สารประกอบพอลิฟีนอล พบร้อยละ 0.11-0.13 (กิตตินันท์, 2534) เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส 148800 – 267770 ยูนิต (กิตตินันท์, 2534) คาโรทีนอยด์ (พันธุ์ RRIM 600) ร้อยละ 0.00006 ในเนื้อยางแห้ง (กิตตินันท์, 2534) และโปรตีนร้อยละ 2 ในน้ำยางสด (Perrella and Gaspari, 2002)

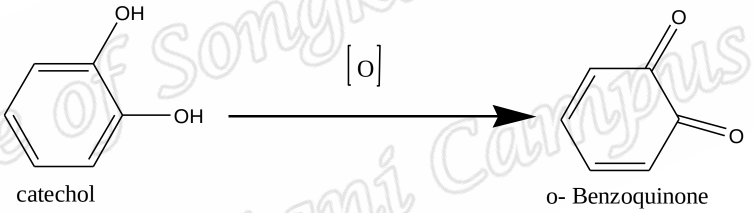
2.1.2.1 พอลิฟีนอล (Polyphenol)

พอลิฟีนอลเป็นกลุ่มของสารเคมีที่พบโดยทั่วไปในพืช เกิดจากการรวมกันของโมเลกุลฟีนอลเข้าเป็นกลุ่มโมเลกุล ปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบพอลิฟีนอลที่ทราบโครงสร้างแล้วอย่างแน่นอนมากมายหลายชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน เช่นกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก (รูปที่ 2.2) ฟีนิลโพรพีน ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างโมเลกุลของกรดแกลลิก

สารพวกพอลิฟีนอล สามารถเกิดการออกซิเดชันได้ ด้วยกลไกปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบไดฟีนิก (o-Diphenic compound) กับเอนไซม์พวกฟีนอลเลส ซึ่งเป็นกลุ่มรวมของเอนไซม์ต่อไปนี้ คือ เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (Polyphenoloxidase) และไทโรซิเนส (Tyrosinase) เป็นต้น โดยทำให้เกิดเป็นควิโนน ที่สามารถเกิดปฏิกิริยา พอลิเมอไรเซชัน จนได้สารประกอบสีน้ำตาล (Melanin) ที่ละลายน้ำได้เล็กน้อย ตัวอย่างเช่น การออกซิไดซ์ ของแคทีคอลไปเป็นออร์โท เบนโซควิโนน (o–Benzoquinone) ดังรูปที่ 2.3 (รัชนี, 2532)



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการออกซิไดซ์ของแคทีคอล

2.1.2.2 โปรตีน (Proteins)

สารโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยางทั้งหมด สามารถแบ่งได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่ โปรตีนที่ห่อหุ้มอยู่ผิวรอบนอกอนุภาคยางร้อยละ 25 โปรตีนที่อยู่ในชั้นน้ำร้อยละ 50 และโปรตีนที่ปะปนอยู่ในส่วนของสารลูทอยด์มีอยู่ร้อยละ 25 ในส่วนของโปรตีนที่อยู่บริเวณผิวของอนุภาคยางจะมีส่วนประกอบของกำมะถัน (Cystine disulphide linkage) อยู่ประมาณร้อยละ 5 ส่วนปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีคล้ำนั้นเกิดจาก โปรตีนและกรดอะมิโนทำปฏิกริยากับสารพวกน้ำตาล อัลดีไฮด์ (Aldehyde) หรือคีโตน (Ketone) ในขณะที่ผ่านความร้อนหรือเก็บเอาไว้นาน ๆ ทำให้ได้สารเมลานอยดิน (Melanoidin) โดยปฏิกิริยานี้เรียกอีกอย่างได้ว่า ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ปฏิกิริยานี้ได้ถูกค้นพบโดย Maillard ในปี 1912 ปฏิกิริยานี้สามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนและแต่ละขั้นตอนยังแบ่งออกเป็นขั้นตอนย่อย ๆ ได้อีก (รัชนี, 2532)

Prince of Songkla University
Pattani Campus

1) ขั้นตอนแรก ขั้นตอนนี้ไม่มีสี ไม่ดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต

ก. การควบแน่นของน้ำตาล – เอมีน (Sugar – amine condensation)

ข. การจัดเรียงตัวใหม่แบบอะมาโดริ (Amadori rearrangement)

2) ขั้นตอนที่สอง ขั้นตอนนี้ไม่มีสี หรือมีสีเหลือง ดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตใกล้

ก. การกำจัดน้ำออกจากน้ำตาล (Sugar dehydration) การกำจัดน้ำออกจากน้ำตาลระหว่างน้ำตาลและเอมีนสามารถเกิดได้ 2 ทาง ในสารละลายที่เป็นกลางหรือเป็นกรดจะเกิดเฟอร์ฟิวรัล ในสภาวะแห้งหรือไม่มีตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (Non-aqueous solvent) เมื่อมีเอมีนอยู่จะเกิดรีดักโตน (Reductones)

ข. การแตกหักของน้ำตาล (Sugar fragmentation)

ค. การสลายตัวของกรดอะมิโน (Amino acid degradation) หรือการสลายตัวแบบสเตรกเกอร์ (Strecker degradation) ซึ่งจะให้แอลดีไฮด์ที่มีคาร์บอนน้อยกว่ากรดอะมิโนเดิม 1 ตัวพร้อมกับปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา

3. ขั้นตอนสุดท้าย มีสีเข้มขึ้น

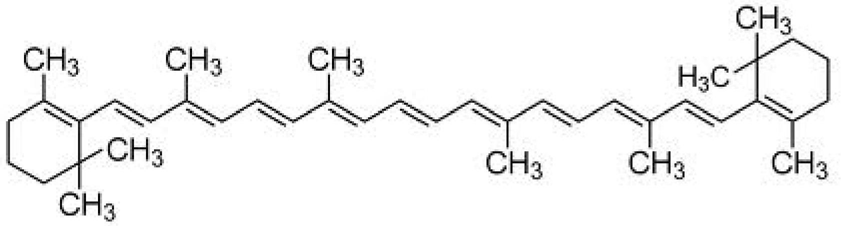
ก. การรวมตัวแบบอัลดอล (Aldol condensation)

ข. พอลิเมอไรเซชันของแอลดิไฮด์-เอมีน การเกิดสารประกอบเฮทเทอโรไซคริกไนโตรเจน

Prince of Songkla University
Pattani Campus

2.1.2.3 คาโรทีนอยด์ (Carotenoids)

คาโรทีนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุสีเหลืองและสีแดงซึ่งส่วนใหญ่ละลายในไขมัน พบทั่วไปในผลิตผลของพืชและสัตว์ในธรรมชาติ รงควัตถุเหล่านี้มีอยู่ทั่วไปและมีปริมาณมากในธรรมชาติ คาโรทีนอยด์ที่มีมากที่สุดคือ ฟิวโคแซนทีน (Fucoxanthin) คาโรทีนอยด์อื่น ๆ ที่มีปริมาณน้อยแต่พบทั่วไปคือ เบต้า-แคโรทีน (β-Carotene) (รูปที่ 2.4) และ ซีแซนธีน (Zeaxanthin) คาโรทีนอยด์สามารถอยู่ในรูปอิสระในเนื้อเยื่อของพืช เป็นผลึกหรือของแข็งอสัณฐานหรือเป็นสารละลายในลิปิด คาโรทีนอยด์ยังอาจจะเกิดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันหรือรวมกับน้ำตาลและโปรตีน โครงสร้างของคาโรทีนอยด์เป็นโมเลกุลแบบไม่อิ่มตัว หากสัมผัสกับอากาศนาน ๆ จะถูกออกซิไดซ์ เปลี่ยนเป็นสารที่มีสีเข้มขึ้น และอัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชันยังขึ้นกับแสง และความร้อน (รัชนี, 2532)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างเบต้า-แคโรทีน

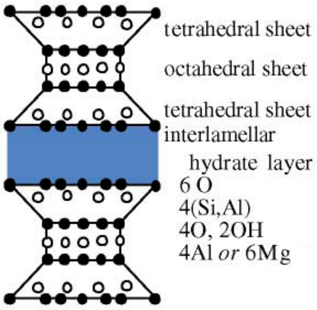
2.1.2.4 เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase)

เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส สามารถพบได้ทั่วไปในพืชและเห็ดรา ในพืชส่วนใหญ่เอนไซม์จะอยู่ในเนื้อเยื่อไทลาคอยด์ (Thylakoid) ของคลอโรพลาส หรือพลาสติด (Plastid) โดยในยางธรรมชาติเอนไซม์นี้สามารถพบได้ทั้งในส่วนของลูทอยส์ และอนุภาคเฟรย์วิสลิ่ง (Wititsuwannakul *et al.,* 2002) โดยเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มฟีโนเลส (Phenolase) โดยเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดกระบวนการ พอลิเมอไรเซชัน ของสารประกอบฟีนอลิกให้กลายเป็นสารจำพวก ควิโนน และเมลานิน ซึ่งมีสมบัติในการ ปกป้องตัวเองจากบาดแผลของเนื้อเยื่อพืช โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะมีองค์ประกอบของทองแดงในรูปของคิวปรัส โดยถ้ามีออร์โธ - ไฮดรอกซีฟีนอลอยู่จะเกิดการออกซิไดซ์ทองแดงไปอยู่ในรูปคิวปริก (รัชนี, 2532)

2.1.3 สารที่ใช้ในการลดสีคล้ำ

2.1.3.1 เบนทอไนต์ (Bentonite)

เบนทอไนต์ (Bentonite) เป็นแร่ดินเหนียวมอนต์โมริลโลไนท์ (Montmorillonite) มอนต์โมริลโลไนท์เป็นอะลูมิเนียมซิลิเคทไฮเดรตที่ซับซ้อน ประกอบด้วย แผ่นอะลูมินาออกตะฮีดรอน (Al-O-OH) แทรกอยู่ระหว่างแผ่นซิลิกาเตตระฮีดรอน (Si-O) โดยแคตไอออนที่มีประจุ 2 ได้แก่ เหล็กไอออน (Fe^{2+}) และแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) เกิดการแทนที่ซิลิกอนในแผ่นซิลิกาเตตระฮีดรอน การแทนที่ดังกล่าวทำให้เกิดเป็นตาข่ายประจุลบบนผิวเบนทอไนต์ ไอออนหรือกลุ่มสารที่มีประจุบวกจึงสามารถถูกดูดซับบนผิวของเบนทอไนต์จากการแลกเปลี่ยนประจุระหว่างประจุบวกและลบ (Xifang *et al.,* 2007) โดยแบบจำลองโครงสร้างเบนทอไนต์ ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แบบจำลองโครงสร้างอะตอมของเบนทอไนต์ (Ichikawa *et al.*, 2001)

เบนทอไนต์มีองค์ประกอบทางเคมี ดังแสดงในตารางที่ 2.2 (Froehner *et al.*, 2009)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเบนทอไนต์

Compound	**% wt.wt^{-1}**
SiO_2	66
Al_2O_3	23
Fe_2O_3	0.99
CaO	0.20
MgO	0.62
Na_2O	0.13
K_2O	1.60

Prince of Songkla University Pattani Campus

เบนทอไนต์สามารถดูดซับสารพวกฟีนอล และโปรตีนได้โดยเกิดจากการแทนที่ไอออนประจุบวกของสารอนินทรีย์ ด้วยไอออนประจุบวกของสารอินทรีย์ เช่น ในรูป quaternary ammonium cations

2.1.3.2 สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO Inhibitor)

- สารลดสี (Color reducing agent, CRA)

สารลดสี (CRA) เป็นสารประเภทตัวออกซิไดส์ (Oxidizing agent) สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลและยังสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของบัคเตรี (Microbial growth) โดยองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (The American Food and

Drug Administration, FDA) ได้มีการทดสอบให้ใช้ในพวกผักและผลไม้สดในช่วง 0.05-0.12% ทดสอบจากน้ำที่ชะล้างสารนี้ออกมาของผักและผลไม้

2.1.4 ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้อง

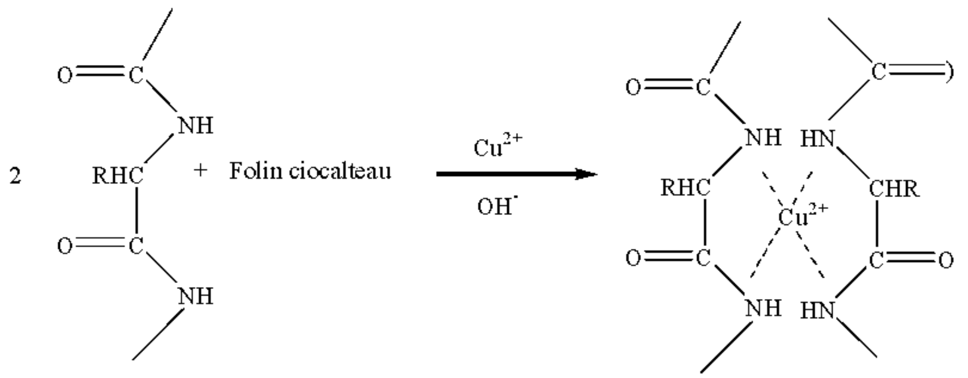
2.1.4.1 ปฏิกิริยาโฟลิน – ไซโอแคลทู (Folin – Ciocalteu reaction)

การวิเคราะห์หาปริมาณพอลิฟีนอลด้วยวิธีโฟลิน –ไซโอแคลทู คือวิธีที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชันของโฟลิน –ไซโอแคลทู ฟีนอล รีเอเจนต์ (Phosphomolybdic-phosphotungstic acid) กับสารฟีนอลิก คือ ดูการเปลี่ยนสีของสารประกอบ Mo (VI) ซึ่งมีสีเหลืองเมื่อได้รับอิเล็คตรอนจากสารฟีนอลิกแล้วเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูป Mo (V) เป็นสารประกอบสีน้ำเงิน ภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง การเกิดสีของสารประกอบจะเกิดอย่างช้า ๆ แต่สามารถเร่งได้ด้วยความร้อน นอกจากนี้สีอาจหายไปในเวลาที่รวดเร็วดังนั้นเวลาในการวัดสีจึงเป็นข้อจำกัดของวิธี ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย ค่าใช้จ่ายน้อย สะดวกรวดเร็ว และมีความแม่นยำ ส่วนข้อเสีย คือ วิธีนี้อาจมีการรบกวนจากสารอื่น ๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกน้ำตาล สารประกอบอะโรมาติกเอมีน ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และแอสคอบิก เป็นต้น

2.1.4.2 ปฏิกิริยาลาวรี (Lowry reaction)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาวรี เป็นวิธีที่รวมปฏิกิริยาไบยูเร็ต (Biuret reaction) กับปฏิกิริยารีดักชันของ โฟลิน – ไซโอแคลทู (Phosphomolybdic-phosphotungstic acid) ทำให้ได้ความว่องไวมากขึ้น สามารถวัดได้ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนต่ำ ๆ โดยมีหลักการกว้าง ๆ คือ ปลายไนโตรเจนที่อยู่ที่พันธะเปปไทด์จะจับตัวกับไอออนของทองแดง (Cu^{2+}) ภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง และเกิดปฏิกิริยารีดักชันระหว่างโฟลิน – ไซโอแคลทู ฟีนอล รีเอเจนต์ กับโปรตีนที่จับตัวกับทองแดง (Lowry, 1951) ทำให้มีการเปลี่ยนสีของสารประกอบคือ Mo (VI) ซึ่งมีสีเหลืองเมื่อได้รับอิเล็คตรอนแล้วเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูป Mo (V) เป็นสารประกอบสีน้ำเงิน จากหลักการข้างต้นคาดว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นน่าจะเป็นดังรูป 2.6

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาลาวรี (ลัดดาวัลย์, 2553)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กิตตินันท์ (2534) ศึกษาถึงผลของสารในน้ำยางที่คาดว่าจะมีผลต่อการเกิดสีคล้ำ ได้แก่ ไทโคไตรอีนอล คาโรทีนอยด์ พอลิฟีนอล และเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส ในน้ำยางสดพันธุ์ RRIM 600, GT 1 และ PB 5/51 พบว่าในเนื้อยางแห้ง 100 กรัม มีไทโคไตรอีนอลประมาณ 0.07-0.08 กรัม พอลิฟีนอลประมาณ 0.11-0.13 กรัม และเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส ประมาณ 148,800–267,770 ยูนิต แต่สำหรับปริมาณของคาโรทีนอยด์พบว่า มีความแตกต่างกันแต่ละสายพันธุ์ ยางพันธุ์ PB 5/51 จะมีปริมาณมากที่สุดประมาณ 190 ไมโครกรัม ในการศึกษาเปรียบเทียบสีและสมบัติทางฟิสิกส์ของยางที่ผ่านการสกัด พบว่า น้ำยางหลังสกัดลิปิดและพอลิฟีนอลด้วยสารละลายผสมคลอโรฟอร์มเมทานอล จะมีดัชนีสีลดลงประมาณ 30-60% ปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อการเกิดสี คือพอลิฟีนอลซึ่งสามารถเพิ่มดัชนีสีได้สูงถึง 43–97%

ระพีพรรณ (2541) ศึกษาสมบัติของโปรตีนที่เกาะจับกับเลคตินในส่วนของลูทอยด์ (Rubber particle-lutoidic lectin binding protein, RP-LLBVP) ที่ได้จากการปั่นแยกน้ำยางด้วยเครื่องอัลตราเซนตริฟิวจ์ ที่แรงเหวี่ยง 59,000×*g* เป็นเวลา 45 นาที แยกเอาเฉพาะบริเวณ zone 2 ซึ่งเป็นชั้นยางด้านที่สัมผัสกับชั้นของ C-serum ไปทำบริสุทธิ์โดยผ่านการล้างด้วย 0.2% Triton x-100 นำสารที่สกัดได้ไปตกตะกอนด้วยอะซิโตน ปั่นแยกเอาส่วนใสไปทำบริสุทธิ์ต่อโดยผ่านคอลัมน์ Sepharose และ DEAE Sephacel พบโปรตีนที่เกาะจับกับเลคตินในส่วนของลูทอยด์ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 120 และ 24.5 kDa ตามลำดับ

Guy (1979) ศึกษาการกำจัดโปรตีนที่หลงเหลือจากการไฮโดรไลซ์แลกเตสของ เปอร์มิเอทหางน้ำนม เนยแข็งโดยใช้เบนทอไนต์ การกำจัดจะมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อแช่เบนทอไนต์

กับเปอร์มิเอท (6.7% ของแข็ง) ที่ pH 4.5 เบนทอไนต์สามารถลดโปรตีนจาก เปอร์มิเอทหางน้ำนมชนิดหวาน มากกว่าเปอร์มิเอทหางน้ำนมเนยแข็งคอทเทจ

Subroto *et al.* (2001) ศึกษาชนิดและปริมาณของโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ (*Hevea brasiliensis*) ในส่วนของลูทอยด์ (Lutoid) โดยวิเคราะห์ด้วยวิธีเอนไซม์ พบไมโครเฮลิคอลโปรตีน (microhelical protein) 1,3 เบต้า-กลูคาเนส (1,3- β–Glucanase) เฮวามีน (Hevamine) สารตั้งต้นฮีวิน (Hevein precursor) ส่วนของปลายด้านซีสารตั้งต้นฮีวิน และฮีวิน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 55, 43, 35, 29, 25, 19, 14 และ 5 kDa ตามลำดับ

Wititsuwannakul *et al.* (2002) ศึกษาพอลิฟีนอลออกซิเดสที่แยกมาจาก บี-ซีรั่ม หลังจากการแช่เยือกแข็งและการละลายของสารที่แยกในส่วนล่างสุดจากการเซนตริฟิวจ์น้ำยางสด โดย PPO นี้จะมี 2 ชนิดคือ PPO-I และ PPO-II โดยจะถูกควบคุมสภาวะเหมือนกัน pI (9.2), pH สูงสุด (7) และอุณหภูมิสูงสุด ในช่วง 35-45 องศาเซลเซียส และจะเสถียรขึ้นที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ว่องไวที่ pH ในช่วงที่กว้างคือจาก 4-9 และจากการทดสอบชนิดของสารยับยั้ง PPO พบว่า 4-เฮก-ซิลรีซอร์ซินอล ให้ค่าสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารยับยั้ง PPO ชนิดอื่น Anionic detergent ให้ประสิทธิภาพสูงสุดต่อความว่องไวของเอนไซม์ ขณะที่ cationic และ nonionic detergent ให้ประสิทธิภาพน้อย และไม่มีผลต่อความว่องไวของเอนไซม์

John *et al.* (2003) วิเคราะห์โปรตีนในตัวอย่างยางมะม่วง (Sap mango) โดยการตกตะกอนด้วย 70% แอลกอฮอล์ ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และปั่นเหวี่ยงที่ 3000×*g* จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสี โดยวิเคราะห์หา ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและน้ำตาลอิสระวิเคราะห์ด้วยด้วยวิธีฟีนอล -กรดซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric acid) โดยใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน วิเคราะห์ โปรตีน ด้วยวิธี Bradford และวิเคราะห์หา ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดวิเคราะห์โดยใช้โฟลิน – ไซโอแคลทู และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น เท่ากับ 675 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิกในเอทานอล เข้มข้น 80% เป็นสารละลายมาตรฐาน พบปริมาณโปรตีน 2.0-3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำตาลอิสระ 0.45 mg glucose equivalent/mg กรดฟีนอลิกทั้งหมด 0.049-0.127 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส 147-214 U/mg protein เปอร์ออกซิเดส 401-561 U/mg protein

Rogero *et al.* (2003) สกัดโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติในส่วนซีรั่มที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา (โคบอลต์-60) และสกัดด้วยสารละลาย บัฟเฟอร์ฟอสเฟต pH เท่ากับ 7.4 โดยใช้ โปรตีนอัลบูมินของสัตว์เคี้ยวเอื้องเ ป็นสารละลายมาตรฐาน วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร พบมีโปรตีนที่ละลายน้ำได้ 0.11 มิลลิกรัมต่อกรัม

Prince of Songkla University Pattani Campus

Iyidogan and Bayindirli (2004) ศึกษาความแตกต่างของสารที่ต้านการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในน้ำแอปเปิ้ล Amasya โดยพิจารณาจากสีที่เปลี่ยนแปลง สารที่ใช้คือ แอล-ซิสเตอีน กรดโคจิก และ 4-เฮกซิลรีซอร์ซินอล ที่ความเข้มข้นน้ำแอปเปิ้ลที่แตกต่างกัน โดยผลพบว่าการรวมกันของ แอล-ซิสเตอีนความเข้มข้น 3.96 มิลลิโมลาร์ กรดโคจิกความเข้มข้น 2.78 มิลลิโมลาร์ และ 4-เฮกซิลรีซอร์ซินอลความเข้มข้น 2.34 มิลลิโมลาร์ ให้การยับยั้ง 89.2% แอล-ซิสเตอีน พบว่า เป็นสารที่ต้านการเกิดสีน้ำตาลมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ และอันตรกิริยาระหว่างกรดโคจิก และ4-เฮกซิลรีซอร์ซินอล พบว่า ให้ผลการต้านการเกิดสีน้ำตาลได้ดีขึ้น

Parra *et al.* (2005) วิเคราะห์โปรตีนที่ละลายน้ำได้ในถุงมือที่ทำจากน้ำยางธรรมชาติ โดยการวัลคาไนซ์น้ำยางธรรมชาติด้วยรังสี (แกมมา)โคบอลต์-60 จากนั้นเติมพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง และใช้โอวัลบูมินเข้มข้น 0.1% เป็นสารละลายมาตรฐาน วิเคราะห์โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรเมตร พบว่ามีโปรตีนที่ละลายน้ำได้ 0.40901 มิลลิกรัมต่อกรัม และยังพบอีกว่า การฉายรังสีมีผลให้ปริมาณสารสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้นแต่การเติม พอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ตามด้วยการปั่นเหวี่ยงให้ปริมาณสารสกัดโปรตีนลดลง

Sakdapipanich and Insom (2006) เนื่องจากยางธรรมชาติจะมีสารธรรมชาติที่ทำให้เกิดสี ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการใช้งานสำหรับผลิตภัณฑ์สีอ่อน โดยได้ทำการศึกษาคุณลักษณะของสารสีที่สกัดจากส่วนต่างของน้ำยางด้วยการใช้เทคนิคการวิเคราะห์โครงสร้างความละเอียดสูง (High-resolution structural characterization) พบปริมาณของสารสีที่สกัดจากน้ำยางสด ครีมยาง จากตะกอนสารชั้นล่าง (Bottom fraction, BF) อนุภาคเฟรย์วิสลิ่ง และยางแท่ง STR 20 พบสารสีที่สกัดได้จากยางธรรมชาติประกอบด้วย คาโรทีนอยด์ โทโคไตรอีนอล เอสเทอร์ เอสเทอร์แอลกอฮอล์ไขมัน โทโคไตรอีนอล กรดไขมันไม่อิ่มตัว แอลกอฮอล์ไขมัน ไดกลีเซอไรด์ และมอนอกลีเซอไรด์

Turkmen *et al.* (2006) ผลของการใช้น้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน เอ็น, เอ็น-ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (N,N-Dimethylformamide, DMF) เอทานอล หรือ เมทานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาปริมาณพอลิฟี-นอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาดำและชา mate ปริมาณพอลิฟีนอลของสารสกัดจะถูกศึกษาโดยใช้วิธีแรกคือ เฟอรัสทาร์เทรต (Ferrous tartrate) และวิธีที่สองคือวิธีโฟลิน–ไซโอแคลทู สำหรับชาดำ DMF ความเข้มข้น 50% จะสกัดปริมาณพอลิฟีนอลได้มากที่สุดคือ 131.9 mg/g และ 99.8 mg GAE/g ด้วยวิธีแรก และวิธีที่สอง ตามลำดับ สำหรับชา mate อะซิโตนความเข้มข้น 50 % จะสกัดปริมาณพอลิ-ฟีนอลได้มากที่สุดคือ 132.5 mg/g และ 120.4 mg GAE/g ด้วยวิธีแรก และวิธีที่สอง ตามลำดับ เอทานอลความเข้มข้น 50 % ในการสกัดชา mate และอะซิโตนความเข้มข้น 50% สำหรับในการสกัดชาดำ จะมีฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระสูงสุด

Prince of Songkla University Pattani Campus

ผลการทดลองพบตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกันจะมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณพอลิ - ฟีนอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

Yildiz *et al.* (2006) ศึกษาการดูดซับของเบนทอไนต์บริสุทธิ์ และเบนทอไนต์ดัดแปรโดย ใช้กรดไนตริก เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก และเฮกซะเดกซิลไตรเมทิลแอมโมเนียม การเปลี่ยนแปลงของผิวเบนทอไนต์ตัวอย่างจะศึกษาโดย อินฟาเรดสเปกโทรสโคปี (IR spectroscopy) ส่วนการดูดซับสาร อะนิลีน ฟีนอล และอนุพันธ์ของฟีนอล วิเคราะห์จากค่าเฉลี่ยของ แก๊สโครมาโตกราฟี ผลที่ได้พบว่า เบนทอไนต์ดัดแปรเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก และเบนทอไนต์ดัดแปรเฮกซะเดกซิลไตรเมทิลแอมโมเนียม ให้ค่าการดูดซับสารสูงกว่าเบนทอไนต์ดัดแปรด้วยกรดไนตริก และเบนทอไนต์บริสุทธิ์

Alvarez-Parrilla *et al.* (2007) ศึกษาสารที่ต้านการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลแดง โดยใช้สารยับยั้งพอลิฟีนอลออกซิเดส ใช้พอลิฟีนอลและกรดคลอโลโรจีนิกเป็นสารตั้งต้น สารยับยั้งมี 3 ชนิด คือเบต้า-ไซโคลเด็กซ์ตริน (β-Cyclodextrin, β-CD) 4-เฮกซิลรีซอร์ซินอล (4-Hexylresorcinol, HR) และเมทิลจัสโมเนต (Methyl jasmonate, MJ) เมื่อพิจารณาค่าคงที่ของการยับยั้งพบว่า สารยับยั้งที่สามารถลดได้มากคือ HR > β-CD > MJ ตามลำดับ และการรวมกันของ β-CD -HR จะช่วยเสริมประสิทธิภาพการยับยั้ง

Imm and Kim (2007) ศึกษาพอลิฟีนอลออกซิเดสโดยสกัดจากผิวแอปเปิ้ลที่แช่แข็งแห้ง โดยใช้ reverse micelles ซึ่งประกอบโดยสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก โดเดกซิลไตรเมทิลแอมโม-เนียมโบรไมด์ การสกัดจะให้ผลดีที่สุดเมื่อทำร่วมกับ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และใช้โดเดกซิล-ไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ ที่บรรจุในเฟสอินทรีย์ การละลายของ PPO จะมีประสิทธิภาพเมื่อสารละลายถูกบรรจุในเอทานอลความเข้มข้น 10% ภายใต้เงื่อนไขดังกล่าวการ ทำสารให้บริสุทธิ์จะได้ activity PPO ที่ 12.6 และ71% ตามลำดับ การทำสารให้บริสุทธิ์นี้จะทำให้ปริมาตรการสกัดเพิ่มขึ้น 10 – 200 มิลลิลิตร โดยการสกัด reverse micelles จะมีประสิทธิภาพในขั้นแรกของการ ทำสาร PPO จากผิวแอปเปิ้ลให้บริสุทธิ์

Marinova and Ribarova (2007) ศึกษาปริมาณสาร bioactive เช่น คาโรทีนอยด์ โดยพิจารณาปริมา ณ ลูทีน ซีแซนธีน ไลโคปีน เบต้า-คริปโตแซนธีน แอลฟา-แคโรทีน และเบต้า-แคโรทีน ในเบอร์รี 6 ชนิดคือ สตรอเบอร์รี ราสเบอร์รี แบล็คเบอร์รี บลูเบอร์รี แบล็คเคอร์เรนท์ และเรดเคอร์เรนท์ สำหรับการวิเคราะห์จะใช้ HPLC เพื่อแยกและหาองค์ประกอบของ คาโรทีนอยด์ โดยแบล็คเบอร์รี จะมีปริมาณคาโรทีนอยด์สูงสุด ต่ำสุดคือ สตรอเบอร์รี

Wititsuwannakul *et al.* (2007) ศึกษาโปรตีนที่มีลักษณะคล้ายเลคติน (*Hevea* latex lectin-like protein, HLL) ในส่วนของลูทอยด์ จากน้ำยางธรรมชาติสายพันธุ์ RRIM 600 โดยปั่นแยกด้วย

Prince of Songkla University Pattani Campus

เครื่องอัลตราเซนตริฟิวจ์ ที่แรงเหวี่ยง 49,000×g เป็นเวลา 45 นาที นำส่วนก้นหลอด (ลูทอยด์) ล้างด้วยทริสบัฟเฟอร์ซาไลน์ จากนั้นสกัดด้วยไทรทัน เอ็กซ์-100 แล้วปั่นแยกเอาส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วยเจลฟิลเตรชัน พบ HLL มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 17 กิโลดาลตัน

Venrell *et al.* (2007) ศึกษาการใช้เบนทอไนต์ในกระบวนการกำจัดโปรตีนซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติของฟองและโปรตีนของไวน์ Sparking ในไวน์ชนิด Macabeu, Xarel. lo, Parellada, Chardonnay และ Pinot Noir พบเบนทอไนต์สามารถลดโปรตีนที่ละลายได้ทั้งหมด 80% โดยเฉพาะโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20-30 และ 60 กิโลดาลตัน แต่ไม่มีผลต่อโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลสูง

Siti Maznah *et al.* (2008) อิทธิพลของการปรับสภาพด้วยกรดต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ความหนาแน่นของการเชื่อมโยง และคุณสมบัติต้านทานต่อแรงดึงของแผ่นฟิล์มน้ำยางธรรมชาติ จุดประสงค์หลักคือ เป็นวิธีทางเลือกที่นำไปสู่การจัดการกับการแพ้โปรตีนในผลิตภัณฑ์จากน้ำยางธรรมชาติ น้ำยางธรรมชาติจะถูกปรับสภาพด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 7% ที่ปริมาณต่าง ๆ โดยมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.0-9.0 ที่ 70 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณโปรตีนที่สามารถสกัดได้ของแผ่นฟิล์มจะลดลงด้วยการลด พีเอช ปริมาณความหนาแน่นของการเชื่อมโยงและความต้านทานต่อแรงดึง และระยะยืดจนขาดของแผ่นฟิล์มยางที่ปรับสภาพจะมีค่าต่ำกว่าแผ่นฟิล์มยางที่ไม่ปรับสภาพเล็กน้อย ค่ามอดุลัสของความเครียดที่ 100% และ300% ของฟิล์มไม่มีผลจากการปรับสภาพด้วยกรด การปรับสภาพด้วยกรดพบว่า มีประสิทธิภาพในการลดโปรตีนที่สกัดได้ในแผ่นฟิล์มน้ำยางธรรมชาติ

Siti Maznah *et al.* (2008) แผ่นฟิล์มน้ำยางธรรมชาติถูกแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีพีเอชต่าง ๆ กัน โดยศึกษาอิทธิพลของการแช่ต่อความหนาแน่นของการเชื่อมโยง ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ และคุณสมบัติต้านทานต่อแรงดึงของแผ่นฟิล์ม สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ถูกเชื่อว่ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ โดยได้ชะเอาโปรตีนที่สกัดได้ออกจากแผ่นฟิล์มน้ำยางธรรมชาติ ผลที่ได้แสดงว่าความหนาแน่นของพันธะเชื่อมโยงและปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ของแผ่นฟิล์มลดลง เมื่อเพิ่ม พีเอช ของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ คุณสมบัติต้านทานต่อแรงดึง ยกเว้นระยะยืดจนขาดจะลดลง เมื่อค่าพีเอชของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่า 12 และปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จะลดลงโดยเฉพาะเมื่อค่าพีเอชของสารละลายมากกว่า 12

Froehner *et al.* (2009) ศึกษาการดูดซับฟีนอลในน้ำ ซึ่งใช้เคลย์และเบนทอไนต์ ดัดแปรโดย เฮกซะเดกซิลไตรเมทิลแอมโมเนียมใน interlayer พบว่า เคลย์ดัดแปรสามารถลดได้ 35% ส่วนเบนทอไนต์ดัดแปรลดได้ 30% ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

Prince of Songkla University Pattani Campus

Sauvage *et al.* (2010) โปรตีนในไวน์ Chardonay ซึ่งเมื่อเจอความร้อนจะทำให้เกิดการเสียสภาพ (Denaturation) และตกตะกอนที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันของการศึกษา และเมื่อเปรียบเทียบผลกับเบนทอไนต์ซึ่งใช้ดูดซับโปรตีนและป้องกันความขุ่นจากโปรตีน การหมดของโปรตีนขึ้นอยู่กับปริมาณเบนทอไนต์ที่มากขึ้น

Prince of Songkla University
Pattani Campus