บทที่ 5

บทสรุปและวิจารณ์

ปาเปนตรึงรูปบนทราย

การใช้ทรายเป็นตัวยึดถึงแม้จะมีข้อดีอยู่หลายประการ แต่เมื่อใช้ APTS HMT และ MM เป็นตัวกระตุ้นทรายทะเลขนาด 80-120 เมช ในงานวิจัยนี้พบว่า มีปริมาณปาเปนติดบนทรายเพียงประมาณ 0.59-0.63 มิลลิกรัม โปรตีน/กรัม ทราย (ตารางที่ 4.1) ต่ำกว่ารายงานของ Puvanakrishnan และ Bose (1980) ที่ใช้ทรายแม่น้ำเป็นตัวยึดและใช้ทริปซินพบว่าปริมาณเอนไซม์ที่ติดบนทราย คือ ประมาณ 1.88-2.19 มิลลิกรัม โปรตีน/กรัม ทราย แต่สูงกว่ารายงานของ Brotherton และคณะ (1976) ซึ่งเตรียม ADH และ LDH ตรึงรูปบนทรายได้ปริมาณเอนไซม์ 65-92 ไมโครกรัม โปรตีน/กรัม ทราย และ Thornton และคณะ (1974) ซึ่งใช้ β-fructofuranosidase ตรึงรูปบนทราย ได้ 100 ไมโครกรัม โปรตีน/กรัม ทราย ทั้งนี้เนื่องจากทรายเป็นตัวยึดที่ไม่มีรูพรุน ทาให้มีพื้นที่ผิวต่ำ เอนไซม์จึงมีโอกาสที่จะถูกจับยึดไว้ได้ในขอบเขตที่จำกัด ส่วนตัวยึดที่มีลักษณะเป็นเส้นใย เป็นสารที่มีรูพรุนหรือสารที่มีลักษณะเป็นเม็ดขนาดเล็ก จะมีพื้นที่ผิวมากพอที่จะยึดเอนไซม์ไว้ได้ เช่น แก้วพรุน (porous glass) ยึดจับกับปาเปนได้ 1.5-24.2 มิลลิกรัม โปรตีน/กรัม แก้วพรุน (Weetall และ Mason, 1973) collagen membrane และ aminoalkyl Sepharose ยึดจับกับปาเปนได้ 76-131 มิลลิกรัม โปรตีน/กรัม collagen membrane และ 17 มิลลิกรัม โปรตีน/กรัม aminoalkyl Sepharose ตามลำดับ (Venkasubramanian และคณะ, 1975 ; Kilara และ Shahani, 1977) นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังพบว่า MM เป็นตัวกระตุ้นที่ทาให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของปาเปนตรึงรูปสูงที่สุด ส่วน APTS เป็นตัวกระตุ้นที่ให้ค่าน้อยที่สุด Puvanakrishnan และ Bose (1980)

ตริงรูปทริปซินบนทรายโดยแปรผันชนิดของตัวกระตุ้นเช่นกัน แต่ผลที่ได้ตรงข้ามกับงานวิจัยนี้ คือ APTS เป็นตัวกระตุ้นที่ให้ค่าแอคติวิตีจาเพาะมากที่สุด ส่วน MM เป็นตัวกระตุ้นที่ให้ค่าน้อยที่สุด อาจเป็นไปได้ว่า MM เป็นตัวกระตุ้นที่มีผลต่อโครงรูปสามมิติของปาเปนน้อยกว่าทริปซิน ในกระบวนการตริงรูปถ้า active site ของเอนไซม์มีส่วนเข้าร่วมในการทาปฏิกิริยา แอคติวิตีของเอนไซม์จะลดลง (Puvanakrishnan และ Bose ,1980) นอกจากข้อจากัดของพื้นที่ผิวและกระบวนการตริงรูปจะมีผลต่อประสิทธิภาพการตริงแล้ว การใช้ crude papain ที่เตรียมขึ้นเองโดยไม่ได้ผ่านการทาให้บริสุทธิ์ก่อนก็อาจมีผลต่อประสิทธิภาพการตริงเช่นกัน เอนไซม์ที่มีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ จะทาให้สิ่งเจือปนรบกวนการตริงได้โดยจะแย่งจับกับตัวยึด ประสิทธิภาพในการตริงจึงต่าลง (Messing,1975)

ภาวะที่เหมาะสมในการตริงเอนไซม์

จากการทดลองที่ได้พยายามแปรผันปัจจัยต่างๆ เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการตริงปาเปน พบว่าปัจจัยแต่ละชนิด คือ ปริมาณ MM ความเข้มข้นของกลูทารัลดีไฮด์หรือเวลาที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ไม่ค่อยมีผลต่อแอคติวิตีของปาเปนตริงรูปมากนัก ปัจจัยที่สาคัญที่สุด คือ ค่า pH ของสารละลายเอนไซม์ที่ใช้ในการตริง Jansen และคณะ (1969) รายงานว่า การใช้กลูทารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมข้ามจะเกิดได้ดีที่ pH ที่ใกล้จุดไอโซอิเล็กทริก(isoelectric point) ของเอนไซม์ชนิดนั้นๆ ปาเปนมีค่าไอโซอิเล็กทริกเท่ากับ 8.75 (Arnon,1970 ; Sluterman,1967) ดังนั้นที่สารละลายเอนไซม์ ที่ pH 8.5 นอกจากจะเป็นpH ที่เหมาะสมที่สุดแล้วยังเป็น pH ที่ปาเปนตริงรูปมีความเสถียรมากที่สุดอีกด้วย (รูปที่ 4.4 และ 4.9)

Lowe (1975) รายงานว่าปาเปนบริสุทธิ์ประกอบด้วยปาเปน3 รูปแบบ ที่ปะปนกันอยู่ คือ 1. active papain ที่มีหมู่ซัลไฟดริลอิสระ ที่กรดอะมิโนซีสเตอีนลาดับที่ 25 (cys-25) 2. irreversible inactivated papain ซึ่งหมู่ซัลไฟดริลอิสระของ

cys-25 จะถูกออกซิไดซ์เป็นกรดซัลฟินิค (sulphinic acid) และไม่สามารถที่จะเปลี่ยนกลับมาให้อยู่ในรูปของ active papain ได้ และ 3. reversible inactivated papain หมู่ซัลไฟดริลอิสระของ cys-25 จะทาปฏิกิริยากับซิสเตอีนอิสระเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์ที่สามารถเปลี่ยนให้มาอยู่ในรูปของ active papain

ซีสเตอีน, SMS, hydrogen cyanide และสารรีดิวซ์ตัวอื่นๆ สามารถใช้เป็นตัวกระตุ้นแอคติวิตีของปาเปน เนื่องจากสารเหล่านี้มีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ สามารถรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ในยางมะละกอให้เกิดเป็นซัลไฟดริลอิสระ (-SH) การเติมซีสเตอีนในสารละลายปาเปน จึงเป็นการเปลี่ยน reversible inactivated papain ให้กลับมาอยู่ในรูป active papain ทาให้มีปริมาณ active papain ติดบนทรายมากขึ้นเป็นวิธีการเพิ่มแอคติวิตีของปาเปนตริงรูปให้สูงขึ้น (ตารางที่ 4.2)

ส่วน EDTA เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นตัวจับประจุโลหะต่างๆ ได้ดี เช่น Cu^{2+}, Mg^{2+}, Hg^{2+} โลหะเหล่านี้อาจปะปนมากับน้ายางมะละกอ โดยเฉพาะอิออนของโลหะปรอท (Hg^{2+}) ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสารยับยั้งการทางานของปาเปน (Sluyterman, 1967) Kimmel และ Smith (1954) รายงานว่าการใช้ EDTA ร่วมกับสารรีดิวซ์ช่วยให้แอคติวิตีของเอนไซม์สูงขึ้น โดยเฉพาะการใช้ EDTA ร่วมกับซีสเตอีนสามารถกระตุ้นให้เอนไซม์มีแอคติวิตีสูงสุดในทุกๆ ช่วง pH ส่วนการใช้ EDTA เพียงอย่างเดียวไม่มีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ สารที่สามารถนามาใช้แทน EDTA และซีสเตอีน ได้ คือ 2,3-dimercaptopropanol เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นทั้งตัวจับประจุโลหะและตัวรีดิวซ์ (Smith และคณะ, 1955)

สมบัติของปาเปนตริงรูป

วิธี carrier-crosslinking เป็นวิธีตริงเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนซ์ ซึ่งค่อนข้างรุนแรงสำหรับเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปสามมิติและลดแอคติวิตีบางส่วนของเอนไซม์ (chibata, 1982) โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเอนไซม์ภายหลังการตริงเป็นผลมาจากปัจจัยหลายปัจจัยร่วมกันที่สำคัญ คือ เทคนิคการตริง ชนิดของตัวยึดและชนิดของเอนไซม์

จากการศึกษาอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมในการย่อยสลายเคซีนของปาเปนตริงรูปบนทราย พบว่าปาเปนตริงรูปมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานเท่ากับปาเปนอิสระ (รูปที่ 4.8) ส่วน pH ที่เหมาะสมของปาเปนตริงรูปเลื่อนไปทางด้านกรด 1 หน่วยเมื่อเทียบกับปาเปนอิสระ (รูปที่ 4.7) Kilara และ Shahani (1977) รายงานว่าปาเปนตริงรูปบน agarose ด้วยพันธะโคเวเลนซ์ มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานเลื่อนไปทางด้านด่าง 0.5 หน่วยเมื่อเทียบกับปาเปนอิสระ Weetall และMason (1983) รายงานว่าปาเปนตริงรูปบนเม็ดแก้วพรุนด้วยพันธะโคเวเลนซ์มี pH ที่เหมาะสมเลื่อนไปทางด้านด่าง 1 หน่วยเมื่อเทียบกับปาเปนอิสระ ส่วน Puvanakrishnan และ Bose (1980) รายงานว่าทริปซินตริงรูปบนทราย เมื่อใช้ตัวกระตุ้นที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือ APTS HMT MM และ HMD มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานเลื่อนไปทางด้านกรด 1.6-2 หน่วยเมื่อเทียบกับทริปซินอิสระ

การที่ปาเปนตริงรูปมี pH ที่เหมาะสมต่างไปจากปาเปนอิสระ เหตุผลหนึ่งที่พอสันนิษฐานได้ก็คือ การใช้ MM และกลูทารัลดีไฮด์ในกระบวนการตริงรูปเอนไซม์ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนหรือ prototropic group ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนโครงรูปสามมิติ ซึ่งนำไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับซับสเทรต (Chibata,1978) หรืออาจเกิดจากความแตกต่างระหว่างประจุของ microenvironment

รอบๆ เอนไซม์กับสารละลายภายนอก (Puvanakrishnan และ Bose ,1980) สมบัติทางเคมีของเอนไซม์จึงเปลี่ยนไปจากเดิม

ส่วนรูปแบบการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีที่ pH ต่างๆ หรือ pH-activity profile พบว่า pH-activity profile ของปาเปนอิสระกว้างกว่าปาเปนตรึงรูป (รูปที่ 4.7) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของโปรติเอสหลายชนิดที่อยู่ในปาเปนอิสระ ใน crude papain นอกจากปาเปนแล้วยังประกอบด้วยโปรติเอสชนิดอื่นๆ อีก คือ ไคโมปาเปนเอ (chymopapain A) ไคโมปาเปนบี (chymopapain B) และปาปายาเพปติเดสเอ (papaya peptidase A) ซึ่งโปรติเอสเหล่านี้ล้วนมีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนเช่นเดียวกับปาเปน (Jansen และ Ball, 1941 ; Kunimitsu และ Yasunobu, 1967)

ค่า K_m หรือ Michaelis constants เป็นค่าที่แสดงให้เห็นความสามารถในการจับกันระหว่างเอนไซม์กับซับสเทรต โดยส่วนใหญ่ ค่า K_m ของเอนไซม์ตรึงรูปจะสูงกว่าเอนไซม์อิสระ เป็นผลมาจากปัจจัยหลายปัจจัยด้วยกัน เช่นการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของซับสเทรตใน microenvironment การเปลี่ยนแปลงประจุของเอนไซม์และ การบดบังจากตัวยึด ผลกระทบเหล่านี้จะมีมากเมื่อเอนไซม์ถูกตรึงด้วยพันธะโคเวเลนซ์ (Tarhan และ Pekin, 1983) ปาเปนตรึงรูปบนทรายที่ได้ในการทดลองนี้มีค่า K_m สูงกว่าปาเปนอิสระเล็กน้อย (K_m ของปาเปนตรึงรูปและปาเปนอิสระเท่ากับ 4.319 และ 3.770 มก./มล. ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าอิทธิพลดังกล่าวข้างต้นมีผลให้การเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างซับสเทรตกับปาเปนตรึงรูปเกิดได้ยากกว่าปาเปนอิสระ โดยเฉพาะการใช้เคซีนซึ่งเป็นซับสเทรตที่มีมวลโมเลกุลใหญ่ (75,000-100,000) Chitra และ Joshi (1983) ตรึงปาเปนบน paraffin wax โดยวิธี microencapsulation พบว่าปาเปนตรึงรูปมีค่า K_m ต่ำกว่าปาเปนอิสระมากเมื่อใช้เคซีนเป็นซับสเทรต (K_m ของปาเปนตรึงรูปและปาเปนอิสระเท่ากับ 0.07604 และ 0.4651 โมล ตามลำดับ เมื่อใช้เคซีนความเข้มข้น 0.5 %)

Kilara และ Shahani (1977) ตรึงปาเปนบน agarose ด้วยพันธะโคเวเลนซ์ และ Tarhan และ Pekin (1983) ตรึงปาเปนบน acrolein-styrene copolymer ด้วยพันธะโคเวเลนต์เช่นกัน พบว่าปาเปนตรึงรูปที่ได้จากทั้ง 2 งานวิจัยมีค่า K_m สูงกว่าปาเปนอิสระ (ใช้ BAEE เป็นซับสเทรต)

ความเสถียรต่อความเป็นกรด-ด่างของปาเปนตรึงรูปและปาเปนอิสระ เมื่อบ่มเอนไซม์ที่ pH ต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปาเปนตรึงรูปมีความเสถียรในสภาพความเป็นด่าง (pH 8-10) มากกว่าปาเปนอิสระ (รูปที่ 4.9) ส่วนความเสถียรต่อความร้อนเมื่อบ่มเอนไซม์ที่ pH 7 เป็นเวลา 60 นาทีพบว่า ปาเปนตรึงรูปมีความเสถียรต่อความร้อนต่ำกว่าปาเปนอิสระ คือปาเปนตรึงรูปมีความเสถียรต่อความร้อนตั้งแต่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส แต่ปาเปนอิสระมีความเสถียรจนถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.10) Tarhan และ Pekin (1983) รายงานว่าในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกรด (pH 6.5-8) ปาเปนตรึงรูปบน acrolin-styrene copolymer มีความเสถียรสูงกว่าปาเปนอิสระ และที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ปาเปนตรึงรูปมีความเสถียรต่อความร้อนสูงกว่าปาเปนอิสระเช่นกัน แต่เมื่ออุณหภูมิมากกว่า 40 องศาเซลเซียส ปาเปนอิสระจะมีความเสถียรมากกว่า Weetall และ Mason (1973) ใช้ crude papain ตรึงบนเม็ดแก้วที่เคลือบด้วย ZrO_2 พบว่าปาเปนตรึงรูปมีความเสถียรต่อความร้อนเท่ากับปาเปนอิสระ คือ 50 องศาเซลเซียส ความแตกต่างระหว่างสมบัติของปาเปนตรึงรูปเมื่อเทียบกับปาเปนอิสระในงานวิจัยทั้ง 3 ชิ้น โดยเฉพาะในแง่ของความเสถียรต่อความร้อนนั้น นอกจากจะเกิดจากชนิดของตัวยึดที่ใช้ต่างกันแล้ว ยังเกิดจากชนิดของเอนไซม์ที่ใช้อีกด้วย Line และคณะ (1971) ได้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่างการใช้ crude pepsin และ crystalline pepsin เมื่อตรึง pepsin บนเม็ดแก้วด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด พบว่าการใช้ crystalline pepsin เอนไซม์ตรึงรูปจะมีความเสถียรต่อความร้อนสูงกว่าเอนไซม์อิสระ แต่เมื่อใช้ crude pepsin เอนไซม์ตรึงรูปกลับมีความเสถียรต่อความร้อนต่ำกว่าเอนไซม์อิสระ ทั้งนี้เนื่องจากใน crude enzyme นอกจากเอนไซม์แล้วยังมีโปรตีนชนิดอื่นๆ

เพปไทด์ และโลหะบางชนิด สารประกอบเหล่านี้อาจมีผลต่อสมบัติของเอนไซม์

จากการศึกษาความเสถียรต่ออายุการเก็บรักษาปาเปนตรึงรูปบนทราย โดยเปรียบเทียบลักษณะที่ใช้ในการเก็บ 2 ลักษณะ คือ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในลักษณะเปียก (moist cakes) และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยแช่เอนไซม์ตรึงรูปไว้ในสารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์ 0.05 โมลาร์ pH 9 พบว่าปาเปนตรึงรูปที่เก็บในลักษณะ moist cake มีอัตราการสูญเสียแอคติวีตีต่ำกว่าการแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ แต่การเก็บในทั้ง 2 ลักษณะ แอคติวีตีของเอนไซม์ตรึงรูปลดลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาในการเก็บรักษา (รูปที่ 4.12) อาจเนื่องมาจากเอนไซม์บางส่วนหลุดออกจากตัวยึด หรือเอนไซม์เกิดการย่อยสลายตัวเอง (autodigestion) Weetall (1970) ได้ศึกษาความเสถียรต่ออายุการเก็บของเอนไซม์หลายชนิดรวมทั้งปาเปน โดยเปรียบเทียบปัจจัยต่างๆ หลายปัจจัย ผลการทดลองพอสรุปได้ดังนี้ คือ

- การตรึงปาเปนบนตัวยึดที่เป็นสารอนินทรีย์ มีความเสถียรในการเก็บรักษานานกว่าการตรึงบนตัวยึดที่เป็นสารอินทรีย์

- การใช้ crystalline papain จะให้ความเสถียรต่ออายุการเก็บมากกว่าการใช้ crude papain

- ปาเปนตรึงรูปบนแก้วพรุนมีความเสถียรมากกว่าตรึงบน ซิลิกา เมื่อใช้เทคนิคในการตรึงเหมือนกัน ปาเปนตรึงรูปบนแก้วพรุนยังคงมีแอคติวีตีเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์เทียบกับแอคติวีตีเริ่มต้น เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 41 วัน ส่วนปาเปนตรึงรูปบนซิลิกา จะไม่มีแอคติวีตีเหลืออยู่เลย เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 60 วัน

- ทริปซินตรึงรูปที่เก็บในลักษณะ moist cakes มีความเสถียรมากกว่าการแช่ในน้ำกลั่น

การลดโปรตีนในน้ำยางด้วยปาเปนตริงรูป

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการลดโปรตีนด้วยปาเปนตริงรูป พบว่า pH ที่เหมาะสมในการทางานของปาเปนตริงรูปค่อนข้างเป็นด่าง (pH 8-9) เมื่อเทียบกับการใช้ปาเปนอิสระของงานวิจัยของท่านอื่นๆ ซึ่งปาเปนอิสระมี pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 7-8 (John และคณะ,1977 ; วรรณพ วิเศษสงวน,2535) ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมพบว่าปาเปนอิสระสามารถทางานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่กว้างกว่าปาเปนตริงรูป คือ 40-60 องศาเซลเซียส (วรรณพ วิเศษสงวน,2535 ; พงศธร คุสกุล,2537) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า ปาเปนตริงรูปมีความเสถียรมากที่สุดในช่วง pH 8-9 และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.15 และ 4.16) ดังนั้นการที่จะนาเอนไซม์ตริงรูปมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม ความเสถียรในระหว่างการทาปฏิกิริยาจึงเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่ต้องคานึงถึง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดโปรตีนของปาเปนอิสระและปาเปนตริงรูป พบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ที่เท่ากันปาเปนอิสระมีประสิทธิภาพในการลดโปรตีนได้ดีกว่าปาเปนตริงรูป (รูปที่ 4.19) นอกจากนี้ปาเปนอิสระยังใช้เวลาน้อยกว่าปาเปนตริงรูป คือ ใช้เวลาเพียง 2 ชั่วโมง เช่นเดียวกับงานของ วรรณพ วิเศษสงวน (2535) ส่วนพงศธร คุสกุล (2537) ใช้เวลาเพียง 50 นาที ในถังกวนขนาด 50 ลิตร ในขณะที่ปาเปนตริงรูปใช้เวลาถึง 4 ชั่วโมง (รูปที่ 4.17)

ยางโปรตีนต่ำที่ผลิตจากปาเปนตริงรูปส่วนใหญ่จะมีปริมาณไนโตรเจนเหลืออยู่ประมาณ 0.27-0.37 เปอร์เซ็นต์ ไม่ว่าจะเพิ่มเวลาหรือปริมาณเอนไซม์ให้มากไปกว่านี้ (รูปที่ 4.17 และ 4.18) ปาเปนตริงรูปทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนในน้ำยางให้ได้เพปไทด์และกรดอะมิโนสายสั้นๆ ที่สามารถละลายได้ในน้ำ ประสิทธิภาพการทางานของเอนไซม์ในแต่ละครั้งไม่คงที่ ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในน้ำยาง ซึ่งปริมาณโปรตีนเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น ฤดูกาลที่กรีดยาง อายุของต้นยาง พันธุ์ยาง เป็นต้น จากตารางที่

4.4 พบว่าถ้าใช้วิธีการเจือจางปริมาณเนื้อยางแห้งให้เหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยลดปริมาณไนโตรเจนให้เหลือ 0.3 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าใช้วิธีการปั่นแยกน้ำยางสดซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีกว่าการเจือจาง ปริมาณไนโตรเจนจะเหลือเพียง 0.15-0.18 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น John และคณะ (1977) ใช้วิธีการเจือจางน้ำยางสดให้มีปริมาณเนื้อยาง 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดไนโตรเจนลงเหลือ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Chang และคณะ (1977) ใช้วิธีการปั่นแยกน้ำยาง พบว่าสามารถลดไนโตรเจนลง เหลือ 0.12 เปอร์เซ็นต์

การปั่นแยกน้ำยางเป็นวิธีการแยกส่วนที่เป็นเนื้อยางออกจากส่วนที่ไม่ใช่ยางหรือซีรัม โดยทั่วไปในน้ำยางประกอบด้วยสองส่วนใหญ่ๆ คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยาง 35 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่ไม่ใช่ยางอีก 65 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนประมาณครึ่งหนึ่งจะละลายอยู่ในส่วนที่เป็นซีรัม อีกหนึ่งในสี่จะถูกดูดซับอยู่รอบๆ ผิวนอกของอนุภาคยาง และส่วนที่เหลือจะปะปนอยู่ในส่วนของสารลูทอยด์ นอกจากสารดังกล่าวแล้วยังมีอิออนบางชนิด เช่น แมกนีเซียม โปแตสเซียมและทองแดงปนอยู่ในส่วนของยางประมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีข้อที่น่าสังเกตุก็คือ จากตารางที่ 4.4 เมื่อใช้น้ำยางที่ผ่านการปั่นแยกและเจือจางปริมาณเนื้อยางแห้ง จาก 34 - 10 เปอร์เซ็นต์ มาเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตยางโปรตีนต่ำ พบว่าเมื่อปริมาณเนื้อยางแห้งน้อยกว่า 34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการลดลงของไนโตรเจนค่อนข้างจะคงที่ หรือไม่เกิดการย่อยสลายโปรตีนด้วยปาเปนตริงรูปเลย อาจเป็นไปได้ว่าโปรตีนที่ถูกย่อยสลายด้วยปาเปนตริงรูปเป็นโปรตีนที่อยู่ในซีรัม ส่วนโปรตีนที่เกาะอยู่ที่ผิวของอนุภาคยางจะถูกย่อยสลายได้ยาก

โปรตีนในส่วนของซีรัมที่สำคัญ ได้แก่ อัลฟา-โกลบูลิน (α- glubulin) และฮีวิน (Hevein) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200,000 และ 5,000 ตามลำดับ (Archer, 1960 ; Archer, 1976) ส่วนอนุภาคยางมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย $3x10^4$ - 10^7 (Subramaniam, 1975) การที่ปาเปนตริงรูปย่อยสลายโปรตีนในยางได้ยากอาจเนื่องมาจากอิทธิพลของขนาดของอนุภาคยางและโปรตีนในซีรัม (steric effect) ทำให้เกิดอุปสรรคต่อการเข้าจับและทำปฏิกิริยาระหว่างปาเปนตริงรูปและโปรตีน อีกทั้งสถานะที่ทำ

การทดลองเป็นสถานะแบบไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogenous) เกิดความจำกัดในการแพร่กระจายของซับสเทรตและเอนไซม์ในสารละลายปฏิกิริยา (ภาวิณี คณาสวัสดิ์, 2531) ประสิทธิภาพในการลดโปรตีนด้วยปาเปนอิสระจึงสูงกว่าปาเปนตรึงรูป เช่นเดียวกับกรณีการใช้เคซีนเป็นซับสเทรต

งานวิจัยของ John และคณะ (1977) รายงานว่า สาร stabilizer นอกจากจะช่วยยืดระยะเวลาในการจับตัวเป็นก้อนของยางแล้ว ยังมีส่วนช่วยให้ปริมาณโปรตีนลดลงอีกด้วย ที่สำคัญเป็นการช่วยให้โปรตีนที่บริเวณผิวของอนุภาคยางหลุดออกได้ง่าย ในงานวิจัยนี้จุดประสงค์ของการใช้สาร stabilizer เพื่อยืดเวลาในการจับตัวเป็นก้อนของยาง แต่จากการทดลองพบว่าการใส่สาร stabilizer ในน้ำยาง มีผลต่อประสิทธิภาพการลดไนโตรเจนของปาเปนตรึงรูปเมื่อเทียบกับยางโปรตีนต่ำที่ไม่ได้ใส่สาร stabilizer (รูปที่ 4.21) โดยเฉพาะการใช้ Triton X-100 ในปริมาณมากๆ (1.0 p.h.r.) อาจมีผลกระทบต่อการหลุดออกของเอนไซม์จากตัวยึดก็เป็นได้ ผลกระทบของสาร stabilizer นับเป็นข้อจำกัดอีกอย่างหนึ่งของการนำปาเปนตรึงรูปมาใช้กับน้ำยาง เนื่องจากการใช้งานเป็นระบบที่ต้องอาศัยการกวนอยู่ตลอดเวลาเป็นการเร่งให้อนุภาคขนาดใหญ่ของยางมีพลังงานจลน์สูงขึ้นยางเกิดการจับตัวเป็นก้อนได้เร็ว การใช้สาร stabilizer จึงมีความจำเป็นในแง่ของการยืดเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำยางสดและปาเปนตรึงรูป

hydroxylamine hydrochoride (HH), sodium metabisulfite(SMS), และ EDTA ที่ใช้ร่วมกับ ซีสเตอีน ให้ผลกระทบต่อประสิทธิภาพการลดโปรตีนของปาเปนตรึงรูปแตกต่างกัน กล่าวคือ SMS ให้ผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของปาเปนตรึงรูป ส่วนสารที่เหลือให้ผลในทางตรงกันข้าม(ตารางที่ 4.6) SMS เป็นสารที่นิยมเติมลงในน้ำยางเพื่อให้ยางคิบมีสีขาวขึ้น และยังมีสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ใช้ในการกระตุ้นการทำงานของปาเปน (Arnon,1970) ส่วนสาร HH เป็นสารที่นิยมใช้ในการผลิตยางที่มีค่าความหนืดคงที่ (constant viscosity rubber) มีสมบัติในการป้องกันค่า storage

hardening ไม่ให้เพิ่มขึ้น การผลิตยาง CV-DPNR นอกจากการเติม HH พร้อมกับเอนไซม์แล้ว ยังสามารถผลิตได้อีกวิธีหนึ่งคือ การใช้ยางโปรตีนต่ำในลักษณะยางดิบจุ่มลงในสารละลาย HH (Yapa, 1975) ซึ่งวิธีนี้น่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมในกรณีที่สารดังกล่าวมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การทดสอบสมบัติทางกายภาพของยางโปรตีนต่ำ

การทดสอบสมบัติทางกายภาพของยางโปรตีนต่ำที่ได้จากปาเปนอิสระและปาเปนคริงรูปเปรียบเทียบกับยางควบคุม พบว่ายางโปรตีนต่ำที่ผลิตได้จากเอนไซม์ทั้งสองชนิดให้ผลค่อนข้างคล้ายคลึงกัน คือมีค่าปริมาณเถ้า (Ash) และปริมาณผง (Dirt) เพิ่มขึ้น ส่วนค่าปริมาณสิ่งระเหย (Volatile Matter) และดัชนีความอ่อนตัวของยาง (PRI) ลดลง (ตารางที่ 4.3) โดยปกติปริมาณเถ้าของยางธรรมชาติ จะประกอบด้วยอัตราส่วนต่างๆ กันของออกไซด์ คาร์บอเนต และฟอสเฟตของโปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม และแร่ธาตุอื่นๆ ซึ่งอาจอยู่ในยางเองหรืออาจปะปนมาจากข้างนอกก็ได้แล้วแต่การได้มาของยาง ส่วนปริมาณผงหมายถึงปริมาณของสารที่ได้จากการกรองด้วยตัวกรองขนาด 325 เมช (44 ไมครอน) ซึ่งสารที่ได้จากการกรองนั้นประกอบด้วยสารที่ไม่ใช่เนื้อยาง (non rubber particle) ที่มีอยู่ในน้ำยางและรวมทั้งสารแปลกปลอมอื่นๆ ได้แก่เปลือกไม้ ดิน ใบไม้ ทั้งปริมาณเถ้าและปริมาณผงจึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสะอาดของน้ำยาง การปนเปื้อนด้วยสิ่งเจือปนเหล่านี้ล้วนมีผลต่อขบวนการผลิตยางทั้งสิ้น

Yapa (1974) และวรรณ วิเศษสงวน (2535) รายงานว่าการใช้ปาเปนในการผลิตยางโปรตีนต่ำจะทำให้ยางโปรตีนต่ำที่ได้มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (จาก 0.16 เป็น 0.21 และ จาก 0.286 เป็น 0.32 g% ตามลำดับ) ปริมาณเถ้าและปริมาณผงที่เพิ่มขึ้นอย่างมากในงานวิจัยนี้ (ตารางที่ 4.3) สันนิษฐานได้ว่าอาจมีผลมาจากการใช้ปาเปนดิบที่ไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ทำให้เกิดการปนเปื้อนของแร่ธาตุต่างๆ จำนวนมาก ส่วนการ

ใช้ปาเปนครึงรูป ปริมาณผงที่สูงขึ้นอาจเกิดจากการปนเปื้อนจากตัวยึด ซึ่งถือเป็นข้อควรระวังอย่างหนึ่งของการนำเอนไซม์ตรึงรูปมาใช้ในอุตสาหกรรมยางพารา ตัวยึดที่ใช้จะต้องแยกออกจากน้ำยางได้ง่ายและต้องไม่มีผลกระทบต่อคุณสมบัติอื่นๆ ของยาง การลดปริมาณเถ้าสามารถทาได้หลายวิธี เช่น การเจือจางน้ำยางก่อนและหลังการเติมเอนไซม์ การปั่นแยกน้ำยาง หรือการใช้สาร surfactant (Yapa, 1984) แต่วิธีที่ประสบความสำเร็จมากที่สุดคือ วิธีการแยกตะกอน Mg^{++} ออกจากน้ำยาง เรียกว่า sludge removal method ซึ่งใช้ร่วมกับการเจือจางน้ำยาง วิธีนี้สามารถลดปริมาณเถ้าในยางดิบลงเหลือ 0.04 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณสิ่งระเหย โดยส่วนใหญ่จะหมายถึงความชื้นในยาง เป็นค่าที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนที่เกาะอยู่ที่ผิวอนุภาคของยางซึ่งมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ปริมาณโปรตีนที่สูงจะมีผลให้ปริมาณสิ่งระเหยสูงขึ้นด้วย ยางแห้งที่มีค่าปริมาณสิ่งระเหยสูงจะเกิดราได้ง่ายและยังทาให้เกิดปัญหาระหว่างขบวนการผลิตแปรรูปยาง ส่วน ค่าดัชนีความอ่อนตัวของยางหรือ PRI เป็นค่าที่แสดงความต้านทานของยางดิบต่อการสลายตัวที่อุณหภูมิสูงหรือต่อการถูกออกซิเดชัน ถ้ายางมีค่า PRI ต่ำแสดงว่ายางมีความต้านทานต่อการแตกหักต่ำ โดยทั่วไปยางโปรตีนต่ำจะมีค่าปริมาณสิ่งระเหยและค่า PRI ลดลง จากตารางที่ 4.3 พบว่ายางโปรตีนต่ำมีปริมาณสิ่งระเหยลดลงเมื่อเทียบกับกับยางควบคุม แต่มีปริมาณใกล้เคียงกันระหว่างยางโปรตีนต่ำที่ผลิตจากปาเปนครึงรูปและปาเปนอิสระ ส่วนค่า PRI ของยางโปรตีนต่ำและยางควบคุมจะมีค่าลดลงตามปริมาณโปรตีนที่ลดลง การแยกโปรตีนออกจากยางนอกจากมีผลต่อค่า PRI แล้วการชะล้างยางด้วยน้ำหลายๆ ครั้ง เป็นการแยกเอาสารจำพวก antioxidants, phosphoaminolipids, amines และกรดอะมิโนออกจากยางซึ่ง มีผลต่อค่า PRI เช่นกัน เนื่องจากสารที่ไม่ใช่ยางเหล่านี้สามารถทำหน้าที่ป้องกันยางจากการเสื่อมสภาพ (ageing) ชนิดของโลหะที่เจือปนอยู่ในน้ำยางก็อาจจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิดเร็วขึ้น Silvabalasunderam และ Nadarajah (1965) รายงานว่าโลหะต่างๆ เช่น Cu, Mg, Ca และ Fe มีผลทำให้ค่า PRI ลดลง การเติม EDTA และสารพวก antioxidant เช่น SMS ลงในน้ำยางจะช่วยเพิ่มค่า PRI

ของยางโปรตีนต่ำให้สูงขึ้นได้ ซึ่งถือเป็นวิธีการปรับปรุงคุณภาพของยางอีกวิธีหนึ่ง

ความเสถียรระหว่างการใช้งานของปาเปนตริงรูป

ความเสถียรด้านแอคติวิตีของเอนไซม์ตริงรูปในระหว่างการใช้งาน หรือการที่สามารถนาเอนไซม์ตริงรูปกลับมาใช้งานซ้ำได้อีก ถือเป็นข้อได้เปรียบประการหนึ่งของเอนไซม์ตริงรูป โดยเฉพาะเมื่อต้องการนำเอนไซม์ไปใช้ในอุตสาหกรรม ในกรณีของปาเปนตริงรูปบนทรายที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ พบว่าเสถียรภาพระหว่างการใช้งานของปาเปนบนทรายแบบต่อเนื่องในคอลัมน์ซึ่งใช้ได้ดีเฉพาะเคซีนนั้นใช้ได้ถึง 7 วัน แต่เสถียรภาพการใช้งานเป็นงวดแบบไม่ต่อเนื่อง ในการใช้งานครั้งที่ 2 ปาเปนตริงรูปจะมีแอคติวิตีลดลงเหลือ 88.2 เปอร์เซ็นต์สำหรับเคซีน และประสิทธิภาพการลดโปรตีนลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์สำหรับน้ำยาง และถ้าใช้ซ้ำต่อไปแอคติวิตีจะลดลงเร็วมาก ทั้งในกรณีที่ใช้กับซับสเทรตเคซีนและในกรณีที่ใช้กับน้ำยาง จากรูปที่ 4.14 และ 4.21 พบว่าเมื่อนำปาเปนตริงรูปมาใช้ย่อยสลายเคซีนซ้ำเป็นจำนวน 5 ครั้ง แอคติวิตีของเอนไซม์จะเหลือเพียง 32 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับแอคติวิตีเริ่มต้น แต่เมื่อนำมาใช้กับน้ำยางสด ประสิทธิภาพการทางานของเอนไซม์ในครั้งที่ 5 เหลือเพียง 12 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น สาเหตุอาจเนื่องมาจากการใช้งานกับน้ำยางสดต้องอาศัยการกวนอยู่ตลอดเวลาทำให้เกิดการสึกกร่อนของตัวยึด เอนไซม์จึงหลุดออกจากตัวยึดได้ หรืออาจเกิดจาก MM เป็นตัวกระตุ้นที่ทำให้เอนไซม์มีแรงยึดโควาเลนซ์ที่ไม่เหนียวแน่นพอ ซึ่งการนำเอนไซม์ตริงรูปมาใช้งานแบบไม่ต่อเนื่องที่ต้องอาศัยการกวนนั้น เหมาะกับเอนไซม์ที่มีแอคติวิตีต่ำแต่จะต้องมีแนวโน้มที่จะสูญเสียแอคติวิตีในระหว่างการกวนยากด้วย (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535) ส่วนคอลัมน์ของปาเปนตริงรูปเมื่อนำมาใช้งานกับซับสเทรตเคซีน พบว่าสามารถใช้งานได้เป็นเวลา 7 วัน โดยที่แอคติวิตีของเอนไซม์ยังคงที่ (รูปที่ 4.13) Venkatasubramanian และคณะ (1975) ใช้คอลัมน์ของปาเปนตริงรูปบน collagen เพื่อตกตะกอนโปรตีนในเบียร์พบว่าเมื่อใช้เป็นระยะเวลา 5 เดือน แอคติวิตีของเอนไซม์เหลือ 56 เปอร์เซ็นต์ จากแอคติวิตีเริ่มต้น Thomplinson และคณะ (1983) เตรียม

คอลัมน์ของเรนนิน (rennin) ที่ตรึงรูปบนทรายโดยใช้ APTS เป็นตัวกระตุ้น พบว่าคลอคระยะเวลา 2 ชั่วโมงที่ทำการชะคอลัมน์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ไม่ปรากฏว่ามีเอนไซม์หลุดออกจากคอลัมน์ ส่วน Brotherton และคณะ (1976) เตรียมคอลัมน์ urease ที่ตรึงบนทราย โดยใช้ APTS เป็นตัวกระตุ้นเช่นกัน พบว่าคอลัมน์ที่เตรียมได้มีค่าครึ่งชีวิต (half life) เท่ากับ 85 ชั่วโมง

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาเปรียบเทียบชนิดของตัวกระตุ้นทรายที่ใช้ในการตรึงปาเปน พบว่า MM เป็นตัวกระตุ้นที่ให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของปาเปนตรึงรูปสูงกว่าการใช้ APTS หรือ HMT

2. ภาวะที่เหมาะสมในการตรึงปาเปนบนทรายด้วยพันธะโคเวเลนซ์ โดยมี MM เป็นตัวกระตุ้น และมีกลูทารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมข้าม ประกอบด้วย การใช้ทรายทะเลขนาด 80-120 เมช จำนวน 5 กรัม กระตุ้นด้วย MM 0.3 กรัม เป็นเวลา 90 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูทารัลดีไฮด์ ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ตรึงปาเปนบนทรายโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากับ 700 CDU (ความเข้มข้นเท่ากับ 1 มก./มล.) ที่เตรียมใน 0.05 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ pH 8.5 (โดยมี 20 มิลลิโมลาร์ ซีสเตอีน และ 10 มิลลิโมลาร์ EDTA ผสมอยู่ด้วย) ทำการตรึงเป็นเวลา 150 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ปาเปนตรึงรูปที่ได้มีแอคติวิตีประมาณ 50 CDU/กรัม ทราย หรือค่าแอคติวิตีจำเพาะประมาณ 54 CDU/มก. โปรตีน)

3. ปาเปนตรึงรูปมี pH ที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเคซีนที่ pH 6.5 ซึ่งเลื่อนไปทางด้านกรด 1 หน่วยเมื่อเทียบกับปาเปนอิสระ ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเคซีน พบว่าทั้งปาเปนตรึงรูปและปาเปนอิสระมีอุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส

4. ปาเปนตรึงรูปมีความเสถียรในช่วง pH ที่เป็นด่าง (8-10) ดีกว่าปาเปน

อิสระ แต่ปาเปนครึ่งรูปมีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่ำกว่าปาเปนอิสระ คือปาเปนครึ่งรูปมีความเสถียรแค่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่ปาเปนอิสระมีความเสถียรจนถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

5. เมื่อใช้เคซีนเป็นซับสเทรต พบว่า ปาเปนครึ่งรูปมีค่า K_m เท่ากับ 4.319 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนปาเปนอิสระมีค่า K_m เท่ากับ 3.77 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

6. การเก็บรักษาปาเปนครึ่งรูป ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยปราศจากสารละลายบัฟเฟอร์จะทำให้ปาเปนครึ่งรูปมีอัตราการสูญเสียแอคติวิตีน้อยกว่าการแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9

7. คอลัมน์ของปาเปนครึ่งรูป สามารถย่อยสลายเคซีนได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 7 วัน โดยที่แอคติวิตีของเอนไซม์ยังคงที่ ส่วนการย่อยสลายเคซีนในลักษณะแบบไม่ต่อเนื่อง หรือการนาปาเปนครึ่งรูปกลับมาใช้ซ้ำหลายๆ ครั้ง พบว่าในการใช้งานครั้งที่ 4-5 ปาเปนครึ่งรูปมีแอคิวิตีเหลืออยู่ประมาณ 35-32 เปอร์เซ็นต์

8. ภาวะที่เหมาะสมในการลดปริมาณโปรตีนด้วยปาเปนครึ่งรูป ประกอบด้วยน้ำยางที่มี pH ประมาณ 8.5 ใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยกวนผสมน้ำยางกับปาเปนครึ่งรูปที่มีปริมาณ 200 CDU (4 กรัม ทราย) ที่ภาวะดังกล่าวปาเปนครึ่งรูปสามารถลดปริมาณไนโตรเจนในยางแห้งให้เหลือ 0.37 เปอร์เซ็นต์

9. การปั่นแยกและการเจือจางน้ำยางสด ก่อนนำมาใช้กับปาเปนครึ่งรูปเป็นวิธีช่วยลดปริมาณโปรตีนในยางแห้งให้ลดลง โดยเฉพาะการปั่นแยกน้ำยางจะช่วยให้ปริมาณไนโตรเจนเหลืออยู่ในยางแห้งเพียง 0.15-0.18 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

10. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดปริมาณโปรตีนในน้ำยางด้วยปาเปนครึ่งรูปและปาเปนอิสระ พบว่าที่ปริมาณเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่เท่ากัน ปาเปนอิสระมีประสิทธิภาพดีกว่าปาเปนครึ่งรูป และเมื่อนายางโปรตีนต่ำที่ผลิตได้จากเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ไปทดสอบสมบัติทางกายภาพของยางดิบ เปรียบเทียบกับยางควบคุม พบว่ายางโปรตีนต่ำที่ได้มีปริมาณเถ้าและปริมาณผงเพิ่มขึ้น ส่วนค่าปริมาณสิ่งระเหยและดัชนีความอ่อนตัวของยางลดลง

11. การทดสอบผลของสารเคมีบางชนิดที่มีต่อประสิทธิภาพการลดโปรตีนในน้ำยาง

พบว่าการเติม Triton X-100 0.4 p.h.r. หรือ HH 0.15 p.h.r. หรือ ซีสเตอีน ที่เติมร่วมกับ EDTA ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของปาเปนตริงรูปลดลง ส่วนการเติม SMS 0.05 p.h.r. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของปาเปนตริงรูป

12. การศึกษาความเสถียรต่อการทำงานของปาเปนตริงรูปในลักษณะแบบไม่ต่อเนื่องเมื่อนำมาใช้กับน้ำยาง พบว่าการนำปาเปนตริงรูปกลับมาใช้ผลิตยางโปรตีนต่ำซ้ำหลายๆ ครั้ง ประสิทธิภาพการลดไนโตรเจนของปาเปนตริงรูปลดลงเรื่อยๆ โดยในการใช้งานครั้งที่ 5 ปาเปนตริงรูปมีประสิทธิภาพเหลืออยู่เพียง 12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับประสิทธิภาพของการใช้งานครั้งแรก

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองตริงรูปปาเปนบนทรายและใช้ลดปริมาณโปรตีนในน้ำยางพบว่ามีข้อเสียที่สำคัญ คือ

1. ขั้นตอนในการตริงค่อนข้างจะยุ่งยากและใช้เวลานานประมาณ 4.5 ชั่วโมง (ไม่รวมขั้นตอนการเตรียมทราย) และปาเปนตริงรูปที่ได้มีแอคติวิตีต่อหน่วยต่ำ (50 CDU/กรัม ทราย) ความเสถียรต่ำ ใช้ซ้ำไม่ได้

2. ค่าใช้จ่ายในการตริงปาเปนสูงถึง 73.71 บาท/1,000 CDU ส่วนใหญ่อยู่ที่ราคาสารเคมีที่ใช้โดยเฉพาะ กลูทารัลดีไฮด์และซีสเตอีน (ตารางที่ 5.1) เป็นผลให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตยางโปรตีนต่ำสูงขึ้นด้วย (ตารางที่ 5.2)

จากข้อเสียดังกล่าวข้างต้น จึงควรที่จะมีการนำตัวยึดชนิดอื่นๆ มาใช้แทนทรายซึ่งการที่จะพิจารณานำตัวยึดชนิดใดมาใช้นั้น สมบัติข้อที่สำคัญคือ ความเสถียรในการใช้งานในลักษณะแบบไม่ต่อเนื่อง ถ้าปาเปนตริงรูปมีความเสถียรในการใช้งานสูงจะสามารถลดต้นทุนของการผลิตยางธรรมชาติโปรตีนต่ำในส่วนของราคาปาเปนตริงรูปลงได้อย่างมาก นอกจากนี้ตัวยึดที่ใช้จะต้องไม่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของยางและสามารถแยกออกจากน้ำยางได้ง่าย

การคำนวณค่าใช้จ่ายในการผลิตยางโปรตีนต่ำด้วยปาเปนตริงรูปบนทราย

1. ราคาปาเปนผง

ยางมะละกอ 50 กรัม ราคาประมาณ 25 บาท เมื่อนำยางมะละกอ 50 กรัม มาอบแห้ง จะได้ปาเปนผงประมาณ 5 กรัม ดังนั้นปาเปนผงที่เตรียมขึ้นเองมีราคาประมาณ 5 บาท/กรัม

2. ราคาปาเปนตริงรูป

ขั้นตอนการตริงปาเปนบนทราย ประกอบด้วย

1. ขั้นตอนการเตรียมทราย
2. ขั้นตอนการตริง (MM + กลูทารัลดีไฮด์ + ปาเปน)

จากงานวิจัยปาเปนตริงรูปที่เตรียมได้ มีแอคติวิตีประมาณ 50 CDU/กรัม ทราย ดังนั้นถ้าต้องการปาเปนตริงรูป 1,000 CDU ต้องใช้ทราย 20 กรัม ต้นทุนในการเตรียมปาเปนตริงรูป 1,000 CDU แสดงดังตารางที่ 5.1

3. ค่าใช้จ่ายในการผลิตยางโปรตีนต่ำด้วยปาเปนตริงรูป

ขั้นตอนการเตรียมยางโปรตีนต่ำประกอบด้วย

ปาเปนตริงรูป + น้ำยางสด (25% DRC) ⟶ ทำให้ยางจับตัวเป็นก้อน ⟶ DPNR

จากงานวิจัย การเตรียมเนื้อยางแห้ง 5 กรัม ต้องใช้ปาเปนตริงรูป 200 CDU ถ้าต้องการเนื้อยางแห้ง 1,000 กรัม ต้องใช้ปาเปนตริงรูป 40,000 CDU ต้นทุนในการเตรียมยาง DPNR 1 กิโลกรัม แสดงในตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.1 ประมาณต้นทุนในการเตรียมปาเปนตริงรูป 1,000 CDU หรือ 20 กรัม ทราย

	ราคาต่อหน่วย (บาท)	ปริมาณที่ใช้ (ปาเปนตริงรูป 1,000 CDU)	ปาเปนตริงรูป (บาท/1,000 CDU)
สารเคมี			
melamine	400/Kg	6 g	2.40
glutaraldehyde	1,400/500 ml	20 ml	56.00
papain	5/g	40 mg	2.00
nitric acid	128/l	20 ml	2.56
cystein	1,000/100 g	0.7 g	7.00
EDTA	318/500 g	0.74 g	0.47
พลังงาน			
Hot air oven (5 KW)	2/KW-h	1.25	2.50
magnetic stirrer (0.4 KW)		0.09	0.18
น้ำ			
ขั้นตอนการเตรียมทราย	0.1/l	1 l	0.10
ขั้นตอนการตริง	1/l	500 ml	0.50
ค่าใช้จ่ายในการเตรียมปาเปนตริงรูป 1,000 CDU (ไม่รวมทราย)			73.71

ตารางที่ 5.2 ประมาณต้นทุนในการเตรียมยางโปรตีนต่ำ 1 กิโลกรัม จากปาเปนตริงรูป

	ราคาต่อหน่วย (บาท)	ปริมาณที่ใช้ (DPNR 1 Kg)	DPNR (บาท/Kg)
น้ำยางสด	15-18/Kg	1 Kg	17.50
สารเคมี			
ปาเปนตริงรูป	73.71/1,000 CDU	40,000 CDU	2,948.40
ammonia	280/2.5 l	12 ml	1.34
Triton X-100	1,150/l	5 g	2.60
พลังงาน			
Autoclave (2 KW)	2/KW-h	1	2.00
Two roll-mill (1.5 KW)		0.75	1.50
Hot air oven (5 KW)		1.20	2.40
น้ำ			
ขั้นตอนการเตรียม 25% DRC	1/l	0.90 l	0.90
ขั้นตอนการล้างยาง	0.1/l	5 l	0.50
ค่าใช้จ่ายในการเตรียมยางโปรตีนต่ำ 1 กิโลกรัม			2,977.14