

แบบฟอร์มแจ้งความประสงค์การใช้งบประมาณสำหรับการพัฒนาบุคลากรคณะวิทยาศาสตร์

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

ข้าพเจ้า นาง อัจฉา แก้วกล้า ตำแหน่ง อาจารย์ สังกัด หลักสูตร สาขาเคมี ได้ขออนุญาต
เข้าร่วม นำเสนอผลงาน ในงานประชุมวิชาการ ระดับชาติ มหาวชิราลงค์ แม่ริ

ตามหนังสือขออนุญาต ศร.0523.4. / ลงวันที่..... โดยข้าพเจ้ามีความประสงค์จะขอใช้
งบประมาณพัฒนาบุคลากรของคณะวิทยาศาสตร์เพื่อไปพัฒนาตนเอง ดังนี้

☐ กรณีที่ 1 ใช้งบประมาณไม่เกิน ๖,๐๐๐ บาท สำหรับการเข้าร่วมอบรม สัมมนา หรือประชุมวิชาการทั่วไปที่เกี่ยวกับการพัฒนาวิชาชีพของ
ตนเอง (ไม่ต้องรายงาน)

☐ กรณีที่ 2 ใช้งบประมาณไม่เกิน 8,๐๐๐ บาท สำหรับการเข้าร่วมอบรม ฝึกอบรม สัมมนา หรือประชุมวิชาการทั่วไปที่เกี่ยวกับการพัฒนา
วิชาชีพของตนเอง ต้องส่งรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ อย่างน้อย 1 หน้ากระดาษ A4 (เนื้อหาสรุปไม่น้อยกว่า 25
บรรทัด)

☒ กรณีที่ 3 สำหรับการเข้าร่วมนำเสนอผลงานวิชาการในรูปแบบโปสเตอร์ หรือปากเปล่า โดยต้องเป็นผู้เขียนชื่อแรก (First author) หรือต้อง
เป็นผู้เขียนหลัก (Corresponding author) ซึ่งได้รับการตอบรับเป็นที่เรียบร้อยแล้ว

- คนละไม่เกิน 15,000 บาท (สำหรับสายวิชาการ)

- คนละไม่เกิน 10,000 บาท (สำหรับสายสนับสนุนวิชาการ)

โดยต้องจัดส่งเอกสาร ดังนี้ สำเนาบทความย่อ หรือโปสเตอร์(ย่อขนาด A4) หรือบทความฉบับเต็ม และต้องทำรายงานสรุปเนื้อหา
และการนำไปใช้ประโยชน์ของการเข้าอบรม อย่างน้อย 1 หน้ากระดาษ A4 (เนื้อหาสรุปไม่น้อยกว่า 25 บรรทัด)

☐ กรณีที่ 4 สำหรับการเข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อเพิ่มสมรรถนะในสายวิชาชีพที่เชี่ยวชาญตามตำแหน่งงานของตนเอง

- คนละไม่เกิน 15,000 บาท (สำหรับสายวิชาการ)

- คนละไม่เกิน 10,000 บาท (สำหรับสายสนับสนุนวิชาการ)

โดยต้องจัดส่งเอกสาร ดังนี้ สำเนาใบรับรองหรือหนังสือรับรองหรือใบประกาศนียบัตรหรือวุฒิบัตร จากการเข้าอบรมเชิง
ปฏิบัติการ และรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ อย่างน้อย 1 หน้ากระดาษ A4 (เนื้อหาสรุปไม่น้อยกว่า 25 บรรทัด)

ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 (1 ต.ค. 61 - 30 ก.ย. 62) ข้าพเจ้าได้ใช้งบพัฒนาบุคลากรฯ ไปแล้ว จำนวนทั้งสิ้น ครั้ง ดังต่อไปนี้

-ครั้งที่ ในกรณีที่..... ใช้งบประมาณไปแล้วเป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น.....บาท

-ครั้งที่ ในกรณีที่..... ใช้งบประมาณไปแล้วเป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น.....บาท

(หากมีจำนวนครั้งเกินกว่านี้ ให้ทำรายละเอียดแนบท้ายเพิ่มเติม)

อัจฉา แก้วกล้า

ผู้ขออนุญาต

(นาง อัจฉา แก้วกล้า)

12 / พ.ย. / 2561

ประธานหลักสูตร/เลขานุการคณะ/หัวหน้างาน

12/พ.ย. 2561

12 / พ.ย. / 2561

หมายเหตุ : 1. งบประมาณที่ใช้สำหรับการพัฒนาบุคลากร หมายถึงค่าใช้จ่ายทุกประเภทที่ใช้ในการเข้าร่วมการอบรม/สัมมนา/ประชุม

เช่น ค่าลงทะเบียน ค่าใช้จ่ายในการเดินทาง และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

2. การใช้งบประมาณพัฒนาบุคลากรในที่คณะวิทยาศาสตร์จัดสรร ให้ถือปฏิบัติตามเงื่อนไขที่กำหนดไว้ในแต่ละกรณี

3. ให้แนบบแบบฟอร์มแจ้งความประสงค์ฯ นี้มาพร้อมการส่งรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ฯ ด้วย

เห็นชอบตามมติที่ประชุมคณะกรรมการประจำคณะฯ ครั้งที่1/2560

เริ่มใช้ตั้งแต่เดือน 1 กุมภาพันธ์ 2560

สรุปเนื้อหา และการนำไปใช้ประโยชน์ได้ จากการเข้าร่วมประชุม และนำเสนอผลงานทางวิชาการ

ข้าพเจ้า อ.ดร.อัจฉรา แก้วกล้า ข้าราชการ ตำแหน่ง อาจารย์ สังกัดหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี ขอนำเสนอรายงานสรุปเนื้อหา และการนำไปใช้ประโยชน์จากการเข้าร่วมประชุมวิชาการระดับชาติ ประจำปี 2561 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (MJU Annual Conference 2018) ระหว่างวันที่ 11-13 ธันวาคม พ.ศ. 2561 ณ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ตามหนังสือ ขออนุญาต ที่ ศธ. 0523.4.3/587 ลงวันที่ 12 พฤศจิกายน 2561 ซึ่งการเข้าร่วมประชุมวิชาการดังกล่าว ข้าพเจ้าได้ใช้งบประมาณการพัฒนาบุคลากรกรณี 3 จึงขอสรุปเนื้อหา และการนำไปใช้ประโยชน์ของการเข้าร่วมประชุมวิชาการ ดังต่อไปนี้

ในการประชุมวิชาการระดับชาติประจำปี 2561 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (MJU Annual Conference 2018) มีหัวข้อที่น่าสนใจที่สามารถนำความรู้ที่นำมาพัฒนางานวิจัย และนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเรียนการสอน อาทิเช่น

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง สมบัติของโฟมยางธรรมชาติผสมยางธรรมชาติโอพอกไซด์โดยใช้รำสกัดน้ำมันเป็นสารตัวเติม (Properties of NR/ENR Foam Filled with Defatted Rice Bran) โดย ผศ. ตรีญา มุลชัย หลักสูตรเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง การศึกษาผลของเปลือกลำไยที่ใช้เป็นสารตัวเติมต่อสมบัติของฟองน้ำยางธรรมชาติ (Effect of Longan Shell used as Filler on Properties of Natural Rubber Sponge) โดย อรุณศรี เอี่ยมรัมย์ สาขาวิชาเทคโนโลยียางและพอลิเมอร์ คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง การดูดซับสีย้อมผ้าโดยเปลือกลำไยที่ผ่านการกระตุ้นทางเคมีและทางความร้อน (Adsorption of Dye by Longan Peel Adsorbents Prepare from Chemicala and Thermal Activation) โดย อ.ดร. นคร สุรียานนท์ สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เชียงใหม่

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง การคัดแยกแบคทีเรียจากตะกอนน้ำเสียของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากกลีเซอรอลเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล (Screening of Bacteria from Sludge of Palm Oil Mill Wastewater Treatment Plant for Polyhydroxyalkanoate Production using Glycerol from Biodiesel Production Process) โดย รุสธญา เจ๊ะชู ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง การผลิตถ่านกัมมันต์จากวัสดุธรรมชาติในท้องถิ่นเพื่อการดูดซับสารอินทรีย์ระเหยง่ายในอากาศ (Activated Carbon Production from Natural Materials for Volatile Organic

ความคิดเห็นของผู้บังคับบัญชาเบื้องต้น (ประธานหลักสูตร/ เลขานุการคณะ/ หัวหน้างาน)

.....

.....

.....



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ไพศาลสุทธิชล)

ประธานหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

...../...../.....

ความคิดเห็นของคณบดีคณะวิทยาศาสตร์ หรือผู้แทน

.....

.....

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ฐปน ชื่นบาล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

...../...../.....

Compounds Adsorption) โดย ดร.กุลวรรณ โสรจันน์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อุบลราชธานี

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง การผลิตและปรับปรุงลักษณะของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลานิลที่เติมกลีเซอรอล (Production and Improvement of Characteristics of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fish Skin Gelatin Film Incorporated with Glycerol อ.ดร. กิตติมา สีสะพงศ์วัฒนา สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เพชรบุรี

การนำเสนอในหัวข้อเรื่อง การพัฒนาแผ่นแป้งจากข้าวเจ้าและมันสำปะหลังที่เติมผงเปลือกกล้วยน้ำว้าเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักกูด (Development of a Mixed Starch Sheet Produced from a Combination of Rice and Tapioca containing Cultivated Banana Peel (*Musa* ABB cv. Kluai “Namwa”) Powder to Prolong Shelf-life of Paco Fern (*Diplazium Esculentum* Sw.) โดย อ.ประภาพร ร้อยพรมมา สาขาเทคโนโลยีการพิมพ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ กรุงเทพฯ

จากการเข้าร่วมประชุมวิชาการ และฟังการบรรยายในหัวข้อเรื่องต่างๆ ซึ่งเป็นผลงานวิจัยใหม่ๆ ของนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญ ความรู้ที่ได้จากการฟังบรรยาย ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อข้าพเจ้า และนักศึกษาของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ทั้งในด้านการเรียนการสอน และสามารถนำความรู้ที่ได้จากการฟังบรรยายดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอน และงานวิจัยที่ข้าพเจ้ากำลังดำเนินการอยู่ ในหัวข้อการวิจัยเรื่อง การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดมะเขือเทศโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมกับถ่านกัมมันต์ด้วยเทคนิคไมโครเวฟ และหัวข้อการวิจัยเรื่อง การประเมินตัวบ่งชี้โปรตีนสำหรับการระบุกลุ่มอาการความผิดปกติทางสรีรวิทยาของผลลำไย และหัวข้อการวิจัยเรื่อง การพัฒนาแผ่นไฮโดรเจลปิดแผลต้านเชื้อจุลินทรีย์จากยางพาราที่ปราศจากโปรตีนภูมิแพ้และแป้งผสมสารสกัดจากสมุนไพรฝาง นอกจากนั้นข้าพเจ้ายังได้แลกเปลี่ยนประสบการณ์ และความรู้ต่างๆ กับนักวิจัยที่เชี่ยวชาญ ซึ่งทำให้เกิดประโยชน์ต่องานวิจัยของข้าพเจ้าเป็นอย่างยิ่ง

อรรดา แก้วกล้า

(นางอรรดา แก้วกล้า)

การเตรียมไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำสำหรับใช้เป็นวัสดุปิดแผล

Preparation of Hydrogel from Deproteinized Natural Rubber Latex for Use as Wound Dressing

อัจฉรา แกล้วกล้า^{1*} เอกวิทย์ ตรีเนตร¹ และไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน²

Achara Kleawkla^{1*} Ekawit Threenet¹ and Pairote Wongputtisin²

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

²สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

¹Program in Chemistry, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: achara_kleawkla@yahoo.co.uk

บทคัดย่อ

การผลิตวัสดุทางการแพทย์ที่มีน้ำยางธรรมชาติเป็นวัตถุดิบ ต้องคำนึงถึงโปรตีนภูมิแพ้ที่อยู่ในน้ำยาง เนื่องจากก่อให้เกิดอาการแพ้ในผู้ใช้งานผลิตภัณฑ์ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการเตรียมไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำผสมแป้งข้าวเจ้า โดยใช้ N, N'-methylene-bis-acrylamide (MBA) เป็นสารเชื่อมขวาง จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำผสมแป้งข้าวเจ้า เชื่อมขวางด้วย MBA มีการบวมตัว 144.50 % และความสามารถในการดูดซับน้ำ 50.49 % การวัดปริมาณโปรตีน พบว่าไฮโดรเจลที่เติมเอนไซม์โปรติเอสมีปริมาณโปรตีน 70.41 มิลลิกรัมต่อกรัม มีค่าน้อยกว่าไฮโดรเจลที่ไม่เติมเอนไซม์โปรติเอส 73.48 มิลลิกรัมต่อกรัม ในสารสกัดผสม 1 % SDS กับ tris-HCl pH 6.8 สำหรับสารสกัด phosphate buffer saline pH 7.4 ที่เติมและไม่เติมเอนไซม์โปรติเอสมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 5.74 และ 6.14 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ดังนั้นไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA ผสมกับแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ 3 % w/v อัตราส่วน 1:2 มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัว ความสามารถในการดูดซับน้ำที่ดี และมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (11.5 มิลลิเมตรรัศมีการยับยั้งในการเจริญของเชื้อ) จึงสามารถพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลเพื่อใช้ในการทางการแพทย์ต่อไป

คำสำคัญ: น้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ โปรตีนภูมิแพ้ โปรติเอส ไฮโดรเจล วัสดุปิดแผล

Abstract

The exist of allergic proteins in natural rubber latex must be considered in the production of medical devices made of natural rubber latex as the main raw material. They are the major cause of allergenicity to the product users. The objective of this research was prepared hydrogels from deproteinized natural rubber latex with gelatinized rice flour using N, N'-methylene-bis-acrylamide (MBA) as crosslinking agent. The result showed 144.50 % swelling and 50.49 % water content. Protein measurement showed 70.41 mg/g protein of hydrogel with protease less than 73.48 mg/g protein of

hydrogel without protease in mixed extraction (1 % SDS with tris-HCl pH 6.8). The extraction of phosphate buffer saline pH 7.4 in with and without protease showed 5.74 and 6.14 mg/g protein, respectively. Thus, hydrogel from deproteinized natural rubber latex crosslinking with MBA 3 % w/v gelatinized rice flour (1:2) show the best in % swelling, % water content and efficiency of bacterial inhibition (11.5 mm in percent inhibition of radial growth) which it is suitable for wound dressing in medical application.

Keywords: deproteinized natural rubber latex, allergic proteins, protease, hydrogel, wound dressing

คำนำ

ไฮโดรเจลเป็นพอลิเมอร์ชอบน้ำที่มีโครงร่างตาข่ายสามมิติ สามารถดูดซับน้ำได้โดยไม่ละลายในน้ำ และมีสมบัติที่หลายประการ เช่น มีความยืดหยุ่นสูง มีความชอบน้ำสูง และดูดซับน้ำได้ดี จึงได้นำไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้ในงานทางการแพทย์ เช่น ระบบการส่งถ่ายยา โครงร่างรองรับเซลล์ และวัสดุปิดแผล เป็นต้น ยางพาราหรือยางธรรมชาติเป็นพอลิเมอร์ทางธรรมชาติซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Hevea brasiliensis* ปัจจุบันพบว่าปัญหามูลค่ายางธรรมชาติของประเทศไทยมีราคาค่อนข้างต่ำ เนื่องจากปริมาณน้ำยางธรรมชาติที่ล้นตลาด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ของยางธรรมชาติเพื่อเพิ่มมูลค่าของยางธรรมชาติให้มากยิ่งขึ้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ในกลุ่มวัสดุทางการแพทย์ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เช่น ถุงมือผ่าตัด ถุงยางอนามัย และวัสดุปิดแผล โดยทั่วไปวัสดุปิดแผลจะเตรียมได้จากพอลิเมอร์สังเคราะห์ซึ่งทำให้มีราคาแพง ดังนั้นยางธรรมชาติจึงน่าจะเป็นทางเลือกของการนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผล โดยยางธรรมชาติมีสมบัติเชิงกลที่โดดเด่น เช่น สมบัติด้านความยืดหยุ่น การกระดอน และการทนทานต่อการฉีกขาด (สุวดี, 2556) แต่มีความสามารถในการดูดซับน้ำที่น้อยมาก จึงไม่เหมาะสมที่จะนำเอายางธรรมชาติมาเตรียมเป็นไฮโดรเจล แนวทางการแก้ปัญหาทำได้โดยมีการเติมหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลจากแป้ง (Ward, 2011) และนอกจากนั้นยังต้องมีการกำจัดหรือลดโปรตีนภูมิแพ้ที่อยู่ในน้ำยางธรรมชาติ โดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* MR10 ซึ่งสามารถกำจัดโปรตีนภูมิแพ้ชนิด Hev b1 (Rubber elongation factor) Hev b3 (Small rubber particle protein) และ Hev b5 (Acidic protein) ซึ่งเป็นสารก่อภูมิแพ้ที่สำคัญในยางธรรมชาติ (ชนูภา, 2559)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการเตรียมไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำและแป้งข้าวเจ้า ด้วยการเชื่อมขวางด้วย N, N'-methylene-bis-acrylamide (MBA) นำไฮโดรเจลที่เตรียมได้ศึกษาคุณสมบัติการบวมตัวความสามารถในการดูดซับน้ำ การวัดปริมาณของโปรตีน และการทดสอบการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สำหรับนำมาพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลเพื่อใช้ในการทางการแพทย์ต่อไป ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลจากงานวิจัยนี้จะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับอุตสาหกรรมการแปรรูปน้ำยางธรรมชาติและลดการนำเข้าสินค้าจากต่างประเทศได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. น้ำยางธรรมชาติ

น้ำยางธรรมชาติชั้น (60% DRC) ซื้อจากบริษัท ไทยรับเบอร์ลาเทคคอร์ปอเรชั่น (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) จังหวัดชลบุรี

3. การเตรียมโปรตีนจากเชื้อ *Bacillus subtilis*

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* ในอาหารเหลว Nutrient broth ปริมาณ 150 ml เลี้ยงบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 150 rpm อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิ 4 °C นำสารละลายส่วนใสไปตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (85% saturation) ละลายตะกอนกลับในสารละลาย 0.05 M phosphate buffer pH 7 ปริมาตร 15 ml แล้วทำการไดอะไลซิส (dialysis) ที่ขนาด 12 kDa

4. การเตรียมน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ

น้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ เตรียมได้จากการนำน้ำยางชั้น 60 % ผสมกับเอนไซม์โปรตีนเอส 1 มิลลิลิตรต่อน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ 500 มิลลิลิตร นำไปบ่มบนไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง มีการกวนเป็นระยะ

5. การเตรียมไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA

นำน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำมาทำการปรับสภาพความเป็น กรด-เบส ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ให้มีค่า pH ประมาณ 9 ถึง 10 และเติมสารลดแรงตึงผิวเพื่อป้องกันการเสียสภาพของน้ำยางโดยใช้ Tween 80 ใช้โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) เป็นสารริเริ่มปฏิกิริยา (ดัง Table 1) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70°C ค่อย ๆ หยดสารเชื่อมขวาง MBA กวนด้วยความเร็ว 350 rpm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ขึ้นรูปในแม่พิมพ์และอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างใน dessicator ก่อนจะนำไปทำการศึกษาสมบัติต่อไป

Table 1 The formula of deproteinized natural rubber latex using N, N'-methylene-bis-acrylamide (MBA) as crosslinking agent

Compositions	Content (phr)*
deproteinized natural rubber latex	100
10% Potassium hydroxide (KOH)	5
Tween80	5
5% Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$)	1
2 % N, N'-methylene-bis-acrylamide (MBA)	1

*phr ส่วนในร้อยส่วนโดยน้ำหนักของยาง

6. การเตรียมไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA และแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ เตรียมโดยการนำน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA เติมลงในสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ 3-8 % w/v ในอัตราส่วนน้ำยาง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 1 : 2 v/v กวนให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็ว 350 rpm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ขึ้นรูปในแม่พิมพ์และอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างใน dessicator ก่อนจะนำไปทำการศึกษสมบัติต่อไป

7. ศึกษาสมบัติต่างๆ ของไฮโดรเจล

นำตัวอย่างไฮโดรเจลที่เตรียมได้ โดยเติมและไม่เติมแป้งข้าวเจ้า หรือเติมและไม่เติมเอนไซม์โปรติเอสมาทำการทดสอบสมบัติต่าง ๆ ได้แก่ ความสามารถในการขึ้นรูป การบวมตัว และความสามารถในการดูดซับน้ำ การวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified lowry assay ตามมาตรฐาน ASTM D5712 – 10 และการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มินรยา และคณะ. 2557)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. การผลิตเอนไซม์โปรติเอสและน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า เอนไซม์โปรติเอสที่เตรียมได้จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองอมน้ำตาล เมื่อนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งจะได้ผงเอนไซม์ที่มีสีขาวคล้ำ เมื่อทำการบ่มน้ำยางธรรมชาติร่วมกับเอนไซม์โปรติเอสภายใต้สภาวะที่กำหนดแล้ว พบว่า น้ำยางธรรมชาติยังคงสภาพได้ และไม่มีเปลี่ยนแปลงของสี โดยมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น ซึ่งน้ำยางธรรมชาติที่ผ่านกระบวนการนี้เรียกว่า น้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ ใช้สำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นวัสดุปิดแผลในงานวิจัยนี้

2. ความสามารถในการขึ้นรูป

ความสามารถในการขึ้นรูปของไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA และแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ เมื่อผสมแป้งข้าวเจ้า 3 - 8 % w/v ที่อัตราส่วนยางธรรมชาติโปรตีนต่ำต่อแป้งเจลาติไนซ์ 1:2 v/v พบว่าลักษณะภายนอกของ แผ่นไฮโดรเจลเมื่อใช้แป้งข้าวเจ้า 3 - 7 % w/v สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ แผ่นฟิล์มมีลักษณะที่บาง และใส จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของแป้งเจลาติไนซ์ จะส่งผลให้ฟิล์มมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป ที่ความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ 3 % w/v พบว่ามีลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ดี พื้นผิวของแผ่นไฮโดรเจลมีความสม่ำเสมอ เรียบเนียน ส่วนความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ 8 % w/v ขณะที่ทำการผสมน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำและแป้งเจลาติไนซ์เกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน จึงไม่สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ ลักษณะของการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มดัง Figure 1

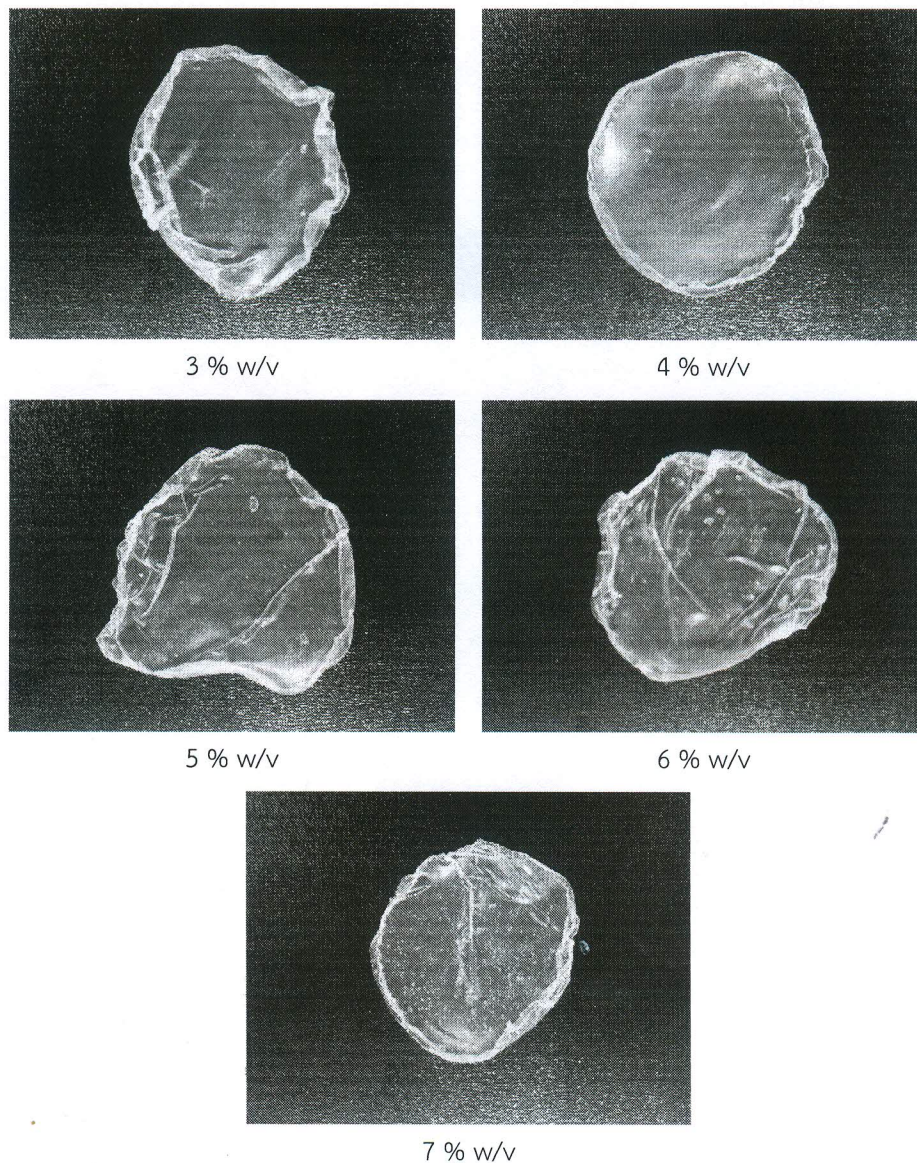


Figure 1 Hydrogel from deproteinized natural rubber latex crosslinking with MBA gelatinized rice flour 3 - 7 % w/v

3. การทดสอบด้านต่าง ๆ ของไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ

3.1 คุณสมบัติการบวมตัว และความสามารถในการดูดซับน้ำ

การศึกษาการบวมตัว และความสามารถในการดูดซับน้ำถือเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของวัสดุพอลิเมอร์ ในการช่วยรักษาความชุ่มชื้น และดูดซับของเหลวที่ไหลออกจากแผล (exudates) ทำให้บาดแผลหายได้เร็วขึ้น ได้ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้าเจลาตินในซีที่ 3 % w/v ที่อัตราส่วนน้ำยาง : แป้งข้าวเจ้า 1:2 v/v และไม่มี การเติมแป้ง (อัตราส่วน 1:0) เพื่อนำมาศึกษาการบวมตัว และความสามารถในการดูดซับน้ำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าที่อัตราส่วน 1:2 v/v เวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัว และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการดูดซับน้ำ สูงสุดเท่ากับ 144.50 % และ 50.49 % ตามลำดับ แต่เมื่อเวลามากกว่า 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การบวมตัว และ

เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการดูดซับน้ำมีค่าลดลง อาจเนื่องมาจากแบ่งหลอดออกจากโครงสร้างของไฮโดรเจลทำให้มีน้ำหนักลดลง ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การบวมตัว และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการดูดซับน้ำลดลงด้วย ส่วนที่อัตราส่วน 1:0 (ไม่มีการเติมแป้ง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัว และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการดูดซับน้ำมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และที่เวลา 72 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัว และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการดูดซับน้ำสูงสุดเท่ากับ 31.57 % และ 23.99 % ตามลำดับ

3.2 ผลการวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified lowry assay (มาตรฐาน ASTM D5712 – 10)

ผลการวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified lowry assay พบว่าไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติและแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาตินไนซ์ เชื่อมขวางด้วย MBA (ไม่เติมเอนไซม์โปรติเอส ; MBA-Control) และไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำและแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาตินไนซ์ เชื่อมขวางด้วย MBA (เติมเอนไซม์โปรติเอส ; MBA-MR10) สกัดด้วย PBS มีค่าปริมาณโปรตีนเท่ากับ 6.14 และ 5.74 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยสารละลาย Tris-hydrochloride pH 6.8 ที่ผสมกับ 0.1 % Sodium lauryl sulphate พบว่ามีค่าปริมาณโปรตีนเท่ากับ 73.48 และ 70.41 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ดัง Figure 2 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเติมเอนไซม์โปรติเอสในน้ำยางธรรมชาติส่งผลให้ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มลดลง และยังพบว่าสารละลายสกัด THS มีประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนได้ดีกว่า PBS ผลการทดลองนี้ยืนยันได้ว่า การเติมเอนไซม์โปรติเอสในน้ำยางธรรมชาติสามารถกำจัดโปรตีนออกจากน้ำยางธรรมชาติได้ ซึ่งอาจรวมถึงโปรตีนภูมิแพ้ด้วย

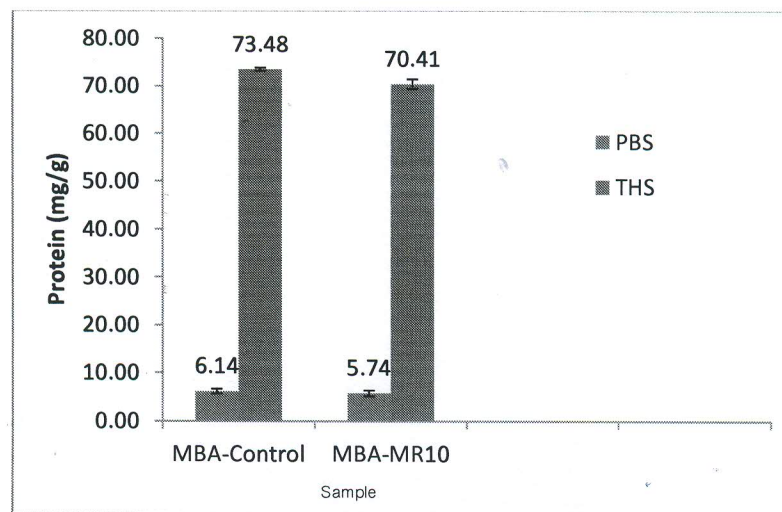
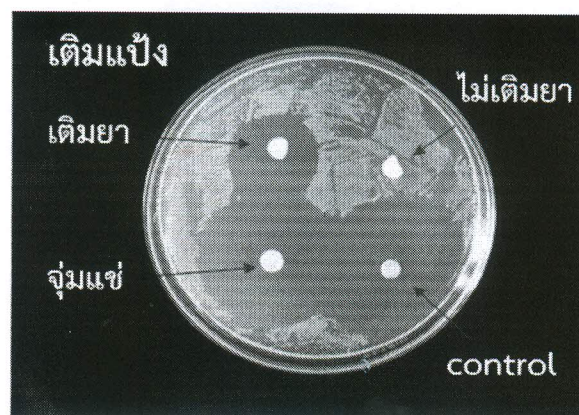


Figure 2 The soluble protein content of hydrogel extracted by phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 and tris-hydrochloride pH 6.8 mixed with 0.1 % Sodium lauryl sulphate (THS)

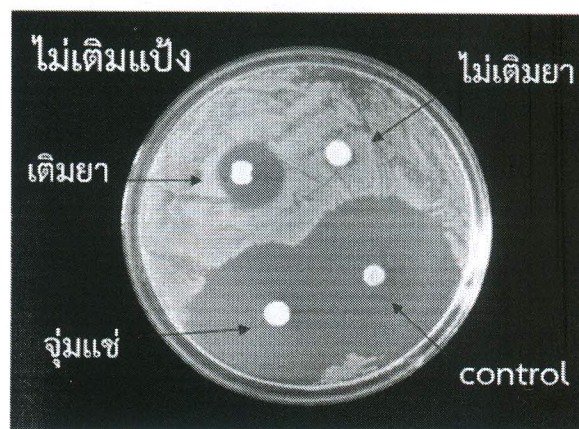
3.3 ผลการทดสอบการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ผลการทดสอบการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียถือว่ามีความสำคัญต่อกลไกของการรักษาบาดแผล ผลการศึกษาพบว่าไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำและแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาตินไนซ์ 3 % w/v เชื่อมขวางด้วย MBA มีรัศมีการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 11.5 มิลลิเมตร ซึ่งมีค่า

มากกว่าไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ (ไม่เติมแป้ง) เชื่อมขวางด้วย MBA มีรัศมีการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 5 มิลลิเมตร ทั้งนี้เนื่องจากแป้งมีคุณสมบัติการบวมตัว และความสามารถในการดูดซับน้ำที่ดี จึงทำให้มีการดูดซับยาได้มากกว่าไฮโดรเจลที่ไม่เติมแป้ง แสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำและแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ 3 % w/v เชื่อมขวางด้วย MBA สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับการใช้กระดาษกรองจุ่มแซในยา (control) พบว่ามีรัศมีการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากัน ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียใช้ยาปฏิชีวนะริแฟมพิซิน (rifampicin) ที่ทางการแพทย์นำมาใช้ในการรักษาวัณโรค โรคเรื้อน โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และโรคผิวหนังอักเสบ ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนอาหารวุ้น ซึ่งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบ และโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร การปลดปล่อยยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ดัง figure 3



(a)



(b)

Figure 3 Clear zone of (a) hydrogel from deproteinized natural rubber latex crosslinking with MBA and gelatinized rice flour 3 % w/v and (b) hydrogel from deproteinized natural rubber latex crosslinking with MBA

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองพบว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไม่ทำให้น้ำยางธรรมชาติมีการเสียสภาพไปจากเดิม เมื่อศึกษาการเตรียมไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA และแบ่งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ พบว่าที่ความเข้มข้นแบ่งเจลาติไนซ์ 3 % w/v ที่อัตราส่วนน้ำยาง : แบ่งข้าวเจ้า 1:2 v/v ได้ไฮโดรเจลที่มีผิวเรียบเนียน สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นได้ดีที่สุด ให้เปอร์เซ็นต์การบวมตัว และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการดูดซับน้ำเท่ากับ 144.50 % และ 50.49 % ตามลำดับ จากการใช้สารสกัด Tris-hydrochloride pH 6.8 ที่ผสมกับ 0.1 % Sodium lauryl sulphate มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 73.48 และ 70.41 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่า Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 มีค่าปริมาณโปรตีนเท่ากับ 6.14 และ 5.74 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ผลการทดสอบพบว่า เอนไซม์โปรติเอสช่วยลดปริมาณโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติได้ และไฮโดรเจลจากน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำเชื่อมขวางด้วย MBA และแบ่งข้าวเจ้าที่ผ่านการเจลาติไนซ์ 3 % w/v อัตราส่วน 1:2 v/v สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปี 2561 และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้สนับสนุนด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สุวดี ก้องพารากุล. 2556. Natural Rubber Modification Technology and Its Application. *KKU Sci. J.* 41(3): 567-581.
- ชญานา นิมสุวรรณ. 2559. การแพ้โปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ : วิธีการตรวจสอบและเทคโนโลยีการแก้ไข [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.rubbercenter.org/files//files/Journal_RDCTR12.pdf. (5 กรกฎาคม 2561).
- มินรยา สำแดงไชย และคณะ. 2557. การศึกษาการกักเก็บและปลดปล่อยยาเซฟาโซลินจากแผ่นไฮโดรเจลจากยางพาราและแป้งดัดแปร. *ว.เภสัชศาสตร์อีสาน*. 9 (ฉบับพิเศษ): 1-5.
- Ward, M.A. 2011. Thermoresponsive polymers for biomedical applications. *Polymers*. 3: 1215-1242.
- Sussman, G.L., D.H. Beezhold, and V.P. Kurup. 2002. Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol* 110: 533-539.
- Nanti, S., P. Wongputtisin, C. Sakulsingharoj, A. Klongklaew and N. Chomsri. 2014. Removal of Allergenic protein in natural rubber latex using protease from *Bacillus sp.* *Food and Applied Bioscience Journal* 2(3): 216-223