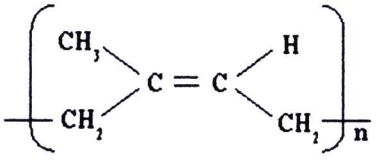
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับยางธรรมชาติ

ยางธรรมชาติมีสูตรทางเคมี คือ ซิส-1,4 พอลิไอโซพรีน (Cis-1,4-polyisoprene) สูตรโครงสร้างทางเคมีของยางธรรมชาติดังแสดงในรูปที่ 2.1 กล่าวคือในโมเลกุลยาง 1 โมเลกุลประกอบด้วยหน่วยของไอโซพรีน (C_5H_8) มาต่อกันเป็นสายยาวแบบเส้นตรงและในหนึ่งหน่วยของไอโซพรีนมีพันธะคู่และมีหมู่อัลฟาเมทธิลีน (α-methylene) ที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาการคงรูปด้วยกำมะถันอยู่ ดังนั้นพันธะคู่ที่มีอยู่ในโมเลกุลของยางจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการคงรูปด้วยกำมะถัน โดยทั่วไปยางธรรมชาติมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยอยู่ในช่วง 200000 ถึง 400000 และมีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลที่กว้างมาก ยางธรรมชาติมีความหนาแน่นเท่ากับ 0.39 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g) ประมาณ –72 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของยางธรรมชาติ [15]

เนื่องจากส่วนประกอบของยางธรรมชาติเป็นไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นยางจึงละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น เบนซีน เฮกเซน เป็นต้น โดยทั่วไปยางธรรมชาติมีโครงสร้างการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแบบอสัณฐาน (Amorphous) แต่ในบางสภาวะโมเลกุลของยางสามารถจัดเรียงตัวค่อนข้างเป็นระเบียบที่อุณหภูมิต่ำหรือเมื่อถูกยืด จึงสามารถเกิดผลึก (Crystallize) ได้ การเกิดผลึกเนื่องจากอุณหภูมิต่ำ (Low temperature crystallization) ทำให้ยางแข็งมากขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นยางมีสภาพอ่อนลงและกลับสู่สภาพเดิม ในขณะที่การเกิดผลึกเนื่องจากการยืดตัว (Strain induced crystallization) ทำให้ยางมีสมบัติเชิงกลดี นั่นคือยางมีความทนต่อแรงดึง (Tensile strength) ความทนต่อการฉีกขาด (Tear resistance) และความต้านทานต่อการขัดถู (Abrasion resistance) สูง

ลักษณะเด่นอีกอย่างของยางธรรมชาติ คือ ความยืดหยุ่น (Elasticity) ยางธรรมชาติมีความยืดหยุ่นสูง เมื่อแรงภายนอกที่มากระทำหมดไป ยางก็กลับคืนสู่รูปร่างและขนาดเดิม (หรือใกล้เคียง) อย่างรวดเร็ว ยางธรรมชาติยังมีสมบัติดีเยี่ยมด้านการเหนียวติดกัน (Track) ซึ่งเป็นสมบัติสำคัญของการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องมีการประกอบ (Assemble) ชิ้นส่วนต่างๆเข้าด้วยกัน เช่น ยางรถยนต์

อย่างไรก็ตามยางดิบมีขีดจำกัดในการใช้งาน คือ มีสมบัติเชิงกลต่ำ และลักษณะทางกายภาพไม่เสถียรขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง กล่าวคือ ยางจะอ่อนเยิ้มและเหนียวเหนอะเมื่ออุณหภูมิ แต่จะแข็งเปราะเมื่ออุณหภูมิต่ำ ด้วยเหตุนี้การใช้งานจำเป็นต้องมีการผสมยางกับสารเคมีต่างๆ เช่น กำมะถัน ผงเขม่าดำ และสารตัวเร่งต่างๆ หลังจากการบดผสม ยางผสมหรือยางคอมปาวด์ (Rubber compound) ที่ได้จะนำไปขึ้นรูปในแม่พิมพ์ภายใต้ความร้อนและความดัน กระบวนการนี้เรียกว่า วัลคาไนเซชัน (Vulcanization) ยางที่ผ่านการคงรูปแล้ว มีความเสถียรไม่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิมากนักและมีสมบัติเชิงกลดีขึ้น ยางธรรมชาติถูกนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ยางต่างๆมากมาย เนื่องจากยางธรรมชาติมีสมบัติดีเยี่ยมในด้านการทนต่อแรงดึง (Tensile strength) แม้ไม่ได้เติมสารเสริมแรงและมีความยืดหยุ่นสูงมากจึงเหมาะที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น ถุงมือยาง ถุงยางอนามัย ยางรัดของ ยางธรรมชาติมีสมบัติเชิงพลวัติ (Dynamic properties) ที่ดี มีความยืดหยุ่น (Elasticity) สูง ในขณะที่มีความร้อนสะสม (Heat build-up) ที่เกิดขณะใช้งานต่ำและมีสมบัติการเหนียวติดกัน (Tack) ที่ดี จึงเหมาะสำหรับการผลิตยางรถบรรทุก ยางล้อเครื่องบิน หรือใช้ยางผสมกับยางสังเคราะห์ในการผลิตยางรถยนต์ เป็นต้น และยางธรรมชาติยังมีสมบัติที่สำคัญคือ ความต้านทานต่อการฉีกขาด (Tear resistance) สูง ทั้งที่อุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูง จึงเหมาะสำหรับการผลิตยางกระเป๋าน้ำร้อน เพราะในการแกะชิ้นงานออกจากเบ้าในระหว่างการผลิตต้องดึงชิ้นงานออกจากเบ้าพิมพ์ในขณะที่ร้อน ยางที่ใช้จึงต้องมีค่าความทนต่อการฉีกขาดขณะร้อนสูง [16] โดยยางแห้งมีองค์ประกอบทั่วไปดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของยางแห้งโดยทั่วไป [17]

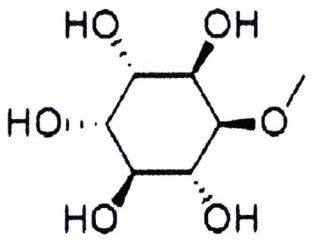
องค์ประกอบ	ยางแห้ง (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ยางไฮโดรคาร์บอน	93.7
โปรตีนและกรดอะมิโน	2.2
นิวทรอลลิปิด	2.4
ไกลโคลิปิดและฟอสโฟลิปิด	1.0
คาร์โบไฮเดรต	0.4
สารอนินทรีย์	0.2
อื่นๆ	0.1

เนื่องจากในยางธรรมชาติมีองค์ประกอบที่ไม่ใช่ยางอยู่หลากหลายชนิด ซึ่งส่งผลกระทบต่อสมบัติของยางธรรมชาติที่แตกต่างกัน โดยสามารถจำแนกออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1. **โปรตีนและกรดอะมิโน** ในยางธรรมชาติประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนหลากหลายชนิด เช่น แอลฟา-โกลบูลิน (α-globulin) ฮีวีน (Hevein) กรดกลูตามิก (Glutamic acid) และกรดแอสพาติก (Aspartic acid) สารในกลุ่มนี้ส่งผลกระทบต่อสมบัติของยางธรรมชาติ โดยทำให้ความเหนียวติดกัน (Stiffening) ความแข็งแรงต่อการฉีกขาด (Tear strength) การเกิดความร้อนสะสม (Heat build-up) และความต้านทานต่อการแตกเมื่อได้รับแรงเชิงพลวัติ (Dynamic crack growth) ของยางธรรมชาติเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ โปรตีนบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาตามธรรมชาติ (Natural accelerator) ของปฏิกิริยาการทำให้ยางคงรูป (Vulcanization) แต่ถ้ามีโปรตีนในปริมาณสูงในยางที่ผ่านการทำให้คงรูปแล้ว ทำให้ยางมีความสามารถในการดูดความชื้นได้สูง ส่งผลให้การคืบ (Creep) และการคลายตัวของแรงเค้น (Stress relaxation) มีค่าสูง
2. **ไขมัน** สารประกอบประเภทไขมันนี้ ประกอบไปด้วยสาร 3 กลุ่ม คือ นิวทรอล ลิปิด (Neutral lipid) ไกลโคลิปิด (Glycolipids) และฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) โดยสารในกลุ่มนี้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการเกิดออกซิเดชันจากความร้อน (Thermal oxidation) โดยฟอสโฟลิปิด จะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาตามธรรมชาติของการคงรูปยาง

(Vulcanization) และกรดไขมันได้แก่ กรดสเตียริก (Stearic acid) ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้น (Activator) ปฏิกิริยาการคงรูป นอกจากนี้ผลกระทบของกรดไขมันต่อการตกผลึกของยางที่อุณหภูมิต่ำ (Low temperature crystallization) โดยกรดไขมันชนิดอิ่มตัว เช่น กรดสเตียริก ช่วยให้ยางตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น กรดไลโนเลอิก (Linoleic acid) ชะลอการตกผลึกของยางที่อุณหภูมิต่ำ

3. **คาร์โบไฮเดรต** คาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในยางธรรมชาติ ส่วนมากเป็นกลุ่มของน้ำตาล โดยสารที่พบมากที่สุด คือ ดิวบราซิทอล (Quebrachitol) หรือชื่อทางเคมีว่า 2-ออโทเมทิล แอลอิโนซิทอล (2-O-methyl-L-inositol) ดังรูปที่ 2.2 ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 1 ในน้ำยางสด น้ำตาลชนิดนี้เป็นส่วนประกอบหนึ่งในกระบวนการรับส่งข้อมูลของระบบประสาท ซึ่งสามารถนำไปทำเป็นสารตั้งต้นในการผลิตยารักษาโรคมะเร็ง หรือตัวยับยั้งเอนไซม์ได้ และยังสามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารประกอบที่ใช้เป็นสารกันบูดสำหรับอาหารกระป๋องได้อีกด้วย นอกจากดิวบราซิทอลแล้ว ยางธรรมชาติยังประกอบไปด้วยน้ำตาลชนิดอื่นๆด้วย ในปริมาณที่น้อย เช่น ซูโครส (Sucrose) กลูโคส (Glucose) กาแลกโตส (Galactose) ฟรุกโตส (Fructose) แรฟฟีโนส (Raffinose) และ เพนโตส (Pentose) โดยน้ำตาลเหล่านี้จะถูกแบคทีเรียย่อยสลายได้ง่าย และเปลี่ยนเป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ (Volatile fatty acid, VFA) โดยค่ากรดไขมันที่ระเหยได้เป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำยางมีเสถียรภาพสูงหรือต่ำ



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของ 2-O-methyl-L-inositol [17]

4. **ไอออนของโลหะ** ปริมาณของไอออนของโลหะที่มีในยางธรรมชาติแตกต่างกันออกไป เนื่องจากกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน ปริมาณไอออนของโลหะนี้ ส่งผลกับเสถียรภาพของน้ำยาง (Colloidal stability) และการเสื่อมสภาพของยางเนื่องจากปฏิกิริยา

ออกซิเดชัน ตัวอย่างไอออนโลหะที่พบในยางธรรมชาติ ได้แก่ โพแทสเซียมไอออน (K^+) แมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) โซเดียมไอออน (Na^+) แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ทองแดงไอออน (Cu^{2+}) แมงกานีสไอออน (Mn^{2+}) และ เหล็กไอออน (Fe^{2+}) เป็นต้น [17]

2.2 ทฤษฎีการคงรูปของยางธรรมชาติ

สารเคมีที่ทำให้ยางคงรูปเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ต้องผสมลงไปในยาง เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่เรียกว่า ปฏิกิริยาวัลคาไนซ์เซชันหรือปฏิกิริยาการคงรูป การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวส่งผลทำให้โมเลกุลของยางเกิดการเชื่อมโยงกันเป็นโครงสร้างตาข่าย 3 มิติ ซึ่งทำให้ยางเปลี่ยนสภาพจากอ่อนเหนียวหนืบ (Tacky) และมีการไหลได้แบบเทอร์โมพลาสติกไปเป็นยางคงรูป (เทอร์โมเซต) ที่มีความยืดหยุ่นสูง มีความทนทาน และมีสมบัติที่เสถียรไม่เปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิมากนัก การทำให้ยางคงรูปจะสามารถทำได้ด้วยการใช้รังสีที่มีพลังงานสูง โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารทำให้ยางคงรูป แต่วิธีการคงรูปยางดังกล่าวจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง และใช้ได้ดีเฉพาะในกรณีที่ต้องการคงรูปยางที่มีความบางเท่านั้น ด้วยเหตุนี้การทำให้ยางคงรูปด้วยรังสีที่มีพลังงานสูงจึงไม่เป็นที่นิยมใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม ปัจจุบันการคงรูปยางส่วนใหญ่เกิดจากการเติมสารเคมีกลุ่มที่ทำให้ยางคงรูปโดยทั่วไป การคงรูปยางที่ใช้กันมากในอุตสาหกรรมสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระบบใหญ่ๆ ดังนั้น ระบบที่ใช้กำมะถัน (Sulphur) ระบบที่ใช้เพอร์ออกไซด์ (Peroxide) และระบบที่ใช้สารเคมีอื่นๆ เช่น โลหะออกไซด์ เป็นต้น

2.2.1 ระบบการคงรูปยางด้วยกำมะถัน

ระบบการคงรูปด้วยกำมะถันเป็นระบบที่ใช้กันมากในปัจจุบัน เพราะเป็นระบบที่มีต้นทุนต่ำ การคงรูปเกิดขึ้นได้เร็ว (เมื่อใช้กำมะถันร่วมกับสารตัวเร่งปฏิกิริยาในปริมาณที่เหมาะสม) และยางคงรูปที่ได้มีสมบัติเชิงกลที่ดี ด้วยเหตุนี้ระบบการคงรูปด้วยกำมะถันจึงนิยมใช้ในการคงรูปยางแทบทุกชนิดที่มีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุล โดยเฉพาะยางธรรมชาติและยางสังเคราะห์ส่วนใหญ่ เช่น ยาง SBR BR และ NBR เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ระบบการคงรูปด้วยกำมะถันก็มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถใช้ในการคงรูปยางที่ไม่มีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุล เช่น ยางซิลิโคนหรือยาง EPM ทั้งนี้เนื่องจากพันธะคู่เป็นตำแหน่งที่กำมะถันเข้าไปทำปฏิกิริยาและทำให้เกิดการเชื่อมโยงทางเคมีขึ้น ด้วยเหตุนี้อัตราเร็วของการคงรูปด้วยกำมะถันจึงขึ้นอยู่โดยตรงกับปริมาณพันธะคู่ที่มีอยู่ในสายโซ่โมเลกุลของยาง

2.2.2 ชนิดของกำมะถัน

กำมะถันที่ใช้ในกระบวนการผลิตยางแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด

1. **กำมะถันรอมบิก (Rhombic)** เป็นกำมะถันที่นิยมใช้กันมากที่สุด มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีกำมะถันอยู่ 8 อะตอม (S_8) สามารถตกผลึกได้เนื่องจากกำมะถันชนิดนี้สามารถละลายเข้าไปในพอลิเมอร์ได้ระดับหนึ่ง บางครั้งจึงเรียกกำมะถันชนิดนี้ว่ากำมะถันละลายได้ (Soluble sulphur)
2. **กำมะถันอสัณฐาน (Amorphous)** กำมะถันอสัณฐานเกิดจากอะตอมของกำมะถันจำนวนมากมาเรียงต่อกันจึงมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีคล้ายพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงถึงประมาณ 100000 - 300000 กรัมต่อโมล เนื่องจากกำมะถันชนิดนี้ไม่ละลายในยางและตัวทำละลาย ส่วนใหญ่เรียกว่ากำมะถันที่ไม่ละลาย (Insoluble sulphur)

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบสมบัติพื้นฐานของกำมะถันทั้ง 2 ชนิด

สมบัติ	กำมะถัน	
	รอมบิก	อสัณฐาน
น้ำหนักอะตอม	32.06	32.06
ลักษณะภายนอก	ผงสีเหลือง	ผงสีเหลือง
ความถ่วงจำเพาะ	2.07	1.92
จุดหลอมเหลว (°C)	112.8-119	> 110
ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (mm)	< 30	< 20

2.2.3 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการคงรูปด้วยระบบที่ใช้กำมะถัน

ถ้านำยางที่มีพันธะคู่มาผสมกับกำมะถันและให้ความร้อน ปฏิกิริยาการคงรูปก็จะเริ่มเกิดขึ้นผ่านอนุมูลอิสระ โดยเริ่มแรกกำมะถัน (S_8) ที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็นรูปวงแหวนแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระดังสมการที่ 2.1

$$S_8 \longrightarrow .S_x. \qquad \textbf{สมการที่ 2.1}$$

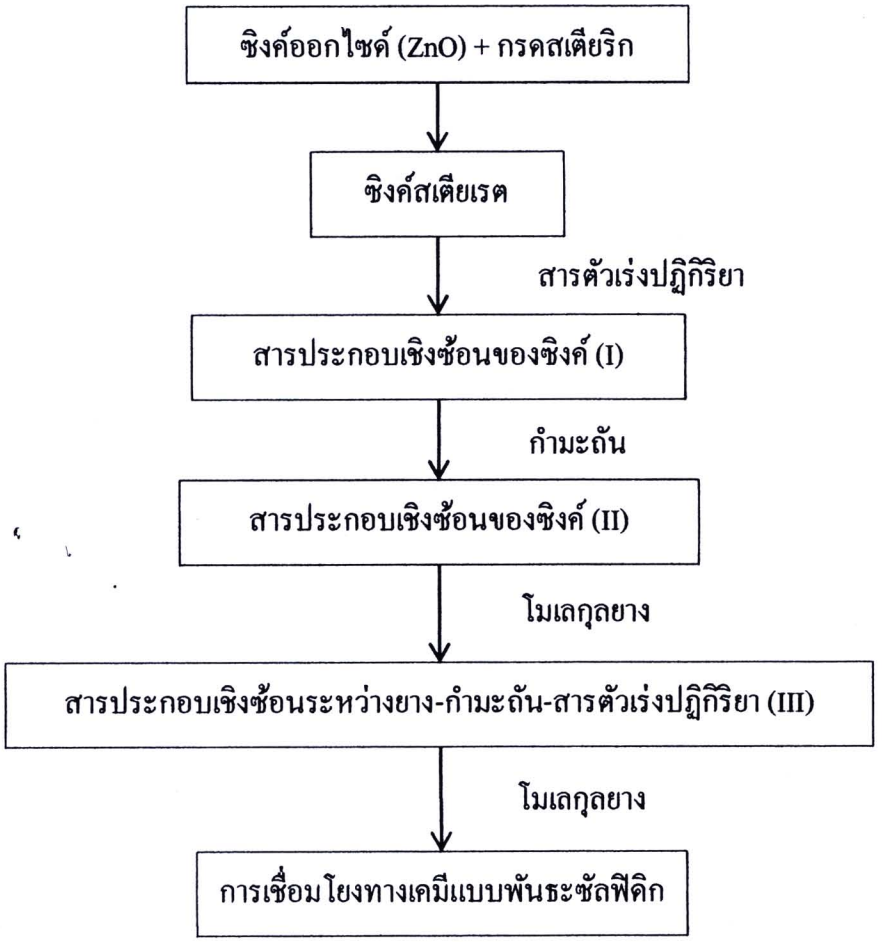
อิเล็กตรอนของอนุมูลอิสระซึ่งอยู่ที่ปลายด้านหนึ่งเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุล ของยางสายโซ่ที่ 1 ในขณะที่อิเล็กตรอนที่อยู่ปลายอีกด้านหนึ่งของอนุมูลอิสระก็จะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของยาง

สายโซ่ที่ 2 เกิดปฏิกิริยาเชื่อมโยงทางเคมีขึ้น อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นได้ช้ามาก จำเป็นต้องใช้กำมะถันในปริมาณที่สูงและต้องใช้อุณหภูมิที่สูงมากๆ จึงทำให้ปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นได้ดี ปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาสารเคมีชนิดต่างๆมากมาย ที่สามารถทำให้ปฏิกิริยาการคงรูปด้วยกำมะถันเกิดขึ้นได้เร็ว ยางมีระดับการคงรูปที่สูงและมีสมบัติเชิงกลที่ดี ได้แก่ สารกระตุ้นปฏิกิริยา (Activator) และสารตัวเร่งปฏิกิริยา (Accelerator) ตัวอย่างที่สำคัญของสารกระตุ้นปฏิกิริยา ได้แก่ ซิงค์ออกไซด์ และกรดสเตียริก เป็นต้น ส่วนตัวอย่างของสารตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้โดยทั่วไปดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ผลทางเทคนิคของตัวเร่งปฏิกิริยาในยางธรรมชาติ [18]

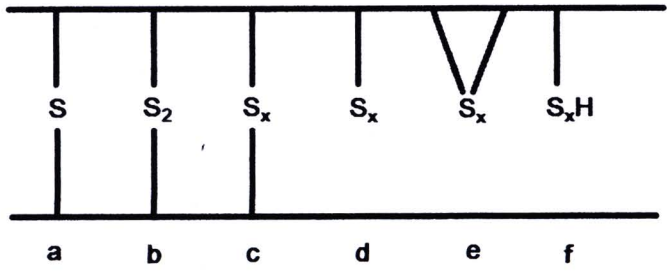
Class	Speed/Temperature range
Guanidines (DPG DOTG)	Medium/slow (140-180°C)
Thiazoles (MBT MBTS)	Semi-fast (130-160°C)
Sulphenamides (CBS MBS)	Fast, delayed action (130-160°C)
Thiurams (TMTD TETD TMTM)	Very fast (110-130°C)
Dithiocarbamates (ZDMC ZDEC)	Super fast (70-110°C)

ในกระบวนการผลิตยาง เมื่อมีการเติมสารกระตุ้นปฏิกิริยาและสารตัวเร่งปฏิกิริยา (เช่น ซิงค์ออกไซด์ และกรดสเตียริก) ลงไปในระบบ ปฏิกิริยาการคงรูปเริ่มต้นด้วยการเข้าทำปฏิกิริยากันของซิงค์ออกไซด์และกรดสเตียริกได้เป็นซิงค์สเตียเรต (เกลือ) ที่สามารถละลายในยางได้ หลังจากนั้นซิงค์สเตียเรตจึงเข้าทำปฏิกิริยากับสารตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของซิงค์ (I) สารประกอบเชิงซ้อนของซิงค์ที่เกิดขึ้น เข้าทำปฏิกิริยากับกำมะถันเกิด เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของซิงค์ (II) และสุดท้ายเข้าทำปฏิกิริยากับยางที่ตำแหน่งพันธะคู่หรือที่คาร์บอนตรงตำแหน่ง α-methylene ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างยาง-กำมะถัน-สารตัวเร่งปฏิกิริยา (III) ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อน (III) ที่เกิดขึ้นสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของยางอีกสายโซ่หนึ่ง เกิดเป็นการเชื่อมโยงทางเคมีแบบพันธะซัลฟิดิก (Sulphidic) ขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาการคงรูปด้วยกำมะถัน

การเชื่อมโยงด้วยระบบกำมะถัน อาจเกิดได้หลายรูปแบบ ดังแสดงในรูปที่ 2.4 จากรูปเห็นได้ว่า การเชื่อมโยงอาจเกิดผ่านพันธะมอนอซัลฟิดิก (Monosulphidic) ไดซัลฟิดิก (Disulphidic) หรือ พอลิซัลฟิดิก (Polysulphidic) ทั้งนี้ขึ้นกับอัตราส่วนของปริมาณกำมะถันต่อสารตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างการเชื่อมโยงแบบต่าง ๆ ของกำมะถัน (a) มอนอซัลฟิดิก (b) ไดซัลฟิดิก (c) พอลิซัลฟิดิก เมื่อ $x \geq 3$ (d) สายโซ่กำมะถัน (e) โครงสร้างแบบวง และ (f) หมู่ไทออล (Thiol)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

โดยทั่วไป ปริมาณกำมะถันและสารตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้ในระบบการคงรูปแบบต่างๆ ดังนี้

- **ระบบการคงรูปแบบดั้งเดิมหรือระบบ CV** (Conventional vulcanization) นิยมใช้กำมะถันปริมาณ 1.5-2.5 ส่วนในยางร้อยส่วนและใช้สารตัวเร่งปฏิกิริยาประมาณ 0.5-1.0 ส่วนในยางร้อยส่วน
- **ระบบการคงรูปแบบกึ่งประสิทธิภาพหรือระบบ Semi-EV** (Simi-efficient vulcanization) นิยมใช้กำมะถันปริมาณ 0.5-1.2 ส่วนในยางร้อยส่วนและใช้สารตัวเร่งปฏิกิริยาประมาณ 1.5-2.5 ส่วนในยางร้อยส่วน
- **ระบบการคงรูปแบบประสิทธิภาพหรือระบบ EV** (Efficient vulcanization) นิยมใช้กำมะถันไม่เกิน 0.2 ส่วนในยางร้อยส่วนและใช้สารตัวเร่งปฏิกิริยาในกลุ่มที่ให้กำมะถันออกมาในระหว่างการคงรูป ประมาณ 2.5-3.5 ส่วนในยางร้อยส่วน

โดยระบบการคงรูปดังกล่าวมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป เช่น ระบบที่มีการใช้กำมะถันที่สูงหรือระบบ CV การเชื่อมโยงส่วนใหญ่เป็นแบบพอลิซัลฟิดิก ยางมีสมบัติความยืดหยุ่นสูง มีสมบัติเชิงกล เช่น ความทนทานการดึงยืด ความทนทนการฉีกขาด และการยืดตัวที่จุดขาด ความต้านทานการล้าตัวที่ดี ส่วนในระบบที่มีการใช้กำมะถันต่ำ หรือระบบ EV การเชื่อมโยง ส่วนใหญ่เป็นแบบมอนอซัลฟิดิกและไดซัลฟิดิก ยางที่ได้มีสมบัติเชิงกลที่ไม่ดีเท่าระบบ CV แต่มีความทนทานความร้อนได้ดีกว่า มีการเสียรูปหลังการกดอัด (Compression set) ที่ต่ำกว่า โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูงๆ และมีความต้านทานการเสื่อมสภาพเมื่ออบคงรูปนานเกินไป เนื่องจากระบบคงรูปแบบดั้งเดิมหรือระบบ CV และระบบการคงรูปแบบประสิทธิภาพหรือระบบ EV ต่างมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป ดังนั้นการเลือกใช้ระบบการคงรูปแบบกึ่งประสิทธิภาพหรือระบบ Semi-EV เป็นทางเลือกหนึ่งที่ทำให้ได้ยางคงรูปที่มีสมบัติอยู่ระหว่างกลางของทั้ง 2 ระบบ [15]

2.2.4 ระบบการคงรูปยางด้วยเพอร์ออกไซด์

ระบบนี้สามารถใช้ในการทำให้ยางเกือบทุกชนิดคงรูปโดยเฉพาะยางสังเคราะห์ที่ไม่มีหรือมีปริมาณพันธะคู่ในโมเลกุลต่ำ ยางที่คงรูปด้วยระบบนี้มีสมบัติเชิงกลที่ไม่ดีนัก ต้นทุนสูงกว่าระบบการคงรูปด้วยกำมะถัน และยางคงรูปที่ได้มีกลิ่นของ Acetophenone ซึ่งเป็นผลพลอยได้ (By-product) จากการทำปฏิกิริยาวัลคาไนเซชัน แต่ว่ายางจะมีความทนทานต่อความร้อนสูง ไม่ก่อให้เกิดปัญหาเรื่องการบลูมของสารเคมีและไม่ทำให้ยางเกิดการเปลี่ยนสี [19]

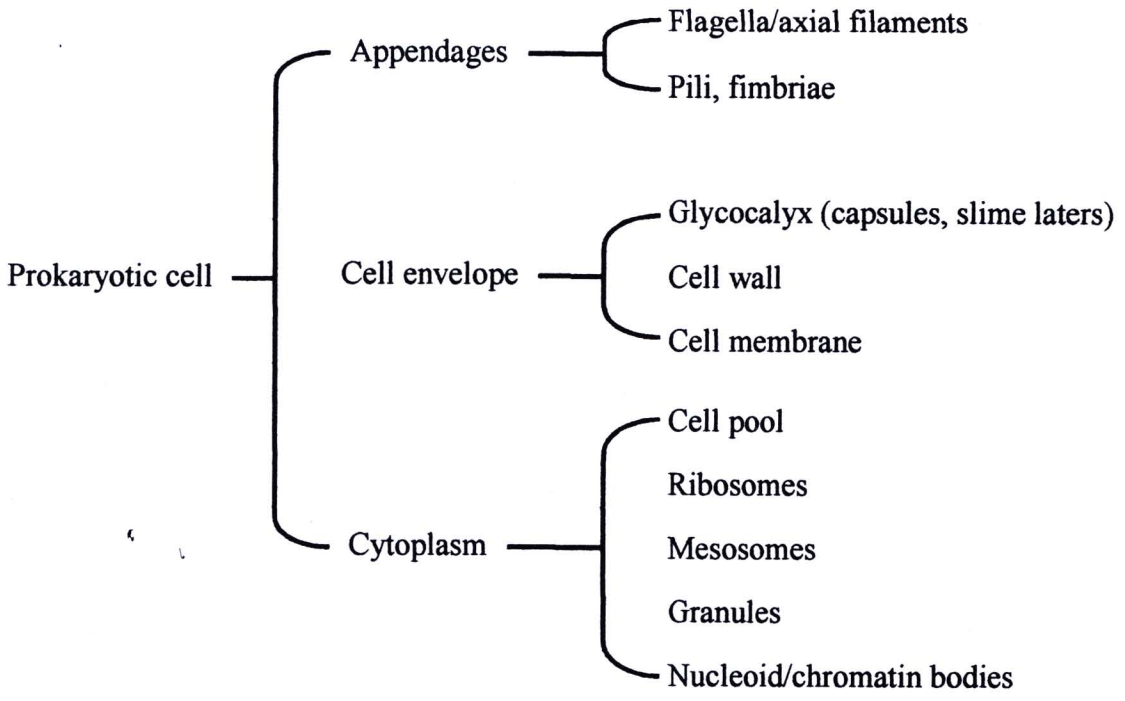
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 22 มิ.ย. 2555
เลขทะเบียน 247013
เลขเรียกหนังสือ

2.2.5 การบดผสมยางและสารเคมีคงรูปยาง

ในการบดผสมยางอย่างมีประสิทธิภาพและบดยางให้มีความสม่ำเสมอในคุณภาพนั้น ลำดับขั้นตอนการเติมสารเคมีต่างๆ ต้องเป็นไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้อง หลักการโดยทั่วไปคือ หลังจากการบดยางให้นิ่มลง แล้วเติมสารที่บดให้กระจายในเนื้อยางได้ยากก่อน เช่น ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) กรดสเตียริค (Stearic acid) ผงเขม่าดำ เพราะช่วงนี้อุณหภูมิในการบดยังต่ำ และยางมีความหนืดสูง แรงกระทำเชิงกลจึงมีมาก จากนั้นเติมสารตัวเติมที่ไม่เสริมแรง สารอื่นๆ และน้ำมัน สารที่แนะนำให้เติมลำดับสุดท้าย คือ สารตัวเร่ง กำมะถัน และสารป้องกันยางตาย (Scorch) ยางที่ได้หลังจากที่ผสมสารเคมีแล้วเรียกว่า ยางคอมปาวด์ (Rubber compound) [20] ลำดับการเติมสารคงรูปยางก่อน-หลังนั้นมีความสำคัญในเรื่องการทำปฏิกิริยากัน ดังนั้น การเติมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปผสมในยางนั้น ทำการเติมทีหลังสุด เนื่องจากสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เป็นสารที่ไม่เสริมแรง อาจมีการทำปฏิกิริยากันระหว่างสารเคมีที่ใช้ในการคงรูปยางกับสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อมีการผสมสารเคมีที่ใช้ในการคงรูปยางและสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลงไปแล้ว มีการทดสอบระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดการเชื่อมขวางของสายโซ่โมเลกุล โดยใช้เครื่องรีโอมิเตอร์แบบจานแกว่ง (Oscillating disk rheometer, ODR) ในการทดสอบ

2.3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีอยู่มากมายหลายชนิดในสภาพแวดล้อม โดยแบคทีเรียมีชนิดที่ไม่ก่อให้เกิดโรคและก่อให้เกิดโรคในคนหรือในสัตว์ ดังนั้นการศึกษาและจำแนกชนิดของแบคทีเรียจึงต้องใช้ความละเอียดในการสังเกต และแยกความแตกต่างของแบคทีเรียทั้งลักษณะภายนอก ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่าเช่น สีขนาดโคโลนี ความโปร่งแสงทึบแสง ความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกิด Hemolysis ใน Blood agar การย้อมสีและดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ในการศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย นอกจากต้องอาศัยการสังเกตและการทดสอบทุกขั้นตอนแล้ว ยังต้องมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์แบคทีเรีย เพื่อจะได้เข้าใจถึงธรรมชาติและกลไกในการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย [21] ลักษณะโครงสร้างของเซลล์แบคทีเรียจัดอยู่ในกลุ่ม Prokaryotic cell ซึ่งโครงสร้างเมื่อเปรียบเทียบกับ Eukaryotic cell เป็นโครงสร้างที่ไม่สลับซับซ้อน และโครงสร้างของแบคทีเรียจัดเป็น Typical prokaryotic cell มีส่วนประกอบดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ส่วนประกอบของ Typical prokaryotic cell [22]

ส่วนของ Appendages หรือรยางค์ที่ยื่นออกนอกเซลล์

- **Flagella หรือแส้** มีลักษณะเป็นเส้นยาวยื่นออกจากชั้นเยื่อหุ้มไซโตพลาสต (Cytoplasmic membrane) ขนาดความยาวของ Flagella ชนิดนี้ยาวกว่าเซลล์หลายเท่า หน้าที่ของ Flagella คือ ใช้ในการเคลื่อนที่ (Motility) อาจใช้ยึดเกาะกับสิ่งต่างๆได้ การเคลื่อนที่ของแบคทีเรียมีทิศทางขึ้นอยู่กับสิ่งดึงดูด (Attractant) หรือสิ่งกระตุ้น (Stimulus) การเคลื่อนที่เข้าหาหรือออกจากสิ่งดึงดูด เรียกว่า "Taxis" โดยสิ่งดึงดูดอาจเป็นสารเคมี เรียก Chemotaxis เคลื่อนที่เข้าหาแสงเรียก Phototaxis เคลื่อนที่เข้าหาสนามแม่เหล็กเรียก Magnetotaxis
- **Pilus หรือ Pili** เป็นรยางค์ยื่นออกนอกเซลล์อาจมีขนาดสั้น เป็นสารโปรตีน Pilin ทำหน้าที่ในการยึดเกาะกับเซลล์อื่น และเป็นเส้นทางส่งผ่านสารพันธุกรรม (Sex-pilus) ในขณะที่แบคทีเรีย Conjugate กัน
- **Fimbriae** เป็นขนสั้นๆรอบเซลล์ มักพบในแบคทีเรียรูปท่อน และแบคทีเรียรูปร่างกลมบางชนิด ทำหน้าที่ในการยึดเกาะบนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นที่แบคทีเรียเข้าไปอาศัยอยู่

ส่วนของ Cell envelope

- **ชั้น Glycocalyx** ดังนี้ ส่วนของ Slime layer ซึ่งมีลักษณะเป็นเมือกเหนียว เป็นสารพวก Polysaccharide ทำหน้าที่ในการช่วยยึดเกาะพื้นผิวและช่วยป้องกันเซลล์จากการสูญเสียน้ำและอาหาร กับส่วนของ Capsule เป็นสารพวก Polysaccharide หรือ Polypeptide แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรีย ทำหน้าที่ช่วยป้องกันเซลล์ของแบคทีเรียจากการถูกทำลาย โดยเซลล์ของโฮสต์ (Host)
- **ผนังเซลล์ (Cell wall)** ส่วนที่แข็งที่สุดของเซลล์ มีส่วนประกอบของผนังเซลล์แตกต่างกันในกลุ่มของแบคทีเรีย ส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์คือ ชั้น Peptidoglycan ซึ่งเป็น Polymer ของ Glycan โดยชั้นของ Peptidoglycan เป็นส่วนที่ถูกทำลายด้วยยาปฏิชีวนะบางชนิดได้ง่าย เช่น ยา Penicillin และ Cephalosporin เป็นต้น รวมทั้งถูกทำลายด้วยสาร Disinfectants เช่น แอลกอฮอล์ และพวก Detergent เอนไซม์ Lysozyme ก็สามารถย่อยชั้น Peptidoglycan ได้
- **ความแตกต่างของโครงสร้างผนังเซลล์** Gram stain เป็นการย้อมสีเซลล์แบคทีเรียที่บอกความแตกต่างของโครงสร้างผนังเซลล์ได้ดี โดยการย้อมสีวิธีนี้ทำให้แยกแบคทีเรียได้เป็น 2 กลุ่ม ตามปฏิกิริยาการติดสี ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก เซลล์ติดสีม่วงของ Crystal violet ซึ่งเป็นสีย้อมสีแรก (Primary stain) กับแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์ติดสีแดงของ Safranin O ซึ่งเป็นสีย้อมสีที่ 2 หรือสีย้อมทับ (Secondary stain หรือ Counterstain) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก จะมีชั้น Peptidoglycan ที่หนา มีสาร Teichoic acid และ Lipoteichoic acid ยึดติดกับชั้น Peptidoglycan ไม่มีชั้น Outer membrane ส่วนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบจะมีชั้น Peptidoglycan บาง ไม่มี Teichoic และ Lipoteichoic acid แต่จะมีชั้น Outer membrane หุ้มอยู่ภายนอกชั้น Peptidoglycan ชั้น Outer membrane ประกอบด้วยสาร Lipopolysaccharide Lipoprotein และพวก Porin protein เปรียบเทียบความแตกต่างของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ความแตกต่างของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

คุณลักษณะ	แบคทีเรียแกรมบวก	แบคทีเรียแกรมลบ
1. จำนวนชั้น	1	2
2. องค์ประกอบทางเคมี	ชั้น Peptidoglycan - NAM, NAG, Amino acid - Teichoic acid - Lipoteichoic acid	ชั้น Outer membrane - Lipopolysaccharide - Lipoprotein ชั้น Peptidoglycan - NAM, NAG, Amino acid
3. ความหนาของชั้น Peptidoglycan	~ 20-80 นาโนเมตร	~ 8-10 นาโนเมตร
4. Outer membrane	ไม่มี	มี
5. Periplasmic space (ชั้นระหว่าง Peptidoglycan กับ Cell membrane)	แคบ	กว้าง
6. Porin protein	ไม่มี	มี

หน้าที่ของผนังเซลล์ ส่วนใหญ่ทำหน้าที่ป้องกันเซลล์จากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น แรงดันออสโมซิส สารที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ และหน้าที่ให้เซลล์คงรูปร่างอยู่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า Porin protein ในแบคทีเรียแกรมลบ ช่วยป้องกันสารที่เป็นอันตรายต่อเซลล์เช่น ยาปฏิชีวนะบางชนิดไม่ให้เข้าสู่เซลล์ รวมทั้งสารเคมีบางชนิดด้วย

- **เยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane, Plasma membrane, Cytoplasmic membrane)** เป็นส่วนที่อยู่ถัดจากผนังเซลล์ มี Periplamic membrane คั่นกลาง ทำหน้าที่ห่อหุ้มส่วนของ Cytoplasm ทั้งหมด หน้าที่หลักของ Cell membrane เป็นทางเข้า-ออก ของแร่ธาตุสารอาหารจากภายนอกเข้าสู่ภายใน และจากภายในออกสู่ภายนอก แต่เป็น Selective permeable และพบว่า Cell membrane ของแบคทีเรียเป็นบริเวณที่สำคัญสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ การย่อยสลายสารอาหาร และสร้างพลังงาน รวมทั้งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่เกิดบริเวณนี้ด้วย

ส่วนของชั้น Cytoplasm

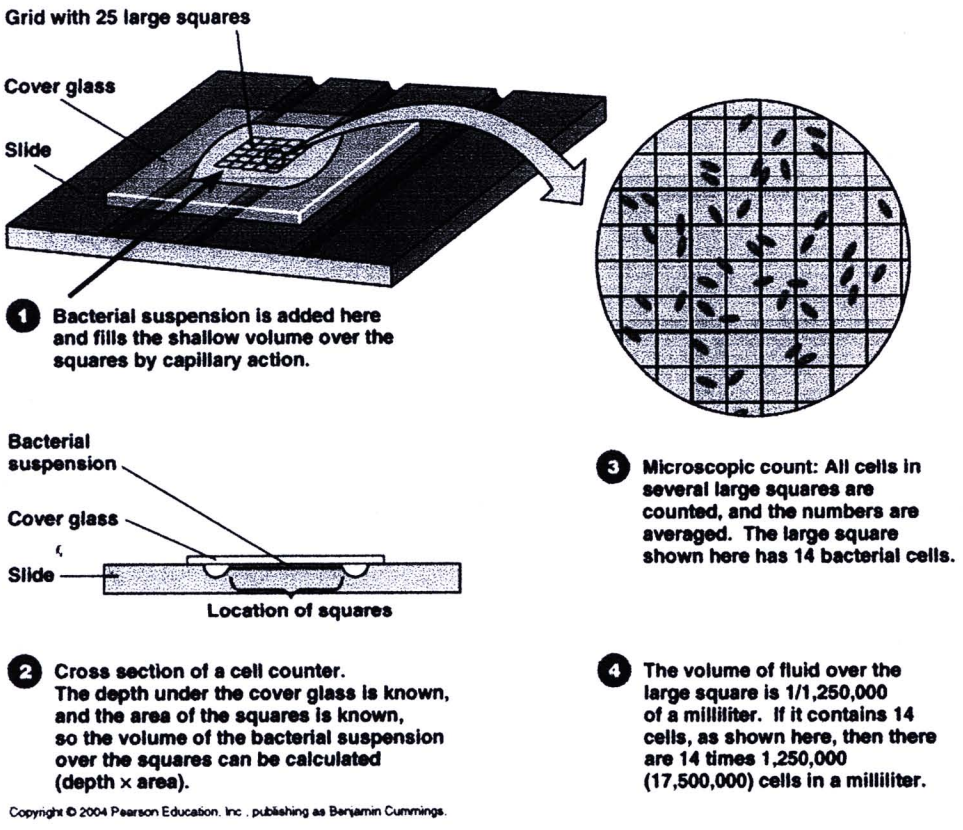
ชั้น Cytoplasm เป็นชั้นในสุดของเซลล์ หมายถึง ทุกส่วนในเซลล์บางครั้งเรียกว่า Cell pool ส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำประมาณร้อยละ 70-80 เป็นบริเวณซึ่งมีกระบวนการทางชีวเคมีเกิดขึ้น ในการสร้างส่วนต่างๆของเซลล์และสร้างพลังงาน ในชั้น Cytoplasm ประกอบด้วย Nuclear area, Plasmid, Ribosome, Granules, Endospore

2.4 การเจริญของแบคทีเรีย (Bacterial growth)

การเจริญของแบคทีเรีย หมายถึง การเพิ่มจำนวนของเซลล์มากกว่าการเพิ่มขนาดเซลล์ แบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนแบบ Binary fission โดยการแบ่งเซลล์จากหนึ่งเป็นสอง การเพิ่มจำนวนของเซลล์ในระยะแรกยังมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า แต่เมื่อมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจะมองเห็นได้ชัดเจนโดยถ้าแบคทีเรียเจริญอยู่ในอาหารเหลวก็จะเห็นอาหารขุ่นมากขึ้น และถ้าเจริญอยู่บนอาหารแข็งก็จะเห็นลักษณะเป็นกลุ่มของเซลล์เราเรียกว่าโคโลนี (Colony) แต่ละโคโลนีประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากที่อาจเริ่มต้นมาจากเซลล์หนึ่งเซลล์หรือหลายเซลล์ประชากรแบคทีเรียในโคโลนีเดียวกันที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์ มีลักษณะเหมือนกันทุกประการ

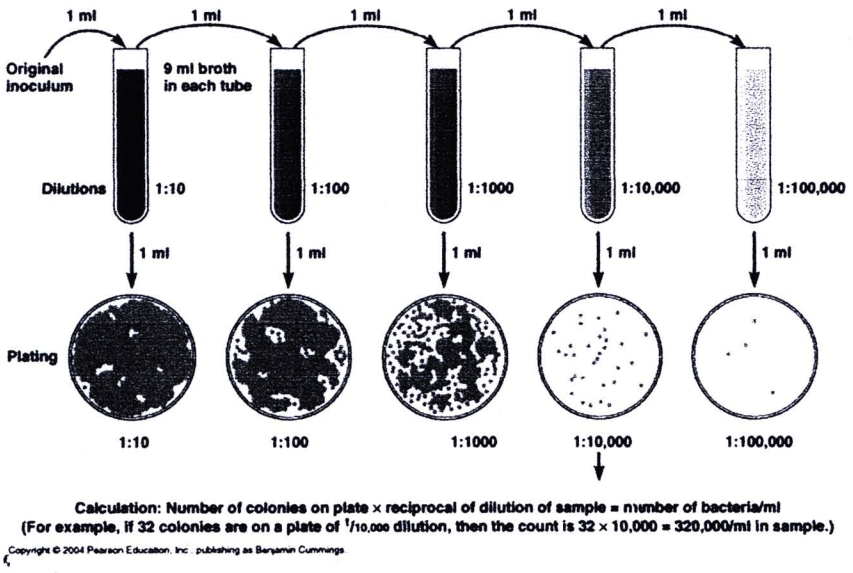
2.4.1 การวัดการเจริญของแบคทีเรียโดยตรง

- **Direct microscopic count** การนับจำนวนเซลล์โดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยหยดตัวอย่างลงบน Petroff Hausser slide counting chamber ดังรูปที่ 2.6 ซึ่งเมื่อส่องดูที่กำลังขยายสูงเห็นลักษณะเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาดเล็กจำนวน 25 ช่อง คิดเป็นพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร นับจำนวนเซลล์ทั้งหมดแล้วหาค่าเฉลี่ยต่อ 1 ช่อง การนับวิธีนี้ นับทั้งเซลล์ที่ตายแล้วและยังไม่ตาย ถ้าต้องการนับเฉพาะเซลล์ที่ยังมีชีวิต ให้หยดสี Basic dye บางชนิดลงไป เช่น Methylene blue เซลล์ที่ยังไม่ตายจะไม่ติดสีน้ำเงิน ส่วนเซลล์ที่ตายสามารถติดสี ในการคำนวณจำนวนเซลล์ เมื่อได้ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ต่อ 1 ช่องแล้ว ต้องนำไปคำนวณหาจำนวนเซลล์ทั้งหมดต่อปริมาณตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

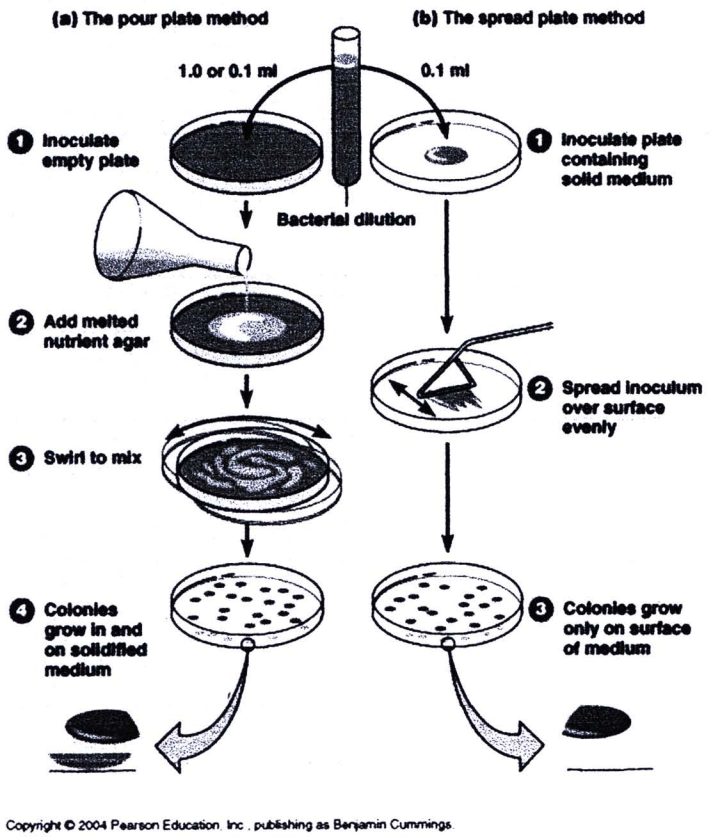


รูปที่ 2.6 การวัดการเจริญแบคทีเรียด้วยวิธี Direct microscopic count โดยใช้ Petroff Hausser slide counting chamber [23]

- **Dilution plate count** เป็นการตรวจนับจำนวนบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอาหารแข็ง (Solid media) โดยทำการเจือจางตัวอย่างที่ต้องการตรวจนับเป็นลำดับซึ่งเรียกว่า Serial dilution แล้วนำมาเพาะเลี้ยงให้เจริญโดยใช้เทคนิค Pour plate และ Shake plate หรือ Spread plate วิธีการทำ Serial dilution และการเพาะเลี้ยงบนอาหารแสดงในรูปที่ 2.7 และรูปที่ 2.8 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ตรวจสอบจากจำนวนโคโลนีบนอาหารที่เพาะเลี้ยงโดยเลือกความเจือจางที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจาน ถ้าที่ความเจือจางนั้นทำ 2 จาน (Duplicate) ทำการนับจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จาน แล้วหาค่าเฉลี่ยต่อ 1 จาน เมื่อคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด สามารถคำนวณต่อจำนวนตัวอย่าง 1 กรัมหรือ 1 มิลลิลิตรที่ไม่ได้เจือจาง แล้วนำค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีต่อจานที่ได้คูณกับ Dilution factor



รูปที่ 2.7 การวัดการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี Dilution plate count วิธีการทำ Serial dilution และเพาะเลี้ยงบนอาหาร [23]

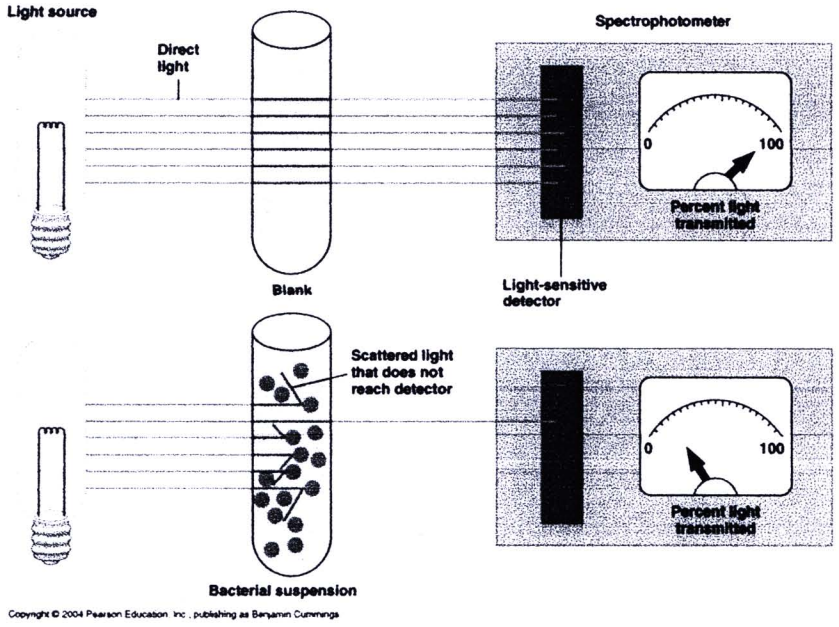


รูปที่ 2.8 การทำ Dilution plate count โดยวิธี Pour plate และ Shake plate เปรียบเทียบกับวิธี Spread plate [23]

- **การหาค่า MPN (Most probable number)** เป็นการประเมินจำนวนสูงสุดของแบคทีเรียที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยวิธีทางสถิติ

2.4.2 การวัดการเจริญของแบคทีเรียโดยอ้อม

- **การวัดค่าความขุ่นของเซลล์ในอาหารเหลว** โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer โดยแสดงเป็นค่าดูดกลืนคลื่นแสง (Optical density, OD) คือเมื่อแสงบางส่วนไปชนกับเซลล์แบคทีเรียที่ถูก Absorb ไว้ หรือปริมาณแสงที่ส่องผ่านตัวอย่างไปตกกระทบ Detector (% Transmittance, %T) ดังรูปที่ 2.9 ถ้าแบคทีเรียเจริญเพิ่มจำนวนมาก อาหารเลี้ยงเชื้อมีความขุ่นมาก ทำให้ %T ต่ำ แต่ OD จะสูง ดังนั้นการเจริญของแบคทีเรียแปรโดยตรงกับค่า OD แต่ผันแปรผกผันกับ %T



รูปที่ 2.9 การวัดค่าความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียโดยวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสง (OD) หรือปริมาตรที่แสงส่องผ่าน (% Transmittance) [23]

- **การวัดกิจกรรมของเซลล์** เช่น การวัดปริมาณของสารบางชนิดที่แบคทีเรียสร้างขึ้นหรือปล่อยออกมาในระหว่างการเจริญหรืออาจวัดจากปริมาณสารตั้งต้นที่แบคทีเรียใช้ไป
- **การวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry cell weight)** อาจทำได้ 2 วิธีคือ การกรองตัวอย่างที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวผ่าน Milipore membrane นำไปอบให้แห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนักเซลล์แห้ง

หรือนำอาหารเหลวที่มีเซลล์แบคทีเรียเจริญอยู่ (ซึ่งต้องทราบปริมาณที่แน่นอน) ไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2-3 ครั้ง แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 80-100 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำเซลล์แห้งไปชั่งน้ำหนัก ถ้าน้ำหนักเซลล์แห้งมาก แสดงว่าแบคทีเรียเจริญเพิ่มจำนวนมาก

2.5 สารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

สารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ สารเคมีประเภทอินทรีย์และอนินทรีย์ ดังนี้

2.5.1 2–hydroxypropyl–3–piperazinyl–quinoline carboxylic acid methacrylate (HPQM)

HPQM เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์และสิ่งแวดล้อม เป็นสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีมาก มีความต้านทานต่อแสงแดด และสารเคมีได้ดี มีการทดสอบประสิทธิภาพ HPQM โดย FDA cGLP ที่ Shuster lab และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศเกาหลี (Korea testing and research institute for chemical industry, KOTRIC) HPQM ถูกนำไปใช้งานและได้รับสิทธิบัตรในประเทศเกาหลีและระดับนานาชาติ กลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ HPQM เป็นการเคลื่อนที่ออกมาทำปฏิกิริยากับเชื้อจุลินทรีย์ โดยไม่จำเป็นที่ต้องมีตัวกลางใช้ในการเคลื่อนที่ โดยออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ (Cell wall) ของแบคทีเรีย [13,24]

2.5.2 ซิลเวอร์ตรึงอยู่บนซีโอไลท์ (Silver substituted zeolite, SSZ)

SSZ เป็นสารอนินทรีย์ที่ใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเกิดจากการนำซิลเวอร์ไอออน (Ag^{+}) เข้าไปในซีโอไลท์ (Zeolite) ซึ่งเป็นโครงสร้าง 3 มิติของอะมิโนซิลิเกต (Alumino-silicate) โดย SSZ ทำหน้าที่จับโปรตีนที่อยู่ในตัวของแบคทีเรียซึ่งทำให้แบคทีเรียไม่สามารถแบ่งตัวได้และสามารถตายได้ จึงช่วยป้องกันโรคท้องร่วง ท้องเสีย กลิ่นอับ อันเกิดจากแบคทีเรีย อีกทั้งสามารถป้องกันเชื้อไวรัสได้ถึงร้อยละ 99 อีกทั้ง SSZ ยังมีประสิทธิภาพสูงเพราะผ่านการทดสอบการป้องกันเชื้อแบคทีเรีย ว่าช่วยลดแบคทีเรีย เชื้อเห็ดรา และยีส ได้ถึงร้อยละ 100 และช่วยยับยั้งเชื้อไข้หวัดนก และไข้หวัดมรณะ (โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันชนิดรุนแรง) รวมทั้งต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกลิ่น SSZ ยังเป็นที่ยอมรับว่าเป็นสารที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (FDA) สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (EPA) และมูลนิธิวิทยาศาสตร์แห่งชาติสหรัฐอเมริกา (NSF) และ JIS จากประเทศ

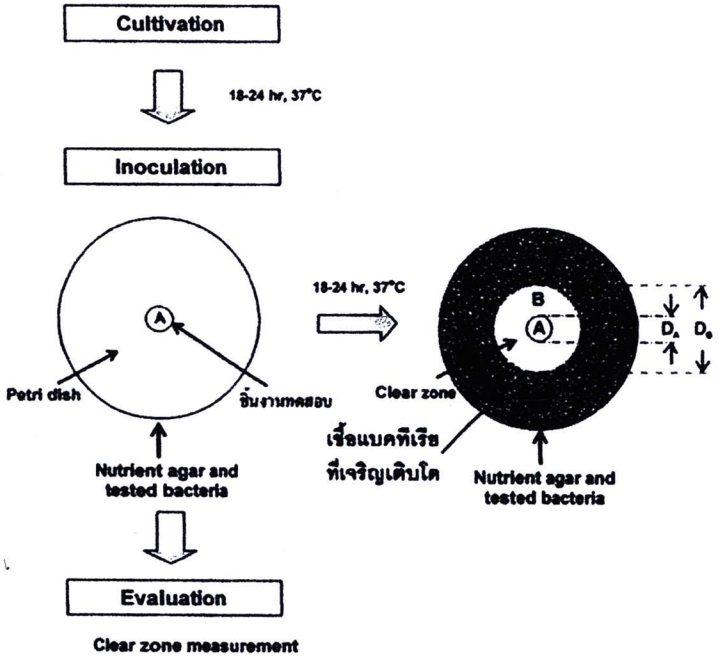
ญี่ปุ่น SSZ เป็นสารที่มีความปลอดภัย อายุการใช้งานที่สูง และทนต่อความร้อนที่สูงถึง 800 องศาเซลเซียส สิทธิบัตรเรื่องการยับยั้งจุลินทรีย์ของ SSZ ทั่วโลกนั้นมีอยู่ประมาณ 140 สิทธิบัตร สำหรับการนำไปใช้งานที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความปลอดภัย เช่น อาหารและผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ SSZ ถูกนำมาประยุกต์ใช้งานที่หลากหลายรวมถึงอุปกรณ์ไฟฟ้าในบ้านเรือน เส้นใยสังเคราะห์ บรรจุภัณฑ์อาหาร สิ่งของที่ใช้ในบ้าน เครื่องประดับ วัสดุก่อสร้างและเครื่องเขียน เป็นต้น กลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ SSZ นั้น ซิลเวอร์ไอออนจะเคลื่อนที่ออกมายับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยอาศัยตัวกลางในการเคลื่อนที่ออกมาจากเนื้อวัสดุหรือเป็นการที่เชื้อจุลินทรีย์เข้าไปสัมผัสกับซิลเวอร์ไอออน ส่งผลให้มีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น โดยออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ (Cell wall) ของแบคทีเรีย [14, 25]

2.6 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเชิงคุณภาพ และการทดสอบในเชิงปริมาณ โดยมีการทดสอบดังนี้

2.6.1 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเชิงคุณภาพด้วยการวัดบริเวณการยับยั้งเชื้อ (Halo test)

การทดสอบบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มีขั้นตอนหลักๆ ประกอบด้วย การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Cultivation) การเพาะเชื้อแบคทีเรียบนวัสดุที่มีสารยับยั้งแบคทีเรียผสมอยู่ (Inoculation) และการแปรผลทดสอบ (Evaluation) ดังรูปที่ 2.10 ซึ่งการแปรผลทดสอบบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยการวัดขนาด Clear zone คำนวณโดย การวัดผลรวมเส้นผ่านศูนย์กลางชิ้นงานทดสอบและบริเวณยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (D_B), หน่วย มิลลิเมตร



รูปที่ 2.10 การทดสอบบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [26]

2.6.2 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียเชิงปริมาณด้วยเทคนิค Plate count agar method (PCA method)

การประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเชิงปริมาณ เป็นเทคนิคการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Plate count agar method, PCA method) แล้วคำนวณร้อยละการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย (% Survival) ตามวิธีทดสอบมาตรฐานตาม ASTM E2149–01 โดยมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้ [26]

1. การเตรียมชิ้นงานทดสอบ
2. การเพาะบ่มเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Cultivation)
3. การเจือจางเชื้อแบคทีเรียโดยทำให้ความเข้มข้นลดลง 10 เท่า (Ten–fold serial dilution)
4. การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีชิ้นงานทดสอบ (Inoculation)
5. การนำเชื้อจากสารละลายทดสอบมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Extraction)
6. การนับและการคำนวณเชื้อแบคทีเรียบนวุ้นเลี้ยงเชื้อ (Calculation)

2.7 กลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Mechanism of action)

กลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารต้านแบคทีเรีย แบ่งได้ดังนี้

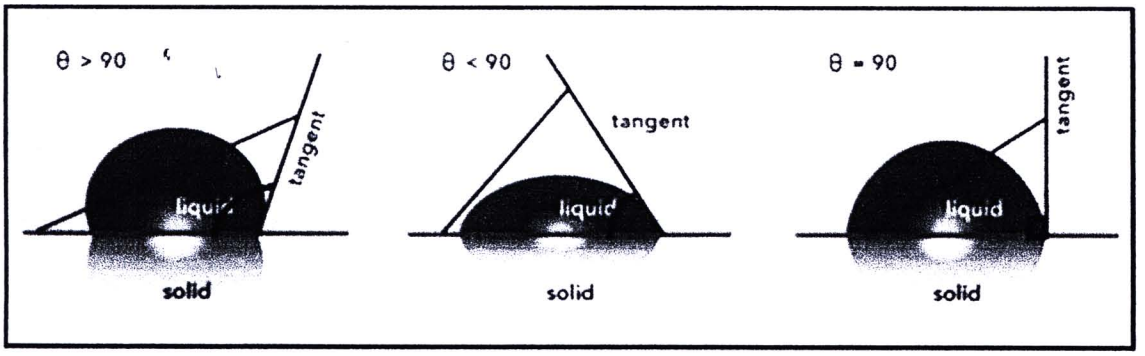
1. **ออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ (Cell wall)** โดยไปยับยั้งการสร้างมูโคเปปไตด์ (Mucopeptide) ทำให้ผนังเซลล์ไม่แข็งแรง ทำให้เกิดรูที่ผนังเซลล์ทำให้ส่วนภายในของเซลล์ออกมาภายนอกตรงรูและแตกในที่สุด
2. **ออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane)** โดยเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยชั้นโปรตีน–ไลปิด–โปรตีน (Protein–lipid–protein) สารต้านแบคทีเรียเข้าไปแทรกระหว่างโปรตีนกับไลปิด ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด สารในไซโตพลาสม (Cytoplasm) ไหลออกทำให้เซลล์ตาย
3. **ออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์สารในไซโตพลาสต**
   - การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยทั่วไปยับยั้งการนำไธมีน (Thymine) เข้าจับกับนิวคลีโอไทด์ตัวอื่นๆ ทำให้การสร้างดีเอ็นเอไม่สมบูรณ์
   - การสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ โดยไปขัดขวางการทำงานของอาร์เอ็นเอ โพลีเมอเรส ทำให้อาร์เอ็นเอไม่สามารถไปจับคู่กับดีเอ็นเอ เบสที่เปิดออกทำให้รับคำสั่งไม่ได้
   - การสังเคราะห์โปรตีนหรือทำให้โครงสร้างโปรตีนเปลี่ยนไปออกฤทธิ์ที่ระดับไรโบโซม

สำหรับซิลเวอร์มักออกฤทธิ์โดยไปรวมกับโปรตีนของเซลล์ และตัวอย่างของซิลเวอร์ที่นำมาใช้เพื่อทำลายและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น น้ำยา Silver nitrate ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้หยอดตาทารกแรกเกิด Argyrol เป็นสารประกอบอินทรีย์ของซิลเวอร์ ใช้ละลายน้ำทำเป็นน้ำยาร้อยละ 5–20 สำหรับหยอดตา Colloidal silver chloride หรือไอโอดีนมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อในความเข้มข้นสูง [27]

2.8 การวัดมุมสัมผัส (Contact angle)

การวัดมุมสัมผัสเป็นการตรวจสอบการแพร่ออกมาของสารเคมีออกมาบริเวณผิวชิ้นงาน การที่สารเคมีแพร่ออกมาสู่ผิวชิ้นงานส่งผลให้ค่ามุมสัมผัสเปลี่ยนแปลงไป โดยการวัดมุมสัมผัสเป็นการทดสอบระหว่างพื้นผิว 2 ชนิด คือชิ้นงานทดสอบกับน้ำ โดยมีหลักการทดสอบดังนี้ เมื่อหยดน้ำอยู่บน Solid surface ต้องไม่แพร่ หยดน้ำจะต้องคงรูปและแสดงมุม θ ซึ่งเรียกว่า Contact angle โดยมุม θ เขียนเป็นลักษณะของแรงตึงผิวระหว่าง Liquid/solid ดังนั้น Contact angle ที่สมดุลเป็นตัวชี้วัด

ความสามารถในการเปียกของของแข็งโดยของเหลว หรือเรียกว่า ปรากฏการณ์การโค้งของผิวของเหลวจากปรากฏการณ์การโค้งของผิวของเหลว เห็นว่าผิวของเหลวกับผิวของแข็งจะทำมุมกัน สำหรับของเหลวและของแข็งคู่หนึ่งๆ มุมระหว่างผิวทั้งสองมีค่าต่างกัน มุมระหว่างผิวของเหลวกับผิวของแข็ง ณ จุดสัมผัส เรียกว่า มุมสัมผัส ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0-180 องศา มุมสัมผัสบอกให้เราทราบว่า เมื่อของเหลวอยู่บนพื้นผิวของเหลวนั้น จะอยู่ในสภาพเป็นหยด (ไม่ทำให้พื้นผิวเปียก) หรือแผ่กระจาย (ทำให้พื้นผิวเปียก) โดยพิจารณาดังนี้ มุมสัมผัสที่มีค่าระหว่าง 0-90 องศา ของเหลวจะแผ่กระจายและเปียกผิว มีค่าระหว่าง 90-180 องศา ของเหลวเป็นก้อนและไม่เปียกผิวโดยการวัดมุมสัมผัส แสดงดังรูปที่ 2.11 การวัดมุมสัมผัสใช้หลักการถ่ายภาพหยดน้ำที่สัมผัสกับชิ้นงาน แล้วทำการวัดมุมสัมผัส



รูปที่ 2.11 การวัดมุมสัมผัส (Angle of contact) [28]

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Bayston และคณะ (2009) [29] ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยางแผ่นยางซิลิโคนหนา 1 มิลลิเมตร ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดลงในยางซิลิโคนด้วยวิธี Impregnation โดยสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ ดังนี้ Rifampicin R3501 ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Trimethoprim base T7883 และ Triclosan USP มีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เชื้อแบคทีเรียทดสอบ คือ *S. aureus* (Methicillin-susceptible, MSSA), *S. aureus* (Methicillin-resistant, MRSA), *S. epidermidis* และ *E. coli* ทำการทดสอบด้วยเทคนิค Serial Plate Transfer Test (SPTT) ซึ่งเป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมีความเข้มข้นที่ 10^6 cfu/ml ทดสอบเป็นเวลา 280 วัน พบว่า บริเวณการยับยั้งเชื้อ 3 ชนิด มีบริเวณกว้างที่สุดเมื่อผ่านการทดสอบในช่วง 1-2 วันแรก และมีขนาดลดลงตามเวลา โดยเชื้อ *Staphylococci* มีขนาดลดลงร้อยละ 33–40 จากบริเวณการยับยั้งสูงสุด ส่วนเชื้อ *E. coli* มีการลดลงของบริเวณยับยั้งเชื้อสูงกว่าร้อยละ 75 และการลดลงของบริเวณ

การยับยั้งเชื้อ สูงสุด คือเชื้อ *S. epidermidis* หลังจากการทดสอบเชิงคุณภาพเป็นเวลา 280 วันแล้ว ทำการทดสอบในเชิงปริมาณ โดยความเข้มข้นเชื้ออยู่ที่ 10^7 cfu/ml เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ยางซิลิโคนที่ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* MRSA และ MSSA ให้มีความเข้มข้นลดลงอยู่ที่ 535, 517 และ 33 cfu/ml และสามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ได้สูงสุด

Sawai (2003) [30] ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* โดยผงโลหะออกไซด์ ได้แก่ ZnO, MgO และ CaO ทำการทดลองในสถานะของเหลว (Sterile saline) และใช้ Bactometer® microbial monitoring system model 64 ในการตรวจวัดการเจริญของแบคทีเรีย ทำการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบประมาณ 10^3 cfu/ml พบว่า การเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ ZnO สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ระยะเวลาสูงขึ้น ส่วนการทดสอบหาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่า CaO มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสูงสุด รองลงมาคือ MgO และ ZnO ส่วนประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ คือ ZnO รองลงมาคือ MgO และ CaO ตามลำดับ

Chammanee และ คณะ (2009) [13] ศึกษาเกี่ยวกับ ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ในพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นปานกลาง (Medium Density Polyethylene, MDPE) โดยสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้คือ TROYSAN-S88, ZEOMICS และ HPQM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยน้ำหนัก ทำการทดสอบ Halo test และ PCA method พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารยับยั้งเชื้อขึ้น สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้สูงขึ้น และประสิทธิภาพสูงสุดของพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นปานกลางที่ผสม TROYSAN-S88 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ร้อยละ 96 ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* สามารถยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 77 และที่การผสมสาร ZEOMICS ในพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นปานกลางพบว่า ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ แต่ที่การผสม HPQM พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ในพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นปานกลางได้สูงถึงร้อยละ 99.9 ที่ทุกความเข้มข้นของ HPQM

Seyfriedsberger และคณะ (2006) [31] ศึกษาผิวของพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (Linear low-density polyethylene, LLDPE) ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการผสม LLDPE กับ Poly (2-tert-butylaminoethyl) methacrylate (TBAM) ที่ร้อยละ 0, 1.5, 3.0 และ 5.0 โดยน้ำหนัก ด้วยเครื่อง Counter rotating twin-screw extrusion ทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* (ATCC 8739) และ *S. aureus* (ATCC 6528P) ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมประเทศญี่ปุ่น JIS

Z2801:2000 จากผลการทดสอบเชื้อ *E. coli* พบว่า LLDPE ที่ไม่ได้ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Neat LLDPE) มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 1.0×10^{6} cfu/ml เป็น 1.4×10^{8} cfu/ml และการผสม TBAM ปริมาณร้อยละ 1.5, 3.0 และ 5.0 โดยน้ำหนัก เชื้อ *E. coli* มีความเข้มข้นลดลงอยู่ที่ 1.2×10^{5}, 1.4×10^{3} และ 0 cfu/ml ตามลำดับ ส่วนการทดสอบด้วยเชื้อ *S. aureus* พบว่า Neat LLDPE นั้น ปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงจาก 1.0×10^{6} cfu/ml เป็น 6.6×10^{4} cfu/ml และการผสม TBAM ร้อยละ 1.5, 3.0 และ 5.0 โดยน้ำหนัก ปริมาณเชื้อ *S. aureus* มีความเข้มข้นลดลงอยู่ที่ 0 cfu/ml สามารถกล่าวได้ว่าพอลิเอทิลีนที่ผสม TBAM มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เฉลี่ยอยู่ที่ 10^{4} cfu/ml เมื่อเทียบกับ Neat LLDPE

Radheshkumar และคณะ (2006) [32] ศึกษาความสามารถในการปลดปล่อย Ag^{+} จากผง Elementary silver ผสมในพอลิโพรไพลีน (Polypropylene, PP) โดยพอลิโพรไพลีนผสมซิลเวอร์ (PP/Ag) ถูกเตรียมใน Kneader ทำการขึ้นรูปชิ้นงานด้วยเครื่องอัดขึ้นรูปร้อน ตรวจวัด Ag^{+} โดยใช้เครื่อง Anode Stripping Voltammetry (ASV) ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตามมาตรฐาน ASTM 2149-01 (Shake flask) แบคทีเรียทดสอบคือ *S. aureus* และ *E. coli* เชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นที่ทดสอบอยู่ประมาณ 10^{7}-10^{8} cfu/ml ผลการทดสอบพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน Ag^{+} มีการปลดปล่อยออกจาก PP/Ag ได้ และเมื่อนำ PP ไปเคลือบลงบน PP/Ag หนาประมาณ 50 ไมโครเมตร พบว่า PP/Ag ที่เคลือบด้วย PP นั้น Ag^{+} สามารถเคลื่อนที่ออกมาได้ แสดงว่า Ag^{+} ที่ออกมานั้นมาจากภายในชิ้นงาน PP/Ag ไม่ได้มาจากผิวชิ้นงานแต่เพียงอย่างเดียว และเมื่อทำการเปรียบเทียบชิ้นงาน PP/Ag ที่ขึ้นรูปโดยปกติกับ PP/Ag ที่ถูกทำให้เย็นตัวขณะขึ้นรูปอย่างรวดเร็ว (Quench) พบว่า ความเข้มข้นของ Ag^{+} ที่ออกจากชิ้นงาน PP/Ag ที่ถูกทำให้เย็นตัวขณะขึ้นรูปอย่างรวดเร็วมีความเข้มข้นสูงกว่า PP/Ag ที่ขึ้นรูปโดยปกติ เนื่องจาก PP/Ag ที่ถูกทำให้เย็นตัวขณะขึ้นรูปอย่างรวดเร็วนั้น เป็นการลดผลึกที่เกิดขึ้น ทำให้น้ำแพร่เข้าไปในชิ้นงานได้ง่าย จึงทำให้ Ag^{+} แพร่ออกมาภายนอกชิ้นงานได้ในปริมาณที่มากกว่า PP/Ag ที่ขึ้นรูปโดยปกติ ส่วนการทดสอบเรื่องความมีขั้วของชิ้นงานพบว่า PP/Ag มีการแพร่ของ Ag^{+} ออกมาในปริมาณที่น้อยกว่าพอลิเอไมด์ผสมซิลเวอร์ (PA/Ag) เนื่องจาก PP เป็นพอลิเมอร์ชนิดไม่มีขั้ว ทำให้น้ำแทรกเข้าไปได้ยากกว่าพอลิเมอร์ที่มีขั้วอย่าง PA การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนั้นพบว่า PP ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้

Kawahara และคณะ (2000) [14] ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ZEOMICS® AJ 10 N ประกอบด้วย Ag^+ ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก ใน Type–A zeolite แบคทีเรียที่ใช้แกรมลบ คือ *P. gingivalis, P. intermedia* และ *A. actinomycetemcomitans* และแบคทีเรียแกรมบวก คือ *S. mutans, S. sanguis, A. viscosus* และ *S. aureus* พบว่า ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของซิลเวอร์ซีโอไลท์ (Silver–zeolite, SZ) ที่ใช้ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบอยู่ระหว่าง 256–512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกอยู่ระหว่าง 1024–2048 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เวลาในการทดสอบ 24 ชั่วโมง การที่แบคทีเรียแกรมลบใช้ปริมาณสารยับยั้งเชื้อน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากโครงสร้างของผนังเซลล์ที่มีความแตกต่างกันของแบคทีเรียสองกลุ่ม โดยผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นของ Peptidoglycan ที่หนามากกว่าแกรมลบประมาณ 3-20 เท่า และ Peptidoglycan ที่เป็นขั้วลบ จึงดึงดูดให้ Ag^+ ใน Borth เข้าไปทำลายเซลล์ได้ การที่แบคทีเรียแกรมบวกยอมให้ Ag^+ ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ได้น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบนั้น ทำให้แบคทีเรียแกรมลบ จึงมีความไวต่อสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนการทดสอบเรื่องการปลดปล่อยของ Ag^+ จากซิลเวอร์ซีโอไลท์ใน BHI–borth พบว่า Ag^+ ที่ปลดปล่อยจากซิลเวอร์ซีโอไลท์ คือ ร้อยละ 75 โดยน้ำหนัก ทุกช่วงเวลาตั้งแต่ 0.5–24 ชั่วโมง

Simhi และคณะ (2000) [33] ศึกษายางซิลิโคนที่เคลือบด้วย TA antibiotic ซึ่งปริมาณของ TA ที่ใช้อยู่ที่ 20 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบกับเชื้อ *E. coli* 67 และ *E. coli* Hu 734 ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นที่ใช้คือ 3×10^8 และ 3×10^7 cfu/ml ตามลำดับ ทำการทดสอบที่เวลา 0.5, 4 และ 24 ชั่วโมง มีการผสม Urine และให้ Air bubbles ที่อัตรา 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที วัดการเจริญบนชิ้นงานโดยใช้กล้อง CCD-MXRi (เทคโนโลยีชั้นสูง) จากผลการทดสอบพบว่ายางซิลิโคนที่ไม่ได้ผสมสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อ *E. coli* ทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญบนผิวชิ้นงานได้หลังจากเวลาทดสอบ 4 ชั่วโมง ส่วนชิ้นงานยางซิลิโคนที่เคลือบด้วย TA antibiotic นั้นพบว่า มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด หลังจาก 24 ชั่วโมง

Kaali และคณะ (2010) [34] ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของพอลิยูรีเทน (Polyurethane, PU) และยางซิลิโคนที่ผสม ZEOMIC ปริมาณร้อยละ 1-5 โดยน้ำหนัก การขึ้นรูปพอลิยูรีเทนที่ผสม ZEOMIC ด้วยเครื่อง Rheomix 600 mixer และเครื่องฉีด (Injection) การขึ้นรูปมี 2 ขั้นตอน คือขั้นแรกฉีดพอลิยูรีเทนบริสุทธิ์ แล้วขั้นตอนต่อมาคือ การฉีดชั้นของพอลิยูรีเทนที่ผสม ZEOMIC หนา 0.5 มิลลิเมตร ลงบนพอลิยูรีเทนบริสุทธิ์ ส่วนยางซิลิโคนผสมกับ ZEOMIC ขึ้นรูปชิ้นงานด้วยวิธีการหล่อ (Casting) เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบคือ *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) ATCC 43300 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ความเข้มข้นของเชื้อคือ 8×10^6 cfu/ml

ทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่ายางซิลิโคนมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *P. aèruginosa* และการเพิ่มปริมาณ ZEOMIC จากร้อยละ 1 เป็น 3 และ 5 ในพอลิยูรีเทนและยางซิลิโคน เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด โดยประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อขึ้นอยู่กับวัสดุสายพันธุ์ของแบคทีเรียและปริมาณของ ZEOMIC การวัดค่ามุมสัมผัส (Contact angle) พบว่าการผสม ZEOMIC ร้อยละ 1-5 ในพอลิยูรีเทนและยางซิลิโคน ทำให้ค่าของมุมสัมผัสไม่มีความแตกต่างกัน คือประมาณ 87-110 องศา ตามลำดับ

Lever และคณะ (2002) [7] ศึกษาเกี่ยวกับยาง NBR (Acrylonitrile-butadiene rubber) และยางธรรมชาติ ถูกทำเป็นวัสดุยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการผสมสารซิลเวอร์ที่ถูกตรึงอยู่ในซีโอไลท์ ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ที่ใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยสารยับยั้งเชื้อที่นำมาทดสอบมีชื่อทางการค้า ALPHASAN® ประกอบด้วยซิลเวอร์ไอออนร้อยละ 3.8 โดยน้ำหนัก ทำการคงรูปด้วยเปอร์ออกไซด์ การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทดสอบ 24 ชั่วโมง โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบเป็น *S. aureus* และ *K. pneumoniae* ผลการยับยั้งเชื้อเป็นค่า Log kill rates คิดจาก Reduction หารด้วย Internal control การทดสอบของ AATCC Draft Test Method ที่ชื่อว่า "Assessment of antimicrobial properties on hydrophobic textiles and solid substrates" และสอดคล้องกับ Japanese test method JIS 2801 พบว่า NBR และยางธรรมชาติที่ไม่ผสมและผสมสาร ALPHASAN® ที่ปริมาณร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก นั้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* แต่สำหรับเชื้อ *K. pneumoniae* นั้น NBR ที่ผสมสาร ALPHASAN® ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักนั้น ค่า Log kill เพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 3.87 และยางธรรมชาติเพิ่มขึ้นจาก -1.98 เป็น -1.62