KKU Res. J. 2013; 18(6): 996-1002
http : //resjournal.kku.ac.th

โปรตีนในน้ำยางพารา
Natural Rubber Latex Protein

วิชุดา จันทร์ข้างแรม[1]*
Wichuda Jankangram[1]*

[1] *คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว*
* *Correspondient author. E-mail address: wichudajan@buu.ac.th*

บทคัดย่อ

น้ำยางจากต้นยางพารามีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม ถูกนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ตัดต่างๆ มากมาย แต่อย่างไรก็ตาม การเกิดอาการแพ้เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ยางพาราสามารถพบได้บ่อยซึ่งอาจจะเกิดจากสารกระตุ้นในน้ำยางพารา จากรายงานการวิจัย พบว่าในน้ำยางพารามีโปรตีนหลายชนิดที่จัดเป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ และเป็นโปรตีนในกลุ่ม pathogenesis-related proteins (PR-proteins) ซึ่งถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นในพืชเมื่อสภาวะเครียด การติดเชื้อโรค หรือเกิดสภาพพยาธิวิทยา และการกระตุ้นจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต ในปัจจุบันมีการแยกโปรตีนที่คล้ายกับ PR-proteins ได้ คือ PR-proteins family 2, 3, 4, 5, 8, 10 และ 14 ซึ่งเป็นโปรตีนโมเลกุลขนาดเล็ก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5-70 kDa ยิ่งไปกว่านั้น ร้อยละ 15 ของโปรตีนสารกระตุ้นนี้ถูกพบว่าเป็นโปรตีนในกลุ่มแอนติออกซิเดนซ์โปรตีน เช่น superoxide dismutase และ peroxidase ข้อมูลจากการวิจัยเหล่านี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการค้นคว้าเพื่อพัฒนาการผลิต ผลิตภัณฑ์ยางชนิดต่างๆ เพื่อแก้ปัญหาการแพ้ยางพารา ตลอดจนการปรับปรุงพันธุ์ยางพารา นอกจากนี้ PR-proteins แอนติออกซิเดนซ์โปรตีน และ latex allergens activated protein ในน้ำยางพาราจะถูกศึกษาและจำแนกต่อไป ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในทางอาหาร การเกษตร ทางการแพทย์ได้

Abstract

Natural rubber latex (NRL), a milky fluid from the Hevea brasiliensis tree, is widelyused in several rubber product manufactures. However, an allergy is often found when people use rubber products. It may because of an allergen in rubber latex. There were reports that hundred proteins were classified into the groups of potential allergen and pathogenesis-related proteins (PR-proteins) which are induced proteins upon the stress, pathogen attack and abiotic stimuli. The proteins that similar to PR-proteins were currently identified into allergenic member including PR-proteins families 2, 3, 4, 5, 8, 10 and 14 which are small proteins (5-70 kDa). In addition, 15% of these allergenic proteins were also classified into antioxidant member such as superoxide dismutase and peroxidase. These rubber protein component data can be used in the research and development of the production of rubber products to solve the allergenic problem and also to improve the rubber cultivar. Moreover, PR-proteins,

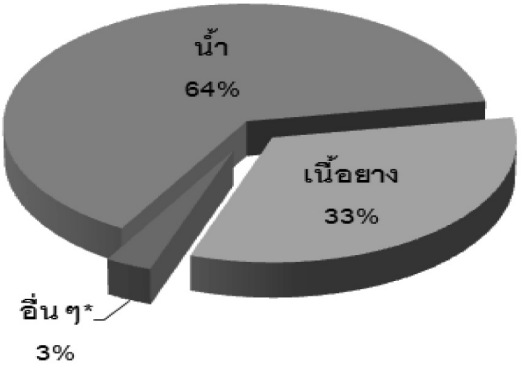
antioxidant proteins and latex allergens activated proteins in rubber latex will be identified to get more information which will be the advantages in food, agricultural and medical materials.

คำสำคัญ: โปรตีนสารกระตุ้น น้ำยางพาราสด ต้นยางพารา โปรตีนจากการเกิดสภาพพยาธิวิทยา

Keywords: latex allergens, natural rubber latex, Hevea brasiliensis, PR-protein

1.บทนำ

น้ำยางจากต้นยางพารา (*Hevea brasiliensis*) มีโครงสร้างโมเลกุล cis -1, 4-polyisoprene ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการทางเคมีที่ทำให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของยาง หรือที่เรียกว่ากระบวนการวัลคาไนเซชั่น จะเกิดเป็นโครงสร้างร่างแห ยางจึงมีความคงรูป และยืดหยุ่น ให้สมบัติเชิงกลดี แข็งแรง ทนต่อการขัดถูและการฉีกขาดได้ จึงเป็นที่นิยมในการนำมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ยางต่างๆ มากถึงร้อยละ 99 ของผลิตภัณฑ์ยางทั้งหมด ถึงแม้ว่าจะมีพืชมากเกือบสองพันชนิดที่ให้น้ำยางก็ตาม น้ำยางพาราเป็นของเหลวสีขาวหรือสีครีมหรือขาวปนเหลือง ข่นข้น อยู่ในท่อน้ำยางที่เรียงกันในส่วนเปลือกของต้นยางพารา โดยน้ำยางสดมีอนุภาคยางแขวนลอยอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ มีขนาด 0.05-5 ไมครอน ความหนาแน่น 0.975-0.980 กรัม/มิลลิลิตร มีความเป็นกรด เบสที่ 6.5-7.0 มีรูปร่างกลม โดยอนุภาคเหล่านี้จะมีประจุเป็นลบผลักกันอยู่ตลอดเวลา จึงแขวนลอยและคงสภาพเป็นน้ำยางอยู่ได้จนกว่าจะมีการรบกวนจากสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยต่างๆ ทำให้ยางเสียสภาพ และจับตัวเป็นก้อน (1) องค์ประกอบหลักของน้ำยางพาราประกอบด้วย น้ำ 64% เนื้อยาง 33% สารกลุ่มโปรตีน 1-1.2% สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรท 1% และเถ้า 1% (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 องค์ประกอบหลักของน้ำยางพารา

2. โปรตีนที่ตรวจพบในน้ำยางพารา

ในน้ำยางพารามีส่วนประกอบหลักอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยาง (เนื้อยางแห้ง) ประมาณ 35 % และส่วนที่ไม่ใช่ยาง โดยส่วนที่ไม่ใช่ยางนี้มีส่วนที่เป็นน้ำ หรือที่เรียกว่าซีรัม และส่วนที่เป็นลูตอยด์ (lutoid) ส่วนที่ไม่ใช่ยาง พบว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 1 จากการสกัดและวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนในน้ำยางพารา โดยมีรายงานการแยกโปรตีนในน้ำยางพาราสดด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (ultracentrifugation) และการแยกโปรตีนตามขนาดโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) (2-5) สามารถแบ่งโปรตีนได้เป็น 4 กลุ่มดังนี้ คือ

1. โปรตีนในกลุ่มสร้างน้ำยาง (Biosynthesis of polyisoprene) ได้แก่ Hevamine; Hev b1, 3, 7
2. โปรตีนในกลุ่มที่เกี่ยวกับการจับตัวกันของอนุภาคในน้ำยางได้แก่ Hevamine; Hev b6

3. โปรตีนในกลุ่ม Pathogenesis-related (PR)-protein ได้แก่ β-1,3-Glucanases, Chitinases, Lipid transfer protein (LTP), Hevamine; Hev b1, b2, b3, b4, b5, enolase, MnSOD โปรตีนในกลุ่มนี้จะถูกสร้างเมื่อมีสิ่งกระตุ้นจากความเครียดทางด้านกายภาพและเคมี การติดเชื้อโรค บาดแผล สิ่งแวดล้อมภายนอก รวมถึงระยะการพัฒนาของพืชอีกด้วย

4. โปรตีนในกลุ่มแอนติออกซิเดนซ์ ได้แก่ Superoxide dismutase, Peroxidase

โปรตีนในกลุ่มของ PR-protein (6) เช่น โปรตีน Chitinases ชนิด Endochitinase เป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืชต่างๆ นอกจากนี้ยังย่อยสลายไคตินที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างเปลือกแข็ง (exoskeleton) ของแมลงและผนังเซลล์ของ Fungi และ Nematodes ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไคโตโอลิโกแซคคาไรด์โมเลกุลใหญ่ขนาด 5-7 โมเลกุล ซึ่งมีประโยชน์ทางการแพทย์ ใช้ในการรักษาโรคข้อกระดูกเสื่อม เป็นสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulation) ยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (tumor suppression) และการกระตุ้น killer-cell และอีกกลุ่มได้แก่ กลุ่มของแอนติออกซิเดนซ์ เช่น Manganese superoxide dismutase (MnSOD) และ Peroxidase เป็นต้น

โปรตีนส่วนใหญ่ที่พบในน้ำยาง เป็นโปรตีนสารกระตุ้นที่ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ จากการใช้ผลิตภัณฑ์ยาง (7-9) เช่น ถุงมือยาง ถุงยางอนามัย จุกนมเด็ก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบสารที่มีส่วนประกอบ น้ำตาล แอลกอฮอล์ และสารแอลฟาไฮดรอกซิเอซีฟ (AHA) เป็นต้น ปัจจุบันได้มีการพัฒนาน้ำยางพาราใช้เป็นส่วนประกอบในเวชสำอางเพื่อลดริ้วรอย ชะลอความชรา ลดความหมองคล้ำ ให้หน้าขาวใส เนียนขึ้นภายในสองถึงสามสัปดาห์ (10)

จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา มีการนำเทคนิคทางด้านโปรทีโอมิกซ์ มาใช้ในการแยกโปรตีนและใช้เทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunoblotting) เพื่อตรวจหาโปรตีนสารกระตุ้น (Allergen) (11, 12) ในน้ำยางพาราสดและผลิตภัณฑ์จากยางพารา ที่ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ การแยกโปรตีนด้วยวิธีโปรทีโอมิกซ์ (2DE) ใช้หลักความแตกต่างทั้งน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของโปรตีนแต่ละชนิด ทำให้สามารถแยกโปรตีนทั้งหมดได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ได้มีการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบวิธีการแยกโปรตีนในน้ำยางพาราพันธุ์ RRIT251 (พันธุ์ปรับปรุงของสถาบันวิจัยยาง) และ RRIM 600 (พันธุ์จากมาเลเซียที่นิยมปลูกกันมากทางภาคใต้ของไทย) ด้วยวิธี SDS-PAGE และ 2-DE จากการศึกษาพบว่า มีความยากในการสกัดโปรตีนทั้งหมดจากน้ำยางทั้งสองชนิด และเมื่อนำมาแยกโปรตีนด้วยวิธีการ SDS-PAGE และ 2-DE พบว่า แถบโปรตีนและจุดของโปรตีนที่แยกได้มีจำนวนน้อย ปัญหานี้เนื่องจากความหนืดของน้ำยางทำให้สกัดโปรตีนทั้งหมดได้น้อย อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่าวิธีการสกัดโปรตีนทั้งหมดจากน้ำยางพารายังไม่เหมาะสมซึ่งควรได้รับการปรับปรุงให้สามารถสกัดโปรตีนได้มากขึ้นต่อไป (13)

3. โปรตีนสารกระตุ้นในน้ำยาง (Natural Rubber Latex Allergen)

มีการศึกษาโปรตีนที่อยู่ในน้ำยาง ที่เป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ ในกลุ่มของผู้ใช้งาน หรือทำงานที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ยาง เช่น ถุงมือยาง สามารถแบ่งโปรตีนตามขนาดโมเลกุลได้ตั้งแต่ โปรตีนขนาด 4.7-115 KDa ได้แก่ โปรตีน Hevein; Hev 1-13 (14) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 โปรตีนสารกระตุ้นในน้ำยางพาราและผลิตภัณฑ์ยาง

Original name	Systematic name	Mw (kDa)
Rubber elongation factor (REF)	Hev b 1	14.6
β-1,3-glucanase	Hev b 2	34-36
23-27 kD Rubber particle protein	Hev b 3	23-27
Microhelix protein complex	Hev b 4	100-115
Acid C-serum protein	Hev b 5	16
Prohevein	Hev b 6.1	20
Hevein	Hev b 6.2	4.7
Prohevein C-domain	Hev b 6.3	14
Patatin-like protein	Hev b 7	42.9
Larex profiling	Hev b 8	13.9
Enolase	Hev b 9	47.7, 47.5
Manganese-Superoxide-Dismutase	Hev b 10	22.9
Class I Chitinase	Hev b 11	32
Lipid transfer protein	Hev b 12	9
Esterase	Hev b 13	42

นอกจากโปรตีนสารกระตุ้นดังกล่าวแล้ว ยังพบว่า 25% ของโปรตีนในกลุ่ม PR-protein เป็นกลุ่มของโปรตีนที่สามารถกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้อีกด้วย โดยโปรตีนในกลุ่มนี้จะถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นในน้ำยางพาราเมื่อมีภาวะเครียด (stress), การติดเชื้อก่อโรค (pathogen attack) และการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม และจากการศึกษาโครงสร้าง และลำดับของกรดอะมิโนของ PR-protein สามารถแบ่งโปรตีนกลุ่มนี้ได้เป็น 7 families ได้แก่ PR –2, PR –3, PR –4, PR –5, PR –8, PR –10 และ PR –14 ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะพบได้ในพืชทั่วไป (15) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 โปรตีนในกลุ่ม Pathogenesis-related ที่เป็นสารกระตุ้น และแหล่งที่พบ

Family	name	Source
PR-2	β-1,3-Glucanases	*Hevea brasiliensis* latex, banana
PR –3	Class I chitinases	Avocado, *H. brasiliensis* latex, chestnut, banana
		H. brasiliensis latex, tumip
PR –4	Chitinases	Cherry, apple, bell pepper, mountain cedar
PR –5	TLPs	*H. brasiliensis* latex
PR –8	Class III chitinases	Apple, celery, cherry, peach, pear, carrot, potato, parsley, Peach,
PR –10	Unknown	apple, soybean, apricot, olum, cherry, barley
		H. brasiliensis latex, chestnut, hazelnut, walnut, mugwort,
PR –14	LTPs	ragweed, asparagus, grape, maize, olive

และยังพบไลโซไซม (Lysozyme) ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่ม Plant defense-related protein มีคุณสมบัติคล้ายกับไลโซไซมจากผลไม้ เป็นโปรตีนสารกระตุ้นอีกชนิดหนึ่งที่พบในน้ำยางและผลิตภัณฑ์ยาง เช่น ถุงมือยาง เป็นต้น (16, 17)

โปรตีน Hev b1, b2, b3, b4, b5, b6.1, 6.2 ซึ่งเป็นแอนติเจนหลัก ที่ได้มีการศึกษาถึงโครงสร้างสามมิติและคุณสมบัติอื่นๆ เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกการจดจำของโปรตีนสารกระตุ้นและการเกิดอาการแพ้ ซึ่งโปรตีนดังกล่าวยังพบในน้ำยางของผลไม้และพืชบางชนิดเช่นกัน รายงานการวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการชี้ชัดและระบุโปรตีนที่เป็นสารกระตุ้นในน้ำยางชนิดใหม่เพิ่มเติม ได้แก่ Hev b11 เช่น class I chitinase (18, 19) Hev b12 - a lipid transfer protein และ Hev b13 a lipolytic esterase (20) จากการศึกษาอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับโปรตีนที่เป็นสารกระตุ้นให้เกิดการแพ้ในน้ำยางพารา ทำให้เกิดความเข้าใจความซับซ้อนของโปรตีนสารกระตุ้นดังกล่าวในน้ำยางพารามากขึ้น

ประเทศไทยแม้จะเป็นผู้ผลิตยางธรรมชาติมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก แต่เราส่งออกยางพาราในรูปของผลิตภัณฑ์จากยางธรรมชาติได้เพียง 10 % ซึ่งหนึ่งในสามของมูลค่าส่งออกผลิตภัณฑ์ก็คือ ถุงมือยาง และเนื่องจากน้ำยางพาราจะมีโปรตีนหลายชนิดผสมอยู่ โปรตีนในยางธรรมชาติจะทำให้ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์จำนวนหนึ่งเกิดอาการแพ้ เช่น เป็นผื่น ลมพิษ หอบหืด ไปจนถึงภาวะช็อก ซึ่งอาจทำให้ผู้ใช้เสียชีวิตได้ เพราะฉะนั้น การจะผลักดันการส่งออกถึงมือยางธรรมชาติให้ประสบผลสำเร็จสิ่งสำคัญที่จะต้องแก้ปัญหาให้ได้คือ การลดโปรตีนที่เป็นโปรตีนกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ

ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีข้อมูลการใช้ถุงมือยางสูงที่สุด แม้จะมีการตรวจวัดปริมาณโปรตีน ก่อนแล้วนั้น แต่เป็นการวัดปริมาณโปรตีนทั้งหมด ไม่ได้ตรวจเฉพาะโปรตีนสารกระตุ้นที่ทำให้เกิดอาการแพ้ ดังนั้นแม้จะมีโปรตีนดังกล่าวปริมาณน้อยก็อาจทำให้ผู้ใช้เกิดอาการแพ้ได้ คนในกลุ่มแพทย์และบุคลากรที่ต้องใช้ถุงมือยาง อาจจะเปลี่ยนไปใช้ถุงมือยางสังเคราะห์ที่มีความยืดหยุ่นและกระชับน้อยกว่าแทน จากการศึกษาของ รศ.ดร.รพีพรรณ วิทิตสุวรรณกุล (21) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้พัฒนาเทคนิคและชุดตรวจหาโปรตีนในผลิตภัณฑ์ยาง โดยมีความแม่นยำมากถึง 100 % เทียบจากชุดตรวจสอบที่มีวางขายทั่วโลก ที่มีความแม่นยำเพียง 70 % โดยใช้เทคนิคทางวิทยาภูมิคุ้มกัน ด้วยการใช้แอนติบอดีต่อโปรตีนน้ำยางพาราธรรมชาติชนิดที่ทำให้เกิดการแพ้ ไปตรวจจับโปรตีนที่ทำให้เกิดการแพ้ที่อยู่ในสารสกัดจากถุงมือยาง เทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะสูง รวดเร็ว และตรวจสอบง่ายแม้มีโปรตีนเพียงเล็กน้อย

4. การกำจัดโปรตีนในน้ำยางพารา (Deproteinised natural rubber)

การกำจัดหรือแยกโปรตีนออกจากน้ำยางพาราสดก่อนนำไปใช้ในกระบวนการผลิต เพื่อกำจัดโปรตีนที่ก่อให้เกิดอาการภูมิแพ้ในมนุษย์ ซึ่งเดิมจะใช้การปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดโปรตีนทิ้ง แต่พบว่ามีโปรตีนที่อยู่ในเนื้อยางไม่สามารถถูกกำจัดทิ้งไปโดยวิธีนี้ จึงได้มีการเติมเอ็นไซม์โปรติเอสลงในน้ำยางพาราสด ให้โปรตีนถูกย่อยสลายอยู่ในเซรุ่ม แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกโปรตีนทิ้งไป (22) โดยการคัดเลือกโปรติเอสจากหอยเชอรี่ ผลมะเดื่อ น้ำสับปะรด ยางมะละกอ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เชื้อรา *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae* ผลการศึกษาพบว่า โปรติเอสจากเชื้อ *B. subtilis* สามารถกำจัดโปรตีนในน้ำยางพาราสดได้ดีที่สุด และยังพบว่าโปรติเอสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนสามารถกำจัดโปรตีนในน้ำยางพาราสดได้ดีกว่าโปรติเอสที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ มีรายงานการศึกษาการกำจัดโปรตีนด้วยชนิดและประสิทธิภาพของเอ็นไซม์ การเลือกใช้สารถนอมน้ำยาง โดยเลือกใช้เอ็นไซม์ที่ผลิตในประเทศไทย ได้แก่ เอ็นไซม์ปาเปน และโบรมิเลน จากผลการทดลองพบว่าเอ็นไซม์ปาเปนไม่สามารถใช้กับน้ำยางพาราสดที่ต้องการผลิตเป็นน้ำยางข้นได้ (23)

5. บทสรุป

จากการศึกษาวิจัยในเรื่องเกี่ยวกับโปรตีนในน้ำยางพารา ทำให้เข้าใจมากขึ้นถึงความสำคัญของโปรตีนกลุ่มที่เป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ โปรตีนแอนติออกซิเดนซ์ และ โปรตีน PR-protein เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการค้นคว้าเพื่อพัฒนาการผลิต ผลิตภัณฑ์ยางชนิดต่างๆ ให้ลดโปรตีนสารกระตุ้นและสามารถนำโปรตีนบางชนิดมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นเวชภัณฑ์ เวชสำอาง หรืออาจพบโปรตีนบางตัวที่มีฤทธิ์ต้านทานโรคที่เกิดกับต้นยางพารา และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ทางการแพทย์ หรือการเกษตรต่อไปได้ อีกทั้งใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถศึกษาต่อในเชิงลึกและสามารถนำเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลมาใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ยางพาราหรือปรับปรุงคุณภาพ ตลอดจนผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของยางพาราต่อไปได้

6. เอกสารอ้างอิง

(1) Kovuttikulrangsie S. Natural Rubber Latex Production. Faculty of Sciences and Technology. Pattani Campus. Prince of Songkla University; 2004.

(2) Gordon L, et al. Allergens and natural rubber proteins. J Allergy Clin Immunol. 2002; 110(2): 33-39.

(3) Jutidrumrung W and Krongsak P. Department of Biochemistry. Faculty of Science and Technology Songklanakarin University; 1983.

(4) Moir GEJ. Ultracentrifugation and staining of Heavein latex. Nature. 1959; 184: 1626-28.

(5) Perrella FW and Gaspari AA. Natural rubber latex protein reduction with an emphasis on enzyme treatment. Method. 2002(27): 77-86.

(6) Churngchow N, Suntaro A and Wittisuwannakul R. beta-1,3-Glucanase isozymes from the latex of Hevea brasiliensis. Phytochemistry. 1995; 39: 505-509.

(7) Palosuo T. Latex allergens. Rev fr Allergol. 1997; 37(8): 1184-1187.

(8) Meade BJ, Weissman DN and Beezhold DH. Latex allergy: past and present. International Immunopharmacology. 2002; 2: 225-238.

(9) Cremer R, Rihs H. and Monika R H. Current Pediatric Review. 2008; 4: 258-265.

(10) Alenius H, Turjanmaa K and Palosuo T. Occup Environ Med. 2002; 59: 419-424.

(11) Posch A, et al. Characterization and identification of latex allergens by two-dimensional electrophoresis and protein microsequencing. J Allergy Clin Immunol. 1996; 99(3): 385-395.

(12) Singh AP, Wi SG, Chung GC, Kim YS and Kang H. The micromorphology and protein characterization of rubber particles in Ficus carica, Ficus benghalensis and Hevea brasiliensis. J Exp Bot. 2003; 154(384): 985-992.

(13) Jankangram W. Protein separation of para rubber latex (Hevea brasiliensis) by using proteomics. Science Journal Ubonratchathani University. 2555.;2 (Jan-Dec): 1-12.

(14) Hoffmann-Sommergruber K. Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens. Biochemical Society Transactions. 2002; 30: 930-938.

(15) Yagami T, et al. One of the rubber latex allergens is a lysozyme. J Allergy Clinical Immunology. 1995; November: 676-686.

(16) Yagami, T, et al. Plant defense-related enzymes as latex antigen. J Allergy Clinical Immunology. 1998; March: 379-385.

(17) Subroto T, de Vries H, Schuringa JJ, et al.. Enzymic and structural studies on processed proteins from the vacuolar (lutoid-body)

fraction of latex of *Hevea brasiliensis*. Plant Physiol Biochem. 2001; 39: 1047-1055.

(18) Churngchow N, Suntaro A, Wittisuwannakul R. β-1,3-glucanase isozymes from the latex of *Hevea brasiliensis*. Phytochemistry. 1995; 39: 505-509.

(19) Beezhold DH, et al. Lipid transfer protein from *Hevea brasiliensis* (Hev b 12), a cross-reactive latex protein. Ann Allergy Ann Allergy Asthma Immunol. 2003; 90: 439-445.

(20) Arif SAM, et al. Multiple 43 kDa allergenic protein in natural rubber latex. J Allergy Clin Immunol. 2002; 109: s332-s333.

(21) Wititsuwannakul R. Department of Biochemistry. Faculty of Science. Prince of Songkla University; 2000.

(22) Wongputisinum P. Protease selection for deproteinization of latex. Small Project on Rubber. 2550-2552; 2: 134.

(23) Kang-sin K. Use of Enzyme in Deproteinization of Latex for Latex Concentrate Process; 2543.