บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาสมบัติของยางธรรมชาติที่จับก้อนด้วยสารที่แบคทีเรีย 2 สายพันธุ์สร้างระหว่างการเจริญแบคทีเรียดังกล่าวได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR 25 และ *Acetobacter aceti* TISTR 102 เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกรดแอซีติกเป็นสารจับก้อน โดยใช้น้ำยางสดรักษาสภาพด้วยแอมโมเนียและน้ำยางข้นปริมาณแอมโมเนียต่ำปรับปริมาณเนื้อยางแห้งเป็น 5 15 และ 25 % ก่อนใช้ศึกษาลักษณะการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ ตรวจสอบสมบัติของน้ำยางเบื้องต้นก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลอง 3 ประการได้แก่ ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณเนื้อยางแห้งและปริมาณแอมโมเนีย ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของยางดิบตามมาตรฐานของยางแท่ง 8 ประการได้แก่ ปริมาณสิ่งสกปรก ปริมาณสิ่งระเหย ปริมาณเถ้า ปริมาณไนโตรเจน สี ค่าความอ่อนตัวเริ่มแรก ดัชนีความอ่อนตัว และ ความหนืดมูนี เลือกเอาตัวอย่างที่มีสมบัติ 8 ประการเหมาะสมนำไปทดสอบสมบัติการคงรูปของยาง ความต้านทานแรงดึงและการยืดเมื่อขาด

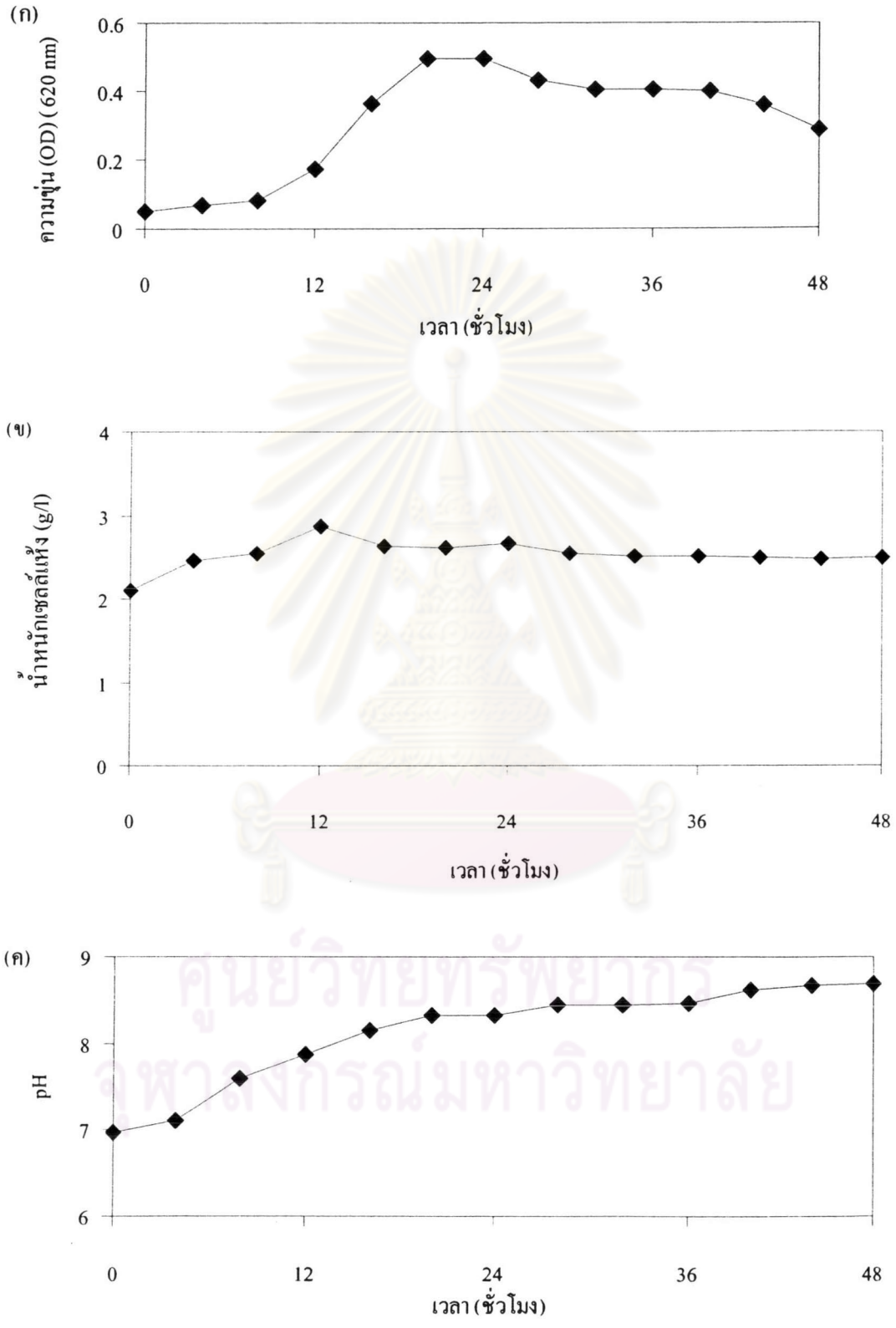
การเตรียมตัวอย่างในงานวิจัยนี้ ยางดิบได้จากการทำให้น้ำยางจับก้อนโดยใช้แบคทีเรียร่วมกัน 2 ชนิดคือ *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในอาหารสูตรปรับต่ำ MM และอาหารสูตรสมบูรณ์ NB เป็นแบคทีเรียตัวที่หนึ่ง เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 44 ชั่วโมงซึ่งเป็นช่วงการเจริญในระยะ early stationary phase ที่ผลิตเอนไซม์โปรตีเอสออกมาสู่สารอาหารเหลวมากที่สุด (เกษม พงษ์มณี, 2536) นำ *B. subtilis* ในสารอาหารมาผสมกับน้ำยางในอัตราส่วนน้ำยางต่อ *B. subtilis* เท่ากับ 5 : 1 % v/v นำไปบ่มกับน้ำยางที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่แอลคาไลน์โปรตีเอสลดไนโตรเจนในยางได้ดี (พงศธร คูสกุล, 2537) คาดว่าการบ่มที่ภาวะดังกล่าวนี้โปรตีเอสจาก *B. subtilis* ช่วยลดปริมาณไนโตรเจนในยางได้ หลังจากบ่มน้ำยางผสม *B. subtilis* แล้วปล่อยให้น้ำยางมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วทำให้น้ำยางจับก้อนโดยใช้แบคทีเรียตัวที่สองได้แก่ *Acetobacter aceti* TISTR102 ในอาหารเหลวสูตรที่เหมาะสมคือ REY 0.5 ได้ทดลองใช้อายุของ *A. aceti* ที่เวลา 24 ชั่วโมง เป็นช่วงที่มีการเจริญอยู่ในระยะ log phase ปริมาณกรดทั้งหมดที่ผลิตได้ยังไม่มาก คาดว่าระหว่างที่ผสมอยู่ในน้ำยางซึ่งมี *B. subtilis* ในสารอาหารเหลว นั้น *A. aceti* จะใช้สารไม่ใช่ยางอื่น ๆ ที่ปนอยู่ในน้ำยางในการเจริญและผลิตกรดทำให้ยางจับก้อน ซึ่งจากการทดลองพบว่าวิธีนี้ทำให้ยางจับก้อนได้ใช้เวลารวม 4 วัน เปิดโอกาสให้จุลินทรีย์อื่น เช่น รา และแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมปนเปื้อนบนผิวหน้าของแผ่นยาง แก้ไขด้วยการเพิ่มอายุของ *A. aceti* ในสารอาหารเหลวเป็น 44 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเจริญอยู่ในระยะ late log phase และผลิตกรดแอซีติกได้สูง

กว่าที่ระยะ log phase ใช้อัตราส่วน *A. aceti* ในอาหารเหลวต่อปริมาตรน้ำยางเป็น 1 : 1 %v/v ปล่อยไว้ประมาณ 16 ชั่วโมงเพื่อให้ยางจับก้อนโดยสมบูรณ์ จากนั้นจึงนำยางมารีดเอากรดออกด้วยเครื่องรีดขนาดเล็ก ล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำประมาณ 3-4 ชั่วโมงนำยางเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อบยางจนแห้ง ใช้เวลา 1-3 วัน การดูว่ายางเกิดการแห้งโดยสมบูรณ์ดูจากลักษณะของแผ่นยางที่มีลักษณะใส ไม่มีจุดหรือเม็ดยางสีขาวอยู่บนแผ่นยาง เมื่อรวบรวมตัวอย่างยางได้ 250 กรัมแล้วจึงนำไปทดสอบสมบัติทางกายภาพของยาง

4.1 ศึกษาการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR25

การเตรียมเชื้อตั้งต้น(starter inoculumn) เขี่ยเชื้อในอาหารวุ้น 1 loop ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสมบูรณ์ NB นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm อุณหภูมิห้อง จนวัดความขุ่นของน้ำเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่อง spectronics 20 ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรได้ประมาณ 0.5 หน่วย ถ่ายเชื้อลงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลว NB 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าต่อที่สภาวะเดิม ติดตามการเจริญของเชื้อ เก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อทุก 4 ชั่วโมง วัดการเจริญ(ความขุ่น) ด้วยการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร วัดค่า pH และหาน้ำหนักเซลล์แห้งโดยปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm 10 นาที อบเซลล์ที่ 105 องศาเซลเซียส ข้ามคืน ปล่อยให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้น (desiccator) ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด ได้กราฟแสดงลักษณะการเจริญ เลือกใช้ช่วงเวลาที่เหมาะสม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของ *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในอาหารเหลว NB
(ก) ค่าการดูดกลืนแสง (ข) น้ำหนักเซลล์แห้ง (ค) ค่าความเป็นกรดด่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากรูปที่ 4.1 (ก) ลักษณะการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR25 ในสารอาหาร NB เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อมีปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดวัดจากค่าการดูดกลืนแสง 620 นาโนเมตร เท่ากับ 0.495 -0.496 ที่ 20-24 ชั่วโมงจากนั้นค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเล็กน้อยและมีค่าคงที่แสดงว่าระยะการเจริญสูงสุดของเชื้อ (log phase) อยู่ในช่วง 20-24 ชั่วโมง จากนั้นจะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่(stationary phase) ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อเจริญเต็มที่และจะเริ่มมีการผลิตโปรตีเอส (เกษม พงษ์มณี, 2536) ดังนั้นจึงเลือกใช้ *B. subtilis* ในอาหารสมบูรณ์ NB ที่ 24 ชั่วโมงเป็นเชื้อตั้งต้นเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหารเหลวที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีเอสโดย *B. subtilis* 2 ชนิดคือสารอาหารสูตรปรับต่ำ (MM) และสูตรสมบูรณ์ (NB)

(ข) ลักษณะการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์แห้งของ *B. subtilis* ที่เวลาต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันมากอาจเป็นผลของสารอาหารติดอยู่กับเซลล์ของ *B. subtilis* ทำให้ปริมาณเซลล์แห้งเปลี่ยนแปลงน้อย โดย *B. subtilis* ในสารอาหาร NB เมื่อเลี้ยงเชื้อครบ 24 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2. 88 กรัม/ลิตร สอดคล้องกับค่าความขุ่นที่ 620 นาโนเมตรที่ มีค่าสูงในช่วงเวลา 20-24 ชั่วโมง ดังนั้น *B. subtilis* ในสารอาหาร NB เลี้ยงในฟลาสก์ เขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นเชื้อตั้งต้น เพราะมีความเข้มข้นของเซลล์และน้ำหนักเซลล์แห้งสูง

(ค) ลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของ *B. subtilis* ในสารอาหาร NB มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ดังนี้ ที่เวลา 0 24 และ 24 ชั่วโมงค่า pH เท่ากับ 6.97 8.33 และ 8.68 ตามลำดับ เนื่องจากค่า pH ของ *B. subtilis* ในสารอาหารอยู่ในช่วงที่เป็นเบสจึงเหมาะสมที่จะ เติมลงในน้ำยางเพราะน้ำยางสดรักษาสภาพด้วยแอมโมเนียที่มีค่า pH 9.58 และน้ำยางข้นปริมาณแอมโมเนียต่ำ มีค่า pH 9.11 ดังนั้นเมื่อเติม *B. subtilis* ในสารอาหารเหลวอายุเชื้อ 44 ชั่วโมงซึ่งมี pH ประมาณ 7-9 จะไม่ทำให้น้ำยางเกิดการจับก้อนระหว่างที่ผสมน้ำยางและ *B. subtilis* ในสารอาหารเหลว ขณะเดียวกันเมื่อกวนผสมเข้ากันดีแล้วก็จะได้ค่า pH ที่เหมาะกับการทำงานของโปรตีเอสซึ่งต้องการในช่วงที่เป็นเบส โดยไม่ต้องปรับค่าความเป็นกรดเบสและภายหลังบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 16 ชั่วโมงแล้วน้ำยางจะมีค่า pH ลดลงเล็กน้อย

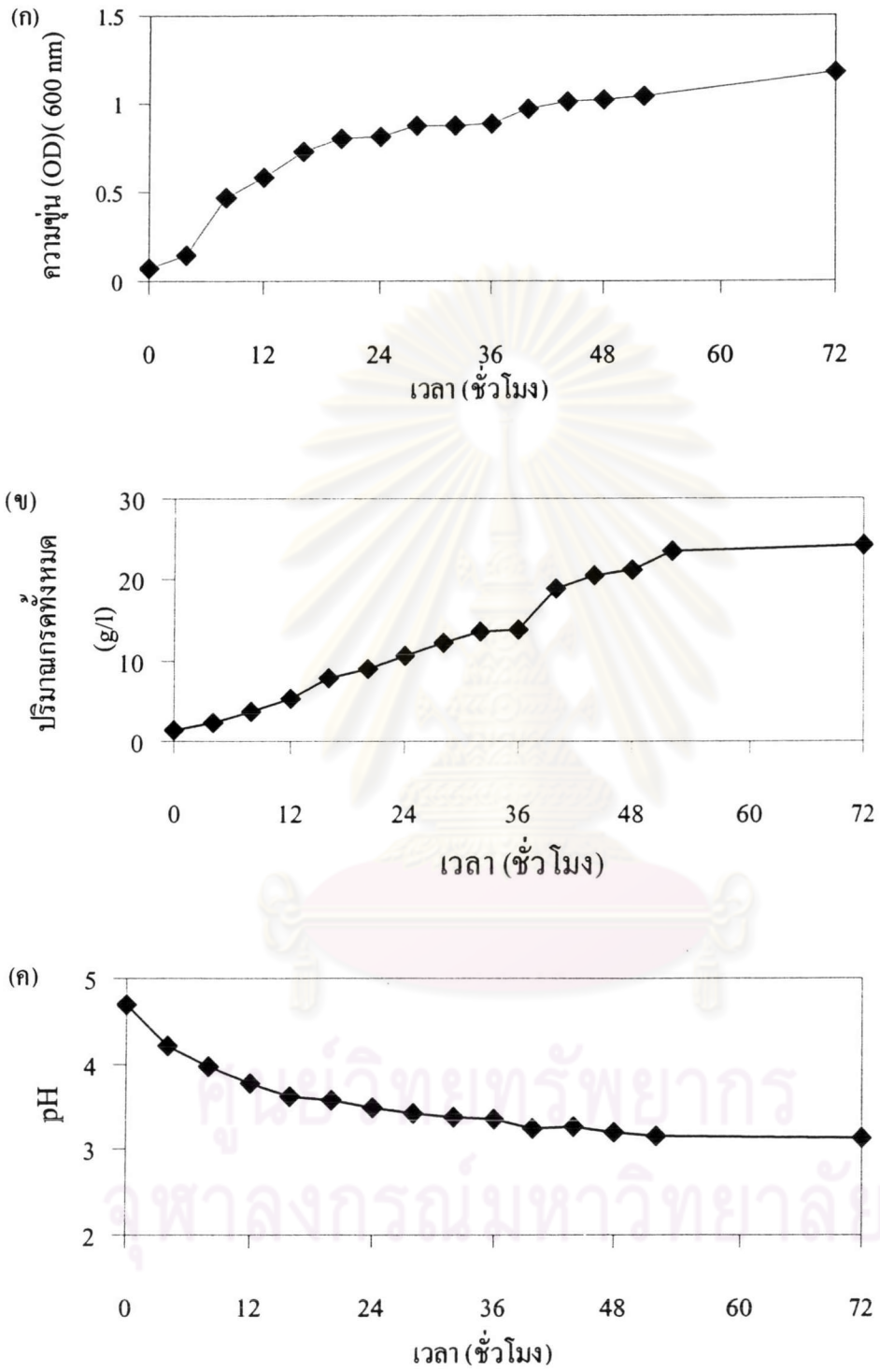
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ศึกษาการเจริญของแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR102

การเตรียมเชื้อตั้งต้น จะเขี่ยเชื้อในอาหารวุ้น 1 loop ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MED1 นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm อุณหภูมิห้อง จนวัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่อง spectronics 20 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยเครื่อง spetronics20 ได้ประมาณ 0.5 หน่วย ถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลวที่เหมาะสม เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง วัดค่า pH วัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และวัดปริมาณกรดทั้งหมด ได้กราฟแสดงลักษณะการเจริญ ดังแสดงในรูปที่ 4. 2 เลือกใช้ช่วงที่มีการเจริญและการผลิตกรดเหมาะสมเพื่อเลือกใช้เป็นเชื้อตั้งต้น

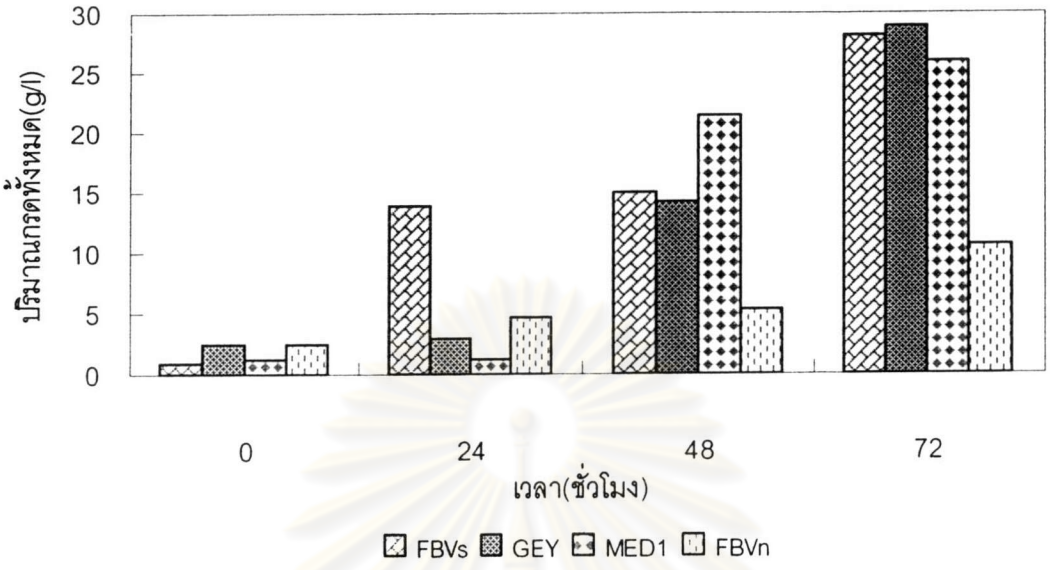
ทำการทดลองหาสารอาหารที่ทำให้ *Acetobacter aceti* TISTR102 ผลิตกรดแอซีติกได้มากที่สุดเพื่อนำมาจับก้อนยาง โดยเปรียบเทียบปริมาณกรดทั้งหมดที่ *A. aceti* ผลิตได้ในสารอาหาร 3 ชนิดคือ FBV GEY และ MED1 โดยสารอาหาร FBVn และ FBVs จะเลี้ยงเชื้อแบบตั้งนิ่งและแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm ตามลำดับ เลือกใช้สารอาหารที่ผลิตกรดได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง (สมบูรณ์ และ สุวิมล, 2542) ผลแสดงในรูป 4. 3

หลังจากเลือกสารอาหารเหลวที่เหมาะสมเพื่อใช้เพิ่มปริมาณเชื้อ *A. aceti* แล้วจะปรับปรุงสารอาหารดังกล่าวเพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้จับก้อนยางมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ยางจากถุงมือยางเป็นแหล่งคาร์บอนเลี้ยงเชื้อ *Gordonia* sp. และเชื้อสามารถใช้ยางในการเจริญได้ (Mahmoud และคณะ, 2000) เชื้อ *Bifidobacterium bifidum* เจริญได้ดีขึ้นเมื่อเติมซีรัมจากน้ำยางธรรมชาติที่ทำให้เป็นผงโดยความร้อน (natural rubber serum powder; NRSP) (Hiokazu และ คณะ, 1996) ดังนั้นเพื่อให้ *A. aceti* ใช้ประโยชน์จากสารอื่น ๆ ที่ผสมในน้ำยางมากที่สุด จึงปรับปรุงสารอาหารโดยเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนของสารอาหารเดิมเป็นน้ำยาง ได้สูตรอาหาร REY และเพื่อให้ได้สารอาหารที่เตรียมง่ายและราคาถูก จึงแปรปริมาณสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.5, 1.0 และ 2.0 g/l เรียกชื่อสูตรอาหารที่ปรับปรุงว่า REY0.5 REY1.0 และ REY2.0 ตามลำดับ แล้วดูผลจากปริมาณกรดทั้งหมดที่ *A. aceti* ผลิตได้ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดและเพื่อเป็นการประหยัดพลังงานในการเตรียมกรดแอซีติกจาก *A. aceti* จึงเลือกใช้เวลาเลี้ยงเชื้อ 48 ชั่วโมงเป็นเกณฑ์ในการเลือกสูตรอาหาร ผลแสดงในรูป 4. 4

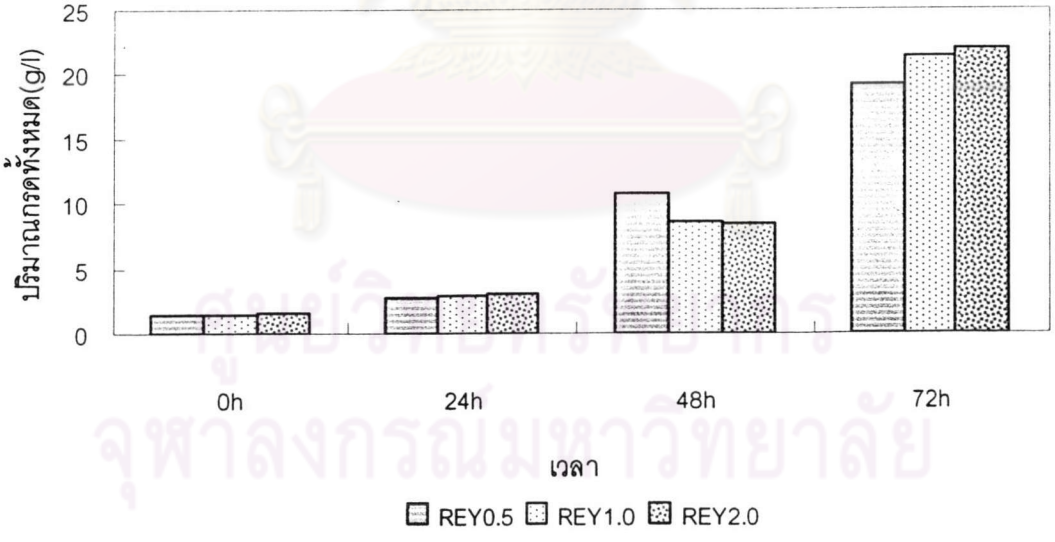


รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ในอาหารเหลว MED1

(ก) ค่าการดูดกลืนแสง (ข) ปริมาณกรดทั้งหมด (ค) ค่าความเป็นกรดเบส



รูปที่ 4.3 ปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการเจริญของ *Acetobacter aceti* ในอาหารเหลวต่างๆ



รูปที่ 4.4 ปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการเจริญของ *Acetobacter aceti* ในอาหารเหลว REYที่มีน้ำยางเป็นแหล่งคาร์บอนแปรปริมาณสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.5,1.0 และ 2.0 g/l

จากรูปที่ 4.2 (ก) ค่าความขุ่นที่ 600 นาโนเมตรแทนความเข้มข้นของเซลล์ *Acetobacter aceti* TISTR102 ในอาหารสมบูรณ์ MED1 ซึ่งใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น ค่าความขุ่นที่ 600 นาโนเมตรจะเพิ่มขึ้นตามเวลาโดยมีค่าแตกต่างกันน้อยภายหลังชั่วโมงที่ 24 ดังนี้ 0.143, 0.810, 1.023 และ 1.174 ที่ชั่วโมงที่ 4, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ เนื่องจากมีระยะการเจริญเติบโตค่อนข้างยาวนานจึงต้องเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมงเพื่อดูลักษณะการเจริญ และบอกได้ว่ามีระยะการเจริญสูงในช่วง 24-28 ชั่วโมง หลังจากนั้นก็จะมีความเข้มข้นของเซลล์ไม่แตกต่างกันมาก จึงเลือกใช้ *A. aceti* ในสารอาหาร MED1 ที่อายุ 24 ชั่วโมงเป็นเชื้อตั้งต้นเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหารเหลวที่เหมาะสมต่อไป

(ข) ระหว่างที่ *A. aceiit* TISTR102 เจริญในอาหารที่มีเอทานอลจะผลิตกรดแอซีติก ซึ่งสามารถตรวจสอบในรูปของปริมาณกรดทั้งหมด โดยการนำสารอาหารเลี้ยงเชื้อที่เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง จนครบ 72 ชั่วโมง ปริมาณ 10 มิลลิลิตรไปไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 นอร์มัลใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ต้องการเลือกช่วงเวลาที่ *A. aceti* สามารถผลิตกรดได้สูงเพื่อนำมาจับก้อนยาง พิจารณาการเลี้ยงเชื้อ *A. aceti* ในสารอาหารเหลว MED1 เติมเอทานอล 4 % v/v เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในสารอาหารดังนี้ 10.718, 21.336 และ 24.140 กรัม/ลิตร เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณกรดทั้งหมดในสารอาหารก็เพิ่มขึ้นด้วย มีการผลิตกรดแอซีติกน้อยในช่วง 24-28 ชั่วโมง ซึ่งพิจารณาจากค่าความขุ่นแล้วเป็นระยะที่เชื้อมีปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สูง ดังนั้น *A. aceti* จะใช้สารอาหารในการเพิ่มปริมาณเซลล์ก่อนและผลิตกรดไปด้วยแต่ไม่มากจนกระทั่งเชื้อเจริญเข้าสู่ระยะ late log phase ที่เวลาประมาณ 44-48 ชั่วโมง ปริมาณกรดที่ผลิตได้มีปริมาณสูงขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ปริมาณกรดทั้งหมดแตกต่างกันน้อย หากเปรียบเทียบระหว่างเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ปริมาณกรดทั้งหมดแตกต่างกันมาก ดังนั้นสำหรับ *A. aceti* TISTR102 มีเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและผลิตกรดแอซีติก คือ 48 ชั่วโมง

(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ระหว่างการเจริญของ *A. aceti* มีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อผลิตกรดแอซีติกสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมงมีค่า pH 3.49 3.21 และ 3.14 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซลล์ *A. aceti* ในสารอาหาร MED1 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ *A. aceti* ผลิตในสารอาหารและการเปลี่ยนแปลงค่า pH แล้ว เห็นว่าควรเลี้ยงเชื้อ *A. aceti* ในสารอาหาร MED1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นสำหรับขยายเชื้อในสารอาหารเหลวที่เหมาะสม โดยปริมาณที่ใช้คือ 5 %v/v และเติมเอทานอล 4 %v/v ในอาหารก่อนทำการขยายเชื้อ

จากรูปที่ 4. 3 คัดเลือกสารอาหารที่แตกต่างกัน 3 สูตรเพื่อเลือกสูตรอาหารที่แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR102 ผลิตกรดได้สูงสุดโดยพิจารณาที่เวลา 72 ชั่วโมงเป็นเกณฑ์ อาหารเหลว FBVs GEY MED1 และ FBVn มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 28.15 28.9 25.95 และ 10.55 กรัม/ลิตร โดยทุกสารอาหารจะเติม เอทานอล 95 % จำนวน 4 %v/v ในสภาวะควบคุมการปนเปื้อน ก่อนจะถ่ายเชื้อตั้งต้น 5 %v/v ลงไปในสารอาหาร พิจารณาที่เวลา 72 ชั่วโมงพบว่า *A. aceti* ในอาหารเหลว GEY มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุดจึงเลือกสารอาหาร GEY เป็นสารอาหารเพื่อขยายปริมาณเชื้อและผลิตกรดแอซีติกโดย *A. aceti* TISTR102

จากรูปที่ 4. 4 เนื่องจากในน้ำยางยังมีสารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ยางปะปนอยู่ เพื่อให้ *A. aceti* ใช้ในการเจริญและผลิตกรดแอซีติก จึงทำการปรับปรุงสารอาหาร GEY โดยใช้น้ำยางสดปริมาณคงที่แทนแหล่งคาร์บอนเดิมคือกลูโคสและแปรปริมาณสารสกัดจากยีสต์ที่ปริมาณ 0.5 1.0 และ 2.0 g/l เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหาร GEY เรียกสารอาหาร REY0.5 REY1.0 และ REY2.0 เมื่อนำไปเลี้ยง *A. aceti* ใน 24 ชั่วโมงแรก สารอาหารจะเป็นของเหลวสีเหลืองขุ่นจากน้ำยางและสารสกัดจากยีสต์ หลังจากนั้นสารอาหารจะใสและส่วนที่เป็นน้ำยางจะจับก้อนกลมมีรูพรุนรอบตัว ลอยอยู่บนผิวหน้าของสารอาหาร *A. aceti* ผลิตกรดแอซีติกได้มากขึ้นตามเวลา พิจารณาปริมาณกรดทั้งหมดในสารอาหาร REY0.5, REY1.0 และ REY2.0 ที่เวลา 48 ชั่วโมงมีค่าดังนี้ 10.818 , 8.564 และ 8.49 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

จึงเลือกสารอาหาร REY0.5 เป็นอาหารเพื่อขยายเชื้อโดยน้ำยางที่จะเป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อก็คือตัวอย่างน้ำยางที่นำมาทำให้จับก้อนในการทดลองขั้นต่อไป ดังนั้นในการเตรียมอาหารขยายเชื้อ *A . aceti* จะมีเฉพาะ สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตรและเอทานอล 4 %v/v

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 ผลของปริมาณ *B. subtilis* ในสารอาหารสูตรปรับต่ำ MM และสูตรสมบูรณ์ NB ต่อปริมาณไนโตรเจนในยางดิบแห้งจากน้ำยางสดปริมาณเนื้อยางแห้ง 15 %

ตัวอย่าง	*B. subtilis* broth (%v/v)	ปริมาณไนโตรเจน (%)	
		MM	NB
น้ำยางสด drc15	20	0.38	0.27
น้ำยางสด drc15	10	0.40	0.29
น้ำยางสด drc15	5	0.41	0.39

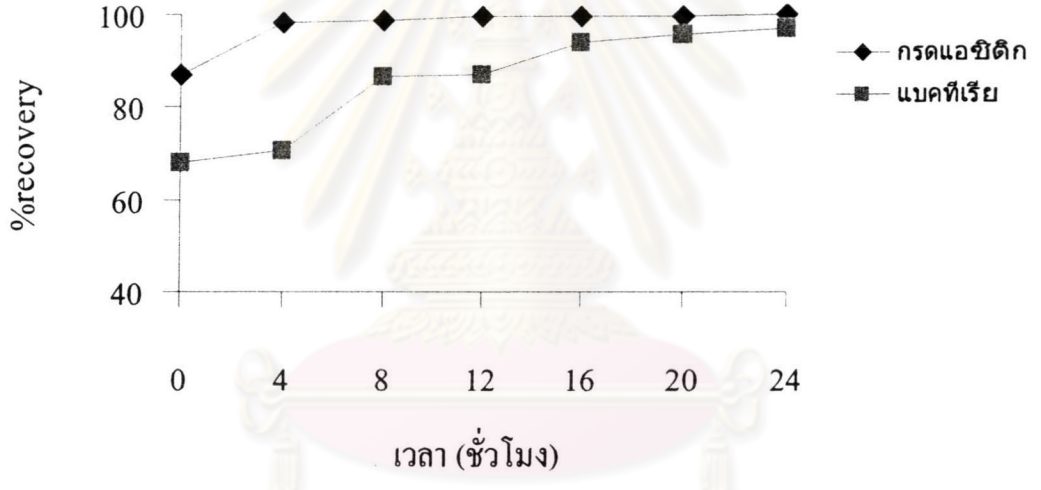
จากตารางที่ 4.1 พบว่าน้ำยางที่ผสม *B. subtilis* ในอาหารเหลว MM ระยะการเจริญ early stationary phase ปริมาณต่างกันดังนี้ 5, 10 และ 20 %v/v นำไปทำเป็นยางดิบแห้งและตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนในยางจะมีค่าดังนี้ 0.41, 0.40 และ 0.38 % w/w ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณของ *B. subtilis* ในสารอาหาร MM 20 %v/v นำมาบ่มกับน้ำยางสดก่อนผลิตเป็นยางดิบแห้งมีปริมาณไนโตรเจนต่ำที่สุด

ส่วนน้ำยางที่ผสม *B. subtilis* ในสารอาหารNB ระยะการเจริญ early stationary phase พบว่าน้ำยางที่ผสม *B. subtilis* ปริมาณ 5, 10 และ 20 %v/v เหลือปริมาณไนโตรเจนในยางดิบแห้ง 0.39 0.29 และ 0.27 %w/w ดังนั้นปริมาณของ *B. subtilis* ในสารอาหาร NB 20 %v/v บ่มกับน้ำยางก่อนผลิตเป็นยางดิบแห้งจะทำให้ยางดิบที่ได้มีปริมาณไนโตรเจนต่ำที่สุด

โปรตีเอสที่สร้างออกมานอกเซลล์สู่อาหารเหลวโดย *B. subtilis* จะอยู่ในรูปของเอนไซม์ที่ยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (crude enzyme) ดังนั้นประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์จะไม่เท่ากับโปรตีเอสในรูปแบบบริสุทธิ์ เพื่อให้โปรตีเอสในสารอาหารเหลวกระจายอย่างทั่วถึงในน้ำยางและสามารถย่อยโปรตีนที่อยู่รอบผิวอนุภาคยางได้บางส่วน จึงเลือกใช้ *B. subtilis* ในสารอาหารระยะ early stationary phase ปริมาณ 20 %v/v บ่มกับน้ำยางก่อนที่จะนำไปจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติกจาก *A. aceti* ในสารอาหาร REY เพื่อดูความเป็นไปได้ในการลดปริมาณไนโตรเจนในยางดิบ เปรียบเทียบระหว่าง *B. subtilis* ในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB กับยางดิบที่ไม่ใช้แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ จับก้อนโดยกรดแอซีติก

4. 3 ศึกษาการจับก้อนของน้ำยางสดและน้ำยางข้นโดยใช้กรดแอซีติกและแบคทีเรีย

ในการทดสอบหาปริมาณของยางแห้งที่ผลิตได้ที่เวลาต่าง ๆ จะเตรียมตัวอย่างน้ำยางสดและน้ำยางข้นปริมาณเนื้อยางแห้ง (drc) 15% เติมสารที่ทำให้ยางจับก้อนคือ แบคทีเรีย *A. aceti* และกรดแอซีติก เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณเนื้อยางแห้งที่เวลานั้น ๆ นำไปเปรียบเทียบกับปริมาณเนื้อยางแห้งเริ่มต้น วัดการจับก้อนของยางออกมาเป็น % recovery ซึ่งหมายถึง ปริมาณยางแห้งที่จับก้อนได้ต่อยางแห้งเริ่มต้น การเปรียบเทียบระหว่างการใช้กรดแอซีติกจับก้อนยางอย่างเดียวกับการใช้แบคทีเรียร่วมระหว่าง *Bacillus subtilis* TISTR 25 และ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ของน้ำยางสดแสดงในรูปที่ 4.5 และน้ำยางข้นแสดงในรูปที่ 4.6



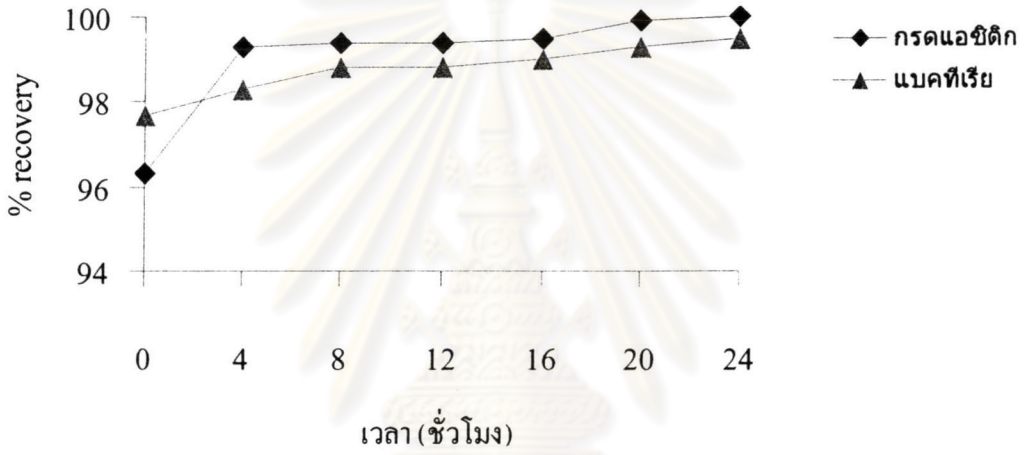
รูปที่ 4.5 ปริมาณเนื้อยางแห้งจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียที่เวลาต่าง ๆ (n=3)

จากรูปที่ 4.5 ปริมาณเนื้อยางแห้งเทียบกับปริมาณเนื้อยางแห้งเริ่มต้น (% recovery) ของการทำให้น้ำยางสดจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติกและแบคทีเรียที่เวลา 0 ชั่วโมง คือ 87.22 และ 67.9 % ปริมาณเนื้อยางจับก้อนเพิ่มขึ้นตามเวลา

น้ำยางสดที่ทำให้จับก้อนโดยกรดแอซีติกจับก้อน 99.6 % ที่เวลา 12 ชั่วโมงและจับก้อนได้ 99.99 % ที่เวลา 24 ชั่วโมง จึงถือเอาที่เวลา 12 ชั่วโมงเป็นเวลาที่น้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกจับก้อนได้สมบูรณ์

น้ำยางสดทำให้จับก้อนโดยแบคทีเรีย จับก้อน 93.9 % ที่เวลา 16 ชั่วโมงและที่เวลา 24 ชั่วโมงน้ำยางจับก้อนได้ 97.15 % การใช้กรดแอซีติกทำให้ยางจับก้อนจะจับตัวได้เร็วกว่าการใช้

แบคทีเรียที่จะค่อย ๆ จับก้อนยางเพิ่มขึ้นตามเวลาและจับก้อนได้เกือบสมบูรณ์ที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งความแตกต่างอาจมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียซึ่งเติมลงไปในน้ำยางสด มี *B. subtilis* ซึ่งผลิตโปรตีเอสชนิดแอลคาไลน์มี pH ในช่วงเป็นเบส 8-10 เมื่อบ่มกับน้ำยางทำให้น้ำยางมีความเป็นเบสมากกว่ายางจับก้อนโดยกรดแอซีติกที่ไม่มี *B. subtilis* ในน้ำยาง เมื่อทำให้จับก้อนโดยแบคทีเรีย *A. aceti* ในอาหารเหลวซึ่งมีความเป็นกรด ค่า pH 3-4 จึงต้องใช้เวลามากกว่าเพื่อลดประจุลบของอนุภาคยางให้อยู่ในระดับที่สามารถทำให้ยางจับก้อนได้



รูปที่ 4.6 ปริมาณเนื้อยางแห้งจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียที่เวลาต่าง ๆ (n = 3)

จากรูป 4.6 ปริมาณเนื้อยางแห้งเทียบกับปริมาณเนื้อยางแห้งเริ่มต้น (% recovery) ของการทำให้น้ำยางข้นจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติกและแบคทีเรียที่เวลา 0 ชั่วโมงคือ 96.3 และ 97.7% ปริมาณเนื้อยางจับก้อนเพิ่มขึ้นตามเวลา

น้ำยางข้นใช้กรดแอซีติกจับก้อน ได้ 99.3 % ที่เวลา 4 ชั่วโมง และมีการเปลี่ยนแปลง%การจับก้อนน้อยมากจนถึง 24 ชั่วโมง จึงถือว่าน้ำยางข้นจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติกจับก้อนสมบูรณ์ ที่เวลา 4 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับน้ำยางสดใช้กรดแอซีติก ซึ่งใช้เวลา 12 ชั่วโมง เนื่องจากน้ำยางข้นผ่านกระบวนการผลิตที่อาจทำลายเสถียรภาพรอบอนุภาคยางไปบางส่วนอาจมีส่วนทำให้จับก้อนได้เร็วกว่าเมื่อเจอสารประเภทกรด

น้ำยางข้นใช้แบคทีเรียจับก้อนได้ 99 % ที่เวลา 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นก็มี%การจับก้อนเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย จนจับก้อนได้ 99.5 % ที่เวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นน้ำยางข้นจับก้อนโดย

แบคทีเรียจับก้อนสมบูรณ์ที่เวลา 16 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับน้ำยางสดใช้กรดแอซีติกซึ่งใช้เวลา 12 ชั่วโมงจะอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน

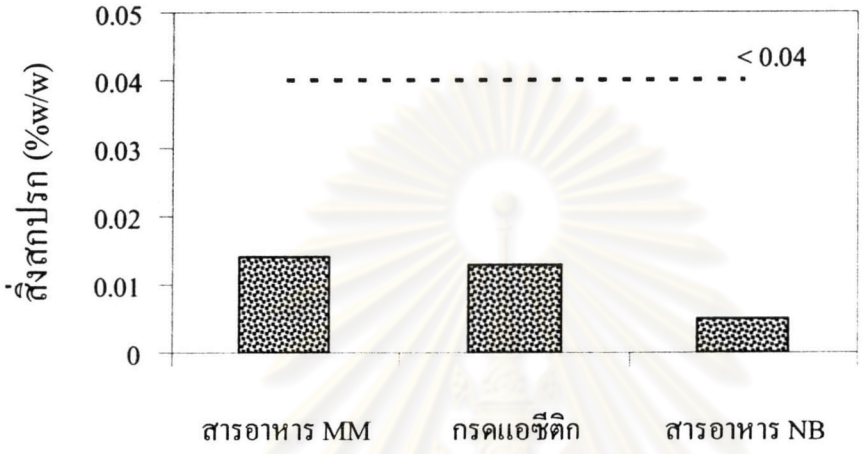
การทำให้น้ำยางสดและน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกใช้เวลา 12 และ 4 ชั่วโมง แตกต่างกัน 8 ชั่วโมง

การทำให้น้ำยางสดและน้ำยางข้นจับก้อนโดยแบคทีเรียใช้เวลา 24 และ 16 ชั่วโมง แตกต่างกัน 8 ชั่วโมง ดังนั้นกระบวนการที่ต้องการให้ยางค่อย ๆ จับก้อนควรใช้แบคทีเรีย

4. 4 สมบัติทางกายภาพของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย

ในการทดลองผลิตยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย ยางที่ใช้แบคทีเรียจะหมายถึงยางที่ใช้แบคทีเรียร่วมระหว่าง *Bacillus subtilis* TISTR25 และ *Acetobacter aceti* TISTR102 โดยจะแปรชนิดอาหารของ *Bacillus subtilis* TISTR25 2 ชนิดได้แก่สารอาหารสูตรปรับต่ำ MM และสารอาหารสูตรสมบูรณ์ NB เปรียบเทียบกับการใช้กรดแอซีติกเพียงอย่างเดียว โดยน้ำยางสดที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 43 % ปริมาณเนื้อยางแห้งเริ่มต้น 41 % และมีปริมาณความเป็นด่างวัดในรูปของแอมโมเนียประมาณ 0.3 % ก่อนนำไปจับก้อนโดย *A. aceti* และกรดแอซีติก จะปรับปริมาณเนื้อยางแห้งด้วย *B. subtilis* และน้ำกลั่นจนมี drc สุดท้ายเป็น 5 15 และ 25% โดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่น หลังจากได้ยางดิบแล้วนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของยาง 8 ประการ ดังนี้ ปริมาณสิ่งสกปรก ปริมาณสิ่งระเหย ปริมาณเถ้า ปริมาณไนโตรเจน ความอ่อนตัวเริ่มแรก ดัชนีความอ่อนตัว สี และ ความหนืดมูนี ตามวิธีที่กำหนดไว้เพื่อทดสอบสมบัติยางแท่ง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.7 - 4.14 ตามลำดับ และเพื่อเป็นแนวทางในการนำกระบวนการผลิตยางดิบจากน้ำยางสดรักษาสภาพด้วยแอมโมเนียจับก้อนโดยแบคทีเรียประยุกต์ใช้ในการผลิตยางแท่งจากน้ำยางสด จึงเปรียบเทียบสมบัติยางที่ได้จากกระบวนการจับก้อนโดยแบคทีเรียกับค่ากำหนดของยางแท่งไทยชั้น STR 5L แสดงเป็นเส้นประและบอกค่ากำหนดของสมบัติแต่ละอย่างของยางชั้น STR 5Lไว้เหนือเส้นประ โดยสัญลักษณ์ > หมายถึง ค่าที่ได้ต้องมากกว่าค่าตัวเลขหลังเครื่องหมายจึงจะผ่านเกณฑ์กำหนด และ สัญลักษณ์ < หมายถึง ค่าที่ได้ต้องไม่เกินหรือน้อยกว่าค่าตัวเลขหลังเครื่องหมายจึงจะผ่านเกณฑ์กำหนดของยางชั้นนี้ โดยไม่ได้กำหนดว่าค่าจะต้องมากกว่าหรือน้อยกว่าเป็นจำนวนเท่าใด และที่เลือกชั้นของยางแท่งไทย STR 5L เป็นเกณฑ์ เนื่องจากยางแท่งที่ประเทศไทยผลิตและส่งออกนั้นมีหลายชั้นเมื่อแยกตามชั้นจากเกรดดีไปเกรดต่ำ (ภาคผนวก ค) จะเป็นดังนี้ ยางแท่ง STRXL, STR5L , STR5, STR10, STR20, STRCV และยางไม่ระบุชั้น เมื่อเรียงลำดับจากปริมาณการส่งออกจากน้อยไปมากใน พ.ศ. 2546 จะเป็นดังนี้ ยางแท่งไม่ระบุชั้น 177,582 เมตริกตัน ยางSTR10 79,396 เมตริกตัน และชั้น STR5L 4,380

เมตริกตัน ดังนั้นหากยางดิบที่ผลิตโดยกระบวนการใช้แบคทีเรียผ่านข้อกำหนดของยางแท่งชั้น STR5L ก็จะเป็นยางที่คลอบคลุมยางแท่งชั้นอื่น ๆ ที่เป็นเกรดรองลงมา ได้แก่ ยางชั้น STR 10 ชั้น STR 20 และยางไม่ระบุชั้น ซึ่งเป็นยางแท่งส่วนใหญ่ที่ประเทศไทยส่งออก



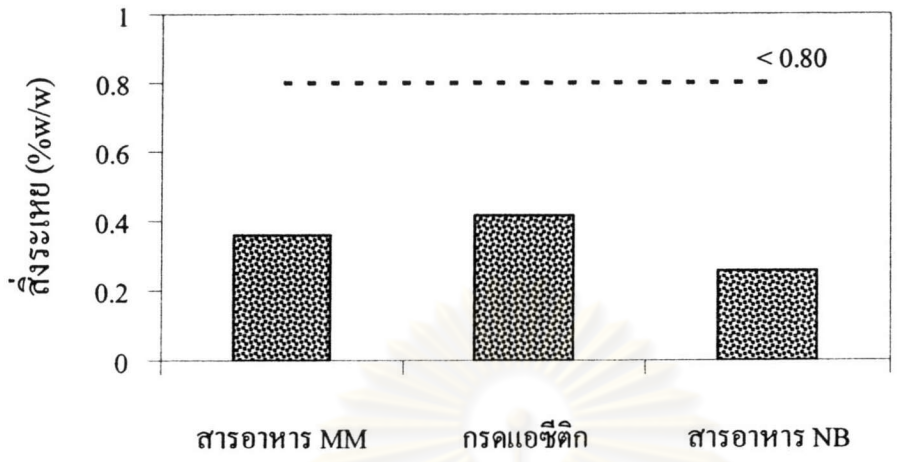
รูปที่4.7 ปริมาณสิ่งสกปรกในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.7 ปริมาณสิ่งสกปรก (%dirt) ในยางดิบจากน้ำยางสดปริมาณแอมโมเนียต่ำ จับก้อนยางโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MM และแบคทีเรียในสารอาหาร NB เท่ากับ 0.013 0.014 และ 0.005 %

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีปริมาณสิ่งสกปรกมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.004 หน่วย หรือ 30.8 %

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีปริมาณสิ่งสกปรกน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.005 หน่วยหรือ 38.5 %

สิ่งสกปรกคือปริมาณสารในยางดิบที่มาทำให้ละลายในน้ำมันสนโดยใช้ความร้อน แล้วนำสารที่ได้กรองด้วยตะแกรงขนาด 325 เมช หรือ 44 ไมครอน สิ่งสกปรกที่มีในเนื้อยางที่มีขนาดใหญ่กว่า 44 ไมครอน ส่วนใหญ่จะเป็น เศษไม้ เศษใบไม้ ความแตกต่างระหว่างการใช้แบคทีเรียในสารอาหารคนละชนิดกับการใช้กรดแอซีติก อาจเกิดจากสิ่งเจือปนจากน้ำยางเริ่มต้นหรือระหว่างทำการทดลอง เนื่องจากแบคทีเรียมีขนาดประมาณ 0.2-5 ไมครอน (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) และถูกละลายด้วยความร้อนทำให้ไม่เหลือตกค้างอยู่เป็นสิ่งสกปรกได้



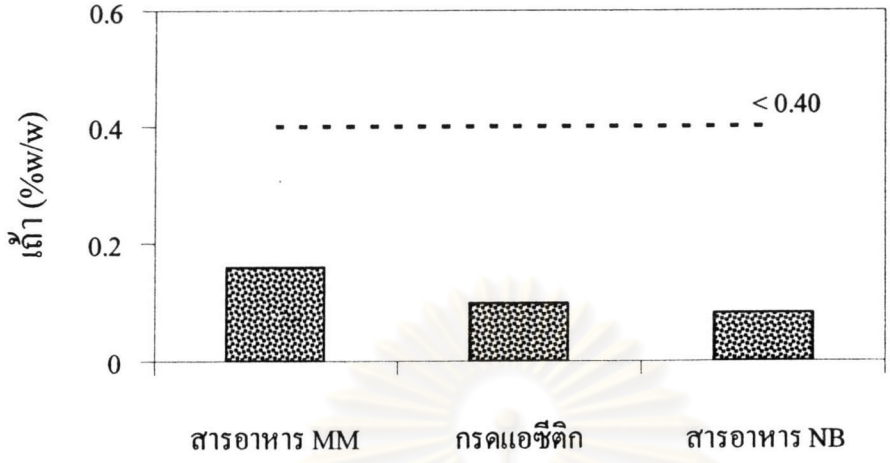
รูปที่4.8 ปริมาณสิ่งระเหยในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.8 ปริมาณสิ่งระเหย (% volatile matter) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MMและ แบคทีเรียในสารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 0.36, 0.42 และ 0.26 %w/w ตามลำดับ

ยางที่ใช้แบคทีเรียในอาหาร MM มีสิ่งระเหย น้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.06 หน่วยหรือน้อยกว่า 14.3 %

ยางใช้แบคทีเรียในอาหาร NB มีสิ่งระเหยน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.16 หน่วยหรือน้อยกว่า 38.1 %

ปริมาณสิ่งระเหย หมายถึง ความชื้นและกรดไขมันสายสั้น ๆ ที่ถูกเอนไซม์โปรตีเอสย่อยออกมา ถ้ามีค่ามากก็จะทำให้ยางดูดซับความชื้นในสิ่งแวดล้อมได้ดี ยางมีความชื้นทำให้ ยางขึ้นราง่าย นอกจากนี้ถ้าในยางมีโปรตีนอยู่ด้วยก็จะทำให้เกิดการดูดซับน้ำได้ดีเช่นเดียวกันเพราะโปรตีนเป็นสารที่มีขั้วและชอบน้ำ ถ้ามีโปรตีนน้อยก็จะทำให้ความชื้นที่ตกค้างในยางน้อยลงด้วย ดังนั้นความชื้นในยางจึงอาจเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีนที่ตกค้างอยู่กับอนุภาคยางไม่หลุดไประหว่างการชะล้างด้วยน้ำหรือการย่อยจากโปรตีเอส ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีปริมาณความชื้นน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติกและยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM อาจเป็นไปได้ที่ยางดิบที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB จะมีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่ายางใช้กรดและยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM



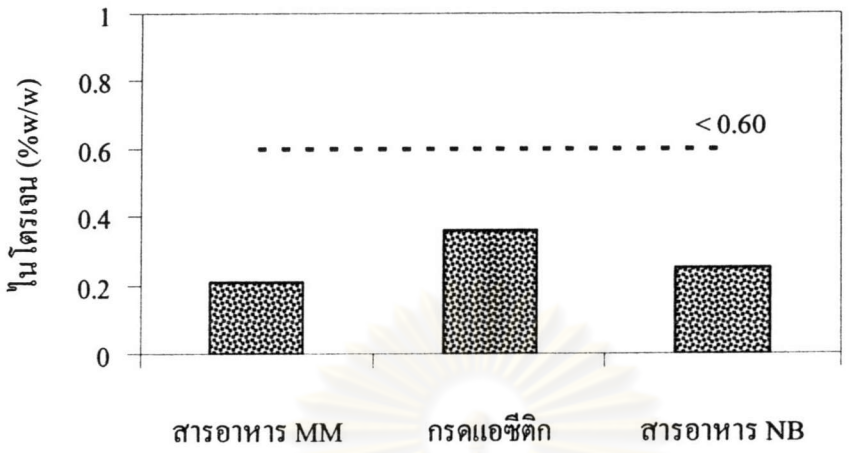
รูปที่ 4.9 ปริมาณเถ้าในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และสารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.9 ปริมาณเถ้า (%ash) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนยางโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MM และแบคทีเรียในสารอาหาร NB เท่ากับ 0.16, 0.10 และ 0.08 % w/w

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีปริมาณเถ้ามากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.06 หน่วย หรือมากกว่า 60 %

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีปริมาณเถ้าน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.02 หน่วย หรือน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 20 %

ปริมาณเถ้าเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแร่ธาตุที่มีอยู่ในยางที่เป็นสารจำพวกเกลืออนินทรีย์และซิลิกาในน้ำยางรวมถึงสารเติมแต่งอื่น ๆ ในกระบวนการแปรรูป หาจากการเผายางดิบที่อุณหภูมิสูง 500-600 องศาเซลเซียส 2-3 ชั่วโมง ปริมาณเถ้ามีส่วนสำคัญต่อการดูดซับความชื้นของยางธรรมชาติโดยปริมาณเถ้าต่ำจะทำให้อัตราการดูดซับความชื้นในอากาศของยางต่ำ ยางจึงมีโอกาสปนเปื้อนจากเชื้อราในสิ่งแวดล้อมได้น้อยลง ยางจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหารMM จะมีปริมาณเถ้ามากกว่า ยางใช้กรดแอซีติกและแบคทีเรียสารอาหาร NB เนื่องจากในสารอาหาร MM มีส่วนประกอบที่เป็นแร่ธาตุอยู่เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสเฟต เมื่อเผายางดิบด้วยความร้อนสูงจึงเหลือปริมาณเถ้าในยางมากกว่ายางดิบที่ใช้กรดหรือยางดิบที่ใช้แบคทีเรียแต่มีปริมาณแร่ธาตุน้อย ดังสารอาหาร NB และการที่สารอาหาร NB มีปริมาณเถ้าน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติกเล็กน้อยอาจเป็นผลมาจากสิ่งปะปนจากภายนอก



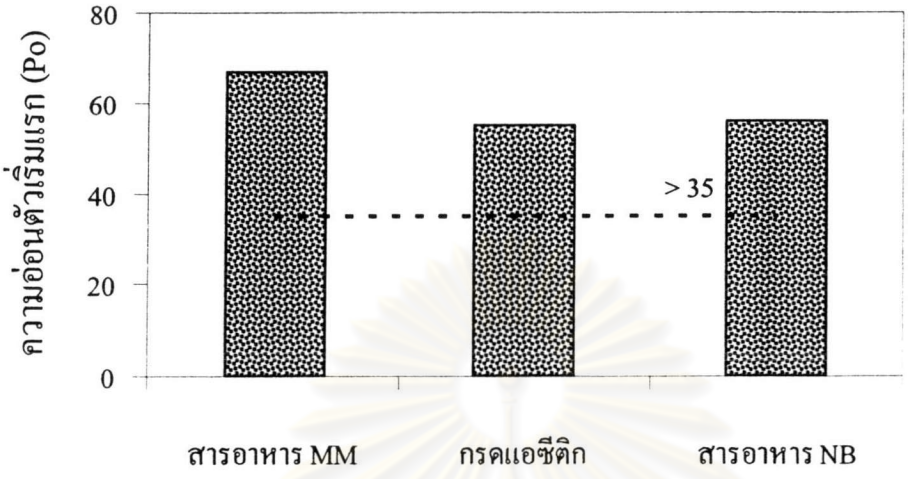
รูปที่ 4.10 ปริมาณไนโตรเจนในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.10 ปริมาณไนโตรเจน (%nitrogen content) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียใช้สารอาหาร MM และแบคทีเรียใช้สารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 0.37 0.21 และ 0.25 % w/w

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีไนโตรเจนน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.16 หน่วยหรือน้อยกว่า 43.2 %

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีไนโตรเจนน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.12 หน่วยหรือน้อยกว่า 32.4 %

การใช้แบคทีเรียร่วมระหว่าง *B. subtilis* ในสารอาหารสูตรปรับต่ำ MM และสูตรสมบูรณ์ NBและ แบคทีเรีย *A. aceti* มีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนในยางดิบ น้อยกว่า ยางที่ไม่ได้ใช้แบคทีเรียประมาณ 30-40 % นอกจากผลิตโปรตีเอสแล้ว *B. subtilis* ยังผลิตสารที่มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวในระหว่างการเจริญเติบโต (Makkar และ Cameotra, 1998) เมื่อนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ สารลดแรงตึงผิวจึงช่วยรักษาเสถียรภาพการเป็นคอยลอยด์ของอนุภาคยางไว้ในระหว่างที่โปรตีเอสทำงานจนกว่าจะทำให้จับก้อนโดยแบคทีเรีย *A. aceti* และยางดิบที่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* ในสารอาหารสูตรสมบูรณ์ NB จะมีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่ายางดิบที่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารสูตรปรับต่ำ MM ดังนั้นหากต้องเลือกใช้อาหารสำหรับแบคทีเรีย *B. subtilis* เพื่อการลดไนโตรเจนในยางดิบจากน้ำยางสดแล้วควรใช้อาหารสูตรปรับต่ำ MM โดยอาจต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมของการใช้โปรตีเอสในรูปที่ยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (crude enzyme) มาช่วยลดโปรตีนในยางให้ได้มากที่สุด



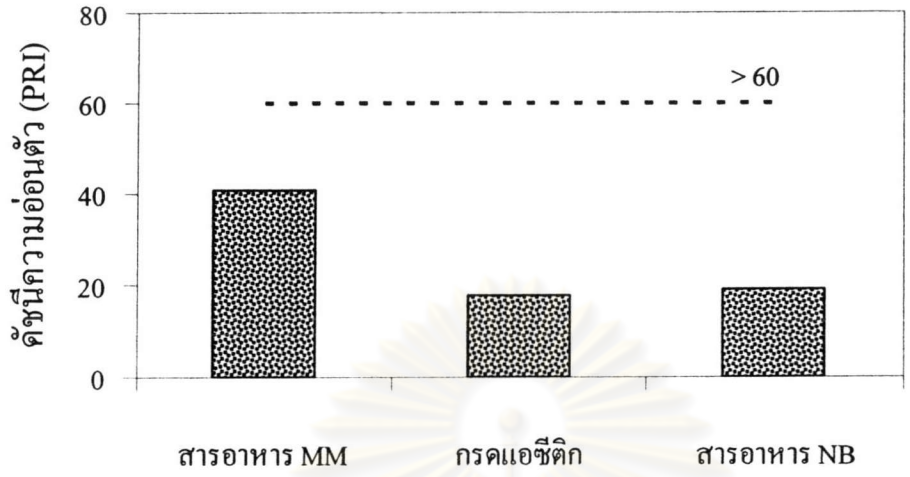
รูปที่ 4.11 ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.11 ความอ่อนตัวเริ่มแรก (initial plasticity; Po) ของยางดิบจากน้ำยางสดที่จับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MM และแบคทีเรียในสารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 55, 67 และ 56

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) มากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 12 หน่วยหรือมากกว่า 21.8 %

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) มากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 1 หน่วยหรือ มากกว่า 1.8 %

ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) เป็นค่าที่ใช้ประมาณขนาดของโมเลกุลยาง ยางที่มีค่า Po สูง แสดงว่ามีขนาดโมเลกุลสูง ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีขนาดโมเลกุลสูงกว่า ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB และยางใช้กรดแอซีติก



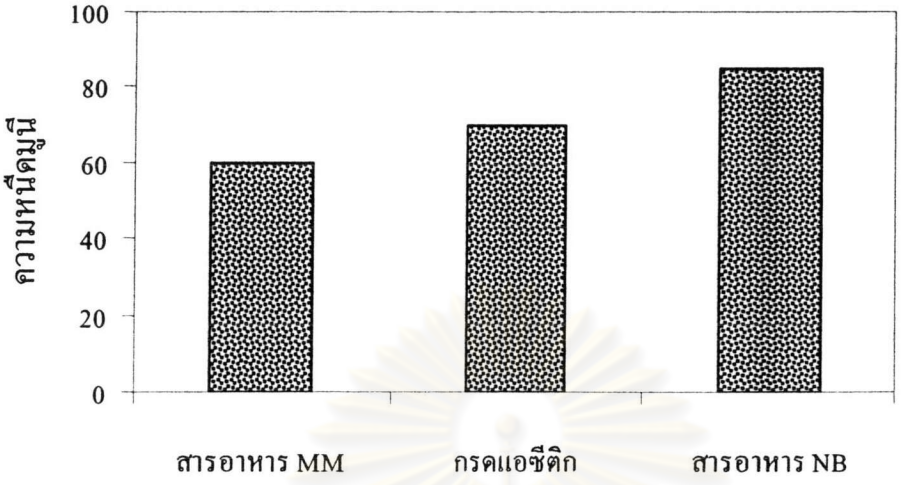
รูปที่ 4.12 ดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.12 ดัชนีความอ่อนตัว (Plasticity retention index; PRI) ของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MM และ แบคทีเรียในสารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 18, 41 และ 19 หน่วยตามลำดับ

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีดัชนีความอ่อนตัวมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 23 หน่วย หรือ มากกว่ายางใช้กรด 127.8 %

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีมีดัชนีความอ่อนตัวมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 1 หน่วย หรือ มากกว่ายางใช้กรด 5.6 %

ค่า PRI เป็นตัวชี้บ่งความสามารถในการต่อต้านการถูกออกซิเดชันซึ่งเป็นการที่โมเลกุลยางถูกทำให้เสียสภาพจากสิ่งแวดล้อมเช่น แสงแดด โอโซน ถ้ามีค่า PRI มากแสดงว่ายางทนต่อการถูกออกซิเดชันได้มากแต่ถ้ามีค่า PRI น้อยจะทนทานต่อการถูกออกซิเดชันได้น้อย ยางเสื่อมสภาพได้เร็วขึ้น และการใช้เอนไซม์เพื่อลดโปรตีนในยางจะทำให้ค่า PRI ในยางลดลง จึงถูกออกซิเดชันได้ง่าย ต้องเติมสารกันการถูกออกซิไดซ์ (anti-oxidation) ชนิดที่เหมาะสมเพื่อปรับปรุงค่า PRI ให้อยู่ในเกณฑ์ (พรรณสุนันท์ เจียรรุ่งแสง, 2543) นอกจากนี้เศษยางก้นถ้วย (skim crump) ที่ลดโปรตีนโดยปฏิกิริยา สะพอนนิฟิเคชั่น จะมีค่า PRI น้อยกว่า ยางที่ไม่ผ่านปฏิกิริยา สะพอนนิฟิเคชั่น โดยทำนายว่าอาจเกิดจาก สารแอนติออกซิเดชันตามธรรมชาติถูกกำจัดออกไป (สิริวัลย์ บุญสุก, 2542) ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีค่า PRI มากกว่า ยางใช้แบคทีเรีย NB และกรดแอซีติกจึงทนต่อการเสียสภาพจากสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่า



รูปที่ 4.13 ความหนืดมูนี ML (1+4) 100 องศาเซลเซียส ของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

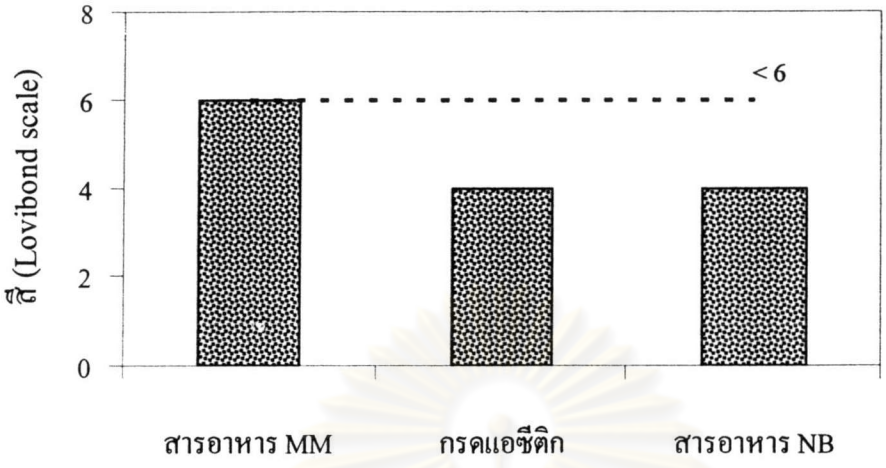
จากรูปที่ 4. 13 ค่าความหนืดมูนี (Moony viscosity) ของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียใช้สารอาหาร MM และแบคทีเรียใช้สารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 70, 60 และ 86 ตามลำดับ

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีความหนืดมูนี น้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 10 หน่วยหรือน้อยกว่ายางใช้กรด 14.3 %

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีความหนืดมูนีมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 16 หน่วยหรือมากกว่ายางใช้กรด 22.9 %

ค่าความหนืดมูนีเป็นค่าที่บ่งถึงน้ำหนักโมเลกุลของยางดังนั้นยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีน้ำหนักโมเลกุลของยางมากกว่ายางที่ใช้กรดแอซีติก และยางใช้แบคทีเรีย MM

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

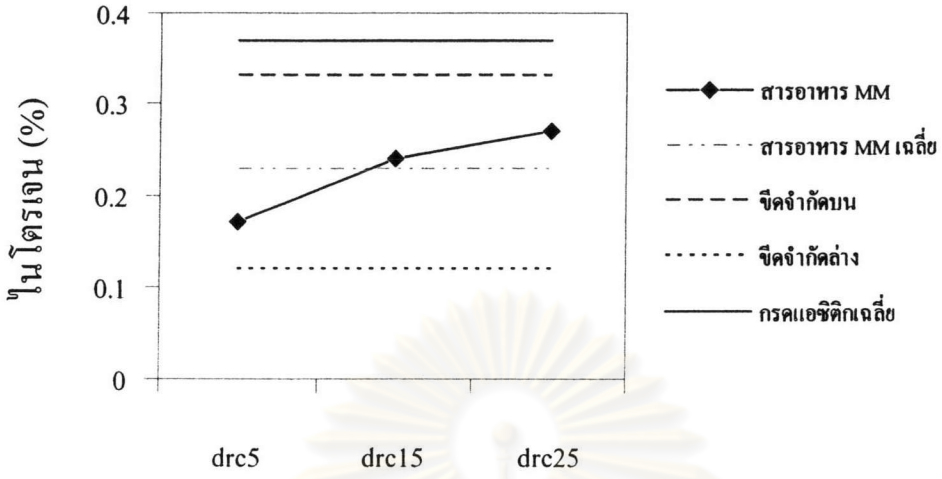


รูปที่ 4.14 สี (Lovibond index) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.14 ความเข้มสีเป็นการนำชิ้นยางตัวอย่างมาอัดในแบบพิมพ์มาตรฐานด้วยความร้อน 70 องศาเซลเซียส ความดันประมาณ 0.5-1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร แล้วนำไปเปรียบเทียบกับสีมาตรฐานโลวิบอนด์ ความเข้มสีของยางต่ำกว่า 6 แสดงว่าเป็นยางแท่ง เกรดดี STR 5L หากสีเข้มกว่า 6 แสดงว่าเป็นยางแท่งเกรดรองจาก STR 5L เมื่อเทียบกับสีมาตรฐานโลวิบอนด์ ของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก แบคทีเรียสารอาหาร MM และ แบคทีเรียสารอาหาร NB มีความเข้มสีเท่ากับ 4, 6 และ 4

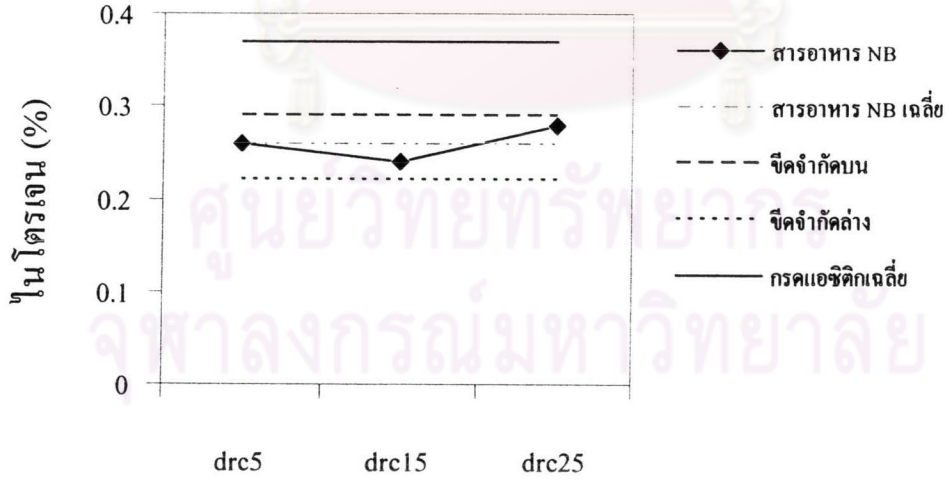
ยางจับก้อนโดยใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีสีเข้มกว่ายางที่จับก้อนโดยการใช้กรดแอซีติก 2 หน่วยหรือเข้มกว่า 50 %

ยางจับก้อนใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีสีเข้มเท่ากับยางที่จับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก ตามมาตรฐานของยางแท่ง ถ้ายางมีความเข้มสีน้อยกว่า 6 แสดงว่าเป็นยางที่มีสีอ่อน เป็นยางแท่งเกรดดี ถ้ามากกว่า 6 แสดงว่าเป็นยางแท่งเกรดรองลงมา ซึ่งสีของยางอาจขึ้นกับสายพันธุ์ ฤดูกรีดยาง แต่อย่างไรก็ตามอาจขึ้นกับปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารฟีนอล (phenol) ในยางเป็น ortho-quinones ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ซึ่งเป็นส่วนย่อยของโปรตีนในยาง ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีออกออกมา (อลิสา วังใน, 2538) ดังนั้นการมีโปรตีนในยางอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ยางสีเข้ม



รูปที่ 4.15 ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของปริมาณไนโตรเจน (%w/w) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร MM

จากรูปที่ 4.15 กำหนดขีดจำกัดบนและขีดจำกัดล่างจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อดูความแปรปรวนของปริมาณไนโตรเจนจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM เมื่อทำการทดลอง 3 drc ได้แก่ drc 5, 15 และ 25 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ พบว่าค่าเฉลี่ยของข้อมูลอยู่ในขีดกำหนด ดังนั้นการผลิตยางดิบจากน้ำยางสดใช้แบคทีเรียสามารถควบคุมการผลิตให้อยู่ในช่วงที่กำหนดได้



รูปที่ 4.16 ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของปริมาณไนโตรเจน (%w/w) ในยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร NB

จากรูปที่ 4.16 กำหนดขีดจำกัดบนและขีดจำกัดล่าง เพื่อดูความแปรปรวนของปริมาณไนโตรเจนจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร NB เมื่อทำการทดลอง 3 ครั้งที่มีปริมาณ

เนื้อยางแห้ง (drc) ต่างกัน พบว่าค่าเฉลี่ยของข้อมูลอยู่ในขีดกำหนด ดังนั้นการผลิตยางดิบจากน้ำยางสดใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB สามารถควบคุมการผลิตให้อยู่ในเกณฑ์ที่ต้องการได้ พิจารณาช่วงความแตกต่างระหว่างขีดจำกัดบนและขีดจำกัดล่าง ในสารอาหาร MM จะมีช่วงกว้างกว่าสารอาหาร NB แสดงว่าการใช้สารอาหาร NB จะควบคุมการผลิตได้คงที่มากกว่าการใช้สารอาหาร MM

ตารางที่ 4.2 สมบัติทางกายภาพของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกเทียบกับจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร MM

สมบัติยาง STR 5L	วิธีจับก้อนยาง		% ความแตกต่างเทียบกับการใช้กรดแอซีติก
	กรดแอซีติก	แบคทีเรียสารอาหาร MM	
ปริมาณสิ่งสกปรก (ไม่เกิน 0.60%)	0.013 ± 0.004	0.014 ± 0.006	+ 7.7
ปริมาณสิ่งระเหย (ไม่เกิน 0.60)	0.42 ± 0.112	0.36 ± 0.121	- 14.3
ปริมาณเถ้า (ไม่เกิน 0.40 %)	0.10 ± 0.036	0.16 ± 0.049	+ 60
ปริมาณไนโตรเจน (ไม่เกิน 0.60 %)	0.37^{a} ± 0.026	0.21^{b} ± 0.055	- 43.2
ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po, มากกว่า 35)	55 ± 9	67 ± 5	+ 21.8
ดัชนีความอ่อนตัว (PRI, มากกว่า 60)	18 ± 13	41 ± 14	+ 127.8
ความหนืด มูนี (ไม่ได้ระบุ)	70^{a} ± 5	60^{b} ± 2	- 14.3
สี (ไม่เกิน 6)	4 ± 0.6	6 ± 1	+ 50

หมายเหตุ a , b หมายถึง ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ตามวิธีการทดสอบโดยอาศัยการแจกแจงที (t-test)

จากตารางที่ 4.2 สมบัติของที่ยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM มีสมบัติที่ด้อยกว่ายางที่จับก้อนโดยกรดแอซีติก ดังนี้ สิ่งสกปรก สิ่งระเหย เถ้า ความหนืดมูนี และความเข้มสี ส่วนสมบัติที่ดีกว่ามีดังนี้ ปริมาณไนโตรเจน ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) และดัชนีความอ่อนตัว (PRI)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมบัติของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM เมื่อเปรียบเทียบกับข้อกำหนดของยางแท่ง STR 5L ผ่านเกณฑ์ 7 ประการ ไม่ผ่านเกณฑ์ 1 ประการคือ ดัชนีความอ่อนตัว มีค่าต่ำกว่า 60

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางกายภาพของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกเทียบกับจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร NB

สมบัติยาง STR 5L	วิธีจับก้อนยาง		% ความแตกต่างเทียบกับการใช้กรดแอซีติก
	กรดแอซีติก	แบคทีเรีย สารอาหาร NB	
ปริมาณสิ่งสกปรก (ไม่เกิน 0.60%)	0.013 ± 0.004	0.005 ± 0.004	- 61.5
ปริมาณสิ่งระเหย (ไม่เกิน 0.60)	0.42 ± 0.112	0.26 ± 0.096	- 38.1
ปริมาณเถ้า (ไม่เกิน 0.40 %)	0.10 ± 0.036	0.08 ± 0.015	- 20
ปริมาณไนโตรเจน (ไม่เกิน 0.60 %)	0.37[a] ± 0.026	0.25[b] ± 0.04	- 32.4
ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po, มากกว่า 35)	55 ± 9	56 ± 10	+ 1.8
ดัชนีความอ่อนตัว (PRI, มากกว่า 60)	18 ± 13	19 ± 11	+ 5.6
ความหนืด มูนี (ไม่ได้ระบุ)	70[a] ± 5	86[b] ± 5	+ 22.9
สี (ไม่เกิน 6)	4 ± 0.6	4 ± 0.6	0

หมายเหตุ a , b หมายถึง ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ตามวิธีการทดสอบโดยอาศัยการแจกแจงที (t-test)

จากตารางที่ 4. 3 สมบัติของที่ยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร NB มีสมบัติที่ดีกว่ายางที่จับก้อนโดยกรดแอซีติก ดังนี้ สิ่งสกปรก สิ่งระเหย ปริมาณเถ้า ไนโตรเจน ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) ดัชนีความอ่อนตัว (PRI) และ ความหนืดมูนี ความเข้มสีมีค่าเท่ากัน

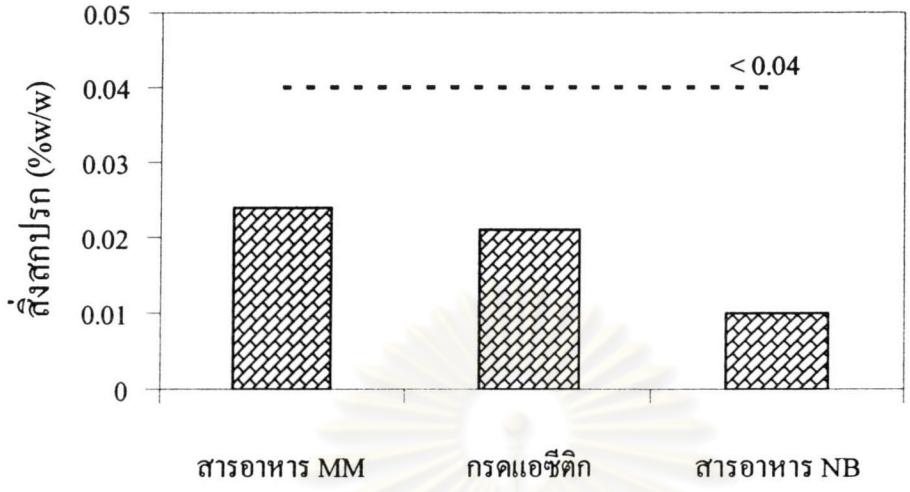
สมบัติของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร NB เมื่อเปรียบเทียบกับข้อกำหนดของยางแท่ง STR 5L ผ่านเกณฑ์ 7 ประการ ไม่ผ่านเกณฑ์ 1 ประการ คือดัชนีความอ่อนตัวมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. 5 สมบัติทางกายภาพของยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย

ในการทดลองผลิตยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย ยางที่ใช้แบคทีเรียจะหมายถึงยางที่ใช้แบคทีเรียร่วมระหว่าง *Bacillus subtilis* TISTR25 และ *Acetobacter aceti* TISTR102 โดยแปรชนิดอาหารของ *Bacillus subtilis* TISTR25 2 ชนิดได้แก่สารอาหารสูตรปรับต่ำ MM และสารอาหารสูตรสมบูรณ์ NB เปรียบเทียบกับการใช้กรดแอซีติกเพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับการทดลองในส่วนของน้ำยางสด และการเลือกใช้น้ำยางข้นในการทดลองนี้ก็เพื่อเป็นแนวทางในการทำผลิตภัณฑ์จุ่มแบบ (dipping) โดยใช้แบคทีเรียเป็นตัวทำให้ยางจับตัวเป็นฟิล์มยางภายหลังผสม *B. subtilis* ในอาหารเหลวและน้ำกลั่นแล้วปริมาณเนื้อยางแห้ง เป็น 5, 15 และ 25% ก่อนนำไปทำให้จับก้อนโดย *A. aceti* ในสารอาหารเหลว ขณะที่การใช้กรดแอซีติกจะไม่ผสม *B. subtilis* แต่ใช้น้ำกลั่นเพียงอย่างเดียวเจือจางให้มีปริมาณเนื้อยางแห้ง 5, 15 และ 25 % ก่อนทำให้จับก้อนโดยกรดแอซีติกหลังจากได้ยางดิบแล้วก็ทดสอบสมบัติทางกายภาพของยาง 8 ประการ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.15-4.20โดยเปรียบเทียบกับค่าตามมาตรฐานของยางแท่งไทยชั้น STR 5L แสดงในแผนภูมิเป็นเส้นประและบอกค่ากำหนดของสมบัติยางชั้น STR5L ไว้เหนือเส้นประ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



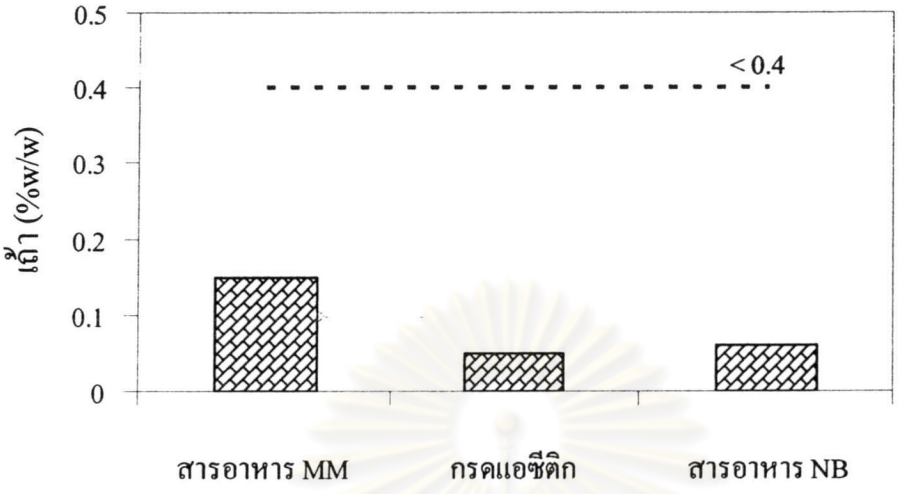
รูปที่ 4.17 ปริมาณสิ่งสกปรกในยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.17 ปริมาณสิ่งสกปรก ในยางดิบจากน้ำยางข้นปริมาณแอมโมเนียต่ำ จับก้อนยางโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MM และแบคทีเรียในสารอาหาร NB เท่ากับ 0.021, 0.024 และ 0.009 %w/w

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีปริมาณสิ่งสกปรกมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.003 หน่วย หรือ 14.3 %

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีปริมาณสิ่งสกปรกน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.015 หน่วยหรือ 57.1 %

สิ่งสกปรกคือปริมาณสารในยางดิบที่มาทำให้ละลายในน้ำมันสนโดยใช้ความร้อน แล้วนำสารที่ได้กรองด้วยตะแกรงขนาด 325 เมช หรือ 44 ไมครอน สิ่งสกปรกที่มีในเนื้อยางที่มีขนาดใหญ่กว่า 44 ไมครอน ส่วนใหญ่จะเป็น เศษไม้ เศษใบไม้ ความแตกต่างระหว่างการใช้แบคทีเรียในสารอาหารคนละชนิดจึงอาจเกิดจากสิ่งเจือปนจากน้ำยางเริ่มต้นหรือระหว่างทำการทดลอง



รูปที่ 4.18 ปริมาณเถ้าในยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.18 ปริมาณเถ้า ในยางดิบจากน้ำยางข้นปริมาณแอมโมเนียต่ำในยางดิบจากน้ำยางข้นปริมาณแอมโมเนียต่ำ จับก้อนยางโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียในสารอาหาร MM และแบคทีเรียในสารอาหาร NB เท่ากับ 0.05, 0.15 และ 0.06 %w/w

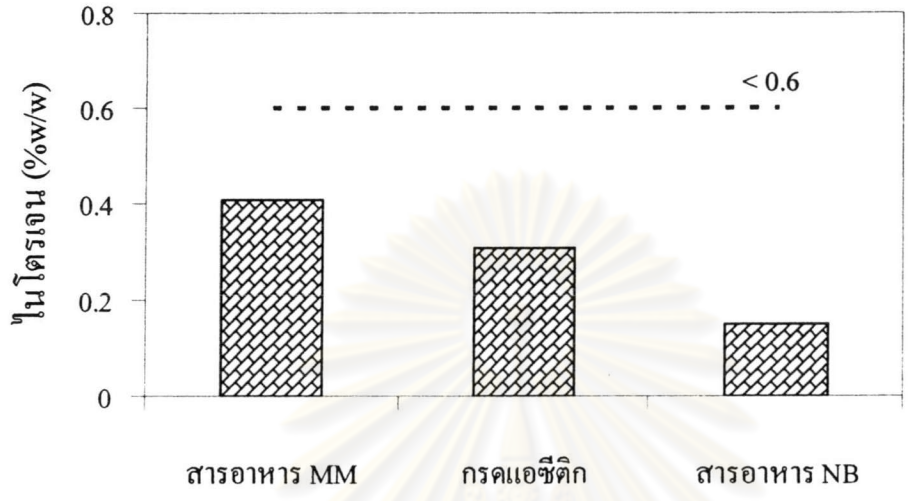
ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีปริมาณเถ้ามากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.10 หน่วย หรือมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 200 %

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีปริมาณเถ้ามากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.09 หน่วย หรือมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 20 %

ปริมาณเถ้าเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแร่ธาตุที่มีอยู่ในยางที่เป็นสารจำพวกเกลืออนินทรีย์และซิลิกาในยางสดและสารเติมแต่งอื่น ๆ ในกระบวนการแปรรูป หามาจากการเผายางดิบที่อุณหภูมิสูง 500-600 องศาเซลเซียส 2-3 ชั่วโมง สารที่เป็นไฮโดรคาร์บอนจะถูกเผาไหม้จนหมด เหลือเพียงเถ้าจากสารอนินทรีย์ ปริมาณเถ้ามีส่วนสำคัญต่อการดูดซับความชื้นของยางธรรมชาติโดยปริมาณเถ้าต่ำจะทำให้อัตราการดูดซับความชื้นในอากาศของยางต่ำ ยางจึงมีโอกาสปนเปื้อนจากเชื้อราในสิ่งแวดล้อมได้น้อยลง ยางจับก้อนโดยแบคทีเรียทั้งสารอาหาร MM และสารอาหาร NB มีปริมาณเถ้ามากกว่ายางจับก้อนโดยกรดแอซีติก

เนื่องจากในสารอาหาร MM มีส่วนประกอบที่เป็นแร่ธาตุอยู่เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสเฟต เมื่อเผายางดิบด้วยความร้อนสูงจึงเหลือปริมาณเถ้าในยางมากกว่ายางดิบที่ไม่ใช้แบคทีเรียหรือยางดิบที่ใช้แบคทีเรียแต่มีปริมาณแร่ธาตุน้อยดังสารอาหาร NB แต่เมื่อเทียบกับปริมาณเถ้ากับ

มาตรฐานยางแท่ง STR 5L ซึ่งกำหนดให้มีเถ้า ไม่เกิน 0.60 %w/w จะพบว่าการใช้แบคทีเรียซึ่งมีปริมาณเถ้า 0.15 และ 0.06 %w/w ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด



รูปที่ 4.19 ปริมาณไนโตรเจนในยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

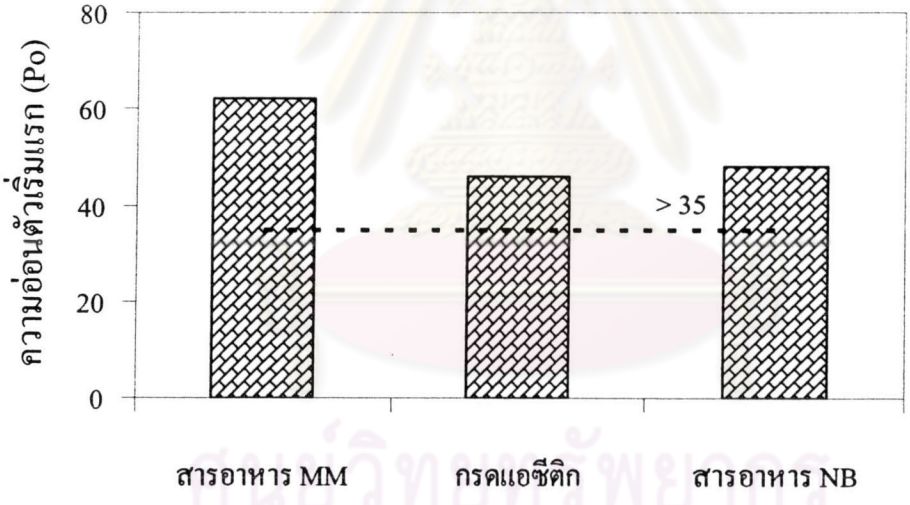
จากรูปที่ 4.19 ปริมาณไนโตรเจน ในยางดิบใช้กรดแอซีติก ใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM และแบคทีเรียสารอาหาร NB เท่ากับ 0.31 0.41 และ 0.15 %w/w

ยางที่ใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีไนโตรเจนในยางมากกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.1 หน่วย หรือ 32.3 %

ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีปริมาณไนโตรเจนในยางน้อยกว่ายางใช้กรดแอซีติก 0.16 หน่วยหรือ 51.6 %

งานวิจัยนี้มุ่งหวังที่จะใช้โปรตีเอสที่แบคทีเรีย *B. subtilis* ปล่อยออกนอกตัวเซลล์ระหว่างการเจริญในช่วงปลายระยะการเจริญแบบทวีคูณ (log phase) ถึงระยะการเจริญคงที่ (stationary phase) ในสารอาหาร MM และ NB ทำลายประจุลบรอบอนุภาคยางและทำให้ยางจับก้อนโดยจะผสมกับน้ำยางก่อนทำให้จับก้อนโดยกรดจาก *A. aceti* ในสารอาหาร REY0.5 โปรตีเอสจากแบคทีเรียในรูปที่ยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์(crude enzyme) มาย่อยโปรตีนที่อยู่รอบผิวอนุภาคยางออกไปบางส่วนทำให้โปรตีนลดลง โดยดูจากปริมาณไนโตรเจนที่เหลืออยู่ในยางดิบ ถ้ามีปริมาณไนโตรเจนสูงก็จะมีโปรตีนเหลืออยู่สูง ตามปกติการมีโปรตีนอยู่ในน้ำยางหรือยางแห้งจำนวนหนึ่งก็มีผลดีต่อสมบัติยางดิบในด้านการทนร้อน และการทำให้อนุภาคยางเกิดการเชื่อมโยงกัน การช่วยลดการแตกหักของสายโมเลกุลยางจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นต้น (Brydson, 1978)

ปริมาณโปรตีเอสที่ผลิตและถูกขับออกมานอกเซลล์ของ *B. subtilis* มีปริมาณและแอคติวิตีต่างกันในสารอาหารแต่ละชนิด ในน้ำยางสดใช้แบคทีเรียสารอาหาร MMปริมาณไนโตรเจนในยางลดลง 41.7 % เมื่อเทียบการใช้กรดแอซีติก แต่ในน้ำยางข้นใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM ไนโตรเจนในยาง มากกว่า ใช้กรดแอซีติก 32.3 % ในขณะที่ในสารอาหาร NB ไนโตรเจนในยางน้อยกว่าใช้กรดแอซีติก 51.6 % ทั้งนี้ปริมาณไนโตรเจนในยางดิบจากการทำให้ยางจับก้อนโดยแบคทีเรียยังลดลงไม่มากนักหากเทียบกับงานวิจัยอื่นคือ เมื่อใช้เอนไซม์ปาเปนที่ภาวะเหมาะสมลดไนโตรเจนจากปกติได้ 82-90 % (พงศธร คูสกุล, 2537) ใช้เอนไซม์ปาเปนร่วมกับพลังงานไมโครเวฟลดโปรตีนในยางวัดจากปริมาณไนโตรเจนได้ 80 % ของปริมาณไนโตรเจนตั้งต้น (พรรณสุนันท์ เจียรรุ่งแสง, 2543) วิธีใช้โปรตีเอสจากแบคทีเรียในรูป crude enzyme จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ควรจะศึกษาต่อไปเพื่อให้ได้ปริมาณไนโตรเจนที่ต่ำลงสำหรับทำน้ำยางโปรตีนต่ำ หรือยางแห้งโปรตีนต่ำ โดยเลือกสารอาหารสำหรับแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นสารอาหาร MM ถ้าใช้น้ำยางสดและใช้สารอาหาร NB ถ้าใช้น้ำยางข้น



รูปที่ 4.20 ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po)ในยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.20 ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) ของยางดิบจับก้อนโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียสารอาหาร MM และแบคทีเรียสารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 46, 62 และ 48 หน่วย

ยางดิบใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM มีความอ่อนตัวเริ่มแรกมากกว่ายางจับก้อนโดยกรดแอซีติก 16 หน่วยหรือ 34.8 %

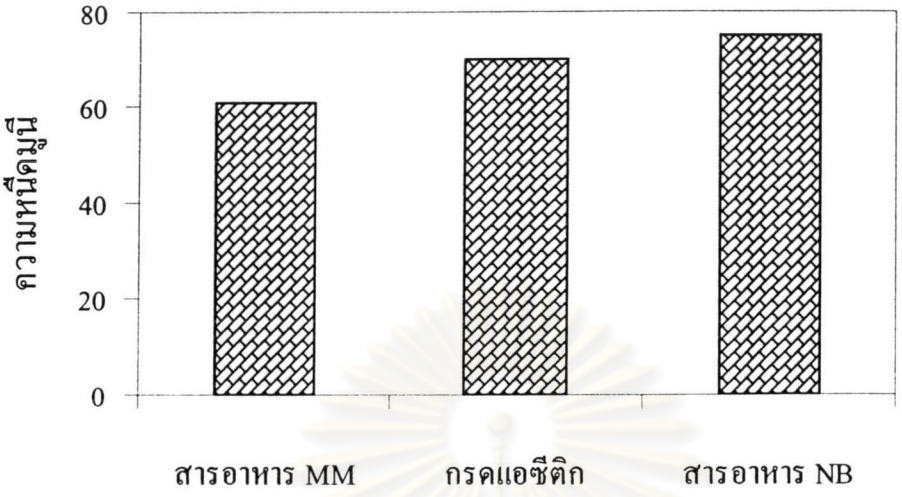
ยางดิบใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีความอ่อนตัวเริ่มแรกมากกว่ายางจับก้อนโดยกรดแอซีติก 2 หน่วย หรือ 4.3 %

ค่ากำหนดตามมาตรฐานยางแท่ง ความอ่อนตัวเริ่มแรก ต้องมากกว่า 35 โดยค่า Po เป็นค่าที่ใช้ประมาณขนาดโมเลกุลของยาง ถ้ามีค่ามากจะมีขนาดโมเลกุลสูง แสดงว่ายางดิบจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM จะมีขนาดโมเลกุลสูงกว่ายางดิบใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB และยางจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติกตามลำดับ ยางที่มีค่า Po สูงจะแข็งกว่ายางที่ที่มีค่า Po ต่ำ ซึ่งการนิ่มของยางอาจเกิดจาก การถูกออกซิไดซ์จากสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะทำลายโมเลกุลของยางทำให้ยางนิ่ม

การทดสอบจะวัดค่าความหนาของยางก่อนอบละเอียดระดับ 0.01 มิลลิเมตร ค่าที่ได้เป็นค่าความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) ของยางที่ทำการทดสอบจากนั้นจึง นำยางมาอบที่ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วจะกดยางด้วยแรง 10 ± 0.1 กิโลกรัม วัดค่าความหนาที่ได้ นำมาคำนวณหาค่าดัชนีความอ่อนตัวของยาง (PRI) เป็นค่าที่แสดงถึงความต้านทานต่อการออกซิเดชันที่ 140 องศาเซลเซียส 30 นาทีของยาง ถ้ามีค่า สูงก็แสดงว่าต้านทานต่อการแตกหักของโมเลกุลยางที่อุณหภูมิสูงได้ดี

ในส่วนของน้ำยางข้นค่า PRI บอกค่าไม่ได้เนื่องจากยางที่ทำการทดสอบเหลวภายหลังที่อบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ทั้งในชุดของยางที่จับก้อนโดยใช้กรดแอซีติกและใช้แบคทีเรีย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุจากกระบวนวิธีในการอบแห้งยาง ความหนาของแผ่นยาง สายพันธุ์ยางเริ่มแรก หรืออาจเป็นการเสื่อมสภาพของน้ำยางข้นที่ใช้ในการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



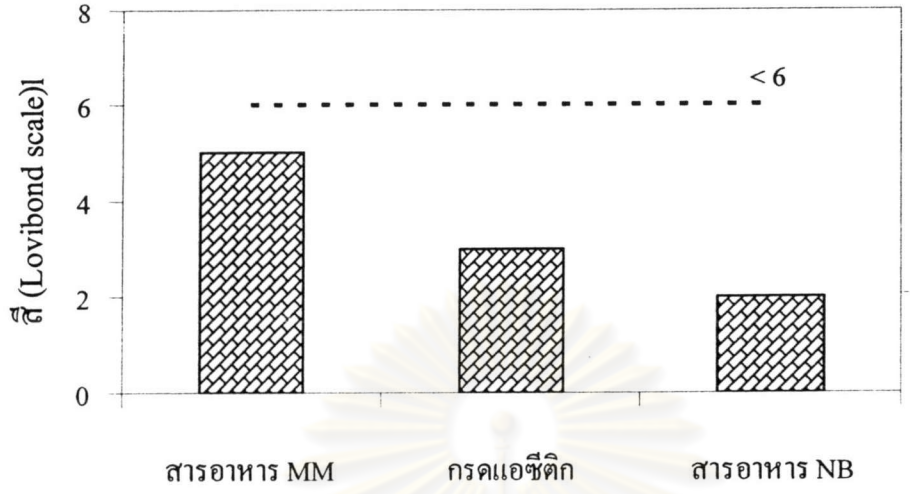
รูปที่ 4. 21 ความหนืดมูนี ML (1+4) 100 องศาเซลเซียส ในยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.21 ความหนืดมูนี ของยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียสารอาหาร MM และแบคทีเรียสารอาหาร NB มีค่าเท่ากับ 70, 61 และ 90

ยางดิบจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM มีความหนืดมูนีน้อยกว่ายางดิบจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก 9 หน่วย หรือ 12.9 %

ยางดิบจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร NB มีความหนืดมูนีมากกว่ายางดิบจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก 20 หน่วย หรือ 28.6 %

ความหนืดของยางดิบจะสัมพันธ์จะสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลของยาง ยางที่มีความหนืดสูงจะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (เสาวนีย์ ก่อวุฒิรังสี, 2540) ยางจับก้อนใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่ายางจับก้อนโดยกรดแอซีติกและยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM



รูปที่ 4.22 สี (Lovibond scale) ในยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรียในสารอาหาร MM และ สารอาหาร NB (n=3)

จากรูปที่ 4.22 สี (Lovibond index) ของยางดิบเป็นการวัดความเข้มสีของยางเทียบกับสีของยางมาตรฐาน ยางดิบจับก้อนโดยกรดแอซีติก แบคทีเรียสารอาหาร MM และแบคทีเรียสารอาหาร NB มีความเข้มสีเท่ากับ 3, 5 และ 2

ยางดิบจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM มีสีเข้มกว่ายางจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก 2 หน่วย หรือ 66.7 %

ยางดิบจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร NB มีสีอ่อนกว่ายางจับก้อนโดยใช้กรดแอซีติก 1 หน่วย หรือ 33.3 %

ความเข้มสีเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งต่อการกำหนดคุณภาพของยาง ยางที่มีสีอ่อนจะจัดเป็นยางเกรดดี มีราคาสูงเหมาะกับนำไปทำผลิตภัณฑ์ที่ต้องผสมสี ทำให้สีสดใหม่กว่าการใช้ยางสีเข้ม การที่ยางใช้แบคทีเรีย MM มีความเข้มสีมากกว่า ยางใช้กรดแอซีติกและยางใช้แบคทีเรียNB อาจจะเป็นผลมาจากการส่วนประกอบในสารอาหาร MM ของแบคทีเรียบางส่วนตกค้างอยู่ระหว่างสายโมเลกุลของยางในขณะที่ยางจับก้อนจนกระทั่งอบเป็นยางดิบออกมา ทำให้มีความเข้มสีสูงกว่ายางที่ใช้กรดแอซีติกและยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร NB

ตารางที่ 4.4 สมบัติทางกายภาพของยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกเทียบกับจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร MM

สมบัติยาง STR 5L	วิธีจับก้อนยาง		% ความแตกต่างเทียบกับใช้กรดแอซีติก
	กรดแอซีติก	แบคทีเรีย สารอาหาร MM	
ปริมาณสิ่งสกปรก (ไม่เกิน 0.60%)	0.021 ± 0.001	0.024 ± 0.002	+ 14.3
ปริมาณสิ่งระเหย (ไม่เกิน 0.60)	วิเคราะห์ไม่ได้*	วิเคราะห์ไม่ได้*	-
ปริมาณเถ้า (ไม่เกิน 0.40 %)	0.05 ± 0.01	0.15 ± 0.015	+ 200
ปริมาณไนโตรเจน (ไม่เกิน 0.60 %)	0.31^{a} ± 0.01	0.41^{b} ± 0.011	+ 32.3
ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po, มากกว่า 35)	46^{a} ± 7	62^{b} ± 1	+ 34.8
ดัชนีความอ่อนตัว (PRI, มากกว่า 60)	วิเคราะห์ไม่ได้*	วิเคราะห์ไม่ได้*	-
ความหนืด มูนี (ไม่ได้ระบุ)	70^{a} ± 5	61^{b} ± 1	- 12.9
สี (ไม่เกิน 6)	3 ± 0	5 ± 0	+ 66.7

หมายเหตุ * หมายถึง ยางเหลว

a , b หมายถึง ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ตามวิธีการทดสอบโดยอาศัยการแจกแจงที (t-test)

จากตารางที่ 4.4 สมบัติของที่ยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยแบคทีเรียมีสมบัติที่ด้อยกว่ายางที่จับก้อนโดยกรดแอซีติก มีดังนี้ สิ่งสกปรก เถ้า ไนโตรเจน ความหนืดมูนี และสี ส่วนสมบัติที่ยางใช้แบคทีเรียสารอาหาร MM ดีกว่าใช้กรดแอซีติก ได้แก่ ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po)

สมบัติของยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร MM เมื่อเปรียบเทียบกับข้อกำหนดของยางแท่ง STR 5L ผ่านเกณฑ์ทั้ง 6 ประการ

ตารางที่ 4.5 สมบัติทางกายภาพของยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยกรดแอซีติกเทียบกับจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร NB

สมบัติยาง STR 5L	วิธีจับก้อนยาง		% ความแตกต่างเทียบกับใช้กรดแอซีติก
	กรดแอซีติก	แบคทีเรีย สารอาหาร NB	
ปริมาณสิ่งสกปรก (ไม่เกิน 0.60%)	0.021 ± 0.01	0.009 ± 0.002	- 57.1
ปริมาณสิ่งระเหย (ไม่เกิน 0.60)	วิเคราะห์ไม่ได้*	วิเคราะห์ไม่ได้*	-
ปริมาณเถ้า (ไม่เกิน 0.40 %)	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.006	+ 20
ปริมาณไนโตรเจน (ไม่เกิน 0.60 %)	0.31^{a} ± 0.01	0.15^{b} ± 0.006	-51.6
ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po, มากกว่า 35)	46 ± 7.4	48 ±6	+ 4.3
ดัชนีความอ่อนตัว (PRI, มากกว่า 60)	วิเคราะห์ไม่ได้*	วิเคราะห์ไม่ได้*	-
ความหนืด มูนี (ไม่ได้ระบุ)	70^{a} ± 5	90^{b} ± 3	+ 28.6
สี (ไม่เกิน 6)	3 ± 0	2 ± 0	-33.3

หมายเหตุ * ยางเหลว

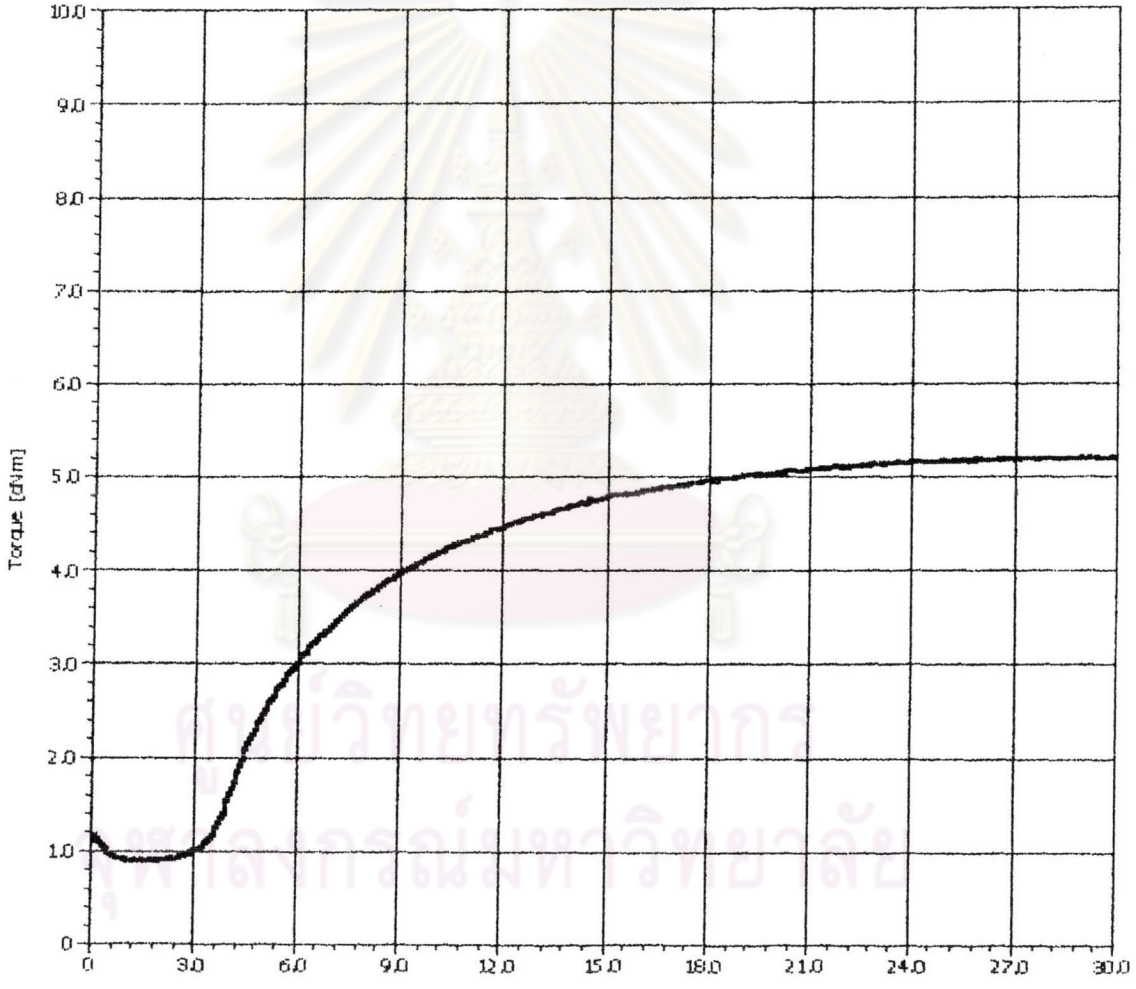
a , b หมายถึง ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ตามวิธีการทดสอบโดยอาศัยการแจกแจงที (t-test)

จากตารางที่ 4.5 สมบัติของที่ยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยแบคทีเรียในสารอาหาร NB มีสมบัติที่ด้อยกว่ายางที่จับก้อนโดยกรดแอซีติกได้แก่ ปริมาณเถ้า ส่วนสมบัติที่ดีกว่าได้แก่ สิ่งสกปรก ไนโตรเจน ความอ่อนตัวเริ่มแรก (Po) ความหนืด และ สี สิ่งสกปรก ปริมาณเถ้า ไนโตรเจน ความหนืดมูนี และสี

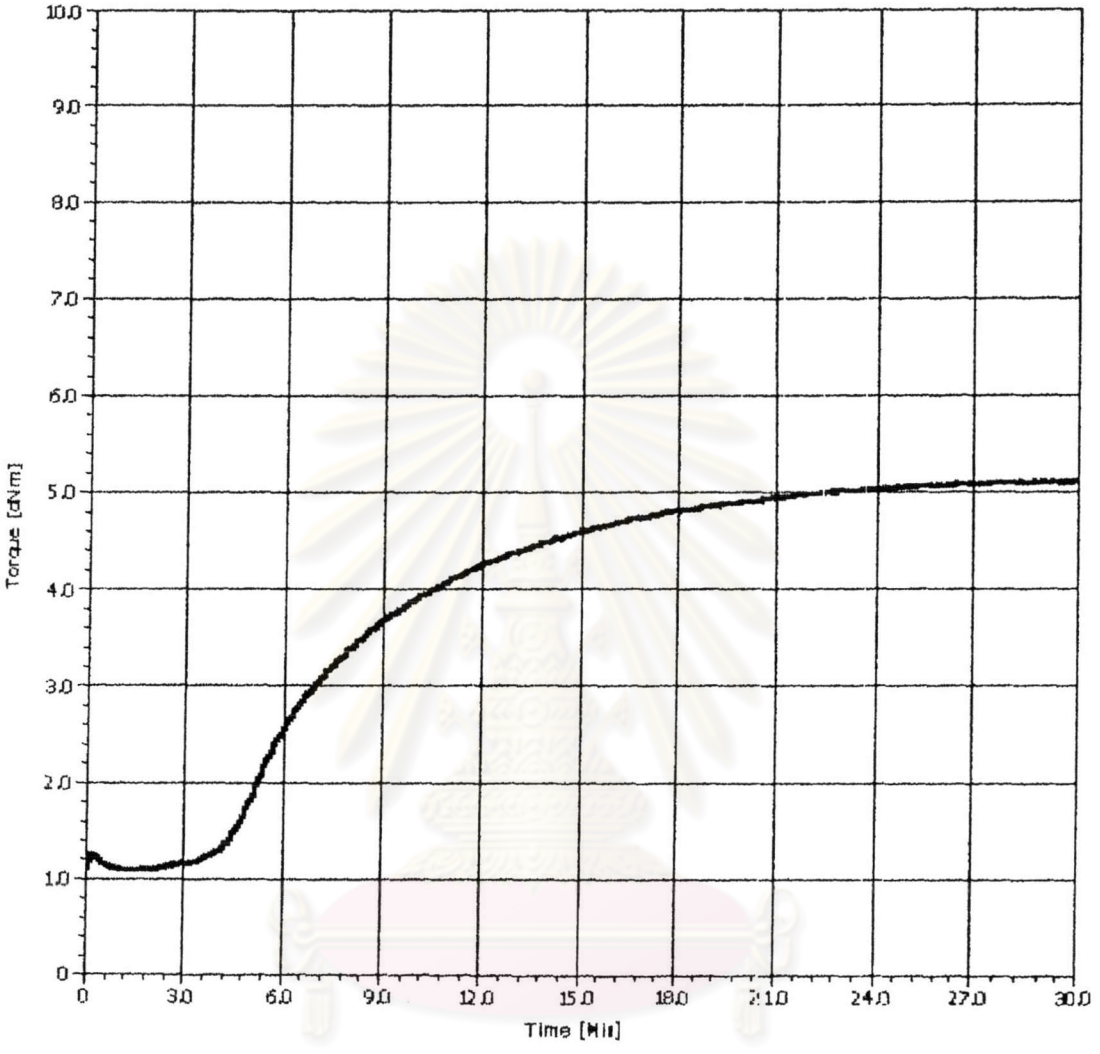
สมบัติของยางดิบจากน้ำยางข้นจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร NB เมื่อเปรียบเทียบกับข้อกำหนดของยางแท่ง STR 5L ผ่านเกณฑ์ทั้ง 6 ประการ

4. 6 สมบัติการคงรูปของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย

ในการทดลองนี้ได้นำยางแผ่นดิบที่ผลิตจากกระบวนการจับก้อน โดยการใช้กรดแอซีติกและแบคทีเรียสารอาหาร NB ไปผสมสารเคมี (ภาคผนวก ข) เพื่อศึกษาลักษณะการคงรูปของยางผสมสารเคมี (cure characteristic) โดยเครื่อง rheometer test และทดสอบสมบัติของยางดิบทั้งสองหลังผ่านการทำให้คงรูปเพื่อเปรียบเทียบ ลักษณะการคงรูปของยาง แสดงในรูป 4.23 และ 4.24 และตารางที่ 4.6 จากนั้นจะนำยางไปทดสอบสมบัติ ดังนี้ แรงดึงจนขาด (tensile strength) การยืดจนขาด (elongation at break) และ โมดูลัส (modulus) แสดงในตารางที่ 4.7



รูปที่ 4.23 ลักษณะการทำให้ยางคงรูป (cure characteristics) โดยเครื่อง rheometer ของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติก (n=1)



รูปที่ 4.24 ลักษณะการทำให้ยางคงรูป (cure characteristics) โดยเครื่อง rheometer ของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยแบคทีเรียสารอาหาร NB

ตารางที่ 4.6 สมบัติการคงรูปของยางดิบจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย

ลักษณะการคงรูป	ตัวอย่างยางดิบ	
	ยางใช้กรดแอซีติก	ยางใช้แบคทีเรีย
TC 10	3.73	4.53
TC 50	6.07	7.15
TC 90	14.88	16.45
TC 96	18.68	20.35
Scorch time (TS1)	4.30	5.33
Scorch time (TS2)	5.74	7.10

(n=1)

ตารางที่ 4.7 สมบัติของยางจากน้ำยางสดจับก้อนโดยกรดแอซีติกและแบคทีเรีย

สมบัติของยาง	ตัวอย่างยาง	
	ใช้กรดแอซีติก	ใช้แบคทีเรีย
Tensile strength (N/m^2)	14.85	14.37
Elongation at break (%)	1065	1115
100 modulus (N/m^2)	0.2680	0.2630
300 modulus (N/m^2)	0.8039	0.7890
500 modulus (N/m^2)	1.340	1.315

(n=1)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากรูปที่ 4.23และ 4.24 ลักษณะกราฟการคงรูปของยางใช้กรดแอซีติกและใช้แบคทีเรียเป็นแบบ flat cure หรือ plateau cure เป็นการแสดงสถานการณ์คงรูปที่ปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้ว หลังจากนั้นสมบัติของยางจะไม่เปลี่ยนตามเวลาหรือเปลี่ยนแปลงน้อยมากและยางเกิดการคงรูป 90 % ที่เวลา 14.88 นาทีและ 16.45 นาที ตามลำดับ

ค่าแรงดึงจนขาด (tensile strength) เป็นการวัดค่าแรงเค้นของยางที่ถูกยืดออกไปจนขาดเท่ากับ 14.85 (N/m^2) และ 14.37 (N/m^2) ตามลำดับ การยืดจนขาด (elongation at break) เป็นการวัดค่าความยาวของชิ้นยางตัวอย่างที่ถูกยืดออกได้มากที่สุด จากความยาวเดิมที่กำหนด ก่อนที่ยางจะขาด เท่ากับ 1065 และ1115 % ตามลำดับ แสดงว่ายางทั้งสองชนิดจะยืดได้ประมาณ 10 เท่าและ 11 เท่าจากความยาวเดิมก่อนที่ยางจะขาด โมดูลัส เป็นการวัดแรงเค้นของยางที่ถูกยืดออกไปตามที่กำหนด ค่าแรงเค้นของยางเมื่อยางถูกยืดออกไป 3 เท่าของความยาวเดิม (300% modulus) เท่ากับ 0.8039 (N/m^2) และ 0.7890 (N/m^2) พบว่ามีค่าแตกต่างกันเล็กน้อยระหว่างยางใช้แบคทีเรียและยางใช้กรดแอซีติก เช่นเดียวกับสมบัติอื่น ๆ ที่กล่าวมาแล้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย