



สัญญาเลขที่ SCI50200200183S

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ปัจจัยการบ่มที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของยางก้อนถ้วย

Maturation parameters affecting physical properties of cuplump

โดย รองศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ ตันรัตนกุล และคณะ

สนับสนุนทุนวิจัยโดย
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ทุนเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประเภททั่วไป
ประจำปีงบประมาณ 2550

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย
ประเภททั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2550

ขอขอบคุณผู้มีรายนามต่อไปนี้ที่ให้คำแนะนำทางวิชาการ และให้ความอนุเคราะห์การใช้
ห้องปฏิบัติการและครุภัณฑ์ที่ประเทศฝรั่งเศส รวมทั้งการหาทุนสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการวิจัยที่ประเทศ
ฝรั่งเศส ได้แก่ Prof. Dr. Eric Dubreucq จาก Montpellier SupAgro University ประเทศฝรั่งเศส Dr.
Laurent Vaysse Dr. Frederic Bonfils และ Dr. Jerome Sainte-Beuve จากสถาบันวิจัย CIRAD
ประเทศฝรั่งเศส

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. เสาวลักษณ์ พงศ์ไพจิตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้ห้องปฏิบัติการ
จุลินทรีย์และให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์

ขอขอบคุณรัฐบาลฝรั่งเศสที่ให้ทุนสนับสนุนการเดินทางไปทำวิจัยที่ประเทศฝรั่งเศส ภายใต้ทุน
French-Thai committee project

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีวัสดุ คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์ใน
การใช้อุปกรณ์ในการวิจัย และวิทยาเขตสุราษฎร์ธานีที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการทำวิจัย
งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปรัชญาดุษฎีบัณฑิต ของ ดร. จุฑารัตน์ อินทปັນ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นจากการบ่มยางก้อนถ้วย โดยชั้นแรกทำการศึกษาสภาวะแวดล้อม (อุณหภูมิ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณออกซิเจน) ในกองยางก้อนถ้วยที่วางซ้อนกันสูงประมาณ 2-3 เมตร ของโรงงานอุตสาหกรรมที่ทำการบ่มจริงในที่โล่งแจ้งเพื่อผลิตเป็นยางแท่ง STR20 และจากนั้นได้จำลองชุดการบ่มในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการศึกษาผลของปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการบ่ม เช่น สภาวะการบ่ม จุลินทรีย์ และ เอนไซม์ ที่มีผลต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย

ในการศึกษาผลของสภาวะการบ่มต่อยางก้อนถ้วยในระดับอุตสาหกรรม ชุดอุปกรณ์การเก็บข้อมูลสภาวะการบ่มยางในระดับอุตสาหกรรมได้ถูกสร้างขึ้นและมีการพัฒนา เพื่อให้สามารถเก็บข้อมูลสภาวะการบ่มได้ จากการเก็บข้อมูลพบว่า อุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในกองยางก้อนถ้วยเพิ่มสูงขึ้น ตามระดับความลึกของกองยาง ในทางตรงกันข้ามปริมาณออกซิเจนภายในกองกลับลดลง นอกจากนี้เมื่อทำการวัดสมบัติของยางก้อนถ้วย (ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าความยืดหยุ่นเริ่มต้น (P_0) ค่าดัชนีความยืดหยุ่นของยาง (PRI) ปริมาณเจล และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย) เมื่อผ่านการบ่มเป็นเวลา 24 วัน พบว่าสมบัติเหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงไปจากวันแรกโดยขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่ยางก้อนถ้วยถูกบ่มอยู่ภายในกองยาง (ความลึกจากผิวบนสุดของกองยางในระดับ 0, 50, 100, 150 และ 200 เซนติเมตร) ทำการพัฒนาชุดเครื่องมือและวิธีการควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบพบว่าสามารถควบคุมสภาวะการบ่มต่างๆได้ เช่น การควบคุมปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ และปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ สภาวะที่เลือกใช้ในการศึกษาในห้องปฏิบัติการคือ อุณหภูมิ $40 \pm 1^\circ\text{C}$ และปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ $90\% \pm 10\%$ เนื่องจากพบว่าเป็นสภาวะที่ส่งผลให้ยางก้อนถ้วยเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติอย่างชัดเจนเมื่อทำการบ่มในระดับอุตสาหกรรม ได้ทำการทดสอบสภาวะที่ต้องใช้ในการแปรรูป (การบดและการอบยาง) ของยางก้อนถ้วย พบว่าการลดขนาดยางก้อนถ้วยจากขนาดปกติประมาณ 450 มิลลิลิตร เป็นขนาดเล็ก 45 มิลลิลิตร ไม่มีผลกระทบต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย

เพื่อประเมินผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนของการบ่มยางก้อนถ้วย ได้ทำการศึกษาผลของการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum) ที่ปริมาณต่างๆกัน ต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของยางธรรมชาติ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ส่งผลอย่างชัดเจนต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางโมเลกุลของยางธรรมชาติ โดยพบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สูงขึ้นนอกจากส่งผลต่อการเกิดออกซิเดชันของยางแล้วยังส่งผลต่อการเกิดการเชื่อมโยงสายโซ่โมเลกุลของยางเช่นกัน ภายใต้การบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบว่า ยางธรรมชาติที่เตรียมจากการใช้กรดฟอร์มิกและจากการจับตัวแบบธรรมชาติ มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติตามระยะเวลาการบ่มในลักษณะเดียวกัน อย่างไรก็ตามภายใต้สภาวะการบ่มที่มีออกซิเจนระบบการจับตัวทั้งสองแบบส่งผลให้ยางมีสมบัติแตกต่างกัน ซึ่งเห็นผลได้ชัดเจนต่อค่าความยืดหยุ่นเริ่มต้นของยาง ในขณะที่ค่าดัชนีความยืดหยุ่นเกิดการลดลงในช่วงต้นของการบ่มทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน จากการวิเคราะห์หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผสมลงในน้ำยางพบว่าประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจำนวน $1 \times 10^9 \pm 0.33 \times 10^9$ CFU/mL ซึ่งประกอบด้วย ยีสต์ แบคทีเรีย แกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เมื่อทดสอบการผลิตเอนไซม์

ไฮโดรเลสในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ พบว่าแบคทีเรียจำนวน 15 สายพันธุ์ จาก 16 สายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ไฮโดรเลส เช่น ไลเปส ฟอสโฟไลเปส และ โปรติเอส ดังนั้นเป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงสมบัติของยางธรรมชาติ ในช่วงเวลาของการบ่มมีความเกี่ยวข้องกับการย่อยกลุ่มโปรตีนและกลุ่มไขมันในยางก่อนถวัลย์ เมื่อทำการเติมเอนไซม์ไลเปสบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในน้ำยาง พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดจากการย่อยของไลเปสเพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าดัชนีความยืดหยุ่นของยางธรรมชาติ เมื่อทำการบ่มเป็นระยะเวลา 6 วัน ผลแสดงชัดเจนมากขึ้นเมื่อเติมเอนไซม์โปรติเอสที่เติมลงไปในยาง พบว่าส่งผลให้ค่าความยืดหยุ่นเริ่มต้นและดัชนีความยืดหยุ่นเพิ่มสูงขึ้น

Abstract

The objective of this research was to study the phenomena occurring during maturation of natural rubber (NR) cup coagula. The first step of research was to determine the environment, which were temperature, relative humidity (RH) and oxygen content, in the pile of NR cup coagula in the industry. The pile height was approximately 2-3 m and it was outdoor maturation. This maturation process was for preparation of STR20. The second step of research was to study in the laboratory. The maturation box was build and used for determining factors involved with maturation of mini-cup coagula in the maturation box under the controlled environment such as maturation conditions, micro-organisms and enzyme that affected physical properties of natural rubber.

In order to determine the effect of maturation condition of cup coagula in the industry, the equipment for collecting data was developed. It was found that temperature and RH in the pile increased with the depth of the pile. In contrast, the oxygen content decreased. After maturation for 24 days pH, initial plasticity (P_0), plasticity retention index (PRI), gel content and molecular weight were different from the first day of maturation and the changes depended on the position in the cup coagula pile (0, 50, 100, 150 and 200 cm from the top of the pile). The experiments in the laboratory were well controlled. It was able to control oxygen content, temperature and RH in the maturation box. The maturation condition in the box was $40 \pm 1^\circ\text{C}$ and $90\% \pm 10\%$ RH. This condition was one that caused most changes in the physical properties of pile cup coagula. Mini-cup coagula, 45 ml, were used in the box and verified that this size showed no difference in physical properties from the normal cup coagula, 450 ml, from the industry.

In order to evaluate the effect of micro-organisms in cup coagula during maturation, effect of various inoculum contents on physical properties and molecular characteristics of NR was determined. It was found that oxidation and crosslink in NR increased with increasing inoculum (micro-organisms) content. Under the maturation without oxygen NR prepared with using formic acid and natural coagulation showed similar changes in physical properties during maturation. In contrast different NR preparation showed different physical properties, particularly P_0 , when there was oxygen during maturation. Total micro-organisms in the inoculum was approximately $1 \times 10^9 \pm 0.33 \times 10^9$ CFU/mL, among which were yeast, gram positive bacteria, gram negative bacteria and lactic acid bacteria. Fifteen of the 16 bacterial strains isolated from the inoculum used in the latex treatments produced hydrolytic enzymes such as lipase, phospholipase and protease when inoculated in specific media, thus potentially participating to

lipid and protein degradation in latex and coagula. The addition of lipase in min-cup coagula resulted in an increased release of free fatty acids but had no significant effect on PRI evolution during the first 6 days of maturation. The main effect was observed in the presence of protease, which showed a clear positive dose-effect on enzyme concentration on P_0 . This enzyme also had an improving effect on PRI.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ	ii
Abstract	iv
สารบัญตาราง	viii
สารบัญรูป	ix
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 หลักการและเหตุผล	1
1.2 โครงการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.3 วัตถุประสงค์	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 วิธีวิจัย	
2.1 สารเคมี	7
2.2 อุปกรณ์	7
2.3 วิธีการทดลอง	9
2.3.1 การศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันภายในก้อนยางก้อนถ้วย	10
2.3.2 การศึกษาผลของสภาวะการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันภายในกองยางก้อนถ้วย	11
2.3.3 การวิเคราะห์สมบัติของยาง	12
2.3.4 การออกแบบชุดอุปกรณ์ควบคุมสภาวะการบ่มในระดับห้องปฏิบัติการ	13
2.3.5 การควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ	13
2.3.6 การศึกษาผลของการบดยางก้อนถ้วยและอุณหภูมิในการอบต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย	14
2.3.7 การศึกษาผลของการบ่มต่อปริมาณจูลินทรีย์ในยางก้อนถ้วยและสมบัติทางชีวภาพ	15
2.3.8 การศึกษาผลของเอนไซม์ไฮโดรเลสต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย	15
2.3.9 การกรีดยางในระบบควบคุม	15
2.3.10 วิธีการเก็บจูลินทรีย์จากน้ำเซรัม	15
2.3.11 การเตรียมตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่ผสมจูลินทรีย์จากน้ำเซรัม	16
2.3.12 สภาวะการบ่มยางก้อนถ้วย	16

2.3.13	วิธีการเก็บตัวอย่างทดสอบ pH, P _o , PRI, TSC	16
2.3.14	สภาวะการบดและอบตัวอย่างยางก้อนถ้วย	16
2.3.15	การเตรียมอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Lipase	17
2.3.16	การเตรียมอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Protease	17
2.3.17	การเตรียมอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Phospholipase	17
2.3.18	การทดสอบการสร้างเอนไซม์กลุ่ม Hydrolase ของกลุ่มจุลินทรีย์	17

บทที่ 3 ผลการทดลอง

3.1	ผลของระยะเวลาการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันของยางก้อนถ้วย	19
3.2	ผลการศึกษาสมบัติของยางก้อนถ้วยและสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วยในโรงงานแปรรูปยางแท่ง	23
3.3	ผลของสภาวะที่ใช้ในการบดและอบยางก้อนถ้วยต่อสมบัติของยาง	32
3.4	ผลการทดสอบการใช้งานชุดควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ	34
3.5	ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย	37
3.6	ผลของเอนไซม์ไฮโดรเลสต่อสมบัติยางก้อนถ้วย	40
3.7	ผลของจุลินทรีย์ในน้ำยางต่อคุณสมบัติยางก้อนถ้วย	45
3.8	การวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างอินนอกคิวลัม	50
3.9	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไฮโดรเลสจากจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในอินนอกคิวลัม	53
3.10	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลสของจุลินทรีย์จากน้ำเซรัม (Inoculum) ในอินนอกคิวลัม	53

บทที่ 4	สรุปผลการทดลอง	56
---------	----------------	----

บทที่ 5	เอกสารอ้างอิง	59
---------	---------------	----

ภาคผนวก

ก.	บทความวิชาการเรื่อง Characterisation of natural rubber cup coagula Maturation Conditions and consequences on dry rubber properties, Journal of Rubber Research, 12(4), 171-184, 2009	60
ข.	Manuscript เรื่อง Effect of micro-organisms during initial coagula maturation of Hevea natural rubber ส่งตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Applied Polymer Science	75
ค.	Proceedings เรื่อง คุณลักษณะการบ่มยางก้อนถ้วยจากยางธรรมชาติ ในอุตสาหกรรมและสมบัติของยางแห้ง	101

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 1	รายชื่อสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	7
ตารางที่ 2	สภาวะการควบคุมอัตราการไหลผสมของอากาศของชุดอุปกรณ์การบ่มยางก้อนถ้วย	14
ตารางที่ 3	ค่า %TSC ของน้ำยางสด	19
ตารางที่ 4	ค่า pH ของยางก้อนถ้วยที่บ่มเป็นเวลาต่างๆ ของการเปรียบเทียบเชิงสถิติ	21
ตารางที่ 5	ความแตกต่างทางสถิติของค่า P_0 และ PRI ของยางก้อนถ้วยส่วนในและส่วนนอก	23
ตารางที่ 6	สรุปบรรยากาศของการบ่มที่เกี่ยวข้องภายในกองยางก้อนถ้วย (กองยางก้อนถ้วยของโรงงานวงศ์บัณฑิต เก็บข้อมูลในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2549)	29
ตารางที่ 7	สภาวะการแปรรูปและค่า P_0 และ PRI ของตัวอย่างยางก้อนถ้วยทดลองตอนที่ 1	33
ตารางที่ 8	สภาวะการแปรรูปและค่า P_0 และ PRI ของตัวอย่างยางก้อนถ้วยทดลองตอนที่ 2	33
ตารางที่ 9	สภาวะการแปรรูปและค่า P_0 และ PRI ของตัวอย่างยางก้อนถ้วยทดลองตอนที่ 3	34
ตารางที่ 10	ปริมาณจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย	37
ตารางที่ 11	ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางก่อนนำมาจับตัว	46
ตารางที่ 12	กลุ่มของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างอินนอกคิวลัม	52
ตารางที่ 13	การสร้างเอนไซม์จุลินทรีย์จากยางก้อนถ้วย	54
ตารางที่ 14	ผลการย่อยซูโครสของจุลินทรีย์จากเซรัม	55

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะการแบ่งก้อนยางก้อนด้วยเป็นส่วนของในและส่วนข้างนอก	11
รูปที่ 2 ลักษณะการวางท่อ PVC เพื่อวัดสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนด้วยของโรงงาน	12
รูปที่ 3 ใตอะแกรมของระบบการควบคุมสภาวะการบ่มในกล่องบ่มในห้องปฏิบัติการ	13
รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH *ของน้ำยางกับเวลาการแข็งตัวของน้ำยาง	20
รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของยางก้อนด้วยตามระยะเวลาการบ่ม	20
รูปที่ 6 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่า TSC ของยางก้อนด้วย	21
รูปที่ 7 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่า Po ของยางก้อนด้วย	22
รูปที่ 8 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่า PRI ของยางก้อนด้วย	23
รูปที่ 9 ผลของระยะเวลาการบ่มและความลึกต่อปริมาณออกซิเจนภายในกองยางก้อนด้วย	24
รูปที่ 10 ผลของระยะเวลาการบ่มและความลึกต่อปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกองยางก้อนด้วย	25
รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในกองยางของวันที่ 1 (ก) ท่อ 1 (ข) ท่อ 2	27
รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในกองยางของวันที่ 7 (ก) ท่อ 1 (ข) ท่อ 2	28
รูปที่ 13 ค่า TSC ของยางก้อนด้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง	30
รูปที่ 14 ค่า pH ของยางก้อนด้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง	31
รูปที่ 15 ค่า Po ของยางก้อนด้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง	31
รูปที่ 16 ค่า PRI ของยางก้อนด้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง	32
รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	35
รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส	36

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกล่อง บ่มที่ใส่ตัวอย่าง	37
รูปที่ 20 ลักษณะโคโลนีในเซรัมของยางก้อนถ้วย	38
รูปที่ 21 แสดงลักษณะการย้อมสีโคโลนีของจุลินทรีย์ที่แยกได้ในเซรัมยางก้อนถ้วย	39
รูปที่ 22 ลักษณะโคโลนีสีชมพูในอาหาร Mac Conkey Agar ของโคโลนี 1	39
รูปที่ 23 ลักษณะโคโลนีที่เจริญได้ในอาหาร M 17 ของโคโลนี 2 และ โคโลนี 3	39
รูปที่ 24 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	40
รูปที่ 25 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	41
รูปที่ 26 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วย ตามระยะเวลาการบ่ม	41
รูปที่ 27 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	42
รูปที่ 28 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	42
รูปที่ 29 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยตาม ระยะเวลาการบ่ม	42
รูปที่ 30 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	43
รูปที่ 31 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	43
รูปที่ 32 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยตาม ระยะเวลาการบ่ม	44
รูปที่ 33 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	44
รูปที่ 34 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	45
รูปที่ 35 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วยตาม ระยะเวลาการบ่ม	45
รูปที่ 36 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเติมเซรัมในน้ำยางต่อปริมาณ จุลินทรีย์ที่นับได้	46
รูปที่ 37 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่าดัชนีความอ่อนตัว เริ่มต้น (P_0) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	47
รูปที่ 38 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่าดัชนีความอ่อนหลัง การบ่มแรง (P_{30}) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	48
รูปที่ 39 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม	49

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 40 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อ เปอร์เซ็นต์ TSC ของยางก้อนถ้วยของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการปรม	49
รูปที่ 41 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วย ตามระยะเวลาการปรม	50
รูปที่ 42 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่พบในตัวอย่างอินนอกคิวลัม	51

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล (ความสำคัญและที่มาของหัวข้อการวิจัย)

ยางธรรมชาติมีสมบัติเด่นหลายประการ มีสมบัติเหนือกว่ายางสังเคราะห์ในด้านความยืดหยุ่น ความสามารถในการเกิดผลึกภายใต้แรงเค้นและมีการสะสมความร้อนต่ำ ยางธรรมชาติยังคงเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ยางล้อรถบรรทุก ยางล้อเครื่องบิน และวัสดุชิ้นส่วนทางด้านการก่อสร้างเช่น ยางกันการสะเทือน นอกจากนี้ยังมีการใช้ยางทำผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ เช่น ถุงมือ ถุงยางอนามัย เป็นต้น ร้อยละ 70 ของยางธรรมชาติถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยางล้อยานพาหนะ โดยเฉพาะยางล้อเครื่องบิน

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตยางธรรมชาติรายใหญ่ที่สุดในโลก ร้อยละ 90 ของยางธรรมชาติที่ผลิตได้จะถูกส่งออกไปต่างประเทศในรูปของยางดิบ ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกยางดิบรายใหญ่ที่สุดของโลกแต่ไม่ใช่ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์ยางสำเร็จรูปที่สำคัญของโลก ถึงแม้ว่าจะมีความพยายามให้ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางการผลิตรถยนต์และล้อยานพาหนะ แต่เทคโนโลยีการทำผลิตภัณฑ์เป็นเทคโนโลยีจากต่างประเทศและการพัฒนาเทคโนโลยีภายในประเทศยังมีศักยภาพต่ำ ยางดิบที่ผลิตภายในประเทศมีหลายชนิด ชนิดที่สำคัญได้แก่ ยางแผ่นรมควัน ยางแท่ง ยางเครพ ยางแผ่นผึ่งแห้ง และน้ำยางข้น ปริมาณและมูลค่ายางส่งออกของประเทศไทยระหว่างเดือน ม.ค. - ส.ค. 2549 ที่สูงสุดสามอันดับแรกได้แก่ ยางแท่ง 643,099.8 ตัน (50,960.38 ล้านบาท) น้ำยางข้น 502,488.7 ตัน (27,255.91 ล้านบาท) และยางแผ่นรมควัน 327,768.2 ตัน (26,533.0 ล้านบาท) [1] มีการใช้ยางธรรมชาติในรูปยางแผ่นรมควันและยางแท่งถึงร้อยละ 70 ของปริมาณที่ผลิตได้ในโลก เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยางล้อยานพาหนะ ประเทศไทยมีแนวโน้มการผลิตยางแท่งเพิ่มขึ้นและลดการผลิตยางแผ่นรมควัน โดยสังเกตได้จากปริมาณการส่งออกของยางแท่งที่เพิ่มขึ้นทุกปีในขณะที่ปริมาณการส่งออกยางแผ่นรมควันลดลงทุกปีเช่นกัน [2] ยางแท่งส่งออกที่สำคัญคือยางแท่งเบอร์ 20 เนื่องจากเป็นที่ต้องการของตลาดในประเทศจีน สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น เพื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมทำยางล้อ

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตยางแท่งเบอร์ 20 คือ เศษยางหรือยางก้อนถ้วย (cuplump) ซึ่งอาจจะผสมหรือไม่ผสมกับยางแผ่นผึ่งแห้งเกรดต่ำ ยางก้อนถ้วยคือยางที่ได้จากการปล่อยให้ น้ำยางสดค่อยๆ เกิดการจับตัวภายในถ้วยรองรับน้ำยาง ส่วนยางแผ่นผึ่งแห้งเตรียมจากการเติมกรดลงไปให้น้ำยางสดเพื่อให้ยางเกิดการจับตัวทันที โรงงานที่ผลิตยางแท่งเบอร์ 20 จะรับซื้อยางก้อนถ้วยจากเกษตรกรชาวสวนยางและใช้ค่าดัชนีความอ่อนตัว (Plasticity Retention Index, PRI) และปริมาณเนื้อยาง (dry rubber content) เป็นตัวบ่งชี้สมบัติของยางก้อนถ้วยก่อนนำไปแปรรูปเป็นยางแท่ง¹ เนื่องจากยางก้อนถ้วยจัดเป็นยางเกรดต่ำและมีราคาใกล้เคียงกับยางแผ่นดิบชั้น 3 ดังนั้นกระบวนการผลิตยางก้อนถ้วยจึงไม่มีการควบคุมความสะอาดและไม่มีการมาตรฐานการเก็บยางก้อนนำไปจำหน่าย เช่น การควบคุมระยะเวลาการเก็บและสภาวะแวดล้อมระหว่างการเก็บยาง ด้วยเหตุนี้คุณภาพของยางก้อนถ้วยที่จะ

¹ ข้อมูลที่ได้จากการสอบถามพนักงานในโรงงาน

นำมาผลิตเป็นยางแท่งจึงมีความแปรปรวนสูงมาก การเก็บ (storage) ในที่นี้หมายถึงระยะเวลาตั้งแต่หน้ายางจับตัวเป็นก้อนและถูกเก็บไว้จนกว่าจะนำไปผลิตเป็นยางแท่ง โดยไม่มีการควบคุมอุณหภูมิและสภาวะแวดล้อมใดๆ เป็นที่ทราบกันดีในโรงงานผลิตยางแท่งว่าระยะเวลาการเก็บยางก้อนด้วยมีผลต่อค่า PRI ถ้าหากยางก้อนด้วยมีค่า PRI ต่ำจะต้องทำการเก็บต่อไปอีกระยะหนึ่งเพื่อให้ค่า PRI สูงขึ้น หรือมีการเติมยางแผ่นผึ่งแห้งซึ่งเป็นยางที่มีค่า PRI สูงกว่าผสมลงไปด้วย และต้องปรับสัดส่วนให้ได้ค่า PRI ที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิต ในกรณีนี้เป็นการเพิ่มต้นทุนและทำให้ใช้เวลาในการผลิตนานขึ้น ถึงแม้ว่าโรงงานจะสามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยอาศัยประสบการณ์และความชำนาญ แต่ถ้ามีองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่มีผลต่อค่า PRI อันเนื่องมาจากการเก็บนี้ โรงงานจะสามารถลดต้นทุนการผลิต และสามารถควบคุมสมบัติของยางก้อนด้วยได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้วิธีการจัดการวัตถุดิบในโรงงานผลิตยางแท่งเบอร์ 20 มีความหลากหลายขึ้นอยู่กับกำลังการผลิต ปริมาณวัตถุดิบที่สามารถซื้อเก็บไว้ได้ และความต้องการของตลาด จากการสำรวจเบื้องต้นโดยคณะนักวิจัยพบว่า โดยทั่วไปชาวสวนยางจะทำการเก็บยางก้อนด้วยเป็นระยะเวลาตั้งแต่ 3 วัน ไปจนถึง 2-3 สัปดาห์ก่อนนำไปจำหน่ายให้กับโรงงาน โรงงานผู้ผลิตจะนำยางก้อนด้วยเหล่านี้วางรวมกันเป็นกองสูง และเก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนนำไปใช้ การวางทิ้งไว้นี้มีทั้งที่วางในที่โล่งแจ้งและภายในอาคาร และระยะเวลาที่จัดเก็บนี้ไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ถ้าต้องการเร่งการผลิตก็จะใช้เวลาในการเก็บยางสั้นลงหรืออาจไม่มีการเก็บยาง ถ้าไม่เร่งด่วนก็จะเก็บยางต่อไปเพื่อให้ได้ค่า PRI ที่ต้องการ เช่น 2-3 สัปดาห์ จึงทำให้มีการปรับกระบวนการผลิตตามมา ดังนั้นหากมีองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องดังกล่าวนี้ จะช่วยให้กระบวนการผลิตมีประสิทธิภาพมากขึ้น ลดต้นทุนการผลิต และสามารถควบคุมคุณภาพของยางแท่งได้ง่ายขึ้น

เป็นที่ทราบกันดีว่าน้ำยางสดมีส่วนผสมที่เป็นอาหารของจุลินทรีย์ เช่น น้ำตาลและคาร์โบไฮเดรต ภายใต้ระยะเวลาและสภาวะของการเก็บยางก้อนด้วยส่งผลให้สมบัติของโมเลกุลยางธรรมชาติเกิดการเปลี่ยนแปลง มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าเมื่อปล่อยให้ยางธรรมชาติแห้งและเก็บไว้นานขึ้น ยางธรรมชาติจะมีค่า PRI เพิ่มขึ้น [3] การเปลี่ยนแปลงค่า PRI ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง เช่น น้ำหนักโมเลกุลและการกระจายน้ำหนักโมเลกุล และส่วนประกอบต่างๆที่ไม่ใช่ยางเปลี่ยนแปลงด้วย เช่น ไซมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต [4] กระบวนการผลิตยางก้อนด้วยมีขั้นตอนการผลิตที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และเอื้อต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นอย่างสูง ได้มีรายงานการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนด้วย พบว่ามีความแตกต่างกันทั้งหมด 21 ไอโซเลท [5] นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำยางจะทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสขององค์ประกอบที่เป็น ไซมัน ส่งผลทำให้เกิดกรดไขมันและเปปไทด์ ซึ่งสารที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นตัวกระตุ้นในกระบวนการวัลคาไนซ์ของยาง [6] เป็นที่ทราบกันดีว่าการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งๆนั้น ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรดต่าง (pH) ปริมาณและชนิดของแก๊ส เช่น ออกซิเจน และสารอาหาร เป็นต้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานผลการวิจัยอย่างเป็นระบบที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยการบ่มที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของยางก้อนด้วย การบ่ม (maturation) ในที่นี้หมายถึงการเก็บรักษายางภายใต้สภาวะที่ควบคุมได้ เช่น อุณหภูมิ ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จะทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาวะแวดล้อมของการบ่มและเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีความอ่อนตัวและน้ำหนัก

โมเลกุลของยางก้อนถ้วย โดยมุ่งเน้นศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลส อุณหภูมิ ความชื้น และ ปริมาณออกซิเจนที่มีผลต่อดัวย่างยางก้อนถ้วยที่เตรียมเอง หาความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการทางจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไฮโดรเลสและสภาวะแวดล้อมของการบ่มยางก้อนถ้วยที่มีผลต่อค่า P_0 PRI น้ำหนักโมเลกุล และการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของยาง

1.2 โครงการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

น้ำยางธรรมชาติประกอบด้วยส่วนของเนื้อยางและส่วนที่ไม่ใช่ยาง องค์ประกอบที่ไม่ใช่ยางจะมีปริมาณไม่มากนัก (5%) ประกอบด้วยสารต่างๆหลายชนิด เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เอนไซม์ และแร่ธาตุ เป็นต้น [7] เป็นที่ทราบกันดีว่าถ้าวางน้ำยางสดไว้ที่สภาวะแวดล้อมปกติ องค์ประกอบที่ไม่ใช่ยาง เช่น น้ำตาล จะถูกออกซิไดซ์โดยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอากาศหรือที่ปนเปื้อน และเปลี่ยนสภาพเป็นกรด ส่งผลให้น้ำยางเกิดการจับตัวเป็นก้อนแยกออกจากส่วนที่เป็นเซรัม ดังนั้นการผลิตยางก้อนถ้วยจึงไม่จำเป็นต้องเติมกรดลงไปในน้ำยางสด การเติมกรดหรือเซรัมของน้ำยางลงไปเล็กน้อยจะช่วยให้ยางจับตัวเป็นก้อนได้เร็วขึ้น การจับตัวเป็นก้อนของน้ำยางหมายถึงการสูญเสียเสถียรภาพของความเป็นคอลลอยด์ (colloids) งานวิจัยเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในน้ำยางธรรมชาติมีการศึกษากันมามากพอสมควร แต่ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของจุลินทรีย์ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของยางก้อนถ้วยมีน้อยมาก [8]

Watson [9] ได้ศึกษาผลของการแช่ยางในสารเคมีเพื่อปรับปรุงสมบัติค่าดัชนีการอ่อนตัวของยาง โดยใช้ตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่มีการจับตัวด้วยกรดและที่ปล่อยให้เกิดการจับตัวโดยธรรมชาติ มีการเติมโลหะทองแดงลงในน้ำยาง จากนั้นนำมาแช่ในสารละลายกรด 2 ชนิด คือ สารละลายกรดออกซาลิก และสารละลายกรดฟอสฟอริก พบว่าค่าดัชนีความอ่อนตัวของยางเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นและเพิ่มเวลาการแช่ยางในกรด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่บ่มไว้เป็นเวลาเท่ากัน การเพิ่มโลหะทองแดงมีผลให้ค่าดัชนีความอ่อนตัวของยางลดลง เพราะว่าทองแดงเป็นตัวกระตุ้นให้ยางเกิดการออกซิไดซ์ได้มากยิ่งขึ้น ปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าดัชนีความอ่อนตัวของยางลดลงได้แก่ การปล่อยให้ยางมีการสัมผัสกับแสงอาทิตย์โดยตรง โดยเฉพาะยางที่แห้ง ยางที่มีการปนเปื้อนของโลหะบางชนิด เช่น ทองแดง เหล็ก และ แมงกานีส เป็นต้น ยางที่มีการแช่ในน้ำ ยางที่ผ่านการรีดมากเกินความจำเป็น การให้ความร้อนในการอบสูงเกินไป และการปั่นแยกส่วนน้ำยาง

Roux และคณะ [10] ได้ศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลและพันธุ์ยางที่มีต่อสมบัติของยางดิบ พบว่าปริมาณของแข็งในเนื้อยางและค่าความหนืดมูนิของยางดิบ ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมตามฤดูกาลกรีดและพันธุ์ยางแต่ละพันธุ์ ยางพันธุ์ที่มีการเผาผลาญพลังงานสูง (high metabolism) จะมีขนาดสายโซ่โมเลกุลที่สั้น ส่งผลให้ค่าความหนืดมูนิและค่าดัชนีความอ่อนตัวต่ำกว่าพันธุ์ยางที่มีการเผาผลาญในระดับต่ำและปานกลางตามลำดับ ในปีถัดมานักวิจัยกลุ่มนี้ได้ใช้พันธุ์ยางชุดนี้ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มยางก้อนถ้วยก่อนการแปรรูป ต่อความหนืดและขนาดโมเลกุลของยางธรรมชาติพันธุ์ต่างๆ [3] พบว่า เมื่อทำการเก็บยางก้อนถ้วยไว้ภายใต้สภาวะแวดล้อมทั่วไป ยางพันธุ์ที่มีระดับการเผาผลาญพลังงานสูงกว่าจะมีค่าความหนืดและค่าดัชนีความยืดหยุ่นของยางต่ำลง ในขณะที่ยางพันธุ์ที่มีการเผาผลาญพลังงานต่ำกว่าจะมีค่าสูงขึ้น การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของยางแต่ละพันธุ์จะมีผล

ต่อสมบัติของยาง ยางที่มีขนาดสายโซ่โมเลกุลสั้นและมีการกระจายตัวของขนาดของน้ำหนักโมเลกุล กว้าง จะเกิดการเสื่อมของยางมากขึ้นเมื่อทำการเก็บไว้ ทำให้ค่าความหนืดและค่าดัชนีความอ่อนตัวลดลง

Ekpini และคณะ [5] ได้ศึกษาสมบัติของยางธรรมชาติ 2 พันธุ์ที่มีลักษณะการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน คือ พันธุ์ PR107 ซึ่งมีลักษณะการกระจายน้ำหนักโมเลกุลเป็นแบบไบโมดอล (Bimodal) และพันธุ์ PB217 มีลักษณะการกระจายน้ำหนักโมเลกุลแบบโมโนโมดอล (Monomodal) โดยแปรปัจจัยในการผลิตที่แตกต่างกัน คือ ระยะเวลาการบ่มน้ำยางภายในถ้วยรับน้ำยาง และแปรสัดส่วนการผสมน้ำยาง โดยเตรียมยางก้อนจากการปล่อยให้ น้ำยางเกิดการจับตัวตามธรรมชาติ ภายในถ้วยรับน้ำยาง บ่มทิ้งไว้ในถ้วยรับน้ำยางจนยางแห้ง และนำไปอบแห้งอีกครั้งก่อนนำไปวิเคราะห์ พบว่าเมื่อเวลาการบ่มยางในถ้วยเพิ่มขึ้น ค่าความหนืดมูนี้และค่าดัชนีการอ่อนตัวของยางพันธุ์ PB217 มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่าความหนืดของยางพันธุ์ PR107 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและค่าดัชนีความอ่อนตัวลดลงเพียงเล็กน้อย

Hasma และ Othman [11] ได้ศึกษาบทบาทขององค์ประกอบที่ไม่ใช่ยางในน้ำยางพาราที่มีต่อการเกิดออกซิเดชันอันเนื่องมาจากการบ่มเร่งทางความร้อน โดยเลือกศึกษาสารกลุ่ม tocotrienols ทองแดง โปรตีน และกรดอะมิโน พบว่าสารกลุ่ม tocotrienols ซึ่งเป็นวิตามินอีทำหน้าที่ป้องกันการเกิดออกซิเดชันระหว่างการบ่มเร่งทางความร้อนในยางได้ แต่โปรตีนและกรดอะมิโนไม่ได้มีบทบาทในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันดังกล่าว ยางจะเกิดการเสื่อมได้ง่ายยิ่งขึ้นเมื่อมีโลหะทองแดงปนเปื้อนในเนื้อยาง แต่สามารถลดปริมาณโลหะทองแดงในยางได้โดยการแช่ในกรดฟอสฟอริกหรือสารละลายไซโอยูเรีย นอกจากนี้ยังพบว่ายางที่เกิดการจับตัวแบบธรรมชาติมีค่า PRI ต่ำกว่ายางที่ใช้กรดจับตัว เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปย่อยโปรตีนและกรดอะมิโนที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบอยู่ ส่งผลให้เกิดการปล่อยทองแดงออกอิสระ ออกมาแล้วไปกระตุ้นการเสื่อมของโมเลกุลยาง นอกจากนี้การย่อยไขมันในน้ำยางโดยจุลินทรีย์ทำให้มีการสูญเสียกลุ่มไขมันที่มีสมบัติเป็นสารป้องกันการเสื่อมของน้ำยางอีกด้วย

เป็นที่ทราบกันดีว่าในน้ำยางมีแบคทีเรียอยู่หลายประเภท ซึ่งมีทั้งประเภทที่ใช้คาร์บอนเป็นอาหาร ใช้ซัลเฟอร์เป็นอาหาร และใช้ในโดรเจนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนและไขมันที่อยู่ในน้ำยางเป็นอาหาร การใช้ซัลเฟอร์เป็นอาหารทำให้เกิดกลิ่นเหม็นในยาง Taysum [12] ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในน้ำยางทั้งในน้ำยางสด น้ำยางที่รักษาสภาพด้วยแอมโมเนีย และน้ำยางข้น โดยทำการกรีดยางด้วยมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและบรรจุในถ้วยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเช่นกัน พบว่ามีแบคทีเรียจำนวนมากที่สามารถเจริญได้ในน้ำยาง สามารถแยกเชื้อได้ประมาณ 100 ชนิด (species) แยกแบคทีเรียที่พบนี้ได้ 13 กลุ่ม (family) กลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่พบมากในน้ำยาง คือ Streptomycetaceae Micrococcaceae Enterobacteriaceae และ Lactobacillaceae มีจำนวนแบคทีเรียมากถึง 10^6 ต่อน้ำยางหนึ่งมิลลิลิตร แบคทีเรียกลุ่ม Lactobacillaceae และ Streptomycetaceae เป็นกลุ่มที่มีการผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ออกมาในน้ำยาง นอกจากนี้เขายังได้ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำยางต่อสมบัติด้านความเสถียรเชิงกล ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ โดยใช้ น้ำยางที่ได้จากการกรีดด้วยมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและเก็บไว้ในวัสดุที่ผ่านการฆ่าเชื้อและมีการเติมสารฆ่า

เชื้อ (antibiotics) กลุ่ม Crystamycin พบว่ามีปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ลดต่ำลง คือมีค่าเท่ากับ 0.004 และมีค่าความเสถียรเชิงกลเท่ากับ 120 – 180 วินาที เมื่อนำน้ำยางบ่มเป็นเวลา 4 วัน โดยรักษาสภาพน้ำยางด้วยสารละลายแอมโมเนีย 0.3% พบว่าน้ำยางมีค่าความเสถียรเชิงกลเท่ากับ 1,000 วินาที ปริมาณเชื้อของแบคทีเรียมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำยาง โดยแบคทีเรียบางชนิดเช่น cf. Cycobacteria และ *Naja naja sputatrix* มีเอนไซม์ย่อยสลายไขมันและทำให้เกิดกรดไขมันที่ระเหยได้ และการรักษาสภาพน้ำยางในขณะที่มีจำนวนแบคทีเรียในน้ำยางเริ่มต้นต่ำๆ จะส่งผลให้น้ำยางมีความเสถียรเชิงกลที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว

1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอิทธิพลของสภาวะแวดล้อมและเวลาในการเก็บที่มีผลต่อค่าดัชนีความอ่อนตัวของยางก้อนถ้วย
2. ศึกษาอิทธิพลของสภาวะการบ่มและเวลาในการบ่มที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลในยางก้อนถ้วยที่มีและไม่มีเอนไซม์ไฮโดรเลส
3. ศึกษาผลกระทบของการทำงานของจุลินทรีย์ชนิดที่ผลิตเอนไซม์ไฮโดรเลสที่มีต่อโครงสร้างโมเลกุลและสมบัติของยางก้อนถ้วย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นงานวิจัยที่เป็นความต้องการของภาคอุตสาหกรรม สามารถนำผลงานวิจัยไปประยุกต์ใช้ในภาคอุตสาหกรรมได้จริง
2. เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยด้านยางพาราในการควบคุมสมบัติของยางก้อนถ้วย
3. ผลิตผู้เชี่ยวชาญด้านทฤษฎีวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีพอลิเมอร์ จำนวน 1 คน
4. สร้างเครือข่ายวิจัยระหว่างวิทยาเขตหาดใหญ่และวิทยาเขตสุราษฎร์ธานี และระหว่างมหาวิทยาลัยกับภาคอุตสาหกรรม

เอกสารอ้างอิง

1. ข่าวสมาคมยางพาราไทย ปีที่ 12 ฉบับที่ 8 สิงหาคม 2549 หน้าที่ 14
2. ข่าวสมาคมยางพาราไทย ปีที่ 12 ฉบับที่ 8 สิงหาคม 2549 หน้าที่ 43
3. Ehab E., Roux L., Ngolemasango F., Bonfils F., Nkeng G., Nkouonkam B., Sainte-Beuve J. and Gobina, M.S. Effect of maturation on the bulk viscosity and molecular chain length of cuplump natural rubber. *J. Appl. Polym. Sci.*, 86 (2002) 703-708.
4. Vaysse L., Sainte-Beuve J. and Bonfils, F. Still current challenge for rubber technolog find new criteria for the prediction of manufacturing behaviour of natural rubber. Proceedings from IRRDB Annual Symposium "Challenge for Natural Rubber in Globalisation"-15-16 September 2003, Chiang Mai, Thailand.

5. Ekpini A., Sainte-Beuve J., Bonfils F., Livonniere H. and Knouonkam B. The 8th International seminar on elastomers le Mars Paris. 2001.
6. Lim, C.L. and E.L Ong. 1985 *Breakdown behaviour of natural rubber and its influence on processability*. Rubber Research Institute of Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia.
7. De, S.K. and White, J.R. Rubber technologist's handbook, Rapra Technology Ltd., Sproshire, 2001, p. 17.
8. Varghese L., Thomas K.T. and Mathew N.M. 2005. Impact of bactericidal treatment of field coagulum on quality of technically specified rubber. International Rubber Conference India 2005, p. 418.
9. Watson A.A. 1969. Improved ageing of natural rubber by chemical treatments. *J. Rubb. Res. Inst. Malaysia*. 22 (1969)104-119.
10. Roux Y.L., Ehabe E. Sainte-Beuve J., Nkengafac J., Nkeng J., Ngolemasango F. and Gobina S. 2000. Seasonal and clonal variations in the latex and raw rubber of hevea brasiliensis. *J. Rubb. Res.*, 3 (2000)142-156.
11. Hasma H. and Othman A.B. Role of non-rubber constituents on thermal oxidative ageing of natural rubber. *J. nat. Rubb. Res.*, 5 (1990) 1-8.
12. Taysum D.H. A review of the comparative bacteriology of Hevea latex and its commercial derivatives. *Appl. Microbiol.*, 5 (1957) 349-355.

บทที่ 2

วิธีวิจัย

2.1 สารเคมี

1. น้ำยางสด

น้ำยางธรรมชาติ (*Hevea Brasiliensis*) พันธุ์ RRIM 600 โดยใช้ตัวอย่างน้ำยางจากสวนยางพาราของวิทยาเขตสุราษฎร์ธานี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

2. ยางก้อนถ้วยที่ได้จากจับตัวตามธรรมชาติ

เตรียมโดยการรินน้ำยางที่ได้จากต้นยางตัวอย่างทั้งหมด 32 ต้น ลงในถ้วยรับน้ำยาง ซึ่งในการทดลองนี้มี 2 แบบคือ ยางก้อนถ้วยรูปลูกบาศก์ โดยใช้ถ้วยพลาสติกขนาด 8 x 8 x 8 เซนติเมตร³ และยางก้อนถ้วยขนาดเล็ก โดยใช้ถ้วยแก้วขนาด 50 มิลลิลิตร ในการใส่ตัวอย่าง จากนั้นทิ้งให้น้ำยางเกิดการจับตัวเองโดยธรรมชาติภายในถ้วยเป็นเวลา 3 วัน

3. ยางก้อนถ้วยที่ได้จากการใช้กรดจับตัว

เตรียมโดยการผสมกรดฟอร์มิกกับน้ำยาง โดยการค่อย ๆ เติมกรดฟอร์มิกลงในน้ำยาง พร้อมกับกวนตลอดเวลา จนระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำยางลดลงเท่ากับ 5.2 จากนั้นรินน้ำยางลงในถ้วยและทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมงจนน้ำยางเกิดการจับตัว นำออกจากถ้วยและนำไปศึกษาต่อไป

4. กองยางก้อนถ้วย

ในการศึกษาสภาวะการบ่มที่เป็นจริงตามธรรมชาติภายในกองยางก้อนถ้วย ได้ใช้ตัวอย่างกองยางก้อนถ้วยของโรงงานวงศ์บัณฑิต ซึ่งโดยทางปฏิบัติของทางโรงงานจะรับซื้อยางก้อนถ้วยจากผู้ค้ารายย่อย และรวบรวมเป็นกองทิ้งไว้เป็นระยะเวลาช่วงหนึ่งก่อนนำเข้าสู่กระบวนการผลิต ซึ่งได้ใช้ตัวอย่างกองยางนี้ในการศึกษาสภาวะการบ่มและสมบัติของยางก้อนถ้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่ม ซึ่งโรงงานตั้งอยู่ที่ ตำบล ขุนทะเล อ. เมือง จ.สุราษฎร์ธานี

5. สารเคมีอื่นๆ แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายชื่อสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

Name	Supplier	Country
Acetone	Merck	Germany
Benedict's reagent	Merck	Germany
Benzoic acid	Carlo	Italy
Chloroform	Merck	Germany
Citric acid	Merck	Germany
3,5-Dinitrosalicylic acid	Sigma	Germany
Di-Sodium hydrogen phosphate 12 H ₂ O	Merck	Germany
Ethanol	Merck	Germany

Name	Supplier	Country
Folin&Ciocalteu's Phenol reagent	Merck	Germany
Formaldehyde	Carlo	Italy
Formic acid	Commercial	Thailand
Iodine solution	Merck	Germany
p-Nitrophenyl b-D-glucopyranoside	Sigma	Germany
Potassium dihydrogen phosphate	Merck	Germany
Phosphorous pentoxide	Merck	Germany
Safranin solution 1% w/v	Fluka	Germany
Sodium azide	Riedel	Germany
Sodium bicarbonate	Merck	Germany
Sodium carbonate anhydrous	Merck	Germany
Sodium hydroxide	Merck	Germany
Sodium dihydrogen phosphate	Merck	Germany
Thymolphthalein	Merck	Germany
Trichloroacetic acid	Fluka	USA
Tyrosine standard	Sigma	Germany
Beta-Glucosidase from almond	Sigma	Germany
Cane sugar	Commercial	Thailand
Casein from bovine milk	Fluka	USA
Gram Arabic	Fluka	USA
Lipase from Candida parapsilosis	**	France
Olive oil	Food	Thailand
Protease	Sigma	Germany
Skim Milk Powder	Merck	Germany
Tributyryne	Fluka	USA
Plate Count Agar (PCA)	Difco	USA
Mannitol Salt Agar (MSA)	Difco	USA
Mac Conkey Agar	Merck	Germany
MRS	Difco	USA
Malt Extract Agar (MEA)	Difco	USA

**ได้รับจากห้องปฏิบัติการ "Biotechnologie microbienne et enzymatique des lipides et des agropolymères, Département des Sciences pour les Agro-Bioprocédés, Montpellier SupAgro, France

2.2 อุปกรณ์

1. ชุดหัววัด pH, อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจน โดยต่อเข้ากับตัวแสดงผล รุ่น Multi 350i จากประเทศเยอรมัน
2. อุปกรณ์วัดความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ เชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ด้วยโปรแกรม data logger สร้างโดยศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
3. ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Memmert
4. เครื่องบดสองลูกกลิ้ง (Two Roll Mill)
5. พลาสติมิเตอร์แบบ Wallace (Wallace rapid plastimeter) พร้อมชุดให้ความร้อน
6. เครื่องตัดตัวอย่าง (Wallace punch)
7. เครื่องวัดความหนา (thickness gauge)
8. กระดาษฆวนบุหรือชนิดฟอกแล้วและไม่เคลือบกรด (bleached, unglazed acid free tissue paper) มีความหนาประมาณ 0.04 มิลลิเมตร หรือ มีน้ำหนักประมาณ 22 กรัม / ตารางเมตร
9. บั้มลมยี่ห้อ PUMA ขนาด 3 แรง
10. ถังไนโตรเจน
11. เครื่องควบคุมอุณหภูมิน้ำ
12. ก่องสำหรับบั้มยางก้อนถ้วยขนาด 25 x 25 x 25 เซนติเมตร³
13. สายลมโพลีเอทิลีน
14. ข้อต่อสายลม ท่อทางตรง ท่อสามทางวายย์
15. ตัววัดอัตราการไหลของลม (Flow meter)
16. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ทางชีวภาพในห้องปฏิบัติการ
 - ตู้ปลอดเชื้อ
 - ตู้อบฆ่าเชื้อ
17. อุปกรณ์ที่สร้างขึ้นในห้องปฏิบัติการ
 - เครื่องบดยางก้อนถ้วยขนาดเล็ก (mini crepper) โดยสร้างจำลองมาจากเครื่องบดยางในโรงงาน โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลูกกลิ้งเท่ากับ 10 เซนติเมตร ยาว 20 เซนติเมตร และ ร่องบนผิวลูกกลิ้งเพื่อช่วยในการบดยางก้อนถ้วย ด้วยหมุนความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที
 - ชุดอุปกรณ์การควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ โดยใช้หลักการไหลผ่านของอากาศที่มีปริมาณความชื้นและอุณหภูมิที่กำหนด เพื่อจำลองสภาวะการบ่มโดยมีการควบคุมปัจจัยคือ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณออกซิเจน

2.3 วิธีการทดลอง

ในการศึกษาผลของการทำงานของจุลชีพและเอนไซม์ของการบ่มของยางก้อนต่อสมบัติของยาง ได้วางแผนการทดลองออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 เป็นการศึกษาสภาวะการบ่มและสมบัติของยางก้อนถ้วยเพื่อวางแผนการวิจัยและ

สร้างอุปกรณ์เพื่อใช้ในการทดลองในห้องระดับห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2 เป็นการศึกษาผลของสภาวะการบ่มทางเคมีและกายภาพและการทำงานของ เอนไซม์ต่อการเปลี่ยนแปลง สมบัติของยาง

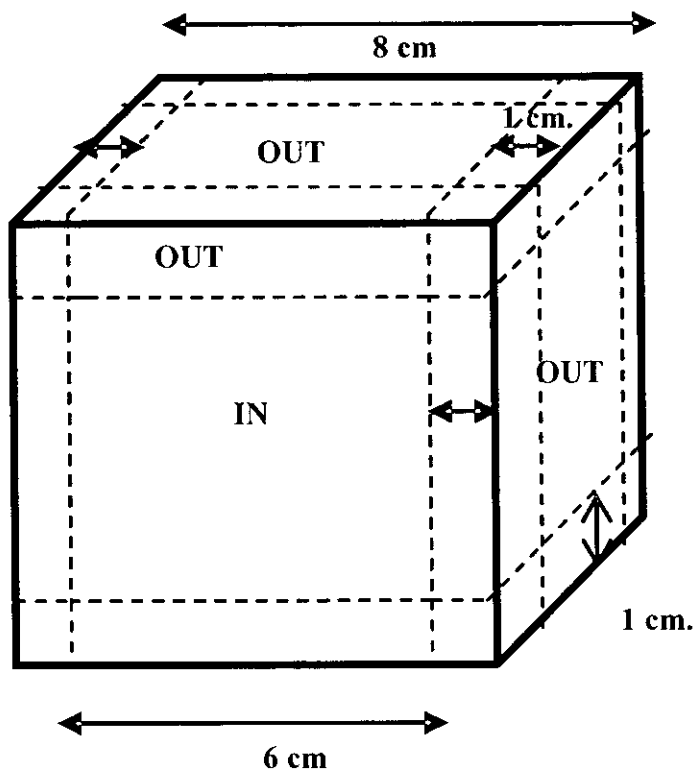
ขั้นตอนที่ 3 ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วยที่สร้างเอนไซม์และศึกษาผลของการบ่มต่อ การทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย

รายละเอียดย่อ มีดังนี้

- การศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันภายในก้อนยางก้อนถ้วย
- ศึกษาสมบัติของยางและสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วย ในโรงงานยางผลิตยางแท่ง
- ออกแบบชุดทดสอบและควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ และทดสอบการทำงานของชุด ควบคุม
- ศึกษาผลของการบดและอุณหภูมิในการอบยางต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย เพื่อกำหนดสภาวะ การแปรรูปโดยใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการให้มีสมบัติที่ใกล้เคียงกับการแปรรูปในโรงงาน
- ศึกษาผลของเอนไซม์ไฮโดรเลสต่อสมบัติยางก้อนถ้วย
- ศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย
- ศึกษาผลของปริมาณจุลินทรีย์ต่อสมบัติยางก้อนถ้วย
- ทดสอบการย่อยสารกลุ่มโปรตีน ไชมัน และคาร์โบไฮเดรตในยาง

2.3.1 การศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันภายในก้อนยางก้อน ถ้วย

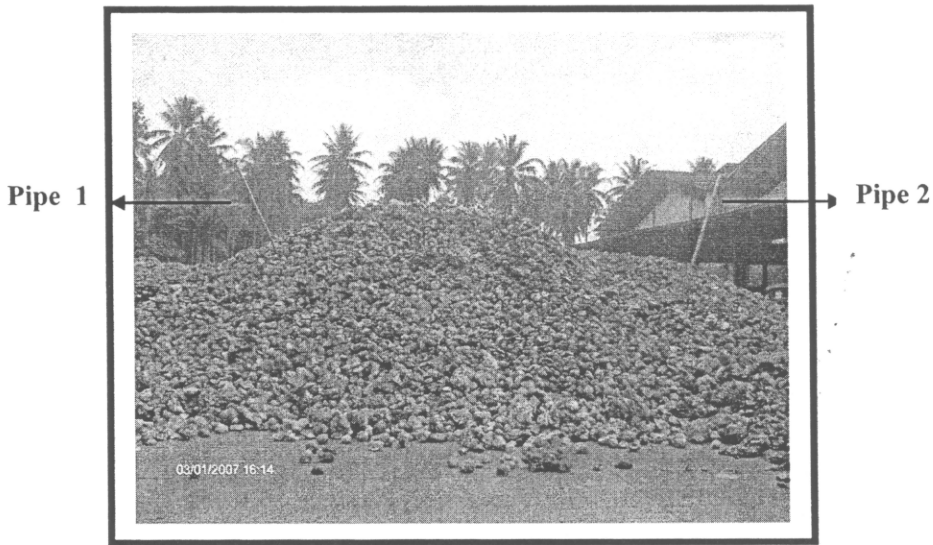
การทดลองได้เตรียมตัวอย่างยางก้อนถ้วยทั้งหมด 4 ชุด ชุดละ 3 ตัวอย่าง เมื่อยางจับตัวเป็น ก้อนแล้วจึงย้ายออกจากภาชนะบรรจุ และวางพักไว้บนชั้นภายใต้หลังคาเป็นเวลา 4 วัน, 15 วัน, 30 วัน และ 45 วัน นับจากวันเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างแต่ละชุดมาตัดบริเวณขอบของก้อนยางออกทั้ง 6 ด้าน ให้ส่วนที่ตัดออกหนา 1 เซนติเมตร จะได้ายเป็น 2 ส่วนคือ ยางส่วนข้างใน (IN) และยางส่วนข้าง นอก (OUT) ดังแสดงในรูปที่ 1 จากนั้นนำยางที่ผ่านการบ่มเป็นระยะต่างๆ มาศึกษาสมบัติต่างๆ คือ ค่า pH, ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid content, TSC), ค่าความยืดหยุ่นเริ่มต้น (Original plasticity, P₀) และ ดัชนีความยืดหยุ่นของยาง (Plasticity Retention Index, PRI)



รูปที่ 1 ลักษณะการแบ่งก้อนยางก้อนถ้วยเป็นส่วนข้างใน (IN) และส่วนข้างนอก (OUT)

2.3.2. การศึกษาผลของสภาวะการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันภายในกองยางก้อนถ้วย

ทำการศึกษาข้อมูลของยางก้อนถ้วย โดยทำการเตรียมท่อ PVC เพื่อใช้บันทึกบรรยากาศภายในกองก้อนยางที่ระดับความสูงต่างๆ ค่าที่บันทึกได้แก่ปริมาณออกซิเจน ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิในกองยาง ทำการเก็บตัวอย่างก้อนยางภายในกองมา 10 กิโลกรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์เพื่อหาค่า pH, TSC (%), P_0 และ PRI ก่อนทำการติดตั้งท่อ PVC ซึ่งได้ติดตั้งไว้ 2 ตำแหน่งในกองก้อนยาง ดังแสดงในรูปที่ 2 (pipe 1 และ pipe 2) ทำการศึกษาจากตัวอย่างกองยางทั้งหมดจำนวน 2 กอง ทำการเก็บข้อมูลปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิทุกๆ 3 วัน ตามระยะเวลาการบ่มของโรงงาน ซึ่งจะสิ้นสุดการเก็บข้อมูลเมื่อกองยางถูกย้ายเก็บในที่ร่ม (ภายในอาคาร) บันทึกปริมาณออกซิเจน ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิของอากาศภายในกองยาง โดยการหย่อนอุปกรณ์ (หัววัด) ลงไปในท่อ PVC ที่ระดับความลึกต่างๆ ดังนี้ 0 (ผิวบนสุดของกองยาง), 50, 100, 150, 200 เซนติเมตร เก็บข้อมูลวันละ 3 ครั้ง (08:00, 12:00, 16:00 น.) หรือก่อนเข้ากระบวนการผลิตยางแท่ง



รูปที่ 2 ลักษณะการวางท่อ PVC เพื่อวัดสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วยของโรงงาน

2.3.3 การวิเคราะห์สมบัติของยาง

2.3.3.1 ค่า P_0 และ PRI

ยางก้อนถ้วยส่วนในและส่วนนอกจะถูกนำมาบดจำนวน 15 ครั้ง ด้วยเครื่อง crepper ขนาดเล็ก ลูกกลิ้งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร และยาว 20 เซนติเมตร กำหนดระยะห่างระหว่างสองลูกกลิ้งที่ 0.4 มิลลิเมตร เพื่อบดและล้างยางก่อนนำเข้าอบด้วยตู้อบลมร้อนที่ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ค่า P_0 และ PRI ตามมาตรฐาน SMR

ตัวอย่างยางก้อนถ้วยในโรงงานที่รับซื้อในวันแรก และ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ ใกล้ท่อพีวีซีที่ผ่านการบ่ม จะถูกเก็บมาประมาณ 10 กิโลกรัม นำไปบดด้วยเครื่องบดขนาดใหญ่ของโรงงาน ทำการอบแห้งด้วยเครื่องอบในโรงงาน จากนั้นตัวตัวอย่างมาประมาณ 250 กรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์ ค่า P_0 และ PRI

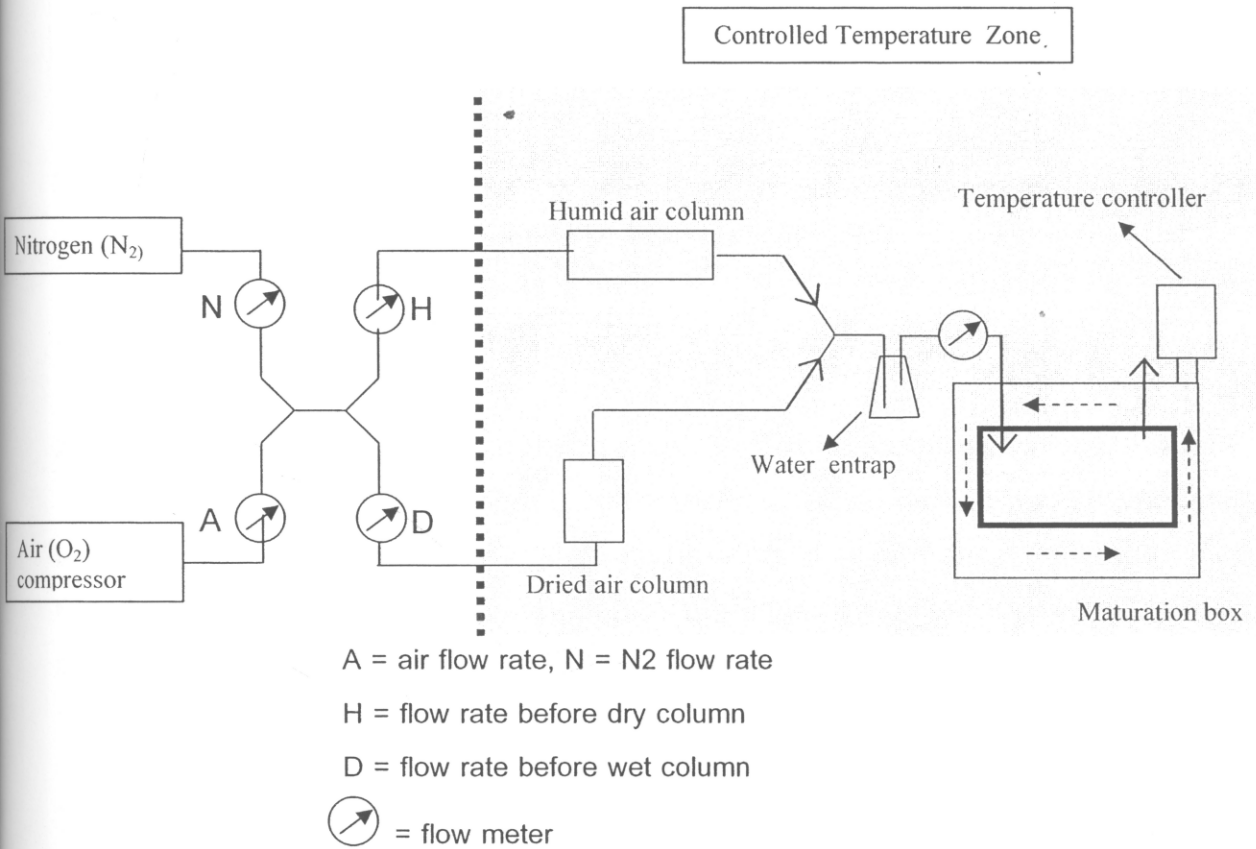
2.3.3.2 ค่า pH และ TSC

ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างเกิดการจับตัวภายในเต้าจะถูกบันทึกตั้งแต่น้ำยางเริ่มไหลออกจากต้นยาง จนกระทั่งน้ำยางจับตัวกลายเป็นยางก้อนถ้วยภายในเวลา 3 วัน

น้ำยางสดที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างยางก้อนถ้วย จะถูกวัดค่า TSC ตามมาตรฐาน กรณียางก้อนถ้วย ค่า pH จะถูกวัดบนชิ้นยางที่ตัดส่วนนอกและส่วนใน โดยทำการวัด 10 จุดบนตัวอย่างแต่ละส่วน ขั้นตอนการวัดค่า TSC ทำโดยชั่งชิ้นตัวอย่างยางก้อนถ้วยประมาณ 1 กรัม จากนั้นนำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส จนยางแห้งและมีลักษณะใส ทิ้งไว้ในเย็นในโถดูดความชื้น ก่อนนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง

2.3.4 การออกแบบชุดอุปกรณ์ควบคุมสภาวะการบ่มในระดับห้องปฏิบัติการ

ทำการออกแบบระบบของชุดควบคุมสภาวะการบ่ม โดยใช้ข้อมูลจากสภาวะการบ่มจริงภายในกองยางก้อนถ้วยในโรงงาน ในการออกแบบและกำหนดค่าสภาวะการบ่ม โดยใช้พารามิเตอร์ สามค่า คือ อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และ ระดับความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ รูปแบบของวงจรการสร้างชุดควบคุมแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ไตอะแกรมของระบบการควบคุมสภาวะการบ่มในกล่องบ่มในห้องปฏิบัติการ

2.3.5 การควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ

ทำการสร้างอากาศเปียกและอากาศแห้งขึ้นในคอลัมน์ จากนั้นทำการปรับระดับอัตราการไหลของอากาศผสมระหว่าง อากาศแห้ง (Dry air) กับ อากาศชื้น (Humid air) โดยใช้ตัววัดอัตราการไหล (Flow meter) ในการควบคุม เพื่อควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องทดสอบ (Maturation box) โดยผ่านอากาศที่ผสมแล้วเข้าไปในกล่องบ่มยางก้อนถ้วย ภายในกล่องมีอุปกรณ์การวัดสภาวะการบ่มทั้ง อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงของสภาวะการบ่ม โดยใช้โปรแกรม data logger ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

ศึกษาผลของอัตราการไหลของอากาศผสมต่อสภาวะการบ่มภายในกล่อง ดังนี้ แปรอัตราการไหลของอากาศที่ 1.5 และ 3 ลิตรต่อนาที และอุณหภูมิของน้ำหล่อรอบนอกกล่องบ่มที่ 28 และ 45 องศา

เซลเซียส สภาวะการควบคุมที่ทำการทดสอบแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สภาวะการควบคุมอัตราการไหลผสมของอากาศของชุดอุปกรณ์การบ่มยางก้อนถ้วย

สภาวะควบคุม	อัตราการไหลผสมของอากาศ (ลิตรต่อนาที)			
	N	A	H	D
1	0	1.5	1.5	0
2	0	1.5	0	1.5
3	0	3.0	3.0	0
4	0	3.0	0	3.0

หมายเหตุ N คือ ก๊าซไนโตรเจน
 A คือ อากาศจากตัวบ่มลม
 H คือ อัตราการไหลของอากาศเปียก
 D คือ อัตราการไหลของอากาศแห้ง

2.3.6 การศึกษาผลของการบดยางก้อนถ้วยและอุณหภูมิในการบดต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย

การใช้ยางก้อนถ้วยเป็นวัตถุดิบในการผลิตยางแท่งในโรงงาน ต้องผ่านขั้นตอนการบดย่อยยาง และทำการบดก่อนนำไปอัดเป็นยางแท่ง ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้จะมีผลต่อสมบัติของยาง ดังนั้นในการศึกษาผลของการบดต่อสมบัติของยางก้อนถ้วยในระดับห้องปฏิบัติการ จึงได้มีการสร้างเครื่องบดยางก้อนถ้วยขนาดเล็กและทำการอบด้วยตู้อบลมร้อน ก่อนทำการทดสอบสมบัติยางก้อนถ้วย เนื่องจากการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการที่ใช้ปริมาณยางน้อย ไม่สามารถนำไปบดด้วยเครื่องบดของโรงงานได้ จึงใช้เครื่องบดขนาดเล็กระดับห้องปฏิบัติการในการแปรรูปยางก้อนถ้วย เพื่อให้สภาวะการบดและการอบในห้องปฏิบัติการมีสมบัติที่ใกล้เคียงกับการแปรรูปในโรงงาน ดังนั้นจึงต้องศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการบดและอบยางในโรงงานและในห้องปฏิบัติการ ที่ให้สมบัติของยางก้อนถ้วยที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด ได้ออกแบบชุดตัวอย่างการทดสอบดังนี้

ตัวอย่างชุดที่ 1 เก็บตัวอย่างยางก้อนถ้วยจากโรงงานวงศ์บัณฑิตจำกัด สาขาขุนทะเลในปริมาณ 10 กิโลกรัม นำมาบดด้วยเครื่องบดยางในโรงงานด้วยจำนวนครั้งตามกระบวนการแปรรูปของโรงงาน (21 ครั้ง) และนำยางอบด้วยเครื่องอบยางในโรงงานที่สภาวะการอบคือ 129 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ตัวอย่างชุดที่ 2 นำยางที่ผ่านการบดด้วยเครื่องบดในโรงงานจำนวน 21 ครั้งมาทำการอบด้วยตู้อบลมร้อนในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 120 และ 125 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 2, 2.5, 3 ชั่วโมง และที่ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.25, 1.5 และ 2 ชั่วโมง

ตัวอย่างชุดที่ 3 นำยางที่ผ่านการบดด้วยเครื่องบดในโรงงานจำนวน 6 ครั้งเพื่อล้างสิ่งสกปรกมาทำการบดด้วยเครื่องบดขนาดเล็กที่สร้างขึ้นในห้องปฏิบัติการ ด้วยจำนวนครั้งที่ใช้ในการบดคือ 7, 11, 12 และ 16 ครั้ง ก่อนนำไปอบที่สภาวะเดียวกันกับตัวอย่างชุดที่ 2

นำตัวอย่างที่อบเรียบร้อยแล้วมาทำการวัด P_0 และ PRI เพื่อเปรียบเทียบว่าสภาวะการอบและจำนวนการบดใดที่ให้ค่าสมบัติยางก้อนถ้วยใกล้เคียงกับสภาวะการแปรรูปในโรงงานมากที่สุด

2.3.7 การศึกษาผลของการบ่มต่อปริมาณจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วยและสมบัติทางชีวภาพ

นำยางก้อนถ้วยที่ผ่านการบ่มในโรงงานที่เวลาการบ่มต่างๆกัน วิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และวิเคราะห์กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์

2.3.8 การศึกษาผลของเอนไซม์ไฮโดรเลสต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย

เตรียมยางก้อนถ้วยจากน้ำยางที่กรีตโดยระบบ “clean” โดยทำการฆ่าเชื้อด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรต์ จากนั้นเติมเอนไซม์ไฮโดรเลสกลุ่มต่างๆ คือ Papain, Lipase และ Glucosidase ผสมเข้ากับน้ำยาง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาย่อยสลายอาหารในน้ำยาง และนำมาทำการจับตัวน้ำยางด้วยสารละลายกรดฟอร์มิก โดยควบคุมที่ระดับ pH 5.2 เพื่อเตรียมเป็นก้อนยางก้อนถ้วย

นำยางก้อนถ้วยที่ได้จากการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ทั้ง 3 กลุ่ม บ่มในกล่องที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน โดยทำการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างยางต่างๆ วันของการบ่ม ซึ่งค่าที่ทำการวิเคราะห์คือ pH, TSC, P_0 และ PRI

2.3.9 การกรีตยางในระบบควบคุม

Clean Latex ได้จากการกรีตยางพันธุ์ RRIM 600 ในระบบที่ควบคุมความสะอาด โดยวิธีการกรีตยางแบบปลอดเชื้อ ได้เตรียมวัสดุอุปกรณ์สำหรับกรีตยางก่อนทำการกรีต โดยนำเม็ดกรีตยางมาแช่แอลกอฮอล์ ล้างยางและถุงพลาสติกที่ใช้รองรับน้ำยางได้มีการฆ่าเชื้อ โดยการนำไปอบฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave (รุ่น ยี่ห้อ บริษัท ประเทศผู้ผลิต) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ก่อนกรีตทำการเช็ดทำความสะอาดหน้ากรีตด้วย แอลกอฮอล์และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และบริเวณหน้ายางหุ้มด้วยถุงพลาสติก แล้วจึงทำการกรีตและรองรับน้ำยางด้วยถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อและวางอยู่บนถ้วยที่มีน้ำแข็งรองอยู่อีกชั้น

2.3.10 วิธีการเก็บจุลินทรีย์จากน้ำเซรัม

กรีตยางเพื่อทำยางก้อนถ้วยบ่มไว้ 3 วัน บีบเอาน้ำเซรัม 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองหรือกรองด้วยสำลี เทน้ำเซรัมลงในหลอดพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวนเท่ากับ 3 หลอด ปิดฝาให้สนิท นำไปปั่นด้วยเครื่องเซนติฟิวส์ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที รินส่วนที่ใส่ออกแล้วเติมโซเดียมคลอไรด์ 50 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน ทำการเซนติฟิวส์เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นรินโซเดียมคลอไรด์ออกแล้วเติมโซเดียมคลอไรด์ 50 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน ทำการเซนติฟิวส์เป็นเวลา 15 นาที แล้วรินออกและเติมโซเดียมคลอไรด์ 50 มิลลิลิตร ในหลอดที่ 1 และ 25 มิลลิลิตร (= ความเข้มข้น 2 เท่า) ในหลอดที่ 2 และ 3 กวนให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่เย็นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.3.11 การเตรียมตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่ผสมจุลินทรีย์จากน้ำเซรัม

ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ต่อสมบัติยางก้อนถ้วย โดยนำน้ำยางที่สะอาดมาเติมจุลินทรีย์ที่ได้จากน้ำเซรัมที่เตรียมตามวิธีการที่อธิบายในหัวข้อ 2.3.10 เตรียมตัวอย่างทั้งหมด 5 ชุด (A, B, C, D และ E) ในแต่ละชุดจะมีการผสมจุลินทรีย์ในปริมาณต่างกัน

ตัวอย่าง A นำน้ำยางที่สะอาด 960 มิลลิลิตร เติมโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) 28 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากันแล้วเติมโซเดียมคลอไรด์ 20 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง B นำน้ำยางที่สะอาด 960 มิลลิลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ 28 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน

ตัวอย่าง C นำน้ำยางที่สะอาด 960 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร และน้ำเซรัม 14 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน

ตัวอย่าง D นำน้ำยางที่สะอาด 960 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร และน้ำเซรัม 28 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน

ตัวอย่าง E นำน้ำยางที่สะอาด 960 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร และน้ำเซรัม (ความเข้มข้น 2 เท่า) 28 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน

ทุกตัวอย่างจะทำการจับตัวด้วยกรดฟอร์มิก ทำโดยใช้ถังแม่เหล็กกวนขณะทำการหยดกรดฟอร์มิก เพื่อลดค่า pH ของน้ำยางให้ได้ที่ 5.2 จากนั้นทำการรินน้ำยางลงในถ้วยแก้ว ปิดปากแก้วแล้วใส่กล่องพลาสติกที่มีฝาปิดบ่มไว้ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อน้ำยางเกิดจากจับตัว นำก้อนยางออกจากถ้วยแก้ว วางบนกระดาษในกล่องพลาสติกที่มีฝาปิด บ่มไว้ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน แล้วนำมาทดสอบตามที่กำหนดไว้

2.3.12 สภาวะการบ่มยางก้อนถ้วย

เมื่อยางก้อนถ้วยเกิดการจับตัว นำยางออกจากถ้วยแก้วแล้วนำมาใส่ในกล่องปิดนำไปบ่มในตู้อินคิวเบเตอร์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาที่กำหนดก็เอายางออกจากถ้วยแก้วแล้วนำยางวางบนกระดาษในกล่องแล้วนำไปบ่มในตู้อินคิวเบเตอร์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อีกครั้งเป็นระยะเวลา 6 วัน

2.3.13 วิธีการเก็บตัวอย่างทดสอบ pH, P_o , PRI, TSC

ในแต่ละกล่องจะทำการเก็บตัวอย่างดังนี้คือ วันที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 หลังจาก 3 ชั่วโมงของการจับตัวแล้ว (อย่างละ 3 ก้อน) และทำการเก็บตัวอย่างยางก้อนถ้วยเพื่อทดสอบ pH, P_o , PRI, TSC และ ASHT ทุกวันจนครบ 6 วัน

2.3.14 สภาวะการบดและอบตัวอย่างยางก้อนถ้วย

นำชิ้นตัวอย่างที่จะนำมาทดสอบ บดด้วยเครื่อง mini creper ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลูกกลิ้ง 10 เซนติเมตร และมีน้ำไหลผ่าน 2.16 ลิตร/นาทีและมีช่องว่างระหว่างลูกกลิ้ง 0.4 มิลลิเมตร เป็นจำนวน

16 ครั้ง แล้วนำขึ้นตัวอย่างที่ได้ไปอบด้วยเครื่องอบด้วยเครื่องอบลมร้อน(Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 125°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วนำขึ้นตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ P₀, PRI, TSC และ ASHT ทุกขึ้นตัวอย่างเป็นเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วันตามลำดับ

2.3.15 การเตรียมอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Lipase

โดยการนำ PCA 12.5 กรัม ใส่ในขวด เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปต้มเพื่อให้ละลายเข้าด้วยกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยการนำไปใส่ในเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเติม Tributyrin 5 กรัม เขย่าให้เข้ากัน รินใส่จานแก้ว ได้อาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Lipase

2.3.16 การเตรียมอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Protease

นำ PCA 12.5 กรัม ใส่ในขวด Durant เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มเพื่อให้ละลายเข้าด้วยกัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อโดยการนำไปใส่ในเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แล้วเติม Skim milk 5 กรัม เขย่าให้เข้ากัน รินใส่จานแก้ว ได้อาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Protease

2.3.17 การเตรียมอาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Phospholipase

นำ PCA 12.5 กรัม ใส่ในขวด Durant เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มเพื่อให้ละลายเข้าด้วยกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยการนำไปใส่ในเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมไข่แดง 5 กรัม เขย่าให้เข้ากัน รินใส่จานแก้ว ได้อาหารสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์ Protease

2.3.18 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ กลุ่ม hydrolase ของกลุ่มจุลินทรีย์

เก็บตัวอย่างน้ำยางสะอาดและเชอร์รี่มาทำการแยกเชื้อโดยใช้ Pipette ตูดมา 1 มิลลิลิตร แล้วไปเจือจางใน โซเดียมคลอไรด์ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน แล้วทำการเจือจางต่อไปเรื่อยๆ จนถึงระดับความเข้มข้นที่ต้องการ หลังจากนั้นนำตัวอย่างมา 1.0 ไมโครลิตร ไปเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่เตรียมไว้แล้วไปปอมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งโคโลนีมีขนาดใหญ่พอเหมาะกับการแยกเชื้อได้เลือกเชื้อโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะแตกต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พร้อมทั้งเขียนรหัสกำกับไว้แต่ละโคโลนีและนำโคโลนีไปทดสอบเอนไซม์การสร้างเอนไซม์ Lipase, Protease, β -Glucosidase บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการนำโคโลนีเดี่ยวๆ มาป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในลักษณะเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ซึ่งได้ทำการทดสอบในสภาวะที่มีออกซิเจนกับในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยการใช้ Parafilm ปิดไว้รอบๆ ขอบของจานเลี้ยงเชื้อ แล้วไปปอมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เพื่อสังเกต

การเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อและการสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยอาหารซึ่งจะแสดงเป็นลักษณะวงใสรอบๆโคโลนี (Clare zone)

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันของยางก้อนถ้วย

จากการทดสอบค่า pH, TSC, P_o และ PRI ของยางก้อนถ้วยที่เก็บบ่มไว้เป็นระยะเวลา 4, 15, 30 และ 45 วัน ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

3.1.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมด (% TSC) ภายในน้ำยาง

%TSC ของน้ำยาง 5 ชุดการทดลอง แสดงในตารางที่ 3 พบว่า %TSC ของน้ำยางพันธุ์ RRIM 600 อายุ 15 ปี ที่กรีดจากสวนยางภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี มีค่าใกล้เคียงกัน คือ อยู่ในช่วง 37-41%

ตารางที่ 3 ค่า % TSC ของน้ำยางสด

Sample No.	%TSC
1	39.73
2	39.49
3	37.56
4	41.10
5	37.43

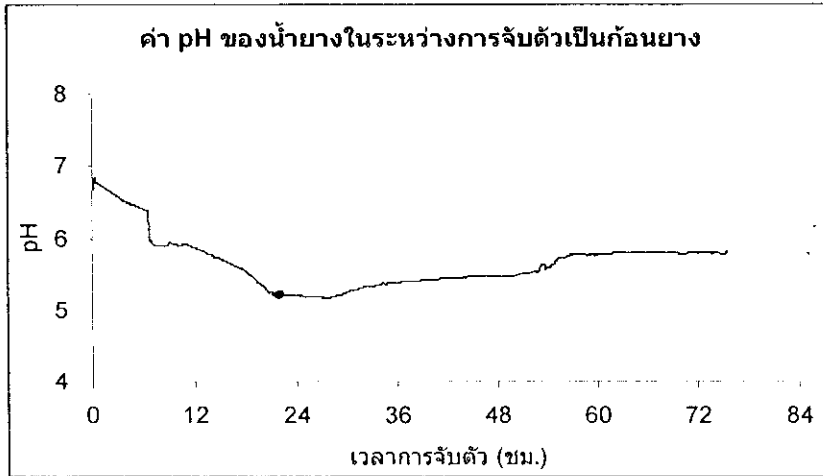
3.1.2 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของการจับตัวตามธรรมชาติ

เมื่อทำการวัด pH ของน้ำยางตั้งแต่เริ่มกรีดจนกระทั่งจับตัวเป็นก้อนเป็นเวลา 3 วัน พบว่าน้ำยางสดเมื่อเริ่มไหลออกจากต้นมีค่า pH เท่ากับ 6.8 (รูปที่ 4) เมื่อเวลาผ่านไป pH ของน้ำยางจะลดต่ำลง จนถึงชั่วโมงที่ 5 หลังจากชั่วโมงที่ 5 ค่า pH ของน้ำยางจะลดลงเพียงเล็กน้อยจนถึงชั่วโมงที่ 10 หลังจากชั่วโมงที่ 10 ค่า pH ของน้ำยางจะลดต่ำลงเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 17 เป็นต้นไป ค่า pH ของน้ำยางจะคงที่ ซึ่งมีค่า pH อยู่ในช่วง 5.31-5.36

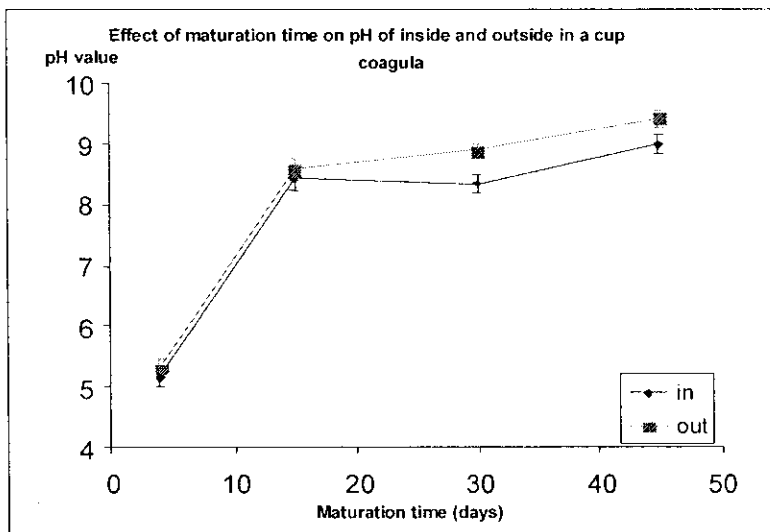
3.1.3 ผลของการบ่มต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วย

ในการทดลองนี้ได้ทำการวัดค่า pH ของยางก้อนถ้วยที่เวลาของการบ่มยางก้อนถ้วยต่าง ๆ กัน ซึ่งยางก้อนถ้วยที่ใช้วัด pH จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ยางส่วนข้างใน (in) และยางส่วนข้างนอก (out) จากการทดลองพบว่าที่ระยะเวลาการบ่ม 4 วัน ยางก้อนถ้วยจะมีค่า pH ต่ำที่สุด คือ มีค่า pH อยู่ในช่วงประมาณ 4.9-5.2 และที่ระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 15, 30 และ 45 วัน ยางก้อนถ้วยจะมีค่า pH สูงขึ้นซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 8-11 (รูปที่ 5) ตารางที่ 3 แสดงค่า pH ของยางก้อนถ้วยที่ระยะเวลาบ่มต่างกัน พร้อมแสดงค่าสถิติแสดงความแปรปรวน เมื่อพิจารณาโดยใช้หลักทางสถิติพบว่า

เมื่อเปรียบเทียบค่า pH ของยางก้อนถ้วยส่วนนอกกับยางส่วนในพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH ของน้ำยางกับเวลาการแข็งตัวของน้ำยาง



รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

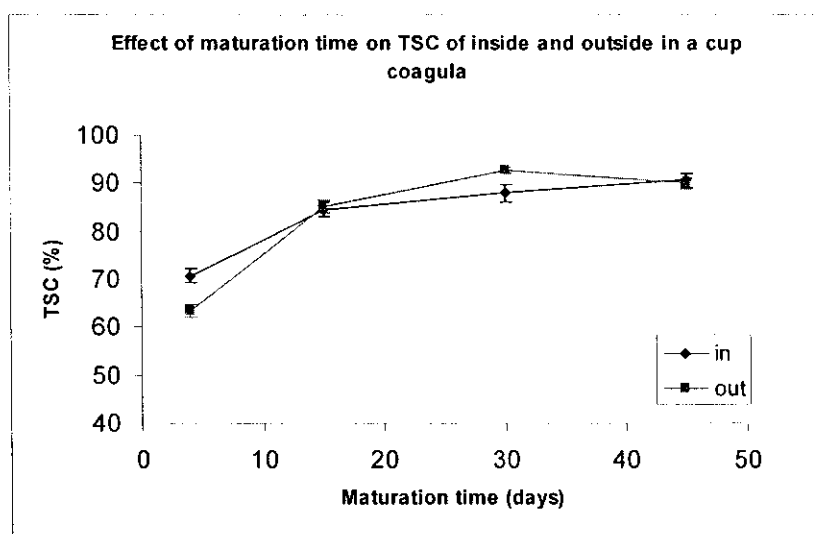
เมื่อพิจารณาความแตกต่างของยางส่วนข้างนอกและยางส่วนข้างในจากรูปที่ 5 ที่ระยะเวลาการบ่ม 4 และ 15 วัน พบว่าค่า pH ของยางก้อนถ้วยของทั้งสองส่วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นเป็น 30 และ 45 วัน ค่า pH ของยางก้อนถ้วยส่วนข้างนอกจะมีค่าสูงกว่าส่วนข้างในมากขึ้น อาจเป็นผลมาจากการผลิตก๊าซแอมโมเนียจากการย่อยสลายสารโปรตีนในยางก้อนถ้วย เนื่องจากได้กลิ่นแอมโมเนียจากยางก้อนถ้วยเมื่อทำการบ่มนานขึ้น

ตารางที่ 4 ค่า pH ของยางก้อนถ้วยที่บ่มเป็นเวลาต่างๆ แสดงการเปรียบเทียบเชิงสถิติ

Maturation time (Days)	pH	
	Outside	Inside
4	5.32 ^e	5.15 ^e
15	8.56 ^{bcd}	8.42 ^{cd}
30	8.87 ^b	8.34 ^d
45	9.41 ^a	8.98 ^{bc}

3.1.4 ผลของเวลาการบ่มต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วย

ค่า TSC ของยางก้อนถ้วยบ่มบอกถึงปริมาณของแข็งรวมที่เหลืออยู่ในยางก้อนถ้วยหลังจากการอบแห้ง และทำให้ทราบปริมาณน้ำมีอยู่ในก้อนยางถ้วยเช่นกัน จากผลการทดลองพบว่า ค่าปริมาณของแข็งรวมในยางก้อนถ้วยสูงขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม และเมื่อเปรียบเทียบค่า TSC ทั้งสองส่วน จะเห็นว่าที่เวลาการบ่ม 4 วัน %TSC ของยางก้อนถ้วยส่วนข้างในจะมากกว่าส่วนข้างนอก เมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน %TSC ของยางก้อนถ้วยส่วนข้างในกับส่วนข้างนอกจะมีค่าใกล้เคียงกัน เมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นเป็น 30 วัน %TSC ของยางก้อนถ้วยส่วนข้างนอกจะสูงกว่า %TSC ของยางก้อนถ้วยส่วนข้างใน แต่เมื่อเวลาการบ่มผ่านไป 45 วัน %TSC ของยางก้อนถ้วยส่วนข้างในจะมีค่าใกล้เคียงกับส่วนข้างนอกแสดงดังรูปที่ 6

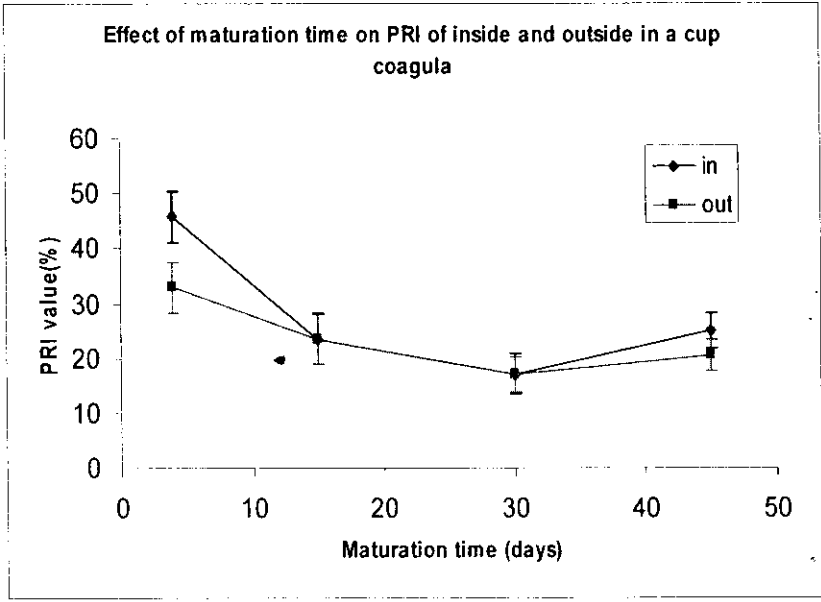


รูปที่ 6 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วย

3.1.5 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่าความอ่อนตัวเริ่มต้น (P₀) และค่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ของยางก้อนถ้วย

ในการทดลองได้ทำการวัดสมบัติความอ่อนตัวของยางก้อนถ้วยโดยวัดจากค่า P₀ และ PRI ของยางก้อนถ้วยโดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ยางส่วนข้างในและยางส่วนข้างนอกที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ

ก่อนยางในช่วงการบ่ม 4-15 วัน แต่เริ่มมีความแตกต่างกันหลังจากการบ่ม 15 วัน



รูปที่ 8 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วย

ตารางที่ 5 ความแตกต่างทางสถิติของค่า P_o และ PRI ของยางก้อนถ้วยส่วนในและส่วนนอก

Maturation time (Days)	P _o		PRI	
	Outside	Inside	Outside	Inside
4	44.5 ^a	42.7 ^{ab}	32.9 ^{ab}	45.8 ^a
15	34.0 ^{bcd}	32.3 ^{bcd}	23.4 ^{bc}	23.5 ^{bc}
30	29.1 ^{cd}	33.6 ^{bc}	16.9 ^c	17.1 ^c
45	24.3 ^d	30.1 ^{cd}	20.6 ^c	25.1 ^{bc}

3.2 ผลการศึกษาสมบัติของยางก้อนถ้วยและสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วยในโรงงานแปรรูปยางแท่ง

ยางก้อนถ้วยซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตยางแท่งนั้นเมื่อถูกซื้อมาจากชาวสวนหรือพ่อค้าคนกลางจากแหล่งต่าง พบว่ายางจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน นั่นคืออาจจะแตกต่างกันทั้งพันธุ์ยาง วิธีการทำยางก้อนถ้วย (เช่น บางแหล่งอาจใช้กรดในการช่วยให้ยางจับตัวเป็นก้อน) ลักษณะการบ่มและระยะเวลาการบ่มก่อนเข้าสู่โรงงาน เมื่อยางถูกนำเข้ามาในโรงงาน ยางจะถูกนำมากองรวมกันกลางแจ้งเป็นเวลาประมาณสองสัปดาห์ก่อนที่นำยางเข้าสู่กระบวนการผลิตยางแท่ง การกองยางเป็นเวลาประมาณสองสัปดาห์นี้ เพื่อปรับสภาพของยางที่มีสมบัติที่แตกต่างกันให้มีสมบัติที่ใกล้เคียงกัน เพื่อนำเข้าสู่กระบวนการผลิตยางแท่งต่อไป ได้ทำการทดลองทั้งหมด 2 กอง ซึ่งกองที่ 1 โรงงานได้บ่มยางไว้เป็นระยะเวลา 30 วัน และกองที่ 2 บ่มเป็นระยะเวลา 14 วัน ก่อนเข้าสู่พ่อพักก่อนเข้ากระบวนการแปรรูปในการทดลองนี้จะศึกษาสภาวะการบ่มยางก้อนถ้วยหลังจากบ่มยางไว้เป็นเวลา 3, 6, 9 และ 12 วัน และ

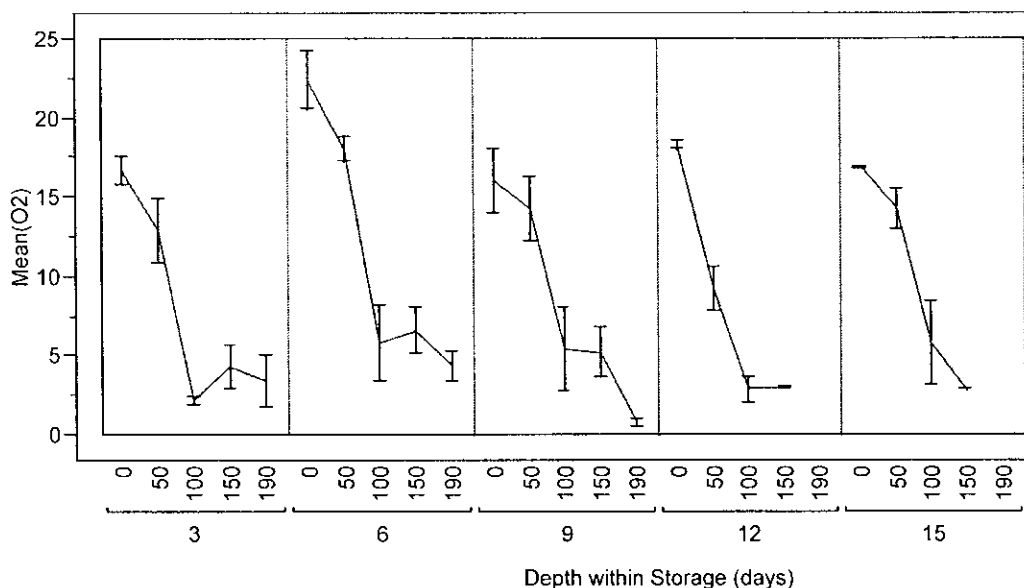
สมบัติของยางในวันแรกของการกอง (การบ่ม) และวันสุดท้ายก่อนเข้ากระบวนการผลิตของโรงงานที่ระดับความลึกต่าง ๆ โดยผลการทดลองเป็นดังนี้

3.2.1 ผลของระยะเวลาการบ่มและตำแหน่งการบ่มต่อสภาวะอากาศภายในกองยางก้อนถ้วย

ในการทดลองนี้เป็นการเก็บข้อมูลสภาวะของบ่มยางที่ระดับความลึกต่าง ๆ ภายในกองยางของ บริษัททวิสต์ภัณฑ์ จำกัด ค่าที่ทำการวัดคือ ปริมาณออกซิเจน ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิ โดยทำการเก็บข้อมูลในวันที่ 3, 6, 9 และ 12 ของการบ่มยาง ซึ่งเก็บข้อมูล 3 ช่วงเวลา คือ เวลาเช้า (8.00 น.) เวลาเที่ยง (12.00 น.) และ เวลาเย็น (16.00 น.) ทำการเก็บข้อมูล 2 บริเวณ คือ บริเวณท่อที่ 1 (pipe 1) และบริเวณท่อที่ 2 (pipe 2) ดังแสดงในรูปที่ 2

3.2.1.1 ปริมาณออกซิเจนภายในกองยางก้อนถ้วย

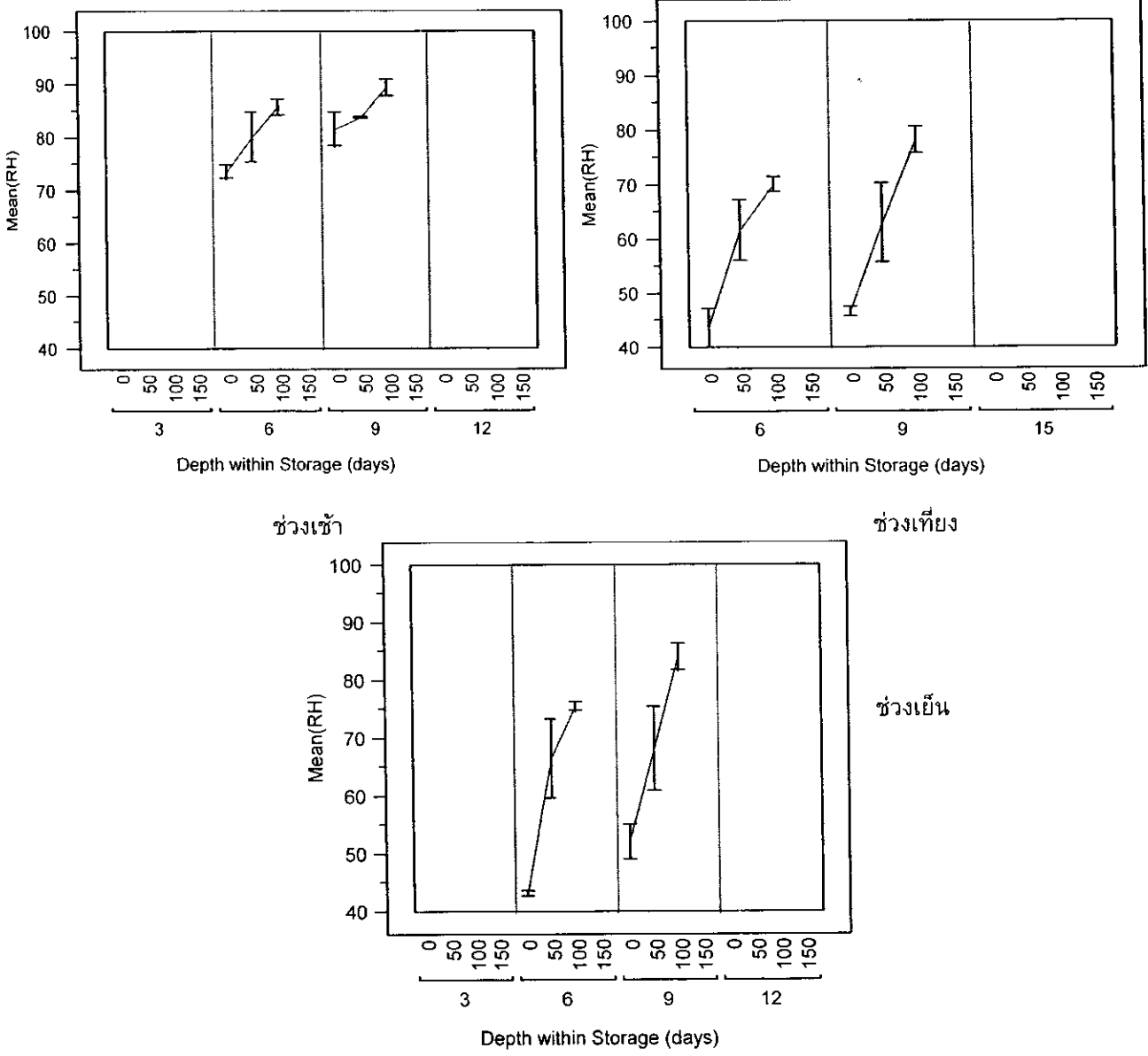
ผลการทดลองการวัดปริมาณออกซิเจนภายในกองยางก้อนถ้วยที่ความลึกต่าง ๆ โดยทำการวัดที่ระยะเวลาการบ่มเท่ากับ 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน และในแต่ละวันได้เก็บข้อมูล 3 เวลา จากผลการทดลองพบว่าปริมาณออกซิเจนไม่แตกต่างกันนักเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น แต่มีค่าแตกต่างกันอย่างชัดเจนที่ระดับความลึกมากกว่า 100 เซนติเมตร ซึ่งพบว่าปริมาณออกซิเจนมีค่าน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ โดยที่บริเวณด้านบนกองและลึกลงมาน้อยกว่า 100 เซนติเมตร ค่าปริมาณออกซิเจนมีค่าอยู่ในช่วง 12-21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความลึกเดียวกัน ปริมาณออกซิเจนจะมีค่ามากที่สุดในช่วงตอนเช้า และจะลดลงมาต่ำสุดในช่วงตอนเที่ยง และปริมาณออกซิเจนจะเพิ่มขึ้นในตอนเย็นซึ่งมีค่าอยู่ระหว่างช่วงตอนเช้าและตอน ค่าเฉลี่ยของปริมาณออกซิเจนของทั้งสามช่วงเวลาเปรียบเทียบกันที่ระดับความลึกต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 9 จะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนภายในกองยางก้อนถ้วยลดลงเมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้น



รูปที่ 9 ผลของระยะเวลาการบ่มและความลึกต่อปริมาณออกซิเจนภายในกองยางก้อนถ้วย

3.2.1.2 ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในกองยางก้อนถ้วย

จากผลการวัดค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในกองยางก้อนถ้วยที่ระดับความลึกต่างๆ ตามระยะเวลาการบ่ม พบว่าปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในกองยางก้อนถ้วยเพิ่มขึ้นตามระดับความลึกของกองยางและระยะเวลาการบ่ม โดยพบว่าที่บริเวณด้านบนกองมีปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ที่ 70-80 % ในช่วงตอนเช้า และเมื่อทำการวัดอีกครั้งในตอนเที่ยงพบว่าปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ลดลงโดยมีค่าอยู่ในช่วง 45-50% ซึ่งเป็นเพราะอุณหภูมิที่สูงขึ้น และที่ระดับความลึกเท่ากับ 100 เซนติเมตรจากด้านบนกอง พบว่าปริมาณความชื้นสัมพัทธ์มีค่าสูงกว่าที่ระดับความลึก 50 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 70-80% และ 60-65% ตามลำดับ เป็นผลมาจากการบีบอัดของกองยางส่งผลให้น้ำเซรุ่มในก้อนยางไหลออกมาทำให้ปริมาณความชื้นภายในกองสูงขึ้น รูปที่ 10 แสดงผลของเวลาการบ่มและระดับความลึกของกองยางต่อปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ภายในกองยางในช่วงเวลาต่างๆ

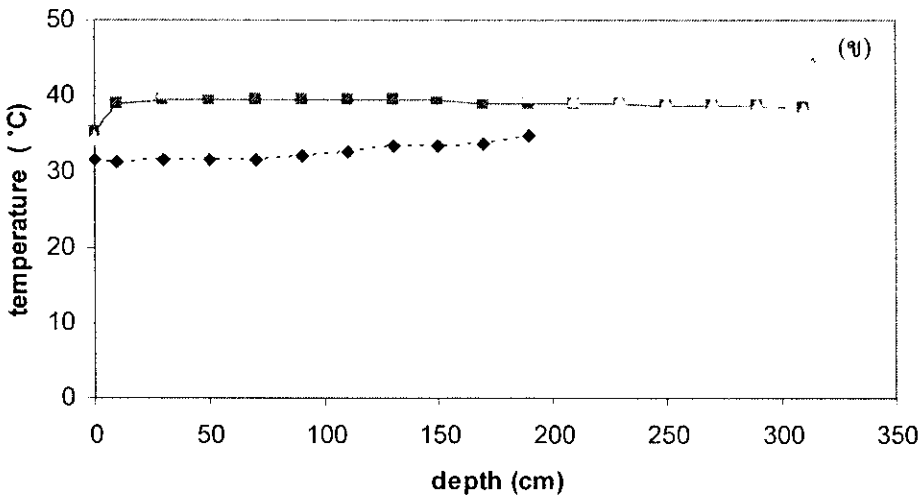
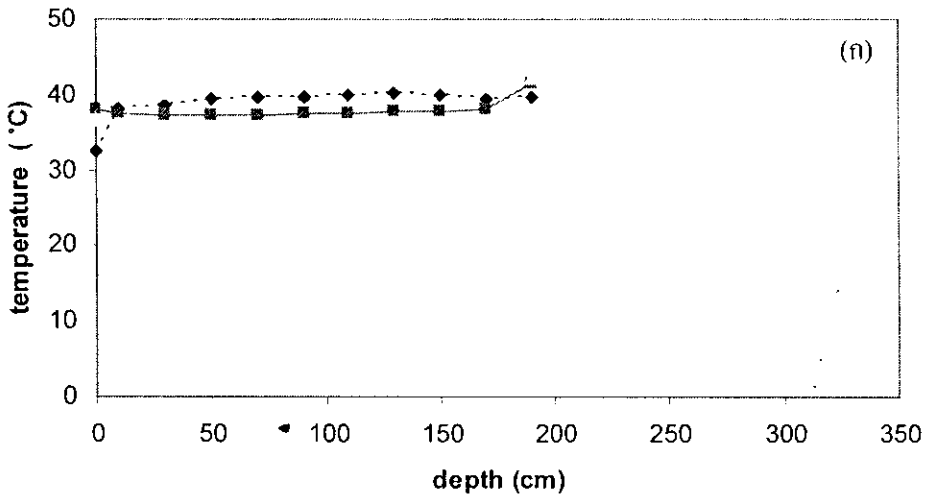


รูปที่ 10 ผลของระยะเวลาการบ่มและความลึกต่อปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกองยางก้อนถ้วย

3.2.1.3 อุณหภูมิภายในกองยางก้อนถ้วย

จากผลการวัดอุณหภูมิของกองยางก้อนถ้วยที่ระดับความลึกต่าง ๆ ของวันแรกในการบ่มยางใน 3 ช่วงเวลา พบว่าในเวลาเช้าอุณหภูมิที่ผิวของกองยาง (ที่ระดับความลึก 0 เซนติเมตร) เท่ากับ 32 องศาเซลเซียส เมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้นเป็น 10 เซนติเมตร อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 39 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นน้อยมากเมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้น ส่วนในเวลาเที่ยงวัน อุณหภูมิจะค่อนข้างคงที่ที่ระดับความลึกตั้งแต่ 0-170 เซนติเมตร โดยมีค่าอยู่ในช่วง 38-39 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิในช่วงเช้า หลังจากระดับความลึก 170 เซนติเมตร อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่าอุณหภูมิในเวลาเช้า ส่วนในเวลาเย็น อุณหภูมิที่ผิวของกองยางจะลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิในเวลาเที่ยงวัน แต่อย่างไรก็ตาม ตั้งแต่ระดับความลึกจาก 20 เซนติเมตร เป็นต้นไป อุณหภูมิที่ระดับความลึกเท่ากันจะสูงกว่าอุณหภูมิในเวลาเที่ยง และอุณหภูมิกงที่ที่ 42 องศาเซลเซียส ตั้งแต่ระดับความลึก 50 เซนติเมตร เป็นต้นไป ส่วนท่อนที่ 2 (รูปที่ 11(ข)) อุณหภูมิจะต่ำสุดในเวลาเช้า มีค่าอยู่ในช่วง 31-32 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้น ตอนเที่ยงอุณหภูมิที่ผิวของกองยางจะเพิ่มสูงขึ้นเป็น 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร เป็นต้นไป และคงที่อยู่ในช่วง 39-39.5 องศาเซลเซียสสองคาเซลเซียส ส่วนในเวลาเย็น อุณหภูมิที่ผิวของกองยางจะลดต่ำกว่าเวลาเที่ยงวัน แต่ตั้งแต่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าในช่วงเที่ยง ซึ่งมีค่าประมาณ 40 องศาเซลเซียส และตั้งแต่ระดับความลึก 110 เซนติเมตร เป็นต้นไป อุณหภูมิจะลดลงมาเล็กน้อยและมีค่าใกล้เคียงกับช่วงเที่ยง

จากผลการวัดอุณหภูมิของกองยางก้อนถ้วยที่ระดับความลึกต่าง ๆ ของวันแรกในการบ่มยางใน 3 ช่วงเวลา (รูปที่ 11) ในท่อนที่ 1 (รูปที่ 11(ก)) พบว่าตอนเช้า อุณหภูมิที่ผิวของกองยาง (ที่ระดับความลึก 0 เซนติเมตร) เท่ากับ 32 องศาเซลเซียส เมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้นเป็น 10 เซนติเมตร อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 39 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นน้อยมากเมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้น ส่วนในตอนเที่ยง อุณหภูมิจะค่อนข้างคงที่ที่ระดับความลึกตั้งแต่ 0-170 เซนติเมตร โดยมีค่าอยู่ในช่วง 38-39 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิในตอนเช้า หลังจากระดับความลึก 170 เซนติเมตร อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่าอุณหภูมิในตอนเช้า ในตอนเย็น อุณหภูมิที่ผิวของกองยางจะลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิตอนเที่ยง แต่อย่างไรก็ตาม ตั้งแต่ระดับความลึกจาก 20 เซนติเมตร เป็นต้นไป อุณหภูมิที่ระดับความลึกเท่ากันจะสูงกว่าอุณหภูมิในตอนเที่ยง และอุณหภูมิกงที่ที่ 42 องศาเซลเซียส ตั้งแต่ระดับความลึก 50 เซนติเมตร เป็นต้นไป ส่วนท่อนที่ 2 (รูปที่ 11 (ข)) อุณหภูมิจะต่ำสุดในตอนเช้า อยู่ในช่วง 31-32 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อระดับความลึกเพิ่มขึ้น ตอนเที่ยงอุณหภูมิที่ผิวของกองยางจะเพิ่มสูงขึ้นเป็น 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร เป็นต้นไป และคงที่อยู่ในช่วง 39-39.5 องศาเซลเซียสสองคาเซลเซียส ส่วนตอนเย็น อุณหภูมิที่ผิวของกองยางจะลดต่ำกว่าจากตอนเที่ยง แต่ตั้งแต่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าในตอนเที่ยง ซึ่งมีค่าประมาณ 40 องศาเซลเซียส และตั้งแต่ระดับความลึก 110 เซนติเมตร เป็นต้นไป อุณหภูมิจะลดลงมาเล็กน้อยและมีค่าใกล้เคียงกับตอนเที่ยง

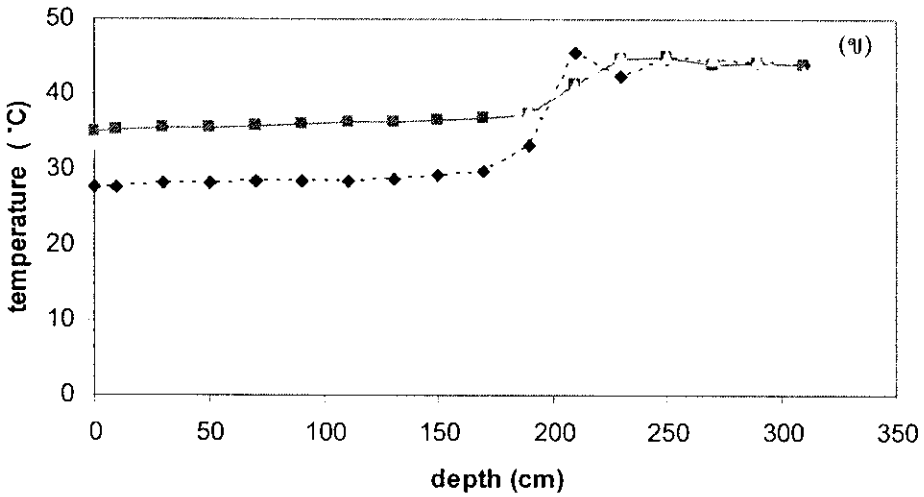
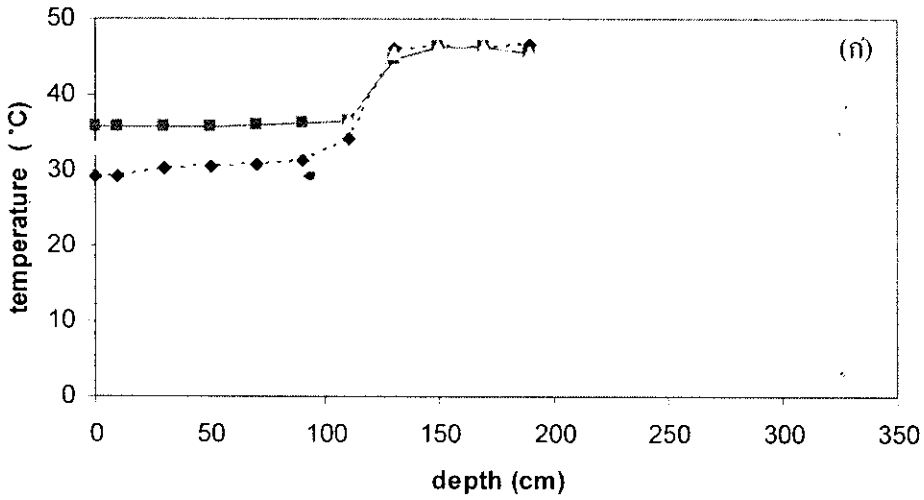


.....◆..... 08.00 น. —■— 12.00 น. ◆..... 16.00 น.

รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในกองยางของวันที่ 1 (ก) ท่อ 1 (ข) ท่อ 2

จากผลการวัดอุณหภูมิของกองยางก้อนถ้วยที่ระดับความลึกต่าง ๆ ของวันที่ 7 ในการกองยาง ใน 3 ช่วงเวลา แนวโน้มของอุณหภูมิจากทั้ง 2 ท่อจะแตกต่างจากวันที่ 1 อย่างชัดเจน (รูปที่ 12) นั่นคือ อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหรือคงที่ในช่วงแรกของระดับความลึก และพบว่าที่ความลึกเดียวกันอุณหภูมิ จะสูงที่สุดในช่วงเที่ยงรองลงมาคือช่วงเย็นและช่วงเช้า ตามลำดับ โดยช่วงเที่ยง อุณหภูมิมีค่าประมาณ 36 องศาเซลเซียส ช่วงเย็น 32-33 องศาเซลเซียส และช่วงเช้า 29-32 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นที่ ระดับความลึกหนึ่งอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยในท่อที่ 1 อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนที่ระดับความ

ลึกประมาณ 110 เซนติเมตร ในขณะที่ท่อที่ 2 อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนที่ระดับความลึกประมาณ 190 เซนติเมตร หลังจากระดับความลึกตั้งแต่ 130 เซนติเมตร ในท่อที่ 1 และระดับความลึกตั้งแต่ 210 เซนติเมตร ในท่อที่ 2 อุณหภูมิจะกลับมาคงที่อีกครั้ง โดยมีค่าประมาณ 47 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส ภายในท่อที่ 1 และในท่อที่ 2 ตามลำดับ



---◆--- 08.00 น. —■— 12.00 น. —■— 16.00 น.

รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในกองยางของวันที่ 7 (ก) ท่อ 1 (ข) ท่อ 2

จากการวัดสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วย ตามระยะเวลาการบ่มและที่ระดับความลึกต่าง ๆ ภายในกองยางก้อนถ้วย สามารถสรุปสภาวะการบ่มที่เกี่ยวข้องทั้งหมดในช่วงการบ่มยางก้อนถ้วยภายในกองแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สรุปบรรยากาศของการบ่มที่เกี่ยวข้องภายในกองยางก้อนถ้วย (กองยางก้อนถ้วยของโรงงานวงศ์บัณฑิต เก็บข้อมูลในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2549).

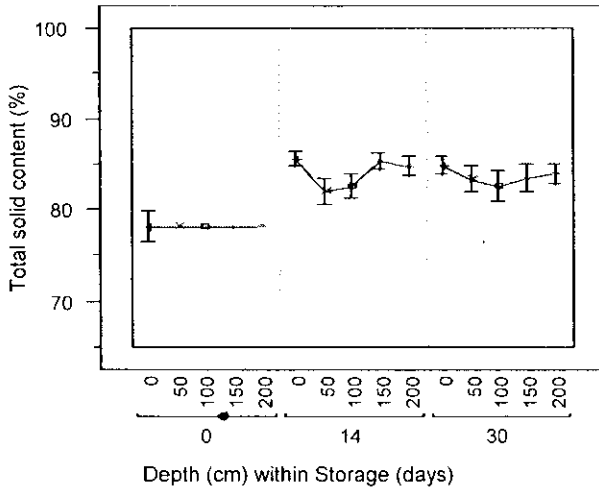
Measurement time	Relative humidity (%)	Temperature (°C)	Oxygen content (%)
Morning-top	70-80	26-30	15-18
Morning-middle	70-80	35-38	8-12
Morning-bottom	85-90	40-42	4-7
Noon-top	60-65	35-38	8-12
Noon-bottom	85-90	40-42	0
Afternoon-top	40-45	35-38	15-18
Afternoon-middle	60-65	35-38	8-12
Afternoon-bottom	60-65	35-38	4-7

3.2.2 สมบัติของยางก้อนถ้วยภายในกองยาง

ในการทดลองนี้ได้ทำการวัดค่า pH, TSC และสมบัติของยางก้อนถ้วยในด้านความยืดหยุ่นของยางโดยวัดจากค่า P_0 และ PRI โดยทำการวัดที่วันแรกของการบ่มยาง วันที่ 14 (กองที่ 1) และ วันที่ 30 (กองที่ 2) ของการบ่มยาง (เป็นวันที่ยางก้อนถ้วยจะถูกนำเข้าสู่กระบวนการผลิตยางแท่งต่อไป) ที่ระดับความลึกต่าง ๆ จากการทดลองได้ผลการทดลองดังนี้

3.2.2.1 ค่า TSC ของยางก้อนถ้วย

ค่า TSC ของยางก้อนถ้วยในวันแรกของการบ่มมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 78% แสดงในรูปที่ 13 ซึ่งเมื่อผ่านการบ่มในลักษณะการกองรวมกัน มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 84% พบว่าค่า TSC ของยางก้อนถ้วยที่บ่มที่บริเวณด้านบนของกองยาง (0 เซนติเมตร) และด้านล่าง (200 เซนติเมตร) มีค่าสูงกว่ายางที่ถูกบ่มอยู่ที่ระยะ 50–150 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 83% ยางก้อนถ้วยที่อยู่บริเวณผิวด้านบนของกองยางได้รับแสงแดดโดยตรงจากแสงอาทิตย์ส่งผลให้ยางมีค่า TSC สูงกว่ายางแห้งได้มาก ส่วนยางที่อยู่ในส่วนล่างสุดจะได้รับแรงกดจากน้ำหนักยางจากด้านบนส่งผลให้มีปริมาณความชื้นต่ำเช่นกัน



รูปที่ 13 ค่า TSC ของยางก้อนถ้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง

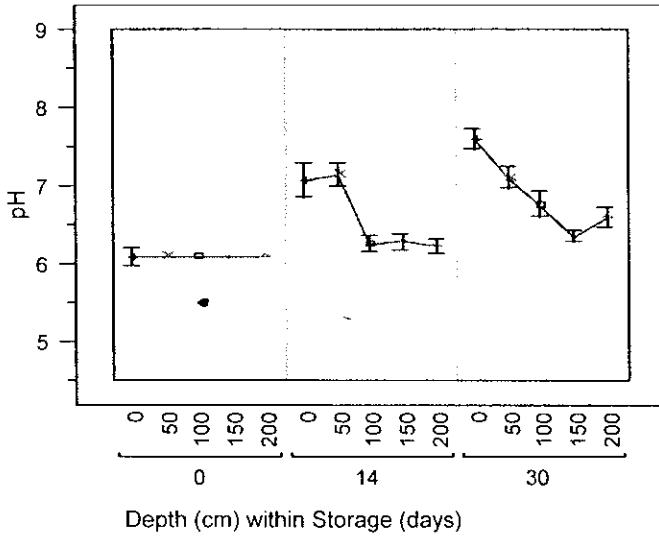
3.2.2.2 ค่า pH ของยางก้อนถ้วย

ค่า pH ของยางก้อนถ้วยในวันแรกของการเริ่มบ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.1 (รูปที่ 14) และเมื่อผ่านการบ่มเป็นเวลา 30 วัน และ 14 วัน พบว่าค่า pH ของยางก้อนถ้วยเพิ่มขึ้นเป็น 7.6 และ 7.1 ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องในการรายงานของ Sawarti และ Moh ซึ่งได้รายงานค่า pH ของยางก้อนถ้วยเพิ่มขึ้นจาก 6.25 เป็น 6.85 เมื่อทำการบ่มไว้เป็นเวลา 35 วัน การเพิ่มขึ้นของ pH อาจเป็นผลมาจากการย่อยสลายกลุ่มโปรตีนในยางก้อนถ้วยเป็นแอมโมเนีย เนื่องจากได้กลิ่นแอมโมเนียเพิ่มมากขึ้นหลังจากการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วย ซึ่งมีรายงานจาก นฤมลและสมทิพย์ (2549) [8] ที่ได้ทำการแยกเชื้อในยางก้อนถ้วย และพบว่ามีจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถย่อยโปรตีนให้เป็นแอมโมเนียได้ นอกจากนี้พบว่า pH ของยางก้อนถ้วยที่บ่มในที่ที่มีปริมาณออกซิเจนน้อยจะมีค่าต่ำ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดได้เช่น *as Clostridium sp.*, *Lactobacillus sp.* and *Streptococcus sp* ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในที่ที่ไม่มีออกซิเจน [9]

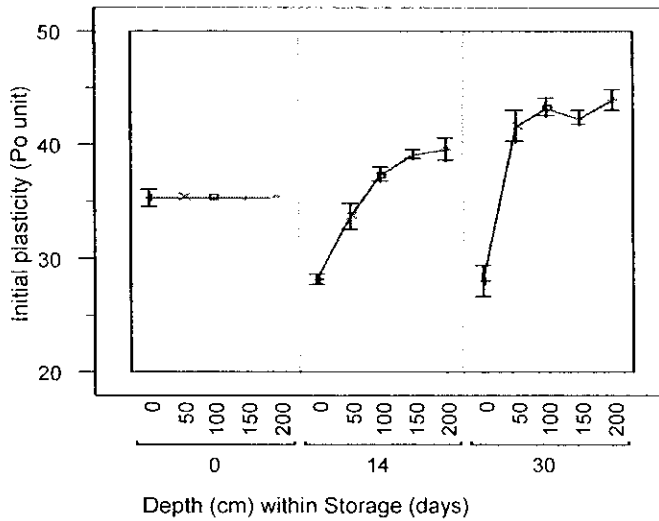
3.2.2.3 ค่า Po ของยางก้อนถ้วย

ค่า Po ของยางก้อนถ้วยในวันแรกของการรวบรวมเพื่อทำการบ่มมีค่าเฉลี่ยที่ 35 แสดงในรูปที่ 15 หลังจากผ่านการบ่มพบว่า ค่า Po ของยางก้อนถ้วยโดยเฉลี่ยมีค่าเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นตามระดับความลึกของกองยางก้อนถ้วย ซึ่งค่า Po ของยางก้อนถ้วยที่อยู่บริเวณผิวบนกองยางมีค่าลดลง ($P_o = 28$) ในขณะที่ค่า Po ของยางก้อนถ้วยที่บ่มในระดับที่ลึกลงไปมากกว่า 1 เมตร มีค่าเพิ่มขึ้น ($P_o = 41$) การที่ค่า Po ของยางก้อนถ้วยที่บริเวณผิวด้านบนของกองยางลดต่ำลงหลักจากการบ่มอาจเนื่องมาจากยางเกิดการเสื่อมเนื่องจากการได้รับแสงแดดโดยตรงจากแสงอาทิตย์ [10] ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของค่า Po เมื่อผ่านการบ่มเป็นผลมาจากการเกิดการแข็งขึ้นเมื่อทำการเก็บไว้ ซึ่งจากผลการทดลองยังพบว่าค่า

pH ของยางก้อนถ้วยมีค่าแปรผกผันกับค่า P_o ของยาง ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากในสภาวะกรดและอุณหภูมิสูงอาจส่งเสริม ให้อย่างเกิดการเชื่อมโยงภายในโมเลกุลได้มากขึ้น



รูปที่ 14 ค่า pH ของยางก้อนถ้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง

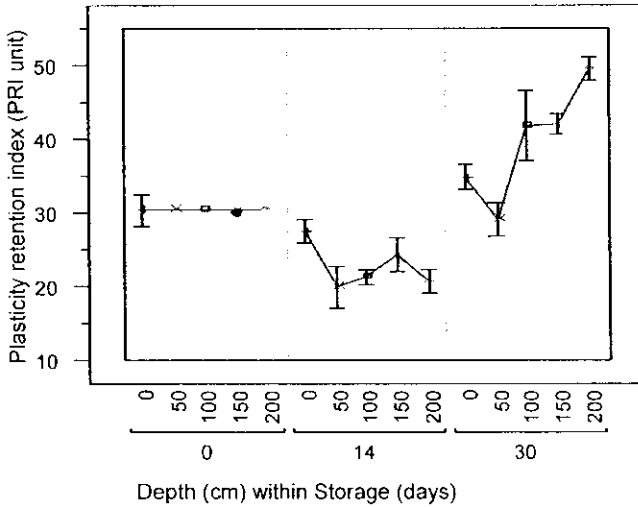


รูปที่ 15 ค่า P_o ของยางก้อนถ้วยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง

3.2.2.4 ค่า PRI ของยางก้อนถ้วย

ค่า PRI ของยางก้อนถ้วยบ่งบอกถึงความต้านทานต่อการถูกออกซิเดชันของยางภายใต้อุณหภูมิสูง ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ตัวหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมมาตรฐานการผลิตยางแท่ง และจากการทดสอบค่า PRI ของยางก้อนถ้วยที่ใช้เป็นวัตถุดิบของการผลิตยางแท่งพบว่า ค่า PRI ของยางก้อนถ้วยในวันแรกของการบ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 30 ซึ่งพบว่ามีค่าต่ำกว่า มาตรฐานยางทางเกรด 20 ดังนั้นเมื่อทำ

การบ่มเป็นเวลา 14 และ 30 วันพบว่าค่า PRI ของยางที่ทำการบ่ม 14 วันมีแนวโน้มลดลงจากค่าในวันแรก ในขณะที่ค่า PRI ของยางที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 30 วันมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 40 ซึ่งทำให้เห็นว่าการที่จะสามารถเพิ่มค่า PRI ของยางก่อนถวัลยต้องใช้เวลาช่วงหนึ่งเพื่อให้ยางมีค่า PRI สูงขึ้น รูปที่ 16 แสดงค่า PRI ดังกล่าว



รูปที่ 16 ค่า PRI ของยางก่อนถวัลยภายในกองยางตามระยะเวลาการบ่มและความลึกของกองยาง

โดยสรุปพบว่าที่ระยะความลึกมากขึ้นภายในกองยางก่อนถวัลย ส่งผลให้ pH ของยางก่อนถวัลยลดลงในขณะที่ค่าความยืดหยุ่นของยางเพิ่มขึ้น ปริมาณออกซิเจนลดลง ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้น ค่าดัชนีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บไปเป็นเวลานาน 30 วัน

3.3 ผลของสภาวะที่ใช้ในการบดและอบยางก่อนถวัลยต่อสมบัติของยาง

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ได้สร้างเครื่องมือเพื่อใช้ในการแปรรูปยางก่อนถวัลยในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องบดยางขนาดเล็ก และใช้ตู้อบลมร้อนเพื่ออบแห้งตัวอย่างยาง ซึ่งจำเป็นต้องหาสภาวะในการแปรรูป (อุณหภูมิในการอบ เวลาในการอบ และจำนวนครั้งในการบด) เพื่อใช้ในการแปรรูปยางก่อนถวัลย โดยให้ยังคงมีค่าสมบัติของยางใกล้เคียงกับสภาวะการแปรรูปจริงในโรงงาน

จากการทดสอบการแปรรูปยางก่อนถวัลยด้วยสภาวะต่างๆ โดยใช้ตัวอย่างยางก่อนถวัลยจากโรงงาน นำมาบดและอบแห้งในห้องปฏิบัติการ และนำยางไปทดสอบค่า P_0 และ PRI เพื่อเปรียบเทียบสมบัติของยางที่ใช้สภาวะการแปรรูปจริง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ตอน แต่ละตอนแบ่งออกเป็น 3 ชุด ชุดแรกใช้เครื่องเคบเปอร์ในโรงงาน ส่วนชุดที่ 2 และ 3 ใช้เครื่องเคบเปอร์ในห้องปฏิบัติการ รายละเอียดสภาวะที่ใช้ในการแปรรูป (อุณหภูมิในการอบ เวลาในการอบ และจำนวนครั้งในการบด) ของตัวอย่างชุดที่ 1 และผลการทดสอบสมบัติยาง (ค่า P_0 และ PRI) แสดงในตารางที่ 6 ตัวอย่างควบคุม

(control) คือตัวอย่างที่ใช้สภาวะจริงของโรงงาน (อบที่ 139 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องครอปเปอร์ในโรงงานจำนวน 15 ครั้ง)

ผลการทดลองตอนที่ 1 พบว่าค่า P_o และ PRI ของตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่แปรรูปตามสภาวะจริงในโรงงาน (บดด้วยเครื่องครอปเปอร์ในโรงงาน จำนวน 15 ครั้ง และอบด้วยเครื่องอบแห้งในโรงงาน ที่อุณหภูมิ 139 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง) มีค่าเท่ากับ 40.5 และ 18.5% ตามลำดับ จากผลการทดลองในชุดนี้พบว่า สภาวะที่ใช้ในการแปรรูปยางก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการที่ส่งผลให้ยางมีค่า P_o และ PRI ใกล้เคียงกับสภาวะจริงในโรงงานมากที่สุด คือ การบดยางด้วยเครื่องบดจำนวน 12 ครั้ง และอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงมีค่า P_o และ PRI เท่ากับ 34.7 และ 30.0% ตามลำดับ

ตารางที่ 7 สภาวะการแปรรูปและค่า P_o และ PRI ของตัวอย่างยางก้อนถ้วยทดลองตอนที่ 1

#1 (Industrial crepper)			#2 (minicrepper)			#3 (minicrepper)		
Condition*	P_o	PRI	Condition	P_o	PRI	Condition	P_o	PRI
120-3-15	24.7	0.0	120-3-12	34.7	29.9	120-3-16	29.0	16.6
120-4-15	12.5	11.7	120-4-12	29.3	22.9	120-4-16	29.0	33.8
130-1.5-15	26.7	8.7	130-1.5-12	23.7	15.3	130-1.5-16	27.8	9.5
130-2-15	7.3	6.0	130-2-12	12.0	12.0	130-2-16	14.8	19.2
139-3-15 [^]	40.5	18.4	130-2.5-12	11.3	27.8	130-2.5-16	14.8	17.0

* อุณหภูมิในการอบ (องศาเซลเซียส) - เวลาในการอบ (ชั่วโมง) - จำนวนการบด (ครั้ง)

[^] ตัวอย่างควบคุม

การทดลองในตอนที่ 2 ได้ปรับสภาวะการบดในโรงงานเป็น 21 ครั้ง (ตัวอย่างควบคุม) ตัวแปรในการแปรรูปและสมบัติยางของการทดลองตอนที่ 2 แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สภาวะการแปรรูปและค่า P_o และ PRI ของตัวอย่างยางก้อนถ้วยทดลองตอนที่ 2

#1 (Industrial crepper)			#2 (minicrepper)			#3 (minicrepper)		
Condition*	P_o	PRI	Condition	P_o	PRI	Condition	P_o	PRI
120-2-21	34.5	40.1	120-2-13	45.0	42.5	120-2-17	38.9	44.1
120-2.5-21	30.4	39.5	120-2.5-13	40.0	46.3	120-2.5-17	33.1	44.5
120-3-21	20.0	36.5	120-3-13	53.0	46.6	120-3-17	45.6	48.6
139-3-21 [^]	20.8	36.4	130-1.25-13	54.0	43.0	130-1.25-17	47.2	41.6
			130-1.5-13	50.8	42.8	130-1.5-17	50.4	40.0

* อุณหภูมิในการอบ (องศาเซลเซียส) - เวลาในการอบ (ชั่วโมง) - จำนวนการบด (ครั้ง)

[^] ตัวอย่างควบคุม

จะเห็นได้ว่าตัวอย่างควบคุมมีค่า P_o และ PRI เท่ากับ 20.9 และ 36.4% ตามลำดับ และพบว่าเมื่ออบยวาทที่ทำการบดจากโรงงานด้วยอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 และ 3 ชั่วโมง ให้ค่า P_o และ PRI ที่ไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญกับค่าที่ได้จากยวาทที่ทดสอบในสภาวะการอบในโรงงาน ส่วนการบดยวาทด้วยเครื่องบดในห้องปฏิบัติการและการอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และ 125 องศาเซลเซียส พบว่าค่า P_o และ PRI มีค่าสูงกว่า ยวาทที่แปรรูปในสภาวะของโรงงาน ดังนั้นจึงได้ทดลองในตอนที 3 โดยทดลองบดยวาทก่อนด้วยจำนวน 18-22 ครั้ง สภาวะการแปรรูปและค่า P_o และ PRI ที่วัดได้แสดงในตารางที่ 9 พบว่าเมื่อทำการบดยวาทก่อนด้วยจำนวน 18-22 ครั้งด้วยเครื่องบดขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ และอบยวาทด้วยอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2, 2.5 และ 3 ชั่วโมง ให้ค่า P_o และ PRI ของยวาทที่ไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญกับค่าที่ได้จากการแปรรูปในโรงงาน ส่วนที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส พบว่าต้องลดระยะเวลาการอบ โดยการอบยวาทที่ 2-2.5 ชั่วโมง สามารถควบคุมให้ยวาทที่ได้มีสมบัติใกล้เคียงกับสภาวะการแปรรูปจริงในโรงงาน

ตารางที่ 9 สภาวะการแปรรูปและค่า P_o และ PRI ของตัวอย่างยวาทก่อนด้วยทดลองในตอนที 3

#1 (Industrial crepper)			#2 (minicrepper)			#3 (minicrepper)		
Condition*	P_o	PRI	Condition	P_o	PRI	Condition	P_o	PRI
120-2-21	38.3	27.3	120-2-18	42.3	37.3	120-2-22	40.8	20.4
120-2.5-21	39.0	29.1	120-3-18	34.3	24.9	120-2.5-22	44.0	26.8
120-3-21	21.8	17.4	125-2-18	42.5	28.3	120-3-22	36.5	23.2
125-2-21	35.5	23.2	125-2.5-18	35.3	19.5	125-2-22	38.3	25.6
125-2.5-21	33.8	30.3	125-3-18	29.2	28.3	125-2.5-22	35.2	21.6
125-3-21	35.3	13.8				125-3-22	23.5	14.2
139-3-21 [^]	40.7	27.3						

* อุณหภูมิในการอบ (องศาเซลเซียส) - เวลาในการอบ (ชั่วโมง) - จำนวนการบด (ครั้ง)

[^] ตัวอย่างควบคุม

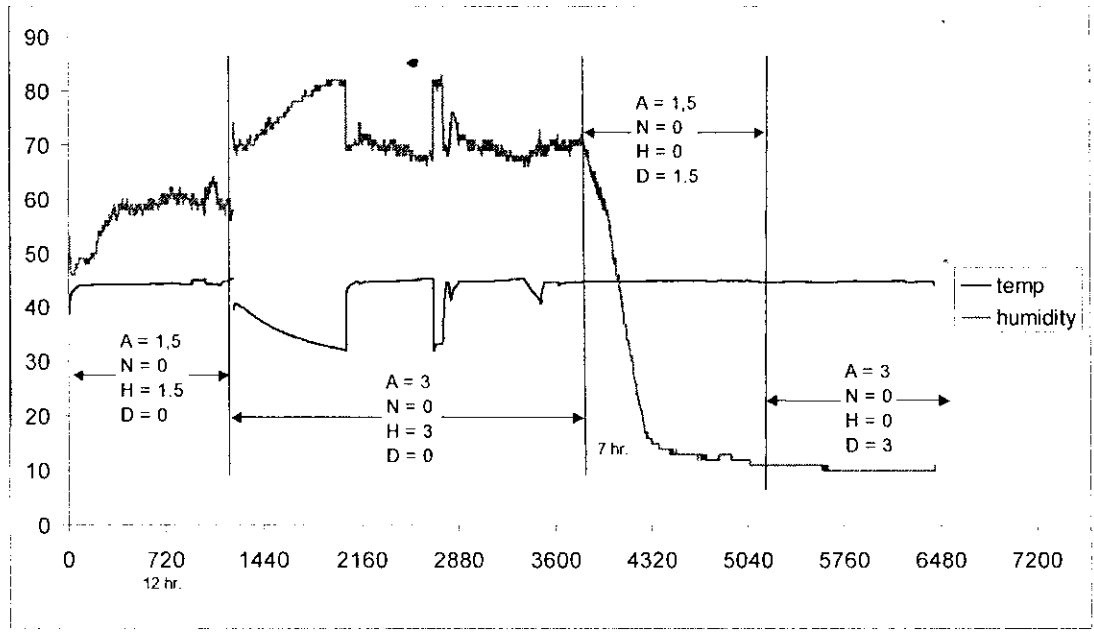
3.4 ผลการทดสอบการใช้งานชุดควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ

ซึ่งจากข้อมูลที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการบ่มยวาทก่อนด้วยในกองยวาทในโรงงานรับซื้อยวาทก่อนด้วยเพื่อแปรรูปเป็นยวาทแห้ง (เก็บข้อมูลในโรงงานวงศ์บัณฑิตจำกัด จังหวัดสุราษฎร์ธานี) พบว่า ภายในกองยวาทมีความแปรปรวนทั้งอุณหภูมิ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณออกซิเจน ซึ่งพบว่าทั้งตำแหน่งภายในกองและระยะเวลาการบ่มมีผลต่อสมบัติของยวาท ดังนั้นจึงได้สร้างชุดทดลองเพื่อควบคุมสภาวะการบ่มในระดับห้องทดลอง เพื่อนำมาศึกษาผลของการทำงานของจุลินทรีย์และเอนไซม์ในระหว่างการบ่มต่อสมบัติของยวาท

จากไดอะแกรมในรูปที่ 3 (บทที่ 2 หน้าที 13) แสดงให้เห็นขั้นตอนในการควบคุมสภาวะการบ่มในกล่องบ่ม (Maturation box) การควบคุมปริมาณออกซิเจนทำโดยการผสมระหว่างอากาศจากปั๊มลมกับก๊าซไนโตรเจน การควบคุมอุณหภูมิทำโดยการไหลวนของน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ และการควบคุมปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ทำด้วยการผสมกันระหว่างอากาศเปียกและอากาศแห้ง ซึ่งอากาศแห้งได้จาก

การใช้สารซิลิกาการดูดความชื้นในอากาศ และอากาศเปียกได้จากการทำให้เกิดฟองในน้ำภายในคอลัมน์ เพื่อให้ได้อากาศที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ซึ่งสามารถควบคุมอัตราการผสมโดยการปรับอัตราการไหลของอากาศด้วยอุปกรณ์วัดอัตราการไหล (Flow meter)

ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อต้องการทราบว่าในระบบควบคุมที่จัดทำขึ้น สามารถควบคุมให้อากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ได้สูงสุดและต่ำสุดอยู่ในค่าเท่าไร โดยทดสอบในสภาวะที่มีและไม่มีกระแสตัวอย่างในกล่องบ่ม ซึ่งได้ใช้การทดสอบที่ 2 ระดับของอุณหภูมิ คือที่ 45 องศาเซลเซียส และ 28 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 17

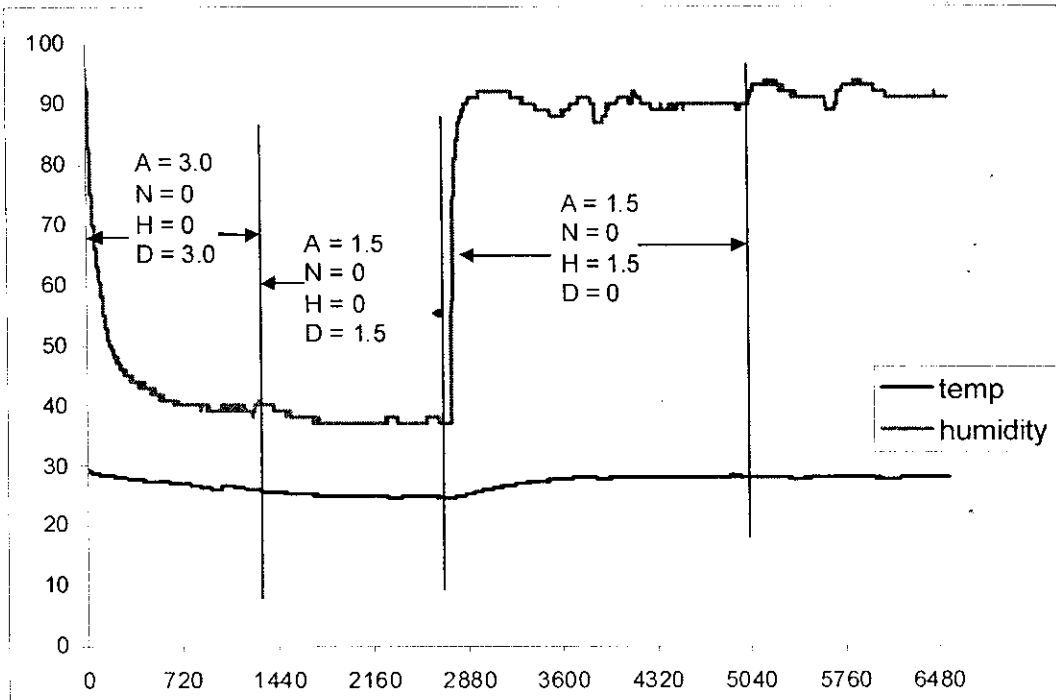


รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

จากกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของสภาวะการบ่ม (อุณหภูมิ และ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์) ในกล่องบ่มตามระยะเวลาการบ่ม โดยควบคุมอุณหภูมิน้ำไหลวนที่ 45 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อใช้อัตราการไหลผ่านเข้ากล่องบ่มต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ต่างกัน โดยพบว่าเมื่อควบคุมอัตราการไหลของอากาศเปียก (H) ที่ 1.5 ลิตรต่อนาที และอากาศแห้ง (D) ที่ 0 ลิตรต่อนาที ความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มเข้าสู่สมดุลที่ 60% (ช่วงที่ 1 ของกราฟ) และเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของอากาศเปียกเป็น 3 ลิตรต่อนาที พบว่าความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นโดยเข้าสู่สมดุลที่ 70% (ช่วงที่ 2 ของกราฟ) จากนั้นปรับอัตราการไหลของอากาศแห้งเท่ากับ 1.5 ลิตรต่อนาทีและอากาศเปียกเท่ากับ 0 ลิตรต่อนาที พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงและเข้าสู่สมดุลที่ RH 10 %

อุณหภูมิของอากาศมีผลต่อปริมาณไอน้ำในอากาศ นั่นคือ เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนส่งผลให้ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเปลี่ยนแปลงด้วย ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทดสอบที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

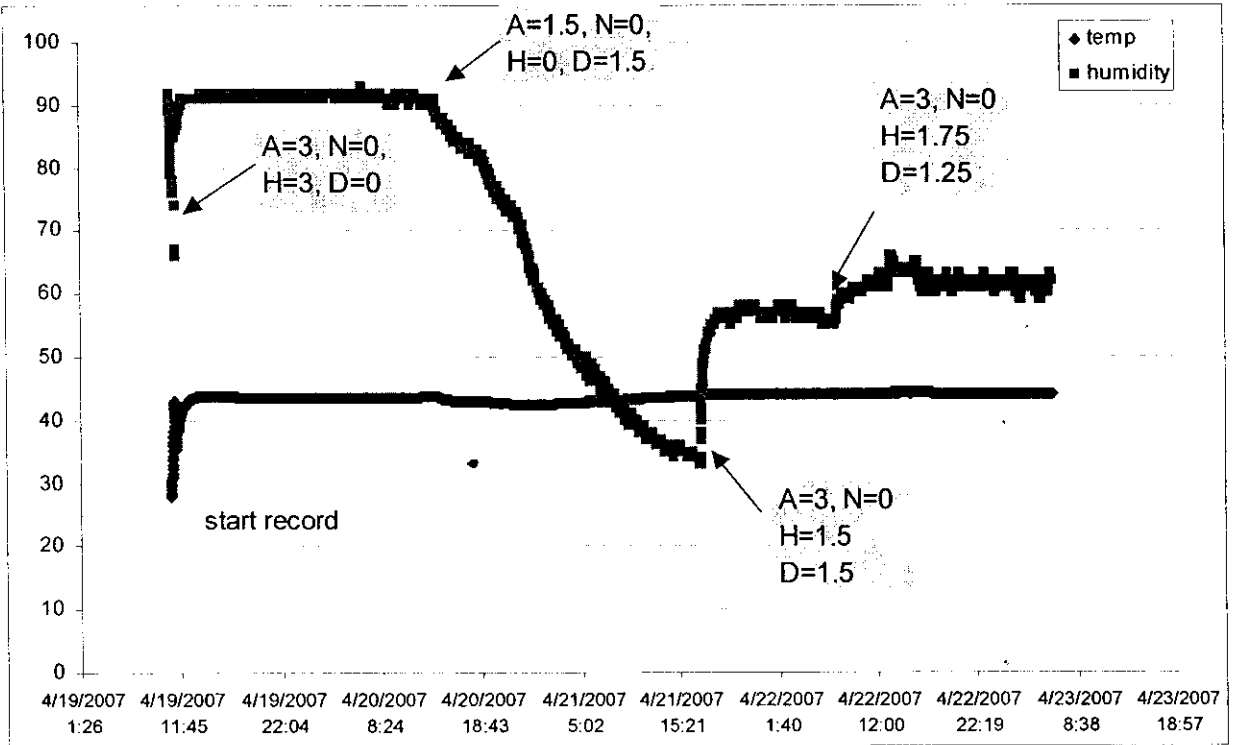
ผลการเปลี่ยนแปลงของความชื้นสัมพัทธ์แสดงในรูปที่ 18



รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มที่ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 18 เมื่อทำการทดสอบในสภาวะที่อุณหภูมิของอากาศเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราการไหลของลมเท่ากับ 3 และ 1.5 ลิตรต่อนาที พบว่า ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ที่สภาวะสมดุลในอากาศเพิ่มขึ้น โดยพบว่าปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดที่ 40% และสูงสุดที่ 90%

จากนั้นได้ทำการทดสอบการควบคุมสภาวะการบ่มในกล่องบ่มที่มีตัวอย่างยางก้อนถ้วย โดยได้ทดสอบที่อุณหภูมิ 45 °C ผลการเปลี่ยนแปลงของความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิในกล่องบ่มแสดงในรูปที่ 19 จากกราฟเมื่อทดสอบบ่มยางตัวอย่างในกล่องบ่มโดยผ่านลมเปียก (H) ที่อัตราการไหลของลมที่ 3 ลิตรต่อนาที พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในกล่องมีค่าเพิ่มขึ้นและคงที่ที่ RH 90% จากนั้น เพื่อทดสอบการลดความชื้นสัมพัทธ์โดยการปล่อยลมแห้งผ่านเข้ากล่องบ่มด้วยอัตราความเร็วที่ 1.5 ลิตรต่อนาที พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มลดลงและคงที่ที่ 35%RH และเพื่อต้องการให้ความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้น จึงทดสอบผสมอากาศแห้งและอากาศเปียกเข้าด้วยกันที่อัตราส่วน 1:1 พบว่า ความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นและคงที่ที่ 55%RH และเมื่อเพิ่มอัตราความเร็วลมของอากาศเปียกเป็น 1:1.4 พบว่าปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ภายในกล่องบ่มเพิ่มขึ้นและคงที่ที่ 65%RH ดังนั้นจากการทดลองนี้พบว่าสามารถควบคุมสภาวะภายในกล่องบ่มให้คงที่ได้ตามระยะเวลาการบ่ม



รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องบ่มที่ใส่ตัวอย่าง

3.5. ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย

ตามวัฏจักรยางก้อนถ้วยที่ได้จากการจับตัวโดยธรรมชาติ จะผ่านเข้าสู่การบ่มเป็นระยะเวลาหนึ่งในโรงงานก่อนทำการแปรรูปเป็นอย่างแห้ง ซึ่งได้ทำการเก็บตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่ทำการเก็บเป็นระยะเวลาต่างๆ กันมานับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย

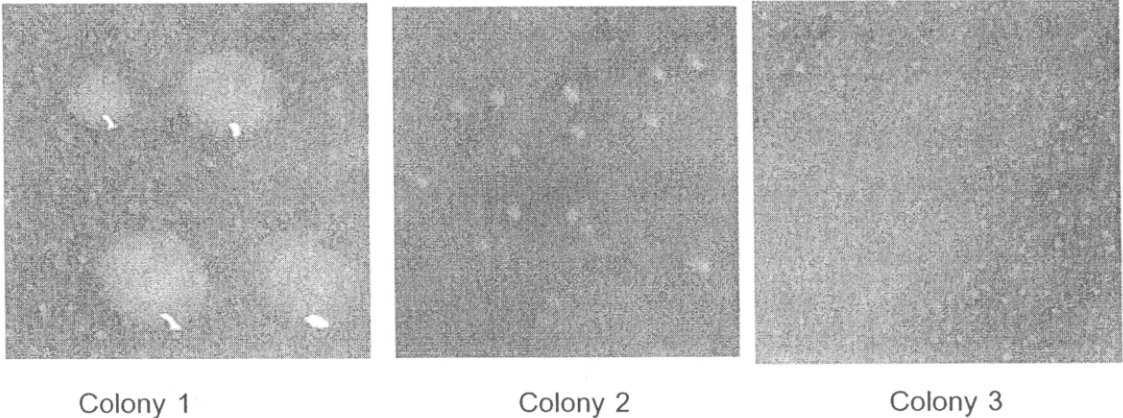
ตัวอย่าง	ระยะเวลาการบ่ม	ปริมาณความชื้นในก้อนยาง (%)	จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
ก้อนยางสด	หลังการกรีด 4 ชั่วโมง	60	4.8×10^5
ยางก้อนถ้วยผ่านการบ่ม	4 วัน	46	1.2×10^9
	1 สัปดาห์	37	1.3×10^9
	2 สัปดาห์	30	6.7×10^8
	3 สัปดาห์	28	4.3×10^7
	4 สัปดาห์	21	2.7×10^7

จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำยางสด และยางก้อนถ้วยทั้งหมด 18 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างยางก้อนถ้วยสดและยางก้อนถ้วยที่บ่มในโรงงานในระยะเวลาการบ่มต่างๆ จำนวน 15 ตัวอย่าง คือ 3 วัน, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลา

การบ่ม แต่เมื่อบ่มไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มลดลง และปริมาณความชื้นในยางก้อนถ้วยลดลงตามระยะเวลาการบ่มเช่นกันดังตารางที่ 10

3.5.1 ลักษณะโคโลนีของกลุ่มจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย

เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่ทำการบ่ม 4 สัปดาห์ ที่เจริญเติบโตได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA มาจำแนกลักษณะของโคโลนี พบว่าสามารถแยกออกเป็นลักษณะต่างๆ ดังนี้



รูปที่ 20 ลักษณะโคโลนีในเซรัมของยางก้อนถ้วย

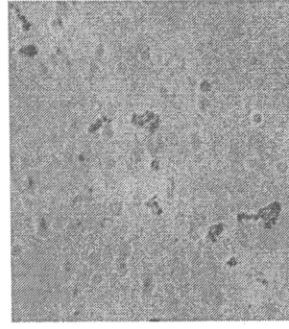
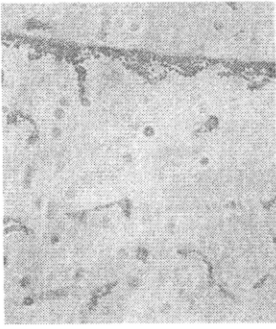
เมื่อสังเกตลักษณะและสีของโคโลนีที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (รูปที่ 20) พบว่ามีลักษณะกลมสีขาว ซึ่งมีขนาดแตกต่างกันคือ ขนาดจุดเล็กๆ ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ โดยให้ชื่อว่า เป็น โคโลนี 1 โคโลนี 2 และ โคโลนี 3 ดังนั้น จึงได้ทำการนำแต่ละโคโลนีมาวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบกลุ่มจุลินทรีย์

3.5.2 ผลการย้อมสีแกรมบวก แกรมลบ

เมื่อนำแต่ละโคโลนีมาทำการย้อมสี พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในยางก้อนถ้วยมีทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ โดยพบว่าโคโลนี 1 เป็นชนิดแกรมลบย้อมติดสีชมพู ในขณะที่โคโลนี 2 และ 3 เป็นชนิดแกรมบวก ซึ่งแสดงการย้อมติดสีน้ำเงินม่วงแสดงในรูปที่ 21

3.5.3 ผลการทดสอบการสร้างกรดของกลุ่มจุลินทรีย์

เมื่อทำการทดสอบโดยใช้อาหารซึ่งเลือกมาเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ชนิดแกรมลบ และสร้างกรดจากการหมักน้ำตาลในอาหาร โดยใช้อาหารชนิด Mac Conkey Agar จากการทดสอบกลุ่มโคโลนี 1 พบว่าแสดงลักษณะของโคโลนีสีชมพู บ่งชี้ว่าจุลินทรีย์ในเซรัมของยางก้อนถ้วยกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดกรดให้ยางและสามารถเกิดการหมักน้ำตาลได้ตัวหนึ่งแสดงลักษณะโคโลนีในรูปที่ 22

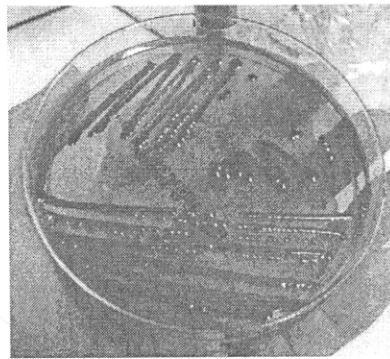


Colony 1: Gram negative

Colony 2: Gram positive

Colony 3: Gram positive

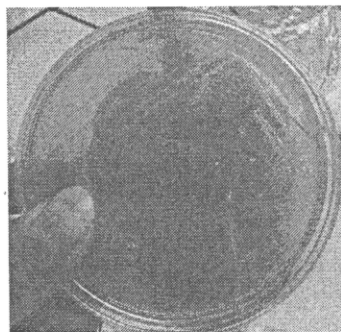
รูปที่ 21 ลักษณะการย้อมสีโคโลนีของจุลินทรีย์ที่แยกได้ในเซรัมอย่างกึ่งอัตโนมัติ



รูปที่ 22 ลักษณะโคโลนีสีชมพูในอาหาร Mac Conkey Agar ของโคโลนี 1

3.5.4 ผลการทดสอบกลุ่ม Lactic Streptococci

โคโลนี 2 และโคโลนี 3 มีลักษณะเป็นรูปทรงกลม (coccus) และแกรมบวก จึงได้นำมาทดสอบกลุ่ม Lactic Streptococcus โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเลือกมาเฉพาะ คือ M17 พบว่าทั้งโคโลนี 2 และ 3 สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื่อนี้ (รูปที่ 23)



รูปที่ 23 ลักษณะโคโลนีที่เจริญได้ในอาหาร M 17 ของโคโลนี 2 และ โคโลนี 3

กล่าวโดยสรุป จากการวิเคราะห์กลุ่มจุลินทรีย์ในเซรั่มยางก้อนถ้วยที่พบในยางก้อนถ้วยที่ทำการบ่มเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน พบว่าจุลินทรีย์ที่ยังสามารถเจริญเติบโตได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มที่สามารถสร้างกรดโดยการย่อยน้ำตาล และมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม

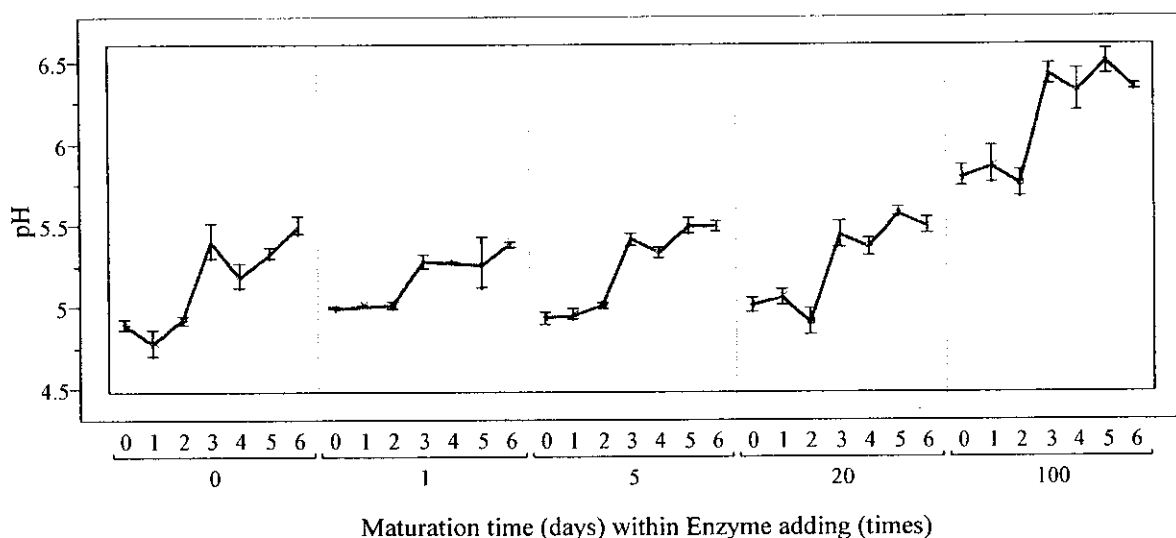
3.6 ผลของเอนไซม์ไฮโดรเลสต่อสมบัติยางก้อนถ้วย

จากการทดลองขั้นต้นพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในยางก้อนถ้วย สามารถย่อยส่วนประกอบกลุ่มที่ไม่ใช่ยาง จึงได้ทำการทดสอบผลการย่อยสารโปรตีน ไขมัน และ น้ำตาลของเอนไซม์บริสุทธิ์ต่อสมบัติของยาง

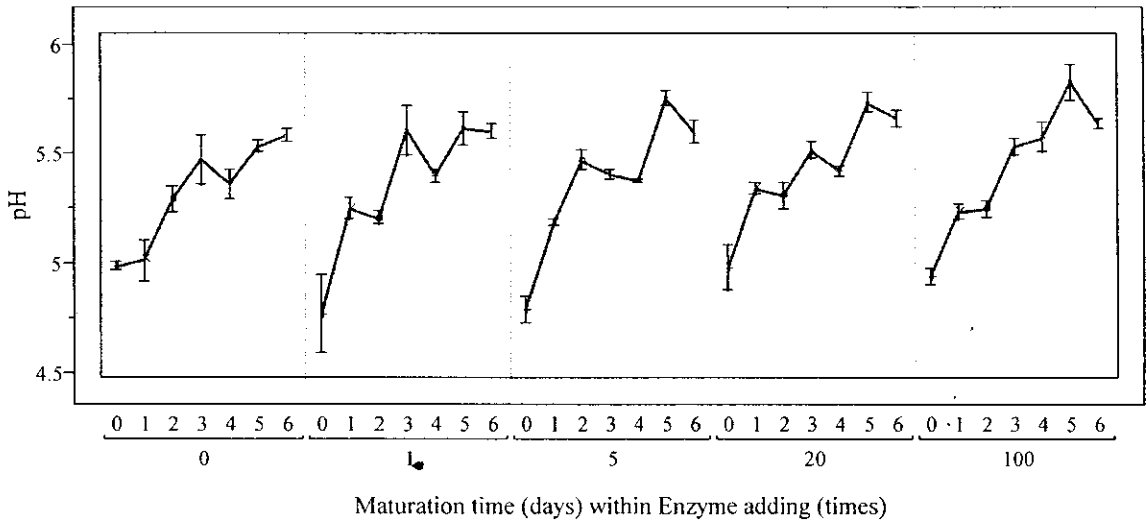
เมื่อทำการบ่มยางก้อนถ้วยที่เตรียมขึ้นจากน้ำยางผสมกับเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลส (Papain Lipase และ Glucosidase) เป็นระยะเวลาต่างๆ โดยเปรียบเทียบทั้งชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เติมต่อสมบัติของยางแสดงดังนี้

3.6.1 ผลของเอนไซม์ ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วย

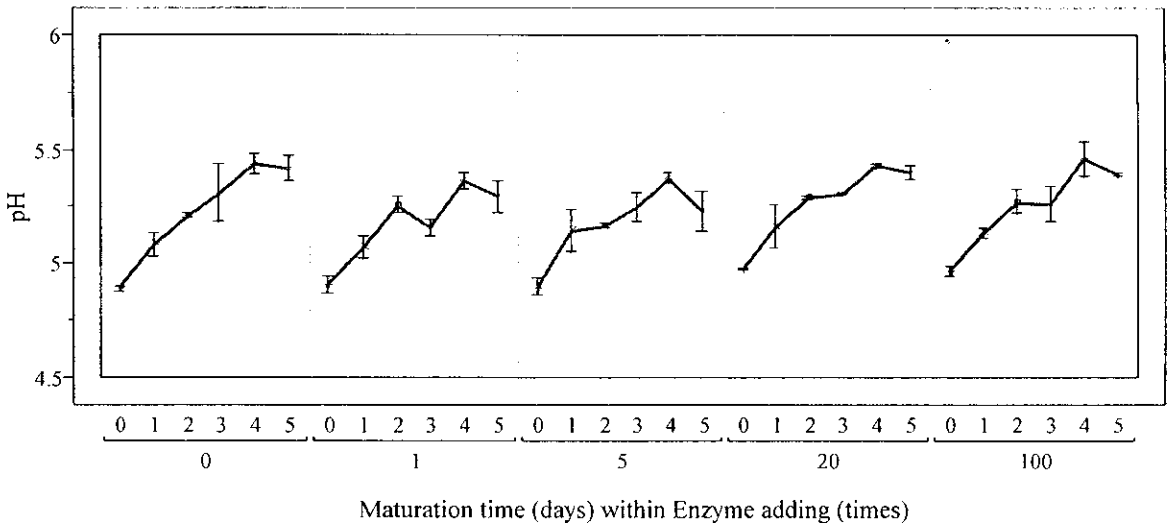
เมื่อทำการทดสอบค่า pH ของยางก้อนถ้วยที่ทำการบ่มเป็นระยะเวลาต่างๆ พบว่า ค่า pH ของยางก้อนถ้วยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม ซึ่งสังเกตว่าเป็นลักษณะเดียวกันทั้งสามชนิดของเอนไซม์ (รูปที่ 24-26) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์พบว่าไม่มีผลให้ค่า pH แตกต่างกัน ยกเว้นที่ค่า pH ของยางก้อนถ้วยที่เติมเอนไซม์ Papain ที่ความเข้มข้น 100 เท่าของความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าสูง เนื่องจากน้ำยางเกิดการจับตัวในขณะที่ทำการผสมเอนไซม์ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการย่อยโปรตีนในน้ำยาง เมื่อโปรตีนซึ่งเป็นตัวรักษาความเสถียรของน้ำยางเกิดการเสื่อมสภาพจึงทำให้น้ำยางเกิดการจับ



รูปที่ 24 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



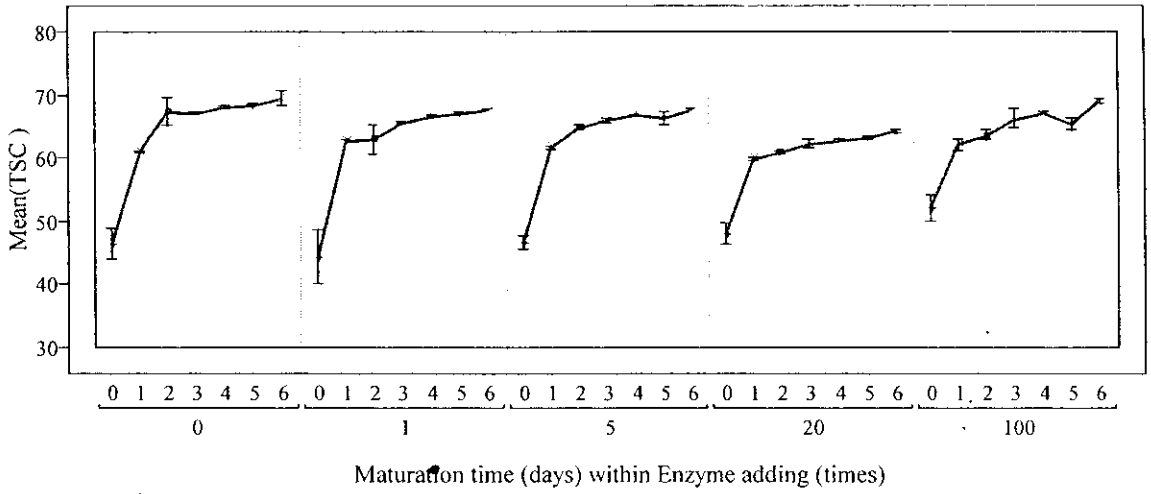
รูปที่ 25 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



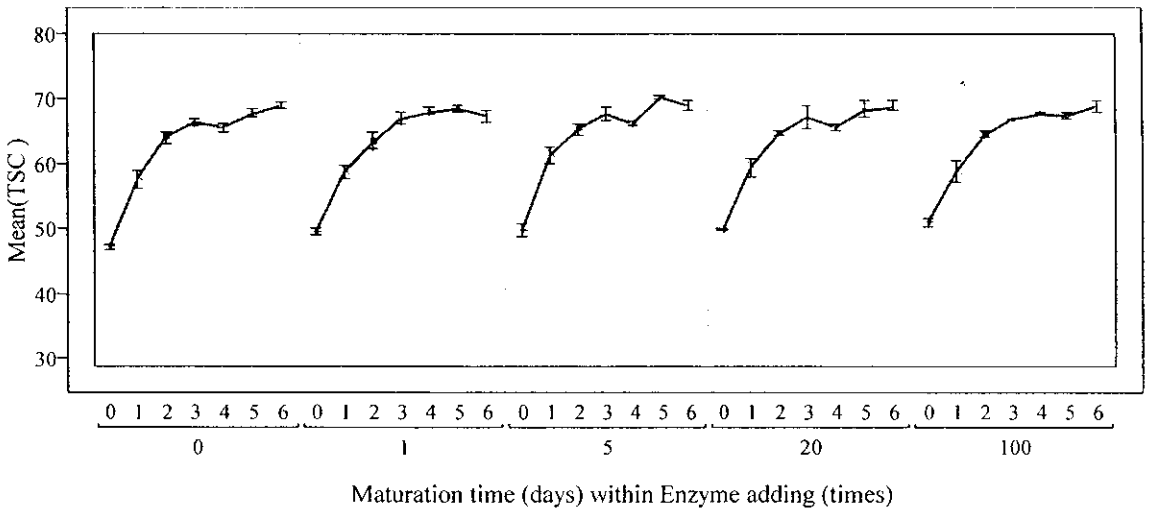
รูปที่ 26 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

3.6.2 ผลของเอนไซม์ ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วย

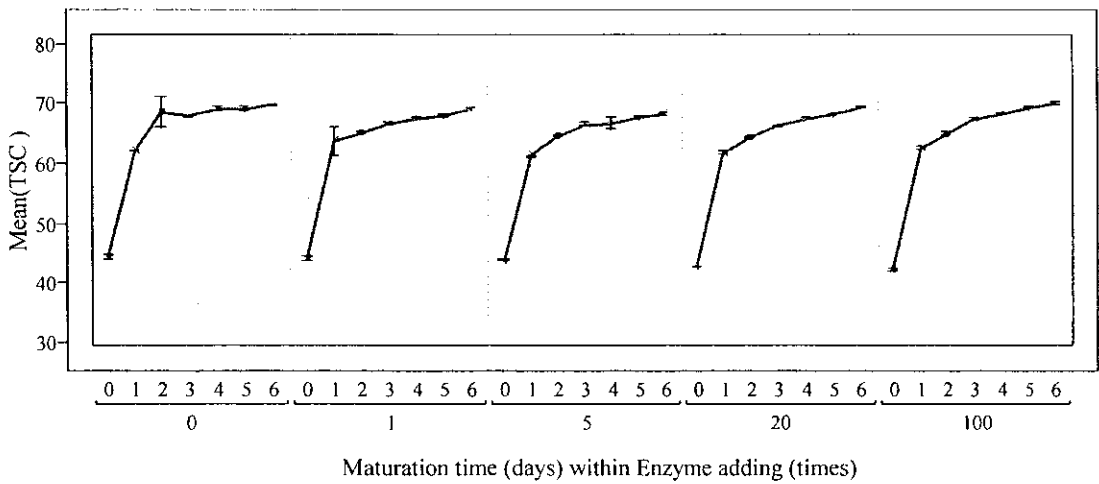
ค่า TSC ของยางก้อนถ้วยมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มซึ่งเป็นลักษณะเดียวกันทั้งสามชนิดเอนไซม์ที่เติมลงในน้ำยาง (รูปที่ 27-29) โดยน้ำยางสดเริ่มต้นก่อนทำการจับตัวเป็นยางก้อนถ้วยมีค่า TSC ประมาณ 40% และได้เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 75-80% (ยางแห้งมากขึ้น) เมื่อทำการบ่มเป็นระยะเวลา 6 วัน พิจารณาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ทั้งสามชนิดต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยพบว่าไม่มีผลทำให้ TSC แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 27 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



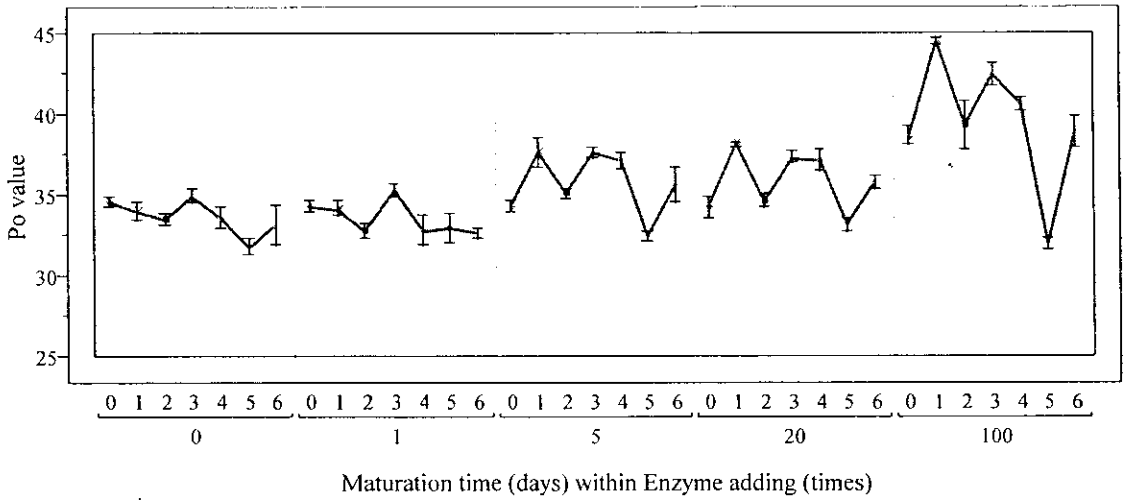
รูปที่ 28 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



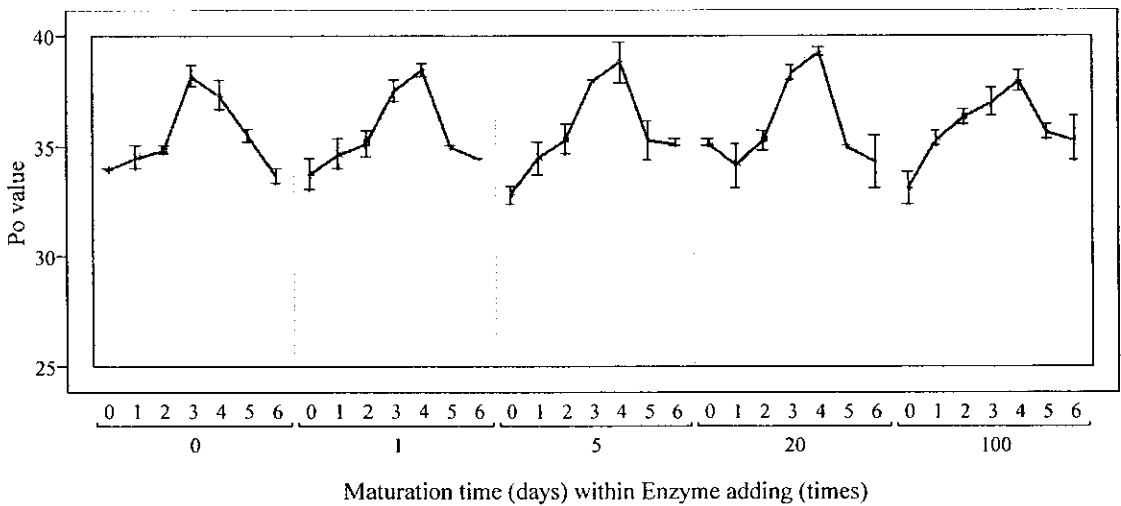
รูปที่ 29 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า TSC ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

3.6.3 ผลของเอนไซม์ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วย

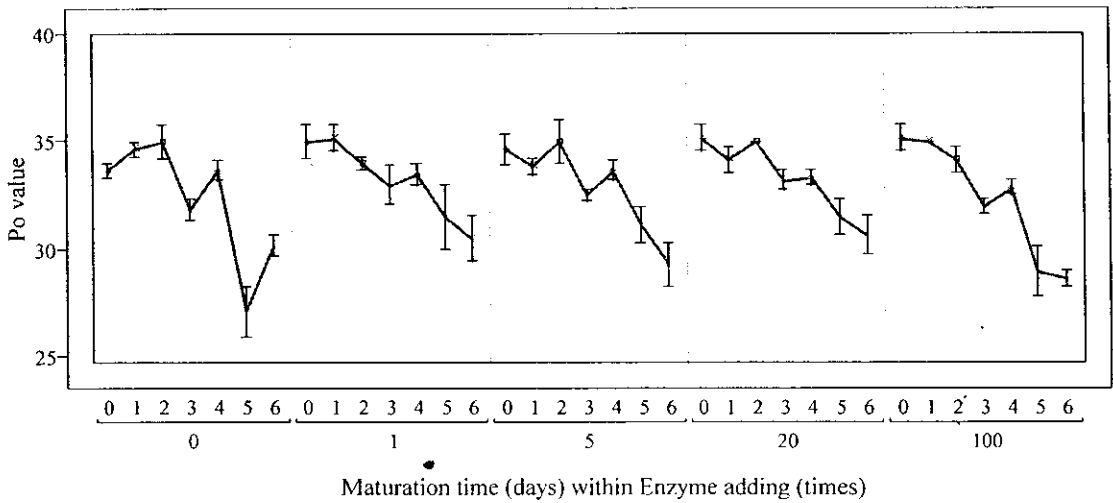
เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ Papain ในน้ำยาง พบว่าส่งผลให้ค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยมีค่าเพิ่มขึ้น P_0 มีค่าอยู่ในช่วง 30-35 เมื่อเติมเอนไซม์ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น และเพิ่มเป็น 35-40 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 5 และ 20 เท่าของความเข้มข้นเริ่มต้น และเพิ่มสูงเป็น 45 ที่ความเข้มข้น 100 เท่าของความเข้มข้นเริ่มต้น (รูปที่ 30-32) ส่วนเอนไซม์ Lipase เมื่อเติมลงในน้ำยางที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า P_0 แต่พบว่า P_0 เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มในช่วง 4 วันแรก และเริ่มลดลงในวันที่ 5 และเอนไซม์ Glucosidase ส่งผลให้ P_0 ลดลงตามระยะเวลาการบ่มซึ่งเป็นลักษณะเดียวกันทุกความเข้มข้น



รูปที่ 30 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



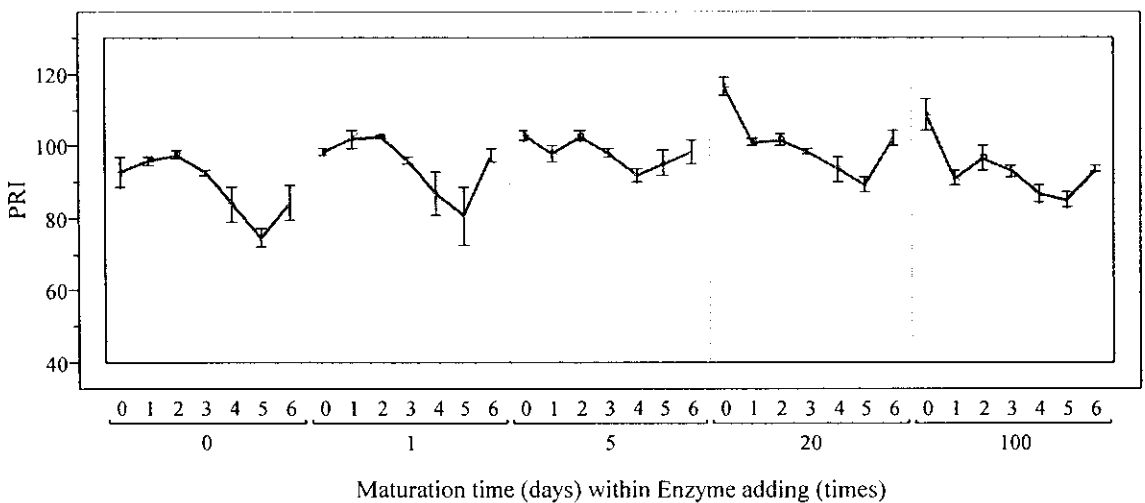
รูปที่ 31 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



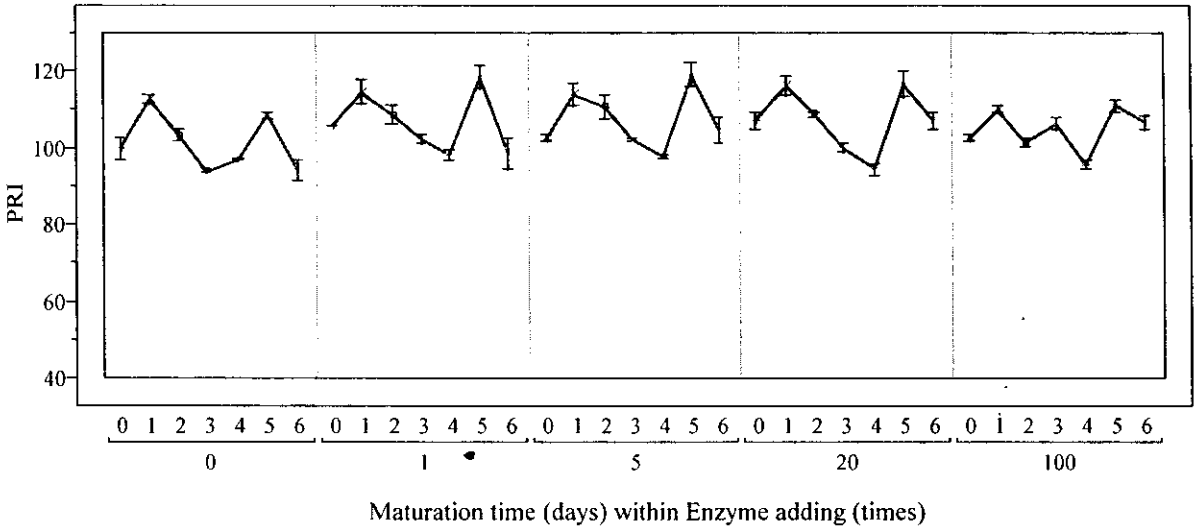
รูปที่ 32 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

3.6.4 ผลของเอนไซม์ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วย

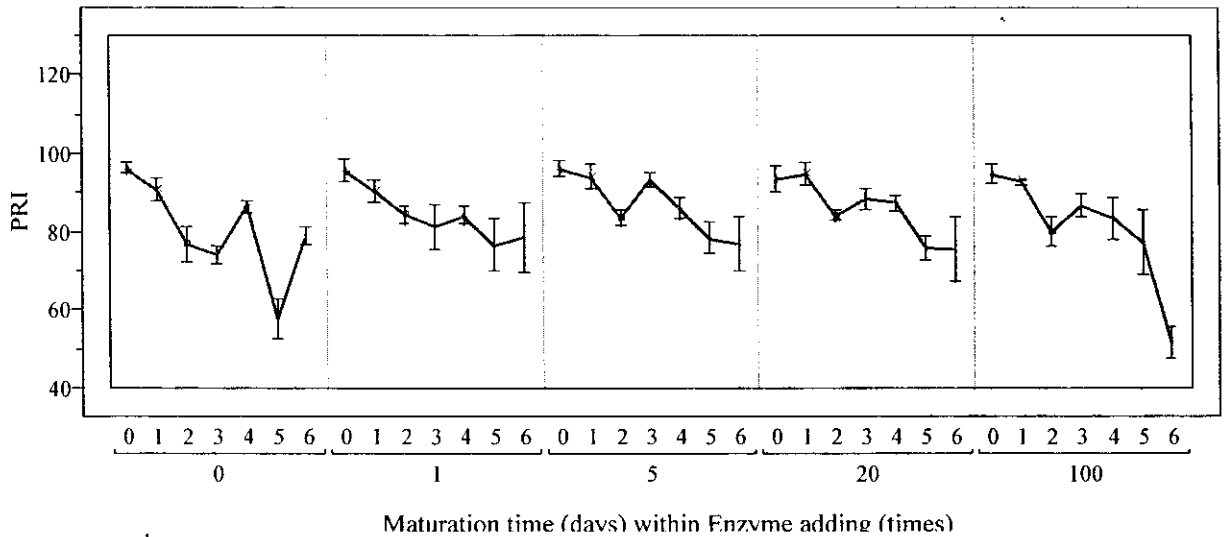
เมื่อเปรียบเทียบค่า PRI ของยางก้อนถ้วยที่ทำการเติมเอนไซม์แต่ละชนิด พบว่า แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่า PRI ตามระยะเวลาการบ่มมีความแตกต่างกัน (รูปที่ 33-35) นั่นคือ PRI ของยางก้อนถ้วยที่บ่มด้วยเอนไซม์ Papain มีค่าสูงสุดในวันแรกของการบ่มและลดลงเรื่อยๆ และปรับเพิ่มขึ้นเมื่อบ่มถึงวันที่ 5 ในขณะที่ค่า PRI ของยางที่บ่มกับเอนไซม์ Lipase จะแกว่งไม่มีแนวโน้มชัดเจน แต่พบว่ามีค่าสูงกว่า 100 ส่วนค่า PRI ของยางก้อนถ้วยที่เติมเอนไซม์ Glucosidase จะลดลงตามระยะเวลาการบ่ม แสดงให้เห็นว่าตัวผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด อาจส่งผลให้ยางเกิดการเชื่อมโยงหรือการขาดออกจากกันของสายโซ่โมเลกุลในขณะที่ได้รับความร้อน



รูปที่ 33 ผลของเอนไซม์ Papain ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



รูปที่ 34 ผลของเอนไซม์ Lipase ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



รูปที่ 35 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ต่อค่า PRI ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

3.7 ผลของจุลินทรีย์ในน้ำยางต่อสมบัติยางก้อนถ้วย

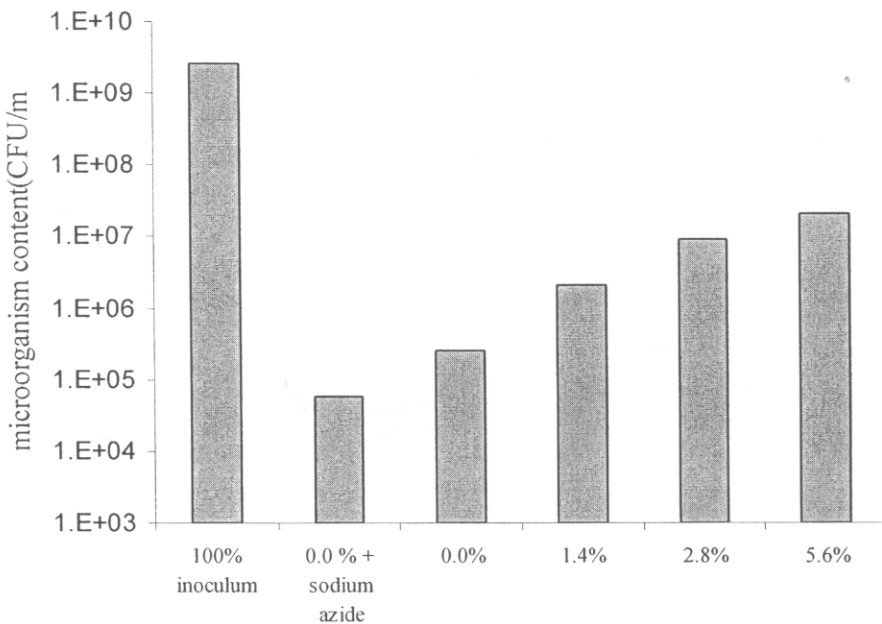
ในการทดลองนี้ได้ทำการเติมน้ำเชื้อหมัก (กลุ่มจุลินทรีย์) ลงในน้ำยาง จากนั้นทำการนับเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาง ก่อนทำการจับตัวเป็นยางก้อนถ้วย และที่เวลาการบ่ม 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วันได้ทำการทดสอบสมบัติของยางก้อนถ้วย โดยมีสมบัติที่ทำการทดสอบคือ ค่า pH, TSC, P_0 และ PRI ซึ่งแสดงดังต่อไปนี้

3.7.1 ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยาง

น้ำยางที่ได้เติมเชื้อหมักในปริมาณต่าง ๆ กัน มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ทำการนับโดยใช้ PCA เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แสดงในตารางที่ 11 พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเติมเชื้อหมักต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่นับได้ดังแสดงในรูปที่ 36

ตารางที่ 11 ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางก่อนนำมาจับตัว

Sample	Average	SD	CV (%)
100 % เซรัม	2.56×10^8	3.41×10^7	13.2
CL + sodium azide (A)	5.91×10^4	5.90×10^3	10.0
CL (B)	2.56×10^5	3.03×10^4	11.8
CL + 1.4% เซรัม (C)	2.08×10^6	3.80×10^5	18.3
CL + 2.8% เซรัม (D)	8.98×10^6	4.93×10^5	5.5
CL + 5.6% เซรัม (E)	2.04×10^7	1.64×10^6	8.0



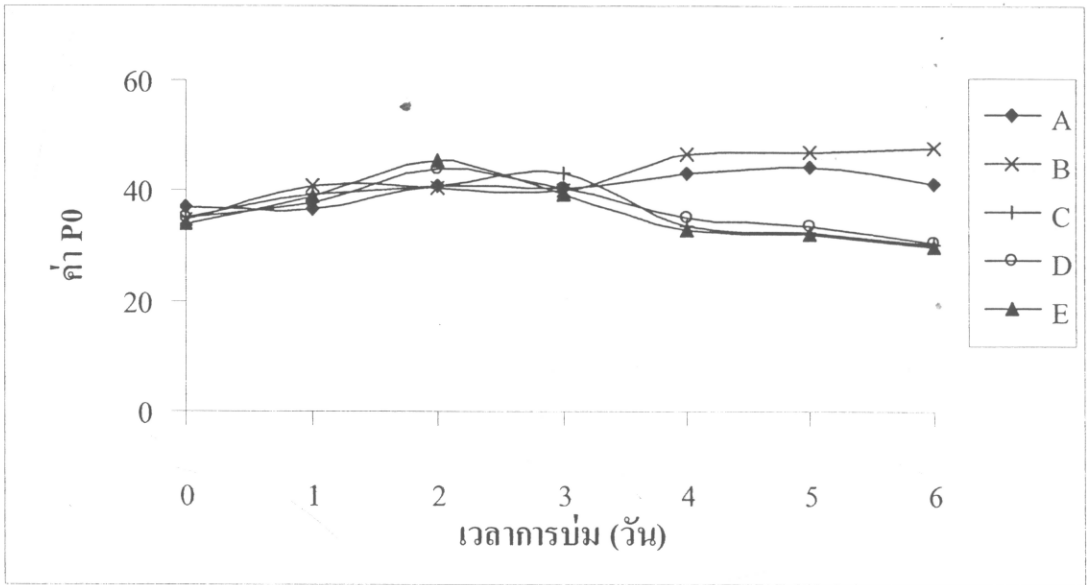
รูปที่ 36 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเติมเซรัมในน้ำยางต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่นับได้

จากรูปที่ 36 พบว่า น้ำยางสะอาดที่ได้จากการกรีดแบบควบคุม (ปลอดเชื้อ) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 2.56×10^5 CFU/ml (ตัวอย่าง A) และจุลินทรีย์เริ่มต้นของน้ำเซรัมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.56×10^8 CFU/ml (ตัวอย่างเซรัม) เมื่อเติมเซรัมลงในน้ำยางในสัดส่วน 1.4% พบว่าจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 2.08×10^6 CFU/ml (ตัวอย่าง C) เมื่อเพิ่มสัดส่วนการเติมเซรัมลงในน้ำยางเป็น 2.8% พบว่าจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 8.98×10^6 CFU/m (ตัวอย่าง D) และเมื่อเพิ่มสัดส่วนเป็น 5.6% พบว่าจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 2.04×10^7 CFU/m (ตัวอย่าง E) แสดงว่าปริมาณเซรัมมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์

3.7.2 ผลของปริมาณจุลินทรีย์ต่อค่า P_0

รูปที่ 37 แสดงอิทธิพลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยาง ที่มีต่อค่าดัชนีความอ่อนตัวเริ่มต้น (P_0) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม ค่าความยืดหยุ่นเริ่มต้นของยางก้อนในวันแรกมี

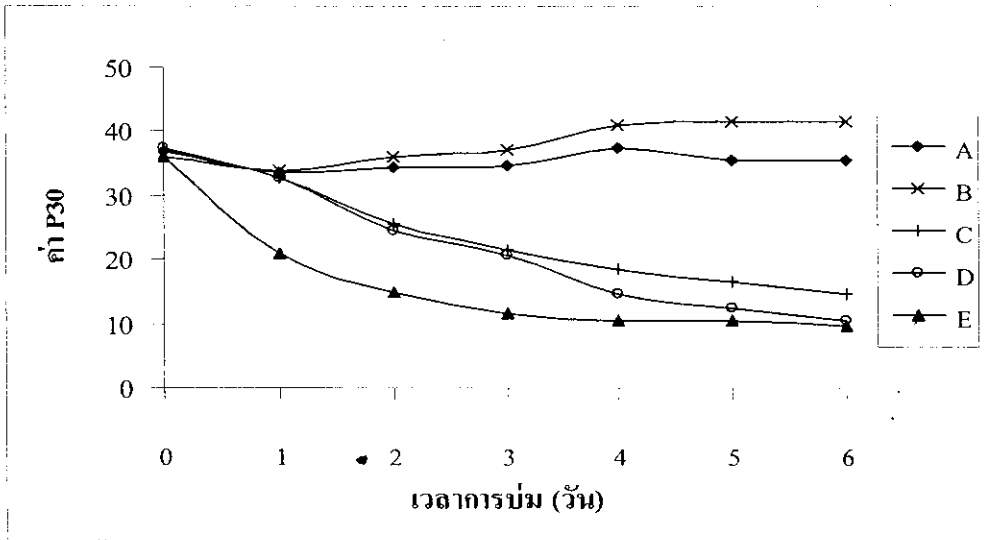
ค่าเฉลี่ย 36 และเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น พบว่า ค่าดัชนีความอ่อนตัวเริ่มต้น (P_0) ของยางก้อนถ้วยที่มีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำ (A และ B) จะมีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ยางก้อนถ้วยที่มีปริมาณเชื้อสูง (C, D และ E) จะมีค่า (P_0) ต่ำลง เมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยางส่งผลให้ค่าความยืดหยุ่นของยางลดลง อาจเป็นไปได้ว่า ในระหว่างช่วงระยะเวลาการบ่ม ส่งผลให้เกิดการย่อยองค์ประกอบต่างๆ ภายในยางที่เกิดจากผลของจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลทำให้ยางมีสมบัติที่เปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อค่า (P_0) ต่ำลง



รูปที่ 37 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่าดัชนีความอ่อนตัวเริ่มต้น (P_0) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

3.7.3 ผลของปริมาณจุลินทรีย์ต่อค่า P_{30}

รูปที่ 38 แสดงอิทธิพลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยาง ที่มีต่อค่าดัชนีความอ่อนตัวหลังการบ่มเร่ง (P_{30}) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม ค่าดัชนีความอ่อนตัวหลังการบ่มเร่ง (P_{30}) ในวันแรกมีค่าเฉลี่ย 37.5 และเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นพบว่า ดัชนีความอ่อนตัวหลังการบ่มเร่ง (P_{30}) ของยางก้อนถ้วยที่มีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำ (A และ B) จะมีค่าค่อนข้างคงที่ ในขณะที่ยางก้อนถ้วยที่มีปริมาณเชื้อสูง (C, D และ E) จะมีค่าต่ำลงเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อสูงสุด (E) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยางส่งผลให้ค่าดัชนีความอ่อนตัวหลังการบ่มเร่ง (P_{30}) ของยางลดลง อาจเป็นไปได้ว่าในระหว่างช่วงระยะเวลาการบ่มส่งผลให้เกิดการย่อยองค์ประกอบต่างๆ ภายในยางของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถกระตุ้นกลุ่มโลหะบางชนิด เช่น ทองแดงให้เกิดการส่งเสริมให้เกิดการออกซิเดชันได้และเมื่อนำไปอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นผลให้ยางมีความสามารถในการต้านทานต่อการออกซิเดชันลดต่ำลง



รูปที่ 38 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่าดัชนีความอ่อนหลังการบ่มเร่ง (P_{30}) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

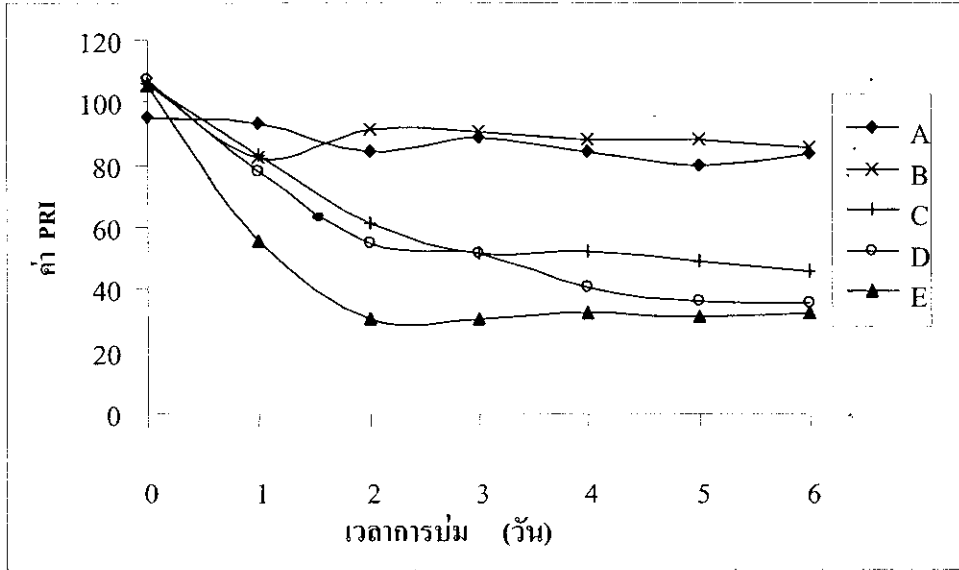
3.7.4 ผลของปริมาณจุลินทรีย์ต่อค่า PRI

รูปที่ 39 แสดงอิทธิพลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยาง ที่มีต่อค่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม ค่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ในวันแรกของยางที่มีการเติมจุลินทรีย์มีค่าสูงอยู่ในช่วง 100-107 และเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น พบว่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ของยางก้อนถ้วยมีแนวโน้มลดลง ตัวอย่าง (A และ B) จะมีค่าที่ต่ำลงเล็กน้อย เนื่องจากมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์น้อยเพระได้เติมสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง A และ B ที่ได้จากการกรีดในระบบควบคุม ในขณะที่ยางก้อนถ้วยที่มีปริมาณเชื้อสูง (C, D และ E) จะมีค่าต่ำลงมากเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อสูงสุด (E) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยางมาก ส่งผลให้ยางมีค่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ต่ำลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่นที่มีปริมาณจุลินทรีย์ที่น้อยกว่า เป็นได้ว่าปริมาณจุลินทรีย์มีผลต่อยางก้อนถ้วยที่ส่งผลให้ค่าความสามารถในการต้านทานต่อการถูกออกซิเดชันลดลง อาจเป็นไปได้ว่าในระหว่างช่วงระยะเวลาการบ่มส่งผลให้เกิดการย่อยองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในยาง ซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถของสารป้องกันการเสื่อมที่มีอยู่ตามธรรมชาติมีประสิทธิภาพลดลง หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการออกซิเดชันได้ดียิ่งขึ้น

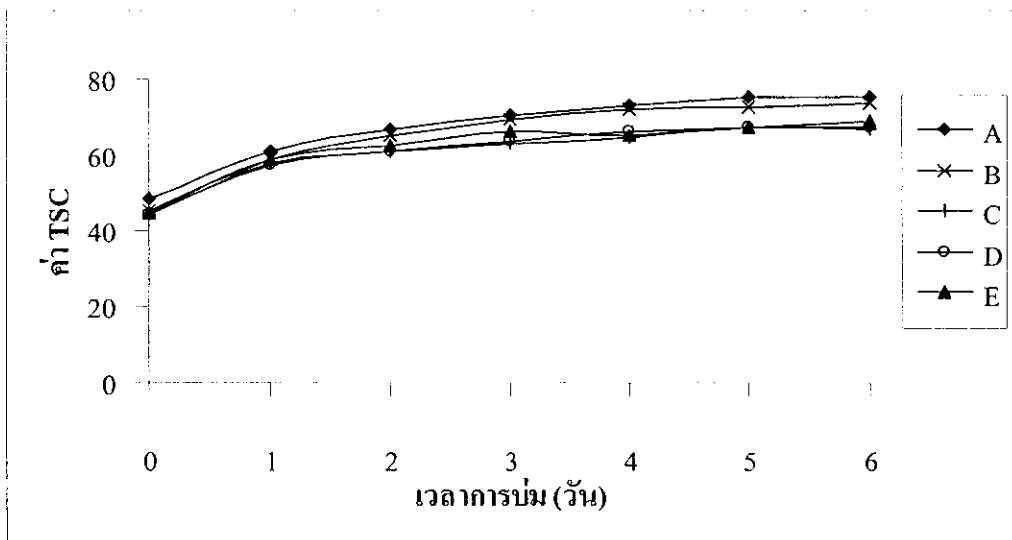
3.7.5 ผลของปริมาณจุลินทรีย์ต่อค่า เปอร์เซ็นต์ TSC

รูปที่ 40 แสดงอิทธิพลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยาง ที่มีต่อปริมาณของแข็ง (TSC) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม เปอร์เซ็นต์ TSC ของตัวอย่างยางเริ่มต้นเฉลี่ย 47.0% และเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นค่าเปอร์เซ็นต์ TSC ของยางก้อนถ้วยของตัวอย่างที่มีปริมาณจุลินทรีย์ต่างกัน (A,

B, C, D และ E) จะมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าใกล้เคียงกันเนื่องจากในการทดลองได้ใช้กรดในการจับตัวและระยะเวลาการจับตัวของตัวอย่างเท่ากัน เพื่อควบคุมกระบวนการจับตัวของยางก้อนถ้วยในทุกตัวอย่าง และพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ TSC ของตัวอย่างเฉลี่ย 75 ที่ระยะเวลาการบ่ม 6 วันภายใต้สภาวะกล่องปิด



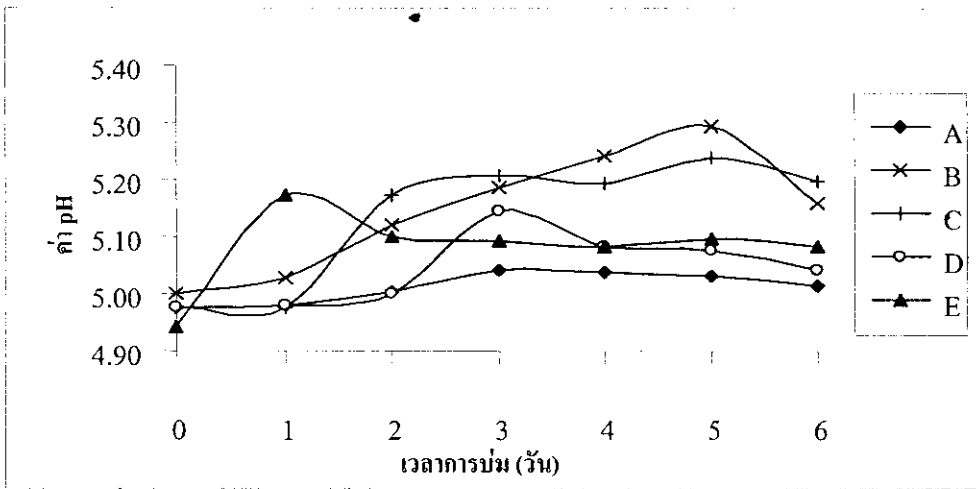
รูปที่ 39 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่าดัชนีความอ่อนตัว (PRI) ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม



รูปที่ 40 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อ เปอร์เซนต์ TSC ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

3.7.6 ผลของปริมาณจุลินทรีย์ต่อค่า pH

อิทธิพลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม แสดงในรูปที่ 41 ค่า pH ของตัวอย่างอย่างเริ่มต้นเฉลี่ย 4.9 และเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า pH ของยางที่ไม่เติม Sodium azide (B C D และ E) จะให้ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 5.1-5.2 เมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นแสดงว่าจุลินทรีย์มีผลต่อค่า pH เพราะจะไปย่อยส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนและปล่อยสารกลุ่ม แอมโมเนียออกมา ทำให้ค่า pH ของยางก้อนถ้วยเพิ่มขึ้น ส่วนตัวอย่างที่เติม Sodium azide ค่า pH จะมีปริมาณคงที่หรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากมีการย่อยส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนของยางโดยจุลินทรีย์ที่น้อยกว่า

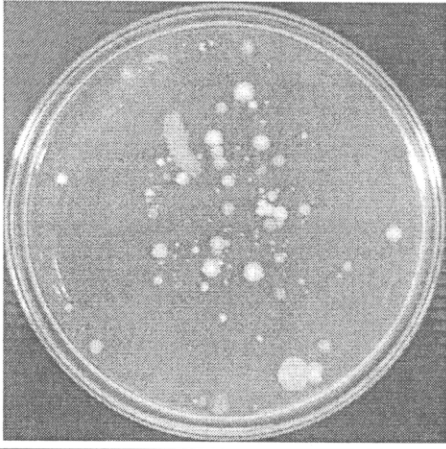


รูปที่ 41 ผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางต่อค่า pH ของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่ม

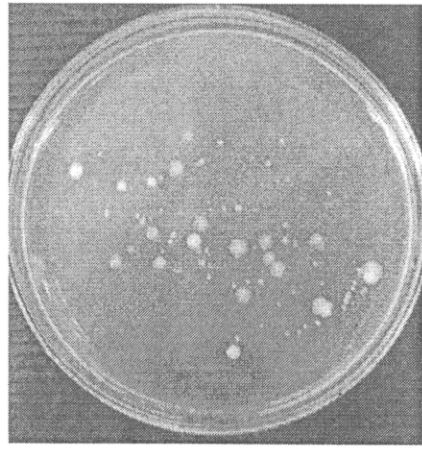
3.8 การวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างอินนอกคิวลัม

ในการศึกษาผลของปริมาณของจุลินทรีย์ในน้ำยางต่อสมบัติของยางแห้ง ได้ทำการเตรียมตัวอย่างที่ทราบปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางก่อนทำการจับจับตัวเป็นยางก้อนถ้วย โดยการเติมอินนอกคิวลัมที่ได้มาจากการเก็บตัวอย่างน้ำเซรัมของยางก้อนถ้วยที่เกิดการจับตัวตามธรรมชาติ จากผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำยางที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ยางมีสมบัติความต้านทานต่อการเกิดออกซิเดชันลดลง ซึ่งในการทดลองส่วนนี้ได้ทำการวิเคราะห์กลุ่มจุลินทรีย์ โดยการนับจำนวนและการแยกชนิดของแต่ละไอโซเลทในอินนอกคิวลัมตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์การสร้างเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลสของจุลินทรีย์

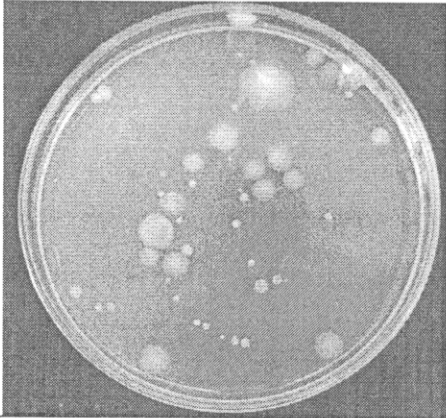
จากการวิเคราะห์กลุ่มจุลินทรีย์ในอินนอกคิวลัม โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะสำหรับคัดแยกเชื้อแต่ละกลุ่ม พบว่า มีกลุ่มจุลินทรีย์ทั้งประเภทที่เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic condition) และไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียแกรม (Anaerobic condition) ยีสต์ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และกลุ่มของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซึ่งลักษณะของโคโลนีของแต่ละกลุ่มของจุลินทรีย์แสดงในรูปที่ 42



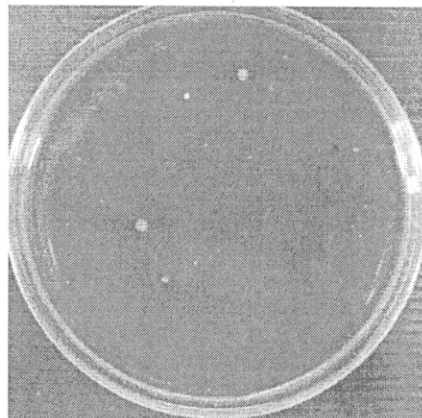
Total anaerobe on PCA agar



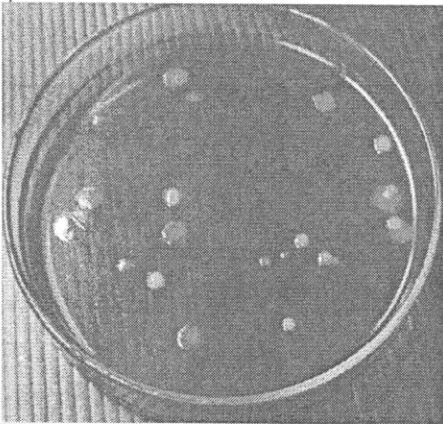
Total aerobe on PCA agar



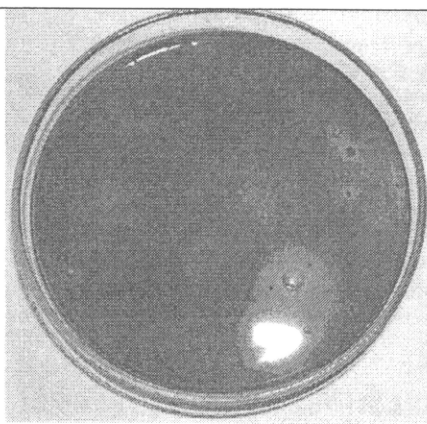
Yeasts and Moulds on MEA agar



Gram positive bacteria on MSA



Gram negative bacteria on MAC



Lactic acid bacteria on MRS

รูปที่ 42 ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่พบในตัวอย่างอินนอคิวลัม

จากการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณของจุลินทรีย์ที่บ่มภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศเท่ากับ $1.07 \times 10^9 \pm 0.47 \times 10^9$ CFU/ml สภาวะที่มีอากาศเท่ากับ $8.65 \times 10^8 \pm 1.8 \times 10^8$ CFU/ml. และจำนวนยีส แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และแลคติกแอซิดแบคทีเรียเท่ากับ $4.23 \times 10^8 \pm 0.02 \times 10^8$ CFU/ml,

$3.22 \times 10^8 \pm 0.07 \times 10^8$ CFU/ml, $4.1 \times 10^7 \pm 0.47 \times 10^7$ CFU/ml และ $8.5 \times 10^7 \pm 0.28 \times 10^7$ CFU/ml ตามลำดับ

นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ไอโซเลทของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ ในตัวอย่างอินนอคิวลัม โดยทำการเลี้ยงบนอาหาร PCA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการแยกเลี้ยงแต่ละโคโลนิบนอาหาร PCA อีกครั้งก่อนทำการวิเคราะห์ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ โดยแต่ละไอโซเลทที่แยกได้จะถูกวิเคราะห์โดยวิธีการทางชีวเคมี ซึ่งได้ส่งไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ของคณะแพทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ พบชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างอินนอคิวลัมดังแสดงไว้ในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 กลุ่มของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างอินนอคิวลัม

ลำดับ	ชนิดของการย้อมสีแกรม	ลักษณะของเซลล์	Genus, species
1	+	Rod	<i>Bacillus sp.</i>
2	-	Rod	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	-	Rod	<i>Acinetobacter sp.</i>
4	-	Rod	<i>Enterobacter cloacae</i>
5	-	Rod	<i>Klebsiella oxytoca</i>
6	-	Rod	<i>Citrobacter freundii</i>
7	+	Cocci	<i>γ-Streptococcus sp.</i>
8	-	Rod	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
9	-	Rod	<i>Escherichia coli</i>
10	+	Cocci	<i>Staphylococcus</i>
11	+	Rod	<i>Enterococci</i>
12	+	Rod	<i>Sphingobacterium spp.</i>

จากการวิเคราะห์พบว่า จำนวนแบคทีเรีย 12 ชนิดที่เจริญเติบโตในตัวอย่างอินนอคิวลัม ซึ่งกลุ่มที่พบเป็นจำนวนมากคือ *Enterobacteriaceae* มีลักษณะเป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดแท่ง นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 5 ไอโซเลท พบว่ามีสี่กลุ่มของแบคทีเรีย คือ *Lactobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* และ *Bacillaceae*

ผลการทดลองที่ได้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลของ Taysum, 1975 [11] ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์กลุ่มจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำยางธรรมชาติ พบว่ามีทั้งกลุ่มของ *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Microbacterium*, *Bacillus* *Micrococcus*, *Corynebacterium* และ *Flavobacter* ที่สามารถเจริญเติบโตได้ นอกเหนือจากนี้จากการศึกษาโดย Boonsatit และ คณะ, 2008 [12] สรุปชนิดของแบคทีเรียที่พบในน้ำยางธรรมชาติหลังจากการเก็บไว้เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เช่น *B. coagulans*,

Burkholderia cepacia, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Serratia ficaria*, *B. amyloliquefaciens*, *Brevibacillus brevis* และ *Enterobacter aerogenes* ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นเหม็นในน้ำยางเมื่อผ่านการเก็บไว้ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่พบในตัวอย่างอินนอคิวลัม อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสมบัติของยางก้อนถ้วยในระหว่างระยะเวลาของการจับตัวของยางและการเก็บยางตัวอย่างไว้ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการแปรรูป

3.9. ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไฮโดรเลสจากจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในอินนอคิวลัม

ได้ทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ไฮโดรเลสของจุลินทรีย์ ที่แยกได้จากตัวอย่างอินนอคิวลัม โดยการทดสอบการสร้างวงใส (clear zone) ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดบนอาหารเฉพาะที่จำเพาะเจาะจงกับอาหารของการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด ซึ่งได้ทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ 3 ชนิดคือ เอนไซม์โปรตีเอส เอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส จากการทดสอบผลการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ทั้ง 16 ชนิด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า จำนวน 15 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส จำนวน 8 ไอโซเลท สร้างเอนไซม์โปรตีเอส และจำนวน 6 ไอโซเลท สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปส เมื่อพิจารณาแต่ละไอโซเลทพบว่า *Enterobacter cloacae* บางไอโซเลทไม่มีการสร้างเอนไซม์ไฮโดรเลสทั้งสามชนิด ในช่วงระยะเวลาการบ่มเป็นเวลา 96 ชั่วโมงในสภาวะที่ได้ทำการทดสอบ และยังสามารถได้ว่า *K. oxytoca* และ *P. alcaligenes* สามารถสร้างเอนไซม์ทั้งสามตัวได้ในเฉพาะสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น ในขณะที่ *Bacillus spp.*, *K. pneumoniae* และบางไอโซเลท ของ *E. cloacae* สามารถผลิต ฟอสโฟไลเปสได้ในเฉพาะในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

3.10 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลสของจุลินทรีย์จากน้ำเซรัม (Inoculum)

น้ำเซรัมที่ได้จากการทิ้งให้น้ำยางเกิดการจับตัวโดยวิธีธรรมชาติ เป็นผลที่จุลินทรีย์สามารถเข้าไปย่อยองค์ประกอบภายในน้ำยางและปล่อยกรดออกมา ทำให้น้ำยางเกิดการจับตัวและแยกออกจากส่วนที่เป็นเซรัม ในการทดลองนี้ได้นำน้ำเซรัมมาทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์

3.10.1 ผลการทดสอบการสร้าง Lipase Protease และ phospholipase ของจุลินทรีย์

จากผลการแยกจุลินทรีย์จากน้ำเซรัมพบว่า มีจำนวน 16 โคโลนี ที่สามารถแยกได้จากตัวอย่างน้ำเซรัม โดยกำหนดให้เป็น A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3, D1, D2, D3, D4, E1, E2 และ I1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 13 และนำโคโลนีมาทดสอบการย่อยโปรตีน ลิปิด และฟอสโฟลิปิด

จากการทดลองพบว่าจุลินทรีย์มีผลต่อสมบัติของยางก้อนถ้วย ดังนั้น จึงได้นำเซรัมของน้ำยางมาแยกเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อนำไปทดสอบหาการสร้างเอนไซม์ไฮโดรเลส เนื่องจากว่าในส่วนประกอบของน้ำยางที่เป็นโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต จะเป็นอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ โดยนำเซรัมมาแยกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ๆ ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารเฉพาะ จากนั้นทำการบันทึกการสร้างเคลียร์โซนของแต่ละโคโลนี ตามระยะเวลาการบ่ม

เชื้อจุลินทรีย์เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ๆ ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารเฉพาะ จากนั้นทำการบันทึกการสร้างเคลียร์โซนของแต่ละโคโลนี ตามระยะเวลาการบ่ม

ตารางที่ 13 การสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์จากยางก้อนถ้วย

Time	24 h						48 h						72 h						96 h									
	Lip.		Prot.		Phospo.		Lip.		Prot.		Phospo.		Lip.		Prot.		Phospo.		Lip.		Prot.		Phospo.					
± O ₂	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
A1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
A3	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+
B1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
B2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
C2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
C3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
D1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
D2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
D4	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+
E1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
E2	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
L1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ คำอธิบายอักษรย่อในตารางที่ 13 มีดังนี้

- Time = incubation time
- Lip. = lipase
- Prot. = protease
- Phospo. = phospolipase
- ±O₂ = with/without oxygen
- = no clear zone
- +

จากการทดลองพบว่าสามารถแยกจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะต่างกันได้ทั้งหมด 16 โคโลนี และพบว่าจำนวน 14 โคโลนี สามารถสร้างเคลียร์โซนในขณะที่ จำนวน 2 โคโลนี ไม่แสดงการสร้างเคลียร์โซนได้เลย สรุปได้ว่าโคโลนีที่สร้างโปรตีนเอสเอ็มทั้งหมด 7 โคโลนี โคโลนีที่สร้างไลเปสเอ็มทั้งหมด 3 โคโลนี และโคโลนีที่สร้างฟอสโฟไลเปสเอ็มทั้งหมด 10 โคโลนี จำนวนโคโลนีที่สามารถย่อยได้ 2 ชนิดมีทั้งหมด 3 โคโลนี และพบว่าสามารถย่อยได้ทั้งสามชนิด 1 โคโลนี มีจำนวนโคโลนีที่สามารถสร้างเคลียร์โซนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนมากกว่ามีออกซิเจน คือ โคโลนี A2 และ D3

3.10.2 ผลการทดสอบการสร้าง Invertase ของจุลินทรีย์

จากองค์ประกอบน้ำยาล้างพบว่าปริมาณซูโครส ซึ่งเป็นตัวตั้งต้นสำคัญในการสร้างโมเลกุลของ ยาง และยังเป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์อีกด้วย ดังนั้นจึงได้มีการทดสอบการย่อยซูโครสในน้ำยาล้างของโคโลนี A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3, D1, D2, D3, D4, E1, E2 และ I1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 14 พบว่าจากทั้งหมด 16 โคโลนี มีจำนวน 3 โคโลนีที่แสดงผลเป็นลบต่อการทดสอบการย่อยซูโครส

ตารางที่ 14 ผลการย่อยซูโครสของจุลินทรีย์จากเซรัม

Colony	Invertase	
	O+	O-
A1	+	+
A2	+	+
A3	+	+
B1	-	-
B2	+	+
B3	+	+
C1	-	-
C2	+	+
C3	+	+
D1	+	+
D2	+	+
D3	+	+
D4	+	+
E1	+	+
E2	+	+
I1	-	-

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

1. สมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันภายในก้อนยางก้อนถ้วย

P_0 และ PRI ของยางก้อนถ้วยส่วนนอกและส่วนในไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่า TSC และค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของค่า pH ระหว่างยางด้านนอกและยางส่วนในของก้อนยางในช่วงการบ่ม 4-15 วัน แต่เริ่มมีความแตกต่างกันหลังจากการบ่ม 15 วัน

2. สมบัติของยางก้อนถ้วยและสภาวะการบ่มภายในกองยางก้อนถ้วยในโรงงานผลิตยางแท่ง

2.1 สภาวะการบ่มตามระยะเวลาการบ่มและระดับความลึกของกองยางก้อนถ้วย

เมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นพบว่าสภาวะการบ่มไม่แตกต่างจากในวันเริ่มต้น และที่ระดับความลึกของกองยางเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิเพิ่มขึ้น (50% ถึง 95% และ 26 - 42 องศาเซลเซียส) ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนลดลง (20% ลดลงที่ 0-5%)

2.2 การเปลี่ยนแปลงสมบัติของยางก้อนถ้วยตามระยะเวลาการบ่มและระดับความลึกของกองยางก้อนถ้วย

เมื่อระยะเวลาการบ่มและระดับความลึกของกองยางเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า pH ของยางก้อนถ้วยลดลง แต่พบว่ายางก้อนถ้วยสมบัติความต้านทานต่อการถูกออกซิเดชันเพิ่มขึ้น (ค่า P_0 และ PRI)

3. ผลของสภาวะที่ใช้ในการบดและอบยางก้อนถ้วยต่อสมบัติของยาง

3.1 ค่า P_0 และ PRI ของตัวอย่างยางที่ทำการแปรรูปตามกระบวนการผลิตในโรงงานมีค่าเท่ากับ 40.5 และ 18.5% ตามลำดับ

3.2 สภาวะการบดและอบยางก้อนถ้วยในห้องปฏิบัติการที่สามารถควบคุมสมบัติให้มีค่าในระดับเดียวกับระบบที่ใช้ในโรงงานได้นั้น พบว่าต้องทำการบดผ่านชุดบดขนาดเล็กที่สร้างขึ้นในห้องทดลองเป็นจำนวน 16 ครั้ง และต้องใช้อุณหภูมิในการอบที่ 125 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4. ผลการทดสอบการใช้งานชุดควบคุมสภาวะการบ่มในห้องปฏิบัติการ

4.1 ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในชุดบ่มในห้องปฏิบัติการสามารถควบคุมได้ในระดับตั้งแต่ 10%-90% โดยแปรอัตราเร็วการไหลผสมของอากาศแห้ง และอากาศชื้น ควบคุมด้วยอุปกรณ์วัดอัตราการไหลของลม

4.2 ปริมาณออกซิเจนในชุดบ่มในห้องปฏิบัติการสามารถควบคุมได้ตั้งแต่ 0-21% โดยใช้การผสมกันของอากาศและก๊าซไนโตรเจน

4.3 อุณหภูมิของชุดบ่มสามารถควบคุมได้โดยใช้อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิในระบบปิด โดยใช้การไหลวนของน้ำผ่านชุดบ่ม พบว่าอุณหภูมิในระบบมีความแปรปรวนประมาณ 1%

5. ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย

5.1 ทำการวิเคราะห์ 15 ตัวอย่าง ตามระยะเวลาการบ่ม คือ 3 วัน, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม แต่เมื่อบ่มไปเป็นเวลา 2 สัปดาห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มลดลง และปริมาณความชื้นในยางก้อนถ้วยลดลง

5.2 ผลการทดสอบชนิดแกรมของจุลินทรีย์ในยางก้อนถ้วย พบว่ามีทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ จุลินทรีย์ในเซรัมของยางก้อนถ้วยสามารถสร้างกรดในน้ำยางและสามารถเกิดการหมักน้ำตาล และยังพบชนิดที่เป็น Lactic Streptococci ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหาร M17

6. ผลของเอนไซม์ไฮโดรเลสต่อสมบัติยางก้อนถ้วย

6.1 ผลของเอนไซม์ Protease พบว่า ค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ ในขณะที่ค่า PRI ลดลงตามระยะเวลาการบ่ม แต่ความเข้มข้นไม่มีผลต่อค่า PRI ส่วนค่า pH เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น

6.2 ผลของเอนไซม์ Lipase พบว่าค่า P_0 เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มโดยไม่มีผลแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ต่างกัน ค่า PRI ลดลงตามระยะเวลาการบ่มแต่ความเข้มข้นไม่มีผลต่อค่า pH เพิ่มขึ้นระยะเวลาการบ่ม (pH 4.9- 5.7)

6.3 ผลของเอนไซม์ Glucosidase ส่งผลให้ค่า P_0 ของยางก้อนถ้วยลดลงตามระยะเวลาการบ่ม (36 to 26) PRI ลดลงตามวันการบ่มแต่ความเข้มข้นไม่มีผลมากนัก ค่า pH เพิ่มขึ้นตามวัน (4.9-5.6)

6.4 การเปลี่ยนแปลงของค่า TSC ของยางก้อนถ้วยที่ได้เติมเอนไซม์ทั้งสามชนิดมีแนวโน้มเดียวกันคือ เริ่มต้นที่ 46% และเพิ่มขึ้นเป็น 70% เมื่อบ่มเป็นเวลา 6 วัน โดยที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่มีผลต่อค่า TSC

7. ผลของจุลินทรีย์ในน้ำยางต่อคุณสมบัติยางก้อนถ้วย

7.1 ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยางที่นับได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามปริมาณอินนอกคิวลัม ที่เติมลงในน้ำยาง โดยพบว่าน้ำยางสดมีปริมาณจุลินทรีย์ 2.56×10^5 และเพิ่มขึ้นเป็น 2.04×10^7 เมื่อเติมอินนอกคิวลัม 5.6% โดยน้ำหนัก

7.2 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในน้ำยางและระยะเวลาการบ่มส่งผลต่อ P_0 , P_{30} และ PRI ทำให้มีค่าลดลง

7.3 เปอร์เซ็นต์ TSC เริ่มต้นมีค่าเฉลี่ยที่ 45 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น และปริมาณจุลินทรีย์มีผลเพียงเล็กน้อย

7.4 ค่า pH ของยางก้อนถ้วยมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 5-6 เมื่อเวลาการบ่มและปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

8. ผลของวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ในอินนอกคิวลัมและการสร้างเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลส

8.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในตัวอย่างอินนอกคิวลัมมีค่าประมาณ 10^9 CFU/ml ซึ่งประกอบไปด้วย ยีส แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยมีจำนวนเท่ากับ 4.23×10^8 , 3.22×10^8 , 4.1×10^7 and 8.5×10^7 CFU/ml ตามลำดับ

8.2 เมื่อแยกและวิเคราะห์ชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันทั้งหมด 16 ไอโซเลท และพบว่าจำนวน 1 ไอโซเลทไม่มีการสร้างเอนไซม์ไฮโดรเลส (โปรติเอส ฟอสโฟไลเปส และ โปรติเอส) บนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ

8.3 กลุ่มจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างอินนอกคิวลัมจำนวน 15 ไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์กลุ่มไฮโดรเลส ตัวอย่าง เช่น โปรติเอส ฟอสโฟไลเปส และ โปรติเอส ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถย่อยสารอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน และ ฟอสโฟลิปิด ที่เป็นองค์ประกอบในน้ำยางได้

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษากลไกการทำงานของกลุ่มของจุลินทรีย์ในช่วงระยะเวลาการบ่มเพื่อหาความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของสมบัติของยางก้อนถ้วย
2. ศึกษาการควบคุมสภาวะการบ่มต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ส่งผลให้ยางก้อนถ้วยมีสมบัติสูงขึ้น
3. ทดสอบการควบคุมสภาวะการบ่มในระดับอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มสมบัติของยางก้อนถ้วยก่อนนำมาแปรรูปเป็นยางแท่ง

บทที่ 5

เอกสารอ้างอิง

1. ข่าวสมาคมยางพาราไทย ปีที่ 12 ฉบับที่ 8 สิงหาคม 2549 หน้า 14
2. ข่าวสมาคมยางพาราไทย ปีที่ 12 ฉบับที่ 8 สิงหาคม 2549 หน้า 43
3. Ehabe E., Roux L., Ngolemasango F., Bonfils F., Nkeng G., Nkouonkam B., Sainte-Beuve J. and Gobina, M.S. Effect of maturation on the bulk viscosity and molecular chain length of cuplump natural rubber. *J. Appl. Polym. Sci.*, 86 (2002) 703-708.
4. Vaysse L., Sainte-Beuve J. and Bonfils, F. Still current challenge for rubber technolog find new criteria for the prediction of manufacturing behaviour of natural rubber. Proceedings from IRRDB Annual Symposium "Challenge for Natural Rubber in Globalisation"-15-16 September 2003, Chiang Mai, Thailand.
5. Ekpini A., Sainte-Beuve J., Bonfils F., Livonniere H. and Knouonkam B. The 8th International seminar on elastomers le Mars Paris. 2001.
6. Lim, C.L. and E.L Ong. 1985 *Breakdown behaviour of natural rubber and its influence on processability*. Rubber Research Institute of Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia.
7. Soewarti, S. and MoH, M. 1975. Influence of Micro-organisms on Coagulation of Skim Latex, Proceeding of the International Rubber Conference, Kuala Lumpur, Malaysia, 1975, 358-366.
8. Nareumon, R. and Somthip, D. 2006. Study of biological reaction of cup coagula in STR factory, Bachelor of Science Project in Industrial management, Faculty of Technology and Management Prince of Songkla University, 2006, 35-36.
9. Taysum, D.H. 1969. The establishment of a bacterial population in latex vessels during normal tapping. *Proceed. Nat. Rubb. Res. Conf.*, Kuala-Lumpur., 858-871.
10. Watson, A.A. 1969. Improved agin of natural rubber by chemicle treatment. *Journal of Rubber Research Institute of Malaysia*, 1969, 22:104-119.
11. Taysum, D.H., 1957. A review of the comparative bacteriology of Hevea latex and its commercial derivatives. *Appl. Microbiol.* 5: 349-355.
12. Boonsatit, J., Bunkum, L., Nawamawat, K. and Sakdapipanich, J. 2008. The study of the bacterial type in fresh natural rubber latex and investigating new preservative for natural rubber latex. The 34th congress on science and technology of Thailand, 31 October – 2 November, 2008, Bangkok, Thailand.

ภาคผนวก ก

Characterisation of Natural Rubber Cup Coagula Maturation Conditions and Consequences on Dry Rubber Properties

J. INTAPUN^{*,**}, J. SAINTE-BEUVE^{***}, F. BONFILS^{****}, V. TANRATTANAKUL^{*},
E. DUBREUCQ^{**} AND L. VAYSSE^{****,#}

The maturation conditions of cup rubber coagula stacked in the form of a stocking pile in an industrial plant have been characterised. It was found that temperature and relative humidity of the air increased with depth within the pile. In contrast, oxygen content of the air within the pile decreased as depth increased. The effects of these parameters on the properties of processed cup coagula maturation were studied. Effects of 24-day maturation on rubber properties were found to vary with the position of cup coagula within the pile. The pH of matured cup coagula decreased significantly with depth in the pile. An inverse pattern was observed for Wallace initial plasticity (P_0), Plasticity retention index (PRI), gel content and weight average molar mass (M_w). Moreover, the maturation period, especially at the deepest layers, was found to have a positive effect on the standardised properties of rubber such as P_0 and PRI.

Keywords: *Hevea brasiliensis*; natural rubber; cup coagula; maturation; plasticity retention index; initial plasticity

Thailand is currently the biggest producer and exporter of natural rubber in the world. The most exported type is Standard Thai Rubber or STR, which is block rubber, the major grade being STR 20. It is mainly used in tyre industries. The raw materials used for STR production are cup coagula and low grade rubber sheets produced from smallholder plantations. Both raw materials are bought

by STR factories either directly or through middlemen.

In industrial practice, cup coagula are stored for a variable period of time before processing, ranging from 2 to 4 weeks. This storage time is referred to as "maturation period". This step is sometimes requested in order to improve the consistency and value of specified indicators of

*Polymer Science Program, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hadyai 90112, Thailand

**Montpellier SupAgro, UMR IATE, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex, France

***CIRAD, UMR IATE, TA B 62/16 - 73, Rue Jean François Breton - 34398 Montpellier Cedex 5, France

****CIRAD, UMR IATE, Hevea Research Platform in Partnership, KAPI, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

Corresponding author (e-mail: laurent.vaysse@cirad.fr)

rubber quality such as Wallace initial plasticity (P_0) and plasticity retention index (PRI). PRI reflects the susceptibility of the product to thermo-oxidation, whereas P_0 provides information on the rheological flow behavior of the raw material. The conditions and the phenomena that occur during this maturation period are still not well characterised. Watson¹ noticed that soaking the matured cup coagula in aqueous solution of oxalic acid or phosphoric acid could increase the PRI. Chin *et al.*² stated that the maturation of cup coagula and their storage environment have a marked effect on the viscosity and thermo-oxidative degradation of processed dry rubber. Hasma and Othman³ attributed the drop of PRI to the deterioration of natural antioxidants in the cup coagula during maturation. Le Roux *et al.*⁴ found relationships between tree physiological parameters and eco-climatic conditions on technological properties of raw rubber but the maturation step which occurred under different climatic conditions was not suspected as a source of property variability. More recently, Varghese *et al.*⁵ showed clearly that the treatment of the cup coagula by a bactericide could retain the PRI at a high level and reduce the storage hardening of the processed rubber.

Understanding these phenomena could allow industries to control and eventually shorten this costly storage period. For this purpose, before conducting experiments in laboratory controlled conditions, the present work focused on the characterisation of the conditions of maturation prevailing in cup coagula storage piles on an industrial site and their consequences on rubber properties and structure. Physico-chemical conditions (temperature, relative humidity (RH) and oxygen content) and rubber properties (total solid content (TSC), pH, initial plasticity (P_0) and plasticity retention index (PRI)) were studied at different depths from the top of the cup coagula pile.

MATERIALS AND METHOD

Cup Coagula Pile

The study was carried out in the Von-Bundit Co. Ltd. factory (Surat Thani province, Thailand) during February and March 2008. Cup coagula were received on 12/02/2008 from different suppliers and stored as a pile of 3-meter height and 20-meter width (*Figure 1*). The pile was stored outdoor and was exposed to sunlight for a total of 24 days of maturation before being transferred to the processing chain.

Measurement of Physico-chemical Conditions in Cup Coagula Pile

Upon their delivery to the factory, cup coagula were mixed using a bulldozer in order to homogenise the material within the pile. Two drilled stainless steel tubes (length 3 m, external diameter 5.1 cm, thickness 2 mm, 5 mm-diameter holes, 3000 holes/m²) were placed vertically inside the pile (*Figure 1*). Distance between drill tubes was 7 m. The measurement of temperature and oxygen concentration was performed by inserting in the tubes a dedicated probe (Conox 3, VWR GmbH, Weilheim, Germany) connected to a multimeter (Multi 350 model, VWR GmbH, Weilheim, Germany). Calibration of the oxygen probe was realized using mixtures of air (containing 20.95% O₂) and nitrogen (99.8%). Plugs (46 mm diameter) were placed 10 cm below and above the probe in order to isolate the measuring zone within the drilled tubes while recording. For relative humidity, measurements were performed with a Digicon (Japan) HT-765-232 humidity/temperature meter. Probes were properly calibrated following supplier's instructions. The measurements were performed at 5 levels from the top: 0, 50, 100, 150 and 200 cm depth every 6 days for 24 days. On each day

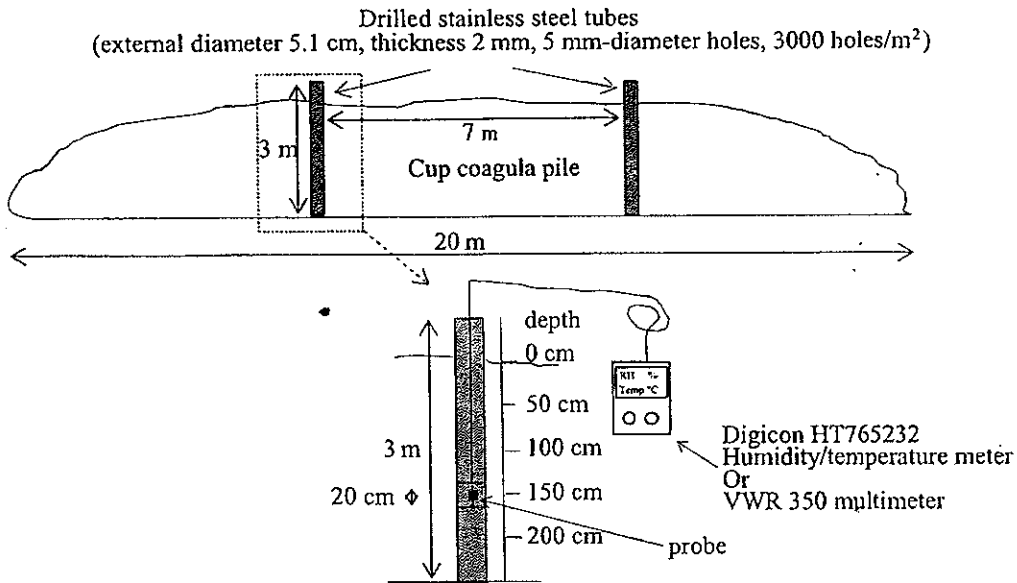


Figure 1. Cup coagula maturation pile equipped with two drilled stainless steel tubes in order to measure humidity, temperature and oxygen content of the air at different depths.

of measurement, the operation was repeated at 8 a.m., 12 a.m. and 4 p.m.

Raw Rubber Sample Preparation

Sampling. Sampling procedure is described in Figure 2. On the delivery day, 3 samples of 10 kg of fresh cup coagula were collected in the vicinity of each of the 2 stainless steel tubes as representative samples (total 60 kg) of the fresh cup coagula. These cup coagula were named "fresh cup coagula" even though they have undergone a preliminary storage period before arrival in the factory and served as a reference to monitor the influence of the storage. They were processed on the day of reception and the technological properties and structure of the obtained rubber were determined (see "Characterisation of Raw Rubber"). After

24 days of maturation, 10 kg samples of matured cup coagula were collected around each stainless steel tube on the surface of the pile (directly exposed to sunlight) and at the 4 depths mentioned above (5 baskets of 10 kg per stainless steel tube) as shown in Figure 2.

Cup coagula creping and drying. The samples were processed following factory usual procedure. The 10 kg samples were creped in a Lihoe crepper (Lihoe Co. Ltd, Selangor, Malaysia, gap between nip rolls: 5 mm, friction ratio: 1:1.56, roll length: 71.1 cm, roll diameter: 38.1 cm, engine power: 44.7 kW). Cup coagula were creped by 3 single passes followed by 18 double passes. The obtained crepes were dried in an industrial crumb rubber dryer (Golsta, Melaka, Malaysia; 3.5 t/h) at 129°C for 3 h.

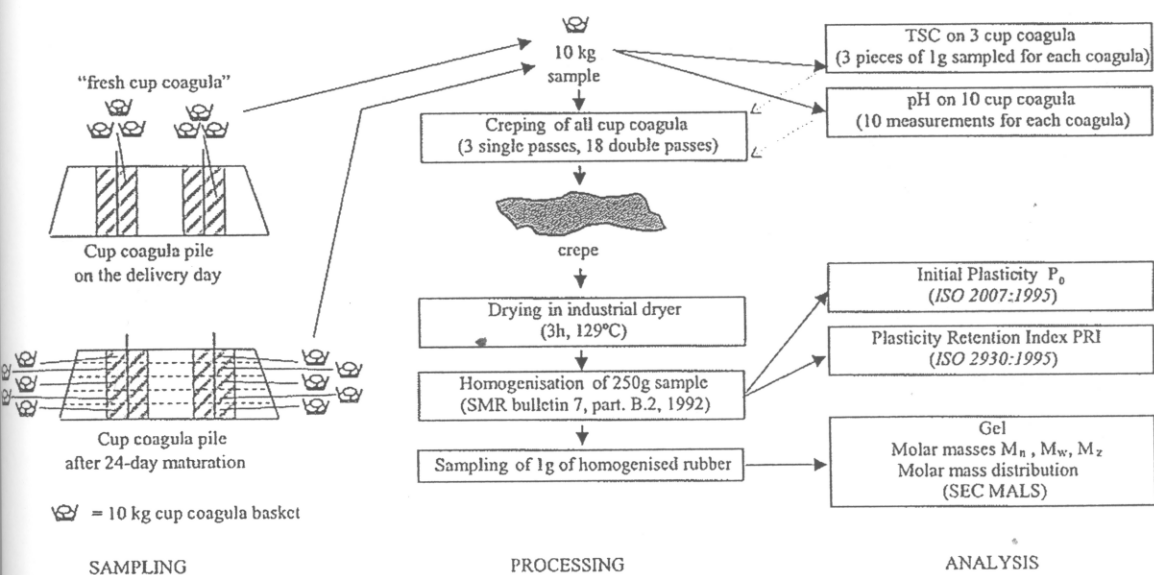


Figure 2. Flow chart of sampling, processing and analysis of "fresh" and "maturated" cup coagula.

Characterisation of Raw Rubber

pH measurement. Inner pH of fresh and maturated cup coagula was measured with a penetrating probe (Sentix SP S7, VWR, Weilheim, Germany) connected to a Multi 350 data logger (VWR GmbH, Weilheim, Germany). The probe was inserted at the center of 10 cup coagula from each of the 10 kg samples. For each cup coagulum, ten repetitions of the measurement were performed.

Total solid content (TSC) measurement. Three cup coagula were randomly taken from each 10 kg sample. Three pieces of 1 g were cut from each cup coagulum. Each 1 g piece was dried in oven at 100°C for 3 h. After cooling down in a desiccator, the dried piece was weighed. Additional 30 min drying was performed until constant weight was reached. Total solid content (TSC) was calculated as the

dry weight/fresh weight ratio and expressed as a percentage.

Wallace initial plasticity (P_0) and plasticity retention index (PRI) measurement. A 250 g sample was cut from the dry rubber crepe obtained previously. This sample was homogenised following *SMR Bulletin 7, Part B.2, 1992* standard. Initial Wallace plasticity (P_0) was determined according to *ISO 2007:1995* while plasticity retention index (PRI) was determined according to *ISO 2930:1995*. The PRI standardised method (*ISO 2930*) consists in determining the Wallace plasticity of a disc of natural rubber with standardised dimensions before (P_0) and after ageing for 30 min (P_{30}) at 140°C in an oven with controlled air circulation. The PRI, percentage of Wallace plasticity retained, is then given by *Equation 1*:

$$PRI = \left(\frac{P_{30}}{P_0} \right) \times 100 \quad \dots 1$$

Mesostructure and gel content of rubber. A 25 ± 2 mg of homogeneous rubber sample was dissolved in 40 mL of tetrahydrofuran (THF) stabilised with 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) for 2 weeks. The rubber solutions were stored at 30°C for 7 days without stirring and gently stirred for 1 h daily for 7 days after. The solution was filtered (Acrodisc 1 μ m, glass fiber, Pall) and injected into a size-exclusion HPLC system consisting of an online degasser (EliteTM, Alltech), a Waters 515 pump, a refractive index detector (Waters 2410) and a multiangle laser light scattering detector (Dawn DSP, Wyatt technology Corp.). The columns were three inline PLGEL (Polymer Laboratory) mixed beds (20 μ m, 7.8 mm ID \times 30 cm) with a guard column. The columns were thermostated at 45°C. The mobile phase was THF stabilised with BHT at a flow rate of 0.65 mL min⁻¹, the injected volume was 0.15 mL. Number-average molar mass (M_n), weight-average molar mass (M_w) and z-average molar mass (M_z) were calculated using ASTRA software (Wyatt technologies Corp.). Fourteen angles, from angle 3 (32°) to angle 16 (134°), were used for calculation using Zimm method. The differential refractive index increment (dn/dc) value used was 0.130 mL g⁻¹.

For a given sample injected into the SEC-MALLS chain, the refractive index increment of solvent and sample solution was measured by a refractive index detector (DRI). It represents the incremental refractive index change (dn) of the solution for an incremental change of the concentration (dc). ASTRA software performed the calculation of the injected quantity of natural rubber (NR) after filtration by integrating the whole NR peak on the chromatogram. Thus, as the concentration of the solution (0.625 mg mL⁻¹) and the injected volume (0.15 mL) were known before and after filtration, the fraction eliminated by filtration, *i.e.* the percentage of gel, could be calculated as follows (Equation 2).

$$\text{Total gel content (\%)} = \left(\frac{m_0 - m_1}{m_0} \right) \times 100 \dots 2$$

m_0 = mass of sample in 0.15 mL before filtration

m_1 = mass of injected sample (calculated from SEC-MALLS)

RESULTS AND DISCUSSION

Physico-chemical Conditions in Cup Coagula Pile

Oxygen content, temperature and relative humidity of air were measured at different depths within the cup coagula pile after 1, 7, 13 and 19 days of maturation are shown in *Figures 3 to 5*. For each maturation time, values are the mean of 2 independent measurements (one in each drilled tube).

The oxygen content of the air contained in the cup coagula pile decreased as depth increased (*Figure 3*). At the top of the pile, oxygen content was 16%–18% and decreased to less than 5% below 100 cm–150 cm. This gradient, most probably driven by oxygen consumption during microbiological oxidation reactions and by the lack of oxygen supply by air renewal, did not change significantly during the period of study.

Air temperature in the cup coagula pile increased with depth (*Figure 4*) according to a gradient with no overall significant change during maturation except for daily variations. Throughout the pile, temperature in the morning was 10°C lower than at noon and afternoon. At the top of the pile, average temperature was 34°C. This value depended mainly on weather conditions and time of measurement. Temperatures at 50 cm–100 cm and 150 cm–200 cm below the top were respectively 36°C and 39°C on average. This temperature gradient may be

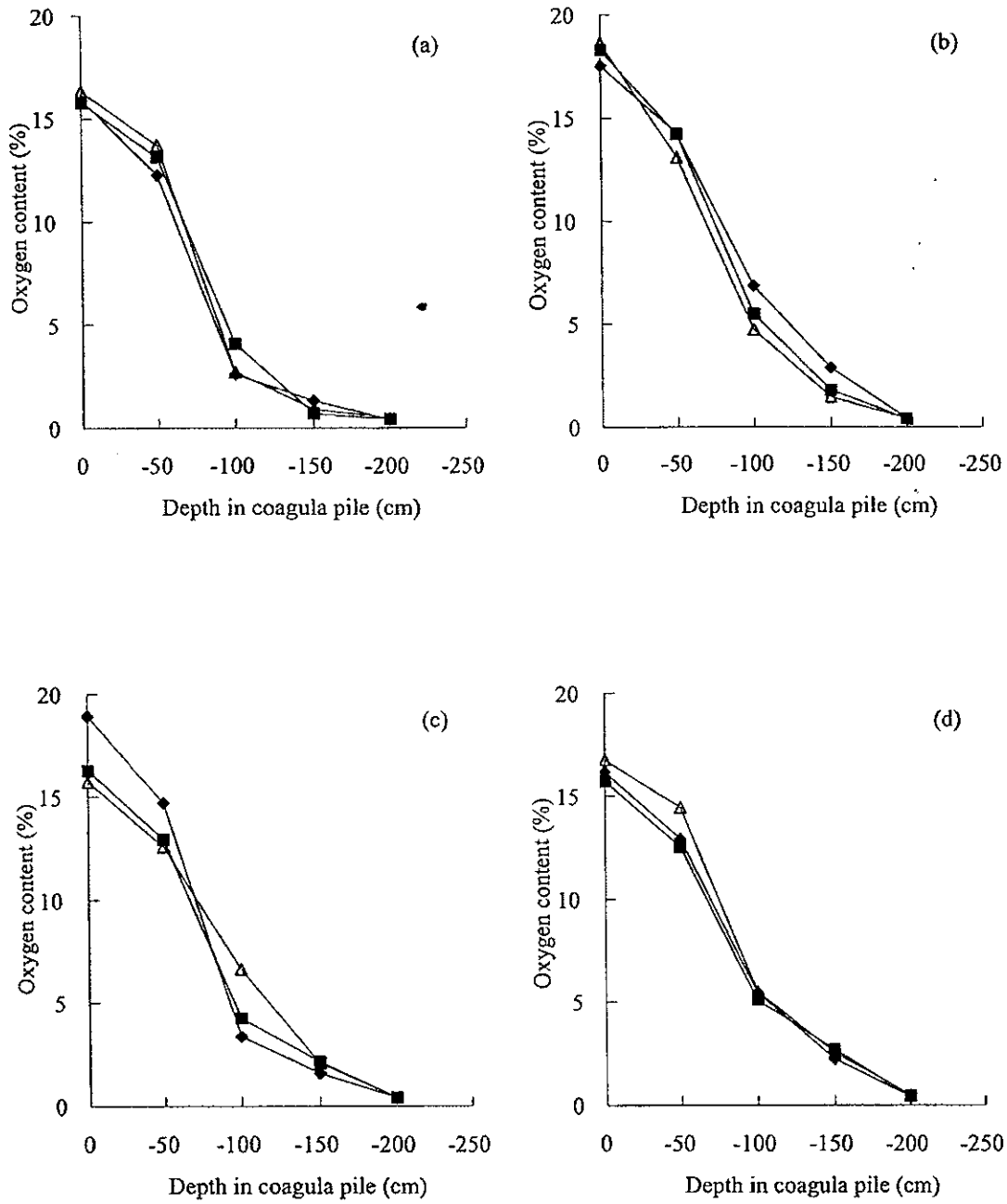


Figure 3. Oxygen content of the air in cup coagula pile at different depths from the top for each maturation duration: (a) 1 day, (b) 7 days, (c) 13 days and (d) 19 days.

Measurements were performed at 8 a.m. (—◆—), 12 a.m. (—■—) and 4 p.m. (—△—)

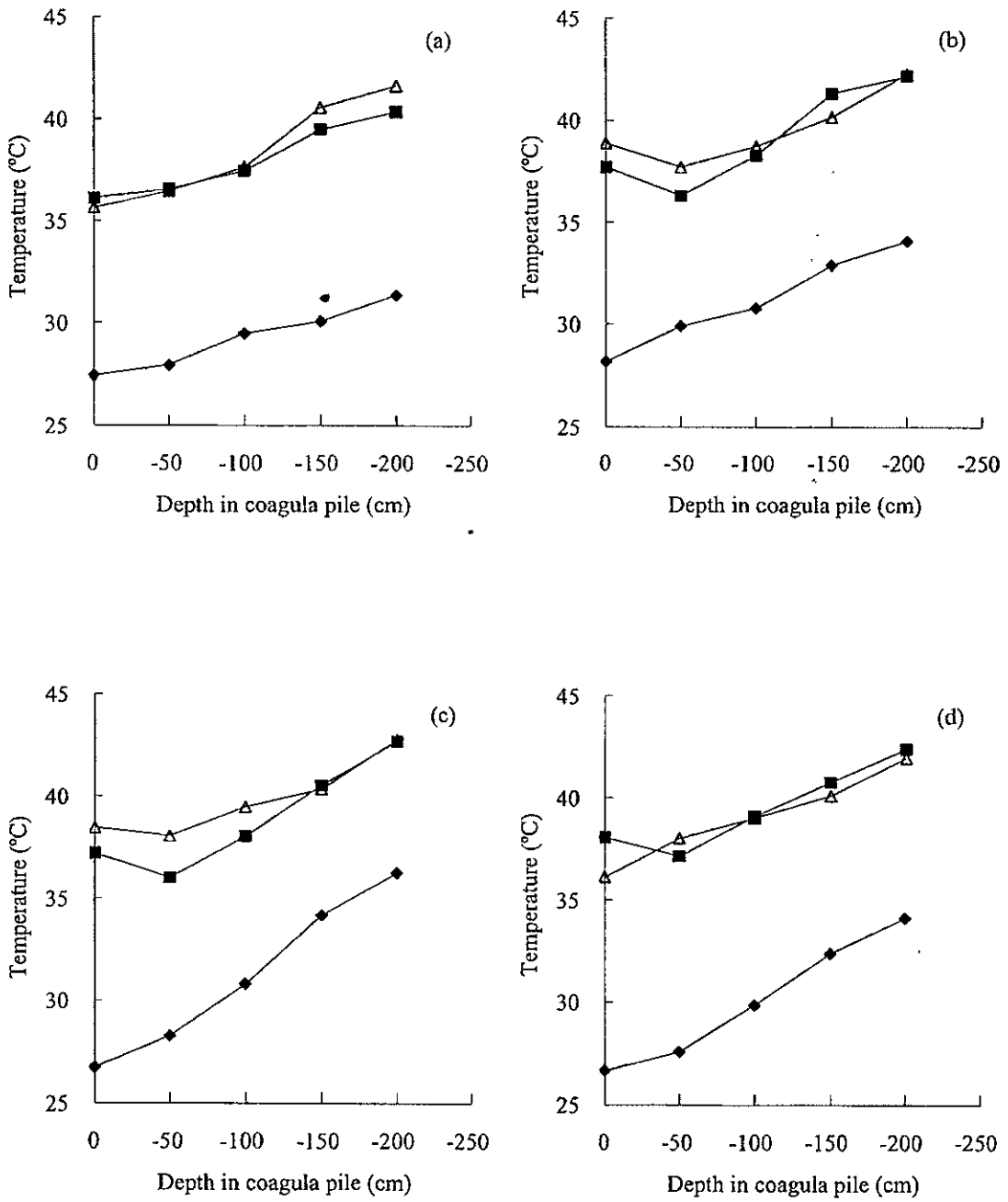


Figure 4. Temperature of the air in cup coagula pile at different depths from the top for each maturation duration: (a) 1 day, (b) 7 days, (c) 13 days and (d) 19 days.

Measurements were performed at 8 a.m (◆), 12 a.m (■) and 4 p.m (△)

caused by a combination of the exothermic metabolic activity of microorganisms inside the pile, solar radiation at the top of the pile and thermal exchanges within the pile by convection (through air and serum movements) or conduction (through cup coagula).

Relative humidity (RH) in cup coagula pile also increased with depth, especially at mid-day and in the afternoon with values ranging from 45%–55% on the top of the pile to 85%–90% at 200 cm below the surface (*Figure 5*). In the morning, RH was in a closer range (75%–95%) in all the locations within the pile, probably due to a lower evaporation rate on pile surface and the lower temperature of the air.

Temperature, humidity and oxygen content are key factors controlling the development and activities of microorganisms. The vertical gradient of values observed for all of these parameters in the pile suggests that the microbial population could differ in terms of species and activities according to the location of cup coagula within the pile.

Properties of Cup Coagula

Total solid content (TSC) of fresh cup coagula was 73% in average on the delivery day in the industrial plant (*Figure 6*). After the maturation period, TSC increased to around 80% – 85%, with slight differences depending on the depth of sampling. Higher TSC measured at the bottom of the pile may be due to compression by upper cup coagula weight, while the high value at the surface most probably resulted from evaporation of water caused by solar radiation and wind as well as from drainage of serum.

The average pH of the delivered fresh cup coagula was 5.7. After 24 days of maturation, the pH of cup coagula at the top of the pile rose to 7.4 as shown on *Figure 7*. This result

is in agreement with the observations by Soewarti and Moh⁶, who found that the pH of cup coagula increased from 6.25 to 6.85 after 35 days of maturation. The increase of pH might be due to the release of ammonia during the degradation of latex proteins. Strong “ammonia” odor over the pile backed this hypothesis. Ammonia is indeed one of the co-products of organic matter hydrolysis and fermentation⁷. Moreover, a clear vertical pH gradient was observed in the matured cup coagula pile, with pH values decreasing gradually from the top to the 200 cm depth (pH 7.5 to pH 6.5). As suggested by Taysum⁸, acid production by anaerobe microorganisms such as *Clostridium* sp., *Lactobacillus* sp. and *Streptococcus* sp. may explain lower pH in locations with low oxygen content, i.e. in the deeper layers of the pile (*Figure 3*).

Wallace initial plasticity (P_0) of rubber from fresh cup coagula collected on delivery day was 25 in average (*Figure 8*). After 24 days of maturation in the pile, it was found that P_0 increased with the depth. At the top of the pile, P_0 value was 26 and reached a maximum value of 42 at a depth of 200 cm. Higher P_0 deeper in the pile may be related to a lower degradation of polyisoprene chains and/or higher cross-linking between rubber chains. These phenomena may have occurred during maturation and/or drying. Scission and cross-linking are indeed two antagonistic phenomena that play an important role in the modification of the structure of rubber during maturation and drying⁹. It is interesting to note that higher P_0 are measured in layers characterised by a higher temperature and lower pH and oxygen content in the air.

Plasticity retention index (PRI) is a standardised parameter to determine sensitivity of natural rubber to thermo-oxidation. It has to be mentioned that for natural rubber there is a balance between scission and cross-linking during the thermo-oxidative process. In most

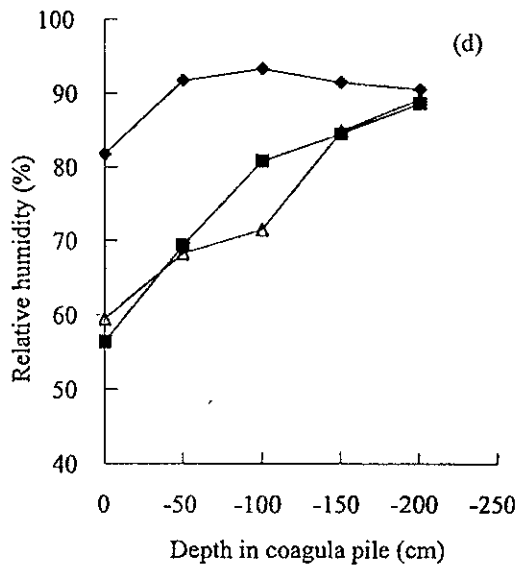
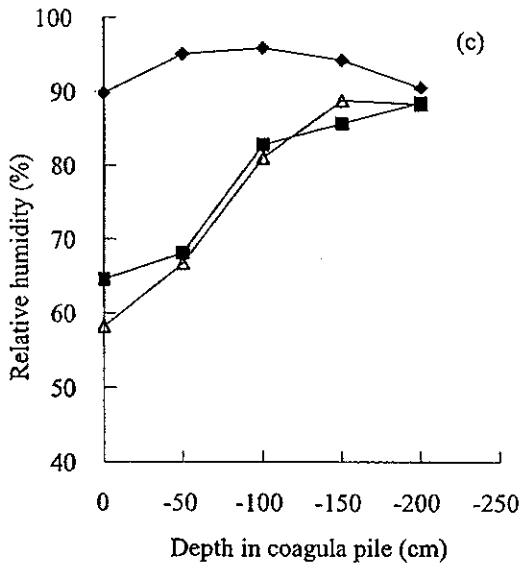
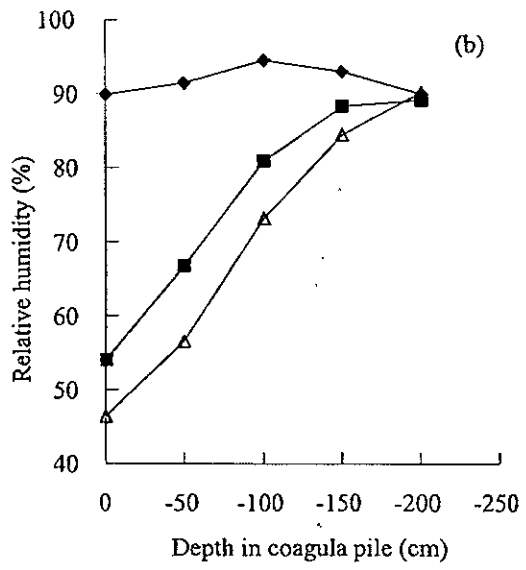
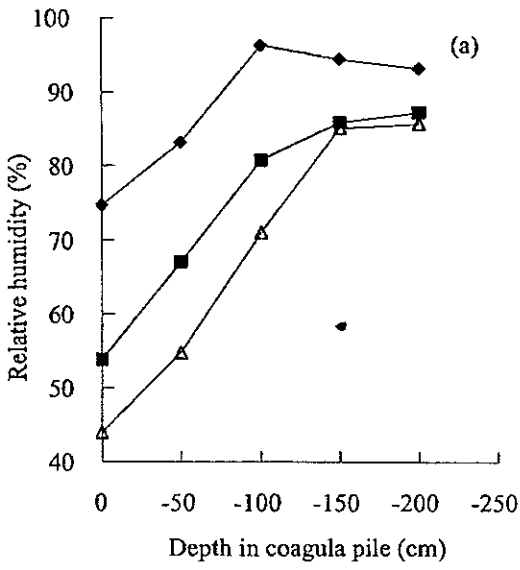


Figure 5. Air relative humidity in cup coagula pile at different depths from the top for each maturation duration: (a) 1 day, (b) 7 days, (c) 13 days and (d) 19 days. Measurements were performed at 8 a.m. (—◆—), 12 a.m. (—■—) and 4 p.m. (—△—)

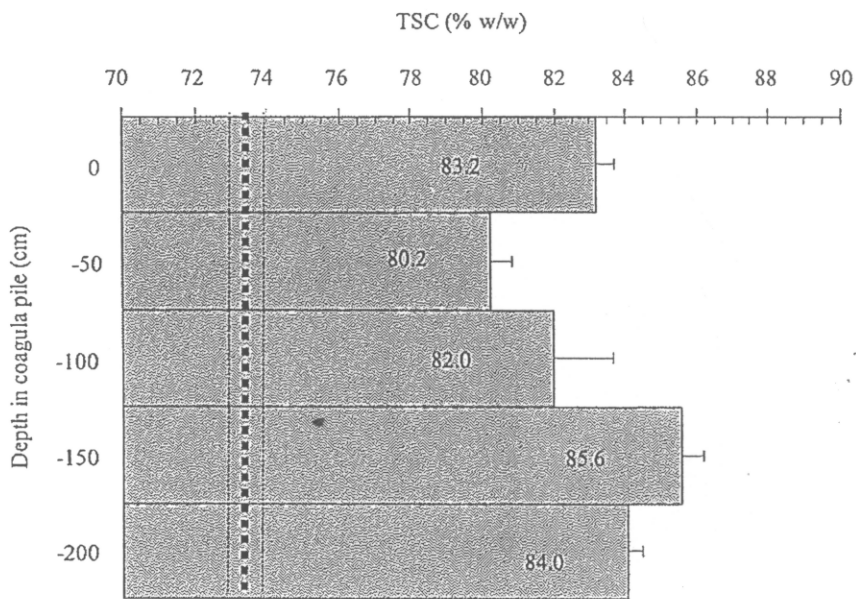


Figure 6. TSC of cup coagula in maturation pile at different depths from the top
 Initial TSC on delivery: bold dotted line (•••); TSC after 24 days of maturation: gray histograms.
 Standard errors are indicated respectively by thin dotted line (.....) or error bars.

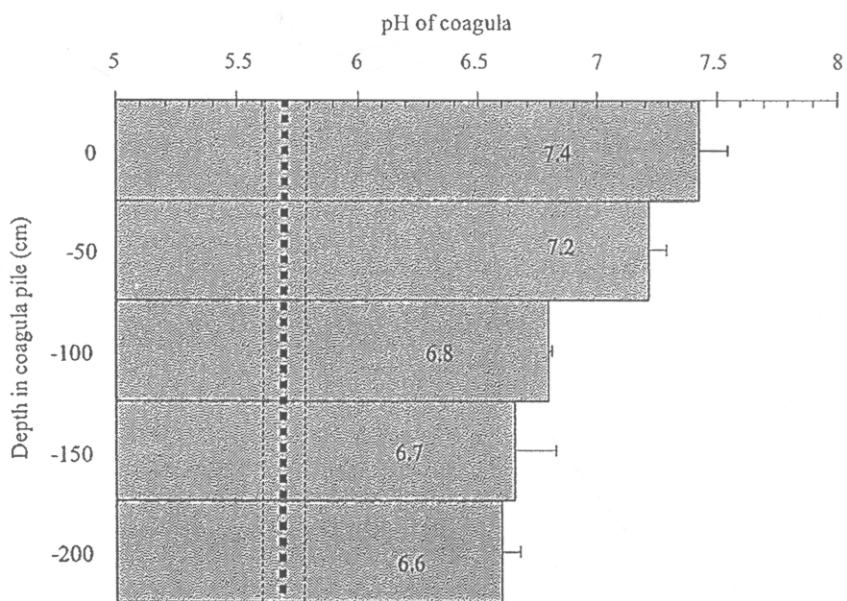


Figure 7. pH of cup coagula in maturation pile at different depths from the top
 Initial pH on delivery: bold dotted line (•••); pH after 24 days of maturation: gray histograms.
 Standard errors are indicated respectively by thin dotted line (.....) or error bars.

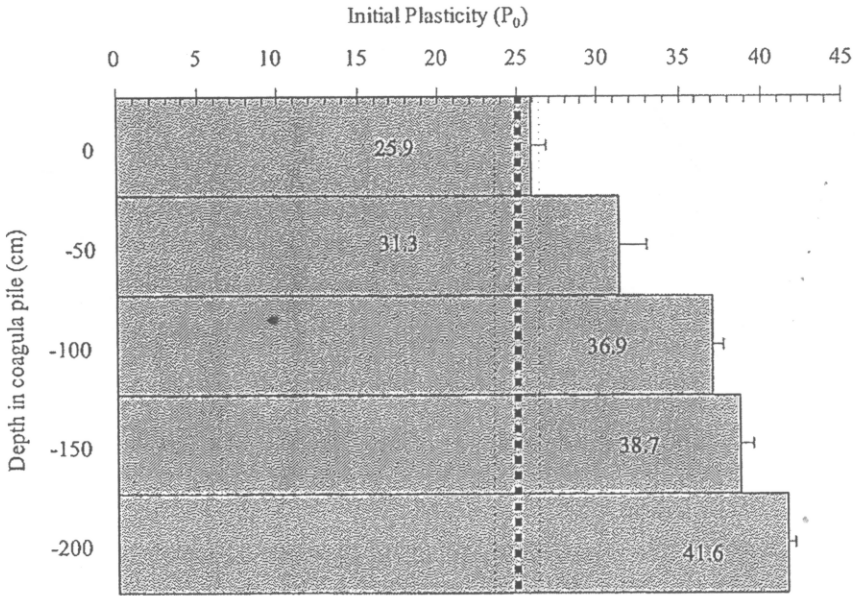


Figure 8. P_0 of cup coagula in maturation pile at different depths from the top
 Initial P_0 on delivery: bold dotted line (---); P_0 after 24 days of maturation: gray histograms.
 Standard errors are indicated respectively by thin dotted line (----) or error bars.

of the cases, scissions are prominent. As shown in Figure 9, the mean PRI value of rubber from fresh cup coagula was 25, which is significantly below TSR 20 standard (Technically Specified Rubber grade 20) that requires a minimum value of 40. After 24 days of maturation in the pile, PRI increased significantly with the depth in the pile, reaching values above 41 when cup coagula were collected deeper than 150 cm under the top (17 units increase). The environmental conditions at the bottom of the pile (high temperature, low pH and oxygen content in the air) encouraged microbiological/biochemical mechanisms that reduce sensibility of NR to thermo-oxidation. However, these mechanisms remain to be characterised: they may involve a change in the balance between antioxidant molecules (proteins, amino acids, tocotrienols, *etc*) and pro-oxidant molecules (unsaturated free fatty acids, free

metallic ions, *etc*)^{3,10}. PRI values followed the same trend as those of P_0 within the pile. This similarity indicates that the observed gradient of P_0 can be explained mainly by the effect of depth on the resistance of rubber to thermal treatment during drying.

Mesostructure (average molar masses and gel content) of rubber from fresh and matured cup coagula from different vertical locations in the pile were analysed by SEC-MALLS. As number-average molar mass (M_n), weight-average molar mass (M_w) and z-average molar mass (M_z) showed the same trend, only M_w is presented (Figure 10). M_w values, as the P_0 ones, increased with the depth within the pile. Bearing in mind that molar masses measured by SEC are related to the soluble part of rubber only, therefore, higher M_w deeper in the pile indicates that the soluble polyisoprene

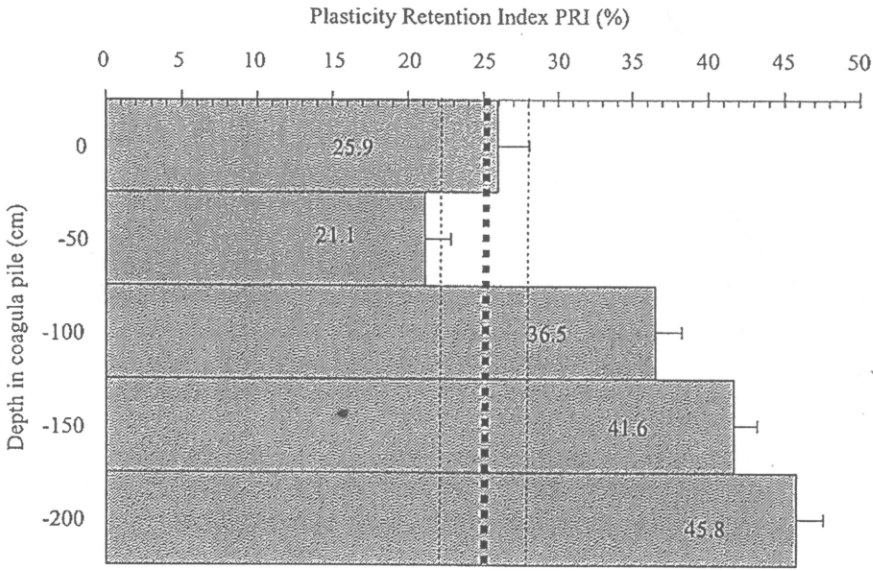


Figure 9. PRI of cup coagula in maturation pile at different depths from the top
 Initial PRI on delivery: bold dotted line (---); PRI after 24 days of maturation: gray histograms.
 Standard errors are indicated respectively by thin dotted line (.....) or error bars.

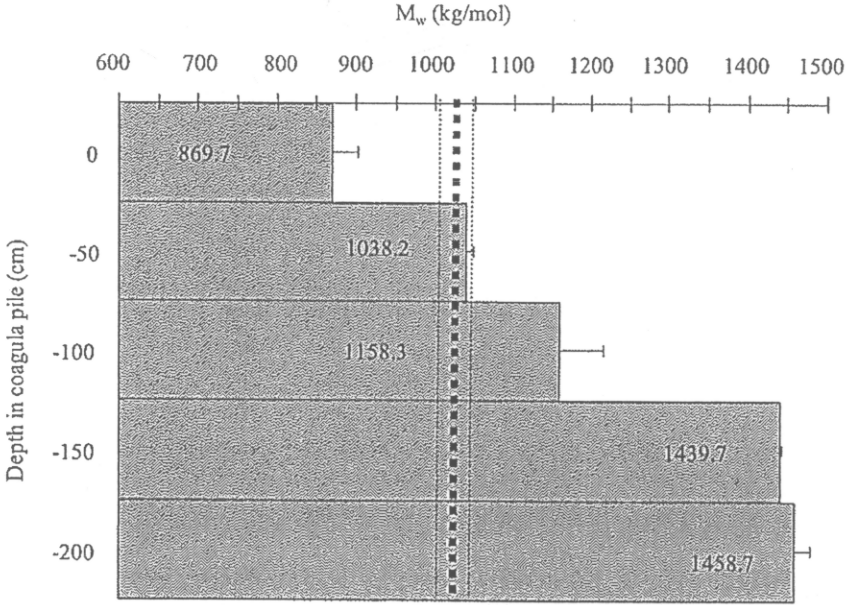


Figure 10. M_w of cup coagula in maturation pile at different depths from the top
 Initial M_w on delivery: bold dotted line (---); M_w after 24 days of maturation: gray histograms.
 Standard errors are indicated respectively by thin dotted line (.....) or error bars.

chains matured at 200 cm depth underwent less scission during the drying process (3h – 129°C) than their counterparts from the top of the pile. Initial value of M_w of rubber from non-matured fresh cup coagula was in the same range as in the layer located 50 cm below the top after maturation. The matured top layer cup coagula displayed a lower value of M_w most probably due to scissions caused by direct sunlight exposure. Concerning gel (Figure 11), and contrary to other parameters, the initial level (47.7%, fresh cup coagula) was in the same range as that of the layer located 200 cm below the top. Gel content decreased slightly at the top of the pile (depths 0 and 50 cm), which displayed lower P_0 . These results of structural study, as well as the similar trends of P_0 and PRI (increasing values with depth), support the assumption that the P_0 gradient observed in the matured pile is more due to a higher resistance to scission during the drying

process (thermo-oxidation) than to a higher cross-linking.

CONCLUSION

This study was undertaken in order to characterise the maturation conditions of cup coagula pile in an industrial plant and to monitor the influence of maturation on some technological properties of processed cup coagula at different depths from the top of a pile. It was found that temperature, relative humidity of the air and total solid content increased with depth. In contrast, oxygen content of the air within the pile decreased as depth increased. The effects of 24-day maturation on rubber technological properties were found to depend on the position of cup coagula within the pile. The pH of matured cup coagula decreased significantly with the

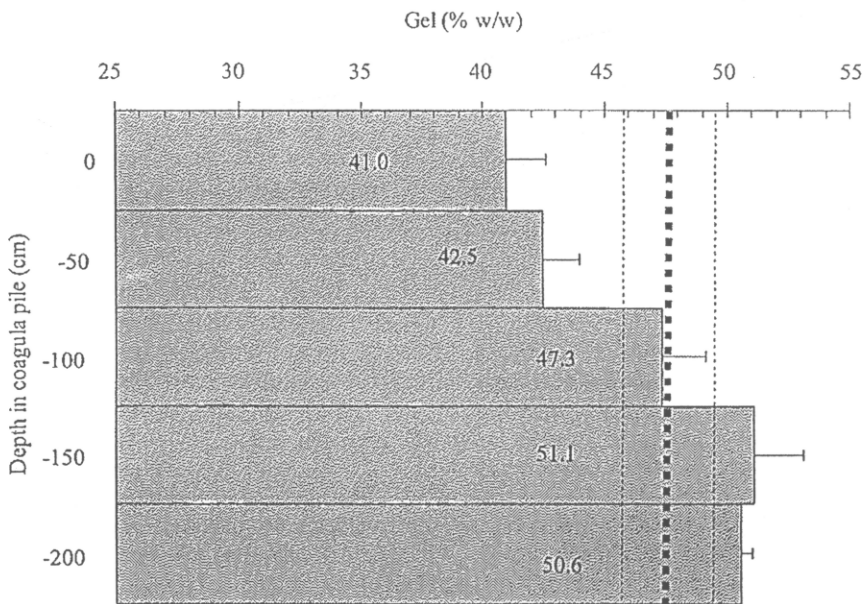


Figure 11. Gel of cup coagula in maturation pile at different depths from the top
 Initial gel on delivery: bold dotted line (-.-.); Gel after 24 days of maturation: gray histograms.
 Standard errors are indicated respectively by thin dotted line (.....) or error bars.

ภาคผนวก ข

Decision Letter (APP-2009-12-3783)**From:** bwpengilly@yahoo.com**To:** laurent.vaysse@cirad.fr**CC:****Subject:** Journal of Applied Polymer Science - Decision on Manuscript # APP-2009-12-3783**Body:** 06-Jan-2010

Dear Dr. Vaysse:

Thank you for resubmitting your manuscript (# APP-2009-12-3783) entitled "Effect of micro-organisms during initial coagula maturation of Hevea natural rubber" to the Journal of Applied Polymer Science. Your manuscript has been reviewed and the comments of the reviewer(s) are included at the bottom of this letter.

The reviewer(s) have recommended publication, but also suggest some minor revisions to your manuscript. Therefore, I invite you to respond to the reviewer(s)' comments and revise your manuscript.

You can upload your revised manuscript and submit it through your Author Center. Log into <http://mc.manuscriptcentral.com/app> and enter your Author Center, where you will find your manuscript title listed under "Manuscripts with Decisions." Click on the Create a Revision link in the Action column to begin the revised submission process. Please submit your revision by 04-Jul-2010.

When submitting your revised manuscript, please respond to each of the comments made by the reviewer(s) in the space provided. You should use this space to document any changes you make to the original manuscript. Please review the attached document listing the file requirements for your revision.

IMPORTANT: We have your original files. When submitting (uploading) your revised manuscript, please delete the file(s) that you wish to replace and then upload the revised file(s).

Once again, thank you for resubmitting your manuscript to the Journal of Applied Polymer Science. I look forward to receiving your revision.

Sincerely,

Dr. Brian Pengilly
Associate Editor, Journal of Applied Polymer Science
bwpengilly@yahoo.com

Reviewer(s)' Comments to Author:

Reviewer: 1

Comments to the Author

minor corrections:

---- Page 9, Line 10, I think the authors should address the reason why the sample M2 was discarded in the next experiments.

Reviewer: 2

Comments to the Author

Make editorial corrections as suggested in attached file.

Date Sent: 06-Jan-2010**File 1:** * APP-production-requ.doc**File 2:** - Reviewer's comments.pdf

Files attached

[Reviewer's comments.pdf](#)

**Effect of micro-organisms during initial coagula maturation
of Hevea natural rubber**

Journal:	<i>Journal of Applied Polymer Science</i>
Manuscript ID:	APP-2009-12-3783.R1
Wiley - Manuscript type:	Research Article
Keywords:	structure-property relations, crosslinking, molecular weight distribution / molar, rubber



Effect of micro-organisms during initial coagula maturation of *Hevea* natural rubber

J. Intapun^{1,2}, J. Sainte-Beuve³, F. Bonfils³, V. Tanrattanakul¹, E. Dubreucq², L. Vaysse⁴

¹ Polymer Science Program, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hadyai 90112, Thailand

² Montpellier SupAgro, UMR IATE, 2 Place Viala, 34060 Montpellier cedex, France

³ Cirad, UMR IATE, TA B 62/16 - 73, Rue Jean François Breton - 34398 Montpellier Cedex 5, France

⁴ Cirad, UMR IATE, Hevea Research Platform in Partnership, KAPI, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

Corresponding author

Dr Laurent VAYSSE

Rubber Technology Laboratory

Agro-Industry Building 3, 8th floor

Kasetsart University

Chatuchak - Bangkok 10900 - Thailand

laurent.vaysse@cirad.fr

Keywords

natural rubber; maturation; structure-properties relation; molar masses, crosslinking.

Abstract

The involvement of micro-organisms in the initial stage of maturation of natural rubber coagula was assessed by five latex treatments varying initial quantity of micro-organisms: from latex added with antimicrobial agent (3.4×10^4 CFU/mL) to strongly inoculated latex (2.4×10^7 CFU/mL). After 0 to 6 days of maturation, the obtained rubber was characterized for its physical and structural properties. Wallace plasticity (P_0) and plasticity retention index (PRI) remained constant during maturation for antibiotic added treatment. PRI was found to decrease with maturation time and the rate proportional to the initial micro-organism concentration. P_0 of all inoculated rubber increased for the first 2 days of maturation and decreased after 6 days of maturation. Concerning structural parameters, higher initial micro-organisms content corresponded to higher gel content and lower weight-average molar mass (\overline{M}_w) after maturation, drying and storage. Inoculated rubber showed a stable value of number-average molar mass (\overline{M}_n) contrary to non inoculated samples where an increase of \overline{M}_n during maturation was observed. The quantity of micro-organisms significantly affected the physical properties and structure of processed dry rubber. The mechanisms occurring at the initial stage of maturation are complex and micro-organisms are not only involved in the increase of sensitivity to thermo-oxidation but also in crosslinking phenomenon between isoprene chains.

1. INTRODUCTION

The TSR 10 and TSR 20 are the most produced commercial grades of raw Technically Specified natural rubber. The main raw materials for producing these two grades are the “coagula” or “cuplumps”, obtained by natural (or auto) coagulation of latex in the collection container a few hours after tapping. The time between tapping the trees and processing the coagula in TSR10 or 20 raw natural rubber can reach several weeks: it is called the maturation time. During this period, coagula undergo biochemical intrinsic modifications in which micro-organisms are supposed to play an important role.^{1,2} This maturation time is crucial for the processors as it impacts the quality of the processed rubber. Indeed, the quality of natural rubber (NR) obtained from coagula available for the processors from grower sector is inconsistent especially in terms of sensitivity to thermo-oxidation.³

Natural rubber latex is the cytoplasm of laticiferous cells located in the bark of *Hevea brasiliensis* tree. Its composition, rich in mineral salts, sugars, amino acids, proteins and lipids, is a highly favourable medium for microbial growth. Taysum⁴ identified about 100 species of micro-organisms in *Hevea* latex and in its commercial derivatives. Bacteria in fresh latex may come from several sources (bark and cut of tapped trees, collection cup, etc.). According to Taysum⁵, primary infection could reach, according to cases, 10^6 to 10^7 total bacteria per mL and coagulation starts when bacterial population reached 10^9 to 10^{10} per mL. Micro-organisms could account for spoilage of latex and ammoniated latex concentrate. Some like *Gordonia* sp.⁶, *Nocardia* sp.⁷, several bacteria species^{8,9} and fungi¹⁰ are known to degrade dry rubber and rubber products.

Few researchers have studied the effect of microorganisms in latex on the properties of raw NR. Soewarti and Moh¹¹ have shown that coagula obtained after inoculation of skim latex with some micro-organisms lead to rubber of lower quality than when coagulation was provoked by addition of formic acid. Increasing maturation time usually increased sensitivity of NR to thermo-oxidation.^{1,2,12,13} Hasma and Othman¹⁴ also attributed the lower resistance to thermo-oxidation of auto-coagulated coagula to the bacterial decomposition of proteins and other non-rubber components by bacteria, leading to the release of strong pro-oxidants such as free copper.

The conditions of storage of coagula between the day of delivery in a factory and the day of processing has been studied recently by Intapun and coworkers.¹⁵ It was observed

1 that coagula arriving in the factory, after a few weeks of maturation in the farms, were rather
2 sensitive to thermo-oxidation (PRI 22-28). It was demonstrated that the industrial storage
3 conditions have a significant impact on properties of dry rubber. After 24 days of storage in
4 a 3m-high pile, the sensitivity to thermo-oxidation of coagula interestingly decreased as
5 illustrated by an increase of PRI up to 46. Soaking the crumb rubber in phosphoric or oxalic
6 acid solution before drying is another industrial way to increase PRI.¹

7 The initial quantity of micro-organisms in latex before coagulation and its effect on
8 the structure and properties of rubber have not been reported. This is the main purpose of the
9 present study which was performed under controlled maturation conditions at laboratory
10 scale. The maturation of coagula was studied from 0 to 6 days after inoculation with
11 different quantities of micro-organisms sampled in the rubber field. The main bulk
12 properties assessed during maturation were PRI and Initial Wallace plasticity (P_0).
13 Furthermore, analyses of the mesostructure (macromolecular structure and gel content) of
14 raw rubber were performed to understand the evolution of properties during maturation.

15 16 2. MATERIALS AND METHODS

17 2.1 Clean latex

18 Five liters of latex were collected from 32 *Hevea brasiliensis* trees from RRIM600
19 clone located in the rubber plantation of Prince of Songkla University, Surat Thani,
20 Thailand. A special tapping procedure was developed for the collection of latex samples
21 with an as low as possible level of microbial contamination. The collection material was
22 autoclaved at 121°C for 15 min before use. Sterilized material included a knife, a spout, a
23 plastic tube connected with a collection plastic bag (15 cm x 23 cm), a plastic sheet (60 cm x
24 70 cm), metallic blade (5 cm x 12 cm) and water (1L). The bark was slightly scrapped with
25 the metallic blade downward from the cut to 3 cm below. The scrapped area was cleaned
26 successively with water, ethanol and water, using commercial sterile cotton. The clean panel
27 was covered with a plastic sheet fixed on the tree by a rubber band, 10 cm up the tapping
28 cut. Previously to tapping a new spout was fixed on the tree. Latex was directed to flow
29 through the spout and the plastic tube into the collection bag. The bag was placed inside an
30 ice-containing cup. When the latex flow stopped (around 3h after tapping), bags containing
31 latex were transferred to a laminar flow cabinet in the nearby laboratory. The latex harvested
32 through this special tapping system is called "clean latex" in this paper.

2.2 Inoculum

Thirty-two trees, identical to those used for latex collection, were tapped following the traditional procedure and the harvested latex allowed to coagulate naturally. Three days after tapping, the 32 coagula were squeezed and approximately 250 mL of serum containing suspended micro-organisms were collected and filtered through a metallic sieve (1 mm pore size). Microbial cells were then centrifuged and washed as follows: 80 mL of serum was centrifuged at 10,000 g for 15 min (8 tubes x 10 mL). For each tube, the supernatant was removed and the cell pellet was resuspended in 10 mL of 0.9% NaCl (w/v). The washing operation was repeated twice. The cell suspensions were then pooled in a capped flask and the obtained inoculum was stored at 4°C until further use. The “2.5X concentrated” inoculum was obtained following the same procedure except that the last resuspension was performed with 4 mL instead of 10 mL of 0.9% NaCl (w/v). The microbial population in the inoculum was estimated as described in section 2.4.

2.3 Latex preparation : 5 treatments

The amount of micro-organisms in latex was controlled either through the volume of inoculum added to latex or, by the addition of sodium azide as an antimicrobial agent. Fresh clean latex was split into 5 different lots of 1 L each corresponding to the five treatments. Antibiotic (16 mL of 10% sodium azide solution) was added to the first lot while the others received different amounts of inoculum as detailed in Table 1. Preliminary tests had shown that sodium azide provided anti-microbial activity without interfering with the rubber's properties.

2.4 Counting of micro-organisms

The microbial population in the inoculum was characterized using selective agar media. Appropriate 10X dilution were performed before spreading on agar plate. The following categories were numbered: gram positive, gram negative, lactic acid bacteria, total aerobic and total anaerobic bacteria, and yeasts. Micro-organisms present in inoculum are indicated in Table 2.

Counting of micro-organisms in latex before coagulation was limited to total aerobic population on PCA media (Table 2).

2.5 Coagula preparation

About 9 ml of 5% formic acid solution were added to each lot of latex to reduce their pH to 5.2. The pH change was monitored by a disinfected pH probe (Sentix SP S7, VWR,

Weilheim, Germany) connected to a multi 350 data logger (VWR GmbH, Weilheim, Germany). Each latex mixture lot corresponding to one treatment was poured into 45 mL sterile glass cups (15 mini cups per treatment). Mini coagula in glass cups were stored in sterile hermetically closed boxes in an incubator (BD Series 53, Binder GmbH, Germany) at 40°C for 3 h. Under a laminar flow hood, coagula were retrieved, placed on sterile stainless steel trays, and kept in sufficiently large hermetically sealed plastic boxes.

2.6 Coagula maturation

Coagula with different microbial populations were matured under saturated humidity in the closed sterile plastic boxes (1 maturation box per treatment) and incubated at 40°C. This temperature was chosen with respect to that prevailing in the coagula maturation piles. To evaluate the effect of maturation time, 3 coagula from each box were randomly sampled and weighed from the start (day 0) to the 6th day after coagulation.

2.7 Creping and drying of coagula

A laboratory-scale creper (mini-creper) was built with the following specifications: gap between nip rolls 0.04 mm, speed of front roll: 190 rpm, friction ratio: 1:1.3, roll length: 20 cm, Roll diameter 10 cm, Engine power: 2.2 kW. Each cup coagulum was creped by 16 double passes in this mini-creper (crepe was folded end to end between each pass) followed by 1 single final pass.

The obtained crepes were dried in a hot air oven (UE700, Memmert GmbH & Co. KG., Germany) at 125°C for 2 h, cooled in a desiccators and weighed. The creping and drying process parameters were chosen after a comparative study with the industrial STR20 process used at the Von Bundit Co. Ltd., Surat Thani factory.

2.8 Bulk characterization of coagula and rubber

Considering that, during creping, only water soluble components were leached, the dry rubber content of coagula (DRC_c) was assessed as the percentage ratio of the weight of the crepe to the fresh weight of the coagula.

About 20 g of crepe were homogenized following the SMR bulletin No. 7 (1992), B2 Standard. Wallace rapid plasticity (P₀) and Plasticity Retention Index (PRI) were measured following SMR bulletin No. 7 (1992), B8 Standard. P₀ and PRI measurements were performed twice: within 24 hours and 80 days after drying.

2.9 Mesostructure and gel content testing

The method described by Kim *et al.*¹⁶ was followed with slight modifications. A 25 ± 2 mg sample of homogeneous rubber was dissolved in 40 mL tetrahydrofuran (THF) stabilized with 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) for 2 weeks. The rubber solutions were stored at 30°C for 7 days without stirring then gently stirred for 1 hour daily for 7 other days. The solution was filtered (Acrodisc 1 μm , glass fiber, Pall) and injected into a size-exclusion HPLC system consisting of an online degasser (EliteTM, Alltech), a Waters 515 pump, a refractive index detector (Waters 2410) and a multiangle laser light scattering detector (Dawn DSP, Wyatt technology Corp.). The columns were three inline PLGEL (Polymer Laboratory) mixed beds (20 μm , 7.8 mm ID x 30 cm) with a guard column. The columns were thermostated at 45°C. The mobile phase was THF, stabilized with BHT. Flow rate was 0.65 mL.min⁻¹. The injected volume was 0.15 mL. Number-average molar mass (\overline{M}_n), and weight-average molar mass (\overline{M}_w) were calculated using the ASTRA software (Wyatt Technologies Corp.). Fourteen angles, from "Angle 3" (32°) to "Angle 16" (134°), were used for calculation using the Zimm method. The differential refractive index increment (dn/dc) value used was 0.130 mL.g⁻¹.

For a given sample injected into the SEC-MALS chain, the refractive index increment of solvent and sample solution was measured by a refractive index detector (DRI). This represents the incremental refractive index change (dn) of the solution for an incremental change of the concentration (dc). ASTRA software was used for the calculation of the injected quantity of natural rubber (NR) after filtration by integrating the whole NR peak on the chromatogram. Thus, as the concentration of the solution (0.625 mg.mL⁻¹) and the injected volume (0.15 mL) were known before and after filtration, the fraction eliminated by filtration, i.e. the percentage of total gel, could be calculated as follows (equation 1) :

$$\text{Total gel content (\%)} = \left(\frac{m_0 - m_1}{m_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

m_0 = mass of sample in 0.15 mL before filtration

m_1 = mass of injected sample (calculated from SEC-MALS)

3. RESULTS

3.1 Initial micro-organism amount in inoculated latex

Clean latex (M0) contained 4.82×10^5 CFU/ml of total aerobic micro-organisms while the addition of sodium azide (M0+N) reduced this amount to 3.41×10^4 CFU/ml. Addition of inocula (M1, M2 and M5) raised this amount to 2.16×10^6 , 9.52×10^6 and 2.36×10^7 CFU/ml respectively (Fig. 1). The quantity of counted aerobic micro-organisms in inoculated latex was therefore proportional to the quantity of added inoculum.

3.2 Evolution of dry rubber content of coagula during maturation

At the first day of maturation, the average dry rubber content of all coagula inoculated was 40.5%. After 6 day of maturation, dry rubber content of coagula (DRC_c) increased up to a range of 62% -72% depending on the initial number of micro-organisms (Fig. 2). Indeed, increasing the quantity of micro-organisms decreased proportionally the dry rubber content during maturation as well as the level of the obtained plateau. The physical aspects of coagula after six days of maturation were very different (Fig. 3). The presence of growing micro-organisms was clearly illustrated by the generation of bubbles inside the coagula. On a qualitative point of view, size and number of bubbles seemed to increase with the initial quantity of micro-organisms.

The difference of DRC_c between treatments was mainly explained by a difference of fresh weight before drying (results not shown), which illustrates a higher serum retention from the coagula containing higher amount of micro-organisms. Superior water retention in inoculated coagula can be explained by two reasons: (i) gas produced by the microbiological metabolism formed bubbles inside the coagula (Fig. 3) ; the cavities formed by the bubbles, bigger and more numerous with the quantity of micro-organisms, could act as a reservoir and trap water; (ii) micro-organism activity may have degraded non isoprene compounds, especially proteins, which are known to help water migration in the hydrophobic rubber medium.¹⁷ Water may thus have been retained inside the coagula because of a lack of carrier.

3.3 Evolution of Plasticity retention index (PRI) and Wallace plasticity (P₀) during maturation

Initial PRI of rubber originating from all coagula processed 3h after coagulation were similarly high with an average value of 97.6 (SEM=1.4) (Fig. 4A). The evolution of PRI

1 during maturation was clearly dependent on the initial quantity of micro-organisms in latex.
2 Indeed, when microbial growth was prevented (M0+N), no change of PRI was observed. For
3 the three inoculated treatments (M1, M2 and M5) the drop rate of PRI was proportional to
4 the initial micro-organism concentration, even though the PRI reached after 6 days was
5 found similarly very low (<10). Concerning the non-inoculated treatment (M0), which
6 contained a low initial number of micro-organism, a less important drop was observed
7 during maturation, PRI value reached after 6 days being 70. The presence of micro-
8 organisms in latex before coagulation clearly led to a proportional increase of sensitivity to
9 thermo-oxidation (decrease of PRI). This may be explained by two phenomena: (i) micro-
10 organisms activity released pro-oxidant molecules such as free metallic ions¹⁴ or fatty
11 acids¹⁸; (ii) this activity degraded or inactivated some of the latex native anti-oxidants such
12 as tocotrienols.¹⁴ On-going studies of this anti-oxidant are in progress but it has already been
13 observed on these samples that free tocotrienols disappearance is associated with the
14 decrease of PRI (data not shown).

16 Figure 4B presents the evolution of Wallace plasticity during maturation time (0 to
17 6 days) for all treatments described previously, the main difference between treatments
18 being the initial quantity of micro-organisms. The control sample for all treatments (0 day
19 maturation time) displayed a Wallace plasticity (P_0) value about 34.1 (standard error of the
20 mean or SEM=0.35), whatever the micro-organisms quantity. When observed during
21 maturation, the evolution of P_0 was clearly dependent on the quantity of micro-organisms.
22 Indeed, when microbial activity was prevented (treatment M0+N), P_0 did not change
23 significantly while for the non inoculated treatment (M0) P_0 increased up to 45 after 6 days
24 of maturation. With inoculated ones (M1, M2 and M5), an increase of P_0 was observed for
25 the first 2 days of maturation and was followed by a drop down to 30.5, 27.5 and 27.0
26 respectively after 6 days of maturation. The observed variations of P_0 could be due to a
27 balance between hardening of rubber by crosslinking of polyisoprene chains and softening
28 by oxidative scission of polyisoprene chain during drying. In inoculated samples (M1, M2,
29 M5), despite a decrease of PRI from the first day, crosslinking seemed to counteract and
30 even to exceed scissions during the first two days, leading to an increase of P_0 . Later on,
31 after the 4th day, scission became prominent, leading to a decrease of P_0 . For non-inoculated
32 samples (M0) the crosslinking phenomenon was higher than scission during the 6 days of
33 maturation. Rubber added with antimicrobial agent (M0+N) showed a constant P_0 , which
34 illustrates equilibrium (or non-existence) of those two phenomena. The involvement of

micro-organisms in the crosslinking phenomenon is difficult to assess. It can be supposed that microbial activity interacts with polymer chain abnormal groups as well as with non-isoprene constituents, which leads to new interactions between rubber chains. Micro-organisms interestingly seemed to promote both phenomena – crosslinking and scission – which have contrary effect on P_0 . Mesostructural information (total gel and molar masses), which will be discussed below, are needed to complete those assumptions.

3.4 Evolution of P_0 , PRI and mesostructure of rubber after storage

For all treatments but M2 (considered similar as M1), measurements of P_0 and PRI were repeated before structural analysis by SEC analysis after storing the samples 80 days at room temperature. Considering the low variance among repetitions for P_0 and PRI measured just after drying, and the fact that three repetitions of the SEC analysis are realized, only one repetition of each treatment and each maturation time was taken for the re-measurement of P_0 and PRI and for the assessment of polyisoprene molar masses and total gel.

Figure 5A and 5B presents respectively the re-measured PRI and P_0 (plain line) in comparison with the initial measure just after drying (dotted line). The results obtained showed the same global trends as the ones obtained without storage, but P_0 was clearly increased because of storage hardening. This hardening, assessed by “Delta P_0 ” (P_0 measured 80 days after drying minus P_0 measured within 24 hours after drying) was in the range of 10 to 15 P_0 units for non-inoculated samples (M0 and M0+N). With the inoculated samples (M1 and M5), the shift was more important (between 15 and 22) and increased with maturation time. This is shown on Figure 6, which presents the evolution of “Delta P_0 ” with maturation time for treatments M0+N, M1 and M5. A good linear correlation between maturation time and increase of P_0 was observed for inoculated samples ($p < 0.01$). Therefore, the presence of micro-organisms in latex promoted storage hardening, and the increase of P_0 was more marked for inoculated samples matured for 4 or 6 days. This is again an illustration of the impact of microbial activity during maturation on the crosslinking of rubber chains even after drying, i.e. during storage time.

The mesostructure of the rubber after storage was also studied. Concerning the weight-average molar mass (\overline{M}_w) and the number-average molar mass (\overline{M}_n), it is worth noting that, contrarily to the other measured parameters, the initial value of molar masses from samples processed 3 h after coagulation were slightly different between treatments,

1 inoculated rubber showing slightly lower values of \overline{M}_n and \overline{M}_w (Fig. 7). \overline{M}_n followed a
2 different trend than that of \overline{M}_w during maturation. Indeed, inoculated rubber showed a stable
3 value of \overline{M}_n staying around 700 kg/mol while non inoculated samples (M0+N, M0) showed
4 an increase of \overline{M}_n over the maturation time, up to 900 kg/mol. \overline{M}_n data are delicate to
5 interpret. Indeed, on one hand, scissions would logically produce more short chains and
6 decrease \overline{M}_n while on the other hand, short chains may be involved into gel and therefore
7 not be counted in the \overline{M}_n assessment leading to its overestimation¹⁹. A slight decrease of
8 \overline{M}_w was observed with maturation time for the antibiotic treated rubber (M0+N). \overline{M}_w
9 values dropped from 1500kg/mol down to 1400kg/mol after 6 days of maturation. The \overline{M}_w
10 from M0 treatment (no inoculum, no antibiotic) showed a similar trend with a faster drop.
11 For inoculated treatments (M1 and M5), this drop was more important, \overline{M}_w reaching a
12 minimum value of around 1150 kg/mol. Interestingly, the drop rate was proportional to the
13 quantity of micro-organisms, the minimum value being reached after 1 day for M5 and after
14 4 days for M1. The weight-average molar mass (\overline{M}_w), which preferentially illustrates the
15 high molecular mass-isoprene population, confirmed that the presence of micro-organisms in
16 latex before coagulation promoted scissions. Considering the similarity of \overline{M}_w and PRI
17 evolution, those scissions are most probably due to a thermo-oxidative phenomenon which
18 occurred during drying.

19 Concomitantly, it is obvious that micro-organisms are also involved into crosslinking
20 interactions between isoprene chains during and/or after maturation (drying and/or storage)
21 as illustrated in the total gel evolution (Fig. 8). This total gel included both “microgel and
22 macrogel” as defined by Allan and Bristow²⁰, contrary to other authors who determined only
23 macrogel by centrifugation when studying the mechanisms of gel formation during storage
24 hardening of natural rubber^{21,22,23}. The control sample for all treatments (0 day maturation
25 time) displayed a very similar initial gel content with an average value of 30%
26 (SEM=0.64%). For all treatments, gel quantity increased with maturation time and reached a
27 plateau after 2 days of maturation. The value associated with this plateau was proportional to
28 the initial quantity of micro-organisms, from 45% for antibiotic treated rubber (M0+N) to
29 55% for the treatment with the highest initial micro-organism content (M5). Nevertheless,
30 for samples containing an antimicrobial agent (M0+N), an increase of gel content was also
31 observed at a lesser extent, which means that gel formation may occur without microbial
32 activity. This gel may be of a different nature as it did not impact on the P₀ of M0+N

1 samples, which remained stable during maturation. This could be a thermoreversible
2 physical gel which could have appeared during storage and disappeared during P_0
3 measurement at 100°C. Indeed, Voznyakovskii et al.²⁴ studied gel in NR by dynamic light
4 scattering and showed that increasing temperature of the solutions from 20°C to 70°C led to
5 a decrease of the mean size of the aggregates. Micro-organisms enzymatic activity may
6 catalyze reactions involved in gel formation such as the oxidation of polyunsaturated fatty
7 acid leading to formation of aldehyde groups and the release of amino acids or metallic ions.
8 In order to better understand the mode of action of micro-organisms, the study of in situ
9 enzymatic activity is necessary.

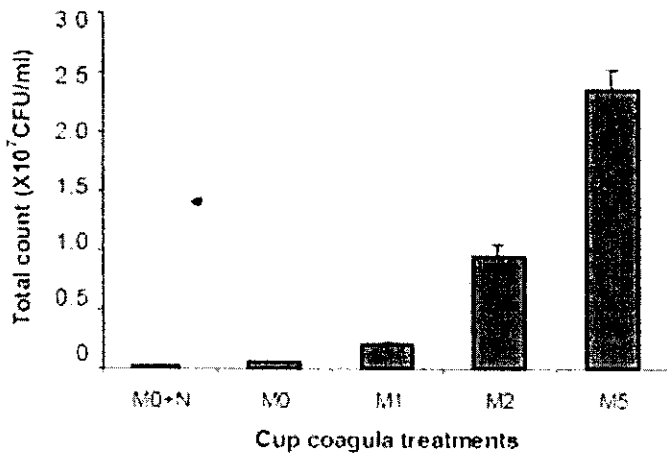
11 4. CONCLUSION

12 The initial stages of the maturation of natural rubber coagula were investigated. The
13 obtained structure and properties of dried rubber were further studied. It has been shown that
14 phenomena occurring during the first stage of maturation of rubber are complex and clearly
15 depend on the presence and the amount of micro-organisms in the initial latex. At the initial
16 stage of maturation, micro-organisms clearly enhance the sensitivity of rubber to thermal
17 oxidation while concomitantly seeming to promote crosslinking between rubber chains.
18 However, the exact mode of action of these micro-organisms is not understood, hence the
19 need to focus on the role of enzymes they secrete.

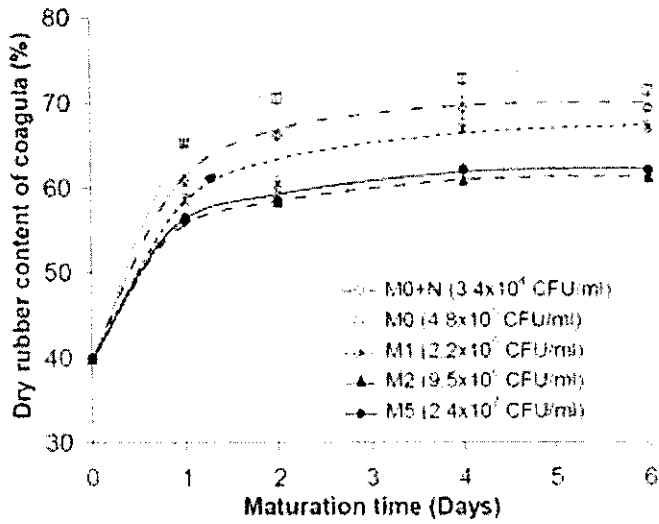
20
21 The authors would like to thank Von-Bundit Co, Ltd for providing instruments for
22 rubber properties analysis in the Surat Thani factory. Financial supports from Graduate
23 school of Prince of Songkla University, the Commission of Higher Education, Thailand and
24 the French Embassy in Bangkok are acknowledged. This work was performed in the
25 framework of Hevea Research Platform in Partnership (HRPP), Thailand. Thanks are also
26 due to Assoc. Prof. Dr. Souwalak Phongpaichit from the Microbiology Department, Faculty
27 of Science, Prince of Songkla University, for provision of micro-organisms counting
28 facilities.

5. REFERENCES

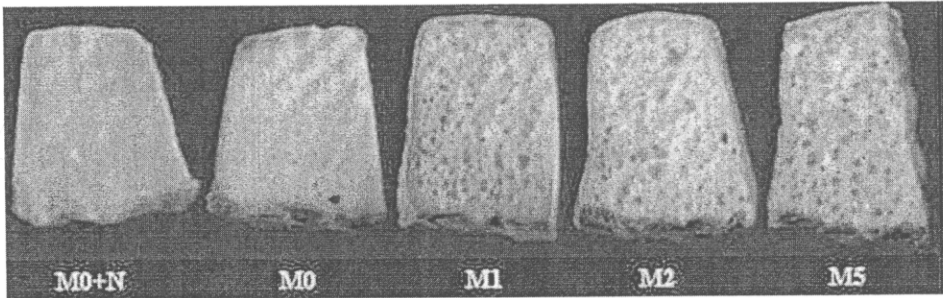
- 1
2
3 1 Watson, A.A. *J Rubb Res Inst Malaysia* 1969, 22, 104.
4 2 Solichin, IR. H. M. MP. Patent number: WO2004/029148 A1 Publication date:
5 08/04/2004. Filing date: 24/09/2002 Palembang, Sumatra, Indonesia.
6 3 Varghese, L., Thomas, K.T.; Mathew, N.M. *Proc Int Nat Rubb Conf 2005*, Kochi, India,
7 418.
8 4 Taysum D. H. *Appl Microbiol* 1957, 5, 349.
9 5 Taysum D. H. *J Appl Bact* 1958, 21, 161.
10 6 Bröker, D.; Arenskotter, M.; Legatzki, A.; Nies, DH.; Steinbuchel, A. *J Bacteriol* 2004,
11 186, 212.
12 7 Tsuchii, A.; Takeda, K.; Tokiwa, Y. *Biodegradation* 1996, 7, 41.
13 8 Heisey, RM.; Papadatos, S. *Appl Environ Microbiol* 1995, 61, 3092.
14 9 Jendrossek, D.; Tomasi, G.; Kroppenstedt, R.M. *FEMS Microbiol Lett* 1997, 150, 179.
15 10 Sato, S.; Honda, Y.; Kuwahara, M.; Kishimoto, H.; Yagi, N.; Muraoka, K.
16 *Biomacromolecules* 2004, 5, 511.
17 11 Soewarti, S.; Moh, M. *Proc Int Rubb Conf*, Kuala Lumpur, Malaysia 1975, 358.
18 12 Ehabe, E.; Le Roux, Y.; Ngolemasango, F.; Bonfils, F.; Nkeng, G.; Nkouonkam, B.;
19 Sainte-Beuve, J.; Gobina, M. S. *J Appl Polym Sci* 2002, 86, 703.
20 13 Soh Fri, P.; Nkeng, E.; Ehabe, E. *J Appl Polym Sci* 2007, 103, 2359.
21 14 Hasma, H.; Othman, A.B. *J Nat Rubb Res* 1990, 5, 1.
22 15 Intapun, J. ; Sainte-Beuve, J. ; Bonfils, F. ; Tanrattanakul, V. ; Dubreucq, E.; Vaysse, L.
23 *J. Rubb Res* 2009, 12(4).
24 16 Kim, C.; Morel, M.H.; Sainte-Beuve, J.; Guilbert, S.; Collet, A.; Bonfils, F. *J*
25 *Chromatogr A* 2008, 1213, 181.
26 17 Sainte-Beuve, J.; Sylla S.; Laigneau, J.C. *J Rubb Res* 2000, 3, 14.
27 18 Tuampoemsab, S.; Sakdapipanich J. *Kautsch Gummi Kunst* 2007, 60, 678.
28 19 Ngolemasango, F.; Ehabe, E.; Aymard, C.; Sainte-Beuve, J.; Nkouonkam, B.; Bonfils,
29 F. *Polym Int* 2003, 52, 1365.
30 20 Allen, P.W.; Bristow, G.M. *J Appl Polym Sci* 1963, 7, 603.
31 21 Sekhar, BC. *Rubb. Chem. Technol* 1962, 35, 889.
32 22 Gan, S.N. *J Membr Sci Pure Appl Chem* 1996 , 33, 1939.
33 23 Yunyongwattanakorn, J.; Tanaka, Y.; Kawahara, S.; Klinklai, W.; Sakdapipanich, J.
34 *Rubb Chem Technol* 2003, 76, 1228.
35 24 Voznyakovskii, A.P.; Dmitrieva, I.P.; Klyubin, V.V.; Tumanova, S.A. *Polym Sci Series*
36 *A* 1996, 38, 1153.
37



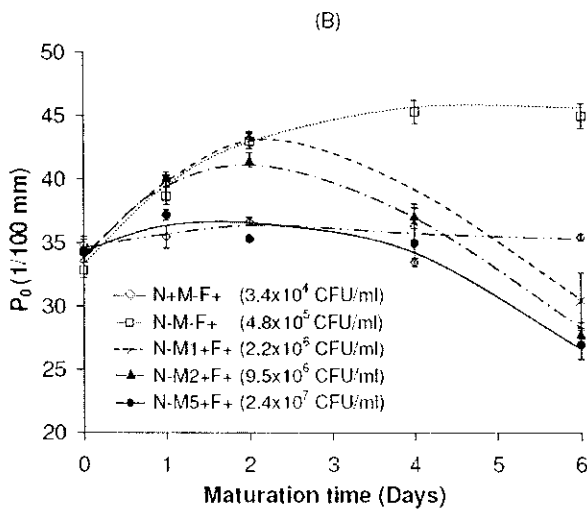
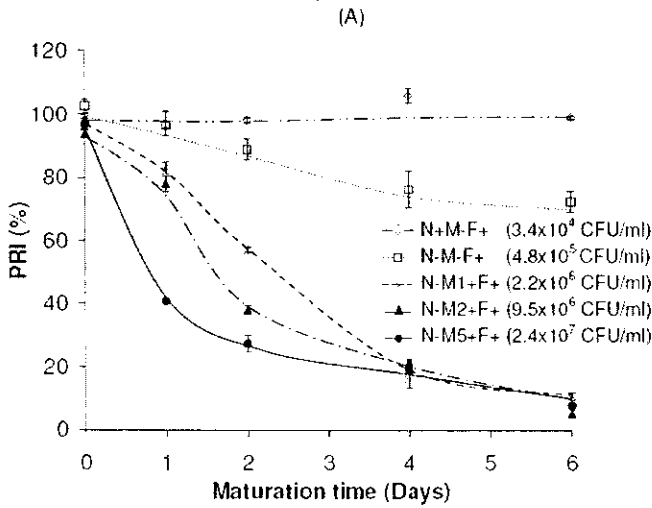
1 Initial microorganism amount in lattices for each treatment. Error bars are SEMs of three replicates.
16x11mm (600 x 600 DPI)



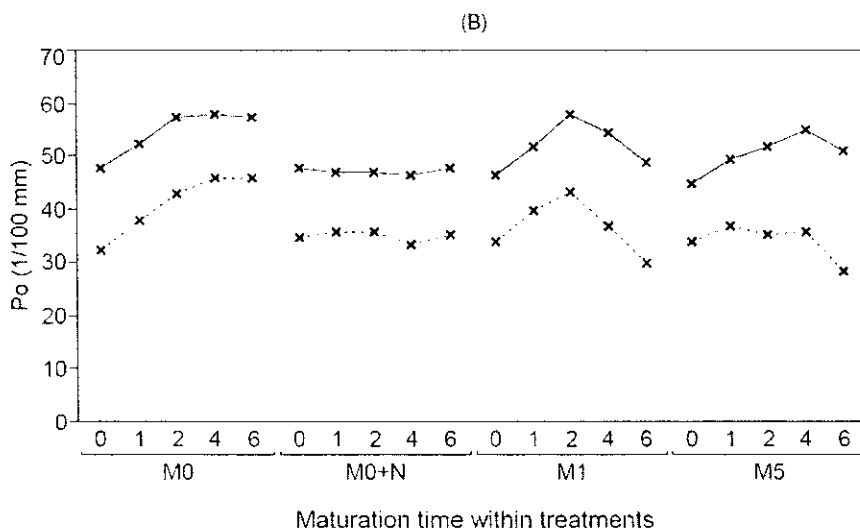
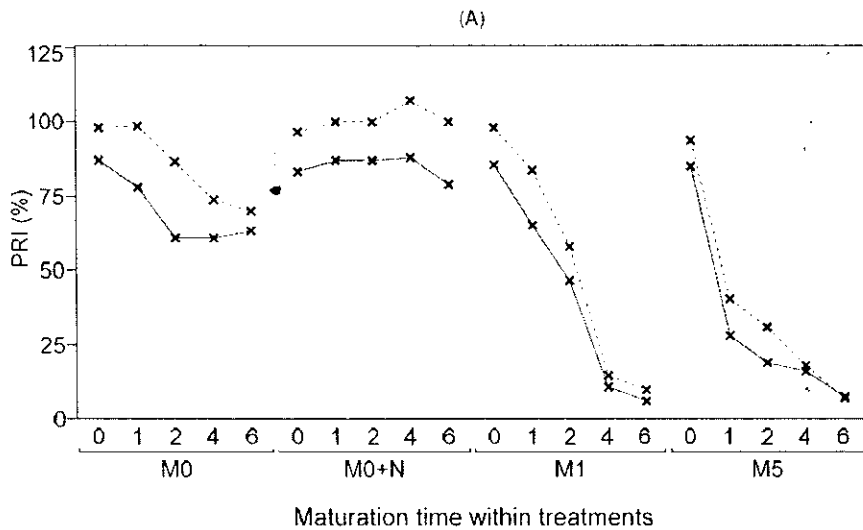
Evolution of dry rubber content of coagula (DRCc) with maturation time. Error bars are SEMs of three replicates.
15x12mm (600 x 600 DPI)



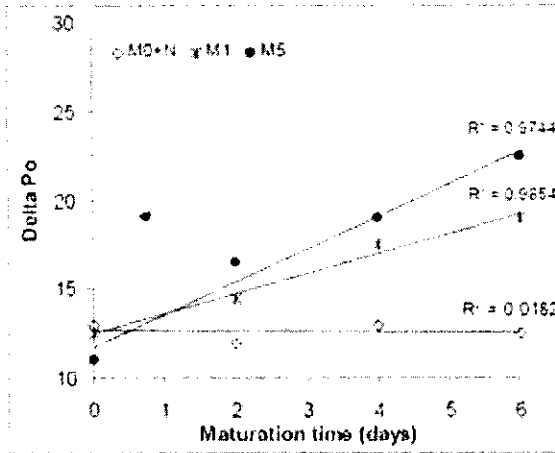
Central sections of cup coagula after 6 days of maturation, with different initial levels of micro-organisms inoculation.
22x7mm (600 x 600 DPI)



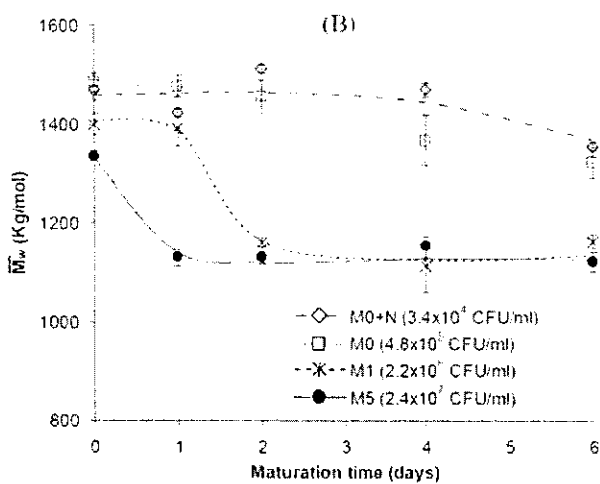
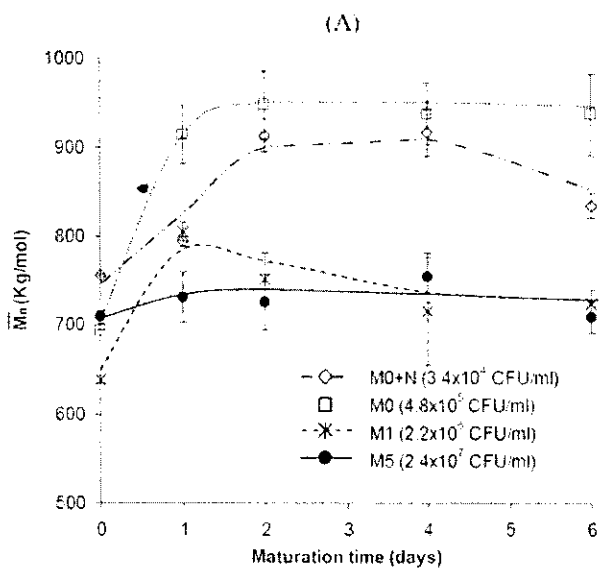
Evolution of PRI (A) and P₀ (B) with maturation time. Measurement performed within 24h after drying (Error bars are SEMs of three replicates).
104x173mm (600 x 600 DPI)



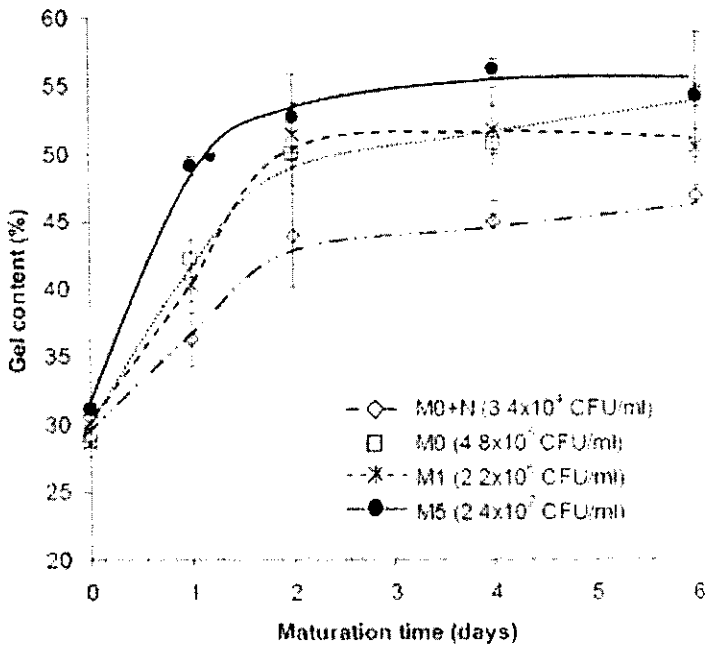
Evolution of PRI (A) and P₀ (B) with maturation and storage time. Measurements performed after 80 days of storage (solid lines) compared with initial ones (dashed lines).
72x92mm (600 x 600 DPI)



Effect of the maturation time on the increase of P0 during 80 days storage. The solid lines are linear regressions, Coefficient of determination R^2 are indicated nearby the corresponding straight lines.
14x11mm (600 x 600 DPI)



Evolution of Mn (A) and Mw (B) with maturation time after 80 days of storage. Error bars are SEMs of three replicates.
26x45mm (600 x 600 DPI)



Evolution of Total Gel content with maturation time after 80 days of storage. Error bars are SEMs of three replicates.

18x16mm (600 x 600 DPI)

Figure 1 Initial microorganism amount in lattices for each treatment. *Error bars are SEMs of three replicates.*

Figure 2 Evolution of dry rubber content of coagula (DRC_c) with maturation time. *Error bars are SEMs of three replicates.*

Figure 3 Central sections of cup coagula after 6 days of maturation, with different initial levels of micro-organisms inoculation.

Figure 4 Evolution of PRI (A) and P_0 (B) with maturation time. Measurement performed within 24h after drying (*Error bars are SEMs of three replicates*).

Figure 5. Evolution of PRI (A) and P_0 (B) with maturation and storage time. Measurements performed after 80 days of storage (solid lines) compared with initial ones (dashed lines).

Figure 6 Effect of the maturation time on the increase of P_0 during 80 days storage. *The solid lines are linear regressions, Coefficient of determination R^2 are indicated nearby the corresponding straight lines.*

Figure 7 Evolution of \overline{M}_n (A) and \overline{M}_w (B) with maturation time after 80 days of storage. *Error bars are SEMs of three replicates.*

Figure 8 Evolution of Total Gel content with maturation time after 80 days of storage. *Error bars are SEMs of three replicates.*

Table I Preparation of applied treatments

Treatment	M0+N	M0	M1	M2	M5
Clean Latex (mL)	1000	1000	1000	1000	1000
10% Sodium azide solution (mL)	16	-	-	-	-
Inoculum (mL)	-	-	14	28	-
Concentrated inoculum 2.5X (mL)	-	-	-	-	28
Sterile 0.9% NaCl (mL)	12	28	14	-	-
<i>Total volume (mL)</i>	<i>1028</i>	<i>1028</i>	<i>1028</i>	<i>1028</i>	<i>1028</i>

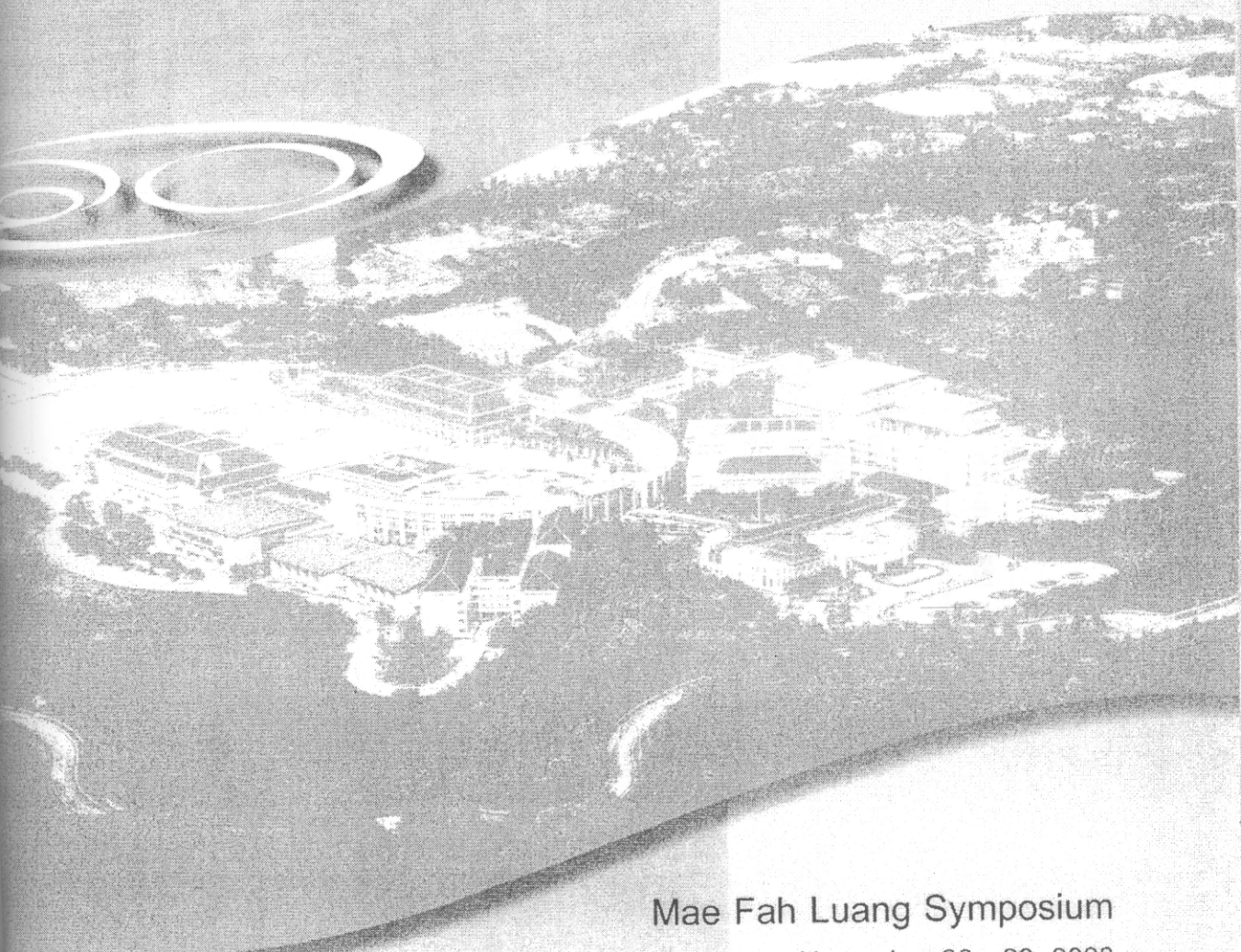
Table II Microbial population in the inoculum

Micro-organisms	Specific media	Culture conditions	Total count (CFU/ml)
Total aerobic	PCA (Difco, USA)	35-37°C for 24-48 h	8.7×10^8
Total anaerobic	PCA (Difco, USA)	35-37°C for 24-48 h in anaerobic jar	1.1×10^9
Gram + bacteria	MSA (Difco, USA)	35-37°C for 24-48 h	4.2×10^8
Gram – bacteria	Mac Conkey agar (Merck, Germany)	35-37°C for 24-48 h	3.2×10^8
Lactic acid bacteria	MRS (Difco, USA)	35-37°C for 24-48 h	4.1×10^7
Yeasts and Moulds	MEA (Difco, USA)	25°C for 72 h	8.5×10^7

ภาคผนวก ค

Proceedings 2008

10 ปีวิชาการแม่ฟ้าหลวง
26 - 28 พฤศจิกายน 2551
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย



Mae Fah Luang Symposium

November 26 - 28, 2008

Mae Fah Luang University,

Chiang Rai, Thailand

กำหนดการ
การนำเสนอผลงาน ภาค Oral Presentation
กลุ่ม Science and Technology Development วันที่ 26 พฤศจิกายน 2551

เวลา	ห้องที่ 1	ห้องที่ 2	ห้องที่ 3	ห้องที่ 4
13.00 - 13.30	เรื่อง "Outlook of Asian Honeybees" โดย ศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ วงศ์ศิริ	เรื่อง "การหารูปแบบการพัฒนาของตัวสอดแทรกกลโหระภายในโครงสร้างแขนงค้ำขาจากการผลิตของสิ่งมีชีวิต" โดย อาจารย์พัชราภรณ์ บุญยวานิชกุล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	เรื่อง "Superabsorbent Polymers and Its Applications" โดย ศาสตราจารย์ ดร.สุภา เกียรติกิจรุ่งวงศ์	เรื่อง "IT กับการสร้างแบบจำลอง" โดย ศาสตราจารย์ ดร.ชิตชนก เหลือสินทรัพย์
13.30 - 13.45	เรื่อง "ผลของวิธีการให้ควมร้อนต่อปริมาณไข่โมลโตบิน เหล็กในรูปไข่ไม่อยู่ในรูปไข่ การเกิดเมทาโมลโตบิน และการเกิดออกซิเดชันของไข่ในไข่โมลโตบิน ส่วนสะโพกทั้งชิ้นในระหว่างการเก็บรักษา" โดย คุณจุฑาภรณ์ ลีวา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	เรื่อง "การนำเทคโนโลยีระบบอัตโนมัติมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกลุ่มอุตสาหกรรมการผลิตชิ้นส่วนเครื่องจักรกล และอิเล็กทรอนิกส์" โดย ศศ.ดร. สมเกียรติ กอบบัวแก้ว มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา	เรื่อง "การศึกษานิวทริฟลงของออกไซด์สังกะสีส่งผลต่อคุณภาพของของอบตัดชิ้นงาน" โดย อาจารย์ศุภกมลกริช ละววรรณวงษ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์วิทยาเขตวังไกลกังวล	เรื่อง "แบบจำลองโครงข่ายประสาทเทียมสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพแป้งชนิด" โดย คุณนงนิจนัทร์ ชูราษฎร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
13.45 - 14.00	เรื่อง "การศึกษาสภาพที่หมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลกลีสนรสเทียมอบโดยวิธีการพ่นที่ตอบสนอง" โดย คุณณัฐษา เทต่ากุลติติก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	เรื่อง "การนำเทคโนโลยีระบบอัตโนมัติมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกลุ่มอุตสาหกรรมการผลิตชิ้นส่วนเครื่องจักรกล และอิเล็กทรอนิกส์" โดย ศศ.ดร. สมเกียรติ กอบบัวแก้ว มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา	เรื่อง "Characterization of industrial natural rubber coagulum maturation and its dry rubber properties" โดย คุณจุฑาภรณ์ อินทาบัน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	เรื่อง "การวิเคราะห์ความเสื่อมแบบเคอร์ด้วย ภาพด้วยความร้อน" โดย อาจารย์อาทิตย์ ยาสุซุซึ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุรนานา เชียงราย

คุณลักษณะของการบ่มยางก้อนด้วยจากยางธรรมชาติในอุตสาหกรรมและสมบัติของยางแห้ง
**Characterization of industrial natural rubber coagula maturation
 and dry rubber properties**

จุฑารัตน์ อินทปุ่น^{1,5}, Eric Dubreucq², Jérôme Sainte Beuve³, Frédéric Bonfils³,
 Laurent Vaysse⁴, วราภรณ์ ตันรัตนกุล¹

¹ Polymer Science Program, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hadyai 90110, Thailand

² Montpellier SupAgro, UMR IATE, 2 Place Viala, 34060 Montpellier cedex, France

³ Cirad, UMR IATE, 34000 Montpellier, France

⁴ Cirad, UMR IATE, DORAS Center, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

⁵ Corresponding author: jintapun@yahoo.com

บทคัดย่อ

ในทางปฏิบัติของโรงงาน วัตถุประสงค์ยางก้อนด้วยที่รู้จักกันซึ่งได้จากการจับตัวตามธรรมชาติของน้ำยางฮีเวียภายในถ้วยรับน้ำยาง จะทำการบ่มไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่งก่อนนำเข้าสู่การแปรรูปเป็นยางแห้ง (Technically Specified Rubber :TSR) ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้สนใจคุณลักษณะทางเคมีและชีวภาพของสภาวะการบ่ม (อุณหภูมิ, ความชื้นสัมพัทธ์, ปริมาณออกซิเจน) และสมบัติของยาง (ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าความยืดหยุ่นเริ่มต้น, ค่าดัชนีความอ่อนตัว และโครงสร้างโมเลกุล) ที่ทำการบ่มในระดับความลึกต่างๆภายในกองยางก้อนด้วย จากผลการทดลอง พบว่าอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ภายในกองยางเพิ่มขึ้นตามระดับความลึกของกอง (34°C และ 66 % ณ จุดด้านบนของกองและเพิ่มเป็น 39°C และ 90% ที่ความลึก 2 เมตร) ในทางตรงกันข้ามออกซิเจนมีปริมาณลดลง เมื่อพิจารณาสมบัติของยาง พบว่าความยืดหยุ่นเริ่มต้น (P_0), ค่าดัชนีความอ่อนตัวของยาง (PRI) และน้ำหนักโมเลกุลโดยเฉลี่ยโดยน้ำหนักของยางก้อนด้วยมีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับความลึกภายในกอง ในขณะที่ค่า pH ลดลง และพบว่าค่าการเพิ่มขึ้นของค่า P_0 ได้แสดงความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณเจลและน้ำหนักโมเลกุลของยาง จากผลการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าสภาวะแวดล้อมภายในกองยางก้อนด้วยและการทำงานของจุลินทรีย์น่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติยางก้อนด้วยในช่วงเวลาการบ่ม

คำสำคัญ : น้ำยาง *Hevea Brasillien*; ยางธรรมชาติ; ยางก้อนด้วย; การบ่ม; ดัชนีความอ่อนตัวของยาง; ความยืดหยุ่นเริ่มต้นของยาง ; จุลินทรีย์

Abstract

In factory practice, the so-called cup coagula, resulting from the natural coagulation of *hevea* latex in collection cups, are stored in piles for a variable period of time before being processed as Technically Specified Rubber (TSR). The present work focused on the characterization of physico-chemical conditions [temperature, relative humidity (RH) and oxygen content] and rubber properties [pH, Wallace initial plasticity (P_0), Plasticity retention index (PRI) and mesostructure] at different depths from the top of the piles. It was found that temperature and RH within the piles increased with depth (34°C and 65% RH at the top, 39°C and 90% RH at 2 m deep in average) whereas oxygen content decreased. Rubber properties P_0 , PRI and weight average molar mass (M_w) of the processed rubber also increased with the depth, however pH decreased. Increasing of P_0 indicated positive correlation with gel content and molar mass of polyisoprene with the depth. The results of this study suggest that environment conditions within storage piles maturation and some microbial activities may play an important role in the evolution of some physico-chemical properties of cup coagula.

Keywords: *Hevea brasiliensis*; natural rubber; cup coagula; maturation; plasticity retention index (PRI); initial plasticity; microorganisms

1. Introduction

The raw materials used for STR production are cup coagula and low grade rubber sheet produced from smallholder plantations¹. Both raw materials are bought directly by STR factory or through middle man. In factory practice, cup coagula are stored for a variable period of time before processing. This storage time is called as maturation period. This step is sometimes requested in order to improve the consistency and value of specified indicators of rubber quality such as Wallace initial plasticity (P_0) and Plasticity retention index (PRI). PRI reflects the susceptibility of the product to thermo-oxidation, whereas P_0 provides information on the rheological behavior of the raw material. The conditions and the phenomena that occur during this maturation period are still not well characterized. Changes in PRI have been attributed to the deterioration of natural antioxidants in the coagula during maturation.² Chin stated that the maturation of coagula and their storage environment have a marked effect on the viscosity and thermo-oxidative degradation of processed dry rubber.³ More recently, Varghese showed clearly that the treatment of the coagula by a bactericide could retain the PRI at a high level and reduce the storage hardening of the processed rubber.⁴

Understanding these phenomena could allow industrials to control and eventually shorten this costly storage period. For this purpose, and as a preliminary study before conducting experiments in laboratory controlled conditions, the present work focused on the characterization of the conditions of maturation prevailing in coagula storage piles on an industrial site.

2. Materials and Method

Cup coagula pile

The study was carried out in Von-Bundit Co. Ltd. factory (Suratthani province, Thailand) during February and March 2008. Cup coagula (cup lumps) were received on 12/02/2008 from different suppliers and stored as a pile about 3 m height. The pile was stored outdoor and was exposed to sunlight for a total of 24 days of maturation before being transferred to processing chain.

Measurement of cup coagula pile maturation conditions

Upon delivery of the cup lumps to the factory, cup coagula were mixed using a bulldozer in order to homogenize the material within the pile. Two drilled stainless steel tubes (300x5.1 cm, 0.5 cm diameter holes, 3000 holes/m²), were placed vertically inside the pile. The measurement of temperature and oxygen concentration was performed by inserting in the tubes a dedicated probe (Conox 3, VWR GmbH, Weilheim, Germany) connected to a multimeter (Multi 350 model, VWR GmbH, Weilheim, Germany). The measurements were performed at 0, 50, 100, 150, and 200 cm from the top every 3 days for 24 days. Each day of measurement, the operation was repeated at 8h00, 12h00, and 16h00. Probes were properly calibrated following supplier's instructions.

Specification of raw rubber

Sampling

Sampling procedure is described on diagram 1. On the delivery day, 3 samples of 10 kg of fresh cup coagula were collected in the vicinity of each stainless steel tubes as representative samples (total 60 kg) of the fresh cup coagula. On the processing day, after 24 days of maturation, 10 kg samples of matured cup coagula were collected around each stainless steel tube at the top and at the 4 depths mentioned above.

Crepping and drying of cup coagula samples

The samples were processed following factory procedure. The 10 kg samples were creped in a Lihoe Co. Ltd. (Selangor, Malaysia) crepper (nip = 5 mm, friction ratio = 1:1.56, 3 single passes, 18 double passes). The obtained crepes were dried in an industrial crumb rubber dryer (Golsta, Melaka, Malaysia) at 129 °C for 3 hours.

pH

Inner pH of fresh and matured cup coagula was measured with a penetrating probe (Sentix SP S7, Weilheim, Germany) connected to a Multi 350 data logger (VWR GmbH, Weilheim, Germany). The probe was inserted at the heart of 10 cup coagula from each of the 10 kg samples.

Initial Plasticity (P_0) and Plasticity Retention Index (PRI)

A 250 g sample was cut from the dry rubber crepe obtained previously. This sample was homogenized following SMR bulletin 7, part. B.2, 1992 standard. Initial Wallace plasticity (P_0) was determined according to ISO 2007:1995 while plasticity retention index (PRI) was determined according to ISO 2930:1995.

Mesostructure and Gel content of rubber

The 25 ± 2 mg of homogenous rubber sample was dissolved in 40 ml of tetrahydrofuran (THF) stabilized with 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) for 2 week. The rubber solutions are stored at 30°C for 7 days without stirring and gently stirred for 1 hour periodically for 7 days after. The solution was filtrated through $1\ \mu\text{m}$ membrane and injected into the SEC-MALLS apparatus.

Gel content (%) was calculated as follows:

$$\text{Total gel content (\%)} = \left(\frac{M_0 \times M_1}{M_0} \right) \times 100$$

M_0 = mass of sample before filtration

M_1 = mass calculated from SEC-MALLS

3. Results and Discussion

Maturation conditions in cup coagula pile

Oxygen content, temperature and relative humidity of air were measured at different depths within cup coagula piles after 1, 7 and 19 days of maturation are shown in Figures 1 to 3. The oxygen content of the air contained in cup coagula piles decreased as the depth increased (Figure 1). At the top of the pile, oxygen content was 16-18% and decreased to less than 5% below 100 - 150 cm. This gradient, driven by oxygen consumption by microbiological oxidation reactions, did not change significantly during the studied period.

Air temperature in cup coagula piles increased with the depth. Temperature in the morning was 10°C lower than at the noon and afternoon. At the top of the piles, average temperature was 34°C (Figure 2). This value depended mainly on weather conditions and time of measurement. Temperatures at 50-100 cm and 150-200 cm below the top were 36°C and 39°C on average and respectively. This temperature gradient is determined by a combination of the exothermic metabolic activity of microorganisms inside the pile.

The relative humidity (RH) in cup coagula piles also increased with the depth, especially at mid-day and in the afternoon with values ranging from 45-55% on the top of the pile to 85-90% at 200 cm depth (Figure 3). In the morning, RH was in a closer range (75-95%) in all the locations within the pile, probably due to a lower evaporation on pile surface and the lower temperature of the air.

Temperature, humidity and oxygen content are key factors controlling the development and activities of microorganisms. A vertical gradient of value has been measured for all of these parameters in the pile. This suggests that the microbial population could differ in terms of species and activities according to the location of cup coagula within the pile.

Properties of cup coagula

The average pH of fresh cup coagula (day 0) was 5.7 ± 0.2 (Figure 4). After 24 h of maturation, the pH of cup coagula at the top of the pile rose to 7.5. The increase of pH might be due to the release of ammonia during the degradation of latex proteins by microorganisms.⁵ However, a clear pH gradient was observed in the coagula piles, with pH values decreasing gradually from the top to the 200m depth (7.5 to 6.5). Acid production by anaerobe microorganisms such as *Clostridium* sp., *Lactobacillus* sp. and *Streptococcus* sp. may explain lower pH in locations with low oxygen content, i.e. in the deeper parts of the piles.⁶

After 24 days of maturation, it was found that P_0 increased with the depth, with value at the top of piles ($P_0=25$) and a higher one for coagula collected deeper than 150 cm ($P_0 = 38.7$) (Figure 5). Low P_0 at the top may be due to the degradation of polymer chains by UV radiations from sunlight⁷ while the higher P_0 deeper in the pile may be related to higher cross-linking between rubber chains and low degradation during maturation. Scission and cross-linking are indeed two antagonist phenomena that play an important role in the modification of the rheological properties of raw rubber during maturation.⁸

Plasticity retention index indicates the potential resistance to thermal oxidation. As shown on Figure 6, PRI of rubber from fresh cup coagula was 24 on average, which is significantly below TSR20 standard that requires a minimum value of 40. After maturation, PRI increased with the depth in the pile, reaching values above 41.6 when coagula were collected deeper than 150 cm under top.

Mesostructure and gel content of cup coagula from different vertical locations in the pile were analyzed by SEC-MALS. It was found that the gel content and M_w value increased with the depth of the piles (Figure 7 and Figure 8) and indicated positive correlation with P_0 and PRI of cup coagula. Higher resistance to thermo-oxidation of cup coagula at the deeper may be due to lower degradation and some crosslinking occurred during this maturation time.

4. Conclusion

This study was undertaken in order to characterize the cup coagula pile maturation conditions of cup coagula maturation in an industrial plant. It was found that temperature and relative humidity of the air increased with the depth. In contrast, oxygen content of the air within the pile was found to decrease as the depth increased. Rubber properties were found to depend not only on the maturation time but also on the position of cup coagula within the pile. Comparison between initial (delivery day) and final properties showed the following averaged changes: increase of pH (5.7 vs 6.9), P_0 (25.6 vs 35), PRI (23.5 vs 34.2). The pH of matured cup coagula decreased significantly with the depth of the pile. An inverse pattern was observed for P_0 (from 25.9 at top to 41.6 at 200 cm), gel content (from 41.0 to 50.6) and weight average molecular weight (M_w) (from 870 kg/mol to 1456 kg/mol) Maturation time requirement are concerned to increase the properties of resistance to thermo-oxidation of cup coagula.

Acknowledgements

The authors would like to thank Von-Bundit Co, Ltd for providing samples and process facilities in the Surat Thani factory. Financial supports from Prince of Songkla University and the Commission of Higher Education, Thailand and the French Embassy in Bangkok are acknowledged.

5. References

- ¹ K. Luckchai, The Thai Rubber Association, Shanghai, 28-29 May 2008 (2008).
- ² H. Hasma, and A.B. Othman, *Journal of Natural Rubber Research*, **5**, 1-8 (1990).
- ³ P.S. Chin, Y.B. Soh, and N.M. Pillai, Conference, Kuala Lumpur, Malaysia, pp. 312-323 (1971).
- ⁴ L. Varghese, K.T. Thomas and N.M. Mathew, *Proceedings of International Natural Rubber Conference*, Kochi, India, pp. 418-421 (2005).
- ⁵ S. Soewarti, and M. Moh, *Proceedings of the International Rubber Conference*, Kuala Lumpur, Malaysia, pp. 358-366 (1975).
- ⁶ D.H. Taysum, *Proceedings of Natural Rubber Research Conference*, Kuala-Lumpur, Malaysia, pp. 858-871 (1969).
- ⁷ A.A. Watson, *Journal of Rubber Research Institute of Malaysia*, **22**, 104-119 (1969).
- ⁸ E. Ehabe, Y. Le Roux, F. Ngolemasango, F. Bonfils, G. Nkeng, B. Nkouonkam, J. Sainte-Beuve, M. S. Gobina, *Journal of Applied Polymer Science*, **86**, 703-708 (2002).

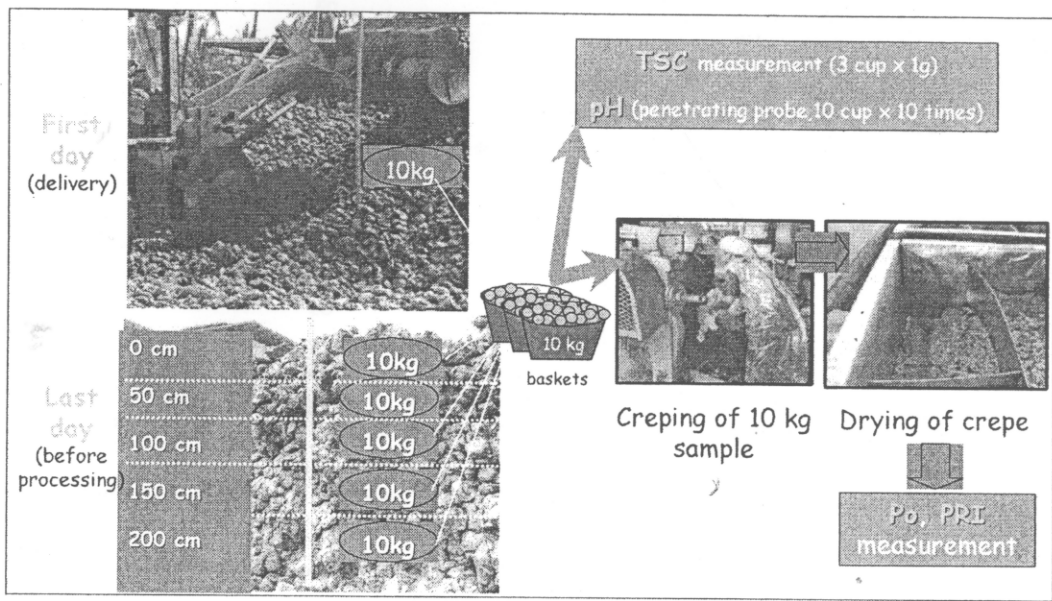


Diagram 1 : Cup coagula sampling for rubber physical properties determination

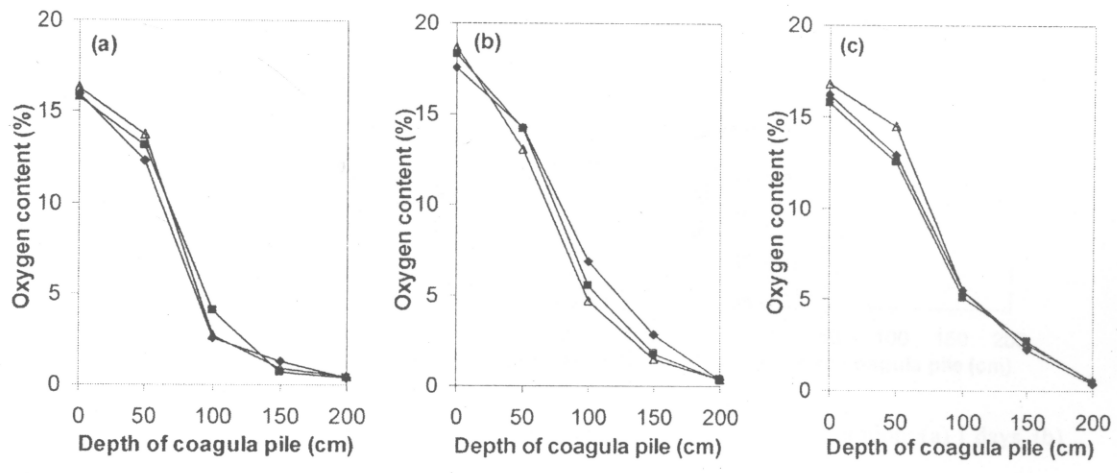


Figure 1. Oxygen content in coagula piles at different depths from top for each maturation duration: (a) 1 days, (b) 7 days and (c) 19 days

Measurements were performed at 8 am (◆), noon (■) and afternoon (▲)

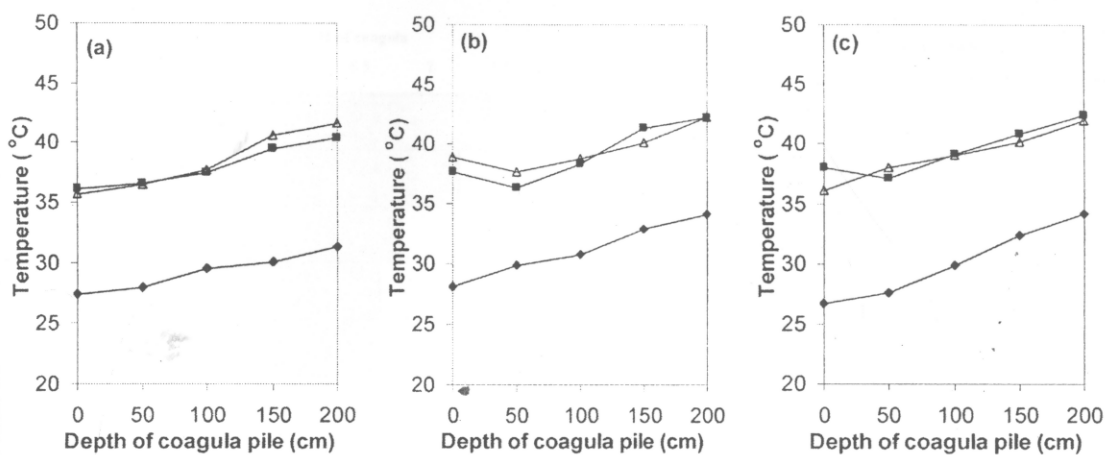


Figure 2. Temperature in coagula piles at different depths from top for each maturation duration: (a) 1 days, (b) 7 days and (c) 19 days.

Measurements were performed at 8 am (—◆—), noon (—■—) and afternoon (—△—)

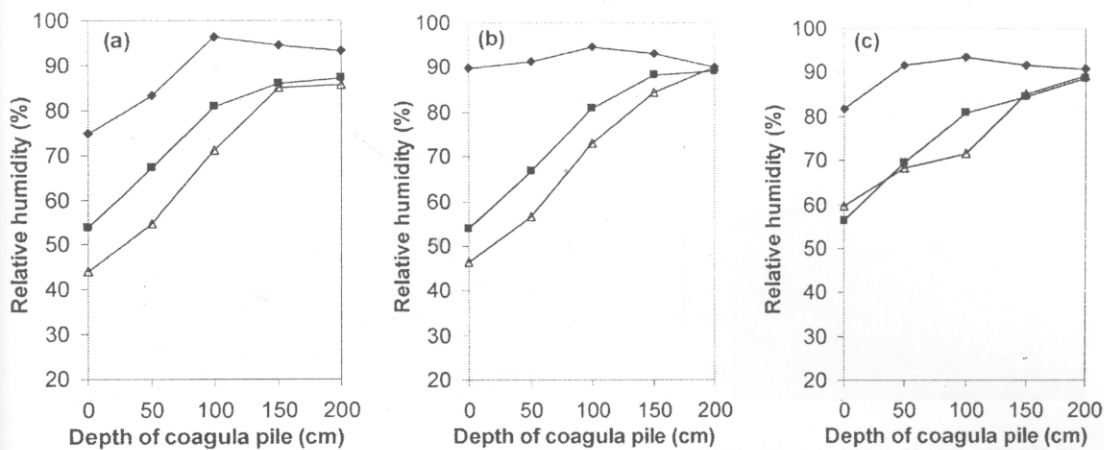


Figure 3. Air Relative humidity in coagula piles at different depths for each maturation duration: (a) 1 days, (b) 7 days and (c) 19 days.

Measurements were performed at 8 am (—◆—), noon (—■—) and afternoon (—△—)

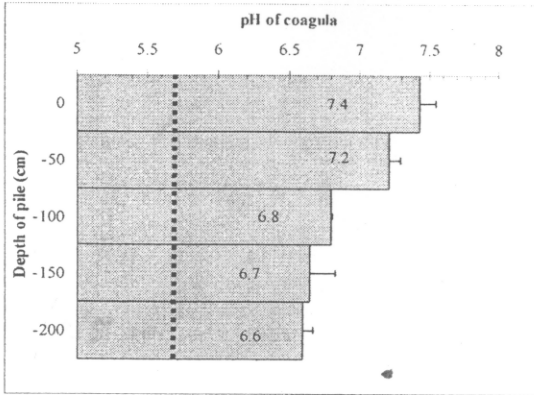


Figure 4. pH of cup coagula in maturation piles at different depths from top of 24 days of maturation, first day (-----).

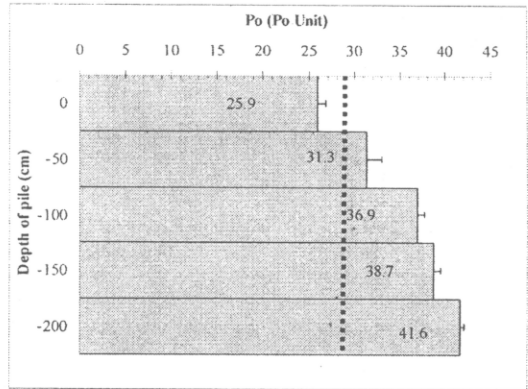


Figure 5. Po of cup coagula in maturation piles at different depths from top of 24 days of maturation, first day (-----).

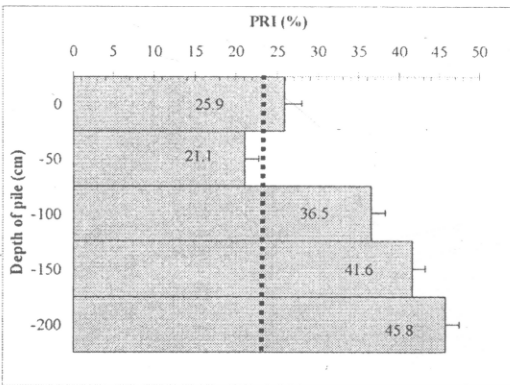


Figure 6. PRI of cup coagula in maturation piles at different depths from top of 24 days of maturation, first day (-----).

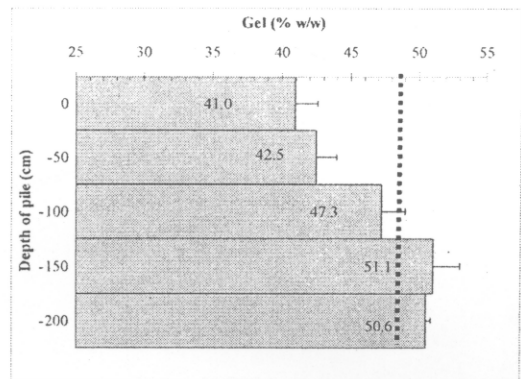


Figure 7. Gel content of cup coagula in maturation piles at different depths, first day (-----).

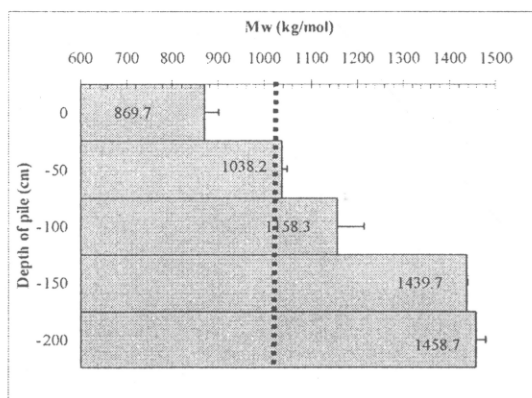


Figure 8. M_w of cup coagula in maturation piles at different depths from top of 24 days of maturation, first day (-----).