บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์และตัวอย่างอากาศจากสวนยางพาราและโรงงานผลิตยางแท่ง บมจ.ศรีตรังแอโกรอินดัสทรี ที่ตั้งอยู่ในจ.อุบลราชธานี โดยตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้นี้จะนำไปคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ ระบุชนิดเชื้อ โดยนำตัวอย่างมาทำ Serial dilution จากนั้นนำมา Streak บน Nutrient Agar Plate เลี้ยงเชื้อข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เลือก 1 โคโลนีทำการ Streak plate และทำ Gram stain เพื่อดูชนิดของแบคทีเรีย เมื่อได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ จะนำมาทำการสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณดีเอนด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ทำการเพิ่มปริมาณคือ 16s rRNA จากนั้นเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณกับฐานข้อมูล และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) เพื่อระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย จากการทดลองพบแบคทีเรียทั้งหมด 39 ชนิด และมีเชื้อแบคทีเรียเพียง 18 ชนิด ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารสำหรับคัดเลือกเชื้อ (Selective media) ที่เตรียมจากน้ำยาง เมื่อทำการทดสอบกลิ่นจากเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ เตรียมยางก้อนที่ผลิตโดยสวนยางมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆขนาด 0.5 cm^3 ชั่งก้อนยางนี้ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 3 กรัม นำไปฆ่าเชื้อ (สภาวะที่ใช้ฆ่าเชื้อคือ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที) จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการคัดแยก 18 ชนิดข้างต้น โดยทำการดมกลิ่นเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องครบ 1 วัน 3 วัน และ5 วัน พบว่า สามารถจัดกลุ่มของเชื้อตามความเหม็นของกลิ่นที่ได้จากการดม (นักวิจัย 5 คน) ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเชื้อที่ให้กลิ่นเหม็นมาก ปานกลาง และน้อย โดยเชื้อแบคทีเรียที่ให้กลิ่นเหม็นมากได้แก่ *Cedecea davisea*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Kurthia gibsonii*, *Lysinibacillus xylanilyticus*, *Proteus mirabillis*, *Proteus vulgaris*, *Stenotrophomonas maltophilia* เป็นต้น การวิเคราะห์องค์ประกอบของกลิ่นในยางก้อนถ้วยเพื่อตรวจสอบองค์ประกอบของกลิ่นซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ในกระบวนการผลิตยางก้อนถ้วย โดยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค static headspace ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วย GC-MS ตัดตัวอย่างยางก้อนถ้วยให้มีขนาดเล็กน้ำหนัก 5 กรัมบรรจุลงในขวดแก้วขนาด 60 มล. แล้วให้ความร้อนเพื่อให้สารระเหยเป็นไอ แล้วจึงดูดอากาศบริเวณช่องว่างเหนือตัวอย่างไปฉีดเข้าวิเคราะห์โดยเทคนิค GC-MS ตัวอย่างยางก้อนถ้วยที่นำมาทดสอบคือยางก้อนถ้วยที่จับตัวด้วยกรดฟอร์มิกและกรดซัลฟิวริก ยางก้อนถ้วยจากสวนยางพาราตัวด้วยกรดฟอร์มิกและกรดซัลฟิวริก และยางก้อนถ้วยจากโรงงานผลิตยางก้อนถ้วย ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกลิ่นจากยางก้อนถ้วยพบว่าสารระเหยจากยางก้อนถ้วยมีกรดไขมันระเหยง่ายเป็นองค์ประกอบคือ acetic acid,

propanoic acid, butanoic acid, 2-methylpropanoic acid, pentanoic acid, และ isovaleric acid โดยการจับตัวยางด้วยกรดฟอร์มิกและซัลฟิวริกมีองค์ประกอบที่พบเหมือนกันและพบว่าการใช้กรดฟอร์มิกเพื่อให้ยางจับตัวมีปริมาณของ Acetic ที่สูงกว่าการจับตัวด้วยกรดซัลฟิวริกและปริมาณของกรด acetic, 2-methyl-propanoic, butanoic, และ pentanoic มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ยางก้อนถ้วยจากสวนยางพบกรด butyric ปริมาณสูงกว่ากรดชนิดอื่นๆ และลดลงเมื่อระยะอายุยางเพิ่มขึ้น ลักษณะของโปรไฟล์กลิ่นมีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายแต่ละชนิดที่ต่างกันในแต่ละอายุของยางก้อนถ้วย จากการทดลองโดยเทคนิค GC-MS จะใช้ในการสนับสนุนผลจากการศึกษาการคัดแยกจุลินทรีย์เพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตกลิ่นจากการย่อยน้ำยางในกระบวนการตกตะกอนเป็นยางก้อนถ้วยในระดับห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างอากาศที่เก็บในถุงเก็บอากาศและบนตัวดูดซับชนิด coconut shell charcoal มีลักษณะโปรไฟล์ที่ต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบโปรไฟล์ของกลิ่นที่คาดว่าจะไม่ก่อให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์โดยการเปรียบเทียบระหว่างแก๊สที่บริเวณทางเข้าและทางออกของดิโอไรเซอร์พบว่าองค์ประกอบของแก๊สที่ทางเข้าและทางออกของดิโอไรเซอร์มีองค์ประกอบที่เป็นสารในกลุ่มกรดไขมันระเหยง่าย กลิ่นไม่พึงประสงค์ภายในบริเวณโรงงานผลิตเกิดจากหลายโดยสาเหตุหนึ่งมาจากวัตถุดิบยางก้อนถ้วยและน้ำเซรุ่ม

Abstract

This research collected microbial samples and air samples from rubber plantations and block rubber production plants. Sri Trang Agro-Industry Plc. Located in Ubon Ratchathani Province. This sample of microorganisms will be used to separate the pure bacteria. Identify the type by using serial dilution, then bring Streak on the Nutrient Agar Plate to feed the bacteria overnight at a temperature of 37 ° C. Choose 1 colony. Perform Streak plate and make Gram stain to see the type of bacteria. When obtained pure bacteria will be used to extract DNA and increasing DNA by Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. The DNA fragments that increase the volume are 16s rRNA. And analysis of evolutionary (phylogenetic analysis) to identify the type of bacteria. The result shown that 39 species of bacteria were found and only 18 species of bacteria were able to grow in selective media prepared from latex. When testing the odor from pure bacteria in the laboratory prepare the rubber that is produced by rubber plantations, cut into small pieces of 0.5 cm3, weighing in this rubber tube, put in a test tube of 3 grams each and then autoclave samples, Add the bacteria that have been sorted by 18 types above by sniffing when left at room temperature for 1 day, 3 days and 5 days. Found that the group of bacteria can be classified according to the smell of the smell from the inhalation (5 researchers) into 3 groups: a group of bacteria that give a very foul odor, moderate and low by bacteria that give a very bad smell, including *Cedecea davisea, Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumonia, Kurthia gibsonii, Lysinibacillus xylanilyticus, Proteus mirabillis, Proteus vulgaris, Stenotrophomonas maltophilia* etc. Analysis of the composition of unpleasant odor from cup lumps by static headspace couple to GC-MS. The optimal condition for sample preparation of static headspace technique was studied. Cup lumps were cut into small pieces, weighed 5 grams into a 60 ml glass bottle, heated to allow the evaporate and then sampling the gas phase from the headspace of the bottle injected to the GC. The cup lump samples in this study were obtained from laboratory preparation that control the acid as formic and sulfuric acid for coacgulation, from the plantation and from the

rubber factory. The results showed that the volatile compounds from the cup lump were volatile fatty acids (VFAs), namely acetic acid, propanoic acid, butanoic acid, 2-methylpropanoic acid, pentanoic acid, and isovaleric acid. The coacgulated cup lump from sulfuric and formic acid showed the same VFA compositions however the quantity of acetic acid from using formic acid as coacgulant has a higher than the other and the amount of acetic acid, 2-methyl-propanoic, butanoic, and pentanoic are significantly different at the p-value of 0.05. The results of VFAs from cup lump plantation showed higher butyric acid than other and decreases when the age increases. The odor profile of VFAs of the cup lump is different depending on acid as formic and sulfuric including to age of cup lump and the serum as waste water that released from the cup lumps. From the experiment, static headspace-GC-MS is used to support the study of production of malodor for the microbial study in the next study. Air samples were collected in the bag and absorbed on the coconut shell charcoal tube and analysis by GC-MS, that showed different profiles and the profile between the inlet-outlet of deoriser was found that the VFAs are major compounds.