

การย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจน
จำกัด



นางสาวชนัญญา บุญมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE DEGRADABILITY OF BIODEGRADABLE PLASTICS UNDER ANAEROBIC AND OXYGEN LI
MITED CONDITIONS

Miss Chomnutcha Boonmee



A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Environmental Science

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพภายใต้
	สภาวะไม่ใช่ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด
โดย	นางสาวชมณัญญา บัญมี
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.ธนาวดี ลีจากภัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุนทร ชูตินธรานนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร.ธนาวดี ลีจากภัย)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธเรศ ศรีสถิตย์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จินต์ อโณทัย)

ชมณัญญา บัญญู : การย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน และสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด (THE DEGRADABILITY OF BIODEGRADABLE PLASTICS UNDER ANAEROBIC AND OXYGEN LIMITED CONDITIONS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ดร.ธนาวดี ลี้จากภัย, 171 หน้า.

ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิดพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-ไฮดรอกซีวาเลอเรต (PHBV) พอลิแลคติก แอซิด (PLA) พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต (PBS) และ พอลิบิวทิลีนอะดิเพต-โค-เทเรพธาเลต (PBAT) ภายใต้สภาวะจำลองการฝังกลบ โดยใช้การทดลองแบบ Central composite design (CCD) 3 ระดับ 3 ปัจจัย ประกอบด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ชีวภาพในตัวกลางที่ใช้ฝังพลาสติก อุณหภูมิ และเปอร์เซ็นต์ออกซิเจน เริ่มต้นในขวดทดลอง ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิมีผลต่อคาร์บอนไดออกไซด์ที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV เป็นพลาสติกชนิดเดียวที่พบความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละคาร์บอนไดออกไซด์ชีวภาพและอุณหภูมิ ในการทดสอบ 30 วัน จากกราฟ 2 มิติ (contour plot) ที่ได้จากวิธีการพื้นผิวตอบสนอง (RSM) คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสม คือคาร์บอนไดออกไซด์ชีวภาพในตัวกลางที่ใช้ฝังพลาสติกที่ 50 อุณหภูมิที่ 61 องศาเซลเซียส และคาร์บอนไดออกไซด์ชีวภาพเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21 มาใช้ศึกษารูปแบบในการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ในเวลา 90 วัน ผลการศึกษาพบว่าค่าการย่อยสลายเรียงจากมากไปน้อย คือ PHBV > PLA > PBS > PBAT โดย PHBV เป็นพลาสติกชนิดเดียวที่ย่อยสลายจนสมบูรณ์ใน 60 วัน หลังจากฝัง 90 วัน PHBV และ PLA ปรากฏรอยแตกและพื้นผิวที่ขรุขระ ในขณะที่ PBS และ PBAT มีการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวเพียงเล็กน้อย พลาสติกทั้ง 4 ชนิดมีค่าเสถียรภาพทางความร้อนและมีค่าสัดส่วนของคาร์บอนในโครงสร้างโมเลกุลลดลงโดยเฉพาะพลาสติกชนิด PLA และพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของพลาสติกทั้ง 4 ชนิดเมื่อตรวจด้วยเครื่อง Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR) ประชาคมจุลินทรีย์ที่อยู่ในขวดทดลองที่ฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ถูกศึกษาด้วยเทคนิค Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่มีความหลากหลายชนิดมากกว่ารา โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบในตัวกลางที่ใช้ฝังพลาสติกเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในขณะที่ยีสต์ *Candida tropicalis* พบในตัวกลางที่ใช้ฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5387869120 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORDS: BIODEGRADABLE PLASTICS DEGRADATION CENTRAL COMPOSITE DESIGN
MICROBIAL COMMUNITIES

CHOMNUTCHA BOONMEE: THE DEGRADABILITY OF BIODEGRADABLE PLASTICS
UNDER ANAEROBIC AND OXYGEN LIMITED CONDITIONS. ADVISOR: ASST.
PROF.CHARNWIT KOSITANONT, Ph.D., CO-ADVISOR: THANAWADEE LEEJARKPAI,
Ph.D., 171 pp.

The degradation of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) poly(lactic acid) (PLA) poly(butylene succinate) (PBS) and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) under simulated landfill conditions were studied using Central composite design (CCD) with three levels and three independent variables: percentage of sludge in the medium, temperature and percentage of initial oxygen in the bottle. The statistical results showed that the responses of weight loss (%) in 30 days of all biodegradable plastics were significantly affected by the temperature whereas insignificantly affected by the initial oxygen in the bottle. The effect of interaction between the percentage of sludge in the medium and temperature at 30 days was found only in the bottle with PHBV. Based on the contour plot generated from Response surface methodology (RSM), the conditions of 50% of sludge in the medium, 61 °C and 21% of initial oxygen in the bottle were selected to continuously study the degradation profiles of these biodegradable plastics in 90 days. The results showed that the degradations ranking order were PHBV > PLA > PBS > PBAT. Only PHBV was completely degraded in 60 days. After burying under tested conditions, many cracks and irregular roughness were presented on the PHBV and PLA surface while slightly smooth surfaces were still found on PBS and PBAT. All plastics showed the decreasing in thermal stability and the percentage of carbon content in molecular structure especially PLA. The changes of chemical structure of plastics were revealed by the Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR). The microbial communities during the burying under tested conditions were investigated using Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The results showed that bacteria were more diverse than fungi. Most of bacteria that found in medium are uncultured while *Candida tropicalis* presented in the medium of all plastics.

Field of Study: Environmental Science

Student's Signature

Academic Year: 2015

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากหลายฝ่าย ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ดร.ธนาวดี ลีจากภัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะต่างๆในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เป็นประธานสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งรองศาสตราจารย์ ดร.ธเรศ ศรีสถิตย์ รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม และรองศาสตราจารย์ ดร.จินต์ อโณทัย ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะต่างๆ ให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ยงยุทธ จรรย์รักษ์ รวมถึงคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และปลูกฝังความมานะพยายามให้แก่ศิษย์

ขอขอบคุณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่มอบทุนดุษฎีบัณฑิต เพื่อพัฒนาศาสตร์ และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช สำหรับสนับสนุนการทำวิจัย

ขอขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC) ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และเครื่องมือในการเตรียมตัวอย่างสำหรับงานวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทรรศนีย์ พฤกษาสีทธิ ผู้อำนวยการหลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกฝ่าย ในหลักสูตรฯ รวมถึงเพื่อนร่วมรุ่นและพี่น้องๆนั้งๆนิต ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาและกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และขอบคุณสมาชิกทุกคนในครอบครัวที่คอยให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 สมมติฐาน.....	2
1.3 วัตถุประสงค์.....	2
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 สถานการณ์การใช้พลาสติกสังเคราะห์และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม.....	4
2.2 พลาสติกชีวภาพ (Biodegradable plastics).....	5
2.3 วิวัฒนาการการผลิตพลาสติกชีวภาพ.....	6
2.4 การจำแนกประเภทของพลาสติกชีวภาพ.....	7
2.4.1 พลาสติกชีวภาพที่ได้มาจากวัตถุดิบที่เป็นมวลชีวภาพ.....	7
2.4.2 พอลิเมอร์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี.....	8
2.5 การใช้ประโยชน์จากพลาสติกชีวภาพ.....	10
2.6 พลาสติกชีวภาพที่ใช้ในการศึกษานี้.....	11
2.6.1 พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-ไฮดรอกซีวาเลอเรต poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) หรือ PHBV.....	11

2.6.2 พอลิแลคติก แอซิด poly(lactic acid) หรือ PLA.....	12
2.6.3 พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต poly(butylene succinate) หรือ PBS	14
2.6.4 พอลิบิวทิลีนอะดิเพต-โค-เทเรพธาเลต poly(butylene adipate-co-terephthalate) หรือ PBAT	15
2.7 กระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ	15
2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ	17
2.8.1 ปัจจัยด้านคุณสมบัติของสายพอลิเมอร์	17
2.8.2 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม.....	17
2.9 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ	20
2.9.1 การฝังชิ้นพลาสติกในตัวอย่างธรรมชาติ	20
2.9.2 การฝังชิ้นพลาสติกในกองปุ๋ยหมัก	21
2.9.3 การย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน	21
2.9.4 วิธีเพาะเชื้อบริสุทธิ์	21
2.10 การวัดผลการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ	22
2.10.1 การสังเกตลักษณะทางกายภาพที่มองเห็น	22
2.10.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก	22
2.10.3 การวัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ	22
2.10.4 การวัดการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันทางเคมี	23
2.10.5 การวัดการเกิดก๊าซ	23
2.10.6 การวัดการสร้างบริเวณไฮโดรฟิลิกโดยจุลินทรีย์	23
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพที่ใช้ในการศึกษารุ่นนี้	24
2.11.1 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV.....	24
2.11.2 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PLA	25

2.11.3 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PBS	27
2.11.4 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT	28
2.12 การทดลองแบบ Central Composite Design	30
บทที่ 3 วิธีดำเนินการศึกษา.....	32
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	32
3.2 เคมีภัณฑ์.....	36
3.3 แผนผังการศึกษา	38
3.4 วิธีการดำเนินการศึกษา.....	39
3.4.1 รูปแบบการศึกษา	39
3.4.2 การเตรียมพลาสติกชีวภาพ.....	39
3.4.3 การเตรียมตัวกลางในการฝังพลาสติกชีวภาพ.....	39
3.4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด	42
3.4.5 ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะคัดเลือก.....	45
3.4.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชาคมจุลินทรีย์หลังจากการฝังกลบ	47
บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา	56
4.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด จากการทดลองแบบ Central Composite Design	56
4.1.1 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป	56
4.1.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	60
4.1.3 อภิปรายผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด	70
4.1.4 สรุปการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด.....	76
4.2 ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะคัดเลือก.....	77
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของตัวกลาง.....	77

4.2.2 ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด	78
4.2.3 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ.....	83
4.2.4 การเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพทางความร้อนของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด.....	92
4.2.5 การเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของ ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน (C H O).....	96
4.2.6 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของพลาสติก	97
4.2.7 ก๊าซ CH ₄ และ CO ₂ ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการฝังกลบ	107
4.3 ศึกษาประชาคมของจุลินทรีย์ ในระบบจำลองการฝังกลบ โดยวิธี Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE).....	110
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	121
5.1 สรุปผลการศึกษา	121
5.2 ข้อเสนอแนะ	122
รายการอ้างอิง	124
ภาคผนวก.....	140
ภาคผนวก ก สารละลายที่ใช้ในการทดลอง	141
ภาคผนวก ข ผลวิเคราะห์ทางสถิติจากโปรแกรม Design Expert V7 (trial version)	143
ภาคผนวก ค ตารางแสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปและค่าร้อยละสัดส่วนการร้อนผ่านตะแกรง... ..	147
ภาคผนวก ง อินฟราเรดสเปกตรัมจากเครื่อง FTIR.....	151
ภาคผนวก จ รายละเอียดจุลินทรีย์จากแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในเจลจากการทำ DGGE เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล ใน NCBI	166
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	171

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	ชื่อทางการค้าของพลาสติกชีวภาพที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้.....	40
ตารางที่ 2	สมบัติดินและตะกอนชีวภาพที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้.....	42
ตารางที่ 3	ปัจจัยและระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง.....	43
ตารางที่ 4	หน่วยทดลองตามการทดลองแบบ Central Composite Design.....	43
ตารางที่ 5	สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา PCR.....	50
ตารางที่ 6	ปริมาตรของสารผสมสำหรับ Denaturing Gradient Gel.....	53
ตารางที่ 7	ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ใน 30 วัน.....	56
ตารางที่ 8	ลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติกตัวควบคุมและภายหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 30 วัน.....	57
ตารางที่ 9	ผลวิเคราะห์ทางสถิติและชนิดของแบบจำลองที่เหมาะสมต่อค่าทำนาย.....	61
ตารางที่ 10	สมการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ใน 30 วัน.....	62
ตารางที่ 11	เปรียบเทียบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PHBV PBS และ PBAT ระหว่างค่าทดลองและค่าทำนายจากสมการ.....	64
ตารางที่ 12	เปรียบเทียบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PLA ระหว่างค่าทดลองและค่าทำนายจากสมการ.....	65
ตารางที่ 13	ปัจจัยที่มีผลต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ ...	66
ตารางที่ 14	ค่าการทดลองและค่าทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปใน 30 วันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะทดสอบ.....	80
ตารางที่ 15	อัตราการย่อยสลาย (มิลลิกรัมต่อวัน และ ร้อยละการย่อยสลายต่อวัน) ของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV PLA PBS และ PBAT ภายใต้สภาวะทดสอบ.....	81
ตารางที่ 16	การเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด หลังจากการฝังที่เวลาต่างๆ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า.....	88
ตารางที่ 17	รูปแบบค่าความเสถียรของพลาสติกชีวภาพ ทั้ง 4 ชนิด หลังจากการฝังที่เวลาต่างๆ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง TGA.....	93

- ตารางที่ 18 สัดส่วนธาตุ C H O ของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ก่อนและหลังการฝังที่สภาวะทดสอบ 96
- ตารางที่ 19 ค่าเวฟนัมเบอร์ของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด .. 98



สารบัญรูป

รูปที่ 1 การนำพลาสติกไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ (Biron, 2014)	4
รูปที่ 2 ชนิดของพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ดัดแปลงจาก Bordes et al (2009).....	9
รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV	11
รูปที่ 4 การสังเคราะห์ PHBV จากกลูโคส และโพธิ์โอเนต	12
รูปที่ 5 การจัดเรียงตัวในรูปแบบสามมิติของกรดแลคติก.....	13
รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA.....	13
รูปที่ 7 กระบวนการสังเคราะห์ PLA	14
รูปที่ 8 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS	14
รูปที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT.....	15
รูปที่ 10 กระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ดัดแปลงจาก Krzan et al (2006).....	16
รูปที่ 11 กิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายสายพอลิเมอร์ (J. Mas-Castelli & Guerrero, 1995).....	18
รูปที่ 12 จุดการทดลองแบบ CCD เมื่อศึกษา 3 ปัจจัย (Cho & Zoh, 2007)	30
รูปที่ 13 เครื่องขึ้นรูปพลาสติกแบบอัดความร้อน	34
รูปที่ 14 เครื่องขึ้นรูปพลาสติกแบบเครื่องรีด.....	34
รูปที่ 15 ชุดอุปกรณ์ทำ Agarose gel electrophoresis.....	35
รูปที่ 16 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	35
รูปที่ 17 เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง Denaturing Gradient Gel Electrophoresis.....	35
รูปที่ 18 ชุดสกัดดีเอ็นเอจากดิน.....	37
รูปที่ 19 ชุดสกัดดีเอ็นเอออกจากอะครีลาไมด์เจล.....	37
รูปที่ 20 แผ่นพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ขนาด 2 x 2 ตารางเซนติเมตร.....	41
รูปที่ 21 พื้นที่บ่อฝังกลบขยะ จังหวัดสุพรรณบุรี และระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่เติมอากาศ บริษัท มาลีสามพราน จำกัด จังหวัดนครปฐม.....	41

รูปที่ 22	ขวดทดลอง.....	44
รูปที่ 23	การเตรียมเจล Denaturing Gradient Gel.....	53
รูปที่ 24	การตรวจสอบการกระจายตัวแบบปกติ	63
รูปที่ 25	กราฟรูปแบบโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) (ก) ผลของอุณหภูมิและร้อยละก่อน ชีวภาพ (ข) ผลของอุณหภูมิและค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PHBV ใน 30 วัน	67
รูปที่ 26	กราฟรูปแบบโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) (ก) ผลของอุณหภูมิและร้อยละก่อน ชีวภาพ (ข) ผลของอุณหภูมิและค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PLA ใน 30 วัน	68
รูปที่ 27	กราฟรูปแบบโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) (ก) ผลของอุณหภูมิและร้อยละก่อน ชีวภาพ (ข) ผลของอุณหภูมิและค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PBS ใน 30 วัน	68
รูปที่ 28	ผลของปัจจัยเดี่ยว (ก) ร้อยละตะกอนชีวภาพ (ข) อุณหภูมิ (ค) ร้อยละออกซิเจนเริ่มต้น ในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PBAT ใน 30 วัน.....	69
รูปที่ 29	ผลการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ใน 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ (ร้อยละตะกอนชีวภาพ 50 อุณหภูมิ 67 ค่าร้อยละออกซิเจน เริ่มต้นในขวดทดลอง 21	78
รูปที่ 30	ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV PLA PBS และ PBAT	79
รูปที่ 31	พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 และ 45 วัน.....	83
รูปที่ 32	พลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน.....	83
รูปที่ 33	พลาสติกชีวภาพชนิด PBS ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน.....	84
รูปที่ 34	พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน.....	84
รูปที่ 35	ร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ ของพลาสติก 4 ชนิด	85

รูปที่ 36 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ตัวควบคุม และผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 และ 45 วัน.....	94
รูปที่ 37 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุมและผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 45 และ 90 วัน	94
รูปที่ 38 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ตัวควบคุมและผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 45 และ 90 วัน	95
รูปที่ 39 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ตัวควบคุมและผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 45 และ 90 วัน	95
รูปที่ 40 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ตัวควบคุม และหลังการฝังที่เวลา 30 และ 45 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ	101
รูปที่ 41 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุม และหลังการฝังที่เวลา 30 60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ.....	104
รูปที่ 42 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ตัวควบคุม และหลังการฝังที่เวลา 30 60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ.....	105
รูปที่ 43 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ตัวควบคุม และหลังการฝังที่เวลา 30 60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ.....	106
รูปที่ 44 เปอร์เซ็นต์ก๊าซ CH ₄ และ CO ₂ ของพลาสติก 4 ชนิดและตัวควบคุม ที่ไม่ใส่พลาสติก ระหว่างกระบวนการฝังกลบภายใต้สภาวะทดสอบ (ร้อยละตะกอนชีวภาพ 50 อุณหภูมิ 67 คาร์บอนไดออกไซด์เริ่มต้นในขวดทดลอง 21	107
รูปที่ 45 Genomic DNA จากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 – 90 วัน โดยช่องวิ่ง M คือมาร์คเกอร์ lamda /HinDIII marker	110
รูปที่ 46 PCR product ของแบคทีเรีย จากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 – 90 วัน โดยช่องวิ่ง M คือมาร์คเกอร์ 100 bp marker	111
รูปที่ 47 PCR product ของรา จากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 – 90 วัน โดยช่องวิ่ง M คือมาร์คเกอร์ 100 bp marker	111

รูปที่ 48 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของ
 แบคทีเรีย จากตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ที่เวลา 15 30 45
 และ 60 วัน 112

รูปที่ 49 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของ
 แบคทีเรีย จากตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ที่เวลา 15 30 45 60
 75 และ 90 วัน 113

รูปที่ 50 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของ
 แบคทีเรีย จากตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ที่เวลา 15 30 45 60
 75 และ 90 วัน 114

รูปที่ 51 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของ
 แบคทีเรีย จากตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ที่เวลา 15 30 45 60
 75 และ 90 วัน 115

รูปที่ 52 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของเรา 118

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พลาสติกสังเคราะห์เป็นพอลิเมอร์สายยาวที่มนุษย์สร้างขึ้น เพื่อช่วยอำนวยความสะดวกในชีวิตประจำวัน ในเวลาที่ผ่านมาครึ่งศตวรรษที่ผ่านมาพลาสติกสังเคราะห์ได้ถูกนำมาใช้ทดแทนวัสดุธรรมชาติในทั่วทุกที่ของโลก คำว่า “พลาสติก” มีที่มาจากรากศัพท์ภาษากรีกว่า “palstikos” ซึ่งมีความหมายว่า สามารถถูกขึ้นรูปเป็นรูปร่างต่างๆได้ ในปัจจุบันได้มีการขึ้นรูปพลาสติกสังเคราะห์ในหลากหลายรูปแบบพร้อมกับการพัฒนาสมบัติของพลาสติกสังเคราะห์ในด้านต่างๆเพื่อตอบสนองความต้องการในการอุปโภคของมนุษย์ (Shah et al, 2008) เนื่องจากสมบัติที่คงทนของพลาสติกสังเคราะห์ เช่น ความแข็งแรง ทนต่อการสึกกร่อน ทนความร้อน และยังกว่านั้นยังทนทานต่อการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติไม่สามารถสร้างเอนไซม์ขึ้นมาเพื่อย่อยสลายพลาสติกสังเคราะห์ได้ ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมเกี่ยวกับการสะสมของขยะพลาสติกที่เพิ่มปริมาณสูงขึ้นทุกปี ดังนั้นเพื่อลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมตามที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีการคิดค้นพลาสติกรูปแบบใหม่ที่มีสมบัติใกล้เคียงกับพลาสติกสังเคราะห์แต่ถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ คือ พลาสติกชีวภาพ หรือ Biodegradable plastics ในปัจจุบันมีการนำพลาสติกชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้าน โดยมุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์และการใช้ประโยชน์ไปทางการแพทย์ ทางการเกษตร และการผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ (Byun & Kim, 2014; Chandra & Rustgi, 1998; Fukushima et al, 2009; Gupta & Kumar, 2007; Sin et al, 2013; Siracusa et al, 2008)

พลาสติกชีวภาพสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบจากมวลชีวภาพ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์และสายพอลิเปปไทด์ตามธรรมชาติหรือผลิตโดยจุลินทรีย์ เช่น พอลิแลคติก แอซิด (poly(lactic acid) ; PLA) และพลาสติกในกลุ่มของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (poly(hydroxyalkanoates) ; PHAs) โดยพลาสติกในกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์หลากหลายและถูกย่อยสลายได้ดี (Chandra & Rustgi, 1998; Gupta & Kumar, 2007; Shah et al, 2008; Urtuvia et al, 2014; Vieira et al, 2011; Wang et al, 2014) นอกจากนั้นพลาสติกชีวภาพยังสามารถสังเคราะห์ได้จากมอนอเมอร์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี เช่น พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต (poly(butylene succinate); PBS) และ พอลิบิวทิลีนอะดิเปต-โค-เทเรพทาเลท (poly(butylene adipate-co-terephthalate) ; PBAT) ถึงแม้พลาสติกกลุ่มนี้จะมีวัตถุดิบในการผลิตจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีแต่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์จึงจัดพลาสติกกลุ่มนี้อยู่ในกลุ่มพลาสติกชีวภาพเช่นกัน (Vieira et al, 2011)

กระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพเกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ร่วมกับปัจจัยภายนอก ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นหรือปริมาณน้ำในดิน การถ่ายเทอากาศ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น นอกจากนี้ความแตกต่างทางด้านสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของพลาสติกแต่ละชนิดก็ส่งผลให้ความสามารถในการถูกย่อยสลายเกิดขึ้นได้ต่างกัน

ระบบการกำจัดขยะแบบฝังกลบ (Landfill) ยังคงเป็นระบบการกำจัดขยะมูลฝอยหลักของประเทศไทย เนื่องจากเป็นระบบที่มีค่าใช้จ่ายในการลงทุนน้อยกว่าวิธีอื่น อีกทั้งกระบวนการกำจัดไม่มีความซับซ้อนมากนักและมีความยืดหยุ่นในการรองรับทั้งปริมาณและชนิดของขยะมูลฝอย เพื่อการเตรียมความพร้อมในการรองรับการฝังกลบขยะพลาสติกชีวภาพ ที่คาดการณ์ว่าจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในอนาคต งานวิจัยครั้งนี้เลือกศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ซึ่งเป็นพลาสติกที่มีการผลิตออกมาเป็นสินค้าหลากหลายและมีส่วนแบ่งทางการตลาดสูง ประกอบไปด้วย poly(lactic acid) (PLA), poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV), poly(butylensuccinate) (PBS) และ poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) ภายใต้สภาวะเลียนแบบการฝังกลบขยะ โดยศึกษาปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลาย ได้แก่ อุณหภูมิ สัดส่วนตะกอนชีวภาพที่ใช้เป็นตัวกลางในการฝังพลาสติก และออกซิเจน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด จากนั้นสภาวะที่คัดเลือกได้จะถูกนำมาศึกษาต่อเนื่องโดยการขยายเวลาในการติดตามผลการย่อยสลาย พร้อมทั้งพิจารณาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของพลาสติกชีวภาพแต่ละชนิด และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประชาคมจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบจำลองการฝังกลบขยะพลาสติกชีวภาพ

1.2 สมมติฐาน

ปัจจัยภายนอกที่กำหนดและสังคมของจุลินทรีย์มีผลส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้ดีขึ้น

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ประกอบด้วย poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) poly(lactic acid) (PLA) poly(butylene succinate) (PBS) และ poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) โดยศึกษาปัจจัยด้านสัดส่วนของตะกอนชีวภาพที่ใช้เป็นตัวกลางในการย่อยสลาย อุณหภูมิ และสภาวะการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ในระบบจำลองการฝังกลบ

1.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ระหว่างกระบวนการย่อยสลายในระบบจำลองการฝังกลบภายใต้สภาวะคัดเลือก

1.3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชาคมจุลินทรีย์ในระบบการจำลองการฝังกลบ

1.4 ขอบเขตการศึกษา

หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ประกอบด้วย poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) poly(lactic acid) (PLA) poly(butylene succinate) (PBS) และ poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ สัดส่วนตะกอนชีวภาพ และออกซิเจน โดยใช้ดินจากบ่อฝังกลบขยะจังหวัดสุพรรณบุรี ร่วมกับตะกอนจากบ่อบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนของโรงงานน้ำผลไม้ บริษัท มาลีสามพราน จำกัด (มหาชน) รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางเคมีของพลาสติกชีวภาพ และประชาคมจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการจำลองการฝังกลบในระดับห้องปฏิบัติการ (lab scale) ภายใต้สภาวะคัดเลือกที่ได้จากการทดลอง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะจำลองการฝังกลบ

1.5.2 ได้ข้อมูลการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะจำลองการฝังกลบ

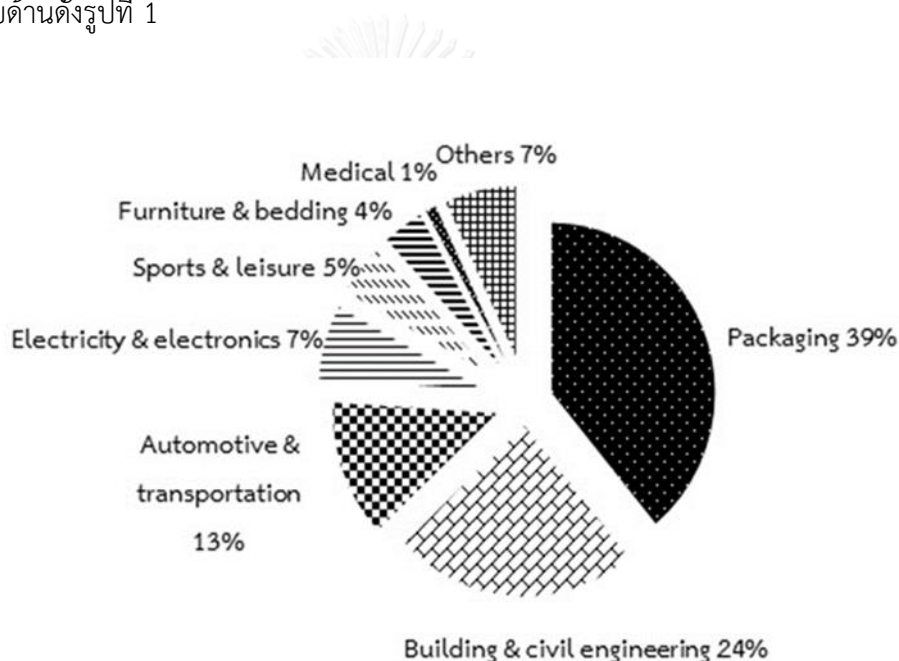
1.5.3 ได้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงประชาคมจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการจำลองการฝังกลบ

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์การใช้พลาสติกสังเคราะห์และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

พลาสติกสังเคราะห์ (Petroleum-based plastics or conventional plastics) คือ พอลิเมอร์สายขนาดยาวมีน้ำหนักโมเลกุลสูงที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้น ถูกนำมาใช้แทนวัสดุจากธรรมชาติ เช่น ยาง ไม้ กระดาษ เป็นต้น อุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกทั่วโลกมีกำลังการผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 1.5 ล้านตัน ใน ค.ศ. 1950 เป็นกว่า 245 ล้านตัน ใน ค.ศ. 2008 และเพิ่มขึ้นกว่า 270 ล้านตัน ในปี ค.ศ. 2012 (Biron, 2014; Phukon et al, 2012) โดยพลาสติกถูกนำไปใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้านดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 การนำพลาสติกไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ (Biron, 2014)

จากรูปที่ 1 พบว่าพลาสติกถูกนำไปใช้ประโยชน์มากที่สุดใน 3 ด้านหลัก คือ การทำเป็นบรรจุภัณฑ์ (Packaging) การก่อสร้างและงานทางด้านวิศวกรรมโยธา (Building & civil engineering) และการผลิตเกี่ยวกับยานยนต์และระบบการขนส่ง (Automotive & transportation) จากข้อมูลพบว่ามากกว่าร้อยละ 80 ของการผลิตจะเป็นพลาสติกกลุ่มเทอร์โมพลาสติก (thermoplastics) เช่นพอลิเอทิลีน (polyethylene) พอลิโพรไพลีน (polypropylene) และ พอลิสไตรีน (polystyrene) เป็นต้น

พลาสติกสังเคราะห์ส่วนใหญ่ผลิตได้จากสารที่สกัดมาจากน้ำมันปิโตรเลียม ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ ดังนั้นในระหว่างกระบวนการผลิตพลาสติกจึงมีการใช้น้ำมันปิโตรเลียมทั้งในส่วนที่เป็นวัตถุดิบและพลังงานในการผลิต (Mooney, 2009) ส่งผลให้ปัญหาอันดับแรกที่เกิดขึ้นจากการผลิตและการใช้พลาสติกสังเคราะห์อย่างต่อเนื่องคือ ความเสี่ยงต่อการขาดแคลนแหล่งวัตถุดิบซึ่งก็คือน้ำมันปิโตรเลียม และจากการที่พลาสติกมีสมบัติที่ทนทานต่อการย่อยสลาย ส่งผลให้เกิดปัญหาตามมา คือปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมเกี่ยวกับขยะพลาสติกที่เพิ่มปริมาณสูงมากขึ้นทุกปีและไม่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ซึ่งการสะสมของขยะพลาสติกในสิ่งแวดล้อมอาจเป็นอันตรายต่อ สัตว์ พืช และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กต่างๆ และหากทิ้งขยะพลาสติกลงสู่ทะเลก็จะมีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในทะเลได้เช่นกัน (Urtuvia et al, 2014) นอกจากนั้นขยะพลาสติก หากเข้าสู่ระบบการเผาที่ไม่มีการควบคุมกระบวนการเผาให้เหมาะสม จะทำให้เกิดการปลดปล่อย สารมลพิษที่มีความคงตัวสูง เช่น ฟูแรน (furans) และไดออกซิน (dioxins) ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต (Shah et al, 2008)

ดังนั้นเพื่อลดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมตามที่กล่าวมาข้างต้น รวมถึงหาแนวทางที่เหมาะสมในการอนุรักษ์แหล่งพลังงานและแนวทางการลดปัญหามลพิษที่เกิดขึ้น จึงได้มีการคิดค้นผลิตพลาสติกรูปแบบใหม่ที่มีสมบัติใกล้เคียงกับพลาสติกสังเคราะห์แต่มีสมบัติในการถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ โดยพลาสติกรูปแบบใหม่ที่กล่าวถึงนี้มีชื่อเรียกว่า พลาสติกที่ถูกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ หรือพลาสติกชีวภาพ (Biodegradable plastics)

2.2 พลาสติกชีวภาพ (Biodegradable plastics)

พลาสติกชีวภาพ คือ สายพอลิเมอร์ที่ถูกย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ เช่น แบคทีเรีย รา เป็นต้น ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม (Niaounakis, 2015) ในหลายองค์กรได้ให้คำจำกัดความเกี่ยวกับพลาสติกชีวภาพ ยกตัวอย่างเช่น

ISO 1988.472 “พลาสติกชีวภาพ คือ พลาสติกที่ออกแบบมาเพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีในสายพอลิเมอร์ภายใต้สภาวะแวดล้อมจำเพาะ ส่งผลให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติบางประการ ซึ่งสามารถตรวจสอบคุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปได้โดยใช้วิธีมาตรฐานที่เหมาะสมและผลของการทดสอบสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการจัดหมวดหมู่ของพลาสติกชีวภาพ โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีเป็นผลมาจากการทำงานของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ”

ASTM sub-committee D20.96 proposal “พลาสติกชีวภาพ คือพลาสติกที่สามารถถูกตัดพันธะของสายพอลิเมอร์ได้ผ่านทางแรงกระทำทางเคมี ชีวภาพ และกายภาพ ในสภาวะธรรมชาตินำไปสู่กระบวนการแตกหักและกระบวนการแยกสลายของชิ้นพลาสติก

Japanese Biodegradable Plastic Society¹ draft proposal “พลาสติกชีวภาพ คือสายพอลิเมอร์ที่สามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำโดยอาศัยกระบวนการย่อยสลายอย่างน้อยหนึ่งขั้นตอน ซึ่งกระบวนการนี้จะเกี่ยวข้องกับการบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ”

ส่วนคำจำกัดความโดยทั่วไปของคำว่า biodegradation หมายถึง กระบวนการที่อาศัยแบคทีเรีย รา ยีสต์ หรือเอนไซม์ของจุลินทรีย์เหล่านี้ ในการย่อยสลายสารตั้งต้นซึ่งคือพลาสติกชีวภาพทำหน้าที่เป็นเหมือนแหล่งอาหารโดยการย่อยสลายจะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทั้งความชื้น อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจน

2.3 วิวัฒนาการการผลิตพลาสติกชีวภาพ

มนุษย์ได้มีการใช้ประโยชน์จากพลาสติกชีวภาพในกลุ่มที่ผลิตได้จากวัตถุดิบตามธรรมชาติ เช่น เซลลูโลส พอลิแซ็กคาไรด์ ไคตินและไคโตซาน อยางจากธรรมชาติ มาเป็นเวลาช้านานแล้ว ส่วนพลาสติกชีวภาพชนิดแรกที่มีมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น คือ พอลิไกลโกลิก แอซิด poly(glycolic acid) (PGA) ในปี ค.ศ. 1954 แต่พบว่าการใช้งานของพลาสติกชนิดนี้ยังอยู่ในวงจำกัด (Karak, 2012) วิวัฒนาการของการนำพลาสติกชีวภาพเข้าสู่ตลาดพลาสติก เริ่มในช่วงทศวรรษ 1970 และพัฒนาอย่างต่อเนื่องเรื่อยมา จนถึงในช่วงทศวรรษ 1980 ซึ่งเป็นช่วงที่เริ่มประสบปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของขยะพลาสติก และมนุษย์มีความกังวลมากขึ้นเกี่ยวกับปัญหาการขาดแคลนน้ำมันซึ่งเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการสังเคราะห์พลาสติก โดยแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตพลาสติกชีวภาพในยุคนั้นคือแป้ง ซึ่งแป้งจากข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง ถือเป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตพลาสติกชีวภาพแถบยุโรป อเมริกาและแอฟริกาใต้ ส่วนแป้งที่ได้จากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในแถบเอเชีย ในปี ค.ศ. 1981 พลาสติกชีวภาพภายใต้ชื่อทางการค้า คือ BIOPOLTM ถูกผลิตและนำเข้าสู่ตลาดพลาสติกโดยบริษัท ICI ประเทศอังกฤษ อุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพมีการลงทุนเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงช่วงปี 1990s โดยเน้นไปที่การผลิตพลาสติกชีวภาพที่มีวัตถุดิบจากธรรมชาติ เช่น พอลิแลคติก แอซิด poly(lactic acid) ซึ่งได้จากกระบวนการหมัก น้ำตาลหรือแป้ง รวมถึงพลาสติกกลุ่มพอลิไฮดรอกซีอัลคานอยด์ polyhydroxyalcanoates ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ เนื่องจากจากวัตถุดิบในการผลิตเหล่านี้สามารถปลูกหรือผลิตทดแทนได้อย่างต่อเนื่อง และเกิดการย่อยสลายและหมุนเวียนวัฏจักรคาร์บอนตามธรรมชาติ

2.4 การจำแนกประเภทของพลาสติกชีวภาพ

พลาสติกชีวภาพสามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่ผลิตได้จากวัตถุดิบจากมวลชีวภาพและกลุ่มที่สังเคราะห์จากวัตถุดิบจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี ดังนี้

2.4.1 พลาสติกชีวภาพที่ได้มาจากวัตถุดิบที่เป็นมวลชีวภาพ

2.4.1.1 พอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้รับความนิยม คือ แป้งและเซลลูโลส โดยแป้งถูกผลิตและสะสมในส่วนต่างๆของพืช เช่น แป้งข้าวสาลี แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวโพด ซึ่งโครงสร้างของแป้งประกอบด้วยกลูโคสสองชนิด คือ แอมิโลส ซึ่งเป็นสายที่ไม่แตกกิ่ง พบประมาณร้อยละ 15-20 และแอมิโลเพกทิน เป็นสายพอลิแซ็กคาไรด์ที่แตกกิ่งพบประมาณร้อยละ 80-85 (Chandra & Rustgi, 1998) ส่วนเซลลูโลส ซึ่งเป็นคอมพ็อกซ์พอลิแซ็กคาไรด์ พบในโครงสร้างของพืชทั่วไป เช่น ฟาง ไม้ สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติกชีวภาพได้เช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดอื่นพบว่าเซลลูโลสเป็นสายพอลิเมอร์ที่มีความแข็งแรงและทนทานต่อกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) แต่เนื่องจากเซลลูโลสจากธรรมชาติไม่สามารถนำมาผลิตเป็นเทอร์โมพลาสติกได้ ดังนั้นจึงมีการดัดแปลงเซลลูโลสให้อยู่ในรูป เซลลูโลส อะซิเตต (cellulose acetate) และเซลลูโลส อะซิเตต บิวไทเรต (cellulose acetate butyrate) เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติกชีวภาพ (Niaounakis, 2015)

2.4.1.2 ไคตินและไคโตซาน

ไคตินและไคโตซานเป็นวัสดุชีวภาพตามธรรมชาติ เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไคตินเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่มีโครงสร้างคล้ายเซลลูโลส โดยมีโครงสร้างผลึกที่แข็งแรงละลายน้ำได้ยาก สะสมในเปลือกสัตว์ทะเล เช่น เปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึก รวมทั้งพบได้ในผนังของรา ยีสต์ ช่วยป้องกันอันตรายให้กับโครงร่างภายใน ส่วนไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการทำปฏิกิริยาทางเคมี สามารถละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ ทำให้ได้สารละลายเหนียวคล้ายวุ้นสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นพลาสติกได้ (Chandra & Rustgi, 1998; Niaounakis, 2015)

2.4.1.3 พอลิเปปไทด์ธรรมชาติ

สายพอลิเปปไทด์เป็นสายพอลิเมอร์ของกรดอะมิโนที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์เป็นสายยาวเกิดเป็นโมเลกุลของโปรตีน โดย คอลลาเจน เจลาติน อีลาสติน เคราติน เป็นตัวอย่างของสายพอลิเปปไทด์ตามธรรมชาติที่สามารถนำมาผลิตเป็นพลาสติกชีวภาพได้ (Zhang et al, 2014)

2.4.1.4 พอลิแลคติก แอซิด (Poly(lactic acid) (PLA)

PLA เป็นพอลิเมอร์ที่มีมอนอเมอร์คือ กรดแลคติก (lactic acid) ซึ่งได้จากกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง อ้อย เป็นต้น โดยเมื่อผ่านกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพแล้วจะเปลี่ยนแป้งที่ได้จากวัตถุดิบไปเป็นน้ำตาลและเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็น lactic acid เมื่อนำมอนอเมอร์ที่ได้มาเชื่อมต่อกันจนเป็นพอลิเมอร์สายยาวของ PLA โดย PLA เป็นพลาสติกชีวภาพที่มีการนำมาใช้งานกว้างขวางโดยเฉพาะนำมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ (Bordes et al, 2009)

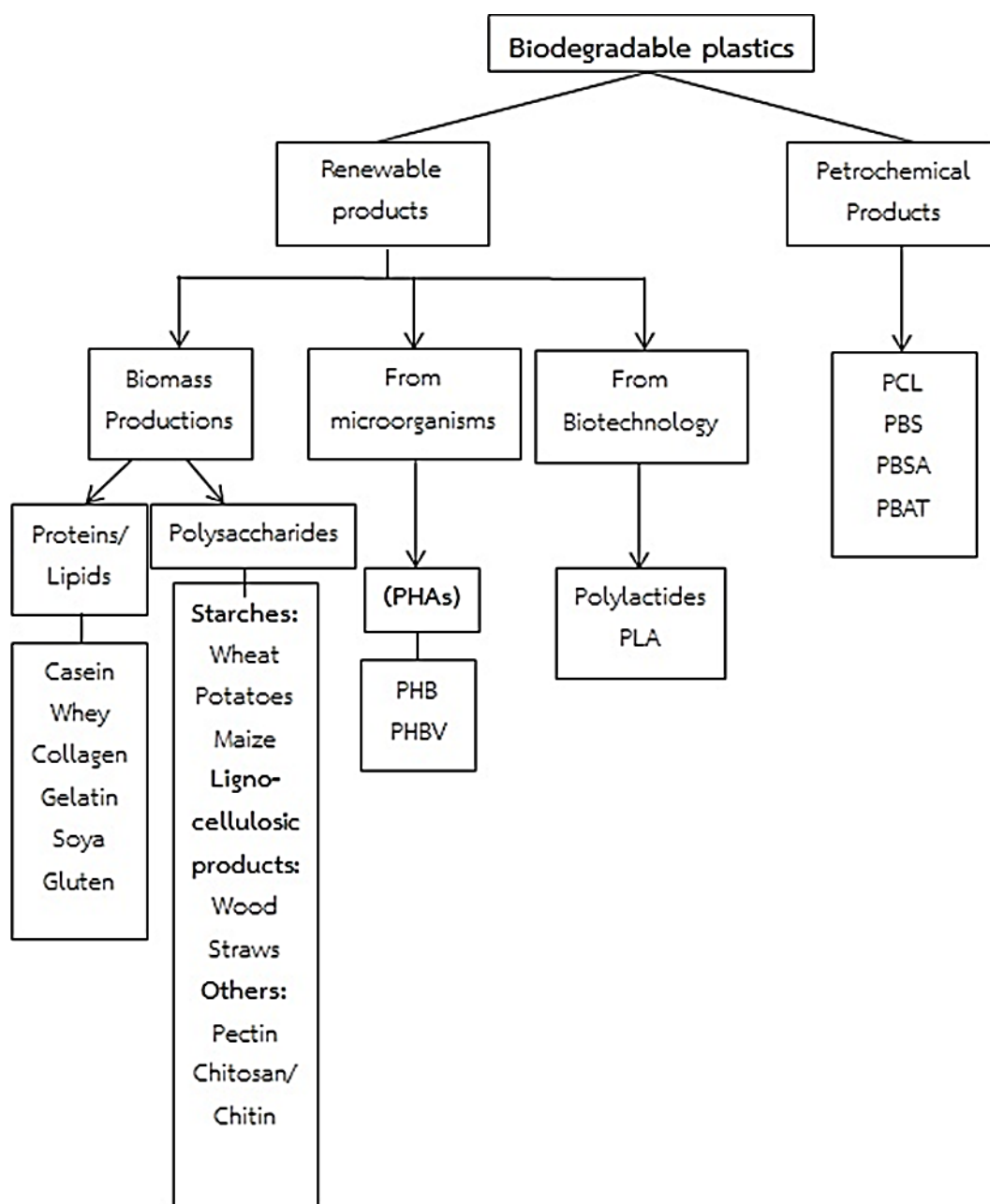
2.4.1.5 พอลิเมอร์จากจุลินทรีย์

Polyhydroxyalkanoates หรือ PHAs เป็นกลุ่มของพอลิเมอร์ชนิดพอลิเอสเตอร์ (polyeter) ซึ่งผลิตได้จากจุลินทรีย์โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรีย โดยจุลินทรีย์จะสะสมพอลิเมอร์ชนิดนี้ไว้ในลักษณะของเม็ดแกรนูลที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนภายในเซลล์ (Bordes et al, 2009) สายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์ PHAs เช่น *Pseudomonas oleovorans* *Azotobacter vinelandii* และ *Alcaligenes eutrophus* นอกจากนี้ยังพบว่าพืชสามารถสังเคราะห์พลาสติกกลุ่มนี้ได้เช่นกัน เช่น พืชกลุ่ม *Arabidopsis* ซึ่งพบว่าขนาดของเม็ดแกรนูลที่สะสมในพืชมีขนาดเท่ากับเม็ดแกรนูลที่สะสมในแบคทีเรียแต่จะจำนวนที่ปรากฏมีน้อยกว่าการสะสมในแบคทีเรีย พลาสติกชีวภาพในกลุ่ม PHAs เช่น พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต poly(hydroxybutyrate) (PHB) และพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-ไฮดรอกซีวาเลอเรต poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) ถูกพัฒนาคุณสมบัติอย่างต่อเนื่องและนำเข้าสู่ตลาดพลาสติกในฐานะพลาสติกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและย่อยสลายได้ง่ายตามธรรมชาติ และสามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย

2.4.2 พอลิเมอร์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี

พอลิเมอร์สังเคราะห์ขึ้นจากมอนอเมอร์หรือพอลิเมอร์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโซ่สายตรง เช่น poly(butylenes succinate) (PBS) และกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นวงแอโรมาติกได้แก่ โคพอลิเมอร์ชนิด poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) เป็นต้น (Bordes et al, 2009)

จากการจำแนกประเภทพลาสติกชีวภาพตามแหล่งวัตถุดิบ พบว่าพลาสติกชีวภาพในกลุ่มที่ผลิตมาจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี ถึงแม้ไม่ได้สังเคราะห์ขึ้นจากวัตถุดิบที่เป็นมวลชีวภาพที่สามารถสร้างทดแทนใหม่ได้ หรือที่เรียกว่า “Renewable resources” แต่สามารถถูกย่อยสลายได้ภายใต้กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพได้เช่นกัน ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ชนิดของพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ดัดแปลงจาก Bordes et al (2009)

2.5 การใช้ประโยชน์จากพลาสติกชีวภาพ

ปัจจุบันมีการนำพลาสติกชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้าน โดยมุ่งไปที่ประโยชน์ 3 ด้านหลักด้วยกัน คือ ประโยชน์ทางการแพทย์ ทางด้านการเกษตร และทางด้านบรรจุภัณฑ์ ดังนี้ ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น นำมาใช้ในการผลิตรากฟันเทียม ผลิตวัสดุทางการแพทย์ที่นำมาใช้กับดวงตา ผลิตไหมเทียมเพื่อนำมาใช้ในการผ่าตัด ผลิตแคปซูลยาที่ใช้ควบคุมการปล่อยตัวยาและสารต่างๆได้อย่างช้าๆในระยะยาวที่ต้องการให้มีการออกฤทธิ์ ในบางประเทศมีการนำเอาพลาสติกชีวภาพมาใช้เป็นวัสดุในการตรึงกระดูก ซึ่งพบว่ามีความยืดหยุ่นมากกว่าการใช้โลหะในการตรึงกระดูก นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาพลาสติกชีวภาพเพื่อนำมาใช้ในการผลิตอวัยวะเทียม เช่น ลิ้นปิด-เปิดหัวใจ และผิวหนังเทียม โดยใช้พลาสติกชีวภาพในกลุ่ม PHAs และกลุ่มของคลอลาเจน/ไคติน เพื่อการตกแต่งบาดแผลที่เกิดจากไฟไหม้ พลาสติกชีวภาพยังถูกนำมาใช้ในการผลิตอุปกรณ์ทางการแพทย์ด้วย เช่น อุปกรณ์ที่ใช้ในการเย็บแผล

ประโยชน์ทางการเกษตร เช่น นำมาผลิตเป็นแผ่นวัสดุคลุมดิน แผ่นฟิล์มคลุมผลผลิตทางการเกษตร และกระถางต้นไม้ แทนที่การใช้พลาสติกสังเคราะห์ ซึ่งจะช่วยลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการเก็บและกำจัดวัสดุคลุมดินภายหลังการเพาะปลูก และมีการนำมาผลิตเป็นวัสดุควบคุมการปลดปล่อยปุ๋ยและสารฆ่าแมลงเพื่อการออกฤทธิ์อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังมีการนำมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับเพาะต้นกล้าและกระถางต้นไม้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกิดการย่อยสลายและเป็นอาหารให้กับพืชในระหว่างการเพาะปลูกด้วย รวมถึงมีการนำพลาสติกชีวภาพกลุ่ม PHAs มาผลิตอุปกรณ์ทางการเกษตรบางประเภท เช่น เอ็น และ แหสำหรับจับปลา

ประโยชน์ทางด้านบรรจุภัณฑ์ เช่น ถาดสำหรับใส่อาหาร ผัก ผลไม้ และจานที่สามารถใช้แล้วทิ้ง แผ่นฟิล์ม ขวด ถุง เพื่อเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารและเครื่องดื่ม รวมถึงนำมาผลิตเป็นแผ่นฟิล์มเคลือบกระดาษเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ เป็นต้น

พลาสติกชีวภาพยังถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ผลิตเป็นฟิล์มแข็งที่สามารถนำมารับประทานได้ และมีการนำพลาสติกชีวภาพชนิด PLA มาผลิตเป็นของเล่นเด็ก ซ้อน ส้อม พรม และวอลเปเปอร์ ส่วนพลาสติกชีวภาพในกลุ่ม PHAs นำมาผลิตเป็นผ้าอ้อมสำหรับใช้แล้วทิ้ง (Abe et al, 2010; Bilck et al, 2010; Byun & Kim, 2014; Chandra & Rustgi, 1998; Gupta & Kumar, 2007; Lu, 2009; Shah et al, 2008; Sin et al, 2013; Siracusa et al, 2008; Tan et al, 2013; Wang et al, 2014; Wu, 2012; Zhang et al, 2014)

หากพิจารณาแนวโน้มทางการตลาดพบว่า ตลาดของพลาสติกชีวภาพมีแนวโน้มในการเติบโตสูงร้อยละ 20-30 ต่อปี โดยมีการนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย ซึ่งพลาสติกชนิดหลักที่

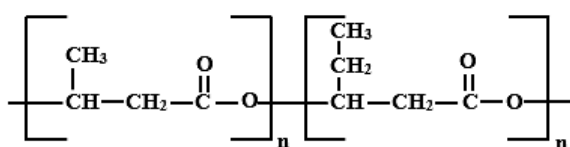
ทำการตลาดกันอยู่ในปัจจุบันได้แก่ PLA และ PHBV ที่มีวัตถุดิบเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและผลิตได้จากจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีพลาสติกชีวภาพกลุ่มที่ใช้วัตถุดิบจากปิโตรเคมี เช่น PBS และ PBAT ก็มีการผลิตเป็นสินค้าเชิงพาณิชย์เช่นกัน (Madhavan Nampoothiri et al, 2010)

2.6 พลาสติกชีวภาพที่ใช้ในการศึกษานี้

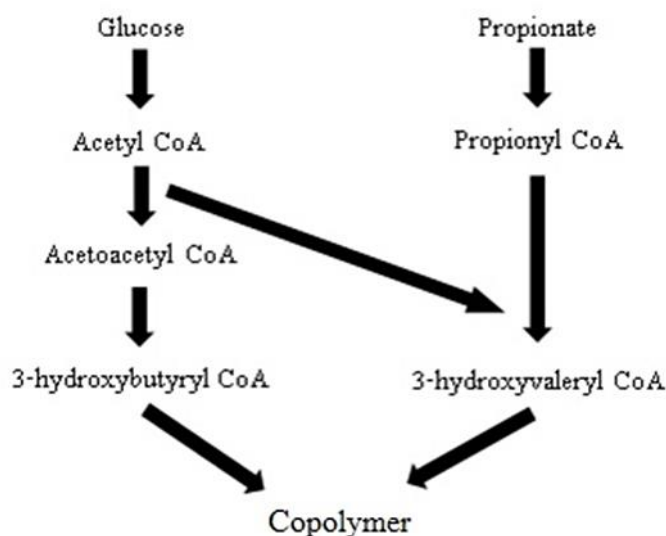
2.6.1 พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-ไฮดรอกซีวาเลอเรต poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) หรือ PHBV

PHBV เป็นโคพอลิเมอร์ในกลุ่ม PHAs จัดเป็นแอลิฟาติกพอลิเอสเทอร์ (aliphatic polyester) ส่วนมากผลิตได้จากจุลินทรีย์ โดยสะสมไว้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนสำรองภายในเซลล์จุลินทรีย์ (Phukon et al, 2012) พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ถูกผลิตเป็นการค้าครั้งแรกโดยบริษัท ICI เมื่อปี ค.ศ. 1983 เพื่อใช้ทดแทนพลาสติกสังเคราะห์ โพลีเอทิลีน ในการผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ (Peng et al, 2003) ในกระบวนการผลิตโคพอลิเมอร์ชนิด PHBV สามารถเหนี่ยวนำให้จุลินทรีย์ผลิตได้โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสและกรดโพรพิโอนิก ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Mooney, 2009) สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีรายงานว่าสามารถผลิต PHBV ได้ เช่น *Ralstonia eutropha* (Yu et al, 2005) *Haloferax mediterranei* (Chen et al, 2006) *Rhodococcus aetherivorans* IAR1 (Hori et al, 2009) *Bacillus circulans* MTCC 8167 (Phukon et al, 2012)

ในส่วนโครงสร้างทางเคมีของ PHBV พบว่า จะประกอบด้วยมอนอเมอร์ของไฮดรอกซีบิวทิเรต (HB) และมอนอเมอร์ของไฮดรอกซีวาเลอเรต (HV) แบบสุ่มตลอดสายพอลิเมอร์ ดังรูปที่ 3 โดยที่สมบัติทางกายภาพของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV นั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณหน่วยของ HV ที่ปรากฏอยู่ในสายพอลิเมอร์ ซึ่งสามารถควบคุมได้โดยการเติมโพรพิโอเนตเข้าไประหว่างกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthesis) ดังรูปที่ 4 (Weng et al, 2010; Yu et al, 2005)



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV



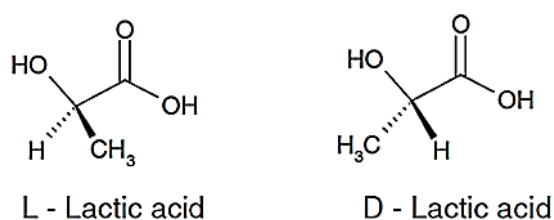
รูปที่ 4 การสังเคราะห์ PHBV จากกลูโคส และโพรพิโอเนต

2.6.2 พอลิแลคติก แอซิด poly(lactic acid) หรือ PLA

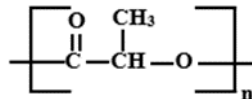
PLA คือ พลาสติกชีวภาพที่มีโครงสร้างหลักเป็นมอนอเมอร์ของ lactic acid ที่มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุล 2 แบบ คือ L-lactic acid และ D-lactic acid ดังแสดงในรูปที่ 5 เมื่อมาต่อสายกลายเป็นพอลิเมอร์ของ PLA ดังรูปที่ 6 โดย lactic acid เป็นกรดอินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์ได้ผ่านทางกระบวนการทางเคมีและกระบวนการหมัก การสังเคราะห์ผ่านทางกระบวนการทางเคมีเกิดจากกระบวนการ hydrolysis ของแลกโตไนไตรลต์ด้วยกรดแก่ทำให้ได้ lactic acid ในรูปผสมของ L-lactic acid และ D-lactic acid อีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจเพิ่มมากขึ้นคือการสังเคราะห์ผ่านทางกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ เนื่องจากเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากวัตถุดิบจะมีราคาถูกแล้ว การสังเคราะห์ผ่านทางกระบวนการหมักยังผลิตที่อุณหภูมิต่ำและใช้พลังงานในการดำเนินการต่ำอีกด้วย ซึ่งเป็นผลดีในแง่ของต้นทุนการผลิต โดยผลผลิตที่ได้จะเป็น lactic acid บริสุทธิ์ในรูปของ L-lactic acid หรือ D-lactic acid ไม่ใช่กรดผสมเหมือนเช่นการสังเคราะห์ด้วยกระบวนการทางเคมี ส่งผลให้การผลิต lactic acid เพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ส่วนมากมาจากกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ (Gupta & Kumar, 2007; Madhavan Nampoothiri et al, 2010)

แบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria (LAB) และราบางสายพันธุ์ถูกคัดเลือกเพื่อนำมาใช้ในการผลิต lactic acid โดยกลุ่มแบคทีเรียหลักที่ผลิต L-lactic acid เช่น *Lactobacilli amylophilus* *Lactobacilli bavaricus* *Lactobacilli casei* *Lactobacilli maltaromicus* และ

Lactobacilli salivarius ส่วนสายพันธุ์ *Lactobacilli delbrueckii* *Lactobacilli jensenii* และ *Lactobacilli acidophilus* สามารถผลิตกรดแลคติกในรูปแบบ D-lactic acid หรือ แลคติกผสมระหว่าง L-lactic acid และ D-lactic acid โดยแหล่งคาร์บอนที่ถูกนำมาใช้สำหรับจุลินทรีย์ เช่น น้ำตาล บริสุทธิ์ (กลูโคส แลคโตส ซูโคส) หรืออาจเป็นวัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล เช่น อ้อย มันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาลี เป็นต้น (Gupta & Kumar, 2007; Madhavan Nampoothiri et al, 2010)

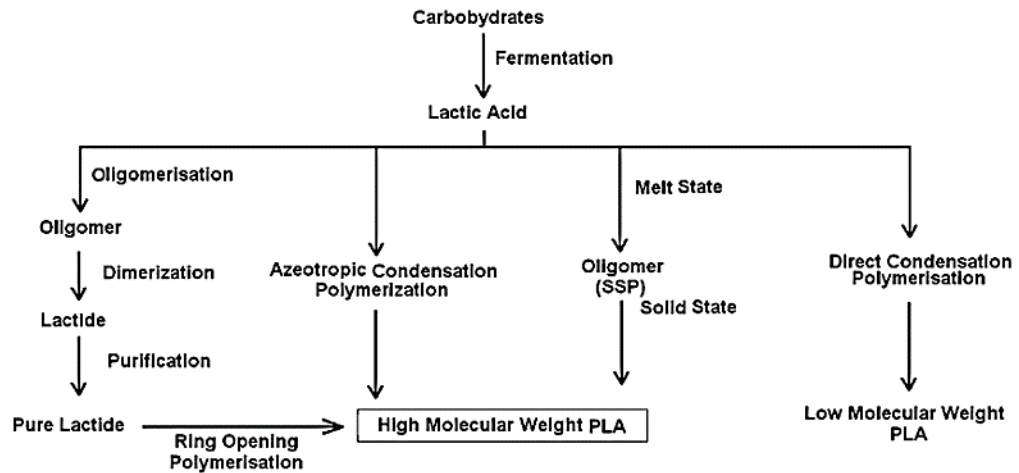


รูปที่ 5 การจัดเรียงตัวในรูปแบบสามมิติของกรดแลคติก (Gupta & Kumar, 2007)



รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA

กระบวนการในการสังเคราะห์ PLA (PLA polymerization) สามารถดำเนินการได้หลายวิธี ดังรูปที่ 7 โดยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่นโดยตรง (Direct polycondensation polymerization) จะได้พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำประมาณ 10,000 ดังนั้นวิธีนี้จะใช้สังเคราะห์ PLA เมื่อต้องการ PLA ชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเท่านั้น ส่วนวิธีการสังเคราะห์ PLA ที่ได้รับความนิยม คือ การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา Azeotropic condensation polymerization ที่มีรายงานว่าสามารถสังเคราะห์ PLA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงถึง 300,000 และการสังเคราะห์โดยวิธีการเปิดวง (Ring-opening polymerization) โดยเริ่มจาก lactic acid 2 โมเลกุลมาเชื่อมกันเป็นวงแหวนแลกไทด์ จากนั้นจะทำปฏิกิริยาการสังเคราะห์สายพอลิเมอร์ของ PLA โดยการเปิดวงแหวนแลกไทด์แล้วเชื่อมต่อเป็นสายยาวของ PLA ซึ่งวิธีการนี้จะได้ผลิต PLA ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและมีความบริสุทธิ์สูงเช่นกัน (Graupner et al, 2009; Gupta & Kumar, 2007)

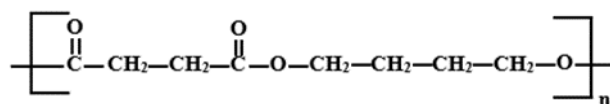


รูปที่ 7 กระบวนการสังเคราะห์ PLA (Gupta & Kumar, 2007)

2.6.3 พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต poly(butylene succinate) หรือ PBS

PBS คือ พลาสติกชีวภาพชนิดหนึ่งที่เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์โดยมีโครงสร้างเป็นสายโซ่ตรงเตรียมได้จากปฏิกิริยาการควบแน่น (condensation) ของกรดซัคซินิก (succinic acid) และ 1,4-บิวเทนไดออล (1,4-Butanediol) ซึ่งเป็นมอนอเมอร์ตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ PBS (He et al, 2012) โครงสร้างทางเคมีของ PBS ดังรูปที่ 8 การลงทุนเพื่อผลิต PBS เป็นสินค้าออกสู่ตลาดพลาสติกมีเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากปัจจุบันทั้ง succinic acid และ 1,4-Butanediol สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบธรรมชาติผ่านทางกระบวนการหมัก ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตลดลงด้วย (Liu et al, 2009)

PBS เป็นหนึ่งในพลาสติกชีวภาพที่มีการผลิตในเชิงพาณิชย์สูง เนื่องจากมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับพลาสติกสังเคราะห์ โดยมักจะพบ PBS ในรูปของบรรจุภัณฑ์ต่างๆ เช่น ฟิล์ม ถุงพลาสติกที่ย่อยสลายได้ เป็นต้น (Shah et al, 2008) รวมทั้งมีการส่งเสริมให้ใช้ PBS เป็นวัสดุคลุมแปลงการเกษตรเพื่อลดปัญหาและต้นทุนในการใช้พลาสติกและกำลังคนในการจัดเก็บภายหลังจากที่มีการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Abe et al, 2010)

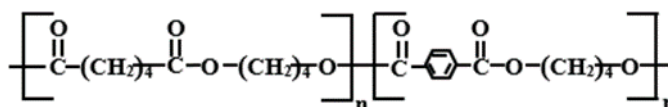


รูปที่ 8 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS

2.6.4 พอลิบิวทิลีนอะดิเพต-โค-เทเรพธาลเตต poly(butylene adipate-co-terephthalate) หรือ PBAT

หนึ่งในพลาสติกชีวภาพที่มีศักยภาพในการผลิตเชิงพาณิชย์ คือ PBAT เนื่องจากง่ายต่อกระบวนการขึ้นรูปและมีสมบัติคล้ายพลาสติกสังเคราะห์ชนิดพอลิเอธิลีน พลาสติก PBAT จัดเป็นแอลิฟาติก แอโรมาติก โคพอลิเอสเตอร์ (aliphatic aromatic copolyester) ที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี ประกอบไปด้วยไดเมอร์ 2 ชนิด โดยชนิดแรกเป็นไดเมอร์ส่วน BT จัดเป็นโครงสร้างส่วนแข็งซึ่งเป็นหน่วยซ้ำของมอนอเมอร์ชนิด 1,4 butanediol และ terephthalic acid ในขณะที่ส่วนที่มีความยืดหยุ่นจะเป็นบริเวณไดเมอร์ของ BA ที่ประกอบด้วยมอนอเมอร์ของ 1,4 butanediol และ adipic acid โดยโครงสร้างทางเคมีของ PBAT ดังรูปที่ 9

พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ที่ผลิตเป็นการค้า เช่น ผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันในชื่อทางการค้าว่า EcoFlex PBAT ถูกนำมาใช้ประโยชน์คล้ายกับพลาสติกชีวภาพชนิดอื่น เช่น การใช้ประโยชน์ทางการเกษตร เช่น ฟิล์ม วัสดุคลุมดิน แต่อย่างไรก็ตามพบว่า PBAT มักมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกชีวภาพชนิดอื่น ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตจึงมักผสม PBAT ด้วยวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ผสมกับเซลลูโลสอะซิเตต (cellulose acetate) ซึ่งได้จากเส้นใยเซลลูโลสตามธรรมชาติ (Wu, 2012)

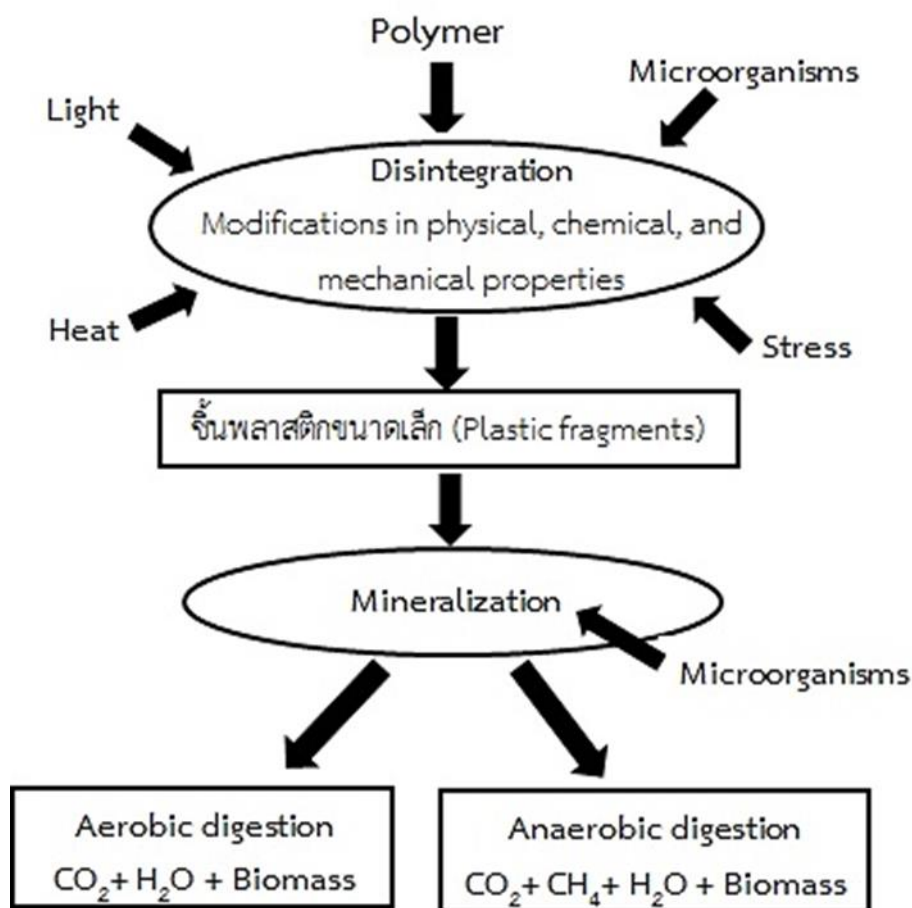


รูปที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT

2.7 กระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

กระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ กระบวนการสลายตัว (disintegration) และกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์ไปเป็นอนินทรีย์ (mineralization) โดยในกระบวนการแรกจะมีความสัมพันธ์กับกระบวนการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของชิ้นพลาสติก เช่น การแตกออกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย (fragmentation) และการเปลี่ยนสีของชิ้นพลาสติก (discoloration) การแตกหักส่งผลให้น้ำหนักพลาสติกและความแข็งแรงของพลาสติกลดลงโดยในกระบวนการนี้จะถูกควบคุมจากปัจจัยภายนอกหลายปัจจัย เช่น แสง ความร้อน ความชื้น ร่วมกับการทำงานของจุลินทรีย์ หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะปลดปล่อยเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการย่อยสลายสายพอลิเมอร์ ส่งผลให้เกิดการแตกหักของชิ้นพลาสติกมากขึ้นและเป็นผล

ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักของพลาสติกและการลดลงของน้ำหนักโมเลกุล กระบวนการนี้เรียกว่า การแตกพันธะของสายพอลิเมอร์ (depolymerization) และเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 คือ “mineralization” โดยผ่านทาง การดูดซึมทางชีวภาพ (assimilation) ซึ่งจะเกิดขึ้นหลังจากโมเลกุล เล็กที่เกิดจากการย่อยสลายจะถูกขนส่งผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์และส่งเข้าสู่กระบวนการเมตาบอลิซึม ของจุลินทรีย์ เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเจริญของจุลินทรีย์ ภายใต้ สภาวะที่มีออกซิเจน โมเลกุลที่ถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์เหล่านี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) น้ำ และมวลชีวภาพ แต่หากการย่อยสลายเกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จะถูกเปลี่ยนไป เป็น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน (CH₄) และ มวลชีวภาพ ดังรูปที่ 10 (Ji-Dong et al, 1998; Krzan et al, 2006; Lucas et al, 2008)



รูปที่ 10 กระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ดัดแปลงจาก Krzan et al (2006)

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

พลาสติกชีวภาพจะถูกละลายได้ภายในระยะเวลาที่เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยด้านสมบัติทางเคมีและกายภาพของพลาสติกแต่ละประเภท ยกตัวอย่างเช่น หากมีการนำพลาสติกชีวภาพไปฝังดินหรือทิ้งลงในระบบฝังกลบขยะ ปัจจัยภายนอกที่จะส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น การถ่ายเทอากาศ ปริมาณธาตุอาหารในดิน ที่จะมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินบริเวณนั้น ลักษณะของเนื้อดิน รวมไปถึงชนิดของจุลินทรีย์ในดิน (Shah et al, 2008) ส่วนปัจจัยด้านสมบัติทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกันในพลาสติกแต่ละประเภทก็ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายทางชีวภาพเช่นกัน ทั้งในส่วนโครงสร้างของพอลิเมอร์ (polymer structure) น้ำหนักโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ (Molecular weight) ที่แตกต่างกันก็จะใช้เวลาในการย่อยสลายแตกต่างกันไปด้วย (Chandra & Rustgi, 1998)

2.8.1 ปัจจัยด้านคุณสมบัติของสายพอลิเมอร์

2.8.1.1 หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของพอลิเมอร์

หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของพอลิเมอร์รวมทั้งโครงสร้างทางเคมีของพลาสติกชีวภาพมีบทบาทสำคัญต่อความยากง่ายในการย่อยสลาย งานวิจัยของ Kim and Kim (1998) ทำการศึกษาการย่อยสลายโพลียูรีเทนที่มีโครงสร้างแตกต่างกันภายใต้สภาวะกองปุ๋ยหมัก โดยพบว่าโพลียูรีเทนที่มีโครงสร้างแตกต่างกันจะถูกละลายได้แตกต่างกัน โพลียูรีเทนที่มีโครงสร้างของไดไอโซไซยาเนตสายตรง (aliphatic diisocyanate) จะถูกละลายได้เร็วกว่าโพลียูรีเทนที่มีโครงสร้างของไดไอโซไซยาเนตแบบวงแอมโรมาติกซึ่งถือเป็นส่วนที่ถูกละลายได้ยาก

2.8.1.2 น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์

น้ำหนักโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการย่อยสลาลดลง รายงานการวิจัยหนึ่งระบุว่า จุลินทรีย์บางชนิดสามารถย่อยสลายพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้เร็วกว่าที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง Singh and Sharma (2008)

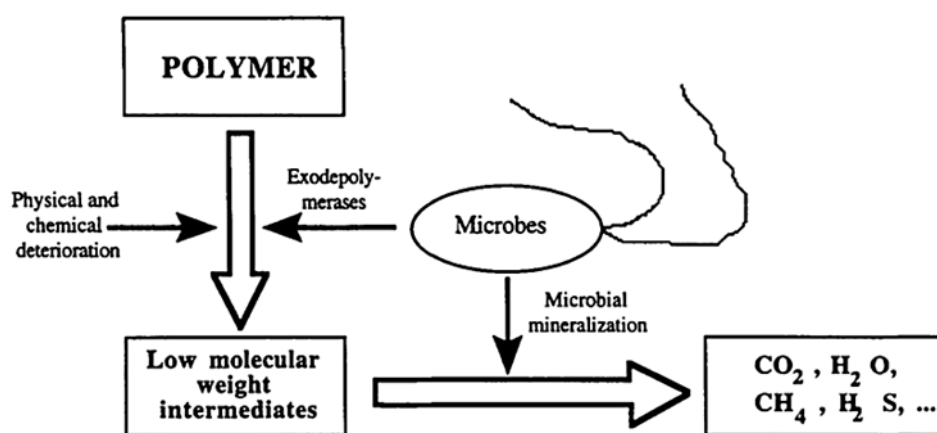
2.8.2 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม

2.8.2.1 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์สองกลุ่มที่มีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ คือ แบคทีเรียและรา โดยราเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่มีนิวเคลียส มีการสร้างสปอร์ ไม่มีคลอโรฟิลล์ สืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ราแทบอยู่ได้ทั่วไปตามธรรมชาติ โดยเอนไซม์กลุ่มสำคัญที่ราปล่อยออกมา นั้น เช่น

mono-oxygenase, epoxide hydrolase, di-oxygenase และ peroxidase เป็นต้น (Shah et al, 2008)

ส่วนแบคทีเรียก็มีบทบาทสำคัญเช่นเดียวกัน โดยแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์เซลล์เดียว มีรูปร่างทั้งแบบแท่ง แบบกลม และแบบเกลียว สามารถดำรงอยู่ได้ทั้งในสภาวะไร้ออกซิเจนและมีออกซิเจน ดังนั้นแบคทีเรียจึงสามารถย่อยสลายชิ้นพลาสติกได้ทั้งสองสภาวะ ซึ่งแตกต่างจากราที่มักจะดำรงอยู่ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน การย่อยสลายโดยแบคทีเรียก็เป็นในทางเดียวกับราคือปล่อยเอนไซม์ออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยสลายชิ้นวัสดุ และนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารและแหล่งพลังงาน ดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 กิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายสายพอลิเมอร์ (J. Mas-Castelli & Guerrero, 1995)

Mergaert and Swings (1996) รายงานผลความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) โดยเบื้องต้นสามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 695 ไอโซเลท จากธรรมชาติทั้ง ดิน ปุ๋ยหมัก ขยะธรรมชาติ กากตะกอนชีวภาพ ซึ่งความหลากหลายของสายพันธุ์จุลินทรีย์พบได้มากที่สุดในดินและปุ๋ยหมัก จากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด สามารถจำแนกจำแนกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพประกอบไปด้วยแบคทีเรียแกรมบวก 11 สายพันธุ์ และแกรมลบ 29 สายพันธุ์ สเตปโตมัยซิทีส 17 สายพันธุ์ และรา 23 สายพันธุ์ โดยในดินแบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ *Variovorax paradox* ส่วนในปุ๋ยหมักคือ *Acidovorax delafieldii* และแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำทะเลจะเป็นกลุ่มแกรมลบซึ่งพบสายพันธุ์ *Pseudoalteromonas haloplanktis* เป็นหลัก

ตัวอย่างแบคทีเรียแกรมบวกที่คัดแยกได้ เช่น *Bacillus circulans* *Bacillus megaterium* *Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa* เป็นต้น ตัวอย่างแบคทีเรียแกรมลบที่คัดแยกได้ เช่น

Acidovorax delafieldii Comamonas acidovorans Pseudomonas lemoignei Variovorax paradoxus เป็นต้น ส่วนตัวอย่างราที่คัดแยกได้ เช่น *Aspergillus fumigates Paecilomyces marquandii Penicillium daleae* และ *Penicillium simplicissimum* เป็นต้น

Akmal (2003) คัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลาย PHA จากสิ่งแวดล้อมโดยใช้อาหารแข็งที่มีพลาสติก PHA เป็นองค์ประกอบ ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตะกอนชีวภาพคือ *Bacillus sp.*, *Proteus sp.* และ *Enterobacter sp.* ส่วนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดิน คือ *Bacillus sp.* และ *Alcaligenes sp.* ส่วน *Alcaligenes sp.*, *Micrococcus sp.* และ *Pseudomonas sp.* คัดแยกได้จากทะเลสาบ และ *Proteus sp.* คัดแยกได้จากมหาสมุทรอินเดีย

Boyandin et al (2013) ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพในกลุ่ม PHAs โดยนำไปฝังดินในแถบเมืองฮานอย และเมืองดานัง ในประเทศเวียดนาม จากผลการทดสอบพบว่าพลาสติกชีวภาพถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียและรา โดยจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่คัดแยกได้คือแบคทีเรียในสกุล *Burkholderia Bacillus Cupriavidus Streptomyces Nocardiosis* และ *Mycobacterium* และราในสกุล *Gongronella Penicillium Acremonium Paecilomyces* และ *Trichoderma*

การที่จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสายพอลิเมอร์ได้นั้นเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตออกมาออกเซลล์ โดยเอนไซม์จะเข้าจับกับพอลิเมอร์ซึ่งถือเป็นสารตั้งต้นที่จะถูกย่อยสลายและเร่งให้เกิดการแตกหักและเป็นรูพรองของชิ้นพลาสติก เอนไซม์ที่ปล่อยออกมาออกเซลล์จะเข้าไปตัดพันธะที่ซับซ้อนของสายพอลิเมอร์ให้กลายเป็นโอลิโกเมอร์ ไดเมอร์ หรือมอนอเมอร์ ซึ่งมีขนาดเล็กเพียงพอที่จะซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์

2.8.2.2 อุณหภูมิและความชื้น

อุณหภูมิและความชื้นมีผลส่งเสริมกันให้เกิดการย่อยสลายของชิ้นพลาสติก เข้าเร่งกระบวนการแตกหักเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยของพลาสติก ในแถบพื้นที่เขตอบอุ่นกระบวนการย่อยสลายจึงเกิดได้ดีเพราะนอกจากจะมีแสงที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการแตกหักของพลาสติกแล้วยังมีอุณหภูมิสูงที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายของสายพอลิเมอร์รวมถึงเร่งการทำงานของจุลินทรีย์อีกด้วย ส่วนความชื้นพบว่าในแถบพื้นที่ร้อนและมีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะเกิดกระบวนการย่อยสลายได้เร็วกว่าในแถบพื้นที่ร้อนแต่แล้ง (Singh & Sharma, 2008) จากรายงานการย่อยสลายชิ้นพลาสติกชีวภาพในกองปุ๋ยหมักพบว่า ความชื้นที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างรวดเร็วอยู่ที่ 45 ถึง 55 เปอร์เซ็นต์ ถ้ากองปุ๋ยหมักแห้งเกินไปการย่อยสลายก็จะไม่มีประสิทธิภาพ

เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญและขยายพันธุ์ได้ เช่นเดียวกับการย่อยสลายในบ่อฝังกลบขยะที่แห้งเกินไปการย่อยสลายก็เกิดได้ไม่ดีเช่นกัน

2.8.2.3 ค่าพีเอช

ค่าพีเอชมีผลโดยตรงต่อการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ต่างชนิดก็มีความสามารถในการเจริญได้ดีในสภาวะเป็นกรดต่างแตกต่างกัน แบคทีเรียเจริญได้ดีในสภาวะที่ค่อนข้างเป็นกลางถึงด่าง (pH 6-8) ส่วนราเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด (pH 4-6) ในการย่อยสลายพอลิเมอร์บางชนิดอาจได้ผลิตภัณฑ์ที่ทำให้สภาวะมีค่าความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นงานวิจัยบางงานวิจัยจึงมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างระหว่างการย่อยสลายทางชีวภาพด้วย

2.8.2.4 ธาตุอาหารในดิน

อินทรีย์วัตถุในดินนอกจากจะมีอิทธิพลอย่างมากต่อคุณสมบัติต่างๆของดินทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ เช่น โครงสร้างดิน ความร่วนซุย การระบายน้ำการถ่ายเทอากาศ การดูดซับน้ำและธาตุอาหารของดินแล้วยังถือเป็นแหล่งอาหารและพลังงานของจุลินทรีย์ในดิน ดินที่มีความสมบูรณ์ของอินทรีย์วัตถุในดินสูงก็จะส่งผลให้มีความสมบูรณ์ของจุลินทรีย์สูงตามไปด้วย ดังนั้นปริมาณหรือคุณภาพของสารอินทรีย์ จึงมีผลกระทบต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์โดยตรง เช่น การตรึงไนโตรเจน การเกิดก๊าซมีเทน เป็นต้น

2.8.2.5 การถ่ายเทออกซิเจน

ก๊าซที่พบโดยทั่วไป คือ ก๊าซไนโตรเจน (N_2) ออกซิเจน (O_2) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งจุลินทรีย์ในดินใช้ในการหายใจและสร้างพลังงานในการดำรงชีวิต ดินที่มีความสมบูรณ์มีการถ่ายเทอากาศที่ดี มีปริมาณออกซิเจนในดินเหมาะสมจะส่งผลให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนเจริญได้ดี การย่อยสลายสายพอลิเมอร์ก็จะเกิดได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่หากในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนน้อยมาก เช่นในบ่อฝังกลบขยะการย่อยสลายก็เกิดขึ้นได้เช่นกันโดยแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน ดังนั้นจะเห็นได้ว่า อิทธิพลจากการถ่ายเทออกซิเจนส่งผลโดยตรงต่อกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ในดิน

2.9 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

2.9.1 การฝังชิ้นพลาสติกในตัวอย่างธรรมชาติ

วิธีการฝังชิ้นพลาสติกชีวภาพลงในตัวอย่างธรรมชาติ โดยเฉพาะการฝังพลาสติกในดินเป็นหนึ่งในวิธีการที่นิยมกันแพร่หลายในการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพ ในกระบวนการนี้การย่อยสลายจะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะธรรมชาติหรือสภาวะที่จำลองขึ้นในระดับการทดลอง ซึ่งระยะเวลาที่

ขึ้นอยู่กับวิธีการทดลองแต่ละการทดลอง โดยชิ้นส่วนพลาสติกที่เหลืออยู่จะถูกนำขึ้นมาล้างด้วยน้ำกลั่น ตากให้แห้ง และนำเข้าสู่ตู้ดูดความชื้น ก่อนนำชิ้นส่วนออกมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาร้อยละการย่อยสลายต่อไป ในปัจจุบันนอกจากจะมีการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพในดินแล้ว ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพในน้ำหรือมหาสมุทรด้วย (Akmal, 2003; Rudnik & Briassoulis, 2011; Volova et al, 2007)

2.9.2 การฝังชิ้นพลาสติกในกองปุ๋ยหมัก

วิธีการนี้ชิ้นพลาสติกจะถูกฝังลงในกองปุ๋ยหมักและบ่มที่อุณหภูมิสูงประมาณ 58-70 องศาเซลเซียส และมีความชื้นอยู่ที่ประมาณร้อยละ 50 – 65 กระบวนการย่อยสลายวัดจากชิ้นพลาสติกที่มีองค์ประกอบเป็นคาร์บอนถูกเปลี่ยนไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การทดลองด้วยวิธีนี้พบว่าธรรมชาติของปุ๋ยหมักซึ่งขึ้นกับวัตถุดิบที่นำมาทำปุ๋ยหมักนั้นมีผลโดยตรงต่ออัตราการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายนั่นก็คือแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสที่อยู่ในกองปุ๋ยหมัก ซึ่งมีทั้งกลุ่มที่เจริญได้ดีในอุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic microorganisms) และกลุ่มที่เจริญได้ดีในอุณหภูมิสูง (Thermophilic microorganisms) (Ghorpade et al, 2001; Iovino et al, 2008; Leejarkpai et al, 2011)

2.9.3 การย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน

วิธีนี้จะศึกษาการย่อยสลายพลาสติกโดยใช้ตะกอนชีวภาพที่ได้มาจากระบบบำบัดน้ำเสียมาบ่มในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งในตะกอนชีวภาพจะมีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายชิ้นพลาสติกได้ โดยในการทดลองจะตรวจวัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และหรือมีเทนที่ผลิตขึ้นเมื่อมีการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (Gómez & Michel Jr, 2013; Yagi et al, 2009; Yagi et al, 2010; Yagi et al, 2013)

2.9.4 วิธีเพาะเชื้อบริสุทธิ์

ในวิธีการนี้แบคทีเรียหรือราสายพันธุ์ที่จำเพาะจะถูกนำมาศึกษาความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพในระดับการทดลอง จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ จะถูกนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการใส่ชิ้นพลาสติกที่ทราบน้ำหนักและขนาดที่แน่นอนลงไป ศึกษาการย่อยสลายตามระยะเวลาทดสอบ หลังจากนั้นนำชิ้นพลาสติกขึ้นมาล้างด้วยน้ำกลั่นและชั่งน้ำหนักเช่นเดียวกันกับวิธีฝังในดิน เพื่อหาร้อยละน้ำหนักพลาสติกที่หายไป นอกจากนั้นสามารถนับจำนวนและศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในอาหารได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Phithakrotchanakoon et al, 2009; Shah et al, 2013; Shah et al, 2010)

2.10 การวัดผลการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

2.10.1 การสังเกตลักษณะทางกายภาพที่มองเห็น

การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของชิ้นพลาสติกที่มองเห็นได้ชัดหลังจากการย่อยสลาย เช่น ความหยาบของผิวพลาสติกที่เพิ่มมากขึ้น การเกิดรู โพรง การแตกหักเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย การเปลี่ยนสีของชิ้นพลาสติก หรือการเกิดไบโอฟิล์มเกาะที่ผิวพลาสติก ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปเหล่านี้ แสดงให้เห็นว่ามีการเกาะติดของจุลินทรีย์ที่ผิวพลาสติกและเริ่มมีการย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้น (Shah et al, 2010; Weng et al, 2011; Weng et al, 2010)

2.10.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก

การติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของชิ้นพลาสติกหลังจากการย่อยสลายเป็นวิธีวัดผล การย่อยสลายที่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจากมีการดำเนินการที่ไม่ซับซ้อนและค่าใช้จ่ายในการ ดำเนินการต่ำ แต่อย่างไรก็ตามปัญหาของวิธีนี้มักเกิดขึ้นเนื่องจากต้องล้างชิ้นพลาสติกที่เหลืออยู่ให้ สะอาดโดยไม่มีเศษดินติดมาด้วย เพราะอาจจะทำให้น้ำหนักที่วัดค่าได้มีความคลาดเคลื่อน และอีก หนึ่งปัญหาที่มักพบคือ ถ้าพลาสติกที่นำมาศึกษาถูกย่อยสลายจนแตกละเอียด จะส่งผลให้การเก็บ ตัวอย่างทำได้ลำบากและอาจเกิดความคลาดเคลื่อนเนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ครบสมบูรณ์ ดังนั้นในงานวิจัยบางส่วนจึงมักยึดหรือตรึงชิ้นตัวอย่างพลาสติกที่ต้องการศึกษาไว้กับตาข่ายเพื่อให้ง่าย ต่อการเก็บตัวอย่าง (Ishigaki et al, 2004; Luo & Netravali, 2003)

2.10.3 การวัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ

การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy; SEM) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากในการศึกษาสัณฐานวิทยาของผิวพลาสติกที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากผ่าน การย่อยสลาย วิธีนี้มีความละเอียดมากกว่าวิธีการตรวจสอบด้วยตาเปล่าเพราะใช้กำลังขยายสูงใน การส่องกราดไปที่ผิวพลาสติกทำให้เห็นลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างชัดเจน กล้องจุลทรรศน์แรง อะตอม (Atomic force microscopy; AFM) เป็นอีกเครื่องมือหนึ่งที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้ทดสอบ ความขรุขระของผิวพลาสติกในระดับนาโนเมตร (Arcos-Hernandez et al, 2012) นอกจากนั้นการ วัดผลการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพยังรวมไปถึงการติดตามการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพทาง ความร้อนของชิ้นพลาสติก Thermo gravimetric Analysis (TGA) หลังจากผ่านการทดสอบการย่อย สลายก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่ามาใช้ทดสอบเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพเช่นกัน (Arrieta et al, 2014; Phukon et al, 2012; Weng et al, 2013)

2.10.4 การวัดการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันทางเคมี

จากงานวิจัยหลายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการศึกษาการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันในสายพอลิเมอร์ภายหลังการทดสอบการย่อยสลายด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) โดยใช้กราฟอินฟราเรดสเปกตรัมในการบอกหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่สำคัญที่พบในสายพอลิเมอร์ก่อนและหลังการย่อยสลาย (Al-Itry et al, 2012; Arrieta et al, 2014; Pamuła et al, 2001)

2.10.5 การวัดการเกิดก๊าซ

ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน จุลินทรีย์จะใช้ออกซิเจนในการออกซิไดซ์คาร์บอนและสร้าง CO₂ ขึ้น ดังนั้นปริมาณ CO₂ จึงเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีเมื่อมีการย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้น (Petinakis et al, 2010) โดยการวัดปริมาณ CO₂ อาจใช้เครื่องวัดโดยตรงด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) หรือใช้วิธีพื้นฐานคือการไตเตรต (Rosa et al, 2003) ส่วนการย่อยสลายที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนสามารถตรวจวัดการเกิดก๊าซ CO₂ และ CH₄ ได้

2.10.6 การวัดการสร้างบริเวณไฮโดรฟิลิกโดยจุลินทรีย์

วิธีการนี้เป็นวิธีอย่างง่ายที่ใช้ประเมินความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพของจุลินทรีย์ โดยใช้อาหารแข็งที่มีผนังเซลล์ของพลาสติกที่ต้องการศึกษากระจายอยู่ทั่วอาหารแข็ง หลังจากผ่านระยะเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างบริเวณไฮโดรฟิลิก โคลโลนีสามารถถูกกระทุ้งที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพนั้นๆ วิธีการนี้ยังสามารถใช้ในการคัดแยกหาจุลินทรีย์ที่มีความเหมาะสมในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้เป็นอย่างดี เช่น

Lee et al (2005) ทำการคัดแยกจากแหล่งต่างๆ เช่น กองปุ๋ยหมัก ดิน และกองหญ้า โดยทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย PHB จากการสร้างบริเวณไฮโดรฟิลิก พบว่าราทั้งหมด 105 ไอโซเลทที่สามารถย่อยสลาย PHB ได้ ส่วน Shah et al (2007) แสดงผลของบริเวณไฮโดรฟิลิกที่สร้างโดย *Bacillus* sp. AF3 บนอาหารแข็งที่มีส่วนประกอบของ 0.3 เปอร์เซ็นต์ของ PHBV

Allen et al (2011) แสดงผลของการสร้างบริเวณไฮโดรฟิลิกของ *Streptomyces* sp. IN1 บนอาหารแข็ง mineral salt medium ที่มี PHBV เป็นแหล่งคาร์บอน

Shah et al (2013) คัดแยกแบคทีเรีย *Roseateles depolymerans* TB-87 จากแหล่งน้ำซึ่งแบคทีเรียนี้มีความสามารถในการย่อยสลาย โพลีเอสเตอร์ poly[(butylene succinate)/terephthalate/isophthalate]-co-(lactate) (PBSTIL) โดยรายงานผลการสร้างบริเวณไฮโดรฟิลิกบนอาหารที่มีการผสมพลาสติก PBSTIL

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

2.11.1 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV

เนื่องจากพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV เป็นโคพอลิเมอร์ที่ผลิตได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรีย และ สาหร่าย ทำให้มีความสามารถในการถูกย่อยสลายได้ดี การศึกษาการย่อยสลาย PHBV นั้น มีด้วยกันหลายรูปแบบ โดยส่วนหนึ่งจะเป็นการคัดแยกจุลินทรีย์จากแหล่งธรรมชาติที่มีความสามารถในการย่อยสลาย PHBV และศึกษาผลการย่อยสลายที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ตัวอย่างเช่น Mergaert and Swings (1996) รายงานการคัดแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างดิน ปุ๋ยหมัก น้ำ และ ตะกอนชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลาย PHBV พบได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ แอคติโนมัยซีท และ รา

Tabrez Khan and Hiraishi (2001) คัดแยกแบคทีเรียจากตะกอนชีวภาพ ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลาย PHB และ PHBV ทั้งในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนและใช้ออกซิเจน และเมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์โดยวิธี 16S rDNA พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้อยู่ในกลุ่มของ Proteobacteria และอยู่ในวงศ์ Comamonadaceae

Shah et al (2007) ได้คัดแยกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. AF3 จากตะกอนชีวภาพและศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PHBV โดยดูจากการทำงานของเอนไซม์ depolymerase ผลการศึกษาพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์จะเกิดได้สูงสุด เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. AF ในอาหารที่มีการเติม กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเสริม นอกจากนั้น Shah et al (2010) คัดแยก *Actinomadura* sp. AF 555 จากดินที่มีการฝังชิ้นตัวอย่าง PHBV เป็นเวลาประมาณ 3 เดือน และเมื่อตรวจสอบชิ้นตัวอย่าง ด้วย scanning electron microscopy (SEM) ร่วมกับ Fourier transform infrared (FT-IR) พบว่าชิ้นพลาสติกถูกย่อยสลาย ผุพัง เกิดเป็นรูพรุนบริเวณผิว และมีการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างทางเคมีของสายพอลิเมอร์ ซึ่งได้ให้ข้อสรุปว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำจุลินทรีย์ในดินมาใช้ ประโยชน์ในการย่อยสลายขยะพลาสติกชีวภาพต่อไป

งานวิจัยเกี่ยวกับ PHBV บางส่วน จะเน้นไปที่การศึกษาการย่อยสลายในระดับทดลอง เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้จริงในอนาคต ซึ่งมีทั้งการศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้ ออกซิเจนและภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยการศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้ ออกซิเจน เช่น Ohura et al (1999) บ่มชิ้นตัวอย่าง PHBV เป็นเวลา 28 วัน และควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่า PHBV จะเกิดการย่อยสลายได้ดีเมื่อแช่ในน้ำจากแม่น้ำ น้ำจากทะเลสาบ และน้ำทะเล ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแหล่งน้ำธรรมชาติที่แตกต่างกัน อาจมีจุลินทรีย์ต่างสายพันธุ์กัน ซึ่งส่งผลให้อัตราการย่อยสลาย PHBV เกิดได้ต่างกัน

ส่วนการศึกษาภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน เช่น Abou-Zeid et al (2001) ทำการทดสอบการย่อยสลาย PHBV โดยใช้ตัวกลางเป็นตะกอนชีวภาพ 2 ชนิด คือตะกอนชีวภาพเข้มข้นและตะกอนชีวภาพที่มีการเจือจาง 10 เปอร์เซ็นต์ ผลพบว่า PHBV มีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป 22.5 เมื่อใช้ตัวกลางเป็นตะกอนชีวภาพเข้มข้นหลังจากการทดสอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ส่วนการทดสอบโดยใช้ตัวกลางเป็นตะกอนชีวภาพที่มีการเจือจางจะมีค่าร้อยละน้ำหนักที่ลดลงน้อยกว่า (ร้อยละ 13.5) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของจำนวนจุลินทรีย์ในตะกอนชีวภาพมีผลต่อค่าร้อยละการย่อยสลาย PHBV

งานวิจัยเกี่ยวกับการย่อยสลาย PHBV บางส่วน จะอยู่ในระดับนำร่อง (pilot-scale) เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้จริงในอนาคต เช่น งานวิจัยของ Ishigaki et al (2004) ศึกษาการย่อยสลาย PHBV ในถังปฏิกรณ์ที่มีการควบคุมสองสภาวะ คือมีการให้อากาศเพื่อให้เป็นระบบที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการย่อยสลาย PHBV ในระบบฝังกลบในอนาคต นอกจากนี้การศึกษาศึกษาการย่อยสลาย PHBV นิยมทดสอบในกองปุ๋ยหมัก (composting conditions) เช่นงานวิจัยของ Luo and Netravali (2003) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของ PHBV ในสภาวะการย่อยสลายในกองปุ๋ยหมักเป็นเวลามากกว่า 50 วัน โดยผลการทดสอบพบว่า PHBV มีการเปลี่ยนแปลงทั้งน้ำหนักที่ลดลงและลักษณะพื้นผิวที่เปลี่ยนแปลงไป แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทดสอบด้วย FTIR (Weng et al, 2010) ศึกษาพฤติกรรมของการย่อยสลายฟิล์ม PHBV ในระดับนำร่องภายใต้สภาวะปุ๋ยหมัก จากการศึกษาพบว่า PHBV จะถูกย่อยได้หมดภายใน 12 สัปดาห์

งานวิจัยบางส่วน ศึกษาการย่อยสลาย PHBV ภายใต้สภาวะจริง เช่น Akmal (2003) ศึกษาการย่อยสลาย PHB และ PHBV ภายใต้สภาวะแวดล้อมจริง โดยการฝังลงดิน และตะกอนชีวภาพ ที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร การแช่ในทะเลสาบและมหาสมุทร ที่ระดับความลึก 100 เซนติเมตร ผลของการย่อยสลาย PHBV ผลการทดสอบพบว่าน้ำหนักชิ้นพลาสติกที่หายไปอยู่ที่ร้อยละ 17.8 6.7 3.2 และ 2.7 ต่อสัปดาห์ เมื่อย่อยสลายในตะกอนชีวภาพ ดิน ทะเลสาบ และน้ำทะเล ตามลำดับ ซึ่ง PHB และ PHBV ถูกย่อยสลายได้สูงสุดในการฝังในตะกอนชีวภาพ โดยถูกย่อยสลายจนหมดภายใน 6 สัปดาห์

2.11.2 การศึกษาศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PLA

PLA เป็นพลาสติกชีวภาพที่มีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในหลายรูปแบบการใช้งาน และมีส่วนแบ่งทางการตลาดในตลาดพลาสติกสูง (Byun & Kim, 2014) ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่การศึกษาศึกษาการย่อยสลาย PLA หลากหลายงานวิจัยทั้งในส่วนที่ศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการและระดับ

การทดสอบการย่อยสลายในสภาวะจริงตามธรรมชาติ เช่น Itävaara et al (2002) ศึกษาการย่อยสลาย Poly-L-lactide (PLLA) ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 และ 52 องศาเซลเซียส รวมถึงศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 25 37 55 และ 60 องศาเซลเซียส โดยผลการศึกษาพบว่า การย่อยสลายที่เกิดภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนแบบ solid state จะเกิดได้เร็วกว่าการย่อยสลายภายใต้สภาวะใช้ออกซิเจนที่เป็น aquatic conditions และจากผลการศึกษาระบุว่า PLA จะเกิดการย่อยสลายช้ามากที่อุณหภูมิห้อง แต่จะเกิดการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tsuji and Suzuyoshi (2002) ที่ทำการทดสอบการย่อยสลาย PLA ในสภาวะให้อากาศโดยแช่ในน้ำทะเล จากผลการทดสอบเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า PLA ถูกย่อยสลายได้น้อยมากที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

สาธิตี ศิริวัฒน์ (2553) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายทางชีวภาพของบรรจุภัณฑ์ที่ทำจาก PLA และเยื่อชานอ้อย ด้วยดินผสมไบโຈามจุรี ภายใต้สภาวะการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคตอเรียล (Factorial Design) สำหรับ 3 ปัจจัย คือบรรจุภัณฑ์ อุณหภูมิ และปริมาณไนโตรเจน และใช้เวลาในการทดสอบ 30 วัน จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส และไม่เติมยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนในดิน เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายบรรจุภัณฑ์ทั้งสอง และเมื่อนำปัจจัยคัดเลือกดังกล่าวมาขยายเวลาศึกษาเป็น 90 วัน พบว่าน้ำหนักบรรจุภัณฑ์ชนิด PLA และเยื่อชานอ้อยลดลงร้อยละ 100 และ 96 ตามลำดับ

ในส่วนของการย่อยสลาย PLA ในกองปุ๋ยหมักในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าผลการวิจัยออกมาในแนวทางเดียวกันคือ PLA สามารถถูกย่อยสลายได้ดีในกองปุ๋ยหมักที่มีอุณหภูมิค่อนข้างสูง (Graupner et al, 2009; Iovino et al, 2008; Itävaara et al, 2002)

ส่วนการย่อยสลาย PLA ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนนั้น มีการรายงานโดย Yagi et al (2009) ศึกษาการย่อยสลาย PLA ชนิดผง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า PLA มีร้อยละของการย่อยสลาย 60 80 และ 90 ภายในเวลา 30 40 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนการย่อยสลายภายใต้อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะเกิดขึ้นได้ช้ากว่า โดยการย่อยสลายจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อผ่านไป 55 วัน

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เน้นไปที่การศึกษาการเพิ่มความสามารถในการย่อยสลาย PLA โดยผสมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น เช่น งานวิจัยของ Sarasa et al (2009) ศึกษาอัตราการย่อยสลาย PLA และ PLA ผสมแป้งข้าวโพด ภายใต้สภาวะใช้ออกซิเจน อุณหภูมิ 58 ± 2 องศาเซลเซียส โดย PLA ผสมแป้งข้าวโพด จะมีร้อยละของการย่อยสลายเฉลี่ยอยู่ที่ 79.9

2.11.3 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PBS

การศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PBS พบว่ายังมีงานวิจัยค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาการย่อยสลาย PHBV และ PLA โดยมีงานวิจัยที่เน้นไปที่การตัดแยกจุลินทรีย์และทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์นั้นต่อการย่อยสลาย PBS เช่น งานวิจัยของ Abe et al (2010) ตัดแยกราสายพันธุ์ *Fusarium solani* ที่มีความสามารถในการย่อยสลาย PBS โดยสามารถย่อยสลายแผ่นฟิล์มที่ผลิตจาก PBS ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า GS Pla ได้ร้อยละ 2.8 ภายใน 14 วันของการฝังตัวอย่างแผ่นฟิล์ม GS Pla ลงไปในดิน นอกจากนี้ยังศึกษาการย่อยสลายร่วมกันระหว่าง *Fusarium solani* WF-6 กับแบคทีเรีย *Stenotrophomonas maltophilia* YB-6 พบว่า แบคทีเรีย *Stenotrophomonas maltophilia* YB-6 ไม่สามารถย่อย GS Pla ได้ แต่มีหน้าที่ช่วยส่งเสริมให้การย่อยสลาย GS Pla โดย *Fusarium solani* WF-6 เกิดได้ดีขึ้น

Kim et al (2006) ติดตามการย่อยสลาย PBS และ PBS ที่ผสมแป้ง ภายใต้การฝังดินตามสภาวะธรรมชาติและสภาวะดินผสมปุ๋ยหมัก โดยพบว่า การย่อยสลายทั้ง PBS และ PBS ที่ผสมแป้ง ภายใต้สภาวะดินผสมปุ๋ยหมักเกิดได้ดีกว่าการฝังดินภายใต้สภาวะธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ในสภาวะดินผสมปุ๋ยหมักก็มีมากกว่าด้วยเช่นกัน ผลการศึกษานี้ยืนยันได้ว่าการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพถูกควบคุมด้วยปัจจัยหลายด้านและหนึ่งในนั้นคือจำนวนและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ในระบบ นอกจากนี้พบว่าการเพิ่มสัดส่วนของแป้งมากขึ้นจะส่งผลให้เกิดการย่อยสลายเกิดได้ดีขึ้น เพราะส่วนนี้คือส่วนที่ง่ายต่อการเกาะติดของจุลินทรีย์และง่ายต่อการย่อยสลาย สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Liu et al, 2009) ที่ศึกษาการย่อยสลาย PBS ที่ผสมเส้นใยปอกระเจา พบว่า PBS ที่มีการผสมเส้นใยปอกระเจาจะถูกย่อยสลายได้ดีกว่า PBS บริสุทธิ์เมื่อฝังลงไปในดินผสมปุ๋ยหมัก โดยตัวอย่างที่เป็น PBS ผสมเส้นใยปอกระเจาร้อยละ 10 จะมีน้ำหนักหายไปร้อยละ 62.5 หลังจากการฝังไป 180 วัน

Cho et al (2011) ศึกษาการย่อยสลาย PBS ภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน พบว่า PBS ถูกย่อยสลายได้ร้อยละ 31 ในระยะเวลา 80 วัน ภายใต้สภาวะใช้ออกซิเจน แต่พบการย่อยสลายได้น้อยมากภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dvorackova et al (2015) ที่ทำการศึกษาการย่อยสลาย PBS ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 และ 55 องศาเซลเซียส ผลการวิจัยพบว่า PBS ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่เมื่อใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะเกิดการย่อยสลาย PBS ได้ดีขึ้น โดยมีการย่อยสลายได้ร้อยละ 24.8 ในระยะเวลา 97 วัน

2.11.4 การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT

Nakajima-Kambe et al (2009) คัดแยกแบคทีเรียรหัส TB71 จากสิ่งแวดล้อม ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพอลิเอสเตอร์โซ่ตรงและพอลิเอสเตอร์ที่มีโครงสร้างเป็นโซ่ตรงต่อกับวงแหวนอะโรมาติก ประกอบไปด้วย PBSTIL PBST และ PBAT (Ecoflex) เมื่อพิจารณาไปที่การศึกษาการย่อยสลาย PBAT โดยบ่มแบคทีเรียรหัส TB71 กับชิ้นตัวอย่างฟิล์ม PBAT ในอาหารเหลว NB ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำหนักของชิ้นพลาสติกหายไป 1.4 ± 0.2 มิลลิกรัม หลังจากการบ่มไป 2 สัปดาห์ และเมื่อศึกษาผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยสลาย PBAT โดยใช้ HPLC ปรากฏให้เห็นว่าสายพอลิเมอร์ถูกย่อยไปเป็น 1,4-บิวทานีไดออล (1,4-butanediol) อะดิพิก แอซิด (adipic acid) และเทรเพทอลิก แอซิด (terephthalic- acid)

Kijchavengkul et al (2010) ศึกษาการย่อยสลายฟิล์ม PBAT ในปุ๋ยคอก เศษอาหาร และกองปุ๋ยหมัก ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าอัตราการย่อยสลาย PBAT ใน 3 สภาวะ จะเกิดแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่แตกต่างในแต่ละสภาวะ ฟิล์ม PBAT จะย่อยสลายได้ดีที่สุดในปุ๋ยคอก โดยวัดจากอัตราการปล่อยก๊าซ CO₂ ออกมาสูงสุด และเมื่อพิจารณาโครงสร้างทางเคมีของสายพอลิเมอร์ภายหลังการย่อยสลายด้วยเทคนิค ¹H NMR แสดงให้เห็นว่าบริเวณหน่วย BA ซึ่งมีโครงสร้างเป็นโซ่ตรงจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าหน่วย BT ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก นอกจากนั้นงานวิจัยของคณะนี้ ยังนำผลิตภัณฑ์ที่ใช้คลุมแปลงเกษตร (mulch film) ที่ผลิตจาก PBAT มาศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะ 2 สภาวะคือ นำมาตากแดด เพื่อดูผลของการผุพังโดยแสง และนำไปฝังดินเพื่อดูผลของการย่อยสลายจากจุลินทรีย์ในดิน ผลการศึกษาพบว่า หลังจากการนำแผ่นฟิล์มตากแดด 8 สัปดาห์ ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มลดลง (integrity) เริ่มเห็นการเปราะของแผ่นฟิล์ม และหลังจาก 16 สัปดาห์เป็นต้นไป แผ่นฟิล์มจะเริ่มแตกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย แสดงให้เห็นว่าอายุการใช้งานของแผ่นฟิล์มหากมีการตากแดดจะอยู่ประมาณ 8 สัปดาห์ แต่หากนำแผ่นฟิล์มไปฝังดิน พบว่าผิวแผ่นฟิล์มเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง เกิดการแตกและเป็นรู หลังจากการนำไปฝังดินเป็นเวลา 24 สัปดาห์

นาวิณ เนสุสินธุ์ (2554) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลาย PBAT และ PLA ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน โดยใช้ดินจากบ่อฝังกลบขยะร่วมกับกากตะกอนชีวภาพ เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักของพลาสติกที่หายไป พบว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อการย่อยสลายคือ ร้อยละของตะกอนชีวภาพที่ผสมลงไป ในดิน โดยสัดส่วนดินต่อตะกอนชีวภาพที่ 70:30 ส่งผลให้การย่อยสลาย PLA และ PBAT เกิดได้ดีที่สุด

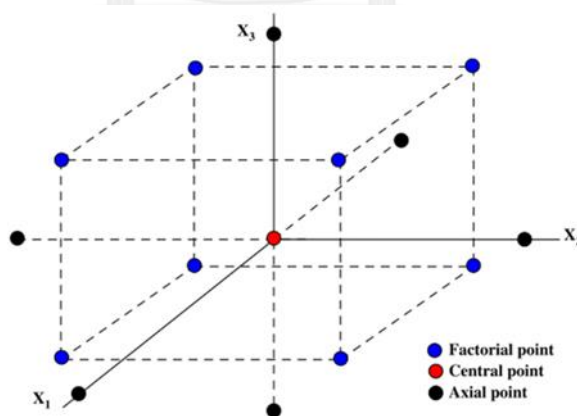
จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า มีหลายงานวิจัยที่สนใจและมุ่งเน้นในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ทั้งชนิด PLA PHBV PBS และ PBAT เนื่องจากพลาสติกทั้ง 4 ชนิดนี้สามารถผลิตออกเป็นสินค้าและมีแนวโน้มที่ดีทางด้าน การตลาด ถึงแม้ว่าพลาสติกเหล่านี้จะเป็นพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพก็ตาม แต่พบว่าการย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้นั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการและยังต้องการสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายอีกด้วย ซึ่งจะเห็นได้ว่าในสภาวะธรรมชาติพลาสติกเหล่านี้จะถูกย่อยสลายได้ช้ามาก ดังนั้นงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับพลาสติกกลุ่มนี้จึงพยายามหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายทั้งภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจนและสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน จากการทบทวนเอกสารที่ได้รายงานไปข้างต้นพบว่า งานวิจัยส่วนมากเน้นไปที่การศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพภายใต้การใช้ปุ๋ยหมักและภายใต้การใช้อาหารเหลวที่เร่งให้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเจริญได้ดี ซึ่งทั้งสองสภาวะนี้จัดอยู่ในการย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจนซึ่งเป็นสภาวะที่ง่ายต่อการย่อยสลายขึ้นพลาสติก แต่มีงานวิจัยเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่จะศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน โดยการย่อยสลายภายใต้สภาวะนี้ในสภาพความเป็นจริงแล้วจะพบที่บ่อฝังกลบขยะซึ่งจัดเป็นแหล่งในการสะสมขยะพลาสติกแหล่งใหญ่ที่สุด ดังนั้นการศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนจึงผลดีต่อการประยุกต์ใช้เข้ากับการย่อยสลายขยะพลาสติกในบ่อฝังกลบขยะ นอกจากนั้นพบว่ยังไม่มียางานการวิจัยใดที่ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิดนี้ สภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ซึ่งสภาวะนี้ก็สามารถพบได้จริงในบ่อฝังกลบขยะเช่นกันโดยเฉพาะในส่วนชั้นการฝังกลบขยะด้านบนซึ่งออกซิเจนสามารถซึมผ่านเข้าไปในชั้นดินได้แต่มีปริมาณน้อย ดังนั้นจึงเป็นผลดีหากศึกษาการย่อยสลายภายใต้สองสภาวะนี้ร่วมกันนอกจากนั้นยังไม่มีรายงานการวิจัยใดที่ศึกษารูปแบบการย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพทั้ง 4 ชนิดพร้อมกัน ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้เลือกศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ประกอบด้วย poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) poly(lactic acid) (PLA) poly(butylene succinate) (PBS) และ poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) ในระบบจำลองการฝังกลบ โดยศึกษาปัจจัยด้านสัดส่วนของตะกอนที่ใช้ในการย่อยสลาย อุณหภูมิ และร้อยละออกซิเจน เริ่มต้นในขวดทดลอง ภายใต้การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) จากนั้นสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด จะถูกนำมาศึกษาต่อเนื่องโดยการขยายเวลาในการติดตามผลการย่อยสลายเป็นเวลา 90 วัน โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายใต้สภาวะทดสอบ พร้อมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการจำลองการฝังกลบ ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลโดยตรงต่อการย่อยสลายทางชีวภาพด้วย

2.12 การทดลองแบบ Central Composite Design

การทดลองแบบ CCD เป็นการทดลองที่มีประสิทธิภาพในการสร้างแบบจำลองกำลังสองเพื่อใช้ในการศึกษาที่คาดว่าตัวแปรหรือปัจจัยที่เลือกศึกษาอาจมีผลต่อค่าตอบสนอง (response) ในลักษณะที่เป็นเส้นโค้ง (quadratic relationship) ข้อดีของการทดลองแบบ CCD คือ ใช้หน่วยทดลองไม่มาก เนื่องจากการเลือกศึกษาเพียงบางจุดที่จำเป็น (fractional factorial design) เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เพียงพอต่อการสร้างแบบจำลองกำลังสองได้ และสามารถนำแบบจำลองที่ได้มาพิจารณาพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology) (RSM) เพื่อศึกษาผลกระทบของปัจจัยและปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยต่อค่าตอบสนอง รวมถึงหาสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยต่อค่าตอบสนองได้ (Bashir et al, 2010; Cho & Zoh, 2007)

CCD เป็นการทดลองที่ศึกษาแต่ละปัจจัยใน 3 ระดับ โดยกำหนดสัญลักษณ์ที่ -1 0 และ +1 สามารถสร้างหน่วยทดลองได้ 3 ส่วน ดังแสดงในรูปที่ 12 ซึ่งประกอบด้วย

- 1) หน่วยทดลองสำหรับ Full factorial โดยจำนวนหน่วยทดลองเท่ากับ 2^k โดย k คือจำนวนปัจจัยที่เลือกศึกษา
- 2) หน่วยทดลองสำหรับ Axial points ซึ่งจะมีการปรับค่าระดับของปัจจัยหนึ่ง (α) ไปในแนวแกน + และ - โดยยึดค่าปัจจัยอื่นไว้ที่จุดศูนย์กลาง (0)
- 3) หน่วยทดลองที่ทำซ้ำที่จุดศูนย์กลาง Central point



รูปที่ 12 จุดการทดลองแบบ CCD เมื่อศึกษา 3 ปัจจัย (X_1 , X_2 และ X_3) (Cho & Zoh, 2007)

จากรูปที่ 12 เป็นรูปแบบการทดลอง CCD แบบ Circumscribed ซึ่งมีระยะจาก Axial Point ไปยัง Center Point $\pm\alpha$ แต่หากระยะห่างจาก α ถึงจุด Central point มีค่าเท่ากับ ± 1 จะเรียกการออกแบบ CCD แบบนี้ว่า face centered design

มีงานวิจัยที่นำเอาการออกแบบการทดลองแบบ CCD และวิธี RSM มาใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองด้านต่างๆ ในส่วนของการศึกษาเกี่ยวกับพลาสติกชีวภาพนั้น พบว่ามีงานวิจัยของ Sukkhum et al (2009) ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายพลาสติก PLA โดยเชื้อ *Thermophilic Actinomadura* sp. T16-1 ในส่วนของการศึกษาการย่อยสลายนั้น พบงานวิจัยของ Korawit Chaisu et al (2012) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย PLA ด้วยวิธี RSM ในระดับขดทดลอง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย PLA คือค่าพีเอชอาหารเหลวที่ 8 ปมที่อุณหภูมิ 40.5 องศาเซลเซียส และอัตราการให้อากาศที่ 194 rpm ให้ค่าร้อยละการย่อยสลายสูงที่ 69.6 ในเวลา 20 วัน แต่อย่างไรก็ดีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ โดยการใช้การทดลองแบบ CCD และการพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมจากวิธี RSM พบว่ายังมีอยู่จำกัด ดังนั้นจุดเด่นหนึ่งของงานวิจัยในครั้งนี้ คือการประยุกต์การทดลองแบบ CCD มาใช้ในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระดาษเช็ดทำความสะอาด Kimwipes บริษัท KIMTECH Science, Canada.
2. กระดาษเช็ดทำความสะอาด Kimtowel wipers standard บริษัท Kimberly-Clark professional, Canada.
3. เครื่องแก้วของบริษัท Pyrex, USA.
4. เครื่องกำเนิดแสงอัลตราไวโอเล็ต รุ่น ETX-20 m บริษัท VILBER, Germany.
5. เครื่องขึ้นรูปพลาสติกแบบแม่พิมพ์ความร้อน (hot press compression apparatus) บริษัท LABTECH, UK.
6. เครื่องขึ้นรูปพลาสติกแบบเครื่องรีด รุ่น LR 8906-02F บริษัท HAAKE, Germany.
7. เครื่องชั่งหยاب 2 ตำแหน่ง รุ่น BJ 1000C บริษัท Precisa, Germany.
8. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น BP211D บริษัท Sartorius, ประเทศไทย
9. เครื่องนึ่งความดันฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น SS-325 บริษัท Tomy, Germany.
10. เครื่องบ่ม Dry Bath Incubator รุ่น MD-01N บริษัท Major Science, Taiwan.
11. เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (Micro-centrifuge) รุ่น Liofuge บริษัท LIOLAB, ประเทศไทย
12. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (High speed refrigerated centrifuge) รุ่น 6500 บริษัท Kubota, Japan.
13. เครื่องปั่นผสม (Vortex mixer) รุ่น UZUSIO VTX-3000L บริษัท LMS (Laboratory and medical supplies), Japan.
14. เครื่องผลิตน้ำ MiliQ รุ่น Academic A10 บริษัท Millipore, Germany.
15. เครื่องผลิตน้ำกลั่น (Ultrapure water Purification system) บริษัท KEMFLO, Canada.
16. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA Thermal Cycler) รุ่น Gene Q Thermal Cycler บริษัท BIOER TECHNOLOGY, China.
17. เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค DGGE รุ่น DGGEK-1001 บริษัท C.B.S. Scientific, USA.
18. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH meter) รุ่น C8621 บริษัท Consort, Belgium.
19. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer)

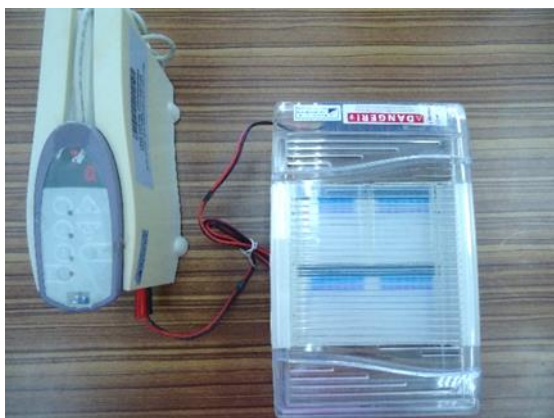
20. เครื่องสปั่นดาวน์ (Micro centrifuge LM-60 Lio fuge บริษัท Lio Lab, ประเทศไทย)
21. เครื่อง Elemental Analyzer (Perkin Elmer รุ่น PE2400 Series II, USA)
22. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) รุ่น PerkinElmer, Spectrum One, บริษัท PerKinElmer, USA.
23. เครื่อง Gas Chromatography (GC) รุ่น 14 B model บริษัท Shimadzu, Japan.
24. เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) รุ่น JSM-5410LV บริษัท JEOL, Japan.
25. เครื่อง Thermogravimetric. Analyzer (TGA) รุ่น TG 209F3 บริษัท NETZSCH, Germany
26. ชุดอุปกรณ์ทำ Agarose gel electrophoresis ประกอบด้วย แผ่นหวี ถาดเทเจล chamber สำหรับใส่สารละลาย เครื่องจ่ายไฟ บริษัท Cosmo Bio, USA.
27. ตะแกรงร่อนขนาด 6.7, 4, 2, 1.18 มิลลิเมตร
28. ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส รุ่น MDF-U332 บริษัท Sanyo Electric, Japan.
29. ตู้บ่ม บริษัท Memmert, Germany.
30. ตู้อบอุณหภูมิต่ำ รุ่น 110 บริษัท Memmert, Germany.
31. ตู้ดูดความชื้น (Desiccators) รุ่น Model BD50 NORTHMAN, ประเทศไทย
32. ถุงมือยาง (Examination Gloves) บริษัท ศรีตรังโกลฟส์, ประเทศไทย
33. ถุงมือยาง (Power-free Nitrile Gloves) บริษัท Ansell, ประเทศไทย
34. พาราฟิล์ม บริษัท Bemis, USA.
35. ไมโครปิเปตต์ทิป (Micropipette tip) ขนาด 10 ไมโครลิตร บริษัท Axygen, USA.
36. ไมโครปิเปตต์ทิป (Micropipette tip) ขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร บริษัท TreffLab, Switzerland.
37. หน้ากากอนามัย
38. หลอดฉีดยา (Disposable syringe) บริษัท NIPRO, ประเทศไทย
39. หลอดพีซีอาร์ (PCR tube Molecular biology) บริษัท Thermo Scientific, UK.
40. หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ (Micro-centrifuge tube) ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร บริษัท Labcon, USA.



รูปที่ 13 เครื่องขึ้นรูปพลาสติกแบบอัดความร้อน



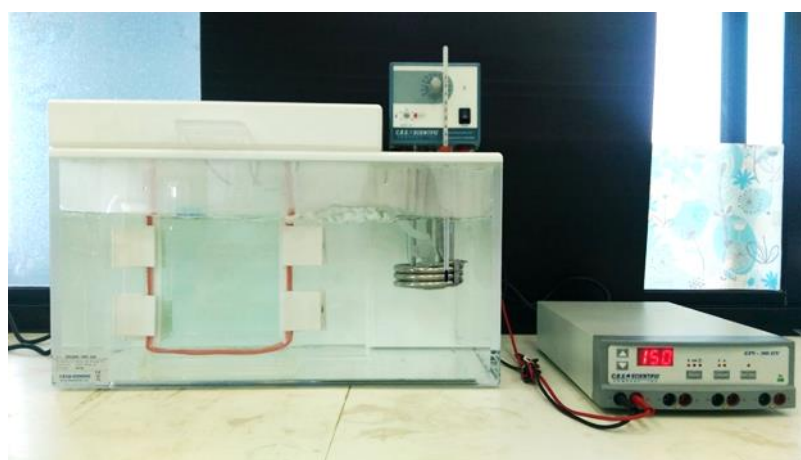
รูปที่ 14 เครื่องขึ้นรูปพลาสติกแบบเครื่องรีด



รูปที่ 15 ชุดอุปกรณ์ทำ Agarose gel electrophoresis



รูปที่ 16 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ



รูปที่ 17 เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

3.2 เคมีภัณฑ์

1. กรดอะซิติกเข้มข้น (glacial CH_3COOH) บริษัท Merck, Germany
2. ชุดสกัดดีเอ็นเอจากดิน (DNA RNA and Protein purification) บริษัท MACHEREY-NAGEL, Germany.
3. ชุดสกัดดีเอ็นเอจากพอลิอะคริลาไมด์เจล (TIANGel Midi Purification Kit) บริษัท TIANGEN BIOTECH, China
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) บริษัท Merck, Germany.
5. ดีเอ็นเอ 100 bp DNA ladder บริษัท Thermo Scientific, UK.
6. ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 (1 kilobase DNA ladder) บริษัท Thermo Scientific, UK.
7. น้ำ Water nuclease-free บริษัท Thermo Scientific, UK.
8. บัฟเฟอร์ 25XTAE บริษัท Bio Basic, Canada.
9. ไพรเมอร์ บริษัท Integrated DNA Technologies, USA. ประกอบด้วย
338 GC F
518 R
NL1GC F
LS2 R
10. สารเคมีที่ใช้ในเทคนิค DGGE ประกอบด้วย
ฟอร์มามาไมด์ (Formamide, Deionized) บริษัท Bio Basic, Canada.
สารละลาย 40% อะคริลาไมด์/บิส (40% Acrylamide/Bis solution, 37.5:1) บริษัท Bio Basic, Canada.
ยูเรีย (Urea) บริษัท Research Organics, USA.
แอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate) บริษัท Bio Basic, Canada.
N,N,N',N'-เททระ เมทิล เอธิลีนไดเอมีน (N,N,N',N'-Tetra-methyl-ethylenediamine, TEMED) บริษัท Bio Basic, Canada.
TAE เข้มข้น 50 เท่า (50XTAE)
11. สารเคมีที่ใช้ในเทคนิค PCR บริษัท Thermo Scientific, UK. ประกอบด้วย
Taq DNA Polymerase, 5U/ μl
10X *Taq* Buffer with KCl
10X *Taq* Buffer with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
25 mM MgCl_2

12. สาร EDTA (Disodium Salt, Dehydrate) บริษัท Bio Basic, Canada.
13. สาร Tris (Ultra-pure, Molecular Biology Grade) บริษัท Research Organics, USA.
14. สีติดตาม (6X Loading dry) บริษัท GeneMark, USA
15. สีย้อม Ethidium Bromide (10 mg/ml solution) บริษัท GeneMark, USA
16. อะกาโรสเจล (Low EEO, Molecular Biology Grade) บริษัท Research Organics, USA.
17. เอธานอล บริษัท Bio Basic, Canada.

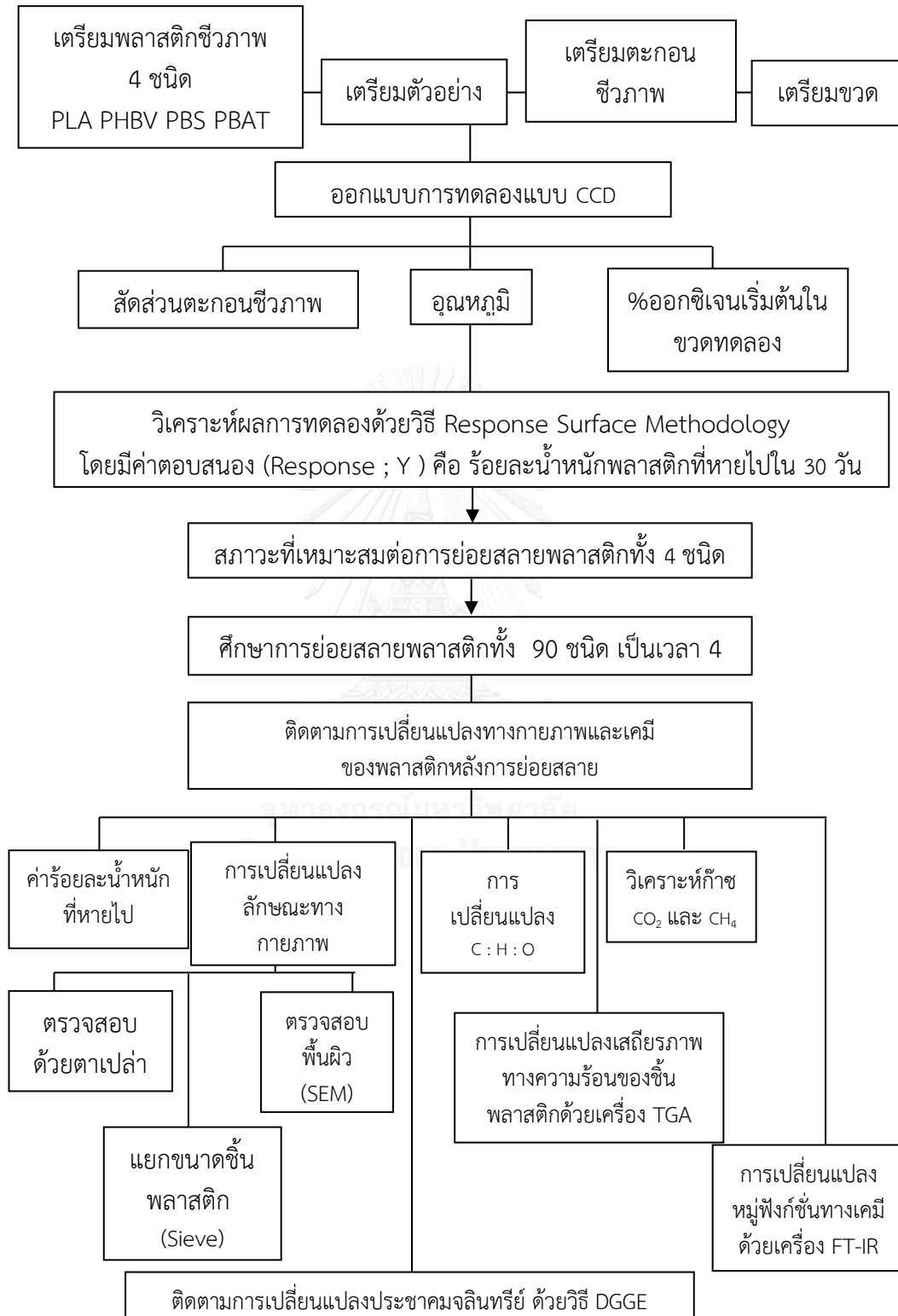


รูปที่ 18 ชุดสกัดดีเอ็นเอจากดิน



รูปที่ 19 ชุดสกัดดีเอ็นเอออกจากอะคริลาไมด์เจล

3.3 แผนผังการศึกษา



3.4 วิธีการดำเนินการศึกษา

3.4.1 รูปแบบการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental research) ในระดับห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) โดยทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.2 การเตรียมพลาสติกชีวภาพ

เม็ดพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ประกอบด้วย poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) poly(lactic acid) (PLA) poly(butylene succinate) (PBS) และ poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) ดังตารางที่ 1 ถูกนำไปอบเพื่อไล่ความชื้นที่อุณหภูมิประมาณ 70 – 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่น โดยพลาสติกชนิด PLA PBS และ PBAT ถูกขึ้นรูปด้วยการใช้เครื่องรีด (cast sheet extrusion machine) (รุ่น LR 8906-02F บริษัท HAAKE, Germany) ส่วน PHBV ถูกขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดความร้อน (hot press compression apparatus) (LABTECH, UK) โดยขึ้นพลาสติกที่ได้มีความหนาประมาณ 0.5 มิลลิเมตร

แผ่นพลาสติกทุกชนิดที่ผ่านการขึ้นรูปจะถูกตัดออกให้มีขนาด 2 x 2 ตารางเซนติเมตร ตามมาตรฐาน ISO 15985 (Plastics-Determination of the ultimate anaerobic biodegradation and disintegration under high-solids anaerobic-digestion conditions) เพื่อนำมาใช้ในการดำเนินงานวิจัยขั้นต่อไป ดังรูปที่ 20





3.4.3 การเตรียมตัวกลางในการฝังพลาสติกชีวภาพ

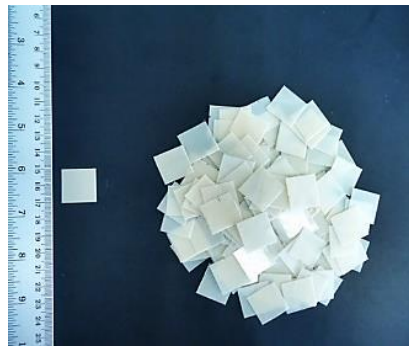
ตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกมาจาก 2 แหล่ง ประกอบด้วย ดินจากบ่อฝังกลบขยะโครงการกำจัดขยะมูลฝอย เทศบาลเมืองสุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี และตะกอนชีวภาพจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่เติมอากาศ บริษัท มาลีสามพราน จำกัด (มหาชน) จังหวัดนครปฐม ดังรูปที่ 21 โดยตัวกลางทั้งสอง จะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทำการทดลอง

สมบัติของดินและตะกอนชีวภาพ ประกอบด้วยค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (%Total solid content) และค่าปริมาณของแข็งที่ระเหยได้ (%Volatile solid content) วิเคราะห์ตามมาตรฐาน APHA-AWWA-WPCF 2540B, 1995 และ APHA-AWWA-WPCF 2540E, 1995 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรดต่าง และค่าสัดส่วนปริมาณคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอินทรีย์วัตถุ (C : N ratio) รวมถึงประเภทของเนื้อดิน (Soil texture) ค่าอินทรีย์วัตถุในดิน (% Organic matter) ค่าปริมาณ

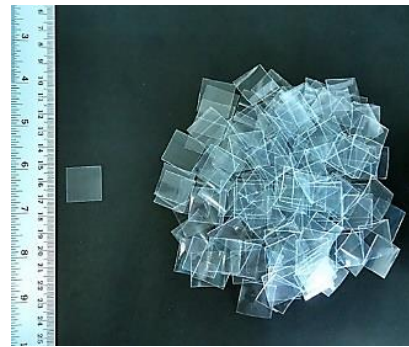
พอสพอรัส โพแทสเซียม และซิลิเฟอร์ และค่าอินทรีย์วัตถุของตะกอนชีวภาพ วิเคราะห์โดยสำนักงาน
วิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน ในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ชื่อทางการค้าของพลาสติกชีวภาพที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ชนิดพลาสติกชีวภาพ/ชื่อย่อ	ชื่อทางการค้า	ลักษณะเม็ดพลาสติก
poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)/PHBV	Enmat® Y1000P	
poly(lactic acid)/PLA	NatureWork® 4043D	
poly(butylene succinate)/PBS	GS Pla, FZ91PD	
poly(butylene adipate-co-terephthalate)/PBAT	ecoflex® F Blend C1200	



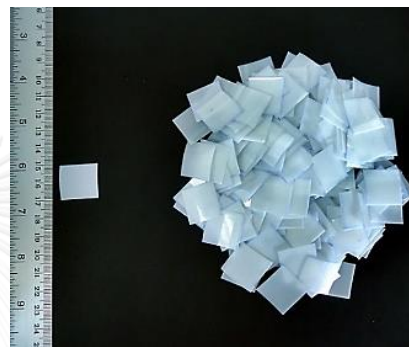
(PHBV)



(PLA)



(PBS)



(PBAT)

รูปที่ 20 แผ่นพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ขนาด 2 x 2 ตารางเซนติเมตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 21 (ก) พื้นที่บ่อฝังกลบขยะ จังหวัดสุพรรณบุรี (ข) ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่เติมอากาศ จาก บริษัท มาลีสามพราน จำกัด (มหาชน) จังหวัดนครปฐม

ตารางที่ 2 สมบัติดินและตะกอนชีวภาพที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

พารามิเตอร์	ดิน	ตะกอนชีวภาพ
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (%)	95.70	65.40
ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้ (%)	9.10	51.00
ค่าความเป็นกรดต่าง	7.73	7.14
สัดส่วน C:N	7.48:1	7.23:1
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (%)	1.67	
ฟอสฟอรัส (Bray-II) (mg/kg)	47.4	
โพแทสเซียม (NH ₄ OAc) (mg/kg)	307	
ซัลเฟอร์ (mg/kg)	335.7	
เนื้อดิน (Soil texture)	%Sand : %silt : %Clay = 3.3 : 43.1 : 53.6 สรุปเป็นดินเหนียวปนตะกอน (silty clay)	

3.4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด

3.4.4.1 การออกแบบการทดลอง

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ PHBV PLA PBS และ PBAT โดยใช้การทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) แบบ face centered ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ ร้อยละตะกอนชีวภาพในตุ๊กกลางที่ใช้ฝังพลาสติก (กำหนดรหัส X_1) อุณหภูมิ (กำหนดรหัส X_2) และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (กำหนดรหัส X_3) ทำการแปรผันค่าของแต่ละปัจจัยใน 3 ระดับ คือ -1 0 และ +1 ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยค่าร้อยละตะกอนชีวภาพในตุ๊กกลางที่ใช้ฝังพลาสติก แปรผันที่ค่าร้อยละ 10 30 และ 50 ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ แปรผันที่ 37 52 และ 67 องศาเซลเซียส สำหรับร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองจะแปรผันค่าที่ 0% 10.5% และ 21% ส่วนค่าตอบสนอง (Y) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด (weight loss (%)) ภายใน 30 วัน ของการฝังในตุ๊กกลาง

จากการทดลองแบบ CCD โดยศึกษา 3 ปัจจัย ใน 3 ระดับ ที่มีผลต่อค่าตอบสนอง สามารถสร้างหน่วยทดลองได้ทั้งหมด 18 หน่วยทดลอง ซึ่งประกอบไปด้วย 8 หน่วยทดลองสำหรับ

full factor design ($2^k = 2^3 = 8$ factor points) + 6 หน่วยทดลอง สำหรับ axial point ($2k = 2 \times 3 = 6$ axial points) + 4 หน่วยทดลองเป็นการทำซ้ำที่จุด center point ($k =$ จำนวนปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา) ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ปัจจัยและระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง

ปัจจัย	หน่วย	ระดับปัจจัย		
		ต่ำ (-1)	กลาง (0)	สูง (+1)
ร้อยละตะกอนชีวภาพ (X_1)	สัดส่วน (โดยน้ำหนัก)	10	30	50
อุณหภูมิ (X_2)	องศาเซลเซียส	37	52	67
ออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (X_3)	ร้อยละ	0	10.5	21

ตารางที่ 4 หน่วยทดลองตามการทดลองแบบ Central Composite Design

หน่วยทดลอง	ปัจจัย						
	Code levels			Actual levels			
	X_1	X_2	X_3	X_1	X_2	X_3	
1	-1	-1	-1	10	37	0	Full factor design
2	-1	-1	+1	10	37	21	
3	-1	+1	-1	10	67	0	
4	-1	+1	+1	10	67	21	
5	+1	-1	-1	50	37	0	
6	+1	-1	+1	50	37	21	
7	+1	+1	-1	50	67	0	
8	+1	+1	+1	50	67	21	
9	-1	0	0	10	52	10.5	Axial point
10	+1	0	0	50	52	10.5	
11	0	-1	0	30	37	10.5	
12	0	+1	0	30	67	10.5	
13	0	0	-1	30	52	0	
14	0	0	+1	30	52	21	
15	0	0	0	30	52	10.5	Center point
16	0	0	0	30	52	10.5	
17	0	0	0	30	52	10.5	
18	0	0	0	30	52	10.5	

3.4.4.2 การเตรียมหน่วยทดลอง

หน่วยทดลองแต่ละหน่วยประกอบด้วยขวดแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 22 ปริมาตร 660 มิลลิลิตร ภายในบรรจุดินจากบ่อฝึกลยขยะผสมตะกอนชีวภาพที่ใช้เป็นตัวกลางในการฝัง โดยแปรผันสัดส่วนดินและตะกอนชีวภาพที่สัดส่วน 90:10 70:30 และ 50:50 ทำการใส่พลาสติก ร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัวกลาง (น้ำหนักประมาณ 4.95 กรัม) ลงในถุงตาข่ายพลาสติกก่อนฝังลงในขวดทดลอง จากนั้นนำขวดทดลองที่ได้ไปแปรผันปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นในอากาศในขวดทดลอง โดยใช้เครื่องวัดก๊าซ (Testo; Model 350XL, Germany) ดังนี้

1. หน่วยทดลองที่ใช้ในการศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic conditions) โดยมีค่าร้อยละออกซิเจนในอากาศเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 0 จะทำการไล่อากาศภายในขวดออกให้หมดโดยการแทนที่ด้วยก๊าซไนโตรเจน
2. หน่วยทดลองที่ใช้ในการศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะออกซิเจนจำกัด (oxygen limited conditions) ที่ระดับร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 10.5 จะทำการแทนที่อากาศในขวดทดลองด้วยก๊าซไนโตรเจนจนมีวัดค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองอยู่ที่ร้อยละ 10.5
3. หน่วยทดลองที่ใช้ในการศึกษาการย่อยสลายภายใต้สภาวะออกซิเจนจำกัด (oxygen limited conditions) ที่ระดับร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21 จะทำการเก็บอากาศปกติไว้ในขวดทดลอง โดยไม่มีการแทนที่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน

เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ต้องการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ดังนั้นจึงทำการควบคุมค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นตามที่กำหนด และไม่มีการเติมก๊าซออกซิเจนระหว่างการทดลอง ขวดทดลองทุกขวดจะถูกปิดปากขวดด้วยจุกยางที่มีการต่อท่อแก้วผ่านจุกยางเพื่อใช้เป็นทางระบายก๊าซที่เกิดขึ้น ปิดรอยต่อจุกยางกับขวดด้วยซิลิโคนและพาราฟิล์ม จากนั้นนำขวดทดลองไปบ่มที่อุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 52 และ 67 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ตามการทดลองในตารางที่ 4



รูปที่ 22 ขวดทดลอง

3.4.4.3 ติดตามค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไป (Weight loss determination)

ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพแต่ละชนิดภายในเวลา 30 วัน จะถูกนำมาใช้เป็นค่าตอบสนอง (Y) โดยชิ้นพลาสติกที่คงเหลือหลังจากการฝังในตัวอย่างเป็นเวลา 30 วัน จะถูกเก็บขึ้นมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (Sterile distilled water) เพื่อทำความสะอาดและล้างดินและตะกอนชีวภาพที่ติดกับพลาสติกออกไป จากนั้นชิ้นพลาสติกจะถูกตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและนำเข้าตู้ดูดความชื้นเพื่อไล่ความชื้นออกจากพลาสติก ชิ้นพลาสติกที่ได้จะถูกนำมาชั่งน้ำหนักจนมีน้ำหนักที่คงที่ และนำค่าน้ำหนักที่คงเหลือไปคำนวณหาค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปใน 30 วัน ตามสมการที่ 1

$$\text{ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป} = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100 \quad (1)$$

โดย W_i คือค่าน้ำหนักเริ่มต้นของพลาสติก (กรัม) W_f คือค่าน้ำหนักพลาสติกที่คงเหลือ (กรัม) หลังจากการฝัง และค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปคำนวณจากค่าเฉลี่ยจากการทำ 3 ซ้ำ

3.4.4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อดูปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด และวิเคราะห์หาพื้นผิวตอบสนอง โดยใช้โปรแกรม Design Expert V7.0.(trial version) เพื่อหาสมการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกแต่ละชนิดใน 30 วัน ตามสมการที่ 2

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{1 \leq i < j}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

โดยค่า Y คือค่าตอบสนอง X_i และ X_j คือค่าปัจจัย, β_0 คือค่าคงที่ β_i , β_{ij} , และ β_{ii} คือค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยเชิงเส้นตรง ค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยของอิทธิพลร่วม และค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยควอดราติก ตามลำดับ

3.4.5 ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะคัดเลือก

นำสภาวะที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองตามข้อ 3.4.4 มาศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของชิ้นพลาสติกหลังจากการฝัง เป็นเวลา 90 วัน ตามวิธีการวัดผลดังนี้

3.4.5.1 ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชของตัวกลาง

ซึ่งตัวอย่างตัวกลางที่ผ่านการฝังพลาสติกที่เวลาต่างๆ ปริมาตร 20 กรัม มาทำให้เป็นสารแขวนลอยในน้ำ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันนาน 10 นาที ก่อนทำการวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (รุ่น C8621, Consort, Belgium)

3.4.5.2 ติดตามค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป

นำชิ้นพลาสติกที่คงเหลือหลังจากการฝังกลบเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน ออกจากขวดทดลอง ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจนสะอาด ฝังให้แห้งเก็บในตู้ดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักจนคงที่ และนำมาหาค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปตามสมการที่ 1 ดังแสดงในข้อ 3.4.4.3

3.4.5.3 ติดตามการเปลี่ยนแปลงลักษณะของชิ้นพลาสติก

ชิ้นพลาสติกส่วนที่เหลือจากการฝังที่เวลาต่างๆ ถูกนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอก เช่น การเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นพลาสติก การเปลี่ยนแปลงของสีของชิ้นพลาสติก รวมทั้งการเกิดรูพรong ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งข้อมูลกลุ่มนี้สามารถนำมาใช้ประกอบการศึกษารูปแบบการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพแต่ละชนิดเบื้องต้น

3.4.5.4 ติดตามการเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นพลาสติกโดยใช้ตะแกรงร่อน

การเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นพลาสติกหลังจากการฝังกลบที่เวลาต่างๆ จะถูกนำมาแยกขนาดโดยนำมาผ่านตะแกรงร่อน 3 ขนาด ประกอบด้วย ตะแกรงที่มีรูขนาด มากกว่า 6.73 มิลลิเมตร มากกว่า 2 มิลลิเมตร และมากกว่า 1 มิลลิเมตร

3.4.5.5 ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของผิวพลาสติก

นำชิ้นพลาสติกมาตรวจสอบลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) (JSM-5410LV; JEOL, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 2000 เท่า และทำการบันทึกภาพเพื่อดูลักษณะพื้นผิวที่เปลี่ยนแปลงไปภายใต้การย่อยสลายที่เวลาต่างๆ

3.4.5.6 ติดตามการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพของพลาสติกเมื่อได้รับความร้อน

เปรียบเทียบเสถียรภาพทางความร้อน (Thermal Stability) ของพลาสติกแต่ละชนิดที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากผลการย่อยสลายในสภาวะจำลองการฝังกลบ ในแต่ละช่วงเวลา ด้วยเครื่อง Thermo gravimetric Analysis (TGA) (NETZSCH thermogravimetric balance, รุ่น TG 209F3, Germany) แสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบเทอร์โมแกรม (TGA) ระหว่างเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียกับอุณหภูมิ

3.4.5.7 วิเคราะห์ปริมาณ ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน (C H O)

นำตัวอย่างพลาสติกแต่ละชนิดมาตัดให้เป็นชิ้นเล็กและนำมาบดให้เป็นผงละเอียด ซึ่งตัวอย่างให้นำน้ำหนักอยู่ในช่วง 1-3 มิลลิกรัม นำไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุ C H O ในโครงสร้างโมเลกุล โดยเครื่อง Elemental Analyzer (Perkin Elmer รุ่น PE 2400 Series II, USA) เพื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของธาตุ C H O ก่อนและหลังการย่อยสลายในสภาวะจำลองการฝังกลบ

3.4.5.8 ติดตามการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของพลาสติก

ติดตามการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันในสายพอลิเมอร์ของพลาสติกชีวภาพแต่ละชนิด ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared (FT-IR spectroscopy) (PerkinElmer, Spectrum One, USA) รายงานผลเป็นกราฟอินฟราเรดสเปกตรัมซึ่งเป็นการพลอตระหว่างความถี่ (เลขคลื่น, cm^{-1}) และ % Transmittance (T)

3.4.5.9 ตรวจสอบก๊าซที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการฝังกลบ

ติดตามเปอร์เซ็นต์ก๊าซ CO_2 และ CH_4 ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยใช้ขวดทดลองที่ประยุกต์ขึ้นเพื่อการเก็บก๊าซ ก๊าซที่เกิดขึ้นจะถูกเก็บในหลอดสูญญากาศ ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง (Gas Chromatography) (GC) (14 B model, Shimadzu, Japan) โดยใช้ก๊าซมาตรฐานคือ มีเทน ความเข้มข้น 30 เปอเซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 30 เปอเซ็นต์

3.4.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชาคมจุลินทรีย์หลังจากการฝังกลบ

3.4.6.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ในขั้นตอนแรก ตัวกลางที่ได้จากระบบฝังกลบพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ระหว่างวันที่ 15 30 45 60 75 และ 90 วัน จะถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอเพื่อติดตามจุลินทรีย์ในระบบ ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอจากดิน (DNA RNA and Protein purification) (MACHERY-NAGEL, Germany) โดยมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่างตัวกลางปริมาตร 250-500 มิลลิกรัม ใส่ลงในหลอด NucleoSpin® Bead Tube ที่ภายในบรรจุเม็ด Ceramic bead

ขั้นตอนที่ 2 การปรับสภาวะสำหรับสกัดดีเอ็นเอ

เติมบัฟเฟอร์ Lysis Buffer SL2 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ตามด้วย Enhancer SX ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นตัวช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดออกมาได้มากขึ้น

ขั้นตอนที่ 3 การทำให้เซลล์แตกเพื่อให้เกิดการปลดปล่อย DNA

นำ NucleoSpin® Bead Tube ที่ได้จากข้อ 2 มาปั่นผสมที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 5 นาที โดยในขั้นตอนนี้เม็ด Ceramic bead จะเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้เซลล์แตกและปลดปล่อยดีเอ็นเอออกมาภายนอกเซลล์

ขั้นตอนที่ 4 การตกตะกอนสิ่งปนเปื้อน

นำ NucleoSpin® Bead Tube ที่ได้จากขั้นตอนที่ 3 ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 2 นาที เพื่อกำจัดฟองที่เกิดขึ้น หลังจากการปั่นเหวี่ยงจะเกิดการแยกชั้น โดยชั้นล่างจะเป็นตัวกลางและชั้นบนจะเป็นส่วนของสารละลายใส ทำการปิเปตสารละลายใสด้านบนซึ่งมีดีเอ็นเออยู่ใส่หลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์อันใหม่ จากนั้นเติมบัฟเฟอร์ SL3 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร และนำไปปั่นผสมนาน 5 วินาที เพื่อให้บัฟเฟอร์และสารละลายเข้ากัน นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 1 นาที

ขั้นตอนที่ 5 การแยกดีเอ็นเอโดยใช้เมมเบรน

นำ NucleoSpin® Inhibitor Removal Column วางลงบนหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ จากนั้นเติมตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนที่ 4 ลงบนเมมเบรนในคอลัมน์และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 1 นาที โดยในขั้นตอนนี้จะแยกสิ่งปนเปื้อนออกจากดีเอ็นเอ โดยสิ่งปนเปื้อนจะติดอยู่ที่เมมเบรนในคอลัมน์ ส่วนสารละลายดีเอ็นเอ จะสามารถผ่านเมมเบรนลงมาได้ นำส่วนสารละลายดีเอ็นเอในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ ไปดำเนินการขั้นต่อไป

ขั้นตอนที่ 6 ปรับสภาวะเพื่อจับดีเอ็นเอ

เติมบัฟเฟอร์ SB Binding Buffer ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ปั่นผสม นาน 5 วินาที

ขั้นตอนที่ 7 การจับ DNA

นำ NucleoSpin® Soil Column วางลงบนหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ จากนั้นเติมสารละลาย DNA ที่ได้จากข้อ 6 ปริมาตร 550 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 1 นาที ส่วนที่เป็น DNA จะติดกับเมมเบรนของ Column ทั้งส่วนน้ำใสที่ไหลผ่านคอลัมน์ จากนั้นทำการปิเปตสารละลายดีเอ็นเอ ส่วนที่เหลือและทำซ้ำในขั้นตอนข้างต้น

ขั้นตอนที่ 8 การล้างดีเอ็นเอ

ล้างครั้งที่ 1 โดยเติมบัฟเฟอร์ SB ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผ่าน NucleoSpin® Soil Column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 30 วินาที เทส่วนน้ำใสที่ไหลผ่าน Column ทิ้ง

ล้างครั้งที่ 2 โดยเติมบัฟเฟอร์ SW1 Wash Buffer ปริมาตร 550 ไมโครลิตร ผ่าน NucleoSpin® Soil Column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 30 วินาที เทส่วนน้ำใสที่ไหลผ่านคอลัมน์ทิ้ง

ล้างครั้งที่ 3 โดยเติมบัฟเฟอร์ SW2 Wash Buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผ่าน NucleoSpin® Soil Column นำไป ปั่นผสมนาน 2 วินาที ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 30 วินาที เทส่วนน้ำใสที่ไหลผ่านคอลัมน์ทิ้ง

ล้างครั้งที่ 4 ทำซ้ำขั้นตอนการล้างครั้งที่ 3

ขั้นตอนที่ 9 การทำเมมเบรนให้แห้ง

ปั่นเหวี่ยง NucleoSpin® Soil Column ครึ่งสุดท้ายที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 2 นาที เพื่อกำจัดสารละลายที่ติดค้างกับดีเอ็นเอ

ขั้นตอนที่ 10 การชะดีเอ็นเอออกจากเมมเบรน

วาง NucleoSpin® Soil Column ลงบนหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ที่ใช้เก็บดีเอ็นเอ จากนั้นเติม 30 ไมโครลิตร ของบัฟเฟอร์ SE ลงบนเมมเบรนที่มีดีเอ็นเอติดอยู่ เปิดฝาคอลัมน์ไว้เวลานาน 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนปิดฝาและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 x g นาน 30 วินาที สารละลายดีเอ็นเอ ที่ได้จะถูกแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจสอบความสมบูรณ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้ ด้วยวิธี Gel Electrophoresis

3.4.6.2 ตรวจสอบความสมบูรณ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้ ด้วยวิธี Gel Electrophoresis

เตรียมอะกาโรสเจล เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งผงอะกาโรสหนัก 1 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ TAE ความเข้มข้น 1 เท่า ปริมาณ 100 ไมโครลิตร นำไปละลายด้วยความร้อนโดยไมโครเวฟจนผงอะกาโรสละลายจนหมด จากนั้นทิ้งให้เย็นลงก่อนเทลงในถาดสำหรับเตรียมเจลที่มีหัวเสียบอยู่ ปล่อยให้มันแข็งตัวประมาณ 20 นาที วางแผ่นเจลลงในแชมเบอร์ เทบัฟเฟอร์ TAE ความเข้มข้น 1 เท่า ลงในแชมเบอร์ให้ท่วมแผ่นเจล (การเตรียมสารละลายต่างๆ แสดงในภาคผนวก ก)

ในส่วน of ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง จะทำการผสมสารละลายดีเอ็นเอปริมาตร 5 ไมโครลิตร กับสีติดตาม 6X loading dye ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นพาราฟิล์ม จากนั้นหยอด

ตัวอย่างดีเอ็นเอลงในหลุมในแผ่นเจล โดยหลุมแรกจะหยอดด้วยดีเอ็นเอมาตรฐาน lamda/HinDIII marker เปิดเครื่องเพื่อให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านบัฟเฟอร์ TAE และแผ่นเจล โดยใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 30 นาที นำแผ่นเจลที่ได้ไปย้อมด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 15 นาที หลังจากนั้นนำเจลไปล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดประจุ นาน 5 นาที ก่อนนำไปนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) เพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้

3.4.6.3 ตรวจสอบความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากข้อ 3.4.6.1 มาทำการตรวจสอบบริสุทธิ์และความเข้มข้นของดีเอ็นเอ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 และ 260 นาโนเมตร (A260 และ A280) โดยหากอัตราส่วนที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1.8 แสดงว่าดีเอ็นเอที่ได้มีโปรตีนปนเปื้อนสูง แต่หากค่าที่ได้สูงกว่า 2.0 แสดงว่าดีเอ็นเอที่ได้มีอาร์เอ็นเอปนเปื้อนสูง

3.4.6.4 เพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) บริเวณ 16S rDNA ของแบคทีเรีย

เพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ของแบคทีเรีย โดยใช้ไพรเมอร์ 338F + GC (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG CAC GGG GGG ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG-3') และไพรเมอร์ 518R (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3') เพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ V3 region จะได้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่มีความยาวประมาณ 200 bp โดยมีสารที่ใช้ทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา PCR

สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา PCR	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
10X <i>Taq</i> buffer	1X	5
dNTP Mix, 2 mM each	0.2 mM	1
Forward primer 338F + GC	10 μ M	2
Reverse primer 518R	10 μ M	2
25 mM MgCl ₂	1 mM	2
Template DNA		1-3
		(โดยปรับให้ DNA มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัม)
<i>Taq</i> DNA Polymerase		0.5

- | | |
|------------------------------|--|
| 1. Initial denaturation step | อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที |
| 2. Denaturation step | อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที |
| 3. Annealing step | อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที |
| 4. Extension step | อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที |
| | ทำขั้นตอนที่ 2-4 จำนวน 30 รอบ |
| 5. Final extension | อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที |

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ของแบคทีเรียและราที่ได้ ด้วยวิธี Gel Electrophoresis เช่นเดียวกับข้อ 3.4.6.2 แต่ใช้ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์ และเปรียบเทียบขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp marker

3.4.6.7 ติดตามประชาคมจุลินทรีย์ด้วยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

ใช้อุปกรณ์ของ DGGEK-1001 (C.B.S Scientific, USA) ในการวิเคราะห์ DGGE โดยเตรียมพอลิอะคริลาไมด์เจลเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ ที่มีเกรเดียนต์ของสารละลาย denaturant 30 - 60 เปอร์เซ็นต์ จากสารละลาย denaturant 0 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก) เริ่มจากนำกระจกทั้ง 2 แผ่น (แผ่นใหญ่ขนาด 17.7 x 22 เซนติเมตร และแผ่นเล็กขนาด 15 x 22 เซนติเมตร) มาทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เช็ดด้วยกระดาษเช็ด Kimwipes ให้สะอาด โดยระวังไม่ให้มีฝุ่นผงติดอยู่กับตัวกระจก จากนั้นนำกระจกแผ่นเล็กมาหุ้มด้วยยาง Gelwrap ให้แนบสนิททั้ง 3 ด้าน นำ Spacer 2 แห่ง วางขอบซ้ายและขวาโดยวางให้ชิดกับตัวยาง Gelwrap จากนั้นนำกระจกแผ่นใหญ่ปิดทับแผ่นเล็ก ยึดด้วย clamp 6 ชิ้น (ด้านซ้าย ด้านขวา และฐาน อย่างละ 2 ชิ้น) ในขั้นตอนนี้จะได้บล็อกที่ใช้ในการเตรียมแผ่นเจล

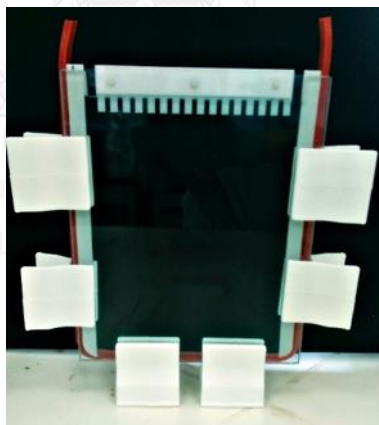
ขั้นต่อไปจะเป็นการเตรียม solution ของพอลิอะคริลาไมด์เจลเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ จาก Stock solution ที่ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยนำ Stock solution ที่ 2 ความเข้มข้นนี้มาผสมกันเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ 60 เปอร์เซ็นต์ denaturing solution และ 30 เปอร์เซ็นต์ denaturing solution หลังจากนั้นเติม 10 เปอร์เซ็นต์ APS และ TEMED ในทั้งสองความเข้มข้น เพื่อเป็นสารช่วยให้เกิดการ polymerization ของเจล โดยปริมาตรของสารที่ใช้ดังตารางที่ 6

นำสารละลาย 60 เปอร์เซ็นต์ และ 30 เปอร์เซ็นต์ denaturing solution ที่ได้เทใส่ในเครื่องผสมสารละลาย GM-40 gradient maker ในช่วงสารละลายความเข้มข้นสูงและสารละลายความ

เข้มน้ซ้ดต่ำ เป็ด pump เพื่อให้สารละลายไหลผ่าน gradient maker ด้วยอัตราการไหล 5 มิลลิลิตร ต่อนาที ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เมื่อสารละลายไหลผ่านจนเต็มกระบอกจึงนำหัวมาเสียบบนเจล ดังรูปที่ 23 ปล่อยแผ่นกระบอกทิ้งไว้เพื่อให้พอลิอะคริลลาไมด์แข็งตัวประมาณ 4 ชั่วโมง

ตารางที่ 6 ปริมาตรของสารผสมสำหรับ Denaturing Gradient Gel

สารละลาย	100% Acrylamide solution (ไมโครลิตร)	0% Acrylamide solution (ไมโครลิตร)	10% APS (ไมโครลิตร)	TEMED (ไมโครลิตร)
60% denaturing solution	12	8	150	15
30% denaturing solution	6	4	150	15



รูปที่ 23 การเตรียมเจล Denaturing Gradient Gel

นำชุดเจลแซนวิชใส่ลงในแชมเบอร์ที่มีบัฟเฟอร์ TAE ความเข้มข้น 0.5 เท่า ปริมาตร 20 ลิตร ที่ผ่านการให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ผสมผลิตภัณฑ์ PCR ทั้งหมดกับสัติดิตตาม หยอดตัวอย่างลงในช่องวิ่ง จากนั้นเปิดสวิทซ์ให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านชุดเจลแซนวิชและบัฟเฟอร์ TAE จากขั้วลบไปขั้วบวก โดยใช้ความต่างศักย์ 120 โวลต์ นาน 5 ชั่วโมง ย้อมดีเอ็นเอด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 15 นาที นำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ด้วยเครื่องกำเนิดแสง UV

ตัดชิ้นพอลิอะคริลาไมด์เจลบริเวณแถบดีเอ็นเอเด่น โดยชั่งน้ำหนักและใส่ลงในหลอดไมโครพิวจ์ ทำการสกัดดีเอ็นเอออกจากเจลพอลิอะคริลาไมด์ด้วยชุดสกัด Tiangen Midi Purification Kit (TIANGEN BIOTECH, China) ด้วยวิธีการดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การปรับสภาพคอลัมน์

เติมบัฟเฟอร์ BL ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงใน Spin column CA2 โดยวางคอลัมน์ลงบนหลอดไมโครเซ็นทรีฟิวจ์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 – 25 องศาเซลเซียส ทิ้งส่วนบัฟเฟอร์ที่ไหลผ่านคอลัมน์

ขั้นตอนที่ 2 การชะดีเอ็นเอออกจากเจล

เติมบัฟเฟอร์ PN ลงในหลอดไมโครเซ็นทรีฟิวจ์ที่ใส่เจลพอลิอะคริลาไมด์ที่ตัดได้ โดยคำนวณปริมาตรบัฟเฟอร์ PN จากน้ำหนักเจล เช่น เจลหนัก 0.1 กรัม จะเติมบัฟเฟอร์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในกรณีที่ดีเอ็นเอมีขนาดน้อยกว่า 300 bp ให้เติมไอโซโพรพานอล ปริมาตร 0.5 เท่าของปริมาตรบัฟเฟอร์ PN ลงไปด้วย นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พลิกกลับไปมาประมาณ 10 นาที โดยในกรณีที่เป็พอลิอะคริลาไมด์เจล เจลจะไม่ละลาย ให้นำไปส่องที่เครื่องกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลต หากชิ้นเจลไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ติดสีเอทิดียมโบรไมด์ แสดงว่าดีเอ็นเอได้ถูกชะออกจากเจลแล้ว หลังจากนั้นนำหลอดไมโครเซ็นทรีฟิวจ์มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนที่ 3 การตรึงดีเอ็นเอบนเมมเบรน

เติมสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนที่ 2. ลงใน Spin column CA2 โดยปล่อยให้คอลัมน์ได้สัมผัสดีเอ็นเอเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งส่วนน้ำใสที่ไหลผ่านคอลัมน์ จากนั้นวาง Spin column CA2 ที่มีดีเอ็นเอตรึงอยู่บนเมมเบรนลงบนหลอดไมโครเซ็นทรีฟิวจ์เดิม

ขั้นตอนที่ 4 การล้างดีเอ็นเอ

เติมบัฟเฟอร์ PW ที่มีส่วนผสมของเอทานอล ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงบน Spin column CA2 ตั้งทิ้งไว้ 2-5 นาทีก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งส่วนน้ำใสที่ไหลผ่านคอลัมน์ ทำการล้างดีเอ็นเอซ้ำอีก 1 ครั้ง

ขั้นตอนที่ 5 การชะดีเอ็นเอออกจากเมมเบรน

ย้าย Spin column CA2 ลงบนไมโครเซ็นทรีฟิวจ์อันใหม่ จากนั้นเติม 30 ไมโครลิตร ของบัฟเฟอร์ EB ลงบนเมมเบรนที่มีดีเอ็นเอติดอยู่ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (15-25 องศาเซลเซียส) นาน 2 นาที ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที

นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนดังกล่าว มาเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเออีกครั้งด้วยปฏิกิริยา
ลูกโซ่พอลิเมอเรส จากนั้นส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท Bio Basic Inc. จากนั้นนำข้อมูล
ลำดับนิวคลีโอไทด์มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน NCBI (National Center for Biotechnology
Information)



บทที่ 4

ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

4.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด จากการทดลองแบบ Central Composite Design

4.1.1 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป

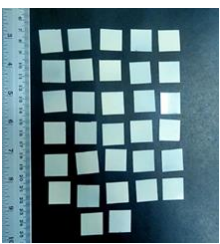
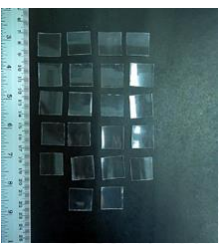



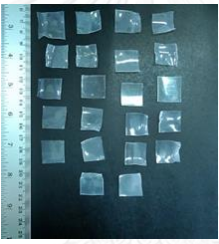


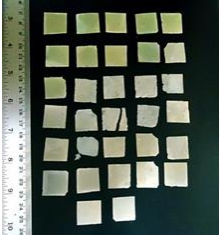

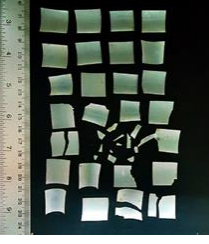

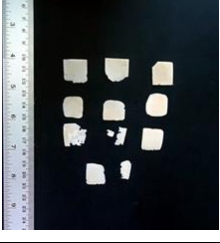
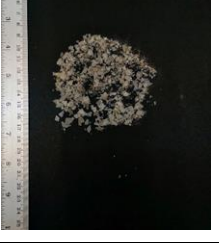



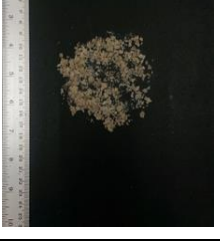


ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด หลังจากการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 วัน ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ใน 30 วัน




















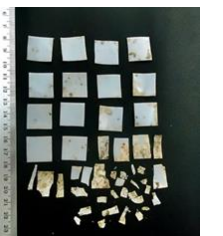
หน่วยทดลอง	ระดับปัจจัย			ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปใน 30 วัน			
	X1	X2	X3	PHBV	PLA	PBS	PBAT
1	10	37	0	1.93 ± 0.55	0.04 ± 0.00	1.13 ± 0.34	0.90 ± 0.02
2	10	37	21	11.01 ± 1.45	0.04 ± 0.01	1.80 ± 0.41	1.44 ± 0.16
3	10	67	0	81.20 ± 0.83	63.51 ± 4.49	10.76 ± 2.87	3.65 ± 0.27
4	10	67	21	86.59 ± 0.31	63.86 ± 1.21	10.84 ± 2.66	3.59 ± 0.37
5	50	37	0	44.74 ± 0.45	0.04 ± 0.00	1.76 ± 0.05	0.65 ± 0.05
6	50	37	21	46.55 ± 3.49	0.04 ± 0.00	1.70 ± 0.03	0.87 ± 0.04
7	50	67	0	92.24 ± 3.55	65.98 ± 3.31	11.30 ± 0.09	4.37 ± 0.48
8	50	67	21	89.55 ± 2.51	66.22 ± 3.79	12.28 ± 0.25	4.87 ± 0.33
9	10	52	10.5	45.62 ± 1.50	3.03 ± 0.39	1.67 ± 0.02	2.22 ± 0.19
10	50	52	10.5	82.22 ± 0.31	8.10 ± 0.76	3.03 ± 0.00	2.05 ± 0.00
11	30	37	10.5	33.27 ± 2.39	0.03 ± 0.00	1.67 ± 0.01	0.59 ± 0.01
12	30	67	10.5	90.37 ± 1.23	70.63 ± 0.99	12.72 ± 2.52	4.80 ± 0.22
13	30	52	0	65.23 ± 2.57	4.91 ± 0.36	3.60 ± 0.07	1.46 ± 0.01
14	30	52	21	79.25 ± 4.41	5.22 ± 0.27	8.15 ± 2.41	2.56 ± 0.52
15	30	52	10.5	63.64 ± 4.35	4.43 ± 0.34	6.87 ± 2.58	2.03 ± 0.21
16	30	52	10.5	63.52 ± 4.23	5.25 ± 0.68	5.94 ± 1.68	1.42 ± 0.18
17	30	52	10.5	66.50 ± 4.54	3.66 ± 0.36	4.92 ± 0.95	1.86 ± 0.15
18	30	52	10.5	69.82 ± 2.83	4.34 ± 0.91	5.98 ± 0.32	2.11 ± 0.37

ลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ที่ยังคงเหลืออยู่ในระบบหลังการฝังเป็นเวลา 30 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบใน 18 หน่วยทดลอง ดังตารางที่ 8

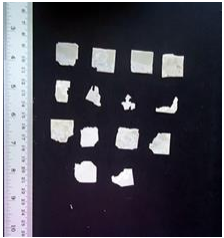




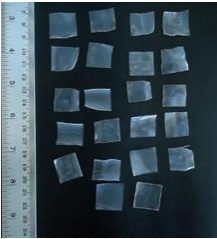







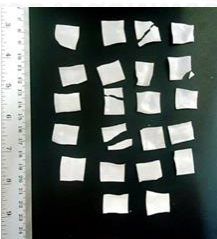


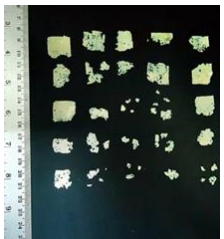

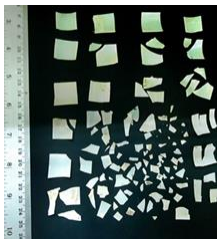

ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติกตัวควบคุมและภายหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 30 วัน

หน่วยทดลอง	PHBV	PLA	PBS	PBAT
ตัวควบคุม				
1				
2				
3				
4				

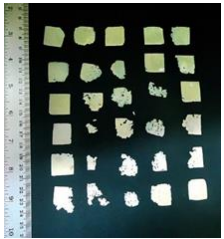

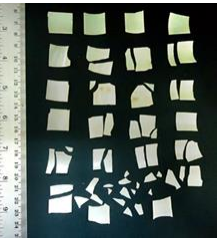





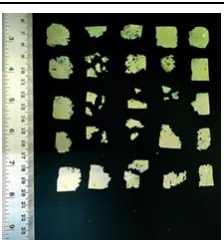
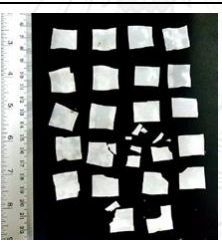






ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติกตัวควบคุมและภายหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 30 วัน (ต่อ)

หน่วยทดลอง	PHBV	PLA	PBS	PBAT
5				
6				
7				
8				
9				

ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติกตัวควบคุมและภายหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 30 วัน (ต่อ)

หน่วยทดลอง	PHBV	PLA	PBS	PBAT
10				
11				
12				
13				
14				

ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติกตัวควบคุมและภายหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 30 วัน (ต่อ)

หน่วยทดลอง	PHBV	PLA	PBS	PBAT
15				
16				
17				
18				

4.1.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

4.1.2.1 การคัดเลือกแบบจำลองที่เหมาะสมต่อค่าตอบสนอง

เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ด้วยโปรแกรม Design Expert V7 (trial version) เพื่อเลือกชนิดของแบบจำลองที่มีความเหมาะสมต่อการสร้างสมการค่าทำนายร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด โดยพิจารณาจากค่า Adjusted R^2 และค่า Predicted R^2 ที่มีค่าสูงเข้าใกล้ 1 ร่วมกับการพิจารณาค่าความเหมาะสมของสมการ(P-

Value < 0.05) และค่า Lack of fit ของสมการต้องมีค่า P-Value > 0.05 โดยโปรแกรมจะทำการเลือกชนิดของแบบจำลองที่มีความเหมาะสมต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกแต่ละชนิดสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลวิเคราะห์ทางสถิติและชนิดของแบบจำลองที่เหมาะสมต่อค่าทำนาย

พลาสติก	ชนิดของ ชีวภาพ	ชนิดของ แบบจำลอง ที่เหมาะสม	R^2	Adjusted R^2	Predicted R^2	P-Value ของ แบบจำลอง	P-Value ของ Lack of fit
PHBV		Quadratic	0.9846	0.9672	0.9027	<0.0001	0.1593
PLA		Quadratic	0.9965	0.9926	0.9755	<0.0001	0.1400
PBS		Quadratic	0.9553	0.9051	0.7114	0.0002	0.1631
PBAT		Linear	0.8791	0.8532	0.7870	<0.0001	0.1631

จากตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่า แบบจำลองชนิด Quadratic สามารถสร้างเป็นรูปแบบสมการในการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PHBV และ PBS ใน 30 วัน ได้ ส่วนพลาสติกชนิด PBAT พบว่าแบบจำลองแบบเส้นตรง (Linear) มีค่า Adjusted $R^2 = 0.8532$ และ Predicted $R^2 = 0.7870$ ซึ่งแบบจำลองแบบ Linear จะสอดคล้องกับปัจจัยที่มีผลต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBAT ใน 30 วัน ซึ่งคืออุณหภูมิเพียงปัจจัยเดียว (แสดงผลในหัวข้อถัดไป) ดังนั้นแบบจำลอง Linear จึงถูกเลือกมาใช้ในการศึกษาและทำนายการย่อยสลาย PBAT ต่อไป

ส่วนพลาสติกชนิด PLA ถึงแม้ค่าสมการจะมีค่า P-Value < 0.0001 แต่พบว่า เมื่อพิจารณา Lack of fit พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.0303 ซึ่งค่า P-Value ที่ได้น้อยกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ไม่สามารถสร้างสมการให้สอดคล้องกับข้อมูลดังกล่าวได้ (ไพโรจน์ วิริยจारी, 2555) โดยสาเหตุเกิดจากค่าของข้อมูลที่มีความแตกต่างกันมาก ซึ่งค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA สูงสุด มีค่าเท่ากับร้อยละ 70.63 และค่าต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 0.03 จึงจำเป็นต้องมีการแปลงค่าข้อมูลให้เหมาะสม (Transform) โดยในการทดลองนี้เลือกแปลงข้อมูลจริงให้อยู่ในรูป natural log (Ln) ของข้อมูล และค่าทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA ซึ่งคำนวณได้จากโปรแกรม โดยอยู่ในค่า Ln หลังจากการแปลงข้อมูลพบว่าแบบจำลองชนิด Quadratic ให้ค่า Adjusted R^2 และค่า Predicted R^2 สูง และมีค่า P-Value และค่า Lack of fit ที่เหมาะสมดังตารางที่ 9 จึงนำแบบจำลอง Quadratic มาใช้สร้างสมการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ

PLA ใน 30 วันต่อไป โดยสมการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 สมการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ใน 30 วัน

ชนิดพลาสติก	สมการการทำนาย (Final equation in the term of coded factors)
PHBV	ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV = $+67.68 + 12.89X_1 + 30.24X_2 + 2.76X_3 - 8.04X_1X_2 - 1.92X_1X_3 - 1.02X_2X_3 - 5.57X_1^2 - 7.67X_2^2 + 2.75X_3^2$
PLA	$\ln(\text{ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA}) = +1.51 + 0.11X_1 + 3.73X_2 + 7.035E-003X_3 + 9.305E-003X_1X_2 - 2.331E-004X_1X_3 + 1.141E-003X_2X_3 + 0.059X_1^2 - 1.17X_2^2 + 0.081X_3^2$
PBS	ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS = $+5.38 + 0.39X_1 + 4.98X_2 + 0.62X_3 + 0.18X_1X_2 + 0.021X_1X_3 + 0.056X_2X_3 - 2.48X_1^2 + 2.37X_2^2 + 1.05X_3^2$
PBAT	ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBAT = $+2.30 + 0.10X_1 + 1.68X_2 + 0.23X_3$

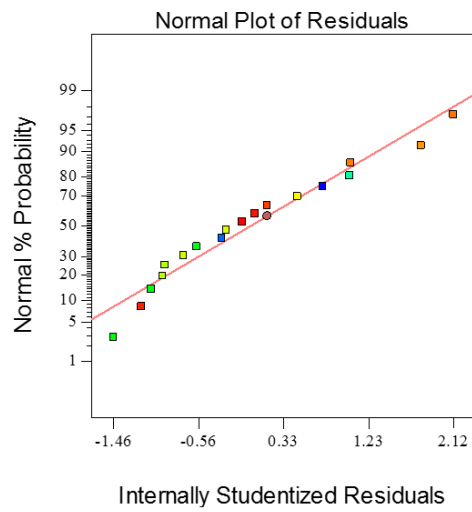
หมายเหตุ: ค่า X_1 = ร้อยละตะกอนชีวภาพ X_2 = อุณหภูมิ และ X_3 = ร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ในสมการร้อยละน้ำหนักที่หายไป สามารถแทนค่าได้ด้วยค่า code ของระดับปัจจัย โดยสามารถแปรผันค่าได้ตั้งแต่ -1 ถึง +1

4.1.2.2 การตรวจสอบความเหมาะสมของสมการ

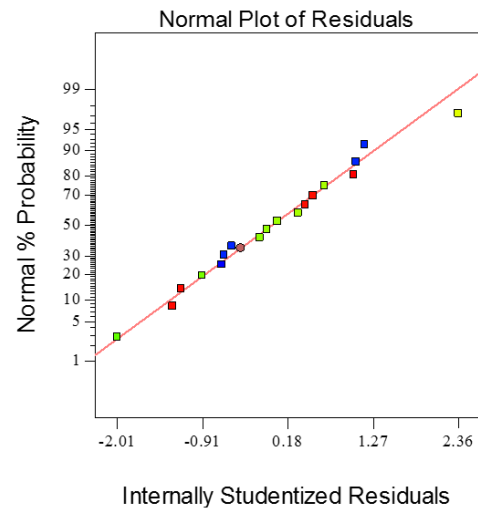
เมื่อได้สมการตามทีระบุในตารางที่ 10 แล้ว สามารถตรวจสอบความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของสมการได้โดยพิจารณาจากการตรวจสอบการกระจายตัวแบบปกติ (Normal Distribution ของ Residuals) ดังแสดงในรูปที่ 24 ซึ่งพบว่าสมการการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด มีการแจกแจงแบบปกติ แสดงว่าสมการมีความน่าเชื่อถือและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้

4.1.2.3 เปรียบเทียบค่าทำนายจากสมการกับค่าทดลอง

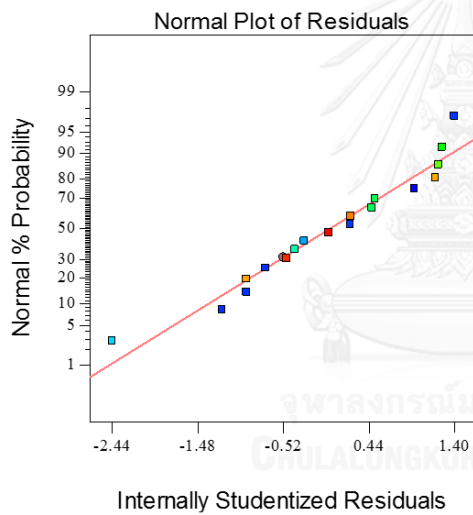
จากสมการร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ดังตารางที่ 10 เมื่อแทนค่า code ของปัจจัยทั้ง 3 ที่แตกต่างกันในแต่ละหน่วยทดลอง ลงในสมการการทำนายของพลาสติกแต่ละชนิด ดังตารางที่ 11 และ 12 พบว่าค่าการทำนายมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลอง



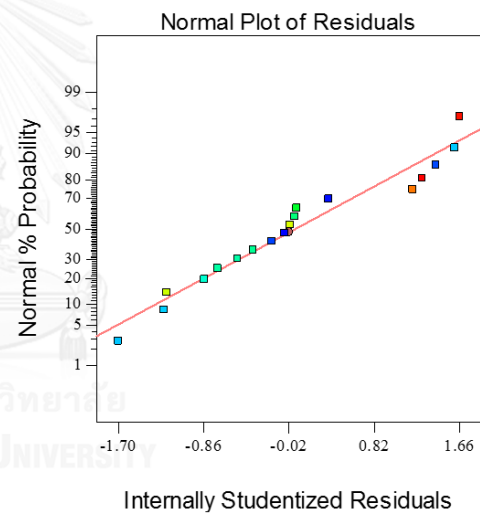
(PHBV)



(PLA)



(PBS)



(PBAT)

รูปที่ 24 การตรวจสอบการกระจายตัวแบบปกติ

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PHBV PBS และ PBAT ระหว่างค่าทดลองและค่าทำนายจากสมการ

หน่วย ทดลอง	PHBV		PBS		PBAT	
	ค่าทดลอง	ค่าทำนาย	ค่าทดลอง	ค่าทำนาย	ค่าทดลอง	ค่าทำนาย
1	1.93	0.29	1.13	0.57	0.90	0.29
2	11.01	11.70	1.80	1.66	1.44	0.75
3	81.20	78.92	10.76	10.07	3.65	3.65
4	86.59	86.23	10.84	11.38	3.59	4.11
5	44.74	46.01	1.76	0.94	0.65	0.49
6	46.55	49.74	1.70	2.12	0.87	0.95
7	92.24	92.46	11.30	11.16	4.37	3.86
8	89.55	92.09	12.28	12.56	4.87	4.32
9	45.62	49.21	1.67	2.51	2.22	2.20
10	82.22	75.00	3.03	3.29	2.05	2.40
11	33.27	29.76	1.67	2.76	0.59	0.62
12	90.37	90.25	12.72	12.73	4.80	3.99
13	65.23	67.67	3.60	5.80	1.46	2.07
14	79.25	73.19	8.15	7.05	2.56	2.53
15	63.64	67.68	6.87	5.38	2.03	2.30
16	63.52	67.68	5.94	5.38	1.42	2.30
17	66.50	67.68	4.92	5.38	1.86	2.30
18	69.82	67.68	5.98	5.38	2.11	2.30

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PLA ระหว่างค่าทดลองและค่าทำนายจากสมการ

หน่วย ทดลอง	PLA			
	ค่าทดลอง (ค่าจริง)	ค่าทดลอง Ln (ค่าจริง)	ค่าทำนาย Ln	ค่าทำนาย ย้อนกลับ
1	0.04	-3.22	-3.35	0.04
2	0.04	-3.22	-3.34	0.04
3	63.51	4.15	4.09	59.74
4	63.86	4.16	4.11	60.95
5	0.04	-3.22	-3.16	0.04
6	0.04	-3.22	-3.15	0.04
7	65.98	4.19	4.32	75.19
8	66.22	4.19	4.34	76.71
9	3.03	1.11	1.46	4.31
10	8.10	2.09	1.67	5.31
11	0.03	-3.51	-3.39	0.03
12	70.63	4.26	4.08	59.15
13	4.91	1.59	1.58	4.85
14	5.22	1.65	1.60	4.95
15	4.43	1.49	1.51	4.53
16	5.25	1.66	1.51	4.53
17	3.66	1.30	1.51	4.53
18	4.34	1.47	1.51	4.53

4.1.2.4 ผลวิเคราะห์ผลกระทบของปัจจัยในสภาวะทดสอบต่อค่าตอบสนอง

วิเคราะห์ผลกระทบของปัจจัยต่อค่าตอบสนอง โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม Design Expert V7 (trial version) พบว่ารูปแบบสมการค่าทำนายร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV PLA PBS และ PBAT มีค่า P-Value < 0.05 แสดงให้เห็นว่ามีอย่างน้อยหนึ่งปัจจัยที่เลือกมาศึกษามีผลต่อค่าตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ (P-Value < 0.05) สรุปผลดังตารางที่ 13 และรายละเอียดการวิเคราะห์ผลกระทบของปัจจัยต่อค่าตอบสนองทางสถิติแสดงในภาคผนวก ข ตารางที่ 13 ปัจจัยที่มีผลต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ

ชนิดพลาสติก	ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อค่าตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญ	ค่า P-Value
PHBV	● ร้อยละตะกอนชีวภาพ (X_1)	< 0.0001
	● อุณหภูมิ (X_2)	< 0.0001
	● ปัจจัยสัมพันธ์ระหว่างร้อยละตะกอนชีวภาพและอุณหภูมิ (X_1X_2)	0.0015
	● อุณหภูมิ ² (X_2^2)	0.0308
PLA	● อุณหภูมิ (X_2)	< 0.0001
	● อุณหภูมิ ² (X_2^2)	< 0.0001
PBS	● อุณหภูมิ (X_2)	< 0.0001
	● ร้อยละตะกอนชีวภาพ (X_1^2)	0.0130
	● อุณหภูมิ ² (X_2^2)	0.0162
PBAT	● อุณหภูมิ (X_2)	< 0.0001

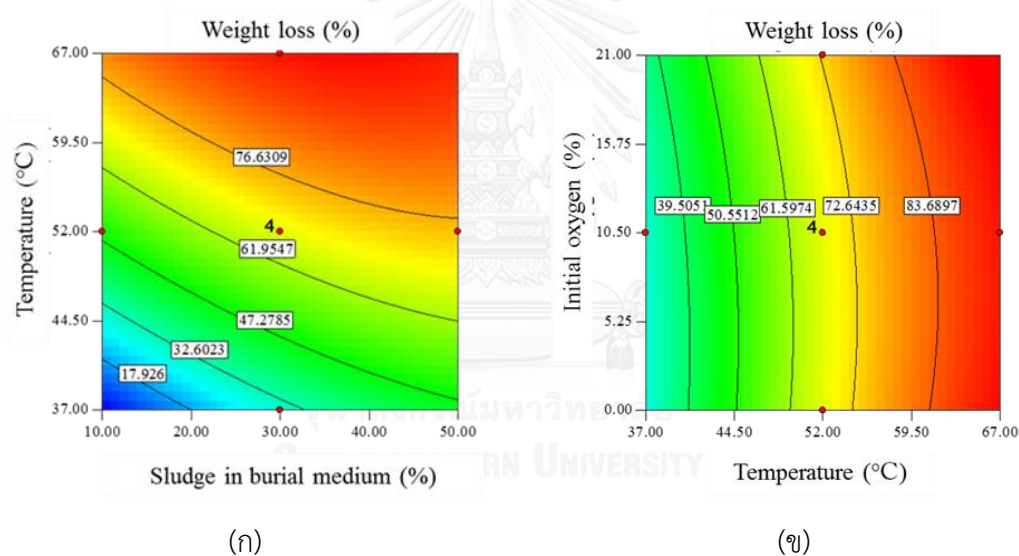
จากตารางที่ 13 พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปในเวลา 30 วัน ของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ส่วนปัจจัยที่ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญ คือ ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (P-Value > 0.05) และภายในเวลา 30 วันของการทดสอบพบว่าพลาสติกชนิด PHBV เป็นพลาสติกชนิดเดียวที่เห็นปัจจัยสัมพันธ์ของร้อยละตะกอนชีวภาพกับอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องมาจากพลาสติกชนิดนี้เป็นพลาสติกที่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ได้

ง่ายกว่าพลาสติกอีก 3 ชนิด จึงเห็นผลของกิจกรรมของจุลินทรีย์อย่างชัดเจนภายในเวลา 30 วัน ของการทดสอบ

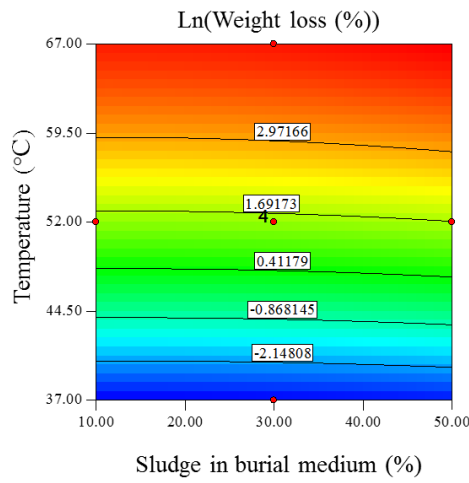
4.1.2.5 กราฟทำนายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่อค่าตอบสนอง

จากสมการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติก 4 ชนิด ตามตารางที่ 10 สามารถสร้างกราฟโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่เลือกศึกษาต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PHBV และ PBS และ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่เลือกศึกษาต่อค่า Ln(ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป) ของ PLA ดังรูปที่ 25 ถึงรูปที่ 27

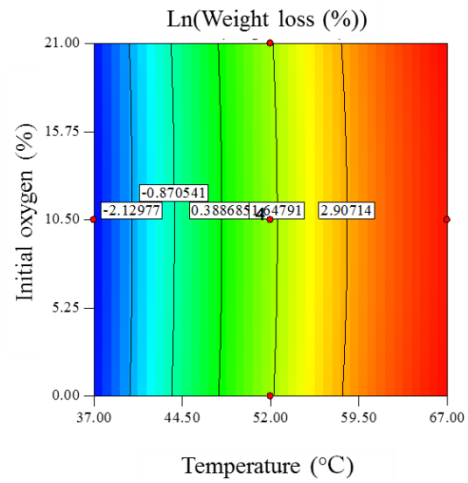
ส่วนพลาสติกชนิด PBAT มีรูปแบบสมการที่ใช้ในการทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเป็นรูปแบบสมการเส้นตรง จึงแสดงผลของกราฟที่พิจารณาแต่ละปัจจัยเดี่ยว ดังรูปที่ 28



รูปที่ 25 กราฟรูปแบบโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) (ก) ผลของอุณหภูมิและร้อยละตะกอนชีวภาพ (ข) ผลของอุณหภูมิและค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PHBV ใน 30 วัน

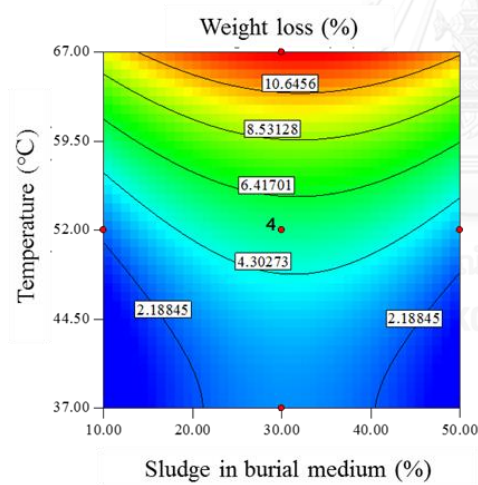


(ก)

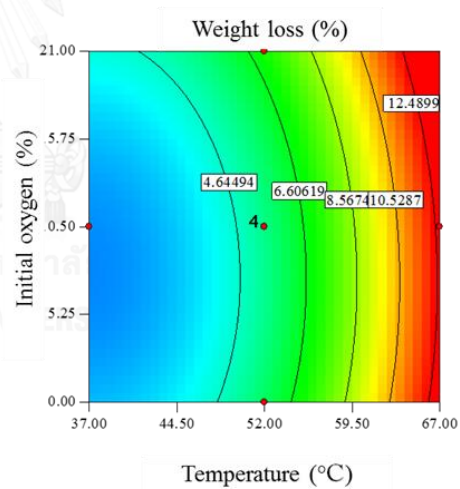


(ข)

รูปที่ 26 กราฟรูปแบบโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) (ก) ผลของอุณหภูมิและร้อยละตะกอนชีวภาพ (ข) ผลของอุณหภูมิและค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ต่อค่า \ln ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PLA ใน 30 วัน

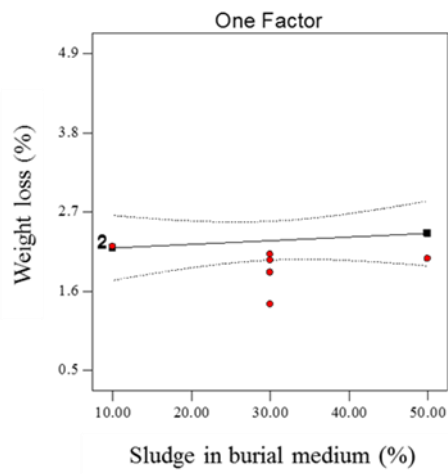


(ก)

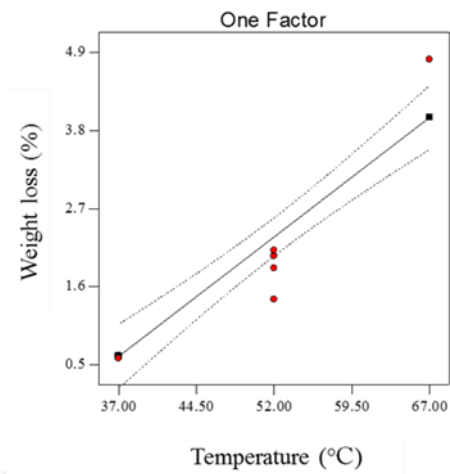


(ข)

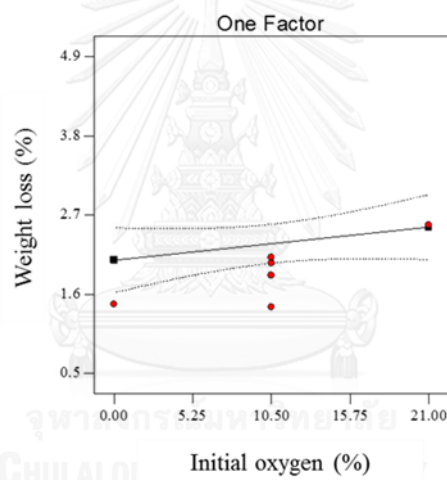
รูปที่ 27 กราฟรูปแบบโครงร่าง 2 มิติ (contour plot) (ก) ผลของอุณหภูมิและร้อยละตะกอนชีวภาพ (ข) ผลของอุณหภูมิและค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติก PBS ใน 30 วัน



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 28 ผลของปัจจัยเดี่ยว (ก) ร้อยละตะกอนชีวภาพ (ข) อุณหภูมิ (ค) ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้น ในขวดทดลอง ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ใน 30 วัน

4.1.3 อภิปรายผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด

4.1.3.1 พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV

ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปแสดงให้เห็นความสามารถในการถูกย่อยสลายของพลาสติก PHBV ภายใต้สภาวะทดสอบ จากตารางที่ 11 พบว่าค่าทดลองในแต่ละหน่วยทดลองมีค่าใกล้เคียงกับค่าทำนายที่ได้จากโปรแกรม Design Expert V7 โดยค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV สูงที่สุดในเวลา 30 วัน พบในหน่วยทดลองที่ 7 ซึ่งใช้ปัจจัยคือค่าร้อยละ 50 ของตะกอนชีวภาพเป็นตัวกลางที่ใช้ฝังพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส และใช้ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองเท่ากับ 0 โดยมีค่าจากการทดลองและค่าทำนายเท่ากับ 92.24 ± 3.55 และ 92.46 ตามลำดับ ส่วนค่าต่ำที่สุดพบได้ในหน่วยทดลองที่ 1 ซึ่งทดลองฝัง PHBV ในตัวกลางที่ผสมตะกอนชีวภาพร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และใช้ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองเท่ากับ 0 โดยมีค่าที่ได้จากการทดลองเท่ากับร้อยละ 1.93 ± 0.55 และค่าทำนายเท่ากับร้อยละ 0.29

เมื่อพิจารณาทั้ง 18 หน่วยทดลอง พบว่าการย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้ดีเมื่อฝังพลาสติกที่อุณหภูมิสูง ยกตัวอย่างเช่น การฝังที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส จะให้ค่าร้อยละการย่อยสลาย PHBV ได้สูงกว่าร้อยละ 80 ในทุกหน่วยทดลอง ส่วนการฝังที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส จะให้ค่าร้อยละการย่อยสลายสูงรองลงมา และการย่อยสลายเกิดขึ้นได้ช้าเมื่อฝังพลาสติกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับการวิเคราะห์ผลทางสถิติที่แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อการย่อยสลาย PHBV ใน 30 วัน อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 13)

มีรายงานการวิจัยที่ระบุว่า PHBV จะเกิดการย่อยสลายได้ช้าที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic conditions) เช่น Arcos-Hernandez et al (2012) ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV โดยการฝังในดินผสมปุ๋ยหมัก ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่าพลาสติก PHBV จะถูกย่อยสลายได้แต่อัตราการย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้ช้า โดยการย่อยสลายเกิดขึ้นได้ร้อยละ 50 เมื่อฝังดินเป็นเวลา 3.3 ถึง 4.4 เดือน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Volova et al (2010) ทำการศึกษาการย่อยสลาย PHBV ตามธรรมชาติโดยแช่ในทะเลญาจาง (Nha Trang) ซึ่งน้ำทะเลมีอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ที่ 28.75 องศาเซลเซียส พบว่าแผนฟิล์มมีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปประมาณร้อยละ 50 หลังจากการแช่ในน้ำทะเลนานถึงกว่า 5 เดือน สอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้นี้ที่พบค่าการย่อยสลายต่ำที่สุดเมื่อฝังพลาสติกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ส่วนรายงานการวิจัยที่สนับสนุนว่าพลาสติก PHBV จะเกิดการย่อยสลายได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophilic conditions) ได้แก่ งานวิจัยของ Luo and Netravali (2003) ที่ศึกษาการย่อยสลาย PHBV ในกองปุ๋ยหมักที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส พบว่า PHBV สามารถย่อยสลายได้ดีภายในเวลา

50 วัน ซึ่งมีค่าการย่อยสลายมากกว่าร้อยละ 80 ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับผลการย่อยสลาย PHBV ในงานวิจัยในครั้งนี้ โดยจะเห็นได้ว่าที่หน่วยทดลองที่ฝังพลาสติกที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส จะมีร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV อยู่ในช่วง 45.62 ถึง 82.22 ซึ่งค่าการย่อยสลายบางหน่วยทดลองจะมีค่าต่ำกว่า อาจเนื่องมาจากสภาวะที่ใช้ในการฝังพลาสติกที่แตกต่างกันและมีการฝังที่อุณหภูมิต่ำกว่า

งานวิจัยของ Weng et al (2010) ศึกษาการย่อยสลาย PHBV โดยพบว่าการย่อยสลายเกิดขึ้นได้กว่าร้อยละ 80 ภายในเวลา 35 วัน ในสภาวะปุ๋ยหมักในระดับการทดลอง (Laboratory-scale) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 58 องศาเซลเซียส ในขณะที่การทดสอบการย่อยสลาย PHBV ในระดับต้นแบบ (pilot scale) ที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งมีอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักอยู่ที่ประมาณ 60-75 องศาเซลเซียส จะให้ค่าการย่อยสลาย PHBV ได้อย่างสมบูรณ์ สอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ที่ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการย่อยสลาย PHBV ในทุกหน่วยทดลองที่ฝัง PHBV ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ให้ผลการย่อยสลายสูงสุดเมื่อเทียบกับที่ระดับอุณหภูมิอื่น โดยมีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปอยู่ในช่วง 81.20 ถึง 92.24

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่ระบุว่า การย่อยสลาย PHBV ไม่ได้เกิดขึ้นเนื่องจากผลของอุณหภูมิเท่านั้น แต่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ร่วมด้วย โดยงานวิจัยของ Eldsäter et al (1999) ระบุว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโมเลกุลของ PHBV เพียงเล็กน้อยเมื่อแช่ในน้ำปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หรือทำการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 50 วัน แต่เมื่อทดสอบการย่อยสลายในการปุ๋ยหมักที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของกราฟ FTIR ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์

งานวิจัยของ Abou-Zeid et al (2001) แสดงให้เห็นว่าผลของการย่อยสลาย PHBV เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยศึกษาการย่อยสลาย PHBV ที่ฝังในตุ๊กกลางคือตะกอนชีวภาพที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 100 พบว่าค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV ในตุ๊กกลางเข้มข้นร้อยละ 100 มีค่าสูงกว่าร้อยละ 10 ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าตะกอนชีวภาพที่มีความเข้มข้นมากกว่าซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าจะส่งผลให้เกิดการย่อยสลายได้ดีกว่า

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติก PHBV ภายใต้การฝังในสภาวะที่กำหนดใน 18 หน่วยทดลอง (ตารางที่ 8) แสดงให้เห็นว่าชิ้นพลาสติกที่เป็นตัวควบคุม (ชิ้นพลาสติกที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย) จะมีผิวที่เรียบและคงรูปเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 2 x 2 ตารางเซนติเมตร เมื่อผ่านการย่อยสลายเป็นเวลา 30 วัน ลักษณะของชิ้นพลาสติกจะมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระดับปัจจัยที่ใช้ในแต่ละหน่วยทดลอง โดยหน่วยทดลองที่ 1 ซึ่ง

ให้ค่าการย่อยสลาย PHBV ต่ำที่สุด พบว่า PHBV ทุกชิ้นยังคงรูปเป็นสีเหลืองจืดอยู่และมีลักษณะไม่เปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม ส่วนหน่วยทดลองที่ 7 ซึ่งให้ค่าการย่อยสลาย PHBV สูงที่สุดจะเห็นว่าชิ้นพลาสติกมีลักษณะขบมนและจะมีขนาดเล็กลงมากเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นพลาสติกตัวควบคุม และไม่พบชิ้นพลาสติกที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองหลงเหลืออยู่ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของชิ้นพลาสติกเช่นนี้ก็พบได้ในหน่วยทดลองที่มีการฝังที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส (หน่วยทดลองที่ 3 4 8 และ 12) เช่นกัน

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าการศึกษากการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษากการย่อยสลายภายใต้สภาวะปุ๋ยหมัก แตกต่างจากงานวิจัยในครั้งนี้ที่มุ่งเน้นศึกษากการย่อยสลาย PHBV ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic conditions) และสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด (oxygen limited conditions) ซึ่งเป็นสภาวะหลักที่พบได้ในบ่อฝังกลบขยะ ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า PHBV ถูกย่อยสลายได้ดีในทั้งสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด โดยค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปภายใต้สองสภาวะนี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่การย่อยสลายพลาสติก PHBV จำเป็นต้องฝังพลาสติกที่อุณหภูมิสูง (thermophilic conditions) ถึงแม้ว่าการย่อยสลาย PHBV ในการทดลองครั้งนี้มีค่าสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส แต่จากกราฟโครงร่าง 2 มิติ ในรูปที่ 25 (ก) แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่สามารถแปรผันได้ตั้งแต่ 55-67 องศาเซลเซียส (พื้นที่โซนสีส้มถึงแดง) โดยที่ค่าร้อยละของตะกอนชีวภาพสามารถแปรผันได้ตั้งแต่ 10-50 แต่พบว่าที่ร้อยละ 50 จะส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายได้ดีกว่าที่ระดับปัจจัยอื่น และเนื่องจากค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองเป็นปัจจัยที่ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากราฟโครงร่าง 2 มิติ ในรูปที่ 25 (ข) สามารถแปรผันได้ตั้งแต่ระดับร้อยละ 0 ถึง 21 และเช่นเดียวกัน พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสามารถแปรผันได้ตั้งแต่ 55-67 องศาเซลเซียส พื้นที่ที่ให้ค่าการย่อยสลาย PHBV ที่เหมาะสมที่ประเมินด้วยกราฟโครงร่าง 2 มิติ จะถูกนำไปใช้ในการคัดเลือกสภาวะเหมาะสมต่อการย่อยสลายร่วมกับพลาสติกชีวภาพอีก 3 ชนิด (PLA PBS และ PBAT) ต่อไป

4.1.3.2 พลาสติกชีวภาพชนิด PLA

จากผลการติดตามค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA ใน 30 วัน (ตารางที่ 7) พบว่ามีค่าแตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับปัจจัยของอุณหภูมิเป็นสำคัญ โดย PLA มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักน้อยมากเมื่อฝังที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในหน่วยทดลองที่ 1 2 5 6 และ 11 โดยมีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปอยู่ในช่วง 0.03 ถึง 0.04 ในส่วนของการฝังพลาสติกที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ในหน่วยทดลองที่ 3 4 7 8 และ 12 พบว่าให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA สูงใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 63.51 ถึง 70.63

งานวิจัยในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่ชี้ว่าอุณหภูมิส่งผลโดยตรงต่อร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA ใน 30 วัน อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีหลายงานวิจัยสรุปผลไปในแนวทางเดียวกันว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อพฤติกรรมการย่อยสลาย PLA (Itävaara et al, 2002; Kunioka et al, 2006; Lunt, 1998; Mathew et al, 2005)

งานวิจัยของ Itävaara et al (2002) เป็นตัวอย่างที่ดีของงานวิจัยที่ศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PLA ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ โดยพบว่าภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic conditions) และฝังพลาสติกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะไม่พบการย่อยสลายภายในระยะเวลาทดสอบ 40 วัน แต่หากเพิ่มอุณหภูมิการฝังที่ 52 องศาเซลเซียส การย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้ดีกว่า ผลการศึกษาเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยของ Massardier-Nageotte et al (2006) ที่รายงานผลว่า PLA ไม่สามารถย่อยสลายได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ Fukushima et al (2009) ที่พบว่า PLA ไม่เกิดการย่อยสลายอย่างมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่า PLA จะเกิดการย่อยสลายได้น้อยมากในสภาวะการทดสอบที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส (mesophilic conditions) การย่อยสลาย PLA จะเกิดขึ้นได้ดีขึ้นหากใช้อุณหภูมิในย่อยสลายใกล้เคียงกับอุณหภูมิ T_g (glass temperature) ซึ่งอยู่ในช่วง 55 – 62 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับ T_g จะเร่งให้เกิดกระบวนการ hydrolysis โดยเร่งการคลายตัวของสายพอลิเมอร์และการดูดซึมน้ำส่งผลให้เกิดการแตกหักของชิ้นพลาสติก (disintegration/Fragmentation) เป็นผลให้เกิดการหายไปของน้ำหนักของพลาสติก (Fukushima et al, 2009; Karamanlioglu et al, 2014; Sakai et al, 2001)

Kunioka et al (2006) ศึกษาการย่อยสลาย PLA ในรูปแบบผง ภายใต้สภาวะ thermophilic conditions ที่อุณหภูมิ 58 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เกิดการย่อยสลายได้มากกว่าร้อยละ 90 ใน 20 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส การย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วมากขึ้น

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของ PLA ที่เปลี่ยนแปลงไป หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 30 วัน ดังแสดงในตารางที่ 8 จะเห็นได้ชัดเจนว่า ลักษณะชิ้นพลาสติก PLA มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อทำการฝังที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่จะมีลักษณะแตกหักจนเป็นชิ้นเล็กมากเมื่อทำการฝังที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าชิ้นพลาสติกยังคงมีความโปร่งแสงเช่นเดียวกันพลาสติกตัวควบคุม ในขณะที่การฝังที่อุณหภูมิ 52 และ 67 องศาเซลเซียส จะพบการเปลี่ยนแปลงของสีที่มีความขาวขุ่นมากขึ้น

เมื่อพิจารณากราฟโครงร่าง 2 มิติ ในรูปที่ 26 (ก) แสดงผลของอุณหภูมิและร้อยละตะกอนชีวภาพต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย PLA สามารถแปรผันได้ในช่วง 59.5-67 องศาเซลเซียส ในขณะที่ร้อยละตะกอนชีวภาพสามารถแปรผันได้ตั้งแต่ร้อยละ 10 ถึงร้อยละ 50 ในขณะที่กราฟโครงร่าง 2 มิติ ในรูปที่ 25 (ข) แสดงให้เห็นว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 59.5-67 องศาเซลเซียส และสามารถแปรผันค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองได้ตั้งแต่ 0-21 แสดงให้เห็นว่าช่วงอุณหภูมิเหมาะสมที่ได้จากกราฟทำนายความสัมพันธ์ของระดับปัจจัยและค่าตอบสนองครอบคลุมอุณหภูมิที่เป็น glass temperature ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย PLA

4.1.3.3 พลาสติกชีวภาพชนิด PBS

จากตารางที่ 11 พบว่าค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS ใน 30 วัน ที่ได้จากการทดลอง มีค่าใกล้เคียงกับค่าทำนายที่ได้จากโปรแกรม Design Expert V7 โดยค่าร้อยละการย่อยสลาย PBS สูงที่สุดพบในหน่วยทดลองที่ 12 ซึ่งใช้ค่าร้อยละ 30 ของตะกอนชีวภาพในตุ๊กกลางที่ใช้ฝังพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส และใช้ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองเท่ากับ 10.5 โดยมีค่าจากการทดลองและค่าทำนายเท่ากับ เท่ากับ 12.72 ± 2.52 และ 12.73 ตามลำดับ ส่วนค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS เกิดได้น้อยที่สุดในหน่วยทดลองที่ 1 โดยมีค่าที่ได้จากการทดลองเท่ากับ 1.13 ± 0.34 โดยมีค่าทำนายเท่ากับ 0.57

เมื่อพิจารณาค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS ใน 30 วัน พบว่าขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเป็นสำคัญ สัมพันธ์กับค่าวิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระบุว่าอุณหภูมิมีผลต่อร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS อย่างมีนัยสำคัญ หน่วยทดลองที่ฝังที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส จะให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วง $10.76 - 12.72$ ต่างกับหน่วยทดลองที่ฝังที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปน้อยมากซึ่งอยู่ในช่วง $1.13 - 1.67$ แต่ในช่วงการฝังที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส จะพบความแตกต่างของร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นผลเนื่องจากร้อยละตะกอนชีวภาพในตุ๊กกลาง

งานวิจัยที่ให้ผลเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยในครั้งนี้ คืองานวิจัยของ Dvorackova et al (2015) ได้ศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PBS โดยใช้ตะกอนชีวภาพจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ ภายใต้อุณหภูมิ 37 และ 52 องศาเซลเซียส จากการทดสอบพบว่า PBS ย่อยสลายได้เพียงร้อยละ 2.2 เมื่อฝังภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (mesophilic anaerobic conditions) แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการทดสอบไปที่ 52 องศาเซลเซียส จะพบการย่อยสลายสูงขึ้นถึงร้อยละ 24.8 แต่ต้องใช้เวลาดทดสอบถึง 3 เดือน

ลักษณะทางกายภาพของ PBS ที่เปลี่ยนแปลงไปดังแสดงในตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในทุกหน่วยทดลอง ชิ้นพลาสติก PBS ส่วนมากยังคงรูปไม่แตกต่างจาก PBS ตัวควบคุม ในขณะที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการฝังไปที่ 52 และ 67 องศาเซลเซียส จะพบการแตกหักของชิ้นพลาสติกเพิ่มมากขึ้น ลักษณะการแตกหักของ PBS ได้อธิบายไว้ในรายงานการวิจัยของ Dvorackova et al (2015) ซึ่งระบุว่า เป็นผลมาจากกระบวนการ hydrolysis ของสายพอลิเมอร์ โดยมีปัจจัยด้านอุณหภูมิเป็นตัวเร่ง

ภายในระยะเวลาทดสอบ 30 วันถึงแม้ว่า PBS จะแตกออกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยซึ่งแสดงให้เห็นแนวโน้มที่ดีของการถูกย่อยสลาย แต่เมื่อพิจารณาค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS เมื่อเปรียบเทียบกับ PHBV และ PLA แล้ว พบว่าภายใต้สภาวะทดสอบ PBS เกิดการย่อยสลายได้เช่นกัน แต่เกิดขึ้นได้น้อยกว่าพลาสติกชนิด PHBV และ PLA

ถึงแม้ว่าที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้เกิดการย่อยสลาย PBS ได้มากที่สุด แต่พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสามารถแปรผันได้ตั้งแต่ 60 - 67 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 27 (ก) และ (ข)

4.1.3.4 พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT

จากทั้งหมด 18 หน่วยทดลอง หน่วยทดลองที่ 8 ให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBAT สูงที่สุด (4.87 ± 0.33) ซึ่งใช้ค่าร้อยละ 50 ของตะกอนชีวภาพในตัวกลางที่ใช้ฝังพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส และใช้ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองเท่ากับ 21 ส่วนค่าต่ำที่สุดพบได้ในหน่วยทดลองที่ 1 ที่ฝัง PBAT ในตัวกลางที่ผสมตะกอนชีวภาพร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และใช้ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองเท่ากับ 0 โดยมีค่าที่ได้จากการทดลองเท่ากับ 0.90 ± 0.02 ผลจากการทดสอบทางสถิติแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBAT ใน 30 วัน ส่วนค่าร้อยละตะกอนชีวภาพที่ใช้เป็นตัวกลางในการฝังพลาสติก รวมถึงค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าค่าทดลองในหน่วยทดลองที่ฝังที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ในทุกหน่วยทดลองจะให้ค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.59 – 4.87 ส่วนหน่วยทดลองทุกหน่วยทดลองที่ฝังที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBAT ใน 30 วัน ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.59 – 0.90

พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV PLA และ PBS โดยพบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปสูงสุดเพียงแค่ $4.87 \pm$

0.33 ใน 30 วัน อาจเนื่องมาจากพลาสติกชีวภาพชนิดนี้เป็นพลาสติกที่มีความคงทนสูงและยากต่อการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์

4.1.4 สรุปการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด

จากผลการทดสอบการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ภายใต้การทดลองแบบ CCD และการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม Design Expert V7 (trial version) รวมทั้งการพิจารณากราฟที่ได้จากวิธี RSM สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

1. อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ โดยพลาสติกทั้ง 4 ชนิดจะย่อยสลายได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophilic conditions)
2. ค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองไม่ส่งผลต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ

เลือกหาสภาวะที่นำมาศึกษาการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด โดยพิจารณาจากค่าสมการร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกแต่ละชนิดร่วมกับการวิเคราะห์ผลจากกราฟด้วยวิธี RSM โดยตั้งเป้าหมายว่าต้องการคัดเลือกสภาวะเดียวเพื่อใช้ในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ร่วมกัน

ปัจจัยแรกที่ทำการศึกษาคือค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง เนื่องจากเป็นปัจจัยที่ไม่ส่งผลต่อค่าการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ จึงเลือกค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นที่ 21 ซึ่งคือการเก็บอากาศปกติตามธรรมชาติไว้ภายในขวด การเลือกค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นที่ 21 มีข้อดีคือไม่มีความยุ่งยากในการแทนที่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน และสภาวะนี้เป็นสภาวะอากาศจริงที่พบได้ตามธรรมชาติในหลุมฝังกลบขยะ

ในส่วนค่าร้อยละตะกอนชีวภาพพบว่าไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PLA และ PBAT ดังนั้นในกรณีพลาสติก 2 ชนิดนี้สามารถแปรผันได้ตั้งแต่ร้อยละตะกอนชีวภาพ 10 ถึง 50 เมื่อพิจารณาพลาสติก 2 ชนิดที่เหลือ คือ PHBV และ PBS พบว่า พลาสติกที่เห็นผลของปัจจัยจากตะกอนชีวภาพต่อค่าการย่อยสลายอย่างชัดเจน รวมถึงเห็นผลความสัมพันธ์ของปัจจัยด้านอุณหภูมิและร้อยละตะกอนชีวภาพ คือพลาสติกชนิด PHBV โดยค่าการย่อยสลายสูงสุดของพลาสติกชนิดนี้จะเกิดขึ้นเมื่อใช้ร้อยละตะกอนชีวภาพในตัวกลางที่ร้อยละ 50 ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่าระดับปัจจัยนี้มาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ปัจจัยสุดท้ายที่ต้องพิจารณาคือปัจจัยด้านอุณหภูมิ จากกราฟโครงร่าง 2 มิติ พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชนิด PHBV สามารถแปรผันได้ตั้งแต่ 55-67 องศาเซลเซียส

ส่วนอุณหภูมิเหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชนิด PLA จะอยู่ในช่วง 59.5-67 องศาเซลเซียส ส่วนพลาสติกชนิด PBS และ PBAT ค่าการย่อยสลายจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ให้ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS และ PBAT สูงที่สุด แต่เมื่อทดลองแทนค่าระดับปัจจัยของอุณหภูมิลงในสมการค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของทั้งพลาสติกชนิด PBS และ PBAT แล้วพบว่าค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปมีความแตกต่างกันไม่มาก เมื่อใช้ระดับปัจจัยของอุณหภูมิที่ 61 – 67 องศาเซลเซียส ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดค่าพลังงานที่ต้องใช้ในการควบคุมอุณหภูมิรวมถึงอุณหภูมิที่ใช้ควรเหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิดร่วมกัน จึงทำการเลือกอุณหภูมิที่ 61 องศาเซลเซียส มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

โดยสรุประดับปัจจัยที่เลือกศึกษาของทั้ง 3 ปัจจัยประกอบด้วยร้อยละตะกอนชีวภาพที่ใช้เป็นตัวกลางในการฝังพลาสติกที่ร้อยละ 50 (code +1) อุณหภูมิที่ใช้ในการฝังที่ 61 องศาเซลเซียส (code +0.6) และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21 (code +1) โดยที่ระดับปัจจัยนี้ถูกนำไปใช้ในการขยายเวลาการศึกษาพลาสติกทั้ง 4 ชนิด เป็นเวลา 90 วัน ดังแสดงผลในหัวข้อถัดไป

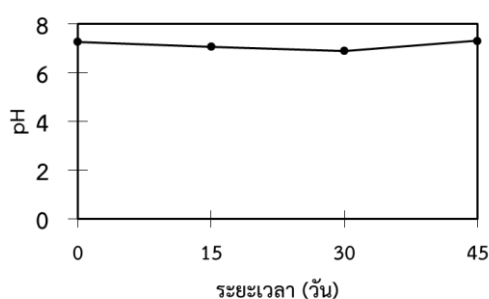
4.2 ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะคัดเลือก

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของตัวกลาง

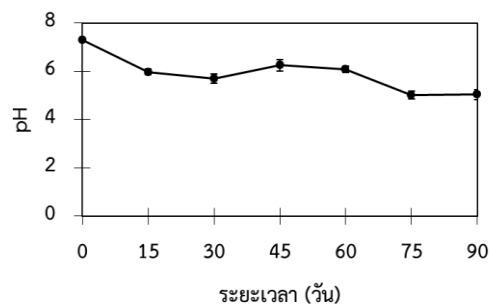
การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของตัวกลางที่ในการฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิดแสดงในรูปที่ 29 โดยค่าพีเอชเริ่มต้นของตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกมีค่าประมาณ 7.30 เมื่อผ่านการฝังพลาสติกเป็นเวลา 90 วัน พบว่าค่าพีเอชของตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชนิด PHBV PBS และ PBAT มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในตัวกลางที่ฝังพลาสติกชนิด PLA โดยพบว่าค่าพีเอชของตัวกลางตั้งต้นอยู่ที่ 7.30 ± 0.07 และวันสุดท้ายของการฝัง PLA ค่าพีเอชของตัวกลางลดลงถึง 5.03 ± 0.20 และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ใน 3 ช่วง โดยช่วงแรกในวันที่ 15 30 จะพบค่าพีเอชที่ลดต่ำลงจากเริ่มต้น โดยมีค่าอยู่ที่ 5.97 ± 0.12 และ 5.70 ± 0.20 ตามลำดับ และหลังจากนั้นค่าพีเอชจะสูงขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 45-60 และค่าพีเอชจะลดต่ำลงถึง 5.02 ± 0.17 และ 5.03 ± 0.20 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่ลดต่ำลงถูกรายงานโดย Dong et al (2014) ทดสอบการย่อยสลายพลาสติก PLA และ PBAT ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าค่าพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้นที่ 12 ลดต่ำลงถึง 4 ใน 8 สัปดาห์ ของการทดสอบ ในขณะที่ค่าพีเอชของตัวกลางที่ใช้ในการฝัง PBAT มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนักโดยมีค่าอยู่ในช่วง 12 -10

การลดลงของค่าพีเอชในระบบการฝังพลาสติก PLA เป็นผลมาจากกระบวนการ hydrolysis สายพอลิเมอร์ของ PLA ทำให้มีการปลดปล่อยกรดแลคติกส่งผลให้ค่าพีเอชลดต่ำลง สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Karamanlioglu and Robson (2013) ที่ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชใน

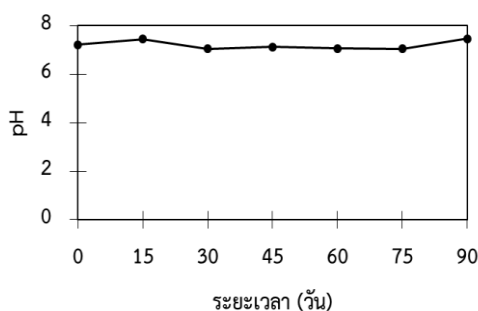
ระบบการย่อยสลาย PLA พบว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช แต่พบค่าพีเอชลดลงเมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส ไม่สามารถเร่งให้เกิดกระบวนการ hydrolysis พลาสติก PLA ได้ ส่งผลให้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ในขณะที่อุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส สูงพอที่จะชักนำให้เกิดกระบวนการ hydrolysis ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยกรดแลคติกออกมา



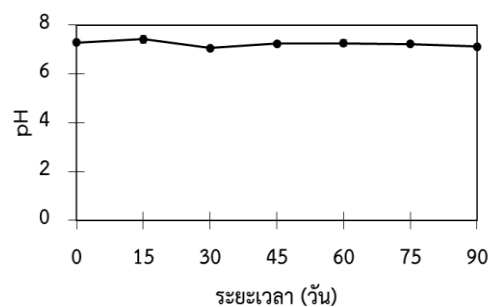
(ก) PHBV



(ข) PLA



(ค) PBS

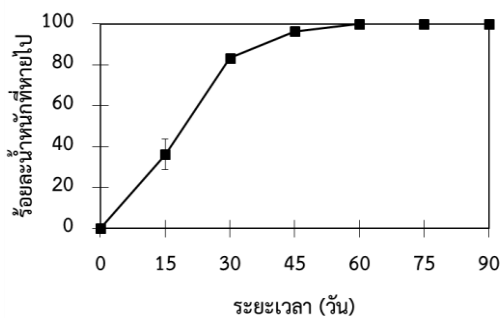


(ง) PBAT

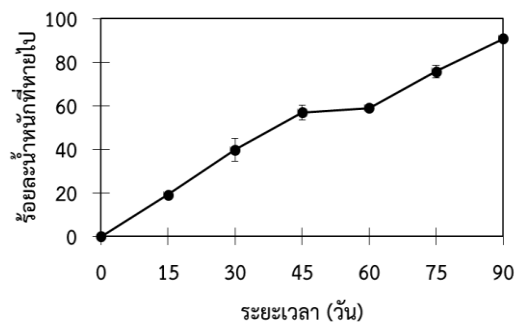
รูปที่ 29 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ใน 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ (ร้อยละตะกอนชีวภาพ 50 อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21)

4.2.2 ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด

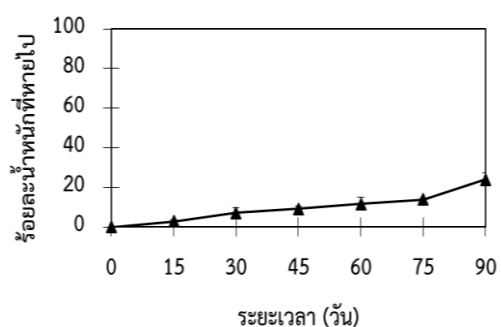
ติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะคัดเลือกตามตารางที่ 14 โดยพิจารณาจากค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปทุกๆ 15 วัน จากเริ่มต้นจนถึงวันที่ 90 ของการฝัง ดังแสดงในรูปที่ 28 (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค.1)



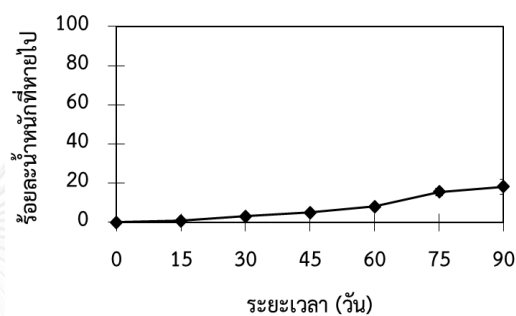
(ก) PHBV



(ข) PLA



(ค) PBS



(ง) PBAT

รูปที่ 30 ร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV PLA PBS และ PBAT ภายใต้สภาวะทดสอบ (ร้อยละตะกอนชีวภาพ 50 อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21)

จากรูปที่ 30 พบว่า PHBV เป็นพลาสติกที่ถูกย่อยสลายได้สมบูรณ์ภายในเวลา 60 วัน ของการฝังในสภาวะทดสอบ โดย PHBV ถูกย่อยสลายได้ตั้งแต่วันที่ 15 ของการฝัง มีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปหลังจาก 15 วัน ของการฝัง เท่ากับ 36.23 ± 7.58 หลังจากนั้นพบว่า PHBV จะถูกย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว หลังจาก 30 และ 45 วันของการฝัง โดยมีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเท่ากับ 83.27 ± 0.97 และ 96.24 ± 0.42 ตามลำดับ และพบการย่อยสลายจนสมบูรณ์ในวันที่ 60

พลาสติก PLA มีค่าค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเพิ่มเวลาของการฝัง โดยหลังจากวันที่ 15 30 และ 45 ของการฝังในสภาวะทดสอบ พบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA เท่ากับ 19.04 ± 0.04 , 39.76 ± 5.25 , และ 56.87 ± 3.34 ตามลำดับ ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องที่ 75.78 ± 2.88 และ 90.78 ± 0.52 หลังจากการฝังวันที่ 75 และ 90 วัน ตามลำดับ

ในส่วนของ PBS มีค่าการเปลี่ยนแปลงของร้อยละน้ำหนักที่หายไปน้อยกว่า PHBV และ PLA โดยหลังจากการฝังในสภาวะทดสอบเป็นเวลา 15 วัน พบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเพียง $2.89 \pm$

0.77 และพบค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเปลี่ยนแปลงค่อยๆเพิ่ม จนถึงวันที่ 90 ของการฝัง โดยมีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปมีค่าเท่ากับ 24.04 ± 3.37

พลาสติก PBAT มีค่าการเปลี่ยนแปลงร้อยละน้ำหนักที่หายไปและอัตราการย่อยสลายต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกอีก 3 ชนิด โดยพบว่า PBAT มีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปไม่ถึงร้อยละ 10 หลังจากการฝังเป็นเวลา 60 วัน แต่จะพบการเปลี่ยนแปลงของร้อยละการหายไปของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนหลังจากวันที่ 75 โดยมีค่าการเปลี่ยนแปลงร้อยละน้ำหนักที่หายไปที่ 15.53 ± 1.97 และ 18.26 ± 3.77 หลังจากการฝังในสภาวะทดสอบเป็นเวลา 75 และ 90 วันตามลำดับ

โดยสรุปภาพรวม พลาสติก PHBV ให้ค่าการย่อยสลายสูงที่สุด รองลงมาคือพลาสติกชีวภาพชนิด PLA และ PBS โดยพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ให้ค่าการย่อยสลายต่ำที่สุดในสภาวะทดสอบ

เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ในเวลา 30 วัน ภายใต้สภาวะคัดเลือก พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับค่าทำนายสมการร้อยละน้ำหนักที่หายไป ดังแสดงในตารางที่ 14 แสดงให้เห็นว่าสมการที่ใช้มีความสอดคล้องกับผลการทดลอง

ตารางที่ 14 ค่าการทดลองและค่าทำนายค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปใน 30 วันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะทดสอบ

ชนิดพลาสติกชีวภาพ	ค่าจากการทดลอง	ค่าจากการทำนายตามสมการ
PHBV	83.26 ± 0.97	88.54
PLA	39.76 ± 5.25	36.23
PBS	7.25 ± 2.49	8.94
PBAT	3.11 ± 1.05	3.64

นำข้อมูลค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด มาคำนวณหาอัตราการย่อยสลายในแต่ละช่วงเวลา โดยคิดเป็นหน่วยมิลลิกรัมต่อวัน และร้อยละการย่อยสลายต่อวัน ตามตารางที่ 15 จะเห็นได้ว่าพลาสติก PHBV มีอัตราการย่อยสลายสูงกว่าพลาสติก PLA PBS และ PBAT โดยพบอัตราการย่อยสลาย PHBV สูงที่สุดในช่วงวันที่ 16 - 30 เท่ากับ 154.38 มิลลิกรัมต่อวัน เช่นเดียวกับพลาสติก PLA ที่พบอัตราการย่อยสลายสูงสุดในช่วงวันที่ 16 - 30 (68.70 มิลลิกรัมต่อวัน) ส่วนพลาสติกชนิด PBS และ PBAT ซึ่งเป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ช้าภายใต้สภาวะทดสอบ พบว่าอัตราการย่อยสลายค่อนข้างต่ำในช่วง 60 วันแรกของการฝัง แต่การย่อยสลายจะเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายของการทดสอบ(วันที่ 61-90) แสดงให้เห็นว่าพลาสติกทั้ง 2 ชนิดนี้ต้องการเวลาปรับตัวให้เข้ากับสภาวะการย่อยสลาย โดยพลาสติก PBS มีค่าการย่อยสลายสูงสุดที่ 33.15 มิลลิกรัมต่อวัน

ในช่วงวันที่ 76 -90 และพลาสติก PBAT มีค่าการย่อยสลายสูงสุดที่ 25.09 มิลลิกรัมต่อวัน ในช่วงวันที่ 61 – 75

ตารางที่ 15 อัตราการย่อยสลาย (มิลลิกรัมต่อวัน และ ร้อยละการย่อยสลายต่อวัน) ของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV PLA PBS และ PBAT ภายใต้สภาวะทดสอบ

พลาสติกชีวภาพ	อัตราการย่อยสลาย (มิลลิกรัมต่อวัน)					
	0-15	16-30	31-45	46-60	61-75	76-90
PHBV	119.25	154.38	42.46	12.91		
PLA	62.99	68.70	56.25	7.02	55.6	49.72
PBS	9.66	14.75	6.17	8.69	7.12	33.15
PBAT	2.47	7.85	6.76	10.56	25.09	8.47

พลาสติกชีวภาพ	อัตราการย่อยสลาย (ร้อยละการย่อยสลายต่อวัน)					
	0-15	16-30	31-45	46-60	61-75	76-90
PHBV	2.42	3.14	0.86	0.25		
PLA	1.27	1.38	1.14	0.14	1.12	1.00
PBS	0.19	0.29	0.13	0.17	0.14	0.68
PBAT	0.05	0.16	0.13	0.20	0.49	0.18

เมื่อนำผลการศึกษาค่าการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ที่ได้มาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นเป็นดังนี้

งานวิจัยที่แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV ใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้ง จะพบในการศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PHBV ที่อุณหภูมิสูง เช่น Luo and Netravali (2003) แสดงผลการศึกษาว่าพลาสติก PHBV มีค่าน้ำหนักที่หายไปมากกว่าร้อยละ 80 ใน 50 วัน ภายใต้สภาวะกองปุ๋ยหมักที่มีการคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 58 องศาเซลเซียส ถึงแม้ว่าจะเป็นการทดสอบในสภาวะกองปุ๋ยหมักซึ่งเป็นสภาวะที่มีการให้อากาศซึ่งจะแตกต่างจากการทดลองนี้เป็นสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด แต่พบว่าทั้งสองสภาวะให้ค่าการย่อยสลายสูงใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV เป็นพลาสติกที่สามารถถูกย่อยสลายได้ดีทั้งในสภาวะที่มีการให้อากาศและสภาวะออกซิเจนจำกัด

การศึกษาการย่อยสลาย PLA ที่แสดงให้เห็นค่าการย่อยสลายสูงมักจะทำการศึกษาทดสอบที่อุณหภูมิสูงที่ใกล้เคียงกับ glass temperature (T_g) ของ PLA เช่น Yagi et al (2009) รายงานผลว่า PLA ถูกย่อยสลายไปถึงร้อยละ 90 เมื่อฝังในตัวกลางคือตะกอนชีวภาพที่ได้จากระบบหมักแก๊สแบบ

ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic fermentation plant) ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนและควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 55 องศาเซลเซียส ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA ที่รายงานมีค่าใกล้เคียงกับค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA จากงานวิจัยในครั้งนี้ โดยมีค่าประมาณร้อยละ 90 ภายหลังจากการย่อยสลายเป็นเวลา 60 วัน จากผลการทดลองพบว่าถึงแม้ว่างานวิจัยครั้งนี้จะใช้อุณหภูมิในการฝังพลาสติกสูงกว่างานวิจัยของ Yagi et al (2009) แต่กลับให้ผลการย่อยสลายที่ต่ำกว่าเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ในตะกอนชีวภาพต่างกัน

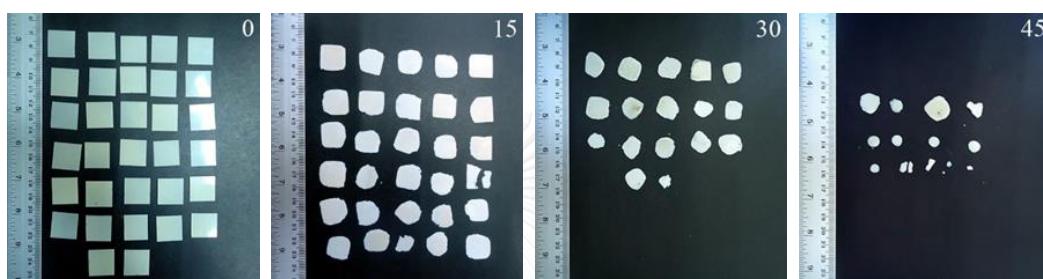
Dvorackova et al (2015) แสดงผลการย่อยสลาย PBS ที่ร้อยละ 24.8 ในเวลาทดสอบ 120 วัน ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส แตกต่างจากงานวิจัยในครั้งนี้ที่แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS ที่ 24.04 ± 3.37 ภายในระยะเวลาทดสอบ 90 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นค่าร้อยละการย่อยสลายที่เร็วกว่าอาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายสูงกว่า

PBAT เป็นพลาสติกชีวภาพที่ย่อยสลายได้น้อยที่สุดในสภาวะทดสอบ สอดคล้องกับการสรุปผลการวิจัยของ Kijchavengkul et al (2010) ที่กล่าวว่า การย่อยสลายพอลิเมอร์ที่โครงสร้างประกอบด้วยวงแหวน aromatic เช่น PBAT จะถูกย่อยสลายได้ยากกว่าพอลิเมอร์ที่เป็นโซ่ตรง

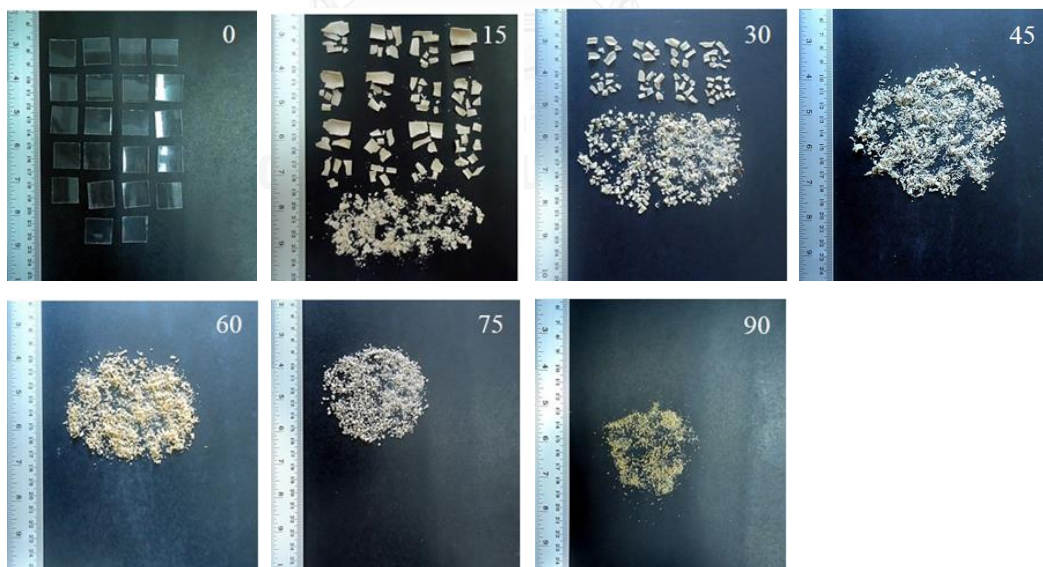
4.2.3 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ

4.2.3.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะของชิ้นพลาสติกและการเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นพลาสติกโดยใช้ตะแกรงร่อน

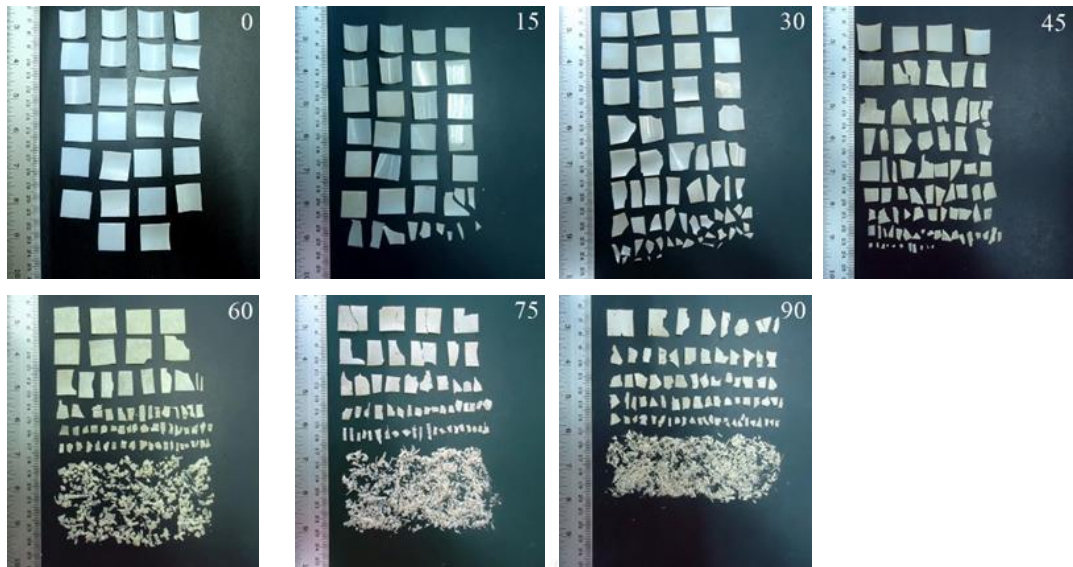
ลักษณะทางกายภาพของชิ้นพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ที่คงเหลืออยู่ในระบบหลังจากผ่านการฝังที่เวลาต่างๆ แสดงในรูปที่ 31 ถึงรูปที่ 34 เมื่อนำชิ้นพลาสติกดังกล่าวมาทำการแยกขนาดโดยใช้ตะแกรงร่อน ผลของการแยกสัดส่วนของชิ้นพลาสติกด้วยตะแกรง แสดงดังรูปที่ 35 (รายละเอียดค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรง แสดงในภาคผนวก ค.2)



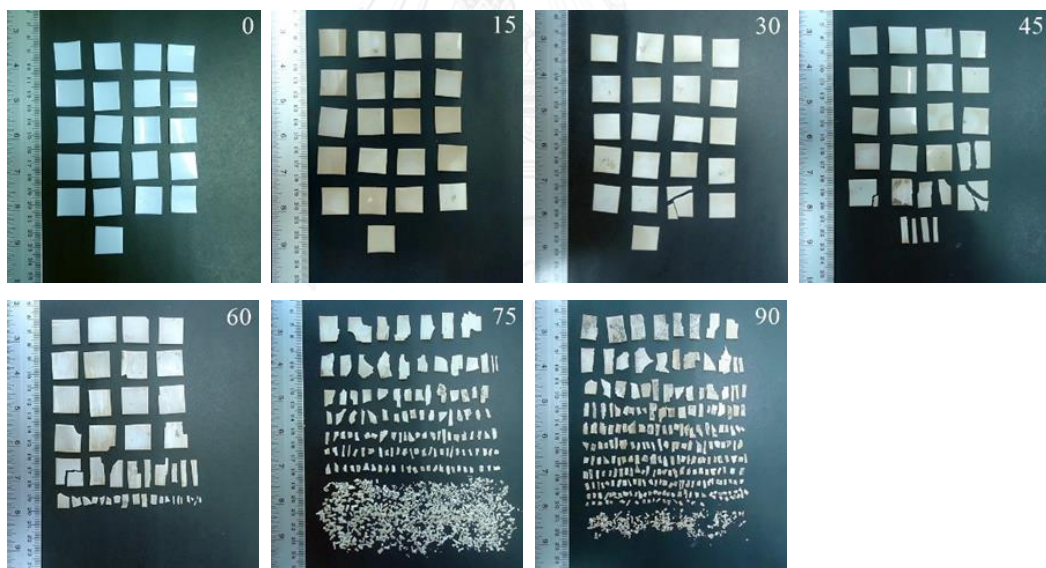
รูปที่ 31 พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 และ 45 วัน



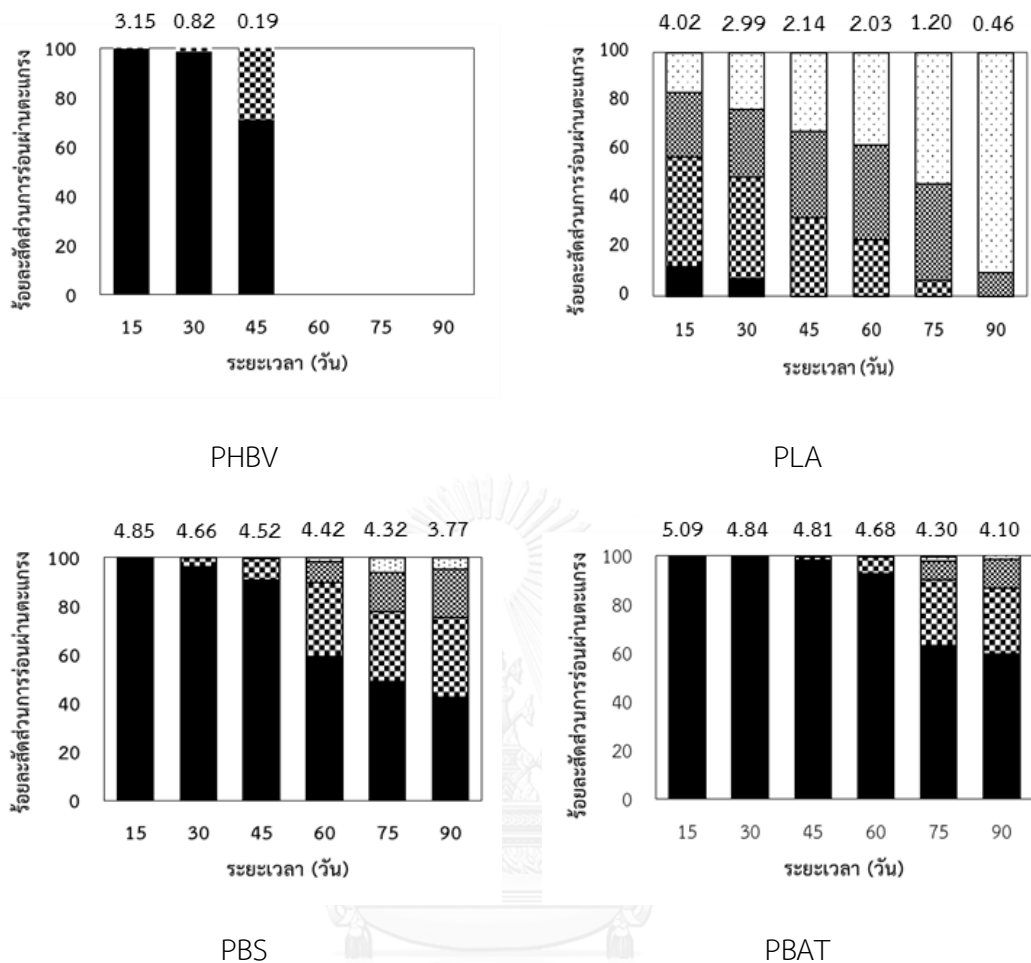
รูปที่ 32 พลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน



รูปที่ 33 พลาสติกชีวภาพชนิด PBS ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน



รูปที่ 34 พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ตัวควบคุม และที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน



■ ขนาด มากกว่า 6.73 มม.

▣ ขนาดระหว่าง 6.73- 2 มม.

▤ ขนาดระหว่าง 2 - 1 มม.

▥ ขนาดเล็กกว่า 1 มม.

หมายเหตุ: ตัวเลขที่ระบุด้านบนเป็นค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่คงเหลือหลังจากการฝัง ณ เวลาตามแนวแกน X

รูปที่ 35 ร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ ของพลาสติก 4 ชนิด

- พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV

ชิ้นพลาสติก PHBV ที่คงเหลืออยู่หลังจากผ่านการย่อยสลายที่เวลาต่างๆ พบว่าลักษณะการย่อยสลาย PHBV จะเห็นการเกิดการโค้งมนบริเวณขอบพลาสติก แสดงให้เห็นว่าพลาสติกชนิดนี้จะมีการถูกย่อยสลายจากขอบเข้าไป นอกจากนั้นชิ้นพลาสติกจะมีลักษณะที่บางลงซึ่งแสดงให้เห็นการถูกย่อยสลายบริเวณผิวหน้าของชิ้นพลาสติกร่วมด้วย (รูปที่ 31) เมื่อนำชิ้นพลาสติกที่คงเหลืออยู่มาทำการแยกสัดส่วนดังรูปที่ 35 พบว่า ทั้งในวันที่ 15 30 และ 45 ของการฝัง ชิ้นพลาสติก PHBV ที่คงเหลือส่วนใหญ่ยังคงมีขนาดใหญ่กว่า 6.73 มิลลิเมตร โดยมีสัดส่วนอยู่ร้อยละ 99.67 ± 0.29 98.61

± 1.01 และ 71.01 ± 10.77 ตามลำดับ แต่เนื่องจาก PHBV เป็นพลาสติกที่ให้ค่าร้อยละการย่อยสลายได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับพลาสติกชนิด PLA PBS และ PBAT แสดงให้เห็นว่าค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเกิดจากการย่อยสลายจากขอบและจากผิวหน้าพลาสติกทำให้ชิ้นพลาสติกมีขนาดเล็กและบางลง แต่จะไม่พบการแตกหักเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยเหมือนพลาสติกชนิด PLA

รายงานการวิจัยของ Weng et al (2011) สนับสนุนผลการทดลองที่ปรากฏดังกล่าว โดยแสดงรูปภาพชิ้นพลาสติก PHBV หลังจากการย่อยสลายซึ่งจะปรากฏให้เห็นการบางลงของชิ้นพลาสติก การเกิดการฟูกร่อนและรูขนาดเล็กและใหญ่บนชิ้นพลาสติก

- พลาสติกชีวภาพชนิด PLA

จากรูปที่ 32 พบว่าชิ้นพลาสติก PLA ตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย มีลักษณะโปร่งแสงและคงรูปเป็นสี่เหลี่ยม เมื่อผ่านการฝังเป็นเวลา 15 วัน พบว่าชิ้นพลาสติก PLA มีการเปราะและแตกหัก โดยการแตกหักของชิ้นพลาสติกจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการฝัง และจะสังเกตเห็นการแตกหักจนเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยหลังจากวันที่ 45 ของการฝังภายใต้สภาวะทดสอบ เมื่อนำมาแยกขนาดโดยคำนวณหาค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรง ดังรูปที่ 35 พบว่าในวันที่ 15 และ 30 ยังคงพบสัดส่วนของขนาดพลาสติกที่มีขนาดมากกว่า 6.73 มิลลิเมตร แต่มีส่วนอยู่แค่เพียงร้อยละ 12.16 ± 2.08 และ 7.38 ± 3.65 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าภายใต้สภาวะที่ใช้ทดสอบมีผลทำให้ PLA แตกหักออกจนมีขนาดเล็กตั้งแต่วันที่ 15 และในวันที่ 90 ของการฝังพบสัดส่วนของ PLA ที่มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตรอยู่ที่ร้อยละ 90.47 ± 3.93

ลักษณะที่แตก เปราะ เป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย จะเกิดขึ้นเมื่อทำการฝังพลาสติกที่อุณหภูมิสูงใกล้เคียงกับ glass temperature (T_g) (Copinet et al, 2004; Guralp Ozkoc & Kemaloglu, 2009; Van de Velde & Kiekens, 2002) โดยงานวิจัยในครั้งนี้ศึกษาการย่อยสลาย PLA ที่อุณหภูมิสูง 61 องศาเซลเซียส ซึ่งอยู่ในช่วงค่า T_g ของ PLA ลักษณะเปราะและแตกหัก (disintegration/fragmentation) ที่เกิดขึ้นเป็นผลเนื่องมาจากกระบวนการ hydrolysis โดยการแตกพันธะเอสเทอร์เมื่อมีการดูดซึมน้ำเข้าไปยังสายพอลิเมอร์ ส่งผลให้เกิดการแตกหักและการลดลงของน้ำหนักของพลาสติก โดยในขั้นตอนนี้ปัจจัยที่เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา คือ อุณหภูมิและความชื้น ในการทดลองนี้มีการใช้ตัวกลางในการฝังพลาสติกคือดินผสมตะกอนชีวภาพ ซึ่งการผสมตะกอนชีวภาพนั้นนอกจากจะเป็นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ลงไปในระบบแล้วยังมีส่วนในการเพิ่มความชื้นในตัวกลาง เป็นผลให้ช่วยเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้เพิ่มขึ้น (Copinet et al, 2004; Lunt, 1998; Van de Velde & Kiekens, 2002; Wang et al, 2008)

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของพลาสติก PLA สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mathew et al (2005) ที่พบการเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นพลาสติกอย่างรวดเร็ว เมื่อฝังในสภาวะกองปุ๋ยหมักที่อุณหภูมิ 58 ± 2 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ghorpade et al (2001) ที่รายงานการเปลี่ยนสีขาวสีใสกลายเป็นสีขาวขุ่นและพบการแตกหักของชิ้นพลาสติก PLA หลังจาก 15 วัน ของการฝังที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส ในกองปุ๋ยหมัก

ในทางตรงกันข้าม พลาสติก PLA จะมีความแข็งและทนทานต่อการย่อยสลายและการแตกหักเมื่อทดสอบการย่อยสลายภายใต้อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic conditions) Rudnik and Briassoulis (2011) ทดสอบการย่อยสลาย PLA ในสภาวะธรรมชาติ โดยฝังในดินแถบเมดิเตอร์เรเนียน เป็นระยะเวลา 11 เดือน ซึ่งอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดการทดสอบอยู่ที่ 16 - 21 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบพบว่า การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของ PLA เกิดขึ้นได้ช้าภายใต้สภาวะธรรมชาติ โดยเริ่มพบสัญญาณการแตกหักของ PLA หลังจาก 7 เดือนของการฝังดิน แต่พบการย่อยสลายสูงขึ้นเล็กน้อยในช่วงเดือนที่มีอุณหภูมิค่อนข้างสูง เช่นเดือนพฤษภาคม รายงานการวิจัยได้สรุปว่าปัจจัยที่ส่งเสริมการย่อยสลาย PLA โดยเร่งให้เกิดการเปราะและแตกหักของชิ้นพลาสติก คืออุณหภูมิและรากของต้นไม้ในดิน ส่วนการศึกษาโดย Wang et al (2008) ระบุว่า การแตกหักของ PLA จะเริ่มเกิดขึ้นหลังจาก 1 เดือน ของการฝังดินในสภาวะธรรมชาติ

- พลาสติกชีวภาพชนิด PBS

จากรูปที่ 33 แสดงให้เห็นว่าที่เวลา 15 และ 30 วันหลังจากการฝัง จะมีพลาสติกบางส่วนที่มีการแตกหักออก แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชิ้นพลาสติกส่วนใหญ่ยังคงรูปร่างที่เหลี่ยมดั้งเดิมอยู่ ส่งผลให้น้ำหนักมีการเปลี่ยนแปลงไปน้อยมากในช่วงแรก พลาสติก PBS แตกหักออกมากขึ้นเรื่อยๆเมื่อเพิ่มเวลาการฝังพลาสติกตั้งแต่วันที่ 60 ถึง 90 เมื่อนำชิ้นพลาสติกแต่ละช่วงเวลามาทำการแยกขนาด ดังรูปที่ 35 พบว่าวันที่ 90 ของการฝัง มีค่าร้อยละสัดส่วนของชิ้นพลาสติก PBS ที่มีขนาดใหญ่กว่า 6.73 มิลลิเมตร เท่ากับ 42.40 ± 1.96 ร้อยละสัดส่วนที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 6.73 - 2 มิลลิเมตร เท่ากับ 33.05 ± 0.14 ร้อยละสัดส่วนที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 2 - 1 มิลลิเมตร เท่ากับ 19.65 ± 2.13 และร้อยละสัดส่วนที่มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร เท่ากับ 4.90 ± 0.33

- พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT

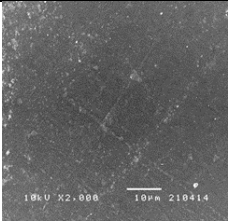
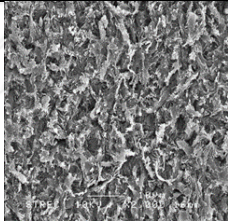
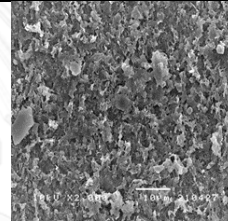
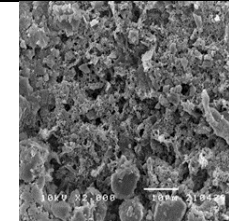
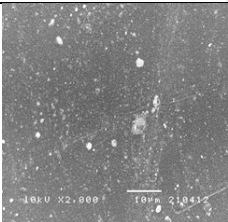
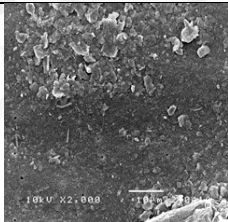
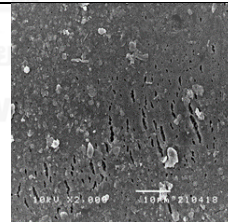
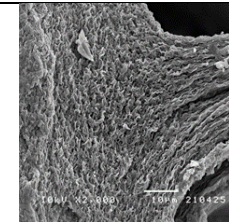
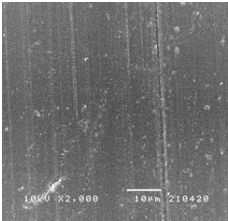
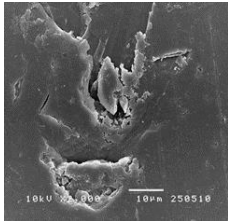
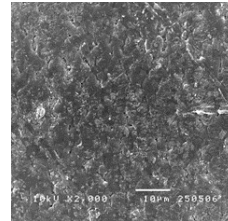
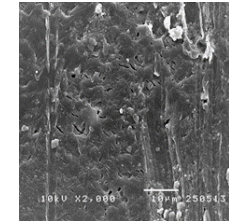
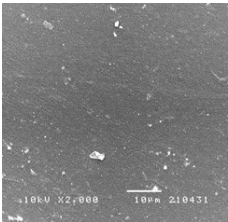
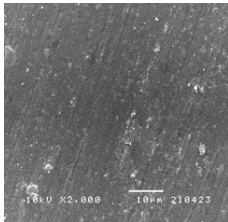
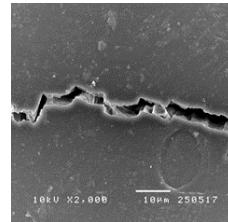
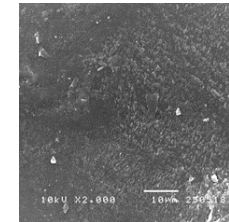
พลาสติก PBAT มีความคงทนต่อการถูกย่อยสลาย จากรูปที่ 34 พบว่าการแตกออกของชิ้นพลาสติกจะพบชัดเจนขึ้นหลังจาก 75 วัน ของการฝังพลาสติก สัดส่วนร้อยละการร่อนผ่านตะแกรงของชิ้นพลาสติก PBAT ที่คงเหลือหลังจากการฝังที่เวลา 15 และ 30 วัน ทั้งหมดยังคงมีขนาดมากกว่า 6.73 มิลลิเมตร และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการฝังพลาสติกจนถึงวันที่ 90 พบว่าร้อยละสัดส่วนชิ้น

พลาสติกที่มีขนาดมากกว่า 6.73 มิลลิเมตร มีสัดส่วนที่ลดลงอยู่ที่ร้อยละ 59.38 ± 6.97 ส่วนสัดส่วนที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 6.73 - 2 มิลลิเมตร อยู่ที่ร้อยละ 27.23 ± 11.30 และมีการปรากฏของชิ้นพลาสติกที่มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตรอยู่ประมาณร้อยละ 1.75 ± 0.75 (รูปที่ 35)

4.2.3.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของผิวพลาสติก

ยืนยันการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด หลังจากการฝังภายใต้สภาวะทดสอบ ด้วยการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 การเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด หลังจากการฝังที่เวลาต่างๆ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า

ชนิดพลาสติก	ระยะเวลาในการฝัง (วัน)			
	ตัวควบคุม	15	30	45
PHBV				
	ตัวควบคุม	30	60	90
PLA				
PBS				
PBAT				

- พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV

จากตารางที่ 16 พบว่าชิ้นพลาสติก PHBV ตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการฝังจะมีพื้นผิวที่เรียบสม่ำเสมอ ส่วนชิ้นพลาสติกที่ผ่านการฝังในวันที่ 15 30 และ 45 จะพบการฟูกร่อนของพื้นผิว จากรูปพบว่าไม่ปรากฏบริเวณที่มีความเรียบหลงเหลืออยู่เลย และในวันที่ 45 ของการฝังจะเห็นการฟูกร่อนเพิ่มมากขึ้นจากวันที่ 15 และ 30

รายงานการศึกษาที่ผ่านมาที่ทำการติดตามการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของพื้นผิวด้วยวิธี SEM ภายใต้สภาวะต่างๆ พบว่าหากสภาวะนั้นชักนำให้เกิดการย่อยสลาย PHBV แล้ว ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิว PHBV จะไปในลักษณะเดียวกัน เช่น Mabrouk and Sabry (2001) ทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย PHBV โดย *Streptomyces* sp. SNG9 และรายงานผลว่าลักษณะการฟูกร่อนและพื้นผิวที่ขรุขระขึ้นเกิดจากกิจกรรมของ *Streptomyces* sp. SNG9 ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ PHB depolymerase และผลจากเอนไซม์ทำให้พื้นผิวของ PHBV ฟูกร่อนและเกิดการย่อยสลายในที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Phukon et al (2012) ทดสอบความสามารถในการถูกย่อยสลายของ PHBV โดยบ่มพลาสติก PHBV กับแบคทีเรียและรา ผลการศึกษาพบว่าภายใน 36 วัน PHBV มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของพื้นผิว โดยพบว่าพื้นผิวมีความฟูกร่อน เกิดหลุมและโพรงบนผิว ซึ่งเกิดมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์

กระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะมีผลโดยตรงบริเวณผิวของพลาสติกในกลุ่มพอลิเอสเตอร์ โดยเฉพาะพลาสติกในกลุ่ม PHAs เมื่อจุลินทรีย์เข้าเกาะติดบริเวณผิวของพลาสติกจะส่งผลให้เกิดการย่อยสลายโดยเอนไซม์ ทำให้ผิวพลาสติกมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป โดยมีความขรุขระเพิ่มมากขึ้นและแผ่นพลาสติกจะบางลง นอกจากนั้นยังส่งผลให้เกิดการปรากฏของรูบนผิวพลาสติก ซึ่งการเกิดรูพรุนที่เพิ่มมากขึ้นยังเป็นการเร่งกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ไม่เพียงแต่บริเวณผิวของพลาสติกแต่จะไปเร่งการเกิดกระบวนการย่อยสลายภายในเนื้อพลาสติกด้วย ทำให้เกิดการขยายขนาดของรูพรุนและเกิดการฟูกร่อนเป็นรูขนาดใหญ่ การย่อยสลายที่เกิดขึ้นมักเกิดตรงตำแหน่งที่เป็นอสัณฐาน (amorphous part) ของสายพอลิเมอร์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีการเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบทำให้น้ำรวมถึงเอนไซม์จากจุลินทรีย์สามารถซึมผ่านเข้าไปได้ ในส่วนของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV พบว่าบริเวณที่เป็นอสัณฐานคือหน่วยของไฮดรอกซีวาลอเรต (HV) ที่ปรากฏตลอดสายพอลิเมอร์ (Tao et al, 2009; Weng et al, 2010)

การศึกษาที่สนับสนุนข้อสรุปนี้ได้เป็นอย่างดีคือการศึกษาของ Weng et al (2011) ที่ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพที่มีสัดส่วนของเปอร์เซ็นต์โมลของ HV ที่แตกต่างกันออกไป โดยผล

การศึกษาพบว่าร้อยละการย่อยสลายของ PHBV ที่มีสัดส่วนเปอร์เซ็นต์โมลของ HV ที่ 40% จะเกิดได้มากกว่า PHBV ที่มีสัดส่วนเปอร์เซ็นต์โมลของ HV ที่ 20% ทั้งนี้ทั้งนี้การย่อยสลายของ PHBV จะเกิดได้ดีกว่าการย่อยสลายพลาสติกชนิด PHB เนื่องจากการปรากฏของหน่วย HV จะเป็นการเพิ่มสัดส่วนของอสัณฐานและลดส่วนที่เป็นผลึก (crystalline part)

- พลาสติกชีวภาพชนิด PLA

ชิ้นพลาสติก PLA ตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการฝัง มีพื้นผิวที่เรียบสม่ำเสมอ ในขณะที่เมื่อผ่านการฝังเป็นเวลา 30 วัน จะพบว่าพื้นผิวมีความขรุขระมากขึ้นและเกิดเป็นรูขนาดเล็ก และเมื่อเพิ่มการฝังถึงเวลา 60 วัน จะพบรอยแตกจำนวนมากบนผิวพลาสติก และภายหลังจาก 90 วัน ของการฝังพลาสติก PLA ในสภาวะทดสอบ พบว่าผิวของพลาสติกมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยพื้นผิวมีลักษณะขรุขระและมีความนุ่ม (ตารางที่ 16) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวกับลักษณะที่แตกหักออกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย พบว่าเกิดการแตกหักของ PLA ตั้งแต่ วันที่ 15 (รูปที่ 32) ในขณะที่พบการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวอย่างชัดเจนในวันที่ 60 ผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่ารูปแบบการย่อยสลายพลาสติก PLA จะเริ่มจากการแตกหักออกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย ก่อนที่จะเกิดการย่อยสลายบริเวณผิว

Arrieta et al (2014) พบรอยแตกบนผิวของ PLA หลังจากการฝังในสภาวะปุ๋ยหมัก เป็นเวลา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 58 ± 2 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ Petinakis et al (2010) ที่ศึกษาการย่อยสลาย PLA ภายใต้สภาวะปุ๋ยหมัก โดยพบการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวที่มีความขรุขระขึ้น และได้ให้ข้อสรุปว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากกระบวนการ hydrolysis และเมื่อมีรอยแตกบริเวณผิวมีส่วนช่วยในการเกาะติดของจุลินทรีย์ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถเข้าไปย่อยสลายพลาสติก PLA ได้มากขึ้น ในขณะที่ การย่อยสลาย PLA ที่อุณหภูมิปานกลาง เช่น อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ไม่สามารถชักนำให้เกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสได้ ทำให้พลาสติกยังคงรูปและไม่มีการแตกหักหรือเกิดรอยแตกบริเวณผิว ส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าไปเกาะและย่อยสลายชิ้นพลาสติกได้ จึงไม่พบการย่อยสลายหรือน้ำหนักที่หายไปของพลาสติก (Karamanlioglu et al, 2014)

- พลาสติกชีวภาพชนิด PBS

การเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวของพลาสติกชนิดที่กำลังขยาย 2,000 เท่า แสดงในตารางที่ 16 พบว่าวันที่ 15 ของการฝังพลาสติก พื้นผิวของพลาสติกยังคงมีความเรียบและไม่พบการเปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อเทียบกับตัวควบคุม แต่จะเห็นความเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวเล็กน้อยหลังจาก 30 วัน ของการฝัง โดยจะพบว่าพื้นผิวมีความขรุขระและเกิดรูขนาดเล็กบนผิวพลาสติก และความขรุขระจะพบเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 90 ของการฝัง รวมถึงพบรอยแตกจำนวนหนึ่งบนผิวพลาสติก เมื่อ

เปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวของพลาสติก PBS กับพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV และ PLA พบการเปลี่ยนแปลงของ PBS เกิดขึ้นได้น้อยกว่า แสดงให้เห็นว่าภายใต้สภาวะทดสอบพลาสติกชนิด PBS จะถูกย่อยสลายได้น้อยกว่า PHBV และ PLA

รายงานการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวของ PBS ด้วยวิธี SEM ยังมีจำนวนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของพลาสติก PHBV และ PLA การศึกษาที่แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวของ PBS หลังการย่อยสลาย คือ Kim et al (2006) ศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PBS โดยการฝังดินตามธรรมชาติเปรียบเทียบกับฝังในสภาวะปุ๋ยหมักที่มีการควบคุมการให้อากาศ (aerobic conditions) และอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 80 วัน พบว่าในสภาวะการฝังดินตามธรรมชาติ จะปรากฏหลุมขนาดใหญ่บนผิวของพลาสติก ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าการย่อยสลาย PBS เกิดขึ้นที่ผิวซึ่งเป็นส่วนที่จุลินทรีย์จะเข้าไปเกาะ ส่วนการย่อยสลาย PBS ภายใต้การทดสอบในสภาวะปุ๋ยหมัก จะพบหลุมและรอยแตกบนผิวพลาสติกจำนวนมากว่าการฝังในดินตามธรรมชาติ แสดงให้เห็นว่าการฝังในสภาวะปุ๋ยหมักจะชักนำให้เกิดการย่อยสลายได้ดีกว่าตามธรรมชาติเนื่องมาจากจำนวนจุลินทรีย์ที่มีมากกว่ารวมถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายสูงกว่า

Phua et al (2012) รายงานผลการเปลี่ยนแปลงของพลาสติก PBS จากการส่องด้วย SEM พบความขรุขระและเกิดการผุกร่อนบนผิวพลาสติก PBS ภายใต้การทดสอบในกองปุ๋ยหมักตามธรรมชาติ

- พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT

จากตารางที่ 16 พบว่า พลาสติก PBAT มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของพื้นผิวน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการย่อยสลาย โดยไม่พบรอยแตก การผุกร่อนหรือรูพรุนบนผิวพลาสติก มีเพียงวันที่ 75 และ 90 เท่านั้นที่เห็นลักษณะพื้นผิวที่ขรุขระขึ้นเล็กน้อย ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ถึงแม้ในวันที่ 75 และ 90 ของการฝัง พลาสติก PBAT จะมีการแตกหักและมีขนาดเล็กลง แต่ส่งผลน้อยมากต่อการเปลี่ยนแปลงบนผิวของพลาสติก

ผลของการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ (Kijchavengkul et al, 2010) ที่ศึกษาการย่อยสลาย PBAT โดยการฝังดินภายใต้สภาวะธรรมชาติ พบว่าชิ้นพลาสติกเริ่มมีการผุกร่อนและเกิดการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวหลังจากสัปดาห์ที่ 20 ของการฝัง ในทางตรงกันข้าม Kasuya et al (2009) ศึกษาการย่อยสลาย PBAT โดยการบ่มพลาสติก PBAT กับราสายพันธุ์ *Isaria fumosorosea* NKCM1712 ที่มีความสามารถในการย่อยสลาย PBAT ในสภาวะให้อากาศ (aerobic conditions) พบว่าพื้นผิวของพลาสติก PBAT มีการเปลี่ยนแปลงไป โดยเริ่มเกิดรอยแตกบนผิวหลังจากการบ่มเป็นเวลา 5 วัน และพบว่าพื้นผิวมีความขรุขระเพิ่มมากขึ้นและไม่พบพื้นผิวที่มีความ

เรียบหลงเหลืออยู่เลยหลังจากการบ่มเป็นเวลา 10 วัน และความขรุขระของผิวพลาสติกจะพบเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 30 อาจเนื่องมาจากพลาสติก PBAT จะถูกย่อยสลายได้ดีในสภาวะที่มีการให้อากาศซึ่งจะส่งเสริมให้จุลินทรีย์ในกลุ่มราเจริญได้ดี ในทางตรงกันข้ามในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดหรือสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จุลินทรีย์ในกลุ่มรา ซึ่งมีบทบาทในการย่อยสลาย PBAT จะเจริญเติบโตได้ไม่ดี ส่งผลให้การย่อยสลายเกิดได้ไม่ดีด้วยเช่นกัน

4.2.4 การเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพทางความร้อนของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด

เสถียรภาพของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด เมื่อได้รับความร้อน (Thermal Stability) ภายใต้ก๊าซไนโตรเจน จากอุณหภูมิ 28 – 600 องศาเซลเซียส ของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ก่อนการฝังและหลังจากผ่านการฝังที่สภาวะทดสอบ ถูกแสดงผลในรูปแบบเทอร์โมแกรม (TGA) ระหว่างร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียกับอุณหภูมิ ดังรูปที่ 36 ถึงรูปที่ 39 และผลของอุณหภูมิที่เริ่มเกิดการสลายตัวและเกิดการสลายตัวจนสมบูรณ์พลาสติกทั้ง 4 ชนิด ในแต่ละช่วงเวลาของการฝัง ดังตารางที่ 17

จากผลการทดสอบพบว่าการรูปแบบการสลายตัวของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด เกิด 1 ช่วงเนื่องจากพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ที่นำมาทดสอบเป็นพลาสติกบริสุทธิ์ เมื่อเปรียบเทียบพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ก่อนการฝัง (ตัวควบคุม) พบว่าพลาสติกที่จะสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนได้ง่ายที่สุดคือพลาสติกชนิด PHBV โดยมีช่วงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกตัวควบคุม อยู่ที่ 265.9 – 283.0 องศาเซลเซียส เมื่อผ่านการฝังเป็นเวลา 45 วัน พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายตัวลดลง อยู่ในช่วง 256.7 – 278.4 องศาเซลเซียส ลักษณะการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพทางความร้อนของพลาสติก PHBV ในการทดลองครั้งนี้มีแนวโน้มเป็นไปในทางเดียวกับการศึกษาของ Weng et al (2011) ที่ทดสอบการย่อยสลาย PHBV-40 พบว่าช่วงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกตัวควบคุม คือ 247 – 268 องศาเซลเซียส และลดลงเหลือ 240 – 254 องศาเซลเซียส หลังผ่านการย่อยสลายในกองปุ๋ยหมักเป็นเวลา 30 วัน

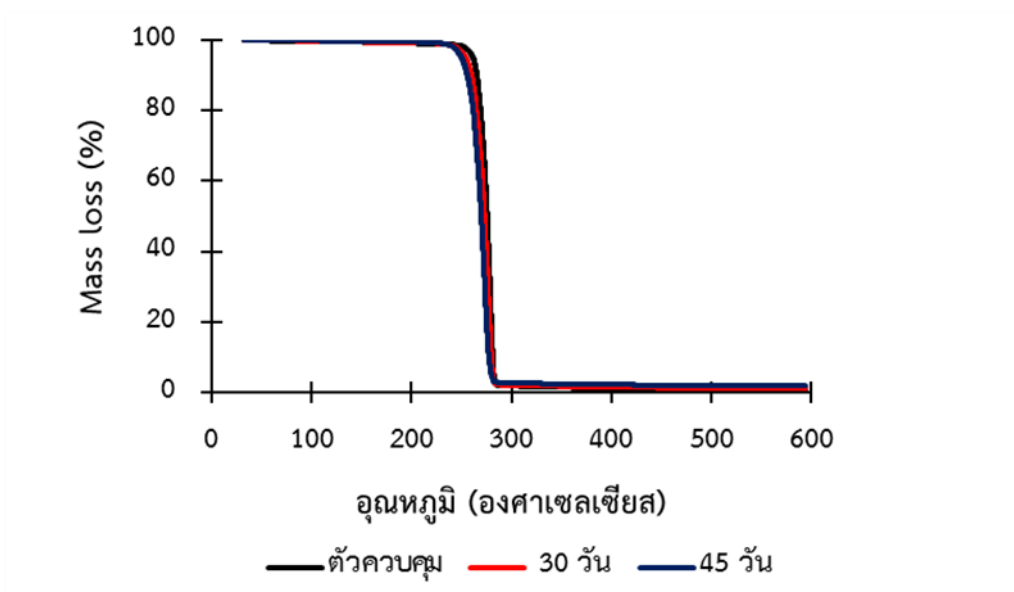
พลาสติกชนิด PLA มีการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเมื่อได้รับความร้อนสูงที่สุดเมื่อทำการเปรียบเทียบกับพลาสติกอีก 3 ชนิด โดยพบว่า PLA ตัวควบคุม มีช่วงอุณหภูมิการสลายตัวอยู่ที่ 354.4 - 387.8 องศาเซลเซียส และพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายตัวจะลดต่ำลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อผ่านการฝังในวันที่ 30 โดยช่วงอุณหภูมิการสลายตัวอยู่ในช่วง 256.3 – 299.3 องศาเซลเซียส และเมื่อผ่านการฝังจนถึงวันที่ 90 พบว่าช่วงอุณหภูมิการสลายตัวของ PLA จะลดต่ำลงถึง 242 – 289.2 องศาเซลเซียส ในส่วนของพลาสติกชนิด PBS ก็พบว่าช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายตัวค่อยๆลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการฝัง โดยเริ่มต้น PBS ตัวควบคุม มีช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายตัวอยู่ที่ 376.8 – 425.2 องศาเซลเซียส และลดลงที่ 366.4 – 424.8 องศาเซลเซียส หลังจากการฝัง 90 วัน

ส่วนพลาสติกที่มีการสลายตัวได้ยากที่สุดคือพลาสติกชนิด PBAT ซึ่งมีช่วงอุณหภูมิการสลายตัวที่ 388.6 - 432.1 องศาเซลเซียส และมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อผ่านการฝังที่ 90 วัน (383.8 – 427.9 องศาเซลเซียส) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Weng et al (2013) พบว่าพลาสติก PBAT มีการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเพียงเล็กน้อยถึงแม้จะมีการฝังในดินเป็นเวลา 4 เดือน

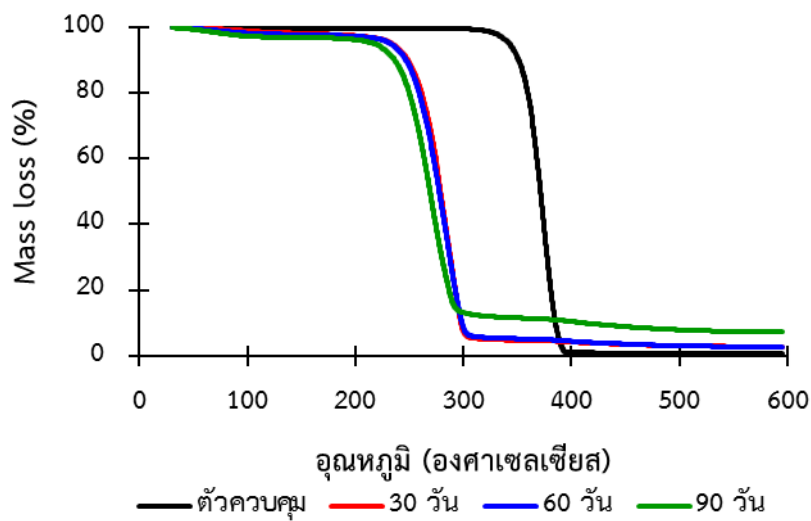
จากผลการทดสอบจะเห็นได้ว่า เมื่อผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบพบว่าพลาสติกทั้ง 4 ชนิด มีความเสถียรต่ออุณหภูมิลดลงโดยพบว่ามีค่าของช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายตัวลดลง แสดงให้เห็นว่าพลาสติกจะถูกสลายตัวได้ง่ายขึ้น

ตารางที่ 17 รูปแบบค่าความเสถียรของพลาสติกชีวภาพ ทั้ง 4 ชนิด หลังจากการฝังที่เวลาต่างๆ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง TGA

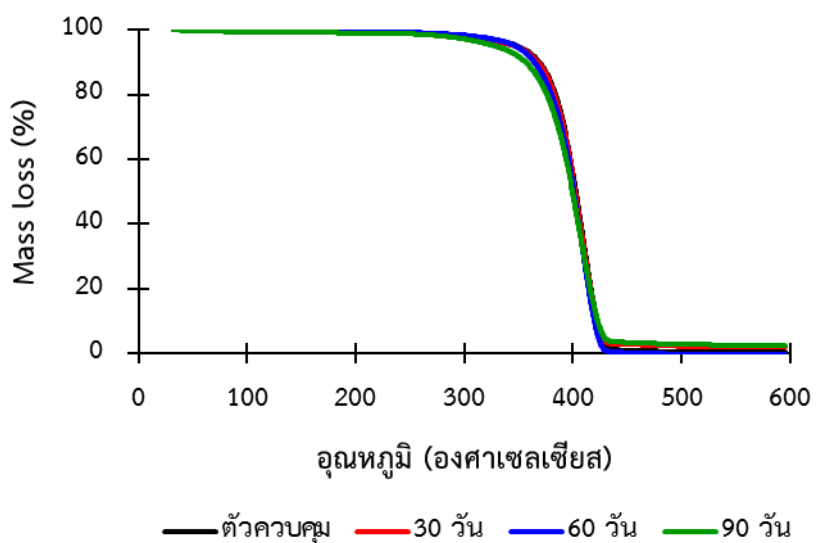
ชนิดพลาสติก	ระยะเวลาหลังจากการฝังที่เวลาต่างๆ (วัน)	อุณหภูมิเริ่มสลายตัว (onset) (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิสลายตัว (decomposition) (องศาเซลเซียส)
PHBV	ตัวควบคุม	265.9	283.0
	30	266.0	281.0
	45	256.7	278.4
PLA	ตัวควบคุม	354.4	387.8
	30	256.3	299.3
	60	252.1	299.3
	90	242.0	289.2
PBS	ตัวควบคุม	376.8	425.2
	30	375.1	424.0
	60	373.8	423.6
	90	366.4	424.8
PBAT	ตัวควบคุม	388.6	432.1
	30	386.2	431.0
	60	385.2	428.8
	90	383.8	427.9



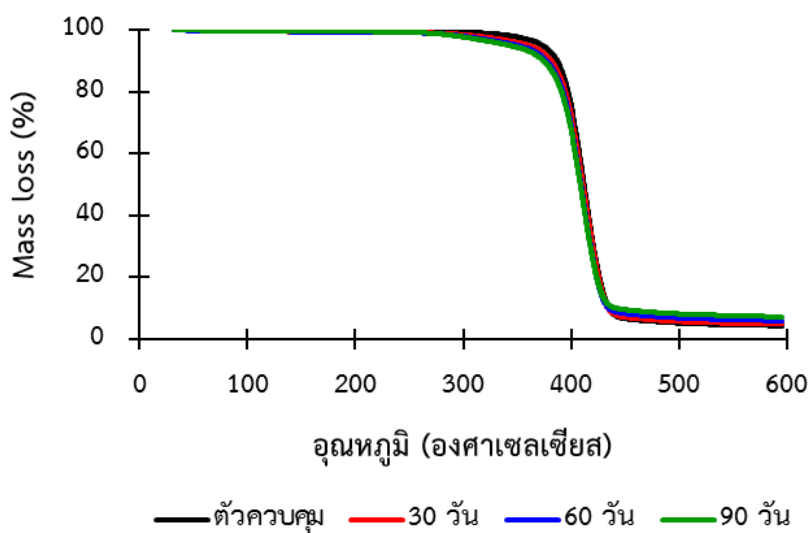
รูปที่ 36 เทอร์โมแกรม (TGA) แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ตัวควบคุม และผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 และ 45 วัน



รูปที่ 37 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุม และผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 45 และ 90 วัน



รูปที่ 38 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ควบคุม และผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 45 และ 90 วัน



รูปที่ 39 เทอร์โมแกรม TGA แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ควบคุม และผ่านการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 30 45 และ 90 วัน

4.2.5 การเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของ ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน (C H O)

พลาสติกตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการฝังและขึ้นพลาสติกที่คงเหลือในระบบหลังจากการฝัง ถูกนำมาวิเคราะห์สัดส่วนธาตุ C H O ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 สัดส่วนธาตุ C H O ของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ก่อนและหลังการฝังที่สภาวะทดสอบ

ชนิดพลาสติก	ระยะเวลาการฝัง (วัน)	สัดส่วนธาตุ คาร์บอน ต่อ ไฮโดรเจน ต่อ ออกซิเจน		
		%คาร์บอน	%ไฮโดรเจน	%ออกซิเจน
PHBV	ตัวควบคุม	55.31	7.06	37.10
	15	54.62	6.94	37.91
	30	54.28	6.91	38.35
	45	54.03	6.88	38.55
PLA	ตัวควบคุม	49.46	5.54	45.00
	30	46.33	5.54	48.13
	60	46.35	5.54	48.11
	90	45.42	5.44	49.04
PBS	ตัวควบคุม	54.92	6.93	38.14
	30	54.33	6.95	38.71
	60	54.21	6.98	38.80
	90	53.93	6.92	39.15
PBAT	ตัวควบคุม	61.91	6.75	31.17
	30	60.74	6.66	32.44
	60	60.99	6.65	32.20
	90	60.83	6.56	32.40

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา มีเพียงงานวิจัยของ Weng et al (2013) ที่ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ โดยพิจารณาผลจากการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของธาตุคาร์บอน ต่อ ไฮโดรเจน ต่อ ออกซิเจน (%C : %H : %O) โดยทำการศึกษาการย่อยสลายพลาสติกชนิด PLA พบว่าพลาสติกชีวภาพตัวควบคุมมีค่า %C : %H : %O ที่ 50.0% : 5.6% : 44.4% และเมื่อผ่านการทดสอบการย่อยสลายโดยการฝังดินลึก 20 เซนติเมตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสัดส่วน %C : %H :

%O เปลี่ยนแปลงไปที่ 47.4% : 6.5% : 46.1% การลดลงของเปอร์เซ็นต์ของธาตุคาร์บอน และการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ธาตุออกซิเจน แสดงให้เห็นว่าพลาสติกถูกย่อยสลายไป การทดลองของ Weng et al (2013) สอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ โดยในส่วนของพลาสติก PLA พบว่า มีค่าการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของเปอร์เซ็นต์คาร์บอนจากเริ่มต้นที่ 49.46% ลงลงไปที่ 45.42% และพบสัดส่วนของเปอร์เซ็นต์ออกซิเจนเพิ่มจากค่าเริ่มต้นที่ 45.00% เป็น 49.04% หลังจากการฝังภายใต้สภาวะทดสอบเป็นเวลา 90 วัน

พลาสติก PHBV ถึงแม้จะเป็นพลาสติกที่มีผลการย่อยสลายสูงที่สุด แต่สัดส่วนของธาตุ C:H:O ในโครงสร้างโมเลกุลของชิ้นพลาสติกที่คงเหลือในระบบพบการเปลี่ยนแปลงไม่มากเท่ากับพลาสติก PLA โดยพบลดลงของเปอร์เซ็นต์คาร์บอนจากค่าเริ่มต้นที่ 55.31% ลดลงเหลือ 54.62% 54.28% และ 54.03% และมีค่าการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ออกซิเจนจากค่าเริ่มต้นที่ 37.10% เพิ่มขึ้นเป็น 37.91% 38.35% และ 38.55% หลังจากผ่านการฝังที่ 15 30 และ 45 วัน ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกชนิด PHBV และ PLA แล้ว พบว่า พลาสติกชนิด PBS และ PBAT มีค่าการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์คาร์บอนน้อยกว่า สอดคล้องกับการทดสอบการย่อยสลายภายใต้สภาวะทดสอบที่ให้ค่าการย่อยสลายต่ำกว่าพลาสติกชนิด PHBV และ PLA โดยเริ่มต้นพลาสติกชนิด PBS มีค่าเปอร์เซ็นต์คาร์บอนที่ 54.92% ลดลงเหลือ 53.93% หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 90 วัน ส่วนพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT มีค่าเปอร์เซ็นต์คาร์บอนเริ่มต้นที่ 61.91% ลดลงเหลือ 60.83% หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ

4.2.6 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของพลาสติก

กราฟอินฟราเรดสเปกตรัม ที่ได้จากเครื่อง Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแตนซ์ (% transmittance) กับค่าเวฟนัมเบอร์ (wavenumber cm^{-1}) ในช่วง $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ ถูกนำมาใช้ในการศึกษาหมู่ฟังก์ชันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด โดยตารางที่ 19 สรุปรายงานการศึกษาที่ผ่านมาที่แสดงหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ และตำแหน่งเวฟนัมเบอร์ ของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด

ตารางที่ 19 ค่าเวฟนัมเบอร์ของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด

ชนิดพลาสติก	Wavenumber cm^{-1}	หมู่ฟังก์ชัน	อ้างอิง
PHBV	3428–3440	O–H stretching	(Chaw su thwin, 2004)
	2931–2937	C–H stretching	
	1718–1741	C=O stretching	
	1060–1186	O–C–O stretching	
	3737–3675	O–H stretching	(Weng et al, 2010)
	3436–2973	C–H stretching	
	1748–1716	C=O stretching	
	1456–1274	C–H ของ CH_3	
	1018–1009	C–O และ C–C skeletal vibration	
	895–667	C–H out-of-plane bending vibration	
	PLA	3200–3600	
2800–3000		symmetric stretching CH groups	
1720		C=O stretching	
1050–1250		C–O ของ carboxy groups และ O–C–O stretching	
1630		H–O–H bending vibration	
1450		C–H ของ CH_3	

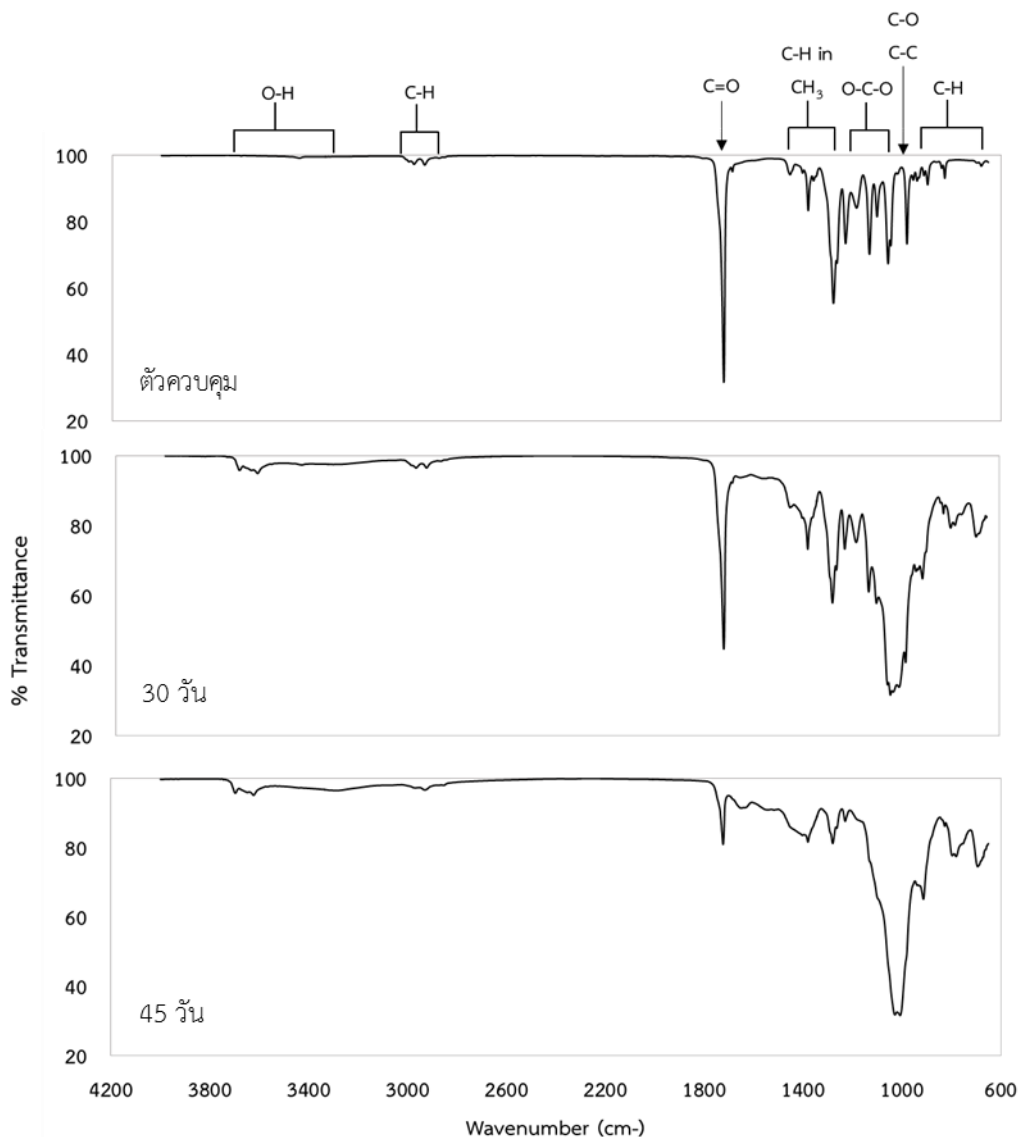
ตารางที่ 19 ค่าเวฟนัมเบอร์ของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด
(ต่อ)

ชนิดพลาสติก	Wavenumber cm^{-1}	หมู่ฟังก์ชัน	อ้างอิง
PLA	1750	C=O stretching	(Arrieta et al, 2014)
	1600	formation of carboxylate ions	
	1450	C-H ของ CH_3	
	1180	C-O stretching	
	866	amorphous phases	
	756	crystalline phases	
	1745	C=O stretching	
	1300-1500	C-H ของ CH_3	(Pamuła et al, 2001)
	1050-1250	C-O ของ carboxy groups และ C-O-C stretching	
	1180	C-O stretching	
PBS	1670-1725	C=O stretching	(Peng Zhao et al, 2010)
	1100-1300	C-O-C	
	3500	chain-end hydroxyl groups of PBS	(Dongkuan Fan et al, 2011)
	2958	C-H stretching ของ CH_2	
	1712.51	ester carbonyl groups	

ตารางที่ 19 ค่าเวฟนัมเบอร์ของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด (ต่อ)

ชนิดพลาสติก	Wavenumber cm^{-1}	หมู่ฟังก์ชัน	อ้างอิง
PBAT	3000	C-H stretching ใน aliphatic and aromatic portions	(Al-ltry et al, 2012)
	1710	Carbonyl groups (C=O) ใน the ester linkage	
	720	Four or more adjacent methylene (-CH ₂ -) groups	
	700-900	Bending peaks of the benzene	
	1717	C=O	(Weng et al, 2013)
	1409 และ 1395	CH ₂ -plane bending vibration	
	1271	C-O stretching	
	1019	the bending vibration absorption at the surface of adjacent hydrogen atoms on the phenyl ring	
	1104	C-O left-right symmetric stretching vibration absorption	

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงผลการเปรียบเทียบลักษณะกราฟอินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ทั้งตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการย่อยสลายและหลังจากผ่านการย่อยสลายที่สภาวะทดสอบ ดังแสดงในรูปที่ 40 ถึงรูปที่ 41 และรายละเอียดตำแหน่งค่าเวฟนัมเบอร์ (cm^{-1}) ของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด แสดงในภาคผนวก ง



รูปที่ 40 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ตัวควบคุม และหลังการฝัง เป็นเวลา 30 และ 45 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ

รูปที่ 40 แสดงกราฟอินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV เปรียบเทียบระหว่างตัวควบคุมที่ไม่ผ่านการฝัง และที่ผ่านการฝังเป็นเวลา 30 และ 45 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของพีคการดูดกลืนรังสีอย่างเห็นได้ชัดเจน แสดงให้เห็นว่าเมื่อผ่านการย่อยสลาย PHBV จะมีการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุล โดยการเปลี่ยนแปลงลักษณะที่สำคัญคือพีคที่แสดงตำแหน่งสเตรชชิง (stretching) ของหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ตำแหน่งเวฟนัมเบอร์ที่ 1721.61 cm^{-1} ของพลาสติก PHBV ตัวควบคุม และ 1722.55 และ 1723.48 cm^{-1} และเมื่อผ่านการฝังเป็นเวลา 30 และ 45 วัน ตามลำดับ โดยพบว่าลักษณะของพีคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดลดสั้นลง เมื่อผ่านเวลาใน

การฝังที่มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลาย PHBV เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งพันธะ C=O และพบการสะสมของพีคที่แสดง stretching ของหมู่ฟังก์ชัน O-H ซึ่งไม่พบพีคของการดูดกลืนรังสีที่ตำแหน่งนี้ในตัวควบคุม แต่จะปรากฏแถบเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 30 และ 45 วัน โดยมีค่าเวฟนัมเบอร์อยู่ในช่วง 3623.39-3697.58 และ 3622.86-3697.03 cm^{-1} ตามลำดับ

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chaw su thwin (2004) และ Kuntanoo K. et al (2013) ที่พบการลดลงของพีค C=O ของพลาสติก PHBV หลังผ่านการทดสอบการย่อยสลาย โดยการเปลี่ยนแปลงลักษณะหมู่ฟังก์ชันของ 2 ตำแหน่งนี้อาจเป็นผลมาจากการเกิดกระบวนการ hydrolysis ที่พันธะเอสเทอร์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของพีคของพันธะ C=O และเกิดการสะสมของหมู่ O-H เพิ่มขึ้น

นอกจากนั้นหลังการฝังเป็นเวลา 30 และ 45 วัน ยังพบการเปลี่ยนแปลงของพีคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในตำแหน่งที่แสดงพันธะ C-H ใน CH_3 โดยมีลักษณะของรูปร่างพีคที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก PHBV ถูกย่อยสลายที่ตำแหน่งนี้ร่วมด้วย และพีคที่แสดงตำแหน่งพันธะ C-O และ C-C ที่เป็นพันธะหลักของสายพอลิเมอร์ PHBV รวมทั้งพีคที่แสดงพันธะ O-C-O มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปด้วยเช่นกัน โดยพีคของตัวควบคุมจะมีรูปร่างที่แคบ (sharp) ส่วนพีคที่พบหลังการย่อยสลายจะมีลักษณะที่กว้าง (broad) ลักษณะที่เปลี่ยนไปของพีคหลังการย่อยสลายเช่นนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกับพีคที่พบโดย Chaw su thwin (2004)

อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุม และหลังการฝังเป็นเวลา 30 วัน และ 60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ ดังรูปที่ 41 พบว่าหลังจากผ่านการฝัง พีคของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดมีการเปลี่ยนแปลงไปบางส่วน การเปลี่ยนแปลงของพีคที่คาดว่าจะเกิดจากผลจากการถูกย่อยสลาย คือตำแหน่งพีคที่แสดงพันธะ C-O และ C-O-C ซึ่งมีตำแหน่งเวฟนัมเบอร์อยู่ในช่วง $1045 - 1266 \text{ cm}^{-1}$ แสดงให้เห็นรูปร่างของพีคที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบระหว่างพีคตัวควบคุม และพบว่าพีคที่ตำแหน่ง 1266 cm^{-1} ที่พบในตัวควบคุมหายไปหลังจากผ่านการย่อยสลาย แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายเกิดขึ้นที่พันธะ C-O และ C-O-C นอกจากนั้นยังพบการสะสมเพิ่มขึ้น และลดลงของพีคที่ตำแหน่ง หมู่ฟังก์ชัน O-H ในบางช่วงเวลาระหว่างกระบวนการย่อยสลาย ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการไฮโดรไลซิสที่พันธะเอสเทอร์ด้วย

สอดคล้องกับการรายงานผลของ Al-Itly et al (2012) ที่ระบุว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของพันธะ C-O ซึ่งเป็นผลมาจากเกิดการตัดพันธะเอสเทอร์ จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

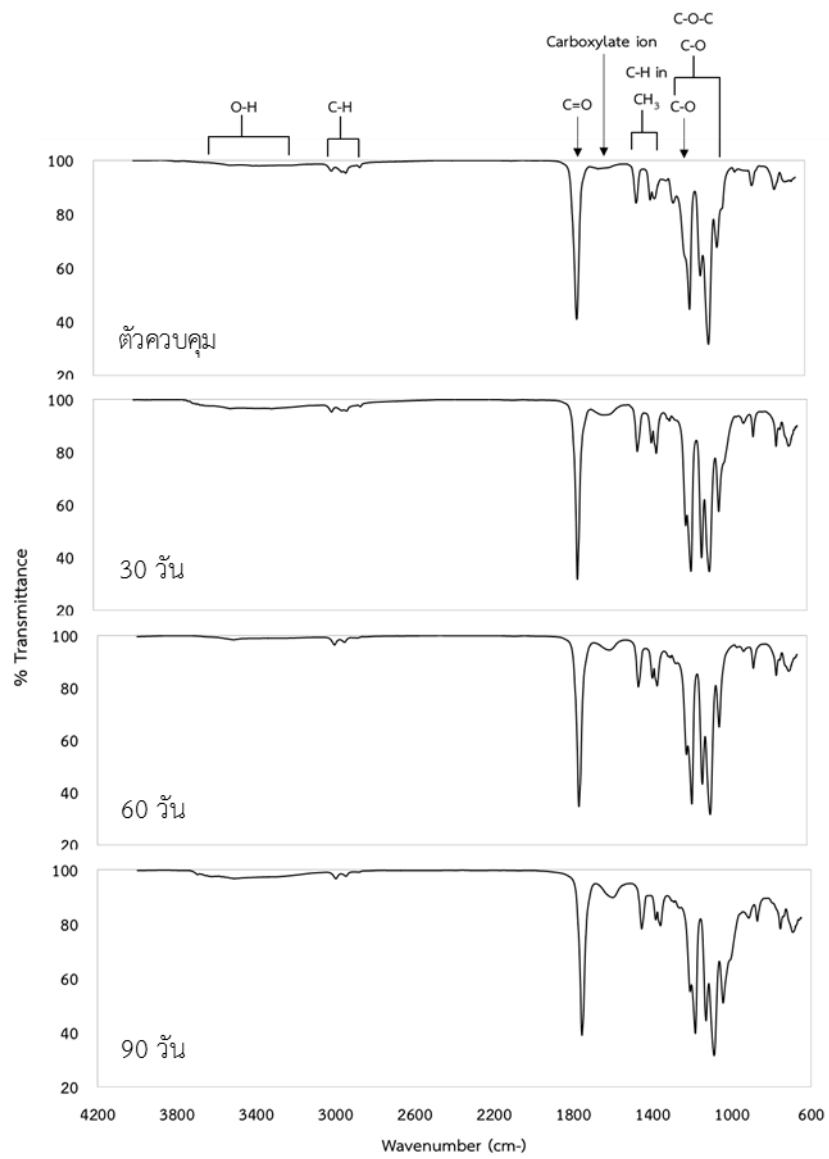
กราฟอินฟราเรดสเปกตรัมยังแสดงการเปลี่ยนแปลงของพีคซึ่งแสดงการสะสมของคาร์บอกซิเลท ไอออน (carboxylate ion) บริเวณค่าเวฟนัมเบอร์ $1602 - 1645 \text{ cm}^{-1}$ ที่เพิ่มมากขึ้น

เมื่อเพิ่มเวลาการย่อยสลาย โดย Arrieta et al (2014) ระบุว่าน่าจะมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เข้าไปย่อยสลายกรดแลคติก และโพลิโกเมอร์ของ PLA แล้วเหลือส่วนที่เป็นคาร์บอกซิเลท ไอออนไว้บนผิวของชิ้นพลาสติก

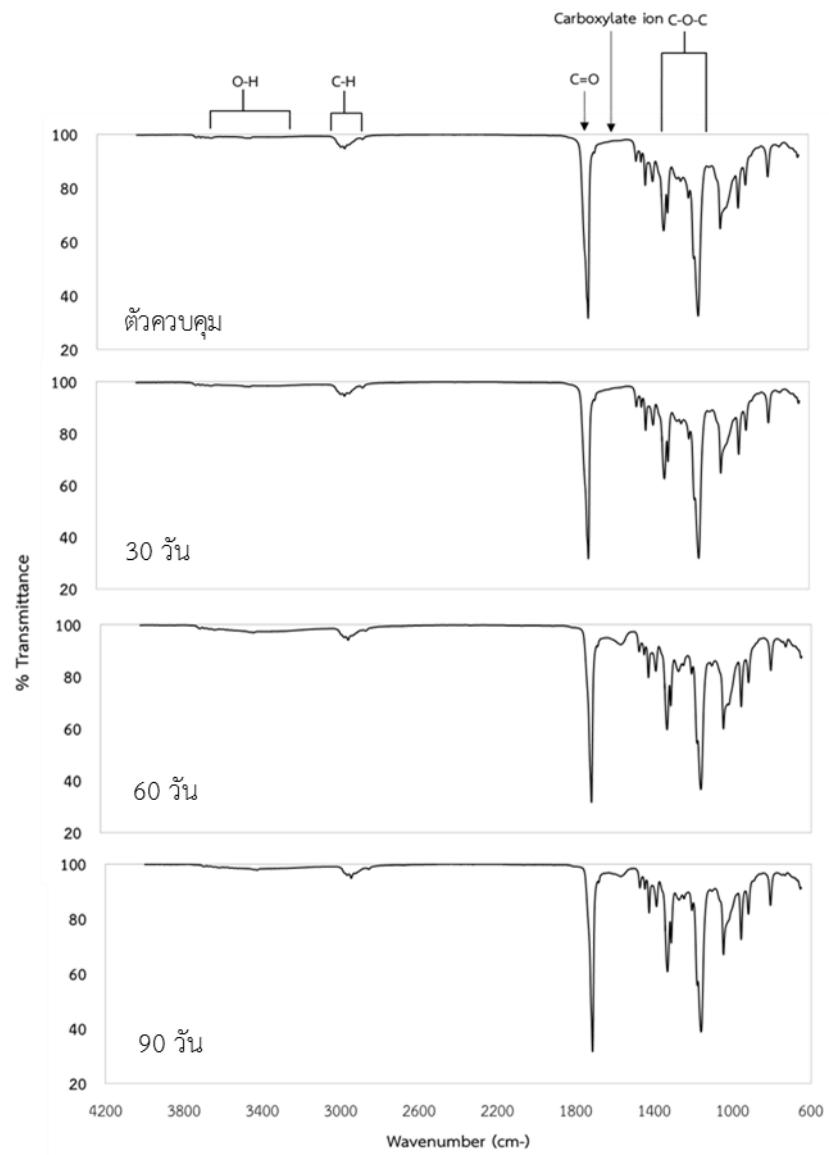
ในส่วนของอินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS (รูปที่ 42) พบว่าโดยภาพรวมมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของกราฟไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับกราฟอินฟราเรดสเปกตรัมของตัวควบคุมและหลังจากผ่านการฝังที่เวลาต่างๆ แต่พบความเข้มของสัญญาณที่ลดลงของพีคพันธะ C-O-C และพบการสะสมของ carboxylate ion หลังจากวันที่ 60 ของการฝัง ซึ่งคาดว่าจะเป็ผลมาจากกระบวนการไฮโดรไลซิส

Kim et al (2006) ศึกษาการย่อยสลาย PBS ในกองปุ๋ยหมัก โดยดูการเปลี่ยนแปลงพีคของกราฟอินฟราเรดสเปกตรัมพบว่าหลังการย่อยสลายเป็นเวลา 30 และ 60 วัน พีคของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดมีสัญญาณที่ลดลงทั้งบริเวณที่แสดงพันธะ C-C-O ($1228-1264\text{ cm}^{-1}$) แสดงให้เห็นว่า PBS ถูกย่อยสลายได้ดีในสภาวะปุ๋ยหมัก โดยเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสที่พันธะเหล่านี้

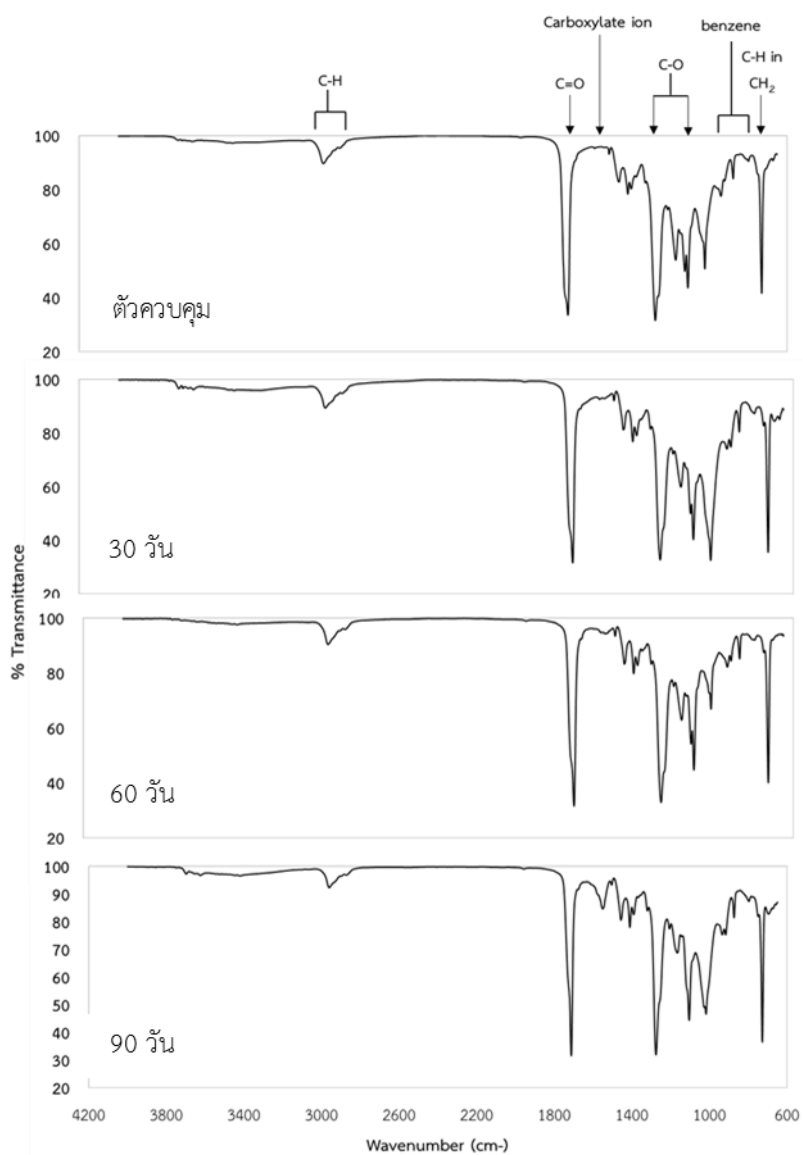
อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT จะพบการเปลี่ยนแปลงเด่นชัดหลังจาก 90 วันของการฝัง โดยพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของพีคตำแหน่ง C-O และการปรากฏของพีคที่แสดงถึง carboxylate ion ดังแสดงในรูปที่ 43



รูปที่ 41 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวอย่างควบคุม และหลังการฝังเป็นเวลา 30 60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ



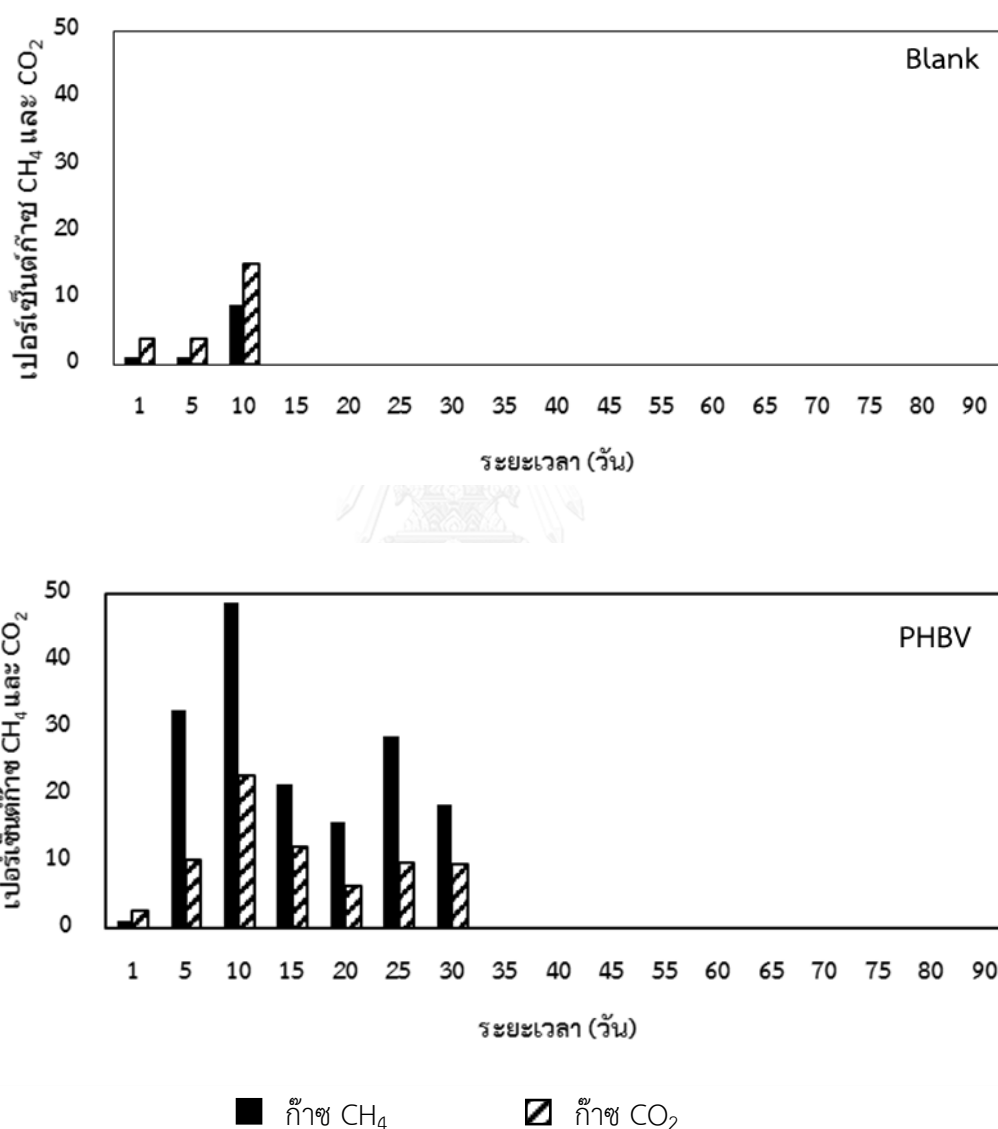
รูปที่ 42 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ตัวควบคุม และหลังการฝังเป็นเวลา 30
60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ



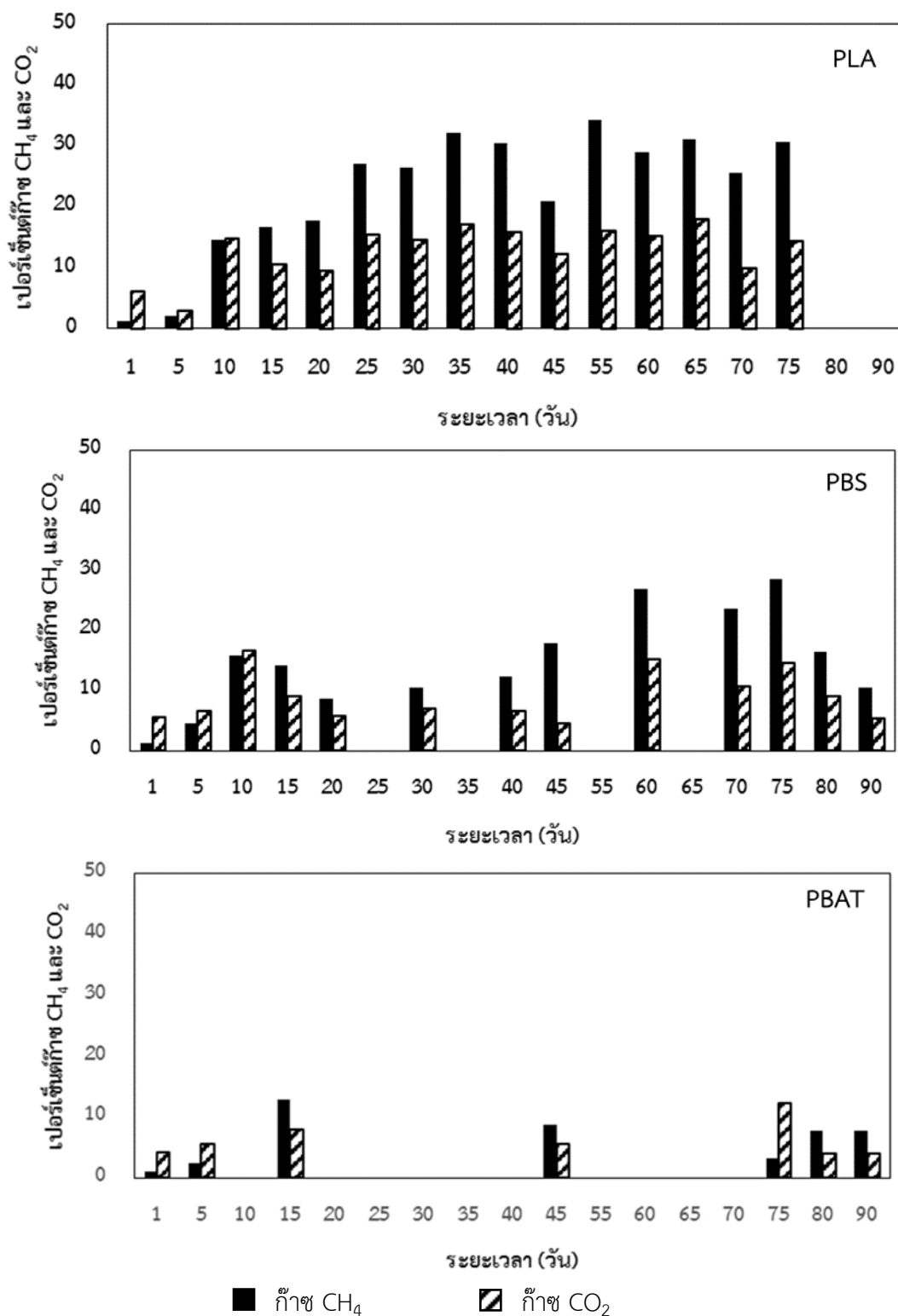
รูปที่ 43 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ตัวควบคุม และหลังการฝังเป็นเวลา 30 60 และ 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ

4.2.7 ก๊าซ CH₄ และ CO₂ ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการฝังกลบ

ตรวจวัดก๊าซที่เกิดระหว่างการฝังกลบพลาสติกทั้ง 4 ชนิด รวมทั้งชุดควบคุมที่ไม่มีการใส่พลาสติกลงในตัวกลาง (Blank) โดยจะเก็บก๊าซที่ดันขึ้นผ่านทางเข็มฉีดยาและเก็บลงในหลอดสูญญากาศก่อนนำไปส่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC โดยวิเคราะห์ออกมาในรูปเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน (CH₄) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ดังรูปที่ 44



รูปที่ 44 เปอร์เซ็นต์ก๊าซ CH₄ และก๊าซ CO₂ ของพลาสติก 4 ชนิด และชุดควบคุมที่ไม่ใส่พลาสติก ระหว่างกระบวนการฝังกลบในสภาวะทดสอบ (ร้อยละตะกอนชีวภาพ 50 อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21)



รูปที่ 44 เปอร์เซ็นต์ก๊าซ CH₄ และก๊าซ CO₂ ของพลาสติก 4 ชนิด และชุดควบคุมที่ไม่ใส่พลาสติก ระหว่างกระบวนการฝังกลบในสภาวะทดสอบ (ร้อยละตะกอนชีวภาพ 50 อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลองที่ 21) (ต่อ)

จากรูปที่ 44 ชุดควบคุมที่ไม่ใส่พลาสติกสามารถเก็บก๊าซได้ถึงแต่วันที่ 10 ของการทดสอบ และพบเปอร์เซ็นต์ CH_4 และ CO_2 ในระดับต่ำ โดยวันที่ 10 ของการทดสอบมีค่า % CH_4 และ CO_2 ที่ 8.94% และ 15.15% ตามลำดับ

ในระบบของการฝังกลบพลาสติกทั้ง 4 ชนิด พบก๊าซ CH_4 และ CO_2 แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายพลาสติกเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยพลาสติกชนิด PHBV ซึ่งให้ค่าการย่อยสลายสูงที่สุด จะพบการผลิตก๊าซออกมาในช่วง 30 วันแรก และไม่พบก๊าซที่ผลิตเพิ่มขึ้นมาหลังจากวันที่ 30 ของการฝังพลาสติก โดยในวันที่ 10 พบการผลิตก๊าซสูงสุดอยู่ที่ 48.8% ก๊าซ CH_4 และ 22.96% ก๊าซ CO_2 การที่พบการผลิตก๊าซสองชนิดนี้แค่ช่วงเวลา 30 วัน ของการฝัง PHBV อาจเนื่องมาจากพลาสติกชนิดนี้ถูกย่อยสลายเกือบสมบูรณ์ภายในเวลา 45 วันของการฝัง เมื่อผ่านการย่อยสลายคาร์บอนส่วนหนึ่งจะถูกนำมาใช้ในการสร้างเซลล์จุลินทรีย์ และคาร์บอนส่วนที่เหลือจะถูกปล่อยออกมาเป็นก๊าซ CH_4 และ CO_2 ดังนั้นจึงพบการผลิตก๊าซแค่เพียงช่วงเวลาที่เกิดการย่อยสลาย

ในการศึกษาครั้งนี้ พลาสติกชนิด PLA เป็นพลาสติกที่มีค่าการย่อยสลายสูงเป็นอันดับสอง จากการทดสอบการเก็บก๊าซพบว่า ระหว่างการฝัง PLA ในช่วงวันที่ 1 – 5 ก๊าซที่เกิดขึ้นมาระดับต่ำมากใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใส่พลาสติก แต่จะพบก๊าซทั้งสองชนิดสูงขึ้นหลังจากวันที่ 10 ของการฝัง และสูงขึ้นชัดเจนหลังจากวันที่ 25 ของการฝัง โดยก๊าซที่เกิดขึ้นในวันที่ 25 เท่ากับ 27.04% ก๊าซ CH_4 และ 15.55% ก๊าซ CO_2 และวันที่ 55 ของการฝังพลาสติก PLA พบการผลิตก๊าซ CH_4 สูงที่สุด (34.23%) และจะพบการผลิตก๊าซอย่างต่อเนื่องถึงวันที่ 75

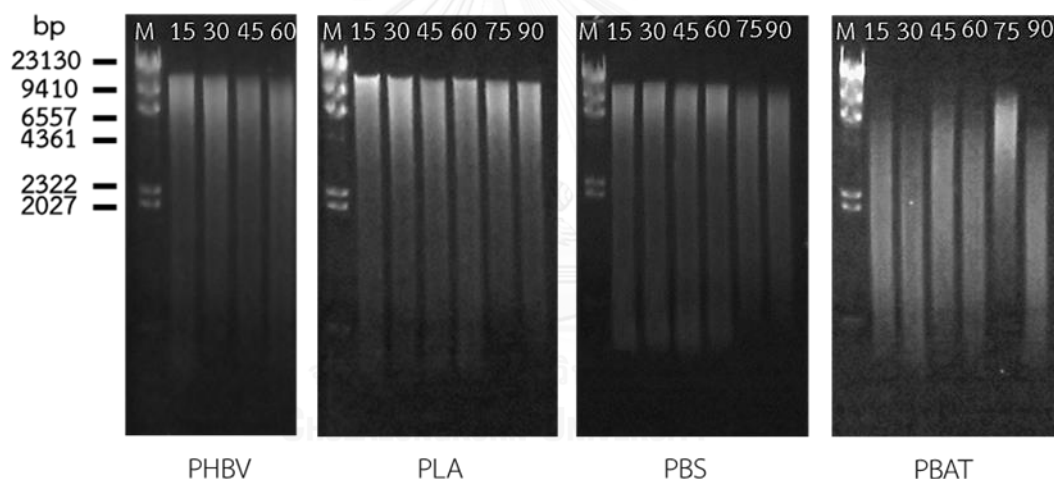
จากรูปที่ 44 เมื่อพิจารณาก๊าซที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการฝังพลาสติก PBS ใน 90 วัน พบว่ามีบางช่วงของที่สามารถเก็บก๊าซได้และมีบางช่วงที่ไม่สามารถเก็บก๊าซได้ เนื่องจากความสามารถในการถูกย่อยสลายพลาสติก PBS ในสภาวะทดสอบต่ำกว่า PHBV และ PLA ดังนั้นจึงพบว่าเปอร์เซ็นต์ก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในระดับที่ต่ำกว่า โดยค่าก๊าซที่เกิดขึ้นมีค่าสูงในช่วงวันที่ 60 (26.81% ก๊าซ CH_4 และ 15.22% ก๊าซ CO_2) และ 75 ของการฝัง (28.49% ก๊าซ CH_4 และ 14.6% ก๊าซ CO_2)

พลาสติกชนิด PBAT มีค่าการย่อยสลายภายใต้สภาวะทดสอบต่ำที่สุด จากรูปพบว่า ในช่วง 40 วันแรกของการฝัง รูปแบบการผลิตก๊าซไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการฝังพลาสติก แสดงให้เห็นว่าในพลาสติกชนิด PBAT ยังไม่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ การเกิดก๊าซจะพบเด่นชัดช่วงท้ายของการฝัง โดยพบระหว่างวันที่ 75 และ 90 โดยมีค่า % ก๊าซ CH_4 ระหว่าง 3.27 – 7.74% และ ค่า % CO_2 ระหว่าง 4.04 – 12.26% สอดคล้องกับการพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของพลาสติก PBAT ที่มีชิ้นพลาสติกบางส่วนแตกหักออกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อย อาจมีผลทำให้จุลินทรีย์เข้าไปย่อยสลายได้ง่ายขึ้นทำให้พบการผลิตก๊าซเกิดขึ้น ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกอีก 3 ชนิด

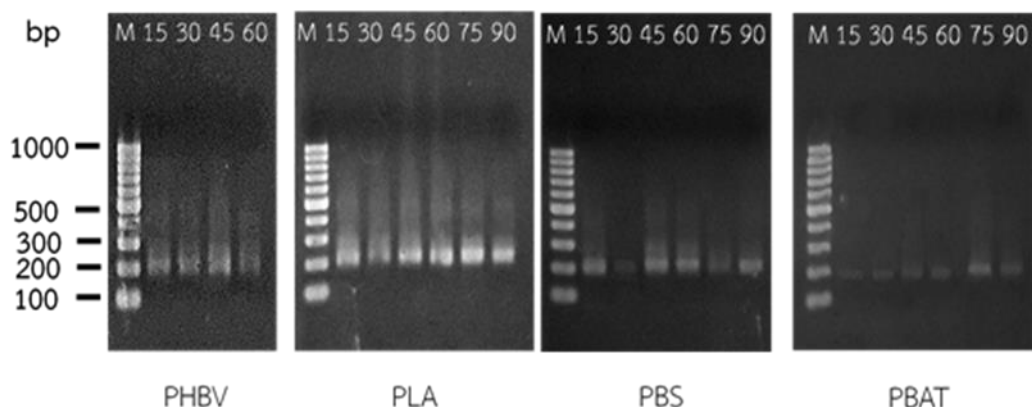
แล้ว พลาสติก PBAT มีการย่อยสลายได้ยากที่สุดและน่าจะพบผลการย่อยสลายที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์เด่นชัดหลังจากวันที่ 75 ของการทดสอบ

4.3 ศึกษาประชาคมของจุลินทรีย์ ในระบบจำลองการฝังกลบ โดยวิธี Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)

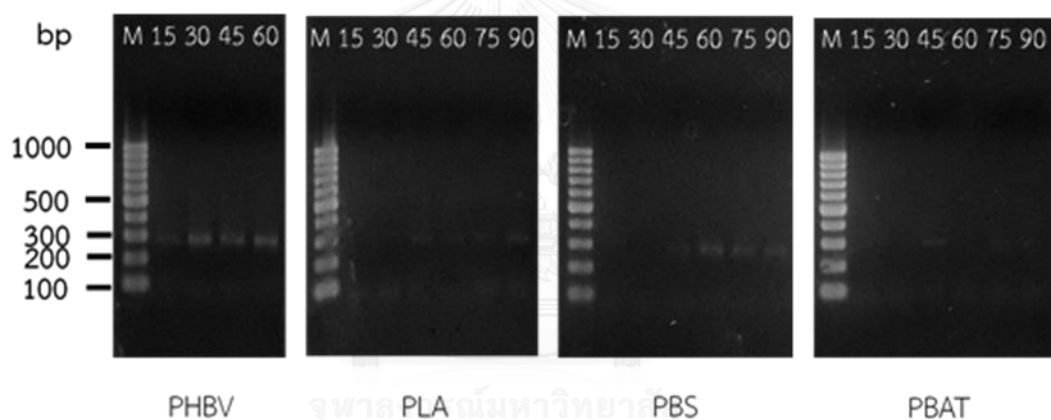
นำตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกแต่ละชนิดในแต่ละช่วงเวลามาสกัดดีเอ็นเอ ดังรูปที่ 45 จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ก่อนนำไปศึกษาประชาคมของจุลินทรีย์ด้วยวิธี DGGE โดยการศึกษาประชาคมของแบคทีเรียจะใช้ไพรเมอร์ 338F + GC และ 518R ในการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR product) ขนาด 200 bp ส่วนการศึกษาประชาคมรา จะใช้ไพรเมอร์ NL1 + GC และ LS2 ในการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ D1 region ซึ่งจะได้ PCR product ขนาดประมาณ 300 bp ดังรูปที่ 46 และ 47 ตามลำดับ



รูปที่ 45 Genomic DNA จากตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 – 90 วัน โดยช่องวิ่ง M คือมาร์คเกอร์ lamda /HinDIII marker

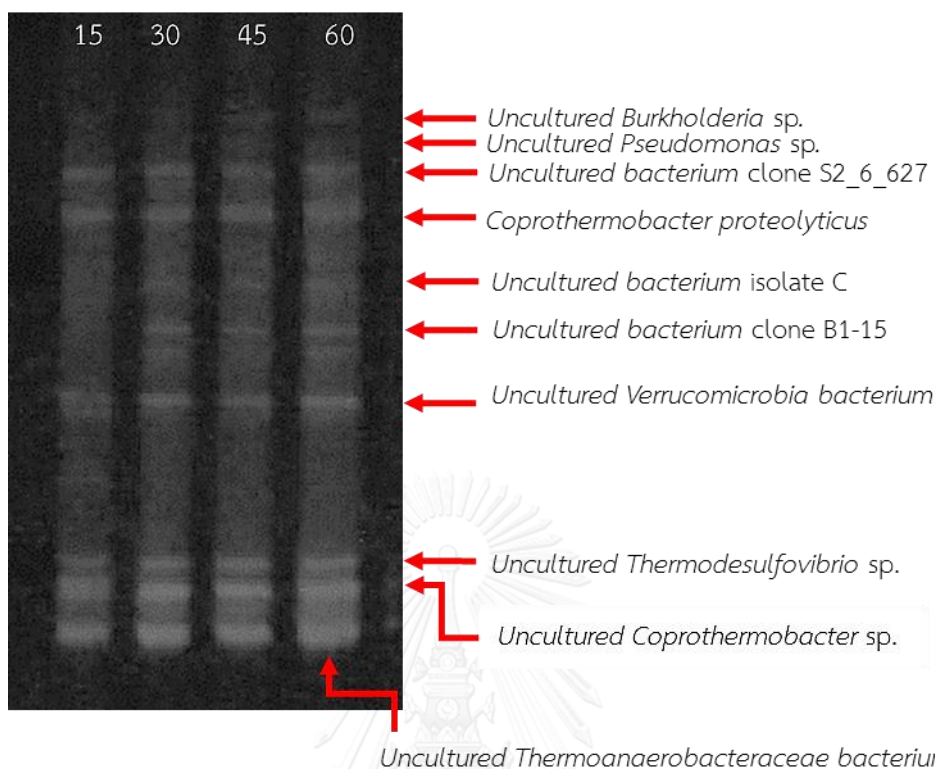


รูปที่ 46 PCR product ของแบคทีเรีย จากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 – 90 วัน โดยช่องวิ่ง M คือมาร์คเกอร์ 100 bp marker



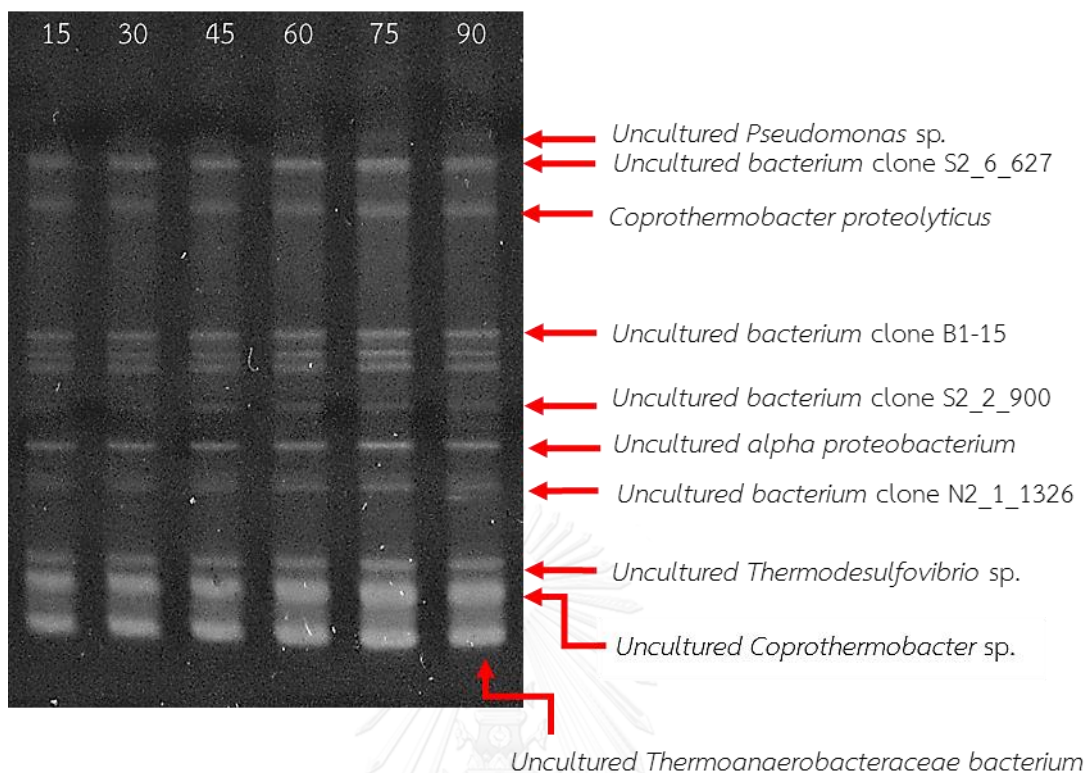
รูปที่ 47 PCR product ของรา จากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 – 90 วัน โดยช่องวิ่ง M คือมาร์คเกอร์ 100 bp marker

แยกสายพันธุ์แบคทีเรียและรา โดยการโหลด PCR product ลงในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่ 30 – 60 เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 48 ถึงรูปที่ 52 และเมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมาพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูล Genbank พบว่ามีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียและรา ในฐานข้อมูล ดังแสดงในภาคผนวกที่ จ



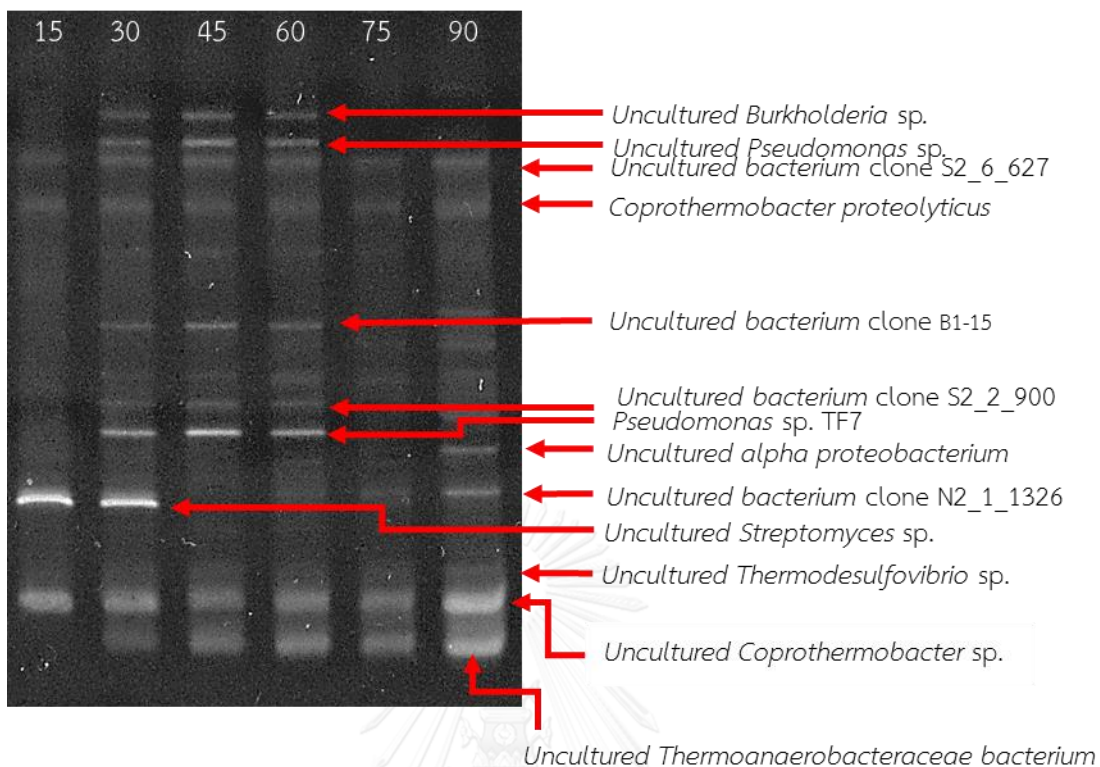
รูปที่ 48 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของแบคทีเรียจากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PHBV ที่เวลา 15 30 45 และ 60 วัน

จากรูปที่ 48 ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ที่มีความคล้ายคลึงกับจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล 10 กลุ่ม โดยแถบดีเอ็นเอที่เด่นชัดที่ปรากฏอยู่ในตัวกลางตั้งแต่วันที่ 15 ถึง วันที่ 60 มีทั้งหมด 6 แถบดีเอ็นเอ ที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* *Uncultured Coprothermobacter* sp., *Uncultured Thermodesulfovibrio* sp., *Uncultured Verrucomicrobia bacterium*, *Coprothermobacter proteolyticus* และ *Uncultured bacterium* clone S2_6_627 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ Identity เท่ากับ 99% 100% 94% 91% 98% และ 93% ตามลำดับ ส่วนแถบดีเอ็นเอ 4 แถบ ที่ปรากฏขึ้นหลังจากผ่านการฝัง PHBV ไป 30 วัน คือ แถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured bacterium* clone B1-15, *Uncultured bacterium* isolate C, *Uncultured Pseudomonas* sp. และ *Uncultured Burkholderia* sp. โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ Identity เท่ากับ 96% 93% 98% และ 93% ตามลำดับ



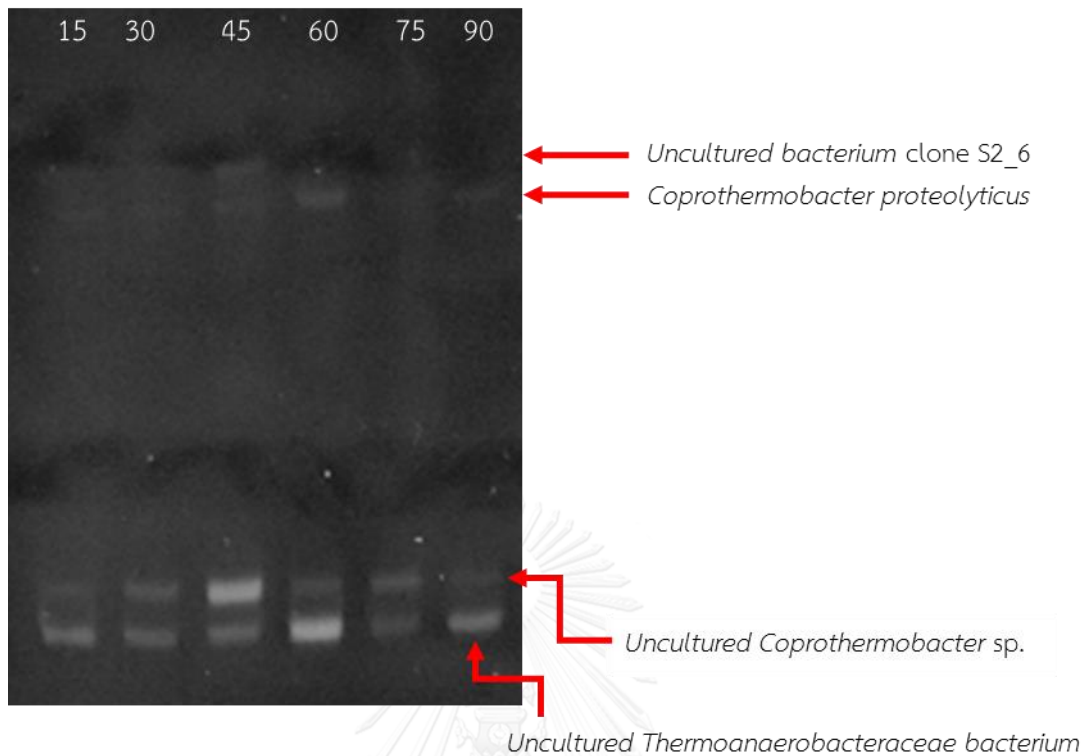
รูปที่ 49 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของแบคทีเรียจากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ที่เวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน

จาก รูปที่ 49 พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏตลอดการฝัง PLA มีรูปแบบเหมือนกันตั้งแต่วันที่ 15 ถึง 90 แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเข้มและเด่นชัดที่สุดคือ *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* และ *Uncultured Coprothermobacter sp.* ส่วนแถบดีเอ็นเอที่มีความเข้มรองลงมาจะมีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Uncultured Thermodesulfovibrio sp.* *Uncultured alpha proteobacterium* *Uncultured bacterium clone B1-15*, *Coprothermobacter proteolyticus*, และ *Uncultured bacterium clone S2_6_627* (เปอร์เซ็นต์ Identity เท่ากับ 94% 93% 96% 99% และ 93% ตามลำดับ) และแถบดีเอ็นเอที่มีความเข้มน้อยแต่ยังคงพบตลอดเวลาการทดสอบคือแถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured bacterium clone N2_1_1326*, *Uncultured bacterium clone S2_2_900* และ *Uncultured Pseudomonas sp.* ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 100% 96% และ 98% ตามลำดับ



รูปที่ 50 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของแบคทีเรียจากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ที่เวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน

จากรูปที่ 50 พบว่า ระหว่างการฝังพลาสติกชนิด PBS มีการเปลี่ยนแปลงประชาคมแบคทีเรียค่อนข้างหลากหลาย โดยแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏตลอดตั้งแต่วันที่ 15 ถึง 90 ประกอบด้วยแถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium*, *Uncultured Coprothermobacter* sp., *Coprothermobacter proteolyticus* และ *Uncultured bacterium* clone S2_6_627 ส่วนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเด่นชัดบางช่วงของการฝังประกอบด้วยแถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Streptomyces* sp. (เปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 96%) ปรากฏในช่วงวันที่ 15 ถึง 30 ของการฝัง แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในช่วงวันที่ 30 ถึง 60 ของการฝัง ประกอบด้วย *Pseudomonas* sp. TF7 *Uncultured bacterium* clone S2_2_900 *Uncultured bacterium* clone B1-15 *Uncultured Pseudomonas* sp. และ *Uncultured Burkholderia* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 98% 96% 96% 98% และ 93% ตามลำดับ ส่วนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเด่นชัดในวันที่ 90 ของการฝัง PBS คือ *Uncultured Thermodesulfovibrio* sp., *Uncultured bacterium* clone N2_1_1326 และ *Uncultured alpha proteobacterium*



รูปที่ 51 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของแบคทีเรียจากตัวกลางที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ที่เวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน

จากรูปที่ 51 มีเพียง 3 แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏตลอดระยะเวลาการฝัง PBAT ประกอบด้วยแถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* *Uncultured Coprothermobacter sp.* และ *Coprothermobacter proteolyticus* ส่วน *Uncultured bacterium clone S2_6* พบเพียงวันที่ 15 ถึง 45 ของการฝัง

การศึกษาการย่อยสลายพลาสติกในกลุ่มพอลิเอสเตอร์ที่ผ่านมา มีรายงานการวิจัยที่ระบุว่าจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสและเอสเทอร์เรสออกมานอกเซลล์ (extracellular lipase) จะมีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้ เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสและเอสเทอร์เรสจะเข้าไปแตกพันธะเอสเทอร์ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของสายพอลิเออร์ ส่งผลให้เกิดการย่อยสลายขึ้น (Alejandra et al, 2012)

Alejandra et al (2012) ศึกษาการย่อยสลายพลาสติก poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) โดยใช้เอนไซม์ไลเปส (commercial lipase) พบว่ามีประสิทธิภาพในการแตกพันธะเอสเทอร์ส่งผลให้น้ำหนักโมเลกุลของ PHB ลดลง

Lenglet et al (2009) ศึกษาการย่อยสลายโคพอลิเมอร์ของ Polycaprolactone และ PLA (PCL/LA copolymer) พบว่าเอนไซม์ไลเปสจาก *Pseudomonas* sp. สามารถย่อยสลายโคพอลิเมอร์ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยของ Novotný et al (2015) ที่ระบุว่า *Pseudomonas aeruginosa* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสและเอสเทอร์เรสออกมานอกเซลล์และสามารถย่อยสลายพอลิเมอร์ได้เช่นกัน ในงานวิจัยครั้งนี้ที่พบแบคทีเรียเอนเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Pseudomonas* sp. ในระบบการฝังพลาสติก PHBV PLA และ PBS นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียเอนเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Pseudomonas* sp. TF7 ในระบบการฝังพลาสติก PBS ด้วย ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

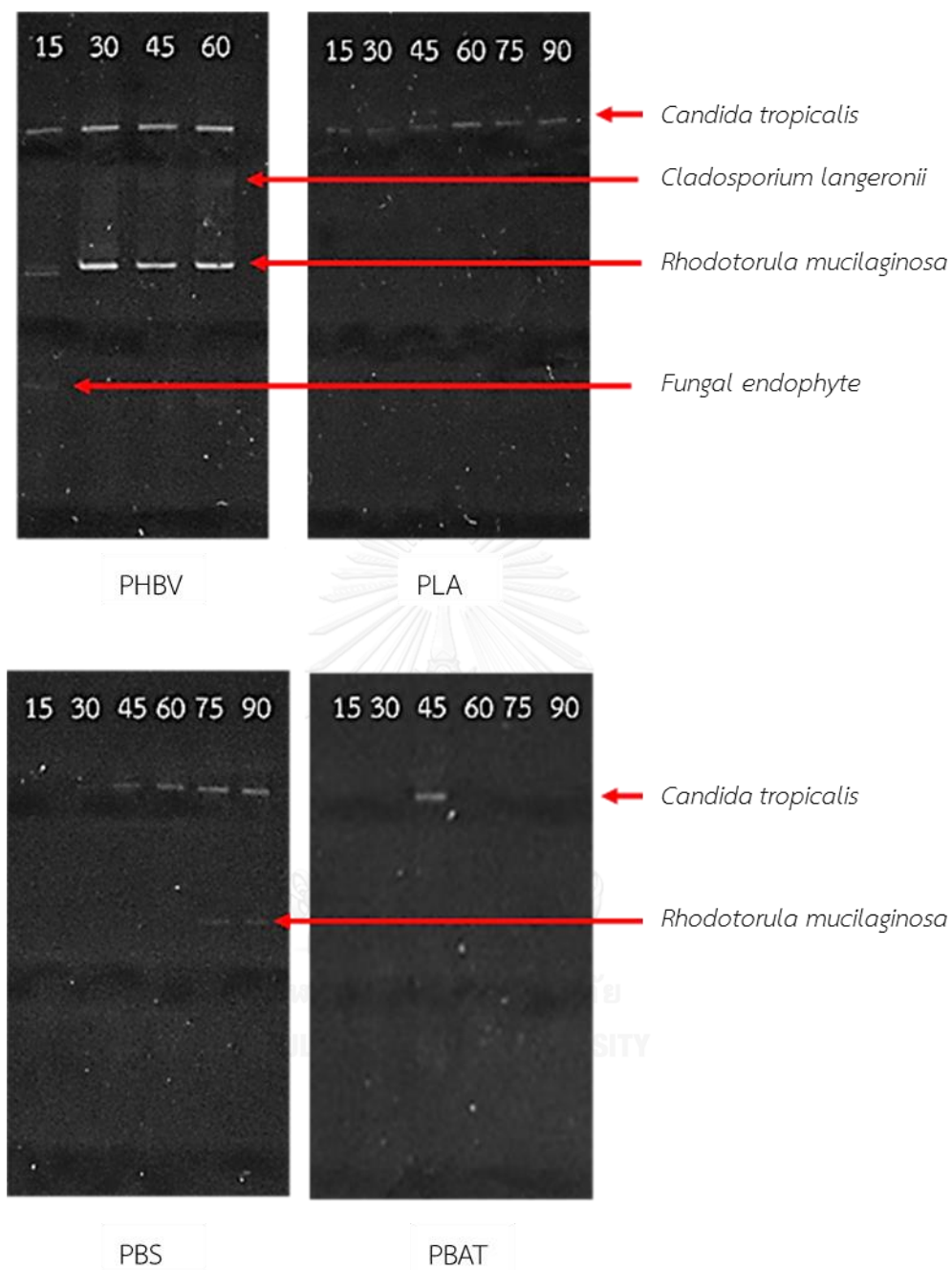
Streptomyces sp. เป็นแบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่งที่มีการวิจัยว่าสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสและเอสเทอร์เรส ออกมานอกเซลล์ได้ (Bielen et al, 2009) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Phukon et al (2012) ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชนิด PHB และ PHBV ที่คัดแยกได้ โดยมีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces* sp. ในฐานข้อมูล เมื่อพิจารณาผลจากการศึกษาในครั้งนี้ ก็พบแบคทีเรียเอนเอที่มีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces* sp. เช่นกัน แต่อยู่ในกลุ่มที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ โดยพบเป็นแบคทีเรียเอนเอที่เด่นชัดในระบบการฝังกลบ PBS ใน 30 วันแรกของการทดสอบ ซึ่งคาดว่าน่าจะมีผลต่อการย่อยสลายพลาสติก PBS

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยระบุว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Burkholderia* sp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้และมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่างๆ ได้ดี (Gupta et al, 2007; Liu et al, 2012; Matsumiya et al, 2007) แต่ยังไม่มียานการศึกษาผลของเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจาก *Burkholderia* sp. ต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพโดยตรง อย่างไรก็ตามมีรายงานการวิจัยของ Boyandin et al (2013) ทดสอบการย่อยสลายพลาสติกชนิด PHA โดยการฝังดิน พบว่าหนึ่งในแบคทีเรียกลุ่มหลักที่มีความสามารถในการย่อยสลาย PHA ได้ คือ *Burkholderia* sp. ซึ่งงานวิจัยครั้งนี้ที่พบแบคทีเรียเอนเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Burkholderia* sp. ในระบบการฝังพลาสติกชนิด PHBV และ PBS ด้วยเช่นกัน

รายงานการวิจัยที่ผ่านมาที่ศึกษาประชาคมของแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ โดยใช้เทคนิค DGGE เช่น Yagi et al (2013) พบ *Uncultured bacterium* ในระบบการย่อยสลาย PLA ภายใต้การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิสูง (55 องศาเซลเซียส) สอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ที่พบกลุ่มของ *Uncultured bacterium* เช่นกัน ซึ่งคาดว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็มีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

ในส่วนของแบคทีเรียเอนที่ปรากฏเด่นชัดที่สุดในระบบการฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด คือแบคทีเรียเอนที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาพบว่า มีแบคทีเรียสายพันธุ์ *Thermoanaerobacter thermohydrosulfuricus* ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสทนร้อนได้ (thermostable lipase) และ *Thermoanaerobacter tencongensis* ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอสเทอร์เรสทนร้อนได้ (thermostable esterase) ดังนั้นการที่พบแบคทีเรียเอนตำแหน่งนี้ชัดเจนอาจเนื่องมาจาก *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้จนปรากฏเป็นแถบเด่นชัด

ส่วน ดีเอ็นเอ ที่มีความคล้ายคลึงกับ *Uncultured Coprothermobacter* sp. และ *Coprothermobacter proteolyticus* ที่พบได้ตลอดระยะเวลา 60 วันในการฝังพลาสติก PHBV และ 90 วันในการฝังพลาสติก PLA PBS และ PBAT ยังไม่มีรายงานการวิจัยออกมาว่ามีผลโดยตรงต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ หรือสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสหรือเอสเทอร์เรสได้ แต่พบว่าสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนและอุณหภูมิสูง ยกตัวอย่างเช่น รายงานการวิจัยที่กล่าวว่า *Coprothermobacter proteolyticus* เป็นแบคทีเรียที่สามารถคัดแยกได้จากมูลวัวหรือระบบการผลิตแก๊สชีวภาพที่อุณหภูมิสูง (thermophilic biogas digester) สามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 35 – 75 องศาเซลเซียส และพีเอช 5.5 – 8.5 โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญที่ดีที่สุด คือ อุณหภูมิที่ 63 องศาเซลเซียส และ พีเอชที่ 7.5 โดยแบคทีเรียสายพันธุ์นี้เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ เช่น โปรตีน หรือคาร์โบไฮเดรตขนาดเล็ก ได้ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน และสร้างก๊าซมีเทนได้ภายหลังการย่อยสลาย (Kerstens et al, 1994; Tandishabo et al, 2012) ดังนั้นคาดว่าแบคทีเรียในกลุ่ม *Uncultured Coprothermobacter* sp. และ *Coprothermobacter proteolyticus* รวมทั้งแบคทีเรียอื่นที่ปรากฏบนเจลพอลิอะคริลาไมด์ที่ยังไม่มีรายงานว่าสามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้ น่าจะเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่มีผลต่อการย่อยสลายโดยตรงแต่สามารถเจริญได้โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ



รูปที่ 52 DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 30 – 60% denaturant แสดงสายพันธุ์ของรา จากตัวอย่างที่ใช้ในการฝังพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ที่เวลา 15 30 45 60 75 และ 90 วัน จากรูปที่ 52 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประชาคมของราระหว่างการฝังพลาสติกชีวภาพ PHBV PLA PBS และ PBAT พบว่าประชาคมรามีความหลากหลายน้อยกว่าประชาคมแบคทีเรีย โดยระหว่างการฝังพลาสติก PHBV พบแถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ราทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ประกอบด้วย แถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์

identity เท่ากับ 100% โดยพบว่าในวันที่ 30 แอบตีเอ็นเอจะมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจากวันที่ 15 และมีความเข้มข้นของแอบตีเอ็นเอสม่าเสมอจนถึงวันที่ 60 ของการฝัง เช่นเดียวกับแอบตีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับยีสต์สายพันธุ์ *Rhodotorula mucilaginosa* (เปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 100%) ซึ่งมีความเข้มข้นของแอบตีเอ็นเอชัดเจนในวันที่ 30 ถึง 60 นอกจากนี้ยังพบราสายพันธุ์ *Cladosporium langeronii* (เปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 91%) ตลอดระยะเวลาของการฝังพลาสติก PHBV แต่เป็นแอบตีเอ็นเอที่มีความเข้มข้นน้อยมากอาจเนื่องมาจากมีจำนวนไม่มากในระบบ และพบแอบตีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Fungal endophyte* (เปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 100%) เฉพาะในวันที่ 15 ของการฝัง แต่หายไปหลังจากการฝังในวันที่ 30

ในระบบการฝังพลาสติกชนิด PLA พบเพียงแอบตีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* (เปอร์เซ็นต์ identity เท่ากับ 100%) เท่านั้น ซึ่งพบแอบตีเอ็นเอตลอดระยะเวลาของการฝัง PLA ส่วนในระบบของการฝังพลาสติกชนิด PBS พบแอบตีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Candida tropicalis* ระหว่างการฝังในวันที่ 30 ถึง 90 และพบแอบตีเอ็นเอของ *Rhodotorula mucilaginosa* ปรากฏขึ้นระหว่างการฝังในวันที่ 75 ถึง 90

สำหรับการฝังพลาสติกชนิด PBAT พบเพียงแอบตีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *Candida tropicalis* ปรากฏขึ้นเฉพาะในวันที่ 45 ของการฝังเท่านั้น

ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* และ *Rhodotorula mucilaginosa* สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสและเอสเทอร์เรสได้ (Hongpattarakere & Srimhan, 2010; Novotný et al, 2015) รวมถึงราสายพันธุ์ *Cladosporium langeronii* ที่มาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปส ซึ่งคาดว่าจะมีผลโดยตรงต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพในตำแหน่งพันธะเอสเทอร์ส่งผลให้สามารถเจริญอยู่ได้ในระบบการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

โดยสรุปภาพรวมการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะทดสอบจะพบความหลากหลายของประชาคมแบคทีเรียมากกว่าประชาคมรา เนื่องจากสภาวะที่ใช้ทดสอบเป็นสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ดังนั้นราซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่โตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนจึงไม่สามารถเจริญได้ดียกเว้นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ

PHBV PLA PBS เป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ดีภายใต้สภาวะทดสอบจึงเห็นความหลากหลายของสายพันธุ์จุลินทรีย์ในระบบมากกว่าพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ซึ่งมีผลการย่อยสลายต่ำที่สุด การย่อยสลายพลาสติก PHBV PLA PBS เกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียร่วมกับรา โดยแบคทีเรียกลุ่มที่คาดว่าจะมีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกโดยตรงคือกลุ่มที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปส

และเอสเทอร์เรสได้ เช่น *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* *Uncultured Pseudomonas* sp. *Uncultured Burkholderia* sp. *Uncultured Streptomyces* sp. ร่วมกับการทำงานของ *Uncultured bacterium* ต่างๆ ส่วนราสายพันธุ์หลักที่มีผลต่อการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด คือยีสต์ *Candida tropicalis* ส่วน *Rhodotorula mucilaginosa* พบได้ในตัวกลางที่ฝังทั้ง PHBV และ PBS ในขณะที่ *Cladosporium langeronii* พบได้เฉพาะในตัวกลางที่ฝัง PHBV

การย่อยสลายพลาสติก PBAT เมื่อพิจารณาเจล DGGE ร่วมกับการเกิดก๊าซ CH_4 และ CO_2 พบว่าการย่อยสลาย PBAT ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ น่าจะเริ่มเกิดหลังจากวันที่ 75 ของการฝัง และน่าจะมาจากแบคทีเรียกลุ่ม *Uncultured Thermoanaerobacteraceae bacterium* และยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* ตามแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนพอลิอะคริลาไมด์เจล



บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ 4 ชนิด ประกอบด้วย poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) poly(lactic acid) (PLA) poly(butylene succinate) (PBS) และ poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) ภายใต้สภาวะจำลองการฝังกลบ โดยใช้การทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ศึกษาปัจจัยที่มีผลส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายทั้งด้านอุณหภูมิ สัดส่วนของตะกอนชีวภาพ และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ในเวลา 30 วัน ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติและค่าทำนายร้อยละน้ำหนักที่หายไป ใน 30 วัน โดยใช้โปรแกรม Design Expert V7.0 (trial version) แสดงให้เห็นว่าพลาสติกแต่ละชนิดมีสมการร้อยละน้ำหนักที่หายไปแตกต่างกัน เป็นผลมาจากพลาสติกแต่ละชนิดมีความสามารถในการถูกย่อยสลายได้แตกต่างกัน สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญคือ อุณหภูมิ ส่วนค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ

หลังจากนั้นทำการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ร่วมกัน โดยสภาวะที่คัดเลือกได้คือ สัดส่วนของตะกอนชีวภาพต่อดินจากบ่อฝังกลบขยะที่ร้อยละ 50:50 อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะออกซิเจนจำกัด (oxygen limited conditions) เพื่อใช้ในการศึกษาการย่อยสลายและการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด เป็นเวลา 90 วัน ผลการศึกษาพบว่าค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปซึ่งแสดงถึงความสามารถในการถูกย่อยสลายเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ PHBV PLA PBS และ PBAT โดยพลาสติกชนิด PHBV เป็นพลาสติกชนิดเดียวที่สามารถย่อยสลายได้หมดภายในเวลา 60 วัน ส่วนพลาสติก PLA PBS และ PBAT มีค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเท่ากับ 90.78 ± 0.52 24.04 ± 3.37 และ 18.26 ± 3.77 ในเวลา 90 วัน ตามลำดับ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของผิวพลาสติกเมื่อตรวจสอบด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า ที่แสดงให้เห็นว่าพลาสติกชนิด PHBV มีการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวอย่างชัดเจน โดยพบรูพรุน โพรง และพื้นผิวที่มีลักษณะขรุขระโดยทั่ว ส่วนพลาสติกชนิด PLA พบการเปลี่ยนแปลงในลักษณะพื้นผิวที่ขรุขระเช่นกัน ในขณะที่พลาสติก PBS และ PBAT พบการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวเพียงเล็กน้อย

ในส่วนของผลการวัดค่าเสถียรภาพของพลาสติกเมื่อได้รับความร้อนด้วยเครื่อง Thermogravimetric Analyzer (TGA) พบว่าพลาสติกทั้ง 4 ชนิด มีเสถียรภาพทางความร้อนลดลง

หลังจากผ่านการฝังเป็นเวลา 90 วัน เมื่อนำชิ้นพลาสติกที่คงเหลือหลังจากการฝังที่สภาวะทดสอบมาวิเคราะห์ปริมาณ ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ในโครงสร้างสายพอลิเมอร์ พบว่ามีสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของธาตุคาร์บอนลดลงและมีเปอร์เซ็นต์ของธาตุออกซิเจนเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการที่พลาสติกถูกย่อยสลาย และจากการติดตามหมู่ฟังก์ชันในสายพอลิเมอร์ที่มีการเปลี่ยนแปลงไปหลังการฝังกลบภายใต้สภาวะทดสอบ ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) พบว่า PHBV มีการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันในสายพอลิเมอร์อย่างชัดเจน ส่วน PLA PBS และ PBAT พบว่าในภาพรวมอาจเห็นการเปลี่ยนแปลงไม่ชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามจากกราฟอินฟราเรด จะพบการสะสมของ carboxylate ion ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายที่พันธะเอสเทอร์ของสายพอลิเมอร์

ผลจากการติดตามประชาคมแบคทีเรียและรา ในระหว่างการฝังกลบ ด้วยวิธี Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบว่าประชาคมแบคทีเรียมีความหลากหลายของสายพันธุ์มากกว่าประชาคมรา โดยแบคทีเรียที่พบในการฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ และพบกลุ่มแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน สอดคล้องกับการเกิดก๊าซ CH_4 และ CO_2 ระหว่างกระบวนการฝังกลบ ส่วนยีสต์สายพันธุ์ที่พบได้ระหว่างการฝังพลาสติกทั้ง 4 ชนิด คือ *Candida tropicalis*

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นได้ว่าพลาสติกชีวภาพทั้ง 4 ชนิด จะเกิดการย่อยสลายได้ที่อุณหภูมิสูง ในการศึกษาครั้งนี้หน่วยทดลองที่ใช้มีขนาดเล็กและเป็นการจำลองการฝังกลบที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ตามต้องการ หากนำสภาวะที่ได้จากการทดลองไปประยุกต์ใช้จริงจำเป็นต้องมีระบบควบคุมและติดตามอุณหภูมิ เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเร่งการแตกหักของพลาสติกและมีผลต่อกิจกรรมและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ด้วย

2) ภายใต้สภาวะทดสอบ พลาสติกชีวภาพชนิด PBS สามารถย่อยสลายได้ แต่จำเป็นต้องใช้เวลานาน ส่วนพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT มีการย่อยสลายได้ต่ำกว่าพลาสติกชนิดอื่น ดังนั้นหากมีการทำวิจัยต่อเนื่องควรศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกทั้ง 2 ชนิดนี้ โดยเฉพาะ PBAT ซึ่งอาจต้องทดสอบภายใต้สภาวะอื่น เช่น สภาวะกึ่งปิดหรือศึกษาปัจจัยอื่นเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มการย่อยสลายที่เร็วขึ้น และการที่พลาสติก PBAT ย่อยสลายได้ต่ำอาจเกิดเนื่องมาจากสัดส่วนของตัวกลางที่ใช้ในการฝังกับปริมาณพลาสติกไม่สมดุลย์กัน ดังนั้นอาจต้องมีการปรับสัดส่วนตรงนี้เพิ่มเติม

3) หากมีการทำวิจัยต่อเนื่องเกี่ยวกับการย่อยสลายพลาสติก PBAT ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน อาจจะเปลี่ยนจากการศึกษาพลาสติก PBAT บริสุทธิ์ มาใช้เป็นพลาสติก PBAT ที่ผสมกับพอลิเมอร์ตามธรรมชาติอื่นๆ เช่น แป้ง เซลลูโลส เพื่อเร่งให้เกิดการย่อยสลายที่เร็วขึ้น

4) ในการทดสอบการย่อยสลายพลาสติก PLA พบว่าค่าพีเอชของตัวกลางมีความเป็นกรดสูงขึ้น ซึ่งค่าความเป็นกรดที่เพิ่มสูงขึ้นนี้อาจไปมีผลยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายพลาสติกโดยแบคทีเรียซึ่งอาจส่งผลให้การย่อยสลายเกิดได้ช้าลง ดังนั้นหากนำสภาวะที่ได้จากการทดลองนี้ไปประยุกต์ใช้จริงจึงควรมีการควบคุมค่าพีเอชไม่ให้เป็นกรดสูงเกินไป โดยวิธีอย่างง่าย เช่น การเติมปูนขาว

5) เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการตรวจวัดค่าร้อยละออกซิเจนในอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างกระบวนการฝังกลบ ดังนั้นหากมีการทำการศึกษาต่อไป อาจหาวิธีการในการตรวจวัดค่าออกซิเจนเพื่อให้งานสมบูรณ์มากขึ้น



รายการอ้างอิง

- Abe M, Kobayashi K, Honma N, Nakasaki K (2010) Microbial degradation of poly(butylene succinate) by *Fusarium solani* in soil environments. *Polymer Degradation and Stability* **95**: 138-143
- Abou-Zeid D-M, Müller R-J, Deckwer W-D (2001) Degradation of natural and synthetic polyesters under anaerobic conditions. *Journal of Biotechnology* **86**: 113-126
- Akmal D (2003) Biodegradation of microbial polyesters P(3HB) and P(3HB-co-3HV) under the tropical climate environment. *Polymer Degradation and Stability* **80**: 513-518
- Al-Itry R, Lamnawar K, Maazouz A (2012) Improvement of thermal stability, rheological and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends by reactive extrusion with functionalized epoxy. *Polymer Degradation and Stability* **97**: 1898-1914
- Alejandra R-C, Margarita C-M, María Soledad M-C (2012) Enzymatic degradation of poly(3-hydroxybutyrate) by a commercial lipase. *Polymer Degradation and Stability* **97**: 2473-2476
- Allen AD, Anderson WA, Ayorinde F, Eribo BE (2011) Isolation and characterization of an extracellular thermoalkalophilic P(3HB-co-3HV) depolymerase from *Streptomyces* sp. IN1. *International Biodeterioration & Biodegradation* **65**: 777-785
- Arcos-Hernandez MV, Laycock B, Pratt S, Donose BC, Nikolić MAL, Luckman P, Werker A, Lant PA (2012) Biodegradation in a soil environment of activated sludge

derived polyhydroxyalkanoate (PHBV). *Polymer Degradation and Stability* **97**: 2301-2312

Arrieta MP, López J, Rayón E, Jiménez A (2014) Disintegrability under composting conditions of plasticized PLA-PHB blends. *Polymer Degradation and Stability* **108**: 307-318

Bashir MJK, Aziz HA, Yusoff MS, Adlan MN (2010) Application of response surface methodology (RSM) for optimization of ammoniacal nitrogen removal from semi-aerobic landfill leachate using ion exchange resin. *Desalination* **254**: 154-161

Bielen A, Ćetković H, Long PF, Schwab H, Abramić M, Vujaklija D (2009) The SGNH-hydrolase of *Streptomyces coelicolor* has (aryl)esterase and a true lipase activity. *Biochimie* **91**: 390-400

Bilck AP, Grossmann MVE, Yamashita F (2010) Biodegradable mulch films for strawberry production. *Polymer Testing* **29**: 471-476

Biron M (2014) 2 - The Plastics Industry: Economic Overview. In *Thermosets and Composites (Second Edition)*, Biron M (ed), pp 25-104. Oxford: William Andrew Publishing

Bordes P, Pollet E, Avérous L (2009) Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. *Progress in Polymer Science* **34**: 125-155

Boyandin AN, Prudnikova SV, Karpov VA, Ivonin VN, Đỗ NL, Nguyễn TH, Lê TMH, Filichev NL, Levin AL, Filipenko ML, Volova TG, Gitelson II (2013) Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils. *International Biodeterioration & Biodegradation* **83**: 77-84

- Byun Y, Kim YT (2014) Utilization of Bioplastics for Food Packaging Industry. 369-390
- Chandra R, Rustgi R (1998) Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science* **23**: 1273-1335
- Chaw su thwin (2004) Fabrication, characterization and degradation of PHB and PHBV microspheres for liver cell growth. Master of engineering Thesis, Chemical and biomolecular engineering National university of singapore,
- Chen CW, Don T-M, Yen H-F (2006) Enzymatic extruded starch as a carbon source for the production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Haloferax mediterranei*. *Process Biochemistry* **41**: 2289-2296
- Cho HS, Moon HS, Kim M, Nam K, Kim JY (2011) Biodegradability and biodegradation rate of poly(caprolactone)-starch blend and poly(butylene succinate) biodegradable polymer under aerobic and anaerobic environment. *Waste Manag* **31**: 475-480
- Cho I-H, Zoh K-D (2007) Photocatalytic degradation of azo dye (Reactive Red 120) in TiO₂/UV system: Optimization and modeling using a response surface methodology (RSM) based on the central composite design. *Dyes and Pigments* **75**: 533-543
- Copinet A, Bertrand C, Govindin S, Coma V, Couturier Y (2004) Effects of ultraviolet light (315 nm), temperature and relative humidity on the degradation of polylactic acid plastic films. *Chemosphere* **55**: 763-773
- Dong Y, Ghataura A, Takagi H, Haroosh HJ, Nakagaito AN, Lau K-T (2014) Polylactic acid (PLA) biocomposites reinforced with coir fibres: Evaluation of mechanical performance and multifunctional properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **63**: 76-84

- Dongkuan Fan, Peter R Chang, Ning Lin, Jiahui Yu, Huang J (2011) Structure and Properties of Alkaline Lignin-filled Poly(butylene succinate) Plastics. *Iranian Polymer Journal* **20**: 3-14
- Dvorackova M, Svoboda P, Kostka L, Pekarova S (2015) Influence of biodegradation in thermophilic anaerobic aqueous conditions on crystallization of poly(butylene succinate). *Polymer Testing* **47**: 59-70
- Eldsäter C, Karlsson S, Albertsson A-C (1999) Effect of abiotic factors on the degradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in simulated and natural composting environments. *Polymer Degradation and Stability* **64**: 177-183
- Fukushima K, Abbate C, Tabuani D, Gennari M, Camino G (2009) Biodegradation of poly(lactic acid) and its nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability* **94**: 1646-1655
- Ghorpade VM, Gennadios A, Hanna MA (2001) Laboratory composting of extruded poly(lactic acid) sheets. *Bioresource Technology* **76**: 57-61
- Gómez EF, Michel Jr FC (2013) Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. *Polymer Degradation and Stability* **98**: 2583-2591
- Graupner N, Herrmann AS, Müssig J (2009) Natural and man-made cellulose fibre-reinforced poly(lactic acid) (PLA) composites: An overview about mechanical characteristics and application areas. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **40**: 810-821

- Gupta AP, Kumar V (2007) New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique. *European Polymer Journal* **43**: 4053-4074
- Gupta N, Sahai V, Gupta R (2007) Alkaline lipase from a novel strain *Burkholderia multivorans*: Statistical medium optimization and production in a bioreactor. *Process Biochemistry* **42**: 518-526
- Guralp Ozkoc, Kemaloglu S (2009) Morphology, biodegradability, mechanical, and thermal properties of nanocomposite films based on PLA and plasticized PLA. *Journal of Applied Polymer Science* **114**: 2481-2487
- He Y-S, Zeng J-B, Li S-L, Wang Y-Z (2012) Crystallization behavior of partially miscible biodegradable poly(butylene succinate)/poly(ethylene succinate) blends. *Thermochimica Acta* **529**: 80-86
- Hongpattarakere T, Srimhan P (2010) Application of methanol tolerant and lipase-producing yeast, *Rhodotorula mucilagenosa* P11189, as whole-cell biocatalyst for palm-oil transesterification. *Journal of Biotechnology* **150, Supplement**: 156
- Hori K, Abe M, Unno H (2009) Production of triacylglycerol and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by the toluene-degrading bacterium *Rhodococcus aetherivorans* IAR1. *J Biosci Bioeng* **108**: 319-324
- Iovino R, Zullo R, Rao MA, Cassar L, Gianfreda L (2008) Biodegradation of poly(lactic acid)/starch/coir biocomposites under controlled composting conditions. *Polymer Degradation and Stability* **93**: 147-157
- Ishigaki T, Sugano W, Nakanishi A, Tateda M, Ike M, Fujita M (2004) The degradability of biodegradable plastics in aerobic and anaerobic waste landfill model reactors. *Chemosphere* **54**: 225-233

- Itävaara M, Karjomaa S, Selin J-F (2002) Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions. *Chemosphere* **46**: 879-885
- J. Mas-Castelli JU, R. Lafuente, A. Navarrete, Guerrero R (1995) Biodegradation of Poly-B-hydroxyalkanoates in Anaerobic Sediments. *International Biodeterioration & Biodegradation* 155-174
- Ji-Dong G, Roman M, Esselman T, Mitchell R (1998) The role of microbial biofilms in deterioration of space station candidate materials. *International Biodeterioration & Biodegradation* **41**: 25-33
- Karak N (2012) 2 - Biodegradable polymers. In *Vegetable Oil-Based Polymers*, Karak N (ed), pp 31-53. Woodhead Publishing
- Karamanlioglu M, Houlden A, Robson GD (2014) Isolation and characterisation of fungal communities associated with degradation and growth on the surface of poly(lactic) acid (PLA) in soil and compost. *International Biodeterioration & Biodegradation* **95**: 301-310
- Kasuya K-i, Ishii N, Inoue Y, Yazawa K, Tagaya T, Yotsumoto T, Kazahaya J-i, Nagai D (2009) Characterization of a mesophilic aliphatic–aromatic copolyester-degrading fungus. *Polymer Degradation and Stability* **94**: 1190-1196
- Kerstens I, Maestrojuan GM, Torck U, Vancanneyt M, Kersters K, Verstraete W (1994) Isolation of *Coprothermobacter proteolyticus* from an Anaerobic Digest and Further Characterization of the Species. *Systematic and Applied Microbiology* **17**: 289-295

- Kijchavengkul T, Auras R, Rubino M, Alvarado E, Camacho Montero JR, Rosales JM (2010) Atmospheric and soil degradation of aliphatic–aromatic polyester films. *Polymer Degradation and Stability* **95**: 99-107
- Kim H-S, Kim H-J, Lee J-W, Choi I-G (2006) Biodegradability of bio-flour filled biodegradable poly(butylene succinate) bio-composites in natural and compost soil. *Polymer Degradation and Stability* **91**: 1117-1127
- Kim YD, Kim SC (1998) Effect of chemical structure on the biodegradation of polyurethanes under composting conditions. *Polymer Degradation and Stability* **62**: 343-352
- Korawit Chaisu, Albert Linton Charles, Yuan-Kuang Guu, Chiu C-H (2012). Optimization of Poly Lactic Acid (PLA) Plastic Degradation by *Aneurinibacillus Migulanus* Using Response Surface Methodology. *International Conference on Biological and Life Sciences*; Singapore. IACSIT Press.
- Krzan A, Hemjinda S, Miertus S, Corti A, Chiellini E (2006) Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Polymer Degradation and Stability* **91**: 2819-2833
- Kunioka M, Ninomiya F, Funabashi M (2006) Biodegradation of poly(lactic acid) powders proposed as the reference test materials for the international standard of biodegradation evaluation methods. *Polymer Degradation and Stability* **91**: 1919-1928
- Kuntanoo K., S. Promkotra, Kaewkannetra P (2013) Biodegradation of Polyhydroxybutyrate-Co-Hydroxyvalerate (PHBV) Blended with Natural Rubber in Soil Environment. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* **7**: 1749-1753

- Lee KM, Gimore DF, Huss MJ (2005) Fungal Degradation of the Bioplastic PHB (Poly-3-hydroxy- butyric acid). *Journal of Polymers and the Environment* **13**: 213-219
- Leejarkpai T, Suwanmanee U, Rudeekit Y, Mungcharoen T (2011) Biodegradable kinetics of plastics under controlled composting conditions. *Waste Manag* **31**: 1153-1161
- Lenglet S, Li S, Vert M (2009) Lipase-catalysed degradation of copolymers prepared from ϵ -caprolactone and dl-lactide. *Polymer Degradation and Stability* **94**: 688-692
- Liu C-H, Huang C-C, Wang Y-W, Chang J-S (2012) Optimizing lipase production from isolated Burkholderia sp. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **43**: 511-516
- Liu L, Yu J, Cheng L, Yang X (2009) Biodegradability of poly(butylene succinate) (PBS) composite reinforced with jute fibre. *Polymer Degradation and Stability* **94**: 90-94
- Lu DR (2009) Starch-based completely biodegradable polymer materials. *eXPRESS Polymer Letters* **3**: 366-375
- Lucas N, Bienaime C, Belloy C, Queneudec M, Silvestre F, Nava-Saucedo JE (2008) Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere* **73**: 429-442
- Lunt J (1998) Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. *Polymer Degradation and Stability* **59**: 145-152

- Luo S, Netravali AN (2003) A study of physical and mechanical properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) during composting. *Polymer Degradation and Stability* **80**: 59-66
- Mabrouk MM, Sabry SA (2001) Degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and its copolymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by a marine *Streptomyces* sp. SNG9. *Microbiological Research* **156**: 323-335
- Madhavan Nampoothiri K, Nair NR, John RP (2010) An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresour Technol* **101**: 8493-8501
- Massardier-Nageotte V, Pestre C, Cruard-Pradet T, Bayard R (2006) Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization. *Polymer Degradation and Stability* **91**: 620-627
- Mathew AP, Okasman K, Sain M (2005) Mechanical properties of biodegradable composites from poly lactic acid (PLA) and microcrystalline cellulose (MCC). *Journal of Applied Polymer Science* **97**: 2014-2025
- Matsumiya Y, Wakita D, Kimura A, Sanpa S, Kubo M (2007) Isolation and characterization of a lipid-degrading bacterium and its application to lipid-containing wastewater treatment. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **103**: 325-330
- Mergaert J, Swings J (1996) Biodiversity of microorganisms that degrade bacterial and synthetic polyesters. *Journal of Industrial Microbiology and biotechnology* **17**: 463-469.
- Mooney BP (2009) The second green revolution? Production of plant-based biodegradable plastics. *Biochem J* **418**: 219-232

- Nakajima-Kambe T, Ichihashi F, Matsuzoe R, Kato S, Shintani N (2009) Degradation of aliphatic–aromatic copolyesters by bacteria that can degrade aliphatic polyesters. *Polymer Degradation and Stability* **94**: 1901-1905
- Niaounakis M (2015) Chapter 1 - Introduction. In *Biopolymers: Processing and Products*, Niaounakis M (ed), pp 1-77. Oxford: William Andrew Publishing
- Novotný Č, Erbanová P, Sezimová H, Malachová K, Rybková Z, Malinová L, Prokopová I, Brožek J (2015) Biodegradation of aromatic-aliphatic copolyesters and polyesteramides by esterase activity-producing microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation* **97**: 25-30
- Ohura T, Aoyagi Y, Takagi K-i, Yoshida Y, Kasuya K-i, Doi Y (1999) Biodegradation of poly(3-hydroxyalkanoic acids) fibers and isolation of poly(3-hydroxybutyric acid)-degrading microorganisms under aquatic environments. *Polymer Degradation and Stability* **63**: 23-29
- Pamuła E, Błażewicz M, Paluszkiewicz C, Dobrzyński P (2001) FTIR study of degradation products of aliphatic polyesters–carbon fibres composites. *Journal of Molecular Structure* **596**: 69-75
- Peng S, An Y, Chen C, Fei B, Zhuang Y, Dong L (2003) Isothermal crystallization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *European Polymer Journal* **39**: 1475-1480
- Peng Zhao, Wanqiang Liu, Qingsheng Wu, Ren J (2010) Preparation, Mechanical, and Thermal Properties of Biodegradable Polyesters/Poly(Lactic Acid) Blends. *Journal of Nanomaterials*

- Petinakis E, Liu X, Yu L, Way C, Sangwan P, Dean K, Bateman S, Edward G (2010) Biodegradation and thermal decomposition of poly(lactic acid)-based materials reinforced by hydrophilic fillers. *Polymer Degradation and Stability* **95**: 1704-1707
- Phithakrotchanakoon C, Rudeekit Y, Tanapongpipat S, Leejakpai T, Aiba S-i, Noda I, Champreda V (2009) Microbial degradation and physico-chemical alteration of polyhydroxyalkanoates by a thermophilic *Streptomyces* sp. *Biologia* **64**: 246-251
- Phua YJ, Lau NS, Sudesh K, Chow WS, Mohd Ishak ZA (2012) Biodegradability studies of poly(butylene succinate)/organo-montmorillonite nanocomposites under controlled compost soil conditions: Effects of clay loading and compatibiliser. *Polymer Degradation and Stability* **97**: 1345-1354
- Phukon P, Saikia JP, Konwar BK (2012) Bio-plastic (P-3HB-co-3HV) from *Bacillus circulans* (MTCC 8167) and its biodegradation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **92**: 30-34
- Rosa DS, Filho RP, Chui QSH, Calil MR, Guedes CGF (2003) The biodegradation of poly- β -(hydroxybutyrate), poly- β -(hydroxybutyrate-co- β -valerate) and poly(ϵ -caprolactone) in compost derived from municipal solid waste. *European Polymer Journal* **39**: 233-237
- Rudnik E, Briassoulis D (2011) Degradation behaviour of poly(lactic acid) films and fibres in soil under Mediterranean field conditions and laboratory simulations testing. *Industrial Crops and Products* **33**: 648-658
- Sakai K, Kawano H, Iwami A, Nakamura M, Moriguchi M (2001) Isolation of a thermophilic poly-L-lactide degrading bacterium from compost and its

enzymatic characterization. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **92**: 298-300

Sarasa J, Gracia JM, Javierre C (2009) Study of the biodisintegration of a bioplastic material waste. *Bioresource Technology* **100**: 3764-3768

Shah AA, Eguchi T, Mayumi D, Kato S, Shintani N, Kamini NR, Nakajima-Kambe T (2013) Purification and properties of novel aliphatic-aromatic co-polyesters degrading enzymes from newly isolated *Roseateles depolymerans* strain TB-87. *Polymer Degradation and Stability* **98**: 609-618

Shah AA, Hasan F, Hameed A (2010) Degradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by a newly isolated *Actinomadura* sp. AF-555, from soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* **64**: 281-285

Shah AA, Hasan F, Hameed A, Ahmed S (2007) Isolation and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) degrading bacteria and purification of PHBV depolymerase from newly isolated *Bacillus* sp. AF3. *International Biodeterioration & Biodegradation* **60**: 109-115

Shah AA, Hasan F, Hameed A, Ahmed S (2008) Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnol Adv* **26**: 246-265

Sin LT, Rahmat Abdul R, Rahman Wan AWA (2013) 3 - Applications of Poly(lactic Acid). In *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics*, Ebnesajjad S (ed), pp 55-69. Boston: William Andrew Publishing

Singh B, Sharma N (2008) Mechanistic implications of plastic degradation. *Polymer Degradation and Stability* **93**: 561-584

- Siracusa V, Rocculi P, Romani S, Rosa MD (2008) Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology* **19**: 634-643
- Sukkhum S, Tokuyama S, Kitpreechavanich V (2009) Development of fermentation process for PLA-degrading enzyme production by a new thermophilic *Actinomadura* sp. T16-1. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* **14**: 302-306
- Tabrez Khan S, Hiraishi A (2001) Isolation and characterization of a new poly(3-hydroxybutyrate)-degrading, denitrifying bacterium from activated sludge. *FEMS Microbiology Letters* **205**: 253-257
- Tan L, Yu X, Wan P, Yang K (2013) Biodegradable Materials for Bone Repairs: A Review. *Journal of Materials Science & Technology* **29**: 503-513
- Tandishabo K, Nakamura K, Umetsu K, Takamizawa K (2012) Distribution and role of *Coprothermobacter* spp. in anaerobic digesters. *Journal of bioscience and bioengineering* **114**: 518-520
- Tao J, Song C, Cao M, Hu D, Liu L, Liu N, Wang S (2009) Thermal properties and degradability of poly(propylene carbonate)/poly(β -hydroxybutyrate-co- β -hydroxyvalerate) (PPC/PHBV) blends. *Polymer Degradation and Stability* **94**: 575-583
- Tsuji H, Suzuyoshi K (2002) Environmental degradation of biodegradable polyesters 1. Poly(ϵ -caprolactone), poly[(R)-3-hydroxybutyrate], and poly(L-lactide) films in controlled static seawater. *Polymer Degradation and Stability* **75**: 347-355

- Urtuvia V, Villegas P, González M, Seeger M (2014) Bacterial production of the biodegradable plastics polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules* **70**: 208-213
- Van de Velde K, Kiekens P (2002) Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. *Polymer Testing* **21**: 433-442
- Vieira MGA, da Silva MA, dos Santos LO, Beppu MM (2011) Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal* **47**: 254-263
- Volova TG, Boyandin AN, Vasiliev AD, Karpov VA, Prudnikova SV, Mishukova OV, Boyarskikh UA, Filipenko ML, Rudnev VP, Bá Xuân B, Việt Dũng V, Gitelson II (2010) Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in tropical coastal waters and identification of PHA-degrading bacteria. *Polymer Degradation and Stability* **95**: 2350-2359
- Volova TG, Gladyshev MI, Trusova MY, Zhila NO (2007) Degradation of polyhydroxyalkanoates in eutrophic reservoir. *Polymer Degradation and Stability* **92**: 580-586
- Wang S, Ma P, Wang R, Wang S, Zhang Y, Zhang Y (2008) Mechanical, thermal and degradation properties of poly(d,l-lactide)/poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)/poly(ethylene glycol) blend. *Polymer Degradation and Stability* **93**: 1364-1369
- Wang Y, Yin J, Chen G-Q (2014) Polyhydroxyalkanoates, challenges and opportunities. *Current Opinion in Biotechnology* **30**: 59-65
- Weng Y-X, Jin Y-J, Meng Q-Y, Wang L, Zhang M, Wang Y-Z (2013) Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions. *Polymer Testing* **32**: 918-926

- Weng Y-X, Wang X-L, Wang Y-Z (2011) Biodegradation behavior of PHAs with different chemical structures under controlled composting conditions. *Polymer Testing* **30**: 372-380
- Weng Y-X, Wang Y, Wang X-L, Wang Y-Z (2010) Biodegradation behavior of PHBV films in a pilot-scale composting condition. *Polymer Testing* **29**: 579-587
- Wu C-S (2012) Characterization of cellulose acetate-reinforced aliphatic–aromatic copolyester composites. *Carbohydrate Polymers* **87**: 1249-1256
- Yagi H, Ninomiya F, Funabashi M, Kunioka M (2009) Anaerobic biodegradation tests of poly(lactic acid) under mesophilic and thermophilic conditions using a new evaluation system for methane fermentation in anaerobic sludge. *Int J Mol Sci* **10**: 3824-3835
- Yagi H, Ninomiya F, Funabashi M, Kunioka M (2010) Bioplastic biodegradation activity of anaerobic sludge prepared by preincubation at 55°C for new anaerobic biodegradation test. *Polymer Degradation and Stability* **95**: 1349-1355
- Yagi H, Ninomiya F, Funabashi M, Kunioka M (2013) Thermophilic anaerobic biodegradation test and analysis of eubacteria involved in anaerobic biodegradation of four specified biodegradable polyesters. *Polymer Degradation and Stability* **98**: 1182-1187
- Yu ST, Lin CC, Too JR (2005) PHBV production by *Ralstonia eutropha* in a continuous stirred tank reactor. *Process Biochemistry* **40**: 2729-2734
- Zhang Z, Ortiz O, Goyal R, Kohn J (2014) 13 - Biodegradable Polymers. In *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices*, Ebnesajjad KM (ed), pp 303-335. Oxford: William Andrew Publishing

นาวิน เนสุสินธุ์ (2554) การย่อยสลายของพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพในดินจากบ่อฝังกลบขยะผสมกากตะกอนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต Thesis, วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม(สหสาขาวิชา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

ไพโรจน์ วิริยจारी (2555) การออกแบบการทดลองขั้นสูง *Advance experimental design*, ครั้งที่ 2 edn. เชียงใหม่: ทริโอ แอดเวอร์ไทซิ่ง แอนด์ มีเดีย.

สาธินี ศิริวัฒน์ (2553) ภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายทางชีวภาพของบรรจุภัณฑ์ชนิดพอลิแลคติกแอซิดและเยื่อชานอ้อยและผลของการย่อยสลายต่อประชาคมแบคทีเรียในดิน. วิทยาสตรมหาบัณฑิต Thesis, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก
สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

70% เอทานอล

99.9% เอทานอล	700	มิลลิลิตร
น้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ	20	มิลลิลิตร

บัฟเฟอร์ TAE ความเข้มข้น 50 เท่า

Tris base ($C_4H_{11}NO_3$)	242	กรัม
EDTA pH 8.0 เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์	100	มิลลิลิตร
กรดอะซิติกเข้มข้น	57.1	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตรปริมาตร 800 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารละลาย EDTA pH 8.0 เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์

EDTA	18.164	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	20	กรัม

ละลาย EDTA ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ ปริมาตร 800 มิลลิลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) คนให้เข้ากัน ทิ้งให้เย็น แล้วปรับ pH 8.0 หลังจากนั้นเติมน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอธิเดียมโบรไมด์ เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	20	ไมโครลิตร
น้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ	200	มิลลิลิตร

ละลายเอธิเดียมโบรไมด์กับน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้เข้ากัน เก็บในที่มืดในภาชนะปิดสนิท

สารละลายสำหรับเตรียมเจลอะคริลาไมด์ สำหรับ DGGE

0% Denaturing solution .ใน 8% อะคริลาไมด์เจล

40% อะคริลาไมด์เจล/ปีส	20	มิลลิลิตร
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 50 เท่า	2	มิลลิลิตร
น้ำปลอดประจุ	78	มิลลิลิตร

100% Denaturing solution .ใน 8% อะคริลาไมด์เจล

40% อะคริลาไมด์เจล/ปีส	20	มิลลิลิตร
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 50 เท่า	2	มิลลิลิตร
ฟอร์มามาไมด์	40	มิลลิลิตร
ยูเรีย	42	กรัม
เติมน้ำปลอดประจุจนครบ 100 มิลลิลิตร		

ภาคผนวก ข

ผลวิเคราะห์ทางสถิติจากโปรแกรม Design Expert V7 (trial version)

พลาสติกชีวภาพชนิด PHBV

ตารางที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์ผลกระทบของร้อยละตะกอนชีวภาพในตัวอย่าง (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (X_3) ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PHBV ใน 30 วัน

Analysis of variance table						
Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F-value	P-value	
Model	9	11906.75	1322.97	56.78	< 0.0001	significant
X_1	1	1662.81	1662.81	71.36	< 0.0001	significant
X_2	1	9147.60	9147.60	392.58	< 0.0001	significant
X_3	1	76.23	76.23	3.27	0.1081	
X_1X_2	1	517.62	517.62	22.21	0.0015	significant
X_1X_3	1	29.45	29.45	1.26	0.2935	
X_2X_3	1	8.38	8.38	0.36	0.5652	
X_1^2	1	84.20	84.20	3.61	0.0938	
X_2^2	1	159.59	159.59	6.85	0.0308	significant
X_3^2	1	20.43	20.43	0.88	0.3765	
Residual	8	186.41	23.30			
Lack of Fit	5	159.92	31.98	3.62	0.1593	Not significant
Pure Error	3	26.49	8.83			
Corrected	17	12093.16				
Total						

พลาสติกชีวภาพชนิด PLA

ตารางที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์ผลกระทบของร้อยละตะกอนชีวภาพในตัวกลาง (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (X_3) ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PLA ใน 30 วัน

Analysis of variance table						
Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F-value	P-value	
Model	9	144.7	16.09	254.92	< 0.0001	significant
X_1	1	0.11	0.11	1.77	0.2197	
X_2	1	139.35	139.35	22.8.45	< 0.0001	significant
X_3	1	4.949E-004	4.949E-004	7.843E-003	0.9316	
X_1X_2	1	6.927E-004	6.927E-004	0.011	0.9191	
X_1X_3	1	4.348E-007	4.348E-007	6.890E-006	0.9980	
X_2X_3	1	1.041E-005	1.041E-005	1.065E-004	0.9901	
X_1^2	1	9.583E-003	9.583E-003	0.15	0.7069	
X_2^2	1	3.68	3.68	58.31	< 0.0001	significant
X_3^2	1	0.018	0.018	0.28	0.6094	
Residual	8	0.50	0.063			
Lack of Fit	5	0.44	0.088	4.04	0.1400	Not significant
Pure Error	3	0.065	0.022			
Corrected Total	17	145.27				

พลาสติกชีวภาพชนิด PBS

ตารางที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ผลกระทบของร้อยละตะกอนชีวภาพในตัวกลาง (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (X_3) ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBS ใน 30 วัน

Analysis of variance table						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	P-value	
Model	281.85	9	31.32	19.01	0.0002	significant
X_1	1.50	1	1.50	0.91	0.3682	
X_2	248.40	1	248.40	150.80	< 0.0001	significant
X_3	3.87	1	3.87	2.35	0.1639	
X_1X_2	0.26	1	0.26	0.16	0.7000	
X_1X_3	3.613E-003	1	3.613E-003	2.193E-003	0.9638	
X_2X_3	0.025	1	0.025	0.015	0.9044	
X_1^2	16.66	1	16.66	10.12	0.0130	significant
X_2^2	15.16	1	15.16	9.20	0.0162	significant
X_3^2	2.96	1	2.96	1.80	0.2169	
Residual	13.18	8	1.65			
Lack of Fit	11.27	5	2.25	3.55	0.1631	Not significant
Pure Error	1.91	3	0.64			
Corrected Total	295.03	17				

พลาสติกชีวภาพชนิด PBAT

ตารางที่ ข.4 ผลการวิเคราะห์ผลกระทบของร้อยละตะกอนชีวภาพในตัวกลาง (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และค่าร้อยละออกซิเจนเริ่มต้นในขวดทดลอง (X_3) ต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของ PBAT ใน 30 วัน

Analysis of variance table						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F- value	P- value	
Model	28.96	9	9.65	33.95	< 0.0001	significant
X_1	0.10	1	0.10	0.36	0.5588	
X_2	28.32	1	28.32	99.62	< 0.0001	significant
X_3	0.53	1	0.53	1.86	0.1941	
Residual	3.98	14	0.28			
Lack of Fit	3.70	11	0.34	3.54	0.1631	Not significant
Pure Error	0.28	3	0.095			
Corrected Total	32.94	17				

ภาคผนวก ค

ตารางแสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปและค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรง

ภาคผนวก ค.1 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ในเวลา 90 วัน ภายใต้สภาวะทดสอบ

ตารางที่ ค.1.1 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PHBV ในเวลา 90 วัน

เวลา	%weight loss (ซ้ำที่ 1)	%weight loss (ซ้ำที่ 2)	%weight loss (ซ้ำที่ 3)	ค่าเฉลี่ย	SD
15	44.98	31.94	31.76	36.23	7.58
30	83.13	84.30	82.38	83.27	0.97
45	96.17	95.86	96.69	96.24	0.42
60	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
75	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
90	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00

ตารางที่ ค.1.2 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PLA ในเวลา 90 วัน

เวลา	%weight loss (ซ้ำที่ 1)	%weight loss (ซ้ำที่ 2)	%weight loss (ซ้ำที่ 3)	ค่าเฉลี่ย	SD
15	19.08	19.01	19.02	19.04	0.04
30	45.78	37.36	36.13	39.76	5.25
45	54.40	60.68	55.55	56.87	3.34
60	60.07	58.03	58.93	59.01	1.02
75	77.11	77.75	72.48	75.78	2.88
90	90.88	90.22	91.24	90.78	0.52

ตารางที่ ค.1.3 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PBS ในเวลา 90 วัน

เวลา	%weight loss (ซ้ำที่ 1)	%weight loss (ซ้ำที่ 2)	%weight loss (ซ้ำที่ 3)	ค่าเฉลี่ย	SD
15	2.56	3.77	2.35	2.89	0.77
30	10.09	6.28	5.39	7.25	2.49
45	8.17	10.27		9.22	1.48
60	9.78	10.06	15.42	11.75	3.18
75	14.82	13.49	13.31	13.87	0.83
90	20.17	25.63	26.32	24.04	3.37

ตารางที่ ค.1.4 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกชนิด PBAT ในเวลา 90 วัน

เวลา	%weight loss (ซ้ำที่ 1)	%weight loss (ซ้ำที่ 2)	%weight loss (ซ้ำที่ 3)	ค่าเฉลี่ย	SD
15	1.76	0.03	0.37	0.72	0.92
30	4.21	2.98	2.13	3.11	1.05
45		4.22	5.90	5.06	1.18
60	8.91	8.28	7.19	8.13	0.87
75	17.19	16.06	13.36	15.53	1.97
90	22.24	14.73	17.81	18.26	3.77

**ภาคผนวก ค.2 ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงของพลาสติกทั้ง 4 ชนิด ในเวลา 90 วัน
ภายใต้สภาวะทดสอบ**

ตาราง ค.2.1 ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงของพลาสติกชนิด PHBV ในเวลา 90 วัน

เวลา	น้ำหนัก คงเหลือ (กรัม) เฉลี่ย 3 ซ้ำ	ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ			
		ค่าเฉลี่ย ขนาด	ค่าเฉลี่ย ขนาด	ค่าเฉลี่ย ขนาด	ค่าเฉลี่ย ขนาด
		มากกว่า 6.73 มม. (3 ซ้ำ)	ระหว่าง 6.73-2 มม. (3 ซ้ำ)	ระหว่าง 2-1 มม. (3 ซ้ำ)	เล็กกว่า 1 มม. (3 ซ้ำ)
15	3.15	99.67	0.33	0	0
30	0.82	98.61	1.39	0	0
45	0.19	71.01	28.99	0	0
60	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0

ตาราง ค.2.2 ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงของพลาสติกชนิด PLA ในเวลา 90 วัน

เวลา	น้ำหนัก คงเหลือ (กรัม) เฉลี่ย 3 ซ้ำ	ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ			
		ค่าเฉลี่ย ขนาด	ค่าเฉลี่ย ขนาด	ค่าเฉลี่ย ขนาด	ค่าเฉลี่ย ขนาด
		มากกว่า 6.73 มม. (3 ซ้ำ)	ระหว่าง 6.73-2 มม. (3 ซ้ำ)	ระหว่าง 2-1 มม. (3 ซ้ำ)	เล็กกว่า 1 มม. (3 ซ้ำ)
15	4.02	12.16	44.98	26.47	16.39
30	2.99	7.38	41.43	28.03	23.16
45	2.14	0	32.1	35.57	32.33
60	2.03	0	23.04	39.17	37.79
75	1.20	0	6.51	39.53	53.96
90	0.46	0	0	9.53	90.47

ตาราง ค.2.3 ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงของพลาสติกชนิด PBS ในเวลา 90 วัน

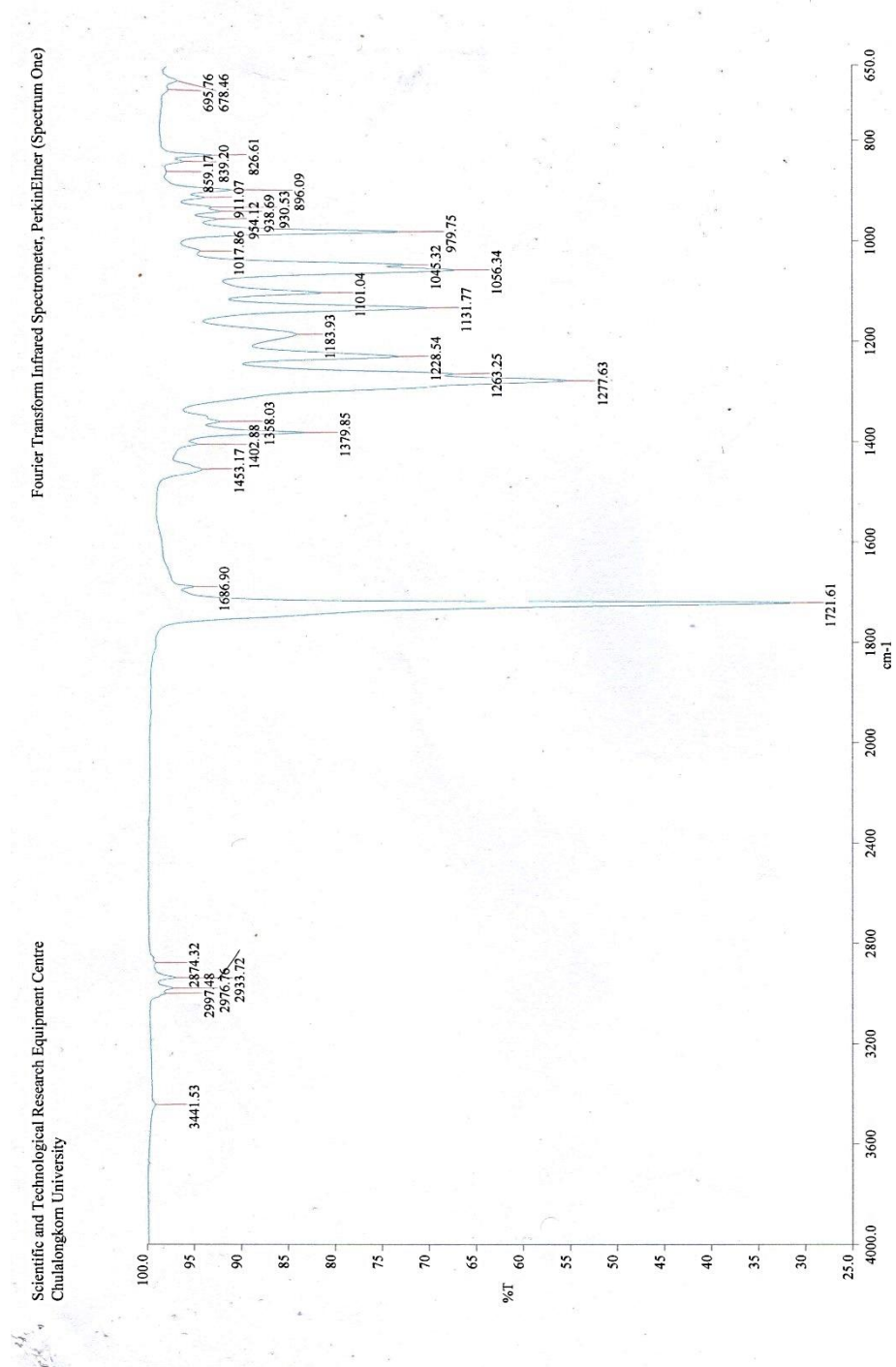
เวลา	น้ำหนัก คงเหลือ (กรัม) เฉลี่ย 3 ซ้ำ	ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ			
		ค่าเฉลี่ย ขนาด มากกว่า 6.73 มม. (3 ซ้ำ)	ค่าเฉลี่ย ขนาด ระหว่าง 6.73-2 มม. (3 ซ้ำ)	ค่าเฉลี่ย ขนาด ระหว่าง 2-1 มม. (3 ซ้ำ)	ค่าเฉลี่ย ขนาด เล็กกว่า 1 มม. (3 ซ้ำ)
		15	4.85	99.36	0.64
30	4.66	96.34	3.66	0	0
45	4.52	90.87	8.73	0.4	0
60	4.42	59.34	30.35	8.47	1.83
75	4.32	48.87	28.83	15.99	6.32
90	3.77	42.40	33.05	19.65	4.90

ตาราง ค.2.4 ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงของพลาสติกชนิด PBAT ในเวลา 90 วัน

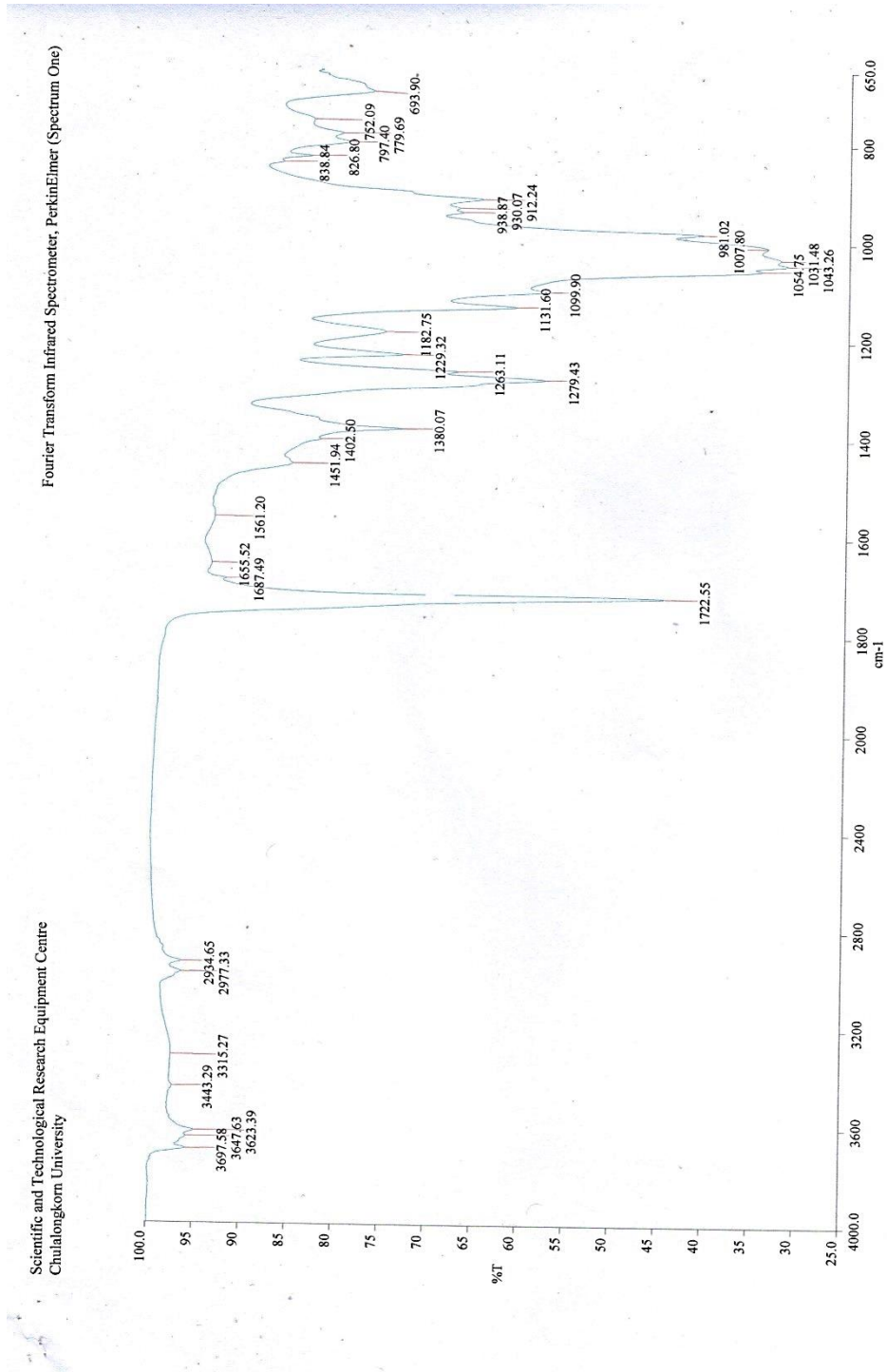
เวลา	น้ำหนัก คงเหลือ (กรัม) เฉลี่ย 3 ซ้ำ	ค่าร้อยละสัดส่วนการร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่างๆ			
		ค่าเฉลี่ย ขนาด มากกว่า 6.73 มม. (3 ซ้ำ)	ค่าเฉลี่ย ขนาด ระหว่าง 6.73-2 มม. (3 ซ้ำ)	ค่าเฉลี่ย ขนาด ระหว่าง 2-1 มม. (3 ซ้ำ)	ค่าเฉลี่ย ขนาด เล็กกว่า 1 มม. (3 ซ้ำ)
		15	5.09	100	0
30	4.84	100	0	0	0
45	4.81	98.56	1.44	0	0
60	4.68	92.54	7.02	0.40	0.04
75	4.30	63.51	26.96	7.63	1.90
90	4.10	59.38	27.23	11.64	1.75

ภาคผนวก ง
อินฟราเรดสเปกตรัมจากเครื่อง FTIR

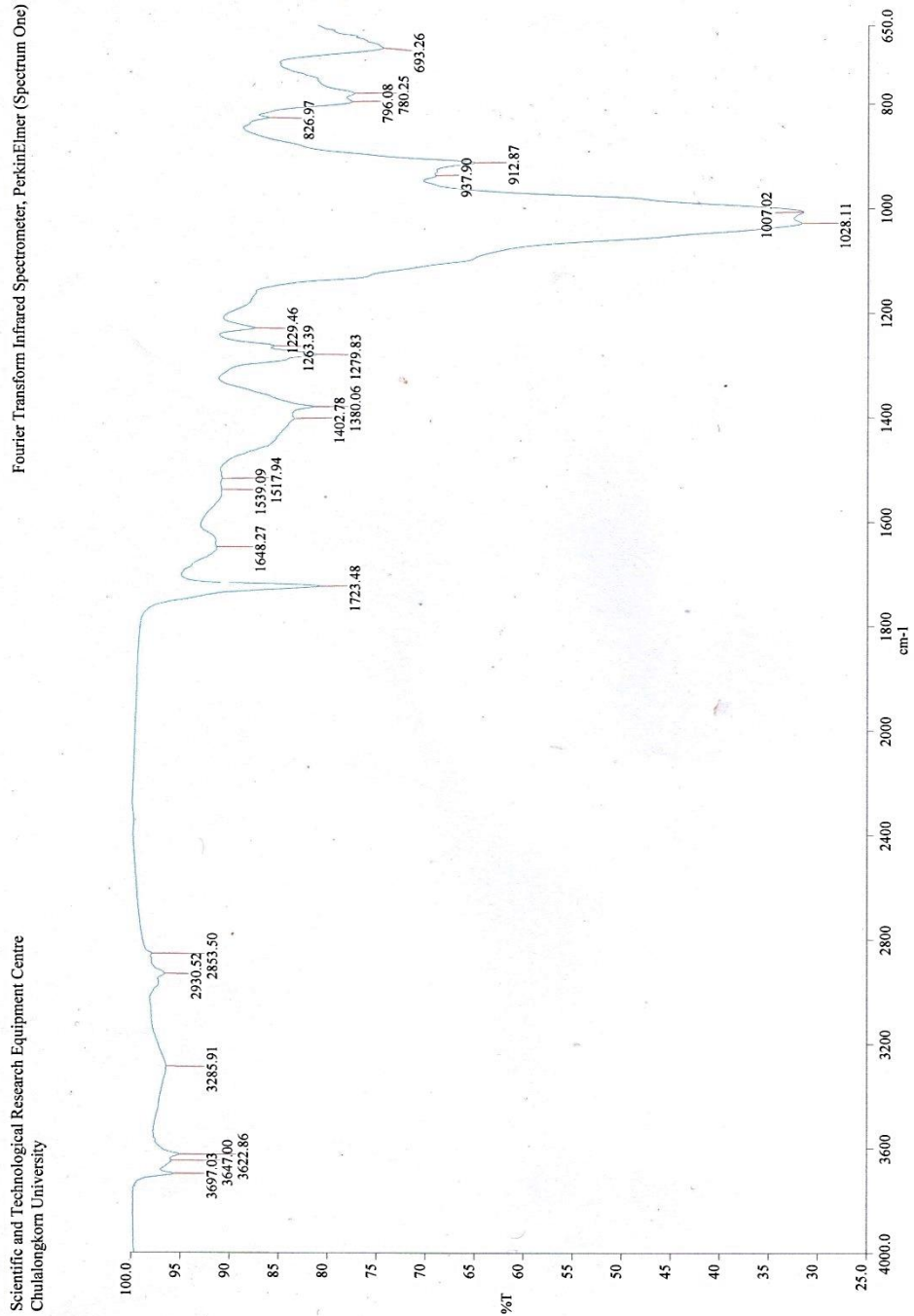
รูปที่ ง.1 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PHVB ตัวควบคุม (ก่อนการฝัง)



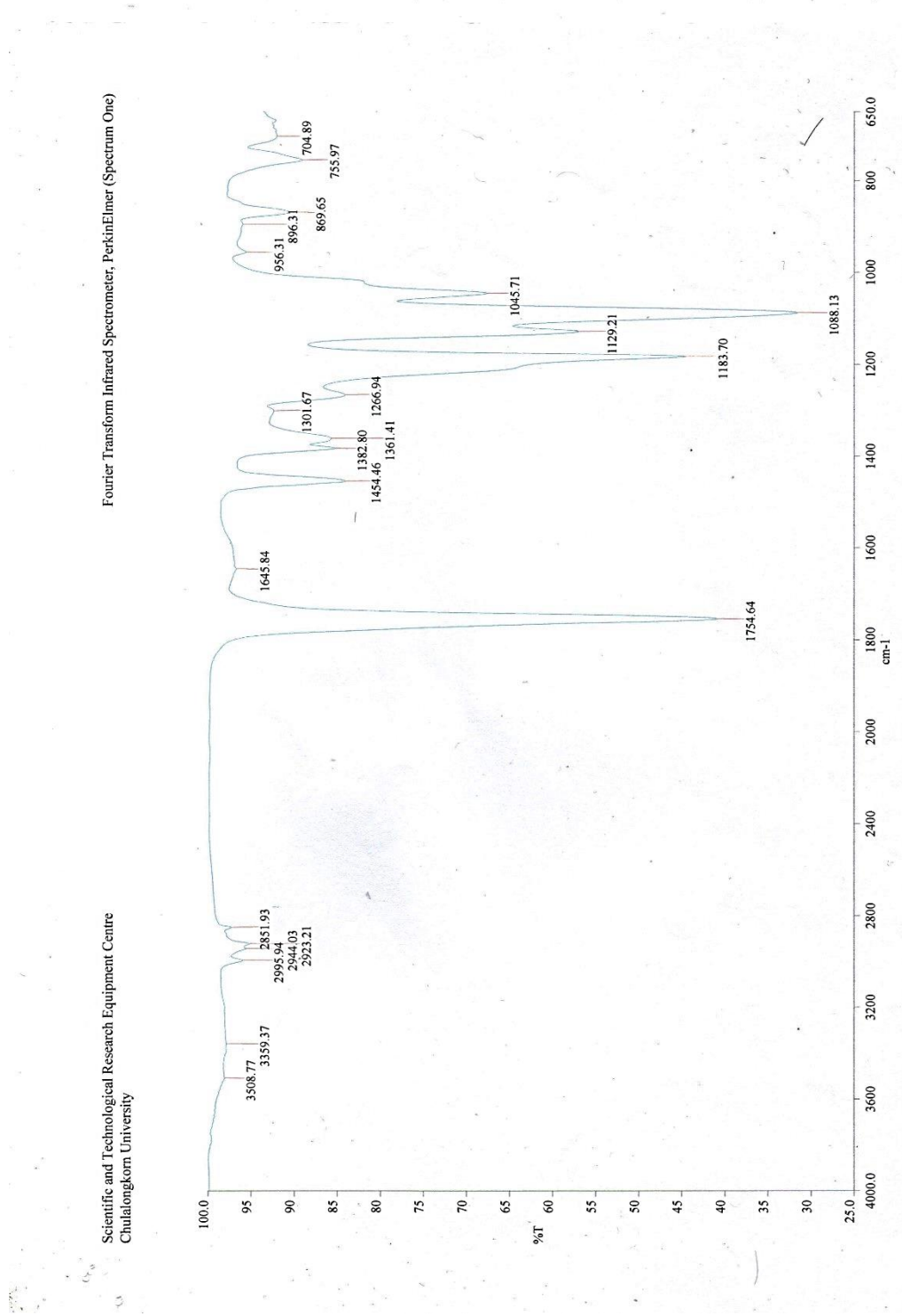
รูปที่ ง.2 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PHVB หลังการฝัง 30 วัน



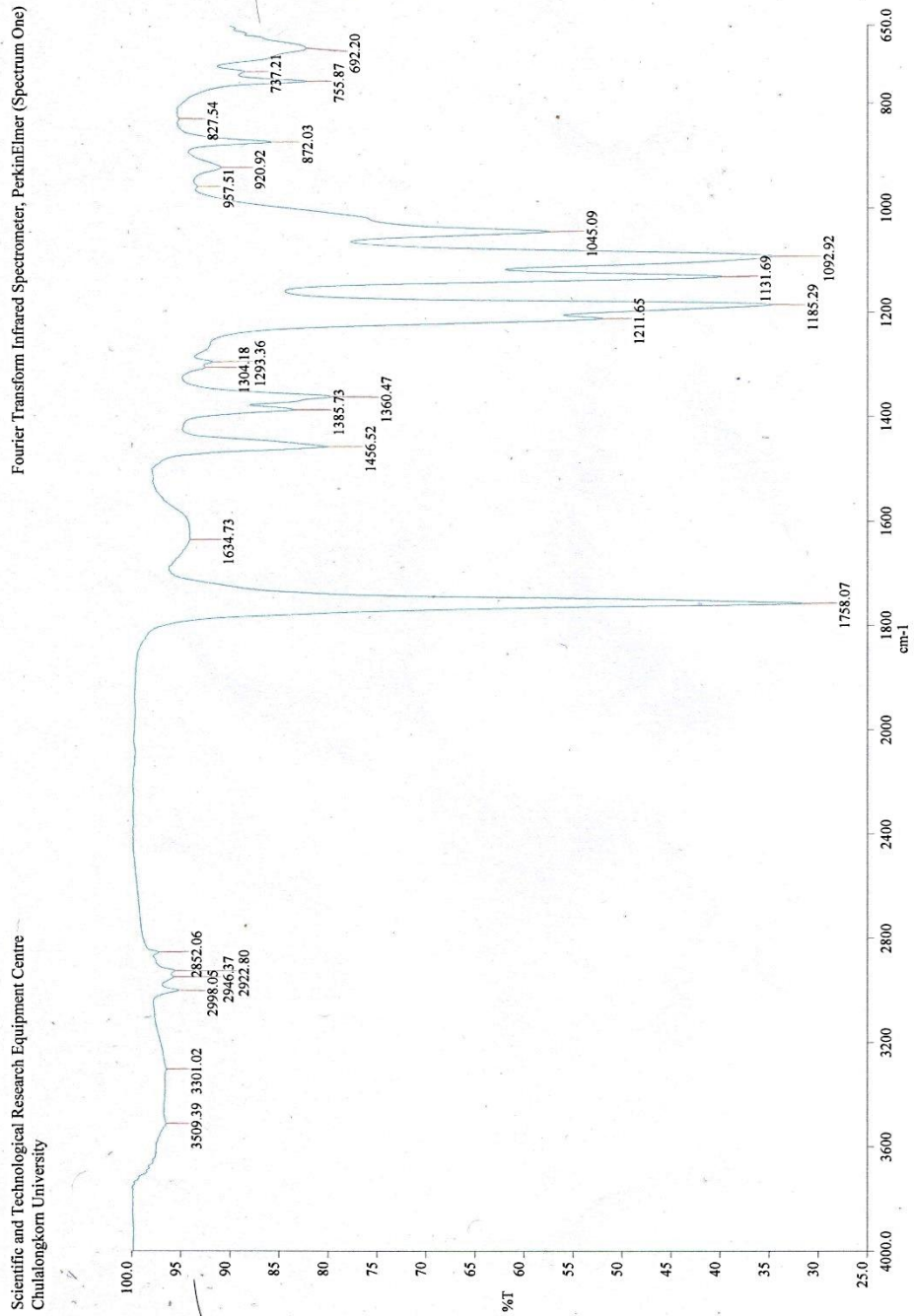
รูปที่ ๓.3 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PHVB หลังการฝัง 45 วัน



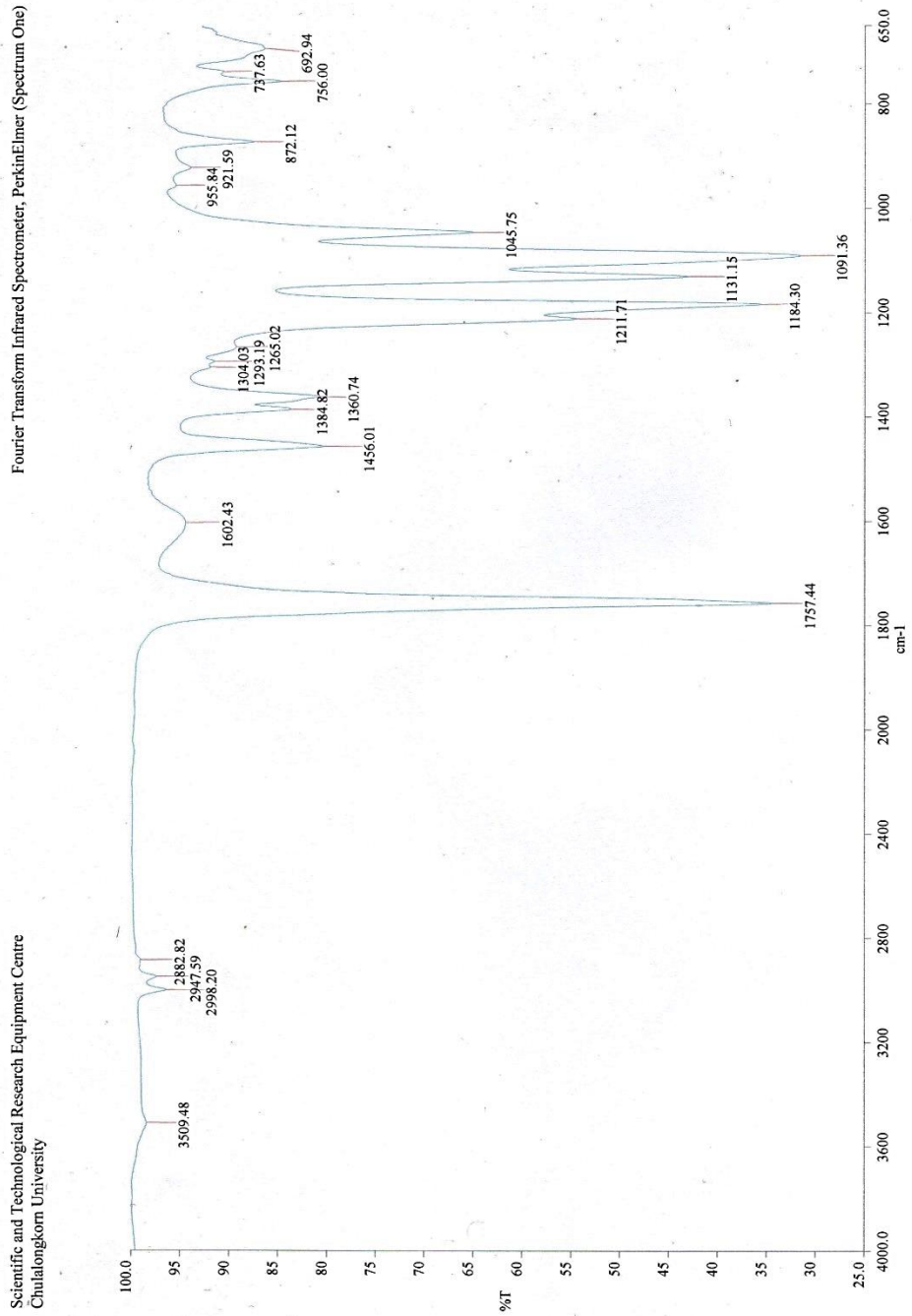
รูปที่ ง.4 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ตัวควบคุม (ก่อนการฝัง)



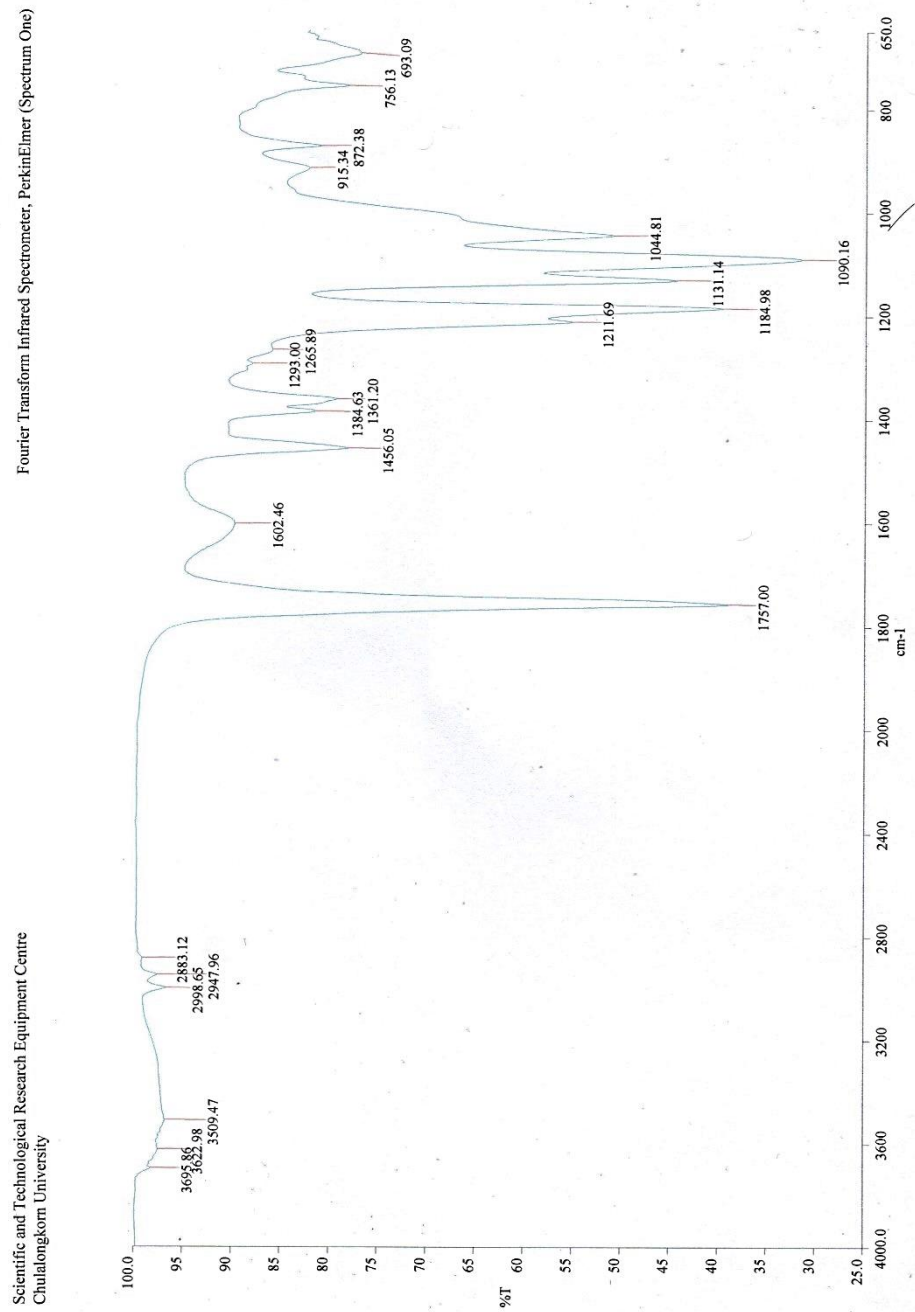
รูปที่ ๓.5 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA หลังการฝัง 30 วัน



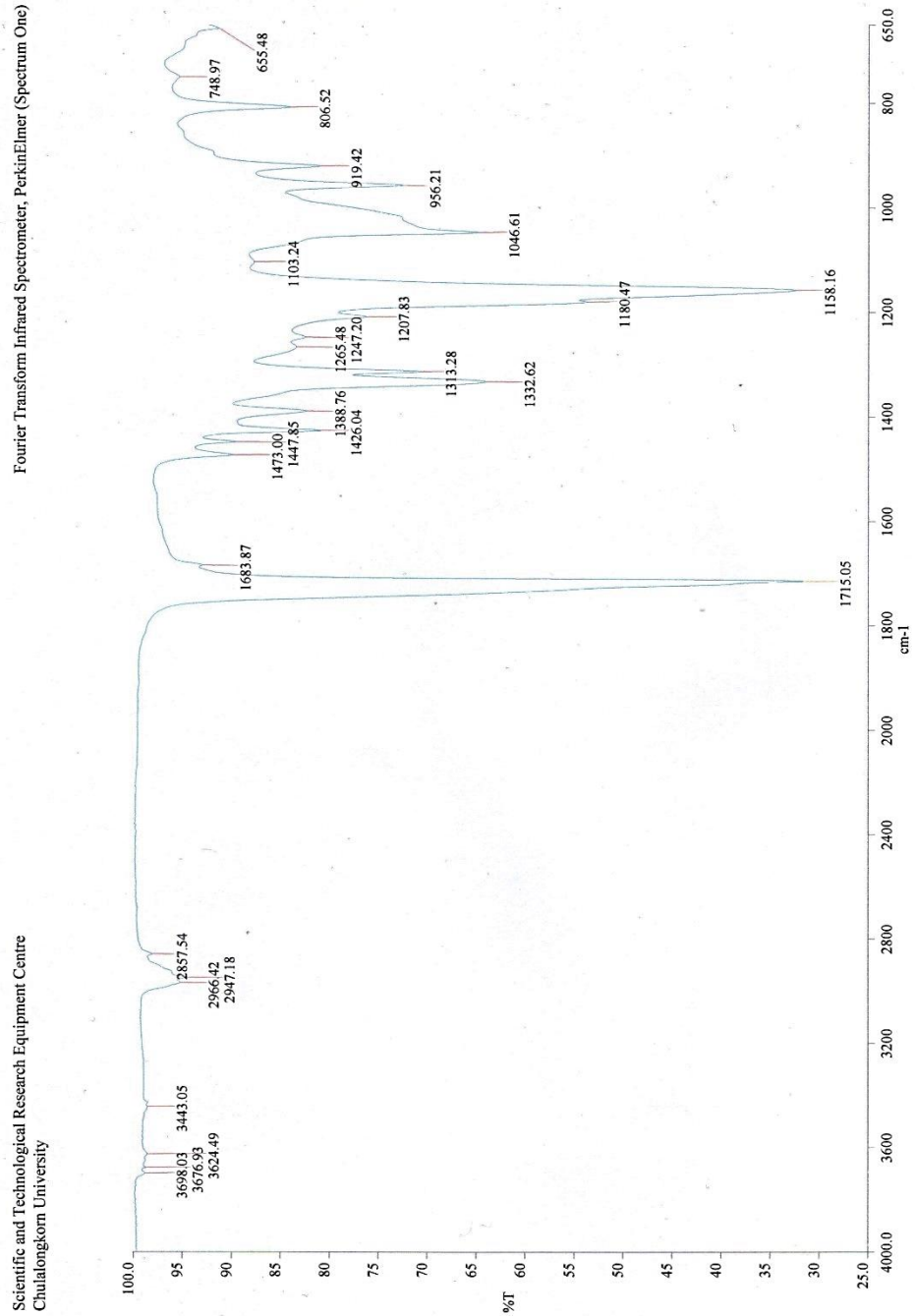
รูปที่ ง.6 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA หลังการฝัง 60 วัน



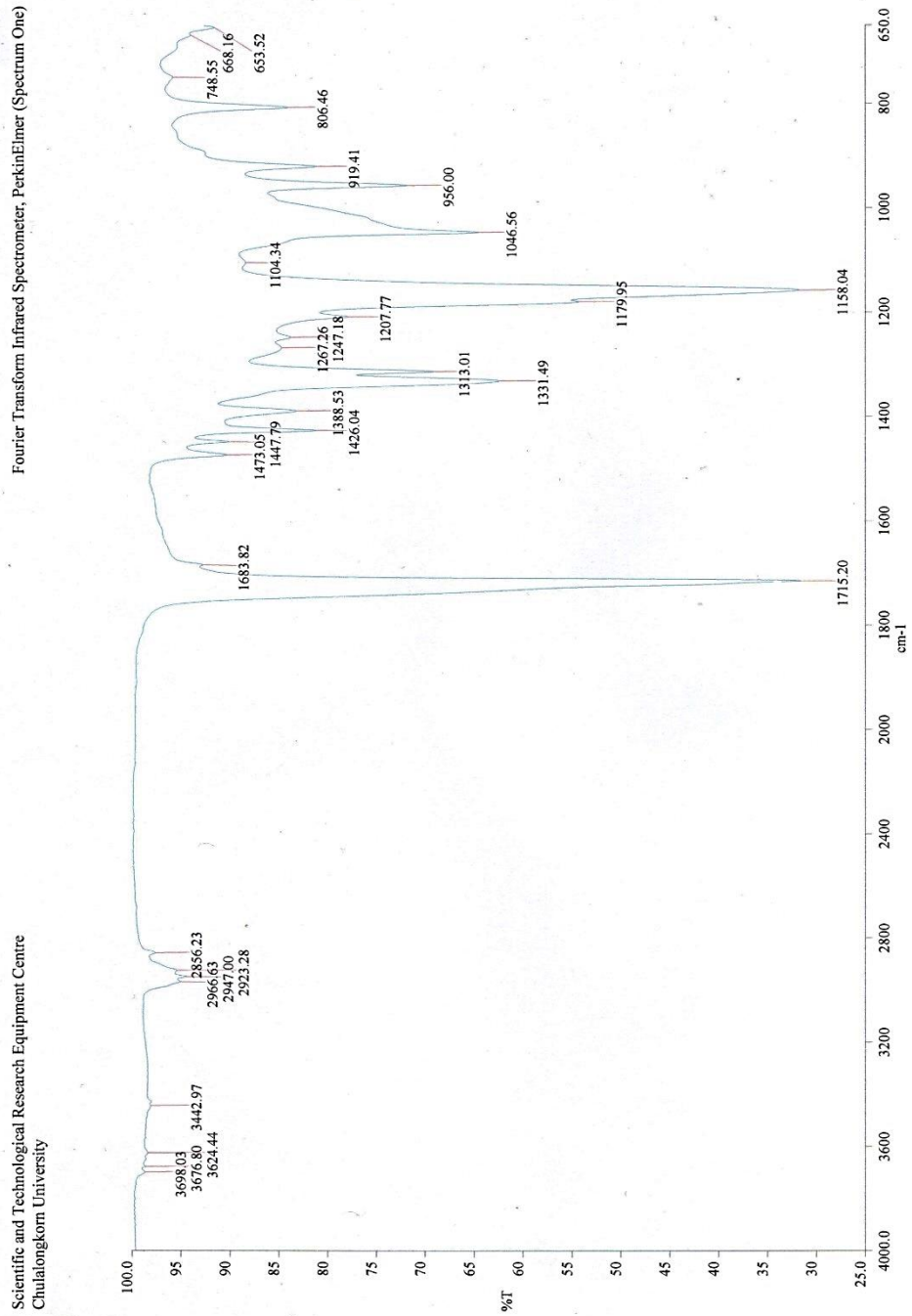
รูปที่ ง.7 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PLA หลังการฝัง 90 วัน



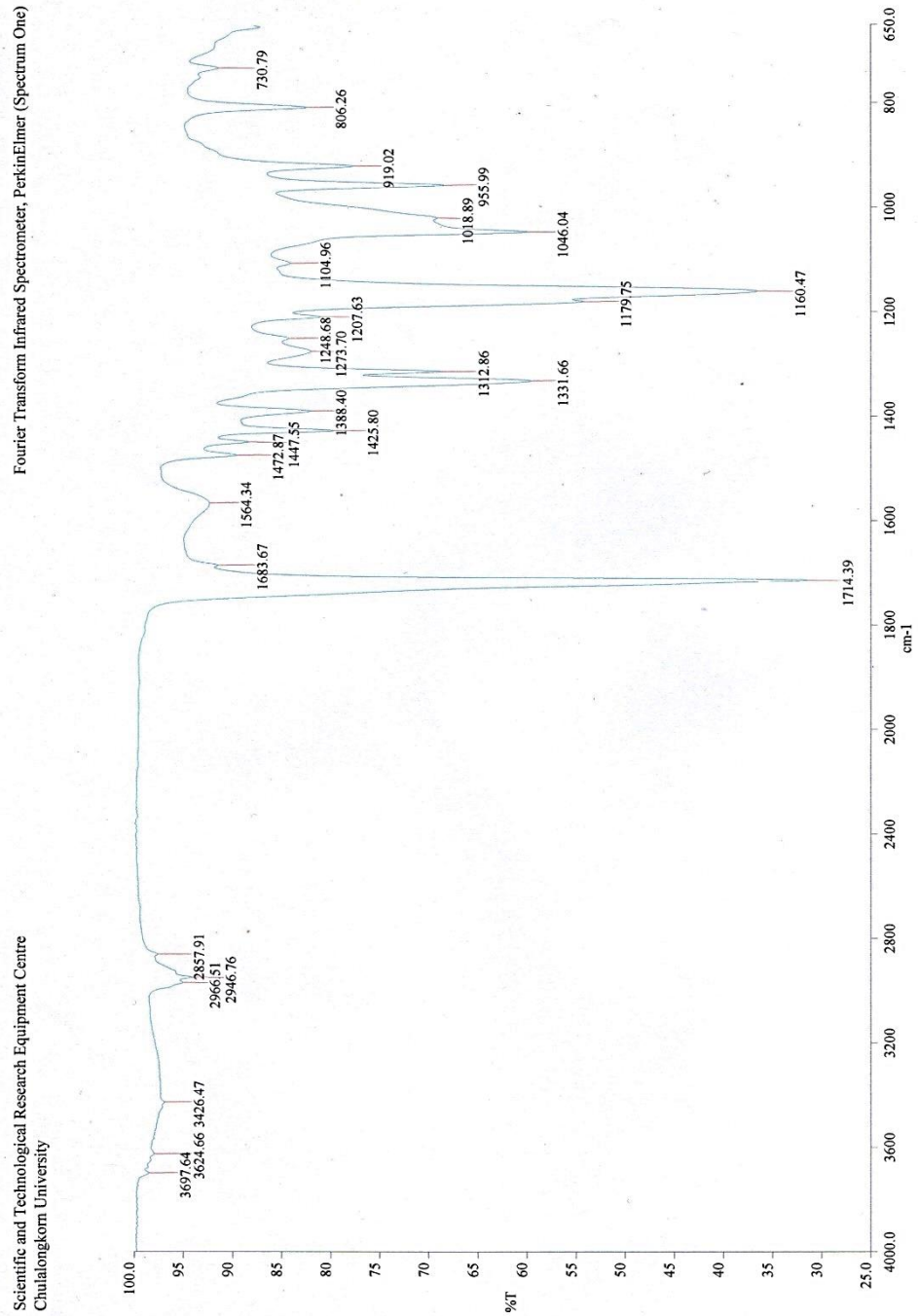
รูปที่ ง.8 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ตัวควบคุม (ก่อนการฝัง)



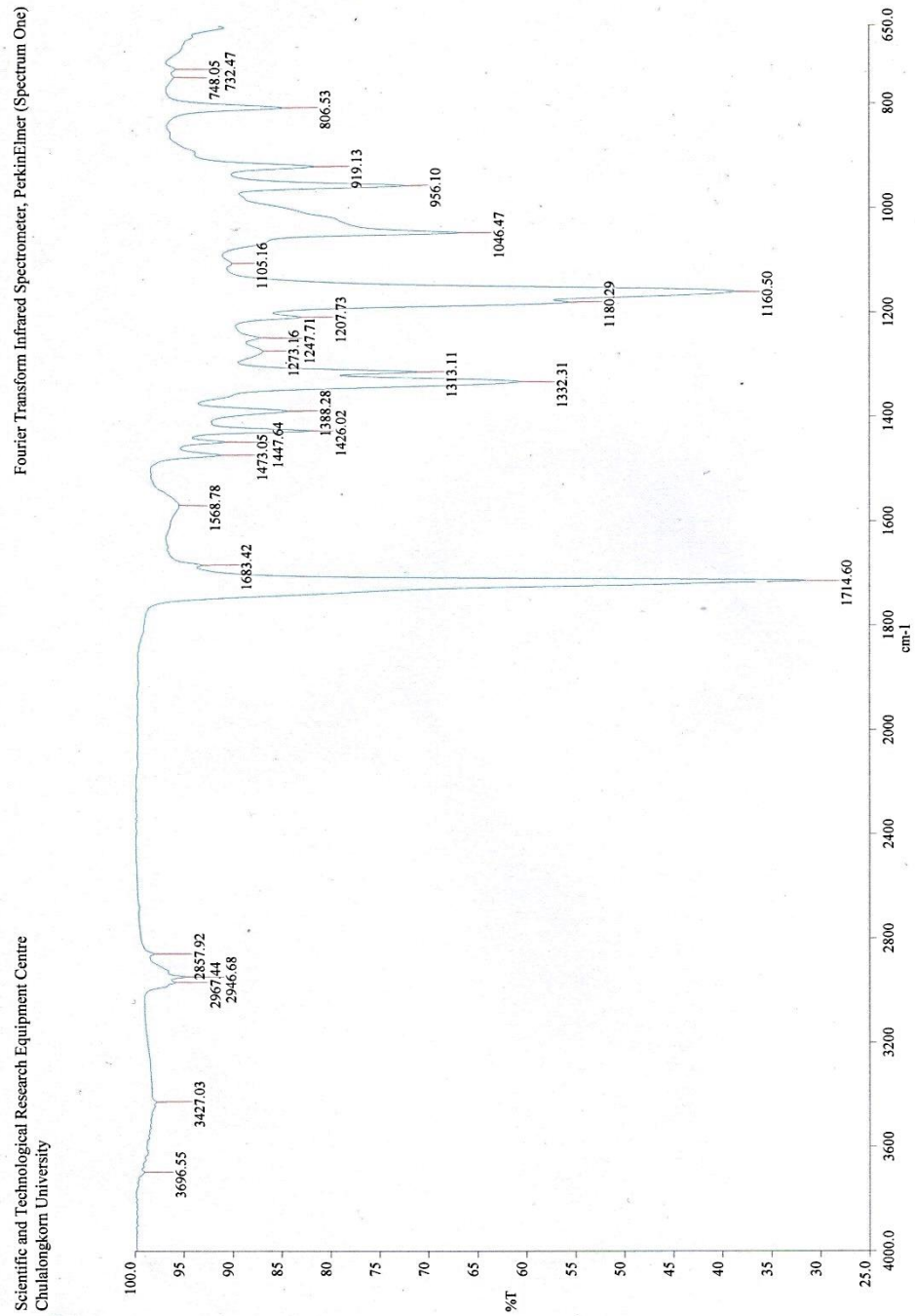
รูปที่ ง.9 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS หลังการฝัง 30 วัน



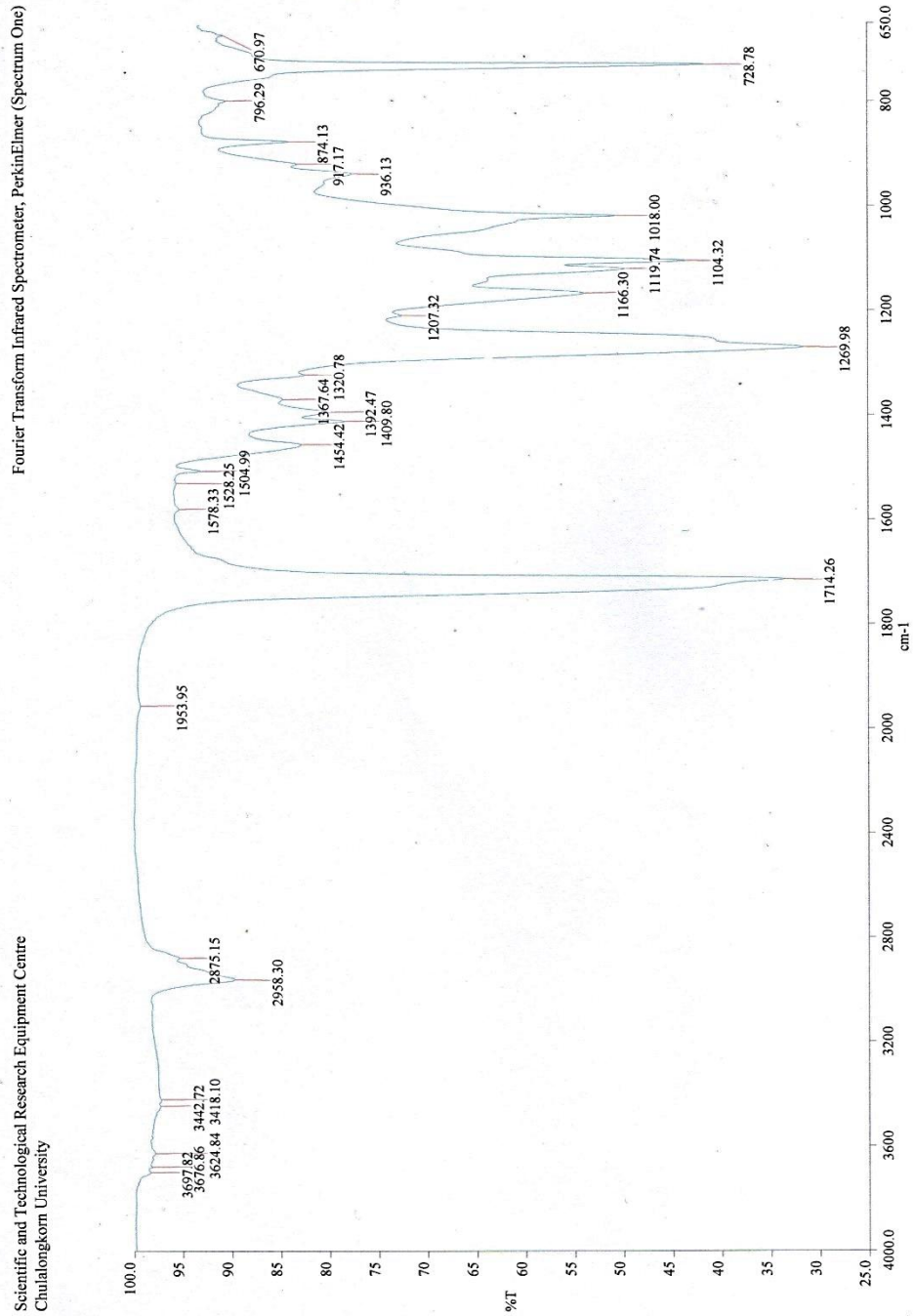
รูปที่ ง.10 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS หลังการฝัง 60 วัน



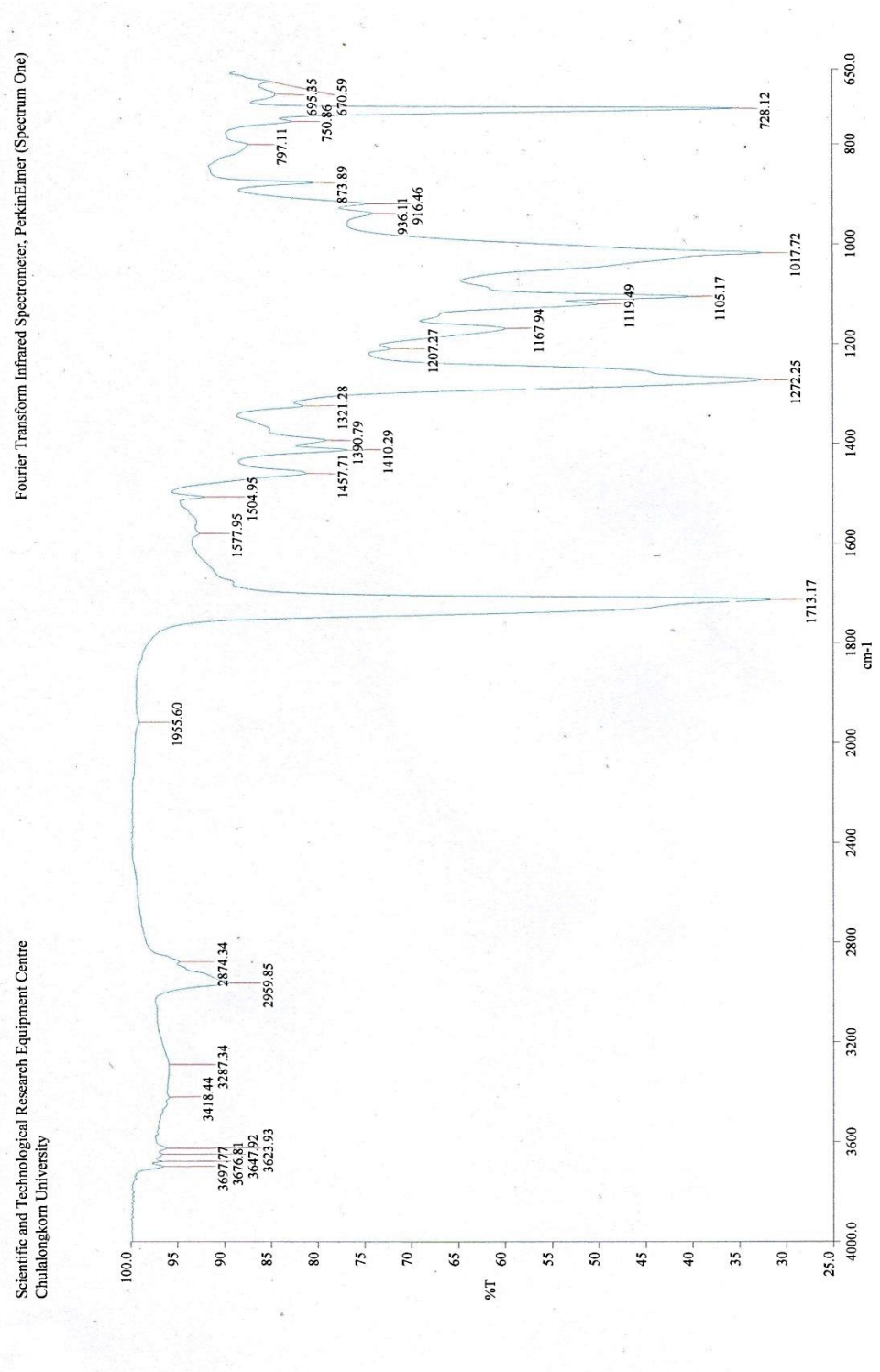
รูปที่ ง.11 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBS หลังการฝัง 90 วัน



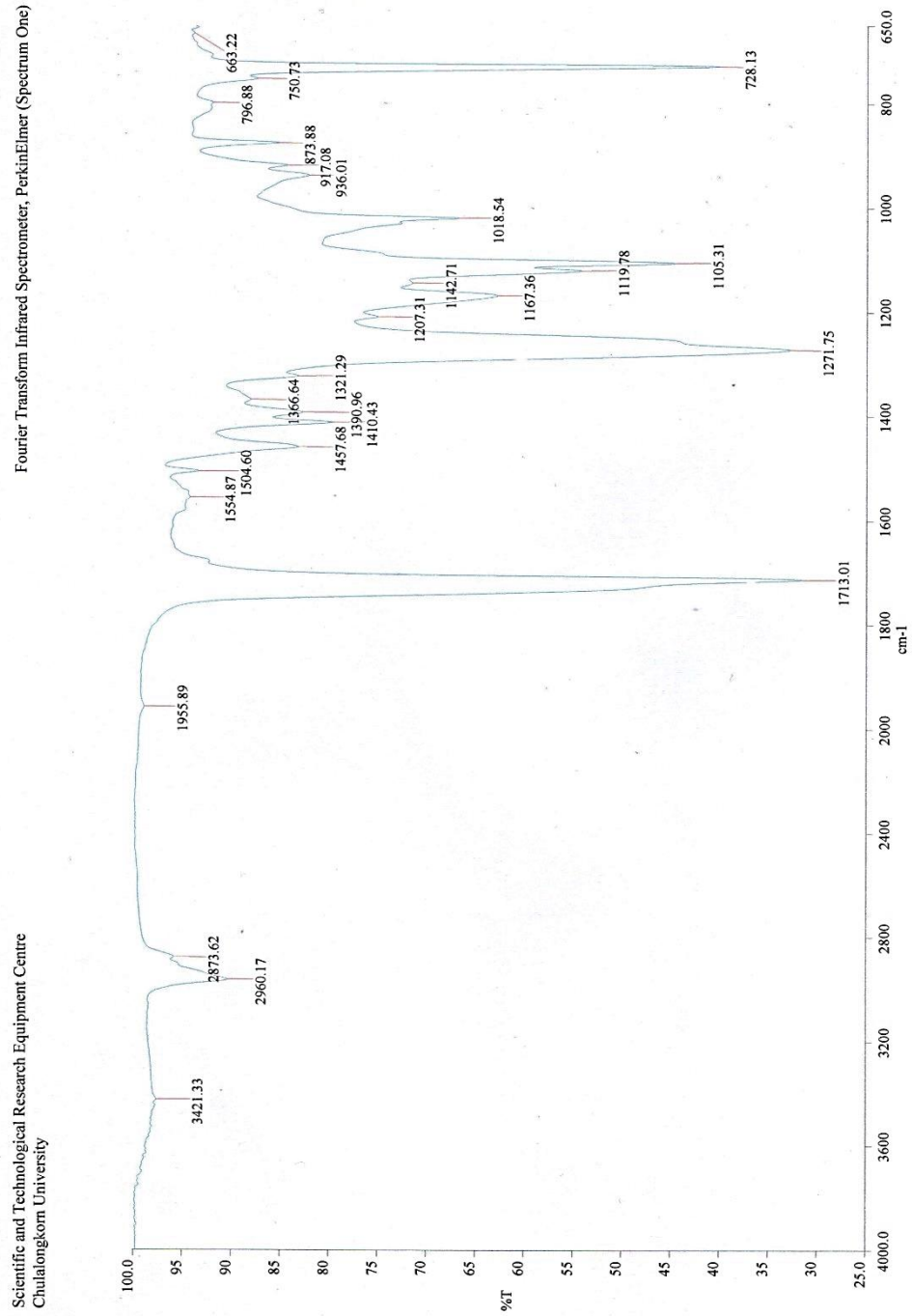
รูปที่ ง.12 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT ตัวควบคุม (ก่อนการฝัง)



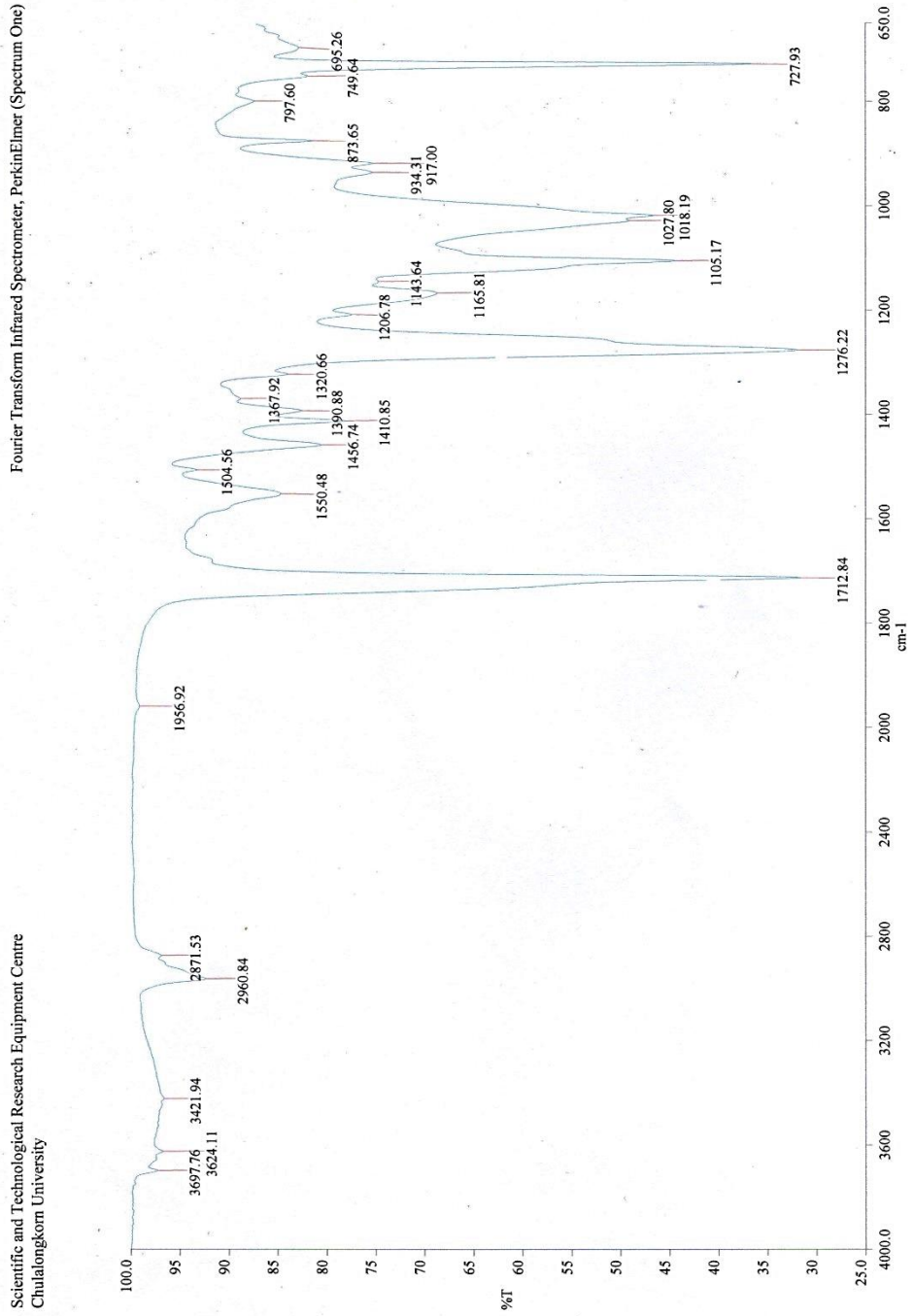
รูปที่ ง.13 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT หลังการฝัง 30 วัน



รูปที่ ง.14 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT หลังการฝัง 60 วัน



รูปที่ ง.15 อินฟราเรดสเปกตรัมของพลาสติกชีวภาพชนิด PBAT หลังการฝัง 90 วัน



ภาคผนวก จ

รายละเอียดจุลินทรีย์จากแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในเจลจากการทำ DGGE เปรียบเทียบ
กับฐานข้อมูล ใน NCBI

ตารางที่ จ.1 รายละเอียดแบคทีเรียที่ได้จาก DGGE เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล

สายพันธุ์	Sequence ID.	% Identity	รายละเอียดที่มาจากฐานข้อมูล
<i>Coprothermobacter proteolyticus</i>	AB860214.1	99%	ชื่อเรื่อง Inhibitory effects of ferrihydrite on methanogenesis by thermophilic microbial communities ผู้เขียน Yamada et al (2014)
<i>Pseudomonas</i> sp. TF7	KC906191.1	98%	ชื่อเรื่อง Diversity of <i>Pseudomonas</i> isolated from wheat rhizosphere ผู้เขียน Taguett et al (Unpublished)
<i>Uncultured alpha proteobacterium</i>	LN875307.1	93%	ชื่อเรื่อง Degradation of crude oil by microorganisms in soils from four geographic regions of China ผู้เขียน Liu, Q. L. (Unpublished)

ตารางที่ จ.1 รายละเอียดแบคทีเรียที่เรี่ยที่ได้จาก DGGE เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (ต่อ)

สายพันธุ์	Sequence ID.	% Identity	รายละเอียดที่มาจากฐานข้อมูล
<i>Uncultured bacterium</i> clone B15-1	HM593834.1	96%	ชื่อเรื่อง Response of microbial community structure to microbial plugging in a mesothermic petroleum reservoir in China ผู้เขียน Zhang et al (2010)
<i>Uncultured bacterium</i> clone S2_2_900	JQ114945.1	96%	ชื่อเรื่อง Monitoring Bacterial Community Structure and Variability in Time Scale in Full-Scale Anaerobic Digesters ผู้เขียน Lee et al (2012)
<i>Uncultured bacterium</i> clone S2_6_627	JQ125893.1	93%	ชื่อเรื่อง Monitoring Bacterial Community Structure and Variability in Time Scale in Full-Scale Anaerobic Digesters ผู้เขียน Lee et al (2012)

ตารางที่ จ.1 รายละเอียดแบคทีเรียที่ได้จาก DGGE เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (ต่อ)

สายพันธุ์	Sequence ID.	% Identity	รายละเอียดที่มาจากฐานข้อมูล
<i>Uncultured bacterium</i> clone N2_1_1326	JQ093211.1	100%	ชื่อเรื่อง Monitoring Bacterial Community Structure and Variability in Time Scale in Full-Scale Anaerobic Digesters ผู้เขียน Lee et al (2012)
<i>Uncultured bacterium</i> isolate C	JF819837.1	93%	ชื่อเรื่อง Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium ผู้เขียน Zhang et al (2011)
<i>Uncultured</i> <i>Burkholderia</i> sp.	LN875312.1	93%	ชื่อเรื่อง Degradation of crude oil by microorganisms in soils from four geographic regions of China ผู้เขียน Liu, Q. L. (Unpublished)

ตารางที่ จ.1 รายละเอียดแบคทีเรียที่ได้จาก DGGE เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (ต่อ)

สายพันธุ์	Sequence ID.	% Identity	รายละเอียดที่มาจากฐานข้อมูล
<i>Uncultured Coprothermobacter</i> sp.	KX063228.1	100%	ชื่อเรื่อง Thermophilic anaerobic biodegradation of mixed n-alkanes under methanogenic conditions ผู้เขียน Xu,D. and Mbadinga, S.M. (2016)
<i>Uncultured Pseudomonas</i> sp.	LN649240.1	97%	ชื่อเรื่อง Application of real-time quantitative PCR and DGGE fingerprinting method to evaluate the intrinsic petroleum biodegradability in different geographic location of China ผู้เขียน Liu, Q. L(Unpublished)
<i>Uncultured Streptomyces</i> sp.	LN649246.1	96%	ชื่อเรื่อง Application of real-time quantitative PCR and DGGE fingerprinting method to evaluate the intrinsic petroleum biodegradability in different geographic location of China ผู้เขียน Liu, Q. L. (Unpublished)

ตารางที่ จ.2 รายละเอียดรา/ยีสต์ ที่ได้จาก DGGE เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล

สายพันธุ์	Sequence ID.	% Identity	รายละเอียดที่มาจากฐานข้อมูล
<i>Candida tropicalis</i>	KT945155.1	100%	ชื่อเรื่อง Improve xylitol production of a newly isolated <i>Candida tropicalis</i> strain mutagenized by ARTP ผู้เขียน Zhang, T. (Unpublished)
<i>Cladosporium langeronii</i>	KP701931.1	91%	ชื่อเรื่อง Species of the xerotolerant <i>Cladosporium sphaerospermum</i> complex are enriched on indoor surfaces when compared to the population of <i>Cladosporium</i> species in the indoor air ผู้เขียน Segers et al (Unpublished)
<i>Fungal endophyte strain CL-9-A</i>	KT291125.1	100%	ชื่อเรื่อง Quantifying the associations between fungal endophytes and biocontrol-induced herbivory of invasive purple loosestrife ผู้เขียน David et al (2016)
<i>Rhodotorula mucilaginosa strain JGTA-R1</i>	KU051716.1	100%	ชื่อเรื่อง Isolation & characterization of endophytes isolated from <i>Typha angustifolia</i> ผู้เขียน Seal, A. and Saha, C. (Unpublished)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวชมณัฐชา บุญมี (ชื่อเดิมนางสาวจุฬากานต์ บุญมี) สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีการศึกษา 2549 และสำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2552 เข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญาดุษฎีบัณฑิต สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553

เกียรติประวัติ

ได้รับรางวัลผลการศึกษายอดเยี่ยมทางวิทยาศาสตร์ ในระดับมหาบัณฑิต จากมูลนิธิ ศาสตราจารย์ ดร.แถบ นีละนิธิ

ผลงานเผยแพร่ทางวิชาการ

การประชุมวิชาการ

High Lipase Activity Producing Microorganism for Palm Oil Degradation. Commemorative international conference on the occasion 4th cycle celebration of KMUTT, 2009.

Biodegradation of Palm Oil by Yeast Consortium. 9th National Environmental Conference, 2010.

Degradation of Poly(butylene succinate) under Simulated Landfill Conditions. 5th International Conference on Environmental Engineering, Science and Management, 2016.

ผลงานตีพิมพ์

Boonmee, J. and Kositanont, C. 2011. Biodegradation of Palm Oil by Yeast Consortium. Thai Environmental Engineering Journal. 25(1) :1-8.

Boonmee, J., Kositanont, C. and Leejarkpai T. 2016. Biodegradation of poly(lactic acid), poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate), poly(butylene succinate) and poly(butylene adipate-co-terephthalate) under anaerobic and oxygen limited thermophilic conditions. Environment Asia. 9(1): 107-115.

บทความ: พลาสติกชีวภาพ (Biodegradable plastics) ทางเลือกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม. วารสารสิ่งแวดล้อม ปีที่ 16 เล่มที่ 2.

บทความ: แนวทางการจัดการขยะชุมชนในประเทศเยอรมัน. วารสารสิ่งแวดล้อม ปีที่ 17 เล่มที่ 3.