



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอุตสาหกรรม)

ปริญญา

วิศวกรรมอุตสาหกรรม

วิศวกรรมอุตสาหกรรม

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ของพลาสติก
ชีวภาพเตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

Design of Experiments for a Biodegradation Study using Microorganism of Bioplastics
Prepared from Rice Starch/Low Density Polyethylene Blend

นามผู้วิจัย นายกษิต สุนทรากีร์กุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(อาจารย์จักรพันธ์ อร่ามพงษ์พันธ์, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์อภิสิทธิ์ สงเสนา, Ph.D.)

กรรมการ

(อาจารย์ชรรษา ชีรภัทรสกุล, ป.ศ.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์อนันต์ มุ่งวัฒนา, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ของพลาสติกชีวภาพ
เตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

Design of Experiments for a Biodegradation Study using Microorganism of Bioplastics
Prepared from Rice Starch/Low Density Polyethylene Blend

โดย

นายกษิตศ สุนทรารักษ์กุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอุตสาหการ)

พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กษิต ศุนทรารักษ์กุล 2553: การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ของพลาสติกชีวภาพเตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ ปรินญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอุตสาหกรรม) สาขาวิศวกรรมอุตสาหกรรม ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์จักรพันธ์ อร่ามพงษ์พันธ์, Ph.D. 113 หน้า

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษากระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ของพลาสติกชีวภาพเตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low Density Polyethylene, LDPE) โดยเปลี่ยนแปลงปริมาณส่วนผสมของแป้งข้าวเจ้าต่อพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำที่อัตราส่วนผสม 70/30 และ 100/0 โดยน้ำหนัก ในการทดสอบการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ คือ แบคทีเรีย ได้แก่ บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) บาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis*) และ รา ได้แก่ ไตรโคเดอร์มา ลองจิบราเซียตัม (*Trichoderma longibrachiatum*) ไตรโคเดอร์มา ฮาร์เซียนัม (*Trichoderma hazianum*) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบในดินธรรมชาติ เมื่อเกิดการย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าแล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบ (Carbon Analysis) ในพลาสติกชีวภาพ ควบคู่ไปกับวิธีการชั่งน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ระยะเวลา 10 20 และ 30 วัน

จากการวิเคราะห์การออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับ (2^3 Full Factorial experimental designs) แล้วทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) พบว่า (1) จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพที่มีอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้า 100% ได้ดีกว่าพลาสติกชีวภาพที่มีอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้า 70% (2) รา จินัส ไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* sp.) สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้ดีกว่าแบคทีเรียจินัสบาซิลลัส (*Bacillus* sp.) และ (3) จำนวนสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพด้วยจุลินทรีย์แบบสายพันธุ์เดียว (Single specie) ดีกว่าแบบผสมสองสายพันธุ์ (Dual species)

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Kasidis Soonthrapirakkool 2010: Design of Experiments for a Biodegradation Study using Microorganism of Bioplastics Prepared from Rice Starch/Low Density Polyethylene Blend. Master of Engineering (Industrial Engineering), Major Field: Industrial Engineering, Department of Industrial Engineering. Thesis Advisor: Mr. Chuckaphun Aramphongphun, Ph.D. 113 pages.

This research work studies a biodegradation of bioplastics prepared by blending rice starch and low density Polyethylene (LDPE) in the percentage ratio of 70/30 and 100/0 by weight. The biodegradation of the bioplastics was tested by using the pure culture of bacterias such as *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* and the pure culture of molds such as *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma harzianum*. These microorganisms are major groups commonly found in soil. To test the biodegradation, an elemental analysis of the reduced carbon and weight loss of the bioplastics were monitored at 10, 20, and 30 days.

According to the analysis of 2^3 Full Factorial Experiments using Analysis of Variance (ANOVA), it was found that (1) the microorganism could degrade the bioplastic with 100% rice starch better than that with 70% rice starch, (2) *Trichoderma* sp. could degrade the bioplastics better than *Bacillus* sp. and (3) single specie of the microorganism had better biodegradation than dual species of the microorganism.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือ และความอนุเคราะห์จากหลายฝ่ายด้วยกัน ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร. จักรพันธ์ อร่ามพงษ์พันธ์ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์อภิสิทธิ์ สงตะเสน และ ดร. ชุรภา ชีรภัทรสกุล ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งได้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งตรวจและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา ประธานการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์เตือนใจ สมบูรณ์วิวัฒน์ ที่ได้กรุณาใช้เวลาอันมีค่าและกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมอันจะนำมาซึ่งความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณบริษัท Global Electric Motorcars Asia จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์พอลิเมอร์แป้งข้าวเจ้า

ขอขอบพระคุณคุณสมปอง อินทอง หัวหน้าฝ่ายพอลิเมอร์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตทางอุตสาหกรรม ในความอนุเคราะห์เครื่องฉีดพลาสติกความรู้

ขอขอบพระคุณ นางสาววิลาวลัย ชาญณรงค์ นางสาวน้ำทิพย์ เดชแพร และ นายปิยกุล เหลืองเจริญกิจ นักศึกษาภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการให้ความรู้และคำปรึกษาทางจุลชีววิทยาเพื่อให้ผลที่ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว รวมทั้งคณาจารย์ที่เคารพสำหรับแนวทางการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณ ทุกความช่วยเหลือ การอนุเคราะห์และประสบการณ์ กำลังกายและกำลังใจ ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้อง และเพื่อนทุกคน ที่ให้คำปรึกษาให้กำลังใจและอำนวยความสะดวกตลอดช่วงเวลาการศึกษาและการทำวิทยานิพนธ์

กษิดิศ สุนทรารักษ์กุล

พฤษภาคม 2553

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (4) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| การตรวจเอกสาร | 4 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 32 |
| อุปกรณ์ | 32 |
| วิธีการ | 34 |
| ผลและวิจารณ์ | 49 |
| สรุป | 80 |
| ข้อเสนอแนะ | 82 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 83 |
| ภาคผนวก | 86 |
| ภาคผนวก ก ภาพวัตถุคิบในการทดลอง | 87 |
| ภาคผนวก ข ผลการคำนวณด้วยโปรแกรม Minitab ของค่าร้อยละ ธาตุคาร์บอนที่หายไป | 89 |
| ภาคผนวก ค ผลการคำนวณด้วยโปรแกรม Minitab ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป | 95 |
| ภาคผนวก ง การประมาณการย่อยสลายได้ของแป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | 107 |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน | 113 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|--|------|
| 1 | สมบัติของพอลิเอทิลีนประเภทต่างๆ | 7 |
| 2 | การเปรียบเทียบเชิงตั้งฉาก (Orthogonal Contrast) ของ 2^3 แฟกทอเรียล | 24 |
| 3 | การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับ Three-Factor Fixed Effect Model | 25 |
| 4 | การออกแบบการทดลองของแต่ละปัจจัยที่ระดับปัจจัยต่างๆ | 38 |
| 5 | ร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย ของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | 58 |
| 6 | ร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย ของ 100%แป้งข้าวเจ้า | 58 |
| 7 | ร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย ของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | 62 |
| 8 | ร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย ของ 100%แป้งข้าวเจ้า | 62 |
| 9 | การกำหนดค่าของปัจจัยใน โปรแกรม Minitab | 66 |
| 10 | ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟกทอเรียลเต็มรูปแบบ สองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) ของค่าร้อยละของธาตุ คาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 70 |
| 11 | ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละของธาตุ คาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 10 วัน | 71 |
| 12 | ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟกทอเรียลเต็มรูปแบบ สองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) ของค่าร้อยละของธาตุ คาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 72 |
| 13 | ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละของธาตุ คาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 20 วัน | 73 |
| 14 | ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟกทอเรียลเต็มรูปแบบ สองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) ของค่าร้อยละของธาตุ คาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 74 |
| 15 | ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละของธาตุ คาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 30 วัน | 75 |
| 16 | แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย ของ 100%แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดย <i>Trichoderma longibrachiatum</i> ในเวลา 30 วัน | 76 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่ | หน้า |
|--|------|
| ค1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial designs) ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 101 |
| ค2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial designs) ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 102 |
| ค3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial designs) ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 103 |
| ค4 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 10 วัน | 104 |
| ค5 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 20 วัน | 105 |
| ค6 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 30 วัน | 106 |
| ง1 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดย <i>Trichoderma longibrachiatum</i> และ <i>Trichoderma harzianum</i> ในเวลา 30 วัน | 108 |
| ง2 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดยแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ในเวลา 30 วัน | 109 |
| ง3 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดยแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> และ <i>B. cereus</i> ในเวลา 30 วัน | 111 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|---|------|
| 1 | โครงสร้างโมเลกุลอะไมโลส (Amylose structure) | 5 |
| 2 | โครงสร้างโมเลกุลอะไมโลเพคติน (Amylopectin structure) | 5 |
| 3 | โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ภายในเม็ดแป้ง | 6 |
| 4 | ขั้นตอนการย่อยสลายทางชีวภาพโดยเอนไซม์ | 11 |
| 5 | การย่อยสลายของพลาสติกในสภาวะแวดล้อมธรรมชาติ | 12 |
| 6 | เครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุ (Elemental Analyzer, LECO CHNS-932) | 17 |
| 7 | แบบจำลองทั่วไปของกระบวนการหรือระบบ | 18 |
| 8 | อิทธิพลของปัจจัยรวมที่ไม่มีผล | 21 |
| 9 | อิทธิพลของปัจจัยรวมที่มีผล | 21 |
| 10 | ลำดับขั้นตอนในการทดลอง | 34 |
| 11 | ชิ้นพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า (ยังไม่ผ่านการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์) | 39 |
| 12 | เครื่องฉีดขึ้นรูปพลาสติก (Battenfeld Austria BA 250/50 CDC) | 40 |
| 13 | กล้าเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NA | 42 |
| 14 | กล้าเชื้อราบนอาหาร PDA | 42 |
| 15 | เครื่องเทอร์โม-ไฮโกรมิเตอร์ (Thermo-Hygrometer) | 43 |
| 16 | ตู้อบไอร้อน (Oven) | 44 |
| 17 | แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ระดับปัจจัยแตกต่างกัน | 50 |
| 18 | ผิวชั้นนอกของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายนำไปวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนที่คงเหลือ | 55 |
| 19 | ร้อยละธาตุคาร์บอนที่คงเหลือเฉลี่ยของ 70% แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | 57 |
| 20 | ร้อยละธาตุคาร์บอนที่คงเหลือเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้า | 57 |
| 21 | เปรียบเทียบพลาสติกแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ได้ผ่านและผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ | 59 |
| 22 | ร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือเฉลี่ย ของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | 61 |
| 23 | ร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือเฉลี่ย ของ 100%แป้งข้าวเจ้า | 61 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|-------------------|---|------|
| 24 | ขั้นตอนการตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าโดยจุลินทรีย์ด้วยสารละลายไอโอดีน | 63 |
| 25 | ผลการใช้สารละลายไอโอดีนเพื่อตรวจสอบการย่อยสลายของจานรองแก้วพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่เพาะเลี้ยงด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ | 64 |
| 26 | การตรวจสอบการย่อยสลายบริเวณผิวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยสารละลายไอโอดีน | 66 |
| 27 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อน สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 68 |
| 28 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 68 |
| 29 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 69 |
| 30 | แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา <i>Trichoderma longibrachiatum</i> ในเวลา 30 วัน | 77 |
| 31 | แผนภูมิตัดตามค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย รา <i>Trichoderma longibrachiatum</i> ในเวลา 30 วัน | 77 |
| ภาพผนวกที่ | | |
| ก1 | พอลิเมอร์แป้งข้าวเจ้าและพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ | 88 |
| ก2 | แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกในรูปแบบเม็ดที่ได้จากเครื่องฉีดพลาสติก | 88 |
| ข1 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 90 |
| ข2 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อน สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 90 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพผนวกที่ | | หน้า |
|------------|---|------|
| ข3 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อน สำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 91 |
| ข4 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 91 |
| ข5 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 92 |
| ข6 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 92 |
| ข7 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 93 |
| ข8 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 93 |
| ข9 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับคาร์บอนของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 94 |
| ค1 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับคาร์บอนของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 96 |
| ค2 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับคาร์บอนของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 96 |
| ค3 | Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับคาร์บอนของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 97 |
| ค4 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับคาร์บอนของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 97 |
| ค5 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับคาร์บอนของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 98 |
| ค6 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับคาร์บอนของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 98 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพผนวกที่ | | หน้า |
|------------|---|------|
| ก7 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10 | 99 |
| ก8 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20 | 99 |
| ก9 | แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30 | 100 |
| ง1 | แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและ ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา <i>Trichoderma longibrachiatum</i> และ <i>Trichoderma harzianum</i> ในเวลา 30 วัน | 108 |
| ง2 | แผนภูมิตีติดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจาก การย่อยสลายโดย รา <i>T. longibrachiatum</i> และ <i>T. harzianum</i> ในเวลา 30 วัน | 109 |
| ง3 | แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและ ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดย แบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ในเวลา 30 วัน | 110 |
| ง4 | แผนภูมิตีติดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจาก การย่อยสลายโดย แบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> ในเวลา 30 วัน | 110 |
| ง5 | แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและ ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดย แบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> และ <i>Bacillus cereus</i> ในเวลา 30 วัน | 111 |
| ง6 | แผนภูมิตีติดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจาก การย่อยสลายโดย แบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> และ <i>B. cereus</i> ในเวลา 30 วัน | 112 |

การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ของพลาสติกชีวภาพเตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

Design of Experiments for a Biodegradation Study using Microorganism of Bioplastics Prepared from Rice Starch/Low Density Polyethylene Blend

คำนำ

ปัจจุบันพลาสติกเป็นสิ่งที่ถูกนำมาผลิตเป็นอุปกรณ์ต่างๆอยู่รอบตัวเรา สามารถพบเห็นได้ในชีวิตประจำวันเป็นจำนวนมาก เนื่องจากพลาสติกมีสมบัติเด่นซึ่งต่างจากไม้และโลหะบางประเภท เช่น น้ำหนักเบา ทนแรงกระแทก ยืดหยุ่นดี ทนแรงดึง ไม่เป็นสนิม ราคาถูกและสามารถผลิตเป็นอุปกรณ์เครื่องใช้ตามความต้องการได้ง่าย กลายเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีบทบาทในชีวิตประจำวันของเราในหลายๆด้านและมีแนวโน้มในการใช้งานเพิ่มมากขึ้นซึ่งพลาสติกบางชนิดใช้เพียงครั้งเดียว ด้วยสมบัติที่ไม่สลายตัวหรือต้องใช้เวลาในการย่อยสลายนานนับสิบปี จึงทำให้เกิดขยะพลาสติกตกค้างเป็นจำนวนมาก ถึงแม้ว่าจะสามารถนำขยะพลาสติกบางส่วนไปแปรรูปกลับมาใช้ใหม่ได้ก็ตาม แต่ขยะในส่วนที่เหลือก็ยากที่จะคัดแยกและกำจัด ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ประกอบกับขณะนี้ในหลายประเทศมีการรณรงค์ให้เลิกใช้พลาสติกและเร่งส่งเสริมการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ที่ทำมาจากวัสดุธรรมชาติทดแทนและจำกัดการใช้พลาสติกที่ย่อยสลายยากให้ลดลง พร้อมทั้งสนับสนุนให้มีการวิจัยเพื่อใช้พืชหรือวัตถุดิบจากธรรมชาติที่เหมาะสมนำมาผลิตพลาสติกชีวภาพทดแทนพลาสติกย่อยสลายยากบางส่วนในตลาด งานวิจัยพลาสติกชีวภาพจึงเป็นงานวิจัยที่สำคัญในอนาคตเป็นอย่างยิ่ง

ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยพยายามคิดหาวิธีผลิตพลาสติกที่มีวัตถุดิบมาจากธรรมชาติและส่งเสริมสนับสนุนในการพัฒนานวัตกรรมวัสดุชีวภาพ (Bio-based materials) เพื่อนำมาทำเป็นพลาสติกชีวภาพ (Bioplastic) ทั้งนี้เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบทางการเกษตรของไทยและยังมีโอกาสสูงในส่งออกสู่ตลาดต่างประเทศเพราะหลายประเทศทั่วโลกเริ่มให้ความสนใจด้านสิ่งแวดล้อมและกำหนดนโยบายอย่างเป็นทางการมากขึ้น ข้อจำกัดในการผลิตวัสดุชีวภาพของไทยอยู่ที่ต้นทุนในการผลิต หากเปรียบเทียบกับพลาสติกธรรมดาแล้วถือว่ายังมีต้นทุนที่สูงอยู่ ซึ่งการผลิตพลาสติกชีวภาพนี้มีวางจำหน่ายในตลาดต่างประเทศแล้ว เช่น การเลือกใช้พอลิเมอร์ที่แยกได้

โดยตรงจากพืชและสัตว์ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) จำพวก แป้ง เซลลูโลส ลิกนิน ไคติน และโปรตีนจำพวก เจลาติน ไหม และขนสัตว์ เป็นต้น การพัฒนากระบวนการลดปริมาณขยะนั้น จึงได้นำพลาสติกที่ได้จากผลิตภัณฑ์หรือเศษวัสดุที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติ แล้วนำไปบดหรือตัดเป็นชิ้นขนาดเล็ก จากนั้นนำไปเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น ราและแบคทีเรีย ซึ่งช่วยการเร่งการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ ลดปริมาณการใช้พลาสติกที่ย่อยสลายยาก ลดต้นทุนการผลิตสินค้า ลดปริมาณขยะและยังลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษได้อีกด้วย

สำหรับงานวิจัยนี้ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าโดยประยุกต์วิธีใช้วิธีทดสอบการย่อยสลายตามมาตรฐาน ASTM D5988 ให้มีประสิทธิภาพในการเร่งกระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพเพื่อช่วยลดปริมาณพลาสติกที่เพิ่มขึ้นในชีวิตประจำวันและการจัดการกับขยะพลาสติกชีวภาพเพื่อคัดค้านสิ่งแวดล้อม การทดลองได้ทำการติดตามการย่อยสลายโดยสังเกตจากค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปและร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า อีกทั้งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ จากการออกแบบการทดลองเชิงสถิติเพื่อหาระดับของแต่ละปัจจัยที่เหมาะสมซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Minitab เพื่อพิจารณาระดับปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเร่งกระบวนการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพที่มีอัตราส่วนผสมระหว่าง แป้งข้าวเจ้า (Rice starch) กับพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE) เป็น 70/30 (70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก) และ 100/0 (100%แป้งข้าวเจ้า) โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงธาตุคาร์บอนและน้ำหนักที่หายไปของชิ้นพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าจากการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์บริสุทธิ์
2. เพื่อศึกษาและกำหนดระดับของแต่ละปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดสำหรับเร่งกระบวนการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพผสมระหว่างแป้งข้าวเจ้ากับพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

ขอบเขตของงานวิจัย

การทดสอบกระบวนการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าโดยออกแบบการทดลองเพื่อหาระดับของแต่ละปัจจัยที่เหมาะสม โดยมีขอบเขตดังนี้

1. การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับ (2^k Full Factorial Experimental designs)
2. ร้อยละปริมาณแป้งข้าวเจ้า : LDPE ในพลาสติกชีวภาพ คือ (1) 70:30 และ (2) 100:0
3. ชนิดของจุลินทรีย์ คือ (1) รา ได้แก่ ไตรโคเดอร์มา ลองจิบราเชียม (*Trichoderma longibrachiatum*) ไตรโคเดอร์มา ฮาร์เซียนัม (*Trichoderma hazianum*) และ (2) แบคทีเรีย ได้แก่ บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) บาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis*)
4. จำนวนสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ คือ (1) ใช้จุลินทรีย์แบบสายพันธุ์เดียว (Single spicie) และ (2) ใช้จุลินทรีย์แบบผสมสองสายพันธุ์ (Dual spicies)

การตรวจเอกสาร

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

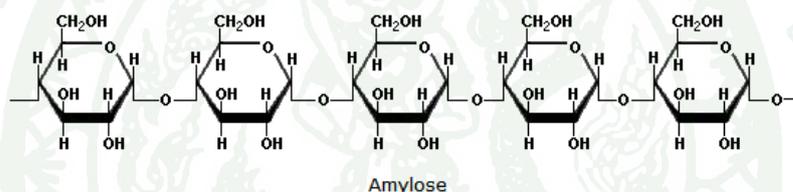
1. แป้งข้าวเจ้า (Rice Starch) (Buleon, 1998)

แป้งข้าวเจ้าเป็นสารประกอบประเภทพอลิเมอร์ในกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) แต่โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อเชื่อมกันเป็นสายโซ่ยาว ความยาวของสายโซ่พอลิเมอร์ในแป้งมีความแปรผันตามชนิดของแป้ง โดยพอลิแซ็กคาไรด์ของแป้งมีลักษณะการเชื่อมต่อแบ่งเป็น 2 แบบ คือ การเชื่อมต่อที่มีลักษณะเป็นสายโซ่ตรงยาวเรียกว่า อะไมโลส (Amylose) โดยมีพันธะเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของกลูโคสเรียกว่า α -1,4-glucosidic linkage และการเชื่อมต่อที่มีลักษณะเป็นสายโซ่กิ่งเรียกว่า อะไมโลเพกทิน (Amylopectin) โดยมีส่วนที่ต่อเป็นเส้นตรงด้วยพันธะ α -1,4-glucosidic linkage ผสมกับส่วนที่เป็นกิ่งก้านสายสั้นๆ ด้วยพันธะ α -1,6-glucosidic linkage แสดงในภาพที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ในธรรมชาติจะพบแป้งที่มีลักษณะที่เป็นเม็ดแป้งขนาดเล็กมีโครงสร้างแบบกึ่งผลึก (Semi-crystalline) โดยมีส่วนที่เป็นผลึกมากกว่าส่วนที่เป็นอสัณฐาน (Amorphous structure) โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จำนวนมากทำให้แป้งมีสมบัติดูดซับน้ำหรือดูดความชื้นได้ดี

โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ภายในเม็ดแป้ง โดยใช้เทคนิค X-Ray Diffraction (XRD), Atomic Force Microscopy (AFM), Transmission Electron Microscopy (TEM) พบว่า อะไมโลสและอะไมโลเพกทินมีการจัดเรียงตัวเป็นชั้นๆแบบผลึก (Crystalline lamellae) และแบบอสัณฐาน (Amorphous Lamellae) ซึ่งแสดงดังภาพที่ 3 เป็นชั้นสีขาวและสีเทา ตามลำดับ โดยชั้นที่มีการจัดเรียงตัวแบบผลึกประกอบด้วยอะไมโลเพกทินที่มีกิ่งก้านสั้นๆขดตัวเป็นลักษณะเป็นเกลียวคู่เรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ และมีบางส่วนของชั้นผลึก (ชั้นสีเทาในภาพที่ 3) เกิดการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบซึ่งบริเวณดังกล่าวรวมถึงชั้นที่เป็นอสัณฐาน (ชั้นสีขาวในภาพที่ 3) ประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพกทินที่จัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ โครงสร้างการต่อกิ่งก้านของอะไมโลเพกทินซึ่งแสดงในภาพที่ 3 มีลักษณะ 3 แบบคือ แบบ A, B และ C ตามลำดับ โดยแบบ A คือ กิ่งก้านที่ไม่ยาวมากนักที่ขดตัวอยู่ด้านนอกสุดและเชื่อมต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของสายโซ่และแบบ B ซึ่งเป็นสายโซ่หลัก และแบบ C เป็นส่วนปลายของสายโซ่หลัก

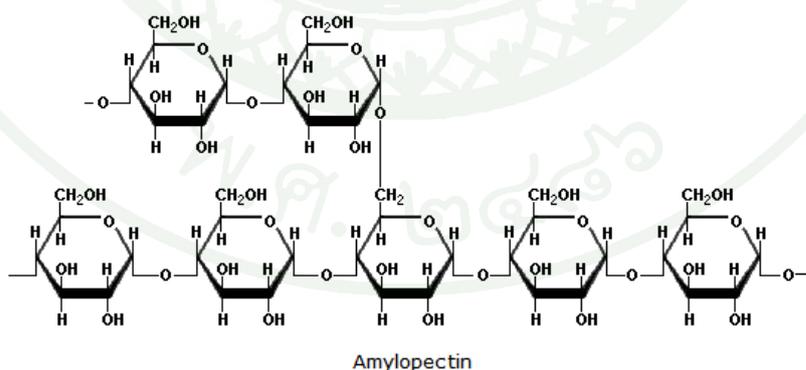
จากภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างภาพในเม็ดแป้งประกอบด้วย สายพอลิเมอร์ A คือ ลักษณะของเม็ดแป้งที่ประกอบด้วยการจัดเรียงแบบสลับของชั้นผลึกและชั้นอสัณฐาน สายพอลิเมอร์ B คือ ภาพขยายโครงสร้างภายในของชั้นโครงสร้างของแป้ง สายพอลิเมอร์ C คือการจัดเรียงตัวของอะไมโลเพคตินในชั้นผลึก

แป้งถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย เช่น อุตสาหกรรมกระดาษ สิ่งทอ และที่มากที่สุดคือ อุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากแป้งเป็นวัตถุดิบที่สามารถปลูกทดแทนใหม่ได้ (Renewable) ย่อยสลายได้ทางธรรมชาติ และมีราคาถูก จึงเป็นวัตถุดิบที่นำมาประยุกต์กระบวนการขึ้นรูปทำเป็นบรรจุภัณฑ์โดยการผสมแป้งเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของผลิตภัณฑ์ หลักการสำคัญคือทำให้โครงสร้างผลึกของแป้งลดลงโดยใช้ความร้อน ความดัน แรงเชิงกล และการเติมแต่งที่ทำหน้าที่เป็นสารพลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสม เช่น กลีเซอริน โพลีออล หรือน้ำ



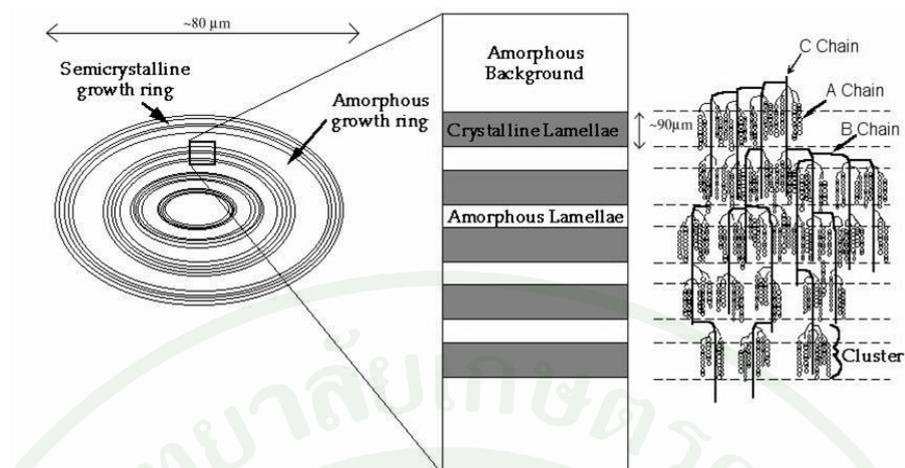
ภาพที่ 1 โครงสร้างโมเลกุลอะไมโลส (Amylose structure)

ที่มา: Buleon (1998)



ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลอะไมโลเพคติน (Amylopectin structure)

ที่มา: Buleon (1998)



ภาพที่ 3 โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ภายในเม็ดแป้ง

ที่มา: Buleon (1998)

2. พอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low Density Polyethylene, LDPE)

เจริญ (2547) พอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำถูกค้นพบโดยบริษัทไอซีไอ ประเทศอังกฤษ และถูกผลิตขึ้นในปี ค.ศ 1939 เป็นโพลีเอทิลีนชนิดแรกที่ถูกผลิตขึ้นด้วยกระบวนการความดันสูง (High Pressure Process) ประมาณ 150-350 เมกะพาสกาล และอุณหภูมิ 80-300 องศาเซลเซียส เนื่องจากโครงสร้างมีกิ่งก้านสาขาแยกออกมามาก ทำให้โมเลกุลจัดตัวอย่างหลวมๆ และไม่เป็นระเบียบ LDPE มีลักษณะค่อนข้างใส มีความเหนียว และมีผิวหน้ามันคล้ายขี้ผึ้ง หรือเทียนไข มีระดับการเป็นผลึกต่ำ

ตารางที่ 1 สมบัติของพอลิเอทิลีนประเภทต่างๆ

| Properties | LDPE | LLDPE | HDPE |
|------------------------------|------|-------|------|
| Density (g/cm ³) | 0.92 | 0.94 | 0.96 |
| Tensile strength (Mpa) | 10 | 10 | 28 |
| Elongation at break (%) | 450 | 700 | 500 |
| Hardness (Shor D) | 45 | 55 | 65 |
| Softening point Vicat (°C) | 95 | - | 120 |

ที่มา: เจริญ (2547)

หมายเหตุ: LDPE = Low Density Polyethylene, LLDPE = Linear Low Density Polyethylene, HDPE = High Density Polyethylene

ลักษณะเฉพาะของ LDPE คือ ชิ้นงานที่ผลิตได้ค่อนข้างนิ่ม และมัน (waxy feel) ค่อนข้างจะทึบแสง ถ้าค่อยๆเผา จะไม่มีควัน ให้เปลวไฟสีเหลือง มีกลิ่นไขมัน ทนต่อสารเคมีและน้ำดีเยี่ยมที่อุณหภูมิห้อง แต่จะไม่ทนต่อสารเคมีภายใต้สภาวะที่มีความเค้นสูง โดยเฉพาะ LDPE ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จึงกล่าวได้ว่า LDPE มีการทนทานต่อการแตกหักเนื่องจากความเค้น (Environmental Stress Cracking Resistance, ESCR) ต่ำ จึงมีคุณสมบัติเป็นฉนวนที่ดีเยี่ยม โดยเฉพาะในสภาวะที่เป็นโฟม

3. สารเติมแต่งในพอลิเมอร์ (Polymer additives)

อรอุษา (2546) สารเติมแต่งในพอลิเมอร์ ได้แก่สารที่เติมผสมลงในพอลิเมอร์เพื่อเปลี่ยนแปลงสมบัติของพอลิเมอร์ สารเติมแต่งอาจเป็นได้ทั้งของแข็งและของเหลว สารเติมแต่งที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่จะเติมลงไปในพอลิเมอร์ซึ่งอยู่ในสถานะของไหลโดยใช้ระบบทางช่วยในการผสม ปัญหาอันหนึ่งของสารเติมแต่งที่เป็นของแข็งก็คือพื้นผิวของอนุภาคจะหยาบถ้ากระจายตัวไม่สม่ำเสมอ สารเติมแต่งที่เป็นของเหลวโดยทั่วไปจะมีขนาดโมเลกุลเล็กมากเมื่อเทียบกับสายโซ่พอลิเมอร์ จึงสามารถละลายเข้าไปในสายโซ่บางส่วนของพอลิเมอร์ได้ซึ่งก็เป็นกระบวนการที่ซ้ำมาก สารเติมแต่งบางชนิดทำให้ก๊าซเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตจะทำให้เกิดรูพรุนได้

ในการทำการผสมพอลิเมอร์สองชนิดเข้าด้วยกันจะมีปัญหาเรื่องการไม่สามารถผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ดังที่กล่าวมาแล้ว การใช้สารเข้ามาเติมแต่งเข้ามาช่วยในการผสมเข้าด้วยกัน กระบวนการนี้เรียกว่า สารช่วยผสม (Compatibilizer)

สารช่วยผสม เป็นสารที่เติมลงไปเพื่อส่งเสริมให้พลาสติก 2 ชนิดที่ไม่สามารถผสมเข้ากันให้สามารถมีแรงยึดเกาะระหว่างกัน ซึ่งสารผสมจะมีหมู่ฟังก์ชันที่มีสมบัติสามารถสร้างแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่มีสภาพขั้วต่างกัน เมื่อมีการสร้างพันธะระหว่างพอลิเมอร์ช่วยลดแรงดึงผิวระหว่างผิวหน้าจนทำให้พอลิเมอร์ 2 ชนิดเชื่อมเข้าด้วยกัน เมื่อมีการยึดเหนี่ยวกันแล้วจะทำให้พอลิเมอร์มีลักษณะเป็นเฟสต่อเนื่อง ดังนั้นทำให้พอลิเมอร์สามารถกระจายพลังงานผ่านเฟสได้อย่างทั่วถึง บางครั้งตัวสารช่วยผสมเองยังมีสมบัติเฉพาะตัว เช่น มีความยืดหยุ่น สามารถรับแรงกระแทก และยังช่วยปรับปรุงสมบัติให้พอลิเมอร์ผสมสามารถรับแรงเพิ่มขึ้นได้อีกด้วย

4. พลาสติกย่อยสลาย (Degradable plastics)

ธนาวดี (2549) ผลิตภัณฑ์พลาสติกย่อยสลายได้ ในปัจจุบันได้รับการวิจัยและพัฒนาในหลายประเทศให้มีความหลากหลายทั้งในด้านวัตถุดิบ เทคโนโลยีการผลิตและประโยชน์การใช้งาน จัดเป็นนวัตกรรมใหม่สำหรับอุตสาหกรรมพลาสติกของประเทศไทยซึ่งอาจก่อให้เกิดความเข้าใจผิดแก่ผู้บริโภคว่าผลิตภัณฑ์จะย่อยสลายก่อนเสร็จสิ้นการใช้งานหรือจะถูกย่อยสลายไปจนหมดอย่างรวดเร็ว

นอกจากนี้การกล่าวอ้างถึงสมบัติและความสามารถในการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์ที่เกินจริงของผู้ผลิต ส่งผลให้เกิดความไม่แน่ใจในการเลือกใช้งานและก่อให้เกิดความสงสัยเกี่ยวกับผลกระทบและประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม การคิดค้นคำจำกัดความที่เหมือนกันและถูกต้องจึงเป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนาอุตสาหกรรมนี้ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อการใช้งานและวิธีการกำจัดโดยประยุกต์มาตรฐาน ASTM D5988 พลาสติกย่อยสลายได้ คือ พลาสติกที่ถูกออกแบบมาเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีภายใต้สภาวะแวดล้อมที่กำหนดไว้เฉพาะ ก่อให้เกิดการสูญเสียสมบัติบางประการที่สามารถวัดได้โดยใช้วิธีการทดสอบมาตรฐานที่เหมาะสมสำหรับพลาสติกและการใช้งานช่วงเวลาหนึ่ง ผลการทดสอบสามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดและประเภทของพลาสติกย่อยสลายได้

4.1 คำจำกัดความของพอลิเมอร์ชีวภาพและพลาสติกชีวภาพ

4.1.1 พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) คือ พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradable polymer) ผลิตจากวัตถุดิบที่มีแหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ รวมถึงพอลิเมอร์ที่แยกได้โดยตรงจากพืช สัตว์ แบคทีเรีย รา และพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้จากมอนอเมอร์ที่ผลิตจากกระบวนการชีวภาพ

4.1.2 พลาสติกชีวภาพ (Bioplastic) คือ พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่มีส่วนประกอบสำคัญอย่างน้อย 1 ชนิดเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพและวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิตเกือบทั้งหมดเป็นวัตถุดิบที่สามารถผลิตหรือปลูกขึ้นใหม่ทดแทนได้ (Renewable raw materials)
 พลาสติกชีวภาพ = พอลิเมอร์ชีวภาพ + พลาสติกไซเซออร์ + สารเติมแต่ง

4.2 การจำแนกประเภทของพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

4.2.1 กำเนิดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

(ก) พอลิเมอร์ที่แยกได้โดยตรงจากพืชและสัตว์ เช่น

- พอลิแซคคาไรด์ ได้แก่ แป้ง เซลลูโลส ลิกนิน และ ไคติน

- โปรตีน ได้แก่ เจลาติน เคซีน กลูเทน ไหม และ ขนสัตว์

- น้ำมันจากพืชและสัตว์ ใช้ในการผลิตเทอโมเซตเรซิน เพื่อนำมาผสมกับเส้นใย

ธรรมชาติ

(ข) พอลิเอสเทอร์ผลิตโดยจุลินทรีย์หรือพืชที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์ เช่น

พอลิไฮดรอกซีอัลคานอยต์ (Polyhydroxyalkanoates, PHAs)

(ค) พอลิเอสเทอร์สังเคราะห์จากมอนอเมอร์ที่ผลิตจากกระบวนการทางชีวภาพ เช่น พอลิแลคติกแอซิด (Polylactic acid, PLA)

4.2.2 กำเนิดจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

(ก) แอลิฟาติก พอลิเอสเทอร์ (Aliphatic polyester) เช่น พอลิไกลโคลิก แอซิด (Polyglycolic acid, PGA) พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต (Polybutylene succinate, PBS) และพอลิคาโปรแลคโตน (Polycaprolactone, PCL)

(ข) แอโรแมติก พอลิเอสเทอร์ (Aromatic polyester) เช่น พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต (Polybutylene succinate, PBS) พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนต เทเรฟทาเรท (Polybutylene succinate terephthalate, PBST)

(ค) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinylalcohols, PVA) คือพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ละลายน้ำได้โดยนำมาผ่านการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ และฉายรังสีแกมมาเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีจนกลายเป็นแผ่นเจลใส เรียกว่า ไฮโดรเจล ทั้งนี้ การฉายรังสีจะช่วยให้วัสดุปิดบาดแผลปลอดภัยและป้องกันเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ การฉายรังสียังทำให้ไฮโดรเจลที่มีลักษณะเป็นแผ่นเจลใส มีสมบัติป้องกันการสูญเสียน้ำขึ้นทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้น

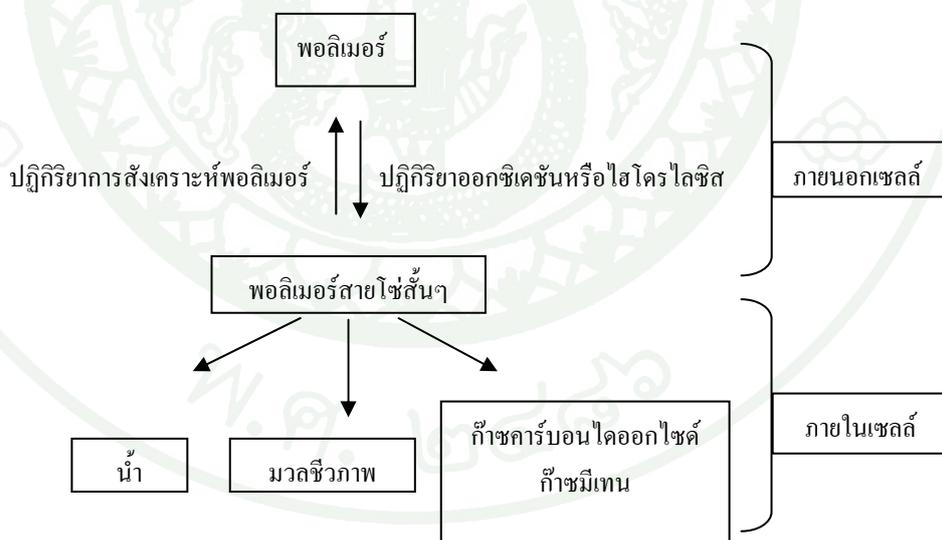
(ง) พอลิโอเลฟินที่ผ่านการเติมแต่งสารเคมี (Modified Polyolefin) เช่น การเติมแต่งสารที่มีความไวต่อแสงหรืออนุมูลอิสระเพื่อเร่งอัตราการย่อยสลายโดยแสง (Photodegradation) หรือย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxodegradation)

4.3 แป้งผสมพลาสติก (Starch plastics)

พลาสติกที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักเกิดจากความพยายามใช้แป้งเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตพลาสติกโดยการผสมลงในโพลีเอทิลีน ตั้งแต่ 10 % - 95 % เพื่อเพิ่มสมบัติความคงทนต่อความชื้นให้กับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากแป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้งกลุ่มนี้มีราคาถูกผลิตได้ง่าย แต่จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ 100% จุลินทรีย์จะย่อยเฉพาะส่วนที่เป็นแป้งที่กระจายตัวอยู่บริเวณผิวพลาสติกเท่านั้น ส่วนที่เหลือคือโพลีเอทิลีนและแป้งที่อยู่ภายใน เมื่อเกิดการแตกเป็นชิ้นเล็กๆจะถูกย่อยสลายด้วยวิธีต่างๆเช่น แสงทางกล หรือใช้สารเคมี ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายขึ้นอยู่กับความยาวของสายโซ่พอลิเมอร์ของโพลีเอทิลีนที่ใช้ ปัจจุบันได้มีการเติมสารเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ลงในส่วนผสมของแป้งและโพลีเอทิลีนเพื่อเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวโดยใช้แสง (Photodegradation) หรือโดยการปฏิกิริยาออกซิเดชันของส่วนที่เป็นโพลีเอทิลีน (Oxobiodegradation) สารเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ที่นิยมเติมลงไปมักเป็นสารประกอบโลหะทรานสิชัน

5. การย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradation)

การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิเมอร์จากการทำงานของจุลินทรีย์โดยทั่วไปมีกระบวนการ 2 ขั้นตอนดังแสดงในภาพที่ 4 เนื่องจากขนาดของสายโซ่พอลิเมอร์ยังมีขนาดใหญ่และไม่ละลายน้ำ ในขั้นตอนแรกของการย่อยสลายจึงเกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยการปล่อยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ซึ่งเกิดได้ทั้งแบบใช้ Endo-enzyme หรือเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกหักของพันธะภายในสายโซ่พอลิเมอร์อย่างไม่เป็นระเบียบและแบบ Exo-enzyme หรือเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกหักของพันธะที่ละหน่วยซ้ำที่เล็กที่สุดที่อยู่ด้านปลายของสายโซ่พอลิเมอร์ เมื่อพอลิเมอร์แตกตัวจนมีขนาดเล็กพอจะแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปในเซลล์และเกิดการย่อยสลายต่อในขั้นตอนที่ 2 ได้ผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนนี้สุดท้าย (Ultimate biodegradation) คือพลังงานและสารประกอบขนาดเล็กที่เสถียรในธรรมชาติ (Mineralization) เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน น้ำ กลีโกล แร่ธาตุต่างๆ และมวลชีวภาพ (Biomass) ซึ่งหมายถึงมวลรวมของสสารที่เกิดขึ้นจากกระบวนการในการดำรงชีวิตและเติบโตของสิ่งมีชีวิตซึ่งรวมถึงพืช สัตว์ และ จุลินทรีย์ โดยการย่อยสลายและการดูดซึมนี้ต้องเกิดขึ้นได้รวดเร็วและพอเพียงที่จะไม่ทำให้เกิดการสะสมในสภาวะแวดล้อม

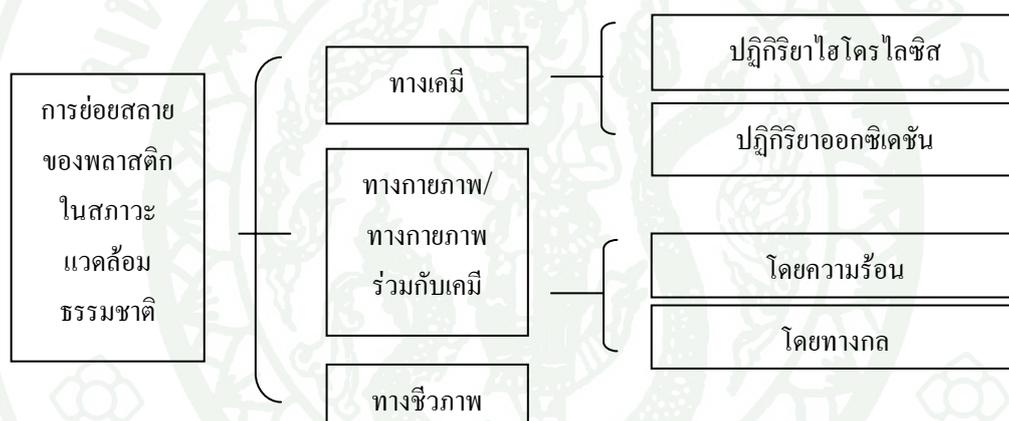


ภาพที่ 4 ขั้นตอนการย่อยสลายทางชีวภาพโดยเอนไซม์

สำหรับคำว่า Biodegradation (การย่อยสลายได้ทางชีวภาพ) ย่อมาจาก Biotic degradation ในมาตรฐานต่างๆมีคำจำกัดความที่ใช้พื้นฐานแนวความคิดเดียวกันคือเป็นการทำงานของจุลินทรีย์

ที่มีต่อชั้นวัสดุ เป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือก๊าซมีเทน และน้ำ ซึ่งเป็นกระบวนการย่อยสลายที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่เป็นพิษ

การย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพ มี 2 วิธี คือ โดยใช้ออกซิเจนและโดยไม่ใช้ออกซิเจน ดังภาพที่ 5 การย่อยสลายโดยใช้ออกซิเจน โมเลกุลออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำจะถูกดึงมาใช้หาก ออกซิเจนถูกใช้จนหมด การย่อยสลายจะเปลี่ยนเป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้น้ำเน่ามีกลิ่นเหม็น สัตว์น้ำขาดออกซิเจนจะตายในที่สุด ในการศึกษางานวิจัยนี้ได้การออกแบบการทดสอบการย่อยสลายพลาสติกโดยกระบวนการทางชีวภาพในสภาวะที่มีออกซิเจน การตรวจวัดอัตราการย่อยสลาย โดยวัดจากการเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนองค์ประกอบและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป ของชิ้นงานจากกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยแบคทีเรีย และราในช่วงเวลาต่างๆ



ภาพที่ 5 การย่อยสลายของพลาสติกในสภาวะแวดล้อมธรรมชาติ

5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

การทำให้พอลิเมอร์ชีวภาพหรือพลาสติกชีวภาพเกิดการย่อยสลายได้ทางชีวภาพได้อย่างสมบูรณ์และรวดเร็ว มีปัจจัยที่ต้องพิจารณาคือ โครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์ ชนิดของจุลินทรีย์และสภาวะแวดล้อม ดังรายละเอียดต่อไปนี้

5.1.1 โครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์

พอลิเมอร์หรือพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพจะต้องมีโครงสร้างโมเลกุลที่เอื้ออำนวยต่อการทำงานของเอนไซม์ของจุลินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่แล้วต้องมีเฮเทอโรอะตอม (Hetero

atom) เช่น อะตอมของธาตุออกซิเจนอยู่บนโครงสร้างหลักของสายพอลิเมอร์ หรือมีพันธะอีเทอร์ เอไมด์ หรือ เอสเทอร์ ซึ่งง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการแตกหัก ขนาดโมเลกุลเล็กลง จนละลายได้ดีในน้ำและแพร่ผ่านผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่ทำให้พอลิเมอร์หรือพลาสติกย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์และรวดเร็ว เช่น โครงสร้างพอลิเมอร์เป็นกิ่งก้าน แต่หากมีมากเกินไปจะทำให้อัตราการย่อยสลายช้าลงเนื่องจากเกิดการกีดขวางการเข้าสัมผัสของเอนไซม์ การมีหมู่ฟังก์ชันที่มีสมบัติเข้ากันได้กับน้ำ เช่น $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-NCO$ จะทำให้เกิดการย่อยสลายได้ดีขึ้น การจัดเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์หรือความเป็นผลึก (Crystallinity) มีผลต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์จะสามารถเข้าไปสัมผัสในส่วนที่มีความเป็นผลึกต่ำได้ง่ายกว่าจึงย่อยสลายได้มากกว่า

5.1.2 ชนิดของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีความจำเพาะและเหมาะสมต่อการย่อยสลายพอลิเมอร์แต่ละประเภทแตกต่างกัน การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิเมอร์หรือพลาสติกดังที่กล่าวในขั้นต้นไม่จำเป็นต้องเกิดจากจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน

5.1.3 สภาวะแวดล้อม

การปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้อย่างรวดเร็ว ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณก๊าซออกซิเจน ความชื้น ขนาดวัตถุอินทรีย์ (พื้นที่ผิว) และความเป็นกรด-ด่าง

5.1.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมามีผลควบคุมทั้งกระบวนการทางเคมี ทางกายภาพ หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินโดยตรง อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25 -35 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่จุลินทรีย์เจริญได้ดีธรรมชาติ ส่วนสารอินทรีย์จะย่อยสลายได้เร็วที่สุดในช่วง 52 - 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่านี้มักทำให้อัตราการย่อยสลายลดลง

5.1.5 ปริมาณก๊าซออกซิเจน

ก๊าซออกซิเจนช่วยในการเกิดการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ การย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนเป็นการย่อยสลายที่สมบูรณ์ สะอาด และรวดเร็ว

5.1.6 ความชื้น

น้ำและความชื้นมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โดยช่วยละลายสารประกอบของธาตุอาหารต่างๆ ช่วยในการเคลื่อนที่ รวมถึงเป็นแหล่งที่อาศัย หากความชื้นสูงเกินไป อัตราการย่อยสลายจะลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากเกิดสภาพขาดออกซิเจน หรือหากความชื้นต่ำจนเกินไป อัตราการย่อยสลายจะลดลงอย่างรวดเร็วทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถทนสภาพแห้งแล้งของจุลินทรีย์

5.1.7 ขนาดวัตถุอินทรีย์

ขนาดวัตถุอินทรีย์ยิ่งเล็กลงจะทำให้กระบวนการย่อยสลายเร็วยิ่งขึ้น เนื่องจากมีพื้นที่ให้จุลินทรีย์สัมผัสเพื่อย่อยสลายได้มากขึ้น แต่ไม่ควรให้อัดแน่นเกินไป

5.1.8 ความเป็นกรด-ด่าง

การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ดีในช่วง pH เป็นกลาง เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่ถูกทำลายจากสถานะที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป ดังนั้นการปรับ pH ของระบบให้เป็นกลางจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายมากยิ่งขึ้น

5.2 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

5.2.1 บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) เป็นแบคทีเรียรูปท่อน สร้างสปอร์ ย้อมติดสีแกรมบวก เซลล์ของมันเป็นแท่งขนาดใหญ่และสปอร์แรงเจียมในสปอร์ของมันจะไม่บวม ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ผลิตเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาล

5.2.2 แบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis*) เป็นแบคทีเรีย ย้อมติดสีแกรมบวก หายใจโดยใช้ ออกซิเจน เซลล์รูปทรงกระบอกเป็นแท่ง ผลิตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาล นอกจากนี้ผลิต เอนไซม์หลากหลายชนิดซึ่งใช้ประโยชน์ได้เช่น อุตสาหกรรมผลิตสาร ทำความ สะอาด โดยเอนไซม์ ซับทิลิน, อัลคาไลน์ โปรติเอส และโปรติเอส เป็นต้น หรือ อุตสาหกรรมย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์จำพวก ไฮโดรไลติก เป็นต้น การเลี้ยง และการแยกของแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิสสามารถทำได้ง่าย อีกทั้งแบคทีเรียชนิดนี้ยังพบมากในธรรมชาติและแบคทีเรียชนิดนี้มีความแข็งแรงและยังสามารถทำลายจุลินทรีย์หรือการทำลายรา ไวรัสและแบคทีเรียบางชนิดได้

5.2.3 ราไตรโคเดอร์มา ลองจิบราเซียม (*Trichoderma longibrachiatum*) เป็นราชั้นสูงที่เจริญเติบโต แผลขยายเส้นใยได้รวดเร็ว ผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ และยังสามารถย่อยเศษซากพืช ซากสิ่งมีชีวิต มีสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมราสาเหตุโรคพืชเนื่องจากเส้นใยไตรโคเดอร์มาอาจแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยโรคพืชและถูกพันรัดจนสลายในที่สุด

5.2.4 ราไตรโคเดอร์มา ฮาร์เซียนัม (*Trichoderma harzianum*) เป็นราชั้นสูงที่เจริญได้ดีในดิน ผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้และยังสามารถย่อยเศษซากพืช ซากสิ่งมีชีวิต มีสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมราสาเหตุโรคพืชได้เช่นเดียวกับราไตรโคเดอร์มา ลองจิบราเซียม

5.3 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง

แหล่งของเอนไซม์สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดด้วยกัน เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

5.3.1 เอนโดอะไมเลส (Endoamylase) เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายในโมเลกุลของแป้ง จะตัดพันธะ α -1,4 กลูโคซิดิก ระหว่างโมเลกุลกลูโคสภายในส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ แอลฟาอะไมเลสและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำงานของแอลฟาอะไมเลส คือ โอลิโกแซคคาไลด์ (Oligosacchhalide) และ α -limit-dextrins

5.3.2 เอ็กโซอะไมเลส (Exoamylase) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของกลูโคสทั้งพันธะ α -1,4 และ α -1,6 กลูโคซิดิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ กลูโคอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และแอลฟาไกลโคซิเดส ซึ่งการทำงานจะตัดโมเลกุลที่ตำแหน่งปลายของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน ดังนั้นผลผลิตที่ได้จะเป็นกลูโคสเพียงอย่างเดียวเมื่อใช้กลูโคอะไมเลส และแอลฟาไกลโคซิเดส หรือได้มอลโตสและ β -limit-dextrin เมื่อใช้เบต้าอะไมเลส

5.3.3 ดีบริรานซิง เอนไซม์ (Debranching enzyme) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะ α -1,6 กลูโคซิดิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ไอโซอะไมเลส และ พูลูแลนเนส การทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้โดย

การย่อยพันธะกิ่งของอะไมโลเพกติน หรือการย่อยพันธะ α -1,6 กลูโคซิดิก ใน พูลูแลน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นโพลีแซคคาไรด์

5.3.4 ทรานซ์เฟอเรส (Transferase) เป็นเอนไซม์ทำหน้าที่จับกับ α -1,4 กลูโคซิดิกของโดเนออร์โมเลกุล (Donor molecule) และเปลี่ยนส่วนของโดเนออร์เพื่อเป็นตัวรับกลูโคซิดิก (Glucosidic acceptor) ซึ่งเป็นการสร้างกลูโคซิดิกใหม่ เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ อะไมโลมอลเตส และไวโคลเดคซ์ทริน กลูโคซิลทรานซ์เฟอเรส (CGTase) ซึ่งจะใช้ในการผลิตไซโคลเดคซ์ทริน โดยการสร้างเป็น วงแหวน โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกลูโคส 7-8 หน่วย

6. การวิเคราะห์หาธาตุองค์ประกอบ (Elemental analysis)

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบธาตุ (Elemental analysis) ในสสารเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถหาองค์ประกอบที่มีความแน่นอนและแม่นยำสูง งานวิจัยนี้ใช้เครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุ ยี่ห้อ LECO รุ่น CHNS-932 แสดงดังภาพที่ 6 ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ชนิดธาตุที่ตรวจวัดได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ซัลเฟอร์ (C, H, S) โดยใช้ Infrared absorption detection systems และตรวจวัดธาตุไนโตรเจน (N) ถูกวิเคราะห์ในรูปของก๊าซไนโตรเจน (N_2) โดยใช้ Thermal conductivity detection system การทำงานของเครื่องจะใช้ก๊าซออกซิเจน (O_2) ในการสันดาปสารตัวอย่างและอาศัยก๊าซตัวกลางฮีเลียม (Helium gas) เพื่อนำเข้าส่วนวิเคราะห์ข้อมูล สำหรับผลที่รายงานของเครื่องวิเคราะห์นี้สามารถแสดงข้อมูลของธาตุทั้ง 4 ชนิดได้พร้อมกันภายในระยะเวลา 3 นาทีสำหรับการทดสอบตัวอย่างหนึ่งครั้ง ข้อดีของเครื่องวิเคราะห์นี้คือ เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์น้อย อุณหภูมิที่ใช้สันดาปค่อนข้างสูงจึงทำให้ธาตุที่วิเคราะห์ในระบบถูกเผาไหม้สมบูรณ์ทำให้ได้ข้อมูลใกล้เคียงความเป็นจริง ข้อจำกัดของเครื่องวิเคราะห์นี้คือ สารตัวอย่างที่ใช้น้ำหนักประมาณ 2 มิลลิกรัม ชนิดของสารตัวอย่างที่ทดสอบอยู่ในรูปของแข็งเนื้อเดียวเช่น ผงยา เเรซินและพลาสติกและไม่สามารถใช้สารตัวอย่างในสถานะของเหลวและน้ำมัน



ภาพที่ 6 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุ (Elemental Analyzer, LECO CHNS-932)

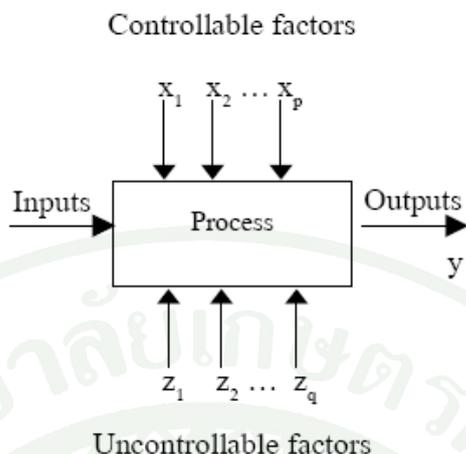
7. การออกแบบการทดลอง (Design of Experiments)

ประไพศรี (2551) กล่าวว่า การออกแบบ (Design) หมายถึง การเลือกรูปแบบที่เหมาะสมในการศึกษาระบบที่สนใจ

การทดลอง (Experiments) หมายถึง สิ่งที่ทำขึ้นเพื่อการค้นหาค่าความรู้หรือข้อมูลที่ยังไม่พบเกี่ยวกับกระบวนการหรือระบบที่สนใจ โดยผู้ทำการศึกษาในสาขานั้นๆ

7.1 การออกแบบการทดลอง (Design of experiments) หมายถึง การทดสอบเพียงครั้งเดียวหรือต่อเนื่อง โดยทำการเปลี่ยนแปลงค่าตัวแปรนำเข้า (Input Variables) ในระบบหรือกระบวนการที่สนใจศึกษาเพื่อสามารถสังเกตและทราบถึงสาเหตุหรือปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผลลัพธ์ที่ได้ (Output) จากกระบวนการหรือระบบนั้น โดยตัวแปรนำเข้าจะถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ ตัวแปรนำเข้าที่สามารถควบคุมได้ (Controllable Variables) และตัวแปรที่ไม่สามารถควบคุมได้ (Uncontrollable Variables)

Montgomery (2005) ได้กล่าวไว้ว่า วัตถุประสงค์ของการทดลองก็คือ เพื่อที่จะศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการทำงานของกระบวนการและระบบ



ภาพที่ 7 แบบจำลองทั่วไปของกระบวนการหรือระบบ

ที่มา: ปารเมศ (2545)

ปัจจัยในกระบวนการผลิตสามารถแบ่งปัจจัยออกเป็น 2 ประเภท คือ

7.1.1 ปัจจัยที่ควบคุมได้ (Controllable Factors) หมายถึง ปัจจัยที่สามารถกำหนดค่าของปัจจัยนั้นได้ในกระบวนการ ซึ่งเป็นผลดีต่อการทดลอง เพราะ โดยส่วนใหญ่ผู้ทำการทดลองต้องการกำหนดค่าต่างๆ ที่คิดว่ามีผลต่อค่าตอบสนองที่สนใจ

7.1.2 ปัจจัยที่ควบคุมไม่ได้ (Uncontrollable Factors) หมายถึง ปัจจัยที่ไม่สามารถกำหนดค่าของปัจจัยนั้นได้ในกระบวนการ อันเนื่องมาจากเทคโนโลยีไม่ทันสมัย ต้นทุนในการควบคุมสูงมาก มีความรู้ไม่เพียงพอ ฯลฯ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการอย่างมาก ผู้ทำการทดลองควรพยายามจัดปัจจัยลักษณะนี้เพื่อให้เปลี่ยนเป็นปัจจัยที่ควบคุมได้ จึงจะเป็นประโยชน์ต่อการทดลอง

ดังนั้น ในการออกแบบการทดลองจึงมีวัตถุประสงค์ดังนี้

- ระบุตัวแปรปัจจัยที่ควบคุมได้ (X) ที่มีผลต่อผลลัพธ์หรือค่าตอบสนอง (Y) มากที่สุด
- กำหนดค่า X ที่มีผลต่อ Y ที่ทำให้ได้ค่า Y ตามต้องการ
- กำหนดค่า X ที่มีผลต่อ Y ที่ทำให้ได้ค่า Y มีความแปรปรวนน้อยที่สุด
- กำหนดค่า X ที่มีผลต่อ Y เพื่อให้ผลของตัวแปรปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ คือ มีค่าน้อยที่สุด z_1, z_2, \dots, z_q

ประโยชน์ของการออกแบบการทดลองในการพัฒนากระบวนการผลิตนั้น สามารถช่วยเพิ่มผลผลิต (Yield) และ ลดต้นทุน ลดความแปรปรวนทำให้ผลลัพธ์ที่ได้ตามค่าที่ต้องการลดเวลาในการพัฒนากระบวนการผลิต และเพิ่มคุณภาพผลิตภัณฑ์ ส่วนประโยชน์ของการออกแบบการทดลองในการออกแบบเชิงวิศวกรรมนั้น ช่วยในการวิเคราะห์เลือกรูปแบบของผลิตภัณฑ์เลือกวัตถุดิบที่เหมาะสม เลือกพารามิเตอร์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ทำงานได้ดีที่สุดและได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ

7.2 วัตถุประสงค์ของการออกแบบการทดลอง

7.2.1 เพื่อยืนยันข้อเท็จจริง (Confirmation) คือการพิสูจน์ถึงข้อเท็จจริงหรือความเชื่อจากประสบการณ์หรือทฤษฎีบางอย่างที่อธิบายเกี่ยวกับกระบวนการผลิต

7.2.2 เพื่อค้นหาข้อเท็จจริง (Exploration) คือการศึกษาถึงอิทธิพลของเงื่อนไขใหม่ที่มีผลต่อกระบวนการ

7.3 หลักการพื้นฐานสำหรับการออกแบบการทดลอง (Principle of Experiments)

ปารเมศ (2545) กล่าวว่าแผนการทดลองที่เมื่อนำไปใช้ทดลองแล้วจะทำให้ได้ข้อมูลที่มีคุณภาพ สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ให้ได้ผลสรุปที่ถูกต้อง (Valid Experimental Design) จำเป็นต้องมีส่วนประกอบที่สำคัญ 3 ส่วนดังนี้

7.3.1 การทดลองซ้ำ (Replication) เพื่อให้สามารถประมาณค่าความคลาดเคลื่อนของการทดลองได้

7.3.2 การสุ่ม (Randomization) เป็นพื้นฐานหลักสำหรับการใช้วิธีการเชิงสถิติในการออกแบบการทดลอง เพื่อจัดปัญหาเกี่ยวกับผลของปัจจัยภายนอกที่อาจปรากฏในการทดลอง

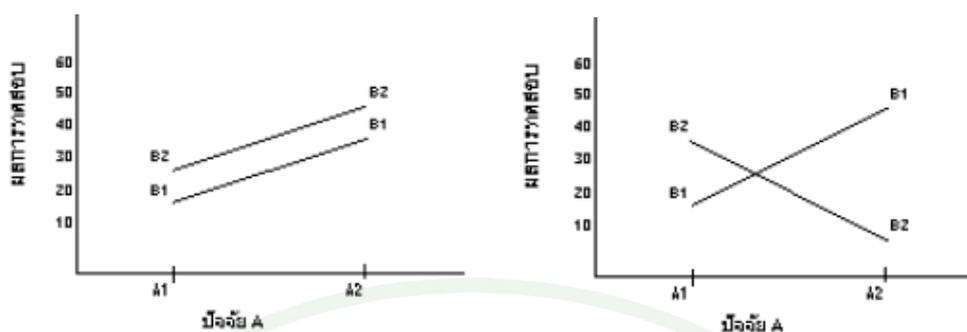
7.3.3 การควบคุมความคลาดเคลื่อน (Error Control) เพื่อให้มีความคลาดเคลื่อนของการทดลองต่ำซึ่งจะทำให้สามารถตรวจสอบพบความแตกต่างของปัจจัยได้อย่างแท้จริง

7.4 การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียล (Factorial Experimental Designs)

การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลนิยมใช้มากในการทดลองที่มีหลายปัจจัยซึ่งต้องการศึกษาถึงผลร่วมที่มีต่อผลตอบซึ่งเกิดขึ้นจากปัจจัยเหล่านั้น การออกแบบเชิงแฟกทอเรียล หมายถึง การทดลองที่พิจารณาถึงผลที่เกิดจากการร่วมกันของระดับของปัจจัยตั้งแต่ 2 ปัจจัยขึ้นไปเรียกว่า ทรีทเมนต์คอมบิเนชัน (Treatment combination) ใช้กับการทดลองที่มีปัจจัยตั้งแต่ 2 ปัจจัย หรือเป็นการทดลองที่มีหลายปัจจัย (Multiple Factor Experiments) และเนื่องจากมีปัจจัยมากกว่า 1 ปัจจัย ดังนั้นนอกจากจะเกิดอิทธิพลของปัจจัยหลัก (Main effect) ที่สนใจแล้วยังอาจเกิดอิทธิพลของปัจจัยร่วม (Interaction effect) ได้ด้วย

การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลมีประโยชน์หลายประการ และเป็นการออกแบบที่มีประสิทธิภาพเหนือกว่าการทดลองทีละปัจจัยยิ่งกว่านั้น การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลยังเป็นสิ่งจำเป็นเมื่อมีอิทธิพลของปัจจัยร่วมเกิดขึ้น ซึ่งกรณีเช่นนี้ทำให้สามารถหลีกเลี่ยงข้อสรุปที่ผิดพลาดได้ นอกจากนั้นแล้วการออกแบบเชิงแฟกทอเรียลทำให้เราสามารถประมาณผลของปัจจัยหนึ่งที่ระดับต่างๆ ของปัจจัยอื่นได้ ทำให้สามารถหาข้อสรุปที่สมเหตุสมผลตลอดเงื่อนไขของการทดลองได้

อิทธิพลของปัจจัยร่วม คือ ผลที่เกิดขึ้นจากการที่ปัจจัยหนึ่งเปลี่ยนแปลงระดับไปแล้วมีผลทำให้อิทธิพล (Effect) ของปัจจัยหนึ่งเปลี่ยนแปลงระดับไป ดังตัวอย่างการเกิดอิทธิพลของปัจจัยร่วมซึ่งเมื่อไม่มีอิทธิพลของปัจจัยร่วมแสดงดังภาพที่ 8 และเมื่อมีอิทธิพลของปัจจัยร่วมแสดงดังภาพที่ 9 โดย A และ B คือปัจจัย 2 ปัจจัย



ภาพที่ 8 อิทธิพลของปัจจัยร่วมที่ไม่มีผล

ภาพที่ 9 อิทธิพลของปัจจัยร่วมที่มีผล

7.5 การออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับ (2^k Full Factorial Experimental designs)

การออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับจะใช้กับการทดลองหลายปัจจัยที่กำหนดระดับของแต่ละปัจจัยเพียงแค่ 2 ระดับเท่านั้น ระดับเหล่านี้อาจจะเกิดจากข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น อุณหภูมิ ความดัน หรือเวลา เป็นต้น หรืออาจจะเกิดจากข้อมูลเชิงคุณภาพก็ได้ เช่น เครื่องจักร หรือคนงาน เป็นต้น และใน 2 ระดับที่กล่าวถึงนี้จะแทนระดับ “สูง” หรือ “ต่ำ” ของปัจจัยเหล่านั้น ใน 1 เรพลิเคตที่บริบูรณ์สำหรับการออกแบบเช่นนี้จะประกอบด้วยข้อมูลทั้งสิ้น $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ ข้อมูล

การออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับนั้นมีประโยชน์มากต่องานทดลองในช่วงเริ่มแรก เมื่อมีปัจจัยเป็นจำนวนมากที่เราต้องการที่จะตรวจสอบการออกแบบ เช่นนี้จะทำให้เกิดการทดลองจำนวนน้อยที่สุดที่สามารถทำได้ เพื่อศึกษาถึงผลของปัจจัยทั้ง k ชนิดได้อย่างบริบูรณ์ดังนั้นการออกแบบการทดลองชนิดนี้จะทำให้สามารถรองรับปัจจัยที่มีอยู่เป็นจำนวนมากให้เหลือน้อยลงได้

ขั้นตอนการวิเคราะห์สำหรับการออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับ
มีดังนี้

1. หาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการทดลอง (Estimate Factor Effects)
2. ออกแบบการทดลองที่ใช้ทดลอง (Form Initial Model)
3. ทดสอบค่าทางสถิติ (Perform Statistical Testing)
4. ปรับค่าต่างๆของแบบการทดลอง (Refine Model)
5. วิเคราะห์ทางสถิติ (Analyze Residual)
6. ตีความค่าทางสถิติ (Interpret Results)

ตัวอย่างการทดลองแฟคทอเรียลของปัจจัย 3 ปัจจัย A B และ C โดยให้

$i = 1, 2, \dots, a$ คือ ระดับของปัจจัย A

$j = 1, 2, \dots, b$ คือ ระดับของปัจจัย B

$k = 1, 2, \dots, c$ คือ ระดับของปัจจัย C

$l = 1, 2, \dots, n$ คือ จำนวนซ้ำ

สมการตัวแบบของแหล่งความผันแปรต่อตัวแปรตอบสนอง คือ

$$Y = \mu + A + B + (AB) + C + (AC) + (BC) + (ABC) + \varepsilon$$

โดยที่ Y คือ ค่าตัวแปรตอบสนองของการทดลอง

μ คือ ค่าเฉลี่ยรวมของพารามิเตอร์

A คือ อิทธิพลที่เกิดจากปัจจัย A

B คือ อิทธิพลที่เกิดจากปัจจัย B

C คือ อิทธิพลที่เกิดจากปัจจัย C

AB คือ อิทธิพลร่วม (Interaction) ที่เกิดจากปัจจัย A กับ B

AC คือ อิทธิพลร่วม (Interaction) ที่เกิดจากปัจจัย A กับ C

BC คือ อิทธิพลร่วม (Interaction) ที่เกิดจากปัจจัยของ B กับ C

ABC คือ อิทธิพลร่วม (Interaction) ที่เกิดจากปัจจัย A กับ B กับ C

ε คือ ความคลาดเคลื่อนแบบสุ่มของการทดลอง (Error)

อิทธิพลหลักของปัจจัย A, B และ C

$$A = \frac{1}{2^{3-1}r} [a + ab + ac + abc - b - c - bc - (1)]$$

$$B = \frac{1}{2^{3-1}r} [b + ab + ab + abc - a - c - ac - (1)]$$

$$C = \frac{1}{2^{3-1}r} [c + ac + bc + abc - b - a - ab - (1)]$$

อิทธิพลร่วม 2 ปัจจัย คือ AB, AC และ BC

$$AB = \frac{1}{2^{3-1}r} [ab + (1) + abc + c - b - a - bc - ac]$$

$$AC = \frac{1}{2^{3-1}r} [ac + (1) + abc - c - b - a - bc - ab]$$

$$BC = \frac{1}{2^{3-1}r} [bc + (1) + abc + a - b - a - ab - ac]$$

อิทธิพลร่วม 3 ปัจจัย คือ ABC

$$ABC = \frac{1}{2^{3-1}r} [abc - (1) + a + b - ac - bc - ab]$$

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบเชิงตั้งฉาก (Orthogonal Contrast) ของ 2^3 แฟกทอเรียล

| treatment combination | Factorial effect | | | | | | | |
|--------------------------|------------------|---|---|----|---|----|----|-----|
| | I | A | B | AB | C | AC | BC | ABC |
| (1) | + | - | - | + | - | + | + | - |
| a | + | + | - | - | - | - | + | + |
| b | + | - | + | - | - | + | - | + |
| ab | + | + | + | + | - | - | - | - |
| c | + | - | - | + | + | - | - | + |
| ac | + | + | - | - | + | + | - | - |
| bc | + | - | + | - | + | - | + | - |
| abc | + | + | + | + | + | + | + | + |

7.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA)

ประไพศรี (2551) การวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการออกแบบการทดลอง โดยอาศัยหลักการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าตอบสนอง (Response; y) หรือลักษณะทางคุณภาพ (Quality Characteristics) สนใจศึกษาหรือปรับปรุงของผลิตภัณฑ์ (ผลลัพธ์; Output) จากระบบหรือกระบวนการ ในการวิเคราะห์จะแยกสาเหตุของความแตกต่างออกเป็น 2 ส่วนหลักๆ คือ

7.6.1 ความแตกต่างที่สามารถอธิบายได้ (Explained Variation) คือ ความแตกต่างหรือการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากปัจจัย (Factor) หรือ วิธีปฏิบัติ (Treatment) ที่ใช้ในการออกแบบการทดลอง บางครั้งอาจถูกเรียกว่าความแตกต่างระหว่างกลุ่ม

7.6.2 ความแตกต่างที่ไม่สามารถอธิบายได้ (Unexplained Variation) คือ ความแตกต่างหรือการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากขาดความรู้ หรือความรู้เกี่ยวกับระบบยังไม่มากพอ ซึ่งในบางกรณีอาจเกิดจากกรณีของผู้ศึกษาทราบถึงปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง แต่ไม่สามารถควบคุมได้ในการทดลอง (Noise Factors) ซึ่งในการวิเคราะห์ความแปรปรวนกล่าวถึงความแตกต่างในส่วนนี้ในรูปของความผิดพลาดหรือส่วนที่ยังไม่สามารถอธิบายได้ (Error or Residuals) ถ้าผู้ทดลองมีความรู้ความสามารถในการควบคุมการทดลองมากขึ้นความผิดพลาดส่วนนี้ก็จะลดลง

ซึ่งรายละเอียดต่างๆ ของตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนระบุในตารางที่ 3 ค่าผลรวมกำลังสองคำนวณจากสูตรท้ายตารางโดยที่ ถ้าหาก $F_0 > F_{\alpha, v_1, v_2}$ หรือ $P\text{-value} < 0.05$ แล้วถือว่าปัจจัยนั้นมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถปฏิเสธ H_0 ได้

7.7 การตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับปัจจัยที่ต้องการตรวจสอบ แบ่งเป็น 2 กรณี คือ

7.7.1 กรณีทดสอบปัจจัยหลัก (Test of main factors)

H_0 : ปัจจัยหลักไม่มีผลต่อค่าตอบสนอง (Y)

H_1 : ปัจจัยหลักมีผลต่อค่าตอบสนอง (Y)

7.7.2 กรณีทดสอบปัจจัยร่วม (Test of interaction factors)

H_0 : ปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อค่าตอบสนอง (Y)

H_1 : ปัจจัยร่วมมีผลต่อค่าตอบสนอง (Y)

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับ Three-Factor Fixed Effect Model

| Source | Sum of squares (SS) | Degree of freedom (df) | Mean Squares (MS) | F_0 |
|--------|---------------------|------------------------|-------------------|-----------------|
| A | SS_A | a-1 | MS_A | MS_A/MS_E |
| B | SS_B | b-1 | MS_B | MS_B/MS_E |
| C | SS_C | c-1 | MS_C | MS_C/MS_E |
| AB | SS_{AB} | (a-1)(b-1) | MS_{AB} | MS_{AB}/MS_E |
| AC | SS_{Ac} | (a-1)(c-1) | MS_{AC} | MS_{AC}/MS_E |
| BC | SS_{Bc} | (b-1)(c-1) | MS_{BC} | MS_{BC}/MS_E |
| ABC | SS_{ABC} | (a-1)(b-1)(c-1) | MS_{ABC} | MS_{ABC}/MS_E |
| Error | SS_E | abc(n-1) | MS_E | |
| Total | SS_T | abcn-1 | | |

ที่มา: Montgomery (2005)

$$SS_A = \frac{\{abc + ab + ac + a - bc - b - c - (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SS_B = \frac{\{abc + ab - ac - a - bc + b - c - (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SS_C = \frac{\{abc - ab + ac - a + bc - b + c - (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SS_{AB} = \frac{\{abc + ab - ac - a - bc - b + c + (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SS_{AC} = \frac{\{abc - ab + ac - a - bc + b - c + (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SS_{BC} = \frac{\{abc - ab - ac + a + bc - b - c + (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SS_{ABC} = \frac{\{abc - ab - ac + a - bc + b + c - (1)\}^2}{2^3 r}$$

$$SST = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^r X_{ijkl}^2 - \frac{X_{...}^2}{abcr}$$

หมายเหตุ r คือ จำนวนซ้ำของการทดลอง

X คือ ค่าที่ได้จากการทดลอง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Chandra and Rustgi (1997) ทดลองพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำผสมกับพอลิเมออร์แปงข้าวโพดโดยใช้มาเลอิกแอนไฮไดรด์ทำปฏิกิริยากับพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำในสารละลายไซลีน โดยเติมไดคิวมิลเปอร์ออกไซด์เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยา กำหนดปริมาณของแปงข้าวโพดตัดแปรและไม่ตัดแปรที่ต่างกัน (ระหว่าง 10 และ 60 เปอร์เซ็นต์) ผสมกับพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำเชิงเส้นเพื่อเปรียบเทียบกัน พบว่า ความแข็งแรงดึง โมดูลัส และการดูดซับความชื้นเพิ่มขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์การยืดดึงลดลง เมื่อปริมาณแปงที่ผสมเพิ่มขึ้นและทดสอบการย่อยสลายของพอลิเมออร์ผสมทางชีวภาพโดยใช้วิธีฝังดินเป็นระยะเวลา 6 เดือน และผสมราเป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่า การฝังดินทำให้เกิดการย่อยสลายได้มากกว่าการใส่ราเพียงอย่างเดียว

Kaitkamjornwong *et al.* (1997) ได้ทำการทดสอบสมบัติของการย่อยสลายของแผ่นฟิล์มพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำและพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำที่ผสมโปรออกซิไดซ์คาร์โบไฮเดรต (Prooxidized carbohydrate) โดยการวางไว้กลางแจ้งบนพื้นดินและฝังไว้ในดิน ผลการทดลองพบว่า แผ่นฟิล์มที่ไม่เติมแปงไม่มีการเปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะตากไว้ในที่กลางแจ้งบนพื้นดินหรือฝังไว้ในดิน แผ่นฟิล์มพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำที่เติมแปงมีการสูญเสียสมบัติเฉพาะเมื่อปริมาณของแปงที่เติมลงไปบนแผ่นฟิล์มพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำเพิ่มขึ้น อัตราการย่อยสลายมีค่าสูงขึ้นและความแข็งแรงดึง (tensile strength) มีค่าลดลงมากหลังจากทิ้งตากไว้เป็นเวลา 6 เดือน จำนวนคาร์โบไฮเดรตที่ลดลงเชื่อว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับสมบัติทางกลของแผ่นฟิล์ม

Mani and Bhattacharya (1997) ศึกษาแปงข้าวโพดที่มีอัตราส่วนของปริมาณอะไมโลเพกตินต่ออะไมโลสที่แตกต่างกัน ปรับปรุงสมบัติโดยการเติมมาเลอิกแอนไฮไดรด์ พอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำในส่วนผสมของแปงข้าวโพดที่มีอะไมโลสร้อยละ 0, 25, 50 และ 70 นำไปฉีดขึ้นรูปที่อุณหภูมิหลอมเหลว 155 องศาเซลเซียส ความดันย้อนกลับ 0.5 เมกะพาสกาล อุณหภูมิแม่พิมพ์ 155 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบสกรู 100 รอบต่อนาที และความดันในการฉีด 8 เมกะพาสกาล พบว่าคุณสมบัติความแข็งแรงดึงและทนแรงตัดโค้งมีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อแปงมีเปอร์เซ็นต์อะไมโลส 70 เปอร์เซ็นต์ และสูงมากขึ้นเมื่อมีปริมาณอะไมโลสต่ำลง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการเชื่อมโยงในโครงสร้างเกิดขึ้นผลการทดสอบการดูดซับความชื้น พบว่าแปงที่มีปริมาณอะไมโลสน้อยสามารถดูดซับความชื้นได้มากกว่าแปงที่มีปริมาณอะไมโลสสูง

Thakore *et al.* (2001) เตรียมพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำกับ แป้งมันฝรั่งที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงสมบัติและที่ผ่านการปรับปรุงสมบัติด้วยการทำ ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันกับฟทาสิกแอนไฮไดรด์ได้เป็นแป้งฟทาเลตโดยเปลี่ยนแปลงปริมาณ ของแป้งมันฝรั่งที่ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยน้ำหนักรวม พบว่าพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ สามารถผสมเข้ากับแป้งฟทาเลตได้ดีกว่าแป้งที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงสมบัติทั้งยังมีคุณสมบัติ ทางความร้อนและคุณสมบัติทางกลที่ดีกว่าด้วยและพบว่าปริมาณแป้งข้าวโพดที่ร้อยละ 10 โดย น้ำหนักเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาใช้งาน

Gattin *et al.* (2002) ศึกษาวัสดุที่ทำจากแป้งและพอลิแลคติก (กรดแลคติก) เป็นพอลิเมอร์ค พิล์มซึ่งถูกทดลองเพื่อติดตามการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนโดยบรรจุในตัวอย่างที่สถานะ ของเหลว ของแข็งเนื้อเยื่อและตัวอย่างอื่นๆ สมบัติทางกลของแผ่นฟิล์มที่ได้จากการทดลองคือ ค่า Young's modulus มีค่า 2340 MPa, elongation at break ที่ 50%, contact angle เป็น 118 องศา ค่าการ เปลี่ยนเป็นแร่ธาตุ (Mineralization) ของส่วนประกอบที่เป็นธาตุคาร์บอนในวัสดุได้วัดจากวิธี มาตรฐานขององค์การ (International Standard Organization) ASTM D5209, ISO /CEN 14852 และ ASTM D5338, ISO/CEN 14855 การวัดค่าจะวัดเป็นช่วงระยะเวลาตลอดการทดลอง ตัวอย่าง ที่ใช้ในการย่อยสลายของฟิล์มทุกตัวในการทดลองนี้ มีค่าการเปลี่ยนเป็นแร่ธาตุของส่วนประกอบที่ เป็นธาตุคาร์บอนในวัสดุสูงกว่าค่าที่ต้องการและกำหนดไว้ถึง 60% ตามมาตรฐานวัสดุที่ใช้ทดสอบ การย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จากผลการทดลองการผสมแป้งเข้าไปในสารพอลิเมอร์ทำให้การย่อย สลายเกิดขึ้นได้ง่ายขึ้น

Kumar and Phillip (2005) ได้ทำการทดลองการบำบัดของเสียและฟื้นฟูสภาพแวดล้อมโดย วิธีชีวภาพ (Bioremediation) ของดินและน้ำที่มีสารเอนโดซัลแฟนเจือปนอยู่ โดยการเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์ผสมสองชนิดประกอบด้วย *Staphylococcus sp.*, *Bacillus circulans-I* และ *II* ที่ได้มาจาก แหล่งอุตสาหกรรมผลิตสารเอนโดซัลแฟน การศึกษาการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจน และแบบไม่ใช้ออกซิเจน ผลการย่อยสลายได้ของเอนโดซัลแฟนภายในเวลา 3 สัปดาห์ คือ $71.58 \pm 0.2\%$ และ $75.88 \pm 0.2\%$ ตามลำดับ ระดับของ pH ของระบบมีผลโดยตรงต่อการย่อย สลายของเอนโดซัลแฟน ผลการทดลองหลังสัปดาห์ ที่ 4 พบประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงสุด ของเอนโดซัลแฟนและพบมากในชั้นก้นภาชนะโดยใช้มาตรฐานของ ASTM (American Society for Testing and Material) ในการติดตามค่าที่เปลี่ยนแปลง

Pedroso and Rosa (2005) ศึกษาอิทธิพลของแป้งข้าวโพดที่มีต่อพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำที่ผ่านกระบวนการขึ้นรูปแล้ว มาผสมกับแป้งข้าวโพดในปริมาณ 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แล้วนำมาขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีด โดยเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ ทำให้ค่าดัชนีการไหล ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile strength) และเปอร์เซ็นต์การยืดดึง ณ จุดขาดลดลง ในขณะที่ค่ามอดูลัสเพิ่มขึ้น ซึ่งการลดลงของค่าดัชนีการไหล ความแข็งแรงดึงนี้ส่งผลให้เห็นเด่นชัดเมื่อมีการเพิ่มแป้งข้าวโพดลงไปในพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ ผลจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดนั้นแสดงให้เห็นถึงแรงกระทำระหว่างผิวหน้าของเฟสทั้งสอง เมื่อมีการนำแป้งข้าวโพดมาผสมลงในพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำที่ผ่านกระบวนการขึ้นรูปแล้วและพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำบริสุทธิ์

Massardier *et al.* (2006) ศึกษาการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนของพอลิเมอร์ฟิล์ม 4 ชนิด คือ Polylactic acid, Polycaprolactone, Starch/Polycaprolactone blend (Mater-bi) และ Poly(butadiene adipate-co-terephthalate(Easter bio)) ได้ถูกนำมาศึกษาภายใต้ตัวกลางสถานะของแข็งและของเหลว มาตรฐานที่ใช้ในการพิจารณาการย่อยสลายทางชีวภาพคือ ISO 14851 , ISO 14853, ASTM G21-90, ASTM G22-76, NF X41-514 การวัดการย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิเมอร์เชิงปริมาณ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก, ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ การเปลี่ยนแปลงความดันก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น องค์ประกอบเคมีและร้อยละการย่อยสลาย เชิงคุณภาพ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของ T_g , T_f การเปลี่ยนแปลง น้ำหนักโมลาร์โดย SEC, การตรวจสอบคุณลักษณะโดย FTIR และ NMR spectroscopy การตรวจสอบคุณลักษณะต่างๆจะทำการตรวจ สอบ 28 วัน และหลังจาก 28 วันต่อไป การย่อยสลายขึ้นอยู่กับชนิดพอลิเมอร์และสถานะของระบบที่ทดลอง จากผลการทดลองการย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจนมีประสิทธิภาพมากกว่าโดยเฉพาะ Mater-bi และ polycaprolactone อย่างไรก็ตามเราสามารถสังเกตได้ว่าพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถระบุโครงสร้างได้แน่นอนโดยมากจะถูกย่อยด้วยกลไกทางจุลชีววิทยาหลังจากเวลาผ่านไป 28 วัน และไม่มีการแยกตัวของโมเลกุลขนาดใหญ่ภายในวัสดุ แบบที่เรียกจะย่อยสลายโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ผิวหน้าของวัสดุ และในระยะเวลาหลังจาก 28 วันผลการสังเกตจาก FTIR และ NMR ไม่มีการเปลี่ยนแปลงการย่อยสลาย

Kunioka *et al.* (2006) เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของ Polylactic powders กับวัสดุอ้างอิงที่สามารถย่อยสลายได้ที่มีการศึกษาในงานวิจัยและเป็นที่ยอมรับก่อนหน้า ค่าที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ ค่าการกระจายของขนาดของชิ้นงานที่ได้รับแรงกระทำหลังจากถูกแช่เย็นจัดใน

น้ำแข็งแห้ง (Mechanical Crushing at low temperature) โดยใช้ค้อนขนาด 250 ไมโครเมตรและ 125 ไมโครเมตรผลที่ได้คือ ขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 214.2 ไมโครเมตร ส่วนวิธีติดตามอัตราการย่อยสลาย มีสองวิธีคือ วิธีมาตรฐานสากล ISO 14855-1 (JIS K6953) ให้ค่าการย่อยสลายคือ 91% ที่เวลา 35 วันและวิธีการใช้เอนไซม์ย่อยสลายตาม ISO14855-2 (Microbial Oxidative Degradation Analyzer, MODA) ให้ค่าการย่อยสลายเฉลี่ยคือ 80% ที่เวลา 50 วัน นอกจากนี้ได้ข้อมูลการย่อยสลายที่ขึ้นกับเอนไซม์ *Proteinase K* ซึ่งสามารถย่อยสลาย PLA ได้อีกด้วย

Kijchavengkul *et al.* (2006) ได้ศึกษาการย่อยสลายได้ทางชีวภาพของพอลิเมอร์แบบใช้ ออกซิเจน ระบบที่สร้างขึ้นได้อยู่ภายใต้สภาวะสิ่งแวดล้อม ปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการสลายตัวของพอลิเมอร์ชีวภาพถูกวัดเป็นค่าร้อยละการย่อยสลาย พอลิเมอร์ที่นำมาศึกษาคือ ขวดพอลิแลคไทด์ (Polylactide, PLA) ซึ่งถูกนำไปเปรียบเทียบกับแป้งข้าวโพดและขวดพอลิเอทิลีนเทอพทาเลท (Polyethylene terephtharate, PET) ผลการทดสอบหลังจาก 63 วัน ที่อุณหภูมิระบบเฉลี่ย 58 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 55 พบว่าการย่อยสลายของขวด PLA คิดเป็นร้อยละ 64.2 ± 0.5 ขวด PET คิดเป็นร้อยละ 2.7 ± 0.2 และแป้งข้าวโพด คิดเป็นร้อยละ 72.4 ± 0.7 โดยการทดสอบจาก ASTM D6400, ISO 14855 ผลสรุปคือ ขวด PLA สามารถย่อยสลายได้เนื่องจากค่าร้อยละการย่อยสลายมีค่ามากกว่าร้อยละ 60

Kale *et al.* (2006) ทำการทดสอบการย่อยสลายภายใต้สภาวะการฝังกลบโดยนำบรรจุภัณฑ์ที่ได้จากโรงงานผลิตพลาสติกได้แก่ 1) ขวดน้ำผลิตจากพอลิแลคไทด์ผลิตจาก 96% L-poly lactide กับ 4% D-lactide 2) ฝาแก้วน้ำและ 3) ฝากล่องที่ผลิตจาก 94% L-poly lactide กับ 6% D-lactide การย่อยสลายติดตามโดยวิธีสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ระยะเวลา 1, 2, 4, 6, 9, 15 และ 30 วันโดยวิธีการถ่ายภาพ, วิธี Gel permeation chromatography (GC) แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงของคาร์บอนองค์ประกอบ, วิธี Differential scanning calorimetry (DSC) แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าอุณหภูมิของการเปลี่ยนสถานะต่างๆและวิธี Thermal gravimetric analysis (TGA) ตรวจสอบการย่อยสลายของสายโมเลกุลภายในชิ้นพลาสติกผลการทดลองสรุปได้ว่าพลาสติกขวดน้ำผลิตจากพอลิแลคไทด์ย่อยสลายได้ภายในระยะเวลา 30 วัน ที่สภาวะระบบ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65

Kale *et al.* (2007) ศึกษาการย่อยสลายของขวดพอลิแลคไทด์ในสภาวะจริงและการจำลองสถานการณ์ โดยเน้นการจัดการในด้านสิ่งแวดล้อมจึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาเวลาในการย่อยสลายของวัสดุพอลิเมอร์ก่อน กระบวนการทดสอบคือถูกนำไปฝังกลบและมาตรฐานที่นำมาใช้ในการทดสอบการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพคือ ASTM และ ISO โดยใช้สภาวะการจำลองที่ถูกต้องควบคุม วิธีการติดตามการเปลี่ยนแปลงคือ Cumulative measurement respirometric (CMR) system และ Gravimetric measurement respirometric (GMR) system ทั้งสองวิธีให้ผลการทดสอบการย่อยสลายของขวดพอลิแลคไทด์แนวโน้มนำในทางเดียวกันและที่เวลา 58 วัน ส่วนการวัดค่าการเปลี่ยนเป็นแร่ธาตุ (mineralization) ได้ $84.2 \pm 0.9\%$ และ $77.8 \pm 10.4\%$ ตามลำดับ ผลสรุปคือ การศึกษาการย่อยสลายของขวดพอลิแลคไทด์เป็นไปตามทฤษฎีและกลไกการย่อยสลาย

Carvalho (2008) ศึกษาวัสดุที่ผลิตจากแป้งโดยวิเคราะห์จากแป้งชนิดต่างๆตามส่วนประกอบของ อะไมเลส และ อะไมโลเพคติน และได้ศึกษาข้อมูลทางโครงสร้างพื้นฐานวิทยาและเทคนิคประยุกต์ที่ใช้ทดสอบการรบกวนโครงสร้างพื้นฐานวิทยา พร้อมทั้งศึกษาหลักในการผลิตพลาสติก การเตรียม การผสมที่ถูกต้อง ปัญหาที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตและการย่อยสลาย ถูกติดตามโดยค่าความถี่ของคลื่นวัสดุ, ค่า Dynamic Mechanical Analysis plot ซึ่งเกี่ยวข้องกับค่ามอดูลัสที่อุณหภูมิต่างๆของวัสดุ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 1.1 แป้งข้าวเจ้า (Commercial grade จากบริษัท Biomass technology Co., Ltd)
- 1.2 พอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDPE: JJ4324 grade จากบริษัท TPI Co., Ltd)
- 1.3 จุลินทรีย์บริสุทธิ์: แบคทีเรียได้แก่ บาซิลลัส ซีเรียส และ บาซิลลัส ซับติลิส
รา ได้แก่ ไตรโคเดอร์มา ลองจิบราเซียตัม และ ไตรโคเดอร์มา ฮาร์เซียนัม
(ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.ชรุภา ชีรภัทรสกุล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
- 1.4 อาหาร Potato dextrose agar (PDA) สำหรับรา
- 1.5 อาหาร Nutrient agar (NA) สำหรับแบคทีเรีย
- 1.6 สารละลายแอลกอฮอล์และน้ำยาฆ่าเชื้อเดทตอล
- 1.7 สารละลายไอโอดีน
- 1.8 น้ำกลั่น

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 2.1 จานเพาะเชื้อ
- 2.2 เครื่องเทอร์โม-ไฮโกรมิเตอร์ (Thermo-Hygrometer)
- 2.3 หลอดทดลองพร้อมจุกสำลี
- 2.4 ชุดทดสอบ (Elenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร) พร้อมจุกสำลี
- 2.5 ตะเกียงเบนเสน
- 2.6 ก๊าซหุงต้มชนิดถัง
- 2.7 ลวดเขี่ยเชื้อแบคทีเรีย (Loop) และลวดเขี่ยเชื้อรา (Needle)
- 2.8 แม่แบบรูปคัมเบล
- 2.9 ตู้อบไล่ความชื้น
- 2.10 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave, LabTech รุ่น LAC-5040S)
- 2.11 กล้องถ่ายรูป
- 2.12 ตู้ปลอดเชื้อ

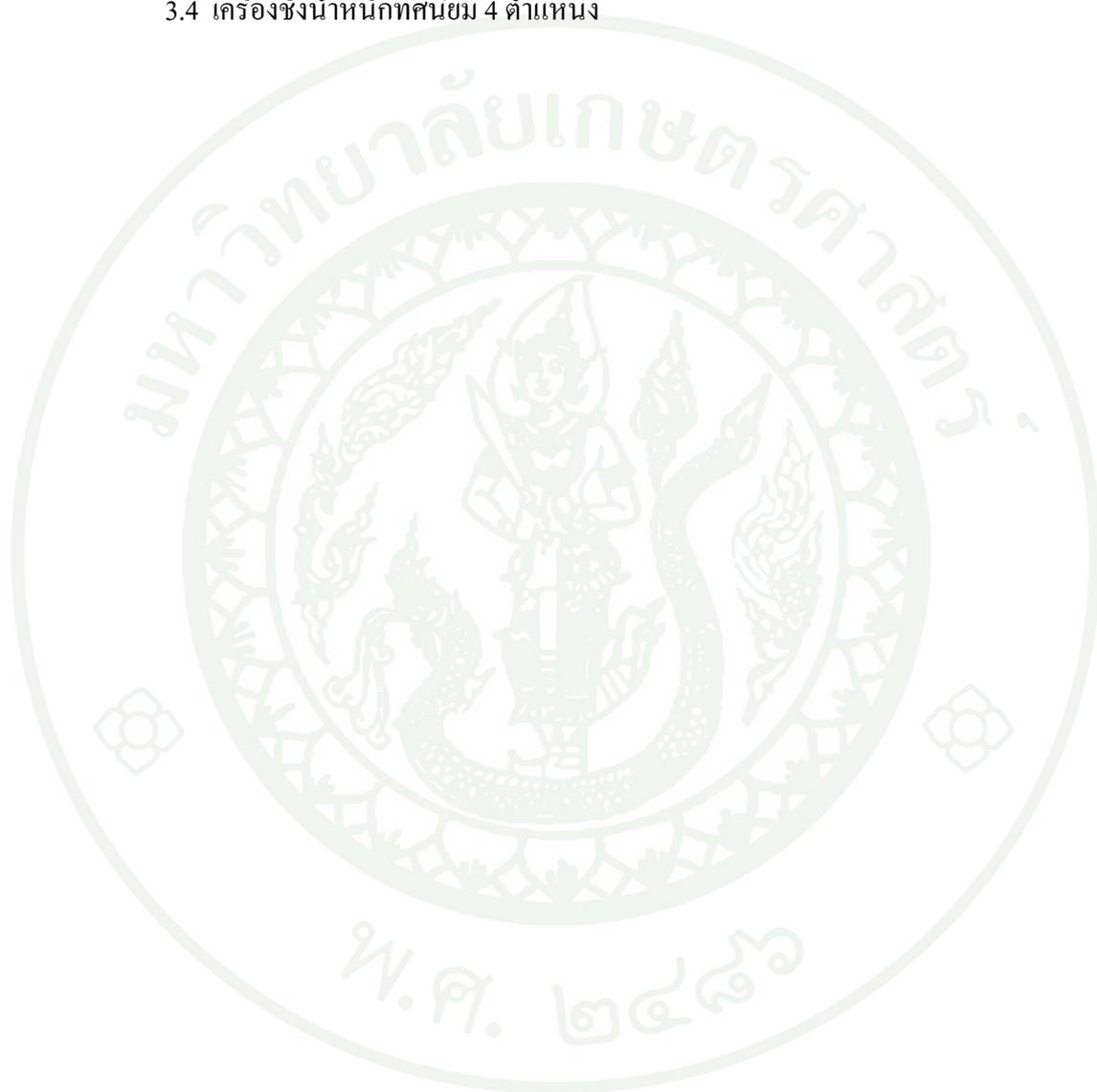
3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.1 เครื่องฉีดขึ้นรูปพลาสติก (บริษัท Battenfeld Austria รุ่น BA 250/50 CDC)

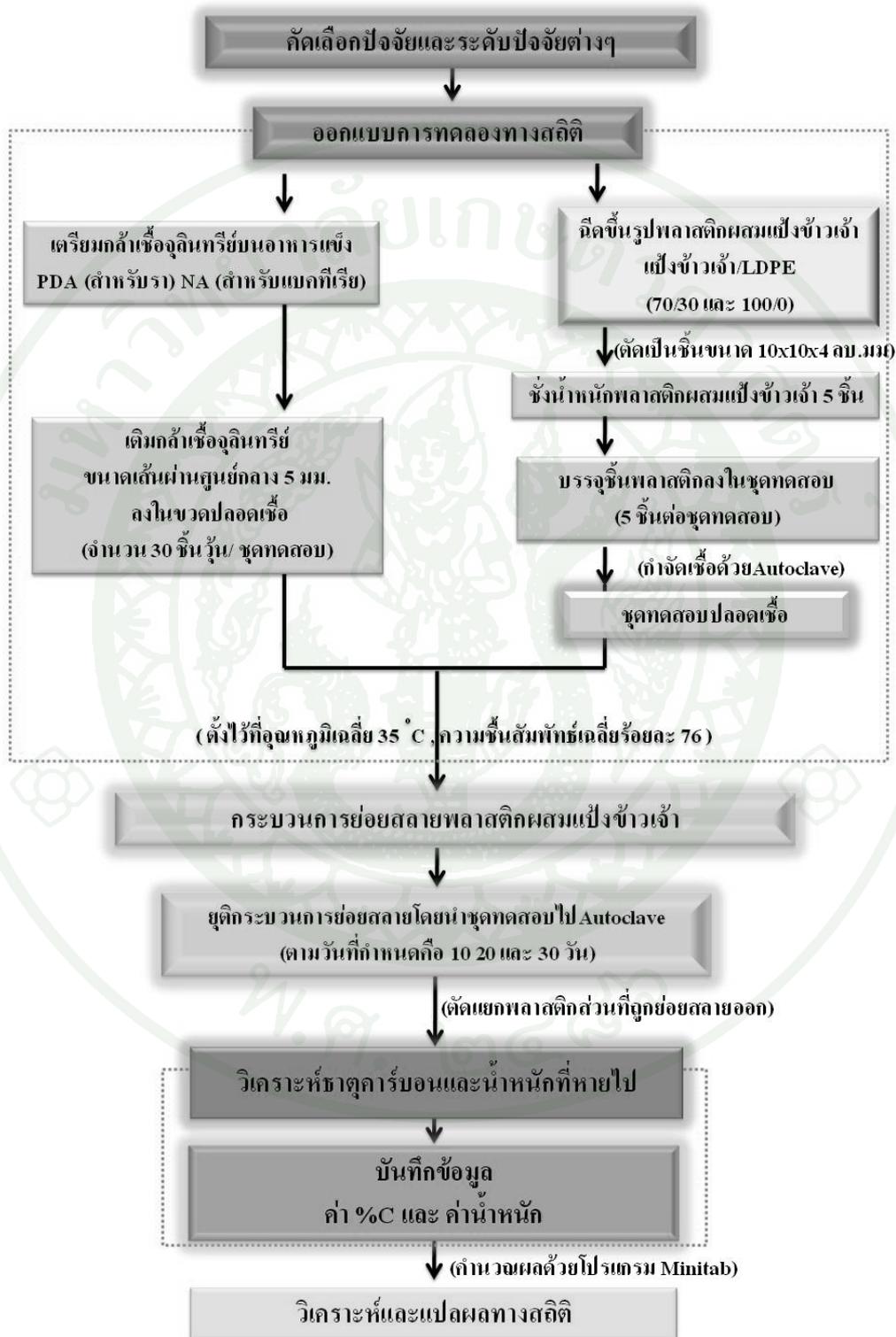
3.2 โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab และเครื่องคอมพิวเตอร์

3.3 เครื่องวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบ(Elemental Analyzer รุ่น LECO CHNS-932)

3.4 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง



วิธีการ



ภาพที่ 10 ลำดับขั้นตอนในการทดลอง

1. วิธีการออกแบบการทดลองทางสถิติ

การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าและหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสม โดยแบ่งตัวแปรหรือปัจจัยออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้คือ

1.1 ตัวแปรผลตอบแทน (Response Variable) หมายถึง ตัวแปรที่มีค่าแปรเปลี่ยนไปตามค่าของปัจจัยอื่นๆซึ่งตัวแปรผลตอบแทนนี้เป็นตัวแปรที่สนใจโดยในที่นี้คือ

1.1.1 ค่าร้อยละคาร์บอนที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า (%Carbon loss)

1.1.2 ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า (%Weight loss)

1.2 ปัจจัยที่ควบคุมได้ (Controlled Factors) หมายถึง ปัจจัยต่างๆที่ทำให้ค่าของตัวแปรผลตอบแทนมีค่าเปลี่ยนแปลงซึ่งในที่นี้มีปัจจัยควบคุมที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัย ดังนี้

1.2.1 ร้อยละปริมาณแป้งข้าวเจ้าในพลาสติกชีวภาพ

1.2.2 ชนิดของจุลินทรีย์ คือ รา และ แบคทีเรีย

1.2.3 จำนวนสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ คือ

(ก) จุลินทรีย์แบบสายพันธุ์เดียว (Single specie)

(ข) จุลินทรีย์แบบผสมสองสายพันธุ์ (Dual species)

1.3 ปัจจัยที่ควบคุมไม่ได้ (Uncontrolled Factors) หมายถึงปัจจัยที่อาจส่งผลต่อค่าตอบแทนแต่ไม่สามารถควบคุมหรือยากแก่การตัดออกไปจากการทดลอง ได้แก่

1.3.1 อุณหภูมิในห้องทดลอง

1.3.2 ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ

1.3.3 ปริมาณของเซลล์จุลินทรีย์

สำหรับปัจจัยที่ควบคุมได้ทั้ง 3 ปัจจัย ที่ระดับปัจจัยต่างๆ ที่เลือกมาทำการศึกษาในครั้งนี้มีที่มาจาก

1. ร้อยละปริมาณแป้งข้าวเจ้าในพลาสติกชีวภาพ: จากงานวิจัยของศิริลักษณ์ (2552) ได้ทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพของพลาสติกที่ผสมแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วนต่างๆ กัน จากผลการสังเกตลักษณะภายนอกและสีของชิ้นพลาสติกที่เตรียมได้พบว่า พลาสติกชีวภาพชนิด 100% แป้งข้าวเจ้า มีรอยดำสีขาวเกิดขึ้นที่บริเวณผิวของพลาสติก (ดังภาพที่ 11) และการเกิดรอยดำสีขาวจะลดลงเมื่อปริมาณส่วนผสมของแป้งข้าวเจ้าน้อยลงตามลำดับ และเมื่อเตรียมพลาสติกชีวภาพชนิด 70% แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกนั้นพบว่าแทบจะไม่เกิดรอยดำสีขาวเลย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอิทธิพลของปริมาณแป้งข้าวเจ้าในพลาสติกชีวภาพต่อการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพ โดยเลือกศึกษาที่ 2 ระดับปัจจัย คือ เตรียมพลาสติกชีวภาพที่ 100% แป้งข้าวเจ้า และ 70% แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก

2. ชนิดของจุลินทรีย์: ปัจจัยและระดับของปัจจัยที่เลือกศึกษามีที่มาจากเนื้อหาส่วนการตรวจเอกสารข้อที่ 5.2 เรื่องชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

3. จำนวนสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ: จุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์อาจจะสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสต่างชนิดกันและมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาในการย่อยสลายได้ดีต่างกัน ดังนั้นการย่อยสลายทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์อาจจะช่วยส่งเสริมการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้ดียิ่งขึ้น

2. วิธีการออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2 ระดับ (2^k Full Factorial Experimental designs)

ในขั้นตอนนี้เป็นการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า โดยมีวิธีการดังนี้

2.1 การออกแบบการทดลองประกอบไปด้วยปัจจัยควบคุมที่ทำการศึกษาดังกล่าว 3 ปัจจัย ปัจจัยละ 2 ระดับ คือ ที่ระดับต่ำและสูง แต่ละชุดทดสอบแบ่งเก็บตัวอย่าง 3 ช่วงเวลาและทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ซ้ำ ใช้จำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น $2^3 \times 3 \times 3 = 72$ ตัวอย่าง

2.2 ทำการทดลองกับกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ ตามรูปแบบการทดลองที่ได้ ออกแบบไว้โดยทำตามตารางที่ 4

2.3 นำตัวอย่างที่เก็บได้ตามระยะเวลาที่กำหนดไปทดสอบค่าร้อยละคาร์บอนที่หายไป และค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป

2.4 การตรวจสอบความพอเพียงและถูกต้องของแบบจำลอง (Model Adequacy Checking) ก่อนนำผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนไปอธิบายผลได้อย่างถูกต้องและน่าเชื่อถือ

2.4.1 การทดสอบการแจกแจงแบบปกติ (Normal distribution)

2.4.2 การทดสอบความเป็นอิสระของค่าความคลาดเคลื่อน (Independence of residual)

2.4.3 การทดสอบค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของค่าความคลาดเคลื่อน

2.5 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ (มีนัยสำคัญต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ)

2.6 นำปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพมาสร้างแผนภูมิแสดงอิทธิพลหลักและอิทธิพลอันตรกิริยาของปัจจัย เพื่อหาระดับปัจจัยของแต่ละปัจจัยที่ทำให้การย่อยสลายทางชีวภาพสูงสุด

ตารางที่ 4 การออกแบบการทดลองของแต่ละปัจจัยที่ระดับปัจจัยต่างๆ

| แป้งข้าวเจ้า / LDPE | ชนิดจุลินทรีย์ | จุลินทรีย์ในชุดทดสอบ | วันที่เก็บตัวอย่าง | | |
|---------------------|----------------|--|--------------------|----|----|
| | | | 10 | 20 | 30 |
| 70/30 | รา | <i>Trichiderma longibrachiatum</i> | X | X | X |
| | | <i>T. longibrachiatum/T. harzianum</i> | X | X | X |
| | แบคทีเรีย | <i>Bacillus subtilis</i> | X | X | X |
| | | <i>B. subtilis/B. cereus</i> | X | X | X |
| 100/0 | รา | <i>T. longibrachiatum</i> | X | X | X |
| | | <i>T. longibrachiatum/T. harzianum</i> | X | X | X |
| | แบคทีเรีย | <i>B. subtilis</i> | X | X | X |
| | | <i>B. subtilis/B. cereus</i> | X | X | X |

หมายเหตุ: จุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในชุดทดสอบแยกแหว่งรากับแบคทีเรีย

2.7 วิเคราะห์ข้อมูลโดยนำค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยแผนการทดลองแบบเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบ 2^3 ไปใช้จริงในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพจากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลและคำนวณค่าสถิติต่างๆในตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

2.8 สรุปผลการทดลองที่ได้เพื่อทำการเปรียบเทียบผลกระบวนการย่อยสลาย

3. การเตรียมพลาสติกชีวภาพ

3.1 ชั่งน้ำหนักพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำต่อแป้งข้าวเจ้าในสัดส่วนต่อไปนี้คือ 30:70 และ 0:100 จากนั้นนำมาผสมกันแล้วนำไปเข้าเครื่องฉีดขึ้นรูปพลาสติก วัตถุประสงค์แสดงในภาพผนวกที่ ก1

3.2 นำพอลิเมอร์ชีวภาพผสมในอัตราส่วนต่างๆมาผ่านเข้าสู่เครื่องฉีดขึ้นรูปพลาสติกของบริษัท Battenfeld Austria รุ่น BA 250/50 CDC ขนาด 40 ตัน เส้นผ่านศูนย์กลางสกรู 22 มิลลิเมตร แม่พิมพ์เป็นรูปตัวดัมเบลล์ (Dumbbell-shaped) แสดงในภาพที่ 12 จากนั้นนำชิ้นงานจากการขึ้นรูปไปทำการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพ

3.3 นำพลาสติกแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการขึ้นรูปแล้วทั้งสองอัตราส่วนมาตัดด้วยเลื่อยฉลุให้มีขนาดขนาด 10 x 10 x 4.0 มิลลิเมตร ดังแสดงในภาพที่ 11



ภาพที่ 11 ชิ้นพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ยังไม่ผ่านการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์



ภาพที่ 12 เครื่องฉีดขึ้นรูปพลาสติก บริษัท Battenfeld Austria รุ่น BA 250/50 CDC

3.4 ชั่งน้ำหนักพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าจำนวน 5 ชั่ง บันทึกเป็นน้ำหนักก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ

3.5 บรรจุขึ้นรูปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าจำนวน 5 ชิ้นต่อชุดทดสอบ (Elenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วปิดปากชุดทดสอบด้วยจุดสำลี จากนั้นนำไปกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121.5 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ได้เป็นชิ้นงานปลอดเชื้อสำหรับนำไปใช้ในการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพต่อไป

4. วิธีการเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum preparation)

4.1 เตรียมอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) สำหรับเพาะเลี้ยงรา

| | | |
|----------|-------|-----------|
| มันฝรั่ง | 200 | กรัม |
| Dextrose | 20 | กรัม |
| วุ้น | 20 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |
| pH | 5.6 | |

4.2 เตรียมอาหาร Nutrient Agar (NA) สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

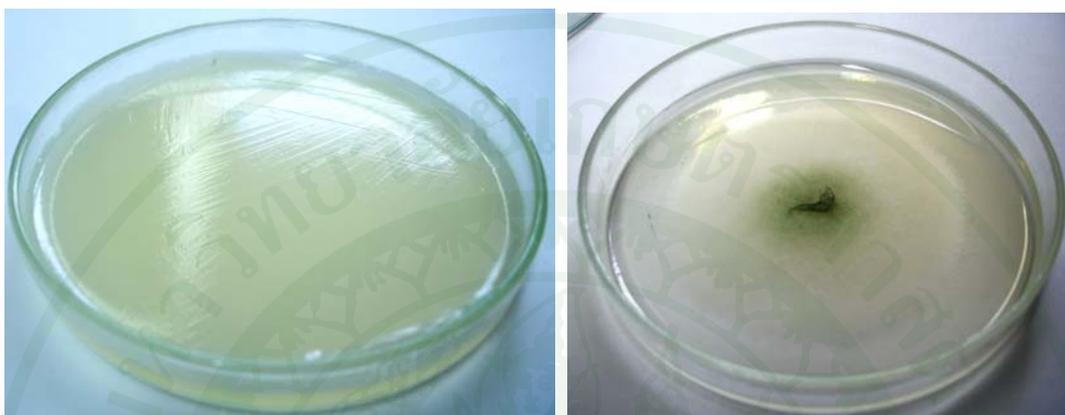
| | | |
|--------------|-------|-----------|
| Beef extract | 3 | กรัม |
| Peptone | 5 | กรัม |
| วุ้น | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |
| pH | 7.0 | |

กำจัดเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121.5 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4.3 เพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Bacillus subtilis* บนอาหาร NA

ส่วนรา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianuma* เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่บรรจุในงานเพาะเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) โดยให้จุลินทรีย์เจริญมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 3 ใน 4 ของงานเพาะเชื้อ (แบคทีเรียใช้เวลาเพาะเลี้ยงประมาณ 45

ชั่วโมง และราใช้เวลาเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 50 ชั่วโมง) จากนั้นใช้ Cork borer เบอร์ 4 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) ตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีเพื่อใช้สำหรับเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ 13 กล้าเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NA

ภาพที่ 14 กล้าเชื้อราบนอาหาร PDA

5. วิธีทดสอบกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation processes)

5.1 เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 30 ชิ้นวุ้น ลงในชุดทดสอบที่บรรจุขึ้นพลาสติก (ที่เตรียมไว้จากวิธีทำข้อที่ 3) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ กำหนดให้เป็นชุดการทดลองสำหรับศึกษากระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ

5.2 บ่มชุดการทดลอง (จากในข้อ 5.1) โดยตั้งไว้ในห้องบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 35 องศาเซลเซียส และมีความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 76

5.3 เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในชุดทดสอบทุก 5 วัน เพื่อรักษาความชื้นในชุดทดสอบให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์

5.4 เก็บตัวอย่างตามเวลาที่กำหนดดังตารางที่ 4 โดยวัดอุณหภูมิเฉลี่ยและความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยของชุดทดสอบด้วยเครื่องเทอร์โม-ไฮโกรมิเตอร์ (Thermo-Hygrometer) แสดงดังภาพที่ 15 จากนั้นใส่ชุดทดสอบลงในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121.5 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เพื่อหยุดการเจริญของจุลินทรีย์และสิ้นสุดการย่อยสลายทางชีวภาพ



ภาพที่ 15 การวัดความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิในชุดทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยเครื่องเทอร์โม-ไฮโกรมิเตอร์ (Thermo-Hygrometer)

5.5 ทำความสะอาดบริเวณผิวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าด้วยน้ำกลั่นอย่างระมัดระวัง และสะอาดที่สุด จากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบไอร้อน (Oven) เพื่อกำจัดความชื้นที่ขึ้นพลาสติกดูดซับไว้ แสดงดังภาพที่ 16 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้จนขึ้นพลาสติกเย็นที่อุณหภูมิห้อง

5.6 ลอกผิวสีขาวซีดชั้นนอกของพลาสติกที่ถูกย่อยสลายแยกออกจากพลาสติกที่ไม่ถูกย่อยสลายดังภาพที่ 17

5.7 นำขึ้นพลาสติกไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาน้ำหนักของขึ้นพลาสติกที่หายไปจากการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์และนำขึ้นพลาสติกเริ่มต้นและขึ้นพลาสติกส่วนที่ถูกย่อยสลายและขึ้นพลาสติกส่วนที่เหลือไม่ถูกย่อยสลายไปทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุคาร์บอน (Carbon Analyzer)



ภาพที่ 16 ตู้อบไอร้อน (Oven)

6. การนับจำนวนจุลินทรีย์ (Enumeration of Microorganisms)

จุลชีววิทยาปฏิบัติการ (2548) การนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพแบ่งเป็น 2 วิธี ได้แก่

6.1 การนับจำนวนแบคทีเรียใช้เทคนิค Dilution plate count มีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

6.1.1 เตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียตามขั้นตอนที่ 4.3 จากนั้นนำกล้าเชื้อแบคทีเรีย 1 ช้อนวุ้นใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตรที่บรรจุในหลอดทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นเขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เซลล์แบคทีเรียกระจายในน้ำกลั่นจะได้เป็นสารละลายเซลล์ของเชื้อ (cell suspension) จะได้ความเจือจาง 1:10

6.1.2 เจือจางสารละลายเซลล์ของเชื้อ จากข้อ 6.1.1 ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เพื่อทำความเจือจางที่จะนำมาใช้นับจำนวนแบคทีเรีย กรณีการนับจำนวนแบคทีเรียมักใช้ความเจือจาง เท่ากับ $1:10^4$, $1:10^5$ หรือ $1:10^6$ ตามลำดับ โดยปฏิบัติดังนี้

(ก) ดูดเชื้อความเจือจาง 1:10 จำนวน 1 มล. ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 9 มล. จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^2$

(ข) คูดเชื้อความเจือจาง $1:10^2$ จำนวน 1 มล. ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 9 มล. จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^3$

(ค) คูดเชื้อความเจือจาง $1:10^3$ จำนวน 1 มล. ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 9 มล. จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^4$

(ง) คูดเชื้อความเจือจาง $1:10^4$ จำนวน 1 มล. ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 9 มล. จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^5$

(จ) คูดเชื้อความเจือจาง $1:10^5$ จำนวน 1 มล. ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 9 มล. จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^6$

6.1.3 การทออาหารและผสมเชื้อ (วิธี Pour plate)

(ก) หลอมอาหาร NA แล้ววางไว้ให้เย็นลงที่ประมาณ 45 องศาเซลเซียส

(ข) คูดเชื้อที่ความเจือจาง $1:10^4$, $1:10^5$ และ $1:10^6$ ความเจือจางละ 1 มล. ใส่ในจานเพาะเชื้อความเจือจางละ 3 จาน

(ค) ทออาหารจากข้อ 6.1.3(ก) ลงในจานเพาะเชื้อทั้งหมดในข้อ 6.1.3(ข) แล้วหมุนจานตามเข็มนาฬิกา 5 รอบ ทวนเข็มนาฬิกา 5 รอบ เคลื่อนจานขึ้นลง 5 ครั้ง และเคลื่อนไปซ้ายขวา 5 ครั้ง (Shake plate) เพื่อให้เชื้อผสมและกระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ วางไว้จนอาหารเย็นและอุ่นแข็งตัว

(ง) นำไปบ่มโดยการกลับด้านล่างจานเพาะเชื้อไว้ด้านบนที่อุณหภูมิห้อง นาน

12 ชั่วโมง

6.1.4 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย

(ก) การนับโคโลนี ให้เลือกชุดงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีเจริญอยู่ประมาณ 30-300 โคโลนี จากความเจือจางเดียว ถ้าทำ 3 งาน (Triplicate) ในแต่ละความเจือจางให้รวมจำนวนโคโลนีของทั้ง 3 งาน แล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อ 1 ความเจือจางต่องาน

(ข) คำนวณจำนวนโคโลนีต่อกล้าเชื้อแบคทีเรีย 1 ชื้นวุ้นได้ดังนี้
เช่น นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียได้ 250 โคโลนี ที่ความเจือจาง $1:10^5$ จะได้จำนวนแบคทีเรียเท่ากับ 250×10^5 โคโลนี หรือ 2.5×10^7 โคโลนีต่อกล้าเชื้อแบคทีเรีย 1 ชื้นวุ้น

(ค) บันทึกและรายงานผลจำนวนแบคทีเรียหน่วยเป็น CFU (Colony Forming Unit)

6.2 การนับจำนวนราโดยใช้วิธีชั่งน้ำหนักแห้ง เนื่องจากราเจริญเป็นเส้นใย การนับจำนวนโคโลนีเหมือนแบคทีเรียทำได้ลำบาก วิธีการหาน้ำหนักแห้งของรามีสั้นขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

6.2.1 ชั่งน้ำหนักแห้งของถ้วยอลูมิเนียมแต่ละถ้วยและจดบันทึกน้ำหนักของแต่ละถ้วยไว้ (A_0)

6.2.2 หาน้ำหนักแห้งของชิ้นวุ้น โดยตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ไม่ได้เพาะเลี้ยงราจำนวน 30 ชิ้นใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมที่เตรียมไว้ในข้อ 6.2.1 แล้วนำถ้วยอลูมิเนียมที่บรรจุชิ้นวุ้นอาหาร PDA ไปอบแห้งในตู้อบไอร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส แล้วชั่งน้ำหนักแห้งจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ (A_1) และคำนวณน้ำหนักแห้งของชิ้นวุ้นตามสมการดังนี้

$$\text{น้ำหนักแห้งของชิ้นวุ้น (B)} = A_1 - A_0$$

6.2.3 เตรียมกล้าเชื้อราตามขั้นตอนที่ 4.3 จากนั้นบรรจุกล้าเชื้อจำนวน 30 ชื้นลงในถ้วยอลูมิเนียมที่เตรียมไว้ในข้อ 6.2.1 แล้วนำถ้วยอลูมิเนียมที่บรรจุกล้าเชื้อแล้วไปอบแห้งในตู้อบไอร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส แล้วชั่งน้ำหนักแห้งจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ (A_2)

6.2.4 คำนวณน้ำหนักเซลล์ของราตามสูตรดังนี้และรายงานหน่วยเป็นมิลลิกรัม

$$\text{น้ำหนักแห้งของเซลล์รา} = A_2 - B - A_0$$

7. วิธีวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนที่หายไปและน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

หลังจากที่พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าได้ผ่านการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพมาแล้ว ต้องนำพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาดเพื่อขจัดคราบหรือเศษอาหารให้ออกจากผิวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า จากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบไอร้อน (Oven) เพื่อไล่ความชื้นที่มีอยู่ในชิ้นพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า แล้วจึงนำไปตัดแยกระหว่างชั้นผิวที่ถูกย่อยสลาย (ผิวที่มีสีขาวซีด) กับส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลายด้านใน (ชั้นสีน้ำตาลเข้ม) เพื่อวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

7.1 วิธีเตรียมสารตัวอย่างเพื่อใช้วัดในเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอน

7.1.1 นำตัวอย่างพลาสติกในแต่ละชุดทดสอบไปตัดคบคเป็นผงละเอียดขนาดเท่าผงตะไบ ซึ่งได้แก่ ผิวด้านนอกของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ได้ผ่านการย่อยสลายทางชีวภาพ (ภาพที่ 21(ก)) และผิวด้านนอกของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยสลายทางชีวภาพซึ่ง (ภาพที่ 21(ข)) และผิวพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่เหลือจากการย่อยสลายทางชีวภาพ (ภาพที่ 21(ค))

7.1.2 ชั่งน้ำหนักด้วยตีมูกที่ใช้เฉพาะกับเครื่องวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนจากนั้นกดปุ่มที่เครื่องชั่งน้ำหนักให้ตั้งค่าเริ่มต้นเป็นศูนย์ (Set zero)

7.1.3 นำผงตัวอย่างบรรจุลงในถ้วยตีมูกที่อยู่บนเครื่องชั่งให้ได้น้ำหนักประมาณ 2 มิลลิกรัมและทำการปิดฝาถ้วยตีมูกเพื่อปิดผนึก

7.1.4 บันทึกน้ำหนักสารตัวอย่างลงในเครื่องวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนเพื่อให้เครื่องใช้คำนวณเป็นค่าร้อยละของธาตุคาร์บอน

7.1.5 นำถ้วยดีบุกที่ปิดผนึกแล้วไปใส่ในเครื่องวิเคราะห์ธาตุคาร์บอน จากนั้นรื้อให้เครื่องวิเคราะห์และรายงานผล

7.1.6 ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยทำตามขั้นตอนข้อที่ 7.1.1 ถึง 7.1.5

7.1.7 บันทึกข้อมูลค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่ได้เพื่อนำไปเปรียบเทียบและใช้คำนวณค่าทางสถิติ

7.2 วิธีนำชิ้นพลาสติกไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักที่หายไป

7.2.1 นำพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ตัดเป็นขนาด 10x10x4 ลบ.ซม. มาชั่งน้ำหนักเพื่อใส่ลงในชุดทดสอบ จำนวน 5 ชิ้นต่อชุดทดสอบ

7.2.2 บันทึกค่าน้ำหนักใช้เป็นค่าน้ำหนักเริ่มต้น (W_0)

7.2.3 นำพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยสลายและล้างทำความสะอาด ซึ่งถูกเก็บเป็นตัวอย่างตามเวลาที่กำหนดไปตัดแยกผิวชั้นนอกที่ถูกย่อยสลายทางชีวภาพ ดังที่กล่าวข้างต้นแล้วจะเห็นเป็นชั้นสีน้ำตาลเข้มของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่เหลือจากการย่อยสลายทางชีวภาพ ดังภาพที่ 21(ค) ไปชั่งน้ำหนัก

7.2.4 บันทึกค่าน้ำหนักใช้เป็นค่าน้ำหนักที่คงเหลือ (W_t)

7.2.5 นำค่าน้ำหนักที่บันทึกมาคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าโดยให้น้ำหนักเริ่มต้นคิดเป็น ร้อยละ 100 (หรือ 100%) มีวิธีคำนวณดังนี้

ร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า = $[(W_0 - W_t) / W_0] * 100\%$
หรือร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า = $[W_t / W_0] * 100\%$

7.2.6 บันทึกข้อมูลค่าร้อยละของน้ำหนักที่คำนวณได้เพื่อนำไปเปรียบเทียบและใช้คำนวณค่าทางสถิติ

ผลและวิจารณ์

1. ลักษณะทางกายภาพของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ

จากการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าด้วยวิธีการออกแบบการทดลองทางสถิติ โดยจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในชุดทดสอบเพื่อให้เกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ จำนวน 30 ชิ้น วันนั้น คิดเป็นจำนวนแบคทีเรียเท่ากับ $7.5 \times 10^8 - 9 \times 10^8$ CFU และจำนวนราเท่ากับ 0.012-0.016 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง (mg dry weight) ผลการทดลองพบว่าชุดทดสอบที่ปัจจัยและระดับปัจจัยต่างๆ มีการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการทดลองคือ 10 20 และ 30 วัน ตามลำดับ และมีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะภายนอกบริเวณผิวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าด้วย จากการสังเกตการเจริญของรา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* ที่เพาะเลี้ยงในชุดทดสอบพบว่าเส้นใยของราเจริญปกคลุมรอบชิ้นพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า (ภาพที่ 17) และเพิ่มจำนวนหนาแน่นมากขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการทดลอง ส่วนแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Bacillus subtilis* จากการสังเกตพบที่มีความชุ่มชื้นของเมือกและปริมาณเมือกเพิ่มมากขึ้นแสดงว่า เซลล์แบคทีเรียมีการเจริญและเพิ่มจำนวน ตามระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ลักษณะทางกายภาพของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าจากชุดทดสอบที่ระดับปัจจัยต่างกันตามการออกแบบการทดลองที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพแล้ว สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงคือ รูปร่างของชิ้นพลาสติกบิดเบี้ยว เกิดการพองตัว สีของชิ้นพลาสติกซีดลง ดังภาพที่ 17(ก)-17(ข) และเมื่อยุติกระบวนการย่อยสลายแล้วชิ้นพลาสติกที่ผ่านการทำความสะอาด อบแห้งและลอกผิวชั้นนอกออกแล้ว พบว่ามีความเหนียวเพิ่มมากขึ้น โดยสังเกตจากตอนที่ลอกผิวชั้นนอกของพลาสติกออกจากส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลายนั้นทำได้ยากขึ้น

ภาพที่ 17 แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ระดับปัจจัยแตกต่างกัน

(ก) 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

(ข) 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยแบคทีเรียผสมระหว่าง *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus*

(ค) 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum*

(ง) 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยราผสมระหว่าง *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum*

(จ) 100%แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

(ฉ) 100%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยแบคทีเรียผสมระหว่าง *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus*

(ช) 100%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum*

(ซ) 100%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกย่อยสลายโดยราผสมระหว่าง *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum*



(ก)



(ข)

ภาพที่ 17 (ต่อ)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 17 (ต่อ)



(จ)



(ข)

ภาพที่ 17 (ต่อ)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 17 (ต่อ)

2. ผลการเปลี่ยนแปลงของการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

2.1 ผลการย่อยสลายโดยติดตามปริมาณคาร์บอนที่หายไป

การย่อยสลายทางชีวภาพของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าเกิดขึ้นจากการที่จุลินทรีย์ได้ใช้ธาตุองค์ประกอบในชั้นพลาสติกเป็นอาหารเพื่อเจริญและเพิ่มจำนวนจึงทำให้ปริมาณธาตุต่างๆ เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะคาร์บอนที่มีปริมาณการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดตามระยะเวลาการเก็บตัวอย่างของชุดทดสอบ จึงใช้เป็นตัวแทนตอบสนองสำหรับการติดตามการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าในงานวิจัยนี้ จากภาพที่ 18 แสดงชิ้นส่วนพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าซึ่งผิวสีขาวดังภาพที่ 18(ก) ที่ถูกลอกออกจากพลาสติกเป็นบริเวณที่ถูกย่อยสลาย โดยจุลินทรีย์ และชั้นพลาสติกสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพที่ 18(ข) คือส่วนที่เหลือจากการลอกเปลือกสีขาวออก และทั้ง 2 ส่วนนี้จะถูกนำไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนที่หายไป

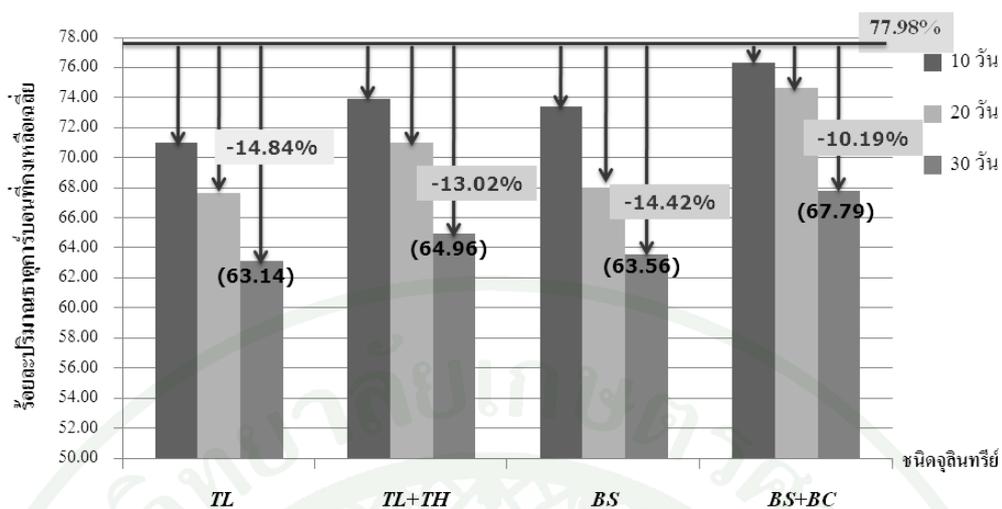


ภาพที่ 18 ผิวชั้นนอกของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายนำไปวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนที่คงเหลือ

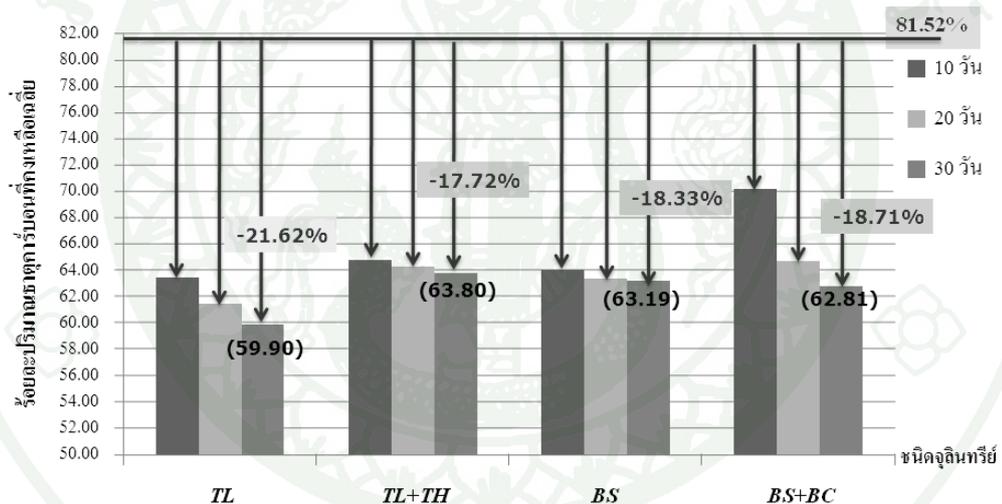
เนื่องจากพอลิเอทิลีนเป็นพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูงมาก สายโซ่พอลิเมอร์ที่ยาวและการย่อยสลายที่ต้องใช้ตัวทำปฏิกิริยาเคมีที่แรงหรือการใช้แรงทางกลเข้ามาช่วย ดังนั้นค่าร้อยละของคาร์บอนในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดเกิดจากจุลินทรีย์นำคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในแป้งข้าวเจ้าไปใช้ในการเจริญเป็นหลัก

การวัดค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนโดยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุ (Elemental Analyzer) รายงานผลเป็นค่าร้อยละของธาตุที่คงเหลืออยู่ในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่นักสารของตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ จากการทดสอบพบว่าในชิ้นพลาสติกแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการย่อยสลาย แสดงในภาพที่ 11 และชิ้นส่วนที่เหลือจากการย่อยสลายทางชีวภาพแสดงในภาพที่ 18(ข) ให้ผลการทดสอบปริมาณธาตุคาร์บอนที่ใกล้เคียงกันมากจึงสามารถทำนายได้ว่าเป็นชิ้นส่วนที่เหลือจากการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้ ซึ่งผลที่ได้ของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าในสัดส่วนแป้งข้าวเจ้าต่อ LDPE เป็น 70/30 มีค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนเฉลี่ยเป็น 77.98 และพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าในสัดส่วนแป้งข้าวเจ้าต่อ LDPE เป็น 100/0 มีค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนเฉลี่ยเป็น 81.52 และข้อมูลค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนเฉลี่ยของพลาสติกทั้งสองชนิดนี้จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณร้อยละของธาตุคาร์บอนในผิวชั้นนอกของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายและถูกนำเสนอเป็นข้อมูลร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยแสดงดังตารางที่ 5 และ 6

ภาพที่ 19 และ 20 แสดงแผนภูมิแท่งของปริมาณร้อยละธาตุคาร์บอนที่คงเหลือในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าแยกตามชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในชุดทดสอบตามระยะเวลาที่กำหนด 10 20 และ 30 วัน จากข้อมูลที่ได้พบว่าจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าได้มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ รา *Trichoderma longibrachiatum* ซึ่งสามารถย่อยสลายทำให้ปริมาณธาตุคาร์บอนในพลาสติกชนิด 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกลดลงถึงร้อยละ 14.84 จากค่าเริ่มต้นที่ร้อยละ 77.98 และสามารถย่อยสลายทำให้ปริมาณธาตุคาร์บอนในพลาสติกชนิด 100%แป้งข้าวเจ้าลดลงถึงร้อยละ 21.62 จากค่าเริ่มต้นที่ร้อยละ 81.52 ในระยะเวลา 30 วัน อีกทั้งยังมีแนวโน้มในการย่อยสลายต่อหลังจากระยะเวลา 30 วัน โดยสังเกตจากค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่ลดลงตามลำดับ



ภาพที่ 19 ร้อยลดคาร์บอนที่คงเหลือเฉลี่ยของ 70% แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก



ภาพที่ 20 ร้อยลดคาร์บอนที่คงเหลือเฉลี่ยของ 100% แป้งข้าวเจ้า

หมายเหตุ: BS = *Bacillus subtilis* และ TL = *Trichoderma longibrachiatum* ,

BS+BC = *B. subtilis*+*B. cereus* และ TL+TH = *T. longibrachiatum*+*T. harzianum*

ตารางที่ 5 ร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก

| ร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไป ของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|
| วันที่ | TL | | | | TL+TH | | | | BS | | | | BS+BC | | | |
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย |
| 10 | 6.35 | 6.97 | 7.63 | 6.99 | 3.43 | 4.26 | 4.41 | 4.04 | 5.64 | 3.61 | 4.52 | 4.59 | 1.36 | 1.95 | 1.58 | 1.63 |
| 20 | 9.43 | 9.34 | 12.20 | 10.33 | 7.82 | 6.23 | 6.94 | 7.00 | 9.96 | 10.83 | 9.09 | 9.96 | 2.62 | 3.61 | 3.81 | 3.35 |
| 30 | 15.10 | 14.97 | 14.44 | 14.84 | 12.25 | 14.19 | 12.61 | 13.02 | 15.19 | 13.86 | 14.20 | 14.42 | 10.54 | 11.61 | 8.42 | 10.19 |

ตารางที่ 6 ร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก

| ร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไป ของ 100%แป้งข้าวเจ้า | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|
| วันที่ | TL | | | | TL+TH | | | | BS | | | | BS+BC | | | |
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย |
| 10 | 19.87 | 15.39 | 18.78 | 18.01 | 15.68 | 17.59 | 16.83 | 16.70 | 15.39 | 18.24 | 18.85 | 17.49 | 12.93 | 10.30 | 10.62 | 11.28 |
| 20 | 19.34 | 20.31 | 20.60 | 20.08 | 17.35 | 17.09 | 17.10 | 17.18 | 17.72 | 18.51 | 18.09 | 18.11 | 16.70 | 16.71 | 17.07 | 16.83 |
| 30 | 21.24 | 22.45 | 21.18 | 21.62 | 17.50 | 17.83 | 17.83 | 17.72 | 17.37 | 18.84 | 18.77 | 18.33 | 19.75 | 18.40 | 17.97 | 18.71 |

หมายเหตุ: BS = *Bacillus subtilis*, TL = *Trichoderma longibrachiatum*, BS+BC = *B. subtilis*+*B. cereus* และ TL+TH = *T. longibrachiatum*+*T. harzianum*

2.2 ผลการตรวจสอบการย่อยสลายโดยติดตามน้ำหนักที่หายไป

การหาค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปถูกกำหนดโดยความแตกต่างของค่าร้อยละคาร์บอนระหว่างชั้นผิวสีขาวที่ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์และชั้นสีน้ำตาลเข้มที่เหลือจากการย่อยสลายซึ่งจากข้อมูลที่ได้พบว่าค่าร้อยละคาร์บอนของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าเริ่มต้นที่ไม่ได้ผ่านการย่อยสลายและพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่เหลือจากการย่อยสลายให้ผลค่าร้อยละคาร์บอนเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกัน แต่ชั้นสีขาวของพลาสติกที่ผ่านการย่อยสลายมีค่าร้อยละคาร์บอนเฉลี่ยที่น้อยกว่าและลดลงเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายนานขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงกำหนดให้ชั้นสีขาวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายแล้วให้เป็นส่วนที่ต้องถูกตัดแยกออกไปและทำให้น้ำหนักของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าหายไป

ภาพที่ 21 แสดงพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าทั้ง 3 ขั้นตอน ได้แก่

ภาพ 21(ก) คือ พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าเริ่มต้นที่ไม่ได้เข้ากระบวนการย่อยสลาย

ภาพ 21(ข) คือ พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์นาน 30 วัน

พบว่าผิวชั้นนอกสีขาวซีด เสียสภาพ มีลักษณะฟองตัวและบิดเบี้ยว

ภาพ 21(ค) คือ พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์นาน 30 วัน

แล้วลอกผิวสีขาวชั้นนอกเหลือแต่ส่วนสีน้ำตาลเข้มภายในที่ไม่ถูกย่อยสลาย

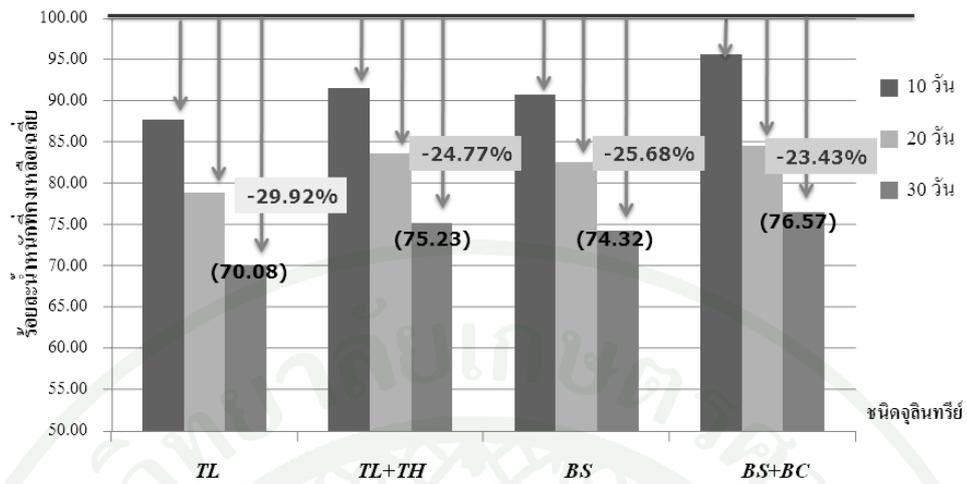


ภาพที่ 21 เปรียบเทียบพลาสติกแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ได้ผ่านและผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ

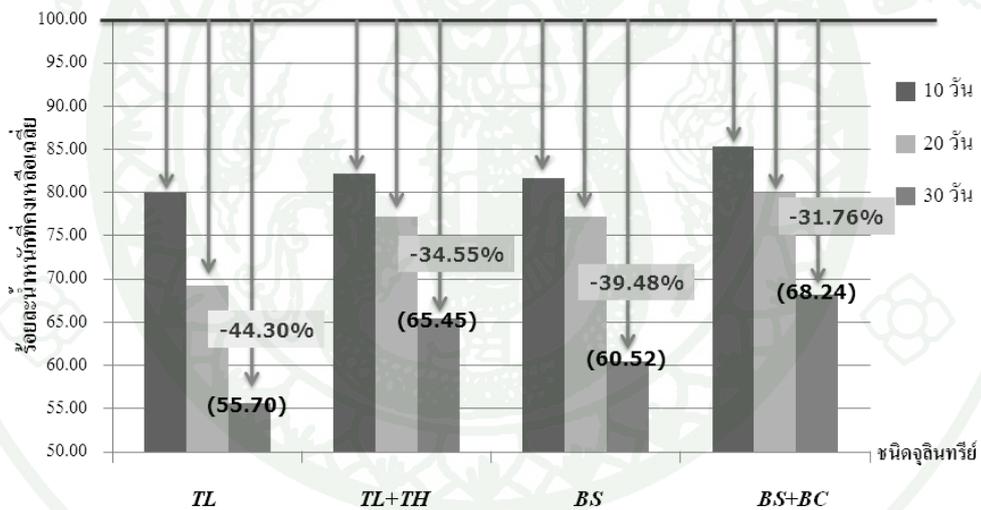
การหาค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปหาโดยค่าน้ำหนักที่แตกต่างระหว่างน้ำหนักพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าเริ่มต้นที่ยังไม่ย่อยสลาย (ภาพที่ 21(ก)) กับน้ำหนักพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ย่อยสลายซึ่งถูกลอกเปลือกสีขาวออกแล้ว (ภาพที่ 21(ค)) ซึ่งคำนวณได้จากสูตรในวิธีทำข้อ 7.2.5 จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับน้ำหนักพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ยังไม่ย่อยสลายเป็นข้อมูลค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าแสดงในตารางที่ 7 และ 8

ภาพที่ 22 และ 23 แสดงแผนภูมิแท่งของค่าร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าแยกตามชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในชุดทดสอบตามระยะเวลาที่กำหนด 10 20 และ 30 วัน จากข้อมูลที่ได้พบว่าจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าได้มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ รา *Trichoderma longibrachiatum* ซึ่งสามารถย่อยสลายทำให้น้ำหนักของพลาสติกชนิด 70% แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกลดลงถึงร้อยละ 29.92 จากค่าเริ่มต้นที่ร้อยละ 100 และสามารถย่อยสลายทำให้น้ำหนักของพลาสติกชนิด 100% แป้งข้าวเจ้าลดลงถึงร้อยละ 44.30 จากค่าเริ่มต้นที่ร้อยละ 100 ในระยะเวลา 30 วัน อีกทั้งยังมีแนวโน้มในการย่อยสลายต่อหลังจากระยะเวลา 30 วัน โดยสังเกตจากค่าร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงตามลำดับ

การเปรียบเทียบค่าน้ำหนักที่หายไปโดยการตัดลอกส่วนผิวชั้นสีขาวที่ถูกย่อยสลายแยกออกจากชิ้นพลาสติกสีน้ำตาลตามเข็มที่เหล็ภายในจากผลการทดลองที่กล่าวข้างต้น การตัดแยกผิวส่วนที่ถูกย่อยสลายชั้นสีขาวซึ่งสังเกตจากความแตกต่างของสีในแต่ละชั้นด้วยตาเปล่า ดังนั้นค่าน้ำหนักที่วัดได้อาจไม่ได้ค่าที่แท้จริงของค่าน้ำหนักของพลาสติกสีน้ำตาลตามเข็มที่คงเหลือ



ภาพที่ 22 ร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือเฉลี่ยของ 70% ฝรั่งขาวเจ้าผสมพลาสติก



ภาพที่ 23 ร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือเฉลี่ยของ 100% ฝรั่งขาวเจ้า

หมายเหตุ: BS = *Bacillus subtilis* และ TL = *Trichoderma longibrachiatum*,

BS+BC = *B. subtilis*+*B. cereus* และ TL+TH = *T. longibrachiatum*+*T. harzianum*

ตารางที่ 7 ร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก

| ร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย ของ 70%แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติก | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|
| วันที่ | TL | | | | TL+TH | | | | BS | | | | BS+BC | | | |
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย |
| 10 | 4.93 | 16.56 | 15.18 | 12.22 | 2.20 | 9.59 | 13.58 | 8.46 | 3.71 | 13.88 | 9.92 | 9.17 | 2.23 | 1.68 | 9.09 | 4.34 |
| 20 | 8.28 | 31.01 | 24.07 | 21.12 | 4.97 | 29.67 | 14.48 | 16.38 | 5.18 | 30.48 | 16.40 | 17.35 | 4.29 | 27.87 | 13.93 | 15.36 |
| 30 | 8.60 | 33.62 | 47.55 | 29.92 | 5.62 | 32.98 | 35.71 | 24.77 | 6.65 | 33.49 | 36.89 | 25.68 | 5.42 | 32.29 | 32.57 | 23.43 |

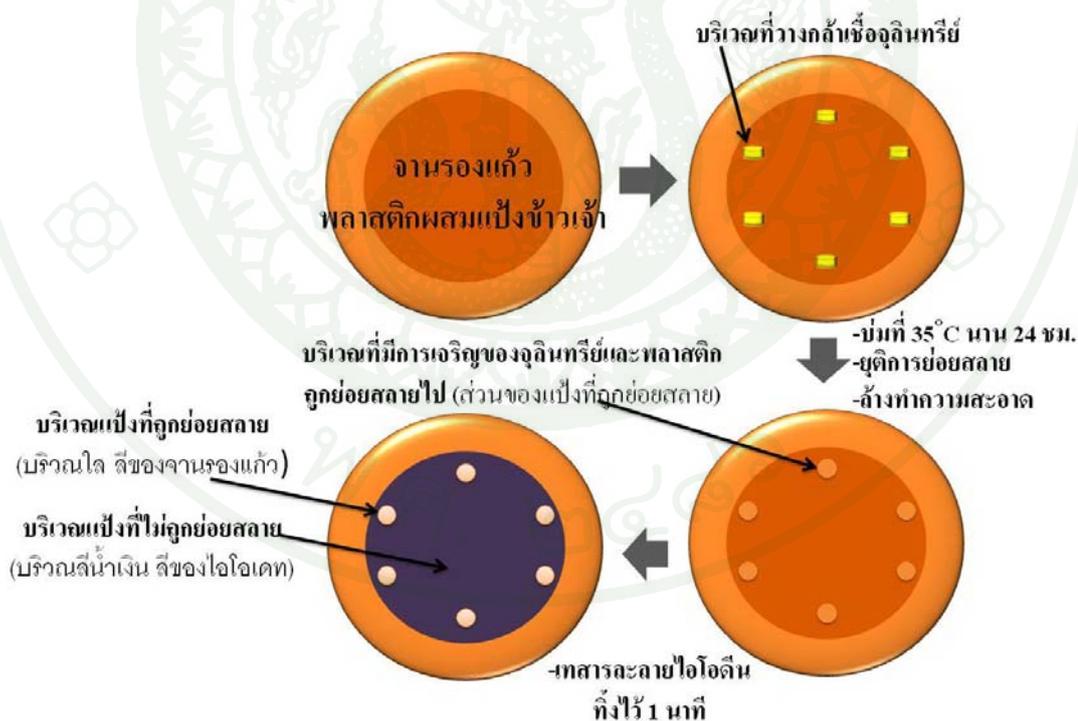
ตารางที่ 8 ร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้า

| ร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย ของ 100%แป้งข้าวเจ้า | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|
| วันที่ | TL | | | | TL+TH | | | | BS | | | | BS+BC | | | |
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย |
| 10 | 8.57 | 34.35 | 17.16 | 20.02 | 6.62 | 33.87 | 12.59 | 17.69 | 7.87 | 35.77 | 11.30 | 18.31 | 3.33 | 31.38 | 8.98 | 14.57 |
| 20 | 12.28 | 40.92 | 38.82 | 30.67 | 7.94 | 35.60 | 24.77 | 22.77 | 9.30 | 38.18 | 20.62 | 22.70 | 7.52 | 36.31 | 16.06 | 19.96 |
| 30 | 19.00 | 42.50 | 71.40 | 44.30 | 9.55 | 41.77 | 52.32 | 34.55 | 10.73 | 45.81 | 61.89 | 39.48 | 8.65 | 38.61 | 48.03 | 31.76 |

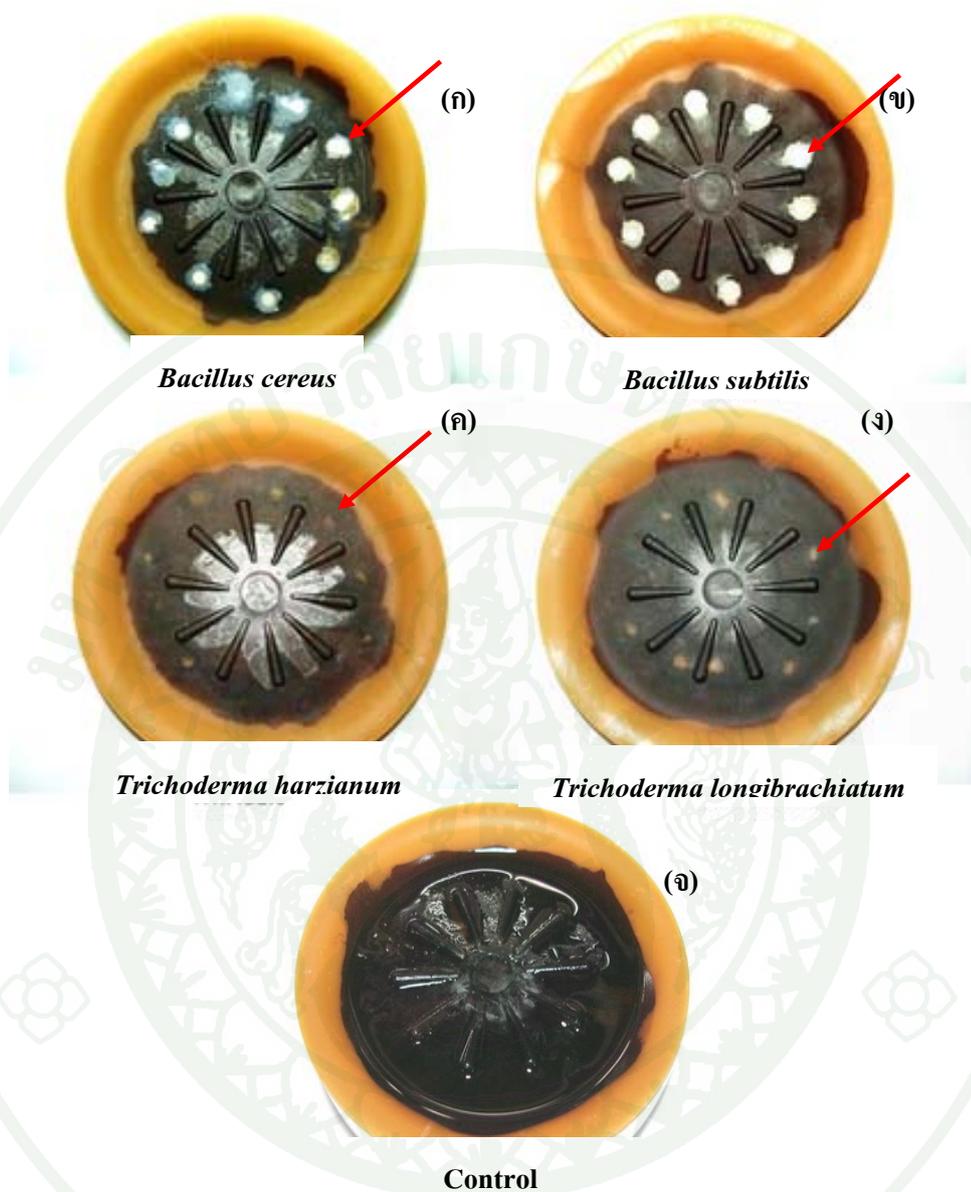
หมายเหตุ: BS = *Bacillus subtilis*, TL = *Trichoderma longibrachiatum*, BS+BC = *B. subtilis*+*B. cereus* และ TL+TH = *T. longibrachiatum*+*T. harzianum*

3. การตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าโดยจุลินทรีย์ด้วยสารละลายไอโอดีน

สารประกอบแป้งที่อยู่ในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าสามารถตรวจสอบได้โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน การเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้นโดยอะไมโลสซึ่งเป็นสายโซ่ตรงของแป้งเรียงตัวกันเป็นเกลียว (Amylosehelice) รวมตัวกับไอโอดีน (I_2) ที่เข้าไปแทรกอยู่ในเกลียวโซ่อะไมโลสเกิดเป็นสารประกอบสีน้ำเงินเข้ม สำหรับอะไมโลเพคตินซึ่งเป็นสายโซ่กึ่งของแป้งซึ่งถ้าสายโซ่กึ่งนั้นสั้นเกินไปหรือแม้กระทั่งสายโซ่ตรงของอะไมโลสที่ถูกเอนไซม์อะไมเลสย่อยสลายพันธะบนสายโซ่จนสั้นลงจะทำให้โมเลกุลของไอโอดีนเข้าไปรวมตัวได้ยากขึ้น ส่งผลทำให้ไม่ค่อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม จากปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้สามารถตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้ ดังนั้นจึงใช้วิธีนี้เพื่อเป็นการยืนยันในเบื้องต้นว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยส่วนของแป้งข้าวเจ้าที่ผสมอยู่ในพลาสติกได้และกลไกในการย่อยน่าจะเกิดมาจากการที่จุลินทรีย์สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสและปล่อยออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยแป้ง



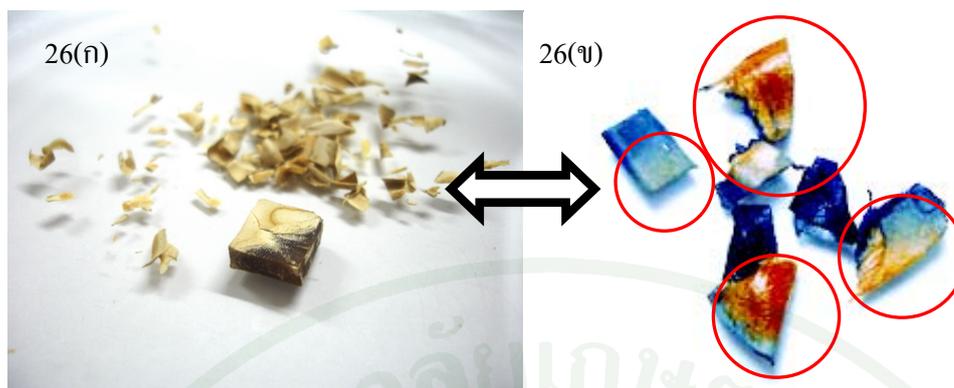
ภาพที่ 24 ขั้นตอนการตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าโดยจุลินทรีย์ด้วยสารละลายไอโอดีน (กระบวนการทดลองทุกขั้นตอนทำในสภาวะปลอดเชื้อ)



ภาพที่ 25 ผลการใช้สารละลายไอโอดีนเพื่อตรวจสอบการย่อยสลายของจานรองแก้วพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่เพาะเลี้ยงด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ *Bacillus cereus* (ก) *Bacillus subtilis* (ข) *Trichoderma longibrachiatum* (ค) และ *Trichoderma harzianum* (ง) เปรียบเทียบกับจานรองแก้วพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ได้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (Control) บริเวณที่ถูกครีซคือส่วนของแป้งผสมพลาสติกที่ถูกย่อยสลาย

จากการทดลองเพาะกล้าเชื้อจุลินทรีย์ลงบนจานรองแก้วพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า (ตามตำแหน่งที่แสดงในภาพที่ 24) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญบนจานรองแก้ว เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการย่อยสลายของจานรองแก้วโดยการวาดด้วยสารละลายไอโอดีนพบว่า จุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและราที่ใช้ในการทดลองสามารถย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าได้จริง เนื่องจากเมื่อทดสอบกับสารละลายไอโอดีน สังเกตพบว่าบริเวณที่เพาะกล้าเชื้อจุลินทรีย์ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม แต่บริเวณที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม คือ บริเวณที่ไม่มีมีการเพาะกล้าเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ไม่มีการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (ภาพที่ 24) การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดจะมีการย่อยสลายเป็นจุดกลมเล็กๆ ตามตำแหน่งที่เพาะกล้าเชื้อไว้ โดยสังเกตจากภาพที่ 25 (ก) ถึง 25(ง) บริเวณที่ถูกย่อยสลายจะไม่มีเป็นสีน้ำเงินเข้ม แต่บริเวณที่ไม่ถูกย่อยสลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้มโดยเห็นได้ชัดเจนในจาน Control ภาพที่ 25(จ)

ภาพที่ 26 แสดงผลการตรวจสอบบริเวณผิวพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพจากชุดทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีน โดยภาพที่ 26(ก) แสดงผิวพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าก่อนทดสอบกับสารละลายไอโอดีน และ ภาพที่ 26(ข) แสดงผิวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าหลังทดสอบกับสารละลายไอโอดีน จะเห็นว่าชั้นพลาสติกจากชุดทดสอบที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพเป็นเวลา 30 วัน มีทั้งส่วนที่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ (บริเวณสีเป็นสีของชั้นพลาสติก) ซึ่งมีบริเวณกว้างกว่าส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ (บริเวณสีน้ำเงินเป็นสีของไอโอดีน) ดังนั้น การตรวจสอบการย่อยสลายในเบื้องต้นนี้สามารถยืนยันได้ว่า *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* สามารถย่อยแป้งที่เป็นส่วนผสมในพลาสติกได้จริง โดยกลไกการย่อยสลายเกิดขึ้นจากบทบาทของเอนไซม์อะไมเลสที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายรายงานที่พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Bacillus subtilis* และราจำพวก *Trichoderma* สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส ที่สามารถย่อยแป้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kimura and Robty, 1995; Sarikaya *et al.*, 2000; Gupta R. *et al.*, 2003; Konsula and Liakopoulou, 2004; Baldwin *et al.*, 2005)



ภาพที่ 26 การตรวจสอบการย่อยสลายบริเวณผิวของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยสารละลายไอโอดีน (ก) ก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน (ข) หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน

4. ผลการออกแบบการทดลองทางสถิติ

การออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) มีการทดลองที่ระดับปัจจัยแตกต่างกันทั้งหมดจำนวน 8 เงื่อนไข สามารถวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ของปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองของการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า โดยกำหนดปัจจัยดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การกำหนดค่าของปัจจัยในโปรแกรม Minitab

| ปัจจัย | จำนวนระดับปัจจัย | ค่าของปัจจัยแต่ละระดับ |
|---------------------------------------|------------------|---------------------------------|
| ปริมาณแป้งข้าวเจ้าในพลาสติก (A) | 2 | 70%, 100% |
| ชนิดของจุลินทรีย์ (B) | 2 | แบคทีเรีย, รา |
| จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ในชุดทดสอบ(C) | 2 | สายพันธุ์เดียว, ผสมสองสายพันธุ์ |

หมายเหตุ: สายพันธุ์เดียว= *Bacillus subtilis* และ *Trichoderma longibrachiatum*,

ผสมสองสายพันธุ์= *B. subtilis*+*B. cereus* และ *T. longibrachiatum*+*T. harzianum*

เมื่อกำหนดค่าของปัจจัยเรียบร้อยแล้วจึงบันทึกข้อมูลธาตุคาร์บอนที่หายไปและน้ำหนักที่หายไปลงในโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Minitab เพื่อการศึกษาและวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ จากการคำนวณด้วยโปรแกรม ตามสมมติฐานที่กำหนดไว้

4.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) โดยการทดสอบสมมติฐานของค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

โดยมีสมมติฐาน คือ

การทดสอบสมมติฐานของปัจจัยหลัก

H_0 : ปัจจัยหลักไม่มีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

H_1 : ปัจจัยหลักมีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

การทดสอบสมมติฐานของปัจจัยร่วม

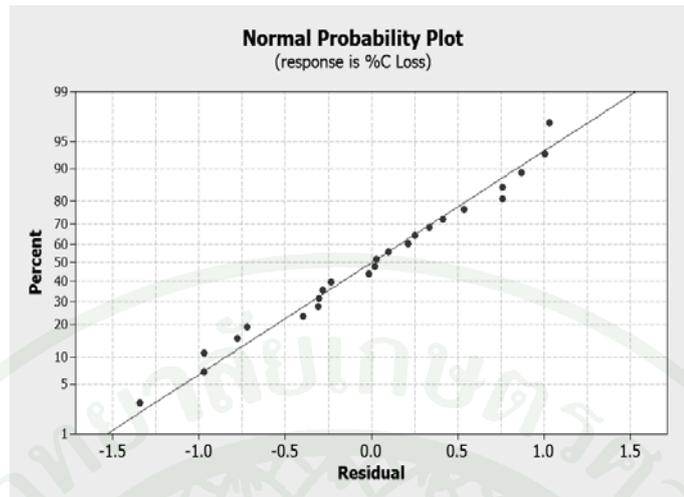
H_0 : ปัจจัยร่วมไม่มีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

H_1 : ปัจจัยร่วมมีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า

จากผลการคำนวณด้วยโปรแกรม Minitab ก่อนที่จะสรุปผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน ควรตรวจสอบความเหมาะสมของตัวแบบสถิตินี้ก่อน โดยพิจารณาข้อมูลดังนี้

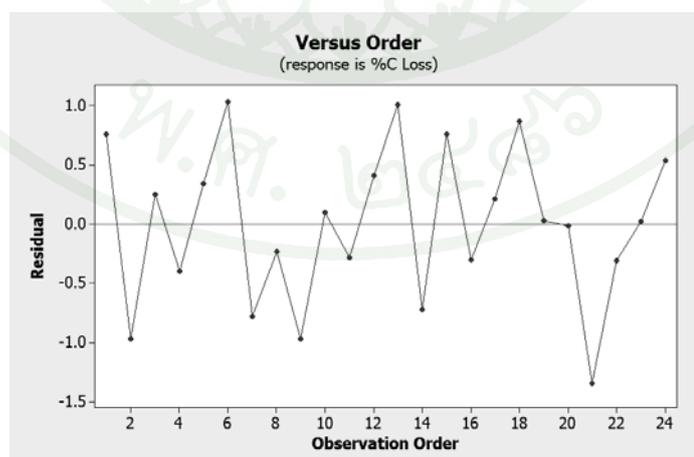
4.2 การตรวจสอบความเหมาะสมของตัวแบบสถิติ

4.2.1 การตรวจสอบการกระจายตัวแบบปกติ (Normal distribution) คือ การตรวจสอบว่าความคลาดเคลื่อนของข้อมูลมีการแจกแจงตามเส้นตรงของความน่าจะเป็นแบบปกติหรือไม่ และจากแผนภูมิ Normal Probability Plot พบว่า ค่าคลาดเคลื่อนมีการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง ทำให้ประมาณได้ว่าค่าคลาดเคลื่อนมีการแจกแจงแบบปกติ แสดงดังภาพที่ 27



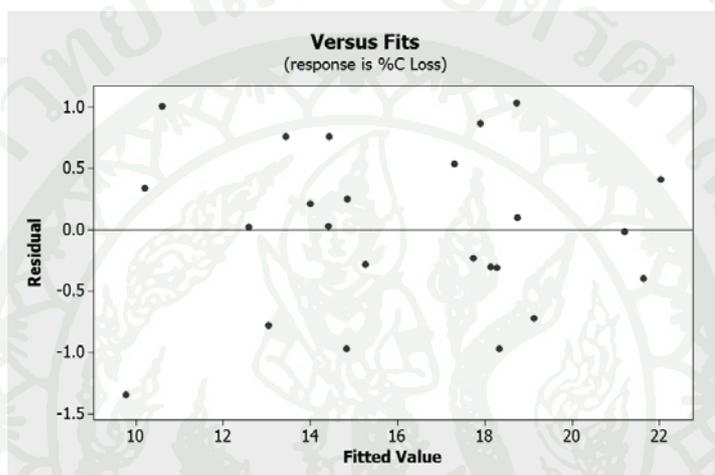
ภาพที่ 27 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อน สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30

4.2.2 การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล (Independent) คือ การตรวจสอบว่าค่าข้อมูลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างนั้นไม่ขึ้นอยู่กับลำดับของการเก็บข้อมูล โดยการพิจารณาลักษณะการกระจายของข้อมูลบนแผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อน (Residual) กับลำดับของข้อมูล ดังแสดงในภาพที่ 28 พบว่าค่าความคลาดเคลื่อนให้ทั้งค่าบวกและค่าลบ มีการกระจายสม่ำเสมอแบบสุ่ม โดยรอบเส้นค่าศูนย์ แสดงว่าข้อมูลแต่ละค่ามีความเป็นอิสระและไม่ขึ้นอยู่กับลำดับของการเก็บข้อมูล



ภาพที่ 28 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30

4.2.3 การตรวจสอบความคงที่ของความแปรปรวน (Variance Stability) คือ การตรวจสอบความแปรปรวนระหว่างค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) ของข้อมูลในแต่ละระดับของปัจจัยว่ามีลักษณะการกระจายไม่เกิดแนวโน้มหรือไม่เป็นรูปแบบ (Pattern) เช่น เส้นโค้ง หรือพาราโบลา จากภาพที่ 29 ซึ่งเป็นแผนภูมิ Versus Fits พบว่ารูปร่างของการกระจายของข้อมูลที่ออกมา มีการกระจายอย่างสม่ำเสมอแบบสุ่ม โดยรอบเส้นค่าศูนย์ไม่เป็นที่สังเกตของการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความแปรปรวนแสดงว่าข้อมูลมีความคงที่ของความแปรปรวน



ภาพที่ 29 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของชาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30

จากการคำนวณด้วยโปรแกรม Minitab จะได้ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) ของข้อมูลการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าในวันที่ 10 20 และ 30 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 ถึง 15

ตารางที่ 10 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) ของคาร์บอนของชาตุคาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10

| แหล่งความผันแปร | องศาเสรี (d.f.) | ผลบวกกำลังสอง (SS) | ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS) | ค่าสถิติ F-Value | ค่าสถิติ P-Value | ความมีนัยสำคัญ |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|
| A | 1 | 801.81 | 801.81 | -- | -- | -Denominator of F-test is zero |
| B | 1 | 43.20 | 43.20 | 77.04 | 0.99 | -Not an exact F-test |
| C | 1 | 67.67 | 67.67 | 64.48 | 0.97 | -Not an exact F-test |
| AB | 1 | 0.49 | 0.49 | 0.05 | 0.85 | |
| AC | 1 | 0.98 | 0.98 | 0.11 | 0.80 | |
| BC | 1 | 9.03 | 9.03 | 1.01 | 0.50 | |
| ABC | 1 | 8.95 | 8.95 | 5.24 | 0.04 | มีนัยสำคัญ |
| Error | 16 | 27.33 | 1.71 | | | |
| Total | 23 | 959.45 | | | | |

S = 1.30693

R-Sq = 97.15%

R-Sq(adj) = 95.91%

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนในตารางที่ 10 จะเห็นได้ว่าผลกระทบร่วมของ 3 ปัจจัย (ABC) มีค่า P-value < 0.05 หรือทั้ง 3 ปัจจัยมีนัยสำคัญร่วมกัน ดังนั้น จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก คือ ปัจจัยทั้งสามชนิดมีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า และสามารถกำหนดระดับปัจจัยที่เหมาะสมที่ทำให้พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าย่อยสลายได้ดีที่สุดจากค่าตอบสนองเฉลี่ยที่มีค่าสูงสุดเท่ากับ 18.01 จากตารางค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุดดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่า ระดับปัจจัยที่เหมาะสมได้แก่ 1) พลาสติกชนิด 100%แป้งข้าวเจ้า (A) 2) จุลินทรีย์ประเภทรา (B) และ 3) จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ในชุดทดสอบแบบสายพันธุ์เดียว (C)

ตารางที่ 11 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า ณ วันที่ 10

| ระดับของปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ ตอบสนองเฉลี่ย | ค่าตอบสนอง เฉลี่ย | ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่า ตอบสนองเฉลี่ย |
|---|----------------------|--|
| ABC | | |
| 70% * แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดียว | 4.59 | 0.75 |
| 100% * แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดียว | 17.49 | 0.75 |
| 70% * รา * สายพันธุ์เดียว | 6.99 | 0.75 |
| 100% * รา * สายพันธุ์เดียว | 18.01 | 0.75 |
| 70% * แบคทีเรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 1.63 | 0.75 |
| 100% * แบคทีเรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 11.28 | 0.75 |
| 70% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 4.04 | 0.75 |
| 100% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 16.70 | 0.75 |

ตารางที่ 12 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) ของค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าอุกย้อยสลาย ณ วันที่ 20

| แหล่งความผันแปร | องศาเสรี (d.f.) | ผลบวกกำลังสอง (SS) | ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS) | ค่าสถิติ F-Value | ค่าสถิติ P-Value | ความมีนัยสำคัญ |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|
| A | 1 | 647.61 | 647.61 | 145.55 | 0.69 | -Not an exact F-test |
| B | 1 | 15.09 | 15.09 | -- | -- | -Denominator of F-test is zero |
| C | 1 | 74.80 | 74.80 | 16.91 | 0.76 | -Not an exact F-test |
| AB | 1 | 1.06 | 1.06 | 0.12 | 0.79 | |
| AC | 1 | 12.43 | 12.43 | 1.37 | 0.45 | |
| BC | 1 | 1.04 | 1.04 | 0.11 | 0.79 | |
| ABC | 1 | 9.04 | 9.04 | 14.19 | 0.00 | มีนัยสำคัญ |
| Error | 16 | 10.20 | 0.64 | | | |
| Total | 23 | 771.27 | | | | |

S = 0.798326

R-Sq = 98.68%

R-Sq(adj) = 98.10%

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนในตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่าผลกระทบร่วมของ 3 ปัจจัย (ABC) มีค่า P-value < 0.05 หรือทั้ง 3 ปัจจัยมีนัยสำคัญร่วมกัน ดังนั้น จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก คือ ปัจจัยทั้งสามชนิดมีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า และสามารถกำหนดระดับปัจจัยที่เหมาะสมที่ทำให้พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าย่อยสลายได้ดีที่สุดจากค่าตอบสนองเฉลี่ยที่มีค่าสูงสุดเท่ากับ 20.08 จากตารางค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุดดังแสดงในตารางที่ 13 พบว่า ระดับปัจจัยที่เหมาะสมได้แก่ 1) พลาสติกชนิด 100%แป้งข้าวเจ้า (A) 2) จุลินทรีย์ประเภทรา (B) และ 3) จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ในชุดทดสอบแบบสายพันธุ์เดียว (C)

ตารางที่ 13 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า ณ วันที่ 20

| ระดับของปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อค่าตอบสนองเฉลี่ย | ค่าตอบสนองเฉลี่ย | ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าตอบสนองเฉลี่ย |
|--|------------------|--|
| ABC | | |
| 70% * แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดียว | 9.96 | 0.46 |
| 100% * แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดียว | 18.11 | 0.46 |
| 70% * รา * สายพันธุ์เดียว | 10.33 | 0.46 |
| 100% * รา * สายพันธุ์เดียว | 20.08 | 0.46 |
| 70% * แบคทีเรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 3.35 | 0.46 |
| 100% * แบคทีเรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 16.83 | 0.46 |
| 70% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 7.00 | 0.46 |
| 100% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 17.18 | 0.46 |

ตารางที่ 14 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 Full Factorial Experimental designs) ของค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30

| แหล่งความผันแปร | องศาเสรี (d.f.) | ผลบวกกำลังสอง (SS) | ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS) | ค่าสถิติ F-Value | ค่าสถิติ P-Value | ความมีนัยสำคัญ |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|
| A | 1 | 214.27 | 214.27 | 0.00 | | -Denominator of F-test is zero |
| B | 1 | 11.58 | 11.58 | 0.00 | | -Denominator of F-test is zero |
| C | 1 | 34.34 | 34.34 | 0.00 | | -Denominator of F-test is zero |
| AB | 1 | 0.33 | 0.33 | 0.02 | 0.91 | |
| AC | 1 | 2.39 | 2.39 | 0.14 | 0.77 | |
| BC | 1 | 1.32 | 1.32 | 0.08 | 0.83 | |
| ABC | 1 | 16.78 | 16.78 | 20.98 | 0.00 | มีนัยสำคัญ |
| Error | 16 | 12.80 | 0.80 | | | |
| Total | 23 | 293.81 | | | | |

S = 0.894462

R-Sq = 95.64%

R-Sq(adj) = 93.74%

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนในตารางที่ 14 จะเห็นได้ว่าผลกระทบร่วมของ 3 ปัจจัย (ABC) มีค่า P-value < 0.05 หรือทั้ง 3 ปัจจัยมีนัยสำคัญร่วมกัน ดังนั้น จึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก คือ ปัจจัยทั้งสามชนิดมีผลต่อค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า และสามารถกำหนดระดับปัจจัยที่เหมาะสมที่ทำให้พลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าย่อยสลายได้ดีที่สุดจากค่าตอบสนองเฉลี่ยที่มีค่าสูงสุดเท่ากับ 21.62 จากตารางค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุดดังแสดงในตารางที่ 15 พบว่า ระดับปัจจัยที่เหมาะสมได้แก่ 1) พลาสติกชนิด 100%แป้งข้าวเจ้า (A) 2) จุลินทรีย์ประเภทรา (B) และ 3) จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ในชุดทดสอบแบบสายพันธุ์เดียว (C)

ตารางที่ 15 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า ณ วันที่ 30

| ระดับของปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อตอบสนองเฉลี่ย | ค่าตอบสนองเฉลี่ย | ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าตอบสนองเฉลี่ย |
|---|------------------|--|
| ABC | | |
| 70% * แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดียว | 14.42 | 0.52 |
| 100% * แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดียว | 18.33 | 0.52 |
| 70% * รา * สายพันธุ์เดียว | 14.84 | 0.52 |
| 100% * รา * สายพันธุ์เดียว | 21.62 | 0.52 |
| 70% * แบคทีเรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 10.19 | 0.52 |
| 100% * แบคทีเรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 18.71 | 0.52 |
| 70% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 13.02 | 0.52 |
| 100% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 17.72 | 0.52 |

ผลการคำนวณที่ได้จากโปรแกรมสำเร็จรูป Minitab ของค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลาย พบว่า ผลการคำนวณมีค่าคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง โดยสังเกตจากการตรวจสอบความเหมาะสมของตัวแบบสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากการลอกชั้นผิวสีขาวด้านนอกออก ซึ่งอาจทำให้น้ำหนักที่ชั่งได้ไม่ตรงกับข้อมูลการย่อยสลายทางชีวภาพตามความเป็นจริง จึงทำให้ผลการคำนวณมีค่าคลาดเคลื่อนสูง ดังรายละเอียดของค่าน้ำหนักที่หายไปในภาคผนวก ค จากการเก็บข้อมูลค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า เมื่อนำมาสร้างแผนภูมิ

แท่งดั่งภาพที่ 22 และ 23 พบว่าเกิดการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์และมีแนวโน้มแบบเดียวกับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไป

จากตารางที่ 16 เมื่อนำค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยต่อค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* เป็นระยะเวลา 30 วัน มาสร้างแผนภูมิดังแสดงในภาพที่ 30 ซึ่งจะได้เส้นแนวโน้มและสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย (%C Loss) และค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย (%Wt Loss) ดังนี้

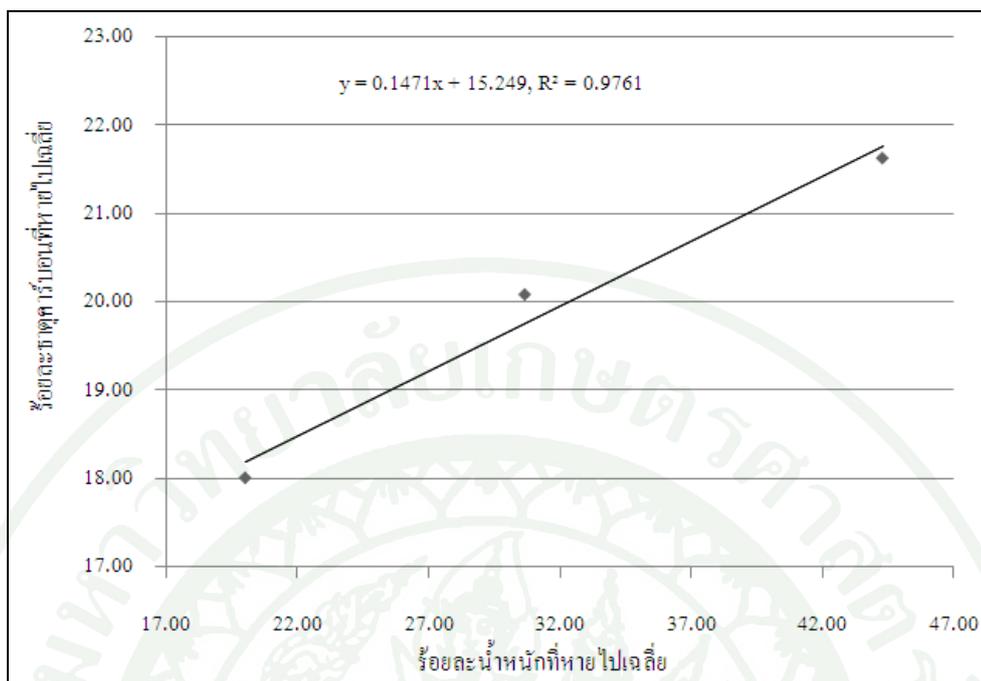
$$\%C \text{ Loss} = 0.1471(\%Wt \text{ Loss}) + 15.249 \quad (1)$$

และภาพที่ 31 แสดงแผนภูมิความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่ใช้ในการย่อยสลายกับค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* เป็นระยะเวลา 30 วัน ซึ่งจะได้เส้นแนวโน้มและสมการความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่ใช้ในการย่อยสลาย (Days) กับค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย (%C Loss) ดังนี้

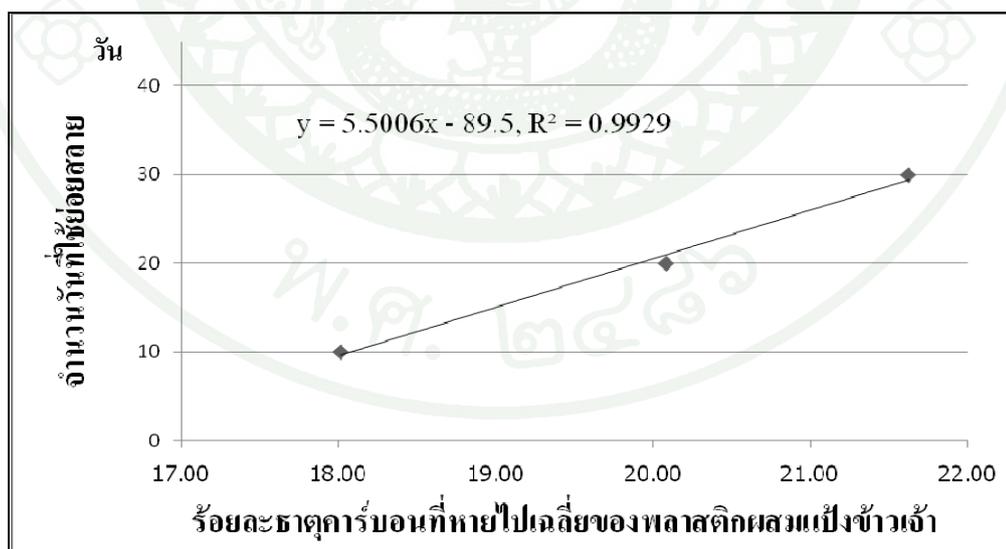
$$\text{Days} = 5.5006(\%C \text{ Loss}) - 89.5 \quad (2)$$

ตารางที่ 16 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดย *Trichoderma longibrachiatum* ในเวลา 30 วัน

| วันที่ | จุลินทรีย์ในชุดทดสอบ | |
|--------|---------------------------------------|------------------------------------|
| | รา <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | |
| | ค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ย | ค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย |
| 10 | 20.02 | 18.01 |
| 20 | 30.67 | 20.08 |
| 30 | 44.3 | 21.62 |



ภาพที่ 30 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* ในเวลา 30 วัน



ภาพที่ 31 แผนภูมิตีตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย รา *Trichoderma longibrachiatum* ในเวลา 30 วัน

จากแผนภูมิในภาพที่ 30 สามารถนำไปใช้ประมาณค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไป เมื่อแทนค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยเท่ากับ 100 ลงในสมการที่ (1) จะได้ค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยเท่ากับ 29.95 และเมื่อนำค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ย แทนค่าลงในสมการความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่ใช้ในการย่อยสลายกับค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยในสมการที่ (2) ดังแผนภูมิในภาพที่ 31 จะทำให้สามารถประมาณการย่อยสลายทั้งหมดของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าชนิด 100%แป้งข้าวเจ้า ในระยะเวลาประมาณ 76 วัน (75.24 วัน)

สำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพของ 100%แป้งข้าวเจ้าโดยราสองสายพันธุ์ *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* แสดงค่าต่างๆไว้ในภาคผนวก ง ซึ่งประกอบด้วย 1) ตารางผนวกที่ ง1 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* 2) ภาพผนวกที่ ง1 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* ในเวลา 30 วัน และ 3) ภาพผนวกที่ ง2 แผนภูมิตีติดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย รา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* ในเวลา 30 วัน ซึ่งสามารถประมาณการย่อยสลายทั้งหมดของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าชนิด 100%แป้งข้าวเจ้า ในระยะเวลาประมาณ 106 วัน (105.01 วัน)

สำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพของ 100%แป้งข้าวเจ้าโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* แสดงค่าต่างๆไว้ในภาคผนวก ง ซึ่งประกอบด้วย 1) ตารางผนวกที่ ง2 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 2) ภาพผนวกที่ ง3 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในเวลา 30 วัน และ 3) ภาพผนวกที่ ง4 แผนภูมิตีติดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในเวลา 30 วัน

สำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพของ 100%แป้งข้าวเจ้าโดยแบคทีเรียสองสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus* แสดงค่าต่างๆไว้ในภาคผนวก ง ซึ่งประกอบด้วย 1) ตารางผนวกที่ ง3 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus* 2) ภาพผนวกที่ ง5 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยต่อค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus* ในเวลา 30 วัน และ 3) ภาพผนวกที่ ง6 แผนภูมิตัดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus* ในเวลา 30 วัน

สรุป

การติดตามการดำเนินไปของกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพจากการเจริญของจุลินทรีย์ตามระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองคือ 10 20 และ 30 วัน พบว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าได้ด้วยเอนไซม์อะไมเลส การเจริญและเพิ่มจำนวนมากขึ้นของจุลินทรีย์บนชิ้นพลาสติกทำให้รูปร่างของชิ้นพลาสติกบิดเบี้ยว พองตัว และ สีของชิ้นพลาสติกซีดจางลง

การวิเคราะห์ผลของการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าจากการนำข้อมูลที่ได้ทั้งค่าร้อยละปริมาณธาตุคาร์บอนที่หายไปและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปในระยะเวลา 30 วันแสดงให้เห็นถึงการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพที่นำมาทดสอบ เมื่อมาสร้างแผนภูมิแท่งเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์แต่ละชนิด พบว่าจุลินทรีย์ประเภทรา *Trichoderma longibrachiatum* สามารถย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าได้ดีกว่าแบคทีเรีย และจากแผนภูมิแท่งค่าร้อยละปริมาณธาตุคาร์บอนที่คงเหลือและค่าร้อยละน้ำหนักที่คงเหลือชี้ให้เห็นว่าพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าสามารถย่อยสลายต่อได้อีกหลังจาก 30 วันทำการทดสอบ

ผลจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ใช้ทดสอบความมีนัยสำคัญของแต่ละปัจจัยในการทดสอบค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายทางชีวภาพในช่วงระยะเวลา 30 วัน พบว่าปัจจัยร่วมของทั้ง 3 ปัจจัย (ABC) มีนัยสำคัญต่อการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า ซึ่งสามารถนำไปกำหนดระดับของแต่ละปัจจัยที่ทำให้การย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าสูงสุด ดังต่อไปนี้

1. ปริมาณแป้งข้าวเจ้าในพลาสติก (A) คือ 100% แป้งข้าวเจ้า
2. ชนิดของจุลินทรีย์ (B) คือ รา
3. จำนวนสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ในชุดทดสอบ (C) คือ แบบสายพันธุ์เดียว

ผลของการศึกษาการย่อยสลายของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าในงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบชนิดของจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติกชีวภาพภายใต้สภาวะที่ถูกออกแบบการ

ทดลองในช่วงระยะเวลาที่ทำการทดสอบได้ สำหรับการย่อยสลายของพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้แต่ละประเภทต้องทำการศึกษาปัจจัยอื่นเพิ่มเติมอีกอย่างละเอียดถี่ถ้วน เพราะมีหลายปัจจัยที่อาจจะมีอิทธิพลต่อความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายพลาสติก ไม่ว่าจะเป็นพลาสติกที่มาจากการสังเคราะห์หรือมาจากวัตถุดิบจากธรรมชาติก็ตาม

ข้อดีของวิธีทดสอบที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ การใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอน (Elemental analysis) ในสารตัวอย่างสถานะของแข็งซึ่งทำให้มีความถูกต้องและเที่ยงตรงสูง นอกจากนี้ การติดตามค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในสารตัวอย่างสถานะของแข็งซึ่งมีความเสถียรและควบคุมได้ง่าย ดังนั้น วิธีนี้จึงมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดที่ดีกว่าวิธีที่ใช้ในงานวิจัยก่อนหน้า ซึ่งติดตามธาตุคาร์บอนในก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่เกิดจากเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ซึ่งทำการควบคุมได้ยากและเป็นวิธีที่ซับซ้อนกว่า

ข้อเสนอแนะ

สถานะที่ใช้เพาะเล็ยงจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพอาจใช้วิธีการเพาะเล็ยงในอาหารเหลว โดยการผสมขึ้นพลาสติกลงในอาหารเหลวชนิดที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากในอาหารเหลวสามารถควบคุมสถานะในการเพาะเล็ยงจุลินทรีย์ให้เหมาะสมได้ง่าย เช่น การเขย่าเพื่อให้จุลินทรีย์สัมผัสกับอาหารและขึ้นพลาสติกได้ดียิ่งขึ้นและเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจน ดังนั้นจุลินทรีย์จึงสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วและนำไปสู่การย่อยสลายพลาสติกชีวภาพที่ดียิ่งขึ้น

คัดเลือกจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น การใช้ยีสต์ที่สามารถย่อยสลายแป้งในขนมปังได้ นำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้า หรือคัดเลือกราและแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย

การเร่งการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพหลังจากขั้นตอนการย่อยด้วยจุลินทรีย์โดยเติมสารเติมแต่งเช่น โลหะทรานซิชันบางชนิด ได้แก่ TiO_2 , MnO_2 , Fe_2O_3 , ZnO ซึ่งโลหะทรานซิชันดังกล่าวเมื่อสัมผัสแสงอุลตราไวโอเลตจะทำให้ได้อนุมูลอิสระของโลหะทรานซิชันซึ่งจะไปเร่งการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพด้วยปฏิกิริยา Oxodagradaion ทำให้พันธะระหว่างธาตุคาร์บอนในสายโซ่พลาสติกถูกออกซิไดซ์ การย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จึงเกิดได้ดียิ่งขึ้น แต่ปฏิกิริยาการย่อยพลาสติกด้วยสารเติมแต่งดังกล่าวต้องควบคุมและระวังปัญหาการตกค้างของสารเติมแต่งสู่สิ่งแวดล้อม

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาจุลชีวะวิทยา. 2548. **จุลชีวะวิทยาปฏิบัติการ**. ภาควิชาจุลชีวะวิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เจริญ นาคะสรรค์. 2547. **กระบวนการแปรรูปพลาสติก**. บริษัท โฟร์เพช, กรุงเทพฯ.
- ชนาวดี ถ้างักข์. 2549. **พลาสติกย่อยสลายได้เพื่อสิ่งแวดล้อม**. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, ปทุมธานี.
- นรศิษฏ์ จันทรวงศ์. 2547. **การเตรียมพอลิเมอร์ชีวภาพผสมระหว่างแป้งข้าวเหนียวตัดแปรและพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา. 2551. **การออกแบบและวิเคราะห์การทดลอง**. บริษัทสำนักพิมพ์ท็อป, กรุงเทพฯ.
- ปารเมศ ชูติมา. 2545. **การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ศิริลักษณ์ พานโคกสูง. 2552. **การกำหนดสถานะกระบวนการฉีดขึ้นรูปและคุณสมบัติที่เหมาะสมของพอลิเมอร์ชีวภาพผสมแป้งข้าว/แกลบข้าว/พอลิเอทิลีนโดยการออกแบบการทดลอง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- อรอุษา สรวารี. 2546. **สารเติมแต่งพอลิเมอร์ เล่ม 1**. ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

- Antonio Carvalho, J.F. 2008. Starch: Major Sources, Properties and Applications as Thermoplastic Materials, pp. 321-342. In Mohamed Naceur Belgacem and Alessandro Gandini, eds. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. Elsevier, University of Aveiro, CICECO, Chemistry Department, Portugal.
- Baldwin *et al.* 2005. **Expression of granular starch hydrolyzing enzymes in trichoderma and process for producing glucose from granular starch substrates**. Genencor international, Inc. Mill Road, Palo Alto, California.
- Buleon, A. 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. **Int J Biol Macromol.** 23: 85-112.
- Chandra, R. and R. Rustgi. 1997. Biodegradation of maleated linear low-density polyethylene and starch blends. **Polym. Degrad. Stab.** 56: 185-202.
- Gattin R., A. Copinet, C. Bertrand and Y. Couterier. 2002. Biodegradation study of a starch and poly(lactic acid) co-extruded material in liquid, composting and inert mineral media. **Int. Biodeterior. Biodegrad.** 50: 25-31.
- Gupta R., P. Gigras, H. Mohapatra, V. Kumar Goswami and B. Chauhan. 2003. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Polym. Test.** 38: 1599-1616.
- Kale G., R. Auras, S. P. Singh and R. Narayan. 2007. Biodegradability of polylactide bottles in real and simulated composting conditions. **Polym. Test.** 26: 1049-1061.
- Kijchavengkul, T., R. Auras, M. Rubino, M. Ngouajio and R. T. Fernandez. 2006.

Development of an automatic laboratory-scale respirometric system to measure polymer biodegradability. **Polym. Test.** 25: 1006-1016.

Kimura A. and J.F. Robty. 1995. Reaction of enzymes with starch granules: kinetics and products of the reaction with glucoamylase. **Carbohydr. Res.** 227: 87–107.

Konsula Z. and M. Liakopoulou-Kyriakides. 2004. Hydrolysis of starch by the action of an α -amylase from *Bacillus subtilis*. **Process Biochem.** 39: 1745-1749.

Kumar M. and L. Philip. 2006. Bioremediation of endosulfan contaminated soil and water—Optimization of operating conditions in laboratory scale reactors. **J. Hazard. Mater.** B136: 354-364.

Kunioka M., F. Ninomiya and M. Funabashi. 2006. Biodegradation of poly(lactic acid) powders proposed as the reference test materials for the international standard of biodegradation evaluation methods. **Polym. Degrad. Stab.** 91: 1919-1928.

Massardier-Nageotte, V., C. Pestre, T. Cruard-Pradet and R. Bayard. 2006. Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization. **Polym. Degrad. Stab.** 91: 620-627.

Montgomery, D.C. 2005. **Design and Analysis of Experiments.** Sixth ed. John Wiley & Sons, Inc., United States of America.

Sarikaya, E., T. Higasa, M. Adachi and B. Mikami. 2000. Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules. **Process Biochem.** 35: 711-715.



ภาคผนวก





(ก) พอลิเมอร์แป้งข้าวเจ้า



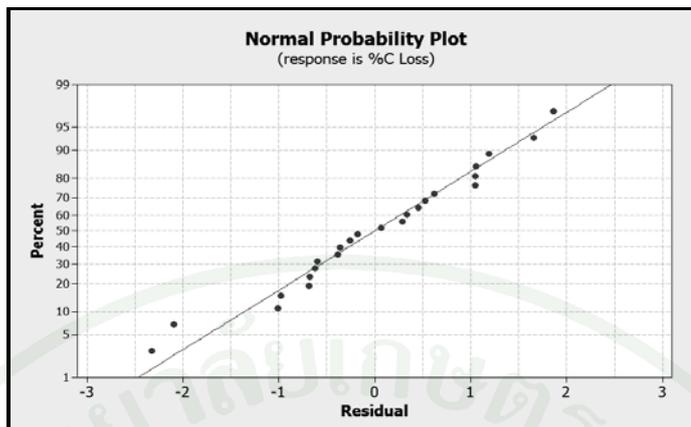
(ข) พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

ภาพผนวกที่ ก1 พอลิเมอร์แป้งข้าวเจ้าและพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

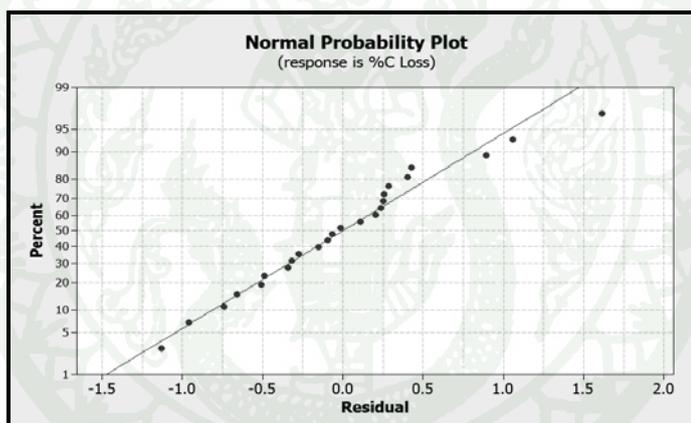


ภาพผนวกที่ ก2 แป้งข้าวเจ้าผสมพลาสติกรูปดรัมเบลล์ที่ได้จากเครื่องฉีดพลาสติก

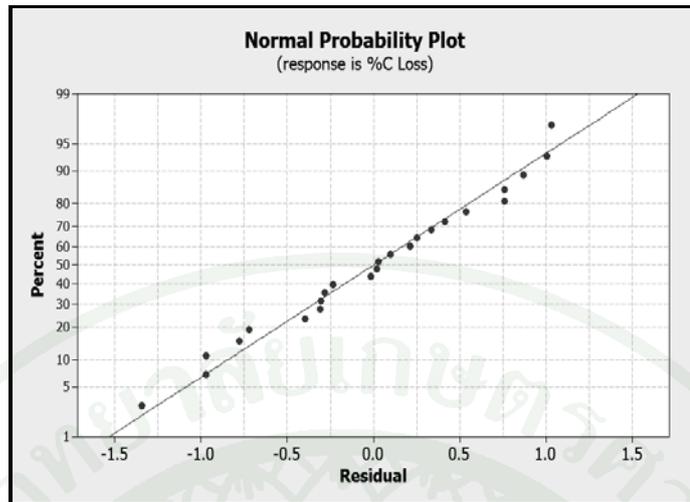




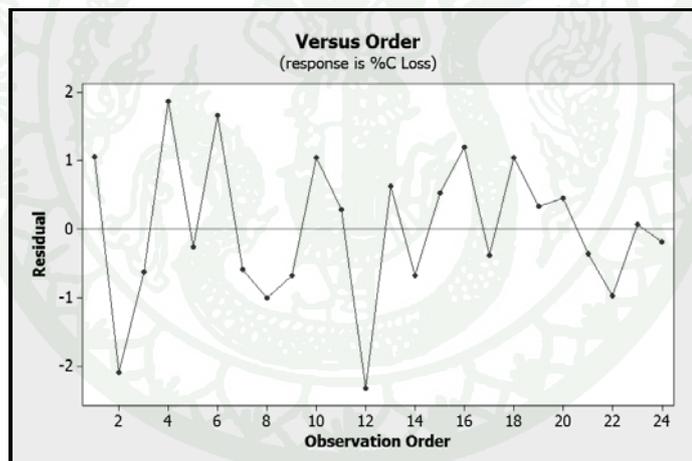
ภาพผนวกที่ ข1 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่
หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10



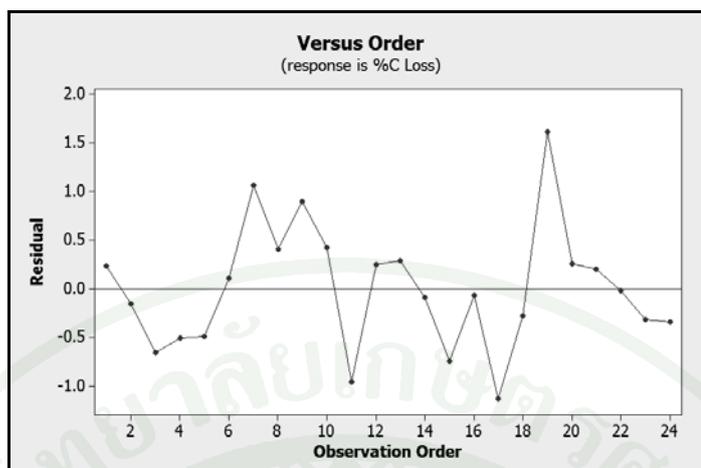
ภาพผนวกที่ ข2 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อน สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่
หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20



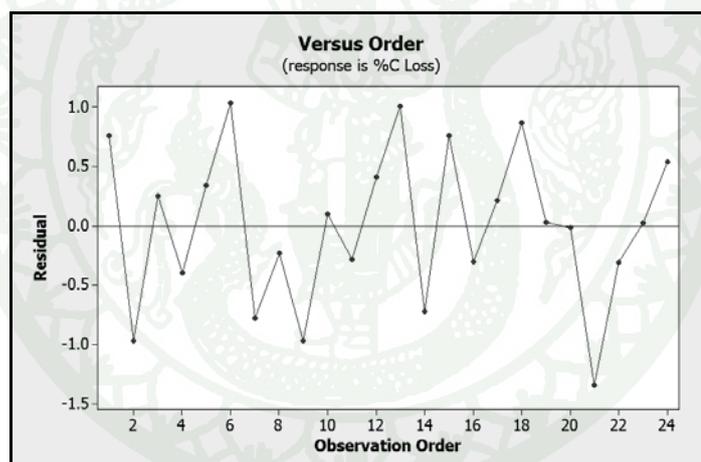
ภาพผนวกที่ ข3 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อน สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30



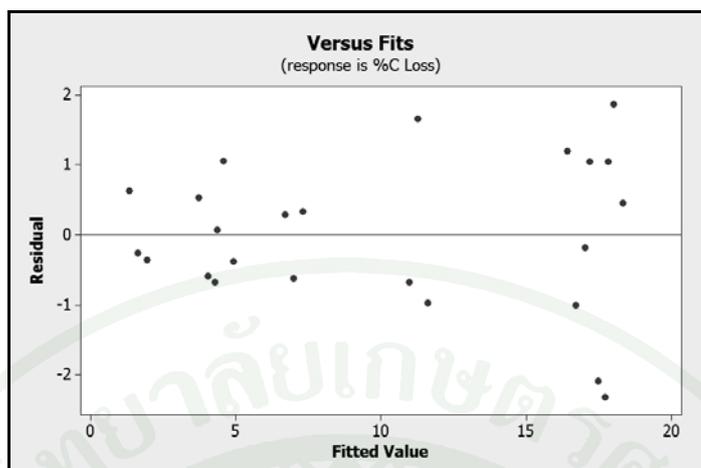
ภาพผนวกที่ ข4 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10



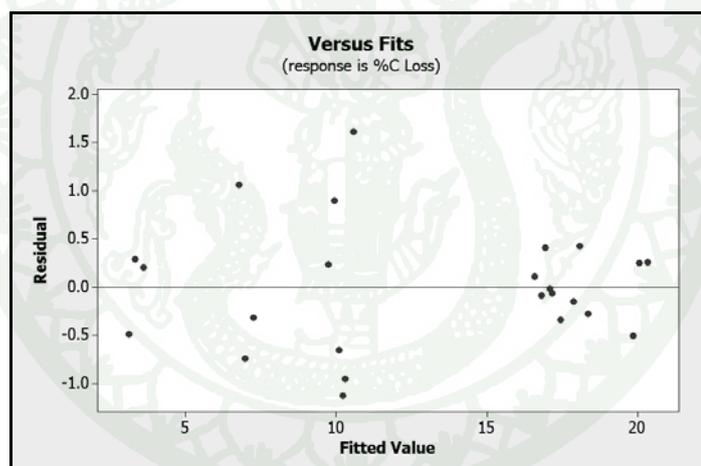
ภาพผนวกที่ ข5 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถุกย่อยสลาย ณ วันที่ 20



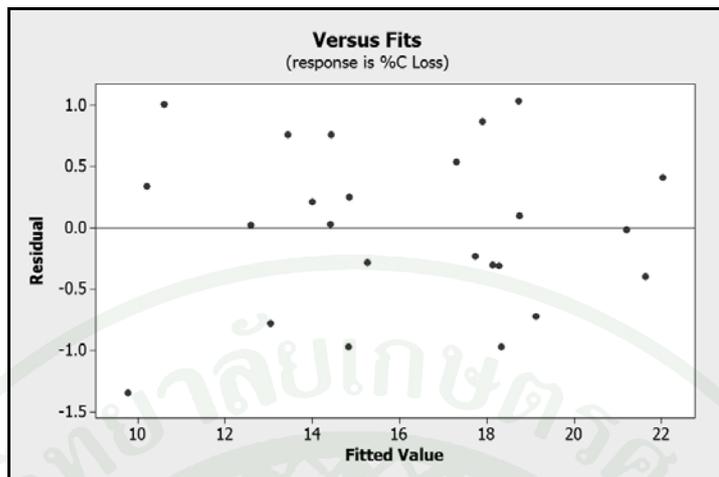
ภาพผนวกที่ ข6 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถุกย่อยสลาย ณ วันที่ 30



ภาพผนวกที่ ข7 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10



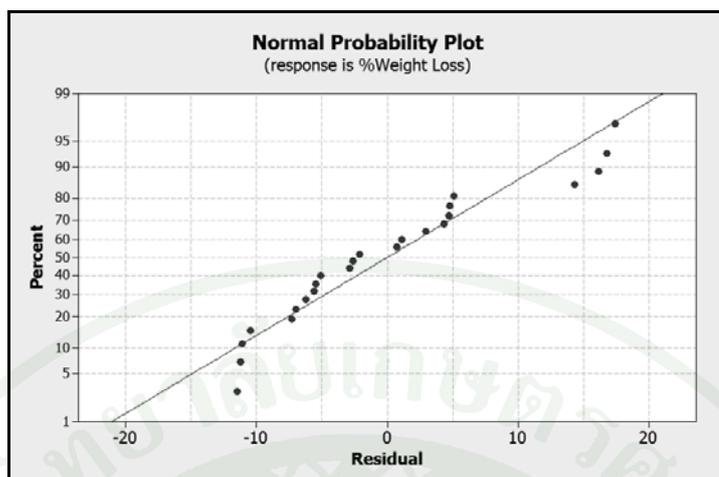
ภาพผนวกที่ ข8 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปในพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20



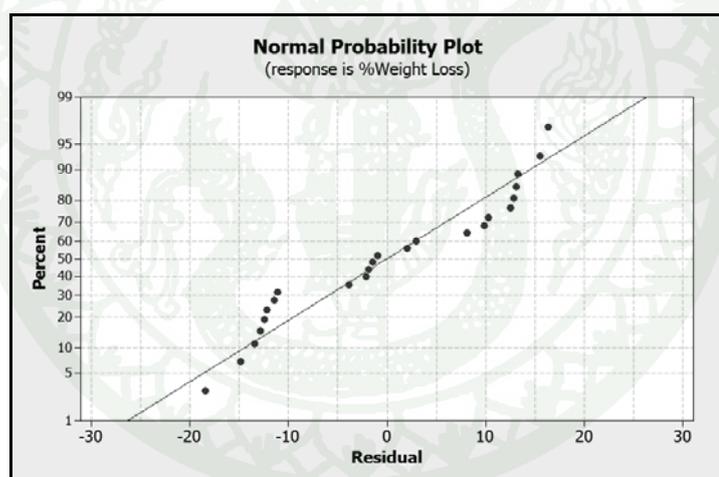
ภาพผนวกที่ ๗๑ แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของธาตุคาร์บอนที่หายไปพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30



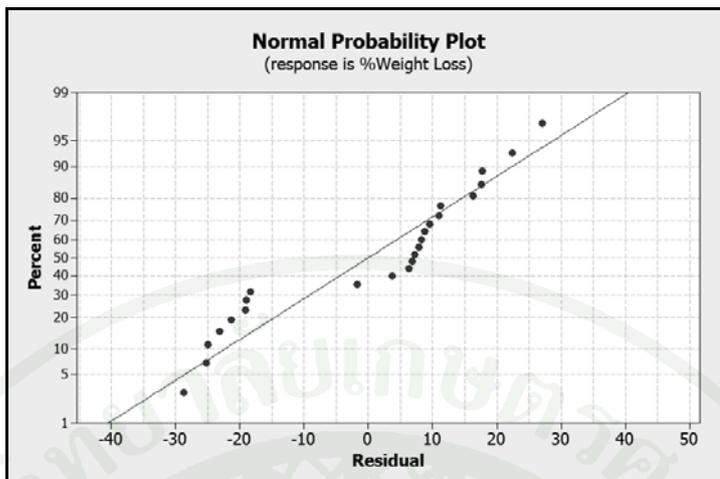
ภาคผนวก ค
ผลการคำนวณด้วยโปรแกรม Minitab ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไป



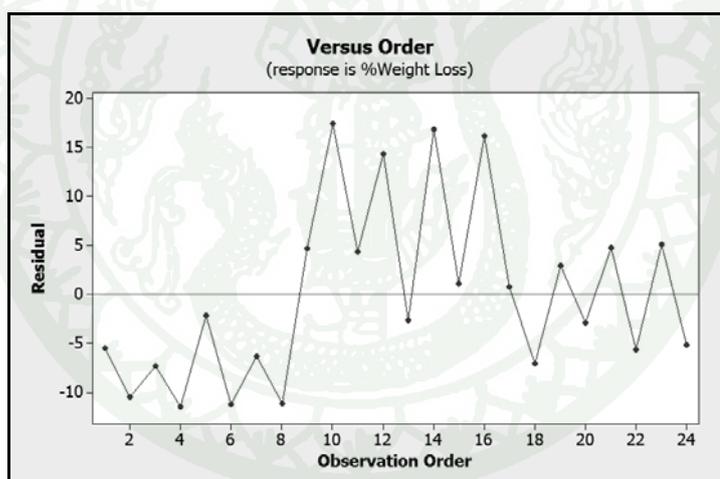
ภาพผนวกที่ ค1 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10



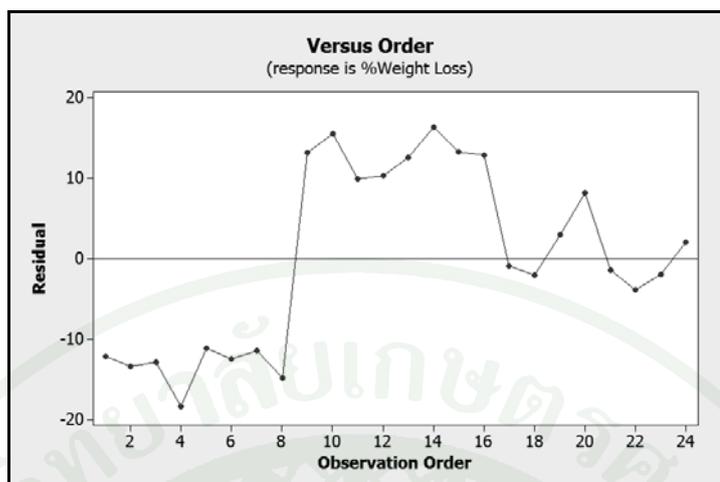
ภาพผนวกที่ ค2 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20



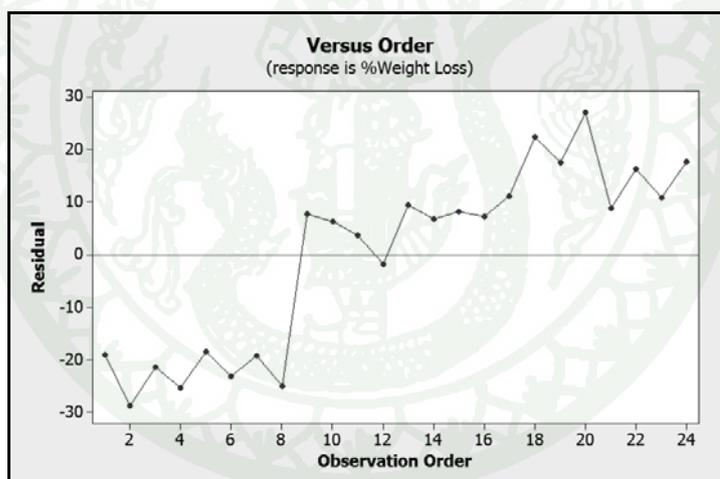
ภาพผนวกที่ ค3 Normal Probability Plot ของค่าคลาดเคลื่อนสำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30



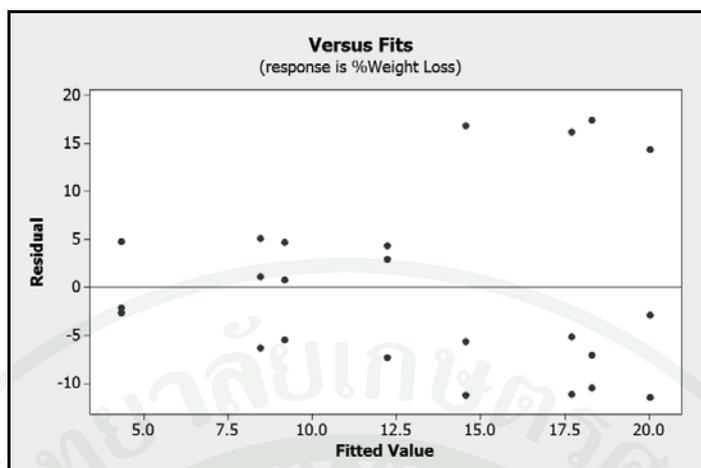
ภาพผนวกที่ ค4 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10



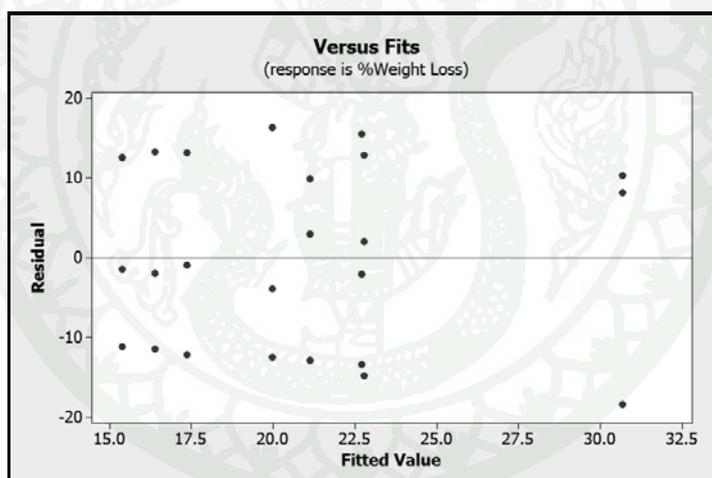
ภาพผนวกที่ ค5 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20



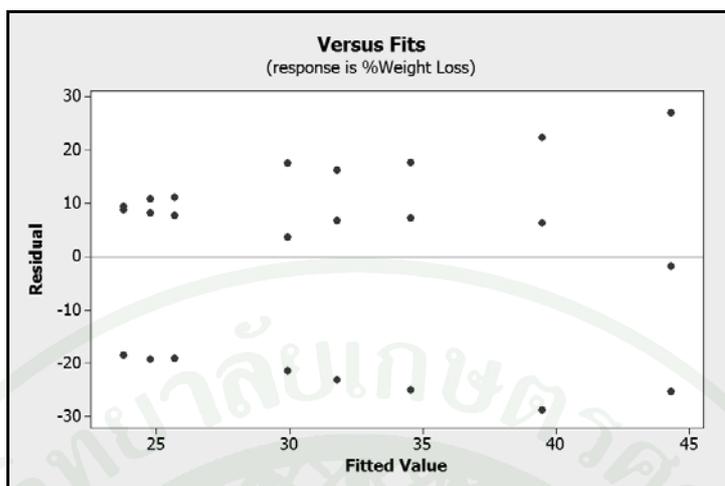
ภาพผนวกที่ ค6 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับลำดับของข้อมูลสำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30



ภาพผนวกที่ ค7 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 10



ภาพผนวกที่ ค8 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 20



ภาพผนวกที่ ค9 แผนภูมิของค่าคลาดเคลื่อนกับค่าพยากรณ์ (Fitted value) สำหรับค่าร้อยละของ น้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าถูกย่อยสลาย ณ วันที่ 30

ตารางผนวกที่ ค1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 full factorial designs)
ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าอุกย่อยสลาย ณ วันที่ 10

| แหล่งความผันแปร | องศาเสรี (d.f.) | ผลบวกกำลังสอง (SS) | ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS) | ค่าสถิติ F-Value | ค่าสถิติ P-Value | ความมีนัยสำคัญ |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| A | 1 | 497.20 | 497.20 | 113.57 | 0.01 | มีนัยสำคัญ |
| B | 1 | 54.20 | 54.20 | 12.56 | 0.07 | |
| C | 1 | 80.90 | 80.90 | 17.38 | 0.06 | |
| AB | 1 | 2.00 | 2.00 | 45.30 | 0.09 | |
| AC | 1 | 2.40 | 2.40 | 52.84 | 0.09 | |
| BC | 1 | 2.30 | 2.30 | 51.45 | 0.09 | |
| ABC | 1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.99 | |
| Error | 16 | 1892.20 | 118.3 | | | |
| Total | 23 | 2531.30 | | | | |

S = 10.8748

R-Sq = 25.25%

R-Sq(adj) = 0.00%

ตารางผนวกที่ ค2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 full factorial designs)
ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าอุกย่อยสลาย ณ วันที่ 20

| แหล่งความผันแปร | องศาเสรี (d.f.) | ผลบวกกำลังสอง (SS) | ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS) | ค่าสถิติ F-Value | ค่าสถิติ P-Value | ความมีนัยสำคัญ |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|----------------|
| A | 1 | 251.50 | 251.50 | 14.75 | 0.11 | |
| B | 1 | 90.80 | 90.80 | 2.60 | 0.27 | |
| C | 1 | 113.20 | 113.20 | 4.18 | 0.25 | |
| AB | 1 | 13.5 | 13.5 | 6.21 | 0.24 | |
| AC | 1 | 5.70 | 5.70 | 2.62 | 0.35 | |
| BC | 1 | 23.50 | 23.50 | 10.81 | 0.19 | |
| ABC | 1 | 2.20 | 2.20 | 0.01 | 0.91 | |
| Error | 16 | 2943.30 | 184.00 | | | |
| Total | 23 | 3443.70 | | | | |

S = 13.5631

R-Sq = 14.53%

R-Sq(adj) = 0.00%

ตารางผนวกที่ ๓3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการทดลองเชิงแฟคทอเรียลเต็มรูปแบบสองระดับ (2^3 full factorial designs) ของค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าอุกย่อยสลาย ณ วันที่ 30

| แหล่งความผันแปร | องศาเสรี (d.f.) | ผลบวกกำลังสอง (SS) | ค่าเฉลี่ยผลบวกกำลังสอง (MS) | ค่าสถิติ F-Value | ค่าสถิติ P-Value | ความมีนัยสำคัญ |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|----------------|
| A | 1 | 792.00 | 792.00 | 18.83 | 0.13 | |
| B | 1 | 62.00 | 62.00 | 5.18 | 0.22 | |
| C | 1 | 225.80 | 225.80 | 4.48 | 0.22 | |
| AB | 1 | 2.10 | 2.10 | 3.86 | 0.30 | |
| AC | 1 | 40.50 | 40.50 | 75.48 | 0.07 | |
| BC | 1 | 10.40 | 10.40 | 19.44 | 0.14 | |
| ABC | 1 | 0.50 | 0.50 | 0.00 | 0.98 | |
| Error | 16 | 6971.60 | 435.70 | | | |
| Total | 23 | 8105.00 | | | | |

S = 20.8741

R-Sq = 13.98%

R-Sq(adj) = 0.00%

ตารางผนวกที่ ๓4 ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละน้ำหนักที่
หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 10 วัน

| ระดับของปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า ตอบสนองเฉลี่ย | ค่าตอบสนอง เฉลี่ย | ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่า ตอบสนองเฉลี่ย |
|---|----------------------|--|
| AB | | |
| 70% * แบริ่งที่เรีย | 6.752 | 2.89 |
| 100% * แบริ่งที่เรีย | 16.44 | 2.89 |
| 70% * ภา | 10.34 | 2.89 |
| 100% * ภา | 18.86 | 2.89 |
| AC | | |
| 70% * สายพันธุ์เดี่ยว | 10.69 | 2.89 |
| 100% * สายพันธุ์เดี่ยว | 19.17 | 2.89 |
| 70% * ผสมสองสายพันธุ์ | 6.40 | 2.89 |
| 100% * ผสมสองสายพันธุ์ | 16.13 | 2.89 |
| BC | | |
| แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 13.74 | 2.89 |
| ภา * สายพันธุ์เดี่ยว | 16.13 | 2.89 |
| แบริ่งที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 9.45 | 2.89 |
| ภา * ผสมสองสายพันธุ์ | 13.08 | 2.89 |
| ABC | | |
| 70% * แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 9.17 | 4.08 |
| 100% * แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 18.313 | 4.08 |
| 70% * ภา * สายพันธุ์เดี่ยว | 12.22 | 4.08 |
| 100% * ภา * สายพันธุ์เดี่ยว | 20.03 | 4.08 |
| 70% * แบริ่งที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 4.33 | 4.08 |
| 100% * แบริ่งที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 14.56 | 4.08 |
| 70% * ภา * ผสมสองสายพันธุ์ | 8.46 | 4.08 |
| 100% * ภา * ผสมสองสายพันธุ์ | 17.69 | 4.08 |

ตารางผนวกที่ ๕ ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละน้ำหนักที่
หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 20 วัน

| ระดับของปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า ตอบสนองเฉลี่ย | ค่าตอบสนอง เฉลี่ย | ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่า ตอบสนองเฉลี่ย |
|---|----------------------|--|
| AB | | |
| 70% * แบริ่งที่เรีย | 16.36 | 5.54 |
| 100% * แบริ่งที่เรีย | 21.33 | 5.54 |
| 70% * รว | 18.62 | 5.54 |
| 100% * รว | 26.72 | 5.54 |
| AC | | |
| 70% * สายพันธุ์เดี่ยว | 19.24 | 5.54 |
| 100% * สายพันธุ์เดี่ยว | 26.69 | 5.54 |
| 70% * สายพันธุ์ผสม | 15.87 | 5.54 |
| 100% * สายพันธุ์ผสม | 21.37 | 5.54 |
| BC | | |
| แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 20.03 | 5.54 |
| รว * สายพันธุ์เดี่ยว | 25.90 | 5.54 |
| แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์ผสม | 17.66 | 5.54 |
| รว * สายพันธุ์ผสม | 19.57 | 5.54 |
| ABC | | |
| 70% * แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 17.35 | 7.83 |
| 100% * แบริ่งที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 22.70 | 7.83 |
| 70% * รว * สายพันธุ์เดี่ยว | 21.12 | 7.83 |
| 100% * รว * สายพันธุ์เดี่ยว | 30.67 | 7.83 |
| 70% * แบริ่งที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 15.36 | 7.83 |
| 100% * แบริ่งที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 19.96 | 7.83 |
| 70% * รว * ผสมสองสายพันธุ์ | 16.37 | 7.83 |
| 100% * รว * ผสมสองสายพันธุ์ | 22.77 | 7.83 |

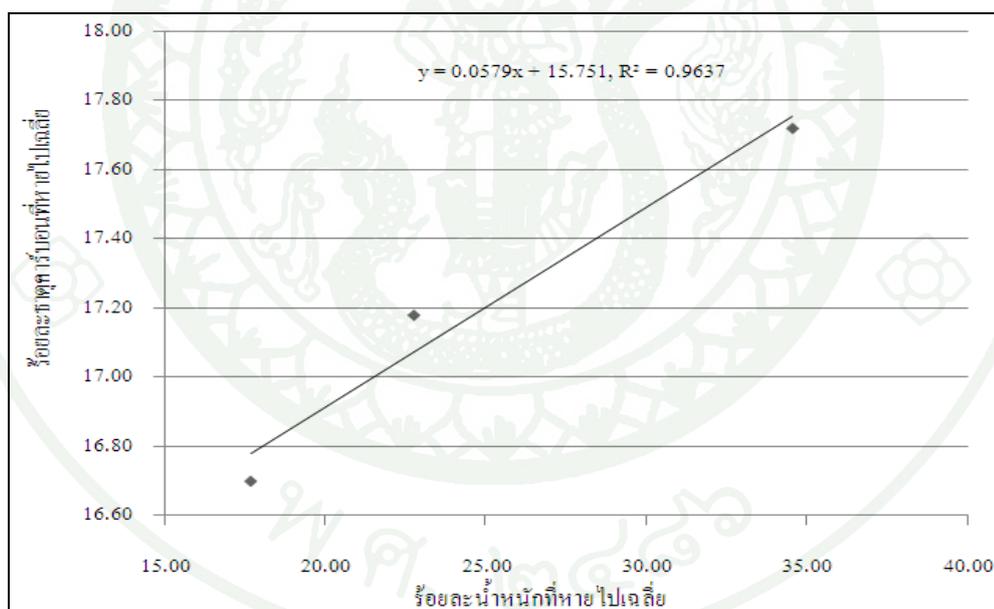
ตารางผนวกที่ ๑๖ ค่ากำลังสองเฉลี่ยน้อยสุด (Least Squares Means) สำหรับค่าร้อยละน้ำหนักที่
หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าระยะเวลา 30 วัน

| ระดับของปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า ตอบสนองเฉลี่ย | ค่าตอบสนอง เฉลี่ย | ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่า ตอบสนองเฉลี่ย |
|---|----------------------|--|
| AB | | |
| 70% * แבקที่เรีย | 24.72 | 8.52 |
| 100% * แבקที่เรีย | 35.62 | 8.52 |
| 70% * รา | 27.35 | 8.52 |
| 100% * รา | 39.42 | 8.52 |
| AC | | |
| 70% * สายพันธุ์เดี่ยว | 27.80 | 8.52 |
| 100% * สายพันธุ์เดี่ยว | 41.89 | 8.52 |
| 70% * สายพันธุ์ผสม | 24.26 | 8.52 |
| 100% * สายพันธุ์ผสม | 33.16 | 8.52 |
| BC | | |
| แบคทีเรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 32.58 | 8.52 |
| รา * สายพันธุ์เดี่ยว | 37.11 | 8.52 |
| แบคทีเรีย * สายพันธุ์ผสม | 27.76 | 8.52 |
| รา * สายพันธุ์ผสม | 29.66 | 8.52 |
| ABC | | |
| 70% * แבקที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 25.68 | 12.05 |
| 100% * แבקที่เรีย * สายพันธุ์เดี่ยว | 39.48 | 12.05 |
| 70% * รา * สายพันธุ์เดี่ยว | 29.92 | 12.05 |
| 100% * รา * สายพันธุ์เดี่ยว | 44.30 | 12.05 |
| 70% * แבקที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 23.76 | 12.05 |
| 100% * แבקที่เรีย * ผสมสองสายพันธุ์ | 31.76 | 12.05 |
| 70% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 24.77 | 12.05 |
| 100% * รา * ผสมสองสายพันธุ์ | 34.55 | 12.05 |

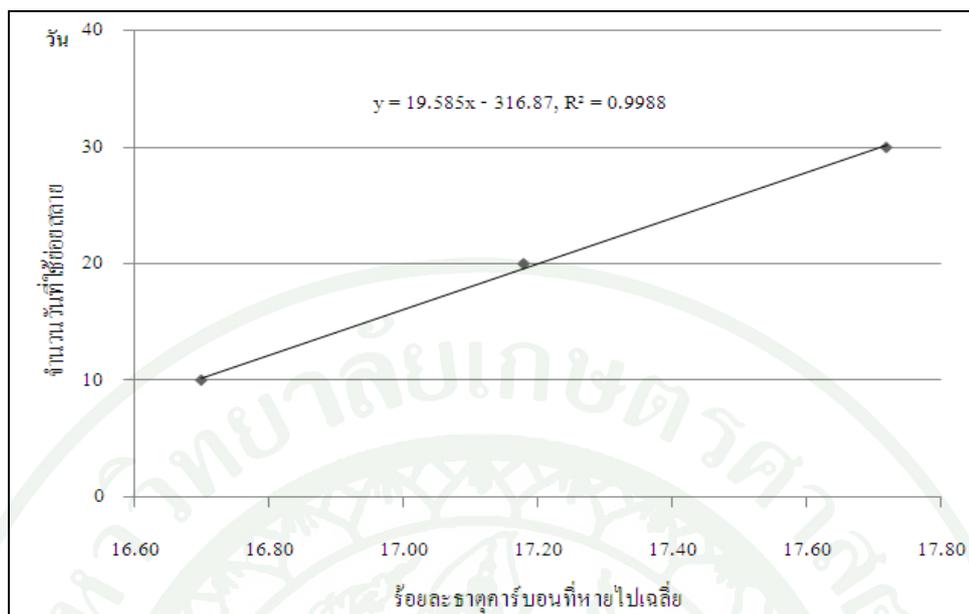


ตารางผนวกที่ ๑1 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* ในเวลา 30 วัน

| วันที่ | จุลินทรีย์ในชุดทดสอบ | |
|--------|---|---------|
| | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> และ <i>Trichoderma harzianum</i> | |
| | %Wt Loss | %C Loss |
| 10 | 17.69 | 16.70 |
| 20 | 22.77 | 17.18 |
| 30 | 34.55 | 17.72 |



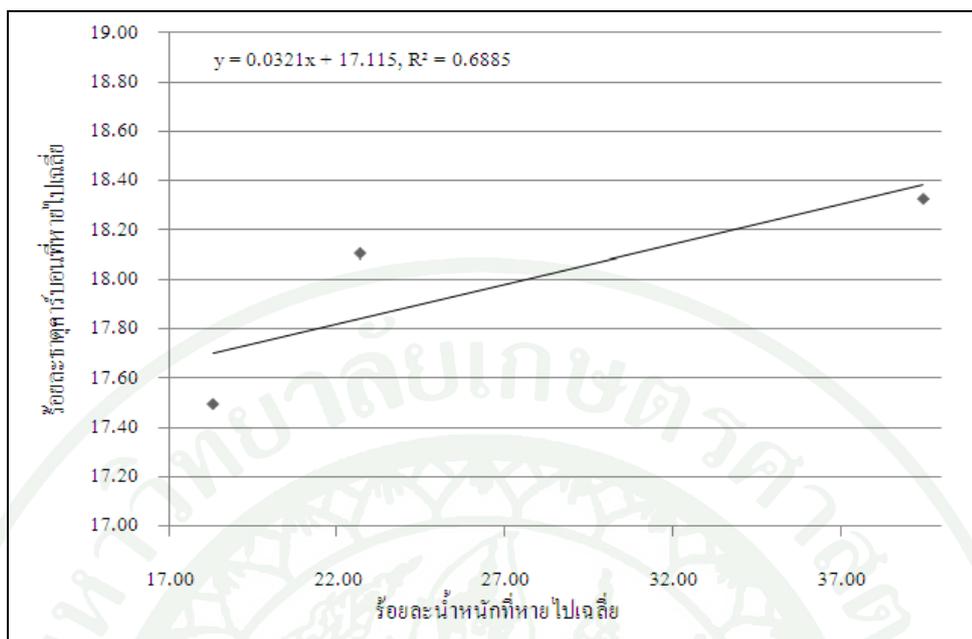
ภาพผนวกที่ ๑1 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยรา *Trichoderma longibrachiatum* และ *Trichoderma harzianum* ในเวลา 30 วัน



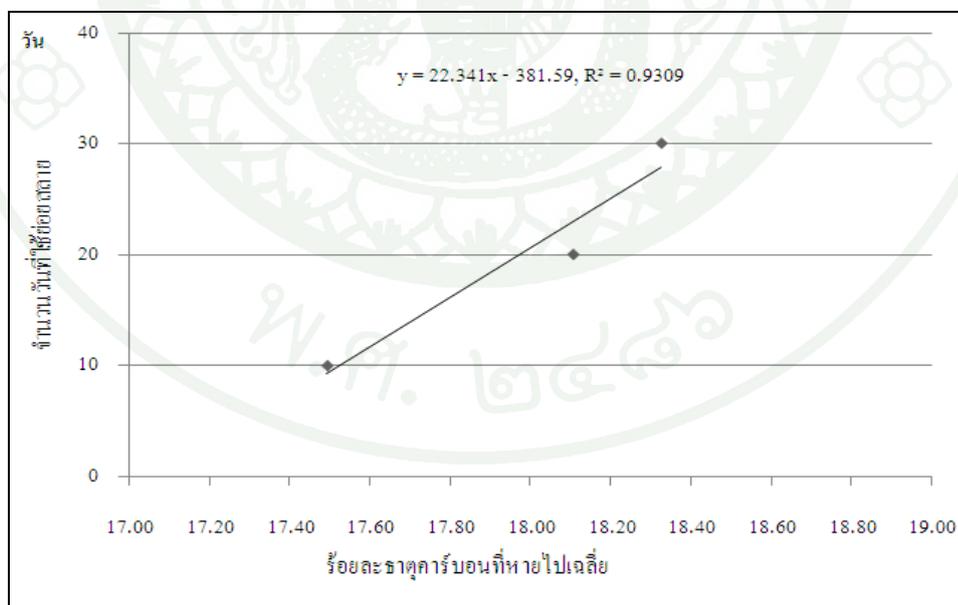
ภาพผนวกที่ ง2 แผนภูมิติดตามค่าร้อยละธัญคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย รา *T. longibrachiatum* และ *T. harzianum* ในเวลา 30 วัน

ตารางผนวกที่ ง2 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธัญคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในเวลา 30 วัน

| วันที่ | จุลินทรีย์ในชุดทดสอบ | |
|--------|--------------------------|---------|
| | <i>Bacillus subtilis</i> | |
| | %Wt Loss | %C Loss |
| 10 | 18.31 | 17.49 |
| 20 | 22.70 | 18.11 |
| 30 | 39.48 | 18.33 |



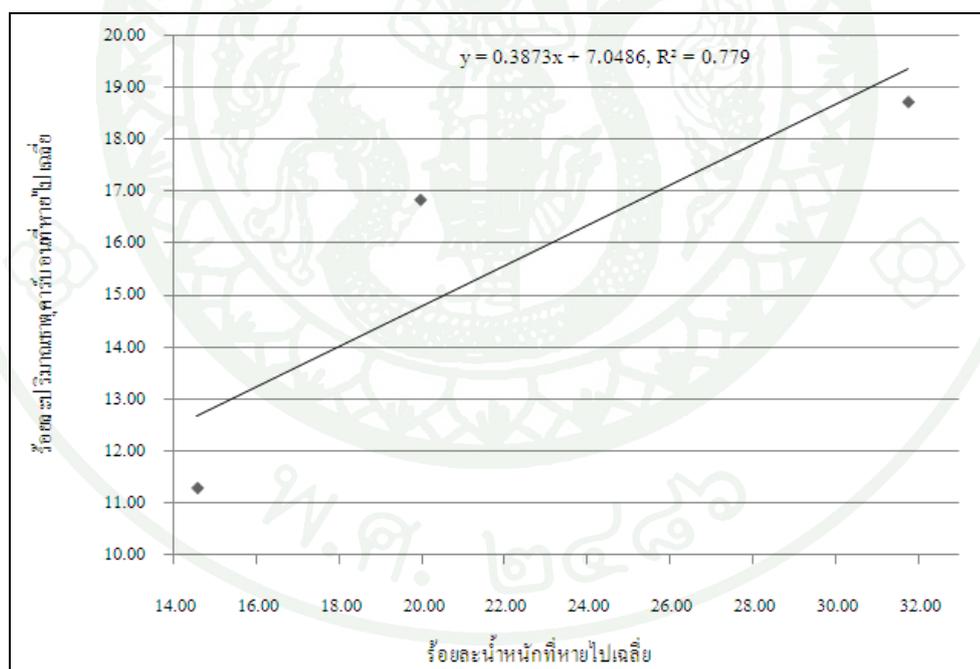
ภาพผนวกที่ 33 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละจุลินทรีย์คาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในเวลา 30 วัน



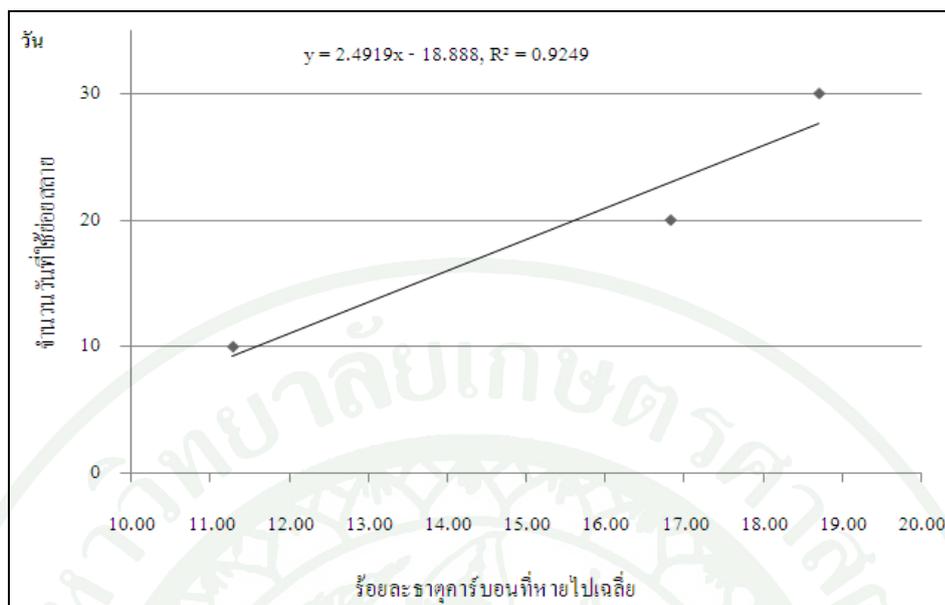
ภาพผนวกที่ 34 แผนภูมิตดตามค่าร้อยละจุลินทรีย์คาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในเวลา 30 วัน

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B.cereus* ในเวลา 30 วัน

| วันที่ | จุลินทรีย์ในชุดทดสอบ | |
|--------|---|---------|
| | <i>Bacillus subtilis</i> และ <i>Bacillus cereus</i> | |
| | %Wt Loss | %C Loss |
| 10 | 14.57 | 11.28 |
| 20 | 19.96 | 16.83 |
| 30 | 31.76 | 18.71 |



ภาพผนวกที่ 35 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยและค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B.cereus* ในเวลา 30 วัน



ภาพผนวกที่ ๖6 แผนภูมิติดตามค่าร้อยละธาตุคาร์บอนที่หายไปเฉลี่ยของ 100%แป้งข้าวเจ้าจากการย่อยสลายโดย แบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. cereus* ในเวลา 30 วัน

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

| | |
|----------------------|---|
| ชื่อ | นายกษิต ศุนทรารักษ์กุล |
| เกิดวันที่ | 31 สิงหาคม 2527 |
| ประวัติการศึกษา | ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น-ปลาย: (2540-2545) รร.ปทุมวิไล อ.เมือง จ. ปทุมธานี ระดับปริญญาตรี: (2546-2549) วท.บ.(วิทยาศาสตร์เคมี) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| สถานที่อยู่ปัจจุบัน | อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ | ระดับปริญญาโท: โครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี(พสวท.) คณะวิทยาศาสตร์ ศูนย์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระดับปริญญาโท: 1) ทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับชาติ ประจำปีงบประมาณ 2551 2) ทุนผู้ช่วยสอน (พ.ศ. 2552) ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |