สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตพอลิเอสเทอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยเชื้อจุลินทรีย์

นางสาวกุลชิดา บุญมาเลิศ
นางสาวสินีนาฎ แซ่ตั้ง

วิศว.
ก726ก
2537
เลขหมู่
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี

b1254175

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2537

Production of Biodegradable Polyester by Microorganism

Miss Kulatida Boonmalert

Miss Sineenard Sae-Tung

A Speial Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1994

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตพอลิเอสเทอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยเชื้อจุลินทรีย์

โดย นางสาวกุลธิดา บุญมาเลิศ

นางสาวสินีนาฏ แซ่ตั้ง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ อรไท สุขเจริญ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

(ดร. อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล) หัวหน้าภาควิชา

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

(รศ.ดร.ดุษฎี ธนะบริพัฒน์) ประธานกรรมการ

(ดร. อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล) กรรมการ

(อาจารย์ อรไท สุขเจริญ) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตพอลิเอสเทอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยเชื้อจุลินทรีย์
โดย	นางสาวกุลธิดา บุญมาเลิศ
	นางสาวสินีนาฏ แซ่ตั้ง
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์อรไท สุขเจริญ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2537

บทคัดย่อ

การศึกษาเกี่ยวกับการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด [Poly(malic acid)] ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จากตัวอย่างดินจำนวน 6 ตัวอย่าง พบจุลินทรีย์รหัส 3389 ที่เป็นออกซิเดทีฟที่สามารถผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด [Poly(malic acid)] ได้เมื่อใช้อาหารจำเพาะที่มีแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญและสามารถผลิตพอลิเมอร์ของเอสเทอร์ (Polyester) คือพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด [Poly(malic acid)] ได้จากกลูโคส พอลิเมอร์ของเอสเทอร์ที่เชื้อผลิตได้ชนิดนี้จะอยู่ในรูปเกลือแคลเซียม(Ca-PM) ในปริมาณ 3.49 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์ผลิตพอลิเมอร์นี้รหัส 3389 เป็นเชื้อราที่มีเส้นใยสีดำมีผนังกั้นและมีการสร้างสปอร์คล้ายกับคลามายโดสปอร์ (chlamydospores)

Special Project Title	Production of Biodegradable Polyesters by Microorganism
Name	Miss Kulatida Boonmalert
	Miss Sineenard Saetang
Special Project Advisor	Miss Oratai Sukchareon
Department	Applied Biology
Academic Year	1994

Abstract

Six soil samples were screened for microorganisms producing polymalic acid , biodegradable polymer and a selective medium containing manniitol as a main carbon source was used for isolating oxidative microorganisms. One isolate was found to produce extracellular biopolyester from glucose. The yield of biopolyester in the from of cacium salt recovering from culture filtrate was 3.49 g/l.

The morphological studies of this microorganism showed to be a fungus with septate hypha and producing a spore similarly to chlamydospore.

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์อรไท สุขเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษา และให้คำแนะนำในด้านต่างๆ ในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้ รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์และดร.อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล กรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษ รวมทั้งคุณพยอม เกียรติกำจร และ คุณวิทยา เขียวเขิน เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆสำหรับทำการทดลอง

สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่ให้ยืมอุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งน้องทุกคนที่ช่วยเหลือในด้านการล้างอุปกรณ์เครื่องแก้ว และเพื่อนๆที่ช่วยเหลือในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2538

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาคภาษาไทย	ก
บทคัดย่อโครงงานภาคพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
- วัตถุประสงค์	2
- ขอบเขต	2
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	22
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	27
บทที่ 5 บทสรุป	53
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ	54
ข. การเตรียมสารเคมี	57
เอกสารอ้างอิง	58

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงลักษณะดินจากสถานที่ต่างๆและจำนวนจุลินทรีย์ที่แยกได้	27
2 แสดงลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ	30-31
3 แสดงการเจริญของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ	32-33
4 แสดงความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	34
5 แสดงระยะเวลาที่สารอยู่ในคอลัมน์ (retention time) ของมาลิกแอซิดและส่วนใสที่ได้จากจุลินทรีย์รหัสต่างๆ	39
6 แสดงผลการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิดในรูปแ คลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด	42
7 แสดงเคมีคัลชิฟท์(chemical shift) โดยวิธีคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปคโตรสโคปี(^{13}CNMR) ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์รหัส 3389	46
8 แสดงลักษณะและสีของจุลินทรีย์รหัส 3386 และ 3386 บนอาหาร malt extract agar ร้อยละ 2 ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน	49

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 โครงสร้างของ Poly(malic acid)	16
2 Penicillium cyclopium	19
3 Physarum polycephalum	19
4 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อ Aureobasidium pullulan	20
5 แสดงตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ	28
6 แสดงอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 5	28
7 แสดงการแยกเชื้อที่เป็นออกซิเดทีฟ	29
8 แสดงอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6	35
9 แสดงการเลี้ยงเชื้อในอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6	35
10 แสดงการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อในอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6 เป็นเวลา 7 วัน	36
11 แสดงส่วนใสที่ได้จากการกรองเอาตะกอนออก	36
12 แสดงจุลินทรีย์รหัส 3390 3386 3388 3389	37
13 แสดงโครมาโตแกรม (chromatogram) ของมาลิก แอซิดและส่วนใสที่ได้จากจุลินทรีย์รหัสต่างๆ	38
14 แสดงเครื่อง HPLC	40
15 แสดงวิธีการกำจัดฟองอากาศในน้ำกลั่นและเมทานอลที่ใช้กับเครื่อง HPLC	40
16 แสดงการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด (Poly(malic acid)) ก่อนการเกิดแคลเซียมของพอลิเมอร์	43
17 แสดงการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid)) ขณะเกิดแคลเซียมของพอลิเมอร์	44
18 แสดงตะกอนแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิดที่เก็บเกี่ยวได้	45
19 แสดงเคมีคัลชิฟท์ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์รหัส 3389	47

รูปที่	หน้า
20 แสดงเคมีคัลชิฟท์ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์รหัส 3386	48
21 แสดงการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3389 ในอาหาร MEA(Malt Extract Agar)	50
22 แสดงการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3386 ในอาหาร MEA(Malt Extract Agar)	50
23 แสดงลักษณะของคลามายโดสปอร์ (Chlamydospore)ของจุลินทรีย์รหัส 3386	51
24 แสดงลักษณะของจุลินทรีย์รหัส 3389	52
25 แสดงลักษณะของจุลินทรีย์รหัส 3386	52

บทที่ 1
บทนำ

พลาสติกเป็นวัสดุที่รู้จักกันแพร่หลายในปัจจุบัน สิ่งต่างๆ รอบตัวเองที่นำมาใช้งานและพบเห็นกันในชีวิตประจำวันล้วนทำมาจากพลาสติกหรือมีพลาสติกเป็นองค์ประกอบทั้งสิ้น ยิ่งนับวันการนำพลาสติกมาใช้ประโยชน์ก็ยิ่งมากขึ้น และอุตสาหกรรมพลาสติกได้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนทัดเทียมอุตสาหกรรมเหล็ก แก้ว กระดาษ และไม้ และได้มีการคิดค้นพลาสติกชนิดใหม่ๆ ขึ้น รวมทั้งวิธีการผลิตด้วย จึงทำให้อุตสาหกรรมพลาสติกขยายตัวไปอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากพลาสติกเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติที่ดีหลายอย่าง ได้แก่ สามารถทำให้มีความแข็งแรงทนทานเทียบเท่าโลหะหรือคอนกรีต ทำให้อ่อนนุ่มและมีความยืดหยุ่น เหนียว ทนทานหรือทำให้ใสเหมือนแก้วได้ นอกจากนี้พลาสติกส่วนใหญ่ยังสามารถทนทานต่อการกัดกร่อนของสารเคมี หรือทนน้ำมันได้ ซึ่งนับว่ามีคุณสมบัติที่ดีและมีประโยชน์มหาศาล พลาสติกมีราคาถูก สามารถนำไปผลิตเป็นเครื่องมือเครื่องใช้ได้ง่าย อาจกล่าวได้ว่า พลาสติกเป็นสัญลักษณ์อย่างหนึ่งของความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีของมนุษย์ในปัจจุบัน

ดังนั้นเมื่อมีการนำพลาสติกมาใช้เพิ่มขึ้น ทั้งในด้านปริมาณและชนิดของพลาสติกจึงก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมา สำหรับปัญหาที่เกิดจากพิษของพลาสติกโดยตรงนั้นแทบไม่มี ถ้ามีการระมัดระวังและควบคุมกันอย่างถูกต้อง แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นเนื่องจากพลาสติกนั้นเป็นวัสดุที่ทำให้เสื่อมสภาพหรือทำลายได้ยากในสภาพแวดล้อม ด้วยเหตุที่พลาสติกมีความเฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี ฉะนั้นถ้าไม่มีการควบคุมการใช้พลาสติกหรือไม่หาหนทางกำจัดพลาสติกที่ไม่ต้องการออกไปบ้าง ในที่สุดพื้นโลกอาจจะปกคลุมไปด้วยพลาสติก และเกิดปัญหาขึ้นมาอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ปัญหาในการกำจัดพลาสติกจึงเป็นปัญหาที่สมควรได้รับความสนใจ และหาทางแก้ไข ในต่างประเทศได้มีการสนใจปัญหามลพิษจากพลาสติกมานานแล้ว เพราะใช้พลาสติกกันในปริมาณมากกว่าในประเทศไทยและได้มีการศึกษาค้นคว้าวิจัยมากมายเกี่ยวกับการแก้ไขปัญหาพลาสติก สำหรับประเทศไทยยังไม่ได้มีการสนใจปัญหานี้อย่างจริงจัง ถึงเวลาที่ทุกคนต้องศึกษาวิธีป้องกันและแก้ไข เพราะอุตสาหกรรมพลาสติกของประเทศกำลังขยายขึ้นทุกที และการใช้พลาสติกในประเทศก็เพิ่มมากขึ้นเป็นทวีคูณ ปัจจุบันได้มีการนำพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable plastic) มาใช้ซึ่งวิธีที่จะทำให้พลาสติกสามารถย่อยสลายได้เอง ตามธรรมชาติโดยแสง น้ำ และจุลินทรีย์ และไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมซึ่ง พอลิเมอร์ (polymer) ที่นำมาใช้ในการผลิตพลาสติกชนิดนี้สามารถสังเคราะห์ได้โดยจุลินทรีย์ซึ่งพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด(Poly(malic acid)) เป็นตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ซึ่งสร้างโดย Aureobasidium sp. ถ้าหากสามารถนำ

พอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid)) มาใช้ในการผลิตพลาสติก จะช่วยลดปัญหามลพิษจากพลาสติกได้ เพราะพลาสติกชนิดนี้สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ

วัตถุประสงค์

1 เพื่อศึกษาลักษณะของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารสำหรับสังเคราะห์พอลิเมอร์(polymer) ซึ่งย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ

2 เพื่อแยกจุลินทรีย์จากดินที่สามารถผลิตสารพอลิมาลิกแอซิด (Poly(malic acid))ได้

ขอบเขตของปัญหาพิเศษ

เป็นการศึกษาหาเชื้อจุลินทรีย์จากดินทีมีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid)) รวมถึงการตรวจสอบลักษณะของพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด ที่ได้ในรูปของ แคลเซียมพอลิมาลิกแอซิด [Ca-PM] และศึกษาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้

ประโยชน์ที่ได้รับจากการทำ

1 ทราบชนิดและลักษณะของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly (malic acid))

2 ทราบวิธีการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของพอลิมาลิกแอซิด (Poly(malic acid)) ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์

ขั้นตอนการดำเนินการ

1 เก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ และบันทึกลักษณะดิน

2 แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นออกซิเดทีฟจากตัวอย่างดิน

3 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid))

4 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้โดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance liquid Chromatography)

5 การเก็บเกี่ยาพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด ((Poly(malic acid)) ในรูปของแคลเซียมของพอลิมาลิกแอซิด (Ca-PM)

6 การวิเคราะห์ลักษณะของพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid))

7 การศึกษาลักษณะจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid))

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

พลาสติกเป็นวัสดุชนิดใหม่และนำมาใช้เมื่อประมาณร้อยปีกว่าแล้ว อุตสาหกรรมพลาสติกได้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนทัดเทียมอุตสาหกรรมเหล็ก แก้ว กระดาษและไม้ นับแต่ นั้นมาได้มีการคิดค้นพลาสติกชนิดใหม่ๆ ขึ้น รวมทั้งวิธีการผลิตด้วย จึงทำให้อุตสาหกรรมพลาสติกขยายตัวไปอย่างรวดเร็ว ปัญหามลพิษจากพลาสติกเป็นปัญหาที่มีการกล่าวถึงกันอยู่เสมอ และมีผู้วิตกกังวลกันมากจนกระทั่งบางครั้งอาจมากเกินไป เนื่องจากปริมาณขยะมูลฝอยจากพลาสติกหรือผลิตภัณฑ์พลาสติกใช้แล้วเพิ่มมากขึ้นทุกวัน และก็ไม่ค่อยจะยอมไปไหนเหมือนมูลฝอยประเภทอื่นๆ ยังคงปรากฏให้เห็นอยู่เป็นปีๆ ฉะนั้นปัญหาที่สมควรได้รับการ พิจารณากันอย่างจริงจังเพื่อเป็นการเตรียมตัวให้พร้อมต่อการแก้ไขปัญหาที่นับวันจะทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น ในด้านเกี่ยวกับวิธีแก้ไขปัญหามลพิษจากพลาสติก สำหรับประเทศไทยยังไม่ได้มีการสนใจปัญหาที่จะศึกษาวิธีป้องกันและแก้ไข เพราะอุตสาหกรรมพลาสติกของประเทศกำลังขยายขึ้นทุกที และการใช้พลาสติกในประเทศก็เพิ่มมากขึ้นเป็นทวีคูณ สิ่งที่เห็นกันชัดๆ และที่เป็นห่วงกันว่าเป็นปัญหามลพิษจากพลาสติก คือ ประเทศได้มีการสนใจปัญหามลพิษจากพลาสติกมานานแล้ว เพราะใช้พลาสติกกันในปริมาณมากกว่าในประเทศไทยและได้มีการศึกษาค้นคว้า วิจัยมากมายเกี่ยวกับวิธีแก้ไขปัญหามลพิษจากพลาสติก สำหรับประเทศไทยยังไม่ได้มีการสนใจปัญหาที่จะศึกษาวิธีป้องกันและแก้ไข เพราะอุตสาหกรรมพลาสติกของประเทศกำลังขยายขึ้นทุกที และการใช้พลาสติกในประเทศก็เพิ่มมากขึ้นเป็นทวีคูณ สิ่งที่เห็นกันชัดๆ และที่เป็นห่วงกันว่าเป็นปัญหามลพิษจากพลาสติก คือ

(1) ปัญหาการตกค้างของมูลฝอยจากพลาสติกในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ตามถนนหนทาง ชายทะเล ริมทางรถไฟ หรือตามภูมิประเทศนอกเมือง

(2) ปัญหาการไม่ย่อยสลายของมูลฝอยจากพลาสติก

สาเหตุของปัญหามลพิษจากพลาสติกทั้งสองดังกล่าว เกิดจากคุณสมบัติของพลาสติกเองที่ว่าพลาสติกเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติพิเศษดีเด่นกว่าวัสดุที่ใช้กันมาก่อนอย่างมากมาย จึงสามารถใช้แทนวัสดุอื่นได้เกือบทั้งหมดเนื่องจากพลาสติกได้ทั้งความอ่อนนุ่ม ความแข็ง ความยืดตัว ความเหนียวทนทาน ใส ทึบ เบา ลอยน้ำได้ ทนความร้อน ทนการสึกกร่อน ทนสารเคมี เป็นฉนวนไฟฟ้า กันน้ำ ไม่ติดง่าย หล่อลื่นในตัว ทำเป็นสีต่างๆได้ และอื่นๆ จากคุณสมบัติของพลาสติกสรุปได้ว่า

(1) พลาสติกมีน้ำหนักเบา จึงแพร่กระจายไปในบริเวณกว้างได้ง่าย เช่น โดยอิทธิพลของลม

(2) พลาสติกมีความหนาแน่นต่ำ ฉะนั้นอัตราส่วนของปริมาตรต่อน้ำหนักจึงมีค่าสูง แต่ด้วยเหตุผลที่พลาสติกมีน้ำหนักเบา มูลฝอยจากพลาสติกจึงมีปริมาตรมากและกินเนื้อที่มาก เมื่อเทียบกับมูลฝอยจากวัสดุอื่นที่มีน้ำหนักเท่ากัน ทำให้เป็นปัญหาต่อการกำจัดมูลฝอยจากพลาสติกด้วยอีกสาเหตุหนึ่ง

(3) พลาสติกเป็นสารที่สลายตัวยากไม่ว่าจะเป็นโดยกระบวนการทางเคมี (อาทิเช่น การละลายน้ำอิทธิพลของความร้อน แสงหรือสารเคมี) หรือกระบวนการทางกายภาพ (อาทิเช่น การสึกกร่อนโดยลม) หรือกระบวนการทางชีวภาพ (อาทิเช่น การย่อยสลายของแบคทีเรียหรือเชื้อรา) ฉะนั้นพลาสติกจึงเป็นสารที่ไม่เน่าเปื่อยเหมือนมูลฝอยประเภทอื่นๆ เช่นเศษอาหาร เศษกระดาษ เศษไม้หรือโลหะ และมีปรากฏอยู่ในธรรรมชาตินับเป็นสิบๆ ปี ทำให้อาจเป็นปัญหา มลพิษที่สำคัญ หากปริมาณการใช้พลาสติกเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ

ประวัติของพลาสติก

พลาสติกได้ถูกประดิษฐ์ขึ้นมาประมาณร้อยปีมาแล้ว โดยในปี คศ. 1855 นักเคมีชาวอังกฤษชื่อ Alexander Parker ได้เทกรดลงบนฝ้ายแล้วเติมการบูรลงไปทำให้เกิดเป็นสารชนิดหนึ่งคล้ายเขาสัตว์เรียกสารชนิดนี้ว่าพาร์เคซิน (Parkesine)แต่อเล็กซานเดอร์ ปากเกอร์ ก็ไม่ได้นำเอาสารชนิดนี้ไปใช้ให้เป็นประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมเลย

ในปีคศ. 1884 นักเคมีชาวฝรั่งเศล ชื่อ Hilaire Chardonnet ได้ผลิตเรยอง เป็นเส้นใยสังเคราะห์ซึ่งทำจากเซลลูโลสในพืช

ปีคศ. 1909 นักเคมีชาวเบลเยียม ชื่อ Dr. L de Hendrik Baekelund ได้ค้นพบพลาสติกชื่อเบคาไลท์ ใช้ทำอุปกรณ์ไฟฟ้า หูกะทะ และอื่นๆ

ต่อจากนั้นก็มีผู้ค้นพบพลาสติกต่างๆ อีกหลายชนิด มีคุณสมบัติต่างๆ เช่นบางอย่างแข็ง บางอย่างอ่อน บางอย่างทนความร้อนได้ดี บางอย่างใสคล้ายแก้ว บางอย่างทนต่อกรด ด่าง และสารเคมีบางอย่างได้ บางอย่างเป็นฉนวนไฟฟ้าและอื่นๆ

ประเภทของพลาสติก

พลาสสติกมีหลายชนิดแต่ละชนิดมีคุณสมบัติ แตกต่างกันไป จึงถูกนำไปทำผลิตภัณฑ์แตกต่างกันออกไปตามคุณสมบัติของพลาสติกนั้นๆ พลาสติกชนิดเม็ด ผง หรือเหลวในในการอุตสาหกรรมหลายชนิด ส่วนพลาสติกชนิดเหลวมักจะนำไปใช้ในงานหัตถกรรมในครัวเรือน พลาสติกแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ๆ 2 ประเภทคือ

1 พลาสติกประเภทคืนรูป (Thermoplastic)

2 พลาสติกประเภทคงรูป (Thermosetting)

พลาสติกประเภทคืนรูป เรียกว่า เทอร์โมพลาสติก เป็นพลาสติกที่ใช้กันแพร่หลายที่สุด มีคุณสมบัติพิเศษคือ เมื่อได้รับความร้อนถึงจุดหนึ่งก็จะหลอมเหลว แต่ความร้อนที่ทำให้เกิดการหลอมเหลวนั้นก็ไม่เท่ากันแล้วแต่ชนิดของพลาสติกในประเภทนี้ เช่น ชนิดที่เรียกว่า พอลิเอทิลีน (polyethylene)จะหลอมเหลวเร็วกว่าชนิดที่เรียกว่าโพลิโพรพิลีน (polypropylene) ทั้งนี้เพราะโครงสร้างทางเคมีของพลาสติกทั้งสองชนิดแตกต่างกัน

พลาสติกประเภทนี้สามารถหลอมใหม่ได้ จึงมีโอกาสที่จะถูกนำมาใช้อีก และแต่ละชนิดของวัตถุดิบก็สามารถนำไปผลิตผลิตภัณฑ์พลาสติกต่างชนิดกันออกไป เช่น

ก) Polyethylene (PE) มีทั้งชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDPE)และชนิดความหนาแน่นสูง (HDPE)มีสมบัติที่ไอน้ำซึมผ่านได้เล็กน้อย ก๊าซต่างๆ ซึมผ่านได้ เม็ดพอลิเอทิลีน ความหนาแน่นสูงและความหนาแน่นต่ำนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์พลาสติกจำพวกถุงพลาสติกร้อน ถุงพลาสติกเย็น แผ่นพลาสติกบาง ท่อน้ำชนิดอ่อน หลอด เครื่องใช้ในครัวเรือน เช่น เชือก ตะกร้า อ่าง กะละมัง ท่อน้ำ และอื่นๆ

ข) Polyvinylchloride (PVC) มีสมบัติเฉพาะแข็งตัว ไม่สามารถนำมาขึ้นรูปได้โดยตรงจำเป็นต้องเติมสารปรุงแต่ง และสารเสริมสภาพพลาสติกเพื่อปรับสมบัติให้มีความยืดหยุ่น มีสมบัติต่อไขมันได้ดี อาจนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์พลาสติกประเภทขวดบรรจุน้ำมัน และไขมันปรุงอาหาร ขวดบรรจุเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ เบียร์ เสื้อกันฝน ม่าน สายฉีดน้ำ หนังเทียม ท่อน้ำ กระเบื้องปูพื้น รองเท้า สายไฟฟ้า แผ่นพลาสติกใสและเครื่องใช้ต่างๆ อีกมาก

ค) Polypropylene (PP) มีสมบัติคล้ายคลึงกับพอลิเอทิลีน แต่มีความต้านทานต่ออาหารที่มีน้ำและไขมันเป็นส่วนผสมได้ดีกว่า ไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสใดๆ ไอน้ำและออกซิเจนซึมผ่านได้ต่ำ นำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์เช่นเดียวกับพอลิเอทิลีน แต่ความทนทานสูงกว่า โดยเฉพาะต่อการเพิ่มอุณหภูมิ เช่น ผลิตแผ่นฟิล์ม เทป ตลอดจนเครื่องใช้ในครัวเรือน

ง) Polystylene (PS) มีสมบัติเปราะมาก มีลักษณะโปร่งใส สามารถทนกรดด่างและสารไฮโดรคาร์บอนได้ กันการซึมของก๊าซได้ดี แต่กันไขมันได้ไม่ดี อาจนำมาปรับสมบัติโดยการทนทานต่อแรงกระแทก แต่จะทำให้เสียสมบัติความโปร่งใส นำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตถ้วยน้ำ จาน ชาม เครื่องเล่นเด็ก ฉนวนไฟฟ้า โทรศัพท์ โฟมแข็ง ตลอดจนอุปกรณ์ในเครื่องไฟฟ้าชนิดต่างๆทั้งตู้เย็น วิทยุ โทรทัศน์ เป็นต้น

พลาสติกประเภทคงรูป เรียกว่า thremosetting เป็นพลาสติกที่มีสมบัติพิเศษคือทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและทนต่อปฏิกิริยาเคมีได้ดี เกิดคราบและรอยเปื้อนได้ยากพลาสติก

แบบนี้เมื่อนำมาขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ใดก็อยู่อย่างถาวร ไม่สามารถนำมาหลอมใหม่ได้ ได้แก่ พลาสติกพวกที่ทำเป็นจานเชี่ยบุหรี่ ชุดถ้วยชาม จานพลาสติกชนิดพิเศษ เรียกว่า เมลามีน (melamine) ซึ่งมีสมบัติทนทานต่อการแตกแยกและความร้อนได้ดีมาก เวลาถูกประกายไฟจะไม่ลุกไหม้ ที่พบเห็นกันอยู่ทั่วไปเป็นผลิตภัณฑ์ภาชนะที่ใช้ในครัวเรือน เช่น จาน ชาม ถาด ถ้วย ช้อน เป็นต้น

เมื่อพูดถึงมลพิษจากพลาสติกทำให้เกิดความคิดว่าเป็นภัยมหันต์ต่อมนุษย์ ทำให้โลกเราหมดความสวยงาม ไม่น่าอยู่ ถ้าไม่รับการแก้ไขพลาสติกจะท่วมโลก การเตรียมให้พร้อมที่จะแก้ไขปัญหามลพิษจากพลาสติกที่มีแนวโน้มจะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ต่อไปในอนาคต จึงเป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญกับสภาพการณ์ในยุคปัจจุบันเนื่องจากปริมาณการใช้พลาสติกเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในการบรรจุหีบห่อ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของปัญหาขยะมูลฝอยในสิ่งแวดล้อมต่อไปอาจจะมีมูลฝอยจากพลาสติกหรือพลาสติกทิ้งแล้วที่เป็นเทอร์โมเซตติ้งพลาสติกหรือพลาสติกเสริมแรงเพิ่มมากขึ้น เพราะพลาสติกประเภทนี้เป็นพลาสติกที่สลายตัวยากกว่าเทอร์โมพลาสติกใช้บรรจุภัณฑ์กำลังเป็นที่นิยมใช้กันมากขึ้นในปัจจุบัน

แนวทางแก้ไขปัญหามลพิษจากพลาสติก

ปัญหามลพิษจากพลาสติกที่ต้องแก้ไขได้แก่

1 การกำจัดมูลฝอยจากพลาสติกในสิ่งแวดล้อม

2 การกำจัดพลาสติกให้หมดไป

การแก้ไขปัญหาทำได้โดย 2 แนวทางคือ

1 โดยการนำกลับมาใช้ประโยชน์อีก

2 โดยการทำลายหรือทำให้หายไป

การนำเศษมูลฝอยจากพลาสติกกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่

การกำจัดมูลฝอยจากพลาสสติก โดยพยายามนำกลับมาใช้ประโยชน์อีก เป็นแนวความคิดที่น่าสนใจและน่าทำให้ได้อย่างยิ่ง เพราะเป็นการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติวิธีหนึ่งและไม่เป็นการสูญเปล่าเหมือนการทำลายพลาสติกให้หมดไป

การใช้ประโยชน์จากมูลฝอยจากพลาสติกสามารถทำได้หลายวิธี ให้คุณค่าและความน่าพอใจต่างกัน ได้แก่

1 เผามูลฝอยรวมทั้งมูลฝอยจากพลาสติก เพื่อเอาพลังงานมาใช้

2 แยกพลาสติกออกจากมูลฝอยอื่นๆ เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่

3 ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารเคมี

แต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันดังนี้

1 การนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิง

พลาสติกให้ค่าความร้อนในการเผาไหม้สูง ฉะนั้นน่าจะนำมูลฝอยจากพลาสติกมาเผาเพื่อนำความร้อนที่ได้ไปใช้ประโยชน์ เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับผลิตไอน้ำนำไปใช้ขับเครื่องจักรในโรงงาน การใช้มูลฝอยจากพลาสติกแบบนี้ไม่จำเป็นต้องแยกมูลฝอยจากพลาสติกออกจากมูลฝอยอื่น คือ เผารวมกันทั้งหมด

ข้อเสียของวิธีนี้คือ โรงงานเผาขยะมูลฝอยจะต้องตั้งอยู่ใกล้บริเวณที่จะใช้งานไม่ว่าจะเป็นโรงงานหรือสถานที่ทำงาน เพราะไม่สามารถเก็บรักษาไอน้ำ รวมทั้งทำการขนส่งต่อเพื่อใช้ประโยชน์ได้

ข้อเสนอแนะที่น่าสนใจเกี่ยวกับการเก็บพลังงานที่ได้จากการเผามูลฝอย คือ ทำให้มูลฝอยเผาไหม้ไม่หมดเหลือเป็นน้ำมัน ตัวทำละลาย แล้วค่อยนำไปใช้ประโยชน์คือเก็บพลังงานโดยเปลี่ยนมูลฝอยเป็นสารอื่นที่เก็บได้ ขนถ่ายได้

2 การนำมาใช้แทนวัตถุดิบพลาสติก

การนำเศษมูลฝอยจากพลาสติกกลับมาใช้เพื่อใหม่เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ในขั้นแรกจะแยกเฉพาะมูลฝอยจากพลาสติกออกจากมูลฝอยอื่นก่อน ได้พลาสติกหลายชนิดปนอยู่ด้วยกัน ถ้าจะให้ดีขึ้นควรจะแยกพลาสติกออกตามชนิด เช่น พอลิเอททิลีน หรือ พีวีซี เพื่อให้การนำกลับมาใช้ใหม่สะดวกยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามวิธีแยกพลาสติกตามประเภท แม้จะสามารถทำได้หลายวิธี แต่ยุ่งยากและจะต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นมาจนไม่คุ้มทุน ฉะนั้นสำหรับการนำพลาสติกใช้แล้วกลับมาใช้ประโยชน์ในรูปของพลาสติกเช่นเดิมนี้ เชื่อว่าจำเป็นที่จะต้องใช้ในรูปของพลาสติกผสมมากกว่า เพราะเป็นการตัดขั้นตอนการแยกประเภทของพลาสติกออกไปได้ แนวทางนี้กำลังได้รับการพัฒนาอยู่เรื่อยๆ ปัญหาของพลาสติกที่ตามมาคือ พลาสติกต่างชนิดกัน มักจะผสมเข้าด้วยกันไม่ได้ แต่จะแยกตัวออกจากกันเป็นส่วนเล็กอยู่ภายในเนื้อ ทำให้มีปัญหาเรื่องการเกาะติดระหว่างพลาสติกต่างชนิดกัน ผลก็คือพลาสติกผสมมักจะมีคุณภาพต่ำกว่าพลาสติกแต่ละตัวที่ผสมกันทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีดังเดิม

อย่างไรก็ตามการนำพลาสติกที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ดังกล่าว ก็มีข้อจำกัดเพราะถึงจะทำได้โดยไม่มีปัญหาทางด้านเทคนิค แต่ก็อาจไม่ทัดเทียมกับพลาสติกใหม่ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการยอมรับจากผู้ใช้ จึงทำให้การนำไปใช้ประโยชน์คงต้องมีขีดจำกัด เช่น ใช้แทนไม้หรือเซรามิกส์ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีผู้พัฒนาแล้วจากมูลฝอยจากพลาสติกได้แก่ เสา แผ่นกระดาน ใช้แทนผนังไม้ในการก่อสร้าง

3 ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารเคมี

ถ้าเผาพลาสติกในบรรยากาศที่ไม่มีออกซิเจน (Pyrolysis) พลาสติกจะสลายตัวให้สารโมเลกุลเล็กลง โดยทั่วไปโมเลกุลของพอลิเมอร์จะแตกตัวโดยความร้อนและให้สารเคมี ออกมาต่างกัน

ข้อเสียของการใช้มูลฝอยจากพลาสติกผลิตสารเคมี คือ

-ต้องให้ความร้อนในการเผาพลาสติกตลอดเวลา เพราะปฏิกิริยาการแตกตัวเป็นแบบ Endothermic ฉะนั้นต้องใช้พลังงานสูง

-ต้องแยกมูลฝอยจากพลาสติกออกจากมูลฝอยอื่นก่อนเผาโดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าต้องการผลิตมอนอเมอร์ต้องแยกพลาสติกแต่ละชนิดออกจากกัน ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงจนไม่คุ้มทุน

-การเผาพลาสติกที่ไม่ใช่การผลิตมอนอเมอร์ แม้ว่าจะไม่ต้องแยกพลาสติกออกตามชนิดหรือแม้จะไม่ต้องแยกพลาสติกออกจากมูลฝอยอื่น คือเผารวมกับมูลฝอยอื่นทั้งหมด แต่สารเคมีที่ได้มีมากมายหลายชนิด ชนิดละเล็กละน้อย ทำให้เป็นปัญหาต่อการแยกออก เพื่อเอามาใช้ประโยชน์และแม้จะทำได้ก็ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงมาก

จากที่กล่าวมาทั้งหมดในเรื่องของการนำมูลฝอยจากพลาสติกกลับมาใช้ประโยชน์อีก จะเห็นว่าแม้ว่าผลที่ได้จะเป็นประโยชน์และน่าสนใจเพียงใด แต่ก็มีข้อจำกัดที่สำคัญคือ เรื่องค่าใช้จ่ายในการเก็บรวบรวมมูลฝอยที่กระจัดกระจายกันอยู่ตามที่ต่างๆ แล้วขนส่งไปยังจุดที่จะแยกพลาสติกออกจากมูลฝอยอื่น การแยกพลาสติกไม่ว่าจะเป็นจากพลาสติกด้วยกันเองหรือจากมูลฝอยอื่นล้วนไม่ใช่เรื่องง่ายและต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นทั้งสิ้น นอกจากนี้ยังอาจมีปัญหาเรื่องปริมาณมูลฝอยจากพลาสติกว่าจะมีมากพอที่จะจัดหาเข้าโรงงานแยกหรือโรงงานผลิตต่างๆ ที่กล่าวมาได้อย่างต่อเนื่องหรือไม่

การกำจัดพลาสติกโดยการทำลายหรือทำให้หายไป

การทำลายพลาสติกหรือทำให้หายไปทำได้ 3 วิธี คือ

1 การนำไปถมที่ว่างเปล่า

วิธีนี้ไม่ใช่เป็นการนำเฉพาะมูลฝอยจากพลาสติกไปถมที่ว่างเปล่า แต่เป็นการใช้มูลฝอยทั้งหมดถมที่ วิธีนี้เป็นวิธีกำจัดมูลฝอยที่ใช้กันอยู่แล้วเป็นส่วนมาก ประมาณร้อยละ 80 เพราะเสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด และถ้าหากทำอย่างถูกสุขลักษณะ คือใช้แผ่นพลาสติกปูรองพื้นที่ที่จะถมเสียก่อนเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาเป็นพิษต่อแหล่งน้ำใต้ดิน แล้วใช้แผ่นพลาสติกคลุมและใช้ดินทับอีกชั้นหนึ่งก็น่าจะเป็นวิธีกำจัดมูลฝอยจากพลาสติกที่ดีได้ เพราะค่าใช้จ่ายถูกมาก และไม่มีปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อมต่อไปอีก แต่ถ้าทำอย่างไม่ถูกวิธี คือ นำมูลฝอยไปถมทิ้งไว้เฉยๆ ก็อาจจะก่อให้เกิดปัญหาการกระจัดกระจายของมูลฝอยโดยการคุ้ยเขี่ยของสัตว์ หรือโดยการพัดของลม และเป็นปัญหามลพิษต่อแหล่งน้ำได้

2 นำไปเผาทิ้ง

วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วในการกำจัดมูลฝอยจากพลาสติกและมีการใช้อยู่แล้วอย่างกว้างขวางเป็นวิธีการที่สามารถใช้ได้ดีและไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษตามมา หากทำอย่างถูกต้องคือใช้เตาเผาที่ได้รับการออกแบบอย่างถูกต้อง ให้ปริมาณความร้อนและออกซิเจนเพียงพอ เนื่องจากพลาสติกที่เกิดจากการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์จะเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ หรืออาจมีก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ปนออกมาด้วย แต่ถ้าพลาสติกเกิดการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์จะเกิดเขม่า อาจมีกรดอินทรีย์และสารพวกอัลดีไฮด์เกิดขึ้นด้วย ทำให้เกิดปัญหามลพิษต่อไป

3 ทำให้พลาสติกสลายตัวได้เอง

พลาสติกที่สลายตัวได้เอง หมายถึง การทำให้พลาสติกสลายตัวได้เองในธรรมชาติเหมือนมูลฝอยประเภทอื่นในสภาวะแวดล้อมตามธรรมชาติ สิ่งที่ทำให้พลาสติกสลายตัวได้ คือ แสง น้ำ และจุลินทรีย์

การย่อยสลาย (degradation) พอลิเมอร์ อาจเกิดขึ้นได้โดยใช้จุลินทรีย์ แสงสว่าง ความร้อน ออกซิเจน น้ำ รังสี สารเคมี หรือการใช้สิ่งเหล่านี้ร่วมกัน คำว่า "ย่อยสลายได้" นี้ปกติมักใช้ในกรณีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการ แต่กรณีนี้ เราต้องการให้พลาสติกมีคุณสมบัติดังกล่าวนี้ด้วยเหตุผล 4 ประการคือ

ประการที่หนึ่ง เป็นการกำจัดสิ่งรกตาหรือเป็นอันตรายให้ออกไปจากแหล่งใดแหล่งหนึ่ง เหตุผลนี้ดูเหมือนจะเป็นวัตถุประสงค์ที่สำคัญที่สุดในการที่จะใช้พลาสติกที่ย่อยสลายได้และเป้าหมายที่สำคัญในการกำจัดก็คือ เศษพลาสติกที่ใช้ห่อของ แต่การที่จะใช้พลาสติกที่ย่อยสลายได้ในการห่อของนั้น เราพยายามหลีกเลี่ยงความจริง 2 ข้อด้วยกัน ข้อแรก คือ การย่อยสลายที่เกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมนั้นไม่ได้เกิดขึ้นอย่างทันทีทันใด ตัวอย่างเช่น เหล็กกล้าจะเกิดสนิมได้ และกระดาษถูกสิ่งมีชีวิตย่อยสลายได้ แต่กระป๋องเปล่าที่เกิดสนิมก็ยังเป็นอันตรายและเศษกระดาษก็ยัง

ก่อความรำคาญได้ ข้อที่สอง เนื่องจากทุกสิ่งทุกอย่างจะต้องมีที่ไป ฉะนั้นสิ่งที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายทั้งหมดที่เกิดขึ้นนั้น สภาพแวดล้อมจะรับได้และไม่มีอันตรายอย่างแน่นอนเราก็พอจะกล่าวได้ว่า การใช้พลาสติกที่ย่อยสลายได้ในการห่อและใส่ของเป็นสิ่งที่ให้ประโยชน์จริง

ประการที่สอง สามารถเปลี่ยนสารที่เป็นอันตรายหรือมีพิษไปเป็นสารที่เป็นอันตรายน้อยลง

การที่สารอันตรายและแพร่กระจายไปในสิ่งแวดล้อมได้ง่ายสามารถถูกย่อยสลายได้นี้จะเป็นประโยชน์อย่างมาก เช่น กรณีของผงซักฟอกและยาฆ่าศัตรูพืช แต่พลาสติกโดยทั่วไปมักจะไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยาและไม่อันตรายเมื่อเทียบกับสารอื่น นอกจากนี้โมเลกุลของพอลิเมอร์จะเปลี่ยนตำแหน่งไปอยู่ยังที่อื่นได้ไม่ง่ายนัก

ถ้าเราทำให้พอลิเมอร์ถูกย่อยสลายโดยสภาพแวดล้อม เราจะต้องคำนึงว่าสิ่งที่เกิดจากการย่อยสลายที่ถูกปล่อยออกสู่อากาศลงไปในน้ำหรืออยู่บนพื้นดินจะก่อให้เกิดผลตามมาอย่างไร สำหรับกรณีของพอลิเอทิลีนนั้น สิ่งที่เกิดจากการย่อยสลายแล้วเข้าใจว่าจะเป็นที่ยอมรับของสภาพแวดล้อมได้กล่าวคือ จะไม่ก่อให้เกิดปัญหาที่สำคัญตามมา แต่ตัวอย่างนี้ไม่ได้หมายความว่า พอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ชนิดอื่นๆ จะไม่เป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อมทุกชนิดไป นอกจากนี้ การย่อยสลายพอลิเมอร์จะทำให้สารที่เติมเข้าไปในพอลิเมอร์ เช่น สเตบิไลเซอร์(stabilizers) และสารหล่อลื่น เป็นต้น ออกมาสู่สภาพแวดล้อม และสารเหล่านี้อาจถูกทำลายได้ยากกว่าพอลิเมอร์เอง เมื่อสารที่เติมเข้าไปดังกล่าวอยู่ภายในพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายไม่ได้ หรือย่อยสลายได้ยาก พอลิเมอร์จะเป็นตัวป้องกันไม่ให้สารเหล่านี้ออกสู่สภาพแวดล้อม

ความจริงอีกประการหนึ่ง คือ เราต้องไม่สรุปเอาเองว่า กระบวนการทางเคมีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ (แม้แต่ที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตก็ตาม) จะทำให้ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีพิษน้อยลงกว่าสารตั้งต้น เพราะได้มีการพบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติมีพิษมากกว่าสารตั้งต้นก็มี

ประการที่สาม เป็นการนำแร่ธาตุต่างๆ กลับมาใช้หมุนเวียนได้เรื่อยๆ หลักการนี้เป็นหลักการขั้นพื้นฐานของนิเวศวิทยาเมื่อพืชและสัตว์ตายลง ก็จะเกิดเสื่อมสลายให้แร่ธาตุที่จำเป็นแก่สิ่งมีชีวิตอื่นต่อไป แต่เราก็จะต้องไม่ยึดหลักนี้เสมอไปโดยไม่คำนึงถึงอะไรเลย ความจริงมีอยู่ว่า ช่วงเวลาของวัฏจักรธรรมชาติใช้เวลาถึง 300-400 ปี ออกซิเจนจากบรรยากาศเมื่อเปลี่ยนไปอยู่ในรูปอื่นจะกลับมาเป็นออกซิเจนในบรรยากาศอีก อาจต้องใช้เวลาถึง 10,000 ปี พอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้เท่าที่มีอยู่ในปัจจุบันนี้ก็อาจมีช่วงเวลาที่เทียบได้กับตัวอย่างข้างต้น นอกจากนี้ เราต้องไม่ลืมว่า วิธีการที่รวดเร็วมากและได้ผลดีกว่าในการให้อะตอมของธาตุต่างๆ ที่อยู่ในพลาสติกกลับคืนสู่วัฏจักรธรรมชาติได้คือการเผา สารผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ของการเผาพลาสติกก็คือ คาร์บอนไดออกไซด์ แสง น้ำ ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นที่พืชสีเขียวใช้ในการสร้างคาร์โบไฮเดรต

ประการที่สี่ เป็นการให้คาร์บอนและพลังงานแก่การเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตเหตุผลทางนิเวศวิทยา ข้อนี้คล้ายคลึงกับเรื่องที่เพิ่งกล่าวมาข้างต้น การย่อยสลายทางชีวเคมี (คือการย่อยนั่นเอง) ของพอลิเมอร์ธรรมชาติที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ (เช่น โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต) เป็นสิ่งจำเป็นต่อชีวิตสัตว์ แต่อย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตที่จะได้รับประโยชน์โดยตรงต่อการที่สิ่งมีชีวิตย่อยสลายพลาสติกที่ถูกทิ้งขว้างก็คือ จุลินทรีย์ต่างๆ เช่น บักเตรีและเชื้อรา นักวิทยาศาสตร์บางคนก็มีความเชื่อว่าการที่สภาพแวดล้อมได้รับพลาสติกที่ย่อยสลายได้นี้ อาจเป็นต้นเหตุที่ทำให้เกิดจุลินทรีย์ที่ก่อโทษได้ บางคนมีความเห็นว่า ถึงแม้ว่าผลร้ายดังกล่าวอาจไม่เกิดขึ้นก็ตามแต่เมื่อได้ลองคาดการดูแล้วผลดีที่จะเกิดต่อสภาพแวดล้อมไม่น่าจะมีเกินกว่าปัญหาที่เกิดขึ้นต่อสภาพแวดล้อม

การสังเคราะห์พลาสติกที่ย่อยสลายได้

การพัฒนาการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้โดยสภาพแวดล้อมนั้นเท่าที่ผ่านมาจะมีจุดมุ่งหมายประการใดประการหนึ่งในบรรดาจุดมุ่งหมายทั้ง 5 ประการ ดังนี้

1 มีโครงสร้างของโมเลกุลที่สามารถเกิดการย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์

2 เพิ่มสารที่เกิดการย่อยสลายได้เข้าไปในพลาสติกธรรมดาที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ เพื่อทำให้พลาสติกถูกเปลี่ยนเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยได้ทางอ้อม

3 เป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำหรือถูกย่อยสลายได้ด้วยน้ำ

4 มีโครงสร้างของโมเลกุลที่สามารถเกิดการย่อยสลายได้ด้วยแสงอาทิตย์

5 เพิ่มสารที่เกิดปฏิกิริยาโฟโตเคมีได้ เข้าไปในพลาสติกเพื่อทำให้พลาสติกธรรมดาถูกย่อยสลายโดยแสงอาทิตย์ได้ง่าย

1 พลาสติกที่สลายตัวได้โดยแสง (Photodegradable Plastic)

วิธีการทำลายพลาสติกที่ให้ผลน่าพอใจที่สุดและเป็นประโยชน์มากที่สุดในบรรดาวิธีที่เกิดเองตามธรรมชาติ คือการทำลายโดยอาศัยปฏิกิริยาที่มีแสงแดดเป็นตัวกระตุ้น หลักการของวิธีนี้คือ พลาสติกบางชนิดเกิดปฏิกิริยาและถูกทำลายได้โดยรังสีอัลตราไวโอเลตที่มีอยู่ในแสงแดด โดยเฉพาะอย่างยิ่งรังสีอัลตราไวโอเลตมีความยาวคลื่นต่ำกว่า 300 เมื่อโมเลกุลของพลาสติกรับพลังงานจากรังสีอัลตราไวโอเลตเข้าไป จะทำให้พันธะทางเคมีระหว่างคาร์บอนและไฮโดรเจนถูกทำลายลง เกิดเป็นหน่วยทางเคมีที่มีอิเลคตรอนว่างพร้อมจะทำปฏิกิริยาเคมีกับสารอื่นๆ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเป็นการเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่ ผลลัพธ์คือ โมเลกุลของพลาสติก

จะเปราะแตกย่อยเป็นมวลเล็กๆ ได้ง่ายโดยแรงธรรมชาติเช่น แรงจากลม ในที่สุดก็จะกลายเป็นส่วนของดินไป หรืออาจถูกย่อยโดยบักเตรีหรือเชื้อราต่อไป

วิธีหลักที่ทำให้พลาสติกสลายตัวได้เองด้วยแสง มี 4 วิธี คือ

1 ใส่สารช่วยกระตุ้นการสลายตัว (photoactivator)

วิธีการนี้ทำโดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ เช่น เหล็ก หรือทองแดง ใส่ลงในพลาสติกทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชัน (antioxidation) ได้เป็นสารเชิงซ้อนอีกชนิดหนึ่ง เมื่อสารเหล่านี้ถูกกระตุ้นด้วยแสง ทำให้แตกตัวได้ไอออนโลหะเป็นตัวเริ่มในการสลายตัวต่อไป

2 คีโตน คาร์บอนิล (keto carbonyl system)

บริษัท Ecoplastic Ltd. มีชื่อทางการค้าว่า "Ecolyte" ได้ทำโดยใช้มอนอเมอร์ที่มีหมู่คีโตน ทำพอลิเมอร์ร่วม (colymer) กับมอนอเมอร์ของเอทิลีน สไตรีน เป็นต้น เมื่อถูกแสงแดดหมู่คีโตนในสายของพอลิเมอร์จะรับพลังงานจากแสงอาทิตย์ทำให้สายของพอลิเมอร์ขาดลง

3 พอลิเมอร์ร่วมระหว่างเอทิลีนและคาร์บอนไดออกไซด์ (ethylene carbon monoxide (E/CO)

Du Pont Dow Chemical and Union Carbide ได้ผลิตพลาสติกที่เตรียมจากการทำพอลิเมอร์ร่วมระหว่างเอทิลีนและคาร์บอนมอนอกไซด์ อัตราการสลายตัวด้วยแสงของ E/CO โคพอลิเมอร์ ขึ้นอยู่กับหลายตัวแปร เช่น ลักษณะที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ ฤดูกาล ลักษณะภูมิอากาศ มุมของพลาสติกที่หันเหเข้าแสง

4 มาสเตอร์แบทช์ (Masterbatch)

Ampacet Ltd. ได้เตรียม มาสเตอร์แบทช์ของสารประกอบ ferric benzophenone และส่วนผสมของ benzophenone กับ titanium ผสมลงในพลาสติก โดยสารเหล่านี้เป็นตัวกระตุ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาการสลายตัว การสลายตัวจะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของสารในเนื้อพลาสติกว่าดีแค่ไหน

2 พลาสติกละลายน้ำ (Water - Soluble Plastic)

วิธีการทำลายพลาสติกวิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่าพลาสติกบางชนิดสามารถละลายน้ำได้ ฉะนั้นวัสดุพลาสติกที่ทิ้งแล้วและเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อไปอยู่ในที่ที่มีความชื้นสูงหรือในที่ที่มีน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีอยู่ตามธรรมชาติจะละลายน้ำสลายตัวเป็นสารละลายและผสมกลมกลืนไปกับพื้นโลกในที่สุดทำให้ปัญหาที่ก่อให้เกิดกับสิ่งแวดล้อมหมดไป อย่างไรก็ตามแม้ว่าการทำลายพลาสติกโดยวิธีนี้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ สะดวกโดยไม่ต้องไปควบคุมก็ตาม พลาสติกที่ละลายน้ำได้ เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พอลิเอทิลีนออกไซด์ ไฮดรอกซีโพรพิล เซลลูโลส เป็นต้น

ความสามารถในการละลายของพลาสติกขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและสิ่งอื่นอีกหลายอย่างโดยปกติความสามารถในการละลายของพลาสติก เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น พอลิไวนิล แอลกอฮอล์ ก็มีคุณสมบัติดังกล่าวนี้ แต่พลาสติกบางชนิดก็มีคุณสมบัติตรงกันข้าม เช่น ไฮดรอกซีโพรพิล เซลลูโลส ไม่ละลายน้ำเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส ส่วน พอลิเอทิลีน ออกไซด์ ออกไซด์ จะละลายน้ำเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 65 องศาเซลเซียส

3 พลาสติกที่สลายตัวโดยทางชีวภาพ (Biodegradable Plastic)

จากจุดมุ่งหมายของการผลิตทางมอนอเมอร์ จะเห็นได้ว่า สิ่งที่จะย่อยสลายพอลิเมอร์นั้นอาจเป็นสิ่งที่มีชีวิตหรือแสงแดดหรือสิ่งอื่น เช่น น้ำ เป็นต้น

พอลิเมอร์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เช่น เซลลูโลส แป้ง และโปรตีนเป็นพอลิเมอร์ที่สิ่งมีชีวิตย่อยสลายได้ แต่พอลิเมอร์สังเคราะห์ส่วนใหญ่ จะไม่ถูกย่อยสลาย เหตุที่สิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายพอลิเมอร์สังเคราะห์ได้อาจเป็นเพราะว่าสารสังเคราะห์เหล่านี้เพิ่งเกิดมาเมื่อไม่นานนี้เอง ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ยังไม่นานพอที่สิ่งมีชีวิตจะเกิดวิวัฒนาการ เพื่อให้มีความสามารถในการย่อยสลายได้

ในการเพิ่มความสามารถของการถูกย่อยสลายให้มากขึ้นนั้น วิธีที่ตรงไปตรงมาที่สุดก็คือ การใช้ธรรมชาติที่สิ่งมีชีวิตย่อยสลายได้ เช่น ใช้เซลโลเฟนแทนพอลิเอทิลีน (Polyethylene) ในการห่อของแต่เนื่องจากเซลโลเฟนขาดคุณสมบัติบางประการที่พอลิเมอร์มี เช่น สมบัติในการกันและเก็บความชื้นได้ดี และความสามารถในการเชื่อมให้ติดเข้ากันได้โดยใช้ความร้อน

การใช้วัสดุธรรมชาติแทนวัสดุสังเคราะห์ โดยตรงมักจะนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้น้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารธรรมชาติมีคุณสมบัติที่จำเป็นไม่ครบถ้วนตามที่ผู้ใช้ต้องการ การแสวงหาวัสดุสังเคราะห์ที่มีสมบัติทั้งย่อยสลายได้เองและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกรณีต่างๆ ที่ต้องการได้นั้น อาจทำให้โดยการเปลี่ยนพอลิเมอร์ธรรมชาติให้มีคุณสมบัติที่ต้องการ หรือผลิตพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติย่อยสลายได้

สิ่งมีชีวิตที่สำคัญที่ทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายนี้ได้แก่ จุลินทรีย์ โดยเฉพาะ บักเตรี และเชื้อราสิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีความสามารถในการย่อยสลายสารได้หลายประการและสามารถปรับความสามารถนี้ได้มาก เพราะสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสารได้หลายชนิด ขณะเดียวกันก็เกิดมีจุลินทรีย์ชนิดใหม่ขึ้นมาเรื่อยๆ อันเนื่องมาจากผลของการผ่าเหล่าและกระบวนการคัดเลือกโดยธรรมชาติอัตราการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับสภาวะของสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมากจุลินทรีย์ที่เหมาะสมจะมีปริมาณอยู่เพียงพอ และควรจะต้องมีอยู่มากกว่า 1 ชนิดการที่จุลินทรีย์จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้นสภาพแวดล้อมจะต้องมีอุณหภูมิและระดับความชื้นที่พอเหมาะ

ออกซิเจน (ยกเว้นกรณีที่เป็นบักเตรีไม่ใช้ออกซิเจน) และมีสารอาหารที่เพียงพอ ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์จะสามารถใช้พอลิเมอร์เป็นแหล่งของธาตุคาร์บอน แต่ก็จำเป็นต้องหาธาตุอื่นมาใช้ด้วย เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และอื่นๆ ซึ่งส่วนใหญ่ธาตุเหล่านี้มักจะไม่มีอยู่ในพอลิเมอร์สังเคราะห์ จึงจำเป็นต้องหาจากสภาพแวดล้อม

การย่อยสลายพลาสติกโดยปล่อยเอนไซม์ออกมานอกเซล และเอนไซม์นี้จะผ่านไปถึงพลาสติกได้ทางตัวกลางที่เป็นน้ำ เอนไซม์ดังกล่าวนี้จะต้องย่อยสลายพอลิเมอร์โมเลกุลขนาดเล็กต่อไปอีก จากขั้นตอนของการย่อยสลายข้างต้นนี้จะเห็นว่าพลาสติกส่วนใหญ่จะไม่ค่อยถูกย่อยสลาย เพราะไม่เปียกน้ำ ไม่ยอมให้น้ำผ่านเข้าออกและไม่เป็นรูพรุน จึงทำให้โอกาสที่เอนไซม์จะเข้าไปย่อยสลายเป็นไปได้น้อยลง การย่อยสลายพลาสติกประเภทนี้จึงต้องเริ่มที่ผิวด้านนอกก่อน ดังนั้น การแบ่งพลาสติกออกเป็นชั้นย่อยๆ จึงช่วยให้กระบวนการนี้เกิดได้เร็วขึ้น

พอลิเมอร์สังเคราะห์ส่วนใหญ่จะไม่ถูกย่อยสลายโดยสิ่งมีชีวิต นอกจากพอลิเมอร์ที่มีหมู่เอสเทอร์ในสายโซ่หลักของโมเลกุล เช่น อะลิเฟติก พอลิเอสเทอร์และพอลิยูรีเทนซึ่งได้จากพอลิเอสเทอร์ไดออล(polyesterdiols)สารสังเคราะห์อื่นนอกจากนี้บางชนิดก็ถูกย่อยสลายได้แม้จะเกิดได้ไม่ดีนัก เช่น พอลิไวนิล อะซิเตด (polyvinyl acetate) พอลิเอมาย (polyamide) ฟีนอล ฟอร์มัลดีไฮด์ เรซิน และ เมตามีน ฟอร์มัลดีไฮด์ เรซิน (metamine formaldehyde rasin)พอลิเมอร์ธรรมชาติที่ได้รับการปรับเปลี่ยนแล้ว เช่น เรยอน เซลลูโลส อะซิเตด เซลลูโลสไนเตรท และไฮดรอกซีโพรพิล เซลลูโลส ก็ถูกย่อยสลายได้เช่นกัน

มีผู้สังเกตพบว่าพลาสติกบางชนิดถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ไปย่อยสารที่เติมเข้าไปในพลาสติกนั้น เช่น PVC ที่มีพลาสติกไซเซอร์ นี้เองที่เกิดการย่อยสลาย แต่ PVC เองจะไม่ถูกย่อยสลาย

ความสามารถของการย่อยสลายจะลดลงเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของพลาสติกเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่น พอลิเอทธิลีน (polyethylene) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 500 ลงมาเท่านั้นที่เชื้อจุลินทรีย์จะย่อยสลายได้ ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถของการย่อยสลายกับน้ำหนักโมเลกุล มีสิ่งที่ควรกล่าวถึง 2 ข้อด้วยกัน ข้อแรกคือ ถ้านำพอลิเมอร์มาทำการย่อยสลายโดยปฏิกิริยาทางเคมีจะเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายขึ้น ข้อที่สองคือถ้าพอลิเมอร์มีช่วงของน้ำหนักโมเลกุลกว้าง อัตราเร็วของการย่อยสลายจะลดลง เมื่อโมเลกุลขนาดเล็กถูกสลายไปแล้ว เมื่อโมเลกุลมีสายโซ่เป็นแขนง การย่อยสลายจะไม่เกิดขึ้น เช่น พอลิสเตอรีน (polysterene) และ พอลิโพรพิลีน (polypropylene) จะไม่ถูกสิ่งมีชีวิตย่อยสลาย

สารเคมีหลายชนิดสามารถขัดขวางกระบวนการย่อยสลายไม่ให้เกิดขึ้นได้ หรือทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ยาก เข้าใจว่าสารดังกล่าวไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ของจุลินทรีย์

สารเคมีเหล่านี้อาจเป็นสารที่เกิดเข้าไปในพอลิเมอร์สิ่งเจือปน หรือแม้แต่อินเตอร์ มิเดียท (intermediate) ที่เกิดจากการย่อยสลายของพอลิเมอร์

วิธีการกำจัดขยะพลาสติกโดยทางชีวภาพวิธีหนึ่งก็คือการนำพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์มาผลิตเป็นพลาสติก ทำให้พลาสติกเหล่านี้สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งจะเป็นการลดปัญหาของสิ่งแวดล้อมได้อีกวิธีหนึ่ง ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์เช่น พอลิเมอร์ของไฮดรอกซี บิวทีริก (Poly(hydroxy butyric acid;PHB)) พอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid) พอลิเมอร์ผสมระหว่างเอ็น-อะซิทิล ดี-กลูโคซามีน(N-acetyl glucosamine) และ เอ็น-อะซิทิล ดี-กลูโคซามินูโรมิค แอซิด(N-acetyl D-glucosaminuromic acid) เป็นต้น

พอลิเมอร์ของไฮดรอกซี บิวทีริก แอซิด (Poly(hydroxy butyric acid;PHB))

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถที่จะเก็บสะสมสารบางอย่าง เช่น ไกลโคเจน พอลิอะมิโนแอซิด หรือ พอลิเอสเทอร์ ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานไว้ภายในเซลได้ ในปี คศ. 1920 Lemo Igne ได้พบว่ามีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถสร้างสาร poly (3-hydroxybutyric acid) ซึ่งโครงสร้างของ poly 3- hydroxybutyric acid ได้มีการศึกษากันมาก เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ ในปัจจุบัน PHB มีคุณค่าในทางการตลาด เพราะเป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้เองในทางชีวภาพภายใต้ชื่อว่า ไบโอโพล (biopol) ซึ่งผลิตขึ้นโดย Imperial Chemical Industrial โดยใช้เชื้อ Alcaligenes sp. (E.D. Dawes (ed.),1990)

นอกจากนั้นยังได้พยายามนำเอา PHB มาผลิตร่วมกับพอลิเอสเทอร์ตัวอื่นๆอีกด้วย และ PHB จัดเป็น พอลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoate) ซึ่งเป็นพอลีเอสเทอร์ที่ถูกผลิตขึ้นภายในเซลเนื่องจากคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของพลาสติกที่ย่อยสลายได้เองในทางชีวภาพที่ผลิตโดย PHB นั้นดึงดูดความสนใจในการพัฒนาทางการค้า

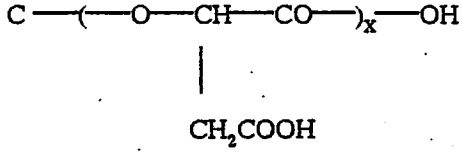
Polyhydroxyalkanoates(PHAs) จัดอยู่ในกลุ่มของ PHB สามารถผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น Alcaligenes, Zoogloea, Pseudomonas, Rhizobium, Bacillus, Agrobacter PHA ถูกสร้างขึ้นประมาณร้อยละ 75-80 ของน้ำหนักแห้งของแบคทีเรีย(E.D.Dawes (ed),1990)

พอลิเมอร์ผสมระหว่าง เอ็น-อะซิทิล ดี-กลูโคซามีน(N-acetyl D-glucosamine) และ เอ็น-อะซิทิล ดี-กลูโคซามินูโรมิค แอซิด (N-acetyl D-glucosaminuromic acid)

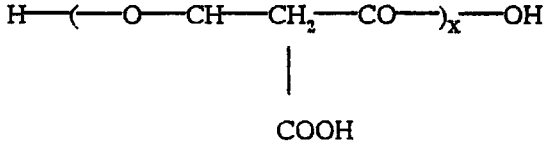
Rhinocladiella mansonii สามารถสร้างพอลิแซคคาไรด์แล้วปล่อยออกนอกเซลโดยสารนี้จะประกอบด้วยเอ็น-อะซิทิล ดี-กลูโคซามีน(N-acetyl D-glucosamine) และ เอ็น-อะซิทิล ดี-กลูโคซามินูโรมิค(N-acetyl D-glucosaminuronic acid) ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 พอลิเมอร์ทางชีวภาพนี้มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรม เพราะสามารถคงตัวอยู่ในอีมัลชั่น(emulsion) ของน้ำมันและน้ำ

โดยการเพิ่มความหนืดของสาร เคยมีการรายงานว่าเชื้อ Rhinocladiella mansonii สามารถผลิตสารพอลิแซคคาไรด์โดยการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 8 ภายในเวลา 10 วัน ส่วนสภาพที่เหมาะสมของการผลิตพอลิแซคคาไรด์ชนิดนี้ในทางอุตสาหกรรมแล้วจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 13 สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต(K_2HPO_4) แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4$) ซิงค์ซัลเฟต($ZnSO_4$) แอล-แอสพาราจีน(L-asparagine) ยูเรีย(Urea) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน(K.A.BURTON และคณะ,1976)

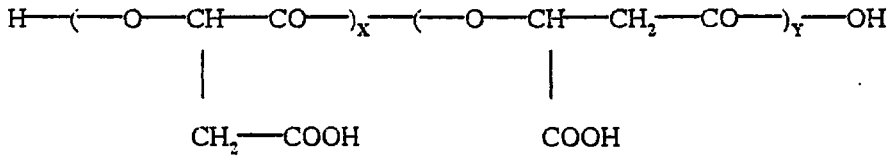
พอลิ มาลิก แอซิด(Poly(malic acid;PMLA)) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถผลิตได้โดยการสังเคราะห์ขึ้นทางเคมีหรือการสังเคราะห์ขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ เช่นAureobasidium pullulans, Penicillium cyclopium, Physarum polycephalum(Naoki NAKATA และคณะ,1993)



แบบที่ 1 ชนิดแอลฟา



แบบที่ 2 ชนิดเบต้า



แบบที่ 3 ชนิดแอลฟา-เบต้า

รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของพอลิ มาลิกแอซิด

การสังเคราะห์พอลิ แอล-มาลิก แอซิด (Poly(L -malic acid)) ทางชีวภาพ

การสังเคราะห์พอลิ แอล-มาลิก แอซิด (Poly(L-malic acid)) ทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์นั้น ในปัจจุบันได้มีรายงานเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิแอล-มาลิก แอซิด(Poly(L-malic acid)) ได้เพียง 3 สายพันธุ์ คือ Physarum polycephalum Penicillium cyclopium Aureobasidium

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

pullulans(E.D.Dawes(ed),1990) เป็นเชื้อที่เป็นต้นเหตุให้อาหารเน่าเสีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในธัญพืช ราชนิดนี้มีโคโลนีเป็นเส้นเล็กๆ โคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) ขรุขระ บางครั้งพบว่าเป็นกิ่งก้านแตกกระจาย โคนิเดีย(conidia) เรียบถึงขรุขระเล็กน้อยและมีสีเขียวแกมน้ำเงิน ราชนิดนี้สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ลิโพไลติกเอนไซม์ (lipolytic enxyme) และโปรติโอไลติก เอนไซม์ (proteolytic enzyme) ได้

Penicillium cyclopium สร้างพอลิ มาลิกแอซิด ขึ้นมาเพื่อเป็นตัวยับยั้ง acid protease ของราที่เจริญบนจมูกข้าวสาลี สารนี้สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ประเภท duolite A-2 และ DEAE cellulose แล้วนำมาตกตะกอน และทำให้แห้งโดยการระเหิด ลักษณะของพอลิมาลิกแอซิด ที่ได้จะมีลักษณะสีขาว มีน้ำหนักโมเลกุล 5000 และจากการวิเคราะห์สารนี้ทางเคมีพบว่าจะไม่มีกรดอะมิโน แปปไทด์ น้ำตาล หรือกรดยูโรนิกอยู่ในโมเลกุล(E.G.D. Murray และคณะ,1958)

Physarum polycephalum

เป็นราเมือกที่มักพบทั่วไปบนวัตถุที่เน่าเปื่อยบนพื้นดิน ราเมือกชนิดนี้จะเจริญได้เร็ว และสามารถเก็บเกี่ยวเซลได้ภายใน 3-5 วัน โดยเทผ่านสำลีบนผ้าไนลอนซึ่งจะกักเซลไว้ ส่วนน้ำใสที่ได้จะถูกใช้ในการเตรียมพอลิ มาลิกแอซิด ในขณะที่ส่วนของเซลจะทำให้แตกและส่วนของโปรตีนจะถูกทำให้เสียสภาพไปโดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วแยกส่วนของโปรตีนออกโดยการหมุนเหวี่ยง ส่วนใสที่ได้หลังจากการหมุนเหวี่ยงจะนำไปผ่านคอลัมน์ตกตะกอนเพื่อให้ได้พอลิ มาลิกแอซิดที่บริสุทธิ์ เหมือนกับในส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อ พอลิ มาลิกแอซิดที่ได้จากการที่เชื้อสร้างออกมาภายนอกตัวเซลนั้นจะมีความบริสุทธิ์สูงกว่าที่สร้างและอยู่ในเซลซึ่งมักจะมีโปรตีนปนบ้างเล็กน้อย และเนื่องจากพอลิ มาลิกแอซิด เป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ค่อยเสถียร ดังนั้นการทำให้บริสุทธิ์จึงควรทำที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4 องศาเซลเซียส และไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 2-3 วัน ซึ่ง David S. Adams และคณะ พบว่าพอลิ มาลิกแอซิดที่สร้างโดยเชื้อนี้สามารยับยั้ง homologous DNA polymerase ได้ (WILLIAM R.JEFFERY,1979)

Aureobasidium pullulans (Pullularia pullulans)

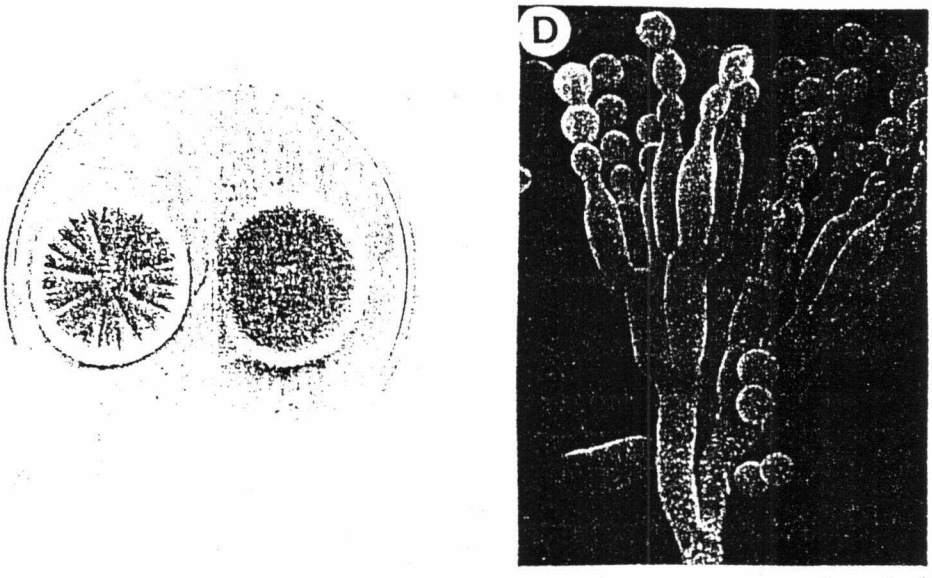
จัดเป็นราดำ (black yeast) เชื้อนี้เจริญได้ดีในช่วง พีเอช 2.4-7.3 อุณหภูมิ14-37 องศาเซลเซียส โดยพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญคือ 5.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 32 องศาเซลเซียส

เมื่อเลี้ยง Aureobasidium pullulansในอาหารเลี้ยงเชื้อ มอลต์ เอกซ์แทรก อาการ์ (Malt extract agar ;MEA)ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อนี้จะมีโคโลนีที่มีสีขาว ลักษณะคล้ายยีสต์ สีของโคโลนีจะมีการเปลี่ยนไปเรื่อยจากสีขาวเป็นสีชมพู และดำในที่สุด เส้นใย(hypha) จะมีการเจริญแบบไรซอยด์(rhizoid) เซลที่มีอายุน้อยจะมีลักษณะรูปไข่ ลักษณะการแพร่พันธุ์จะเป็นแบบแตกหน่อ ขนาดของเซลประมาณ (3.0-3.4)-(5-10) ไมครอน เซลอายุมากจะมีการเจริญแบบราเส้นใยและสร้างบลาสโตสปอร์ (blastospores) และคลามายโดสปอร์(chlamydospores) แต่ไม่เกิดแคลม คอนเนคชั่น (clamp connection) ระหว่างการเจริญของเส้นใย

Aureobasidium sp. สามารถสร้าง 5-hydroxydecenoyl และ 3,5 -dihydroxydecanoyl arabitol และ mannitol lipids ซึ่งเป็น extracelluair heavy oils ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และยังพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสภาพเป็นกรด คือ พีเอช ประมาณ 3 เนื่องจากปริมาตรของ กรดกลูโคนิค(gluconic acid) ที่เชื้อผลิตออกมาในปริมาณมาก

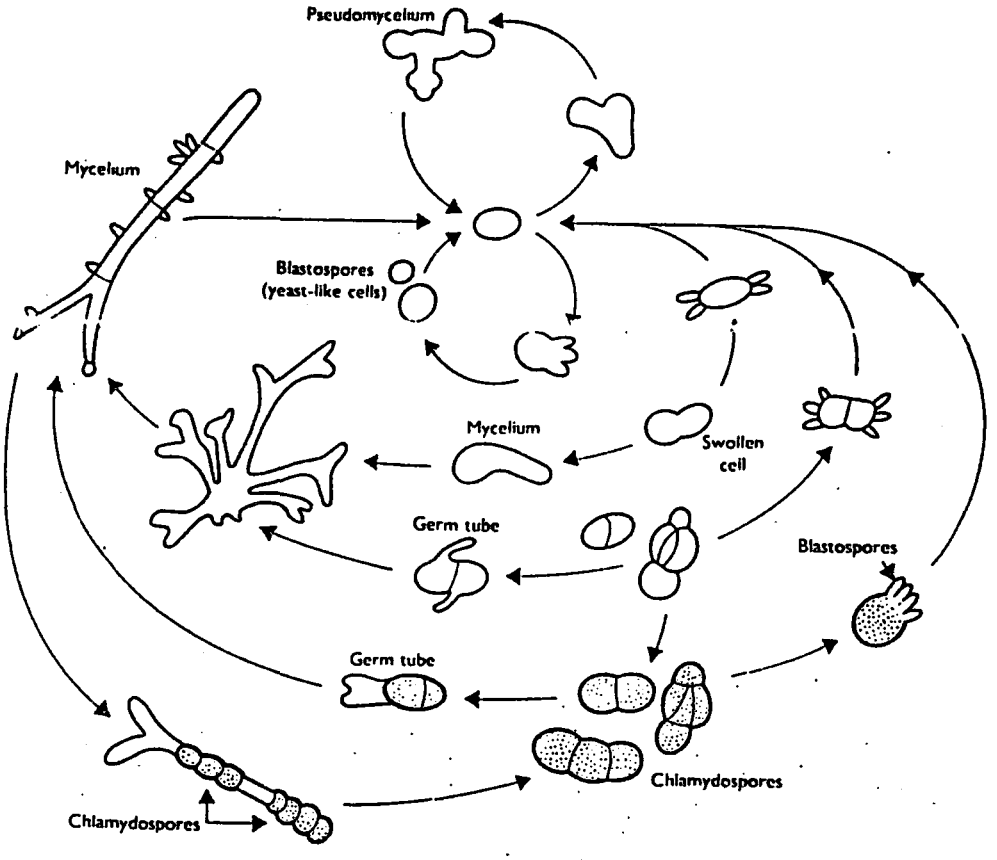
นอกจากนี้ยังใช้ Aureobasidium pullulans ในการผลิตโปรตีนเซลเดียว(single cell protein) เพราะเซลมีขนาดใหญ่ สามารถเจริญได้ดีในเศษฟางข้าวและใช้แร่ธาตุพื้นฐาน เก็บเกี่ยวเซลง่ายและเพิ่มจำนวนได้ง่าย

Aureobasidium pullulans สามารถผลิตพูลลูแลน(pullulans) ซึ่งเป็น β - glucan และเป็นสารพวก poly(β - maltotriose) อยู่ปลายสุดของสายโมเลกุล (B.J.CATLEY,1980)



รูปที่ 2 Penicillium cyclopium

รูปที่ 3 Physarum polycephalum



รูปที่ 4 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อ Aureobasidium pullulans

ลักษณะและประโยชน์ของพอลิ มาลิกแอซิด(Poly (malic acid) พอลิมาลิกแอซิด (Poly(malic acid)) จัดเป็นพอลิเอสเทอร์(polyester) ที่ชอบน้ำ และมีหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ สามารถย่อยสลายและดูดซึมได้ทางชีวภาพ สารละลายร้อยละ 5 ของแคลเซียม-พอลี มาลิกแอ ซิด (Ca-PM) จะไม่มีสีและมี พีเอช6.2

สาร free-PM จะมีลักษณะคล้ายแก้ว และเริ่มอ่อนตัวที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้ใน dimethyl sulfoxide แต่ไม่ละลายในเมทานอล อะซิโตน หรือตัวทำละลาย อินทรีย์อื่นๆ หน้าที่ทางชีวภาพและรายละเอียดในการสังเคราะห์พอลิ มาลิกแอซิด ยังมีไม่มาก นักในปัจจุบัน แต่พบว่าความเข้มข้นของพอลิ มาลิกแอซิด จะสูงในนิวเคลียสของเซล เพราะว่าสาร นี้ใช้ยับยั้งประสิทธภาพของ DNA primase และ DNA polymerase และมันจะรวมกับ tristone และ polyamine ด้วยซึ่งสันนิษฐานว่า PMLAจะเป็นตัวยับยั้งการ replication ของ DNA primase และ DNA polymerase ในขั้นตอนการ replication การเพิ่มปริมาณของ histone และ/หรือ

polyamine แทนที่ เอนไซม์นี้ ระหว่างการเริ่มต้นระยะ s-phaseของวงจรชีวิตของเซลจะทำให้สามารถเกิดการ replication ของ DNA ได้

นอกจากนี้พอลิมาลิกแอซิด(PMLA) ยังทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง acid protease ได้ ดังกล่าวมาแล้วเบื้องต้นและในปัจจุบันใช้ พอลิมาลิก แอซิด(PMLA) ในทางเภสัชกรรมด้วย(Philippe Guerin และคณะ,1985) เช่น 5-Fluorourasil -PM ใช้เป็นสาร macromolecule pro-drugs ต่อต้านมะเร็ง และยังใช้เป็น polymeric drug carrierซึ่งปัจจุบันมีความสนใจเพิ่มขึ้นในการใช้ polymeric drug carrier ในระบบขนส่งยาที่มีการควบคุมเวลาในการขนส่ง เพื่อให้ยาหรือโมเลกุลยาไปยังบริเวณที่ต้องการ และเพื่อเป็นการป้องกันสภาพแวดล้อมจากยาที่เป็นพิษ มีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ หลายชนิดที่ใช้ในระบบการขนส่งยารวมทั้งพอลิเมอร์ ที่มี polyacrylic หรือ polymethyacrylic β- type ซึ่งเป็นที่น่าสนใจเพราะมีหมู่ carboxylic acid สำหรับเชื่อมกับยาและสามารถละลายนั้นได้ อย่างไรก็ตาม polymer นี้ยังสามารถคงสภาพทางชีวภาพได้ และมีความนิยมในช่วงสั้นๆ อี 2-3 ปีต่อมา ก็มี poly (β -malic acid) {PMLA 100} ซึ่งนำมาใช้ในการขนส่งยาและถูกใช้เป็น macromolecule pro-drugs เพราะมี poly (β -hydroxy acid) ที่มีกลุ่ม pendent acid group ซึ่งสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ที่ใช้

1 เครื่องแก้ว

-หลอดทดลอง

-บิกเกอร์

-ฟลาสก์

-จานเพาะเชื้อ

-ปิเปตต์

-บิวเรตต์

2 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3 ไม้ขีดไฟ

4 สำลี

5 บิกเกอร์ขนาด 100 150 มิลลิลิตร

6 หม้อนึ่งอัดความดัน

7 กระบอกตวงขนาด 100 1,000 มิลลิลิตร

8 ตู้บ่มเชื้อ

9 เครื่องเขย่า

10. แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อร้อยละ 70

11. ไมโครปิเปตต์

12. เครื่อง HPLC

13. เครื่องเหวี่ยง

14. เครื่องผสม

15. ตู้อบลมร้อน

16. เครื่องชั่งหยาบและละเอียด

17. ช้อนตักสาร

18. ขวดก้นกลม

19. ตัวกวนแม่เหล็ก

20. อุปกรณ์จับบิวเรตต์ พร้อมขาตั้ง

21. เครื่องวัดพีเอช

22. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการทดลอง

1 การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นออกซิเดทีฟจากตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในการทดลองนี้ ได้จากดินในแหล่งต่างๆ จำนวน 6 แหล่ง

1.1 นำตัวอย่างดิน 1 กรัมมาเจือจางโดยใช้น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า

1.2 ดูดสารละลายตัวอย่างดินจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (ตามภาพผนวก ก ข้อ 5) ซึ่งบรรจุอยู่บนจานเพาะเชื้อ เกลี่ยสารละลายตัวอย่างดินให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยใช้แท่งแก้วงอที่ปราศจากเชื้อ นำจานเพาะเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน บันทึกลักษณะโคโลนีที่ได้

1.3 เมื่อมีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นในจานเพาะเชื้อตามข้อที่ 1.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวๆ มาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (ตามภาคผนวกที่ ก ข้อ 4) ซึ่งบรรจุในหลอดทดลองหลอดละ 6 มิลลิลิตร นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 80 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน บันทึกผลการเจริญ

1.4 เก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อตาม(ภาคผนวก ก ข้อ 3) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นราหรือยีสต์ และใน NA stant ตาม(ภาคผนวก ก ข้อ 2) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บไว้ทดลองในขั้นต่อไป

2 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly (malic acid))

2.1 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อตาม(ภาคผนวก ก ข้อ6) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 220 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน

2.2 กรองตัวอย่างที่ได้ด้วยกระดาษกรองวัทแมนเบอร์ 1 (whatman No. 1) เก็บส่วนใสที่กรองได้

2.3 นำสารละลายที่กรองได้มาเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 8,000g เป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดส่วนตะกอนที่หลงเหลืออยู่ บันทึกพีเอชและปริมาตรของส่วนใสที่ได้แล้วเก็บส่วนใสไว้ทำการทดลองในขั้นต่อไป

3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้โดยวิธี ไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี (High Performanc Liquid Chromatography)

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์มาลิก แอซิด ด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิควิด โครมาโตกราฟฟีนั้น จะใช้คอลัมน์ C_{18} (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 เซนติเมตร ยาว 250 มิลลิเมตร) สารละลายตัวพาที่ใช้คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 โดยมีอัตราการไหลของสารละลายตัวพาเป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวิเคราะห์สารภายหลังที่แยกผ่านคอลัมน์ด้วยเครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet detector) ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้ความไวของเครื่องตรวจวัดเท่ากับ 0.08 AUFS (absorbance unit full scale) ปริมาตรที่ใช้วิเคราะห์คือ 5 ไมโครลิตร

3.1 นำส่วนใสที่ได้จากข้อ 2.3 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 20 ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำมาย่อยโดยใช้อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็น

3.2 กรองสารละลายที่ได้ ฉีดสารละลายดังกล่าว 5 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC แล้วตรวจวัดสารที่ได้ ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร โดยมีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 8.0 เป็นสารละลายตัวพา และมีอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อทำการวิเคราะห์โครมาโตแกรม (Chromatogram) เปรียบเทียบกับมาลิกแอซิด (malic acid)

3.3 คัดเลือกส่วนใสที่มีสารใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์ (retention time) เดียวกับมาลิกแอซิด (malic acid) เก็บส่วนใสที่ได้เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

4 การเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid))ในรูปแคลเซียมพอลิมาลิกแอซิด (Ca-PM)

4.1 นำส่วนใสที่ได้จากข้อ 2.3 ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร วัดพีเอช แล้วเติม kieselguhr ร้อยละ 1 วัดพีเอชและปริมาตรของส่วนใสหลังจากเติม kieselguhr ปรับพีเอชให้ได้ 6.4

4.2 กรองส่วนใสโดยใช้กระดาษกรองวัทแมนเบอร์ 1 (whatman No. 1)

4.3 นำส่วนใสที่ผ่านการกรองเอา kieselguhr ออกแล้ว ใส่ในฟลาสก์ก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร หย่อนแท่งแม่เหล็ก (magnetic bar) ใส่ในฟลาสก์ วางฟลาสก์บนเครื่องคนพร้อมกับควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จับฟลาสก์ด้วยอุปกรณ์ยึดจับฟลาสก์และบิวเรตที่บรรจุเมทานอล พร้อมกับค่อยๆปล่อยให้เมทานอลไหลทีละหยดอย่างช้าๆ ในฟลาสก์ จนกระทั่งความเข้มข้นของเมทานอลในสารละลาย เป็นร้อยละ 25

4.4 กรองตะกอนออกจากสารละลาย

4.5 ค่อยๆ หยดเมทานอลลงในสารละลายดังกล่าว พร้อมกับมีการคนสารละลายตลอด 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งสารละลายมีความเข้มข้นของเมทานอลเป็น ร้อยละ 60

4.6 นำส่วนใสมากรองเอาเฉพาะส่วนตะกอน โดยใช้กระดาษกรองวัทแมนเบอร์ 1 (whatman No. 1) นำตะกอนที่ได้มาละลายในน้ำกลั่น แล้วทำการตกตะกอนอีกด้วยเมทานอลค่อยๆ ปล่อยเมทานอลให้ไหลทีละหยดอย่างช้าๆ มีการกวนตลอดเวลา ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

4.7 นำส่วนใสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองวัทแมนเบอร์ 1 (whatman No.1) เอาเฉพาะส่วนที่เป็นตะกอนมาล้างด้วยเมทานอล อะซิโตน อีเทอร์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 60 ตามลำดับ

4.8 นำตะกอนที่ได้มาบดให้ละเอียด แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์(decicator)ชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน ตะกอนที่ได้คือ พอลิ มาลิกแอซิด(polymalic acid) ในรูปแคลเซียมของพอลิมาลิกแอซิด (Ca-PM)

5 การวิเคราะห์ลักษณะแคลเซียมของพอลิมาลิกแอซิด (Ca-PM)

ลักษณะของแคลเซียมพอลิมาลิกแอซิด (Ca-PM) สามารถตรวจสอบได้โดยวิธีนิวเคลียร์ แมกเนติก เรโซแนนท์ สเปคโตรสโคปี(Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy,NMR) ในรูป ^{13}CNMR โดยละลายในดิวเทอเรตเตด วอเตอร์ (deuterated water , D_2O) ให้มากที่สุด และใช้เกลือโซเดียมของ 4,4-ไดเมทิล-4-ซิลาเพนเทนซัลโฟนิคแอซิด (4,4-dimethyl-4-silapentane sulphonic acid)เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบภายใน (internal standard)

6 การศึกษาลักษณะจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด

6.1 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของจุลินทรีย์โดยการเลี้ยงบนอาหารร้อยละ 2 ของ malt extract agar(MEA)(ตามภาคผนวก ก ข้อ 1) ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีและลักษณะโคโลนี

6.2การศึกษาลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิเมอร์ของมาลิกแอซิด (Poly(malic acid))

ศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้วิธี slide culture แล้วตรวจสอบโดยดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

6.2.1 เตรียม PDA agar ในจานเพาะเชื้อ ตัดวุ้นให้เป็นแผ่นสี่เหลี่ยมขนาด 1*1 เซนติเมตร นำวุ้นวางบนแผ่นสไลด์ที่ปลอดเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อด้วยเข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลม (needle) แตะเชื้อบนกึ่งกลางทั้ง 4 ด้านของวุ้น วาง cover slip ที่ปลอดเชื้อบนแผ่นวุ้น

6.2.2 วางแผ่นสไลด์ที่มีวุ้นและ cover slip ปิดอยู่ บนจานเพาะเชื้อที่มีแท่งแก้วงอรูปตัวแอล เทน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อลงไปในจานเพาะเลี้ยงอย่าให้เกินแท่งแก้วรูปตัวแอล เพื่อให้ความชื้น นำจานเพาะเลี้ยงเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

6.2.3 หยด lacto-phenol 1 หยด บนแผ่นสไลด์แผ่นใหม่ ใช้ปากคีบ (forcep) คีบแผ่น cover slip ที่ปิดวุ้นอยู่ วางลงบนแผ่นสไลด์แผ่นใหม่ อย่าให้มีฟองอากาศ นำส่วนวุ้นทิ้งไปแล้วหยด lacto - phenol 1 หยด บนแผ่นสไลด์ที่รองวุ้นวางแผ่น cover slip แผ่นใหม่ บนสไลด์ อย่าให้มีฟองอากาศ จะได้แผ่นสไลด์ทั้งหมด 2 แผ่น นำไปส่องดูลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

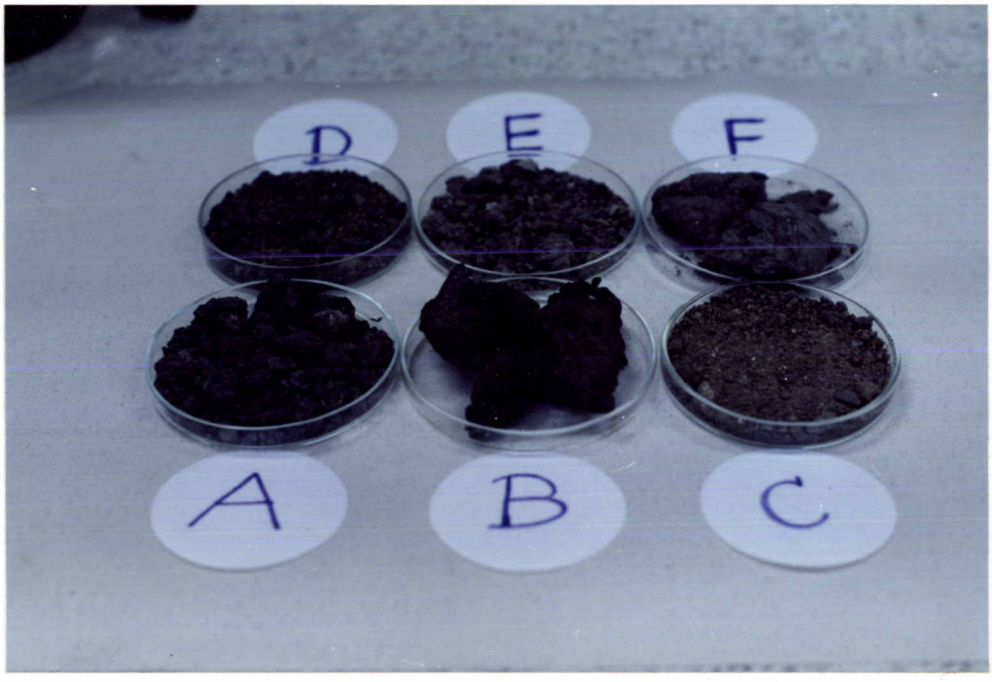
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นออกซิเดทีฟ(oxidative microorganisms) จากตัวอย่างดิน

จากตัวอย่างดินที่เก็บได้ในแหล่งต่างๆจำนวน 6 แหล่ง ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 5. พบว่าสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่สามารถเจริญสามารถเจริญในอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 5 ได้ทั้งหมด 31 สายพันธุ์

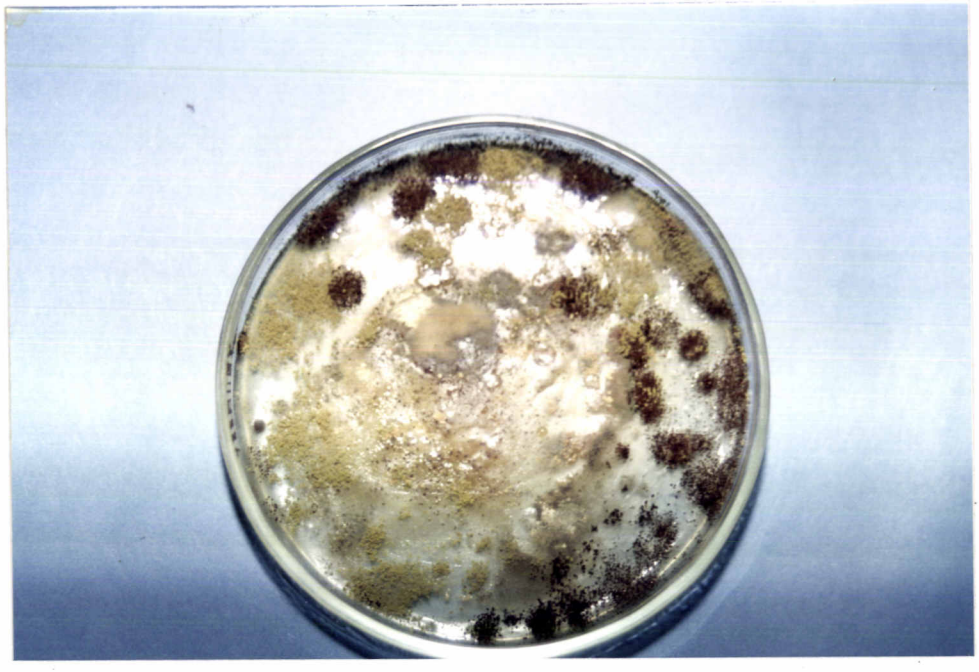
ตารางที่ 1 แสดงลักษณะดินจากสถานที่ต่างๆและจำนวนจุลินทรีย์ที่แยกได้จากอาหารจำเพาะ

รหัสดิน	สถานที่	ลักษณะดิน	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้		
			รา	ยีสต์	แบคทีเรีย
A	ลาดกระบัง	ดินค่อนข้างเหนียว ชื้น สีดำ	2	3	1
B	บางพลัด	ดินเหนียวเปียกชื้น สีดำ	2	1	-
C	กาญจนบุรี	ดินร่วน แห้ง สีน้ำตาลแดง	3	1	2
D	บางจาก	ดินร่วน ชื้น สีน้ำตาลปนดำ	2	-	2
E	ธนบุรี	ดินร่วน แห้ง สีน้ำตาล	3	2	2
F	สาธร	ดินเหนียว เปียกชื้น สีน้ำตาลแดง	1	1	3



รูปที่ 5 แสดงตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ 6 แหล่ง

รูปที่ 6 แสดงอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 5



รูปที่ 7 แสดงการแยกเชื้อที่เป็นออกซิเดทีฟ

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นออกซิเดทีฟ หรือ เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน โดยการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น เพราะแมนนิทอลเป็นน้ำตาลที่เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถนำไปสร้างเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆในกระบานการหมักได้ ซึ่งจะต่างจากการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแมนนิทอลจึงเป็นเชื้อจุลินทรีย์ประเภทออกซิเดทีฟ

จากตัวอย่างดิน 6 แหล่งจะสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 31ชนิด เป็นเชื้อรา 13 ชนิด ยีสต์ 8 ชนิด และแบคทีเรีย 10 ชนิด แต่ละชนิดแสดงลักษณะการเจริญดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ

รหัสดิน	รหัสจุลินทรีย์	ลักษณะการเจริญ	จำนานจุลินทรีย์
A	F3370	ขอบสีขาวตรงกลางดำ	F=2
	F3371	สีเหลือง เป็นเส้นใย	Y=3
	Y3372	ผิวหน้าย่น สีขาวขุ่น	B=1
	Y3373	ผิวด้าน ขาวอมเหลือง	
	Y3374	ผิวหน้าย่น สีขาว	
	B3375	ผิวมัน สีขาวขุ่น	
B	F3376	สีเขียวปนเหลือง	F=2
	F3377	สีเหลือง	Y=1
	Y3378	สีแดงจุดขาว ย่น	
C	F3379	เป็นผงสีเหลืองอ่อน	F=3
	F3380	เป็นผงสีเขียว ดำ	Y=1
	F3381	เส้นใยสีขาว	B=2
	Y3382	ผิวหน้าย่น สีขาวใส	
	B3383	ผิวมันสีเหลือง	
	B3384	กลม ผิวมันสีเหลือง	
D	F3385	เส้นใยสีขาว	F=2
	F3386	ปุยสีขาว	B=2
	B3387	กลมสีน้ำตาล	
	B3388	สีขาว ตรงกลางด้าน	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

E	F3389	ปุยสีดำคล้ายกำมะหยี่	F=3
	F3390	ปุยดำ	Y=2
	F3391	ขอบย่นสีขาว	B=2
	Y3392	ขาวขุ่นย่น	
	Y3393	ขาวมันกลม	
	B3394	เหลือง	
	B3395	เขียวปนเหลือง	
F	F3396	เส้นใยสีขาว	F=1
	Y3397	หน้าย่นสีขาว	Y=1
	B3398	สีขาวตรงกลางดำ	B=3
	B3399	ใส มันเงา	
	B3400	มัน ขาวอมเหลือง	

หมายเหตุ F = รา

Y = ยีสต์

B = แบคทีเรีย

จากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่แยกได้นำมาเปรียบเทียบและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 4 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงการเจริญของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ

รหัสดิน	รหัสจุลินทรีย์	การเจริญเติบโต
A	F3370	+ +
	F3371	+
	Y3372	+
	Y3373	-
	Y3374	+ + +
	B3375	-
B	F3376	+
	F3377	+ +
	Y3378	-
C	F3379	+ +
	F3380	+ +
	F3381	+
	Y3382	+ + +
	B3383	-
	B3384	+
D	F3385	-
	F3386	+ + + +
	B3387	+ +

ตารางที่ 3 (ต่อ)

E	F3388	+ + + +
	F3389	+ + +
	F3390	+ + +
	Y3391	+
	Y3392	+
	B3393	-
	B3394	+ +
F	F3395	+ + +
	Y3396	+
	B3397	-
	B3398	+
	B3399	+ +

จากผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีมากอยู่ 2 ชนิด เจริญได้ดี 4 ชนิด ในการทดลองขั้นต่อไป จะได้นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดี 6 ชนิด คือ เชื้อจุลินทรีย์รหัส 3374 3382 3386 3388 3389 3390 3395 มาศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตสารพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด (Poly(malic acid))ต่อไป

2.การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด (Poly (malic acid))

นำจุลินทรีย์ที่ได้จากขั้นที่ 1 เลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวก ก ข้อ 6 เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด (Poly(malic acid)) โดยดูจากความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารและการเปลี่ยนแปลงสีของอาหาร ผลการทดลอง แสดงได้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

รหัสจุลินทรีย์	ความสามารถในการเจริญ	สีของส่วนใส
3374	+	ใส
3382	+ + +	ใส
3386	+ + + +	เหลืองอ่อนใส
3388	+ + +	เหลืองเข้มใส
3389	+ + +	เหลืองส้มใส
3390	-	ใส
3395	+ +	ตำใส

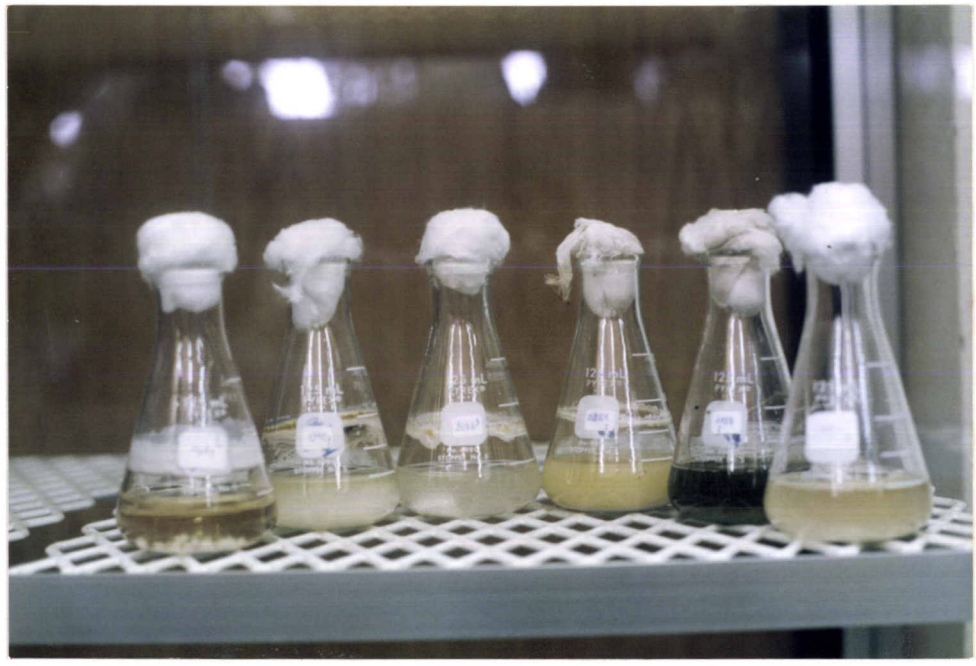
หมายเหตุ - หมายถึง ไม่มีการเจริญ
+ หมายถึง การเจริญเล็กน้อย
+ + หมายถึง การเจริญพอใช้
+ + + หมายถึง การเจริญดี
+ + + + หมายถึง การเจริญดีมาก

จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่มีการเจริญได้ดีในอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6 คือเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3386 3388 3389 3390 ดังนั้นจึงนำส่วนใสของจุลินทรีย์เหล่านี้ไปทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ ลิควิดโครมาโตกราฟี ในขั้นตอนต่อไป

ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เพื่อช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid)) และใช้ซัลเฟตและฟอสเฟตในประมาณต่ำเพราะเป็นสารเจือปน(inpurities) ในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์

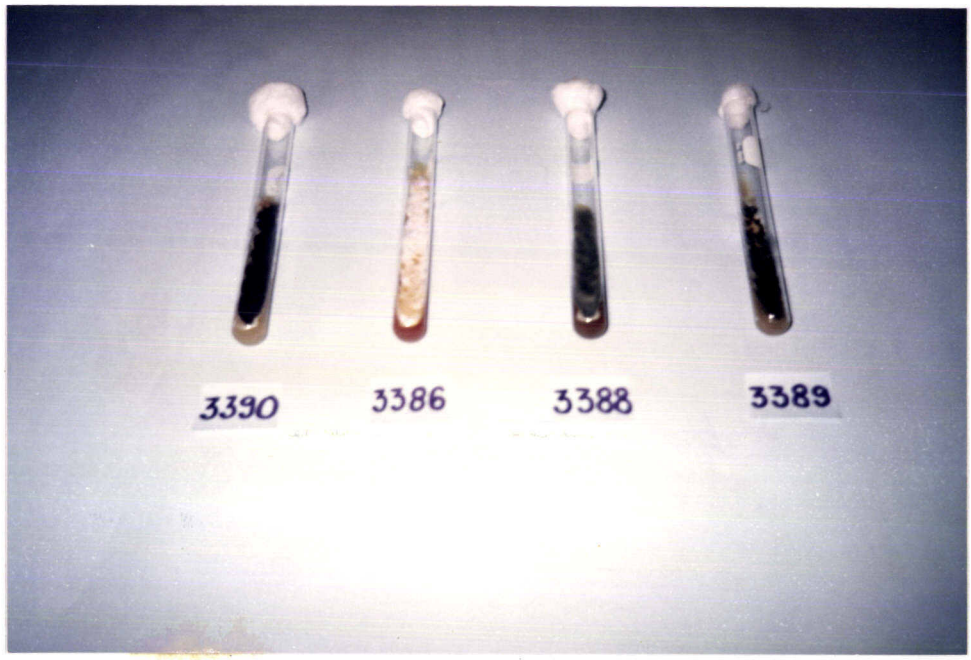
รูปที่ 8 แสดงอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6

รูปที่ 9 แสดงการเลี้ยงเชื้อในอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6



รูปที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อในอาหารจำเพาะตามภาคผนวก ก ข้อ 6 เป็นเวลา 7 วัน

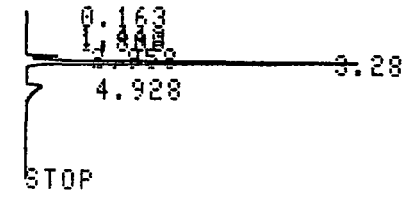
รูปที่ 11 แสดงส่วนใสที่ได้จากการกรองเอาตะกอนออก

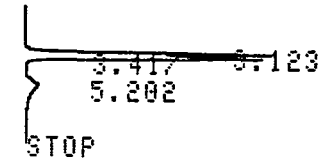


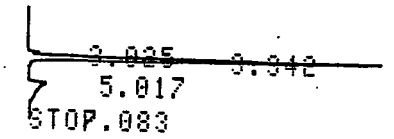
รูปที่ 12 แสดงจุลินทรีย์รหัส 3390 ,3386 , 3388 และ 3389

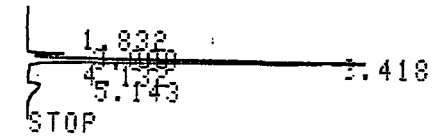
3. การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้โดยวิธี ไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ ลิควิด โครมาโตกราฟี (High Performance Liguid Chromatography,HPLC)

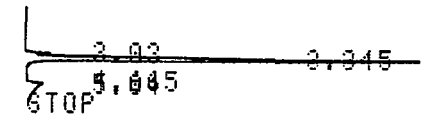
นำส่วนใสที่กรองได้จากจุลินทรีย์รหัส 3386 , 3388, 3389 และ 3390 ผ่านการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 20 จากนั้นนำมาตรวจผลด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้มาลิก แอซิด (malic acid) เป็นสารมาตรฐาน ถ้าหากในส่วนใสมีพอลีเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid) ก็จะถูกย่อยด้วยกรดได้เป็นมาลิก แอซิด(malic acid) ซึ่งทราบได้โดยการเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรม(chromatogram) ของมาลิก แอซิด (malic acid)ผลการทดลองที่ได้แสดงในรูปที่ 13 และตารางที่ 5









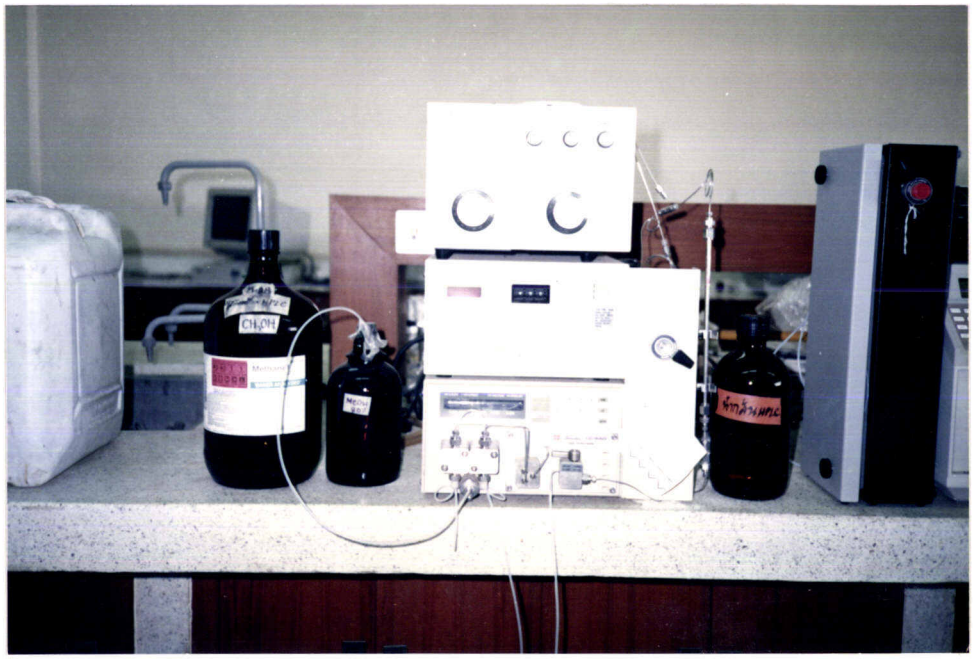


รูปที่ 13 แสดงโครมาโตแกรม(chromatogram) ของมาลิก แอซิดและส่วนใสที่ได้จาก จุลินทรีย์รหัสต่างๆ ซึ่ง a. จุลินทรีย์รหัส 3386 , b. จุลินทรีย์รหัส 3388 , c. จุลินทรีย์รหัส 3389 , d. จุลินทรีย์รหัส 3390 , e. มาลิกแอซิด

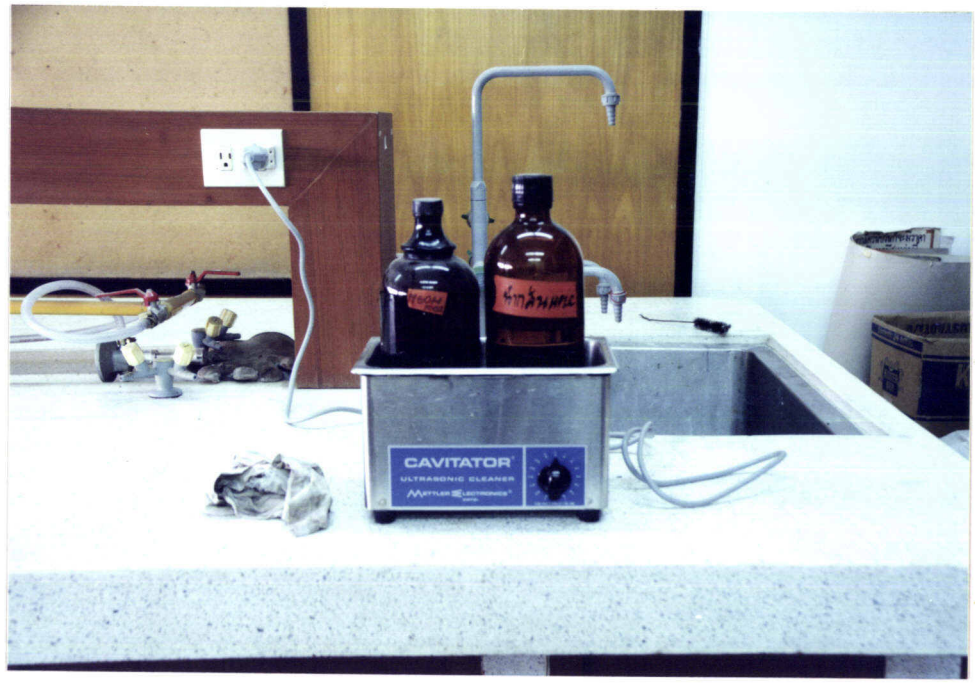
ตารางที่ 5 แสดงระยะเวลาที่สารอยู่ในคอลัมน์(retention time) ของมาลิก แอซิด และส่วนใสที่ๆได้จากจุลินทรีย์รหัสต่างๆ

รหัสจุลินทรีย์	ระยะเวลาที่สารอยู่ในคอลัมน์ (นาที)
3386	3.28
3388	3.123
3389	3.342
3390	3.418
มาลิก แอซิด	3.345

จากตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์รหัส 3386 ใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์นานใกล้เคียงกันมาลิก แอซิด (malic acid)จึงน่าจะเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด (Poly(malic acid))ได้



รูปที่ 14 แสดงเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)



รูปที่ 15 แสดงวิธีการกำจัดฟองอากาศในน้ำกลั่นและเมทานอลที่ใช้กับเครื่อง HPLC โดยใช้ sonicator

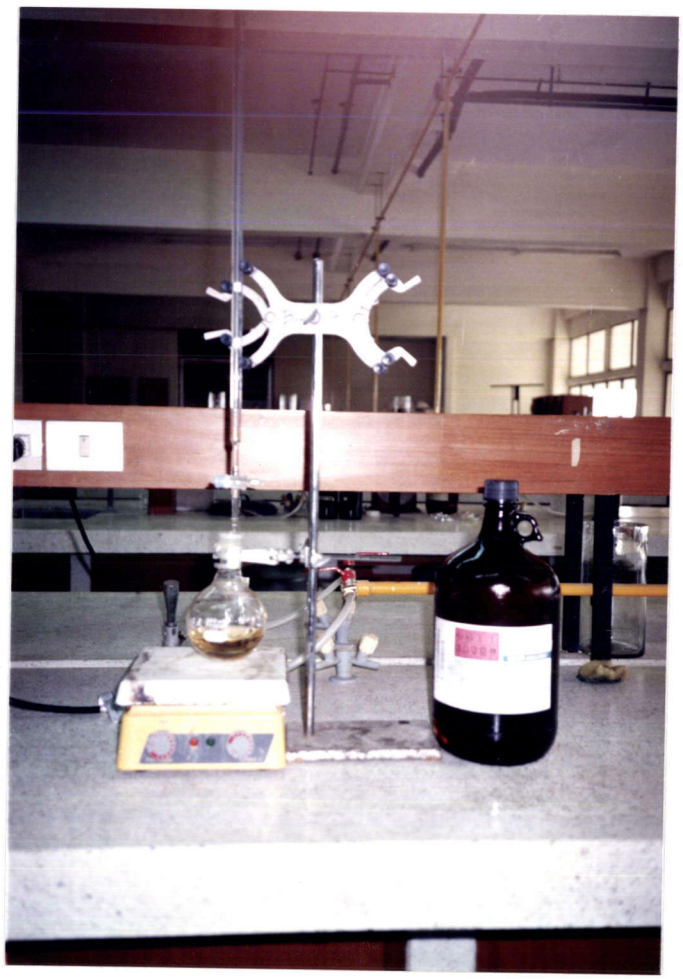
4.การเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid)) ในรูปแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Ca-PM)

นำส่วนใสจากจุลินทรีย์รหัส 3386 3388 3389 และ 3390 มาทำให้บริสุทธิ์ขึ้นในรูปของแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Ca-PM) โดยการกรองส่วนใสผ่าน kieselguhr เพื่อกำจัดสารปนเปื้อน ต่อจากนั้น ค่อยๆหยดเมทานอลในขณะที่มีการกวน และควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ให้สารละลายมีเมทานอลร้อยละ 25 เพื่อตกตะกอนสารปนเปื้อนอื่นๆ กรองเอาเฉพาะส่วนใสมาหยดด้วยเมทานอลต่อ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6

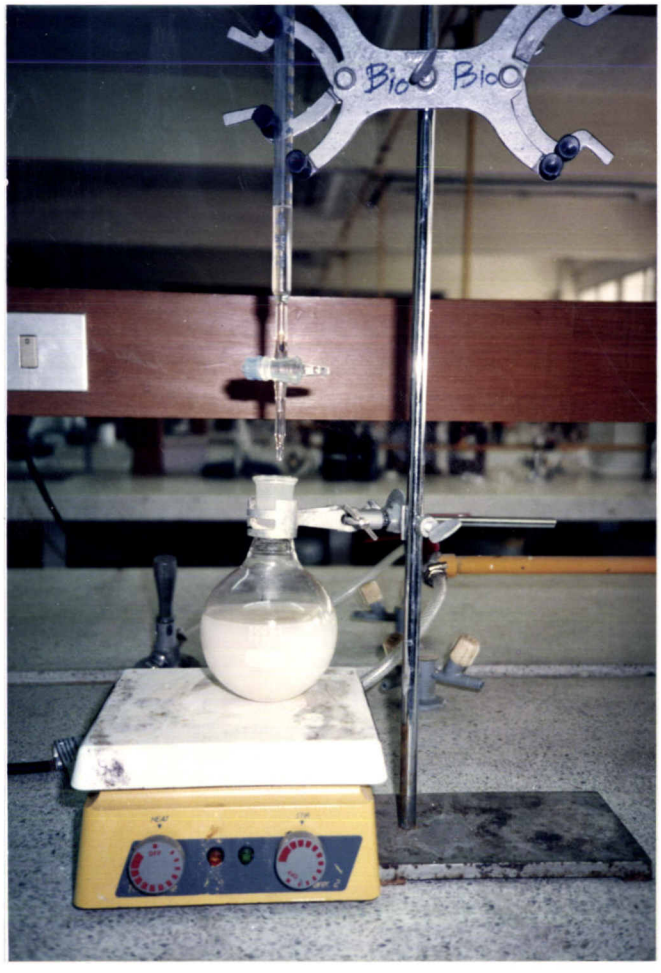
ตารางที่ 6 แสดงผลการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด ในรูปแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด

ขั้นตอน	รหัสจุลินทรีย์			
	3386	3388	3389	3390
1. pH ส่วนใสเริ่มต้น	5.5	6.5	6.5	6.5
2. ปริมาตรส่วนใสเริ่มต้น (มล.)	195	190	196	194
3. kieselguhr 1%(กรัม)	1.95	1.90	1.96	1.94
4. ปริมาตรส่วนใสหลังเติม kieselguhr (มล.)	196	192	198	195
5. pH หลังเติม kieselguhr	5.5	6.5	6.5	6.5
6. ปริมาตรหลังปรับ พีเอช	197	192	198	195
7.ปริมาตรที่ใช้ทดลอง	130	130	130	130
8. ปริมาตรเมทานอล(มล.) ที่เติมครั้งที่ 1	45.22	45.22	45.22	45.22
9. ปริมาณสารปนเปื้อนที่ได้ (กรัม)	-	-	-	-
10.ปริมาตรเมทานอล(มล.)ที่เติมครั้งที่ 2	152.6	152.6	152.6	152.6
11. ปริมาตรน้ำกลั่น (มล.)	84.78	84.78	84.78	84.78
12. ปริมาตรเมทานอล(มล.)ที่เติมครั้งสุดท้าย	124.35	124.35	124.35	124.35
13. น้ำหนัก Ca-PM (กรัม)	1.3157	-	0.4535	-

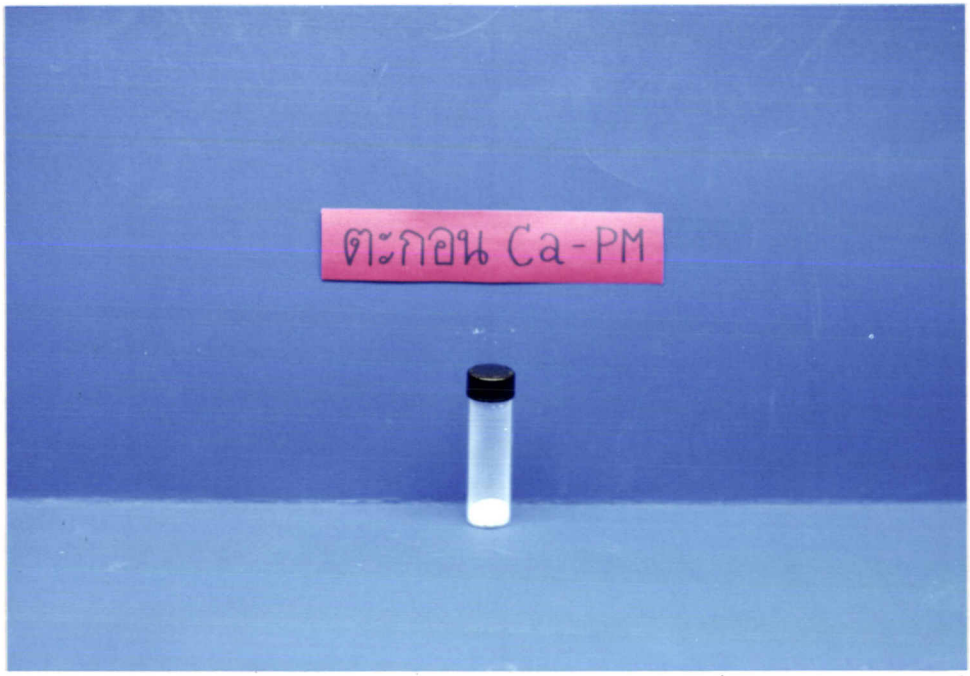
จากตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์รหัส 3386 และ 3389 สามารถผลิตแคลเซียมของพอลิเมอร์ได้ โดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3386 จะให้ปริมาณแคลเซียมของพอลิเมอร์มากที่สุดคือ 10.12 กรัม ต่อส่วนใส 1 ลิตร ในขณะที่เชื้อจุลินทรีย์รหัส 3389 จะให้ปริมาณแคลเซียมของพอลิเมอร์ได้ 3.49 กรัมต่อส่วนใส 1 ลิตร ดังนั้นในการศึกษาต่อไป จะได้ศึกษาลักษณะแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น



รูปที่ 16 แสดงการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid)) ก่อนเกิดแคลเซียมของพอลิเมอร์



รูปที่ 17 แสดงการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด (Poly(malic acid)) ขณะเกิดแคลเซียมของพอลิเมอร์



รูปที่ 18 แสดงตะกอนแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิดที่เก็บเกี่ยวได้

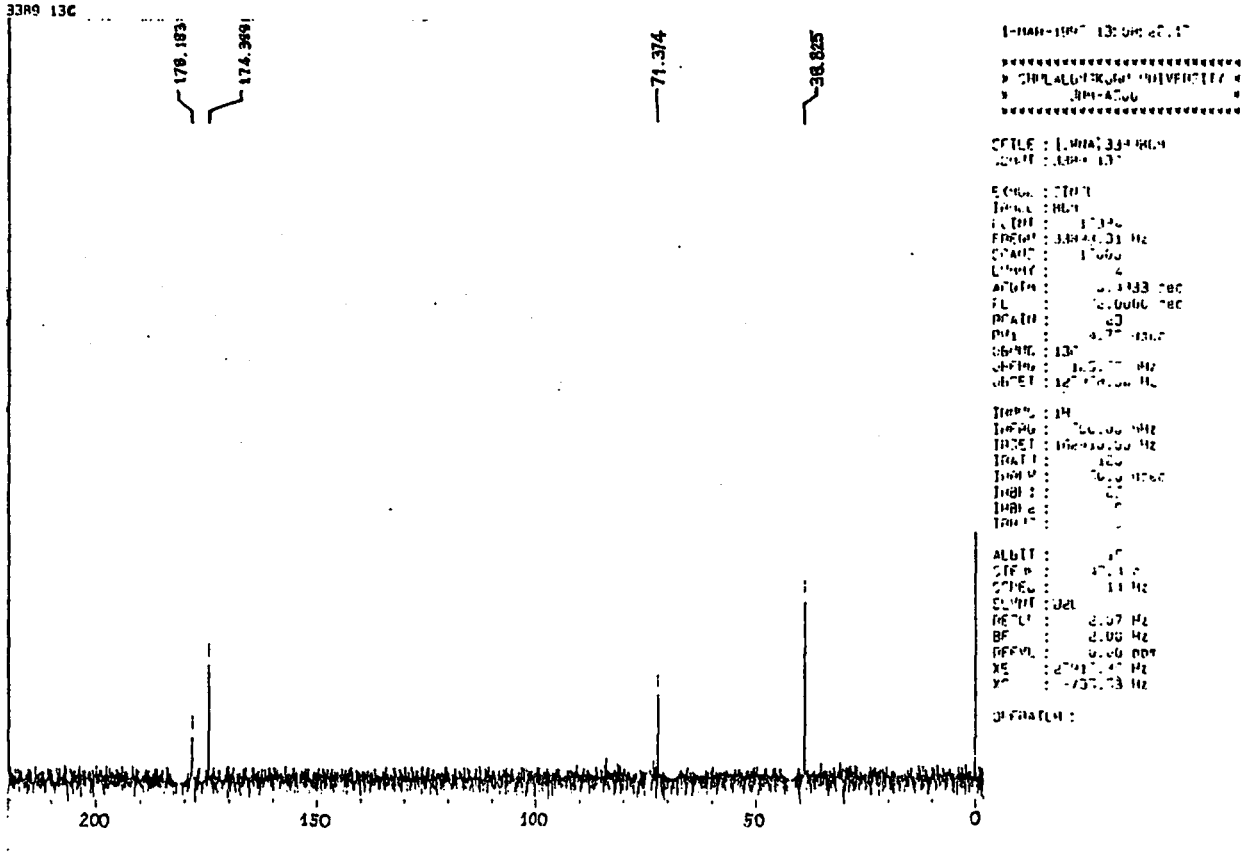
5. การวิเคราะห์ลักษณะแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้

จากการศึกษา ลักษณะแคลเซียมของพอลิเมอร์ (Ca-PM) โดยวิธีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เสปคโตรสโคปี(^{13}CNMR) ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์รหัส 3389 ให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงเคมีคัลชิฟท์(Chemical shift) โดยวิธีคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปคโตรสโคปี (^{13}CNMR) ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์รหัส 3389

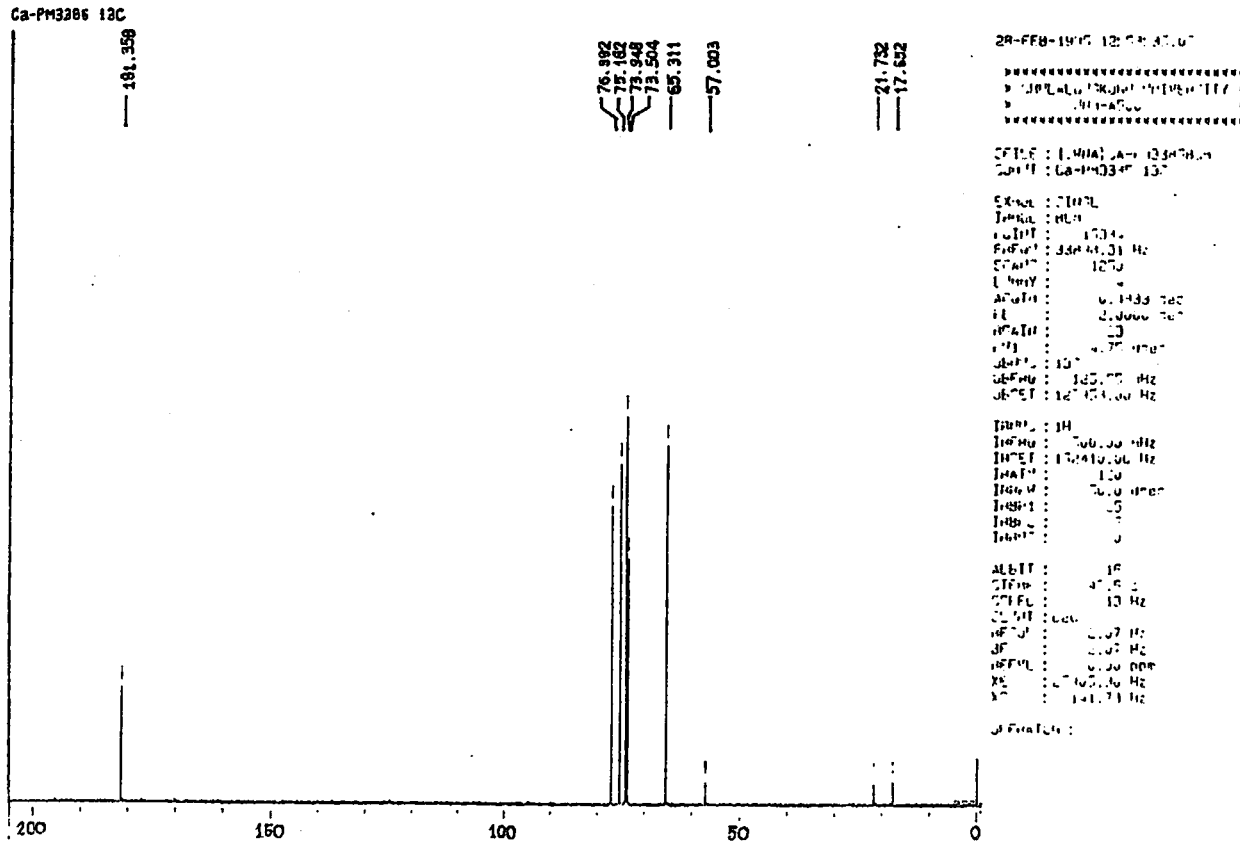
เคมีคัลชิฟท์ (พีพีเอ็ม)	ตำแหน่งของคาร์บอน
38.825	CH_2
71.974	CH
174.339	CO)—
178.183	COOH

จากผลในตารางที่ 7 พบว่าแคลเซียมของพอลิเมอร์ของเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3389ให้เคมีคอลชิฟท์เช่นเดียวกับที่รายงานไว้โดย Naoki Nakata และคณะ แสดงว่าเป็นแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด



รูปที่ 19 แสดงเคมีคัลชิฟท์ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3389

ส่วนการตรวจสอบเคมีคัลชิฟท์ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3386 พบว่าไม่ให้เคมีคัลชิฟท์เช่นเดียวกับที่รายงานไว้โดย Naoki Nakata และคณะ แสดงว่าไม่ใช่แคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด แต่เป็นแคลเซียมของพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งซึ่งยังไม่ทราบแน่นอน



รูปที่ 20 แสดงเคมีคัลชิฟท์ของแคลเซียมของพอลิเมอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์รหัส 3386

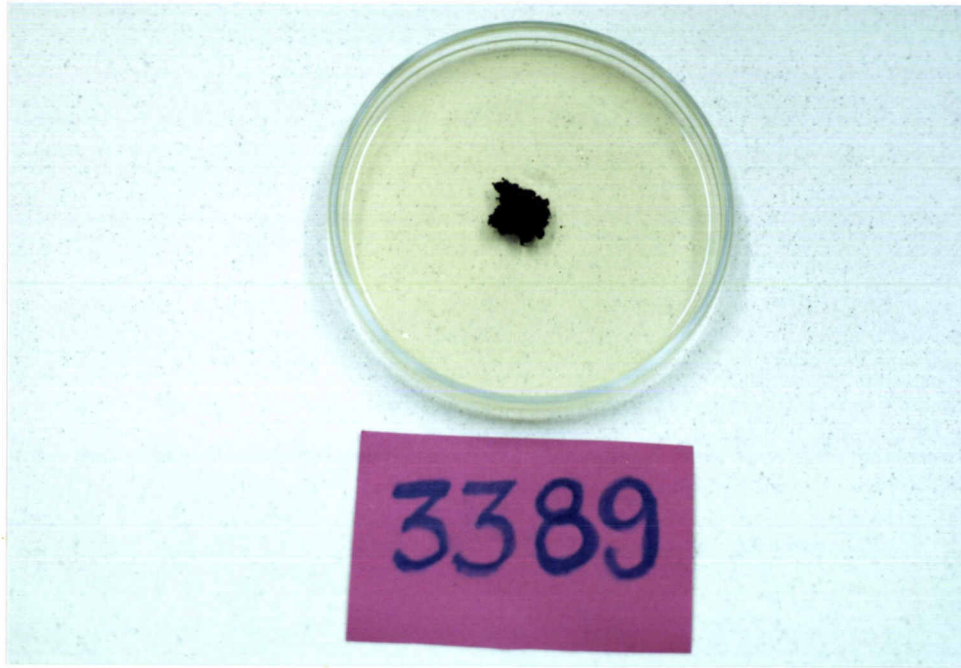
6. การศึกษาลักษณะจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid))ได้

6.1 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของจุลินทรีที่มีประสิทธิภาพในการผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid))

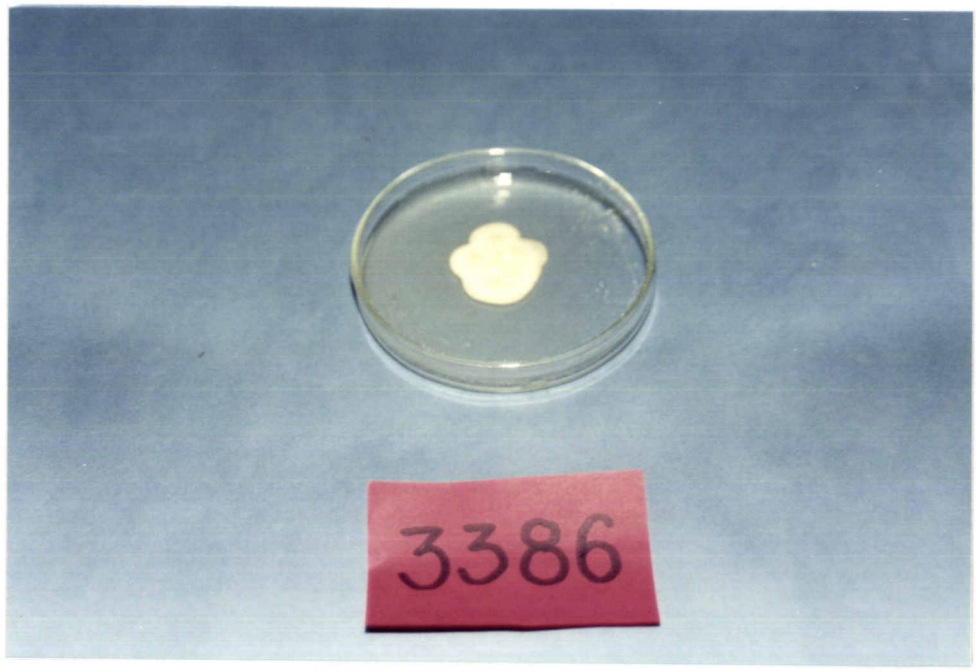
จากการเลี้ยงจุลินทรีย์รหัส 3389 และ 3386 เลี้ยงในอาหาร malt extract agar ร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบการเปลี่ยนแปลงสี และ ลักษณะโคโลนีดัง ตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงลักษณะและสีของจุลินทรีย์รหัส 3389 และ 3386 บนอาหาร malt extract agar ร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

การเปลี่ยนแปลงสีและลักษณะของจุลินทรีย์				
รหัสจุลินทรีย์	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 8	วันที่ 14
3374	โคโลนีเป็นเมือก สีขาวขุ่น	โคโลนีเป็นเมือก สีขาวขุ่น	โคโลนีเป็นเมือก สีขาวขุ่น	โคโลนีเป็นเมือก สีขาวขุ่น
3382	โคโลนีปุยสีเทา	โคโลนีปุย สีเทา	โคโลนีปุย สีเทา	โคโลนีปุย สีเทา
3386	โคโลนีปุย สีขาว	โคโลนีปุยสีส้ม ขาว	โคโลนีปุย สีเทา ส้ม ขาว	โคโลนีสีเทา โคโลนีเป็นเส้น
3388	โคโลนีเป็นเส้น ใย สีเขียวปน เหลือง	โคโลนีเป็นเส้น ใยสีเขียวปน เหลือง	โคโลนีเป็นเส้น ใย สีเขียวปน เหลือง	ใย สีเขียวปน เหลือง โคโลนีคล้าย
3389	โคโลนีคล้าย กำมะหยี่สีดำ	โคโลนีคล้าย กำมะหยี่สีดำ	โคโลนีคล้าย กำมะหยี่สีดำ	กำมะหยี่สีดำ โคโลนีปุย สีดำ
3390	โคโลนีปุย สีดำ	โคโลนีปุย สีดำ	โคโลนีปุย สีดำ	โคโลนีปุย สีเขียว
3395	โคโลนีปุย สีเขียว	โคโลนีปุย สีเขียว	โคโลนีปุยสีเขียว	



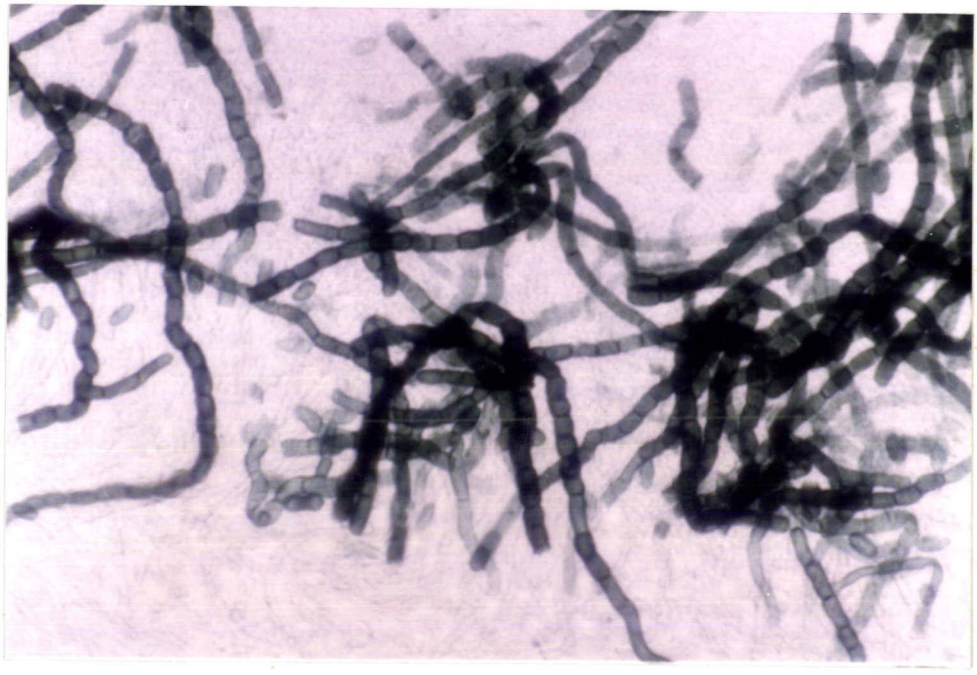
รูปที่ 21 แสดงการเลี้ยงจุลินทรีย์รหัส 3389 ในอาหาร MEA (Malt Extract Agar)



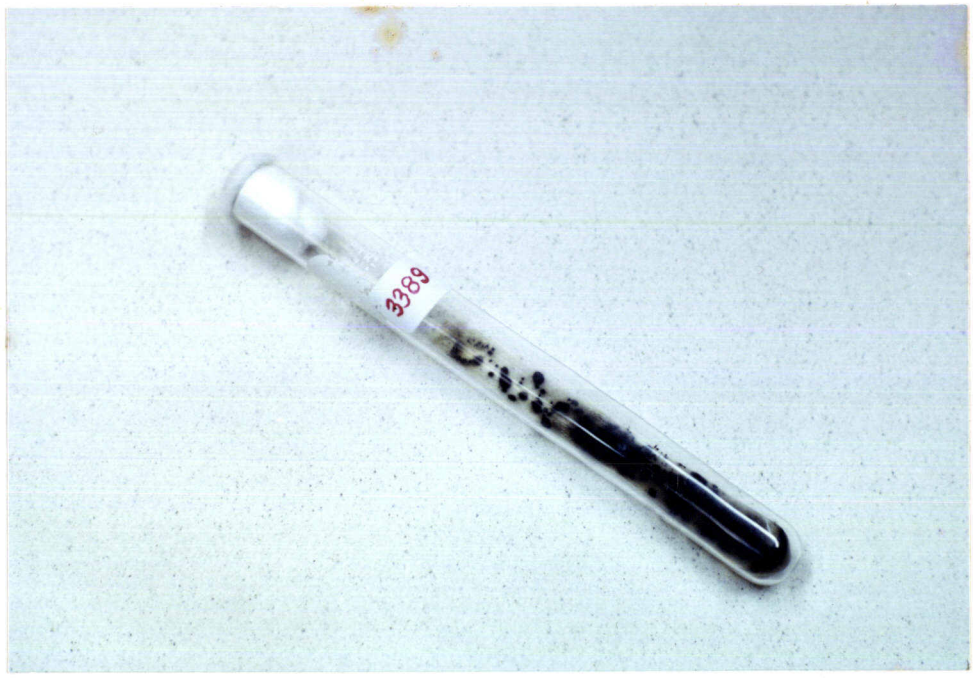
รูปที่ 22 แสดงการเลี้ยงจุลินทรีย์รหัส 3386 ในอาหาร MEA(Malt Extract Agar)

6.2 การศึกษาลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด(Poly(malic acid))

นำจุลินทรีย์รหัส 3389 และ รหัส 3386 มาทำการเลี้ยงเชื้อแบบ slide culture พบว่ามีลักษณะดังรูปที่ 23 และรูปที่ 24



รูปที่ 23 . แสดงลักษณะของคลามายโดสปอร์ (Chlamydospore)ของจุลินทรีย์รหัส 3386



รูปที่ 24 แสดงลักษณะของจุลินทรีย์รหัส 3389

จุลินทรีย์รหัส 3389 ที่ได้ มีลักษณะคล้ายรา เส้นใยสีดำ มีผนังกั้น และมีการสร้างสปอร์ที่คล้ายกับคลามายโดสปอร์ (chlamydospore)

รูปที่ 25 แสดงลักษณะของจุลินทรีย์รหัส 3386

บทที่ 5
บทสรุป

ในการศึกษาการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตพอลีเมอร์ของ มาลิกแอซิด (Poly(malic acid)) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จากดินตัวอย่าง 6 แหล่ง ได้เชื้อบริสุทธิ์จำนวน 31 สายพันธุ์ แล้วนำมาคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตพอลีเมอร์ของ มาลิกแอซิด (Poly(malic acid)) โดยการเลี้ยงในอาหารจำเพาะที่มีแคลเซียม คาร์บอเนต($CaCO_3$) เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของพอลีเมอร์ของ มาลิกแอซิด(Poly(malic acid)) พบว่ามีจุลินทรีย์ 1 สายพันธุ์ที่สามารถผลิตพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิดที่อยู่ในรูปแคลเซียมของพอลิเมอร์ของมาลิก แอซิด ได้ จำนวน 3.49 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้คือ ราชนิดหนึ่งที่มีเส้นใยสีดำ มีผนังกั้น และมีการสร้างสปอร์คล้ายกับคลามายโดสปอร์ (chlomydospores)

ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.Malt extrat agar (MEA)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบจุลินทรีย์ 2 ตัวคือ ราและยีสต์ ส่วนแบคทีเรี ยอาจจะไม่สามารถเจริญได้ถ้าหากมีการเติมกรดแลคติด

สูตร	กรัมต่อลิตร
Malt extract	30.0
Mycological peptone	5.0
Agar	15.0

ปรับพีเอช 5.4±0.2

วิธีทำ

นำส่วนผสมทั้งหมด 50 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 1 ลิตรต้มให้ละลายนำเข้าหม้อนึ่งความดันที่ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.Nutriet Agar (NA)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงเชื้อทั่วไป อาจจะมีการเติมเลือดลงไปร้อยละ 10 หรือสารอื่นเพิ่มเติม

สูตรอาหาร	กรัมต่อลิตร
'Lab-Lemoco' power	1.0
Yeast Extract	2.0
Peptone	5.0
Sodium chloride	5.0
Agar	15.0

ปรับพีเอช 7.4±0.2

วิธีทำ

นำส่วนผสมทั้งหมด ใส่ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้ละลาย นำเข้าหม้อนึ่งความดัน ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3 Potato Dextrose Agar (PDA)

อาหารชนิดนี้ใช้ตรวจสอบยีสต์และรา

สูตรอาหาร	กรัมต่อลิตร
Potato extract	4.0
glucose	20.0
Agar	15.0

ปรับพีเอช 5.6±0.2

วิธีทำ

นำส่วนผสม 39 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้ละลายจะฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

4 Selective Medium

ใช้คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นออกซิเดทีฟ

สูตรอาหาร	กรัมต่อลิตร
Manitol	10.0
NH_4NO_3	0.1
KH_2PO_4	0.05
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.02
Citric acid	0.2
Span 80	0.02

วิธีทำ

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมกันในน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5 Selective medium agar

เตรียมอาหารตามข้อ 4 แต่เติมวุ้นร้อยละ 1.5-2.0 และปรับพีเอช ให้มีค่าประมาณ 7.0

6 Screening Medium

สูตรอาหาร	กรัมต่อลิตร
glucose	12.0

$NH_4 NO_3$	0.1
$KH_2 PO_4$	0.01
KCl	0.05
$MgSo_4 . 7 H_2 O$	0.02
$CaCO_3$	3.0

ผสมสารเคมีทั้งหมดเข้าด้วยกัน ยกเว้น $CaCO_3$ แยกไว้ผสมทีหลังจากที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมี

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer)

ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 8.0

วิธีการเตรียม

1 สารละลายมอนอโซเดียมฟอสเฟตที่มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์นำ NaH_2PO_4 มา 27.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2. สารละลายไดอะเบสิก โซเดียมฟอสเฟตที่มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

-นำ $Na_2HPO_4.7H_2O$ หรือ 71.7 กรัมของ $Na_2HPO_4.12H_2O$ ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ดูดสารละลายในข้อ 1 และ ข้อ 2 อย่างละ 5.3 และ 94.7 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมกันแล้ว เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

Burton, F.A., Cadmus,M.C. Lagoda,A.A, Sandford P.A and. Watsun.P.R. "Aunique Biopolymer from Rhinocladiella inamsohii Nrrl Y-6272 Prodution in 80 liter fermentors "Biotechnology and Bioengineering". 18, 1976, 1669-1677.

David, S.A, Daniel, N., Willian, R.J. " the Poly (adenylicacid) . Protein Complex is restricted to the Ponpolysomol messenger ribonucleopfrolem of Plysarum polycephalum. "Biochemistry"19,1980,1965-1970.

Dorner H.W, Cole U.H, Hill R., Wicklowd. and Cox R.H. "Penicilium rubrum and Penicillium biforme, New sources of Rugrlovasines A and B"Applied and Environmental Microbiology. 40(3). 1980:685-687

Finkelman, and Kin'ichi M. "A Protease A. "Simplified microassay for Pullulan Synthesis " Applied and environment Microbiology. 43(2), 1982, 483-485.

Guerin, Ph., C. Braud , H.P. Girault, M. vert, E. Holler, H. Fiseher, C. Windsch. In. Poly (malicacid..A funetional Poly(Bata-hydroxy acid) -type polyester available from chemical and biological synthesis., Nato AST. series Ediwin A. Dawes , Netherlonds,PP. 419-420.

Jork, Funk, Fisches, Wimmer in Thin layer Chromatography; reagents and detection Method PP. 170- 172, Federal Republic of Germany, 1990.

Juichiro, F; Hikohi T. and fzisuke T. " Strdied on Mold dextromases" J. Biochem. 69, 1971, 1113- 1121.

Juichirok. F., Hikoji Tl and Daisuko. T., Production of dextranase " J.Biochem.69,1971,1113-1121.

Kazuaki, K., Kazuhiko, K. and Yoshio N. "Campalative study of methionine effuet on cephaolsporrin production by varlaus fungi "J. Ferment technol. 55(1), 1977, 27-36.

Klausmeier,. R. E. "Results of the second inter ance biodetuioration of foashes" Int. Bidetn Bull, 8(1), 1972, 3-7.

Kyo, S. and Kin'ichi Mo " A Protease Inhibitor from Penicillium cyclopium" Agro. Biol. chem. 33(4), 1969, 544-548.

Muway, E. G.D, Denton,G.D., Stewenson,J.W. and Diena BB. " Atoxin-inaetivating Substance (NOXI Versin) from Penicillium cyanco-fulvum(Biourge). Canadium journal of Microbiology. 4,1985, 593-608.Phillippe, G., Michel,W.,Christiah, B. and Robert Q.lenz. "Drug carriers" Polymer Bull. No. 14 PP. 187 France, 1985.

Samuel, C. cate Prescott and Ceoil Gordon DUNN. Industrial Microbiology PP. 661-662 , Mxgraw-Hill book company , Inc,1994.

Slrochi, t., Yuhi, S. " glucomin acid ferin entation by Pullulans W. 28(11),1964, 752-756.

Takeshi, T. and Nobufusa S. " The production of 2-Methylisocitric acid from odd. carbon nata-alkames by a Mutant of Candida lipolytica" Agri. Biol. 39(5)1975,1049-1054

Willium, R.E. "translational Regulation of Polysome formation during dormancy of Physaurum polycepharum" J. Bacteriology 170, 1979, 490-497.