- 5 ม.ค. 2559

การสำรวจพลาสติกย่อยสลายและการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติก

Exploration of Biodegradable Plastics and Isolation of Plastic Biodegradable Microorganisms

ซัลมา ดอล่าโดย

รอยีละห์ มูซอ

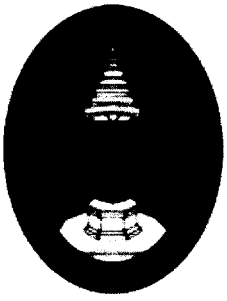
รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา (Microbiology)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

2558



ใบรับรองงานวิจัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์

ชื่อเรื่องงานวิจัย การสำรวจพลาสติกย่อยสลายและการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติก

ชื่อผู้ทำงานวิจัย นางสาวชัลมา ดอล่าโดย

นางสาวรอยีละห์ มูซอ

คณะกรรมการสอบโครงการวิจัย

.....อาจารย์ที่ปรึกษา .....กรรมการสอบ

(อาจารย์สัลวา ตอปี) (ดร. นิศากร วิทจิตสมบูรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....กรรมการสอบ

(อาจารย์สุธินี หีมยิ) (ดร. สายใจ วัฒนเสน)

คณะกรรมการประจำสาขาวิชารับรองแล้ว

.....

(ดร. สายใจ วัฒนเสน)

ประธานโปรแกรมวิชา

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทัศนา ศิริโชติ)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เมื่อวันที่..... เดือน..... พ.ศ.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ชื่อเรื่อง การสำรวจพลาสติกย่อยสลายและการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติก

ชื่อผู้ทำงานวิจัย นางสาวซัลมา ดอล่าโดย
นางสาวรอยีละห์ มูซอ

อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย อาจารย์สัลวา ตอปี และอาจารย์สุธิณี หีมยิ

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา

สถาบัน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ปีที่พิมพ์ 2558

บทคัดย่อ

ปัจจุบันพลาสติกถูกผลิตขึ้นมาใช้งานทั่วโลก เนื่องจากพลาสติกมีน้ำหนักเบา ราคาถูก ทนความชื้น จึงทำให้มีปริมาณการใช้เพิ่มอย่างชัดเจน แต่เนื่องด้วยพลาสติกมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้เป็นระยะเวลานาน ไม่เกิดการย่อยสลายจึงก่อให้เกิดปัญหาขยะพลาสติก ซึ่งส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจประเภทของพลาสติกและคัดแยกจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายพลาสติกบริเวณชายหาดเก้าเส้งถึงหาดสมิหลา จังหวัดสงขลาเป็นระยะทาง 3 กิโลเมตร จำนวน 4 จุด ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องระบุตำแหน่งบนโลก (GPS) ในการกำหนดจุดพิกัด และใช้คอร์สำหรับเก็บตัวอย่างพลาสติกในดิน พบว่ามีจำนวนพลาสติกทั้งหมด 118 ชิ้น ประกอบด้วย พอลิโพรพิลีน 55 ชิ้น พอลิสไตรีน 56 ชิ้น และ พอลิเอธิลีน 7 ชิ้น จากนั้นนำชิ้นพลาสติกแต่ละชนิดมาแยกจุลินทรีย์โดยใช้อาหารเหลว Mineral Salt Medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน มีความคล้ายกับแบคทีเรียที่จัดอยู่ในจีนัส *Bacillus* จำนวน 12 ไอโซเลท และจีนัส *Eubacterium* จำนวน 5 ไอโซเลท ส่วนพลาสติกประเภทพอลิโพรพิลีนพบแบคทีเรียที่จัดอยู่ในจีนัส *Bacillus* จำนวน 7 ไอโซเลท และจีนัส *Eubacterium* 5 ไอโซเลท สำหรับพลาสติกประเภทพอลิเอธิลีนพบเพียงแบคทีเรียกลุ่มที่มีคุณสมบัติคล้ายจีนัส *Bacillus cereus* 1 ไอโซเลท ดังนั้นแบคทีเรียในแต่ละกลุ่มที่คัดแยกได้คาดว่าน่าจะมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในการผลิตเอ็นไซม์เพื่อย่อยพลาสติกที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมต่อไป

คำสำคัญ : จุลินทรีย์, พลาสติก, พอลิสไตรีน, พอลิโพรพิลีน, พอลิเอธิลีน

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอขอบพระคุณอาจารย์สัลวา ตอปี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย และอาจารย์สุธินี หีมยิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการวิจัย ที่กรุณาเสียสละเวลาในการให้คำปรึกษา แนะนำแนวทาง วิธีการ และขั้นตอนการศึกษา ตลอดจนการตรวจทานแก้ไขงานวิจัยนี้มีความสมบูรณ์ ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.นิศากร วิทจิตสมบูรณ์ อาจารย์ประจำวิชาวิจัยเฉพาะทาง และคณาจารย์ในโปรแกรมทุกท่านที่ให้ข้อเสนอแนะในการแก้ไขจุดบกพร่องต่างๆ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยอุปถัมภ์ในเรื่องกำลังทรัพย์และคอยให้กำลังใจตลอดมา ขอบคุณเพื่อนๆนักศึกษาโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คุณปริญญา ทับเที่ยง คุณสุไวดา สัสดี และคุณอาซือนะ บูเก๊ะเจ๊ะลี ที่ช่วยในการดำเนินงาน และความสะดวกตลอดมา ทำให้ผู้วิจัยมีความมานะที่จะให้ผลงานออกมาดีที่สุดและสุดท้ายนี้ขอขอบคุณสำนักวิทยาบริการมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลและสถานที่การตรวจสอบเอกสารการทำวิจัยครั้งนี้ให้ลุล่วงได้ด้วยดี

ซัลมา ดอล่าโดย

รอยีละห์ มูซอ

เลข Bar# 1136879
วันที่ 3 ก.พ. 2564
ค
5ว9
ช 117 ก

สารบัญ

		หน้า
	บทคัดย่อ	**(ก)**
	กิตติกรรมประกาศ	**(ข)**
	สารบัญ	**(ค)**
	สารบัญตาราง	**(จ)**
	สารบัญภาพ	**(ฉ)**
บทที่ 1	**บทนำ**	**1**
	ความสำคัญ	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
	ขอบเขตของการวิจัย	2
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	**3**
	พลาสติก	3
	กระบวนการผลิตเม็ดพลาสติก	3
	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์โพลิเมอร์	4
	ประเภทและการใช้งาน	5
	ประเภทของพลาสติก	6
	พลาสติกและสิ่งแวดล้อม	8
	การย่อยสลายของพลาสติก	11
	ลักษณะสภาพของหาดเก้าเส้งและแหลมสนอ่อน	13
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินการวิจัย**	**16**
	อุปกรณ์และสารเคมี	16
	วิธีการดำเนินการวิจัย	18
บทที่ 4	**ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย**	**20**
	การแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างพลาสติก	20
	การจัดจำแนกชนิดจุลินทรีย์	23
	การนับจำนวนพลาสติกที่ย่อยสลาย	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	**30**
สรุปผลการวิจัย	30
ข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	**31**
ภาคผนวก	**34**
ประวัติย่อของผู้วิจัย	**48**

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงความแตกต่างระหว่างเทอร์โทพลาสติกและเทอร์โมเซต	6
4.1	ลักษณะของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากพลาสติกบนอาหาร Nutrient agar	21
4.2	การทดสอบชีวเคมีของจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์	24
4.3	การทดสอบชีวเคมีของจุลินทรีย์ที่ไม่สร้างสปอร์	25
4.4	ประเภทและจำนวนพลาสติก	27

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	พื้นที่เก็บตัวอย่างพลาสติก	18
4.1	ลักษณะของจุลินทรีย์บนอาหาร Nutrient agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	26
4.2	ประเภทพลาสติกโพลิโพรพิลีน	28
4.3	ลักษณะพลาสติกย่อยสลายประเภทพอลิสไตรีน ชนิดถ้วยโฟม	29
4.4	ลักษณะพลาสติกย่อยสลายประเภทพอลิเอธิลีน ชนิดถ้วยโฟมลัง	29

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ที่มาและความสำคัญของปัญหา

พลาสติกนับเป็นวัสดุที่มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางทั้งในรูปของผลิตภัณฑ์ของใช้และบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ รวมถึงอุปกรณ์สำหรับทางการแพทย์และการเกษตร ปัจจุบันพลาสติกถูกผลิตขึ้นมาใช้งานทั่วโลกมากกว่า 200 ล้านตันต่อปี เนื่องจากพลาสติกมีน้ำหนักเบา ราคาถูก ทนความชื้น และสามารถขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์รูปร่างต่างๆ ได้ง่ายกว่าวัสดุชนิดอื่นๆ เช่น แก้ว หรือโลหะ จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงทำให้มีปริมาณการใช้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน แต่เนื่องด้วยพลาสติกมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้เป็นระยะเวลานาน ไม่เกิดการย่อยสลาย และส่วนใหญ่ถูกออกแบบมาโดยไม่คำนึงถึงการกำจัดภายหลังเสร็จสิ้นการใช้งานและมักจะถูกนำมาใช้เพียงครั้งเดียว หลังจากนั้นจะถูกทิ้งเป็นขยะ ดังนั้นจึงก่อให้เกิดปัญหาขยะพลาสติกซึ่งส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม เช่น มีผลต่อทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งซึ่งพบว่า ปัญหาในท้องทะเลและริมชายฝั่งส่วนใหญ่มาจากขยะพลาสติก ที่ย่อยสลายยากทำให้ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศน์และสร้างความเสียหายให้กับเรือประมงและเครื่องมือประมง ตลอดจนส่งผลต่อจำนวนสัตว์ทะเลหายาก รวมถึงสัตว์หน้าดินที่ได้รับบาดเจ็บจากการกินขยะพลาสติกทำให้ระบบทางเดินอาหารอุดตัน ส่งผลให้สัตว์ทะเลและสัตว์หน้าดินต้องตายเป็นจำนวนมาก (จตุพร บุรุษพัฒน์, 2552) จากปัญหาดังกล่าวจึงควรมีการสำรวจประเภทขยะพลาสติกบริเวณชายฝั่งเพื่อหาวิธีป้องกันและกำจัดขยะพลาสติกดังกล่าว

การกำจัดขยะพลาสติกด้วยวิธีการใช้จุลินทรีย์ทำให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติกซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยฟื้นฟูสภาพแวดล้อมได้รวดเร็วกว่าการปล่อยให้พลาสติกต่างๆ สลายตัวไปเองตามธรรมชาติ และยังเป็นวิธีการกำจัดพลาสติกตกค้างอย่างถาวรและไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น เช่น การใช้สารเคมีชนิดอื่นทำลาย การเผา หรือฝังกลบ และมีความปลอดภัยมากกว่า โดยอาศัยกิจกรรมที่หลากหลายของจุลินทรีย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจประเภทพลาสติกที่ผ่านการย่อยสลายตามธรรมชาติและการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติกเพื่อลดปัญหาการกำจัดขยะพลาสติกที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมให้น้อยลง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อสำรวจประเภทของพลาสติกที่ผ่านการย่อยสลายตามธรรมชาติบริเวณชายหาดเก้าเส้งถึงชายหาดสมิหลา

1.2.2 เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติกได้

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองโดยเริ่มต้นจากการสำรวจประเภทพลาสติกที่ผ่านการย่อยสลายตามธรรมชาติและเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำมาคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติก ซึ่งเก็บตัวอย่างพลาสติกที่ย่อยสลายตามธรรมชาติจากบริเวณชายหาดเก้าเส้งถึงชายหาดสมิหลาในเขตอำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ระยะทางประมาณ 3 กิโลเมตร โดยสุ่มการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 4 จุด จุดละ 3 ซ้ำ โดยกำหนดตัวแปรต่างๆ ดังนี้

ตัวแปรต้น : พลาสติกที่ผ่านการย่อยสลายตามธรรมชาติ

ตัวแปรตาม : จุลินทรีย์ที่แยกจากพลาสติก, ประเภทของพลาสติก

ตัวแปรควบคุม : อุณหภูมิ, pH, อาหารเลี้ยงเชื้อ, ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบชนิดและประเภทของพลาสติกที่ย่อยสลายบริเวณชายหาด
2. ทราบชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพลาสติก

1.5 ระยะเวลาในการทำวิจัย

เดือน กันยายน พ.ศ. 2557 ถึง เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2558

1.6 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พลาสติก (Plastic)

พลาสติกเป็นวัสดุที่มนุษย์คิดค้นและประดิษฐ์ขึ้นในช่วงกลางศตวรรษที่ 19 เพื่อช่วยให้การดำรงชีวิตของมนุษย์มีความสะดวกสบายยิ่งขึ้น ซึ่งก่อนหน้านั้นมนุษย์ไม่เคยรู้จักพลาสติก วัสดุดั้งเดิมที่มนุษย์คุ้นเคยและใช้อยู่ทั่วไปในชีวิตประจำวันในยุคก่อนหน้านี้ล้วนเป็นวัสดุจากธรรมชาติ เช่น แก้ว ไม้ กระดาษ โลหะ ยาง หรือ ขนสัตว์ สิ่งเหล่านี้สามารถเป็นวัสดุที่ตอบสนองความต้องการของมนุษย์ได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามมนุษย์ยังคงพยายามค้นหาวัสดุใหม่ๆ มาใช้งานอยู่เสมอ พลาสติกจัดเป็นสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงต่อกันหลายๆชุดจนเป็นโมเลกุลสายยาว ประกอบด้วยธาตุสำคัญ คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน นอกจากนี้อาจมีธาตุอื่นๆเป็นส่วนประกอบย่อย ซึ่งได้แก่ ไนโตรเจน ฟลูออรีน คลอรีน และกำมะถัน เป็นต้น

บางครั้งพบว่ามีการใช้คำว่า "พลาสติก" และ "โพลิเมอร์" ในความหมายเดียวกัน หรือใกล้เคียงกัน แต่คำว่า "โพลิเมอร์" มักจะหมายถึงวัสดุประเภทพลาสติก ยาง เส้นใย และกาว ส่วนคำว่า "พลาสติก" จะหมายถึงสารผสมระหว่างโพลิเมอร์และสารเติมแต่ง เช่น สี สารพลาสติกไซเซอร์ สารเพิ่มความคงตัว และฟิลเลอร์ ที่ถูกนำมาใช้งานเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป โดยการขึ้นรูปให้มีรูปทรงต่างๆ เช่น ถัง จาน และช้อน เป็นต้น หากแปลตามรากศัพท์คำว่า โพลิเมอร์ (polymer) มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ คำว่า poly แปลว่ามาก และคำว่า mer แปลว่าหน่วย โพลิเมอร์จึงแปลว่า สารที่มีโมเลกุลประกอบด้วยหน่วยซ้ำๆ กันต่อกันเป็นสายยาวๆ

2.2 กระบวนการผลิตเม็ดพลาสติก

พลาสติกที่ใช้กันมากในปัจจุบันอยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ถุง กล่อง ท่อ แผ่นฟิล์ม ส่วนมากมีแหล่งวัตถุดิบจากปิโตรเลียม ซึ่งรวมถึงน้ำมันดิบ และก๊าซธรรมชาติ ซึ่งเป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติใต้ผิวดิน และมีความสำคัญต่อชีวิตมนุษย์เพราะเป็นทั้งแหล่งพลังงานและแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตวัสดุสังเคราะห์ต่างๆ ปิโตรเลียมจะอยู่ในสถานะก๊าซ ของเหลว หรือของแข็ง ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความดัน และจำนวนหรือการจัดเรียงตัวของคาร์บอนในโมเลกุล โดยทั่วไปสารไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอนไม่เกิน 4 อะตอม จะมีสถานะเป็นก๊าซ ถ้ามีจำนวนคาร์บอนระหว่าง 5-19 อะตอม จะมีสถานะเป็นของเหลว และถ้ามีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 อะตอมขึ้นไป จะมีสถานะเป็นของแข็ง การกลั่นลำดับส่วนน้ำมันดิบทำให้เราสามารถแยกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนออกเป็นส่วนต่างๆ ซึ่งพบว่ามีปริมาณสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสายยาวเกินกว่าความต้องการใช้งานเหลืออยู่ปริมาณมาก แต่กลับมี

สารประกอบไฮโดรคาร์บอนสายสั้นที่มีการนำไปใช้ประโยชน์มากกว่าอยู่น้อย จึงต้องนำสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เกินความต้องการมาผ่านกระบวนการแยกสลายเพื่อตัดความยาวให้สั้นลง ได้เป็นสารประกอบขนาดเล็ก เช่น ก๊าซเอทธิลีนและโพรพิลีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลาสติกบางชนิดโดยก๊าซเหล่านี้จะถูกส่งต่อไปยังโรงงานผลิตเม็ดพลาสติก

กระบวนการผลิตเม็ดพลาสติกเริ่มต้นจากการนำสารประกอบไฮโดรคาร์บอนทีมีขนาดเล็กซึ่งได้จากกลั่นลำดับส่วนน้ำมันดิบมาทำปฏิกิริยากันจนได้เป็นสายโซ่ยาว เรียกว่าโพลิเมอร์ ซึ่งโพลิเมอร์แต่ละชนิดสังเคราะห์โดยใช้วัตถุดิบเริ่มต้นที่แตกต่างกันไป ทำให้โพลิเมอร์มีสมบัติที่แตกต่างกันออกไปด้วย โดยโพลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้นี้ จะถูกนำไปขึ้นรูปเป็นเม็ดพลาสติกและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ต่อไป ตัวอย่างเช่น การผลิตเม็ดพลาสติกโพลิเอทธิลีน (PE) โดยเริ่มต้นจากก๊าซเอทธิลีนซึ่งถูกเก็บในถังปฏิกิริยา เมื่อเติมตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสม จะเกิดปฏิกิริยาขึ้น โมเลกุลขนาดเล็กๆ จำนวนมากจะเข้ามาต่อกันเป็นโมเลกุลที่ยาวมากๆ ได้โพลิเอธิลีนที่มีสมบัติเหมาะสมสำหรับนำไปขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ขวด ถุง และของเล่น เป็นต้น

2.3 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์โพลิเมอร์

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์โพลิเมอร์ หรือโดยทั่วไปเรียกว่าปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชั่น (polymerization) คือปฏิกิริยาเคมีที่ทำให้โมโนเมอร์ของโมเลกุลเล็กๆ เกิดปฏิกิริยาเชื่อมต่อกันเป็นสายโซ่ยาวๆ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.3.1 การสังเคราะห์โพลิเมอร์แบบลูกโซ่ หรือกระบวนการสังเคราะห์แบบรวมตัว

เป็นการนำเอาโมโนเมอร์ซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและไม่อิ่มตัวคือมีพันธะคู่ หรือพันธะสามอยู่ในโมเลกุลมาทำปฏิกิริยาซึ่งกันและกันจนได้เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ ซึ่งการทำปฏิกิริยาเริ่มต้นจากโมเลกุลที่มีพันธะคู่หรือพันธะสามจะถูกความร้อนและตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ที่เหมาะสม ทำให้พันธะ 1 พันธะแตกออกซึ่งว่องไวในการทำปฏิกิริยายึดติดกับพันธะที่แตกออกของโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงกัน เกิดการต่อกันที่ละโมเลกุลจนได้โมเลกุลใหม่ที่มีลักษณะเป็นเป็นสายโซ่ที่ยาวขึ้น การสังเคราะห์โพลิเมอร์แบบนี้ไม่มีผลิตภัณฑ์อื่นๆ หลุดออกมา ทำให้จำนวนอะตอมของธาตุในหน่วยซ้ำของโพลิเมอร์เท่ากับจำนวนอะตอมในโมเลกุลของโมโนเมอร์ ตัวอย่างพลาสติกที่เกิดจากการสังเคราะห์โพลิเมอร์แบบนี้ ได้แก่ โพลิไวลิลครอไรด์ โพลิโพรพิลีน และโพลิเอทธิลีน เป็นต้น

2.3.2 การสังเคราะห์โพลิเมอร์แบบขั้น หรือควบแน่น

กระบวนการสังเคราะห์แบบควบแน่นเกิดจากโมโนเมอร์ 2 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีหมู่ฟังก์ชันเหมือนกันอย่างน้อย 2 หมู่ที่ปลายสุดของโมเลกุล หรืออาจเกิดจากโมโนเมอร์เพียง 1 ชนิดที่มีหมู่ฟังก์ชันแตกต่างกันอย่างน้อย 2 หมู่ที่ปลายสุดของโมเลกุล ที่สามารถทำปฏิกิริยากันระหว่างหมู่ฟังก์ชันอย่างต่อเนื่องได้ผลิตภัณฑ์เป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ การสังเคราะห์โพลิเมอร์แบบนี้ส่วนใหญ่จะเกิดสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเช่น H_2O HCl และ CH_3OH เป็นผลพลอยได้ (by

product) เป็นสาเหตุให้จำนวนอะตอมของธาตุในหน่วยซ้ำของโพลิเมอร์มักน้อยกว่าจำนวนอะตอมในโมเลกุลของโมโนเมอร์ ตัวอย่างพลาสติกที่เกิดจากการสังเคราะห์ด้วยกระบวนการควบแน่น ได้แก่ ไนลอน และโพลิเอสเทอร์ เป็นต้น

2.4 ประเภทและการใช้งาน

การแบ่งประเภทของพลาสติกตามสมบัติทางความร้อนสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

2.4.1 เทอร์โมพลาสติก (Thermoplastic)

โพลิเมอร์ประเภทนี้จะมีโครงสร้างโมเลกุลของสายโซ่โพลิเมอร์เป็นแบบเส้นตรงหรือแบบกิ่งสั้นๆ สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายบางชนิด เมื่อได้รับความร้อนจะอ่อนตัว และหลอมเหลวเป็นของเหลวหนืดเนื่องจากโมเลกุลของโพลิเมอร์ที่พันกันอยู่สามารถเคลื่อนที่ผ่านกันไปมาได้ง่ายขึ้นเมื่อได้รับความร้อน และเมื่อเย็นตัวลงก็จะแข็งตัว ซึ่งการหลอมเหลวและเย็นตัวนี้ สามารถเกิดกลับไปกลับมาได้โดยไม่ทำให้สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ หรือโครงสร้างของโพลิเมอร์เปลี่ยนไปมากนัก พลาสติกประเภทนี้สามารถขึ้นรูปโดยการฉีดขณะที่พลาสติกถูกทำให้อ่อนตัวและไหลได้ด้วยความร้อนและความดันเข้าไปในแม่แบบที่มีช่องว่างเป็นรูปร่างตามต้องการ ภายหลังจากที่พลาสติกไหลเข้าจนเต็มแม่พิมพ์จะถูกทำให้เย็นตัว และถอดออกจากแม่พิมพ์ ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรูปร่างตามต้องการ สามารถนำไปใช้งานได้ เมื่อใช้เสร็จแล้วสามารถนำกลับมารีไซเคิลได้โดยการบด และหลอมด้วยความร้อนเพื่อขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ได้อีก แต่พลาสติกประเภทนี้มีข้อเสียและขีดจำกัดของการใช้งาน คือไม่สามารถใช้งานที่อุณหภูมิสูงได้ เพราะอาจเกิดการบิดเบี้ยวหรือเสียรูปทรงไป ตัวอย่างเช่น ขวดน้ำดื่มไม่เหมาะสำหรับใช้บรรจุน้ำร้อนจัดหรือน้ำเดือด

2.4.2 เทอร์โมเซตติ้ง (Thermosetting)

โพลิเมอร์ประเภทนี้จะมีโครงสร้างเป็นแบบร่างแห ซึ่งจะหลอมเหลวได้ในขั้นตอนการขึ้นรูปครั้งแรกเท่านั้น ซึ่งในขั้นตอนนี้จะมีปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นทำให้เกิดพันธะเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล ทำให้โพลิเมอร์มีรูปร่างที่ถาวร ไม่สามารถหลอมเหลวได้อีกเมื่อได้รับความร้อน และหากได้รับความร้อนสูงเกินไป จะทำให้พันธะระหว่างอะตอมในโมเลกุลแตกออก ได้สารที่ไม่มีสมบัติของความเป็นโพลิเมอร์ต่อไป การผลิตพลาสติกชนิดเทอร์โมเซตจะแตกต่างจากพลาสติกชนิดเทอร์โมพลาสติกคือ ในขั้นตอนแรกต้องทำให้เกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันเพียงบางส่วน มีการเชื่อมโยงโมเลกุลเกิดขึ้นบ้างเล็กน้อย และยังสามารถหลอมเหลวเมื่อได้รับความร้อน จึงสามารถขึ้นรูปภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูงได้ เมื่อผลิตภัณฑ์มีรูปร่างตามต้องการแล้ว ให้คงอุณหภูมิไว้ประมาณ 200-300 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้โครงสร้างแบบร่างแหที่เสถียรและแข็งแรง สามารถนำผลิตภัณฑ์ออกจากแบบโดยไม่ต้องรอให้เย็น เนื่องจากผลิตภัณฑ์จะแข็งตัวอยู่ภายในแม่พิมพ์ ดังนั้นการให้ความร้อนในกระบวนการผลิตพลาสติกเทอร์โมเซตกลับทำให้วัสดุแข็งขึ้น ต่างจากกระบวนการผลิตพลาสติกเทอร์โมพลาสติที่การให้ความร้อนจะทำให้พลาสติกนิ่ม และหลอมเหลว พลาสติกเทอร์โมเซตเมื่อใช้งานเสร็จแล้วไม่สามารถนำมาผ่านการหลอมและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่หรือรี

ไซเคิล (recycle) ได้อีก และถ้าให้ความร้อนมากเกินไป จะทำให้พลาสติกเกิดการสลายตัวหรือไหม้ โดยไม่เกิดการหลอมเหลว ตัวอย่างของพลาสติกในกลุ่มนี้เช่น เบคเคอไลต์ และเมลามีน เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 แสดงความแตกต่างระหว่างเทอร์โมพลาสติกและเทอร์โมเซต

เทอร์โมพลาสติก	เทอร์โมเซต
1. เป็นโพลิเมอร์แบบเส้นหรือแบบกิ่ง	1. เป็นโพลิเมอร์แบบเชื่อมโยงหรือแบบร่างแห
2. จะอ่อนตัวหรือหลอมเหลวเมื่อได้รับความร้อน	2. จะแข็งตัวเมื่อได้รับความร้อน
3. ต้องทำให้เย็นก่อนเอาออกจากแม่แบบมิฉะนั้นจะเสียรูปทรงได้	3. ไม่ต้องรอให้เย็นก่อนเอาออกจากแม่แบบ
4. ไม่เกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชันในแม่พิมพ์	4. เกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชันในแม่พิมพ์
5. นำมารีไซเคิลโดยการหลอมและขึ้นรูปใหม่ได้	5. ไม่สามารถนำมารีไซเคิลได้

2.5 ประเภทของพลาสติก

พลาสติกที่ถูกนำมาใช้ในปริมาณมากในปัจจุบันมีอยู่หลายชนิดที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ จึงมีการใส่สัญลักษณ์ตัวเลขเพื่อให้ง่ายต่อการแบ่งประเภทของพลาสติก ตัวเลขทั้ง 7 ตัวนี้ จะอยู่ในสัญลักษณ์รูปสามเหลี่ยมที่มีลูกศรสามตัววิ่งตามกันและมักพบบริเวณก้นของภาชนะพลาสติก

2.5.1 โพลิเอทธิลีนเทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate, PET)

PET ทนแรงกระแทก ไม่เปราะแตกง่าย สามารถทำให้ใสมาก มองเห็นสิ่งที่บรรจุอยู่ภายในจึงนิยมใช้บรรจุน้ำดื่ม น้ำมันพืช และเครื่องสำอาง นอกจากนี้ขวด PET ยังมีสมบัติป้องกันการแพร่ผ่านของก๊าซได้เป็นอย่างดี จึงใช้เป็นภาชนะบรรจุน้ำอัดลม PET สามารถนำกลับมารีไซเคิลใช้ใหม่ได้ โดยนิยมนำมาผลิตเป็นเส้นใยสำหรับทำเสื้อกันหนาว พรม และเส้นใยสังเคราะห์สำหรับยัดหมอน หรือเสื้อสำหรับเล่นสกี

2.5.1 โพลิเอทธิลีนความหนาแน่นสูง (High density polyethylene, HDPE)

HDPE โพลิเอทธิลีนชนิดหนาแน่นสูงมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นสายตรง ค่อนข้างแข็งแต่ยืดได้มาก ไม่แตกง่าย ส่วนใหญ่ทำให้มีสีสันสวยงาม ยกเว้นขวดที่ใช้บรรจุน้ำดื่ม ซึ่งจะขุ่นกว่าขวด PET ราคาถูกขึ้นรูปได้ง่าย ทนสารเคมีจึงนิยมใช้ทำบรรจุภัณฑ์สำหรับน้ำยาทำความสะอาด แชมพูสระผม แป้งเด็ก และถุงหูหิ้ว นอกจากนี้ภาชนะที่ทำจาก HDPE ยังมีสมบัติป้องกันการแพร่ผ่านของความชื้นได้ดี จึงใช้เป็น

ขวดนมเพื่อยืดอายุของนมให้นานขึ้น HDPE สามารถนำกลับมารีไซเคิลเพื่อผลิตขวดต่างๆ เช่น ขวดใส่น้ำยาซักผ้า แท่งไม้เทียมเพื่อใช้ทำรั้วหรือม้านั่งในสวน

2.5.3 โพลิไวนิลคลอไรด์ (Polyvinyl chloride, PVC)

PVC เป็นพลาสติกแข็งใช้ทำท่อ เช่น ท่อน้ำประปา แต่สามารถทำให้นิ่มโดยใส่สารพลาสติกไซเซอร์ ใช้ทำสายยางใส แผ่นฟิล์มสำหรับห่ออาหาร ม่านในห้องอาบน้ำ แผ่นกระเบื้องยาง แผ่นพลาสติกปูโต๊ะ ขวดใส่แชมพูสระผม PVC เป็นพลาสติกที่มีสมบัติหลากหลาย สามารถนำมาใช้ผลิตผลิตภัณฑ์อื่นได้อีกมาก เช่น ประตู หน้าต่าง วงกบ และหนังเทียม PVC สามารถนำกลับมารีไซเคิล เพื่อผลิตท่อประปาสำหรับการเกษตร กรวยจราจร และเฟอร์นิเจอร์ หรือม้านั่งพลาสติก

2.5.4 โพลิเอทธิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene, LDPE)

LDPE เป็นพลาสติกที่นิ่ม สามารถยืดตัวได้มาก มีความใส นิยมนำมาทำเป็นฟิล์มสำหรับห่ออาหารและห่อของถุงใส่ขนมปัง และถุงเย็นสำหรับบรรจุอาหาร LDPE สามารถนำกลับมารีไซเคิลใช้ใหม่ได้ โดยใช้ผลิตเป็นถุงดำสำหรับใส่ขยะ ถุงหูหิ้ว หรือถังขยะ

2.5.5 โพลิโพรพิลีน (Polypropylene, PP)

PP เป็นพลาสติกที่แข็ง ทนต่อแรงกระแทกได้ดี ทนต่อสารเคมี ความร้อน และน้ำมัน ทำให้มีสีสันสวยงามได้ ส่วนใหญ่นิยมนำมาทำภาชนะบรรจุอาหาร เช่น กล่อง ชาม จาน ถัง ตะกร้า หรือกระบอกสำหรับใส่น้ำแช่เย็น PP สามารถนำกลับมารีไซเคิลใช้ใหม่ได้ โดยนิยมผลิตเป็นกล่องแบตเตอรี่รถยนต์ ชิ้นส่วนรถยนต์ เช่น กันชน และกรวยสำหรับน้ำมัน

2.5.6 โพลิสไตรีน (Polystyrene, PS)

PS เป็นพลาสติกที่แข็ง ใส แต่เปราะ และแตกง่าย ราคาถูก นิยมนำมาทำเป็นภาชนะบรรจุของใช้ เช่น เทปเพลง สำลี หรือของแห้ง เช่น หมูแผ่น หมูหยอง และคุ้กกี้ เนื่องจาก PS เปราะและแตกง่าย จึงไม่นิยมนำพลาสติกประเภทนี้มาบรรจุน้ำดื่มหรือแชมพูสระผม เนื่องจากอาจลื่นตกแตกได้ มีการนำพลาสติกประเภทนี้มาใช้ทำภาชนะหรือถาดโฟมสำหรับบรรจุอาหาร โฟมจะมีน้ำหนักที่เบามาก เนื่องจากประกอบด้วย PS ประมาณ 2-5 % เท่านั้น ส่วนที่เหลือเป็นอากาศที่แทรกอยู่ในช่องว่าง PS สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยนิยมผลิตเป็นไม้แขวนเสื้อ กล่องวีดีโอ ไม้บรรทัด หรือ ของใช้อื่นๆ

2.5.7 พลาสติกอื่นๆ ที่ไม่ใช่6 ชนิดแรก หรือไม่ทราบว่าเป็นพลาสติกชนิดใด

ปัจจุบันเรามีพลาสติกหลายชนิดให้เลือกใช้ พลาสติกที่ใช้ในครัวเรือนส่วนใหญ่สามารถนำกลับมารีไซเคิลเพื่อหลอมใช้ใหม่ได้ การมีสัญลักษณ์ตัวเลข ทำให้เราสามารถแยกพลาสติกออกเป็นชนิดต่างๆ เพื่อนำกลับมารีไซเคิลใช้ใหม่ได้ง่ายขึ้น สำหรับพลาสติกในกลุ่มที่ 7 เป็นพลาสติกชนิดอื่นที่ไม่ใช่ 6 ชนิดแรก นอกจะมีตัวเลขระบุแล้ว ควรใส่สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษระบุชนิดของพลาสติกนั้นๆ ไว้ เพื่อสะดวกในการแยกและนำกลับมารีไซเคิล เช่น โพลิคาร์บอเนต (Polycarbonate, PC)

2.6 พลาสติกและสิ่งแวดล้อม

2.6.1 พลาสติกรีไซเคิล

พลาสติกเป็นวัสดุที่เข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของเราเป็นอย่างมากและมีแนวโน้มการใช้งานที่เพิ่มมากขึ้นเพราะใช้ทดแทนทรัพยากรธรรมชาติ เช่น ไม้และเหล็กได้เป็นอย่างดี และมีราคาถูก น้ำหนักเบาสามารถผลิตให้มีสมบัติต่างๆ ตามที่ต้องการได้จากการเลือกชนิดของวัตถุดิบ ปฏิกิริยาเคมี กระบวนการผลิตและกระบวนการขึ้นรูป นอกจากนี้ยังสามารถปรุงแต่งสมบัติได้ง่ายโดยการเติมสารเติมแต่ง (Additives) เช่น สารเสริมสภาพพลาสติก (Plasticizer) สารปรับปรุงคุณภาพ (Modifier) สารเสริม (Filler) สารคงสภาพ (Stabilizer) สารยับยั้งปฏิกิริยา (Inhibitor) สารหล่อลื่น (Lubricant) และผงสี (Pigment) เป็นต้น

ด้วยเทคโนโลยีการผลิตที่ก้าวหน้า และทันสมัยในปัจจุบันทำให้เรามีผลิตภัณฑ์พลาสติกหลากหลายรูปแบบ และสีสันให้เลือกใช้อย่างมากมาย ด้วยสมบัติที่โดดเด่นหลายด้านทำให้พลาสติกได้รับการยอมรับอย่างรวดเร็วและมีปริมาณการใช้งานเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้เกิดขยะพลาสติกในปริมาณสูงมากขึ้นตามด้วย ดังนั้นการนำพลาสติกกลับมาใช้ใหม่หรือการ รีไซเคิลจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เพราะนอกจากจะช่วยลดปริมาณขยะพลาสติกแล้วยังเป็นการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่าอีกด้วย การพัฒนาทางเทคโนโลยีในช่วงหลายปีที่ผ่านมาทำให้การรีไซเคิลพลาสติกมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี โดยแบ่งเป็น 4 ประเภทหลัก คือ การรีไซเคิลแบบปฐมภูมิ (Primary recycling) การรีไซเคิลแบบทุติยภูมิ (Secondary - recycling) การ รีไซเคิลแบบตติยภูมิ (Tertiary recycling) และการ รีไซเคิลแบบจตุภูมิ (Quaternary - recycling)

2.6.1.1 การรีไซเคิลแบบปฐมภูมิ

เป็นการนำขวดหรือเศษพลาสติกที่เป็นประเภทเดียวกัน และไม่มีสิ่งปนเปื้อนที่เกิดในกระบวนการผลิตหรือขึ้นรูปกลับมาใช้ซ้ำภายในโรงงาน โดยสามารถนำมาใช้ซ้ำทั้งหมดหรือเติมผสมกับเม็ดใหม่ที่อัตราส่วนต่างๆ

2.6.1.2 การรีไซเคิลแบบทุติยภูมิ

การรีไซเคิลแบบทุติยภูมิหรือกระบวนการหลอมขึ้นรูปใหม่ เป็นการนำพลาสติกที่ผ่านการใช้งานแล้วมาทำความสะอาด บด หลอมและขึ้นรูปกลับไปเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกอีกครั้ง การรีไซเคิลแบบทุติยภูมินี้ยังสามารถแบ่งย่อยได้เป็นหลายเทคนิค คือ

- การรีไซเคิลเชิงกล (Mechanical recycling)

เป็นเทคนิคที่ง่ายและนิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบัน โดยการเก็บพลาสติกที่ผ่านการใช้งานแล้วมาคัดแยกตามประเภท และสีมาล้างทำความสะอาดก่อนนำมาบดเป็นชิ้นเล็กๆ และหลอมเป็นเม็ดพลาสติกเกรดสองหรือเม็ดพลาสติกรีไซเคิลเพื่อนำกลับไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็น

ผลิตภัณฑ์ใหม่หรือนำมาผสมกับเม็ดใหม่เพื่อให้ได้สมบัติที่ต้องการก่อนนำไปผ่านกระบวนการขึ้นรูป โดยคุณภาพของเม็ดพลาสติกรีไซเคิลนี้จะเป็นตัวกำหนดการนำไปใช้งานและปริมาณการผสมที่ต้องการ ปัญหาในกระบวนการรีไซเคิลพลาสติกคือหลังจากผ่านกระบวนการรีไซเคิลในแต่ละครั้งพลาสติกจะมีคุณภาพต่ำลงปฏิกิริยาการขาดของสายโซ่โมเลกุลของ ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในเกิดประโยชน์สูงสุด และมีราคาถูกลงเรื่อยๆ จนบางครั้งไม่คุ้มต่อการลงทุน สาเหตุที่สำคัญเนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของสิ่งสกปรก ฉลากเล็กๆ หรือ เศษกาวทำให้เม็ดพลาสติกรีไซเคิลมีสีเข้มขึ้นหรือ มีความใสลดลง นอกจากนี้ความชื้นในพลาสติก และความร้อนที่ใช้ในการหลอมพลาสติกยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการสลายตัวหรือเกิดการขาดของสายโซ่โมเลกุลของโพลิเมอร์ที่ใช้ทำพลาสติก ทำให้เม็ดพลาสติกรีไซเคิลมีสีเหลืองและมีสมบัติเชิงกลลดลงด้วย

- การปรับปรุงโดยวิธีทางเคมี (Chemical modification)

เนื่องจากเม็ดพลาสติกรีไซเคิลมีข้อจำกัดในด้านสมบัติ การขึ้นรูปและการใช้งาน ดังนั้น การปรับปรุงโดยวิธีการทางเคมีจะช่วยลดข้อจำกัดดังกล่าวหรือทำให้เม็ดรีไซเคิลมีลักษณะใกล้เคียงกับเม็ดใหม่ได้ การปรับปรุงนี้สามารถใช้ได้กับทั้งพลาสติกชนิดเดียวหรือพลาสติกผสม ถ้าเป็นพลาสติกชนิดเดียวก็จะใช้การเติมสารเคมีหรือใช้วิธีการผ่านด้วยรังสี แต่ถ้าเป็นพลาสติกผสมมักใช้สารช่วยในการผสมให้เข้ากันที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่า Compatibilizer

- การหลอมอัดรีดร่วมและการฉีดร่วม (Coextrusion and Coinjection moulding)

เป็นอีกเทคนิคหนึ่งของการรีไซเคิลแบบทุติยภูมิซึ่งเหมาะสำหรับใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์ที่ต้องสัมผัสกับอาหาร ผลิตภัณฑ์พลาสติกที่ผลิตได้จากกระบวนการนี้จะมีลักษณะโครงสร้างเป็นชั้นๆ เหมือนแซนด์วิช โดยที่ผิวหน้าเป็นชั้นที่ผลิตจากพลาสติกใหม่ซึ่งมีความต้านทานต่อแรงดึงสูง ป้องกันการขีดข่วนได้ดีและมีสีสันน่าใช้ ส่วนชั้นกลางเป็นชั้นของพลาสติกรีไซเคิล

2.6.1.3 การรีไซเคิลแบบตติยภูมิ

การรีไซเคิลแบบตติยภูมิแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ การรีไซเคิลทางเคมีและทางความร้อน

1) การรีไซเคิลทางเคมี (Chemical recycling)

เป็นกระบวนการที่ทำให้โครงสร้างสายโซ่ของพอลิเมอร์เกิดการขาดหรือแตกออก (Depolymerisation) ได้มอนอเมอร์ (Monomer) หรือโอลิโกเมอร์ (Oligomer) เป็นผลิตภัณฑ์เมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการกลั่นและตกผลึกได้เป็นสารตั้งต้นที่มีคุณภาพสูงซึ่งสามารถนำไปใช้ผลิตเป็นเพทได้ใหม่

2) การรีไซเคิลทางความร้อน (Thermolysis)

โครงสร้างของเพทสามารถเกิดการแตกหรือขาดได้โดยใช้ความร้อน เรียกว่า Thermolysis แบ่งออกได้เป็น 3 วิธี คือ แบบไม่ใช้ออกซิเจน (Pyrolysis)แบบใช้ออกซิเจน (Gasification) และ การเติมไฮโดรเจน (Hydrogenation)

- Pyrolysis เป็นกระบวนการที่ทำให้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการแตกออกโดยใช้ความร้อนแบบไม่ใช้ออกซิเจน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการควบแน่นเป็น ของเหลวที่เรียกว่า น้ำมันดิบสังเคราะห์ (Synthetic crude oil) สามารถนำกลับไปใช้ในโรงกลั่นและส่วนที่ไม่เกิดการควบแน่นจะถูกนำกลับมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในการให้ความร้อนภายในกระบวนการ

- Gasification เป็นกระบวนการที่ทำให้สายโซ่พอลิเมอร์ของเพทเกิดการแตกออกโดยใช้ความร้อนแบบใช้ออกซิเจน กระบวนการนี้เกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงกว่า Pyrolysis ผลลัพธ์ที่ได้คือ Syngas ซึ่งประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และไฮโดรเจน สามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้โดยตรง แต่ถ้าทำการแยกก่อนนำมาใช้ในรูปของสารเคมีจะมีมูลค่าสูงขึ้น 2 – 3 เท่า

- Hydrogenation เป็นเทคนิคที่ปรับปรุงมาจากกระบวนการกลั่นน้ำมันแบบใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา โดยสายโซ่พอลิเมอร์ของเพทจะถูกทำให้แตกหรือขาดออกจากกันด้วยความร้อนและสัมผัสกับไฮโดรเจนที่มากเกินพอที่ความดันสูงกว่า 100 บรรยากาศ จนเกิดปฏิกิริยาแตกตัว (Cracking) และเกิดการเติมไฮโดรเจน (Hydrogenation) อย่างสมบูรณ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อเพลิงเหลว เช่น น้ำมันแก๊สโซลีนหรือดีเซล

กระบวนการรีไซเคิลทางความร้อนถือได้ว่าเป็นเทคโนโลยีที่มีประโยชน์และคุ้มค่ากว่าการรีไซเคิลทางเคมีเพราะสามารถจัดการขยะที่เป็นพลาสติกผสมที่มีสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ที่ไม่ใช่พลาสติกได้ ในขณะที่การรีไซเคิลทางเคมีต้องใช้พลาสติกที่มีความสะอาดค่อนข้างสูงและมีการผสมหรือปนเปื้อนได้เพียงเล็กน้อย ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการเตรียมวัตถุดิบสูง อย่างไรก็ตามพลาสติกเพทที่จะนำมารีไซเคิลทางความร้อนก็ควรมีการคัดขนาดหรือกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกบ้าง

2.6.1.4 การรีไซเคิลแบบจตุภูมิ

พลาสติกสามารถนำมาเผาไหม้เป็นเชื้อเพลิงทดแทน โดยการเผาไหม้ของพลาสติกให้ค่าความร้อนใกล้เคียงกับถ่านหิน (23 MJ/kg) ช่วยในการเผาไหม้ส่วนที่เป็นขยะเปียก ทำให้ลดปริมาณเชื้อเพลิงที่ต้องใช้ในการเผาขยะ

แม้ว่าทุกวันนี้การรีไซเคิลพลาสติกยังไม่ได้รับความนิยมมากนัก แต่ก็กำลังได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเวลาที่เราให้ความสำคัญกับสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ การนำพลาสติกที่ผ่านการใช้งานแล้วกลับมารีไซเคิลใช้ซ้ำจึงเป็นอีกหนทางหนึ่งที่จะช่วยให้เรารักษาความสวยงามและความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรธรรมชาติไว้ได้ ซึ่งอีกไม่นานเราก็จะก้าวข้ามเข้าสู่ศตวรรษใหม่ที่วิทยาการและเทคโนโลยีต่างๆ จะได้รับการพัฒนาให้ก้าวหน้ายิ่งขึ้น คนแห่ง

ศตวรรษใหม่อาจต้องเปลี่ยนวิสัยทัศน์เกี่ยวกับพลาสติก เมื่อพลาสติกที่ผ่านการใช้งานแล้วในศตวรรษหน้าไม่ได้กลายเป็นขยะอีกต่อไป แต่กลับกลายเป็นทรัพยากรสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์เพื่ออนุรักษ์สิ่งแวดล้อม

2.7 การย่อยสลายของพลาสติก

กลไกการย่อยสลายของพลาสติกแบ่งเป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ

2.7.1 การย่อยสลายได้โดยแสง (Photodegradation)

มักเกิดจากการเติมสารเติมแต่งที่มีความว่องไวต่อแสงลงในพลาสติกหรือสังเคราะห์โคพอลิเมอร์ให้มีหมู่ฟังก์ชันหรือพันธะเคมีที่ไม่แข็งแรง แตกหักง่ายภายใต้รังสี (UV) อยู่ในโครงสร้าง เมื่อสารหรือหมู่ฟังก์ชันดังกล่าวสัมผัสกับรังสียูวีจะเกิดการแตกของพันธะกลายเป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งไม่เสถียร จึงเข้าทำปฏิกิริยาต่ออย่างรวดเร็วที่พันธะเคมีบนตำแหน่งคาร์บอนในสายโซ่พอลิเมอร์ ทำให้เกิดการขาดของสายโซ่ แต่การย่อยสลายนี้จะไม่เกิดขึ้นภายในบ่อฝังกลบขยะ กองคอมโพสท์ หรือสภาวะแวดล้อมอื่นที่มืด หรือแม้กระทั่งชิ้นพลาสติกที่มีการด้วยหมึกที่หนามากบนพื้นผิว เนื่องจากพลาสติกจะไม่ได้สัมผัสกับรังสียูวีโดยตรง

2.7.2 การย่อยสลายทางกล (Mechanical Degradation)

โดยการให้แรงกระทำแก่ชิ้นพลาสติกทำให้ชิ้นส่วนพลาสติกแตกออกเป็นชิ้น ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้โดยทั่วไปในการทำให้พลาสติกแตกเป็นชิ้นเล็ก

2.7.3 การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative Degradation)

เป็นปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนลงในโมเลกุลของพอลิเมอร์ ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติอย่างช้าๆ โดยมีออกซิเจน และความร้อน แสงยูวี หรือแรงทางกลเป็นปัจจัยสำคัญ เกิดเป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) ในพลาสติกที่ไม่มีการเติม สารเติมแต่งที่ทำหน้าที่เพิ่มความเสถียร (stabilizing additive) แสงและความร้อนจะทำให้ ROOH แตกตัวกลายเป็นอนุมูลอิสระ RO และ OH) ที่ไม่เสถียรและเข้าทำปฏิกิริยาต่อที่พันธะเคมีบนตำแหน่งคาร์บอนในสายโซ่พอลิเมอร์ ทำให้เกิดการแตกหักและสูญเสียสมบัติเชิงกลอย่างรวดเร็ว แต่ด้วยเทคโนโลยีการผลิตที่ได้รับการวิจัยและพัฒนาขึ้นในปัจจุบันทาให้พอลิโอเลฟินเกิดการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนได้เร็วขึ้นภายในช่วงเวลาที่กำหนด โดยการเติมสารเติมแต่งที่เป็นเกลือของโลหะทรานซิชัน ซึ่งทาหน้าที่คะตะลิสต์เร่งการแตกตัวของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxpide, ROOH) เป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) ทำให้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการแตกหักและสูญเสียสมบัติเชิงกลรวดเร็วยิ่งขึ้น

2.7.4 การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolytic Degradation)

การย่อยสลายของพอลิเมอร์ที่มีหมู่เอสเทอร์ หรือเอไมด์ เช่น แป้ง พอลิเอสเทอร์ พอลิแอนไฮดรายด์ พอลิคาร์บอเนต และพอลิยูริเทน ผ่านปฏิกิริยาก่อให้เกิดการแตกหักของสายโซ่พอลิเมอร์ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เกิดขึ้น โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.7.4.1 ประเภทที่ใช้คะตะลิสต์ (Catalytic hydrolysis)

- ใช้คะตะลิสต์จากภายนอกโมเลกุลของพอลิเมอร์เร่งให้เกิดการย่อยสลาย (External Catalytic Degradation)

- ใช้คะตะลิสต์จากภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์เองในการเร่งให้เกิดการย่อยสลาย (Internal catalytic degradation)

2.7.4.2 ไม่ใช้คะตะลิสต์ (Non-Catalytic Hydrolysis)

โดยคะตะลิสต์จากภายนอกมี 2 ชนิด คือ คะตะลิสต์ที่เป็นเอนไซม์ต่างๆ (Enzyme) จัดเป็นการย่อยสลายทางชีวภาพ และคะตะลิสต์ที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Non-enzyme) ที่มีอยู่ในธรรมชาติ เป็นการย่อยสลายทางเคมี

สำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแบบที่ใช้คะตะลิสต์จากภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์นั้นใช้หมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) ของหมู่เอสเทอร์ หรือเอไมด์บริเวณปลายของสายโซ่พอลิเมอร์ในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

2.7.5 การย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation)

การย่อยสลายของพอลิเมอร์จากการทางานของจุลินทรีย์โดยทั่วไปมีกระบวนการ 2 ขั้นตอน เนื่องจากขนาดของสายพอลิเมอร์ยังมีขนาดใหญ่และไม่ละลายน้ำ ในขั้นตอนแรกของของการย่อยสลายจึงเกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยการปลดปล่อยเอ็นไซม์ของจุลินทรีย์ซึ่งเกิดได้ทั้งแบบใช้ endo-enzyme หรือ เอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกตัวของพันธะภายในสายโซ่พอลิเมอร์อย่างไม่เป็นระเบียบ และแบบ exo-enzyme หรือเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกหักของพันธะทีละหน่วยจากหน่วยซ้ำที่เล็กที่สุดที่อยู่ด้านปลายของสายโซ่พอลิเมอร์ เมื่อพอลิเมอร์แตกตัวจนมีขนาดเล็กพอจะแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปในเซลล์ และเกิดการย่อยสลายต่อในขั้นตอนที่ 2 ได้ผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนสุดท้าย (ultimate biodegradation) คือ พลังงาน และสารประกอบขนาดเล็กที่เสถียรในธรรมชาติ (Mineralization) เช่น แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สมีเทน น้ำ เกลือ แร่ธาตุต่างๆ และมวลชีวภาพ (biomass)

2.8 ลักษณะสภาพของหาดเก้าเส้งและแหลมสนอ่อน

2.8.1 ลักษณะพื้นที่

ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยมีลักษณะของชายฝั่งแบบยกตัว โดยบริเวณที่เคยเป็นทะเลตื้นริมชายฝั่งมีการเปลี่ยนสภาพเป็นพื้นดินโดยการทับถมของโคลนตะกอนที่แม่น้ำและกระแสน้ำในทะเลพัดพามาจนเกิดเป็นที่ราบขึ้น ทำให้แนวชายฝั่งค่อนข้างเรียบตรงและมีบริเวณน้ำตื้นกว้างขวาง มีชายหาดหลายแห่งเป็นหาดทรายที่สวยงาม (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2552) จังหวัดสงขลาตั้งอยู่ฝั่งตะวันออกของภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย (ปริทัศน์ เจริญสิทธิ์, 2550) มีชายหาดหลายบริเวณที่มีศักยภาพในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวโดยเฉพาะในเขตอำเภอเมืองสงขลา ซึ่งมีสภาพหาดทราย ที่ค่อนข้างขาวสะอาด มีชายหาดที่สำคัญ ได้แก่ หาดเก้าเส้งตั้งอยู่ทางตอนใต้ของชายทะเลเมืองสงขลาห่างจากหาดสมิหลาประมาณ 3 กิโลเมตร เป็นหาดทรายที่ไม่ยาวมากต่อเนื่องมาจากหาดชลาทัศน์ถึงโค้งอ่าวเล็กๆ ที่มีหมู่บ้านชาวประมงไปสุดปลายหาดที่โขดหินสูงคล้ายภูเขา (กองธรณีวิทยา, 2545) ถัดมาหาดชลาทัศน์เป็นชายหาดที่ยาวต่อเนื่องมาจากหาดเก้าเส้งมีหาดทรายที่ขาวสะอาด ลักษณะของหาดค่อนข้างเป็นเส้นตรง มีถนนชลาทัศน์เลียบแนวชายหาดและมีแนวต้นสนตลอดหาด ถัดจากหาดชลาทัศน์ไปทางทิศเหนือเป็นหาดสมิหลาตั้งอยู่ในบริเวณเขตเทศบาลเมือง มีพื้นที่หาดแนวยาว และมีทิวสนอันร่มรื่นห่างออกไปเป็นแหลมสนอ่อนตั้งอยู่ในบริเวณพื้นที่บริเวณตะวันตกเฉียงใต้ของหาดสมิหลา มีต้นสนทะเลขึ้นเรียงรายตลอดแนว (สิน สินสกุล และคณะ, 2545 อ้างโดย ปริทัศน์ เจริญสิทธิ์, 2550)

2.8.2 สภาพภูมิอากาศ

จังหวัดสงขลา ตั้งอยู่ในเขตอิทธิพลของลมมรสุมเมืองร้อน มีลมมรสุมพัดผ่านประจำทุกปี คือ ลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนมกราคมและลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้เริ่มตั้งแต่กลางเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกลางเดือนตุลาคม จากอิทธิพลของลมมรสุม ส่งผลให้มีฤดูกาล 2 ฤดู คือ ฤดูร้อน และฤดูฝน (กลุ่มงานข้อมูลสารสนเทศ และการสื่อสาร สำนักงานจังหวัดสงขลา, ม.ป.ป.)

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กษิดิศ สุนทราภิรักษ์กุล (2553) ศึกษากระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ของพลาสติกชีวภาพเตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low Density Polyethlene, LDPE) โดยผสมแป้งข้าวเจ้ากับเอทิลีนความหนาแน่นต่ำที่อัตราส่วนผสม 70:30 และ 100:0 ทดสอบการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ คือ แบคทีเรีย ได้แก่ บาซิลลัสซีเรียส (*Bacillus cereus*) บาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis*) และรา ได้แก่ ไตรโคเดอร์มา ลองจิบราเชียตัม (*Trichoderma logibrachiatum*) เมื่อเกิดการย่อยสลายพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าแล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในพลาสติกชีวภาพ ควบคู่ไปกับวิธีการชั่งน้ำหนักที่หายไปของพลาสติกผสมแป้งข้าวเจ้าที่ระยะเวลา 10, 20 และ 30 วัน พบว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยสลาย

พลาสติกชีวภาพที่มีอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้า 100 เปอร์เซ็นต์ ได้ดีกว่าพลาสติกชีวภาพที่มีอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้า 70 เปอร์เซ็นต์

วีระสิทธิ์ กัลยากฤต และคณะ (2552) ศึกษาการคัดแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสาร terephthalic acid (TA) จากอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสาร TA จากตัวอย่างดินแหล่งต่างๆ ของประเทศไทยจำนวน 5 แหล่งโดยวิธีการ enrichment technique ในอาหารเหลว nondefined medium ที่ประกอบด้วยสาร TA 1 กรัมต่อลิตร และ yeast extract 0.2 กรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถใช้สาร TA ได้ทั้งหมด 50 ไอโซเลท โดยมีเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 7 ไอโซเลทสามารถย่อยสลายสาร TA มากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และสามารถย่อยได้สมบูรณ์ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไอโซเลท G1, G5, E4 และ A3 มีความสามารถย่อยสลายสารนี้เท่ากับ 69.71, 65.75, 59.26 และ 51.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการศึกษาสมบัติบางประการทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท พบว่าแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลท จัดอยู่ในกลุ่ม *Bacillus* sp.

อำนาจ เจรีรัตน์ และคณะ (2542) ศึกษาการย่อยสลายพอลิเมอร์ด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ AT-7 ที่แยกได้จากตัวอย่างดินโดยใช้วิธี clear zone technique พอลิเมอร์ 4 ชนิด คือ Polylactio acid (PLA), Polycaprolactone (PCL), Polyhydroxybutyrate (PHB) และ Polybutylene succinate (PBS) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ AT-7 สามารถย่อยพอลิเมอร์ได้ทุกชนิดยกเว้น PLA เมื่อทดสอบการย่อยสลายได้ของแผ่นฟิล์ม พบว่าแผ่นฟิล์ม PHB มีการย่อยสลายได้ดีที่สุดโดยน้ำหนักของฟิล์มหายไป 69.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการทดสอบเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากการศึกษาการย่อยสลายโดยใช้ crude enzyme (0.2 mg Protein/ml) ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ AT-7 พบว่ามีการย่อยสลาย PHB ได้สูงสุดเช่นเดียวกันโดยมีค่า Total organic carbon (TOC) ที่ได้จากการย่อยสลาย 260.2 ppm

กนกวรรณ สมวงค์ (2556) ศึกษาการย่อยสลายพลาสติกพอลิแลกไทด์โดย *Saccharothrix* sp. MY1 ในสภาวะน้ำทะเลเทียม โดยทำการทดลองในอาหารเหลวที่มีพลาสติกพอลิแลกไทด์และเชื้อ *Saccharothrix* sp. MY1 ในขวดรูปชมพู่ที่มีการเขย่า โดยเก็บตัวอย่างไปทดสอบทุกๆ 2 วัน พบว่าน้ำหนักของพลาสติกพอลิแลกไทด์ลดลง ค่าพีเอชของอาหารเหลวลดลง มีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเกิดการย่อยสลายพลาสติกพอลิแลกไทด์ในสภาวะน้ำทะเลเทียมจากน้ำหนักพลาสติกที่ลดลง เกิดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายคือกรดแลคติก

วรพจน์ รัตนพันธุ์ และคณะ (2552) ศึกษาปริมาณและองค์ประกอบของขยะในพื้นที่เกาะมุกด์ ตำบลเกาะลิบง อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณและองค์ประกอบของขยะในพื้นที่ โดยทำการเก็บตัวอย่างขยะจำนวน 7 แหล่ง ดำเนินการรวบรวมผลการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลโดยการหาค่าเฉลี่ยและค่าร้อยละ พบว่าขยะในพื้นที่เกาะมุกด์มีปริมาณขยะโดยเฉลี่ย 0.09 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของขยะ พบว่าส่วนใหญ่เป็นขยะรีไซเคิล คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละ

45.58 รองลงมาเป็นขยะทั่วไป เฉลี่ยร้อยละ 44.84 ขยะอินทรีย์เฉลี่ยร้อยละ 8.27 และขยะอันตรายเฉลี่ยร้อยละ 1.3 ตามลำดับ

อัจฉรา อัศวรุจิกุลชัย์ และคณะ (2554) ศึกษาแนวทางการจัดการขยะให้เหลือศูนย์ภายในมหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา เป็นการศึกษาปริมาณ องค์ประกอบ และลักษณะสมบัติของขยะที่เกิดขึ้นภายในมหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พร้อมทั้งนำเสนอแนวทางการจัดการขยะให้เหลือศูนย์ โดยรวบรวมข้อมูล ได้แก่ ปริมาณ อัตราการเกิด องค์ประกอบ ลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของขยะ และนำมาวิเคราะห์แนวทางการจัดการขยะให้เหลือศูนย์ การศึกษาข้อมูลในปี พ.ศ. 2551 พบว่า ปริมาณขยะที่นำไปกำจัดเฉลี่ย 4,060 กิโลกรัม/วัน อัตราการผลิตขยะเฉลี่ย 0.303 กิโลกรัม/คน/วัน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบขยะ พบว่า มีพลาสติกเป็นองค์ประกอบสูงสุด ร้อยละ 39.88 ขยะเศษอาหาร ร้อยละ 28.66 และ กระดาษร้อยละ 14.95 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของขยะพบว่า ค่าความหนาแน่นของขยะ 0.056 kg/l ค่าความชื้น ร้อยละ 59.74 ปริมาณของแข็งทั้งหมด ร้อยละ 40.26 ปริมาณสารที่เผาไหม้ได้ ร้อยละ 88.12 ปริมาณเถ้า ร้อยละ 11.88 และค่าความร้อน 4,915 cal/g การจัดการขยะของมหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา ปัจจุบันยังคงมีปัญหาที่ต้องปรับปรุงในด้านการเก็บรวบรวม การคัดแยก การรีไซเคิลขยะ

วราภรณ์ จันทาสี และคณะ(2553) ศึกษาการย่อยสลายของพลาสติกชนิด Polybutylene succinate (PBS) ในอาหารเหลวด้วยแบคทีเรียที่คัดแยกจากหลุมฝังกลบขยะ โดยทดลองย่อยสลายพลาสติกชนิด PBS ในอาหารเหลว โดยใช้แบคทีเรีย 7 ชนิดที่แยกจากหลุมฝังกลบขยะ บ่มนาน 28 วัน ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ติดตามการเจริญของแบคทีเรียโดยการวัดความขุ่นของสารละลายและประเมินการย่อยสลายโดยนำแผ่นพลาสติกไปตรวจสอบผิวหน้าและผิวรอยตัดด้านข้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด(SEM) ผลการทดสอบการย่อย PBS พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดคือ B1 และ D2 เมื่อเทียบกับแบคทีเรียชนิดอื่น แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายพลาสติกได้ดีกว่าชุดควบคุม แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PBS ได้ดีได้แก่ E/1และ D2 ซึ่งทำให้ผิวชิ้นพลาสติกเกิดรอยแตกและรอยตัดมีการสึกกร่อน แสดงว่าความสามารถในการย่อยพลาสติกของแบคทีเรียบางชนิด ไม่สอดคล้องกับการเจริญ แบคทีเรียที่ทดสอบบางชนิดมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ย่อยสลายขยะบรรจุภัณฑ์ที่เป็นพลาสติกชนิด PBS ได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

3.1.1.1 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) (Contherm, New Zealand)

3.1.1.2 ตู้บ่มเชื้อ (incubator) (contherm รุ่น 620RHS)

3.1.1.3 เครื่องชั่งสาร (balance) (Mettler Toledo รุ่น AG 204, Switzerland)

3.1.1.4 กล้องจุลทรรศน์ (microscope) (Nikon Co., Ltd, Japan)

3.1.1.5 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) (Tomy รุ่น SS-325, Japan)

3.1.1.6 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Memmert, Germany)

3.1.1.7 ไมโครเวฟ (LG; LG Electronics, Thailand)

3.1.1.8 จานเพาะเชื้อ (petri dish) (Pyrex)

3.1.1.9 สไลด์ (slide)

3.1.1.10 ขวดรูปชมพู่ (flask) (Merck, Germany)

3.1.1.11 ปิเปต (pipett) (Precicolor HBG, Germany)

3.1.1.12 ตะแกรงวางหลอดทดลอง

3.1.1.13 หลอดทดลอง (test tube) (Pyrex)

3.1.1.14 บีกเกอร์ (beaker) (Kartell)

3.1.1.15 กระบอกตวง (cylinder)

3.1.1.16 ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)

3.1.1.17 เข็มเขี่ยเชื้อ (needle)

3.1.1.18 แท่งแก้วคน

3.1.1.19 ช้อนตักสาร (spatula)

3.1.1.20 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (burner)

3.1.1.21 กระดาษทิชชู

3.1.1.22 สำลี

3.1.1.23 ถุงพลาสติก

3.1.1.24 Water bath (Memmert, Germany)

3.1.1.25 กล้องถ่ายรูป

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1.2.1 Nutrient agar (Merck, Germany)

3.1.2.2 Mineral Salf medium

3.1.2.3 KH_2PO_4 (Potassium dihydrogen phosphate)

3.1.2.4 K_2HPO_4 (di-Potassium hydrogen phosphate)

3.1.2.5 $MgSO_4.7H_2O$ (Magnesium sulphate)

3.1.2.6 NH_4NO_3 (Ammonium nitrate)

3.1.2.7 NaCl (Sodium chloride)

3.1.2.8 $FeSO_4.7H_2O$ (Iron (II) sulphate (Ferrous sulphate)

3.1.2.9 $ZnSO.7H_2O$ (Zine sulphate)

3.1.2.10 $MnSO_4.H_2O$ (Manganese (II)sulphate monohydrote)

3.1.2.11 Crystal violet (Merck, Germany)

3.1.2.12 Safranin O (DC Panreac; Pr Panreac Quimica SA,Barcelona)

3.1.2.13 Iodine (Merck, Germany)

3.1.2.14 Indole test

3.1.2.15 Catalase test

3.1.2.16 V-P reaction test

3.1.2.17 Motility test medium

3.1.2.18 Nitrate reduction

3.1.2.19 Starch agar

3.1.2.20 Catalase test

3.1.2.21 Carbohydrate medium for fermentation test

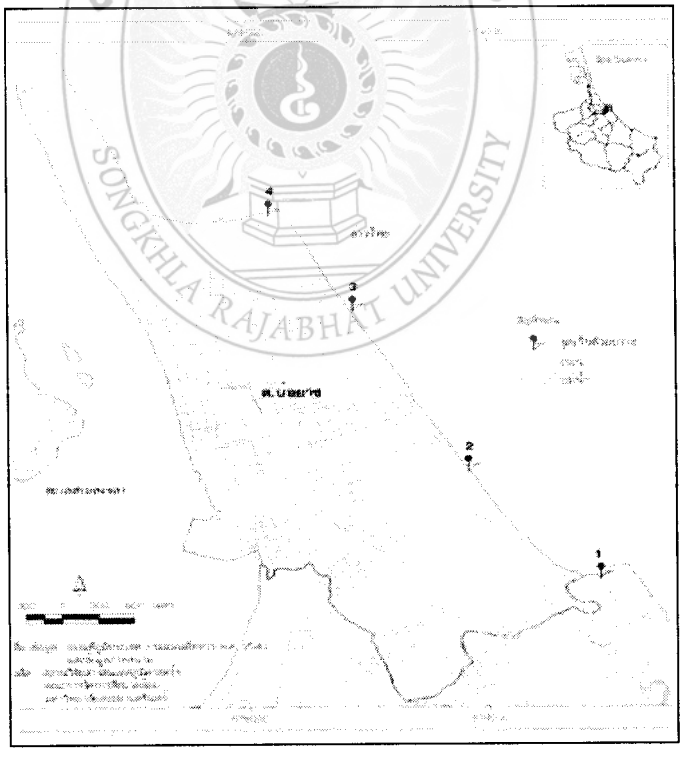
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การสำรวจและการเก็บตัวอย่าง

3.2.1.1 การสำรวจภาพแวดล้อม

การสำรวจพื้นที่ที่มีการทับถมของขยะประเภทพลาสติกที่ย่อยสลายบริเวณชายหาดเก้าเส้งถึงชายหาด สมิหลาในเขตอำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ระยะทางประมาณ 3 กิโลเมตร สุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมด 4 จุดๆละ 3 ซ้ำ กำหนดจุดเก็บตัวอย่างแต่ละจุด โดยใช้เครื่องระบุตำแหน่ง GPS ช่วยในการกำหนดจุดที่กำหนด ซึ่งมีพิกัดของแต่ละจุดดังนี้

จุดที่ 1 ตั้งอยู่ระหว่างพิกัด 7° 10'55.43"N, 100° 37'33.15"E
จุดที่ 2 ตั้งอยู่ระหว่างพิกัด 7° 11'31.46" N, 100° 36'37.78"E
จุดที่ 3 ตั้งอยู่ระหว่างพิกัด 7° 12'23.95" N, 100° 36'6.94"E
จุดที่ 4 ตั้งอยู่ระหว่างพิกัด 7° 12'55.37" N, 100° 35'44.36"E



ภาพที่ 3.1 พื้นที่เก็บตัวอย่างพลาสติก บริเวณหาดเก้าเส้งถึงหาดสมิหลา จังหวัดสงขลา
ที่มา: สถาบันสารสนเทศภูมิศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2557)

3.2.1.2 การเก็บตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินที่มีการทับถมของขยะพลาสติกที่ย่อยสลายบริเวณชายหาดเก้าเส้งถึงชายหาดสมิหลาจำนวน 4 จุด สุ่มเก็บตัวอย่างจุดละ 3 ซ้ำ โดยใช้คอร์สำหรับเก็บตัวอย่างดินที่มีพลาสติกย่อยสลาย กดอุปกรณ์ลงไปในดินตามความลึกของ (core sampler) แล้วใช้คีบดึงตัวอย่างที่เก็บได้ใส่ในถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง ระบุสถานที่ วันที่ ที่เก็บตัวอย่าง ก่อนนำกลับมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

3.2.2 การแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างพลาสติก

3.2.2.1 การเจือจางเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างพลาสติกที่ย่อยสลาย

นำตัวอย่างพลาสติก (1 ชิ้น) ไปเพาะเชื้อในอาหารเหลว salt medium แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางตัวอย่าง 10^{-1} ถึง 10^{-3} นำสารละลายระดับความเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-3} มา pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำโคโลนีที่มีลักษณะต่างกันไปทดสอบในขั้นต่อไป

3.2.2.2 การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยา

นำโคโลนีที่มีลักษณะต่างกันจากข้อ 3.2.2.1 มาแยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์มากขึ้น โดยใช้เทคนิคการ streak plate ในอาหาร Nutrient Agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้โคโลนีเดียวที่บริสุทธิ์ บันทึกผล ลักษณะรูปร่างและสีของโคโลนีจากนั้นนำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การจัดเรียงตัว การติดสีย้อม

3.2.3 การจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกมาเลี้ยงในอาหารวุ้นเอียง nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อมาทดสอบ ลักษณะทางชีวเคมีบางประการตามหนังสือของ Bergey' Manaul of Determinative Bacteliology (1984) ได้แก่ ทดสอบ motility, catalase test, V-P reaction test, indole production, methyl red test, starch hydrolysis, gelatin hydrolysis, casein hydrolysis, nitrate reduction, citrate และศึกษาการสร้างกรดจากน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น arabinose, glucose, lactose, mannitol, maltose, raffinose และ sucrose

3.2.4 การนับจำนวนพลาสติกที่ย่อยสลาย

นำตัวอย่างพลาสติกในอาหารเลี้ยงเชื้อจากการทดลองข้อที่ 3.2.2.1 มาล้างด้วยน้ำประปา นับจำนวนพลาสติกที่ย่อยสลายโดยทำการระบุชนิด ประเภท และลักษณะของพลาสติก

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 การแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างพลาสติก

จากการแยกจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Mineral Salt Medium ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จากตัวอย่างพลาสติกจำนวน 4 แหล่ง คือ บริเวณชายหาดเก้าเส้ง จำนวน 3 จุด บริเวณชายหาดชลาทัศน์จำนวน 3 จุด บริเวณชายหาดริมสระบัวจำนวน 3 จุด และบริเวณชายหาดสมิหลาจำนวน 3 จุด พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่คัดแยกได้มีลักษณะโคโลนีกลม ส่วนโคโลนีที่พบน้อยที่สุด คือ โคโลนีที่มีลักษณะไม่แน่นอน คือ KS3, KS6, SB5, SB4, SB8,SB13 และ ML5 (ตารางที่ 4.1) ส่วนลักษณะที่เกี่ยวกับแสง พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่คัดแยกได้มีลักษณะทึบแสง นอกจากไอโซเลท ML6 มีลักษณะโปร่งแสง (ตารางที่ 4.1)

จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่แยกได้ศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดติดสีแกรมบวก ซึ่งแบ่งรูปร่างเป็น 2 ลักษณะ คือ รูปร่างท่อนมีการสร้างสปอร์จำนวน 5 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท KS3, KS6, SB4, SB5 และ JL5 และลักษณะท่อนไม่สร้างสปอร์จำนวน 24 ไอโซเลท แต่รูปร่างที่พบมากที่สุด คือ รูปร่างท่อนยาวเรียงตัวเป็นสาย ส่วนรูปร่างที่พบน้อยที่สุดคือ รูปร่างท่อนสั้นเรียงตัวเป็นคู่, เดียว ต่อเป็นเส้นสาย คือ ไอโซเลท KS1, JL10, SB3, SB7, ML5 และ ML3 (ตารางที่ 4.1) ซึ่งพบว่าพลาสติกจากชายหาดเก้าเส้งเป็นแหล่งที่พบจำนวนและลักษณะของโคโลนีที่หลากหลายมากที่สุด รองลงมาคือ พลาสติกบริเวณชายหาดริมสระบัว พลาสติกบริเวณชายหาดชลาทัศน์ตามลำดับ ส่วนพลาสติกบริเวณหาดสมิหลาไม่พบจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากพลาสติกบริเวณต่างๆ

แหล่งที่มาพลาสติก	ไอโซเลท	สีโคโลนี	รูปร่างโคโลนี	ระดับความนูน	ผิวหน้า	ขอบของโคโลนี	แสง	การติดสีแกรม	ภายใต้กล้อง
ชายหาดเก้าเส้ง	KS1	สีเหลือง	Circular	Flat	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	KS2	สีขาว	Circular	Convex	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	KS3	สีครีม	Lrregular	Effuse	Rough	Erose	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดียว สร้างสปอร์
	KS4	สีขาว	Circular	Raised	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	KS5	สีครีม	Circular	Pulvinate	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดียว
	KS6	สีขาว	Lrregular	Flat	Rough	Erose	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว สร้างสปอร์
ชายหาดชลาทัศน์	JL1	สีครีม	Circular	Convex	Flat	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL2	สีขาวขุ่น	Circular	Pulvinate	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL3	สีเหลือง	Circular	Raised	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL4	สีขาวขุ่น	Circular	Convex	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อเป็นคู่, เดี่ยว
	JL5	สีขาว	Lrregular	Convex	Smooth	Erose	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว สร้างสปอร์
	JL7	สีขาว	Circular	Effuse	Smooth	Undalate	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL9	สีขาวขุ่น	Circular	Effuse	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL10	สีเหลือง	Circular	Flat	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL12	สีขาวขุ่น	Circular	Raised	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	JL13	สีขาว	Lrregular	Convex	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากพลาสติกบริเวณต่างๆ (ต่อ)

แหล่งที่มาพลาสติก	ไอโซเลท	สีโคโลนี	รูปร่างโคโลนี	ระดับความนูน	ผิวหน้า	ขอบของโคโลนี	แสง	การติดสีแกรม	ภายใต้กล้อง
ชายหาดสระบัว	SB1	สีขาวขุ่น	Circular	Flat	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	SB2	สีครีม	Circular	Convex	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	SB3	สีเหลือง	Circular	Flat	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	SB4	สีขาว	Lrregular	Convex	Rough	Erose	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว สร้างสปอร์
	SB5	สีขาวขุ่น	Circular	Convex	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว สร้างสปอร์
	SB6	สีขาว	Circular	Flat	Smooth	Erose	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	SB7	สีขาว	Lrregular	Effuse	Rough	Erose	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
ชายหาดสมิหลา	ML 1	สีครีม	Circular	Convex	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	ML 2	สีครีม	Circular	Flat	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	ML 3	สีขาวขุ่น	Circular	Flat	Smooth	Entire	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	ML 4	สีขาวขุ่น	Circular	Pulvinate	Smooth	Erose	Opaque	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	ML 5	สีขาวขุ่น	Lrregular	Effuse	Smooth	Erose	Opaque	+	ท่อนสั้น เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว
	ML 6	สีขาวใส	Circular	Flat	Smooth	Entire	Translucent	+	ท่อนยาว เรียงต่อกันเป็นคู่, เดี่ยว

4.2 การจัดจำแนกชนิดจุลินทรีย์

จากการทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียโดยเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี ตามหนังสือ Bergey' Manaul of Determinative Bacteliology (1984) พบว่าไอโซเลท KS3 มีคุณสมบัติคล้ายกับ *Bacillus cereus* เนื่องจากสามารถสร้างเอนไซม์เคตาเลส และสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ ขณะที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแมนโนส (Mannitol), ไซโลส และอะราบิโนส ได้ (ตารางที่ 4.2) ส่วนไอโซเลท KS6, SB4, SB5 และไอโซเลท JL5 มีคุณสมบัติคล้ายกับ *Bacillus subtilis* คือสามารถหมักย่อยน้ำตาล Glucose, Mannitol, Sucrose ไม่หมักย่อยน้ำตาล Xylose และ lactose สำหรับจุลินทรีย์ที่ไม่สร้างสปอร์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีคุณสมบัติคล้ายกับ *Eubacterium* ได้แก่ ไอโซเลท KS1, JL10, SB3, SB7, ML5 และ ML3 สามารถหมักน้ำตาล Mannitol ไม่หมักน้ำตาล Glucose, Lactose, Sucrose, Maltose, Salicin และน้ำตาล Xylose กลุ่มที่ 2 คือจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติคล้ายกับจีนัส *Bacillus* ซึ่งมีจำนวนไอโซเลททั้งหมด 18 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท KS2, KS4, KS5, JL1, JL2, JL3,JL4, JL6, JL7, JL8, JL9, SB1,SB2, SB6, ML1, ML4 และ ML6 (ตารางที่ 4.2)

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ตารางที่ 4.2 การทดสอบชีวเคมีของจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์

ไอโซเลท	Glucose	Mannitol	Lactose	Sucrose	Maltose	Xylose	Arabinose	Catalase	Motility	Urea	TSI	Nitrate
KS3	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	K/A	-
KS6	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	K/N	-
SB4	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	K/N	-
SB5	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	K/N	-
JL5	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	K/N	-

หมายเหตุ

+ = Positive

- = Negative

K = Alkaline (ผลผลิตเป็นด่าง ผิวหน้าอาหาร slant เปลี่ยนสีแดงเข้ม

A = Acid (การเกิดกรด เกิดเป็นสีเหลืองบริเวณก้นหลอด)

N = ก้นอาหารไม่เปลี่ยนสี

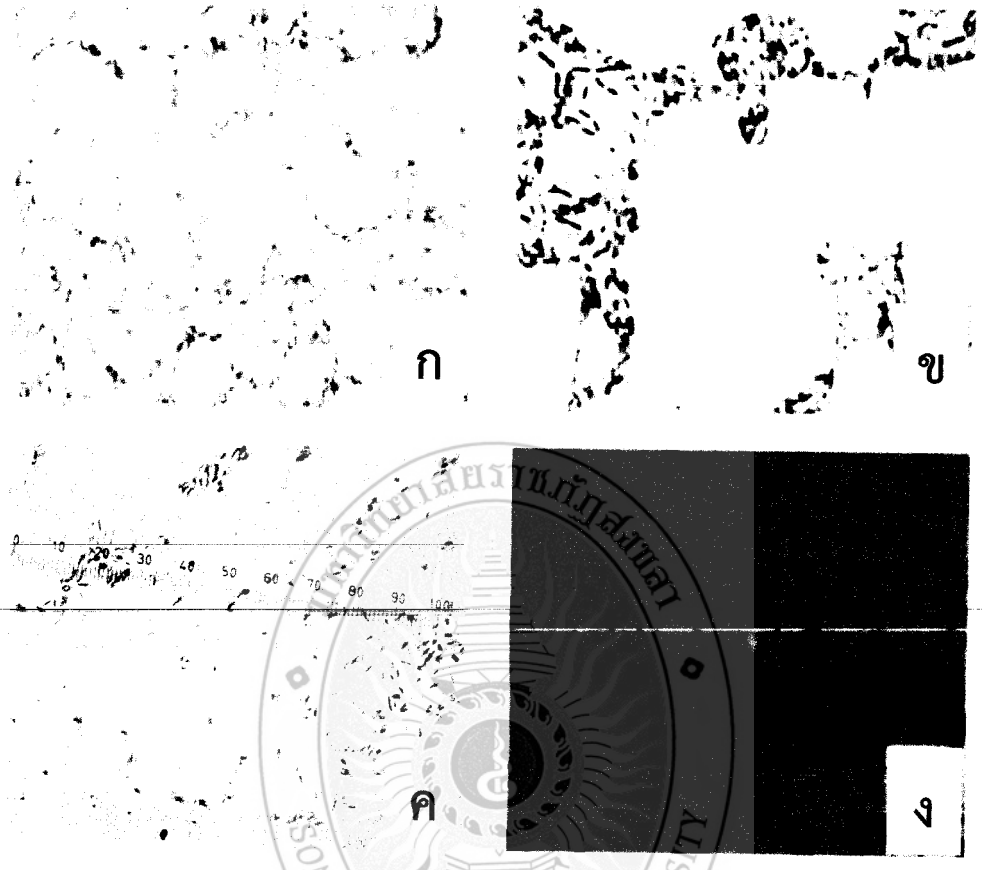
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ตารางที่ 4.3 การทดสอบชีวเคมีของจุลินทรีย์ที่ไม่สร้างสปอร์

ไอโซเลท	Glucose	Mannitol	Lactose	Sucrose	Maltose	Xylose	Arabinose	Catalase	Urea	Indole	Nitrate
KS1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
KS2	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
KS4	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
KS5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
JL1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
JL2	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
JL3	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
JL4	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
JL6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
JL7	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
JL8	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
JL9	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
JL10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
SB1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
SB2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
SB3	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
SB6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
SB7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ML1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ML2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ML3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ML4	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
ML5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ML6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-

หมายเหตุ: + = Positive, - =Negative

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 4.1 ลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว และการติดสีแกรมของจุลินทรีย์ไอโซเลทต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด bright field กำลังขยาย 1,000 เท่า

ก. ไอโซเลท KS3 ที่มีคุณสมบัติคล้ายจีนัส *Bacillus cereus*

ข. ไอโซเลท KS6 ที่มีคุณสมบัติคล้ายจีนัส *Bacillus subtilis*

ค. ไอโซเลท ML6 ที่มีคุณสมบัติคล้ายจีนัส *Bacillus* sp.

ง. ไอโซเลท KS1 ที่มีคุณสมบัติคล้ายจีนัส *Eubacterium*

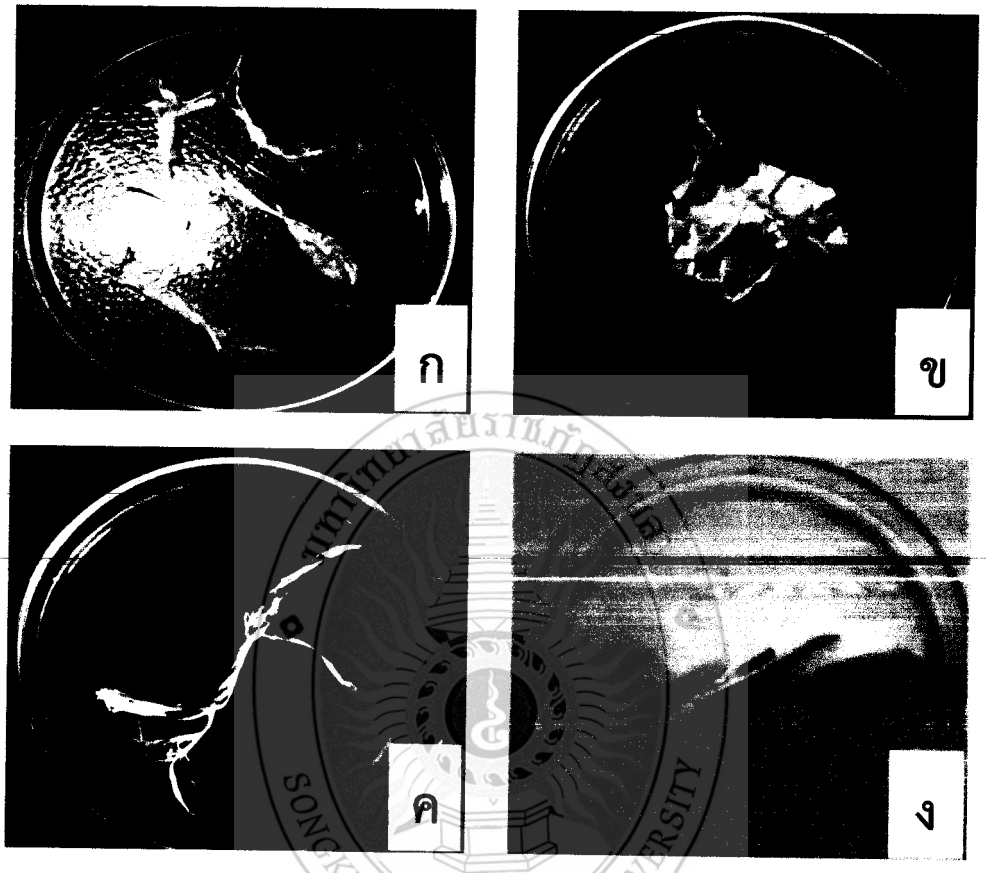
4.3 การนับจำนวนพลาสติกที่ย่อยสลาย

จากการสำรวจพื้นที่บริเวณชายหาดเก้าเส้งถึงหาดสมิหลา จังหวัดสงขลา เป็นระยะทาง 3 กิโลเมตร รวมจำนวน 4 แหล่ง ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องระบุตำแหน่งบนโลก (GPS) ในการกำหนดจุดพิกัด ซึ่งใช้คอร์สำหรับเก็บตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนพลาสติกทั้งหมด 118 ชิ้น ซึ่งพบบริเวณชายหาดเก้าเส้งจำนวน 52 ชิ้น สามารถแบ่งได้ 3 ประเภท คือ ประเภทพอลิสไตรีน (ภาพที่ 4.3) จำนวน 21 ชิ้น ประเภทโพลิโพรพิลีน (ภาพที่ 4.2) จำนวน 24 ชิ้น และประเภทพอลิเอธิลีน (ภาพที่ 4.4) จำนวน 7 ชิ้น ส่วนบริเวณชายหาดชลาทัศน์พบทั้งหมดจำนวน 18 ชิ้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ประเภทพอลิสไตรีน จำนวน 9 ชิ้น โพลิโพรพิลีน จำนวน 9 ชิ้น และบริเวณชายหาดริมสระบัวพบทั้งหมด 24 ชิ้น สามารถแบ่งพลาสติกได้เป็น 2 ประเภท คือ พอลิสไตรีน จำนวน 12 ชิ้น และโพลิโพรพิลีน จำนวน 12 ชิ้น และสุดท้ายบริเวณชายหาดสมิหลาพบทั้งหมดจำนวน 24 ชิ้น แบ่งได้ 2 ประเภท คือ ประเภทพอลิสไตรีน จำนวน 14 ชิ้น และประเภทพอลิโพรพิลีน จำนวน 10 ชิ้น (ตารางที่ 4.3)

นอกจากนี้จากการสำรวจของผู้วิจัย พบว่าตัวอย่างพลาสติกที่ย่อยสลายมีการสำรวจพบมากที่สุด คือพลาสติกชนิด โฟม รองลงมาคือถุงพลาสติก ขณะที่พลาสติกที่พบน้อยที่สุด คือพลาสติกชนิดโฟมลัง

ตารางที่ 4.4 ประเภทและจำนวนพลาสติก

แหล่งที่มา	ชนิด	จำนวนตัวอย่าง	ประเภท
บริเวณชายหาดเก้าเส้ง	ถ้วยโฟม	21	พอลิสไตรีน
	ถุงพลาสติก, ถุงกระสอบ	24	โพลิโพรพิลีน
	โฟมลัง	7	พอลิเอธิลีน
บริเวณชายหาดชลาทัศน์	ถ้วยโฟม	9	พอลิสไตรีน
	ถุงพลาสติก, เชือกพลาสติก	9	โพลิโพรพิลีน
บริเวณชายหาดริมสระบัว	ถ้วยโฟม	12	พอลิสไตรีน
	เชือกพลาสติก	7	โพลิโพรพิลีน
	ถุงพลาสติก, ถุงกระสอบ	5	โพลิโพรพิลีน
บริเวณชายหาดสมิหลา	ถ้วยโฟม	14	พอลิสไตรีน
	ถุงพลาสติก, หลอดพลาสติก	10	โพลิโพรพิลีน



ภาพที่ 4.2 ลักษณะพลาสติกที่ย่อยสลายประเภทโพลิโพรพิลีน

ก. เชือกพลาสติก

ข. ถุงพลาสติก

ค. เชือก

ง. หลอดพลาสติก

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาพที่ 4.3 ลักษณะพลาสติกย่อยสลายประเภทพอลิสไตรีน (ชนิดถ้วยโฟม)

ภาพที่ 4.4 ลักษณะพลาสติกย่อยสลายประเภทพอลิเอธิลีน (ชนิดถ้วยโฟมลัง)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการสำรวจพลาสติกย่อยสลายและการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพลาสติกโดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลว Mineral Salt Medium ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง จากตัวอย่างพลาสติก จำนวน 4 แหล่ง พบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มีจำนวนทั้งหมด 29 ไอโซเลท ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ได้ ได้แก่ ไอโซเลท KS3, KS6, SB4, SB5 และ JL5 กลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่สร้างสปอร์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีคุณสมบัติคล้ายกับจีนัส *Eubacterium* ได้แก่ ไอโซเลท KS1, JL10, SB3, SB7, ML5 และ ML3 ส่วนอีกกลุ่มมีคุณสมบัติคล้ายกับ *Bacillus* ได้แก่ ไอโซเลท KS2, KS4, KS5, JL1, JL2, JL3, JL4, JL6, JL7, JL8, JL9, SB2, SB6, ML1, ML4 และ ML6 สำหรับผลการสำรวจพลาสติกที่ย่อยสลาย ตรวจพบได้จำนวน 118 ชิ้น ประกอบด้วย บริเวณชายหาดเก้าเส้ง จำนวน 52 ชิ้น บริเวณชายหาดชลาทัศน์ จำนวน 16 ชิ้น บริเวณชายหาดริมสระบัว จำนวน 24 ชิ้น และบริเวณชายหาดสมิหลา จำนวน 24 ชิ้น ชนิดพลาสติกที่พบมากที่สุด ได้แก่ โฟมประเภทพอลิสไตรีน รองลงมาคือถุงพลาสติกประเภทโพลิโพรพิลีน ส่วนโฟมประเภทพอลิเอธิลีนพบน้อยที่สุด ดังนั้นจากการผลการทดลองสรุปได้ว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างพลาสติกทั้งสามชนิด ส่วนใหญ่คล้ายกับจีนัส *Bacillus* และ *Eubacterium*

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรเพิ่มแหล่งและตัวอย่างชนิดของพลาสติก เพื่อเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ให้มีความหลากหลาย

5.2.2 ควรออกแบบให้มีสูตรอาหารให้มีคุณสมบัติทางเคมีที่คล้ายคลึงกับสภาพแวดล้อมที่ได้ไปเก็บตัวอย่าง

5.2.3 ควรศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ของบริเวณจุดที่ไปเก็บตัวอย่างโดยใช้เทคนิคที่ไม่ต้องอาศัยการเพาะเลี้ยงเพื่อสำรวจเชื้อที่สนใจก่อนการคัดแยกด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ สมวงค์. 2556. **ศึกษาการย่อยสลายพอลิแลกไทด์โดย *Saccharothrix* sp. MY1 ในสภาพน้ำทะเลเทียม.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กษิดิศ สุนทราภิรักษ์กุล. 2553. **การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ของพลาสติกชีวภาพเตรียมจากแป้งข้าวเจ้าผสมพอลีเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกษม จันทร์แก้ว. 2540. **วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม**. กรุงเทพมหานคร. วิทยาลัยสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จตุพร บุรุษพัฒน์. 2552. **หลักเกณฑ์และกรอบแนวทางในการอนุรักษ์ฟื้นฟูแหล่งน้ำและพื้นที่ชุ่มน้ำ**. คณะกรรมการทรัพยากรธรรมชาติ.

จิตติมา แก้วเรือง. 2551. **การแยกและการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วและการประยุกต์ใช้ในดิน.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ฉัตรชัย ศรชัย และ พิมพ์พันธุ์ เลียงพิบูลย์. 2529. **คู่มือปฏิบัติการ วิชา Medical Bacteriology (MTMI 301)** ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล พิมพ์ครั้งที่ 1 หน้า 17 - 27

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. **การแยกเชื้อบริสุทธิ์ และ ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์ จุลชีววิทยาทั่วไป** พิมพ์ครั้งที่ 2 สำนักพิมพ์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 116 – 134

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. **อาหารเลี้ยงเชื้อและการ เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จุลชีววิทยาทั่วไป**. พิมพ์ครั้งที่ 2 สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย หน้า 74 – 96

นงลักษณ์ สุวรรณ และคณะ.2553. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประพิมพรรณ จีนเยี้ยน และคณะ. 2548. **การคัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* ที่สามารถย่อยสารอินทรีย์วัตถุ.** ภาควิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

ปิยวรรณ คลังชานาญ. 2544. **การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสี crystal violet จากบ่อน้าทิ้งของอาคาร.** วิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา; จังหวัดชลบุรี.

รุจา สารคุณ. 2548. **ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของพอลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดิน.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วงศ์ บุญสืบสกุลและคณะ. 2548. **การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548 สานักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช** กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า

วรพจน์ รัตนพันธุ์ และคณะ. 2552. **ศึกษาปริมาณและองค์ประกอบของขยะในพื้นที่เกาะมุกด์ จังหวัดตรัง**. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 1(2) : 46-53

วีระสิทธิ กัลป์ยากฤต และ เศารยา สุขเกษม. 2552. **การคัดแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสาร terephthalic acid จากอุตสาหกรรมสิ่งทอ.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศุภศิลป์ มณีรัตน์. 2551-2552. **การศึกษาการคัดแยกและการคัดเลือกจุลินทรีย์จากดินที่สามารถย่อยสลายน้ำมันล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วและการประยุกต์ใช้กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ใน soli slurry.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

สมศักดิ์ วงใน .2528. **จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน**. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิน สินสกุล. 2545. การเปลี่ยนแปลงของชายฝั่งทะเลไทย รายงานวิชาการกองธรณีวิทยา กรมทรัพยากรธรณี. กรุงเทพฯ

อัจฉรา อัศวริจกุลชัย และคณะ. 2554. **ศึกษาแนวทางการจัดการขยะให้เหลือศูนย์ภายในมหาวิทยาลัยมหิดลศาลายา**. วารสารการจัดการสิ่งแวดล้อม

อำนาจ เจรีรัตน์ และคณะ. 2542. **ศึกษาการย่อยสลายพอลิเมอร์ด้วยวิธีการทางชีวภาพ.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

Baron, E.J., Pererson, L.R., Finegold, S.M.1998. **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology**. 10th ed. CV Mosby, St. Louis,

Cappucino,J.G. ,Sherman,N. 1992 . **Microbiology a Laboratory Manual 3rd ed**. The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. P. 63 - 81.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Schreckenberg, P.C., Winn, W.C.1992.Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. JBLippincott, Philadelphia,

Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, P.C., Yolken, R.H. 1995. **Manual of Clinical Microbiology**. 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.

Pratt, P.W. 1997. **Diagnostic Microbiology. In: Laboratory Proceedures For Veterinary Technicians.** 3 rd. ed. Mosby – Year Book ,Inc. P.119 - 258.

Quinn, P.J. Carter, M.E., Markey, B.K. and Carter, G.R. 1994. **Clinical Veterinary Microbiology**. 1st ed. Wolfe Publising, Mosby-Year Europe Limited, London, England, p. 6-345.

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mineral salt Medium (MSM)

K_2HPO_4	1.8	กรัม
KH_2PO_4	1.2	กรัม
NH_4Cl	4.0	กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	0.2	กรัม
NaCl	0.1	กรัม
$FeSO_4 .7H_2O$	0.01	กรัม
แล้วนำไปปรับ pH = 7		
น้ำกลั่น	1000	กรัม

2. Nutrient broth (NA) (Merck, 1983)

Nutrient broth	8.0	กรัม
Agar	14.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	กรัม

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก ข
สีและน้ำยาที่ใช้ย้อม

1 Grams stain (กัญจนา ธีระกุล และคณะ, 2547)

1.1 Crystal violet

สารละลาย A

Crystal violet (85 เปอร์เซ็นต์ dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์	20.0	มิลลิลิตร

ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด

สารละลาย B

Ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A และสารละลาย B ถ้ามีตะกอนกรองก่อนใช้และถ้ามีสีเข้มเกินไป อาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1:10 ก่อนผสมกับสารละลาย B

1.2 Safranin O counterstain (stock solution)

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	100	มิลลิลิตร

ละลายสีแล้วกรอง เมื่อจะใช้ให้เจือจางเป็น 1:10

1.3 Gram's iodine solution (mordant)

Iodine (crystal)	1.0	กรัม
Potassium iodide	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร

ละลาย iodine และ potassium iodide ในน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยก่อน แล้วเติมน้ำให้ครบ 300 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

1.4 Alcohol-acetone

Ethyl alcohol 95%	250.0	มิลลิลิตร
Acetone	250.0	มิลลิลิตร

2) Endosp0re stain (กัญจนา ธีระกุล และคณะ, 2547)

2.1 Malachite green

Malachite green	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายสีในน้ำกลั่น หากมีตะกอน ต้องกรองก่อนใช้ทุกครั้ง

3) Methylene blue (Loeffer' s alkaline) (กัญจนา ธีระกุล และคณะ, 2547)

สารละลาย A

Methylene blue	0.3	กรัม
Ethyl alcohol 95%	30.0	กรัม

สารละลาย B

KOH	0.01	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

การย้อมสีแบบแกรม การย้อมสีเอนโดสปอร์ และการย้อม negative stain

1) การย้อมสีแบบแกรม (Gram's stain) (กัญจนา ธระกุล และคณะ, 2547)

1.1 ทำความสะอาดสไลด์ และเช็คสไลด์ให้แห้

1.2 เตรียมรอยเสมียร์และตรึงเซลล์ผ่านความร้อน

1.3 หยดสี Crystal violet ให้ท่วมรอยเสมียร์ ทิ้งไว้ 1 นาที

1.4 เทสีที่เหลืองค้างบนสไลด์ลงในอ่างน้ำ และชะล้างด้วยสารละลายไอโอดีนนโดยการหยดสารละลายไอโอดีน ลงไปให้ท่วมรอยเสมียร์ ทิ้งไว้ 1 นาที

1.5 เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง และชะด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์จนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่อย่าให้เกิน 20 นาที แล้วล้างน้ำทันที โดยให้น้ำผ่านเบาๆ

1.6 ซับด้วยกระดาษทิชชู แล้วย้อมทับด้วยสี safranin O ให้ท่วมร้อยเสมียร์ทิ้งให้นาน 1 นาที

1.7 เทสีทิ้งแล้วล้างออกซับด้วยกระดาษทิชชู วางทิ้งไว้ให้แห้ง

1.8 นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

2) การย้อมสีเอนโดสปอร์ (กัญจนา ธระกุล และคณะ, 2547)

2.1 ทำความสะอาดสไลด์ และเช็คสไลด์ให้แห้

2.2 เตรียมเสมียร์เชื้อ และตรึงเซลล์สไลด์โดยผ่านเปลวไฟ

2.3 นำสไลด์ไปอังบนไอน้ำเดือด หยดสี Malachite green ให้ท่วมรอยเสมียร์ คอยเติมสีอยู่เรื่อยๆ อย่าให้แห้ง จนครบ 10 นาที

2.4 เมื่อสไลด์เย็นแล้ว นำไปล้างสีออกโดยผ่านน้ำประปาเบาๆ จนน้ำล้างไม่มีสีติดออกมาซับให้แห้ด้วยกระดาษซับ

2.5 ย้อมทับโดยการหยดสี safranin O ลงไปให้ท่วมบริเวณรอยเสมียร์ ทิ้งไว้นาน 1 นาทีแล้วล้างด้วยน้ำประปา ซับให้แห้งแล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3) การย้อม Negative stain (กัญจนา ธระกุล และคณะ, 2547)

3.1 ทำความสะอาดสไลด์ และเช็คสไลด์ให้แห้

3.2 หยดสี Nigrosin 1 หยด ลงบริเวณปลายด้านหนึ่งของสไลด์

3.3 ใช้ลวดเขี่ยเชื้อ แตะหยดน้ำข้างหยดสี แล้วใช้ลวดเขี่ยเชื้อย้ายเชื้อจากหลอดเชื้อบริสุทธิ์ผสมลงในหยดน้ำ

3.4 ใช้ขอบสไลด์อีกแผ่นหนึ่งแตะหยดน้ำทั้ง 2 ให้หยดสีและน้ำผสมเชื้อรวมกัน

3.5 ลากสไลด์ช้าๆ ตามแนวยาวให้ส่วนผสมทั้ง 2 แผ่ออกไปบนผิวกระจกสไลด์ โดยให้ขอบสไลด์แตะอยู่บนพื้นแรกตลอดเวลา

3.6 วางสไลด์ไว้ให้แห้ง นำไปตรวจดูด้วยกล้อง

ภาคผนวก ง
การทดสอบทางชีวเคมี

1. การทดสอบ Catalase test (Baron และคณะ, 1994)

หยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ลงบนสไลด์ 1 หยด จากนั้นใช้ loop เขี่ยเชื้อลงไปทำการผสมให้เข้ากัน แล้วสังเกตผล

การอ่านผล:	ผลบวก	มีฟองแก๊สเกิดขึ้น
	ผลลบ	ไม่เกิดฟองแก๊ส

2. การทดสอบ VP (voges-Prosknuer (MR) test)

โดยนำโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA มาถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย α-naphthol ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ร่วมกันกับสารละลาย Potassiam hydroxide ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงไป

การอ่านผล:	ผลบวก	เกิดสีแดงภายใน 5 นาที
	ผลลบ	เกิดสีเหลือง

3. Voges - Proskauer test

เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียมีความสามารถสร้างสาร acethyl ethyl cardinal จากน้ำตาลคลูโคสได้หรือไม่ ซึ่ง acetionจะฤทธิ์เป็นกลางในสภาวะที่สารละลายนั้นเป็นด่าง โดยการเติม 40% KOH ลงไป acetoin จะถูก oxidized เป็น diacetyl ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ α-naphthol เกิดเป็นสีแดง แบคทีเรีย *Klebsiella*, *Enterobacter* และ *Serratia* จะให้ผลบวกในการทดสอบปฏิกิริยานี้

วิธีการทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปใน MR/VP broth
2. incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. หยด 5% naphtholลงไป 6 หยดแล้วเขย่า
4. หยด 40% KOH ลงไป 2 หยด
5. เขย่าให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ 10-15 นาที
6. สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของ medium
7. การแปลผล ผลบวก : medium เกิดเป็นสีแดง ขณะที่ผลลบ: medium เกิดสีเหลือง

4. การทดสอบอินโดล (Indole test)

Indole test เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถเปลี่ยน tryptophan เป็น indolin ได้หรือไม่ Tryptophan เป็น amino acid ชนิดหนึ่งมีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพวก peptone หรือ casein เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารนี้ ประมาณ 24-28 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบการสร้าง indole โดยการใส่สารละลาย para dimethyl aminobenz aldehyde (kovacs reagent) ลงไป เมื่อสารนี้ทำปฏิกิริยากับ indole จะมีสีแดงเกิดขึ้น เชื้อที่สร้าง indole ได้แก่ *E. coli*

นำโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA มาถ่ายในอาหาร TB แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลาย Kovac reagent ลงไป

ผลบวก คือ สีแดงที่ผิวชั้นบวก

ผลลบ คือ ไม่เกิดสี ถ้าเป็นสีส้ม จัดเป็น Variable เนื่องจาก tryptophan ถูกออกซิไดส์เป็น Skatole (methyl indole)

วิธีการทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปใน 1% peptone broth
2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. หยด kovacs reagent 5 หยด
4. เขย่าหลอดทดลองทดลองเบาๆ 2-3 ครั้ง
5. สังเกตการณ์เปลี่ยนสีที่ผิวของ medium
6. การแปลผล

ผลบวก : มีสีแดงที่ผิวของ medium (red ring)

ผลลบ : สีเหมือน Kovacs reagent คือ สีเหลือง

5. Nitrate reduction (Baron และคณะ, 1994)

เพื่อตรวจสอบว่าแบคทีเรียนั้นสามารถ reduce nitrate ไปเป็น nitrite หรือเกิดขบวนการ Denitrification เปลี่ยน $NO_3 \rightarrow NO_2 \rightarrow N_2$

สูตรอาหาร

Beef extract	3.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
KNO_3	5.00	กรัม

- แบ่งใส่หลอดๆ ละ 6-8 มิลลิลิตร พร้อมทั้งใส่หลอดดักก๊าซ
- การใส่เชื้อ ใช้เชื้อ 1 loop จาก nutrient agar slant ใส่เชื้อลงในหลอดอาหาร
- การตรวจผล 7 วัน และ 14 วัน

- แบ่งสารละลายเชื้อใส่หลอดขนาดเล็กประมาณ 1 ซีซี โดย aseptic technique หลังจากนั้นตรวจหาว่ามี nitrite หรือไม่ โดยเติม sulfanilic acid (reagent A) และ dimethyl-α naphthylamine (reagent B) ลงไปอย่างละ 2-3 หยด ถ้าสารละลายสีแดงมีตะกอน แสดงว่าพบ nitrite ถ้าไม่พบ nitrite ให้เติมผงสังกะสี ลงไป ผงสังกะสีจะไป reduce nitrite ให้เป็น nitrite ทำให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง ฉะนั้นถ้าเกิดสีแดงหลังจากเติมผงสังกะสีแสดงว่ายังมี nitrite อยู่ แสดงว่าแบคทีเรียนั้นไม่สามารถ reduce nitrate ได้ แต่ถ้าไม่เกิดสีแดง หลังจากที่เติมผงสังกะสีก็แสดงว่า NO_3 ถูก reduce ไปเป็น NO_2 และ NO_2 ถูกเปลี่ยนไปเป็น N_2 หรือสารอื่น ๆ แล้ว ส่วนขบวนการ denitrification ดูการเกิดก๊าซในหลอดในหลอดดักก๊าซ

6. การทดสอบการหมักน้ำตาล (Carbohydrate fermentation test)

การทดสอบการหมักน้ำตาลเป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถหมักน้ำตาลชนิดนั้นๆ ได้หรือไม่ และผลิตกรดอย่างเดียว หรือผลิตกรดและแก๊สหลังกระบวนการหมัก อาหารที่ใช้ทดสอบประกอบด้วย broth base ผสมกับน้ำตาลที่ต้องการทดสอบ เช่น glucose, sucrose รวมทั้งใส่หลอดดักแก๊ส (Durham tube) เพื่อที่จะเก็บแก๊สที่แบคทีเรียสร้างและเติม indicator เพื่อที่จะบอกสภาวะความเป็นกรดด่าง

วิธีทดสอบ

1. ลงเชื้อในอาหาร
2. Incubate ที่ 35°c นาน 18 ถึง 24 ชั่วโมง
3. ดูการเปลี่ยนสีของอาหาร เช่น ถ้าใช้ phenol red เป็น indicator เมื่อมีกรดเกิดขึ้นจาก fermentation ก็จะเปลี่ยนจากสีส้มแดงเป็นสีเหลือง

การอ่านผล

ผลบวก - มีกรด ทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (และอาจมีแก๊ส)

ผลลบ – อาหารเป็นสีชมพูแดง

Table 20.3 Differential characteristics of anaerobic, irregular, nonsporing Gram-positive rods [a]

Characteristics	*Acetobacterium*	*Acetogenium*	*Bifidobacterium* [b]	*Butyrivibrio*	*Coriobacterium*	*Eubacterium* [b]
Cell morphology	Oval shaped short rods	Rods	Very irregular rods with branching	Curved rods, may be helical	Irregular pear-shaped rods in chains	Irregular rods often in pairs or chains
Gram stain	+	–	+	–	+	+
Motility	+	–	–	+	–	D
Catalase	–	–	–	–	ND	–
Thermophilic, poor growth below 40°C	–	+	–	–	–	–
Peptidoglycan:						
Group [c]	B [f]	ND	A	ND	ND	D
Diamino acid	Orn	ND	Lys, Orn	ND	Lys	D
N-Glycolyl residues	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Wall arabino-galactan polymer	–	ND	–	–	ND	–
Mycolic acids	–	ND	–	–	ND	–
Major fatty acid types [d]	ND	ND	S,U	various (S,U,A,I,DCFA)	ND	ND
Major menaquinones [e]	ND	ND	–	ND	ND	ND
Habitat and pathogenicity	Anaerobic fresh water and marine sediments, and sewage	Tropical lake mud	Intestines of humans and animals; sewage; pathogenicity doubtful	Rumen	Intestine of insects	Intestinal tract of humans and animals, plants, soil; some are pathogenic for humans

Footnotes are at end of table

Table 20.3 *(continued)*

Characteristics	*Falcivibrio*	*Lachnospira*	*Mobiluncus*	*Thermoanaerobacter*	*Thermoanaerobium*
Cell morphology	Slender curved rods, often in pairs	Curved rods or filaments	Slender curved rods, often in pairs	Rods, irregular in older cultures, some filamentous or coccoid forms	Irregular rods; in old cultures chains of rods interspersed with cocci
Gram stain	+[c]	–[c]	–[c]	+[d]	+
Motility	+	+	+	+	–
Catalase	–	–	–	–	–
Thermophilic, poor growth below 40°C	–	–	–	+	+
Peptidoglycan:					
Group[e]	ND	ND	ND	ND	ND
Diamino acid	ND	ND	ND	*meso*-DAP	ND
N-Glycolyl residues	ND	ND	ND	ND	ND
Wall arabino-galactan polymer	ND	–	ND	–	ND
Mycolic acids	ND	–	ND	–	ND
Major fatty acid types[g]	ND	S,U,3-OH-FA	ND	ND	ND
Major menaquinones[h]	ND	ND	ND	ND	ND
Habitat and pathogenicity	Human vagina	Rumen	Human vagina	Hot springs	Hot springs

[a] Symbols: +, 90% or more of strains are positive; –, 90% or more of strains are negative; D, substantial proportion of species differ; ND, not determined.

[b] May be confused with *Clostridium* if speres not observed.

[c] Sometimes weakly Gram positive.

[d] Easily decolorized.

[e] Designation as Schleifer and Kandler (Bacteriol. Rev. *36*: 407–477, 1972).

[f] This Group B type of peptidoglycan differs from that of the Group B genera in Tables 20.1 and 20.2 in having a seryl residue in Position 1 of the peptide subunit.

[g] S, straight-chain saturated; U, monounsaturated; A, *anteiso*-methyl branched; I, *iso*-methyl branched; 3-OH-FA, 3-hydroxylated long chain fatty acids; DCFA, dicarboxylic fatty acids with vicinal dimethyl branching; parentheses indicate sometimes present or in small amounts.

[h] Symbolism of Collins and Jones (Microbiol. Rev. *45*: 316–354, 1981).

Table 18.1 Differential characteristics of endospore-forming bacteria and similar genera[a]

Characteristics	Genera with endospores										Genera without endospores				
	Amphibacillus	*Bacillus*	*Clostridium*	*Desulfotomaculum*	*Oscillospira*	*Sporohalobacter*	*Sporolactobacillus*	*Sporosarcina*	*Sulfidobacillus*	*Syntrophospora*	*Kurthia*	*Lactobacillus*	*Marinococcus*	*Planococcus*	*Salinicoccus*
Rod-shaped in young cultures	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	+	–	–	–
Diameter over 2.5 μm	–	–	–	–	+[b]	–	–	–	–	–	–	–[e]	–	–	–
Filaments	ND	–	D		+	–	–	–	–	–	d		–	–	–
Rods or filaments curved	–	–	D	D	+	–	+	NA	–	ND	–	–	NA	NA	NA
Cocci in tetrads or packets	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	d	d	d
Endospores produced	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–
Motile	+	+	+	+	+	+	+	+	–	ND	+	–	+	+	–
Stain Gram positive at least in young cultures	+	+	+[c]	d	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Strict aerobes	–	D	–	–	ND	–	–	+	+	–	+	–	+	+	+
Facultative anaerobes or microaerophiles	+	D	+	–	ND	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–
Strict anaerobes	–	–	+[d]	+	+	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–
Product of carbohydrate fermentation is almost all lactate	–	D	–	–	ND	–	+	–	ND	–	–	D	–	–	–
Sulfate actively reduced to sulfide	ND	–	–	+	ND	ND	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Catalase	–	+	–	–	ND	–	–	+	ND	ND	+	–	+	+	+
Oxidase	–	D	–	ND	ND	–	ND	+	ND	ND	–	–	+	–	–
Marked acidity from glucose	+	+	D	–	ND	+	+	–	ND	ND	–	+	+	+	–
Nitrate reduced to nitrite	–	D	D	ND	ND	ND	–	D	ND	–	–	–	D	–	ND
Requires 3–12% NaCl for growth	–	D	–	–	–	+	–	D	–	–	–	–	–	–	–

[a] Symbols: +, 90% or more of strains are positive; –, 90% or more of strains are negative; d, 11–89% of strains are positive; D, substantial proportion of species differ; NA, not applicable; ND, not determined.

[b] Morphologically similar to *Caryophanon;* broad discs of cells form filament.

[c] Rarely stain Gram negative.

[d] Rarely aerotolerant.

[e] Long chains common, but not filaments.

ภาคผนวก ฉ
คำศัพท์ที่ใช้ในการอธิบายลักษณะการเจริญของแบคทีเรีย

1. โคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร (Surface colonies plate culture)

Form (รูปร่างของโคโลนี)

Punctiform	ขนาดของโคโลนีที่เล็กมาก แต่ยังเห็นได้ด้วยตาเปล่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 1 มิลลิเมตร
Circular	โคโลนีรูปร่างกลม
Irregular	โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน
Filamentous	โคโลนีเจริญออกไป ในลักษณะคล้ายเส้นใยของรา รูปร่างมักจะไม่แน่นอน
Rhizoid	โคโลนีเจริญเป็นเส้นหยาบกว่าพวก filamentous แผ่ออกคล้ายรากต้นไม้

Elevation (ระดับความนูนของโคโลนี)

Effuse	โคโลนีแผ่บาง ๆ บนผิวหน้าของอาหาร มักจะไม่สู้เจริญให้เห็นชัด
Flat	โคโลนีที่เจริญกว่า effuse แต่ก็ยังแบนราบบนผิวหน้าอาหาร
Raised	โคโลนีค่อนข้างหน้า เจริญสูงขึ้นจากผิวอาหาร แต่ส่วนบนจะเรียบและด้านริมจะลาดทำมุมกับผิววุ้น
Convex	โคโลนีนูนโค้งจากผิวหน้าอาหาร โคโดลนีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก
Pulvinate	โคโลนีรูปกลม นูนโค้งจากผิวหน้าของอาหาร มากจนเกือบจะเป็นรูปครึ่งวงกลม

Surface (ลักษณะของผิวหน้าของโคโลนี)

Smooth	เกลี้ยงเกลา
Rough	ขรุขระ
Concentrically ringed	มีลักษณะเป็นวงแหวนซ้อนกันหลายๆ ชั้น
Contoured	ผิวหน้าเกลี้ยง แต่เป็นคลื่น ลักษณะคลื่นไม่แน่นอน
Radiately ridged	มีสันนูนเป็นรัศมีออกจากศูนย์กลาง คล้ายซี่ลวดของล้อรถ

Rugose	ผิวหน้าเป็นรอยย่น
Edge (ริมของโคโลนี)	
Entire	เกลี้ยงไม่มีรอยหักเว้า
Undulate	ริมเป็นคลื่น ที่โค้งหรือเว้าพียงเล็กน้อย
Lobate	เป็นคลื่นที่แหว่งเว้ามาก หรือเรียกเป็น lacerate
Erose	ริมหยักเป็นฟันที่ไม่สม่ำเสมอ
Filamentous	ริมเป็นเส้น ๆ แบบเส้นใยของพวกรา
Curled	เป็นเส้นซ้อน ๆ กัน และหยิกไปมารูปร่างไม่แน่นอน
Optical character (ลักษณะเกี่ยวกับแสง)	
Opaque	ทึบไม่ให้แสงผ่าน
Translucent	โปร่งแสงพอประมาณ คล้ายกระจกฝ้า
Opalescent	สีคล้าย opal เหลืองขุ่น
Iridescent	สะท้อนแสงเป็นสีเหลืองคล้ายสีรุ้ง
Dull	สีขุ่น ไม่ขึ้นเงา
Glistening	สะท้อนเป็นเงา ไม่ขุ่นมัว
Photogenic	เรืองแสง ให้แสงในที่มืด (photorecent)
Fluorescent	ส่องแสงสีม่วงได้ เมื่อได้รับแสงจากที่อื่น ๆ
Consistency (เนื้อในโคโลนี)	
Butyrous	เละคล้ายเนยเหลว
Viscid	เป็นเมือกเหนียว ถ้าใช้เข็มแตะแล้ว ยกขึ้นจะติดปลาย เข็มเป็นสาย
Membranous	โคโลนีบาง เป็นแผ่นคล้ายเยื่อ
Brittle	แห้งแข็ง เปราะแตกง่าย เมื่อใช้เข็มกด

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล	นางสาว ซัลมา ดอล่าโดย
วันเดือนปีเกิด	19 ตุลาคม 2534
สถานที่เกิด	อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	28/4 หมู่ 2 ตำบลกาหลง อำเภอศรีสาคร จังหวัดนราธิวาส 96210
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 ชั้นประถมศึกษา โรงเรียนบ้านป่าไผ่
	พ.ศ. 2549 ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนต้นตันหยง
	พ.ศ. 2552 ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนต้นตันหยง
	พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นางสาว รอยีละห์ มูซอ

วันเดือนปีเกิด 8 กุมภาพันธ์ 2534

สถานที่เกิด อำเภอสายบุรี จังหวัดปัตตานี

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 149 หมู่ 2 ตำบลปะเสยะวอ อำเภอสายบุรี จังหวัดปัตตานี 94110

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2546 ชั้นประถมศึกษา โรงเรียนบ้านบน

พ.ศ. 2549 ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสายบุรีอิสลามวิทยา

พ.ศ. 2552 ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสายบุรีอิสลามวิทยา

พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY