

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

##### 3.1.1 วัสดุและเคมีภัณฑ์

3.1.1.1 พอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอตหรือพีเอชเอ (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) ทางการค้าชนิด Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) หรือ PHBV ที่มีอนุพันธ์ของ hydroxy valerate (HV) 3 mol% ผลิตโดย Tianan Biologic Materials Co., Ltd. ประเทศจีน

3.1.1.2 คลอโรฟอร์ม (Chloroform,  $\text{CHCl}_3$ ) ยี่ห้อ RCI Labscan ผลิตโดย RCI Labscan Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.1.1.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium Dihydrogen Phosphate,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ยี่ห้อ Ajax Finechem ผลิตโดย Ajax Finechem Pty. Ltd. ประเทศนิวซีแลนด์

3.1.1.4 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassium Hydrogen Phosphate,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) ยี่ห้อ Ajax Finechem ผลิตโดย Ajax Finechem Pty. Ltd. ประเทศนิวซีแลนด์

3.1.1.5 แมกนีเซียมซัลเฟตเซปตะไฮเดรต (Magnesium Sulfate Heptahydrate,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ยี่ห้อ QREC ผลิตโดย Inout Enterprise Pte. Ltd. ประเทศนิวซีแลนด์

3.1.1.6 แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Sulfate,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) ยี่ห้อ BDH Prolabo ผลิตโดย VWR International Ltd. ประเทศเบลเยียม

3.1.1.7 น้ำยางธรรมชาติ (Natural Rubber) จากศูนย์เรียนรู้ยางพารา อำเภอเขาสวนกวาง จังหวัดขอนแก่น

3.1.1.8 ถุงตาข่ายพลาสติกสำหรับบรรจุเมล็ดบักกัณฑ์กระแทกเพื่อศึกษาการย่อยสลาย

##### 3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Labtech รุ่น LDO-100E ผลิตโดย Daihan Labtech Co., Ltd. ประเทศเกาหลี

3.1.1.2 เครื่องทดสอบแรงแบบอเนกประสงค์ (Universal Testing Machine, UTM) ยี่ห้อ Instron รุ่น 5567A ผลิตโดย Instron Co., Ltd. ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.3 แผ่นความร้อน (Hot plate) ยี่ห้อ Toho รุ่น TTM-J4 ผลิตโดยบริษัท Toho Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น

- 3.1.1.4 เครื่องชั่ง (Balance) ยี่ห้อ OHAUS รุ่น Pioneer Series Balances (PA214) ผลิตโดย Ohaus Corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.1.5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Trans Instruments รุ่น Senz pH ผลิตโดย Trans Instruments (S) Pte. Ltd. ประเทศสิงคโปร์
- 3.1.1.6 เครื่องมือวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสาร (Differential scanning calorimetry, DSC) รุ่น Pyris6 ผลิตโดย Perkin Elmer Ltd. ประเทศอเมริกา
- 3.1.1.7 ตู้ดูดควัน (Fume hood) ยี่ห้อ Wizard รุ่น WZ-1500FA ผลิตโดย Greentech Plus Co., Ltd. ประเทศไทย
- 3.1.1.8 เครื่องเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer, XRD) รุ่น D8 Advance ผลิตโดย Bruker BioSpin AG Co., Ltd. ประเทศเยอรมนี
- 3.1.1.9 เครื่องอินฟราเรดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) ยี่ห้อ Bruker Optik รุ่น Tensor 27 ผลิตโดย Bruker Optik GmbH ประเทศเยอรมนี
- 3.1.1.10 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ยี่ห้อ Hitachi รุ่น S-3000N ผลิตโดย Hitachi, Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.1.11 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ยี่ห้อ Labtech รุ่น LAC-5060S ผลิตโดย Daihan Labtech Co., Ltd. ประเทศเกาหลี
- 3.1.1.12 เครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง
- 3.1.1.13 ฝักคั่ว (แท่งเหล็กใช้สำหรับตอก) แบบมือตอก เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร ค้อน และแผ่นไม้สำหรับรองตอก
- 3.1.1.14 ลูกกลิ้งไม้สำหรับรีดและแผ่นไม้สำหรับรองรีด
- 3.1.1.15 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3.1.1.16 เครื่องเขย่า (Shaker)
- 3.1.1.17 ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.1.1.18 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier calipers)

### 3.1.2 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในระหว่างการศึกษาการสลายตัวของชีวภาพ ประกอบด้วย

1. Mineral Salt medium (MS Medium) (ดัดแปลงจาก จิตติมา แก้วเรือง, 2551)
2. Nutrient Broth (NB)
3. Nutrient Agar (NA)

รายละเอียดขององค์ประกอบและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวอธิบายรายละเอียดในภาคผนวก

## 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

### 3.2.1 การเตรียมวัสดุ

1) การเตรียมสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยการนำเม็ดพอลิเมอร์ชีวภาพ PHAs ปริมาณ 8, 16 และ 24 กรัม ในคลอโรฟอร์มปริมาตร 800 มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วขนาด 1,000 มิลลิลิตร ให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และกวนสารละลาย PHAs ขณะให้ความร้อนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic stirrer) จากนั้นตั้งสารละลาย PHAs ที่ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำเข้าตู้เย็นเพื่อเก็บไว้ทำการทดลอง ก่อนนำมาทำการทดลองนำสารละลาย PHAs ออกจากตู้เย็น และตั้งทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้องจึงนำมาทำการทดลอง

2) การเตรียมน้ำยารวมชาติ โดยการเติมสารละลายแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) และวัดความเป็นกรด-ด่าง จากนั้นนำเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทำการทดลองนำน้ำยารวมชาติออกจากตู้เย็นและตั้งทิ้งไว้ให้น้ำยารวมชาติมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้องจึงนำทำการทดลอง

### 3.2.2 การผสมและขึ้นรูป

#### 3.2.2.1 การผสมและขึ้นรูปผลิตภัณฑ์แบบแผ่นเพื่อทดสอบสัดส่วนต่อการขึ้นรูป

1) นำสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมกับน้ำยารวมชาติ ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการผสมประมาณ 5 นาที ทำการผสมในตู้ดูดควัน โดยแปรผันสัดส่วนการผสมดังตารางที่ 3.1 จากนั้นเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย PHAs จากร้อยละ 1 เป็น 2 และ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้สัดส่วน PHAs และการผสมกับน้ำยารวมชาติได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

2) เมื่อผสมส่วนผสมทั้ง 2 เป็นเวลา 5 นาที จึงเทตัวอย่างที่ได้จากการผสมลงบนจานแก้ว จากนั้นทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้คลอโรฟอร์มระเหย

3) นำตัวอย่างแผ่นผลิตภัณฑ์เข้าสู่อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หรือทิ้งไว้ให้แห้ง เมื่อตัวอย่างแห้งทำการลอกแผ่นตัวอย่างเก็บไว้ในถุงพลาสติกในอุณหภูมิห้องโดยผลิตภัณฑ์ไม่ฝีกขาดหรือพังงอ จากนั้นสังเกตแผ่นยางตัวอย่างที่ได้รับจากการขึ้นรูป และตรวจสอบเบื้องต้นด้วยสายตาเพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปเป็นเม็ดบีทกันกระแทก

ตารางที่ 3.1 สัดส่วนที่ใช้ในการผสมระหว่าง PHAs และน้ำยางธรรมชาติ โดยมีปริมาตรรวมเป็น 30 มิลลิลิตร

| ลำดับที่ | รหัสตัวอย่างของผลิตภัณฑ์       |                     |                     | ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิลิตร) |                | สัดส่วน |
|----------|--------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|----------------|---------|
|          | ตามความเข้มข้นของสารละลาย PHAs |                     |                     | สารละลาย PHAs             | น้ำยางธรรมชาติ |         |
|          | 1% PHAs                        | 2% PHAs             | 3% PHAs             |                           |                |         |
| 1        | P <sub>1</sub>                 | P <sub>2</sub>      | P <sub>3</sub>      | 30                        | -              | 10      |
| 2        | P <sub>1</sub> 9:R1            | P <sub>2</sub> 9:R1 | P <sub>3</sub> 9:R1 | 27                        | 3              | 9:1     |
| 3        | P <sub>1</sub> 8:R2            | P <sub>2</sub> 8:R2 | P <sub>3</sub> 8:R2 | 24                        | 6              | 8:2     |
| 4        | P <sub>1</sub> 7:R3            | P <sub>2</sub> 7:R3 | P <sub>3</sub> 7:R3 | 21                        | 9              | 7:3     |
| 5        | P <sub>1</sub> 6:R4            | P <sub>2</sub> 6:R4 | P <sub>3</sub> 6:R4 | 18                        | 12             | 6:4     |
| 6        | P <sub>1</sub> 5:R5            | P <sub>2</sub> 5:R5 | P <sub>3</sub> 5:R5 | 15                        | 15             | 5:5     |
| 7        | P <sub>1</sub> 4:R6            | P <sub>2</sub> 4:R6 | P <sub>3</sub> 4:R6 | 12                        | 18             | 4:6     |
| 8        | P <sub>1</sub> 3:R7            | P <sub>2</sub> 3:R7 | P <sub>3</sub> 3:R7 | 9                         | 21             | 3:7     |
| 9        | P <sub>1</sub> 2:R8            | P <sub>2</sub> 2:R8 | P <sub>3</sub> 2:R8 | 6                         | 24             | 2:8     |
| 10       | P <sub>1</sub> 1:R9            | P <sub>2</sub> 1:R9 | P <sub>3</sub> 1:R9 | 3                         | 27             | 1:9     |
| 11       | R10                            | R10                 | R10                 | -                         | 30             | 10      |

หมายเหตุ: P<sub>1</sub> = 1% PHAs, P<sub>1</sub>9 = 1% PHAs สัดส่วน 90%, R1 = Natural rubber 10%

หลังจากการผสมและขึ้นรูปตัวอย่างผลิตภัณฑ์แบบแผ่นเพื่อทดสอบสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูป ทำให้ได้สัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 กับน้ำยางธรรมชาติ 3 สัดส่วน ได้แก่ 6:4, 5:5 และ 4:6 โดยแปลงเป็นสัดส่วนอย่างต่ำ 3:2, 1:1 และ 2:3 ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สัดส่วนที่ใช้ในการผสมระหว่าง PHAs และน้ำยางธรรมชาติ โดยมีปริมาตรรวมเป็น 150 มิลลิลิตร

| ลำดับที่ | รหัสตัวอย่างของผลิตภัณฑ์       |                     |                     | ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิลิตร) |          | สัดส่วน |
|----------|--------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|----------|---------|
|          | ตามความเข้มข้นของสารละลาย PHAs |                     |                     | สารละลาย                  | น้ำยาง   |         |
|          | 1% PHAs                        | 2% PHAs             | 3% PHAs             | PHAs                      | ธรรมชาติ |         |
| 5        | P <sub>1</sub> 6:R4            | P <sub>2</sub> 6:R4 | P <sub>3</sub> 6:R4 | 90                        | 60       | 3:2     |
| 6        | P <sub>1</sub> 5:R5            | P <sub>2</sub> 5:R5 | P <sub>3</sub> 5:R5 | 75                        | 75       | 1:1     |
| 7        | P <sub>1</sub> 4:R6            | P <sub>2</sub> 4:R6 | P <sub>3</sub> 4:R6 | 60                        | 90       | 2:3     |

หมายเหตุ: P<sub>1</sub> = 1% PHAs, P<sub>1</sub>6 = 1% PHAs สัดส่วน 60%, R4 = Natural rubber 40%

### 3.2.2.2 การผสมและขึ้นรูปตัวอย่างแผ่นยางผสมเพื่อเป็นเมดปีทกันกระแทก

1) ทำการผสมวัตถุดิบระหว่างสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับน้ำยางธรรมชาติ โดยมีสัดส่วนการผสมดังแสดงในตารางที่ 3.2 โดยเริ่มต้นจากการผสมสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 กับน้ำยางธรรมชาติในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำน้ำยางธรรมชาติตั้งบนเครื่องให้ความร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลานาน 5 นาที (ภาพที่ 3.2 (ก)) จากนั้นเทสารละลาย PHAs ที่ละน้อย สลับกับการกวนผสมให้เข้ากัน โดยใช้แท่งแก้วคนสาร จนกระทั่งสารละลาย PHAs หหมด โดยขณะผสมต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที ในตู้ดูดควัน จะได้อย่างผสมเพื่อนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นยางผสม

2) จากนั้นนำยางผสมมารีดขึ้นรูปเป็นแผ่นยางผสมโดยใช้ลูกกลิ้งไม้บนแผ่นไม้สำหรับรีดขึ้นรูป ส่วนผสมทั้ง 2 ให้มีลักษณะเป็นแผ่นในเบื้องต้นก่อนการนำไปรีดด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง เป็นเวลาประมาณ 5 นาที

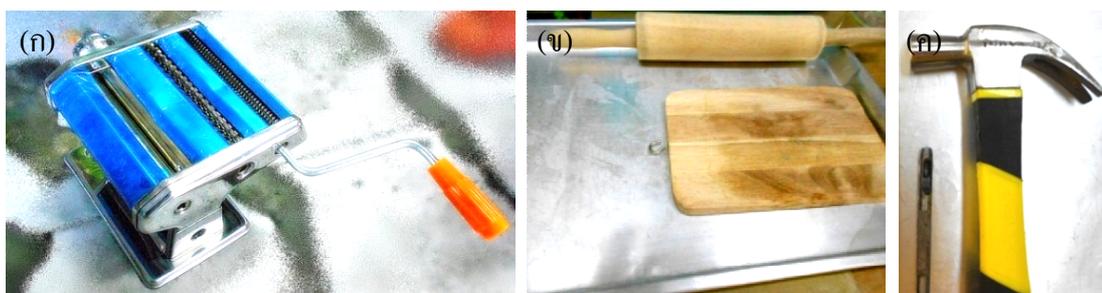
3) นำแผ่นยางผสมที่ได้จากการรีดขึ้นรูปเบื้องต้นด้วยลูกกลิ้งไม้ (ภาพที่ 3.1 (ข)) มารีดขึ้นรูปเป็นแผ่นอีกครั้งด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง (ภาพที่ 3.1 (ก)) เป็นเวลาประมาณ 30 นาที เพื่อให้ได้แผ่นยางที่หนาประมาณ 5 มิลลิเมตร (วัดโดยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์) สำหรับใช้ในการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์เมดปีทกันกระแทก และทำเช่นเดียวกันในสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 ทั้งนี้สัดส่วน PHAs และการผสมกับน้ำยางธรรมชาติได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2

4) นำแผ่นยางผสมมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เมดปีทกันกระแทกด้วยการดกด้วยตุ้ดตุ้ (แท่งเหล็กใช้สำหรับดก) แบบมือดก (ภาพที่ 3.1 (ค)) โดยนำแผ่นยางผสมมาดกด้วยตุ้ดตุ้ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร (หนาเท่ากับความหนาของแผ่นยาง) เพื่อให้ได้เมดปีทกันกระแทกที่มีรูปร่างกลม

5) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกคงตัว และเพื่อให้คลอโรฟอร์มระเหยเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

6) นำผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกเข้าสู่ตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกแห้งสนิท

สำหรับน้ำยางธรรมชาติบริสุทธิ์ (ที่ไม่มีการผสมกับสารละลาย PHAs) ทำการขึ้นรูปโดยผสมสารละลายแอมโมเนียร้อยละ 2 จากนั้นร่อนจนกระทั่งน้ำยางแข็งตัว ใช้เวลาประมาณ 30 นาที จึงนำมารีดด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง ให้แผ่นยางมีความหนาประมาณ 5 มิลลิเมตร จึงขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกโดยใช้ตุ้กดู้แบบมือตอก จากนั้นนำเม็ดยางที่ได้ (ภาพที่ 3.2 (จ)) ไปอบด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกที่ได้จาก PHAs ผสมกับน้ำยางธรรมชาติ



ภาพที่ 3.1 อุปกรณ์สำหรับขึ้นรูปร่างผสมที่มีส่วนผสมระหว่างน้ำยางธรรมชาติกับสารละลาย PHAs เพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทก (ก) เครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง (ข) ลูกกลิ้งไม้และแผ่นไม้สำหรับขึ้นรูปร่างผสมให้เป็นแผ่นในเบื้องต้นก่อนนำไปรีดด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง และ (ค) ตุ้กดู้ (แท่งเหล็กใช้สำหรับตอก) แบบมือตอก เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร และค้อนสำหรับขึ้นรูปเม็ดบีทกัณฑ์กระแทก



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์เม็ดบีดักันกระแทกจากยางผสมที่ได้จากการผสมระหว่าง สารละลาย PHAs กับน้ำยางธรรมชาติ (ก) สารละลาย PHAs กับน้ำยางธรรมชาติใน ขั้นตอนการผสมบนเครื่องให้ความร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (ข) ไม้ขนาดและแผ่นไม้ รองขนาดเพื่อรีดขึ้นรูปยางผสมให้มีลักษณะเป็นแผ่นในเบื้องต้น (ค) เครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้งเพื่อขึ้นรูปแผ่นยางผสมหนาประมาณ 5 มิลลิเมตร (ง) ตัวอย่างที่ผ่านการรีดและ พร้อมสำหรับการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์เม็ดบีดักันกระแทก (จ) ค้อนและตุ้ดตุ้ (แทงเหล็ก ที่ใช้สำหรับตอกรู) แบบมือตอกสำหรับขึ้นรูปแผ่นยางผสมเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เม็ด บีดักันกระแทกและแผ่นยางธรรมชาติที่ผ่านการตอกขึ้นรูปเม็ดบีดักันกระแทก และ (ฉ) ผลิตภัณฑ์เม็ดบีดักันกระแทกที่ได้จากแผ่นยางธรรมชาติก่อนการอบแห้ง

### 3.2.1.3 การเตรียมแผ่นยางผสมเพื่อการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

1) ทำการผสมวัตถุดิบระหว่างสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับน้ำยางธรรมชาติ โดยมีสัดส่วนการผสมดังแสดงในตารางที่ 3.2 โดยเริ่มต้นจากการผสมสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 กับน้ำยางธรรมชาติในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำน้ำยางธรรมชาติตั้งบนเครื่องให้ความร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นเทสารละลาย PHAs ที่ละน้อยสลับกับการคนผสมให้เข้ากัน โดยใช้แท่งแก้วคนสาร จนกระทั่งสารละลาย PHAs หมด โดยขณะผสมต้องให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที ในตู้ดูดควัน จะได้ยางผสมเพื่อนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นในขั้นต่อไป

2) จากนั้นนำยางผสมมาขึ้นรูปเป็นแผ่นโดยใช้ลูกกลิ้งไม้และแผ่นไม้สำหรับรีดขึ้นรูปส่วนผสมทั้ง 2 ให้มีลักษณะเป็นแผ่นยางผสมในเบื้องต้นก่อนการนำไปรีดด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง เป็นเวลาประมาณ 5 นาที

3) นำแผ่นยางผสมที่ได้จากการขึ้นรูปเบื้องต้นด้วยลูกกลิ้งไม้ มาขึ้นรูปเป็นแผ่นด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้งเป็นเวลาประมาณ 15 นาที เพื่อให้ได้แผ่นยางที่หนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตร (วัดโดยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์) โดยแผ่นยางผสมควรมีลักษณะเป็นแผ่นสีเหลืองที่ขาว (ภาพที่ 3.3) เพื่อง่ายต่อการขึ้นรูปแผ่น จากนั้นทำเช่นเดียวกันในสารละลาย PHAs ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 ทั้งนี้สัดส่วน PHAs และการผสมกับน้ำยางธรรมชาติได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2

4) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้แผ่นผลิตภัณฑ์ยางผสมมีความคงตัวและให้คลอโรฟอร์มระเหยเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

5) นำแผ่นผลิตภัณฑ์ยางผสมเข้าสู่อบความร้อน ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เพื่อให้แผ่นผลิตภัณฑ์ยางผสมแห้งสนิท

สำหรับน้ำยางธรรมชาติบริสุทธิ์ (ที่ไม่มีการผสมกับสารละลาย PHAs) ทำการขึ้นรูปโดยผสมสารละลายแอมโมเนียร้อยละ 2 จากนั้นรอจนกระทั่งน้ำยางแข็งตัว ใช้เวลาประมาณ 30 นาที จึงนำมารีดด้วยเครื่องรีดชนิด 2 ลูกกลิ้ง ให้แผ่นยางมีความหนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตร นำตัวอย่างเม็ดที่ได้ไปอบด้วยเตาอบเป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง

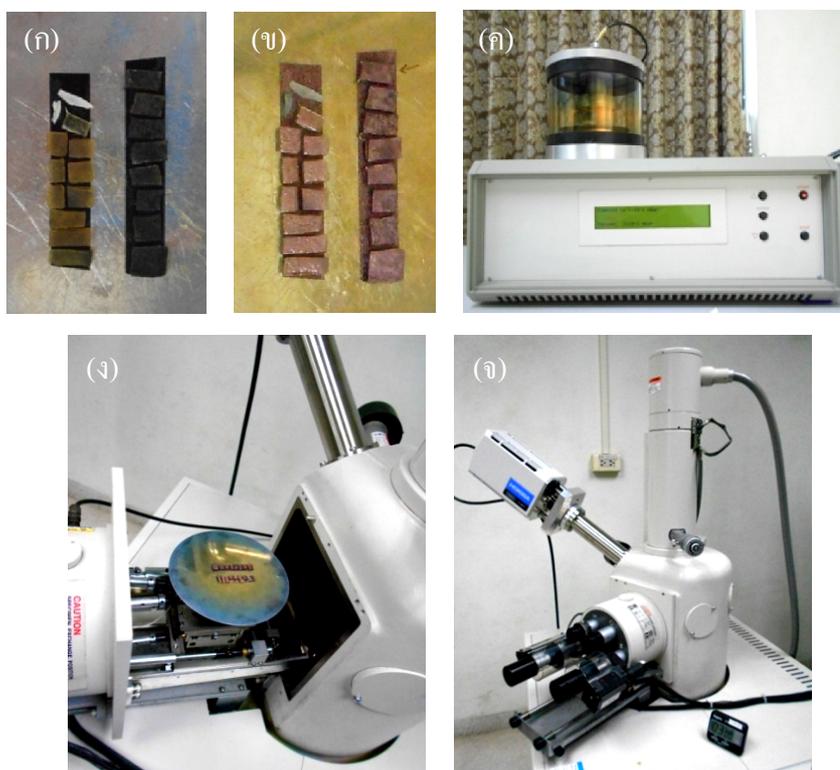


ภาพที่ 3.3 แผ่นยางผสมสำหรับการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพก่อนการอบแห้ง

### 3.3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เม็ดบีทักันกระแทก

#### 3.3.1 ลักษณะพื้นที่ผิว (Surface area) ของแผ่นยางผสม

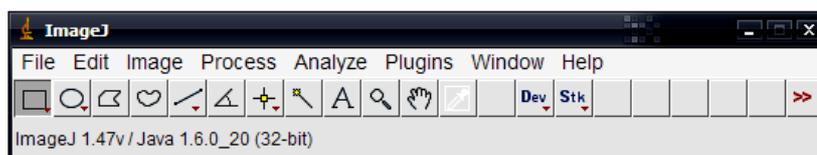
ผลิตภัณฑ์แผ่นยางผสมที่ใช้ศึกษาลักษณะพื้นที่ผิวในขั้นตอนนี้ มีลักษณะเป็นแผ่นมีความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร ซึ่งได้จากขั้นตอนการเตรียมแผ่นยางผสมเพื่อการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ จากนั้นนำตัวอย่างแต่ละตัวอย่างตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมให้มีขนาดความกว้างและความยาวประมาณ 4-5 มิลลิเมตร นำตัวอย่างติดลงบนเทปกาวคาร์บอน แล้วนำไปเคลือบผิวหน้าด้วยทองคำ จึงนำไปศึกษาลักษณะพื้นที่ผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หรือเครื่อง SEM ที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยศึกษาความเป็นรูพรุน ทั้งก่อนและหลังการสลายตัวทางชีวภาพ



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการศึกษาลักษณะพื้นที่ผิวของแผ่นยางผสมเพื่อผลิตเม็ดบีทักันกระแทกก่อนและหลังการย่อยสลาย (ก) ตัวอย่างแผ่นยางผสมเพื่อผลิตเม็ดบีทักันกระแทกก่อนและหลังการย่อยสลายบนแท่นเตรียมตัวอย่างก่อนการเคลือบทอง (ข) ตัวอย่างแผ่นยางผสมเพื่อผลิตเม็ดบีทักันกระแทกก่อนและหลังการย่อยสลายบนแท่นเตรียมตัวอย่างหลังผ่านการเคลือบทอง (ค) เครื่องเคลือบทองสำหรับเตรียมตัวอย่างก่อนการทดสอบด้วยเครื่อง SEM (ง) แท่นวางตัวอย่างภายในเครื่อง SEM และ (จ) เครื่อง SEM ที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### 3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณความพรุน (Porosity)

การวิเคราะห์หาปริมาณความพรุน (porosity) สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนช่องว่าง (void ratio) ของภาพถ่ายที่ถ่ายด้วยเครื่อง SEM จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับวิเคราะห์ภาพ ImageJ เวอร์ชัน 1.47 (ภาพที่ 3.5) ซึ่งถูกพัฒนาโดยสำนักวิจัยของสถาบัน National Institute of Health หรือ NIH เพื่อหาร้อยละของพื้นที่ความพรุนที่ปรากฏบนภาพถ่ายทั้งก่อนและหลังการย่อยสลายทางชีวภาพ



ภาพที่ 3.5 โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับวิเคราะห์ภาพ ImageJ เวอร์ชัน 1.47

### 3.3.3 คุณสมบัติทางความร้อน (Thermal property)

การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของผลิตภัณฑ์เม็ดบีดักันกระแทก ทำการศึกษาทั้งเม็ดบีดักันกระแทกที่ไม่ได้ผ่านและผ่านการทดสอบการสลายตัวทางชีวภาพ โดยวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อน ได้แก่ อุณหภูมิหลอมเหลว (melting point temperature,  $T_m$ ) อุณหภูมิการเกิดผลึก (crystalline temperature,  $T_c$ ) และอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะแก้ว (glass transition temperature,  $T_g$ ) โดยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริเมตรีด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (Differential Scanning Calorimeters, DSC) ที่คณะเทคโนโลยีสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น (ภาพที่ 3.6) การหาจุดหลอมเหลวสามารถทำได้โดยนำพอลิเมอร์ปริมาณ 10 มิลลิกรัม บรรจุลงในภาชนะอะลูมิเนียม (aluminum placket) แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC การวิเคราะห์จะเริ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ถึงอุณหภูมิสุดท้ายที่ 200 องศาเซลเซียส ใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และใช้อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน 20 มิลลิลิตรต่อนาที โดยศึกษาทั้งก่อนและหลังการทดสอบการสลายตัวทางชีวภาพ

### 3.3.4 การทดสอบความต้านแรงดึง (Tensile strength)

การทดสอบความต้านแรงดึง ทำได้โดยการนำแผ่นยางผลิตภัณฑ์ที่มีความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร เข้าเครื่องตัดชิ้นตัวอย่างรูปดัมเบลล์ตามมาตรฐาน ASTM D412 แบบ Die C จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปทดสอบความทนต่อแรงดึงด้วยเครื่องยูนิเวอร์แซลเทสติงแมชชีน (universal testing machine) หรือ UTM ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (ภาพที่ 3.7

(ข) เพื่อทดสอบคุณสมบัติความต้านทานแรงดึง โดยใช้ความเร็วในการดึงยึด 10 มิลลิเมตร/นาที บันทึกค่าความเค้นที่จุดขาด (stress at break) หรือค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และค่าการยืด ณ จุดขาด (elongation at break)



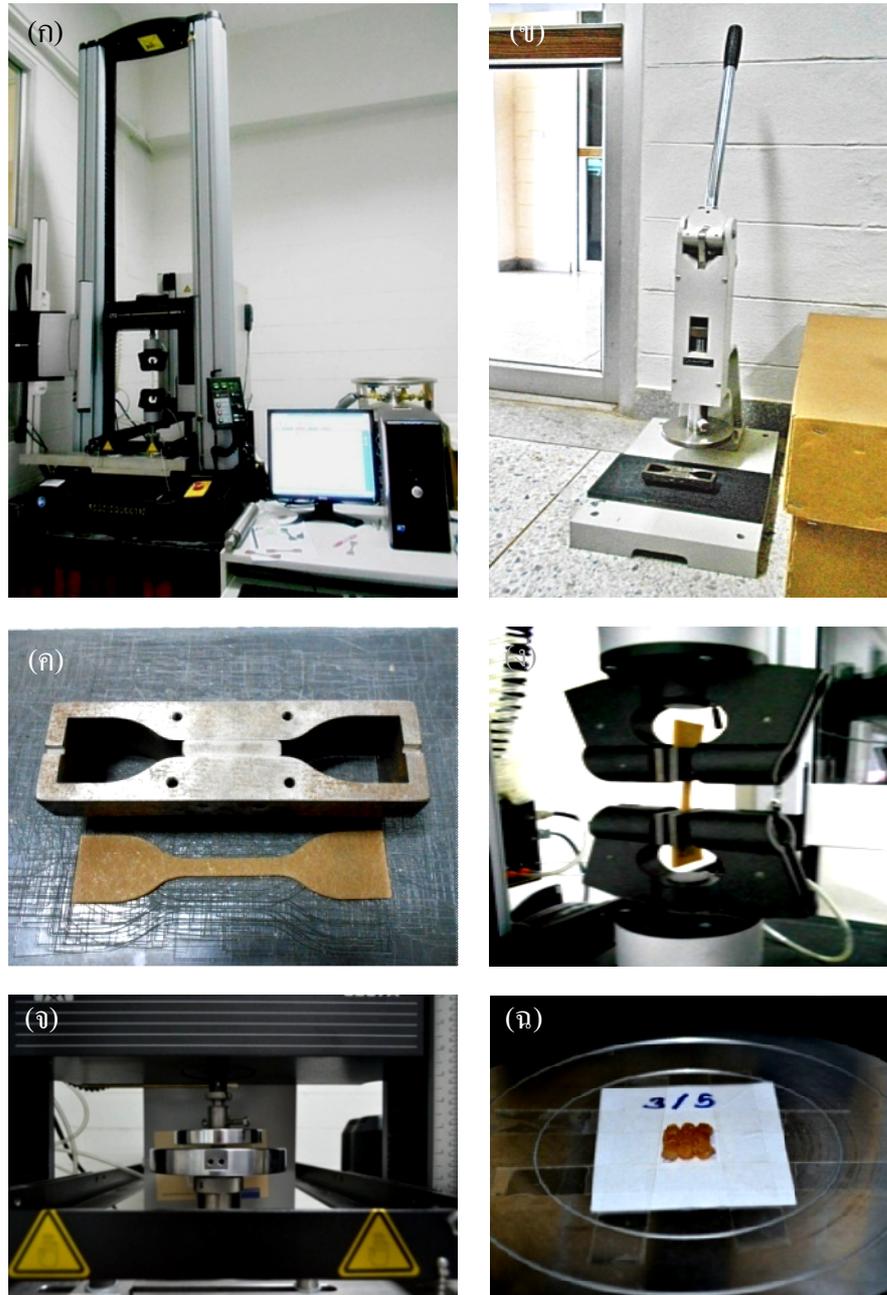
ภาพที่ 3.6 เครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ รุ่น Pyris 6 ที่คณะเทคโนโลยี สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### 3.3.5 การทดสอบแรงกด (Compressive test)

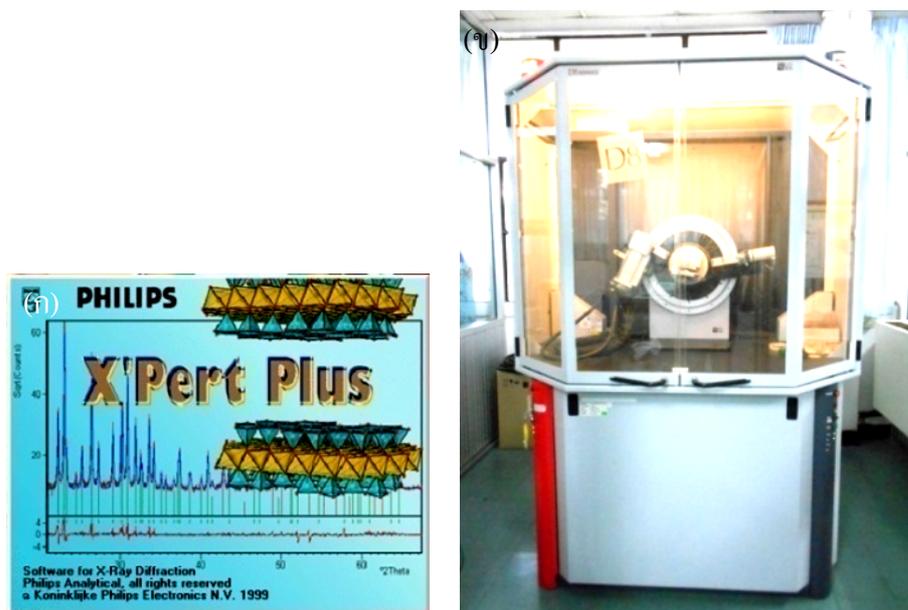
การทดสอบคุณสมบัติการรับแรงกด ทำได้โดยนำตัวอย่างเม็ดบีทกันกระแทกวางบนหัวจับชิ้นงานแบบกด โดยทำการยึดชิ้นงานไว้บนกระดาษด้วยแผ่นกาว 2 หน้าแบบบาง ติดเทปใสเพื่อยึดระหว่างกระดาษที่มีตัวอย่างกับหัวจับชิ้นงาน จากนั้นทำการทดสอบแรงกดทับด้วยเครื่อง UTM ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (ภาพที่ 3.7) โดยกำหนดแรงกดด้วยน้ำหนักหัวกด (load) เพื่อคำนวณความสามารถในการรับแรงของตัวอย่าง

### 3.3.6 การวิเคราะห์ขั้นการเป็นผลึก (Degree of crystallization)

การวิเคราะห์ขั้นการเป็นผลึกทำการศึกษาตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการสลายตัวทางชีวภาพ การวิเคราะห์ขั้นการเป็นผลึกทำการศึกษาโดยเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray diffraction) หรือ XRD ที่ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้ตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นแผ่นที่หนาประมาณ 2 มิลลิเมตร โดยตัดแผ่นตัวอย่างให้มีลักษณะเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14 มิลลิเมตร บรรจุลงในแผ่นบรรจุตัวอย่างสำหรับตัวอย่าง PHAs ที่ยากต่อการขึ้นรูปแบบแผ่นจึงใช้ตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผงบรรจุในแผ่นบรรจุตัวอย่าง จากนั้นนำแผ่นบรรจุตัวอย่างวางในแท่นจับตัวอย่างภายในเครื่อง XRD แล้วกำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและสิ้นสุดของการตรวจวัด ผลจากการตรวจวัดที่ได้แสดงเป็นดิฟแฟรกโทแกรม (diffractogram) จากนั้นนำดิฟแฟรกโทแกรมที่ได้รับจากคอมพิวเตอร์มาประมวลผลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ X'Pert Plus, version 10.1



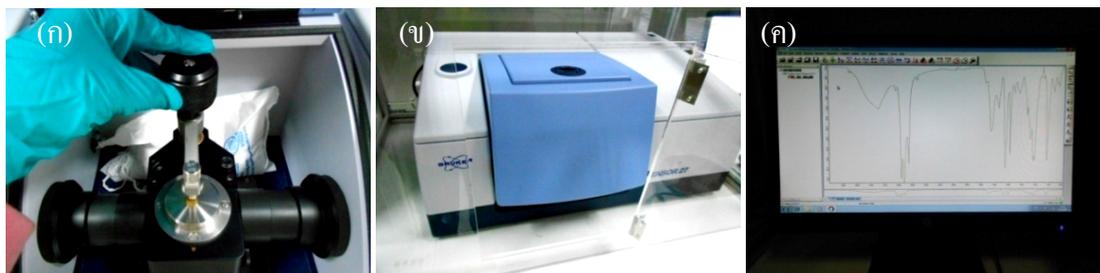
ภาพที่ 3.7 เครื่องมือและตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบความต้านแรงดึงและความสามารถในการรับแรงกด (ก) เครื่อง UTM ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (ข) เครื่องตัดตัวอย่างรูปดัมเบลล์ตามมาตรฐาน ASTM D412 แบบ Die C (ค) บล็อกตัดตัวอย่างและตัวอย่างรูปดัมเบลล์ตามมาตรฐาน ASTM D412 แบบ Die C (ง) หัวจับตัวอย่างสำหรับทดสอบความต้านแรงดึง (จ) การทดสอบการรับแรงกดของเม็ดบีดกันกระแทก และ (ฉ) ตัวอย่างเม็ดบีดกันกระแทกบนหัวจับตัวอย่างแบบกด



ภาพที่ 3.8 การวิเคราะห์ชั้นการเป็นผลึกโดยเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (ก) โปรแกรมคอมพิวเตอร์ X'Pert Plus version 10.1 และ (ข) เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### 3.3.7 การตรวจสอบหมู่ทำหน้าที่ (Functional groups)

การตรวจสอบหมู่ทำหน้าที่ของสารตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการสลายตัวทางชีวภาพ โดยเครื่องอินฟราเรดฟูเรียร์ทรานสฟอร์มสเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy) หรือ FTIR ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเป็นของแข็งที่มีลักษณะเป็นแผ่นและเป็นผง สำหรับการตรวจสอบตัวอย่างเม็ด ปีกั้นกระแทกที่มีลักษณะเป็นแผ่น สามารถวางแผ่นตัวอย่างลงบนแท่นทดสอบภายในเครื่อง FTIR ได้โดยตรง สำหรับตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผง คือ PHAs การทดสอบตัวอย่างที่มีลักษณะเป็น ผลต้องทำการบดสารตัวอย่างบริสุทธิ์ (1-2 มิลลิกรัม) ร่วมกับผง KBr (100 มิลลิกรัม) นำเข้าเครื่องอัดจนได้แผ่นกลมแบนใสคล้ายแก้วทั้งสารตัวอย่างและ KBr หลังจากอัดเป็นแผ่นแบนแล้วนำแผ่น KBr disc ใส่ที่ยึดพิเศษแล้ววางบนลำรังสี IR โดยใช้ช่วงของรังสีอินฟราเรดในช่วง  $4000-600\text{ cm}^{-1}$  หรือช่วงกลางอินฟราเรด (middle infrared) แสดงผลเป็นสเปกตรัมอินฟราเรด



ภาพที่ 3.9 การตรวจสอบหมู่ทำหน้าที่ของสารตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการสลายตัวทางชีวภาพ โดยเครื่อง FTIR (ก) แทนวางตัวอย่างสำหรับวางตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นแผ่น (ข) เครื่อง FTIR ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ (ค) สเปกตรัมอินฟราเรดที่ได้จากการประมวลผลด้วยเครื่อง FTIR

### 3.4 การศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพของเม็ดบีทก้นกระแทก

การศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพของเม็ดบีทก้นกระแทกได้ทำการศึกษาทั้งในสภาพแวดล้อมธรรมชาติและในห้องปฏิบัติการ การศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพในสภาพแวดล้อมธรรมชาตินั้น ทำการศึกษาทั้งจากตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเม็ดและแผ่น โดยศึกษาในสภาพแวดล้อมธรรมชาติทั้งในดินและน้ำ บริเวณการศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพในดิน ได้แก่ บริเวณกองดินหลังคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่นและบริเวณบ้านพักบุคลากรมหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับการศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพในน้ำ ได้แก่ บริเวณสระพลาสติก หน้าคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น และบริเวณบ่อน้ำบาดน้ำเสีย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในขณะที่การศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพในห้องปฏิบัติการจะทำการศึกษาเฉพาะในตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเม็ดเพื่อยืนยันความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ

#### 3.4.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับทดสอบการสลายตัวทางชีวภาพในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ

การสลายตัวทางชีวภาพในสภาพแวดล้อมธรรมชาติทำการศึกษาทั้งจากตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเม็ดและเป็นแผ่น คือ ผลิตภัณฑ์เม็ดบีทก้นกระแทกและแผ่นยางผสม โดยการนำตัวอย่างทั้ง 2 บรรจุในถุงตาข่ายเพื่อง่ายต่อการเก็บตัวอย่างมาทำการทดสอบขั้นต่อไป สำหรับตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเม็ดใช้ตัวอย่างปริมาณ 3 กรัม สำหรับตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นแผ่นทำการตัดแผ่นตัวอย่างให้มีขนาด 2.5 x 2.5 เซนติเมตร จากนั้นนำตัวอย่างแต่ละตัวอย่าง บรรจุในถุงตาข่ายขนาด 3 x 3 เซนติเมตร โดยบรรจุ 1 ถุง ต่อ 1 ตัวอย่าง จากนั้นจัดตัวอย่างเป็นชุด แต่ละชุดมีตัวอย่างทั้งหมด 11 ตัวอย่าง นำถุงตาข่ายที่บรรจุตัวอย่างทั้ง 11 ตัวอย่างมารวมกันเพื่อเตรียมนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

### 3.4.2 การศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกในดิน

การศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกในดิน เริ่มต้นจากขุดดินให้ลึกจากผิวดิน 20 เซนติเมตร เกลี่ยกันหลุมให้เรียบเสมอกันทั้งหลุม จากนั้นวัดอุณหภูมิและความชื้นของดิน วางตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.1 ลงกันหลุมแล้วจึงกลบตัวอย่าง เก็บตัวอย่างมาวัดน้ำหนักในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 โดยวัดอุณหภูมิและความชื้นของดินทุกครั้งที่ได้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างเม็ดบีทกัณฑ์กระแทกหลังการสลายตัวของชีวภาพล้างด้วยน้ำประปา อบให้แห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และทำการชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไป เพื่อคำนวณร้อยละของน้ำหนักที่หายไป

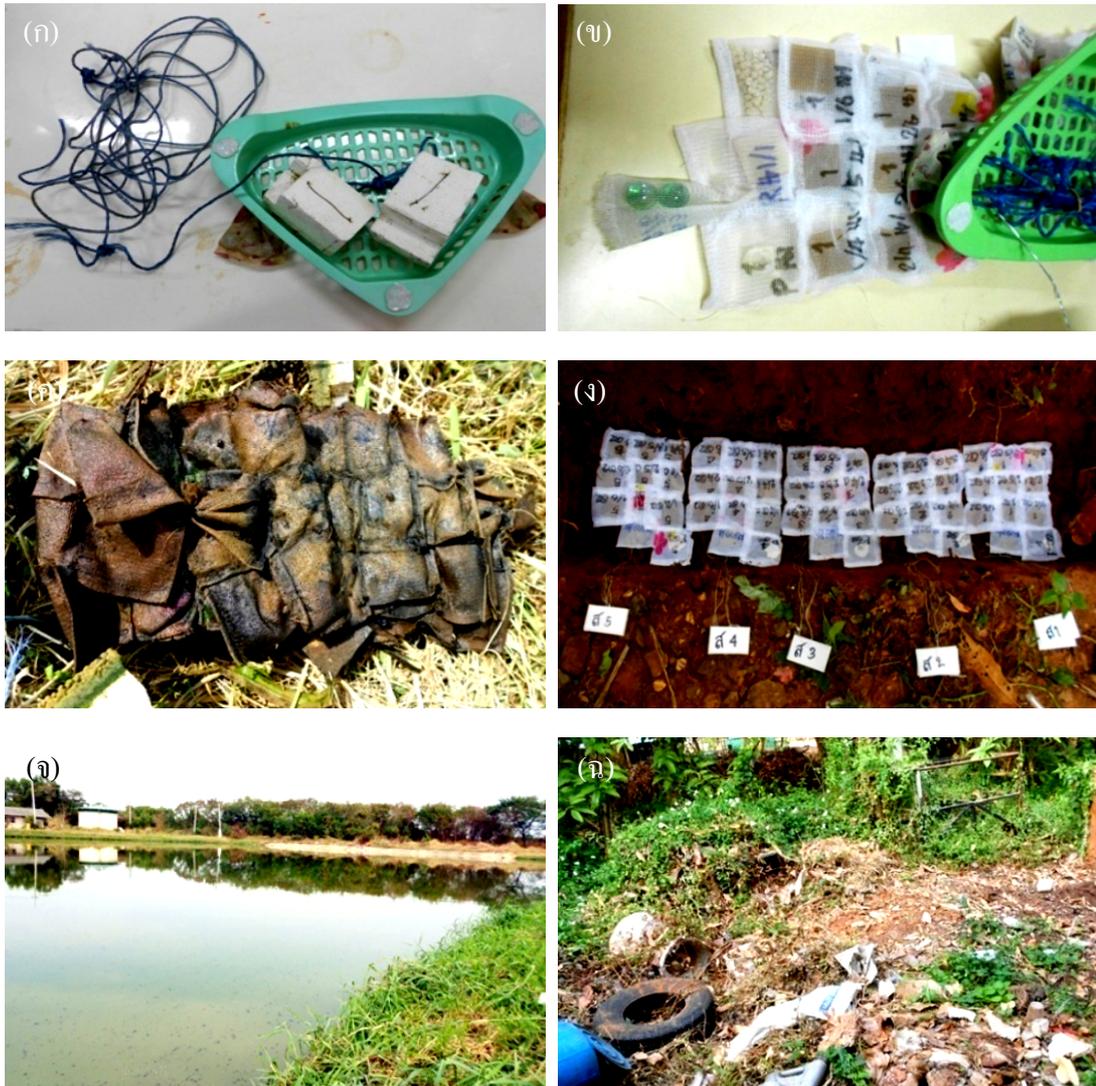
### 3.4.3 การศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกในน้ำ

การศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกในน้ำ เริ่มต้นมัดตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.1 ติดกับตะแกรงพลาสติกและท่อน โฟม พร้อมถ่วงตุ้มน้ำที่บรรจุตัวอย่างด้วยลูกแก้ว เพื่อให้ตัวอย่างจมน้ำอย่างสม่ำเสมอ ท่อน โฟมทำหน้าที่เป็นตัวกำหนดระยะห่างของตัวอย่างให้ตัวอย่างห่างจากผิวน้ำ 20 เซนติเมตร จากนั้นวัดอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ เก็บตัวอย่างมาวัดน้ำหนักในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 วัดอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างเม็ดบีทกัณฑ์กระแทกหลังการสลายตัวของชีวภาพล้างด้วยน้ำประปา อบให้แห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และทำการชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อคำนวณร้อยละของน้ำหนักที่หายไป

### 3.4.4 การศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกในห้องปฏิบัติการ

#### 3.4.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

การสลายตัวของชีวภาพในห้องปฏิบัติการทำการศึกษาจากผลิตภัณฑ์เม็ดบีทกัณฑ์กระแทกบรรจุตัวอย่างในถุงตาข่ายเพื่อง่ายต่อการเก็บตัวอย่างมาทำการทดสอบขึ้นไป สำหรับตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเม็ดปริมาณ 0.3 กรัม นำตัวอย่างแต่ละตัวอย่างบรรจุในถุงตาข่าย จากนั้นวางตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารอาหารเลี้ยงเชื้อ MS medium ที่ปราศจากแหล่งคาร์บอน เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งจากดินและน้ำที่นำมาเป็นหัวเชื้อในการศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของเม็ดบีทกัณฑ์กระแทกใช้แหล่งคาร์บอนจากตัวอย่างเม็ดบีทกัณฑ์กระแทก จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ซึ่งบรรจุสารอาหารเลี้ยงเชื้อ MS Medium และตัวอย่างเม็ดบีทกัณฑ์กระแทกหนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น



**ภาพที่ 3.10** การศึกษาการสลายตัวของชีวภาพของเม็ดบีทกันกระแทกในสภาพแวดล้อมจริง  
 (ก) ตะแกรงพลาสติกและฟองโฟมสำหรับมัดตัวอย่างเพื่อใช้ทดสอบการสลายตัวในน้ำ  
 (ข) กลุ่มตัวอย่างที่พร้อมสำหรับการทดสอบการสลายตัวในน้ำ (ค) กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการสลายตัวในน้ำเสีย (ง) กลุ่มตัวอย่างที่เตรียมทดสอบในดิน (จ) สถานที่ทดสอบการสลายตัวในน้ำบริเวณบ่อบำบัดน้ำเสีย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ (ฉ) สถานที่ทดสอบการสลายตัวในดินบริเวณกองดิน หลังคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### 3.4.4.1 การศึกษาสลายตัวของชีวภาพในห้องปฏิบัติการ

นำขวดรูปชมพู่ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ MS medium และตัวอย่างเม็ดบีทกันกระแทกที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันและทิ้งไว้ให้เย็นมาเติมหัวเชื้อจากดินปริมาณ 1 กรัม และหัวเชื้อจากน้ำปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วแยกการทดลองออกเป็น 2 ชุด การทดลองชุดที่ 1 เป็นชุดการทดลองควบคุม นำขวดรูปชมพู่ที่มีหัวเชื้อจากดินและน้ำนำไปนึ่งโดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เพื่อให้ตัวอย่างปลอดเชื้อ จากนั้นนำไปตั้งในเครื่องเขย่าเพื่อทดสอบการสลายตัวของชีวภาพ สำหรับชุดการทดลองที่ 2 เป็นชุดการทดลองที่มีหัวเชื้อจากดินและน้ำ เพื่อทดสอบว่าหัวเชื้อจากดินและน้ำเป็นสาเหตุของการสลายตัวของชีวภาพของเม็ดบีทกันกระแทก โดยนำขวดรูปชมพู่ที่มีหัวเชื้อจากดินและน้ำไปตั้งในเครื่องเขย่าสำหรับเลี้ยงเชื้อแบบให้อากาศเพื่อทดสอบการสลายตัวของชีวภาพ วัตถุประสงค์ทุกวัน และทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 15, 30 และ 45 วัน จากนั้นนำตัวอย่างเม็ดบีทกันกระแทกหลังการสลายตัวล้างด้วยน้ำประปา อบให้แห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และทำการชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อคำนวณร้อยละของน้ำหนักที่หายไปตามสมการที่ 3.1

$$\text{ร้อยละของน้ำหนักที่หายไป} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักหลังการสลายตัว}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100 \quad [3.1]$$

### 3.5 การตรวจสอบชนิดแบคทีเรีย (Bacteria identification)

การตรวจสอบชนิดแบคทีเรียเพื่อทราบถึงแบคทีเรียที่มีส่วนช่วยในการสลายตัวของตัวอย่างเม็ดบีทกันกระแทก โดยการนำหัวเชื้อที่ได้จากดิน 2 บริเวณ และแหล่งน้ำ 2 แหล่ง เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB เพื่อเพิ่มจำนวน จากนั้นใช้เทคนิคการแยกเชื้อแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีเกลี่ยเชื้อ (spread plate method) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เพื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และลักษณะโคโลนี

จากนั้นสังเกตลักษณะโคโลนีที่มีจำนวนโคโลนีมาก นำโคโลนีนั้นมาทำการแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการเกลี่ยเชื้ออีกครั้งเพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว แล้วส่งเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ไปจัดจำแนกและบ่งชี้สายพันธุ์จากสถาบันบริการการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อให้ทราบถึงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีส่วนในการเสื่อมสลายตัวของเม็ดบีทกันกระแทกทางชีวภาพ



**ภาพที่ 3.11** การศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพของเม็ดบีกังกระแทกในห้องปฏิบัติการ  
 (ก) ตัวอย่างเม็ดบีกังกระแทกสำหรับทดสอบการสลายตัวในห้องปฏิบัติการ  
 (ข) เม็ดบีกังกระแทกในอาหารเลี้ยงเชื้อ MS Medium ที่ปราศจากแหล่งคาร์บอน  
 และ (ค) เครื่องเขย่าสำหรับบ่มเชื้อแบคทีเรียในขวดรูปชมพู่ที่มีเม็ดบีกังกระแทก  
 เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อศึกษาการสลายตัวทางชีวภาพของเม็ดบีกังกระแทก