สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รหัสโครงการ 2554A1086 2002

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน

Synthesis of Polylactic Acid by Lipase-catalysed Polymerization

สุธี วังเตือย
หัวหน้าโครงการวิจัย
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว

ชนิกา ชื่นแสงจันทร์
สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล
ผู้ร่วมวิจัย
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ว.017801 4
16 ก.ค. 2558
355571
AB01110697
เริ่มบริการ
-2 พ.ค. 2559

สนับสนุนโดย สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา
และพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

รายงานผลงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ หน่วงงานส่งเสริมการวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา รวมทั้งสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ซึ่งได้รับการจัดสรรงบประมาณการวิจัยประจำปี 2554 ในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การอนุเคราะห์ใช้สถานที่และอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย ขอบคุณคุณอภิญญา บุญทนิมิตร ผู้ช่วยวิจัย และขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องอื่นๆ ทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนจนงานวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

สุธี วังเตือย
ชนิกา ชื่นแสงจันทร์
สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล

บทคัดย่อ

การสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์มีปริมาณกรดแล็กติก 36,000 มิลลิกรัม ปริมาตรการสังเคราะห์รวมทั้งกรดแล็กติกและโทลูอีน 100 มิลลิลิตร สามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดได้ โดยการวิเคราะห์โครงสร้างของผลิตภัณฑ์พอลิแล็กติกแอสิดที่ผลิตได้ โดยการหาองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันด้วยวิธี Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) เมื่อพิจารณาช่วงการดูดกลืนแสงของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญจาก FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่ น้ำหนักโมเลกุลตามน้ำหนัก (M_w) ของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้สามารถวิเคราะห์โดยใช้ Gel Permeation Chromatograph (GPC) การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 และ 24 ชั่วโมง มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n) 24,598 และ 6,938 Da ตามลำดับ ขณะที่การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 และ 24 ชั่วโมง มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน 731 และ 9,073 Da ตามลำดับ

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยวิธีพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) กับแผนการทดลอง Box-Behnken Design โดยศึกษาผลของระยะเวลาการสังเคราะห์พอลิเมอร์ นาน 1-24 ชั่วโมง (X_1) อุณหภูมิการสังเคราะห์ ระหว่าง 60-80 องศาเซลเซียส (X_2) และความเข้มข้นของเอนไซม์ Novozyme 435 ระหว่าง 5-10 เปอร์เซ็นต์ (X_3) ต่อเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด (Y_1) (เปอร์เซ็นต์) และค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิแล็กติกแอสิด (Y_2) พบว่า การกระจายของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นแบบปกติ สมการกำลังสองคือแบบจำลองที่เหมาะสม และแบบจำลองของทุกค่าตอบสนองแสดงค่า R^2 ที่ระดับ 0.75-0.79 สภาวะที่เหมาะสมจากการวิเคราะห์ร่วมกันของทุกค่าตอบสนอง คือ ใช้ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ทำปฏิกิริยาที่อุณภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง ซึ่งจะสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 94.5 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 27,445 Da

การใช้ใช้กรดแล็กติกที่หมักด้วยกระบวนการหมักไม่สามารถสังเคราะห์เป็นพอลิเมอร์ได้ ส่วนการสังเคราะห์พอลิเมอร์โดยใช้กรดแล็กติกในทางการค้า พบว่าสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดได้ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 66.42 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 5,333 Da พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้โดยผสมกับพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า

คำสำคัญ ของการวิจัย

กรดแล็กติก เอนไซม์โนโวไซม์ 435 พอลิแล็กติกแอสิด พอลิเมอไรเซชันด้วยเอนไซม์ พอลิเมอร์สังเคราะห์

Abstract

Synthesis of polylactic acid using Novozyme 435-catalysed polymerization, the condition was done by using 36,000 mg of lactic acid with 100 ml of reaction volume. This condition could synthesized polylactic acid which confirmed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). FTIR spectra showed the main functional groups of polylactic acid, while its molecular weight (M_w) was determined by using gel permeation chromatograph (GPC). The M_w of polylactic acid from 10% Novozyme 435-catalysed at 1 and 24 h were 24,598 and 6,938 Da, respectively. While the M_w of polylactic acid from 12% Novozyme 435-catalysed at 1 and 24 h were 731 and 9,073 Da, respectively.

An optimization of polylactic acid synthesis by using Novozyme 435-catalysed polymerization was studied. The effects of enzyme concentration, reaction temperature, and reaction time on the conversion yield of lactic acid and number average molecular weight were investigated using response surface methodology (RSM) with Box-Behnken design to ascertain the optimum conditions of Novozyme 435 in synthesis process of polylactic acid. The effect of the reaction time (1-24 h, X_1), the reaction temperature (60-80°C, X_2) and the enzyme concentration (5-10%, X_3) were determined. The responses included the conversion yield of lactic acid (%, Y_1) and number average molecular weight (M_n, Y_2). The normality distribution of experimental data was determined and adequately fitted to a 2nd order model with multiple regression coefficients (R^2) range of 0.75-0.79. The optimization of the multiple responses was developed using desirability functions with all responses to be maximized. The results showed that the optimum conditions for the best values of each of two responses occurred with a 10% enzyme concentration, reaction temperature 60°C and reaction time 1 h. The predicted responses were a 94.5% of conversion yield of lactic acid and 27,445 of number average molecular weight.

Fermented lactic acid could not use for a substrate of polylactic acid synthesis. The responses were a 66.42% of conversion yield of lactic acid and 5,333 of number average molecular weight for polylactic acid synthesis by using commercial lactic acid. The mixing of synthetic polylactic acid and commercial polylactic acid could be used as a film forming.

Keywords:

Lactic acid, Novozyme 435, Polylactic acid, Enzymatic polymerization, Synthetic polymer

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินวิจัย	15
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	21
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินวิจัยและข้อเสนอแนะ	64
ผลผลิต (output)	66
รายงานการเงิน	67
เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	73
ประวัตินักวิจัยและคณะ	78

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3-1	ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลอง	17
3-2	สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลอง	17
4-1	ผลการสังเคราะห์กรดพอลิแล็กติกตามสภาวะการทดลองเบื้องต้น	23
4-2	การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้ปริมาณกรดแล็กติกเริ่มต้น 256 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตรการสังเคราะห์รวม 10 มิลลิลิตร และเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด	24
4-3	การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์	25
4-4	ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และขนาดโมเลกุลที่ได้จากการคำนวนของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์	33
4-5	ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลอง	34
4-6	สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลอง	35
4-7	ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิแล็กติกแอสิดทั้ง 15 หน่วยทดลอง	37
4-9	ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการพื้นที่ตอบสนอง ของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (%conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)	39
4-10	แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน	40
4-11	หน่วยทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน และค่าตอบสนอง (responses) ที่ได้จากการคำนวณและการทำนายจากสมการของแบบจำลอง สำหรับเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (%conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)	41
4-12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของแบบจำลองการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน สำหรับค่าตอบสนองของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (% conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-13	แสดงการตั้งค่าสำหรับการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะก์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยใช้ฟังก์ชันเมนู Response optimizer ของโปรแกรม Minitab	46
4-14	แสดงค่าสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน และค่าตอบสนองจากการทำนายโดยสมการแบบจำลอง	46
4-15	อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) และอุณหภูมิหลอมเหลวของผลึก (T_m) ของแผ่นฟิล์มที่ได้จากการผสมกันระหว่างพอลิแล็กติกที่สังเคราะห์ได้ และพอลิแล็กติกทางการค้า	63

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	วัฏจักรของพลาสติกที่ย่อยสลายตัวได้ทางชีวภาพ	6
2-2	สูตรโครงสร้างพอลิแล็กติกแอสิด และอนุพันธ์	9
2-3	วัฏจักรของพอลิแล็กติกแอซิด	10
2-4	กระบวนการพอลิเมอไรเซชันเพื่อสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอซิด	11
2-5	กลไกการเกิดระบวนการพอลิเมอไรเซชันของแล็กโทนโดยมีเอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	13
3-1	ภาพจำลองการต่อระบบสำหรับการสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด โดยใช้เอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	18
4-1	(A) ชุดการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกในระดับหลอดทดลองขนาดเล็ก (10 มิลลิลิตร) และ (B) ชุดสังเคราะห์ระดับฟลาสก์ (100 มิลลิลิตร) ที่พัฒนาให้มีขนาดและปริมาตรเพิ่มขึ้น	21
4-2	พอลิแล็กติกแอสิดที่ได้จากการสังเคราะห์ ตามสภาวะการทดลองเบื้องต้น (ครั้งที่ 1)	22
4-3	กราฟ relative calibration ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (A) เอนไซม์ 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (B)	26
4-4	กราฟ relative calibration ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 ชั่วโมง (C) และ เอนไซม์ 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (D)	27
4-5	FTIR spectra ของกรดแล็กติก	28
4-6	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง	28
4-7	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 ชั่วโมง	29

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-8	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 12 ชั่วโมง	29
4-9	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง	30
4-10	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 36 ชั่วโมง	30
4-11	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 40 ชั่วโมง	31
4-12	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง	31
4-13	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 ชั่วโมง	32
4-14	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง	32
4-15	พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์เซชัน	33
4-16	ภาพการต่อระบบสำหรับการสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	36
4-17	ลักษณะของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์จากวิธีการใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์เซชัน ทั้งหมด 15 สภาวะการสังเคราะห์	38
4-18	ค่าตอบสนองที่ได้จากการทำการทดลองและการทำนายโดยแบบจำลอง ภาพ A คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด B คือน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน	42

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-19	กราฟ Normal Probability Plot ของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (%Conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)	46
4-20	กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยที่ X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) และY_1 คือเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด	48
4-21	กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยที่ X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) และY_2 คือน้ำหนักโมเลกุลพอลิแล็กติกแอสิดเฉลี่ยตามจำนวน	49
4-22	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 1)	50
4-23	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 24ชั่วโมง (Treatment 2)	51
4-24	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 3)	51
4-25	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (Treatment 4)	52
4-26	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 5)	52
4-27	FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (Treatment 6)	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-28 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 7) 53

4-29 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (Treatment 8) 54

4-30 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 9) 54

4-31 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 10) 55

4-32 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 11) 55

4-33 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 12) 56

4-34 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 13) 56

4-35 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 14) 57

4-36 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียสระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 15) 57

4-37 ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปได้จากการผสมกันระหว่างพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้และพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า โดยแปรสัดส่วนพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า ดังนี้ คือ 50:50 60:40 70:30 80:20 90:10 และ 100:0 59

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-38	ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 50:50	60
4-39	ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 60:40	60
4-40	ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติคแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 70:30	61
4-41	ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติคแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 80:20	61
4-42	ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติคแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 90:10	62

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ปัจจุบันพลาสติกสังเคราะห์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี มีบทบาทสำคัญในการผลิตมาเป็นสินค้าอุปโภคและบริโภคเนื่องจากเหตุผลที่ดีในหลายประการของคุณสมบัติของพลาสติกเหล่านั้น แต่เมื่อพลาสติกเหล่านั้นผ่านการใช้งานแล้ว และกลายมาเป็นขยะ จึงก่อให้เกิดปัญหาขยะเกิดขึ้น เนื่องจากว่าขยะพลาสติกเหล่านั้นกำจัดได้ยาก และยากต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ จึงก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ตามมา ซึ่งส่งผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต ปัญหาขยะพลาสติก เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมหนึ่งที่ส่งผลต่อสภาพแวดล้อม แม้ว่าจะมีความพยายามรณรงค์ให้มีการนำพลาสติกกลับไปใช้ใหม่ก็ตาม นักวิทยาศาสตร์จึงมีความพยายามที่จะแสวงหาแหล่งวัตถุดิบใหม่ที่สามารถใช้ทดแทนวัตถุดิบทางปิโตรเคมีได้ การผลิตพลาสติกชีวภาพที่สามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาทดแทนการใช้พลาสติกที่ผลิตจากวัตถุดิบทางปิโตรเคมี ซึ่งในปัจจุบันได้มีการผลิตพลาสติกชีวภาพชนิด กรดพอลิแลกติก (Polylactic acid; PLA) โดยใช้กรดแล็กติก (Lactic acid; LA) เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน (Polymerization) และใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Chemical catalysts) อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการผลิตอาจส่งผลต่อการนำพลาสติกชีวภาพไปใช้ประโยชน์ โดยอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษอันเนื่องมาจากการตกค้างของสารเคมีที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้น การเลือกใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชันจะช่วยลดการตกค้างของสารเคมีที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม พลาสติกชีวภาพที่ได้จากกระบวนการพอลิเมอไรเซชันโดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยานั้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านการแพทย์และเภสัชกรรมได้ จากการศึกษางานวิจัยพบว่า เอนไซม์ไลเพส (Lipase) มีความสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชันสำหรับผลิตกรดพอลิแลกติกได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชันเพื่อผลิตกรดพอลิแลกติกที่ใช้เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ทางชีวภาพ ซึ่งอาจนำไปสู่กระบวนการผลิตพลาสติกชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน

1.2.2 สร้างแบบจำลองการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกโดยใช้เอนไซม์ Novozym 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน

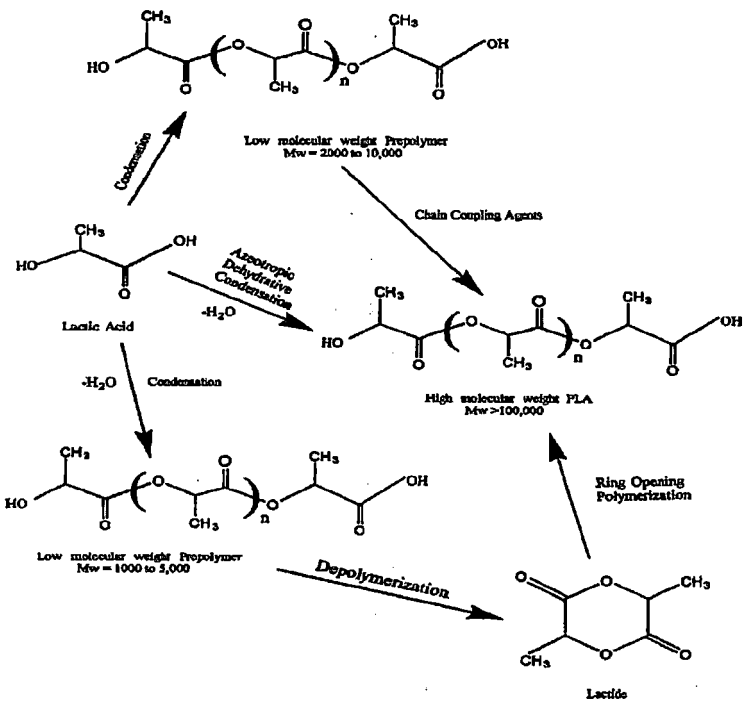
1.2.3 ศึกษาคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โครงงานวิจัยนี้มีขอบเขตในการวิจัยโดยเริ่มจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกจะใช้กรดแล็กติกในทางการค้าเป็นสารตั้งต้นเพื่อสร้างแบบจำลองการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีเอนไซม์ Novozym 435 เป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยา และศึกษาคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ผลิตได้

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

ทฤษฎีของงานวิจัยนี้คือการใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ (เอนไซม์ไลเพส) ในการบวนการพอลิเมอไรเซชัน เพื่อสังเคราะห์พอลิเมอร์ชีวภาพ (พอลิแล็กติกแอสิด) ซึ่งโดยทั่วไปพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดสามารถสังเคราะห์ได้จากกระบวนการดังแผนภาพด้านล่าง



ที่มา: Garlotta, 2001

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด จากกรดแล็กติกที่ผลิตได้จากวัตถุดิบการเกษตรโดยการใช้เอนไซม์โนโวไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน
- สร้างองค์ความรู้เพื่อเป็นแนวทางการพัฒนา ปรับปรุงกระบวนการผลิตพลาสติกชีวภาพ ซึ่งอาจจะพัฒนาสู่ในระดับอุตสาหกรรม

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 พลาสติกสลายตัวได้ทางชีวภาพ (Compostable plastics)

พลาสติกสลายตัวได้ทางชีวภาพ ตามคำจำกัดความของ มาตรฐานการทดสอบ ของกลุ่มสหภาพยุโรป (EN 13432) ประเทศสหรัฐอเมริกา (ASTM D-6400) และ มาตรฐานระดับนานาชาติ (ISO 17088:2008) คือ พลาสติกที่เกิดจากวัตถุดิบชีวมวล หรือวัตถุดิบทางการเกษตร ที่วัตถุดิบเหล่านี้สามารถปลูกทดแทนใหม่ได้ หรือวัตถุดิบจากปิโตรเคมี (petroleum-based biodegradable plastics) พลาสติกสลายตัวได้ทางชีวภาพเมื่อผ่านการหมักทางชีวภาพ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ สารประกอบอินทรีย์ และมวลชีวภาพ ทั้งนี้ในกระบวนการหมักต้องไม่ทิ้งสิ่งที่มองเห็นด้วยตาเปล่า สิ่งแปลกปลอม หรือสารพิษไว้ ตัวอย่างของพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เช่น พลาสติกที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบพื้นฐาน (starch-based plastics) พอลิแล็กติกแอสิด (polylactic acid) พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (polyhydroxyalkanoates) และพอลิบิวทีลีนซักซิเนต (polybutylene succinate) (วันทนีย์ และคณะ, 2552)

ตลอดระยะเวลาสิบกว่าปีที่ผ่านมา มีการพัฒนาการของอุตสาหกรรมพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ทั้งในระดับงานวิจัย จนประสบความสำเร็จในระดับอุตสาหกรรม จึงทำให้พลาสติกสลายตัวได้ชีวภาพ มีความสำคัญและได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน และจะเพิ่มมากขึ้นในอนาคต จึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตใหม่ ๆ เพิ่มมากขึ้น เพื่อที่จะเพิ่มศักยภาพการผลิตในระดับอุตสาหกรรมให้มากขึ้น และเกิดโอกาสการสร้างธุรกิจนวัตกรรมที่มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น โดย วันทนีย์ และคณะ (2552) ได้คาดการณ์ว่าส่วนแบ่งทางการตลาดของของพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่จะไปทดแทนพลาสติกจากปิโตรเคมีนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยอาจมีส่วนแบ่งในตลาดสูงถึง 5-10 เปอร์เซ็นต์ ของการใช้พลาสติกทั่วไป

การพัฒนาของอุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพในประเทศไทย ในช่วงเริ่มต้นจะเน้นไปสู่การพัฒนาพลาสติกชีวภาพที่สลายตัวได้ทางชีวภาพ (compostable plastics) และใช้วัตถุดิบที่ได้จากทรัพยากรหมุนเวียนทดแทนใหม่ได้ (renewable resources) เช่น มันสำปะหลัง ข้าวโพด หรืออ้อย เนื่องจากประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตผลิตผลจากพืชเศรษฐกิจเหล่านี้สูง จึงถูกคัดเลือกนำมาเป็นวัตถุดิบ

2.2 ประเภทของพลาสติกชีวภาพ

การจำแนกประเภทของพลาสติกชีวภาพตามรายงานชุด Environment Australia Biodegradable Plastics-Development and Environment Impact ซึ่งจัดทำโดยบริษัท Nolan-ITU Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย และรายงานชุด Techno-economic Feasibility of Large-scale Production of Bio-based Polymers in Europe จัดทำโดย European Commission's Joint Research Centre, Institute for Prospective Technological Studies (JRC/IPTS) ประเทศสเปน สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มหลัก คือ

1. พลาสติกที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบพื้นฐาน ได้แก่

-แป้งที่มีสมบัติเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic starch) ประเภทวัตถุดิบเป็นแป้ง ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ ธรรมชาติเตรียมได้จากวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ ลักษณะของแป้งที่มีสมบัติเทอร์โมพลาสติก คือมีแป้งเป็นส่วนประกอบมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ และผ่านการทำให้เป็นเจล

-แป้งผสมพอลิเอสเทอร์แบบสายโซ่ตรง (starch-aliphatic polyester blends) ประเภทวัตถุดิบเป็นแป้งที่เตรียมจากวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ ผสมกับพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์แบบสายโซ่ตรง ที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ เช่น PLA PCL PBS PBSA

-แป้งผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (starch-PVA blends) เป็นการผสมกันระหว่างแป้งที่เตรียมวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ กับ PVA จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

2. พอลิเอสเทอร์ ได้แก่

-พอลิแล็กติกแอสิด (polylactic acid, PLA) เป็นพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์แบบสายโซ่ตรงที่มีกรดแล็กติกหรือแล็กไทด์เป็นมอนอเมอร์ ซึ่งเตรียมได้จากวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้

-พอลิไฮดรอกซีแอลคานอเอต (polyhydroxyalkanoates, PHAs) กลุ่มพอลิเอสเทอร์แบบสายโซ่ตรงซึ่งผลิตได้จากธรรมชาติโดยแบคทีเรีย

-พอลิคาพรอแล็กโทน (polycaprolactone, PCL) เป็นพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์แบบโซ่ตรงที่มีคาพรอแล็กโทน ที่เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี เป็นโมโนเมอร์

-พอลิบิวทิลีนซักซิเนต (polybutylene succinate, PBS) เป็นพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์แบบโซ่ตรงที่เตรียมได้จากโมโนเมอร์ 2 ชนิด คือ 1,4 butanediol และกรดซักซินิก ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้

-พอลิบิวทิลีนเทเรฟทาเลต (polybutylene terephthalate, PBT) เป็นพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์แบบสายโซ่ตรงที่มีวงแหวนอะโรมาติกในโครงสร้างที่เตรียมจากโมโนเมอร์ 2 ชนิด ได้แก่

1,4 butanediol ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ และกรดเทเรฟทาลิก หรือไดเมทิลเทเรฟทาเลต ที่เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

-พอลิไตรเมททิลีนเทอเรพาเลต (polytrimethylene terephthalate: PTT) เป็นพอลิเอสเทอร์สังเคราะห์แบบสายโซ่ตรงที่มีวงแหวนอะโรมาติกในโครงสร้างที่เตรียมจากมอนอร์เมอร์ 2 ชนิด ได้แก่ 1,3 propanediol ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ และกรดเทอเรพธาลิกหรือไดเมทธิลเทอเรพธาเลต ที่เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

3. พอลิเมอร์ที่สลายตัวได้ประเภทอื่น ได้แก่

-พอลิเอไมด์ (polyamides, PAs) มี 2 ประเภท ได้แก่ ประเภท AABB เป็น พอลิเอไมด์สังเคราะห์ประเภท AABB เตรียมได้จากมอนอเมอร์ 2 ชนิด คือ ไดเอมีน ที่เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี และกรดไดคาร์บอกซิลิก เช่น ไนลอน 66 ไนลอน 69 ที่เป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้ ส่วนประเภท AB เป็นพอลิเอไมด์สังเคราะห์ที่เตรียมได้จากกรดอะมิโนหรือแล็กแทม เช่น ไนลอน 6 ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้

-พอลิยูรีเทน (polyurethane, PURs) เป็นพอลิยูรีเทนสังเคราะห์ที่เตรียมได้จากโมโนเมอร์ 2 ชนิด คือ ไอโซไซยาเนต เช่น TDI MDI ที่เป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีผสมกับไดออสหรือพอลิออล เช่น พอลิเอสเทอร์ พอลิอีเทอร์ ที่เป็นวัตถุดิบที่เตรียมได้จากทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีและวัตถุดิบที่ปลูกทดแทนใหม่ได้

-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol, PVA) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้และการสลายตัวผ่านปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส พอลิเมอร์กลุ่มนี้เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

-พอลิเมอร์ที่สลายตัวได้ด้วยแสง คือพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างที่มีพันธะเคมีที่แตกหักง่ายภายใต้แสงยูวีพอลิเมอร์กลุ่มนี้เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

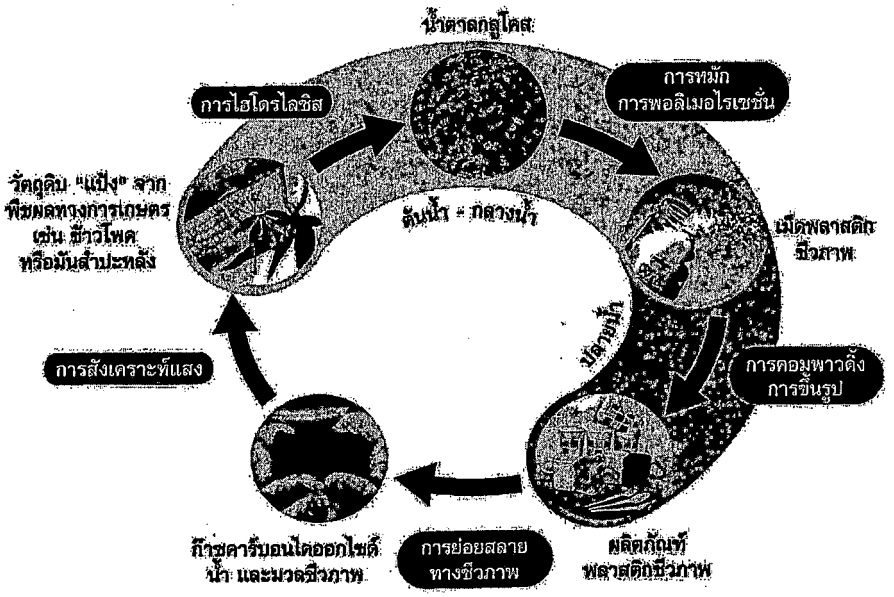
-พลาสติกที่มีการเติมสารเติมแต่งเพื่อให้สามารถสลายตัวได้ (controlled degradation additive master-batches) พอลิเมอร์กลุ่มนี้เตรียมได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี

2.3 วัฏจักรของพลาสติกชีวภาพและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

การย่อยสลายทางชีวภาพโดยทั่วไป มีกระบวนการ 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกของของการย่อยสลายเป็นการย่อยสลายสายพอลิเมอร์ที่ยังมีขนาดใหญ่และไม่ละลายน้ำ โดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ทำหน้าที่สลายพันธะของสายโซ่พอลิเมอร์ให้มีขนาดเล็กลงและสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ เมื่อโมเลกุลของพอลิเมอร์แพร่เข้าไปภายในเซลล์แล้วจะเกิดการย่อยสลายในขั้นตอนที่ 2 ได้ผลิตภัณฑ์ คือ พลังงาน และสารประกอบ

ขนาดเล็กที่เสถียรในธรรมชาติ (mineralization) ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน น้ำ เกลือแร่ธาตุต่าง ๆ และมวลชีวภาพ (biomass)

นอกจากนี้ มีรายงานว่ามีการใช้คำว่า พลาสติกย่อยสลายได้ในสภาวะแวดล้อมธรรมชาติ (environmentally degradable plastics, EDP) ซึ่งหมายถึง พลาสติกที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ในสภาวะแวดล้อม เช่น กรด ด่าง น้ำ และออกซิเจนในธรรมชาติ แสงจากดวงอาทิตย์ แรงเค้นจากการกระทบของเม็ดฝนและแรงลม หรือจากเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี กลายเป็นสารที่ถูกดูดซึม และย่อยสลายต่อได้อย่างสมบูรณ์ โดยจุลินทรีย์ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ สารอนินทรีย์ และมวลชีวภาพ เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย โดยการย่อยสลายและการดูดซึมนี้ต้องเกิดขึ้นได้รวดเร็วเพียงพอที่จะไม่ทำให้เกิดการสะสมในสภาวะแวดล้อม และคำว่า พลาสติกที่เป็นมิตรต่อสภาวะแวดล้อม (environmental friendly plastics) หรือพลาสติกสีเขียว (green plastics) หมายถึง พลาสติกที่ทำให้ภาระในการจัดการขยะลดลง และส่งผลกระทบโดยรวมต่อสภาวะแวดล้อมน้อยกว่าพลาสติกที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในปัจจุบัน (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, 2550)



ภาพที่ 2-1 วัฏจักรของพลาสติกที่ย่อยสลายตัวได้ทางชีวภาพ
ที่มา : วันทนีย์ และคณะ (2552)

2.4 การประยุกต์ใช้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, 2556; สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2551; วันทนีย์ และคณะ (2552)

1.การใช้งานทางการแพทย์ โดยมีการใช้พลาสติกย่อยสลายได้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นวัสดุทางการแพทย์ เช่น ผิวหนังเทียม ยาที่ถูกออกแบบมาให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยตัวยาอย่างช้า ๆ ภายในร่างกายในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ไหมละลาย อุปกรณ์ประเภทสกรู และแผ่นดามกระดูก ในบริเวณที่ไม่ต้องมีการรับแรงสูงมากที่ได้รับการผ่าตัดและฝังอยู่ในร่างกายที่สามารถย่อยสลายได้เอง ภายหลังจากการทำหน้าที่ตามที่ได้รับการออกแบบไว้แล้วเสร็จสิ้น ทำให้ไม่ต้องทำการผ่าตัดซ้ำ เพื่อนำวัสดุที่ใช้ในการรักษาเสร็จแล้วออกจากร่างกายผู้ป่วย นอกจากนี้ ยังช่วยให้เนื้อเยื่อบริเวณโดยรอบกระดูกมีการปรับตัวและฟื้นสภาพในการรับแรงปกติในระหว่างการสลายของวัสดุที่ใช้ในการรักษา ซึ่งให้ผลดีกว่าการใช้อุปกรณ์จำพวกโลหะที่มีความแกร่งสูงแต่ไม่สามารถถ่ายเทแรงไปยังเนื้อเยื่อโดยรอบได้ ทำให้เนื้อเยื่อมีความอ่อนแอและฟื้นสภาพได้ยากภายหลังจากการผ่าตัดนำวัสดุที่ใช้ในการรักษาออกจากร่างกายแล้ว (จินตมัย, 2556)

2.ผลิตภัณฑ์บรรจุหีบห่อ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ เช่น ถุงใส่ขนมปังเพื่อรักษาความสดใหม่ให้นานขึ้นผลิตโดยบริษัท Innovia Films® ฟิล์มและถุงให้อากาศผ่านได้สำหรับบรรจุผลผลิตทางการเกษตรผลิตโดยบริษัท EB® และบริษัท Natura® ถ้วยสำหรับใส่อาหารและเครื่องดื่มผลิตโดยบริษัท NatureWorks® บริษัท Novamont® และบริษัท Huhtamaki® การผลิตช้อน มีด ส้อมที่ใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งและสามารถย่อยสลายเป็นปุ๋ยได้ ผลิตโดยบริษัท Pacovis® เป็นต้น ซึ่งตามปกติการใช้บรรจุภัณฑ์อาหารที่ผลิตจากพลาสติกทั่วไปมักไม่ได้รับความนิยมนำกลับมาใช้ใหม่ (recycle) มากนัก เนื่องจากมีการปนเปื้อนสูง และไม่สะดวกต่อการเก็บและทำความสะอาด การนำพลาสติกย่อยสลายได้มาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการลดปัญหาด้านการจัดการขยะบรรจุภัณฑ์ลงได้ จุดอ่อนของผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้คือการพัฒนาสมบัติทางกายภาพและทางกลให้มีความคงทนและใช้งานได้ดีในเงื่อนไขที่จำเป็น และบรรจุภัณฑ์ยากที่จะนำกลับมาใช้ใหม่ได้จึงเป็นการใช้งานในระยะสั้นเท่านั้น แต่มีข้อดีคือไม่ต้องคำนึงถึงปริมาณการใช้และการทิ้งเนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ทั้งยังเป็นสินค้าที่มีปริมาณการใช้มากและมีตลาดรองรับมาก

3.การะเพาะปลูก การทำสวนไม้ดอก พืชผล พืชไร่ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ถาดสำหรับเก็บและขนส่งดอกไม้ย่อยสลายได้ผลิตโดยบริษัท NNZ® กระถางใส่ต้นไม้และฟิล์มคลุมดินไถกลบย่อยสลายได้ผลิตโดยบริษัท Novamont® เป็นต้น โดยแผ่นฟิล์มจะช่วยป้องกันการเติบโตของวัชพืช และรักษาความชื้นในดิน การใช้ฟิล์มพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพจะช่วยลดขั้นตอนการเก็บและกำจัดฟิล์มภายหลังเสร็จสิ้นการใช้งาน เนื่องจากสามารถกำจัดโดยการไถพรวนลงดินได้โดยตรง ช่วยป้องกันการสูญเสียแร่ธาตุและสารอาหารบริเวณหน้าดินซึ่งมักเกิดขึ้นในขั้นตอนการเก็บและกำจัดฟิล์ม

นอกจากนี้ยังมีการนำพลาสติกย่อยสลายได้มาใช้เป็นวัสดุควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ เช่น ตัวยา ปุ๋ย สารเคมีสำหรับการเกษตร วัสดุกักเก็บน้ำสำหรับการเพาะปลูกพืชในทะเลทราย ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ยังมีข้อจำกัดด้านราคาเนื่องจากยังมีราคาสูงอยู่แต่มีจุดแข็งในเรื่องการใช้เพราะจะไปช่วยลดต้นทุนและหมดความยุ่งยากด้านการเก็บขยะหลังการใช้ คือสามารถใช้งานพร้อมฝังกลบได้เลย

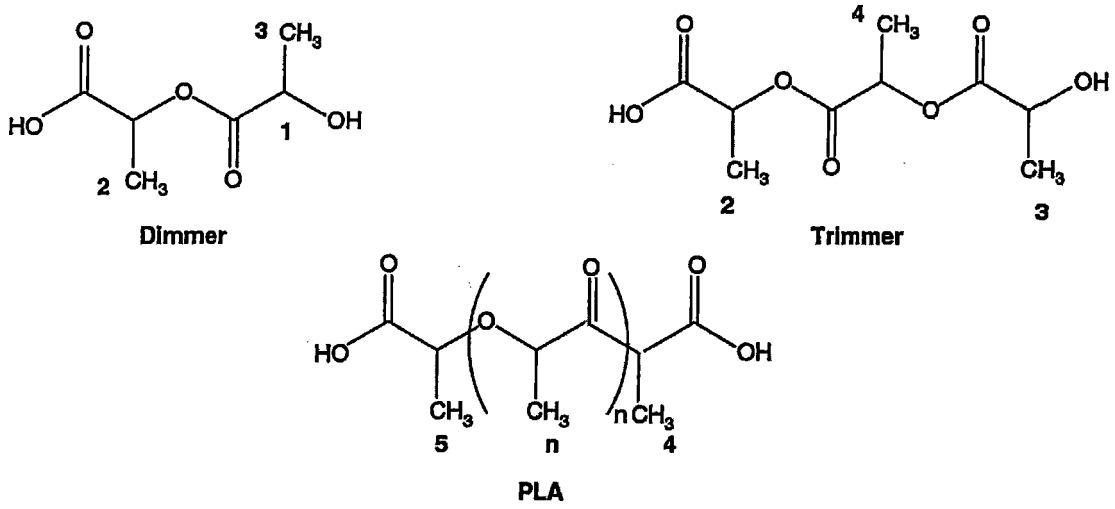
4.ฟิล์มและถุงพลาสติกสำหรับใช้ใส่ขยะเศษอาหาร ซึ่งได้รับความนิยมในต่างประเทศ เนื่องจากสามารถกำจัดโดยการนำมาทำคอมโพสท์พร้อมขยะอินทรีย์อื่น ๆ ทำให้เกิดความสะดวกไม่ต้องแยกทิ้ง ปัจจุบันมีความต้องการใช้ถุงพลาสติกย่อยสลายได้สูงขึ้นอย่างมาก ตัวอย่างเช่น ในหลายเมืองของประเทศอิตาลี ได้ใช้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพสำหรับใส่ขยะเศษอาหารตั้งแต่ปี ค.ศ. 1998 โดยมีบริษัท Novamont ซึ่งเป็นผู้ผลิตหลักให้กับประเทศในสหภาพยุโรป ทำการผลิตถุงย่อยสลายได้ในสภาวะคอมโพสท์ 10,000 ตันต่อปี ถุงที่ผลิตขึ้นนี้สามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 8-10 สัปดาห์ภายใต้สภาวะการหมักในโรงงานคอมโพสท์เชิงอุตสาหกรรม

5.ชิ้นส่วนอุปกรณ์ไฟฟ้า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ชิ้นส่วนของหน้ากากหุ้มเครื่องซีดีวอล์คแมนผลิตโดยบริษัท Sony ชิ้นส่วนเครื่องคอมพิวเตอร์แบบพกพาผลิตโดยบริษัท NatureWorks® แผ่นดีวีดีผลิตโดยบริษัท Sony เป็นต้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ ชิ้นส่วนและอุปกรณ์ต่าง ๆ สามารถย่อยสลายได้หลังจากหมดอายุการใช้งาน เป็นการช่วยลดปริมาณขยะได้ จุดแข็งของผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้คือสามารถย่อยสลายได้หลังจากหมดอายุการใช้งาน ช่วยลดปริมาณขยะ

6.เส้นใยและสิ่งทอ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น เส้นใยสำหรับทอผ้า หรือเส้นใยดูดซับ NoDax® มีข้อดีในเรื่องสมบัติการแพร่ผ่านของก๊าซและความเงางาม แต่ยังมีข้อจำกัดในด้านความหลากหลายในรประเภทปละรูปแบบของผลิตภัณฑ์

2.4 พอลิแล็กติกแอสิด

พอลิแลกติกแอสิด (Polylactic acid, PLA) เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งจัดอยู่ในกลุ่มพอลิเอสเทอร์ที่มีสายโซ่ตรง (Aliphatic polyester) สังเคราะห์ได้จากกรดแล็กติก ซึ่งกรดแล็กติกสามารถผลิตได้จากการหมักแป้งหรือน้ำตาล ดังนั้นพืชที่มีแป้งหรือน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง ข้าวสาลีหรืออ้อย จึงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตได้ ซึ่งทรัพยากรเหล่านี้สามารถสร้างขึ้นทดแทนใหม่ได้อย่างต่อเนื่อง (อมรรัตน์, 2554) พอลิแล็กติกแอสิด จัดเป็นเทอร์โมพลาสติกที่อยู่ในกลุ่มของ พอลิเอสเทอร์ ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นจากกรดแล็กติก (ภาพที่ 2-2) และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ การผลิตพอลิแล็กติกแอสิดสามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักโดยใช้วัตถุดิบที่เป็นทรัพยากรทดแทน เช่น แป้งจากข้าวโพด ผลิตภัณฑ์จากแป้งมันสำปะหลัง และอ้อย เพื่อผลิตเป็นกรดแล็กติกที่จะสามารถสารตั้งต้นในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดต่อไป

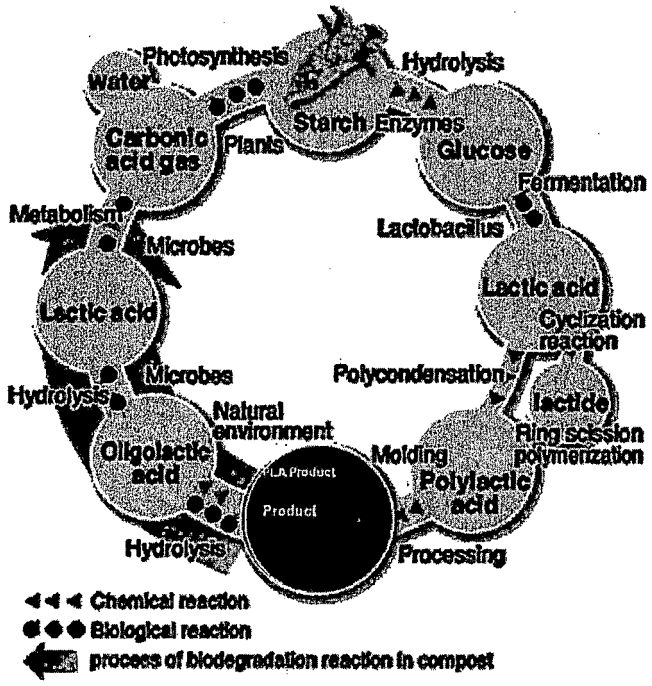


ภาพที่ 2-2 สูตรโครงสร้างพอลิแล็กติกแอสิด และอนุพันธ์
ที่มา: Lassalle and Ferreira (2008)

พอลิแล็กติกแอสิดได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นในการใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตบรรจุภัณฑ์และสิ่งทอ (Garlotta, 2001) เนื่องจาก พอลิแล็กติกแอสิดมีคุณสมบัติต้านทานแรงดึงที่สูง และยังสามารถนำมาขึ้นรูปใหม่ได้ง่าย ฟิล์มพอลิแล็กติกแอสิดมีคุณสมบัติการเป็นตัวกลางและสามารถควบคุมความชื้นได้ดี ตลอดจนพอลิแล็กติกแอสิดสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยกลไกการย่อยสลายของจุลินทรีย์ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม (Garlotta, 2001; Avinc and Khoddami, 2009) นอกจากนี้พอลิแล็กติกแอสิดยังมีคุณสมบัติเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) ทำให้มีการนำพอลิแล็กติกแอสิดไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์และเภสัชกรรม เช่น การผลิตไหมละลาย การสร้างผิวหนัง เนื้อเยื่อและกระดูกเทียม และการควบคุมการส่งผ่านยาในร่างกาย (Lassalle and Ferreira, 2008; Avinc and Khoddami, 2009; Hans และคณะ, 2009)

จากองค์ประกอบพื้นฐานของพอลิแล็กติกแอสิด คือ กรดแล็กติก จึงสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ทำให้พอลิเมอร์ที่ผลิตจากพอลิแล็กติกแอสิดมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าพอลิเมอร์ที่ผลิตจาก พอลิเอทิลินเทเรฟทาเลต (poly ethylene terephthalate, PET) ซึ่งเป็นวัตถุดิบทางปิโตรเคมีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โดยพอลิแลกติกแอซิดจะช่วยลดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะโลกร้อน และยังช่วยลดปัญหาการสะสมของขยะพลาสติกได้อีกด้วย

ผลิตภัณฑ์จากพอลิแลกติกแอซิดสามารถย่อยสลายหรือนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ดังภาพที่ 2-3 ซึ่งแสดงวงจรของการเปลี่ยนแปลงพอลิแลกติกแอซิด โดยวัสดุพอลิแลกติกแอซิดจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายภายใต้ภาวะที่เหมาะสมได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งจะกลายเป็นสารพื้นฐานของการเจริญเติบโตของพืชและเข้าสู่กระบวนการผลิตกรดแลกติกเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์พอลิแลกติกแอซิดครั้งใหม่ (Avinc and Khoddami, 2009)



ภาพที่ 2-3 วัฏจักรของพอลิแลกติกแอซิด
ที่มา : อมรรัตน์ (2554)

พรรชนก และคณะ (2013) อธิบายว่า พอลิแล็กติกแอสิดเป็น พลาสติกชีวภาพที่สังเคราะห์จากชีวมวลโดยมีกระบวนการที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

1) กระบวนการหมักพืชที่มีแป้งหรือน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง อ้อย ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทยเพื่อผลิตเป็นกรดแล็กติก

2) กระบวนการทำบริสุทธิ์ เพื่อทำการแยกกรดแล็กติกออกจากน้ำหมัก

3) กระบวนการพอลิเมอไรเซชัน เพื่อเปลี่ยนสารตั้งต้นกรดแล็กติกให้เป็นพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด

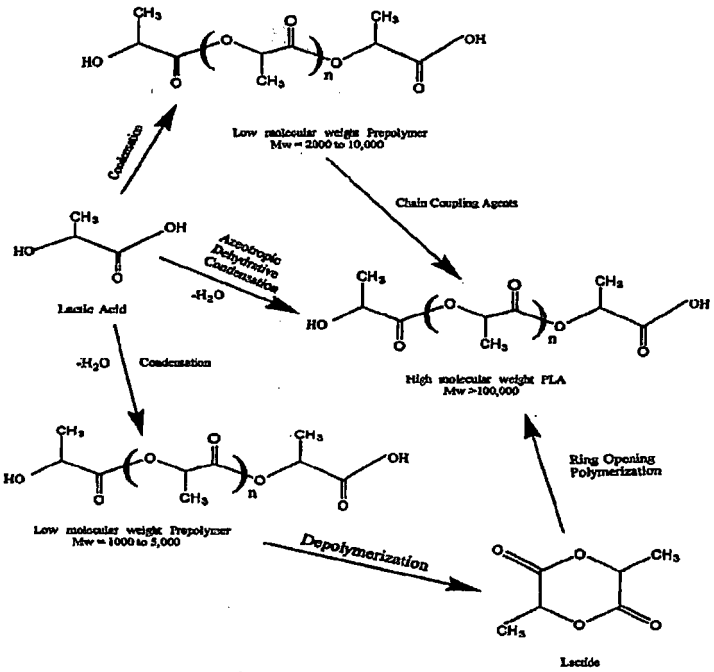
เนื่องจากพอลิแล็กติกแอสิดเป็นพอลิเมอร์ที่ผลิตจาก สารตั้งต้นกรดแล็กติกซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากกระบวนการทาง ดังนั้นเมื่อเกิดการย่อยสลาย พอลิแล็กติกแอสิดโดยการนำมาฝังกลบใต้ดินจะเกิดการย่อยสลายได้น้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดจึงเป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด

จึงได้รับความสนใจสามารถประยุกต์ใช้งานได้หลากหลาย เช่น ด้านการแพทย์และเกษตรกรรม เป็นต้น

การบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแลกติก (ภาพที่ 2-4) โดยทั่วไปสามารถสังเคราะห์ได้จาก 2 วิธีหลักๆ คือ

1) สังเคราะห์ PLA จากสารตั้งต้นกรดแลคติก โดยผ่านกระบวนการพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่นภายใต้ภาวะอุณหภูมิและความดันสูงวิธีนี้จะเป็นวิธีที่ง่ายกว่าและมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าวิธีการสังเคราะห์จากแล็กไทด์ แต่จะได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (M_w) ของพอลิแล็กติกแอสิดต่ำ และต้องใช้สารตั้งต้นกรดแล็กติกที่มีความบริสุทธิ์สูง

2) สังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยวิธีพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงแหวนแล็กไทด์ (ring-opening polymerization) โดยแล็กไทด์จะได้จากการสังเคราะห์จากกรดแล็กติก วิธีนี้จะเป็นวิธีที่ค่อนข้างซับซ้อนกว่าวิธีที่ 1 แต่มีข้อดีคือสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มี M_w สูงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย (Datta and Henry, 2006; Avinc and Khoddami, 2009; Maharana และคณะ, 2009; พรรชนก, 2013)



ภาพที่ 2-4 กระบวนการพอลิเมอไรเซชันเพื่อสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด
ที่มา : Garlotta (2001)

การสังเคราะห์พอลิแลกติกแอซิดในกระบวนการพอลิเมอไรเซชันจำเป็นต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาช่วยส่งเสริมให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดแลกติกไปเป็นพอลิแลกติกแอซิด สามารถแบ่ง

ชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยาได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี เช่น ซิงค์ (Zn) และ สแทนนัมหรือทิน (Stannum or Tin) ซึ่งเป็นโลหะหนัก และตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ เช่น เอนไซม์ไลเพส โดยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพจะไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถประยุกต์ใช้ในด้านอาหารและการแพทย์ได้ (Taguchi และคณะ, 2008; Lassalle and Ferreira, 2008; Hans และคณะ, 2009)

2.5 การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ

ตั้งแต่ปี 1993 ที่ได้มีการค้นพบการใช้เอนไซม์ไลเพสในการเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบเปิดวงแหวน โดยกลุ่มนักวิจัย Uyama และคณะ และกลุ่มของนักวิจัย Knani และคณะ จึงทำให้การศึกษาการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบวิธีเปิดวงแหวนของแลกไทด์โดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น ซึ่งพารามิเตอร์ที่สำคัญของการทำปฏิกิริยา ได้แก่ ชนิดเอนไซม์ ความเข้มข้น อุณหภูมิ ตัวทำละลาย และปริมาณน้ำ และยังมีการศึกษาการทำปฏิกิริยาในตัวทำละลาย เช่น ของไหลเหนือวิกฤต (supercritical media) และตัวทำละลายอินทรีย์ (Yeniad และคณะ, 2011)

Yeniad และคณะ (2011) รายงานว่าในปัจจุบันการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชันระดับการทดลอง สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

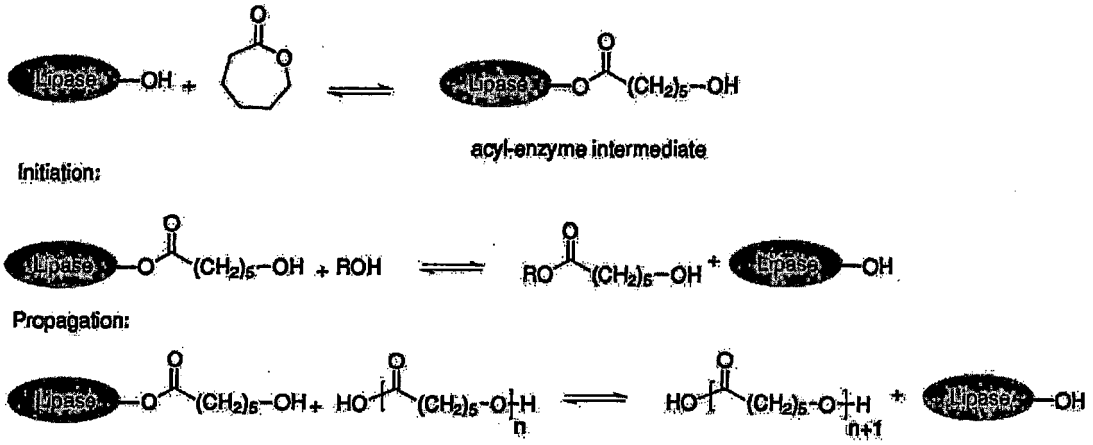
1. ออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductases) ใช้ในการสังเคราะห์สารในกลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenols) และพอลิอนิไลน์ (polyanilines)

2. ทรานสเฟอเรส (transferases) ใช้ในการสังเคราะห์สารในกลุ่มพอลิแซ็กคาร์ไรด์ (polysaccharides) และพอลิเอสเทอร์ (polyesters)

3. ไฮโดรเลส (hydrolases) ใช้สำหรับการสังเคราะห์ สารกลุ่มไกลโคไซด์ (glycosidases) ได้แก่เอนไซม์ไลเพส และโปรตีเอสที่จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา bond-cleavage โดยการย่อยสลาย

ข้อดีของการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชัน ได้แก่ การบวนที่ใช้ในการสังเคราะห์เป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม กล่าวคือสามารถเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง (mild condition) และการใช้เอนไซม์เป็นกระบวนการที่มีความจำเพาะสามารถควบคุมกระบวนการพอลิเมอไรเซชันได้ เอนไซม์ไลเพสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพราะว่าสามารถนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์กับซับสเตรตที่หลากหลาย ซึ่งเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อไอโซเมอร์ (stereospecificity) และความจำเพาะต่ออีแนนทิโอเมอร์ (enantioselectivity) สูง (Lassalle and Ferreira, 2008)

กลไกการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเพส บริเวณเร่งของ*Candida Antarctica* Lipase B (CALB) ตัวอย่างเช่น หน่วยเร่ง Ser105-His224-Asp187 โดยที่ Ser ทำงานที่นิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) ส่วน His ทำงานที่หมู่เบส (basic residue) และ Asp ทำงานที่หมู่กรด (acidic residue) ตำแหน่งกรดอะมิโน ซีรีนและฮีสทิดีน และ อีสทิดีนและกรดแอสพาทิก จะทำให้เกิดโครงข่ายพันธะไฮโดรเจน (hydrogen-bonding network) ซึ่งจะมีความสำคัญต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเพส โดยทั่วไปยอบรับกันว่าโมโนเมอร์ จะเกิดมาจากสารมัธยันตร์เอนไซม์เอซิล (acyl enzyme intermediate) โดยปฏิกิริยาของ ตำแหน่งอะมิโนซีรีน (serine residue) กับแลกโทน (lactone) แล้วปล่อยหมู่คาร์บอนิลไปทำปฏิกิริยา nucleophilic attack (ภาพที่ 2-5) การทำเริ่มปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของเอนไซม์ (initiation) จะเกิดปฏิกิริยาดีเอซิลเลชัน (deacylation) ของสารมัธยันตร์เอนไซม์เอซิล โดยนิวคลิโอไฟล์ที่เหมาะสม เช่น น้ำจะผลิต ω-hydroxycarboxylic acid/ester ถ้าหากเป็นแอลกอฮอล์ หรือเอมีน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีหมู่เอสเทอร์ หรือเอไมด์ ส่วนขั้นตอนการเกิดสายโซ่ (chain growth) หรือ การเพิ่มขนาดของพอลิเมอร์ (propagation) เกิดโดยปฏิกิริยาดิเอซิลเลชันของสารมัธยันตร์เอนไซม์เอซิลทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของพอลิเมอร์ที่เกิดเพื่อผลิตเป็นสายโซ่พอลิเมอร์ 1 หน่วยโมโนเมอร์ กระบวนการพอลิเมอร์ไรซ์เซชันโดยมีเอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยานั้นจะเกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกับกลไกการเกิดของโมโนเมอร์ (Yeniad และคณะ, 2011)



ภาพที่ 2-5 กลไกการเกิดระบวนการพอลิเมอไรเซชันของแล็กโทนโดยมีเอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
ที่มา : Yeniad และคณะ (2011)

Hans และคณะ (2009) รายงานว่าการศึกษาการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชันเพื่อการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น ดังเช่นงานวิจัยของ Matsumura และคณะในปี 1997 ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์ไลเพสจากยีสต์

Candida cylindracea เอนไซม์ไลเพสจากตับอ่อนของหมู และเอนไซม์ไลเพสจากแบคทีเรีย *Pseudomonas cepacia* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชันในการสังเคราะห์พอลิเมอร์จาก LL-lactide DD-lactide และ DL-lactide ที่อุณหภูมิ 80-130 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 8,000-270,000 Da แต่ยังคงมีค่าผลได้ (yield) ของผลิตภัณฑ์ อยู่ในระดับต่ำ ประมาณ 3-16 เปอร์เซ็นต์

ในช่วงการศึกษาต่อมา ได้มีการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและปัจจัยแวดล้อมที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไลเพสในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชันเพื่อสังเคราะห์พอลิเมอร์ของแล็กไทด์ โดย Gross และคณะ (2002; อ้างโดย Hans, 2009) ได้ศึกษาการยับยั้งกระบวนการพอลิเมอไรเซชันโดย ε-caprolactone และ penta-decalactone ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และ Wahlberg และคณะ (2003; อ้างโดย Hans, 2009) ได้ศึกษาพบว่ากระบวนการพอลิเมอไรเซชันที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส จะมีเพียงการสร้างโอลิโกเมอร์จากกระบวนการโคพอลิเมอไรเซชันของ ε-caprolactone กับ DL-lactide (DLLA) เท่านั้น

Hans และคณะ (2009) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์ Novozyme 435 (immobilized CALB) ซึ่งเป็นเอนไซม์ไลเพส พบว่าสามารถใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน ภายใต้อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส ในสารละลายโทลูอีน (toluene) ในการผลิตพอลิแลกติกแอซิดได้ งานวิจัยที่ศึกษาถึงประสิทธิภาพการเป็นสารเร่งทางชีวภาพของเอนไซม์ไลเพส เพื่อผลิตพอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกโดยมีการใช้เอนไซม์ไลเพสในรูปแบบที่แตกต่างกัน เช่น porcine pancreatic lipase (PPL) Lipozyme IM20 และ Chirazyme (Kiran and Divakar, 2003)

Kiran and Divakar (2003) ศึกษาการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ไลเพสจากตับอ่อนหมู (porcine pancreatic lipase: PPL) Lipozyme IM20 และ Chirazyme พบว่าเอนไซม์ไลเพสจากตับอ่อนหมูสามารถเปลี่ยนโมโนเมอร์ของกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กเตทที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าการใช้เอนไซม์ไลเพสชนิด lipozyme IM20 โดยที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n) ศึกษาด้วยวิธี end group analysis ซึ่ง เอนไซม์ PPL แสดงพอลิเมอร์ที่น้ำหนักโมเลกุลสูงสุดเท่ากับ1,423 และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิดที่ 80.2 เปอร์เซ็นต์

Lassalle and Ferreira (2008) ศึกษาการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ไลเพสจากแบคทีเรีย *Pseudomonas cepacia* (PCL) และจากตับอ่อนหมู (PPL) หรือเอนไซม์ไลเพสตรึงจากยีสต์ *Candida Antarctica* (CAL-B) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าเอนไซม์ไลเพส CAL-B สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดพอลิแล็กติกแอสิดได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิดที่ 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเอนไซม์ PPL และ PCL ให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ที่ต่ำ

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบสำหรับการดำเนินงานวิจัย

3.1.1.1 กรดแล็กติกทางการค้า (ความบริสุทธิ์ 85 เปอร์เซ็นต์) ผลิตโดยบริษัท Ajax

3.1.1.2 เอนไซม์ไลเพส โดยในการทดลองครั้งนี้ทดลองใช้เอนไซม์ Novozyme 435 ผลิตโดยบริษัท Novozyme ประเทศเดนมาร์ก

3.1.2 อุปกรณ์

3.2.2.1 ขวดแก้วก้นกลมแบบ 4 คอ (Round bottom flask)

3.2.2.2 ขวดแก้ว (Bottle)

3.2.2.3 บีคเกอร์ (Beaker)

3.2.2.4 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

3.2.2.5 ปิเปต (Pipette)

3.2.2.6 ขวดปริมาตร (Volumetric flask)

3.2.2.7 กระบอกตวง (Cylinder)

3.2.2.8 บิวเรต (Burette)

3.2.2.9 ที่จับบิวเรต (Burette clamp)

3.2.2.10 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3.2.2.11 แท่งควบคุมอุณหภูมิ (Thermocouple)

3.2.2.12 หลอดหยด (Dropper)

3.2.2.13 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)

3.2.2.14 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.2.2.15 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.2.2.16 กรวยกรอง

3.2.2.17 ออโต้ปิเปติ (Auto pipette)

3.2.2.18 เครื่องทำน้ำหล่อเย็น (Cooling bath)

3.2.2.19 เครื่องควบแน่น (Condenser)

3.2.2.20 เครื่องชั่งแบบละเอียด (Balance)

3.2.2.21 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.2.2.22 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.2.2.23 เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Hot plate stirrer)

3.2.2.24 เครื่องกวนสารแบบใบพัด (blade stirrer)

3.2.2.25 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator); (ยี่ห้อ Memmert, Germany)

3.2.2.26 เครื่องชั่งแบบละเอียด (Balance)

3.2.2.27 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.2.2.28 ชุดการควบแน่น (Condenser & Cooling)

3.2.2.29 ชุดการให้ก๊าซไนโตรเจน (Flow meter & Pressure regulator)

3.1.3 เครื่องมือวิเคราะห์

3.2.3.1 เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR)

3.2.3.2 เครื่อง Gel Permeation Chromatography (GPC)

3.1.4 สารเคมี

3.2.4.1 โทลูอีน (Toluene)

3.2.4.2 เมทานอล (Methanol)

3.2.4.3 เอทานอล (Ethanol)

3.2.4.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

3.2.4.5 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

3.2.4.6 ทริส เบส (Tris-base)

3.2.4.7 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)

3.2.4.8 ไอโซโพรพิล อีเทอร์ (Isopropyl ether)

3.2.4.9 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide)

3.2 วิธีการ

3.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์กรดพอลิแลกติก

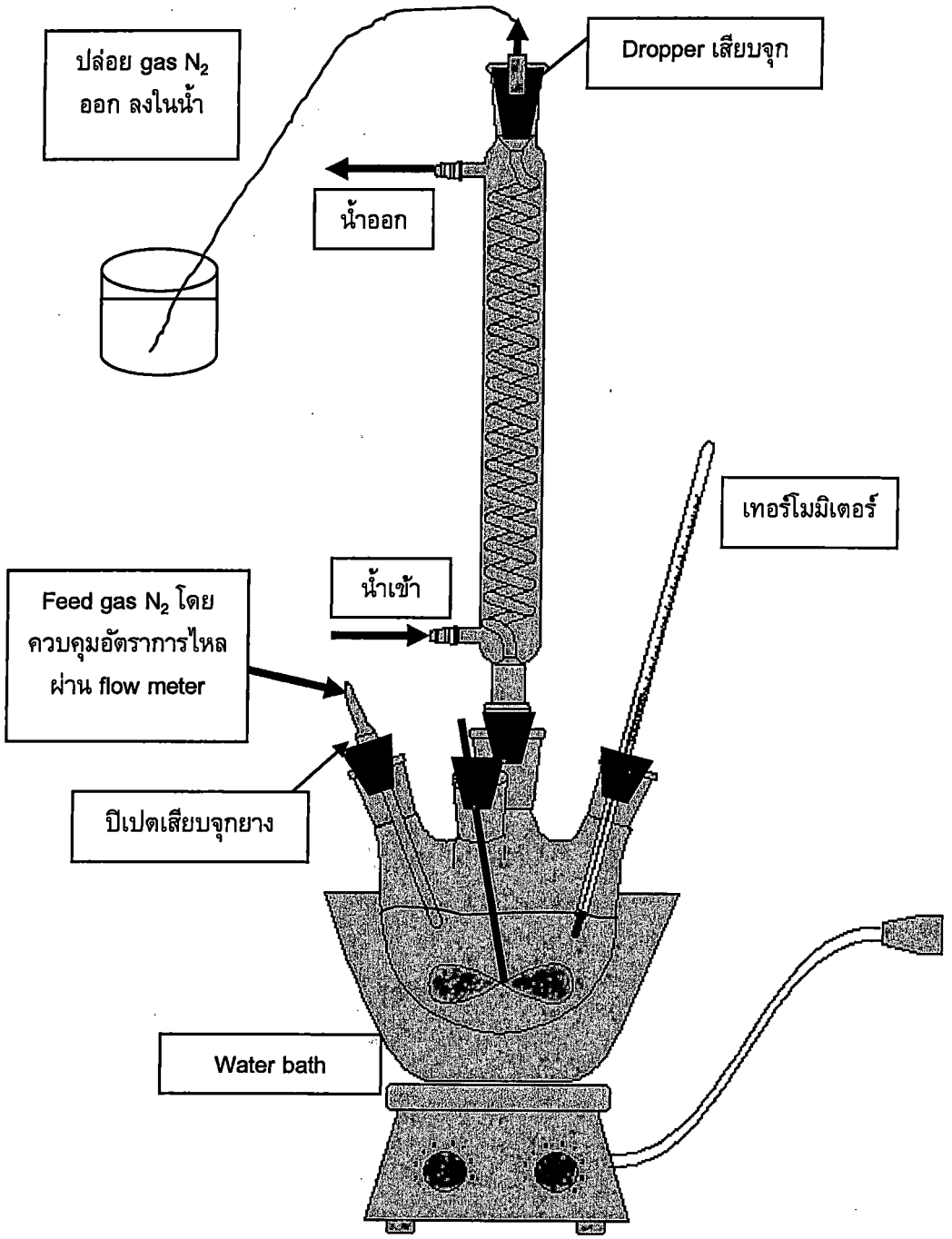
การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ไลเพส (Novozyme 435) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน ด้วยวิธีพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) กับแผนการทดลอง Box-Behnken Design ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (1-24 ชั่วโมง) อุณหภูมิ (60-80 องศาเซลเซียส) และ ความเข้มข้นของเอนไซม์ (5-10 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) ดังตารางที่ 3-1 แสดงระดับของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย ตามแผนการทดลองและจำนวนสิ่งทดลองดังตารางที่ 3-2 ตัวแปรตามประกอบด้วย เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแลกติกเป็นกรดพอลิแลกติก (conversion yield of lactic acid) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิเมอร์ (number average molecular weight)

ตารางที่ 3-1 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษา	-1	0	+1
ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง): X_1	1	12.5	24
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส): X_2	60	70	80
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)): X_3	5	7.5	10

ตารางที่ 3-2 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลอง

สิ่งทดลอง	Code level			ปัจจัย		
	X_1	X_2	X_3	ระยะเวลาทำปฏิกิริยา (h)	อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%; (w/w))
1	-1	-1	0	1	60	7.5
2	1	-1	0	24	60	7.5
3	-1	1	0	1	80	7.5
4	1	1	0	24	80	7.5
5	-1	0	-1	1	70	5
6	1	0	-1	24	70	5
7	-1	0	1	1	70	10
8	1	0	1	24	70	10
9	0	-1	-1	12.5	60	5
10	0	1	-1	12.5	80	5
11	0	-1	1	12.5	60	10
12	0	1	1	12.5	80	10
13	0	0	0	12.5	70	7.5
14	0	0	0	12.5	70	7.5
15	0	0	0	12.5	70	7.5



ภาพที่ 3-1 ภาพจำลองการต่อระบบสำหรับการสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด โดยใช้เอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

3.2.2 การศึกษาคุณลักษณะของพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดที่ผลิตได้

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกเอสิด (conversion yield of lactic acid) และหาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิเมอร์ (number average molecular weight) ตามวิธีของ Lassalle and Ferreira (2008)

วิเคราะห์องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ ที่ผลิตได้ภายใต้สภาวะต่าง ๆ ของกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน เช่น การหาความองค์ประกอบของหมู่ฟังห์ชันในผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) และการน้ำหนักโมเลกุลของผลิตภัณฑ์พอลิเมอร์ด้วยเทคนิค Gel Permeation Chromatograph (GPC) เป็นต้น

3.2.3 สร้างแบบจำลองการใช้กรดแล็กติกในการเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตพอลิแล็กติกแอสิด

ศึกษาความสามารถในการเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตพอลิเมอร์ของกรดแลกติกที่ได้จากกรดแลกติกในทางการค้า ตามสภาวกระบวนการสังเคราะห์ข้อ 3.2.1 นำข้อมูลมาประมวลผลทางสถิติเพื่อสร้างแบบจำลองการสังเคราะห์กรดพอลิแลกติกโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอร์ไรซ์เซชัน โดยที่ตัวแปรต้นของแบบจำลองประกอบด้วย X_1 คือระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คืออุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (องศาเซลเซียส) และ X_3 ความเข้มข้นของเอนไซม์ Novozyme 435 ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) ตัวแปรตามของแบบจำลองประกอบด้วย %Conversion คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแลกติกเป็นพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด และ M_n คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิเมอร์พอลิแล็กติกซึ่งได้จากการคำนวณตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008)

การทดลองประกอบด้วยหน่วยทดลองจำนวน 15 หน่วยทดลอง ประกอบด้วย incomplete factorial point 12 หน่วย และทำซ้ำที่จุดกลาง 3 หน่วยทดลอง การสร้างแบบจำลองโดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Minitab 16 เวอร์ชันทดลองใช้ แบบจำลองถูกสร้างขึ้นด้วยตามรูปแบบสมการด้านล่างคือ

$$Y = B_0+B_1X_1+B_2X_2+B_3X_3+B_{12}X_1X_2+B_{13}X_1X_3+B_{23}X_2X_3$$

โดยที่ Y คือค่าตอบสนอง

B_0 คือ ค่าคงที่ของสมการ

B_1 B_2 B_3 คือ สัมประสิทธิ์ของสมาการเส้นตรง

B_{12} B_{13} B_{23} คือสัมประสิทธิ์ของปฏิสัมพันธ์

จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของแบบจำลองโดยโปรแกรมมินิแทบ และสร้างกราฟพื้นที่การตอบสนองด้วยโปรแกรม Statistica 5.5 โดยพล็อตกราฟเปรียบเทียบครั้งละ 2 ปัจจัย ซึ่งกำหนดให้อีกปัจจัยหนึ่งที่เหลือที่จุดกลาง

3.2.4 สังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกทางการค้าและ กรดแล็กติกที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus ATCC 10863* (TISTR 108) และ/หรือ *Lactococcus lactis IO-1* ตามสภาวะที่เหมาะสม

จากสภาวะที่เหมาะสมตามแบบจำลองที่คัดเลือกได้ในข้อ 3.2.3 นำมาใช้ในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้กรดแล็กติกที่ได้จากกระบวนการหมักและกรดแล็กติกทางการค้า เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์

3.2.5 ทดสอบความสามารถในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มของพอลิแล็กติกแอสิด

พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้จากข้อ 3.2.4 นำไปทดสอบความสามารถในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม และตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ โดยก่อนการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้จะนำไปตกตะกอนตามวิธีของ Lassalle (2008) ที่จำตกตะกอนผลิตภัณฑ์พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้จากกระบวนการพอลิเมอไรเซชันโดยใช้กรดแล็กติกทางการค้าเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด ด้วยไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) โดยแยกสารละลายโทลูอีนส่วนบนออกจากสารละลายพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ เติมสารละลายไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 4:2 เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 2 เท่าของสารละลายผสม และเขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ดูดสารละลายส่วนบนออก จะได้ตะกอนของพอลิแล็กติกแอสิดอยู่ที่ก้นหลอด นำไประเหยให้แห้งในตู้ดูดควันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด

4.1.1 ผลการศึกษาสภาวะเบื้องต้นที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแลกติกแอสิด

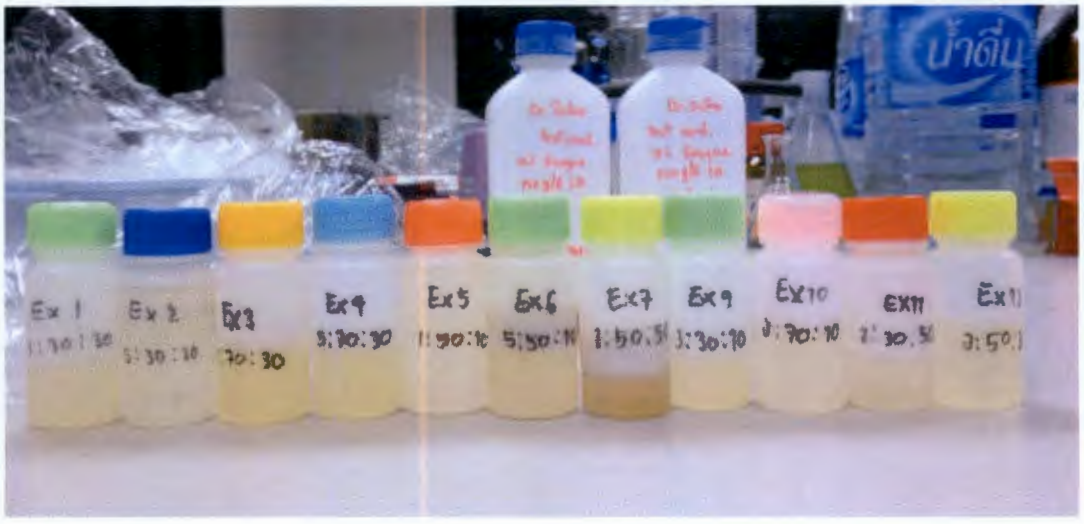
ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากการใช้กรดแล็กติกทางการค้าเป็นสารตั้งต้นเพื่อสร้างแบบจำลองการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีเอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธี Response Surface Methodology (RSM) กับแผนการทดลอง Box-Behnken Design ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา (1-5 ชั่วโมง) อุณหภูมิ (30-70 องศาเซลเซียส) และ ความเข้มข้นของเอนไซม์ (10-50 มิลลิกรัม/มิลลิโมล) ตัวแปรตามประกอบด้วย เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n) ของพอลิเมอร์

(A)

(B)

ภาพที่ 4-1 (A) ชุดการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกในระดับหลอดทดลองขนาดเล็ก (10 มิลลิลิตร) และ (B) ชุดสังเคราะห์ระดับฟลาสก์ (100 มิลลิลิตร) ที่พัฒนาให้มีขนาดและปริมาตรเพิ่มขึ้น

ผลการดำเนินการวิจัยไม่เป็นไปตามเป้าหมาย เนื่องจากการดำเนินการวิจัยตามสภาวะข้างต้น พบว่าการเร่งปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ของเอนไซม์ Novozyme 435 ต่ำ จึงทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลต่ำไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์ และเนื่องจากเอนไซม์ Novozyme 435 ที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิด immobilized enzyme สำหรับการทำปฏิกริยาที่ระดับของสารปฏิกิริยามีปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำให้บางหน่วยทดลองไม่สามารถเก็บผลิตผลได้เนื่องจากเกิดการดูดซับสารละลายของเม็ดเอนไซม์ ทำให้เกิดการแห้งก่อนที่จะครบระยะเวลาทำปฏิกิริยา ดั้งนั้นจึงพัฒนาชุดสังเคราะห์พอลิเมอร์ใหม่ โดยมีปริมาตรที่สูงขึ้นคือ สามารถสังเคราะห์ได้ครั้งละ 100 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 4-1 ที่แสดงชุดสังเคราะห์กรดพอลิแลกติกขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร ซึ่งผลการทดลองที่ไม่เป็นไปตามเป้าหมายจากสภาวะการสังเคราะห์เบื้องต้น แสดงดังตารางที่ 4-1



ภาพที่ 4-2 กรดพอลิแลกติกที่ได้จากการสังเคราะห์ ตามสภาวะการทดลองเบื้องต้น (ครั้งที่ 1)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา 668.4236
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131 ศ 986ก

ตารางที่ 4-1 ผลการสังเคราะห์กรดพอลิแลกติกตามสภาวะการทดลองเบื้องต้น

สิ่งทดลอง	Code level			ปัจจัย			Conversion (%)	M_n
	X_1	X_2	X_3	ระยะเวลาทำปฏิกิริยา (h)	อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%)		
1	-1	-1	0	1	30	30	51.33	3695
2	1	-1	0	5	30	30	63.82	4967
3	-1	1	0	1	70	30	64.18	5017
4	1	1	0	5	70	30	59.62	4451
5	-1	0	-1	1	50	10	65.63	5226
6	1	0	-1	5	50	10	64.42	5051
7	-1	0	1	1	50	50	66.83	5415
8	1	0	1	5	50	50	-	-
9	0	-1	-1	3	30	10	64.18	5017
10	0	1	-1	3	70	10	60.82	4587
11	0	-1	1	3	30	50	59.14	4399
12	0	1	1	3	70	50	-	-
13	0	0	0	3	50	30	58.90	4373
14	0	0	0	3	50	30	-	-
15	0	0	0	3	50	30	-	-

หมายเหตุ %Conversion คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และ M_n คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนซึ่งได้จากการคำนวนตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008)

การศึกษาความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของเอนไซม์ Novozyme 435 ที่ระดับปริมาตรการสังเคราะห์รวมที่ 10 มิลลิลิตร เพื่อใช้กำหนดระดับของปัจจัยสำหรับหาสภาวะที่เหมาะสม โดยวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนกรดแลกติกไปเป็นกรดพอลิแลกติกด้วยวิธี end-group analysis พบว่าการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่มีเติมสารละลายโทลูอีนอัตราส่วน 1:2 บ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ภายใต้การป้อนก๊าซไนโตรเจนบริเวณผิวหน้าของสารละลายด้วยอัตราการไหล 0.1 vvm อย่างต่อเนื่อง ที่ระดับปริมาณกรดแลกติกที่เท่ากันคือ 28.4 มิลลิโมล แต่ใช้ปริมาณเอนไซม์ 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ เวลาการทำปฏิกิริยา 6 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงกรดแลกติกไปเป็นกรดพอลิแลกติก 96.40 และ 96.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการเพิ่มระยะเวลาการทำปฏิกิริยาเป็น 12 ชั่วโมง ที่ระดับเอนไซม์ 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงการเปลี่ยนแปลง

355571

กรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 96.42 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ระดับเอนไซม์ 12 และ15 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้เนื่องจากปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยาลดลง เนื่องจากเกิดการระเหยของโทลูอีนและมีปริมาณเอนไซม์มากเกินไป ผลการทดลองดังตารางที่ 2 การทดลองลำดับต่อไปคือการเพิ่มปริมาตรการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดให้มากขึ้น พร้อมกับการหาระดับของปัจจัยอุณภูมิ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตต่อไป

ตารางที่ 4-2 การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้ปริมาณกรดแล็กติกเริ่มต้น 256 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตรการสังเคราะห์รวม 10 มิลลิลิตร และเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด

สภาวะการทดลอง	ปริมาณเอนไซม์ (mg, %)	ปริมาณกรดแล็กติก (mg, mmol)	ระยะเวลา (h)	Conversion (%)
1	36.0, 10	2,560, 28.4	6	96.40
	36.0, 10	2,560, 28.4	12	96.42
2	43.2, 12	2,560, 28.4	6	96.79
	43.2, 12*	2,560, 28.4	12	ND
3	54.0, 15**	2,560, 28.4	6	ND

หมายเหตุ * สภาวะการทดลองที่ 2 ชั่วโมงที่ 12 ไม่สามารถวิเคราะห์ผลการทดลองได้ เนื่องจากมีปริมาตรตัวอย่างน้อย

** สภาวะการทดลองที่ 3 ไม่สามารถเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 12 ได้ เนื่องจากปริมาตรของสารละลายลดลงเนื่องจากการระเหยของโทลูอีนและมีปริมาณเอนไซม์มาก

%Conversion คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิด

4.1.2 การหาสภาวะการทดลองสำหรับการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด

จากผลการทดลองจากสภาวะการสังเคราะห์เบื้องต้นที่ไม่เป็นไปตามเป้าหมาย ดังนั้นจึงต้องหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมใหม่อีกครั้ง ซึ่งจากการทดลองข้อ 4.1.1 พบว่าสภาวะที่สามารถใช้ในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่เหมาะสมคือการใช้ปริมาณเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเพื่อให้สามารถกำหนดระดับของปัจจัยต่อไปได้คือ เวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ จึงทดลองโดยการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาการสังเคราะห์ในช่วง 40 ชั่วโมง ผลการทดลองดังตารางที่ 4-3

การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจะใช้ปริมาณกรดแล็กติก 36,000 มิลลิกรัม ปริมาตรการสังเคราะห์รวมทั้งกรดแล็กติกและโทลูอีน 100 มิลลิลิตร พบว่า ที่ระดับตัวเร่งปฏิกิริยา 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ 1-40 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแลกติกแอสิดตั้งแต่ 74-78 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนที่ได้จากการคำนวนตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008) ในช่วงตั้งแต่ 7,000-8,000 Da ที่ระดับตัวเร่งปฏิกิริยา 12 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิดตั้งแต่ 78 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนที่ได้จากการคำนวนเท่ากับ 8,151

ตารางที่ 4-3 การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์

สภาวะการทดลอง	ปริมาณเอนไซม์ (mg, %)	ปริมาณกรดแล็กติก (mg, mmol)	ระยะเวลา (h)	Conversion (%)	M_n
1	3,600, 10	36,000, 399.64	1	75.72	7,397
2	3,600, 10	36,000, 399.64	6	74.64	7,082
3	3,600, 10	36,000, 399.64	12	75.80	7,423
4	3,600, 10	36,000, 399.64	24	nd	nd
5	3,600, 10	36,000, 399.64	36	77.89	8,120
6	3,600, 10	36,000, 399.64	40	74.80	7,129
7	4,320, 12	36,000, 399.64	1	nd	nd
8	4,320, 12	36,000, 399.64	6	nd	nd
9	4,320, 12	36,000, 399.64	24	77.97	8,151

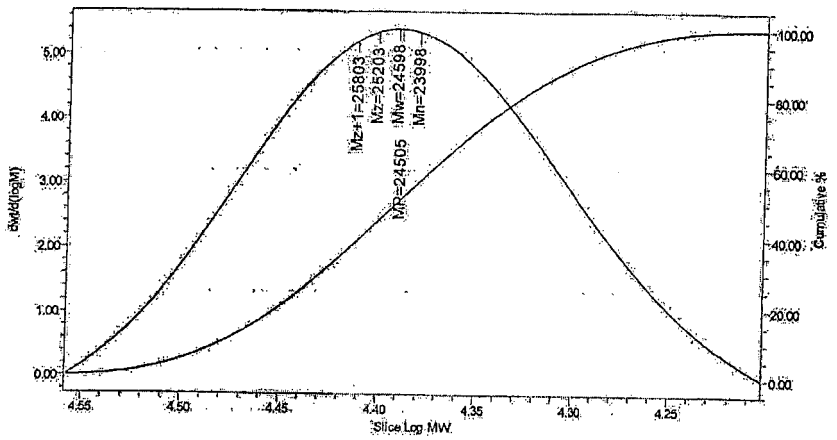
หมายเหตุ nd ไม่ได้ทำการศึกษา

%Conversion คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิด

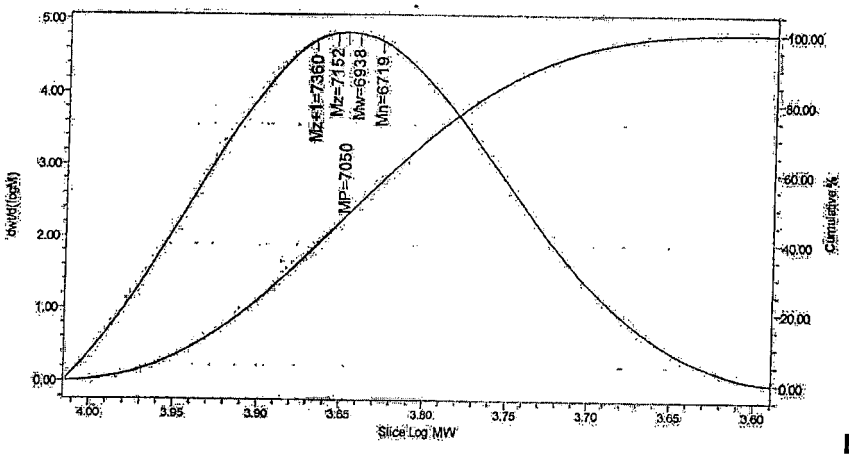
M_n คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนซึ่งได้จากการคำนวนตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008)

น้ำหนักโมเลกุล (M_w) ของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้สามารถวิเคราะห์โดยใช้ gel permeation chromatograph (GPC) แสดงดังภาพที่ 4-3 และ 4-4 การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 และ 24 ชั่วโมง มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 24,598 และ 6,938 Da ตามลำดับ ขณะที่การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12

เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 และ 24 ชั่วโมง มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 731 และ 9,073 Da ตามลำดับ แต่บางตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ ไม่สามารถวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลด้วย GPC ได้ อาจจะเป็นเพราะมีขนาดน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 2,000 Da เนื่องจากความสามารถของเครื่อง GPC ตามสภาวะที่วิเคราะห์ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 2,000 Da

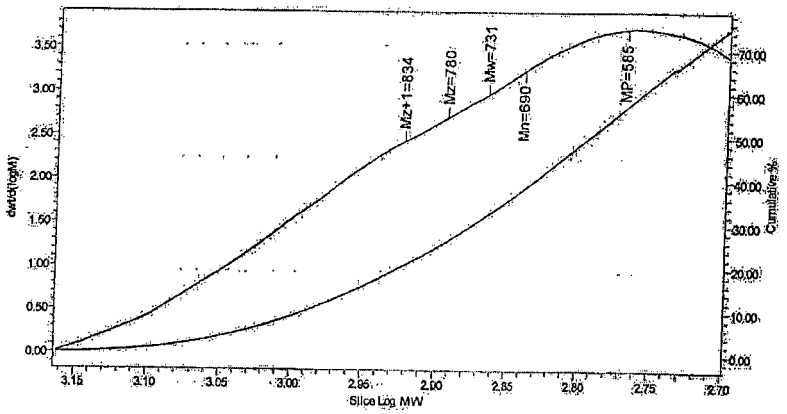


A

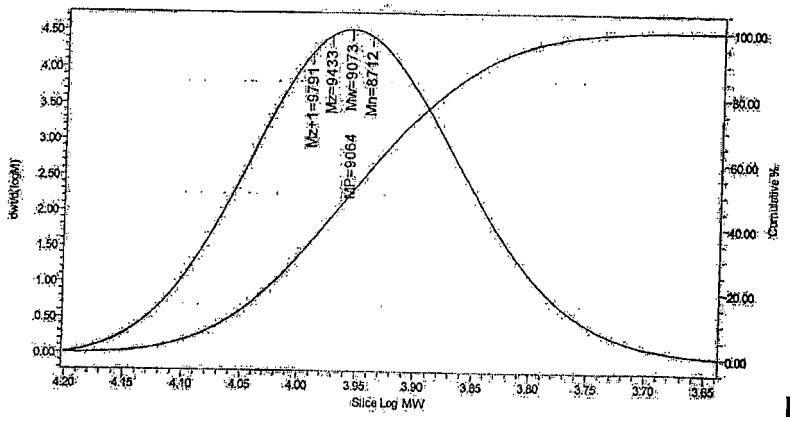


B

ภาพที่ 4-3 กราฟ relative calibration ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (A) และเอนไซม์ 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (B)



C



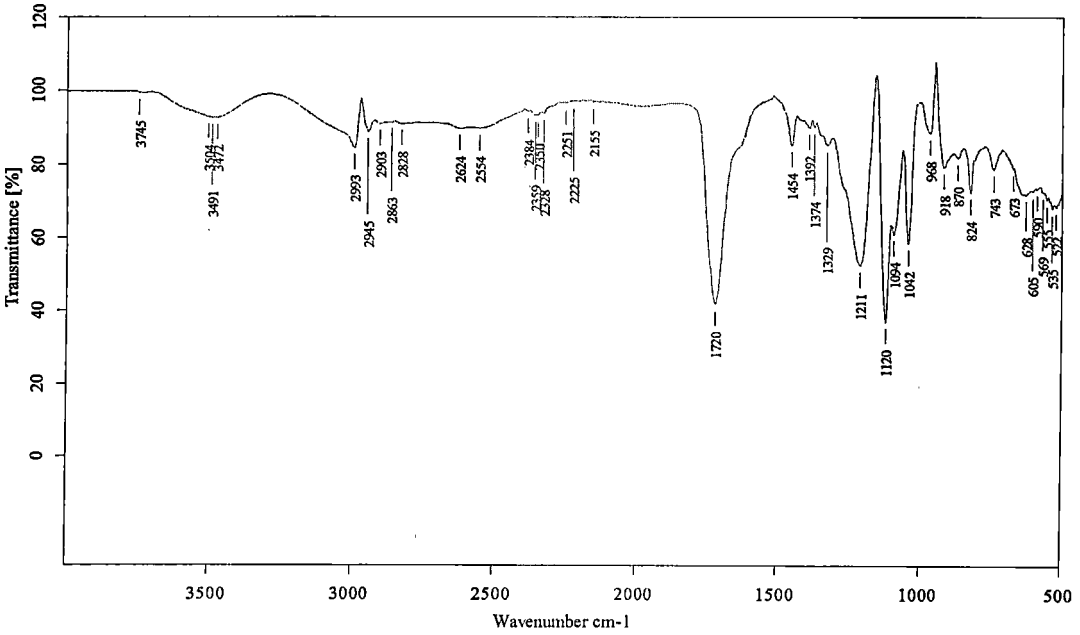
D

ภาพที่ 4-4 กราฟ relative calibration ของพอลิแลกติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 ชั่วโมง (C) และ เอนไซม์ 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (D)

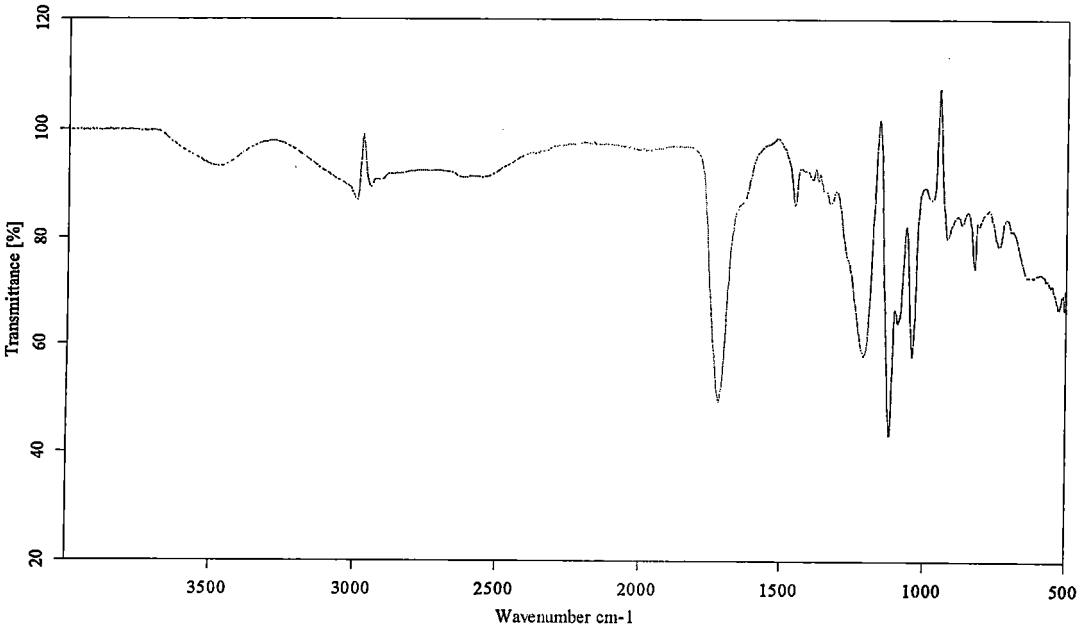
การวิเคราะห์โครงสร้างของผลิตภัณฑ์พอลิแล็กติกแอสิดที่ผลิตได้ โดยการหาองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันด้วยวิธี Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) ซึ่งปกติอะตอมจะเคลื่อนไหวและสั่น (vibrate) อยู่ตลอดเวลา โดยการสั่นแบบพื้นฐานของพันธะเคมีมีอยู่ 2 แบบ คือ แบบยืด (stretching) และแบบงอ (bending) ซึ่งมีทั้งแบบสมมาตร (symmetry) และไม่สมมาตร (asymmetry) โดยการสั่นทั้งแบบยืดและแบบงอของอะตอมในพันธะที่ต่างกันจะให้สัญญาณ เป็นพีคที่ตำแหน่งแตกต่างกันไป จึงสามารถนำตำแหน่งของสัญญาณที่เกิดจากพันธะของอะตอมที่ต่างกันมาระบุหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆได้ โดยการยืดของพันธะจะใช้พลังงานสูงกว่าการงอของพันธะชนิดเดียวกัน (พรรชนก, 2554)

ภาพที่ 4-5 ถึง 4-14 แสดง FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ เมื่อพิจารณาช่วงการดูดกลืนแสงของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญจาก FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของพอลิแล็กติกแอสิด ได้แก่ หมู่ฟังก์ชัน –C-H stretching ที่ระดับ

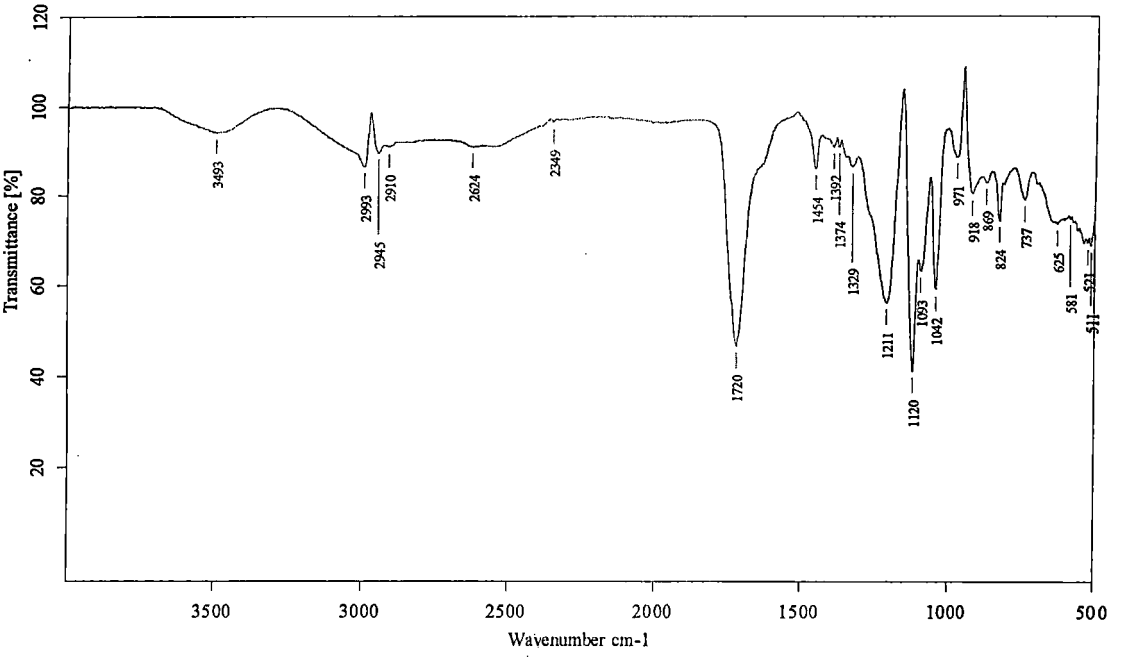
wavenumber 3,000-3,110 cm^{-1} หมู่ฟังก์ชัน –C=O stretching ที่ระดับ wavenumber 1,600-1,950 cm^{-1} หมู่ฟังก์ชัน –C-O-C- stretching ที่ระดับ wavenumber 1,070-1,280 cm^{-1} และ หมู่ฟังก์ชัน –(C=O)-O- stretching ที่ระดับ wavenumber 1,070-1,280 cm^{-1} (ณัฐนัย, 2551)



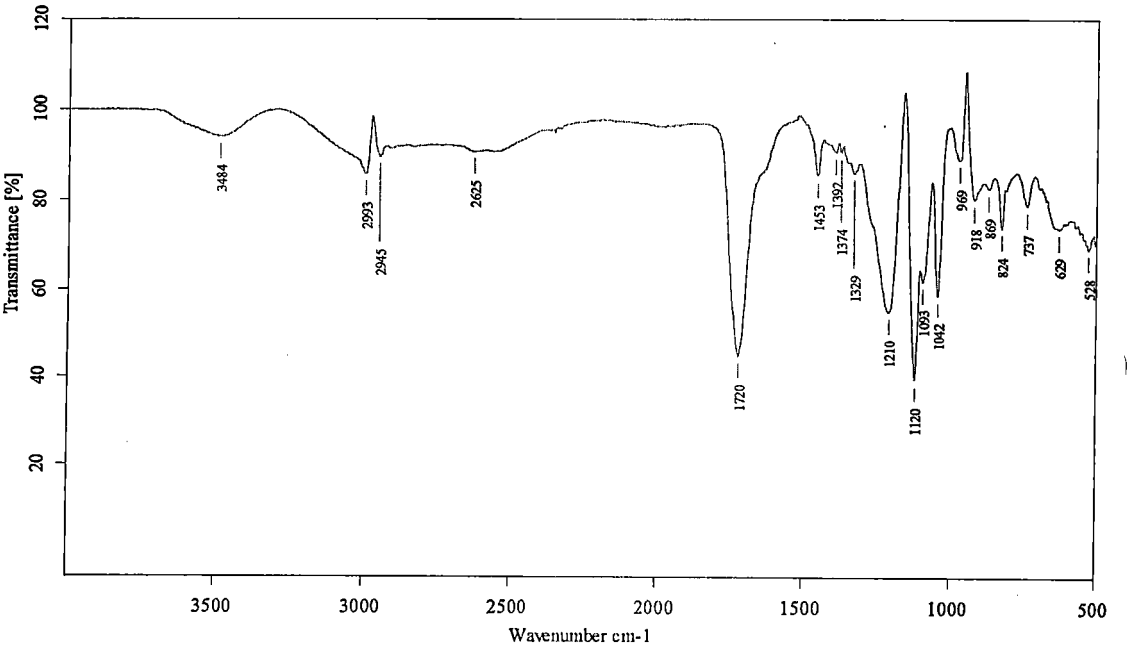
ภาพที่ 4-5 FTIR spectra ของกรดแลกติก



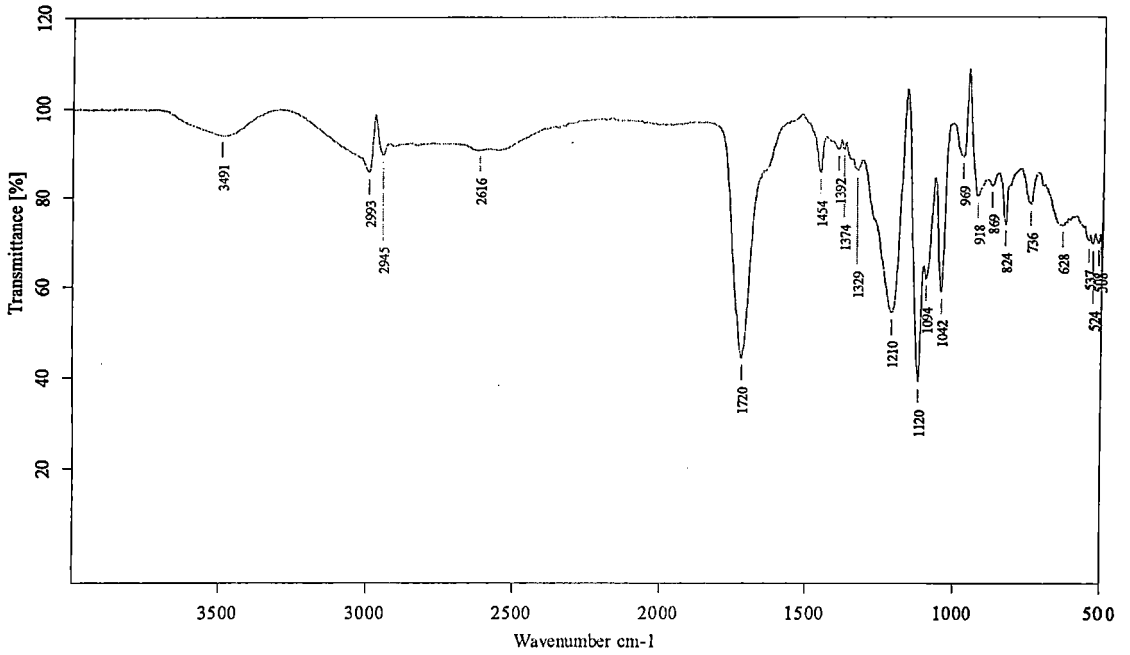
ภาพที่ 4-6 FTIR spectra ของพอลิแลกติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง



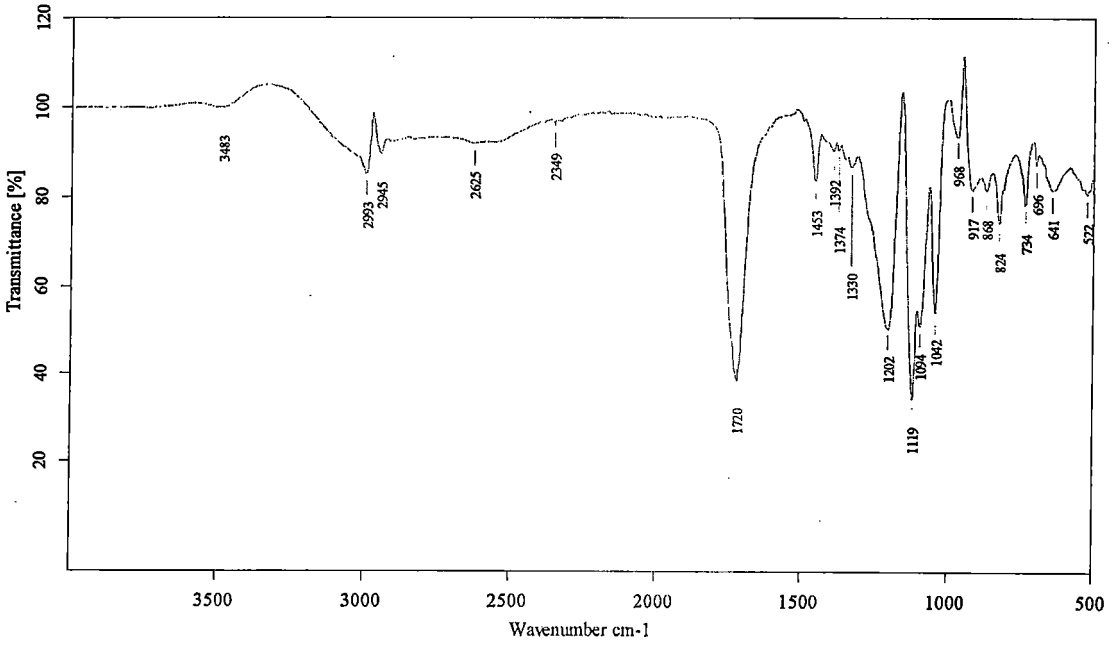
ภาพที่ 4-7 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 ชั่วโมง



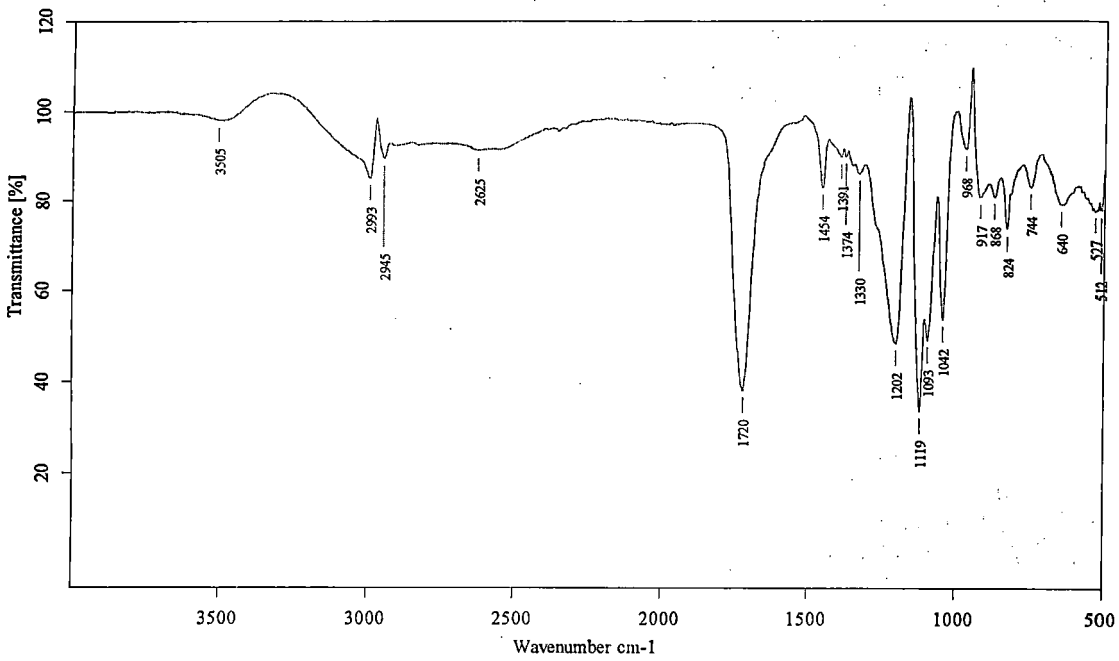
ภาพที่ 4-8 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 12 ชั่วโมง



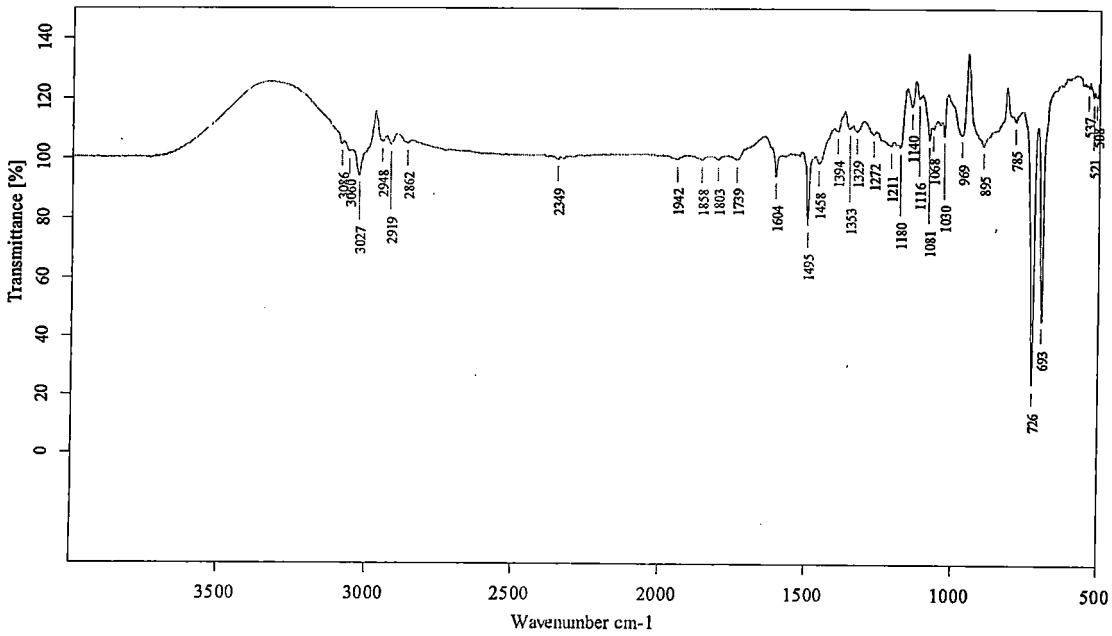
ภาพที่ 4-9 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง



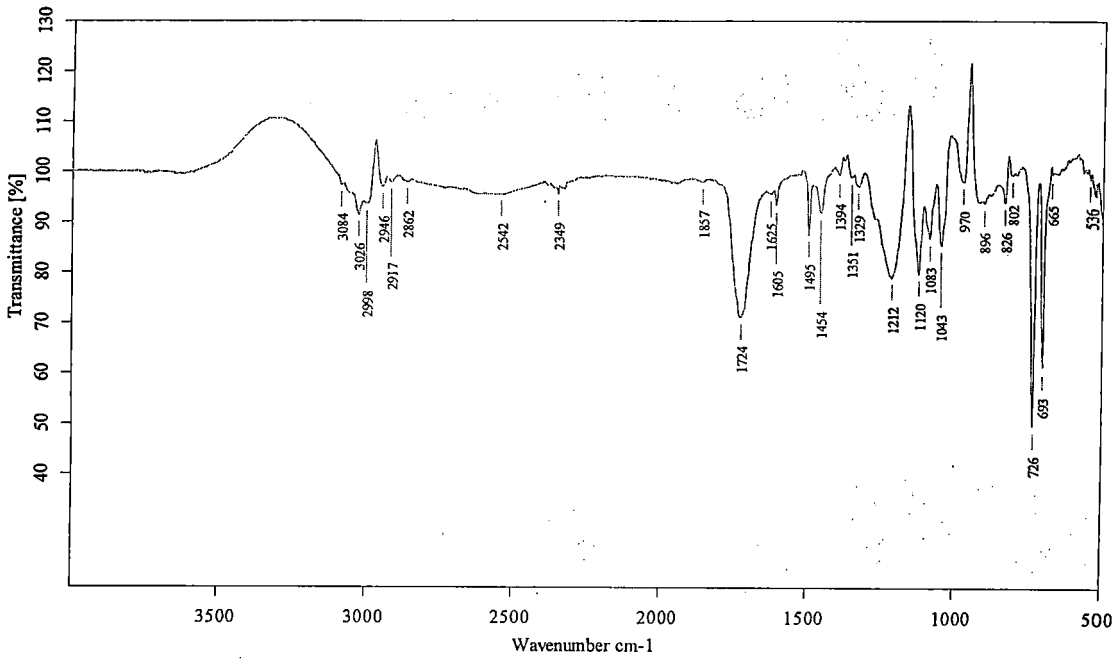
ภาพที่ 4-10 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 36 ชั่วโมง



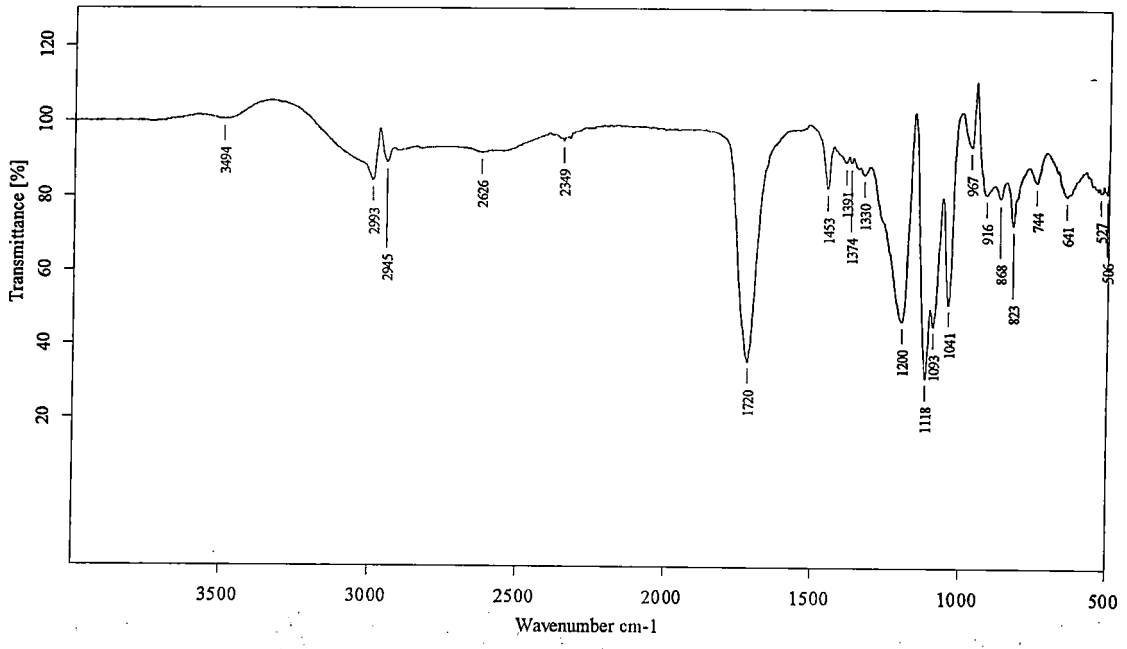
ภาพที่ 4-11 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 40 ชั่วโมง



ภาพที่ 4-12 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง



ภาพที่ 4-13 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 ชั่วโมง



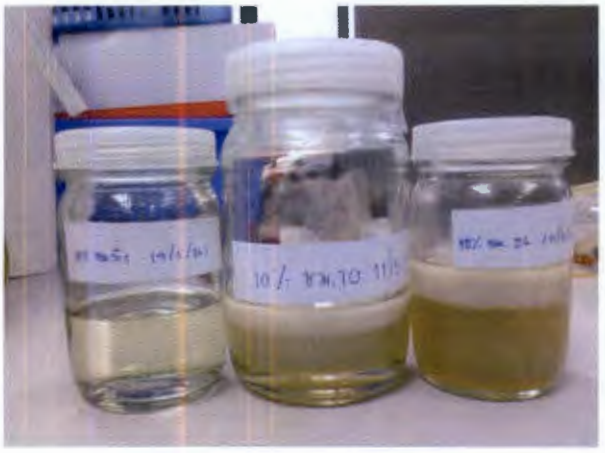
ภาพที่ 4-14 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง

4.1.3 การยืนยันสภาวะการทดลองใหม่สำหรับการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด

จากการทดลองข้อ 4.1.2 พบว่าสภาวะที่สามารถใช้ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมคือการใช้ปริมาณเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเพื่อให้สามารถกำหนดระดับของปัจจัยต่อไปได้คือ เวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ จึงทดลองโดยการสังเคราะห์กรดพอลิแลกติกโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการสังเคราะห์ 1 10 และ 24 ชั่วโมง ผลดังตารางที่ 4-4 และลักษณะของพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ดังภาพที่ 4-15

ตารางที่ 4-4 ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนที่ได้จากการคำนวนของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

สภาวะการทดลอง	ปริมาณเอนไซม์ (mg, %)	ปริมาณกรดแล็กติก (mg, mmol)	ระยะเวลา (h)	Conversion (%)	M_n
1	3,600, 10	36,000, 399.64	1	81.43	9,600
2	3,600, 10	36,000, 399.64	10	80.93	9,351
3	3,600, 10	36,000, 399.64	24	82.77	10,335



ภาพที่ 4-15 พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme435 ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน

ดังนั้นออกแบบการทดลองการสังเคราะห์กรดพอลิแล็กติกโดยใช้เอนไซม์ไลเพส (Novozyme435) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์เซชันใหม่ ด้วยวิธีพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) กับแผนการทดลอง Box-Behnken Design ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (1-24 ชั่วโมง) อุณหภูมิ (60-80 องศาเซลเซียส) และ ความเข้มข้นของเอนไซม์ (5-10 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) ดังตารางที่ 4-5 แสดงระดับของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย ตามแผนการทดลองและจำนวนสิ่งทดลองดังตารางที่ 4-6 ตัวแปรตามประกอบด้วย เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (conversion yield of lactic acid) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิเมอร์ (number average molecular weight)

ตารางที่ 4-5 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษา	-1	0	+1
ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง): X_1	1	12.5	24
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส): X_2	60	70	80
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)): X_3	5	7.5	10

ตารางที่ 4-6 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลอง

สิ่งทดลอง	Code level			ปัจจัย		
	X_1	X_2	X_3	ระยะเวลาทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)
1	-1	-1	0	1	60	7.5
2	1	-1	0	24	60	7.5
3	-1	1	0	1	80	7.5
4	1	1	0	24	80	7.5
5	-1	0	-1	1	70	5
6	1	0	-1	24	70	5
7	-1	0	1	1	70	10
8	1	0	1	24	70	10
9	0	-1	-1	12.5	60	5
10	0	1	-1	12.5	80	5
11	0	-1	1	12.5	60	10
12	0	1	1	12.5	80	10
13	0	0	0	12.5	70	7.5
14	0	0	0	12.5	70	7.5
15	0	0	0	12.5	70	7.5

ปริมาตรรวมในการสังเคราะห์พอลิเมอร์คือ 100 มิลลิลิตร ซึ่งใช้ปริมานกรดแล็กติกเริ่มต้น 36,000 มิลลิกรัม ภาพที่ 4-16 แสดงการต่อชุดสังเคราะห์พอลิเมอร์โดยใช้เอนไซม์ไลเพสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4-7

ภาพที่ 4-16 ภาพการต่อระบบสำหรับการสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

4.2 ผลการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดตามสภาวะปรับปรุง

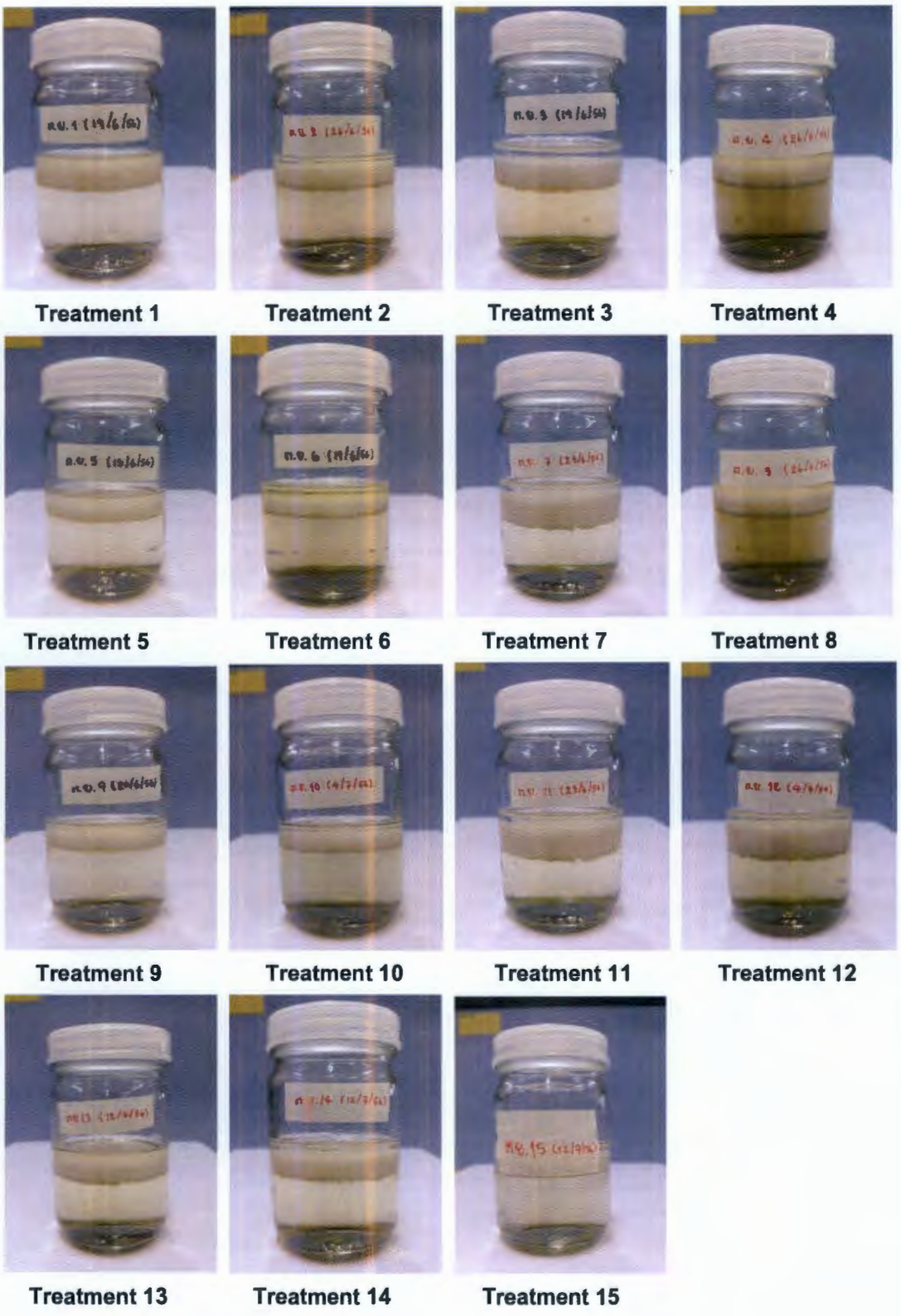
การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดตามสภาวะการสังเคราะห์ดังตารางที่ 4-6 ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด ทั้ง 15 หน่วยทดลองมีค่าระหว่าง 82-94

เปอร์เซ็นต์ และค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิแล็กติกแอสิด มีค่าระหว่าง 10,000-27,000 Da แสดงดังตารางที่ 4-7 และลักษณะทางกายภาพของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้แสดงดังภาพที่ 4-17 พบว่าในหน่วยทดลองที่ใช้ระยะเวลาการสังเคราะห์ที่นานขึ้นทำให้ได้พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีสีที่เข้มขึ้น

ตารางที่ 4-7 ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิแล็กติกแอสิดทั้ง 15 หน่วยทดลอง

หน่วยทดลอง	Code factors			Responses	
	X_1	X_2	X_3	%conversion	M_n
1	-1	-1	0	93.69	27692
2	1	-1	0	82.18	10000
3	-1	1	0	85.69	12414
4	1	1	0	87.94	14694
5	-1	0	-1	89.94	17561
6	1	0	-1	88.19	15000
7	-1	0	1	87.19	13846
8	1	0	1	89.44	16744
9	0	-1	-1	87.69	14400
10	0	1	-1	88.94	16000
11	0	-1	1	92.69	24000
12	0	1	1	87.69	14400
13	0	0	0	86.94	13585
14	0	0	0	88.44	15319
15	0	0	0	88.44	15319

หมายเหตุ: X_1 ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) %Conversion คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติก เป็นพอลิแล็กติกแอสิด และ M_n คือ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนซึ่งได้จากการคำนวณตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008)



ภาพที่ 4-17 ลักษณะของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์จากการใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันภายใต้การแปรผันการทดลอง 15 สภาวะ

4.3 สร้างแบบจำลองสภาวะการที่เหมาะสมในสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด

จากการทำการทดลองโดยวิธีการสุ่มเพื่อลดผลกระทบจากความแปรปรวนของการทำนาย สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีพื้นที่การตอบสนองด้วยการสร้างสมการถดถอยที่ให้เหมาะสม จะประกอบด้วย สมการเส้นตรง (X_1, X_2, X_3) และปฏิสัมพันธ์, (X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3) ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการกำลังสองของแบบจำลอง แสดงในตารางที่ 4-8 โดยที่ค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายโดยแบบจำลอง แสดงในตารางที่ 4-9 ซึ่งการวิเคราะห์ได้เลือกใช้สมการเส้นตรง และสมการปฏิสัมพันธ์ (interaction) เพื่อใช้ในการทำนายค่าตัวแปรตามต่าง ๆ และหาพื้นที่ ที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์เซชัน ได้สมการดังตารางที่ 4-10 โดยสมการทั้งหมดแสดงค่า R^2 ที่ค่อนข้างสูง (0.75-0.79) ซึ่งแสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองที่สามารถใช้ในการหาพื้นที่การตอบสนองได้ ประกอบด้วยแบบจำลองที่มีค่า *P-value* ที่น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 4-18 แสดงค่าตอบสนองที่ใกล้เคียงกันระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายโดยสมการ ซึ่ง Arteaga และคณะ (1994) อธิบายว่าแบบจำลองที่พัฒนาได้จะเหมาะสมก็ต่อเมื่อสามารถทำนายค่าได้เหมาะสมและใกล้เคียงกับค่าจริง

ตารางที่ 4-9 ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการพื้นที่ตอบสนอง ของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นกพอลิแล็กติกแอสิด (%conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)

Parameters	Term	%conversion		M_n	
		Coefficient	*P*-value	Coefficient	*P*-value
B_0	Intercept	88.3396	0.0001	16065.0	0.0001
B_1	X_1	-1.0947	0.1190	-1884.4	0.0810
B_2	X_2	-0.7507	0.2650	-2323.1	0.0390
B_3	X_3	0.2815	0.6650	753.7	0.4480
B_{12}	X_1X_2	3.4460	0.0050	4993.1	0.0060
B_{13}	X_1X_3	1.0009	0.2920	1364.8	0.3370
B_{23}	X_2X_3	-1.5639	0.1160	-2800.0	0.0690

หมายเหตุ : X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w))

ตารางที่ 4-10 แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน

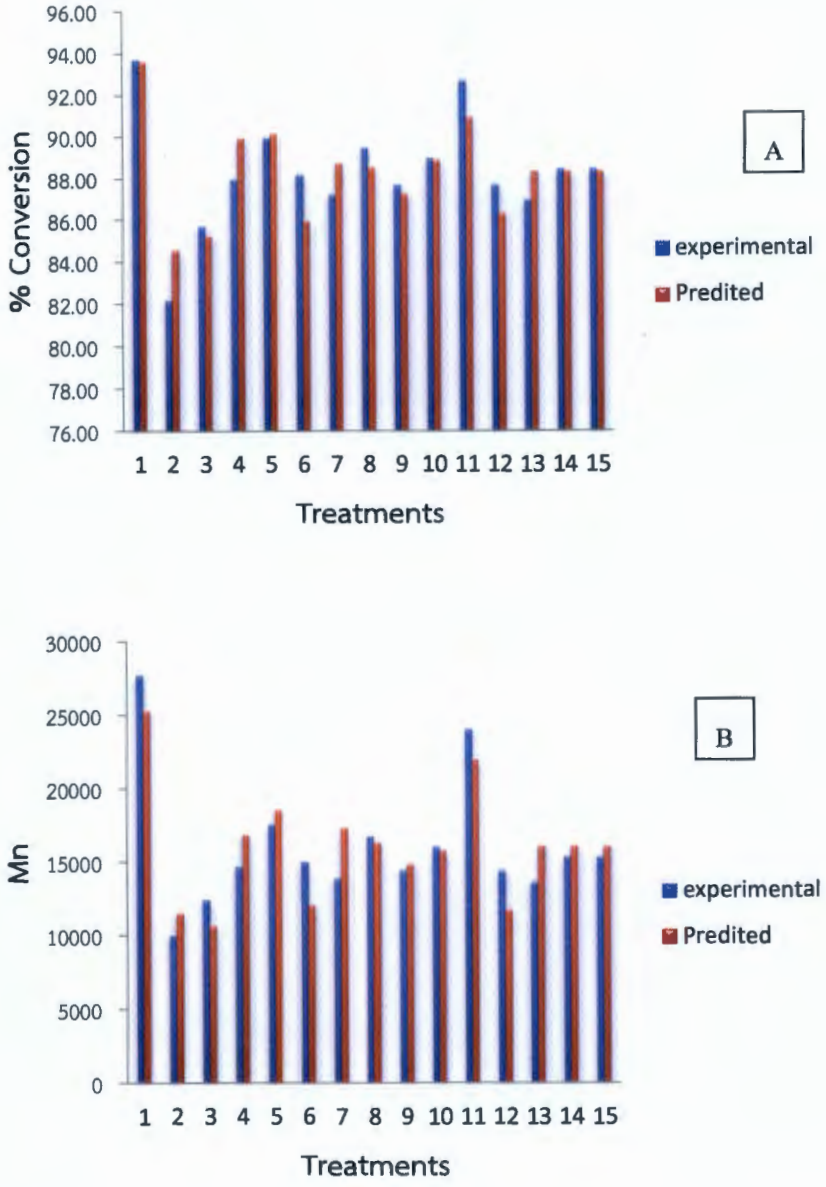
Responses	Quadratic polynomial model	R^2	*P*-value
%Conversion	$Y_1 = 88.3396 - 1.0947X_1 - 0.7507X_2 + 0.2815X_3 + 3.4406X_1X_2 + 1.0009X_1X_3 - 1.5639X_2X_3$	0.7510	0.037
M_n	$Y_2 = 16065.0 - 1884.4X_1 - 2323.1X_2 + 753.7X_3 + 4993.1X_1X_2 + 1364.8X_1X_3 - 2800.0X_2X_3$	0.7900	0.020

หมายเหตุ : X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) Y_1 %Conversion และ Y_2 คือ Mn

ตารางที่ 4-11 หน่วยทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิด โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน และค่าตอบสนอง (responses) ที่ได้จากการคำนวณ และการทำนายจากสมการของแบบจำลอง สำหรับเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (%conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)

Treatments	Code factor			%conversion		Mn	
	X_1	X_2	X_3	Experimental	Predicted	Experimental	Predicted
1	-1	-1	0	93.69	93.63	27692	25256
2	1	-1	0	82.18	84.56	10000	11501
3	-1	1	0	85.69	85.24	12414	10623
4	1	1	0	87.94	89.93	14694	16841
5	-1	0	-1	89.94	90.15	17561	18551
6	1	0	-1	88.19	85.96	15000	12052
7	-1	0	1	87.19	88.71	13846	17328
8	1	0	1	89.44	88.53	16744	16289
9	0	-1	-1	87.69	87.24	14400	14824
10	0	1	-1	88.94	88.87	16000	15778
11	0	-1	1	92.69	90.94	24000	21932
12	0	1	1	87.69	86.31	14400	11686
13	0	0	0	86.94	88.34	13585	16055
14	0	0	0	88.44	88.34	15319	16055
15	0	0	0	88.44	88.34	15319	16055

หมายเหตุ : X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w))



ภาพที่ 4-18 ค่าตอบสนองที่ได้จากการทำการทดลองและการทำนายโดยแบบจำลอง ภาพ A คือ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด B คือน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน

4.3.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของแบบจำลอง

การวิเคราะห์ความแปรปรวนสามารถนำมาใช้ในการประเมินความเหมาะสมของรูปแบบสมการพหุนามสมการกำลังสอง โดยสมการที่มีความเหมาะสม จะมีค่า *F*–value ที่สูง และ *P*-value จะมีค่าที่น้อยมาก ๆ จะแสดงผลอย่างมีนัยสำคัญของการตอบสนองของตัวแปรตาม (Yuan

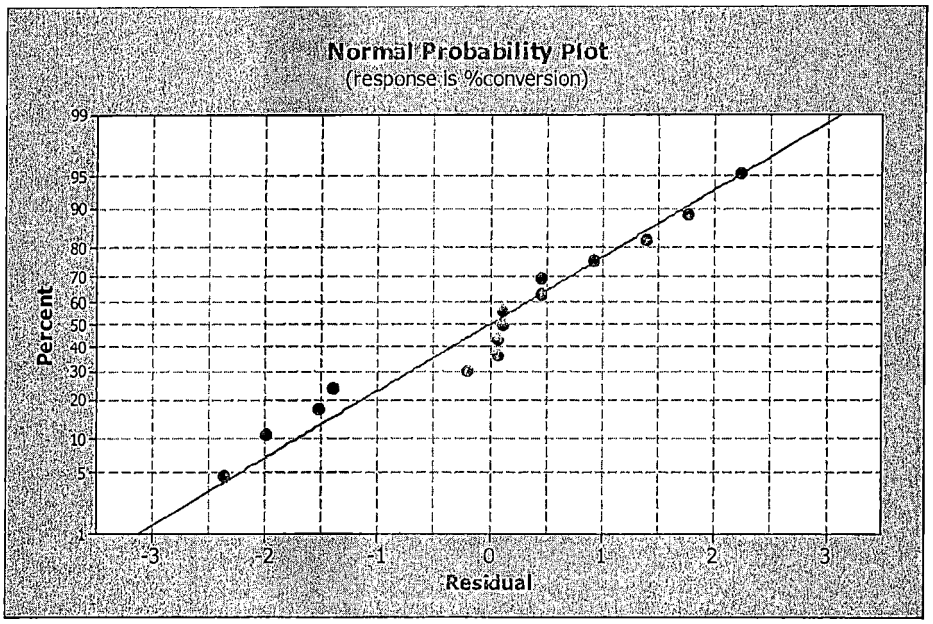
และคณะ, 2008) ซึ่งตารางที่ 4-12 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน ที่อธิบายถึงการตอบสนองของตัวแปรอย่างมีนัยสำคัญ ที่แสดงโดยค่า *P*-value ของสมการเส้นตรงของแบบจำลอง (X_1 X_2 และ X_3) ของทุกแบบจำลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ปฏิสัมพันธ์ของแบบจำลอง (X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3) ของทุกแบบจำลองมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และแบบจำลองของค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

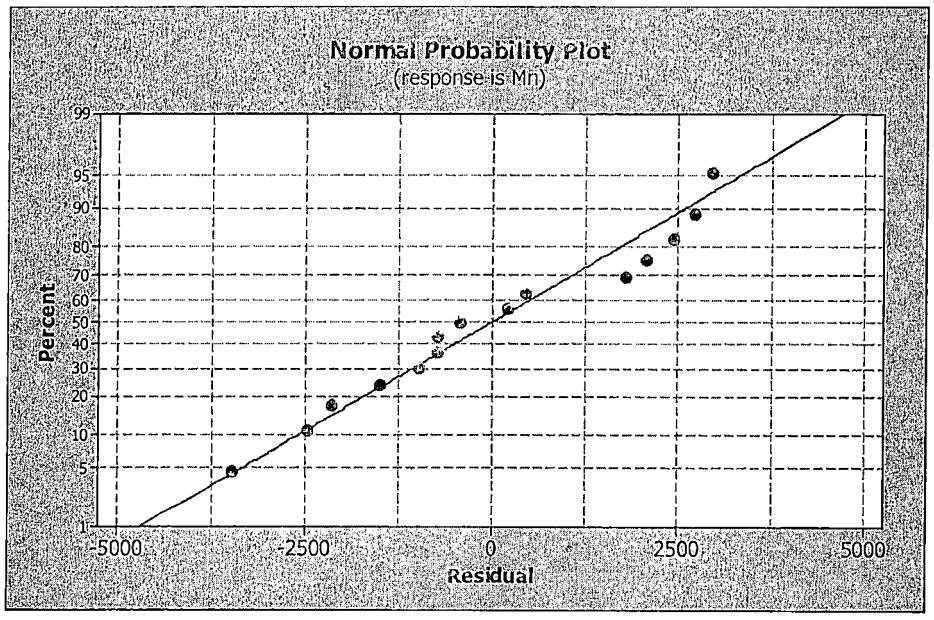
การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เป็นการทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติของทุกเทอมของสมการ (สมการเส้นตรง สมการกำลังสอง และปฏิสัมพันธ์) และ residual variances (ประกอบด้วยค่า lack of fit และ ค่า pure experimental error) ของแบบจำลอง ซึ่งวิเคราะห์เพื่อดูความเหมาะสมของข้อมูลที่ได้จากการทดลองต่อพื้นที่การตอบสนอง (response surface) (Madamba, 2002) แบบจำลองที่เหมาะสมนั้นต้องแสดงค่า *F*–value ของแบบจำลอง ที่ต้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และค่า lack of fit ต้องไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (อนุวัตร, 2549; Wangtueai and Noomhorm, 2009) แบบจำลองการสังเคราะห์กรดพอลิแล็กติกโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันสำหรับทุกค่าตอบสนอง (เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน) แสดงค่า *F*–value ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และแสดงค่า lack of fit ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ซึ่งแสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลอง ดัง Cho และคณะ (2005) และ Zhou and Regenstein (2004) ได้อธิบายไว้ว่าค่า lack of fit ต้องแสดงในลักษณะที่ค่า *P-value* สูง หมายถึงเป็นแบบจำลองที่เหมาะสมแล้ว จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ตารางที่ 4-12 พบว่าค่า *P-value* ของ lack of fit ทุกแบบจำลองมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองนี้เหมาะสมแล้ว ($P>0.05$) จึงสามารถใช้แบบจำลองนี้สำหรับการทำนายค่าตอบสนองของแบบจำลองการการสังเคราะห์กรดพอลิแล็กติกโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันได้เป็นอย่างดี ประกอบกับข้อมูลจากการทดลองนี้ได้แสดงค่า R^2 ของแบบจำลองที่ค่อนข้างสูง (มากกว่า 0.70) สามารถแสดงถึงความแม่นยำในการทำนายค่าตอบสนองได้ระดับหนึ่ง

ตารางที่ 4-12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของแบบจำลองการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน สำหรับค่าตอบสนองของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (%conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)

Responses	Source	Df	SS	MS	F	P
%Conversion	Regression	6	75.869	12.6448	4.02	0.037*
	Linear	3	14.729	4.9098	1.56	0.273
	Interaction	3	61.140	20.3799	6.48	0.016*
	Residual Error	8	25.160	3.1450		
	Lack-of-Fit	6	23.658	3.9429	5.25	0.169^{ns}
	Pure Error	2	1.503	0.7513		
	Total	14	101.029			
M_n	Regression	6	214659631	35776605	5.02	0.020*
	Linear	3	76125327	25375109	3.56	0.067
	Interaction	3	138534304	46178101	6.47	0.016*
	Residual Error	8	57063263	7132908		
	Lack-of-Fit	6	55058196	9176366	9.15	0.102^{ns}
	Pure Error	2	2005066	1002533		
	Total	14	271722893			

ความเหมาะสมของแบบจำลองสามารถดูจากการกระจายของข้อมูลที่ถูกกำหนดเป็นตัวแปรตาม (เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน) ซึ่งวิเคราะห์โดยโปรแกรม Minitab กราฟการกระจายของข้อมูลแสดงดังภาพที่ 4-19 จากกราฟแสดงการกระจายของข้อมูลที่เป็นปกติ ซึ่งหมายความว่าเป็นแบบจำลองที่ดี ความเหมาะสมของแบบจำลองสามารถสังเกตได้โดยการตรวจสอบจากกราฟ Normal Probability Plot คือถ้า Normal Probability Plot ของตัวแปรตามแสดงการกระจายปกติของกราฟ แสดงว่ารูปแบบของแบบจำลองนั้น ๆ มีความเหมาะสม (Bezerra และคณะ, 2008)





ภาพที่ 4-19 กราฟ Normal Probability Plot ของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (%Conversion) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n)

4.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยฟังก์ชันโปรแกรม Minitab

หาสภาวะที่เหมาะสมโดยรวมสำหรับการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยใช้ฟังก์ชันทางสถิติของโปรแกรม Minitab

ซึ่งตัวแปรของฟังก์ชันจะถูกกำหนดไว้ดังตารางที่ 4-13 เป้าหมายของการหาสภาวะที่เหมาะสมคือการได้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนสูงที่สุด สำหรับค่าตอบสนองที่สำคัญจะถูกกำหนดให้ความสำคัญเท่ากับ 1.0

ตารางที่ 4-13 แสดงการตั้งค่าสำหรับการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะก์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยใช้ฟังก์ชันเมนู Response optimizer ของโปรแกรม Minitab

Responses	Goal	Lower	Target	Upper	Weight	Important
%conversion	Maximum	82.2	95	95	1	1
M_n	Maximum	10000	30000	30000	1	1

ผลที่ได้จากการหาจุดที่เหมาะสมโดยโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4-14 จากจุดที่เหมาะสมที่ได้จากโปรแกรม พบว่า สภาวะที่จะทำให้ได้ค่าตอบสนองตามที่ต้องการคือ สภาวะที่ใช้ ปริมาณความเข้มข้นของเอไซม์ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (+1.0 ของ code value) ทำปฏิกิริยาที่อุณภูมิ 60 องศาเซลเซียส (-1.0 ของ code value) ใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง (-1.0 ของ code value) ซึ่งจะสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 94.5 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 27,455 จากการหาสภาวะที่เหมาะสมแบบหลายตัวแปรตามโดยฟังก์ชันของโปรแกรมอยู่ในระดับความพึงพอใจรวมเท่ากับ 0.92 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4-14 แสดงค่าสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน และค่าตอบสนองจากการทำนายโดยสมการแบบจำลอง

Predicted response	Optimal solution (code value)			Predicted value	Individual desirability	Composite desirability
	X_1	X_2	X_3			
%Conversion	-1	-1	1	94.5	0.96	0.92
M_n				27455	0.87	

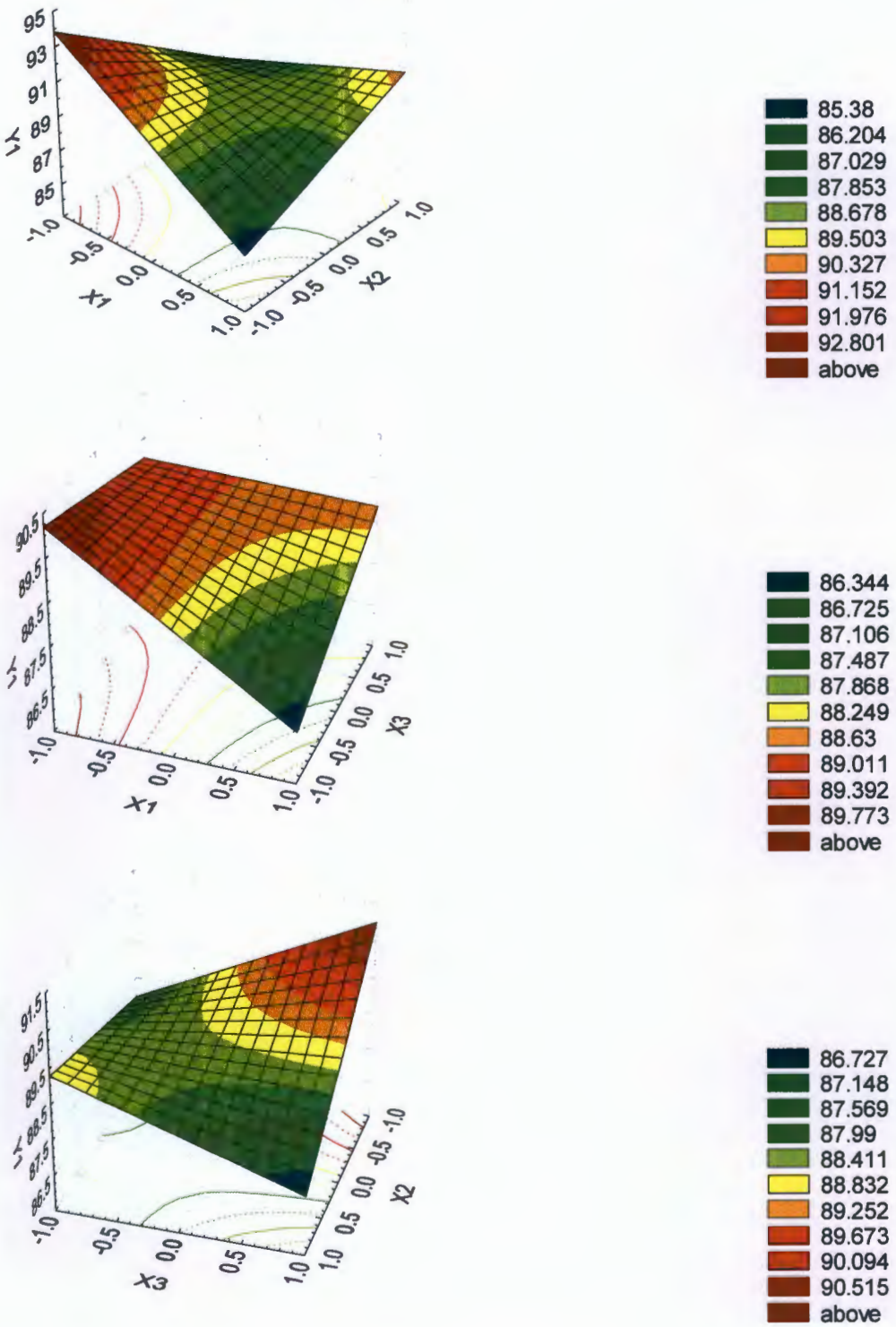
หมายเหตุ : X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w))

4.3.3 กราฟพื้นที่การตอบสนอง (Response surface plots)

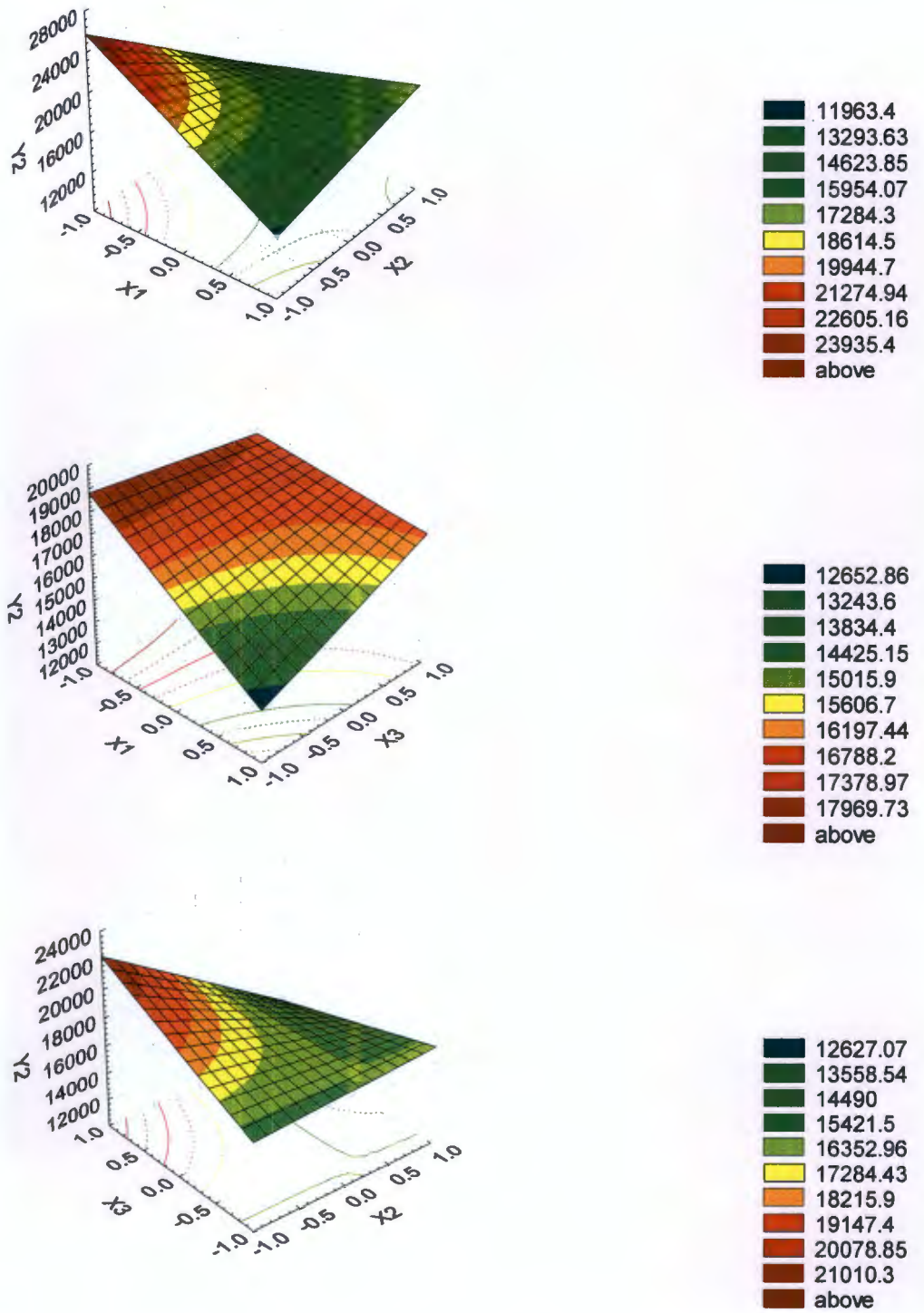
ภาพที่ 4-20 และ 4-21 แสดงกราฟพื้นที่การตอบสนองจากแบบจำลองที่แสดงถึง ผลของตัวแปรต้น ได้แก่ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (X_1; ชั่วโมง) อุณหภูมิ (X_2; องศาเซลเซียส) และ ความเข้มข้นของเอนไซม์ (X_3; เปอร์เซ็นต์ (w/w)) ต่อตัวแปรตาม ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (Y_1) (เปอร์เซ็นต์) และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (Y_2)

ผลของตัวแปรต้นต่อเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด (Y_1) แสดงดังภาพที่ 4-19 ตัวแปร X_1 และ X_2 มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด ที่เพิ่มขึ้นคือเมื่อค่า code value เข้าใกล้ลบหนึ่งมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิดมีค่าสูงขึ้น ส่วนตัวแปร X_3 (ความเข้มข้นของเอนไซม์) เมื่อค่า code value เพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด มีค่าสูงขึ้นตามลำดับ และมีปฏิสัมพันธ์ระว่าง X_1 และ X_2 ที่ส่งผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิดอย่างมีนัยสำคัญ

ผลของตัวแปรต้นต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (Y_2) แสดงดังภาพที่ 4-20 ตัวแปร X_2 มีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ตัวแปร X_1 เมื่อค่า code value เข้าใกล้ลบหนึ่งมีผลทำให้พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยมีค่าสูงขึ้น ส่วนตัวแปร X_3 (ความเข้มข้นของเอนไซม์) เมื่อค่า code value มีเพิ่มขึ้นเข้าใกล้หนึ่งมีผลทำให้สังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนที่มีค่าสูงขึ้นตามลำดับ และมีปฏิสัมพันธ์ระว่าง X_1 และ X_2 ที่ส่งผลต่อน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแล็กติกอย่างมีนัยสำคัญ



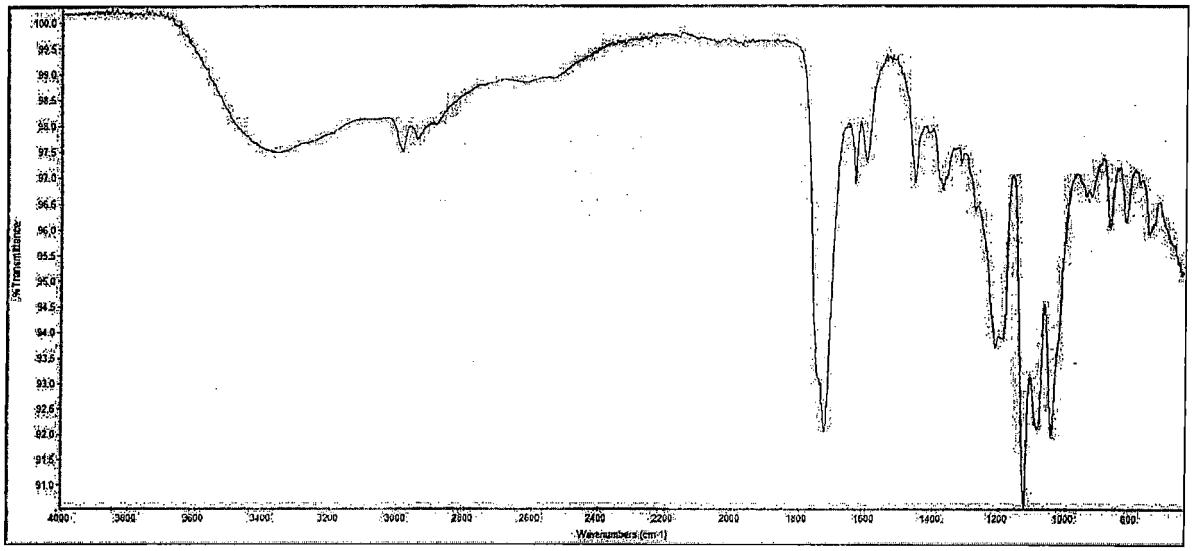
ภาพที่ 4-20 กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยที่ X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) และY_1 คือเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด



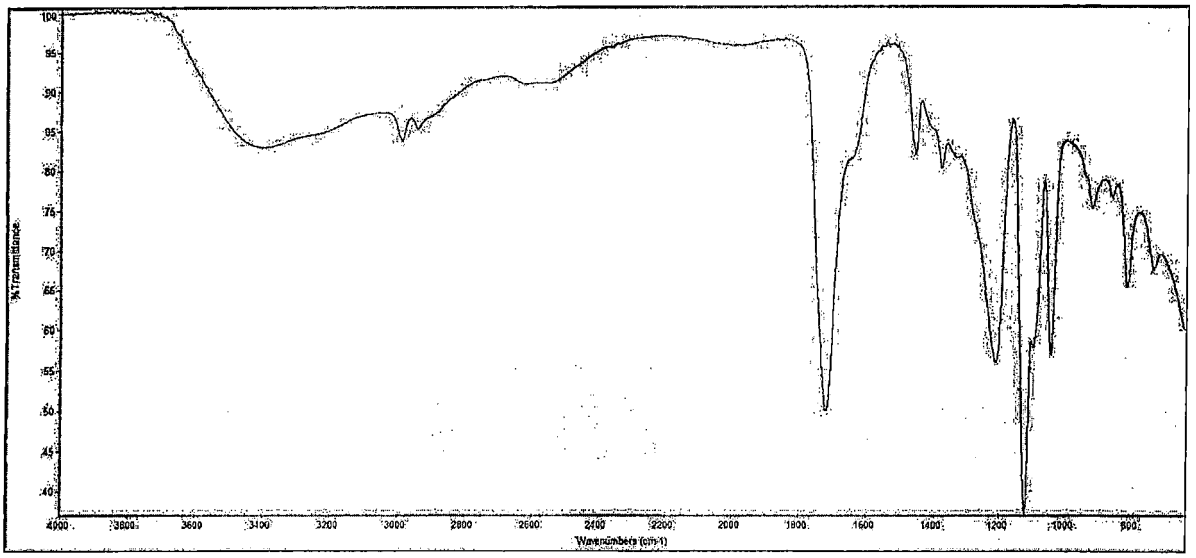
ภาพที่ 4-21 กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสังเคราะห์กรดพอลิแล็กติกโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน โดยที่ X_1 คือ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (ชั่วโมง) X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ X_3 คือความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์ (w/w)) และY_2 คือน้ำหนักโมเลกุลพอลิแล็กติกแอสิดเฉลี่ยตามจำนวน

4.4 ผลการหาองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันด้วยวิธี FTIR

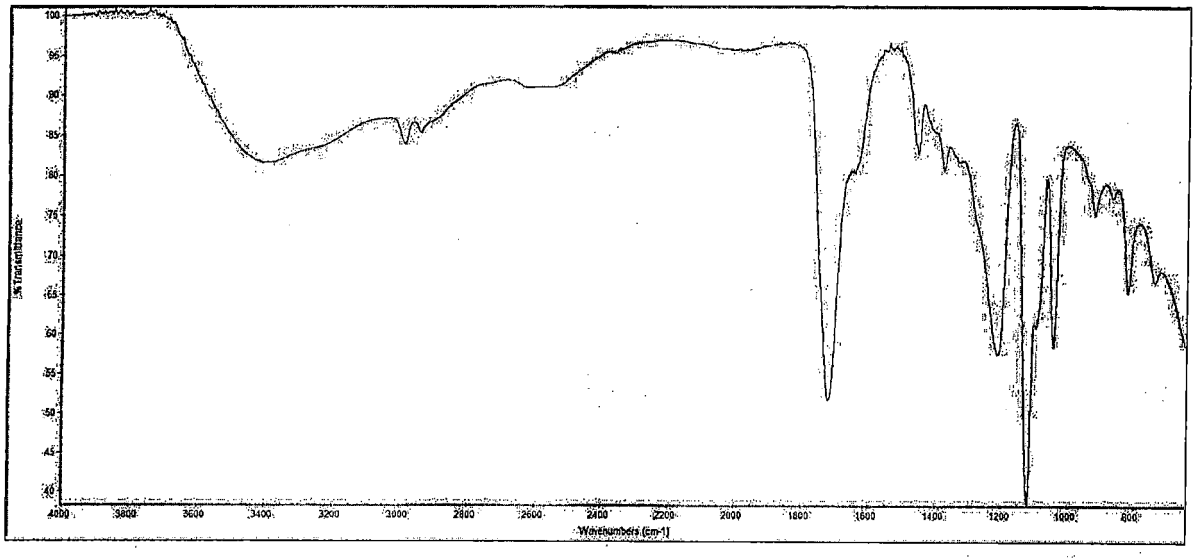
จากการทดลองทั้ง 15 หน่วยทดลอง นำพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ไปตรวจสอบองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันด้วยวิธี FTIR ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 4-22 ถึง 4-36 เมื่อพิจารณาช่วงการดูดกลืนแสงของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญจาก FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของพอลิแล็กติกแอสิด ได้แก่ หมู่ฟังก์ชัน –C-H stretching ที่ระดับ wavenumber 3,000-3,110 cm-1 หมู่ฟังก์ชัน –C=O stretching ที่ระดับ wavenumber 1,600-1,950 cm-1 หมู่ฟังก์ชัน –C-O-C- stretching ที่ระดับ wavenumber 1,070-1,280 cm-1 และ หมู่ฟังก์ชัน –(C=O)-O- stretching ที่ระดับ wavenumber 1,070-1,280 cm-1 (ณัฐนัย, 2551)



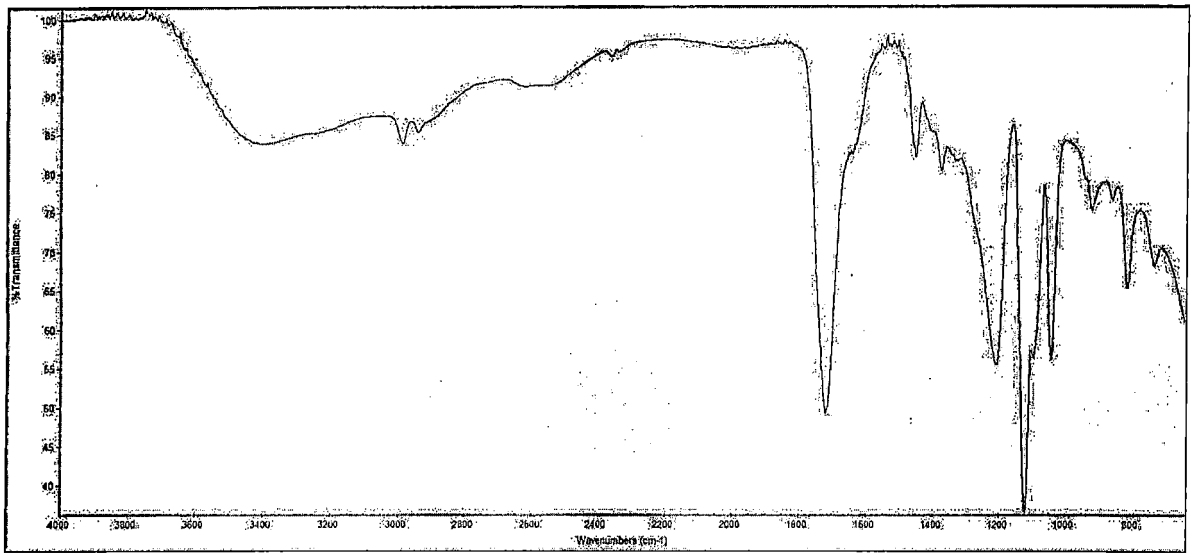
ภาพที่ 4-22 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 1)



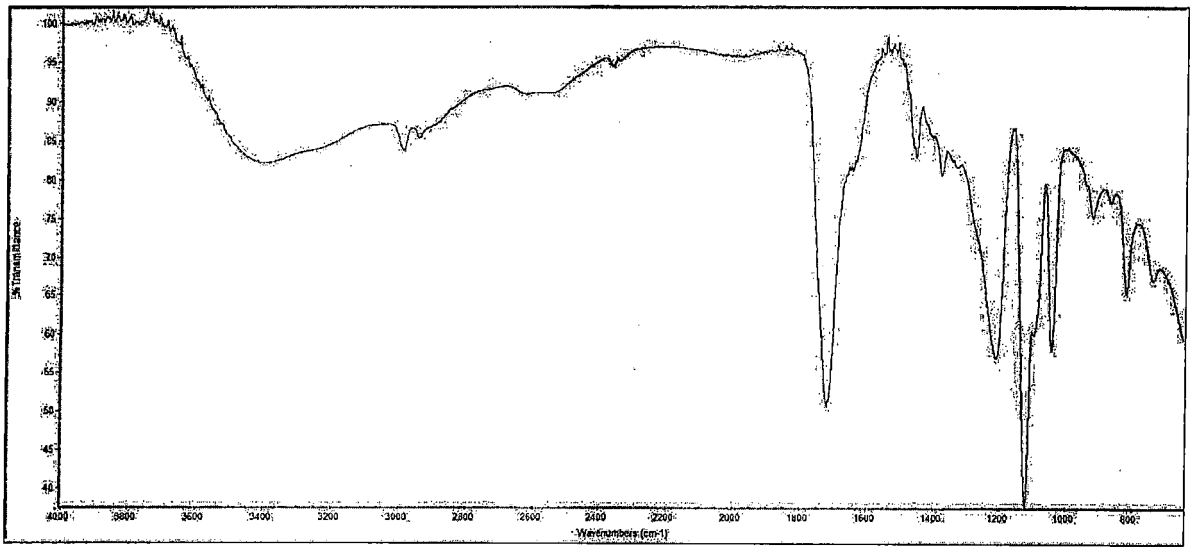
ภาพที่ 4-23 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 24ชั่วโมง (Treatment 2)



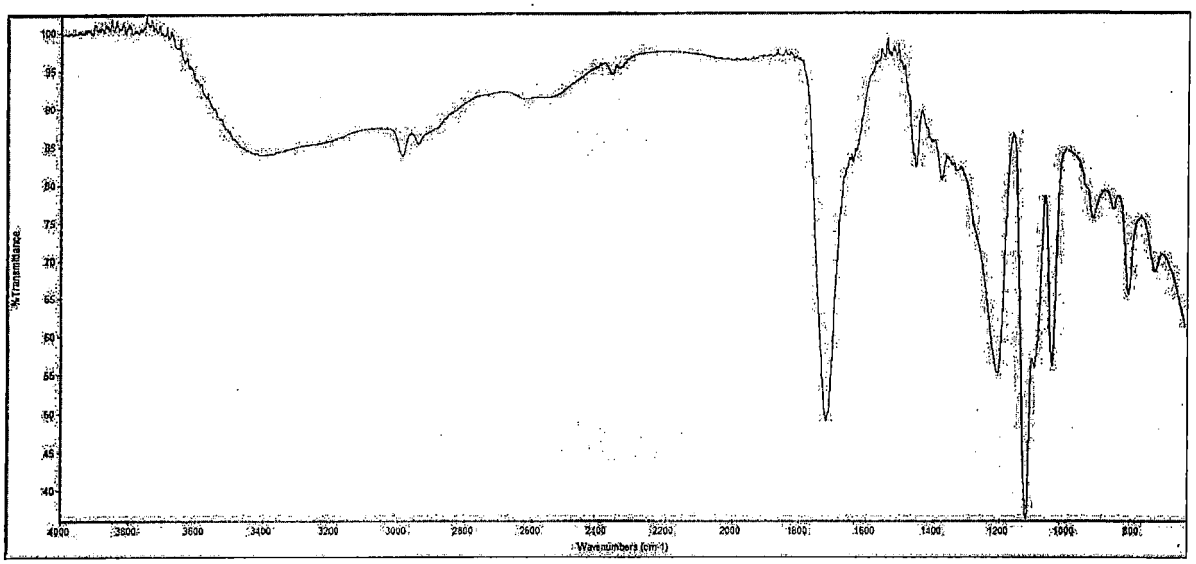
ภาพที่ 4-24 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 3)



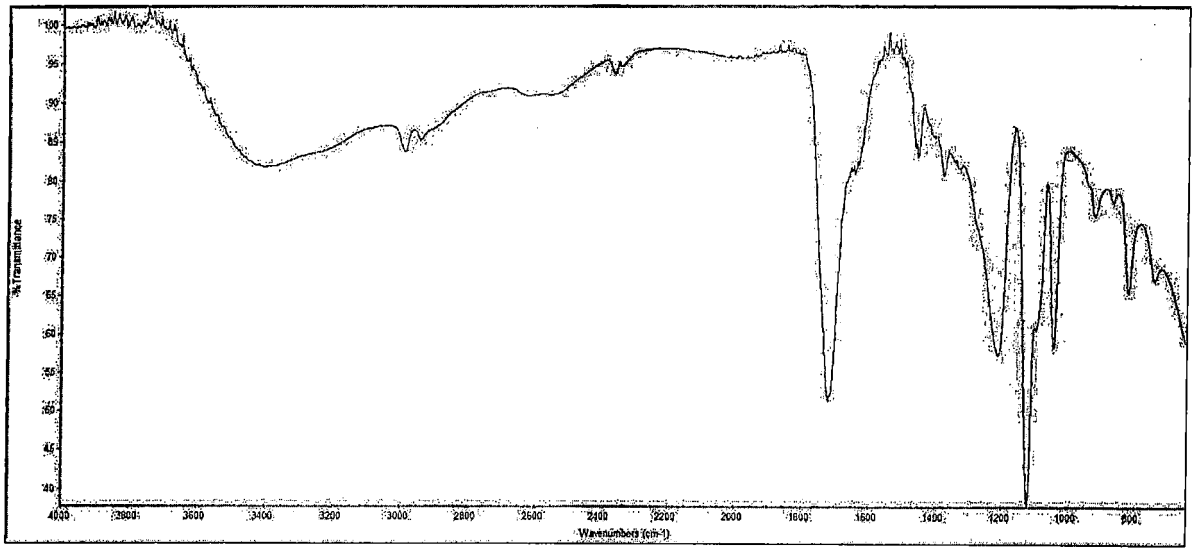
ภาพที่ 4-25 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (Treatment 4)



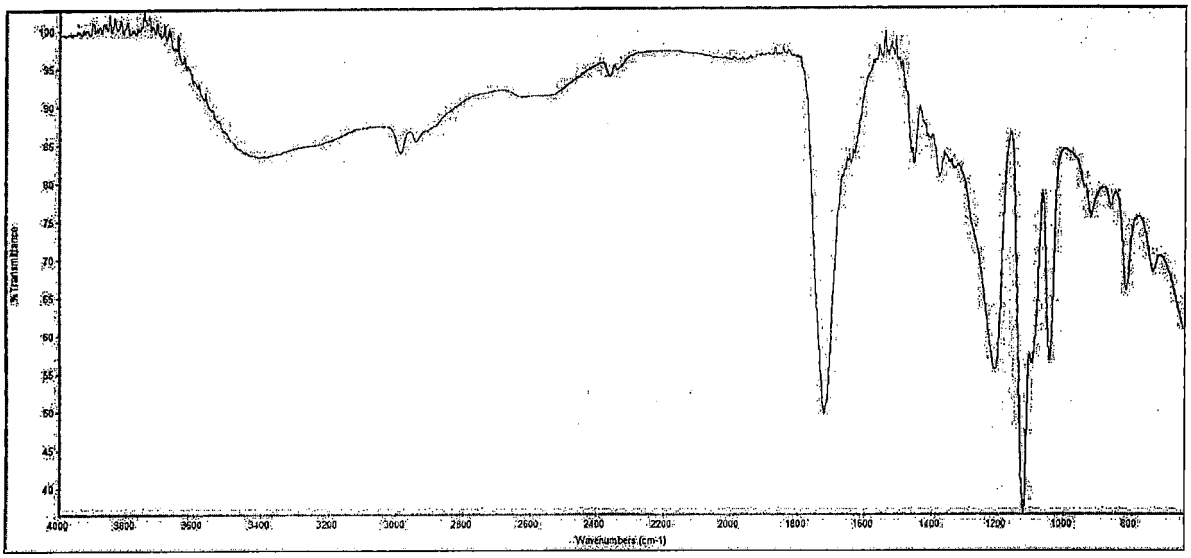
ภาพที่ 4-26 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 5)



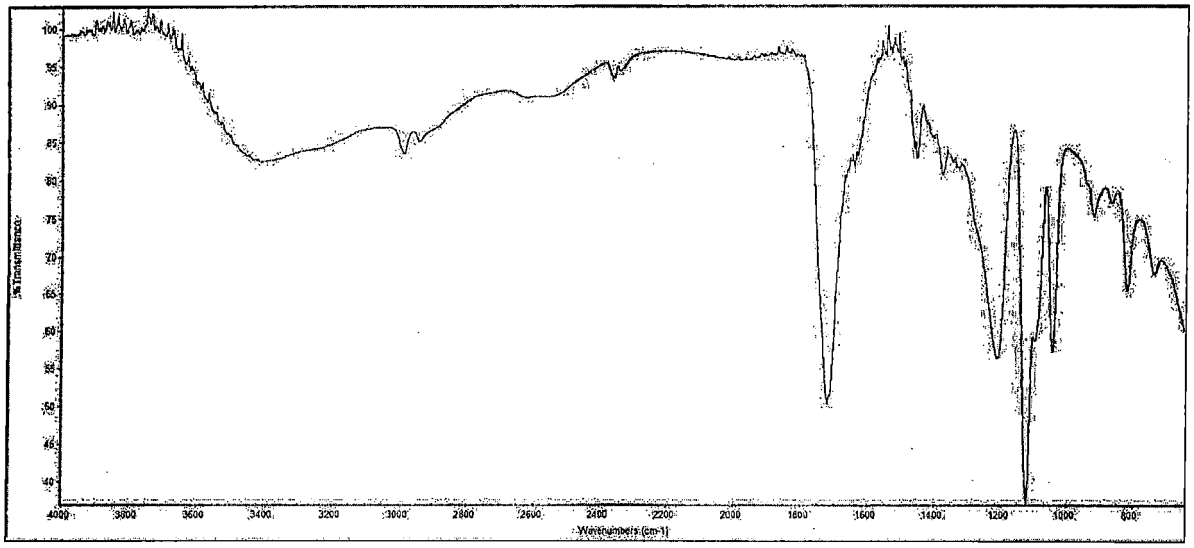
ภาพที่ 4-27 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (Treatment 6)



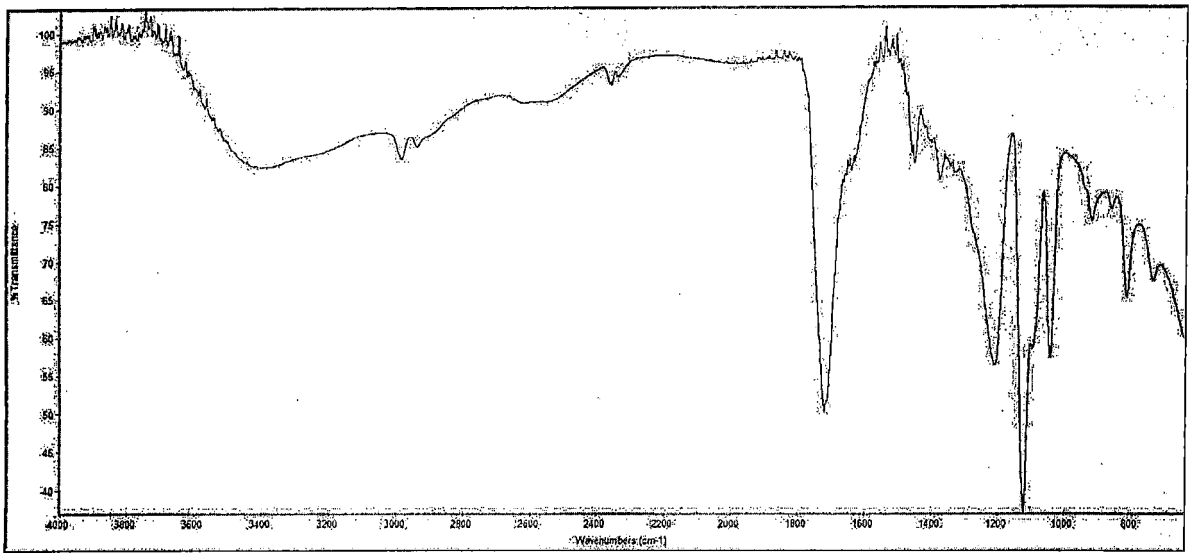
ภาพที่ 4-28 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง (Treatment 7)



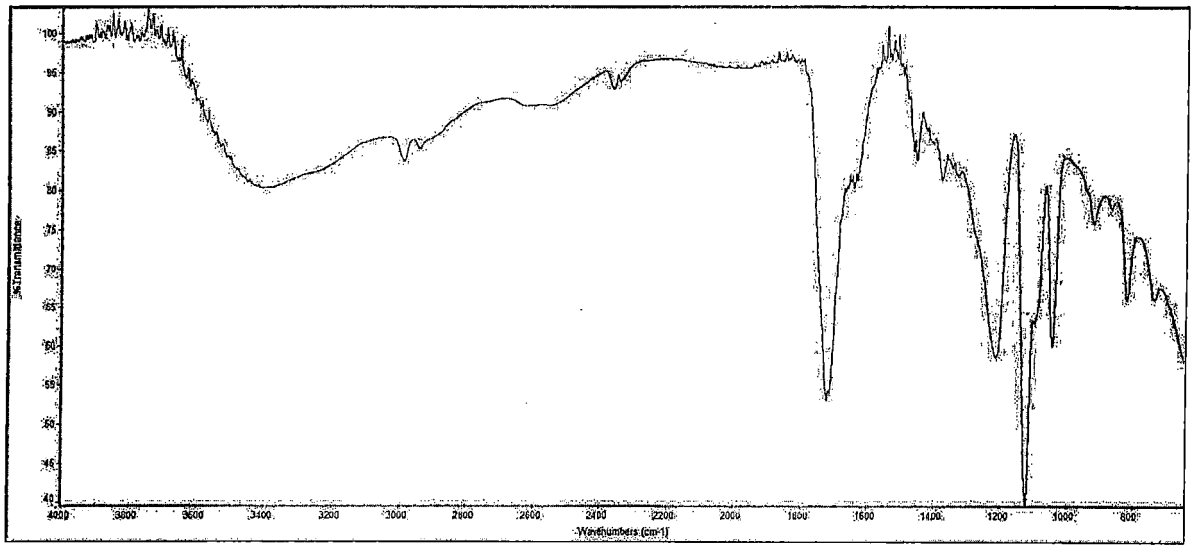
ภาพที่ 4-29 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 24 ชั่วโมง (Treatment 8)



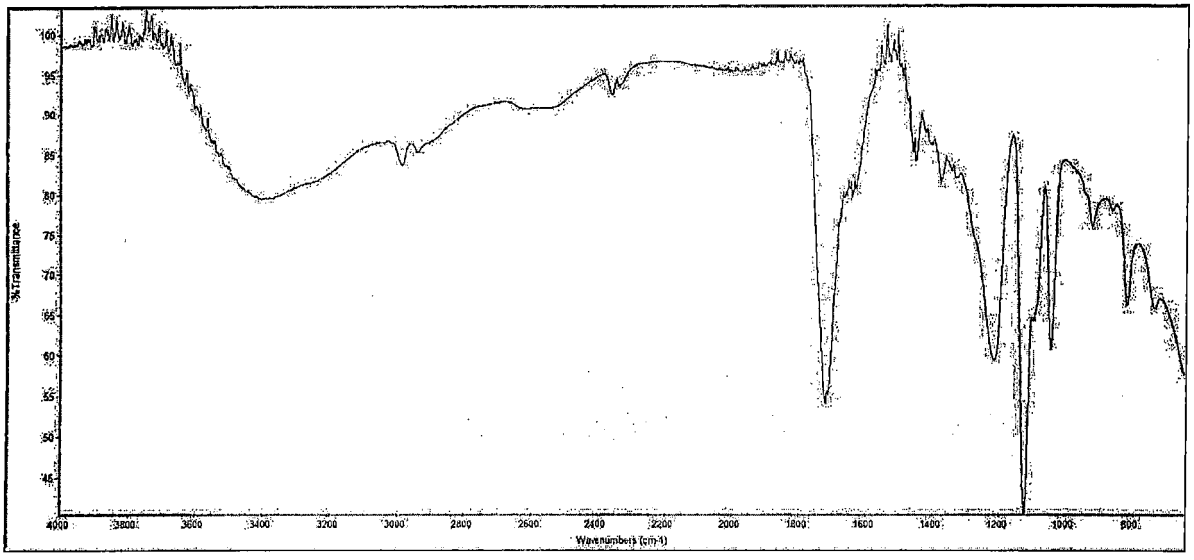
ภาพที่ 4-30 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 9)



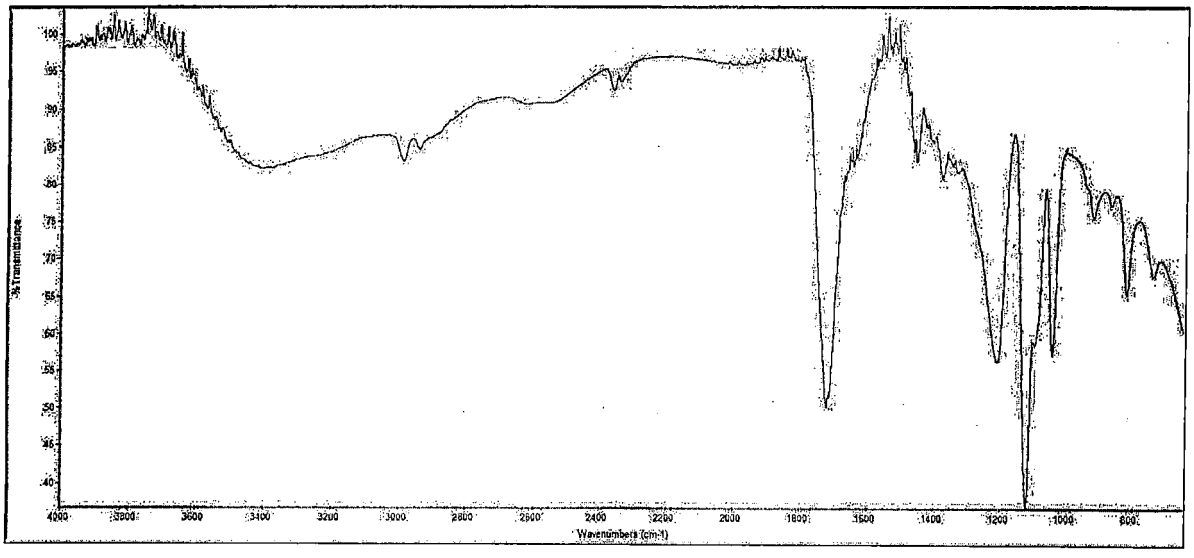
ภาพที่ 4-31 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 10)



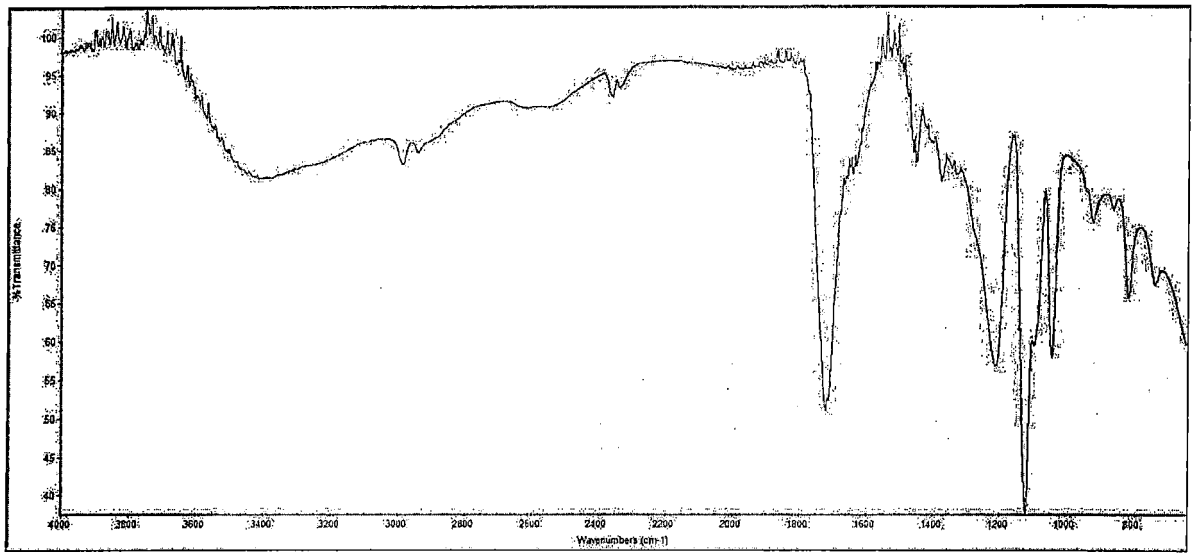
ภาพที่ 4-32 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 11)



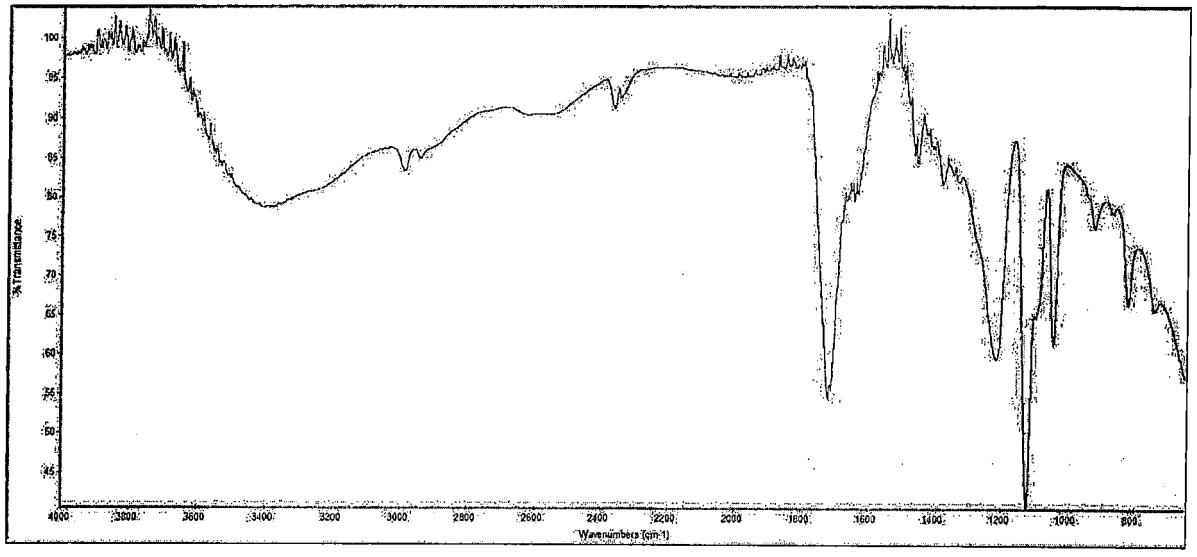
ภาพที่ 4-33 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 12)



ภาพที่ 4-34 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 13)



ภาพที่ 4-35 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 14)



ภาพที่ 4-36 FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้โดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ อุณภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสังเคราะห์ 12.5 ชั่วโมง (Treatment 15)

4.5 การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดจากกรดแล็กติกทางการค้าและ กรดแล็กติกที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus ATCC 10863* (TISTR 108) และ/หรือ *Lactococcus lactis IO-1* ตามสภาวะที่เหมาะสม

จากสภาวะที่เหมาะสมตามแบบจำลองที่คัดเลือกได้ นำมาใช้ในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้กรดแล็กติกที่ได้จากกระบวนการหมักและกรดแล็กติกทางการค้า เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์

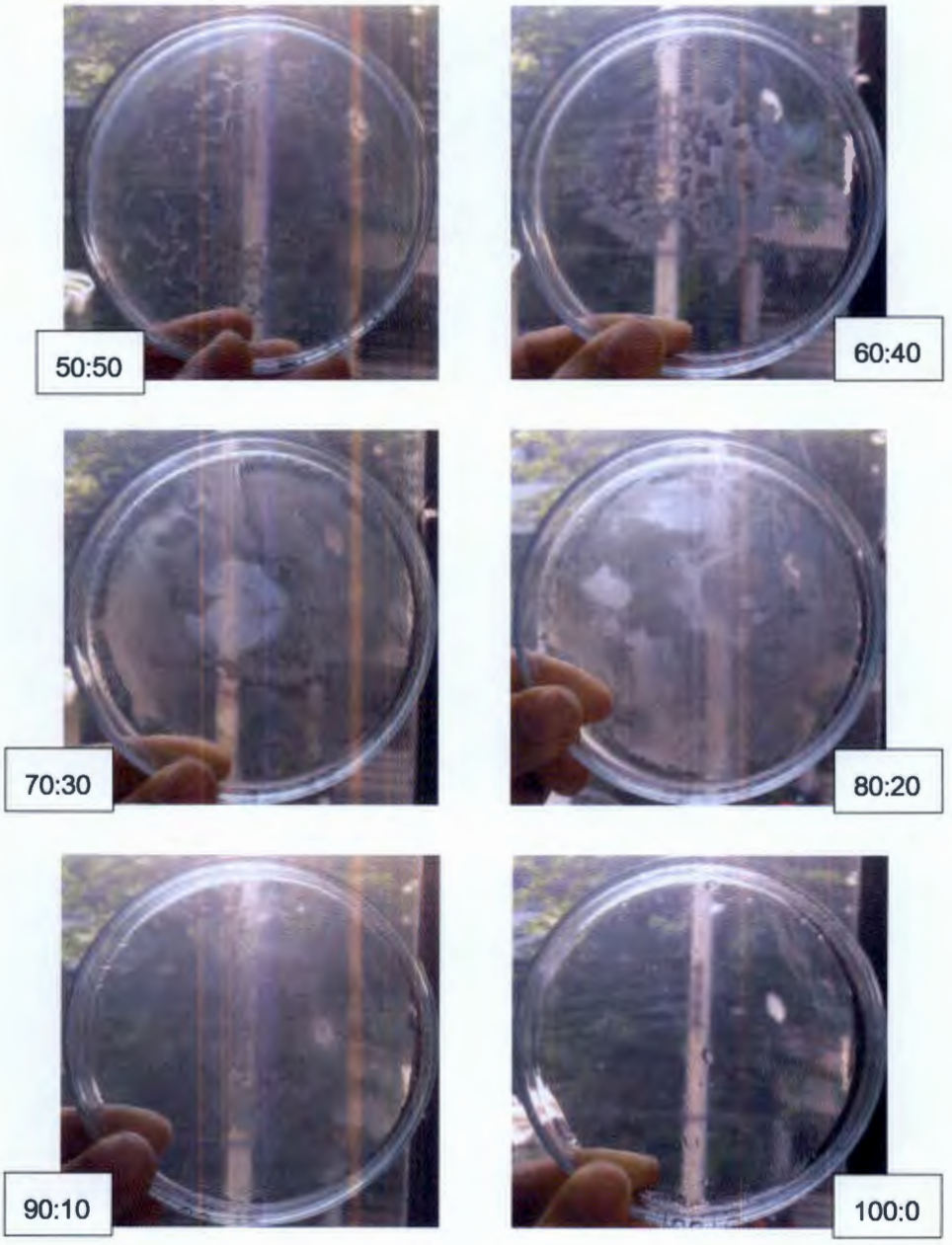
จากแบบจำลองการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดตามสภาวะที่เหมาะสมจะทำให้ได้ค่าตอบสนองตามที่ต้องการคือ สภาวะที่ใช้ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ทำปฏิกิริยาที่อุณภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง จะสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 94.5 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 27,455 Da ซึ่งการใช้ใช้กรดแล็กติกที่หมักด้วยกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus rhamnosus ATCC 10863 (TISTR 108)* และ/หรือ *Lactococcus lactis IO-1* และใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าไม่สามารถสังเคราะห์เป็นพอลิเมอร์ได้เนื่องจากกรดแล็กติกที่หมักได้นั้นมีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ และมีปริมาณน้ำที่สูงเกินไปทำให้ไม่สามารถเกิดเป็นพอลิเมอร์ได้

ส่วนการสังเคราะห์พอลิเมอร์โดยใช้กรดแล็กติกในทางการค้า โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากแบบจำลองข้างต้น พบว่าสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดได้ และมีค่าตอบสนองที่ได้จากการทดลองน้อยกว่าค่าที่ทำนายจากแบบจำลองดังนี้คือ ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 66.42 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 5,333 Da ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งทางชีวภาพทำให้การทำปฏิกิริยาได้ไม่สม่ำเสมอ และอาจจะเป็นผลมาจากอายุการเก็บของเอนไซม์ Novozyme 435 ที่เก็บรักษาไว้นานที่อาจจะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ลดลงได้

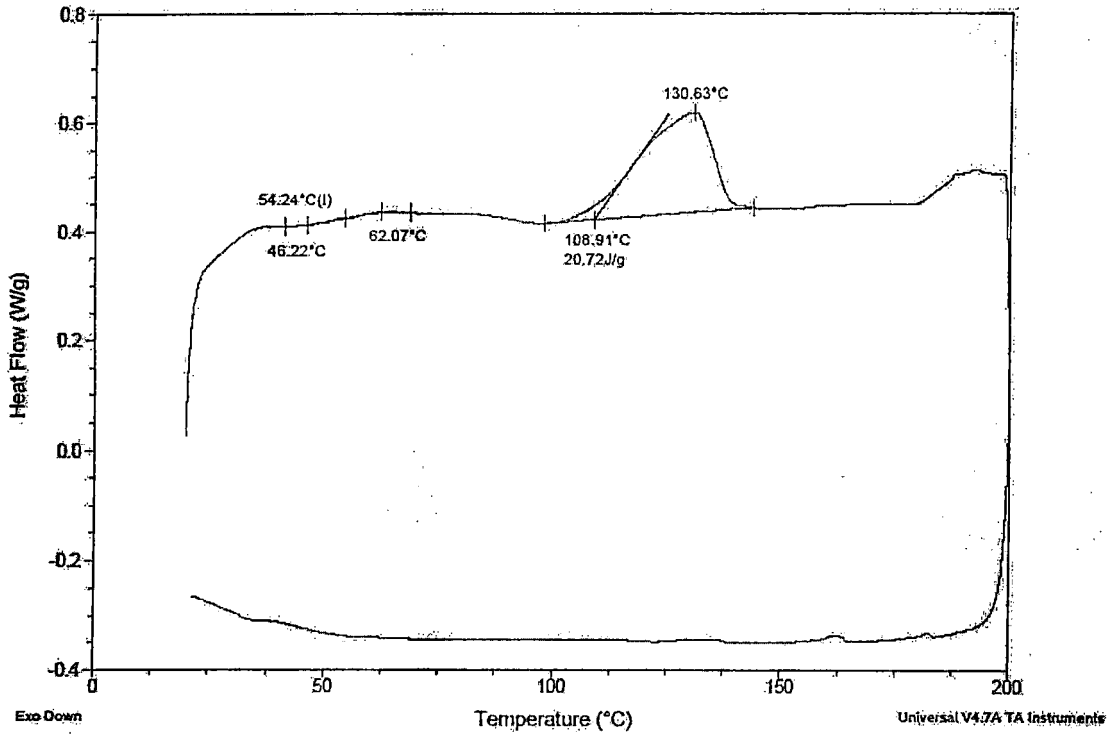
4.6 การทดสอบความสามารถในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ตามสภาวะที่เหมาะสม

พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ตามสภาวะที่เหมาะสม ได้ถูกนำไปทดสอบความสามารถในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยผ่านการตกตะกอนพอลิแล็กติกแอสิดตามวิธีของ Lassalle (2008) นั้น พบว่าไม่สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ด้วยตัวเองเนื่องจากมาขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่ำ ดังนั้นจึงได้นำไปผสมกับพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า โดยแปรสัดส่วนการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มตามสัดส่วน ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า ดังนี้ คือ 50:50 60:40 70:30 80:20 และ 90:10 ซึ่งทั้งหมดสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ ดังภาพที่ 4-37

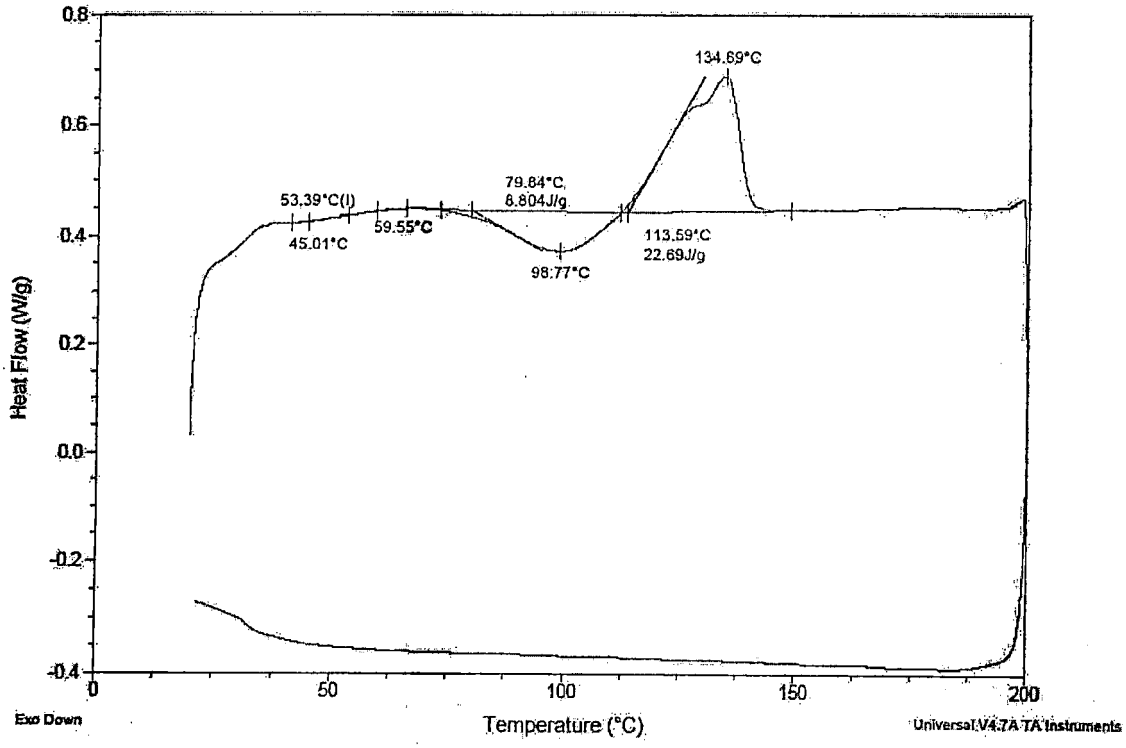
นำแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปได้ไปตรวจสอบค่าทรานซิชันทางความร้อนด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิงแคลอรีเมตรี (Differential Scanning Calorimetry, DSC) โดยตรวจสอบที่อุณภูมิตั้งแต่ 25 ถึง 250 องศาเซลเซียส อัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย FTIR



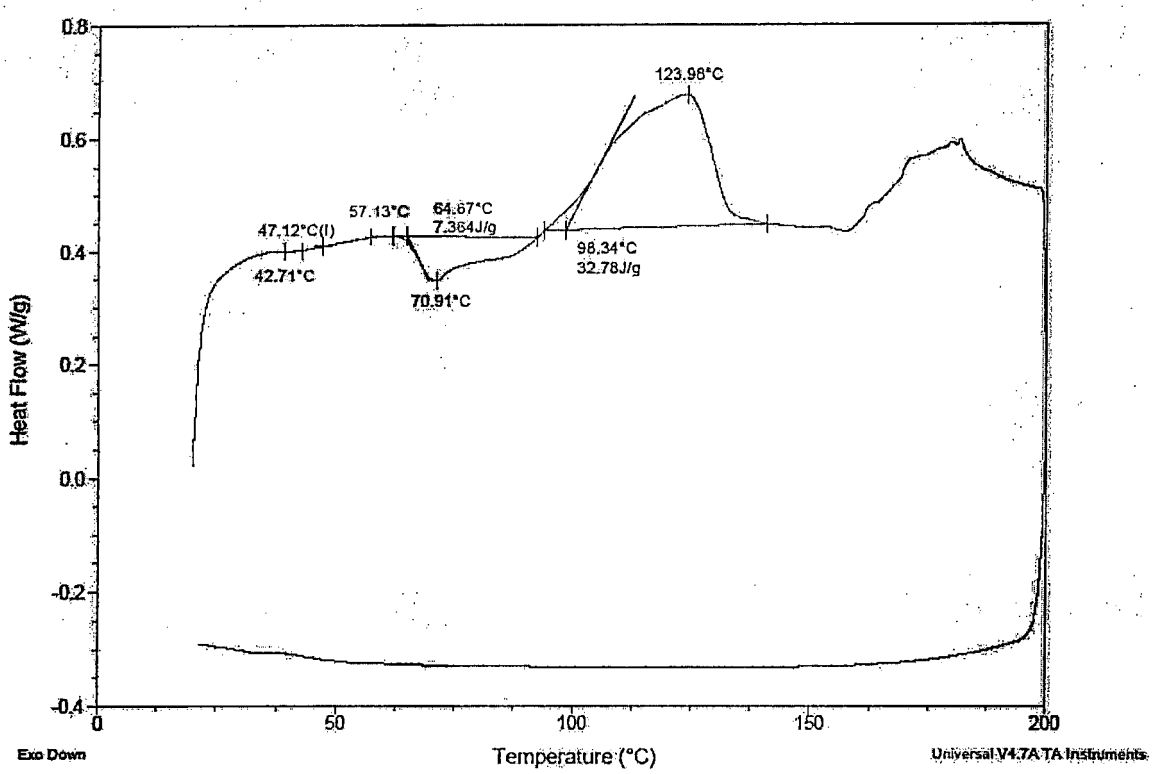
ภาพที่ 4-37 ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปได้จากการผสมกันระหว่างพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้และพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า โดยแปรสัดส่วนพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า ดังนี้ คือ 50:50 60:40 70:30 80:20 90:10 และ 100:0



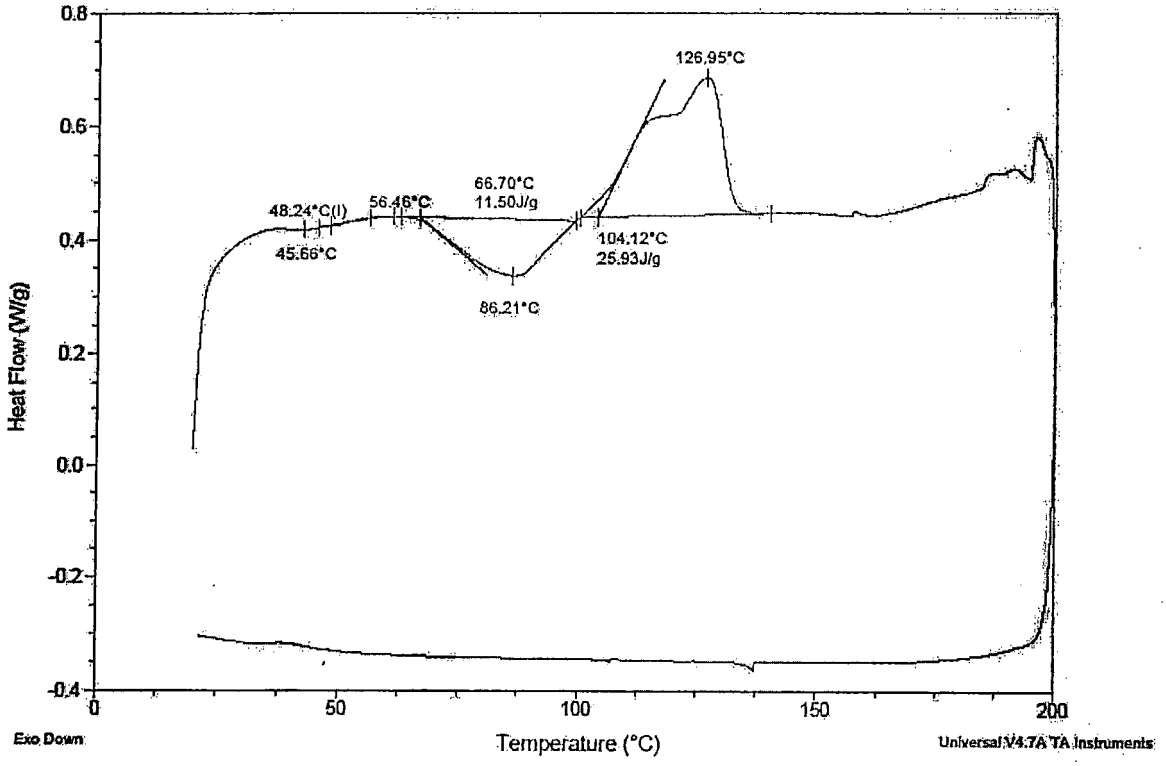
ภาพที่ 4-38 ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 50:50



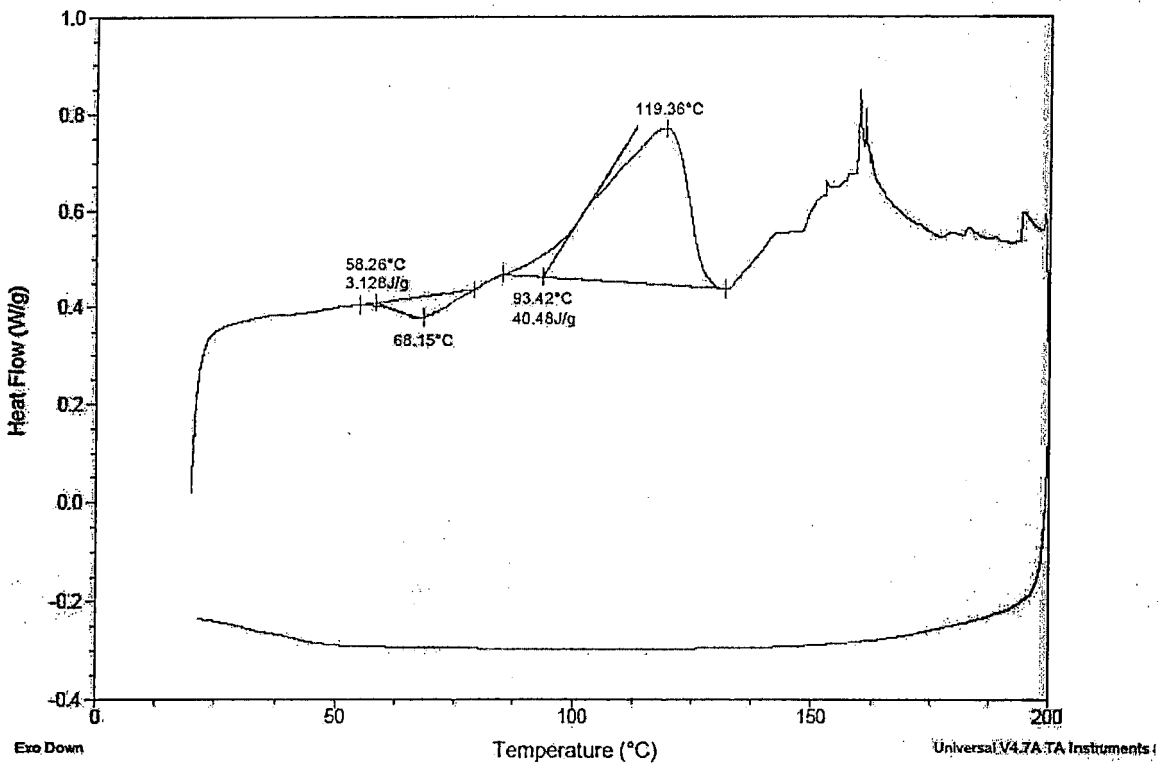
ภาพที่ 4-39 ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 60:40



ภาพที่ 4-40 ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติคแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 70:30



ภาพที่ 4-41 ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติคแอสิดทางการค้าในสัดส่วน 80:20



ภาพที่ 4-42 ลักษณะกราฟ DSC ของฟิล์มผสมพอลิแล็กติคแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติคทางการค้าในสัดส่วน 90:10

เทคนิคดิฟเฟอร์เรนเชียลสแกนนิงแคลลอรีเมทรี (DSC) เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในการศึกษาสมบัติที่เปลี่ยนตามอุณหภูมิของพอลิเมอร์คือ อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ซึ่งเป็นคุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็นอสัณฐาน (amorphous polymer) อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วเป็นอุณหภูมิที่พอลิเมอร์แสดงสมบัติคล้ายแก้วและสมบัติคล้ายยาง โดยอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วมีค่ามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ น้ำหนักโมเลกุลและการเพิ่มปริมาณการเป็นผลึกของพอลิเมอร์ การเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของพอลิเมอร์ที่สำคัญอีกค่าหนึ่งคือ อุณหภูมิหลอมเหลวของผลึก (crystalline melting point temperature,T_m) ซึ่งอุณหภูมิหลอมเหลวของผลึกเป็นการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็นผลึก (พรรชนก, 2554)

จากภาพที่ 4-38 จะเห็นได้ว่าฟิล์มที่ขึ้นรูปได้แสดงอุณภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว (T_g) และอุณหภูมิหลอมเหลว (T_m) โดยสรุปไว้ในดังตารางที่ 4-15 ค่า T_g และ T_m จะสัมพันธ์กับขนาดของน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ ดังจะเห็นว่าสัดส่วนที่ผสมกันระหว่างพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ต่อพอลิแล็กติกทางการค้า 50:50 จะมีค่าอุณหภูมิที่สูงทั้ง T_g และ T_m

ตารางที่ 4-15 อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) และอุณหภูมิหลอมเหลวของผลึก (T_m) ของแผ่นฟิล์มที่ได้จากการผสมกันระหว่างพอลิแล็กติกที่สังเคราะห์ได้ และ พอลิแล็กติกทางการค้า

ชนิดแผ่นฟิล์ม พอลิแล็กติกที่สังเคราะห์ได้ : พอลิแล็กติกทางการค้า	T_g (°C)	T_m (°C)
50:50	54.24	130.63
60:40	53.39	134.69
70:30	47.12	123.96
80:20	48.24	126.95
90:10	-	119.36
100:0	-	-

บทที่ 5
สรุปผลการดำเนินวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินวิจัย

การสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ควรมีปริมาณกรดแล็กติก 36,000 มิลลิกรัม ปริมาตรการสังเคราะห์รวมทั้งกรดแล็กติกและโทลูอีน 100 มิลลิลิตร การหาระดับของปัจจัยที่สำคัญในการสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ Novozyme 435 ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดได้ โดยการวิเคราะห์โครงสร้างของผลิตภัณฑ์พอลิแล็กติกแอซิดที่ผลิตได้ โดยการหาองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันด้วยวิธี Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) ซึ่งเมื่อพิจารณาช่วงการดูดกลืนแสงของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญจาก FTIR spectra ของพอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของพอลิแล็กติกแอสิด ได้แก่ หมู่ฟังก์ชัน –C-H stretching ที่ระดับ wavenumber 3,000-3,110 cm^{-1} หมู่ฟังก์ชัน –C=O stretching ที่ระดับ wavenumber 1,600-1,950 cm^{-1} หมู่ฟังก์ชัน –C-O-C- stretching ที่ระดับ wavenumber 1,070-1,280 cm^{-1} และ หมู่ฟังก์ชัน –(C=O)-O- stretching ที่ระดับ wavenumber 1,070-1,280 cm^{-1} น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้สามารถวิเคราะห์โดยใช้ gel permeation chromatograph (GPC) การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 1 และ 24 ชั่วโมง มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 24,598 และ 6,938 Da ตามลำดับ ขณะที่การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เอนไซม์ Novozyme 435 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ระดับความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาสังเคราะห์ 6 และ 24 ชั่วโมง มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 731 และ 9,073 Da ตามลำดับ

การสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดตามสภาวะการสังเคราะห์ทั้ง 15 หน่วยทดลอง มีค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิด มีค่าระหว่าง 82-94 เปอร์เซ็นต์ และค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนของพอลิแล็กติกแอสิด มีค่าระหว่าง 10,000-27,000 และลักษณะทางกายภาพของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ในหน่วยทดลองที่ใช้ระยะเวลาการสังเคราะห์ที่นานขึ้นทำให้ได้พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีสีที่เข้มขึ้น

การวิเคราะห์โดยวิธีพื้นที่การตอบสนองด้วยการสร้างสมการถดถอยที่ให้เหมาะสม จะประกอบด้วย สมการเส้นตรง (X_1, X_2, X_3) และปฏิสัมพันธ์ (X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3) โดยสมการของแบบจำลองแสดงค่า R^2 ที่ค่อนข้างสูง (0.75-0.79) ซึ่งแสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองที่สามารถใช้ในการหาพื้นที่การตอบสนองได้ ประกอบด้วยแบบจำลองที่มีค่า *P*-value ที่น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลที่ได้จากการหาจุดที่เหมาะสมโดยโปรแกรม พบว่า สภาวะที่จะทำให้ได้ค่าตอบสนองตามที่ต้องการคือ สภาวะที่ใช้ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (+1.0 ของ code value) ทำปฏิกิริยาที่อุณภูมิ 60 องศาเซลเซียส (-1.0 ของ code value) ใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง (-1.0 ของ code value) ซึ่งจะสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 94.5 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 27,455 Da จากการหาสภาวะที่เหมาะสมแบบหลายตัวแปรตามโดยฟังก์ชันของโปรแกรมอยู่ในระดับความพึงพอใจรวมเท่ากับ 0.92 เปอร์เซ็นต์

การใช้ใช้กรดแล็กติกที่หมักด้วยกระบวนการหมักไม่สามารถสังเคราะห์เป็นพอลิเมอร์ได้ ส่วนการสังเคราะห์พอลิเมอร์โดยใช้กรดแล็กติกในทางการค้า พบว่าสามารถสังเคราะห์พอลิแล็กติกแอสิดได้ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนกรดแล็กติกไปเป็นพอลิแล็กติกแอสิด 66.42 เปอร์เซ็นต์ และพอลิแล็กติกแอสิดมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวนประมาณ 5,333 Da พอลิแล็กติกแอสิดที่สังเคราะห์ได้สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้โดยผสมกับพอลิแล็กติกแอสิดทางการค้า

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดควรมีการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามน้ำหนัก (M_w) ด้วยวิธี GPC เพื่อเป็นการยืนยังน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่แน่นอน

2. ควรมีการศึกษาวิธีการเก็บเกี่ยวพอลิเมอร์ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้พอลิเมอร์ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์

3. การสังเคราะห์พอลิเมอร์พอลิแล็กติกแอสิดควรมีการศึกษาการใช้กรดแล็กติกที่ผลิตได้เองภายในประเทศ ซึ่งประเทศไทยมีแหล่งวัตถุดิบที่เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแล็กติกหลากหลายและปริมาณมาก เพื่อลดต้นทุนการผลิตและเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบจากการเกษตร แต่ทั้งนี้การผลิตต้องเน้นเรื่องการทำบริสุทธิ์ของกรดแล็กติกให้มีความบริสุทธิ์สูงสุดจะทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์พอลิเมอร์สูงขึ้น

4. ควรมีการศึกษาแนวทางการนำพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่อเนื่องจากพอลิแล็กติกแอสิด

ผลผลิต (output)

การนำเสนอผลงานการประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1

The First Higher Education Research Promotion Congress (HERP CONGRESS I)

ในวันที่ 21 – 23 มกราคม 2556 ณ ศูนย์ศิลปวัฒนธรรมภาคเหนือตอนล่าง

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม (ส่วนวังจันทน์)

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการ 44488 2554A10862002

โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการ: การสังเคราะห์กรดพอลิแลกติกโดยใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชัน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ดร.สุธี วังเตือย

รายงานในช่วงตั้งแต่ กันยายน พ.ศ. 2554 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี 7 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2554 ถึงวันที่ 30 เมษายน พ.ศ. 2557

รายจ่าย

หมวด (ตามสัญญา)	รายจ่ายสะสมจากรายงานครั้งก่อน	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	รวมรายจ่ายสะสมถึงปัจจุบัน	งบประมาณที่ตั้งไว้	คงเหลือ
1. ค่าตอบแทน		30,000	30,000	30,000	-
2. ค่าจ้าง		95,280	95,280	95,280	-
3. ค่าวัสดุ		184,720	184,720	184,720	-
4. ค่าใช้สอย		113,000	160,000	160,000	-
5. อื่นๆ		-	-	-	-
รวม		423,000	470,000	470,000	-

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1	235,000 บาท	เมื่อ	กันยายน พ.ศ. 2554
งวดที่ 2	188,000 บาท	เมื่อ	เมษายน พ.ศ. 2555
รวม			

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

ลงนามเจ้าหน้าที่การเงินโครงการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จินตมัย สุวรรณประทีป. 2556. พลาสติกสังเคราะห์ย่อยสลายทางการแพทย์. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (เอ็มเทค). แหล่งที่มา:<http://www.mtec.or.th/index.php?option=com_content&task=view&id=98&Itemid=36> 30 กันยายน 2556.

วันทนีย์ จองคำ อำพล อาวรณ์ มณฑา ไก่หิรัญ และกรภัทร สมแสง. 2552. ยุทธศาสตร์นวัตกรรมพลาสติกชีวภาพไทย. สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กรุงเทพฯ. 154 น.

พรรชนก เมฆฉาย. 2554. การสังเคราะห์พอลิแลคติกแอสิดจากกรดแอล แลกติก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 146 น.

พรรชนก เมฆฉาย สมใจ ขจรชีพพันธ์งาม และ กันยรัตน์ โหละสุต. 2013. สมบัติของพอลิแลคติกที่สังเคราะห์ได้จากกรดแลคติก 85% ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่นโดยตรง. KKU Engeneering Journal. 40(2): 237-245.

ณัฐนัย จินตกานนท์. 2551. การใช้พอลิแลกติกแอซิดและพอลิแลกติกแอซิดโคเอทิลีนเทเรฟแทเลตสำหรับการปลดปล่อยปุ๋ยยูเรียแบบควบคุม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 74 น.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล ชิราวุฒิ เพชรเย็น และ ชนิกา ซื่นแสงจันทร์. 2555. กรรมวิธีการสังเคราะห์พอลิแลกติกแอสิด. เลขที่คำขอ 1203000714.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, ชิราวุฒิ เพชรเย็น และ ลลิตา พลมณี. 2555. กรรมวิธีสังเคราะห์พอลิแลกติกแอสิดด้วยพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่น. เลขที่คำขอ 1203000715.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, ชลลดา ศิริเสตสุวรรณ และ ลลิตา พลมณี. 2555. กรรมวิธีการผลิตกรดแลกติกด้วยเซลล์ตรึงแบบเบ็ดเสร็จที่มีระบบแยกกรดแลกติก. เลขที่คำขอ 1203001453.

สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2551. แผนที่นำทางแห่งชาติการพัฒนาอุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพ (พ.ศ. 2551 - 2555) ตามนโยบายการปรับโครงสร้างเศรษฐกิจในกลุ่มอุตสาหกรรมเพื่ออนาคต (New Wave Industries).

ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2556. พลาสติกย่อยสลายได้: เทคโนโลยีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน. แหล่งที่มา: <http://www2.mtec.or.th/th/special/biodegradable_plastic/bio_de_plas.html> 30 กันยายน 2556.

อนุวัตร แจ้งชัด. 2549. เอกสารประกอบการสอนวิชาสถิติสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมเกษตร. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

อมรรัตน์ เลิศวรสิริกุล. 2554. พอลิแลกติกแอซิด: พอลิเอสเทอร์ จากทรัพยากรที่สร้างทดแทนได้. ว. วิศวกรรมสาสน์ มก. 24(77): 99-110.

Arteaga, G.E., E. Li-Chan, M.C. Vazquez-Arteaga, and S. Nakai. 1994. Systematic experimental designs for product formula optimization. *Trends in Food Science and Technology*. 5: 243-254.

Avinc, O. and A. Khoddami. 2009. Overview of poly(lactic acid) (PLA) fibre; Part I: production, properties, performance, environmental impact, and end-use application of poly(lactic acid) fibres. *Fibre Chemistry*. 41(6): 391-401.

Bezerra, M.A., R.E. Santelli, E.P. Oliveira, L.S. Villar, and L.A. Escaleira. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 76: 965-977.

Cho, S.M., Y.S. Gu, and S.B. Kim. 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. 19, 221–229.

Chuensangjun, C., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2011. Lipase-catalysed ring-opening polymerization of lactic acid and its polymer characteristic. Chiang Mai International Conference on Biomaterials & Applications (CMICBA2011), August 9–10, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand. (Abstract Book, p.58).

Chuensangjun, C., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2011. Synthesis of polylactic acid by lipase-catalyzed ring-opening polymerization. The 2nd International Symposium on

Hybrid Materials and Processing (HyMaP2011), October 27–29, Grand Hotel, Haeundae, Busan, Korea. (Abstract Book, p.21).

Chuensangjun, C., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2012. Polylactic acid synthesis with lipase-catalysed polymerization and its degradation behavior of polymer in soil. *In* The Abstract book of 7th International Conference on Materials Science and Technology (MSAT7). June 7-8, 2012, Swissotel Le Concorde, Bangkok, Thailand. p. 129.

Chuensangjun, C., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2012. Degradation behaviors of different blends of polylactic acid buried in soil. The 10th Eco-Energy and Materials Science and Engineering Symposium (EMSES 2012). December 5-8th, 2012. Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubon Ratchathani, Thailand. (Abstract Book, no. ES09, p.94, Proceedings, p.424-429).

Chuensangjun, C., C. Pechyen, Y. Chisti, and S. Sirisansaneeyakul. 2012. Lipase-catalysed polymerization of lactic acid and the properties of the polymer. Advanced Materials Research. 506, 154-157.

Chuensangjun, C., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2013. Synthesis of polylactic acid with lipase-catalyzed ring-opening polymerization. Proceedings TRF-Master Research Congress VII (Science and Technology), April 2-3, Pattaya, Cholburi, p.71.

Chuensangjun, C., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2013. Degradation behaviors of different blends of polylactic acid buried in soil. Energy Procedia 34, 73–82.

Datta, R. and M. Henry. 2006. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies-a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 81: 1119-1129.

Garlotta, D. 2001. A Literature Review of Poly (Lactic Acid). *Journal of Polymers and the Environment*. 9(2): 63-84.

Hans, M., H. Keul, and M. Moelle. 2009. Ring-opening polymerization of DD-Lactide catalyzed by Novozyme 435. *Macromolecular Bioscience*. 9: 239-247.

Kiran, K.R., S.H. Krishna, C.V.S. Babu, N.G. Karanth, and S. Divakar. 2000. An esterification method for determination of lipase activity. *Biotechnology Letters.* 11: 1511-1514.

Kiran, K.R. and S. Divakar. 2003. Lipase-catalysed polymerization of lactic acid and its film forming properties. *World Journal Microbiology and Biotechnology.* 19: 859-865.

Lassalle, V.L. and M.L. Ferreira. 2008. Lipase-catalyzed synthesis of polylactic acid: an overview of the experimental aspects. *Journal of Chemical Technology and Biotechnol*ogy. 83: 1493-1502.

Madamba, P.S. 2002. The response surface methodology: an application to optimize dehydration operations of selected agricultural crops. *LWT-Food Science and Technology.* 35: 584-592.

Maharana, T., B. Mohanty, and Y.S. Negi. 2009. Melt-solid polycondensation of lactic acid and its biodegradability. *Progress in Polymer Science.* 34: 99-124.

Ponmanee, L., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2011. Synthesis of biodegradable polylactic acid from lactic acid produced by *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 10863 (TISTR 108). The 2nd International Symposium on Hybrid Materials and Processing (HyMaP2011), October 27–29, Grand Hotel, Haeundae, Busan, Korea. (Abstract Book, p.23-24).

Ponmanee, L., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2012. Synthesis of polylactic acid from fermentative lactic acid by direct polycondensation for material application. International Conference on Advanced Material Engineering & Technology (ICAMET 2012). November 28-30th, 2012. Bayview Beach Resort Penang, Malaysia. (e-Proceedings, ICAMET2012-253, p. 495-499).

Ponmanee, L., C. Pechyen, and S. Sirisansaneeyakul. 2013. Synthesis of polylactic acid from fermentative lactic acid by direct polycondensation for material application. Advanced Materials Research. 626, 495-499.

Sirisansaneeyakul, S., C. Chuensangjun, L. Ponmanee, and C. Pechyen. 2012. Synthesis of biodegradable polylactic acid from lactic acid, pp. 22-23. *In* Proceedings of the 7th

Taiwan-Thailand Bilateral Conference: Multifunctional Agriculture and Food Make Life Better. October 18-19, 2012. NPUST, Pingtung, Taiwan. (http://2012ttbc.hopto.org/2012ttbc.php).

Sirisansaneeyakul, S., C. Chuensangjun, and C. Pechyen. 2013. Polylactic acid synthesis with lipase-catalysed polymerization and its degradation behavior in soil. The International Conference on Interdisciplinary Research and Development in ASEAN Universities (ICIRD 2013), August 8-10, 2013. Maejo University, Chiang Mai, Thailand. (Abstract Book, no. OA-8, p.9).

Taguchi, S., M. Yamada, K. Matsumoto, K. Tajima, Y. Satoh, M. Munekata, K. Ohno, K. Kohda, T. Shimamura, H. Kambe, and S. Obata. 2008. A microbial factory for lactate-based polyesters using a lactate-polymerizing enzyme. *PNAS.* 105(45): 17323-17327.

Wangtueai, S. and A. Noomhorm. 2009. Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida* spp.) scales. *LWT-Food Science and Technology.* 42: 825-834.

Yeniad, B., H. Naik, and A. Heise. 2011. Lipases in polymer chemistry. *Advance in Biochemistry Engineering/Biotechnology.* 125: 69-95.

Yuan, Y., Y. Gao, L. Mao, and J. Zhao. 2008. Optimisation of conditions for the preparation of β-carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food Chemistry.* 107: 1300-1306.

Zhou, P. and J.M. Regenstein. 2004. Optimization of extraction condition for pollock skin gelatin. *Journal of Food Science.* 69(5): c393-c398.

ภาคผนวก

การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิด

ชนิกา ซื่นแสงจันทร์/สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล

คำนำ

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงของกรดแล็กติกเป็นพอลิแล็กติกแอสิดตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008) ด้วยการไทเทรตเพื่อหาปริมาณกรดแล็กติกที่ลดลงเนื่องจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของกรดแล็กติกได้เป็นพอลิแล็กติกแอสิด โดยการใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดสมมูลของปฏิกิริยา

สารเคมี

1. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5.6 กรัม ละลายในน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล

2. สารละลายผสมของเอทานอล/ไอโซพรอพิล อีเทอร์ ($C_6H_{14}O$) (อัตราส่วน 50:50 โดยปริมาตร)

3. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$) 1% โดยมวลในเอทานอล

วิธีการวิเคราะห์

1. เจือจางสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ในสารละลายผสมของเอทานอล/ ไอโซพรอพิลอีเทอร์ (อัตราส่วน 50:50 โดยปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดปริมาตรทรงกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร

2. ไทเทรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดสิ้นสุดของปฏิกิริยา

3. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงกรดแล็กติกจาก

$$\%C = \frac{m_{theo} - m_{obt}}{m_{theo}} \times 100$$

เมื่อ %C คือเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของกรดแล็กติก

m_{theo} คือจำนวนโมลของกรดแล็กติกเริ่มต้นที่ได้จากการคำนวณ

m_{obt} คือจำนวนโมลของกรดแล็กติกที่เหลือที่ได้จากการไทเทรต

โดย

$$m_{obt}=N \times (V - V^{*})$$

เมื่อ N คือความเข้มข้นของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

V คือปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไปในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V^{*} คือปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไปในการไทเทรตชุดควบคุม (มิลลิลิตร)

เอกสารอ้างอิง

Lassalle, V.L. and M.L. Ferreira. 2008. Lipase-catalyzed synthesis of polylactic acid: an overview of the experimental aspects. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 83: 1493-1502.

การหาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน ด้วยวิธีวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันที่ปลายโมเลกุลของพอลิเมอร์

ชนิกา ชื่นแสงจันทร์/สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล

คำนำ

วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (number average molecular weight; M_n) ด้วยวิธีวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันที่ปลายโมเลกุลของพอลิเมอร์ (end-group analysis) ตามวิธีของ Lassalle และ Ferreira (2008) โดยไทเทรตหาปริมาณกรดแล็กติกที่ลดลงเนื่องจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของกรดแล็กติกได้เป็นพอลิแล็กติกแอสิด และใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดสมมูลของปฏิกิริยา

สารเคมี

1. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5.6 กรัม ละลายในน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล

2. สารละลายผสมของเอทานอล/ไอโซพรอพิล อีเทอร์ ($C_6H_{14}O$) (อัตราส่วน 50:50 โดยปริมาตร)

3. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$) 1% โดยมวลในเอทานอล

วิธีการวิเคราะห์

1. เจือจางสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ในสารละลายผสมของเอทานอล/ไอโซพรอพิล อีเทอร์ (อัตราส่วน 50:50 โดยปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดปริมาตรทรงกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร

2. ไทเทรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดสิ้นสุดของปฏิกิริยา

3. คำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน (M_n) จากสมการ

$$M_n = \frac{n \times 100}{C}$$

เมื่อ M_n คือน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน; M_n (ดาลตัน)

n คือหมู่ฟังก์ชันของโมโนเมอร์

C คือค่าความเป็นกรด

โดย

$$C = \frac{V \times N}{10 \times w}$$

เมื่อ V คือปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไปในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N คือความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

w คือน้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

เอกสารอ้างอิง

Lassalle, V.L. and M.L. Ferreira. 2008. Lipase-catalyzed synthesis of polylactic acid: an overview of the experimental aspects. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 83: 1493-1502.