

## บทที่ 3

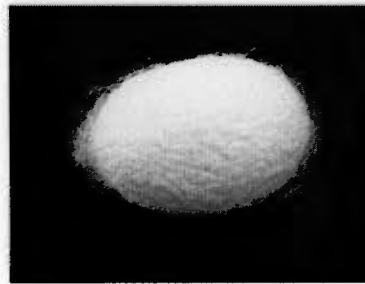
### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 รูปแบบการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงการทดลองในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดผงไหมโปรตีนทั้ง 2 ชนิดจากรังไหมบ้านและรังไหมป่า และทดสอบสมบัติเบื้องต้นของผงไหมว่าเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นสารชีวภาพ

#### 3.2 สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1 รังไหมบ้าน (*Bombyx mori*) เป็นรังไหมเลี้ยงจากจังหวัดเพชรบูรณ์ ซื้อมาจากบริษัทจุลไหมไทย จำกัด ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 รังไหมบ้าน (*Bombyx mori*)

3.2.2 รังไหมป่าอีรี (*Philosamia ricini*) เป็นรังไหมป่าจากจังหวัดเพชรบูรณ์ ซื้อมาจากบริษัทจุลไหมไทย จำกัด ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 รังไหมป่าอีรี (*Philosamia ricini*)

### 3.2.3 โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

โซเดียมคาร์บอเนตทำหน้าที่ลอกขาว โดยใช้เป็นชนิด anhydrous  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ของบริษัท Fisher Scientific แบบ Laboratory reagent grade ลักษณะเป็นผงสีขาว หรือก้อนสีขาวเล็กๆ มีน้ำหนักโมเลกุล 105.99 มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5 ละลายได้ดีในน้ำ ได้สารละลายที่เป็นด่าง ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ ไม่ติดไฟ และไม่เป็นพิษ มีจุดหลอมเหลว  $851^\circ\text{C}$  และสลายตัวให้  $\text{CO}_2$  ที่  $400^\circ\text{C}$

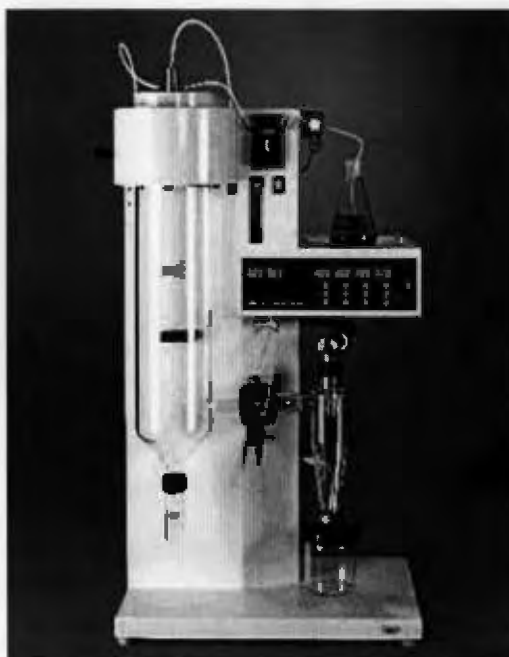
### 3.2.4 น้ำกลั่น (Distilled water)

## 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

### 3.3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

1. เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dryer) ที่ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รุ่น Buchi mini B-290 model, Switzerland ดังรูปที่ 3.3

การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อระเหยน้ำออกจากของเหลวอย่างรวดเร็วโดยอากาศร้อน กระบวนการนี้ประกอบไปด้วยการพ่นของเหลว (feed) ออกมาจนเป็นละอองขนาดเล็ก เข้าผสมกับอากาศร้อนที่ไหลผ่านอย่างรวดเร็ว ทำให้น้ำที่อยู่ในละอองของเหลวระเหยไปทั้งหมด และได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของผงแห้ง สำหรับกระบวนการทำแห้งให้กับ feed นั้น จะเริ่มทำตั้งแต่ใส่ feed ลงในเครื่อง แล้วรอจน feed มีความเข้มข้นในระดับที่เหมาะสมต่อการฉีดให้ออกมาเป็นละออง จากนั้นจึงแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งออกมา สำหรับตัวอย่างของเหลวที่นำมาทำแห้งนั้นสามารถใช้ได้ทั้งที่เป็น ตัวทำละลาย สารประเภท emulsion หรือสารแขวนลอยก็ได้ ส่วนเครื่องมือที่ใช้สำหรับกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยคือเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dryer) การทำงานของเครื่อง Spray Dryer เริ่มจาก อากาศจะถูกดูดผ่านตัวกรองและผ่านตัวให้ความร้อน จากนั้นจึงเข้าสู่ห้องอบแห้ง (drying chamber) ส่วนตัวอย่างของเหลว (feed) ที่นำมาฉีด ควรมีลักษณะเหลว และไม่ข้นมาก จากนั้นของเหลวจะถูกดูดโดยปั๊มผ่านอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดละอองฝอยคือ atomizer ภายในห้องอบ เมื่อละอองสัมผัสกับอากาศร้อนจะทำให้เกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็ว และจะได้ผงของผลิตภัณฑ์ตกลงสู่ด้านล่างของ drying chamber ผงบางส่วนที่หลุดออกมากับอากาศจะถูกแยกโดยใช้ cyclone ซึ่งจะรวมเข้าเป็นผลิตภัณฑ์รวมในที่สุด



รูปที่ 3.3 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dryer)

2. เครื่องระเหยแบบหมุน ( Rotary evaporator)

เป็นการระเหยเข้มข้น โดยระเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ โดยใช้ vacuum pump

3. เครื่อง Hydrothermal synthesis reactor unit

4. เต้าอบไฟฟ้า

เพื่ออบรังไหมทั้ง 2 ชนิด ในการเตรียมวัตถุดิบ

5. เครื่องชั่ง

ชนิดชั่งได้ละเอียด 2 ตำแหน่ง

6. ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)

7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ( Water bath)

8. หม้ออังไอน้ำ (Heating mantel)

9. Hot plate

### 3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. บีกเกอร์ (Beaker)

2. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3. แท่งแก้วคน (Stirring Rod)
4. ขวดก้นกลม 3 คอ (Three Neck Bottle)
5. โบพัดกวนพร้อมมอเตอร์
6. รีฟลักซ์คอนเดนเซอร์ (Reflux Condenser)
7. กรวย
8. Spectular

### 3.4 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

#### 3.4.1 เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีในภาควิชาเคมีเทคนิค

1. เครื่อง pH meter รุ่น Preciso pH 900

#### 3.4.2 เครื่องมือวิเคราะห์นอกภาควิชาเคมีเทคนิค

1. กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. Kjeldahl Nitrogen analyzer ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. Particle size distribution analyzer ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.5 ขั้นตอนการวิจัย

#### 3.5.1 ออกแบบการทดลอง

การออกแบบการทดลองออกแบบโดย  $2^k$  factorial design เพื่อให้ได้แบบจำลองสำหรับการหาภาวะในการทดลองที่เหมาะสม

### 3.6 การดำเนินการทดลอง

#### 3.6.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของรังไหมบ้านและรังไหมป่า

ศึกษาลักษณะภายนอกของรังไหม โดยสังเกตรังไหมแต่ละพันธุ์ด้วยสายตา เปรียบเทียบสี ขนาด และรูปร่าง

#### 3.6.2 การเตรียมวัตถุดิบ

นำรังไหมทั้ง 2 ชนิด ตัดให้มีขนาดประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร นำไปอบที่ อุณหภูมิ 60 °ซ เวลา 2 ชั่วโมง เก็บรังไหมในภาชนะที่มิดชิดไว้สำหรับการทดลองต่อไป

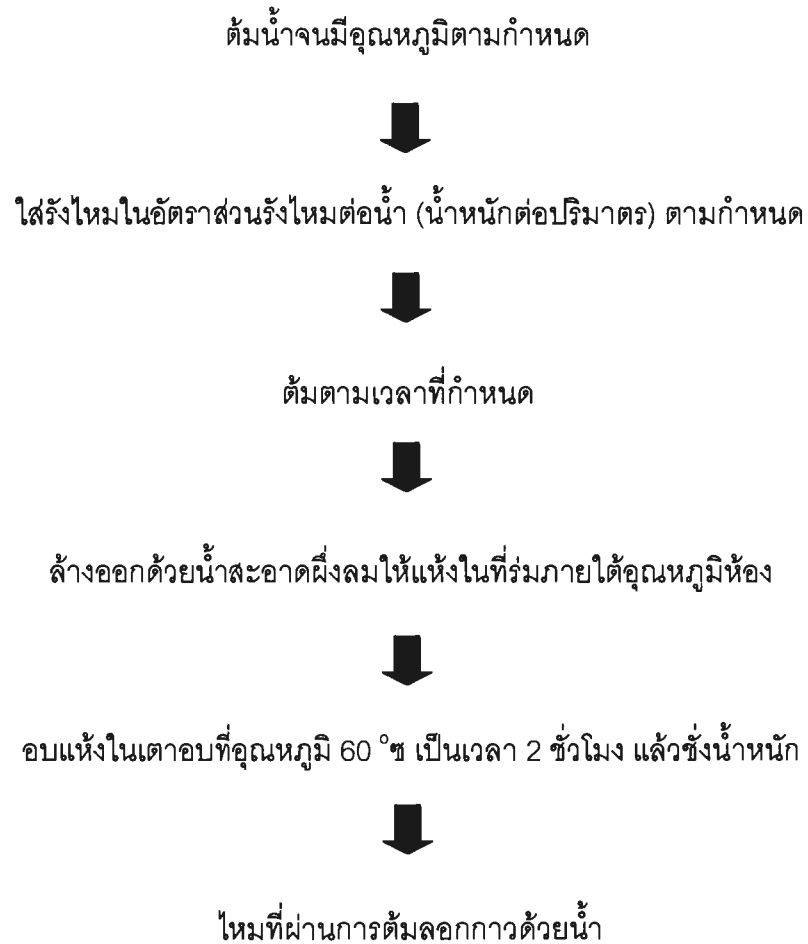
3.6.3 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการลอกกาวของรังไหม ทั้ง 2 ชนิด แบ่งออกเป็น 2 วิธีดังนี้

**วิธีที่ 1** การลอกกาวด้วยน้ำและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

- นำรังไหมต้มลอกกาวด้วยน้ำ ทำการปั่นกวนที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในการศึกษา ออกแบบการทดลองโดย  $2^k$  factorial design ศึกษาปัจจัย ดังตารางที่ 3.1 รูปที่ 3.2 และ 3.4

**ตารางที่ 3.1** ตัวแปรและระดับของตัวแปรที่ทำการศึกษา

ตัวแปร	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
อัตราส่วนรังไหมต่อน้ำ(น้ำหนักต่อปริมาตร)	1:50	1:100
อุณหภูมิ (°ซ)	60	100
เวลา(นาที)	30	120



### รูปที่ 3.4 วิธีการต้มลอกการด้วยน้ำ

- นำไหมที่ผ่านการต้มลอกการด้วยน้ำมาต้มกับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตทำการปั่นกวนที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในการศึกษา ออกแบบการทดลองโดย 2<sup>k</sup> factorial design ศึกษาปัจจัย ดังตารางที่ 3.2 รูปที่ 3.4 และ 3.5

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรและระดับของตัวแปรที่ทำการการศึกษา

ตัวแปร	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
อัตราส่วนรังไหมต่อสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต(น้ำหนักต่อปริมาตร)	1:50	1:100
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	0.1	0.5

ตารางที่ 3.2(ต่อ) ตัวแปรและระดับของตัวแปรที่ทำการศึกษา

ตัวแปร	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
อุณหภูมิ (°ซ)	60	100
เวลา (นาที)	30	90

ต้มสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นต่างๆ จนมีอุณหภูมิตามกำหนด



ใส่รังไหมในอัตราส่วนรังไหมต่อสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (น้ำหนักต่อปริมาตร)  
ตามกำหนด



ต้มตามเวลาที่กำหนด



ล้างออกด้วยน้ำสะอาดผึ่งลมให้แห้งในที่ร่มภายใต้อุณหภูมิห้อง



อบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก



สารไหมไฟโบรอิน

รูปที่ 3.5 วิธีการต้มลอกกาวด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต



รูปที่ 3.6 อุปกรณ์ที่ใช้ในการลอกกาวยไหม

### วิธีที่ 2 การลอกกาวยน้ำ ภายใต้ความดัน

นำรังไหม 2 กรัม ต้มลอกกาวยน้ำ 100 มิลลิลิตร ภาวะในการทดลอง ต้มที่อุณหภูมิ 120 และ 150 °ซ เป็นเวลา 30 60 90 และ 120 นาที โดยใช้เครื่อง Hydrothermal synthesis reactor unit ดังรูปที่ 3.7 แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดผึ่งลมให้แห้งในที่ร่มภายใต้ อุณหภูมิห้อง แล้วอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก จะได้สารไหมไฟโบรอิน



รูปที่ 3.7 เครื่อง Hydrothermal synthesis reactor unit



### 3.6.7 การผลิตผงไหมไฟเบอร์อินชนิดไม่ละลายน้ำ

1. นำสารไหมไฟเบอร์อินที่ได้จากทั้ง 2 วิธีมาแช่ในไนโตรเจนเหลว แล้วนำไปอบให้เป็นผง
2. กรองด้วยตระแกรงขนาด 200 mesh อบให้แห้งและชั่งน้ำหนัก

### 3.6.8 การผลิตผงไหมเซรีซินชนิดละลายน้ำ

1. นำน้ำต้มลอกกาวที่ได้จากการทดลองในวิธีที่ 1 ข้อ 1 และวิธีที่ 2 มาทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dryer) ที่อุณหภูมิเข้า 160 และขาออก 68-70 °ซ ที่อัตราเร็ว 20 มิลลิลิตรต่อนาที หลังจากนั้นนำมาอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก

### 3.6.9 การศึกษาความสามารถดูดความชื้นของผงไหมทั้ง 2 ชนิด

นำผงไหมทั้ง 2 ชนิดใส่ในกระเจกนาฬิกา ชั่งน้ำหนัก แล้ววางไว้ในบรรยากาศห้องและชั่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นตามเวลาต่างๆ จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คิดเทียบ dry basis

### 3.6.10 การทดสอบประสิทธิภาพของการลอกกาวไหม [10]

1. ใช้การชั่งน้ำหนักของไหมเมื่อผ่านการลอกกาวไหม

$$\% \text{ weight loss} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

$W_1$  = น้ำหนักไหมก่อนการต้มลอกกาว

$W_2$  = น้ำหนักไหมหลังการต้มลอกกาว

2. ประสิทธิภาพการลอกกาวไหมทดสอบด้วยการใช้เครื่อง Scanning

Electron Microscope (SEM)

โครงสร้างผิวของเส้นใย วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) รุ่น JSM-5800 LV โดยนำเส้นใยวางบนแท่งแกรไฟต์ จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปเคลือบทองโดยใช้ Ion sputter ใช้กำลังขยาย 1000

### 3.3.11 วิเคราะห์ขนาดของผงไหม [4]

วิเคราะห์หาขนาดของผงไหม Particle size distribution analyzer ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.3.12 วิเคราะห์หา nitrogen content

วิเคราะห์หา nitrogen content ด้วยเครื่อง Kjeldahl Nitrogen analyzer ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดย Kjeldahl รุ่น (TEACTOR, Kjeltec KD-02) วิธีวิเคราะห์ Macro Kjeldahl มีค่าโปรตีน factor = 6.25

### 3.1.13 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเบส

วัดโดยชั่งน้ำหนักผงไหมเซริซิน จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร วัดด้วย pH meter และวัดโดยชั่งน้ำหนักผงไหมไฟโบรอิน จำนวน 1 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1% และปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร วัดด้วย pH meter ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 เครื่อง pH meter รุ่น Preciso pH 900