บทที่ 3
อุปกรณ์ สารเคมี และ วิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. ถาดทนความร้อน
2. ถาดอลูมิเนียมขนาด 25 x 35 เซนติเมตร
3. ถาดแสตนเลสสตีลขนาด 23.5 x 23.5 เซนติเมตร
4. หม้อแสตนเลสสตีล
5. ผ้าขาวบาง
6. โถดูดความชื้น
7. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
8. กระป๋องอบความชื้น
9. กระดาษสีขาว
10. ตะเกียงบุนเสน
11. เทอร์โมมิเตอร์
12. ขวดแก้วมีฝาปิดขนาด 500 มิลลิลิตร
13. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (Precisa, Switzerland)
14. เครื่อง Refractometer (ATAGO : Model N1, Japan)
15. เครื่องชั่งไฟฟ้า (Sartorius : Model A, Germany)
16. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Memmert : Model ULM 500, European)
17. เครื่องบดอาหาร(Moulinex : Model T210GN, China)
18. เครื่องวัดสี (Minolta : Model CR-300, Japan)
19. เครื่องเหวี่ยง (Hermle : Model Z200A, Germany)
20. เครื่องเขย่า (Endecotts : Model Octagon200, England)
21. Scanning Electron Microscope (Jeol : Model JSM-5910LV, Japan)
22. ตู้อบลมร้อนไฟฟ้า (Memmert, USA)
23. เครื่องวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (Aqualab : Model CX3TE, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

24. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Unicam : Biomate5, England)
25. ชุดย่อยโปรตีน (Kjeldahl disestion set, Tecator, USA)
26. ชุดกลั่นโปรตีน (Kjeldahl distillation set, Tecator, USA)
27. เตาเผาเถ้า (Gallenkamp, England)
28. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Gallenkamp, England)
29. เครื่อง Hot plate and magnetic stirrer (Whatman : Model HPMS, England)
30. Fritted crucible porousity no. 2 (Robu, Germany)
31. กระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1 และ 4)
32. เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer : Model DRYWINNER8, Denmark)
33. เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum oven ; WTB Binder : VD32, Scientific Promotion Co., Ltd., Germany)
34. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. กรดอะซิติก (Merck, Germany)
3. แอมโมเนียมซัลเฟต (Merck, Germany)
4. เอทานอล (Merck, Germany)
5. ไอโซโพรพานอล (Merck, Germany)
6. โซเดียมโมโนคลอโรอะซิเตท (Sigma, USA)
7. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
8. คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (Sigma, USA)
9. ยูเรนิลแอซีเทต (Sigma, USA)
10. โคบอลต์แอซีเทต (Sigma, USA)
11. ไดเอทิลอีเทอร์ (Merck, Germany)
12. ปิโตเลี่ยมอีเทอร์ (Merck, Germany)
13. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
14. กรดซัลฟิวริก (Merck, Germany)
15. กรดบอริก (Merck, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เอนไซม์

1. อัลฟาอะมัยเลส (Himedia, India)
2. โปรตีเอส (Fluka, Switzerland)
3. อะมัยโลกลูโคซิเดส (Fluka, Switzerland)

วัตถุดิบ

1. กล้วยน้ำว้าที่สุกงอม

จุลินทรีย์

Acetobacter xylinum Arg 60 ได้จากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เครื่องประมวลผลทางสถิติ

1. เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
2. โปรแกรมประมวลผลข้อมูลสำเร็จรูป SPSS V. 10
3. โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อเริ่มต้นจากกล้วยน้ำว้า

1.1 ล้างกล้วยน้ำว้าที่สุกงอมด้วยน้ำสะอาด ลอกเปลือกออก ผึ่งให้แห้งและหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 ซม.

1.2 เตรียมน้ำกล้วยโดยชั่งกล้วย 400 กรัมเติมน้ำ 2000 มิลลิลิตรและต้มให้เดือดแล้วกรองเนื้อกล้วยออกด้วยผ้าขาวบาง

1.3 เติมน้ำตาลทราย 100 กรัม กรดอะซิติกเข้มข้น 90% ปริมาณ 20 มิลลิลิตรและแอมโมเนียมซัลเฟต 10 กรัม ต้ม นาน 3 นาที เทน้ำกล้วยใส่ขวดและปิดขวดด้วยสำลี

1.4 เติมเชื้อ *Acetobacter xylinum* Arg 60 ในน้ำมะพร้าวปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อน้ำกล้วย 2000 มิลลิลิตร แล้วตั้งไว้ 3 วัน (ศิริเพ็ญ, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การผลิตแผ่นเซลลูโลส

2.1 ล้างกล้วยน้ำว้าที่สุกงอมด้วยน้ำสะอาด ลอกเปลือกออก ผึ่งให้แห้งและหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 ซม.

2.2 เตรียมน้ำกล้วยโดยชั่งกล้วย 1,200 กรัมเติมน้ำ 6,000 มิลลิลิตรและต้มให้เดือดแล้วกรองเนื้อกล้วยออกด้วยผ้าขาวบาง

2.3 ปรับระดับค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ด้วยเครื่อง Refractometer จนได้ 8 บริกซ์ ด้วยน้ำตาลต้มจนเดือดแล้วเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 30 กรัมและ กรดอะซิติกเข้มข้น 90% ปริมาณ 60 มิลลิลิตร

2.4 เติมเชื้อเริ่มต้นที่ได้จากตอนที่ 1 ปริมาณ 300 มิลลิลิตร เทน้ำกล้วย 1,000 มิลลิลิตรในถาดทนความร้อนปิดถาดด้วยกระดาษสีขาว (ศิริเพ็ญ, 2546)

2.5 นำถาดไปตั้งหมักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 วันและนำเซลลูโลสที่ได้มาทดสอบคุณภาพ ดังนี้

- ค่าสีระบบ CIE หาค่า L*, a*, b* ด้วยเครื่องวัดค่าสี (Minolta, CR300)
- ปริมาณความชื้น, ปริมาณไขมัน, ปริมาณโปรตีน, ปริมาณเถ้า, ปริมาณความเป็นกรดด่าง, ปริมาณคาร์โบไฮเดรต, ปริมาณเส้นใยที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ และปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ (AOAC, 2000)
- ค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่องวัดค่าเป็นกรดด่าง (Precisa, Switzerland)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Lane and Eynon (ดุจหทัย, 2548)
- ลักษณะ Microstructure ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (Jeol : Model JSM-5910LV, Japan) การเตรียมตัวอย่างก่อนถ่ายภาพโดยการเคลือบตัวอย่างด้วยทองคำ
- ปริมาณผลผลิตที่ได้ (ธนิกานต์, 2549)

$$\%\ \text{ปริมาณผลผลิตที่ได้} = \frac{\text{น้ำหนักเซลลูโลส}}{\text{น้ำหนักกล้วย}} \times 100$$

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแผ่นเซลลูโลสที่ได้ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งเซลลูโลสด้วยเครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ

3.1 นำแผ่นเซลลูโลสมาปรับความเป็นกรดเป็นด่างจนได้ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 โมลลาร์ (ปราโมทย์ และ สมคิด, 2544) ล้างแผ่นเซลลูโลสด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้งและหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 2.5 x 2.5 ซม.

3.2 นำเซลลูโลส 300 กรัมมาปั่นรวมกับน้ำกลั่น 100 กรัม นาน 10 นาที ผึ่งเซลลูโลสบนผ้าขาวบางนาน 30 นาทีแล้วเทเซลลูโลสที่ปั่นแล้ว 200 กรัม ลงในถาดอลูมิเนียมจำนวน 4 ถาดในแต่ละครั้งการทดลอง

3.3 นำเซลลูโลสมาอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศโดยใช้อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการทำแห้ง 3 ระดับ คือ 9, 12 และ 15 ชั่วโมง นำเซลลูโลสแห้งมาทดสอบคุณภาพดังนี้

- ค่าสีระบบ CIE หาค่า L*, a*, b* ด้วยเครื่องวัดค่าสี (Minolta, CR300)
- ปริมาณเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ (AOAC, 2000)
- ปริมาณเส้นใยที่ละลายน้ำ (AOAC, 2000)
- ค่าวอเตอร์แอคติวิตี ด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี (Aqualab : Model CX3TE, USA)
- ความสามารถในการละลาย (Solubility) (Chung, 2006)
- ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)
- ความสามารถในการคืนรูป (rehydration) (Doymaz, 2006)
- ค่าการกระจายตัว (Dispersibility) (อรทัย, 2547)
- การดูดความชื้น (Hygroscopic) (อรทัย, 2547)
- ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Fabrizio, 2005)
- ลักษณะ Microstructure ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (Jeol : Model JSM-5910LV, Japan) การเตรียมตัวอย่างก่อนถ่ายภาพโดยการเคลือบตัวอย่างด้วยทองคำ
- ปริมาณผลผลิตแห้งที่ได้ (ธนิกานต์, 2549)

$$\% \text{ ผลผลิตแห้งที่ได้} = \frac{\text{น้ำหนักเซลลูโลสแห้ง}}{\text{น้ำหนักเซลลูโลสเปียก}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan 's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.10.0 (SPSS In nc., U.S.A.)

4. ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งเซลลูโลสด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

4.1 เตรียมตัวอย่างเซลลูโลสก่อนอบเช่นเดียวกับในตอนที่ 3.1และ 3.2

4.2 นำเซลลูโลสมาอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งโดยใช้อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการทำแห้ง 3 ระดับ คือ 30, 35 และ 40 ชั่วโมงนำเซลลูโลสแห้งมาทดสอบคุณภาพต่างๆ เช่นเดียวกับในตอนที่ 3.3

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan 's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.10.0 (SPSS In nc., U.S.A.)

5. ศึกษาวิธีการผลิตสารโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากเซลลูโลสอบแห้งโดยวิธีสุญญากาศและแช่เยือกแข็ง

กรรมวิธีการผลิตสารโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ใช้ในการศึกษาดัดแปลงมาจาก Adinugraha *et al.* (2005) โดยนำเซลลูโลสแห้งที่ผลิตได้ในตอนที่ 3 และ 4 มาบด และนำมาผ่านกรรมวิธีดังต่อไปนี้

5.1 นำเซลลูโลสที่ผลิตได้ มา 5 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เข้มข้น ต่างกัน 3 ระดับ คือ 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เติมไอโซโพรพานอล 100 มิลลิลิตร นำไปใส่ในเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมง

5.2 เติมสารโซเดียมโมโนคลอโรอะซีเตทที่ปริมาณต่างกัน 3 ระดับ คือ 5, 6 และ 7 กรัม นำไปตั้งไว้ที่ 55 องศาเซลเซียสนาน 3 ชั่วโมง

5.3 นำมาปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้เท่ากับ 7 ด้วย กรดอะซีติก 90 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมากรองเอาของเหลวออกด้วยกระดาษกรอง

5.4 นำมาล้างด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ 4 ครั้ง และนำมาอบที่ 60 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง เมื่อแห้งจึงนำมาบดให้ละเอียด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.5 นำสารโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ได้มาทดสอบคุณภาพต่างๆ เช่นเดียวกับในตอนที่ 3.3 และทดสอบลักษณะบ่งเอกลักษณ์สารโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสชั้นคุณภาพอาหารตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan 's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.10.0 (SPSS In nc., U.S.A.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved