

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 เครื่องมือ

1. UV-VIS Spectrophotometer (JASCO V-650)
2. UV-VIS Spectrophotometer (SHIMADZU UV-1700)
3. Color Measurement Spectrophotometer (HunterLab Color Quest XE)

##### 3.1.2 อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด (Balance) 2 ตำแหน่ง และ 4ตำแหน่ง
2. จานให้ความร้อน (Hot plate)
3. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 และ 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร
4. เครื่องแก้วพื้นฐานที่มีในห้องปฏิบัติการ เช่น ขวดรูปชมพู่ ปีกเกอร์ แท่งแก้วคน
5. ขวดแก้วใส่สารแบบมีฝา (Vial)
6. กระดาษวัด pH
7. อุปกรณ์สำหรับย้อมผ้า

##### 3.1.3 สารเคมี

1. สารส้ม ( $\text{Al}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )
2. เฟอร์ริกซัลเฟต (Ferric sulfate:  $\text{FeSO}_4$ )
3. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate:  $\text{CuSO}_4$ )
4. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water)

##### 3.1.4 ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. โซเดียมคลอไรด์
2. beef extract
3. peptone
4. ผงวุ้น (agar)

##### 3.1.5 วัตถุดิบ

1. แก่นฝาง จากอำเภอวังทอง จังหวัดแพร่
2. ผ้าไหม 4 เส้น ฟอกขาว ซื้อจากร้านขายผ้าไหมในย่านพาหุรัด กรุงเทพมหานคร

### 3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

#### การสกัดสีย้อมจากแก่นฝาง

- เตรียมวัตถุดิบ โดยการหั่นแก่นฝางเป็นท่อนเล็กๆ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- เติมน้ำกลั่นหรือเอทานอลในปริมาตรที่กำหนด โดยในการศึกษานี้ใช้อัตราส่วนแก่นฝางต่อน้ำ 1 : 3
- ต้มให้เดือด 60 นาที โดยปิดฝาภาชนะด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อไม่ให้น้ำระเหย
- นำไปกรองเอาสารละลายเพื่อใช้ในการทดสอบทางเคมี และในการย้อมผ้าต่อไป

#### การเตรียมผ้า

- เตรียมผ้าโดยการต้มด้วยน้ำสบู่ และซักด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง

#### การทำคุณภาพวิเคราะห์และแยกสารสี

- ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำย้อม ด้วยเครื่องUV-VIS Spectrophotometer
- ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำย้อม

#### การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย้อมผ้า

- ทำความสะอาดชิ้นผ้าตัวอย่าง
- ย้อมผ้าด้วยวิธีย้อมร้อน หรือย้อมเย็น แล้วแต่กรณี ภาวะการย้อมที่ใช้ประกอบด้วย
- การย้อมโดยไม่มีการเติมมอร์แดนต์และสารช่วยย้อม
- การย้อมโดยมีการย้อมสารช่วยย้อม หรือการใช้มอร์แดนต์ โดยอาจเป็นการย้อมก่อนการย้อมสี ย้อมพร้อมกับการย้อมสี หรือหลังการย้อมสี
- หลังจากย้อมแล้วทำการซักผ้าให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง นำไปบันทึกสีที่ได้

#### การเคลือบผ้าย้อมด้วยซิลเวอร์นาโน

- ทำการเคลือบผ้าไหมที่ผ่านการย้อมด้วยซิลเวอร์นาโน ที่สังเคราะห์จากโครงการวิจัยได้แผนงานวิจัยเดียวกัน

#### การศึกษาค่าสีของผ้าไหม

นำตัวอย่างผ้าไหมที่ย้อมสีแล้วมาทำการวัดค่าสีในระบบ CIELab ด้วยเครื่องวัดสี hunterlab บันทึกค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ค่า Reflectance ในช่วงความยาวคลื่น 400 – 700 นาโนเมตร และค่าความเข้มของสี (K/S)

#### การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของผ้าไหม

ทำการศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC25923<sup>T</sup> และ *Escherichia coli* ATCC25922<sup>T</sup> ของผ้าไหมที่ยังไม่ผ่านการย้อม ผ้าไหมย้อมด้วยสีจากแก่นฝาง ผ้าไหมที่เคลือบด้วยซิลเวอร์นาโน และผ้าไหมย้อมฝางที่เคลือบด้วยซิลเวอร์นาโน

#### การเตรียมอาหารNutrient broth (NB)

เตรียมอาหารnutrient broth 1000มิลลิลิตรโดยเติมส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อลงในน้ำกลั่นปริมาตร1000มิลลิลิตรจากนั้นค่อยๆให้ความร้อนและนำไปต้มด้วยหม้อนึ่ง(Autoclave)ที่ความดัน15 psi เป็นเวลา15นาทีที่อุณหภูมิ121องศาเซลเซียสและเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงบนจาน

### **การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย**

นำเข็มเขี่ยเชื้อจากงานที่เชื้อแบคทีเรียมา 1 เข็มใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ (NA) บ่มในตู้เขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสความเร็วในการเขย่า 200 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

### **วิธีการทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย**

นำผ้าที่ไม่ผ่านการย้อมและผ่านการด้วยสารสกัดจากแก่นฝางมาตัดให้มีขนาด 2x6 เซนติเมตร นำเข็มเขี่ยเชื้อจุ่มใน cell suspension ชีตเชื้อลงบนจานเลี้ยงเชื้อ 5 เส้น จากนั้นใช้ forcept คีบผ้าวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการชิตแล้ว จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ดูผลบริเวณเคลียร์โซนที่เกิดขึ้น

### **การศึกษาอ้อมสีระดับต้นแบบ**

เลือกวิธีการย้อมผ้าไหมที่ได้ค่าความเข้มของสีสูงที่สุดมาทำการย้อมในระดับต้นแบบด้วยวิธีการและอัตราส่วนตามที่กำหนดจากผ้าไหมตัวอย่างแล้วนำไปทดสอบความคงทนของสีต่อการซัก ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยและพัฒนาสิ่งทอ