

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 4 ตำแหน่ง
2. จานให้ความร้อน (Hot plate)
3. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 และ 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร
4. เครื่องแก้วพื้นฐานที่มีในห้องปฏิบัติการ เช่น ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ 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: FeSO_4)
3. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate: CuSO_4)
4. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water)

3.1.4 ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

3.1.5 วัสดุดิบ

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

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

การสกัดสีย้อมจากแก่นฝาง

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

การเตรียมผ้า

- เตรียมผ้าโดยการต้มด้วยน้ำสบู่ และซักด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง

การทำคุณภาพวิเคราะห์และแยกสารสี

- ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำย้อม ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer
- ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำย้อม

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย้อมผ้า

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

การเคลือบผ้าย้อมด้วยซิลเวอร์นาโน

- ทำการเคลือบผ้าใหม่ที่ผ่านการย้อมด้วยซิลเวอร์นาโน ที่สังเคราะห์จากโครงการวิจัยใต้แผนงานวิจัยเดียวกัน

การศึกษาค่าสีของผ้าไหม

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

การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของผ้าไหม

ทำการศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC25923^T และ *Escherichia coli* ATCC25922^T ของผ้าไหมที่ยังไม่ผ่านการย้อม ผ้าไหมย้อมด้วยสีจากแก่นฝาง ผ้าไหมที่เคลือบด้วยซิลเวอร์นาโน และผ้าไหมย้อมฝางที่เคลือบด้วยซิลเวอร์นาโน

การเตรียมอาหาร Nutrient broth (NB)

เตรียมอาหาร nutrient broth 1000 มิลลิลิตรโดยเติมส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อลงในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตรจากนั้นค่อยๆให้ความร้อนและนำไปต้มด้วยหม้อนึ่ง(Autoclave) ที่ความดัน 15 psi เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสและเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงบนจาน

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเข็มเขี่ยเชื้อจากงานที่เชื้อแบคทีเรียมา 1 เข็ม ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ (NA) บ่มในตู้เขี่ยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสความเร็วในการเขี่ย 200 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

วิธีการทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย

นำผ้าที่ไม่ผ่านการย้อมและผ่านการด้วยสารสกัดจากแก่นฝางมาตัดให้มีขนาด 2x6 เซนติเมตร นำเข็มเขี่ยเชื้อลงใน cell suspension ชีตเชื้อลงบนจานเลี้ยงเชื้อ 5 เส้น จากนั้นใช้ forceps คีบผ้าวางบนจานอาหารเลี้ยงที่ทำการชีดแล้วจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ดูผลบริเวณเคลียร์โซนที่เกิดขึ้น

การศึกษาอ้อมสีระดับต้นแบบ

เลือกวิธีการย้อมผ้าไหมที่ได้ค่าความเข้มของสีสูงที่สุดมาทำการย้อมในระดับต้นแบบด้วยวิธีการและอัตราส่วนตามที่กำหนดจากผ้าไหมตัวอย่างแล้วนำไปทดสอบความคงทนของสีต่อการซัก ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยและพัฒนาสิ่งทอ