2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

ตัวอย่าง

1. เปลือกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เก็บตัวอย่างสดจาก บริษัท ห้องเย็นโชติวัฒน์หาดใหญ่ จำกัด (มหาชน) จังหวัดสงขลา

2. น้ำยางสกิม (skim latex) เก็บตัวอย่างจาก บริษัท ฉลองอุตสาหกรรมน้ำยางข้น จำกัด อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา

สารเคมี

ตารางที่ 4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต/เกรด
Acetic acid	Merck/Analyzed
Acetone	Baker/Analyzed
Ammonium chloride	Fluka/Analyzed
Ammonium sulphate	CARLO ERBA/ Analyzed
Bovine serum albumin	Sigma/Analyzed
Calcium chloride anhydrous	Fluka/Analyzed
Copper(II) sulfate pentahydrate	J.T.Baker/Analyzed
Disodium hydrogen phosphate heptahydrate	Riedel-de Haen/Analyzed
Ethyl alcohol (absolute)	CARLO ERBA/ Analyzed
Ferric chloride hexahydrate	Merck/Analyzed
Ferrous ammonium sulfate	Merck/Analyzed
Folin-Ciocalteu solution	Merck/Analyzed
Hydrochloric acid	J.T.Baker/Analyzed
Magnesium sulfate heptahydrate	Baker/Analyzed

ตารางที่ 4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต/เกรด
Methanol	LAB-SCAN/ Analyzed
Methyl red	Merck/Analyzed
Milli-Q water	Milli-Q/deionized
N-acetyl-β-D-glucosamine	Sigma/Analyzed
Phenopthalein	Standard Fluka/Analyzed
Potassium dichromate	CARLO ERBA/ Analyzed
Potassium hydrogen phthalate	Fluka/Analyzed
Potassium phthalate	UNIVAR/Analyzed
Potassium sulfate	Riedel-de Haen/Analyzed
Potassium dihydrogen phosphate	Fluka Chemika/Analyzed
Salicylic acid	Riedel-de Haen/Analyzed
Silver sulfate	CARLO ERBA/ Analyzed
Sodium azide	Riedel-de Haen/Analyzed
Sodium carbonate	Fluka Chemika/Analyzed
Sodium hydroxide	BDH/Analyzed
Sodium Iodide	CARLO ERBA/ Analyzed
Sodium thiosulfate pentahydrate	Fluka/Analyzed
Soluble starch	CARLO ERBA/ Analyzed
Sulfuric acid	CARLO ERBA/ Analyzed

อุปกรณ์

ตารางที่ 5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต
กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1	Whatman
เครื่องชั่ง AE 240 อ่านได้ละเอียด 0.0001 กรัม	Mettler, Switzerland
เครื่องบด cutting mill, SR-2	Retsch, West-Germany
เครื่องวัดความหนืด (viscometer Ubbelohde No.200, M.548)	Cannon, U.S.A.
เครื่องวัดความหนืดมูนนี่ (Mooney Viscosmeter)	TOYO SEIKI
เครื่องอัดไฮโดรลิก (hydraulic press)	Apex contruction
ชุดกลั่นไนโตรเจน	Exelo, England
ชุดย่อยไนโตรเจน-Kjeldahl	Tecator
ตู้อบลมร้อน	WTB binder,Memmert
พลาสติมิเตอร์แบบ Wallace พร้อมชุดให้ความร้อน	Rapid plastometer MK II,England
หลอดใส่ตัวอย่าง (thimble)	Whatman
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อม rotary evaporator	Buchi
pH มีเตอร์ Accument model 5	Fisher Scientific
Sinter glass ASTM 40-60C	Kimex, U.S.A.
UV-visible spectrophotometer	Hewlett packard 8453

วิธีการ

2.1 การเตรียมไคตินและไคโตแซน

2.1.1 การเตรียมเปลือกกุ้ง

เปลือกกุ้งที่ใช้ตลอดการทดลองนี้ได้จากกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เก็บตัวอย่างสดเฉพาะส่วนเปลือกของลำตัวจาก บริษัท ห้องเย็นโชติวัฒน์ หาดใหญ่ จำกัด (มหาชน) จังหวัดสงขลา ล้างด้วยน้ำประปาจนสะอาด นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80^{0}C ประมาณ 16 -18 ชั่วโมง บดหยาบด้วย Waring blender แล้วบดละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 0.75 มม. ก่อนนำไปใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อเตรียมไคติน

2.1.2 การเตรียมไคติน มี 2 ขั้นตอน

2.1.2.1 กำจัดแร่ธาตุ

การกำจัดแร่ธาตุจากเปลือกกุ้งดัดแปลงจากวิธีที่แนะนำโดย Bough *et al.* (1978) โดยค่อยๆเทเปลือกกุ้งบดละเอียดที่เตรียมจากข้อ 2.1.1 ลงใน 1.0 M HCl ใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายกรด 15 : 190 (น.น.:ปริมาตร) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน (magnetic stirrer) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง กรองและล้างหลายๆ ครั้งด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการกำจัดอิออน (Milli-Q water) ปรับ pH ให้เป็นกลาง นำไปอบที่อุณหภูมิ 80^{0}C ในตู้อบลมร้อนให้แห้ง

2.1.2.2 กำจัดโปรตีน

การกำจัดโปรตีนจากเปลือกกุ้งดำเนินการตามวิธีที่แนะนำโดย Sornprasit (1997) และ มณฑา จำเริญรักษ์ (2544) คือเติมตัวอย่างเปลือกกุ้งที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุจากข้อ 2.1.2.1 ลงในสารละลาย 1.0 M NaOH ใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อสารละลายด่าง 1 : 13 (น.น.:ปริมาตร) กวนที่อุณหภูมิ 50^{0}C ด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วนำไปกรองผ่านผ้ากอซ 4 ชั้น โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ ล้างส่วนที่กรองได้ 2 ครั้งด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการกำจัดไอออน ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 5.0 M HCl กรองไคตินที่ได้ใส่ถาดแก้ว นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80^{0}C ประมาณ 16 – 18 ชั่วโมง ประเมินปริมาณผลิตผลที่แน่นอนโดยชั่งน้ำหนักทันทีหลังจากวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องในเดสซิเคเตอร์ (Sornprasit, 1997) เก็บตัวอย่างไคตินในภาชนะปิดสนิทเพื่อนำไปใช้เตรียมไคโตแซนต่อไป

2.1.3 การเตรียมไคโตแซน

การเตรียมไคโตแซนจากไคตินดำเนินการตามวิธีที่แนะนำโดย มณฑา จำเริญรักษ์ (2544) คือนำไคตินที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.2.2 ใส่ในขวด 3 คอ ที่มีสารละลาย 50% NaOH ใช้อัตราส่วนของไคตินต่อสารละลายด่าง 1:15 (น.น. : ปริมาตร) รีฟลักภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 131^{0}C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรองไคโตแซนผ่านซินเทอร์แกลส (ASTM No. 40 - 60, C) ล้าง 2 ครั้งด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการกำจัดไอออน ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 5.0 M HCl ล้างด้วยเมทานอล 2 ครั้ง แล้วตามด้วยอะซิโตน 1 ครั้ง นำใส่ถาดแก้วและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50^{0}C 16 – 18 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักทันทีหลังจากวางให้เย็นในเดสซิเคเตอร์ (Sornprasit, 1997) เพื่อประเมินเปอร์เซ็นต์ผลิตผล เก็บไคโตแซนที่เตรียมได้แต่ละครั้งรวมกันจนได้ปริมาณมากพอสำหรับการใช้ตลอดการศึกษานี้ในภาชนะป้องกันความชื้น

2.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไคโตแซน

2.2.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุล

วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนที่เตรียมได้โดยวิธีวัดความหนืดของสารละลายตามวิธีที่แนะนำโดย Bronswijk (1975) โดยชั่งตัวอย่าง ไคโตแซน 0.05 กรัม ละลายใน 100 มล. 1% กรดอะซิติก กวนให้ละลายด้วย magnetic stirrer 1 ชั่วโมง กรองผ่านซินเทอร์แกรส (ASTM No. 40 - 60, C) เจือจางสารละลายไคโตแซนด้วย 1% อะซิติก ให้มีความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ คือ 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05% (น.น.:ปริมาตร) วัดความหนืดของสารละลายที่อุณหภูมิ 25^{0}C โดยใช้ Ubbelohde viscosmeter นำค่าที่ได้ไปใช้ในการคำนวณน้ำหนักโมเลกุล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับแต่ละความเข้มข้น นำค่าเฉลี่ยไปคำนวณหาค่า relative viscosity (η_{rel}/C), specific viscosity (η_{sp}), specific viscosity per concentration (η_{sp}/C), ln.relative viscosity ($\ln\eta_{rel}$) และ ln.relative viscosity per concentration ($\ln\eta_{rel}$/C) เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า η_{sp}/C กับความเข้มข้น (C) และค่า $\ln\eta_{rel}$/C กับความเข้มข้น (C) ค่า intrinsic viscosity (η) ได้มาจากค่า η_{sp}/C ที่มีความเข้มข้นเป็นศูนย์ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตแซนคำนวณจากสมการต่อไปนี้

$$\log[\eta] = \log K + a \log Mv$$

เมื่อ K และ a เป็นค่าคงที่มีค่า ; 8.93 x 10^{-4} และ 0.71 ตามลำดับ

Mv = viscosity average-molecular weight

$[\eta]$ = intrinsic viscosity

ค่า relative viscosity (η_{rel}) คำนวณจาก : $\eta_{rel} = t/t_0$

เมื่อ t = เวลาที่สารตัวอย่างใช้ในการเคลื่อนที่

t_0 = เวลาที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่

ค่า specific viscosity (η_{sp}) คำนวณจาก : $\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 = (t - t_0)/ t_0$

ค่า specific viscosity per concentration (η_{sp}/C) หรือ reduced specific viscosity คำนวณจาก

$$\eta_{sp}/C = \frac{(t - t_0)/C}{t_0}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นของสารละลาย (กรัม/100 มล.)

ค่า ln.relative viscosity per concentration ($\ln\eta_{rel}/C$) หรือ inherent viscosity ($\ln\eta_{inh}$) คำนวณจาก

$$\ln\eta_{rel}/C = \ln(t - t_0)/C$$

2.2.2 **การวัดระดับการกำจัดหมู่อะซิติล** (degree of deacetylation) **ของไคโตแซน**

ระดับการกำจัดหมู่อะซิติลของไคโตแซนทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ตามที่แนะนำโดย Muzzarelli และ Rocchetti (1985) คือหาจุดตัดของ first derivertive absorption spectra ของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0.01, 0.02 และ 0.03 M โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank เพื่อหาจุดตัดของความยาวคลื่นซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของกรดอะซิติกที่ใช้เป็นตัวทำละลายมีค่าคงที่ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น พบว่าจุดตัดของค่าการดูดกลืนแสงของกรดอะซิติกทุกความเข้มข้นปรากฏที่ 202 นาโนเมตร และที่ความยาวคลื่นดังกล่าวนี้ค่า first derivative absorption spectrum ของ *N*-acetyl-D-glucosamine มีค่าสูงสุดทุกความเข้มข้น

การสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ *N*-acetyl-D-glucosamine ดำเนินการโดยเตรียมสารละลายดังกล่าวในกรดอะซิติก 0.01M ให้มีความเข้มข้นต่างกัน

5 ระดับ (5 – 40 มก./ล.) นำไปวัดค่าของ first derivative absorption spectrum ของแต่ละความเข้มข้น เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่า first derivative absorption spectra ของ *N*-acetyl-D-glucosamine ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร

การวัดค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติลดำเนินการโดยชั่งไคโตแซน 10 มก. ละลายใน 10 มล. 0.1 M กรดอะซิติก ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น วัดค่า first derivative absorption spectrum ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของ *N*-acetyl-D-glucosamine แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณระดับการกำจัดหมู่อะซิติลในตัวอย่างไคโตแซน วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.2.3 ศึกษาการละลายของไคโตแซน

เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดอะซิติกที่ไคโตแซนสามารถละลายได้สูงสุด ทำการทดสอบโดยค่อยๆเติมตัวอย่างไคโตแซนลงใน 100 มล. กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นต่างกัน (ระหว่าง 0.2-1.0%) กวนให้ละลายด้วย magnetic stirrer ความเร็วประมาณ 100 รอบ/นาที 12 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักไคโตแซนที่สามารถละลายได้ในสารละลายกรดแต่ละความเข้มข้น ทำการทดลอง 3 ซ้ำสำหรับแต่ละความเข้มข้นของกรด

2.3 ศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำยางสกิม

2.3.1 การเก็บตัวอย่างน้ำยางสกิม

ตลอดการทดลองนี้ใช้ตัวอย่างน้ำยางสกิมซึ่งเก็บจากบ่อพักของ บริษัท ฉลองอุตสาหกรรมน้ำยางข้น จำกัด อ. จะนะ จ. สงขลา 2 ครั้ง (20 ก.พ. 2544 และ 7 มี.ค. 2544) เนื่องจากตัวอย่างแต่ละวันมีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพต่างกัน จึงเก็บตัวอย่างครั้งละประมาณ 10 ลิตร เพื่อให้ได้ปริมาณเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์และประเมินความสัมพันธ์ของ parameters ต่างๆที่ทำการศึกษาจากตัวอย่างชุดเดียวกัน

เนื่องจากการวิเคราะห์คุณสมบัติแต่ละชนิดในน้ำยางสกิมไม่สามารถดำเนินการให้เสร็จสิ้นได้ในระยะเวลาสั้นจำเป็นต้องเก็บรักษาในระหว่างรอการวิเคราะห์ ความแตกต่างของ pH ในแต่ละตัวอย่างอาจทำให้คุณสมบัติต่างๆเปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการเก็บรักษา จึงเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C และค่อยๆปรับ pH เป็น 9 ด้วย 10.80% อะซิติก (น.น. : ปริมาตร) ก่อนนำไปศึกษาคุณสมบัติต่างๆ

2.3.2 **การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งรวม** (Total solid content : TSC)

ปริมาณของแข็งรวมในน้ำยางสกิม (TSC) วิเคราะห์ด้วยวิธีซึ่งดัดแปลงจาก ASTM (1982) โดยชั่งตัวอย่างน้ำยางประมาณ 10 กรัม ใน petri dish นำไปอบในตู้อบที่มีระบบระบายอากาศที่อุณหภูมิ 70±2 ^{0}C จนกว่าได้น้ำหนักคงที่ (ใช้เวลาประมาณ 3 วัน) บันทึกน้ำหนักเพื่อคำนวณหาค่า TSC เป็นร้อยละของน้ำยางสกิม (= น้ำหนักของแข็งรวมในน้ำยางสกิม/น้ำหนักตัวอย่างน้ำยางสกิม x 100 =) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.4 ศึกษาประสิทธิภาพในการรวมเนื้อยางของไคโตแซน

2.4.1 ศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดอะซิติกโดยไม่ทำให้เกิดการรวมตัวของเนื้อยาง

เนื่องจากการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของไคโตแซนในรูปสารละลายที่ทำให้เกิดการจับตัวของเนื้อยางในน้ำยางสกิม แต่ตัวทำละลายสำหรับการเตรียมสารละลายไคโตแซนคือกรดอะซิติกก็ทำให้เนื้อยางจับตัวได้เช่นกัน ดังนั้นการทดลองเบื้องต้นจึงต้องหาระดับความเข้มข้นของกรดที่ใช้เป็นตัวทำละลายโดยไม่ทำให้เนื้อยางแยกจากส่วนที่เป็นน้ำ ความเข้มข้นดังกล่าวนี้จะกำหนดให้เป็นมาตรฐานตลอดการทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพของไคโตแซนต่อการจับตัวของอนุภาคยางจากน้ำยางสกิมต่อไป

การทดลองดำเนินการโดยเติม 2 มล. กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้น 1.08, 2.16, 3.24, 4.32, 5.40 และ 6.48% (น.น. : ปริมาตร) ลงใน 8 มล.น้ำยางสกิมซึ่งปรับ pH เป็น 9 แล้ว หลังจากผสมให้เข้ากันดีสังเกตการจับตัวของอนุภาคยาง เลือกความเข้มข้นของกรดที่ยังไม่ทำให้อนุภาคยางจับตัวกันมาใช้เป็นมาตรฐานในการเตรียมสารละลายไคโตแซนเพื่อการศึกษาต่อไป ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับแต่ละความเข้มข้นของกรด

2.4.2 ศึกษาอิทธิพลของไคโตแซนต่อการจับตัวกันของอนุภาคยางสกิม

เนื่องจากไคโตแซนมีคุณสมบัติเป็น cationic polyelectrolyte และอนุภาคยางมีประจุรวมเป็นลบ โพลิเมอร์ทั้งสองชนิดนี้จึงน่าจะมีแรงยึดเหนี่ยวซึ่งกันและกันทำให้เกิดการรวมกลุ่มของอนุภาคยางแยกจากส่วนที่เป็นน้ำได้ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นของไคโตแซนในระดับต่ำที่ทำให้อนุภาคยางในน้ำยางสกิมจับตัวเกิดการรวมกลุ่มแยกจากส่วนที่เป็นน้ำออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด การทดลองนี้ใช้สารละลาย

ไคโตแซนในกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้นมาตรฐาน ซึ่งผลการทดลองในข้อ 2.4.1 พบว่าควรอยู่ระหว่าง 1.08 และ 2.16% (น.น. : ปริมาตร)

การทดลองเบื้องต้นดำเนินการโดยเตรียมสารละลาย 1%ไคโตแซน (น.น. : ปริมาตร) ใน 1.08 และ 2.16% กรดอะซิติก (น.น. : ปริมาตร) แล้วเจือจางให้มี 9 ระดับความเข้มข้นแบบ serial dilution 1 : 2 ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้นเดียวกัน เติมสารละลายไคโตแซนแต่ละความเข้มข้นดังกล่าวลงใน 8 มล. ของน้ำยางสกิม pH 9 (ความเข้มข้นของไคโตแซนในน้ำยางสกิม คือ 2,000, 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62 และ 7.81 ppm) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับแต่ละความเข้มข้นของไคโตแซน หลังจากผสมให้เข้ากันดีสังเกตการจับตัวของอนุภาคยาง เลือกช่วงความเข้มข้นของไคโตแซนที่ทำให้อนุภาคยางจับตัวกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ความเข้มข้นต่ำและรวดเร็ว) มาศึกษาหาระดับความเข้มข้นของไคโตแซนซึ่งทำให้อนุภาคยางจับตัวกันอย่างละเอียดต่อไป

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่ากรดอะซิติกที่ใช้เป็นตัวทำละลายไคโตแซนโดยไม่มีผลทำให้อนุภาคยางจับตัวกันควรมีความเข้มข้น 2.16% และไคโตแซนที่ทำให้เกิดการรวมอนุภาคยางในน้ำยางสกิมควรมีความเข้มข้นในช่วง 250-500 ppm (ความเข้มข้นในน้ำยางสกิม) ขั้นต่อไปจึงหาระดับความเข้มข้นของไคโตแซนอย่างละเอียดโดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้นแต่ปรับความความเข้มข้นของไคโตแซนในน้ำยางสกิมเป็น 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 ppm ตามลำดับ หลังจากผสมให้เข้ากันดีสังเกตความแตกต่างของเวลาที่ใช้ในการแยกเนื้อยางออกจากส่วนที่เป็นน้ำ ทำการทดลอง 3 ซ้ำสำหรับแต่ละความเข้มข้นของไคโตแซน เลือกช่วงความเข้มข้นของไคโตแซนที่ทำให้อนุภาคยางจับตัวกันได้อย่างมีประสิทธิภาพมาใช้รวมอนุภาคยางจากน้ำยางสกิมเพื่อศึกษาคุณสมบัติของผลผลิตและประเมินคุณสมบัติของของเหลวที่เหลือหลังจากแยกเนื้อยางออกไปซึ่งอาจถือได้ว่าเป็นน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตต่อไป

2.5 ประเมินคุณภาพของเหลวที่เหลือจากแยกเนื้อยางออกจากน้ำยางสกิม

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณสมบัติของของเหลวหลังการแยกเนื้อยางออกไปซึ่งอาจถือได้ว่าเป็นน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเปรียบเทียบกับของเหลวที่เหลือจากการทำให้เนื้อยางจับตัวกันด้วย สารละลายไคโตแซน กรดซัลฟิวริก และ กรดอะซิติก การทดลองดำเนินการโดย ใช้ 250-500 ppm ไคโตแซนที่ละลายใน 2.16% อะซิติก

ในน้ำยางสกิม pH 9 เป็นช่วงความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสม และใช้ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวไปเปรียบเทียบคุณสมบัติอื่นๆ ของน้ำที่เหลือจากแยกเนื้อยางด้วย1.30% อะซิติก (น.น. : ปริมาตร, ซึ่งเป็นผลการศึกษาในข้อ 2.4.2) 1.84% ซัลฟิวริก (น.น.:ปริมาตร, จากการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการแยกยางสกิม pH 9 ด้วยกรดซัลฟิวริกวิธีเดียวกับการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดอะซิติก ไม่ได้แสดงในวิธีทดลอง) ในน้ำยางสกิม pH 9 ซีรั่มจากน้ำยางสกิม pH 9 และซีรั่มจากน้ำยางสกิมที่ยังไม่ผ่านการปรับ pH โดยการหาปริมาณโปรตีน ปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของค่า COD (Chemical Oxygen Demand) และ BOD (Biochemical Oxygen Demand)

2.5.1 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

โปรตีนในของเหลวที่เหลือหลังการแยกเนื้อยางจากน้ำยางสกิมมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ (soluble proteins) นับว่าเป็นต้นเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของน้ำที่เหลือจากกระบวนการผลิต จึงทำการทดลองเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนดังกล่าวหลังจากการแยกเนื้อยางออกจากน้ำยางสกิมด้วยกรดอะซิติกและกรดซัลฟิวริกเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายไคโตแซน

เพื่อความสะดวกของการทดลองในการเตรียมของเหลวที่เหลือจากการแยกเนื้อยางออกไป จึงตวงตัวอย่างน้ำยางสกิม pH 9 ปริมาตร 8 มล. ลงในหลอดพลาสติกที่เจาะรูไว้ก่อน หุ้มรอยเจาะด้วยพาราฟิล์ม เติมสารละลายไคโตแซน 2 มล (ใน 2.16%กรดอะซิติก) ซึ่งมีความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0.125, 0.15, 0.175, 0.20, 0.225 และ 0.25% ลงไป (ความเข้มข้นของไคโตแซนในน้ำยางสกิมเป็น 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 ppm ตามลำดับ) วางให้เนื้อยางลอยขึ้นสู่ส่วนบนของหลอด เปิดพาราฟิล์มออกเก็บส่วนที่เป็นของเหลวสำหรับนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry (Tietz, 1982)

เพื่อเปรียบคุณสมบัติของน้ำทิ้งที่เหลือจากกระบวนการผลิตเมื่อใช้กรดซัลฟิวริกและกรดอะซิติกสำหรับการแยกเนื้อยาง จึงทำการทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้ กรดซัลฟิวริกและกรดอะซิติกความเข้มข้น 9.20% และ 6.48% ตามลำดับ (ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกและกรดอะซิติก ในน้ำยางสกิมเป็น 1.84%และ 1.30%;น.น. : ปริมาตร, ตามลำดับ) นอกจากนั้นยังทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติของของเหลวจากน้ำยางสกิมที่ผ่านและไม่ผ่านการปรับ pH ให้เป็น 9 โดยการนำตัวอย่างน้ำยางสกิมทั้งสองแบบไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

ด้วย ultracentrifuge (Beckman; roter 65Ti) ความเร็ว 30,000 rpm (70,000g) เป็นเวลา 45 นาที เก็บซีรั่มไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนเช่นเดียวกับตัวอย่างอื่นๆ

2.5.2 **การวิเคราะห์หาค่า COD (Chemical Oxygen Demand)**

ความสกปรกของของเหลวที่เหลือจากการแยกเนื้อยางออกจากน้ำยางสกิมเป็นปัญหาสำคัญประการหนึ่งในกระบวนการบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำยางข้น การทดลองนี้จึงทำการวิเคราะห์หาค่า COD ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ระดับความสกปรกในน้ำทิ้งที่เหลือจากการแยกเนื้อยางออกจากน้ำยางสกิมด้วยไคโตแซนเปรียบเทียบกับการใช้กรดต่างชนิดกัน การวิเคราะห์ค่า COD ในตัวอย่างน้ำเสียดำเนินการด้วยวิธี Dichromate Reflux แบบเปิดตามมาตรฐานที่กำหนดโดย APHA (1998) (ดูรายละเอียดของวิธีการในภาคผนวก) ชนิดน้ำเสียที่นำมาศึกษาเปรียบเทียบและวิธีการเตรียมตัวอย่างดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในข้อ 2.5.1

2.5.3 **การวิเคราะห์หาค่า BOD (Biochemical Oxygen Demand)**

ค่า BOD เป็นดัชนีบ่งชี้ระดับความสกปรกในน้ำอีกชนิดหนึ่งซึ่งหมายถึงปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องใช้เพื่อการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำภายใต้สภาวะที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด การทดลองนี้จึงทำการวิเคราะห์หาค่า BOD_5 ในน้ำทิ้งที่เหลือจากการแยกเนื้อยางออกจากน้ำยางสกิมด้วยไคโตแซนเปรียบเทียบกับการใช้กรดต่างชนิดกัน วิธีวิเคราะห์ดำเนินการด้วยวิธี Azide Modification Method ตามมาตรฐานที่กำหนดโดย APHA (1998) (ดูรายละเอียดของวิธีการในภาคผนวก)

2.6 ประเมินคุณภาพเนื้อยาง

การทดลองนี้ทำการศึกษาคุณสมบัติของเนื้อยางที่ได้เมื่อใช้ไคโตแซนแยกเนื้อยางออกจากน้ำยางสกิมเปรียบกับการใช้กรดอะซิติกและกรดซัลฟิวริกเพื่อนำผลิตผลไปประยุกต์ใช้อย่างเหมาะสมกับงานแต่ละด้าน โดยทำการวิเคราะห์หาส่วนที่ไม่ใช่ยาง (non-rubber contents) ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจน สารที่สกัดได้ด้วยอะซิโตน เถ้า และ คุณสมบัติทางฟิสิกส์ได้แก่ ความเข้มของสี ดัชนีความอ่อนตัว และความหนืดมูนนี่

2.6.1 **การเตรียมเนื้อยาง**

การเตรียมเนื้อยางเพื่อทดสอบคุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมี ดำเนินการเช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 2.5.1 แต่เนื่องจากเนื้อยางที่ได้จากการใช้ 1.84% ซัลฟิวริก และ

1.30% อะซิติก มีลักษณะเปื่อยยุ่ยไม่สามารถทำให้เป็นแผ่นได้ ในขณะที่การใช้สารละลายไคโตแซนสามารถทำเป็นแผ่นได้ดี ดังนั้นเพื่อให้ได้เนื้อยางในลักษณะเดียวกันจึงใช้วิธีการปั่นแยก (Beckman, JA 2 – 21, roter JA – 20) ความเร็ว 10,000 rpm (8,000g) เป็นเวลา 45 นาที นำเนื้อยางที่ได้มารีดเป็นแผ่น ล้างด้วยน้ำกลั่น ตากให้แห้ง และ นำมาตัดด้วยกรรไกรขนาด 1 - 3 มม. อบในตู้อบลมร้อนที่ 70±2 ^{0}C จนน้ำหนักคงที่ วางให้เย็นในเดสซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด (0.0001 กรัม) เก็บตัวอย่างเหล่านี้เพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีของเนื้อยางต่อไป

2.6.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ไม่ใช่ยาง

เนื่องจากในเนื้อยางธรรมชาติมีส่วนประกอบที่ไม่ใช่ยางปนอยู่ด้วยเช่น ไนโตรเจนซึ่งอาจเป็นโปรตีนหรือสารประกอบอื่น เช่น ไขมัน น้ำตาล สารอนินทรีย์ เป็นต้น ส่วนประกอบเหล่านี้หากมีในปริมาณมากมีผลทำให้คุณภาพของเนื้อยางต่ำลง ในการทดลองนี้จึงได้วิเคราะห์ส่วนประกอบที่ไม่ใช่ยางในตัวอย่างเนื้อยางที่เตรียมตามที่กล่าวในข้อ 2.6.1 คือ ปริมาณไนโตรเจน สารที่สกัดได้ด้วยอะซิโตน และ เถ้า

2.6.2.1 ปริมาณไนโตรเจน

ไนโตรเจนในยางดิบส่วนใหญ่อยู่ในรูปของโปรตีน ดังนั้นปริมาณของไนโตรเจนจึงเป็นตัวชี้บ่งว่าในยางดิบมีโปรตีนอยู่มากน้อยเพียงใด หากมีปริมาณไนโตรเจนสูงมีผลให้ยางเกิดการคงรูปเร็วขึ้น (fast cure) การวิเคราะห์ดำเนินการตามวิธีที่แนะนำโดย AOAC (1984) และ ASTM (1982) (ดูรายละเอียดวิธีการในภาคผนวก)

2.6.2.2 ปริมาณสารที่สกัดได้ด้วยอะซิโตน

สารที่ถูกสกัดได้ด้วยอะซิโตนจากเนื้อยางอาจเป็นสารประกอบหลายชนิดเช่น กรดไขมัน สเตอรอล (sterols) ควิบราซิทอล (quibrachitol) และ เรซิน (resins) เป็นต้น การทดลองนี้วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานที่แนะนำใน ASTM (1982) (ดูรายละเอียดวิธีการในภาคผนวก)

2.6.2.3 ปริมาณเถ้า (ash)

เถ้า (ash) ในยางธรรมชาติส่วนใหญ่ประกอบด้วยเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) เช่น คาร์บอเนตออกไซด์ และฟอสเฟตของโพแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม และแร่ธาตุอื่นๆ นอกจากนี้อาจมีส่วนประกอบของซิลิกาหรือซิลิเกตซึ่ง

มีอยู่ในเนื้อยางจากธรรมชาติหรือเป็นสิ่งปนเปื้อนจากภายนอก การวิเคราะห์ในการทดลองนี้ดำเนินการตามวิธีที่แนะนำใน ASTM (1982) (ดูรายละเอียดวิธีการในภาคผนวก)

2.6.3 **การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์**

การนำยางธรรมชาติไปใช้ให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของวัตถุดิบที่นำมาใช้ การทดลองนี้จึงได้วิเคราะห์คุณสมบัติทางฟิสิกส์ในตัวอย่างเนื้อยางต่างๆที่เตรียมในข้อ 2.6.1 เช่น ความเข้มของสี ดัชนีความอ่อนตัว ความหนืดมูนนี

2.6.3.1 **ความเข้มของสี**

ผลิตภัณฑ์จากยางอาจต้องใช้วัตถุดิบที่มีสีระดับต่างกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความใสหรือมีสีต่างๆ การวัดความเข้มของสีในเนื้อยางแผ่นดำเนินการโดยเปรียบเทียบกับสีมาตรฐานของ Lovibond dics rubber latex ตามวิธีที่แนะนำใน ASTM (1982) โดยนำตัวอย่างยาง 20±5 กรัม บดโดยเครื่องบดซึ่งมีน้ำเย็นไหลผ่านลูกกลิ้งที่ปรับช่องห่างไว้แล้ว 2 ครั้ง พับครึ่ง ทำให้เรียบด้วยลูกกลิ้งให้ได้ความหนาประมาณ 3.2 - 3.6 มิลลิเมตร ตัดตัวอย่างที่ปรับผิวให้เรียบแล้วออกมา 2 ชิ้น นำมาประกบกัน วางลงในแบบพิมพ์ ประกบแบบพิมพ์ด้วยแผ่นฟิล์มพอลิเอสเตอร์หรือเซลลูโลสแล้วประกบด้วยแผ่นสเตนเลสหรืออลูมิเนียม นำเข้าเครื่องอัดที่ความดัน 500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 150±3 $^{\circ}$C เป็นเวลา 5 นาที ±30 วินาที เปรียบเทียบสีกับสีมาตรฐาน

2.6.3.2 **ดัชนีความอ่อนตัว** (plasticity retention index : PRI)

ดัชนีความอ่อนตัวของยางเป็นดัชนีบ่งชี้ความต้านทานของยางดิบต่อการแตกหักของโมเลกุลที่อุณหภูมิสูงหรือปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) ยางที่มีดัชนีความอ่อนตัวสูงแสดงว่ามีความต้านทานต่อการแตกหักของโมเลกุลสูง การวัดดัชนีความอ่อนตัวของยางสำหรับการทดลองนี้ดำเนินการตามวิธีที่แนะนำใน ASTM (1982) โดยนำยางที่เตรียมไว้ 20±5 กรัม บดผ่านเครื่องบดซึ่งมีน้ำเย็นไหลผ่านลูกกลิ้งที่ปรับช่องห่างไว้แล้ว 2 ครั้ง พับครึ่ง ทำให้เรียบด้วยลูกกลิ้งให้ได้ความหนาประมาณ 3.2 - 3.6 มล. ตัดตัวอย่างออกมาเป็น 6 ชิ้น แบ่งชิ้นทดสอบเป็น 2 ชุด ชุดละ 3 ชิ้น วางชิ้นทดสอบหมายเลข 1 ระหว่างอลูมิเนียมฟลอยด์ นำเข้าเครื่องอัดชิ้นทดสอบ โดยแป้นโลหะกลมบนและล่างจะกดให้ชิ้นทดสอบมีความหนา 1 มล. ทำให้ร้อน 100°C เป็นเวลา 15 วินาที อัดด้วยแรง 10±0.1 กก.

เป็นเวลา 15 วินาที อ่านค่าความอ่อนตัวเป็นค่า มัธยฐานค่าความอ่อนตัวของยางชุดที่ไม่อบ (P_0) นำชิ้นทดสอบหมายเลข 2 เข้าตู้อบซึ่งควบคุมอุณหภูมิแน่นอนที่ 140^{0}C เป็นเวลา 30 นาที ±15 วินาที นำชิ้นทดสอบออกมาทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 30 นาที นำไปหาค่าความอ่อนตัวตามวิธีที่กล่าวมาแล้ว จะได้ค่า มัธยฐานค่าความอ่อนตัวของยางชุดที่อบแล้ว (P_{30}) คำนวณหาค่าดัชนีความอ่อนตัวดูได้จากภาคผนวก

2.6.3.3 **ความหนืดมูนนี่** (mooney viscosity –V_R)

ความหนืดมูนนี่ของยางสัมพันธ์โดยตรงกับน้ำหนักโมเลกุลของยาง ยางที่มีความหนืดสูงแสดงว่ามีน้ำหนักโมเลกุลมากและจะมีความแข็งมาก การนำยางไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์บางชนิดอาจต้องผ่านกระบวนการที่ทำให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลงซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีต้นทุนสูง การวัดความหนืดมูนนี่ของยางสำหรับการทดลองนี้ดำเนินการตามวิธีที่แนะนำใน ASTM (1982) คือตรวจสอบอุณหภูมิของช่องใส่ยางให้คงที่ที่อุณหภูมิ 100^{0}C อุ่นโรเตอร์ (rotor) โดยใส่ลงในช่องใส่ยางให้ร้อนเป็นเวลา 2 นาที นำโรเตอร์ออกจากช่องใส่ยาง แบ่งยางที่เตรียมไว้ออกเป็นสองส่วนๆละประมาณ 25 กรัม แต่ละส่วนมีความหนาประมาณ 6 มล. และมีน้ำหนักประมาณ 12.5 กรัม นำยางประกบด้านบนและล่างของโรเตอร์ ใส่ในช่องใส่ยาง แล้วเดินเครื่อง เครื่องจะอุ่นยางเป็นเวลา 1 นาที และโรเตอร์หมุนวัดความหนืดเป็นเวลา 4 นาที รูปแบบการบันทึกค่าความหนืดมูนนี่ คือ

ความหนืด = x ML (1+4) 100^{0}C

เมื่อ x = ค่าความหนืดที่อ่านได้จากเครื่อง

M = Mooney

L = โรเตอร์ใหญ่ (ในกรณีที่ยางแข็งมากใช้โรเตอร์เล็ก S)

1 = เวลาที่ใช้ในการอุ่นยาง หน่วยเป็นนาที

4 = เวลาที่โรเตอร์หมุนวัดความหนืด หน่วยเป็นนาที

100^{0}C = อุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบ