

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์	รูปแบบ (model)	บริษัทหรือหน่วยงานผู้ผลิต
เครื่องเขย่า (rotary shaker)	Big Bill	Thermolyne corporation Japan
ตู้อบ (hot air oven)	-	Prolabo ,Japan
เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด	A 200 S	Sartorius GmbH, West Germany
เครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking water bath)	Heto	DT Hethotherm ,Japan
เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)	UV-240	Shimadzu corporation Japan
เครื่อง SEM (Scanning Electron Microscope)	JSM 35 CF	JEOL , Japan
เครื่องเคลือบทอง (พ่นโคท)	Iron sputter model JEC-1100	JEOL ,Japan
ตู้แช่เย็น	Rotary freezer	Mitsubishi, Japan
เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)	Varifuge K	Heraeus , Chirst, West Germany
เครื่องผสมเวอร์เทกซ์ (vertex mixer)	cat.NO.1291 supper mixer	Lab-line instrument USA

อุปกรณ์	รูปแบบ (model)	บริษัทหรือหน่วยงานผู้ผลิต
เครื่องวัดพีเอช	pH meter 220	Corning, USA.
เครื่องฟลูอิดซ์เบด	ประกอบขึ้นเอง ตามรูปที่ 3.2	ศูนย์พัฒนาและบริการเครื่องมือ ทางวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เครื่องวัดความหนืด	RUTD	Brookfield digital Viscometer , USA.
เครื่องวัดพีเอช	pH meter 220	Corning , USA.
ปั๊มดูดอากาศ (Suction pump)	GAST	GAST , USA.
ตะแกรงร่อนขนาด 50 และ 60 เมช	ASTM	Retsch , West Germany
เครื่องย่อยโปรตีน	Kjeldatherm	Gerhardt, West Germany
เครื่องกลั่นโปรตีน	Vapodest 1	Gerhardt, West Germany

3.2 วัสดุและสารเคมี

3.2.1 วัสดุและสารเคมีสำหรับเตรียมรูปเดกซ์แทรนเนสบนทราย

ทรายแม่น้ำ ขนาด 50-60 เมช

กรดไนตริก (Farmitalia Carlo Erba)

โซเดียมอะซีเตทไตรไฮเดรท (Fluka Chemie Ag., Switzerland)

กรดอะซีติก (Merck Chemical Company)

อะมิโนโพรพิลไตรเอทออกซีไซเลน (Sigma Chemical Company USA.)

กลูตารัลดีไฮด์ (Fluka Chemie Ag., Switzerland)

เดกซ์แทรนเนส ชื่อทางการค้าเดกซ์แทรนเนส 50 แอล (Dextranase

50 L) (NOVO Industri A/S Copenhagen Denmark)

วิธีเตรียม

3.2.1.1 การเตรียมทรายก่อนการตรึงรูป(33)

ร่อนทรายแม่น้ำผ่านตะแกรงขนาด 50-60 เมชจากนั้น นำมาล้างด้วยน้ำประปาหลายๆ รอบจนหมดฝุ่นละอองอบแห้งและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนเติมกรดไนตริก ความเข้มข้นร้อยละ 70 ในอัตราส่วนทรายต่อกรดเป็น 1:1 โดยแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเทกรดออกล้างด้วยน้ำกลั่นจนพีเอชของน้ำกลั่นเท่ากับพีเอชของน้ำกลั่นบริสุทธิ์ อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เก็บในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อเตรียมเป็นตัวยุ้งสำหรับตรึงรูปเดกซ์แทรนเนส

3.2.1.2 กรดไนตริกเข้มข้นใช้สำหรับเตรียมทรายก่อนการตรึงรูป

3.2.1.3 สารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 4.5 เตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-9.1

3.2.1.4 สารละลายอะมิโนโพรพิลไตรเอทออกซีไซเลน (เอพีทีเอส)
เตรียมสารละลายเอพีทีเอสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายเพื่อให้เป็นสารกระตุ้นตัวยุ้งในกระบวนการตรึงรูป

3.2.1.5 สารละลายกลูตารัลดีไฮด์

เตรียมสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายเพื่อให้เป็นสารสร้างพันธะร่วมในกระบวนการตรึงรูป

3.2.1.6 สารละลายเดกซ์แทรนเนส

เตรียมสารละลายเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร โดยใช้ อะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เป็นตัวทำละลาย เพื่อให้ในกระบวนการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทราย (1 มิลลิลิตร ของเดกซ์แทรนเนส 50 แอล มีแอกติวิตี 688,400 ยูนิต)

1 หน่วยเอนไซม์ (unit enzyme) คือปริมาณเอนไซม์ เปลี่ยนสับสเตรทเดกซ์แทรนน้ำหนักโมเลกุล 2,000,000 ไปเป็นผลิตภัณฑ์ (คำนวณเทียบกับ D-glucose 1 ไมโครกรัม) ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

3.2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์แอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนส (35)

3.2.2.1 ปฏิกริยาการย่อยสลายเดกซ์แทรน

โซเดียมอะซีเตทไตรไฮเดรท (Fluka Chemie Ag.,
Switzerland)

กรดอะซีติก (Merck Chemical Company)

เดกซ์แทรน น้ำหนักโมเลกุล 2,000,000 (Sigma
Chemical Company USA.)

3.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Somogyi-Nelson

กลูโคสแอนไฮดรัส (Merck Chemical Company)

ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka Chemie Ag.,
Switzerland)

โปตัสเซียม โซเดียมทาร์เตรท (Merck Chemical Company)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Farmitalia Carlo Erba)

คอปเปอร์ซัลเฟต (Farmitalia Carlo Erba)

แอมโมเนียมโมลิบเดต (May & Baker Ltd. Dagemham
England)

กรดกำมะถัน (Riedel-de Haen Ag Seelze-Hannover)

โซเดียมไฮโดรเจนอาร์ซีเนท (Merck Chemical Company)

วิธีเตรียม

3.2.2.1 ปฏิกริยาการย่อยสลายเดกซ์แทรน

3.2.2.1.1 สารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์

ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5 เตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-9.1

3.2.2.1.2 สารละลายเดกซ์แทรนน้ำหนัก
โมเลกุล 2,000,000 โดยละลายเดกซ์แทรนความเข้มข้นร้อยละ 0.625 โดยน้ำหนักต่อ
ปริมาตร ในสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.5

3.2.2.2 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi
Nelson (36,37)

3.2.2.2.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคส
ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย จากนั้นเตรียม
สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางสารละลาย
น้ำตาลกลูโคสดังกล่าวข้างต้น

3.2.2.2.2 สารละลาย alkali copper
reagent โดยละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตจำนวน 71 กรัม โปแตสเซียมโซเดียม-
ทาร์เตรทจำนวน 40 กรัม โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล 100 มิลลิลิตร และ
สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 10 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร 1,000
มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดแก้วสีชา สารละลายเตรียมไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ก่อนการใช้งาน

3.2.2.2.3 สารละลาย Nelson reagent
โดยละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตจำนวน 53.2 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรด
กำมะถันเข้มข้น จำนวน 21 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนอาร์ซีเนทความ
เข้มข้นร้อยละ 12 จำนวน 50 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1,000
มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดแก้วสีชา สารละลายเตรียมไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 24-48 ชั่วโมง และ
นำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ก่อนการใช้งาน

3.2.3 สารเคมีสำหรับหาพีเอชที่เหมาะสมต่อการตรึงรูป และเสถียรภาพต่อพีเอช
โซเดียมอะซีเตทไตรไฮเดรต (Fluka Chemie Ag., Switzerland)
กรดอะซีติก (Merck Chemical Company)
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (BDH Chemical Ltd. Poole England)
ไดโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Merck Chemical Company)

ไดโซเดียมเตตระบอเรท (Merck Chemical Company)

กรดเกลือ (Merck Chemical Company)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Farmitalia Carlo Erba)

วิธีเตรียม

3.2.3.1 สารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 4.0-5.5
เตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-9.1

3.2.3.2 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6.0-7.0
เตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-9.2

3.2.3.3 บอเรทบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0-10.5
เตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-9.3

3.2.3.4 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 11.0-12.0
เตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-9.4

3.2.4 สารเคมีสำหรับหาเสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส
ซูโครส (Merck Chemical Company)

วิธีเตรียม

สารละลายซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใน

น้ำกลั่น

3.2.5 สารเคมีสำหรับหาเสถียรภาพต่อสารปฏิกริยาของเดกซ์แทรนเนส (38)
เฟอร์ริคคลอไรด์ (Merck Chemical Company)

เฟอร์รัสซัลเฟต (May & Baker Ltd. Dagenham England)

เมอร์คิวรีคคลอไรด์ (Farmitalia Carlo Erba)

เลด อะซีเตท (Merck Chemical Company)

คอปเปอร์ซัลเฟต (BDH Chemical Ltd. Poole England)

ซิลเวอร์ไนเตรท (May & Baker Ltd. Dagenham England)

ซิงค์อะซีเตท (Merck Chemical Company)

คอปเปอร์อะซีเตท (May & Baker Ltd. Dagenham England)

โปแตสเซียมเพอร์ริชยาไนต์ (Mallinckrodt, INC.)

โซเดียมแอสคอร์เบท (BDH Chemical Ltd. Poole England)

เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก แอซิด (Merck Chemical Company)

วิธีเตรียม

เตรียมสารละลายของสารปฏิชีวนาต่าง ๆ ข้างต้นที่ความเข้มข้น 6×10^{-3} โมลาร์ โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

3.2.6 วัสดุและสารเคมีที่ใช้หาปริมาณเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย. (39)

น้ำอ้อยรวม (โรงงานน้ำตาลสุพรรณบุรี กรมโรงงานอุตสาหกรรม)

น้ำอ้อยจากอ้อยเผาไฟทิ้งไว้ 3-5 วันก่อนหีบ

แอบโซลูทเอซิลแอลกอฮอล์ (Famitalia Carlo Erba)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Famitalia Carlo Erba)

ไตรโซเดียมซีเตรท (Famitalia Carlo Erba)

แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต (BDH Chemical Ltd. Poole England)

ฟีนอล (Famitalia Carlo Erba)

กรดไตรคลอโรอะซีติก (BDH Chemical Ltd. Poole England)

กรดกำมะถัน (Riedel-De Haen Ag. Seelze-Hannover)

ฟูลเลอร์เอิร์ท (May & Baker Ltd. Dagenham England)

วิธีเตรียม

3.2.6.1 เอซิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร

เจือจางแอบโซลูทเอซิลแอลกอฮอล์ จำนวน 80 มิลลิลิตร

ด้วยน้ำกลั่น จำนวน 20 มิลลิลิตร

3.2.6.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2.5 นอร์มัล

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 100 กรัม ในน้ำกลั่น

ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และเติมแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต ลง

ในสารละลายดังกล่าวจนอยู่ในสภาพอิ่มตัวด้วยโซเดียมซัลเฟต

3.2.6.3 สารละลายคอปเปอร์รีเอเจนท์

เตรียมสารละลายคอปเปอร์รีเอเจนท์ในรูปสารละลายสต็อก โดยนำคอปเปอร์ซัลเฟต จำนวน 3 กรัม และโซเดียมซิงเตรท จำนวน 30 กรัม ละลายใน น้ำกลั่น โดยละลายในลักษณะแยกกัน จากนั้นนำสารละลายทั้งสองชนิดมาผสมกัน ปรับ ปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดแก้วสีชา

การใช้งานนำสารละลายสต็อกดังกล่าวข้างต้น จำนวน 50 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตรและเติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส จำนวน 12.5 กรัม โดยสารละลายนี้จะต้องเตรียมใหม่ก่อนการใช้งานทุกวัน

3.2.6.4 สารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ละลายฟีนอลจำนวน 5 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตร

สุดท้าย 100 มิลลิลิตร

3.2.6.5 สารละลายสำหรับล้าง (Wash solution)

นำสารละลายคอปเปอร์รีเอเจนท์ จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2.5 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.2.6.6 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 10 โดย น้ำหนักต่อปริมาตร

ละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 10 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับ ปริมาตรสุดท้าย 100 มิลลิลิตร

3.2.6.7 สารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 2.0 นอร์มัล

ละลายกรดกำมะถันเข้มข้น จำนวน 98 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3.2.7 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อย โดยใช้ เครื่องปฏิกรณ์เดกซ์แทรนเนสตรึงรูปแบบฟลูอิดซ์เบด เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดซ์เบด

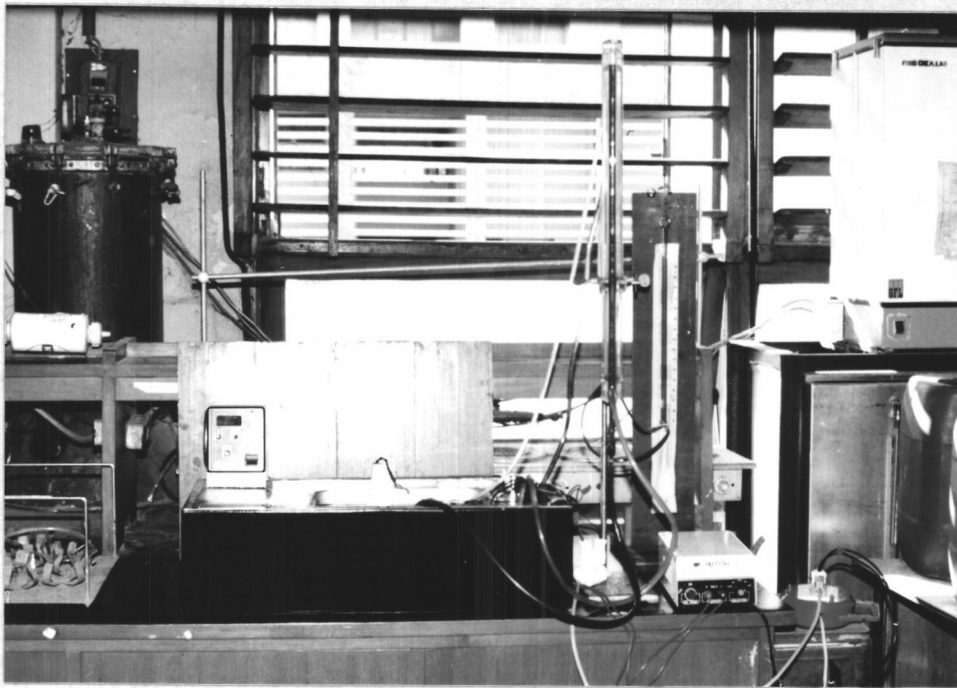
เดกซ์แทรนเนสตริงรูปบนทราย

น้ำอ้อยรวม

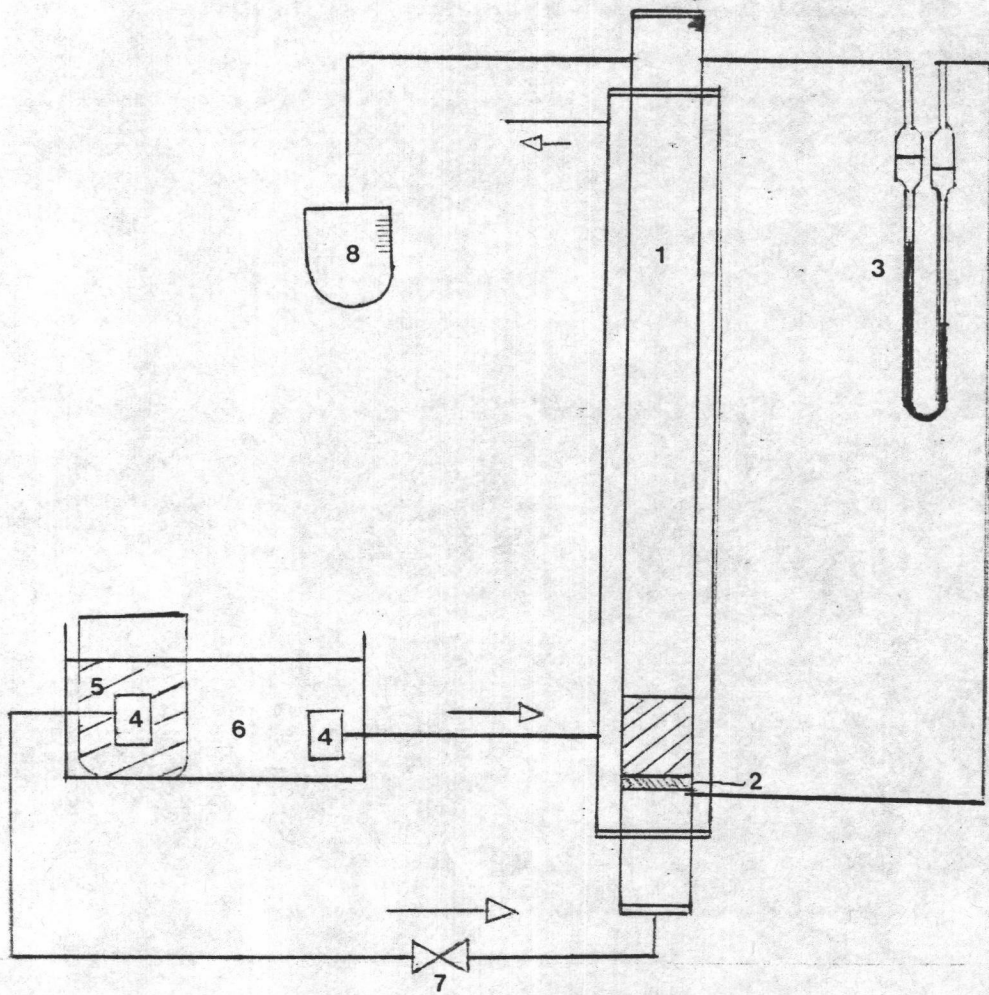
วิธีเตรียม

3.2.7.1 เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไคซ์เบด

ประกอบเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไคซ์เบดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ภายในขนาด 1.4 เซนติเมตร ความสูง 60 เซนติเมตร วัดจากแผ่นกระจายตัวของของเหลวถึงท่อของเหลวออก โดยมีท่อน้ำขึ้นนอกทำหน้าที่รักษาอุณหภูมิของปฏิกริยา ท่อที่ใช้เป็นวัสดุชนิดโพลีไวนิลคลอไรด์ใส (acrylic) อุปกรณ์ที่ใช้ร่วมกับเครื่องปฏิกรณ์นี้คือ มานอมิเตอร์ เครื่องควบคุมอุณหภูมิโดยใช้น้ำ เครื่องสูบ (pump) ขนาดเล็ก และหม้อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับ (AC adaptor input AC 220 V) 50 C/S output DC 3 A 6V-12V รายละเอียดของเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไคซ์เบด และการจัดชุดอุปกรณ์ของเครื่อง แสดงดังรูปที่ 3.1 และแผนภูมิรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.1 เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไคซ์เบด สำหรับกำจัดเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยพร้อมชุดอุปกรณ์ประกอบ



รูปที่ 3.2 แผนภูมิแสดงเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิด์เบด และอุปกรณ์ประกอบอื่น ๆ

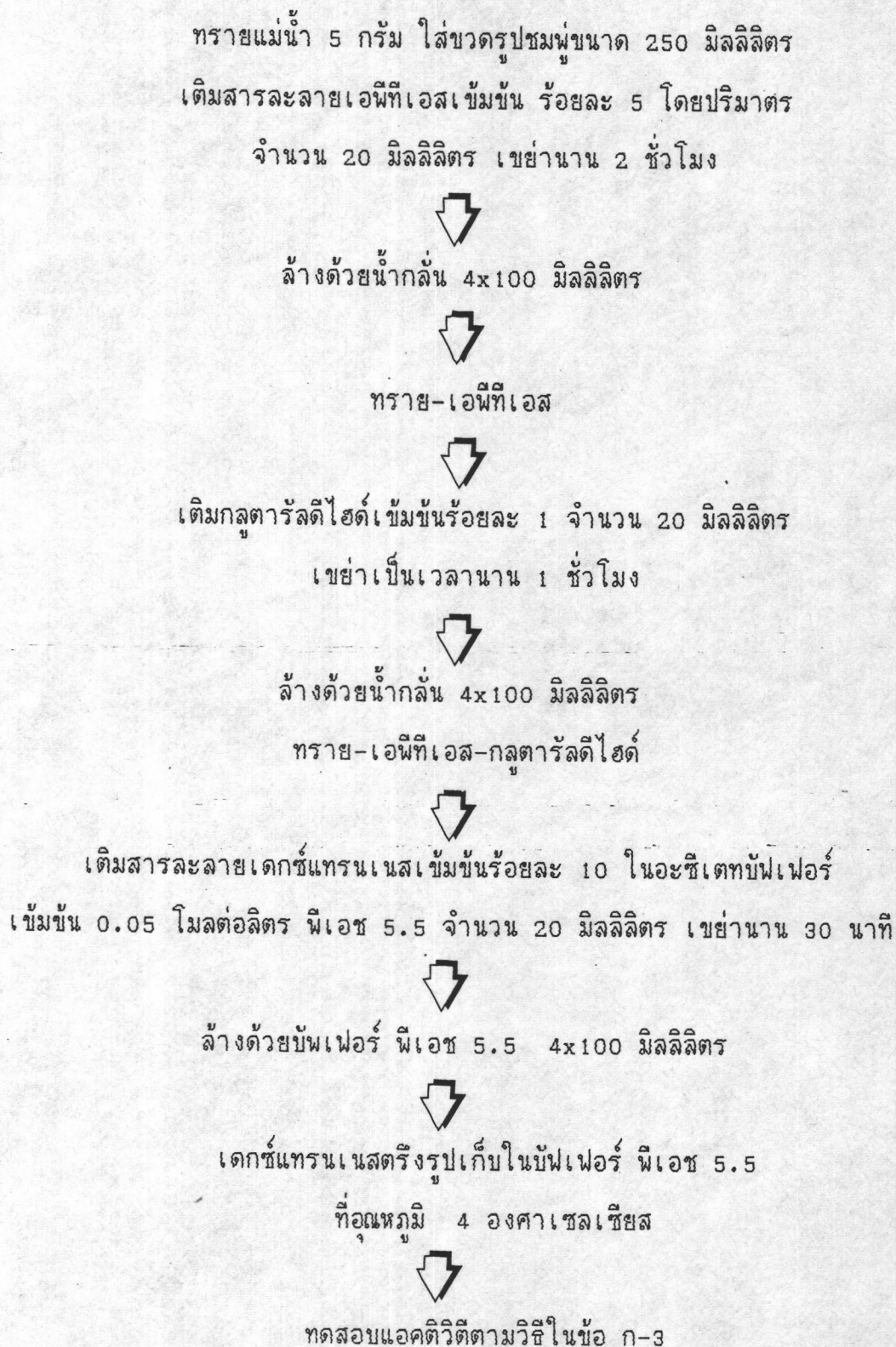
1. เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิด์เบด
2. แผ่นกระจายตัวของของเหลว
3. มานอมิเตอร์
4. เครื่องสูบลม (pump)
5. น้ำอ้อย
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
7. วาล์วเปิด-ปิด
8. ภาชนะจัดเก็บน้ำอ้อยหลังจากผ่านเครื่องปฏิกรณ์

3.2.7.2 เดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทราย

การเตรียมเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป

วิธีการเตรียมเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป มีขั้นตอนต่าง ๆ

ตามแผนภูมิรูปที่ 3.3 (33)



รูปที่ 3.3 แผนภูมิการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบนทราย

3.2.7.3 น้ำอ้อยรวม (จากอ้อยที่ถูกเผาไฟ และทิ้งไว้ 3-5 วัน)
น้ำอ้อยรวม นำมากรองเอาผงกากอ้อยออกด้วยตะแกรง
ขนาด 80 เมช นำไปแช่แข็งเพื่อเตรียมไว้สำหรับทดลองกำจัดเดกซ์แทรน จากน้ำอ้อย
โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์เดกซ์แทรนเนสตรึงรูปแบบฟลูอิดไคซ์เบด

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบนทราย

3.3.1.1 ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการตรึงรูป

เดกซ์แทรนเนสบนทราย

แปรอุณหภูมิในการตรึงรูป 2 ระดับ คือ อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) แปรเวลาที่ใช้ในการตรึงรูป
เดกซ์แทรนเนสบนตัวพุงที่ผ่านการเติมเอพิตีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ 4 ระดับคือ 30, 60,
90 และ 120 นาที วางแผนการทดลองแบบ Factorial completely randomized
design ขนาด 2x4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple range test
ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ทรายที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นนำมา ตรึงรูปตามแผนภูมิในข้อ

3.2.7.2 กำหนดความเร็วของเครื่องเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยตรึงรูปที่อุณหภูมิ 4
องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง ตลอดกระบวนการตรึงรูปจนกระทั่งถึงขั้นตอนการเติมสาร
ละลายเดกซ์แทรนเนสลงบนตัวพุง ทราย-เอพิตีเอส-กลูตารัลดีไฮด์ แปรเวลาในการเขย่า
ตัวพุงกับสารละลายเดกซ์แทรนเนส 4 ระดับ คือ 30, 60, 90 และ 120 นาที ล้าง
เดกซ์แทรนเนสตรึงรูปด้วยบัฟเฟอร์พีเอช 5.5 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมา
ทดสอบแอกติวิติตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.1.2 ศึกษาความเร็วรอบของเครื่องเขย่า และเวลาที่
เหมาะสมสำหรับการตรึงรูป

แปรความเร็วเครื่องเขย่าที่ความเร็วต่าง ๆ 4

ระดับ คือ 100, 200, 300 และ 400 รอบต่อนาที แปรเวลาการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนส
บนตัวพุง ทราย-เอพิตีเอส-กลูตารัลดีไฮด์ 4 ระดับคือ 30, 60, 90 และ 120

นาที่ ตามลำดับโดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial completely randomized design ขนาด 4x4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple range test ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ทรายที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแล้วนำมาตริงรูป ตามแผนภูมิในข้อ 3.2.7.2 กำหนดอุณหภูมิในการตริงรูปตามภาวะข้อ 3.3.1.1 แปรความเร็วของเครื่องเขย่าต่างๆ กัน คือ 100, 200, 300 และ 400 รอบต่อนาที จนกระทั่งถึงขั้นตอนการเติมสารละลายเดกซ์แทรนเนสลงบนตัวพุงแปรเวลาในการเขย่าตัวพุงกับสารละลายเดกซ์แทรนเนส 4 ระดับคือ 30, 60, 90 และ 120 นาทีล้างเดกซ์แทรนเนสตริงรูปด้วยบัฟเฟอร์พีเอช 5.5 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาทดสอบแอกติวิติตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.1.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเอพิตีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ที่เหมาะสมต่อการตริงรูป

3.3.1.3.1 แปรความเข้มข้นของสารละลายเอพิตีเอสในน้ำกลั่น 5 ระดับคือ ร้อยละ 0, 1, 3, 5 และ 7 โดยปริมาตร แปรความเข้มข้นของสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ในน้ำกลั่น 4 ระดับคือ ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 โดยปริมาตร โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial completely randomized design ขนาด 5x4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple range test ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ตริงรูปเดกซ์แทรนเนสตามแผนภูมิในข้อ 3.2.7.2 โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมจากการทดลอง 3.3.1.1, 3.3.1.2 แปรความเข้มข้นของสารละลายเอพิตีเอสและกลูตารัลดีไฮด์ที่ระดับต่างๆ ทดสอบแอกติวิติตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.1.3.2 แปรความเข้มข้นของสารละลายเอพิตีเอสในน้ำกลั่น 4 ระดับ คือร้อยละ 1, 3, 5 และ 7 โดยปริมาตร แปรความเข้มข้นของสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ในน้ำกลั่น 3 ระดับคือ ร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยปริมาตร วางแผนการทดลองแบบ Factorial completely randomized design ขนาด 4x3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple range test ทำการทดลอง 2 ซ้ำ




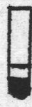
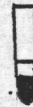
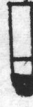
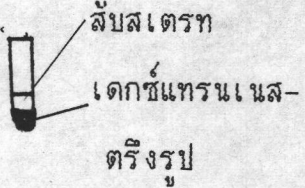
ตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสตามแผนภูมิในข้อ 3.2.7.2 โดยใช้
ภาวะเหมาะสมจากข้อ 3.3.1.1 และ 3.3.1.2 แปรความเข้มข้นของสารละลายเอพิตีเอส
และกลูตารัลดีไฮด์ที่ระดับต่างๆ ทดสอบแอกติวิติตามวิธีในภาคผนวก ก-3

หมายเหตุ การแปรความเข้มข้นของเอพิตีเอสและ
กลูตารัลดีไฮด์เป็นร้อยละ 0 นั้น ผลผลิตเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปที่ได้เป็นแบบ adsorption

เลือกความเข้มข้นของเอพิตีเอสและกลูตารัลดีไฮด์จากภาวะ
การทดลองข้อ 3.3.1.3.1 และ 3.3.1.3.2 ว่าความเข้มข้นของเอพิตีเอสและกลูตารัลดีไฮด์
จากการทดลองทั้งสองอยู่ที่ระดับเดียวกันหรือไม่หากไม่อยู่ระดับเดียวกันนำภาวะที่ได้จากการ
ทดลองมาทดสอบเพื่อหาประสิทธิภาพการเกาะเกี่ยวของเดกซ์แทรนเนสบนตัวพองของแต่ละ
ภาวะเปรียบเทียบกัน

3.3.1.3.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเกาะเกี่ยว
ของเดกซ์แทรนเนสบนตัวพองในข้อ 3.3.1.3.1 และ 3.3.1.3.2 ซึ่งวิธีการทดสอบเป็น
ดังแผนภูมिरูปที่ 3.4

ซึ่งเด็กซ์แทรนเนสตรังรูปใส่หลอดทดลอง

หลอดที่	1	2	3	4	5	6	บัฟเฟอร์ +
เวลาในการ ทำปฏิกิริยา							
	5	10	10	15	20	25	นาที



วิเคราะห์แอกติวิตีของเด็กซ์แทรนเนสตรังรูป ที่เวลา 5, 10, 15, 20, 25 นาที
ในหลอดที่ 1, 2, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ

ในขวดที่ 3 แยกเด็กซ์แทรนเนสตรังรูปออกจาก
ส่วนผสมของปฏิกิริยา



บ่มส่วนผสมของปฏิกิริยาที่แยกเด็กซ์แทรนเนสตรังรูปออกแล้ว
ต่อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



ยับยั้งปฏิกิริยา โดยแช่ลงในอ่างน้ำเดือด 15 นาที



ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีในภาคผนวก ก-1

รูปที่ 3.4 แผนภูมิการทดสอบประสิทธิภาพการเกาะเกี่ยวของเด็กซ์แทรนเนสบน
ตัวพยุง

3.3.1.4 ความเข้มข้นของเดกซ์แทรนเนสที่เหมาะสมต่อการตรึงรูป
 แปรความเข้มข้นของเดกซ์แทรนเนส (688400 ยูนิต ต่อ
 มิลลิลิตร) ในสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5 4 ระดับคือ
 ร้อยละ 1, 5, 10 และ 15 โดยปริมาตร เตรียมเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทรายตามแผน
 ภูมิในข้อ 3.2.7.2 โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.3.1.1, 3.3.1.2 และ
 3.3.1.3 แปรความเข้มข้นของเดกซ์แทรนเนส 4 ระดับคือร้อยละ 1, 5, 10 และ 15
 โดยปริมาตร เก็บเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปในบัฟเฟอร์พีเอช 5.5 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
 ทดสอบแอกติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.1.5 พีเอชที่เหมาะสมต่อการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบนทราย
 แปรพีเอชของสารละลายเดกซ์แทรนเนส โดยใช้บัฟเฟอร์
 พีเอชต่างๆกัน คือ อะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์
 พีเอช 6.0 และ 7.0 บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 และ 9.0 โดยใช้ความเข้มข้นของ
 เดกซ์แทรนเนสตามภาวะข้อ 3.3.1.4

เตรียมเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทรายตามแผนภูมิในข้อ
 3.2.7.2 โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.3.1.1, 3.3.1.2 และ 3.3.1.3
 แปรพีเอชของสารละลายเดกซ์แทรนเนสต่างๆกัน ภายหลังจากตรึงรูปเก็บเดกซ์แทรนเนส
 ตรึงรูปในบัฟเฟอร์ที่พีเอชของการตรึงรูปนั้นๆที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทดสอบแอกติวิตี
 ตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.2 ศึกษาโครงสร้างของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปเปรียบเทียบกับโครงสร้าง
 ของผิวทราย สะอาด

3.3.2.1 ศึกษาโครงสร้างของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปเปรียบเทียบกับ
 โครงสร้างของผิวทราย สะอาด
 วิธีเตรียม
 ตามแผนภูมิรูปที่ 3.5

ตัวอย่างทรายสะอาด และทรายตริงรูป



แช่ในสารละลาย ร้อยละ 2 กลูตารัลดีไฮด์ ใน 0.1 M phosphate
buffer พีเอช 7.0 เป็นเวลา 2-24 ชั่วโมง



ล้างด้วย phosphate buffer พีเอช 7.0
2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที



ระเหยน้ำบางส่วนด้วยสารละลายเอซิลแอลกอฮอล์
เข้มข้นร้อยละ 35, 50, 70, 80, 95 และ 100 โดยปริมาตร
ความเข้มข้นละ 15 นาที



ระเหยน้ำถึงระดับ CPD (critical point dry)



mounting on stub



เคลือบทองคำหนา 20-30 นาโนเมตร



ตรวจดูโครงสร้างด้วยเครื่อง SEM ที่กำลัง
ขยายต่าง ๆ

รูปที่ 3.5 แผนภูมิการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาโครงสร้างของเดกซ์แทรนเนสตริงรูป

3.3.2.2 วิเคราะห์แอกติวิตีต่อกรัมเดกซ์แทรนเนสตริงรูป

วิเคราะห์แอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสตริงรูปตามวิธีใน

ในภาคผนวก ก-3 คำนวณหาแอกติวิตี เป็นยูนิตต่อกรัมเดกซ์แทรนเนสตริงรูป

3.3.3 ศึกษาสมบัติทางด้านจลนพลศาสตร์ของเดกซ์แทรนเนสตริงรูปเปรียบเทียบกับเดกซ์แทรนเนสอิสระ

3.3.3.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาของเดกซ์แทรนเนสวิเคราะห์แอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสตริงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-3 และเดกซ์แทรนเนสอิสระตามวิธีในภาคผนวก ก-4 โดยบ่มเดกซ์แทรนเนสกับสับสเตรทที่อุณหภูมิต่างๆกัน คือ 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70 และ 80 องศาเซลเซียส

3.3.3.2 พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาของเดกซ์แทรนเนสเตรียมสับสเตรทเดกซ์แทรนน้ำหนักโมเลกุล 2,000,000 ความเข้มข้นร้อยละ 0.625 ละลายในบัฟเฟอร์พีเอชต่างๆ คืออะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 4.0-5.5 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6.0-7.0 และบอเรนบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 และ 9.0

3.3.3.2.1 เดกซ์แทรนเนสตริงรูปซึ่งเดกซ์แทรนเนสตริงรูปใส่หลอดทดลองหลอดละ 0.3 กรัม เติมน้ำบัฟเฟอร์พีเอชต่างๆลงในหลอดทดลองหลอดละ 2 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 5 นาที เติมสับสเตรทพีเอชเดียวกับพีเอชของบัฟเฟอร์ที่ใส่เดกซ์แทรนเนสในหลอดทดลองจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยแช่ในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.3.2.2 เดกซ์แทรนเนสอิสระละลายเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5

ปิเปตสารละลายเดกซ์แทรนพีเอชต่างๆลงในหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที เติมสารละลายเดกซ์แทรนเนสลงในหลอดทดลอง จำนวน 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยแช่ลงในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีในภาคผนวก ก-4

3.3.3.3 เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส

3.3.3.3.1 เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส ดริงรูป

เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส

ดริงรูปในสารละลายบัฟเฟอร์โดยนำเดกซ์แทรนเนสดริงรูปแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 5.5 บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 15 นาที ทดสอบแอกติวิตี ตามวิธีในภาคผนวก ก-3

เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส

ดริงรูปในสารละลายซูโครสเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยนำเดกซ์แทรนเนสดริงรูปแช่ในสารละลายซูโครสบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 15 นาที ทดสอบแอกติวิตี ตามวิธีใน ก-3 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร (ทั้งนี้จากการทำ scanning พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นนี้)

3.3.3.3.2 เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส อิสระ

เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส

ในสารละลายบัฟเฟอร์โดยเจือจางเดกซ์แทรนเนสเข้มข้น ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตรในสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 5.5 บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 15 นาที ทดสอบแอกติวิตี ตามวิธีในภาคผนวก ก-4

เสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนส

อิสระในสารละลายซูโครสเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เจือจางเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร ในสารละลายซูโครส บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 15 นาที นำมาทดสอบแอกติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-4

3.3.3.4 เสถียรภาพต่อพีเอชของเดกซ์แทรนเนส

3.3.3.4.1 เสถียรภาพต่อพีเอชของเดกซ์แทรนเนสดริงรูป แช่เดกซ์แทรนเนสดริงรูปในสารละลาย

บัฟเฟอร์พีเอชต่างๆกัน คืออะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 4.0-5.5 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช

6.0-7.0 บอเร็ตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0-12.0 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทดสอบแอกติวิตีที่เหลือนตามวิธีในภาคผนวก ก-3

3.3.3.4.2 เสถียรภาพต่อพีเอชของเดกซ์แทรนเนสอิสระ
เจือจางเดกซ์แทรนเนสอิสระเข้มข้นร้อยละ

0.5 โดยปริมาตร ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอชต่างๆ คือ อะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 4.0-5.5 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6.0-7.0 บอเร็ตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0-12.0 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำเดกซ์แทรนเนสที่ผ่านการบ่มแล้ว 1

มิลลิลิตร เจือจางด้วยบัฟเฟอร์พีเอช 5.5 จำนวน 4 มิลลิลิตร ทดสอบแอกติวิตีที่เหลือนตามวิธีในภาคผนวก ก-4

3.3.3.5 ค่า K_m โดยวิธี Michaelis-Menten method

ค่า K_m ของเดกซ์แทรนเนสอิสระและตรึงรูป หาแอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0 และ 7.0 ตามวิธีการในภาคผนวก ก-3 สำหรับเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปและวิธีในภาคผนวก ก-4 สำหรับเดกซ์แทรนเนสอิสระ โดยใช้สับสเตรทเดกซ์แทรนความเข้มข้นต่างๆ คือ 1×10^{-3} , 2×10^{-3} , 4×10^{-3} , 8×10^{-3} และ 16×10^{-3} มิลลิโมลาร์ (น้ำหนักโมเลกุลของเดกซ์แทรน = 2,000,000) หาค่า K_m โดยใช้ Lineweaver-Burk Plot

3.3.3.6 ค่าแอกติวิตีจำเพาะของเดกซ์แทรนเนส

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป และเดกซ์แทรนเนสอิสระโดยวิธี Semi-Micro Kjeldahl Distillation ค่าแอกติวิตีจำเพาะคือแอกติวิตีเป็นหน่วยเดกซ์แทรนเนสต่อปริมาณโปรตีนเป็นมิลลิกรัม

3.3.3.7 ค่าครึ่งชีวิต (Half life)

3.3.3.7.1 ค่าครึ่งชีวิตของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูป

เก็บเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปในสารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์พีเอช 3.5 อะซีเตทบัฟเฟอร์พีเอช 4.5-5.5 และฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6.0-7.0 ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น (8-10 องศาเซลเซียส) วัดแอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสที่ระยะเวลาต่างๆ ตามวิธีการในภาคผนวก ก-3

3.3.3.7.2 ค่าครึ่งชีวิตของเดกซ์แทรนเนสอิสระ

เจือจางเดกซ์แทรนเนสอิสระความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร ในสารละลายซีเตรตบัฟเฟอร์พีเอช 3.5 อะซีเตตบัฟเฟอร์พีเอช 4.5-5.5 และฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6.0-7.0 เก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้องเย็น (8-10 องศาเซลเซียส) วัดแอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆกันตามวิธีในภาคผนวก ก-4

3.3.3.8 ศึกษาผลของสารปฏิชีวนาต่อแอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนส

เตรียมสารละลายของสารปฏิชีวนา ได้แก่ FeCl_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, HgCl_2 , $\text{Pb}(\text{AcO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, AgNO_3 , $\text{Zn}(\text{AcO})_2$, $\text{Cu}(\text{AcO})_2$, EDTA, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ และ sodium ascorbate ความเข้มข้น 6×10^{-3} โมลาร์

3.3.3.8.1 ผลของสารปฏิชีวนาต่อแอกติวิตีของ

เดกซ์แทรนเนสตรังรูป

ซึ่งเดกซ์แทรนเนสตรังรูปใส่หลอดทดลอง 0.3 กรัมเติมบัฟเฟอร์พีเอช 5.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายสารปฏิชีวนา ที่เตรียมไว้ข้างต้นลงในหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทดสอบแอกติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-3

สำหรับการทดลองเปรียบเทียบโดยนำเดกซ์แทรนเนสตรังรูป 0.3 กรัม ใส่หลอดทดลองเติมบัฟเฟอร์พีเอช 5.5 จำนวน 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำมาทดสอบแอกติวิตีตามวิธีข้างต้นและสำหรับหลอดควบคุมเมื่อบ่มเดกซ์แทรนเนสตรังรูปกับสารต่างๆเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำหลอดทดลองแช่ในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ก่อนนำไปทดสอบแอกติวิตี

3.3.3.8.2 ผลของสารปฏิชีวนาต่อแอกติวิตีของ

เดกซ์แทรนเนสอิสระ

เตรียมสารละลายเดกซ์แทรนเนสความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ในอะซีเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.5 นำ

สารละลายเดกซ์แทรนเนสมา 1 มิลลิลิตร เติมสารต่าง ๆ ลงไปหลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทดสอบแอกติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-4

สำหรับการทดลองเปรียบเทียบโดยนำสารละลายเดกซ์แทรนเนสข้างต้นมา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำเพอร์ฟีเอช 5.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทดสอบแอกติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-4 และสำหรับหลอดควบคุมนำเดกซ์แทรนเนสที่ผ่านการบ่มแล้ว 50 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองแช่ในอ่างน้ำเดือด 15 นาที ก่อนนำไปทดสอบแอกติวิตี

3.3.4 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมโดยใช้เดกซ์แทรนเนสตรังรูปบนทราย

3.3.4.1 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมโดยใช้

เดกซ์แทรนเนสตรังรูปบนทราย

3.3.4.1.1 การย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมที่

พีเอช 5.25

ชั่งเดกซ์แทรนเนสตรังรูปจำนวน 1 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่เติมน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์แทรนแล้วลงในขวดรูปชมพู่จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30, 60 และ 90 นาที ตามลำดับ วิเคราะห์หาร้อยละของปริมาณเดกซ์แทรนที่ถูกย่อยสลาย

3.3.4.1.2 การลดความหนืดของน้ำอ้อยรวมโดยใช้

เดกซ์แทรนเนสตรังรูปบนทราย

ชั่งเอนไซม์ตรังรูปจำนวน 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการวัดความหนืดเริ่มต้นแล้วโดยใช้เครื่องวัดความหนืดลงในบีกเกอร์ดังกล่าวจำนวน 500 มิลลิลิตร บันทึกความหนืดของน้ำอ้อยที่ระยะเวลาต่างๆ คือ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 และ 80 นาที สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายกับเวลา

ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้ในน้ำอ้อยรวม
จากอ้อยที่ถูกเผาไฟทิ้งไว้ 3-5 วัน ในน้ำเชื่อม และในน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการสะเทินด้วยปูนขาว

3.3.5 ศึกษาการย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ เดกซ์แทรนเนสตรึงรูปแบบฟลูอิดไคซ์เบด

3.3.5.1 หาความเร็วต่ำสุดของการเกิดฟลูอิดไคซ์

ปรับความหวานของน้ำอ้อยรวมที่ 13 องศาบริกซ์ และปรับ
พีเอชของน้ำอ้อยรวมที่พีเอช 5.0 โดยใช้สารละลาย NaOH วัดค่าความหนืดเริ่มต้นของน้ำ
อ้อยรวมดังกล่าว นำเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทรายจำนวน 10 กรัม บรรจุลงในขวด
1.4x60 เซนติเมตร

เปิดวาล์วควบคุมอัตราการไหลของน้ำอ้อย โดยให้
เดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทรายเกิดลักษณะฟลูอิดไคซ์อย่างแรง จากนั้นลดอัตราการไหล
ลงจนทรายอยู่ในลักษณะเบดนิ่ง เริ่มแปรอัตราการไหลขาเข้าของน้ำอ้อยรวมตั้งแต่อัตราการ
ไหลระดับต่ำจนถึงระดับสูง บันทึกค่าความดันตกและอัตราการไหลที่ทุกๆอัตราการไหลที่
เปลี่ยนไป สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความดันตกและอัตราการไหลของน้ำอ้อยรวมที่
อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เพื่อหาอัตราการไหลต่ำสุดของการเกิด
ฟลูอิดไคซ์ขึ้น ทำการทดลองสองซ้ำ

3.3.5.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราการย่อยสลายเดกซ์แทรนใน น้ำอ้อยรวมที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ปรับความหวานของน้ำอ้อยรวมที่ 13 องศาบริกซ์ และ
ปรับพีเอชของน้ำอ้อยรวมที่พีเอช 5.0 ด้วยใช้สารละลาย NaOH วัดค่าความหนืดเริ่มต้น
ของน้ำอ้อยรวมดังกล่าวนำเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทราย จำนวน 10 กรัม บรรจุลงใน
ขวด 1.4x60 เซนติเมตร

เปิดวาล์วควบคุมอัตราการไหลของน้ำอ้อยรวมจนเกิด
ลักษณะฟลูอิดไคซ์อย่างแรง จากนั้นลดอัตราการไหลของน้ำอ้อยรวมลง จนถึงอัตราการ
ไหลเป็น 10 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บส่วนของน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการย่อยสลายที่อุณหภูมิห้องและ

อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากการย่อยสลายแต่ละอุณหภูมิหลังจากรวบรวมน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการบำบัดด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไธซ์เบดได้ประมาณ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดความหนืดของน้ำอ้อยรวมที่ลดลงทำการทดลองสองซ้ำ เปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

3.3.5.3 ศึกษาจำนวนรอบที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวม

ปรับพีเอชของน้ำอ้อยรวมที่พีเอช 5.0 ปรับความหวานของน้ำอ้อยรวมที่ 13 องศาบริกซ์ กำหนดปริมาตรรวมของน้ำอ้อยรวมที่ใช้ในการทดลอง 1500 มิลลิลิตร นำเดกซ์แทรนเนสตริงรูปบนทรายจำนวน 10 กรัม บรรจุลงคอลัมน์ขนาด 1.4x60 เซนติเมตร

เปิดวาล์วควบคุมอัตราการไหลของน้ำอ้อยรวมจนเกิดลักษณะฟลูอิดเซชันอย่างแรงแล้วจึงลดอัตราการไหลลงจนเกิดลักษณะเบดนิ่ง จากนั้นเพิ่มอัตราการไหลจนถึงอัตราการไหลเป็น 10 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บส่วนของน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการย่อยสลายจนครบปริมาตร 1400 มิลลิลิตร วัดค่าความหนืดของน้ำอ้อยรวมที่ลดลงหลังจากผ่านคอลัมน์รอบแรก ย่อยสลายน้ำอ้อยรวมในรอบที่ 2 และ 3 โดยใช้อัตราการไหลเท่าเดิม บันทึกค่าความหนืดของน้ำอ้อยรวมที่ลดลงหลังจากผ่านคอลัมน์ทุกรอบจนความหนืดของน้ำอ้อยรวมคงที่ โดยในแต่ละรอบจะมีน้ำอ้อยรวมเหลือรอบละ 100 มิลลิลิตร เนื่องจากปั๊มไม่สามารถดูดน้ำอ้อยรวมได้ทั้งหมด ทำการทดลองสองซ้ำที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ที่พีเอชของน้ำอ้อยเป็น 5.0 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับการย่อยสลายกับจำนวนรอบของการย่อยสลาย

3.3.5.4 ศึกษาการสูญเสียแอกติวิตีของเอนไซม์ตรึงรูปภายในคอลัมน์เมื่อใช้งานคอลัมน์อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ปรับพีเอชของน้ำอ้อยรวมเป็น 5.0 ปรับความหวานของน้ำอ้อยรวมที่ 13 องศาบริกซ์ วัดความหนืดเริ่มต้น ทำการย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยใช้เดกซ์แทรนเนสตริงรูปบนทรายจำนวน 10 กรัม บรรจุลงคอลัมน์ขนาด 1.4x60 เซนติเมตร

ย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมโดยใช้อัตราการไหล

10 มิลลิลิตรต่อนาที อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างน้ำอ้อยรวมที่ผ่านการย่อยสลายที่เวลาต่างๆ วัดความหนืดของน้ำอ้อยรวม ทำการทดลองสองซ้ำ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับการย่อยสลายและระยะเวลาการไ้ใช้งานคอลัมน์ จากทั้งสองอุณหภูมิเปรียบเทียบกัน