บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 วิธีการเตรียมตัวอย่างหนอนไหม

กำหนดให้หนอนไหมช่วงวัย 3 จำนวน 1000 ตัว ได้รับปริมาณของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ขนาด 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 กรัมต่อครั้ง ซึ่งจะให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน จนเป็นดักแด้ทั้งหมดเป็นเวลา 6 วัน แล้วศึกษาอัตราการตาย และอัตราการเป็นดักแด้ เพื่อหาผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของหนอนไหมเมื่อได้รับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีปริมาณต่างกัน ภายใต้การควบคุมสภาวะแวดล้อมที่อุณหภูมิ 23-26 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-85% มีการระบายอากาศตลอดเวลาภายในห้องที่มีแสงสลัว ๆ การให้อาหารหม่อนไหมในแต่ละครั้ง จะชั่งน้ำหนักใบหม่อนประมาณ 2 กิโลกรัมต่อภาชนะหนึ่งใบต่อครั้ง โดย 1 วันเก็บข้อมูล 3 เวลา คือ 06.00 น. 11.00 น. และ 16.00 น. เงื่อนไขที่ใช้เตรียมวิธีการปริมาณของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์โดยใช้ใบหม่อนที่ชุบผสมนาโนซิงค์ออกไซด์กับน้ำในอัตราส่วน 20 กรัมต่อ 5 ลิตรแล้วผึ่งให้แห้งหมาด ๆ ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 60-65 % แล้วค่อยนำไปให้หนอนไหมกิน **ดัง**ภาพที่ 3.1

ก. ข .

ภาพที่ 3.1 การเลี้ยงหนอนไหมในกระด้ง (ก) ใบหม่อนที่ผสมนาโนซิงค์ออกไซด์ (ข) ใบหม่อนที่ใช้เลี้ยงตามปกติ

หลังจากที่ให้อาหารหนอนไหมเสร็จแล้วนำผ้ามาปิดกระด้งแล้วเก็บขึ้นชั้นวางดังภาพที่ 3.2 และเมื่อหนอนไหมกินใบหม่อนหมดก็จะให้ใบหม่อนที่เตรียมไว้ทันทีโดยควบคุมให้มีอัตราส่วนที่เท่าๆกัน

ภาพที่ 3.2 การเก็บหนอนไหมตัวอย่างหลังให้อาหาร

ให้อาหารหนอนไหมจนกระทั่งหนอนไหมเข้าสู่วัยนอน แล้วนำหนอนไหมที่สุก (ตัวหนอนไหมเป็นสีเหลืองทั้งตัว) ไปที่จ่อ (ภาชนะที่ทำจากไม้ไผ่) ที่เตรียมไว้เพื่อให้หนอนไหมเข้าฝักดังภาพที่3.3

ก ข

ภาพที่ 3.3 (ก) การเข้าฝักของหนอนไหมในภาชนะที่เรียกว่าจ่อ (ข) หนอนไหมสุก

เมื่อหนอนไหมเข้าฝัก (ประมาณ 3 วัน หลังจากถูกย้ายไปที่จ่อ) จะต้องเก็บฝักไหมไปสาวเส้นไหมสำหรับนำมาไปใช้ทดสอบแรงดึงเชิงเส้นและนำไปทอเป็นผ้าดังภาพที่ 3.4

ภาพที่ 3.4 การสาวไหมสำหรับนำมาใช้ทดสอบแรงดึง

3.1.1 เงื่อนไขในการเตรียมสำหรับการศึกษาผลของการได้รับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ของหนอนไหมกับหนอนไหมที่ไม่ได้รับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

ได้ทดลองและศึกษาการเปรียบเทียบการเลี้ยงไหมด้วยใบหม่อนอย่างเดียวกับการเลี้ยงไหมด้วยใบหม่อนรวมกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ขนาด 0.325 กรัมต่อครั้ง ซึ่งจะให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน ซึ่งเริ่มศึกษาตั้งแต่ช่วงวัย 3 โดยใช้ตัวอย่างละ 400 ตัว

3.2 สารเคมี

ผงนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZoNoP®Zinc Oxide Nano Particles บริษัทนาโน แมททีเรียลส์ เทคโนโลยี)

ภาพที่ 3.5 ผงนาโนซิงค์ออกไซด์ ZoNoP®Zinc Oxide Nano Particles [18]

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.3.1 เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) รุ่น JEOL JSM 5410-LV (ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

3.3.2 เครื่องทดสอบแรงดึงTexture Analyzer (คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

3.3.3 เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ X-ray Diffraction (XRD) ยี่ห้อ Philips รุ่น X'Pert MPD (ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

3.3.4 เครื่องวิเคราะห์การเรืองรังสีเอ็กซ์ X-ray fluorescence spectrometry (XRF) ยี่ห้อ Philips รุ่น Magix (WDXRF) (ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

3.3.5 เครื่องชั่งน้ำหนัก รุ่น ES-1200HA

3.4 ขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่าง

หลังจากหนอนไหมเข้าฝักจะถูกนำมาเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สมบัติเฉพาะ ดังนี้

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์พื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งได้เตรียมตัวอย่างโดยตัดฝักไหมเป็นชิ้นขนาด 1x1 เซนติเมตรล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ถึง 3 ครั้ง เป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผมแล้วนำไปติดบนแผ่นแก้วที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วนำไปเตรียมสำหรับวิเคราะห์มีรายละเอียดดังนี้

3.4.1.1 เตรียมแผ่นรองรับที่สำหรับใช้กับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เรียกว่า Stub

3.4.1.2 นำเส้นไหมนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เตรียมไว้โดยใช้เงื่อนไขต่างกัน แล้วติดลงบน Stub โดยใช้เทปกาวยาง

3.4.1.3 หลังจากนั้นนำสารตัวอย่างที่ติดลงบน Stub ไปเคลือบด้วยทองด้วยเครื่อง Sputter Coater (Au Coating) ใช้เวลา 2 นาที เหตุที่ต้องเคลือบทองเพราะต้องการให้สารตัวอย่างนั้นนำไฟฟ้า

3.4.1.4 นำ Stub เข้าไปใน Chamber ของ SEM

3.4.1.5 บันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลองจากภาพที่ถ่ายจาก SEM

3.4.2 การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture Analyzer ในการเตรียมตัวอย่างได้นำเอาฝักไหมมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส แล้วดึงใยไหมให้เป็นเส้นที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่าๆ กันโดยเฉลี่ย 0.2 มิลลิเมตรแล้วตัดให้ยาวเส้นละ 20 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture Analyzer มีรายละเอียดดังนี้

3.4.2.1 นำเส้นไหมตัวอย่างที่เตรียมได้ไปพันเข้าด้วยแกนของเครื่อง

3.4.2.2 Run โปรแกรม

3.4.2.3บันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.4.3 การเตรียมสารตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray Diffraction (XRD) เตรียมตัวอย่างโดยตัดฝักไหมเป็นชิ้นขนาด 1x1 เซนติเมตรล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ถึง 3 ครั้ง เป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผมแล้วนำไปติดบนแผ่นแก้วที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วนำไปเตรียมสำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่องX-ray Diffraction (XRD) มีรายละเอียดดังนี้

3.4.3.1 เปิดเครื่อง XRD รอ 20 นาที

3.4.3.2 เตรียมชิ้นงานตัวอย่างมาวางในที่ใส่ตัวอย่าง

3.4.3.3 RUN โปรแกรม

3.4.3.4 บันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.4.4 การเตรียมสารตัวอย่างวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์การเรืองรังสีเอ็กซ์ X-ray fluorescence spectrometry (XRF) เตรียมตัวอย่างโดยตัดฝักไหมเป็นชิ้นขนาด 1x1เซนติเมตรล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ถึง 3 ครั้ง เป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผมแล้วนำไปติดบนแผ่นแก้วที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วนำไปเตรียมสำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray fluorescence spectrometry (XRF) มีรายละเอียดดังนี้

3.4.4.1 เปิดระบบหล่อเย็นของเครื่อง XRF อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส เปิดระบบ hardware ทั้งหมดตามด้วย เปิดวาว (valve) ของก๊าซฮีเลี่ยมและก๊าซของหัววัด

3.4.4.2 เตรียมชิ้นงานตัวอย่างมาวางในที่ใส่ตัวอย่าง

3.4.4.3 RUN โปรแกรม

3.4.4.4 บันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง