บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

ขวดเปล่าโซดาใช้แล้ว ซึ่งเป็นขวดแก้วใสชนิดหมุนเวียนขวด ขนาด 400 มิลลิลิตร ปากขวดแบบปิดด้วยฝาจีบ

3.2 สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยมวลต่อปริมาตร (50 % w/v Sodium hydroxide) : ห้างหุ้นส่วน จำกัด คูลสวัสดิ์ ประเทศไทย
2. สารละลายเพิ่มความวาว ชื่อทางการค้า สตาบิลอน (Stabilon): บริษัท อีโคแลป จำกัด, ประเทศไทย
3. สารละลายฟุคซิน (fuchsine indicator): Merck, Germany
4. สารละลายเมทิลออเรนท์ (methyl orange indicator): Merck, Germany
5. สารละลายไทมอล์ฟทาลีน (thymolpthalein indicator): Merck, Germany
6. สารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85 % w/v sodium chloride) : Merck, Germany
7. อาหารเลี้ยงเชื้อซื้อสำเร็จสำหรับเลี้ยงแบคทีเรียทั้งหมด (nutrient agar) : Merck, Germany
8. อาหารเลี้ยงเชื้อซื้อสำเร็จสำหรับเลี้ยงเชื้อรา (wort agar) : Merck, Germany

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องล้างขวดอัตโนมัติระดับอุตสาหกรรม (automatic washing machine) : Ortmann & Herbst CONTINA (DK-45FL), Germany (ภาพที่ ก.4)
2. ชุดล้างขวดด้วยน้ำร้อนระดับห้องปฏิบัติการ ดัดแปลงจากอ่างน้ำควบคุมอุณภูมิต่อด้วยปั๊มปรับระดับแรงดัน พ่วงสายฉีดน้ำ (ภาพที่ ก.5)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) : Memmert, Germany

4. เทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิตอล (digital thermometer): Testo, Germany

5. ตู้อบความร้อนสูง (hot air oven) ควบคุมที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส : Heraeus, Germany

6. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) ควบคุมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส: Binder, Germany

7. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) ควบคุมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส: Binder, Germany

8. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (autoclave) : Hirayama, Japan

9. ชุดกรองสูญญากาศ (vacuum filtration) : บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด ประเทศไทย

10. จานเพาะเชื้อ (petri dish) : บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด ประเทศไทย

11. กระดาษกรอง ขนาดรู 0.45 ไมครอน (0.45 μm membrane filter) : บริษัท ซาร์โทเรียส เมดคาทรอนิคส์ จำกัด ประเทศไทย

12. คีมคีบ (forceps) : บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด ประเทศไทย

13. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (weight scale) : Overting, England

14. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) : Radiometer, Germany

3.4 วิธีการวิจัย

3.4.1 การคัดขวดเปล่าโซดาใช้แล้ว

นำขวดเปล่าโซดาขนาด 400 มิลลิลิตร ที่ใช้แล้ว ซึ่งรับกลับมายังโรงงานและยังไม่ผ่านกระบวนการล้าง มาเทขยะและแยกสิ่งปลอมปนภายในออกจากขวด และทำการคัดแยกตามลักษณะทางกายภาพ โดยผู้ชำนาญงานของโรงงาน จำนวน 10 คน ทำการตรวจพินิจและคัดแยกความสกปรกของขวดตามมาตรฐานของโรงงาน แบ่งระดับความสกปรกของขวดออกเป็น 5 ระดับ (ภาพที่ ก.1) ดังนี้

ระดับ 1 เป็นขวดโซดาใช้แล้ว สกปรกมาก ผิวนอกไม่วาว ปากขวดเป็นสนิมและไม่สามารถล้างออกได้ โรงงานคัดทิ้งไม่เข้ากระบวนการล้างขวด

ระดับ 2 เป็นขวดโซดาใช้แล้ว สกปรกมาก ผิวนอกไม่วาว ไม่สามารถล้างออกได้โดยกระบวนการล้างขวดอัตโนมัติเพียงอย่างเดียว ต้องเพิ่มกระบวนการแช่สารทำความสะอาดทิ้งไว้ 1 คืนและล้างด้วยแรงงานคนก่อนนำเข้ากระบวนล้างด้วยเครื่องล้างขวดอัตโนมัติ

ระดับ 3 เป็นขวดโซดาใช้แล้ว สกปรกมาก ผิวนอกไม่วาว แต่ยังสามารถล้างออกได้โดยกระบวนการล้างขวดอัตโนมัติ

ระดับ 4 เป็นขวดโซดาใช้แล้วสกปรกปานกลาง ผิวนอกวาว

ระดับ 5 เป็นขวดโซดาใหม่จากโรงงานผลิต สกปรกน้อย ผิวนอกวาว

สำหรับการคัดความสกปรกของขวดทั้งภายในและภายนอก ตรวจพินิจโดยผู้ชำนาญงานของโรงงาน คัดเลือกขวดเปล่ากลุ่มที่มีความสกปรก ระดับที่ 3 ซึ่งเป็นขวดที่มีความสกปรกมากที่สุดที่ยังคงสามารถล้างได้โดยเครื่องล้างขวดอัตโนมัติ เพื่อเป็นขวดที่คัดไว้สำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.2 ศึกษาคุณภาพขวดเปล่าที่ใช้แล้วที่ยังไม่ล้าง และผ่านการล้างด้วยเครื่องล้างขวดอัตโนมัติ

สุ่มขวดเปล่าที่ยังไม่ได้ล้าง มีความสกปรกระดับที่ 3 ซึ่งคัดไว้ในข้อ 3.4.1 นำไปตรวจคุณภาพของขวดที่ไม่ผ่านการล้าง ได้แก่ ความสะอาดภายในขวด และคุณภาพทางจุลชีววิทยา และสุ่มตัวอย่างขวดที่คัดไว้ในข้อ 3.4.1 นำไปผ่านกระบวนล้างภายใต้สภาวะการล้างขวดปกติของโรงงาน คือ ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยมวลต่อปริมาตร สารละลายเพิ่มความวาวสตาบิลอน (Stabilon) ความเข้มข้นร้อยละ 0.6 โดยมวลต่อปริมาตร ล้างที่ 90 องศาเซลเซียส นำไปตรวจคุณภาพของขวดที่ผ่านการล้าง ได้แก่ ความสะอาดภายในขวด คุณภาพทางจุลชีววิทยา การไม่ตกค้างของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และการไม่ตกค้างของสารละลายเพิ่มความวาว ลักษณะคุณภาพละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้จำนวนขวดที่คัดไว้ 100 ขวด โดยดัดแปลงวิธีการตรวจจากกฤชญา สะท้านพล และ ณัชญาวีร์ ตั้งมั่น (2548) ดังนี้

1) ความสะอาดภายในขวด

นำแต่ละขวดไปเขย่ากลั้วด้วยสารละลายฟุคซิน (fuchsine indicator) (ภาคผนวกที่ ค.1) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เอียงขวดไปมาประมาณ 30 วินาที เพื่อให้สารละลายฟุคซินเคลือบผิวด้านในจนทั่วขวด จากนั้นเทสารละลายฟุคซินทิ้ง กลั้วด้วยน้ำสะอาดปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเททิ้ง ทำซ้ำ 2 ครั้ง ตรวจพินิจดูการติดสีของสารละลายฟุคซิน ขวดที่สะอาดจะไม่ติดสีชมพูของสารละลายฟุคซิน นำทั้ง 100 ขวดที่วิเคราะห์ไปนับจำนวนขวดที่สะอาด รายงานในรูปของจำนวนขวดที่สะอาด คิดเป็นร้อยละ

2) คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อรา โดยการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร 2 ชนิด ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อแบบ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
13 ม.ย. 2554
242398
ทะเบียน
หนังสือ

วุ้นแข็งสำหรับเลี้ยงแบคทีเรียทั้งหมด และอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นแข็งสำหรับเลี้ยงเชื้อรา ตามลำดับ ให้ทำการเตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด (ภาคผนวกที่ ค.2 และ ค.3) อย่างละ 100 เพลท

ทำการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา นำแต่ละขวดไปเขย่ากลั้วด้วยสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (ภาคผนวกที่ ค.4) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร พลิกขวดไปมาประมาณ 30 วินาที เพื่อให้สารละลายน้ำเกลือสัมผัสผิวด้านในจนทั่วขวด เทแยกแบ่งน้ำเกลือออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน นำแต่ละส่วนไปกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.45 ไมครอน นำกระดาษกรองที่ได้ทั้ง 2 แผ่นไปตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ โดยแผ่นแรกวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นแข็งสำหรับเลี้ยงแบคทีเรียทั้งหมดที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ใช้เวลาบ่ม 48 ชั่วโมง ส่วนกระดาษกรองแผ่นที่สอง นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นแข็งสำหรับเลี้ยงเชื้อราที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลาบ่ม 5 วัน (Clesceri *et al.*, 1999) เมื่อครบกำหนดตรวจนับจำนวนเชื้อทั้งสองชนิด (ภาพที่ ก.6) ขวดที่มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่า 500 cfu และตรวจไม่พบเชื้อราแสดงว่าขวดนั้นผ่านมาตรฐาน รายงานผลในรูปของจำนวนขวดที่ผ่านเกณฑ์ทางจุลชีววิทยา คิดเป็นร้อยละ

3) การไม่ตกค้างของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นสารทำความสะอาดที่โรงงานเลือกใช้ ทำการตรวจวิเคราะห์การไม่ตกค้างของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำแต่ละขวดไปเขย่ากลั้วด้วยสารละลายไทมอล์ฟทาลีน (thymolpthalein) (ภาคผนวกที่ ค.5) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร เอียงขวดไปมาประมาณ 30 วินาที เพื่อให้สารละลายไทมอล์ฟทาลีนสัมผัสผิวด้านในจนทั่วขวด ตรวจพินิจการเปลี่ยนสีของสารละลายไทมอล์ฟทาลีน ขวดที่ไม่มีการตกค้างของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายไทมอล์ฟทาลีนจากสีใสเป็นสีน้ำเงิน นำทั้ง 100 ขวดที่วิเคราะห์ไปนับจำนวนขวดที่ไม่มีการตกค้างของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ รายงานในรูปของจำนวนขวดที่ไม่มีการตกค้างของสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ คิดเป็นร้อยละ

4) การไม่ตกค้างของสารละลายเพิ่มความวาว

สารละลายเพิ่มความวาวที่โรงงานเลือกใช้ มีชื่อทางการค้าว่า สตาบิลอน (Stabilon) ทำการตรวจวิเคราะห์การไม่ตกค้างของสารละลายเพิ่มความวาว นำแต่ละขวดไปเขย่ากลั้วด้วยสารละลายเมทิลออเรนท์ (methyl orange) (ภาคผนวกที่ ค.6) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร เอียงขวดไปมาประมาณ 30 วินาที เพื่อให้สารละลายเมทิลออเรนท์สัมผัสผิวด้านในจนทั่วขวด ตรวจพินิจการเปลี่ยนสีของสารละลายเมทิลออเรนท์ ขวดที่ไม่มีการตกค้างของสารละลายเพิ่มความวาวจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเมทิลออเรนท์ จากสีเหลืองเป็นสีส้มแดง นำทั้ง 100

ขวดที่วิเคราะห์ไนับจำนวนขวดที่ไม่มีการตกค้างของสารละลายเพิ่มความวาว รายงานในรูปของจำนวนขวดที่ไม่มีการตกค้างของของสารละลายเพิ่มความวาว คิดเป็นร้อยละ

3.4. 3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการล้างขวดระดับห้องปฏิบัติการ

สุ่มขวดเปล่าที่ยังไม่ได้ล้าง มีความสกปรกระดับที่ 3 ซึ่งคัดไว้ในข้อ 3.4.1 นำไปล้างในกระบวนการล้างขวดระดับห้องปฏิบัติการ ศึกษา 3 ปัจจัย ซึ่งมีค่าสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละปัจจัยดังนี้ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 2.0 ถึง 4.0 โดยมวลต่อปริมาตร ความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มความวาว ร้อยละ 0.2 ถึง 0.6 โดยมวลต่อปริมาตร และอุณหภูมิ 60 ถึง 90 องศาเซลเซียส ตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial Experiment in Central Composite Design (ทำซ้ำที่จุดกึ่งกลางจำนวน 3 ซ้ำ) ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 6.0 ในการกำหนดสภาวะที่ใช้ในการทดลอง นำขวดตัวอย่างที่คัดไว้ไปล้างภายใต้สภาวะทดสอบแต่ละสภาวะ โดยทำการล้างสภาวะ 300 ขวด จากนั้นนำขวดตัวอย่างที่ผ่านการล้างภายใต้สภาวะทดสอบแต่ละสภาวะ ไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ได้แก่ ความสะอาดภายในขวด คุณภาพทางจุลชีววิทยา การไม่ตกค้างของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และการไม่ตกค้างของสารละลายเพิ่มความวาว เช่นเดียวกับการตรวจคุณภาพขวดในข้อที่ 3.4.2 โดยใช้ 50 ขวดตัวอย่างในการตรวจคุณภาพแต่ละด้าน และเพิ่มการตรวจคุณภาพ ดังนี้

1) ความวาวผิวนอกขวด

นำแต่ละขวดที่ผ่านการล้างไปตรวจพินิจความวาวผิวนอก โดยใช้ผู้ชำนาญการของโรงงานจำนวน 10 คน คัดขวดที่มีความวาวระดับต่ำกว่ามาตรฐานออกไป ขวดที่มีความวาวระดับมาตรฐาน คือ ขวดที่ไม่มีคราบใดๆเหลือติดอยู่ที่ผิวนอกขวด (กฤชญา สะท้านพล และ ณัชญาวีร์ ตั้งมั่น, 2548) นับจำนวนเฉพาะขวดที่ผ่านเกณฑ์ด้านความวาวผิวนอกขวด รายงานในรูปของจำนวนขวดที่ผ่านเกณฑ์ความวาวผิวนอกขวด คิดเป็นร้อยละ

2) ค่าความเป็นกรด-ด่างภายในขวด

นำแต่ละขวดที่ผ่านการล้างไปเติมน้ำกลั่นปราศจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่ากลั้วด้วยน้ำกลั่นปราศจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 7.0 – 7.3 จากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) เกณฑ์ความเป็นกรด-ด่างของขวด คือ ต้องมีค่าความเป็นกรด – ด่างอยู่ระหว่าง 5.0 – 9.0 (กฤชญา สะท้านพล และ ณัชญาวีร์ ตั้งมั่น, 2548) นับเฉพาะขวดที่อยู่ในเกณฑ์ความเป็นกรด-ด่าง รายงานในรูปของจำนวนขวดที่ผ่านเกณฑ์ความเป็นกรด-ด่าง คิดเป็นร้อยละ

นำข้อมูลการวิเคราะห์คุณภาพที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 6.0 หาสมการถดถอยถอดรหัส (decoded regression equation) และเลือกสมการถดถอยถอดรหัสที่มีค่า R^2 (coefficient of determination) มากกว่า หรือเท่ากับ 0.85 นำไปสร้างกราฟพื้นที่ตอบสนอง (response surface graph) และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 6.0 หาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการล้างขวดระดับห้องปฏิบัติการ

3.4.4 ศึกษาการนำสภาวะที่ได้ไปทดสอบกับเครื่องล้างขวดระดับอุตสาหกรรม

สุ่มขวดเปล่าที่ยังไม่ได้ล้าง มีความสกปรกระดับที่ 3 ซึ่งคัดไว้ในข้อ 3.4.1 นำไปล้างด้วยเครื่องล้างขวดอัตโนมัติของโรงงาน โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อที่ 3.4.3 โดยทำ 3 ซ้ำๆละ 5,000 ขวด สุ่มตัวอย่างตรวจวิเคราะห์คุณภาพของขวดเปล่าหลังผ่านกระบวนการล้าง เปรียบเทียบกับขวดเปล่าหลังผ่านกระบวนการล้างขวดด้วยเครื่องล้างขวดอัตโนมัติภายใต้สภาวะปกติของโรงงาน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี t-test ที่ระดับความน่าเชื่อถือที่ร้อยละ 95

3.4.5 ศึกษาเปรียบเทียบต้นทุนสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการล้างขวดอัตโนมัติ

เก็บข้อมูลการใช้สารเคมีในกระบวนการล้างขวด ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายเพิ่มความวาวที่ใช้ในกระบวนการล้างขวดของโรงงาน ทั้ง 2 สภาวะ คือ สภาวะปกติของโรงงาน และสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการวิจัยที่ได้จากข้อที่ 3.4.3 นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณต้นทุนสารเคมีเฉลี่ยต่อปีเปรียบเทียบกัน